



HAL
open science

Synthèse de composés possédant un motif de type oxindole, inhibiteurs potentiels du récepteur de facteur de croissance de fibroblastes (FGFR1)

Mathieu Sassatelli

► **To cite this version:**

Mathieu Sassatelli. Synthèse de composés possédant un motif de type oxindole, inhibiteurs potentiels du récepteur de facteur de croissance de fibroblastes (FGFR1). Chimie organique. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2005. Français. NNT : 2005CLF21609 . tel-00683658

HAL Id: tel-00683658

<https://theses.hal.science/tel-00683658v1>

Submitted on 29 Mar 2012

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

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

Numéro d'ordre : D.U.1609

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

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES

N° : 464

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE
(Spécialité : CHIMIE ORGANIQUE BIOLOGIQUE)

Par

Mathieu SASSATELLI
(Diplômé d'Etudes Approfondies de Chimie Moléculaire et Molécules Bioactives)
(Ingénieur ENSSPICAM)

**Synthèse de composés possédant un motif de type oxindole,
inhibiteurs potentiels du récepteur de facteur de croissance de
fibroblastes (FGFR₁)**

Soutenue publiquement le 08 novembre 2005 devant la Commission d'Examen :

Rapporteurs : T. BESSON, Pr., Université de La Rochelle
Y. Le MERRER, Pr., Université René Descartes, Paris V

Examineurs : J. BOLTE, Pr., Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand
P. GOEKJIAN, Pr., Université Claude Bernard, Lyon I
P. MOREAU, MCF, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand
M. PRUDHOMME, Pr., Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand

Remerciements

Je tiens à remercier Monsieur Jean Bolte, Professeur à l'Université Blaise Pascal et directeur du laboratoire SEESIB pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Madame Michelle Prudhomme, Professeur, et à Madame Pascale Moreau, Maître de conférences, pour m'avoir encadré au cours de cette thèse. Leurs conseils et leur aide constante m'ont été précieux pour le bon déroulement de ce travail.

Je remercie également Fabrice Anizon et Bettina Aboab, Maîtres de Conférences pour leur aide en RMN et en modélisation moléculaire.

Je suis particulièrement reconnaissant envers Messieurs Thierry Besson, Professeur à l'Université de La Rochelle, et Yves Le Merrer, Professeur à l'Université René Descartes Paris V, pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail.

Je tiens également à remercier Messieurs Peter Goekjian, Professeur à l'Université Claude Bernard Lyon 1, et Jean Bolte, Professeur à l'Université Blaise Pascal, de l'intérêt qu'ils ont portés à ce travail en acceptant de participer au jury.

Je remercie fortement Thierry Besson, Professeur à l'Université de La Rochelle, et toute son équipe pour m'avoir accueilli et fait découvrir le «monde des microondes».

Je remercie également Eric Debiton, Maître de conférences, pour son aide et ses conseils en biologie cellulaire.

Je remercie fortement les étudiants que j'ai côtoyé au laboratoire et qui ont contribué à rendre la vie au laboratoire très agréable: Samir Messaoudi, Elisabeth Conchon, Marlène Goubert, Radouane Affani et Fadoua Bouchikhi.

Je suis fortement reconnaissant à Bruno Combourieu, Martine Sancelme, Anne-Marie Delort, Nicole Grangemare, Pascale Besse, Anne-Sophie Martin et toute l'«Amicale du Café» pour leur bonne humeur quotidienne et leur écoute permanente.

Je sais gré à Jean-Gabriel Gourcy et à Régis Egrot de m'avoir fourni en solvant et en spectres RMN durant ces trois années.

Je ne peux pas oublier ma femme, Bernadette, ainsi que Cyril et Emilie qui ont supporté mes humeurs (souvent mauvaises) et qui m'ont toujours soutenu et aidé.

Bien entendu, je tiens à remercier mes parents ainsi que toute ma famille pour l'aide qu'il ont pu m'apporter au cours de ces trois années.

Enfin, je remercie le CNRS et la Région Auvergne pour m'avoir financé pendant ces trois années et permis d'acquérir ainsi un grand nombre de richesses scientifiques.

Sommaire

Introduction	1
Première partie : Etude bibliographique	6
I- Introduction	7
II- Les récepteurs de facteurs de croissance	7
II.1- Généralités sur les facteurs de croissance	7
II.2- Généralités sur les récepteurs de facteurs de croissance	8
II.3- Activation des récepteurs de facteur de croissance	8
II.4- Les FGFR (Fibroblast Growth Factor Receptor)	10
II.4.1- Généralités sur les FGFR	10
II.4.2- Détermination expérimentale de la structure des dimères du FGFR	10
II.4.3- Transduction du signal par les FGFR	14
II.4.3.1- Aspects structuraux	14
II.4.3.2- Site actif et liaison avec l'AMP-PCP	15
II.4.3.3- Mécanisme d'auto-inhibition	17
II.4.3.4- Résidus tyrosine, sites d'autophosphorylation	18
II.4.4- Les FGFR comme cibles thérapeutiques	19
II.5- Les PDGFR (Platelet Derived Growth Factor Receptor)	20
II.5.1- Généralités sur les PDGFR	20
II.5.2- Les PDGFR comme cibles anticancéreuses	22
II.6- Les EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)	22
II.6.1- Généralités sur les EGFR	22
II.6.2- Les EGFR comme cibles anticancéreuses	23
II.7- Les VEGFR (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor)	24
II.8- Les IGFR (Insulin Growth Factor Receptor) et les NGFR (Neurotrophe Growth Factor)	25
III- Le cycle cellulaire	27
III.1- Les différentes phases du cycle cellulaire	27
III.2- Intervention des facteurs de croissance dans le cycle cellulaire	29
IV- Les inhibiteurs des récepteurs de facteurs de croissance	31
IV.1- Les phénylamino-pyrimidines	31
IV.1.1- L'imatinib (GLEEVEC®)	31
IV.1.2- Dérivés de l'imatinib possédant un motif urée	32
IV.1.3- Quelques pyrazines-pyridines	33
IV.2- Les quinazolines, pyridopyrimidines et hétérocycles associés	33
IV.2.1- Le gefitinib (IRESSA®)	33
IV.2.2- Le ZD4190 et le ZD6474	34
IV.2.3- L'erlotinib (TARCEVA®)	35
IV.2.4- Le PKI166	36
IV.2.5- Le CI-1033	37
IV.2.6- Le RPR127963, le AG1478 et le AG1295	38
IV.2.7- Le AZD2171	38

IV.2.8- Le PD089828	39
IV.2.9- Le PD166866	39
IV.2.10- Le PD161570	40
IV.2.11- Le PD173074	41
IV.2.12- Le PD166285	42
IV.2.13- Les 1,6-naphtyridines et les pyrido[2,3-d]pyrimidines	43
IV.2.14- Comparaison des propriétés inhibitrices de 4-anilinoquinazolines et de 4-anilinopyrido[3,4-d]pyrimidines diversement substituées	44
IV.2.15- Les dérivés de 4-pipérazinylquinazolines	46
IV.2.16- Les thiénopyrimidines et thiénoypyridines	47
IV.2.17- Le PTK787	49
IV.2.18- Le AAL993	50
IV.3- Les 2-anilino-5-aryloxazoles	50
IV.4- Les produits naturels et leurs dérivés	52
IV.4.1- Les sesquiterpènes	52
IV.4.2- La lavendustine et l'erbstatine	53
IV.4.3- Les indolocarbazoles	53
IV.4.4- Le CEP-5214 et le CEP-7055	54
IV.4.5- Les clavilactones	55
IV.6- Les quinolines	55
IV.6.1- Les dérivés de 4-phénoxyquinoline	55
IV.6.2- Les 4-phénoxyquinoline diphénylamines	59
IV.6.3- Les 4-phénoxyquinoline urées	60
IV.6.4- Le CP673451	61
IV.7- Les indoles	61
IV.7.1- Les 3-(5-thièn-3-ylpyridin-3-yl)-1H-indoles	61
IV.7.2- Le PD145709	62
IV.8- Les indénones	63
IV.9- Les oxindoles	63
IV.9.1- Les 3-(arylidényl)-oxindoles	63
IV.9.2- Le SU5402	65
IV.9.3- Le SU5416 et le SU6668	67
IV.9.4- Le SU11248	68
IV.9.5- Le SU4984	69
IV.9.6- Les 3-(arylamino)méthylènoxindoles	70
IV.9.7- Les azaoxindoles	72
 V- Conclusion	 73
 Deuxième partie : Synthèse de nouveaux inhibiteurs du FGFR ₁	 75
I- Introduction	76
II- Préparation de composés possédant un motif oxindole (Familles A et B)	77
II.1- Synthèses connues du motif oxindole	77
II.1.1- Cyclisation de Friedel et Crafts intramoléculaire	77
II.1.2- Cyclisation de 2-halogénoacryloylanilides	78
II.1.3- Cyclisation de 2-bromo- <i>N</i> -méthylanilides	79

II.1.4- Cyclisation catalysée par les métaux de transition	80
II.1.4.1- Cyclocarbonylation de 2-aminostyrènes catalysée par le palladium	80
II.1.4.2- Carbonylation de 2-alkynylanilines catalysée par le rhodium	81
II.1.4.3- Cyclisation de α -diazooamides catalysée par le rhodium et le Nafion-H	81
II.1.4.4- α -Arylation intramoléculaire d'amides	82
II.1.4.5- Cyclisation de α -chloroacétanilides catalysée par le palladium	82
II.1.4.6- Couplage de Heck intramoléculaire sur des 2-halogénoacryloylanilides	83
II.1.4.7- Synthèse stéréosélective de 3,3-(diarylméthylène)oxindoles asymétriques par une réaction tandem de carbocyclisation de Heck/couplage de Suzuki	84
II.1.5- Cyclisation photochimique	85
II.1.6- Cyclisation de type Ullmann	85
II.1.7- Cyclisation par addition-élimination intramoléculaire	86
II.2- Synthèse de glycosyl-isoindigos diversement substitués (Famille A)	86
II.2.1- Synthèse du Natura	86
II.2.2- Rétrosynthèse	88
II.2.3- Synthèse des indolines non commerciales	88
II.2.4- Synthèse des isatines glycosylées benzylées	89
II.2.4.1- Etape de glycosylation des indolines	89
II.2.4.2- Etape d'aromatisation au DDQ	91
II.2.4.3- Etape de benzylation des groupements hydroxyles du sucre	92
II.2.4.4- Etape d'oxydation de l'indole en isatine	92
II.2.5- Synthèse des isoindigos glycosylés benzylés ou non	94
II.2.5.1- Synthèse des isoindigos glycosylés benzylés	94
II.2.5.2- Déprotection des groupements hydroxyles du sucre	95
II.2.6- Synthèse des isatines glycosylées acétylées	103
II.2.6.1- Etape d'acétylation des fonctions alcools du sucre	104
II.2.6.2- Etape d'aromatisation au DDQ	104
II.2.6.3- Etape d'oxydation de l'indole en isatine	104
II.2.7- Synthèse des isoindigos glycosylés acétylés	105
II.2.7- Bilan	106
II.3- Synthèse d'oxindoles substitués en position 3 par des acides aminés (Famille B)	107
II.3.1- Méthodes de synthèse de 3-(arylamino)méthylènoxindoles	107
II.3.2- Rétrosynthèse	108
II.3.3- Synthèse du 3-chlorométhylènoxindole 47	108
II.3.4- Réaction de couplage des amino-acides sur le composé chloré 47	112
II.3.4.1- Couplage entre le composé 47 et la <i>N</i> (α)-Boc-L-lysine commerciale	112
II.3.4.2- Synthèse des <i>N</i> (α)-Boc-3-aminophénylglycines	118
II.3.4.3- Synthèse de la <i>N</i> (α)-Boc-4-amino-D-phénylalanine	121
II.3.4.4- Couplage entre le composé 47 et les 3-amino- <i>N</i> (α)-Boc-phénylglycine 55 et 58	123
II.3.4.5- Couplage entre le composé 47 et la 4-amino- <i>N</i> (α)-Boc-D-phénylalanine 61	125
II.3.5- Bilan	128
III- Synthèse du Tétracycle II (Famille C)	128
III.1- Rétrosynthèse du tétracycle II	128
III.2- Synthèse du 6-amino-7-azaindole 68	129
III.3- Synthèse de l'intermédiaire I	130

III.3.1- Essais sans catalyseur	131
III.3.2- Essais avec un catalyseur au palladium	137
III.3.3- Essais avec un catalyseur au cuivre	141
III.4- Tentatives de cyclisation du composé 69	146
III.4.1- Tentatives de cyclisation directe du composé 69	146
III.4.1.1- Tentatives de cyclisation directe du composé 69 en présence de dérivés de palladium	146
III.4.1.2- Tentatives de cyclisations radicalaires du composé 69	150
III.4.2- Tentatives de cyclisation après transformation du composé 69	152
III.5- Bilan	154
IV- Conclusion	155
Troisième partie : Modélisation moléculaire	157
I- Introduction	158
II- Principe des calculs réalisés	158
III- Etude dans le site actif	160
III.1- Etude de la molécule 30	160
III.2- Etude de la molécule 50	161
III.3- Etude de la molécule 63	163
III.4- Etude de la molécule 64	165
IV- Etude hors-site du composé 30	167
V- Conclusion	170
Quatrième partie : Tests d'activité biologique	171
I-Introduction	172
II- Principe des différents tests effectués	172
II.1- Activité antiproliférative	172
II.2- Activités sur des tyrosines kinases surexprimées ou purifiées	173
III- Résultats	174
III.1- Les isoindigos (Famille A)	174
III.1.1- Tests d'activité antiproliférative	174
III.1.2- Tests sur kinases purifiées	176
III.2- Les amino-acides (Famille B)	178
III.2.1- Tests d'activité antiproliférative	178
III.2.2- Tests sur kinases purifiées	179
III.3- Les arylamineazaindoles (Famille C)	179

IV- Conclusion	179
Conclusion Générale	181
Cinquième partie : Partie expérimentale	186
I- Partie expérimentale de chimie	187
I.1- Méthodes générales	187
I.2- Synthèse des composés de la famille A	188
I.3- Synthèse des composés de la famille B	230
I.4- Synthèse des composés de la famille C	241
II- Partie expérimentale de biologie	247
II.1-Protocole des tests d'activités antiprolifératives	247
II.1.1- Préparation des solutions	247
II.1.2- Conditions de culture cellulaire	247
II.1.3- Ensemencement des cellules	248
II.1.4- Traitement des cellules	248
II.1.5- Dosage du potentiel réducteur cellulaire	249
II.1.6- Quantification de l'ADN cellulaire	249
II.2- Tests d'activité sur Alk	249
II.3- Tests d'activité sur PDGFR β , FGFR $_1$, KDR, Tie et EGFR	249
II.4- Tests d'activité sur PKA	250

Introduction

Introduction

Le cancer, qui touche 10 millions de personnes dans le monde, est la deuxième cause de mortalité après les affections cardiovasculaires mais pourrait dans un futur proche occuper la première place de ce triste palmarès. De par l'importance du nombre de personnes qu'elle atteint, cette maladie constitue un problème majeur de santé publique. Il existe de nombreux types de cancers dont les plus répandus en France sont les cancers du poumon, du colon et du sein qui entraînent respectivement 27000, 16000 et 11600 décès par an.

Le corps humain est constitué d'une multitude de cellules hiérarchisées, issues de la première cellule embryonnaire. De multiples divisions cellulaires et différenciations spécifiques ont permis la constitution des divers organes aux fonctions variées, mais bien définies. Continuellement, un certain nombre de cellules disparaissent et sont remplacées par de nouvelles cellules. Ainsi, chaque année, un homme synthétise 200 à 300 kg de cellules sanguines nécessaires pour maintenir l'homéostasie. Un dérèglement minime peut donc entraîner rapidement soit une prolifération excessive, soit au contraire une déplétion cellulaire.

Le cancer est dû au dérèglement de la division de quelques unes des milliards de cellules qui constituent les êtres vivants, ce qui correspond à une multiplication anarchique des cellules.

L'apparition du cancer s'effectue selon un processus en plusieurs étapes au cours desquelles l'accumulation d'anomalies sur différents gènes au fil des divisions cellulaires confère un avantage sélectif au clone malin. Les cellules toutes issues d'une première cellule mutée (clone) forment alors une tumeur.

Cette maladie est un véritable fléau qui génère une recherche très importante. Des progrès dans la compréhension des mécanismes qui interviennent dans les cancers devraient permettre d'améliorer la lutte contre cette maladie.

Le but ultime dans le traitement des cancers est de développer des médicaments présentant une grande efficacité contre les cellules cancéreuses et ayant peu d'effets sur les cellules saines. Pour cela, il est nécessaire de connaître précisément la composition de la cellule et les mécanismes de la division cellulaire.

La cellule est constituée par une membrane limitant un cytoplasme où l'on distingue des organites cytoplasmiques et un noyau (Figure 1).

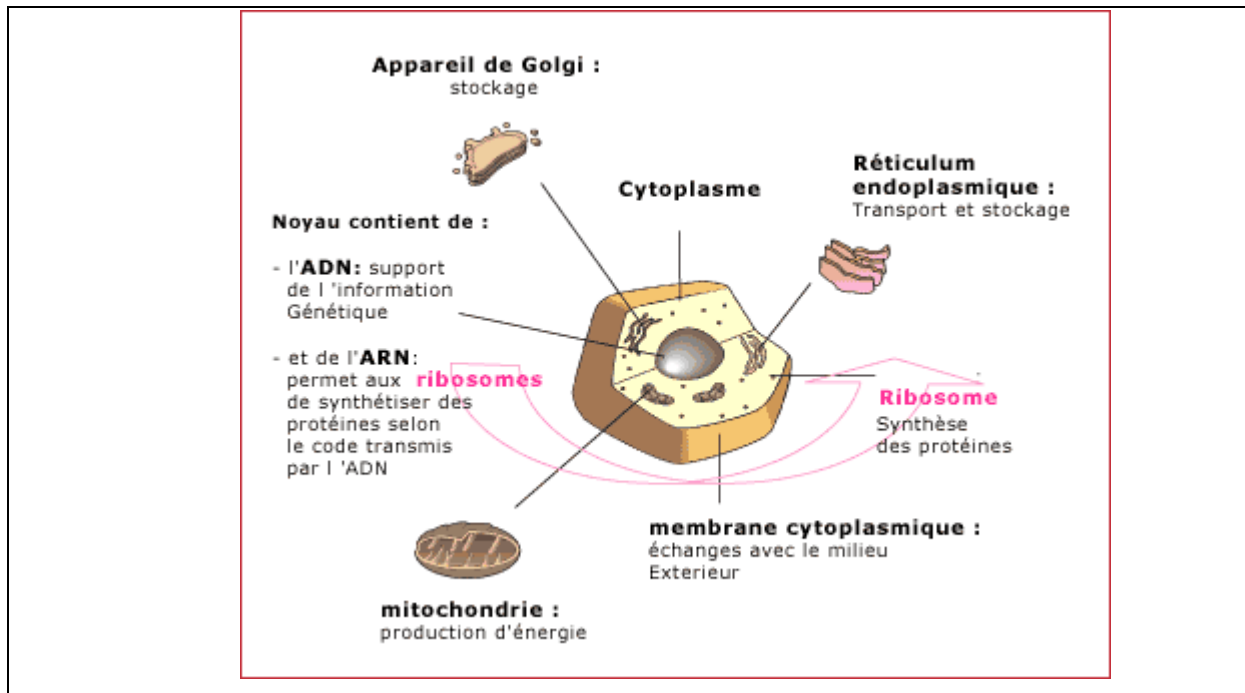


Figure 1 : La cellule

La division cellulaire est régie par une cascade de réactions enzymatiques qui permettent l'initiation et le passage dans les différentes phases du cycle cellulaire jusqu'à la mitose. La connaissance du mécanisme de ces réactions doit permettre de lutter efficacement contre la multiplication des cellules cancéreuses.

Les facteurs de croissance et leurs récepteurs sont surexprimés dans un grand nombre de cancers et ont un rôle très important dans la prolifération cellulaire. En effet, les facteurs de croissance régulent la croissance et les fonctions des cellules grâce à leur fixation sur des récepteurs cellulaires de grande affinité. Le signal mitogène peut être inhibé en utilisant des agents spécifiques qui pourront soit neutraliser le facteur de croissance (en utilisant des anticorps spécifiques ou des analogues de récepteurs solubles), soit inhiber l'interaction facteur de croissance-récepteur, soit inhiber l'activité kinase de ces récepteurs.

Les cellules cancéreuses pour proliférer ont besoin de nutriments (oxygène, glucose...) et doivent pouvoir éliminer les déchets (acidose, dioxyde de carbone...). Quand la tumeur a un volume supérieur au millimètre cube, les cellules cancéreuses doivent acquérir un pouvoir d'angiogénèse afin de posséder un système sanguin nourricier. Les cellules cancéreuses activent l'angiogénèse par sécrétion de molécules peptidiques: les facteurs de croissance endothéliaux vasculaires (VEGF) et les facteurs de croissance des fibroblastes (FGF) ainsi que leurs récepteurs. Les inhibiteurs de l'angiogénèse arrêtent la formation de vaisseaux sanguins qui irriguent la tumeur. Elle est ainsi privée des nutriments qui sont essentiels à sa survie, ce qui entraîne sa mort.

Les récepteurs de facteur de croissance, qui sont impliqués à la fois dans la prolifération cellulaire et dans l'angiogénèse, semblent donc être des cibles particulièrement intéressantes pour lutter contre le cancer.

Au laboratoire, nous nous sommes intéressés à la synthèse d'inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase de récepteurs de facteurs de croissance, principalement du FGFR₁.

Parmi les inhibiteurs connus du FGFR₁, on trouve le PD173074 (Parke Davis) et des oxindoles comme le SU5402 et le SU4984 (Sugen) (Figure 2).

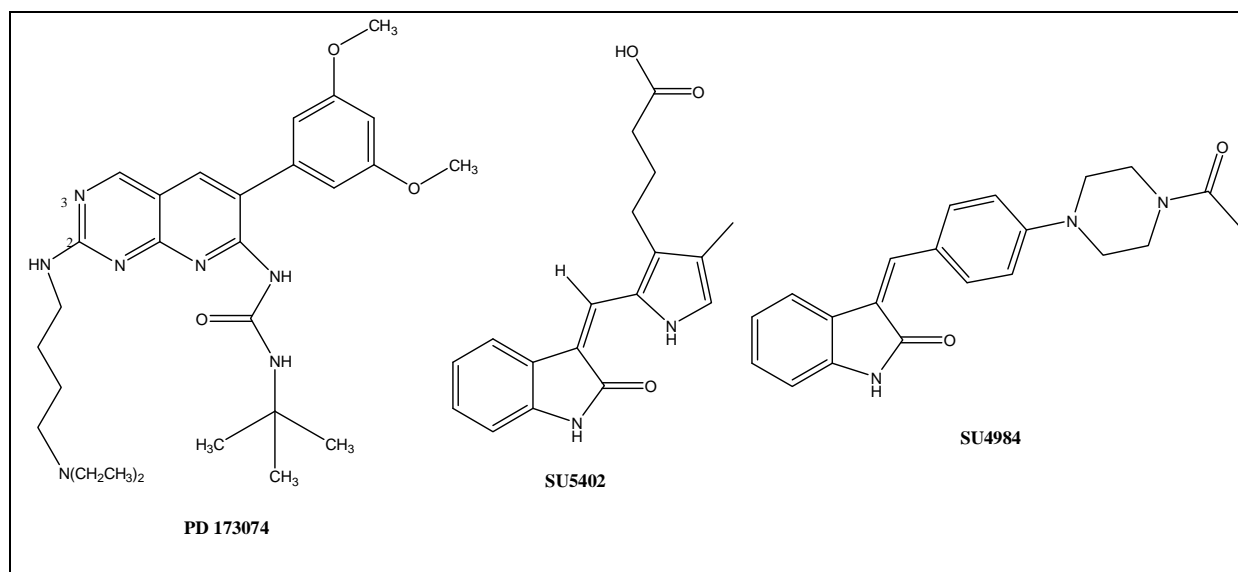


Figure 2 : Quelques inhibiteurs connus du FGFR₁.

Afin d'obtenir de nouveaux inhibiteurs du FGFR₁, nous nous sommes tout d'abord orientés vers la synthèse de composés constitués d'un motif oxindole.

Afin d'optimiser nos travaux, nous avons effectué des études de docking en superposant nos molécules cibles tout d'abord avec l'ATP puis avec les inhibiteurs cocrystallisés avec le FGFR₁ : les composés SU5402, SU4984 et le PD173074. Compte tenu des résultats publiés concernant d'une part les interactions entre le FGFR₁ et les inhibiteurs connus et d'autre part l'analyse structurale de ces inhibiteurs, nous nous sommes orientés vers la préparation de trois familles de composés possédant les structures figurant ci-dessous (Figure 3).

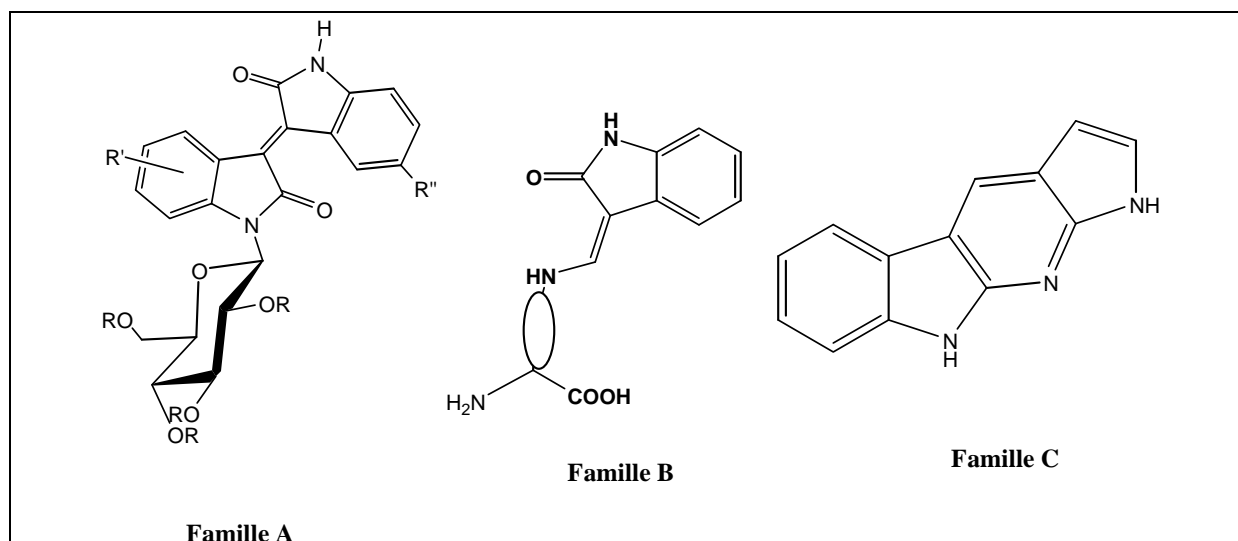


Figure 3 : Structures de base des nouvelles familles d'inhibiteurs potentiels du FGFR₁.

Les propriétés biologiques de tous les composés synthétisés lors de ce travail ont ensuite été évaluées.

Ce mémoire comporte cinq parties :

-Dans la première partie, une étude bibliographique présente les facteurs de croissance et leurs récepteurs ainsi que leurs principaux inhibiteurs décrits dans la littérature. Il faut noter que dans cette partie, la numérotation des molécules commence à 1 à chaque nouveau paragraphe, de plus le numéro des molécules est souligné.

-Dans la deuxième partie, nous décrivons les synthèses des trois familles de composés présentés. Dans cette partie, la numérotation des molécules synthétisées au cours de ce travail commence à **1** et les numéros des molécules ne sont pas soulignés.

-Dans la troisième partie, les résultats des calculs de modélisation moléculaire sont présentés.

-Dans la quatrième partie, les résultats des tests biologiques sont décrits et commentés.

-La cinquième partie est constituée de la partie expérimentale de chimie et de celle de biologie.

Première partie: Etude bibliographique

I- Introduction

Le développement et la différenciation de même que le maintien des fonctions vitales nécessitent une régulation précise du lieu et du moment des divisions cellulaires. La multiplication cellulaire doit être contrôlée aussi bien dans les tissus embryonnaires que dans les tissus adultes.

Les organismes pluricellulaires possèdent plusieurs mécanismes de régulation de la division cellulaire mettant en jeu différentes protéines. Il existe 5 types de protéines qui participent au contrôle de la croissance des cellules chez les mammifères : les facteurs de croissance, les récepteurs de facteurs de croissance, les transducteurs intracellulaires, les facteurs de transcription cellulaire et les protéines qui participent au contrôle du cycle cellulaire¹.

Nous nous sommes intéressés aux inhibiteurs compétitifs de l'ATP du domaine tyrosine kinase des récepteurs de facteur de croissance, plus particulièrement du FGFR₁, l'un des quatre récepteurs à activité tyrosine kinase des facteurs de croissance de fibroblastes. Les interactions FGF/FGFR sont impliquées dans le développement tumoral et dans la stimulation de l'angiogénèse. Ce récepteur constitue donc une cible privilégiée pour le développement de nouveaux agents anticancéreux.

Dans un premier temps, les différents facteurs de croissance seront présentés, puis les différents récepteurs des facteurs de croissance et leur rôle dans l'initiation du cycle cellulaire seront décrits et enfin les principales familles d'inhibiteurs des récepteurs de facteurs de croissance décrites dans la littérature seront détaillées.

II- Les récepteurs de facteurs de croissance

II.1- Généralités sur les facteurs de croissance

On peut distinguer cinq familles de facteurs de croissance :

- Famille des PDGF (Platelet Derived Growth Factor)
- Famille des EGF (Epidermal Growth Factor)
- Famille des FGF (Fibroblast Growth Factor)
- Famille des VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)
- Famille des IGF (Insuline Growth Factor) et des NGF (Neurotropes Growth Factor).

Les facteurs de croissance sont des polypeptides ubiquitaires de poids moléculaire peu élevé (6-30 KDa). Ils sont impliqués dans le contrôle de la croissance et la prolifération cellulaire; ils sont extrêmement variés et regroupés au sein de plusieurs familles. Leur rôle est de réguler la croissance et les fonctions des cellules grâce à une fixation de grande affinité sur des récepteurs cellulaires spécifiques.

La famille des facteurs de croissance des fibroblastes se révèle particulièrement intéressante au niveau de diverses pathologies. Les fibroblastes sont des cellules du tissu conjonctif qui est un tissu de soutien dont le rôle consiste à protéger les organes qu'il entoure.

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

Les FGF₁ et les FGF₂ sont les modulateurs positifs de la formation de nouveaux vaisseaux sanguins les plus étudiés avec les VEGF et les PDGF. Ils ont un rôle très important durant l'angiogénèse².

Aujourd'hui, il a été démontré que la thérapie antiangiogénique est l'une des approches les plus intéressantes pour la lutte contre le cancer. C'est la raison pour laquelle l'inhibition de l'activité des FGF apparaît comme un objectif des plus prometteurs pour découvrir de nouveaux agents anticancéreux³.

II.2- Généralités sur les récepteurs de facteurs de croissance

Les récepteurs des facteurs de croissance sont des glycoprotéines transmembranaires. Ils sont constitués d'une partie extracellulaire qui peut se lier avec des ligands polypeptidiques (les facteurs de croissance spécifiques correspondants), d'une partie transmembranaire structurée en hélice, et d'une partie intra-cytoplasmique constituée de différents domaines à activité tyrosine kinase qui traduit le signal de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule par l'intermédiaire d'une cascade de signaux jusqu'au noyau pour y induire les transcriptions nécessaires à la prolifération, la différenciation, la migration, etc... (Figure 4).^{1,4}

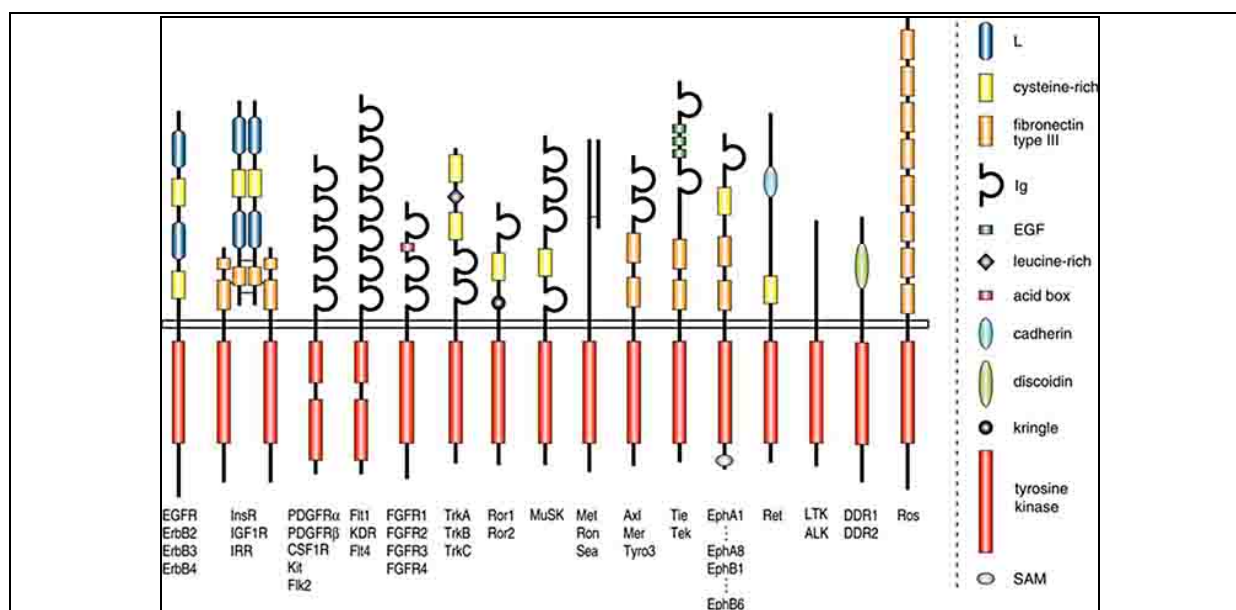


Figure 4 : Représentations schématiques des différents récepteurs avec leur partie extra-cytoplasmique (vers le haut) et leur partie intra-cytoplasmique, essentiellement constituée par différents domaines tyrosine-kinase.

II.3- Activation des récepteurs de facteur de croissance

La liaison du récepteur avec son facteur de croissance entraîne sa dimérisation, ce qui stimule le domaine tyrosine kinase de celui-ci. Cette stimulation aboutit à la transmission d'un

² Manetti, F.; Corelli, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2000**, 6, 1897-1924.

³ Klohs, W.D.; Hamby, J.M. *Curr. Opin. Biotech.* **1999**, 10, 544-549.

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

⁴ Hubbard, S.R. *Front. Biosci.* **2002**, 7, 330-340.

signal vers le noyau, par l'intermédiaire d'une cascade de phosphorylations initiées par le transfert d'un phosphate de l'ATP à un résidu tyrosine (Figure 5 et Figure 6).⁵

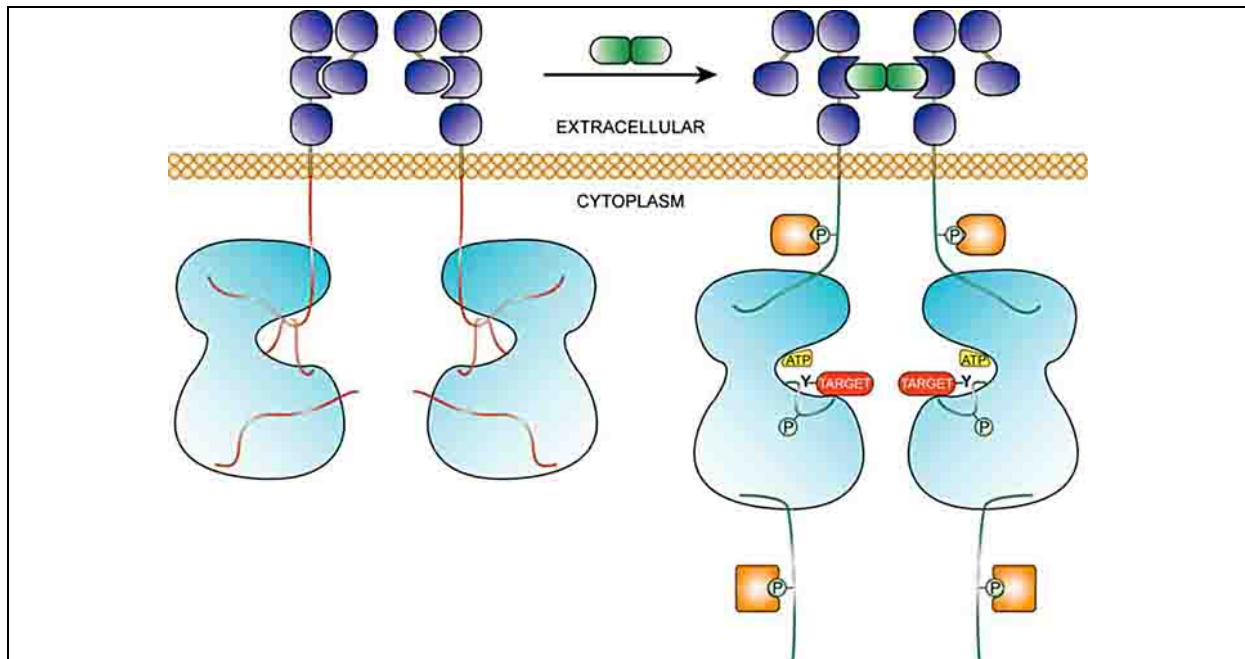


Figure 5 : Fixation du facteur de croissance à son récepteur, dimérisation du récepteur, ce qui entraîne la transmission du signal de l'extérieur à l'intérieur de la cellule.

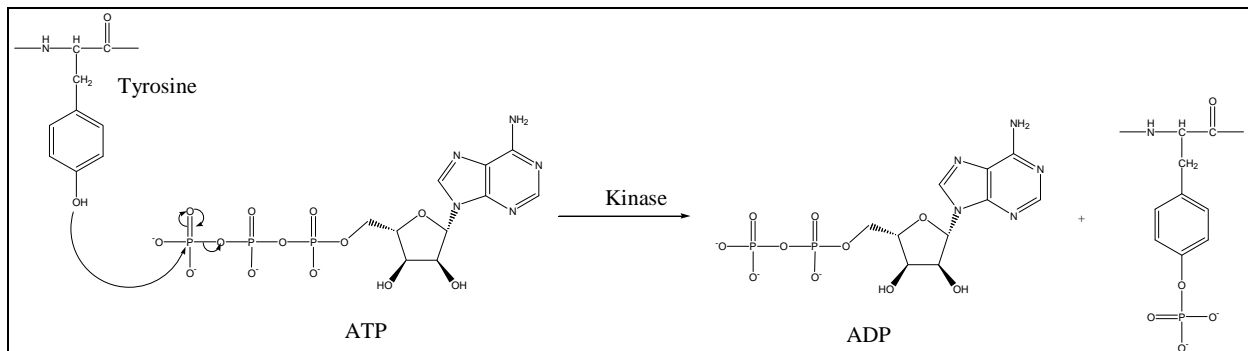


Figure 6 : Transfert d'un phosphate de l'ATP à un résidu tyrosine.

Ces phosphorylations sont dues à la présence de tyrosines kinases qui sont impliquées dans la transmission des signaux vers l'intérieur de la cellule, notamment pour l'initiation et le contrôle du cycle cellulaire. Ces tyrosines kinases sont des enzymes régulatrices majeures impliquées dans une grande variété de mécanismes physiologiques ou pathologiques comme la promotion tumorale.

Les étapes nécessaires à la transmission du signal sont donc :

- Fixation du ligand
- Dimérisation du récepteur
- Activation du domaine catalytique de la kinase :
 - auto-phosphorylation des tyrosines.
 - phosphorylation des substrats.
 - interaction avec des protéines cibles

⁵ Jones, S.M.; Kazlauskas, A. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 2413-2423.

Les réponses des cellules à ce moment sont multiples : changement de forme, l'adhérence de la cellule et les communications entre les cellules sont réduites, l'expression de plusieurs gènes est induite, le cycle cellulaire est alors activé pour garantir la croissance et la prolifération cellulaire.^{1,4,5}

II.4-Les FGFR (Fibroblast Growth Factor Receptor)

II.4.1- Généralités sur les FGFR^{6,7}

La famille des FGFR est composée d'un groupe de quatre récepteurs à activité tyrosine kinase homologues.

Les FGFR sont caractérisés par :

- Un domaine extracellulaire contenant la partie N-terminale de la protéine ainsi que deux ou trois domaines immunoglobulin-like (D1, D2 et D3) caractérisés par une conservation des ponts disulfures entre les résidus cystéines. Une partie acide composée d'une séquence de 4 à 8 acides aminés entre les domaines immunoglobulines-like D1 et D2 et une zone de liaison de l'héparine sont également présents au niveau du domaine extra-cellulaire des FGFR.

- Une région transmembranaire faisant la liaison entre le domaine extra- et le domaine intra-cellulaire.

- Un domaine intracellulaire contenant un domaine à activité tyrosine kinase qui est activé lorsque le facteur de croissance se lie à son récepteur en présence d'héparine sulfatée (HS).

II.4.2- Détermination expérimentale de la structure des dimères du FGFR

Une particularité de cette famille de récepteurs de facteurs de croissance vient du fait que contrairement à d'autres récepteurs qui sont dimériques, tels que les PDGFR, les FGFR sont des monomères qui sont incapables de dimériser par eux-même. Cette dimérisation est rendue possible par interaction avec le facteur de croissance correspondant (FGF) en présence d'héparine sulfatée (HS). Le modèle d'HS utilisé correspond à un décasaccharide qui peut-être décrit comme une hélice générée par la répétition d'un motif disaccharidique de type D-glucosamine et acide L-iduronique reliés par l'intermédiaire d'une liaison glycosidique α -1,4. Ces disaccharides sont sulfatés en trois positions : le groupement hydroxyle en position 2 de l'acide iduronique ainsi que le groupement amine en position 2 et le groupement hydroxyle en position 6 de la glucosamine (Figure 7a).

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

⁴ Hubbard, S.R. *Front. Biosci.* **2002**, 7, 330-340.

⁶ Manetti, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, 9, 399-409.

⁷ Stauber, D.J.; DiGabriele, A.D.; Hendrickson, W.A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 49-54.

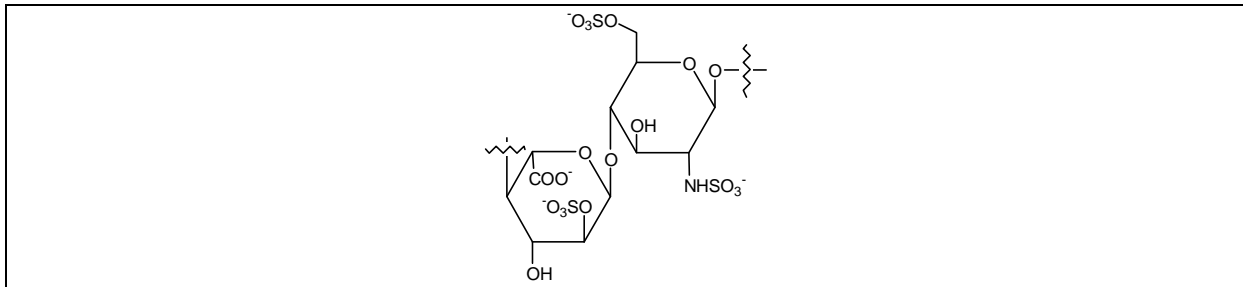


Figure 7a : Motif disaccharidique de type D-glucosamine et acide L-iduronique.

Des études de cristallographie aux rayons X réalisées sur un complexe entre FGF₂ et un variant naturel de FGFR₁ constitué des domaines immunoglobuline-like D2 et D3 ont permis de mettre en évidence la formation d'un dimère symétrique constitué de deux complexes FGF₂-FGFR₁. Dans chaque complexe, FGF₂ interagit fortement avec les domaines D2 et D3 ainsi qu'avec le linker entre ces deux domaines. Le dimère est stabilisé par des interactions entre FGF₂ et le domaine D2 du deuxième complexe ainsi que par l'établissement d'interactions fortes entre les domaines D2 de chaque récepteur. Les domaines D2 des deux récepteurs forment un canyon de potentiel positif qui serait le site de liaison avec l'HS (Figure 7b).⁸

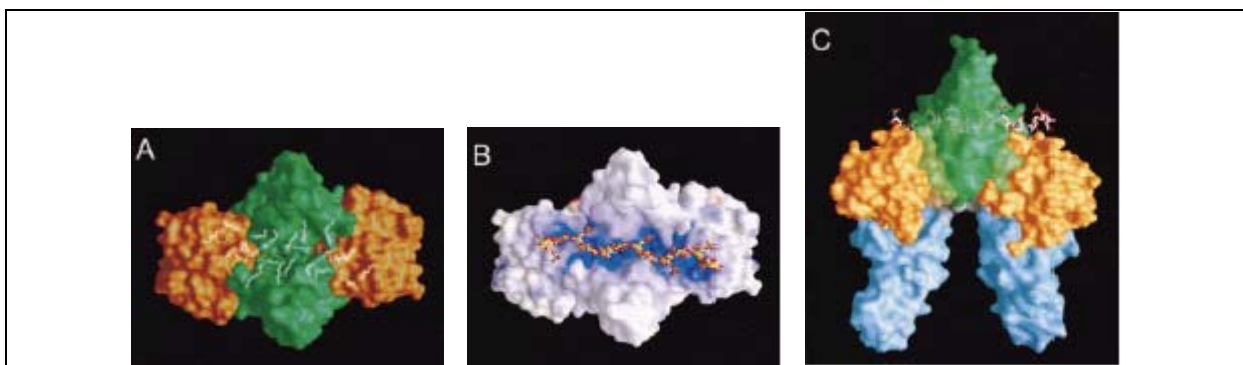


Figure 7b : Le pont de fixation de l'héparine.

- A- Vue du haut de la surface moléculaire du complexe dimérique FGF₂-FGFR₁. Le récepteur est coloré en vert et les deux FGF sont colorés en orange.
- B- Distribution des charges sur le complexe dimérique FGF₂-FGFR₁. La vue est la même que pour A. En bleu sont représentés les potentiels électrostatiques positifs et en rouge sont représentés les potentiels électrostatiques négatifs
- C- Docking manuel d'une héparine dans le pont de fixation de l'héparine dans le complexe dimérique.

L'héparine traverserait ce canyon et permettrait la formation d'un pont entre deux complexes 1 : 1 FGF : FGFR.

Afin de déterminer le rôle exact de l'héparine dans l'induction de la dimérisation des FGFR, la structure du complexe ternaire FGF₂ : FGFR₁ : HS a été étudiée par cristallographie aux rayons X. Contrairement à ce qui était attendu, à savoir la présence d'une seule HS, dans le canyon afin de permettre un pontage entre deux complexes FGF-FGFR, la structure du complexe obtenu (Figure 8) indique clairement la présence de deux décасaccharides dans le canyon.⁸

⁸ Schlessinger, J.; Plotnikov, A.N.; Ibrahim, O.A.; Eliseenkova, A.V.; Yeh, B.K.; Yaron, A.; Linhardt, R.J.; Mohammadi, M. *Mol. Cell* **2000**, 6, 743-750.

⁸ Schlessinger, J.; Plotnikov, A.N.; Ibrahim, O.A.; Eliseenkova, A.V.; Yeh, B.K.; Yaron, A.; Linhardt, R.J.; Mohammadi, M. *Mol. Cell* **2000**, 6, 743-750.

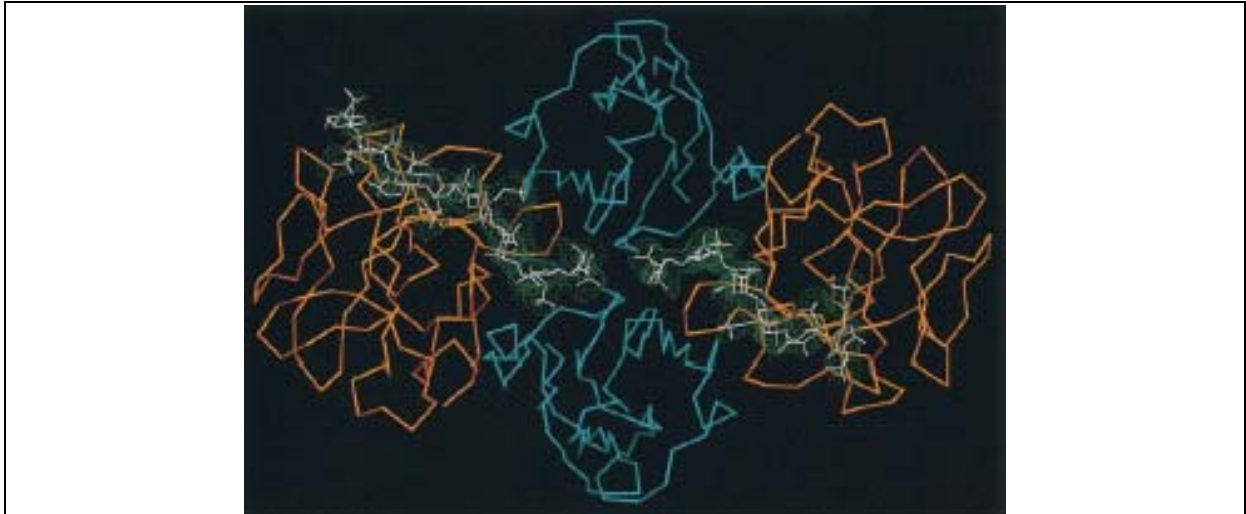


Figure 8 : Localisation des deux héparines dans le dimère des complexes FGF₂ (orange) : FGFR₁ (bleu).

Chaque décasaccharide établit au total trente liaisons hydrogène avec le FGF et les deux FGFR (Figure 9). Vingt cinq d'entre elles s'établissent entre une HS et un complexe 1 : 1 FGF : FGFR; les cinq liaisons hydrogènes restantes s'établissent quant à elles entre la même HS et l'autre complexe 1 : 1 FGF : FGFR. Les résidus lysines 160, 163, 172, 175 et 177 qui sont situés à la surface du domaine de liaison avec l'HS établissent neuf liaisons hydrogènes avec l'HS au sein d'un complexe 1 : 1 FGF : FGFR.

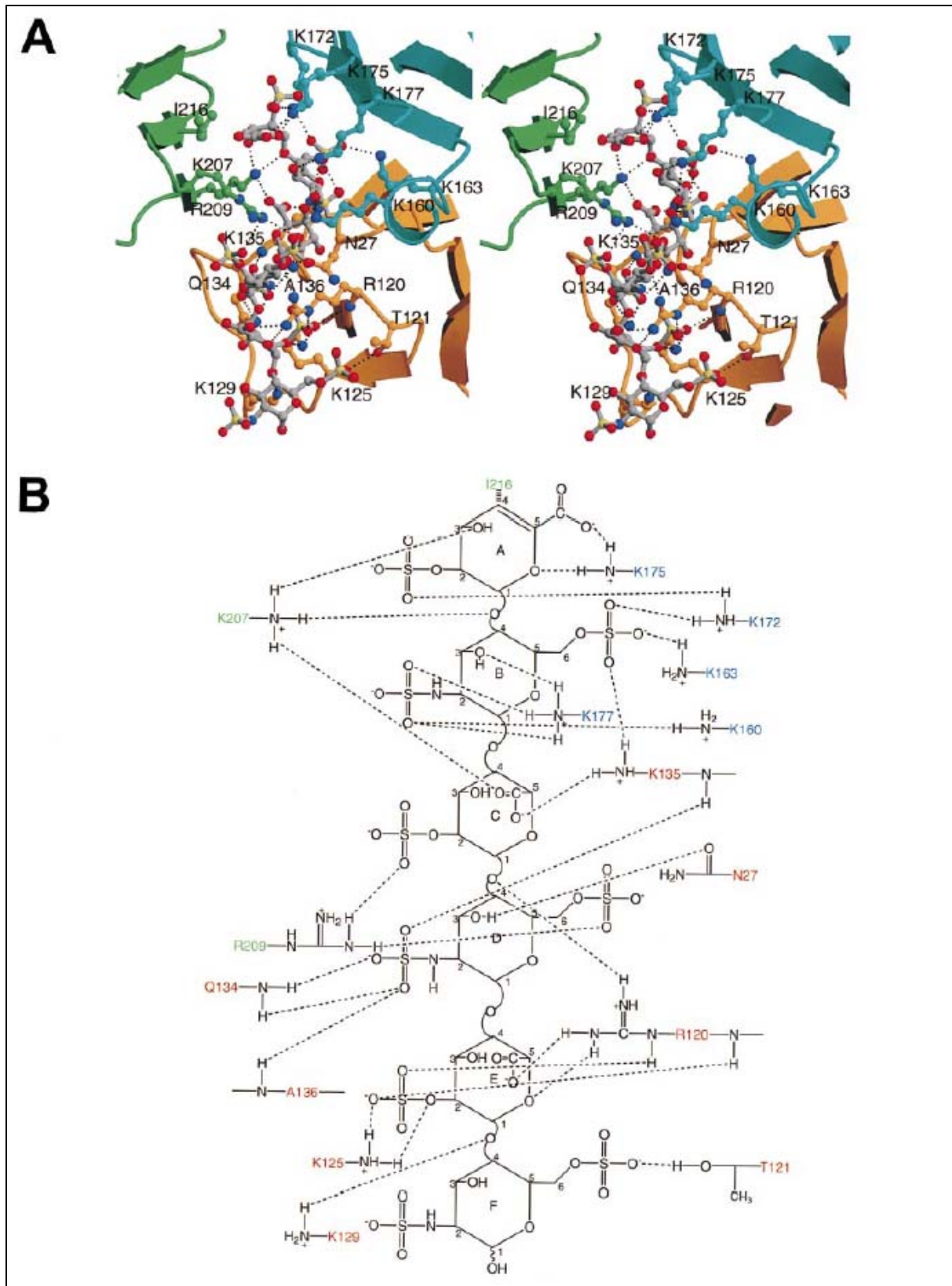


Figure 9 : Détail des interactions entre l'HS, le FGF et le FGFR.

- A- Les deux domaines D2 des FGFR sont colorés respectivement en cyan et en vert. Les lignes pointillées représentent des liaisons hydrogènes.
- B- Représentation schématique des interactions entre HS, FGF et FGFR. Les FGF sont colorés en rouge, les domaines D2 des deux FGFR sont colorés en bleu et en vert. Les lignes pointillées représentent des liaisons hydrogènes.

Le modèle proposé consiste donc en la formation d'un complexe ternaire stable 1 : 1 : 1 FGF : FGFR : HS. Un second complexe ternaire est ensuite recruté pour interagir avec le premier via :

- des contacts directs FGFR-FGFR
- des interactions entre le FGF d'un complexe et le FGFR de l'autre complexe ternaire
- des contacts indirects FGFR-FGFR induits par l'HS.

En l'absence d'HS, les contacts directs FGFR-FGFR et les interactions secondaires entre ligand et récepteurs ne permettraient pas une dimérisation suffisante.

II.4.3- Transduction du signal par les FGFR⁹

Comme nous venons de le voir, la dimérisation des FGFR fait intervenir des molécules d'HS. Cette dimérisation du récepteur est indispensable pour activer l'autophosphorylation des résidus tyrosines spécifiques dans le domaine cytoplasmique. Dans cette partie, nous allons nous intéresser plus particulièrement à la structure du domaine tyrosine kinase du FGFR₁ (FGFR₁K).

II.4.3.1- Aspects structuraux

La structure globale du FGFR₁K est constituée de deux lobes (Figure 10). La coordination de l'ATP s'effectue au niveau des résidus du domaine N-terminal alors que les liaisons avec les substrats peptidiques et les réactions de catalyse mettent en jeu les résidus du domaine C-terminal.

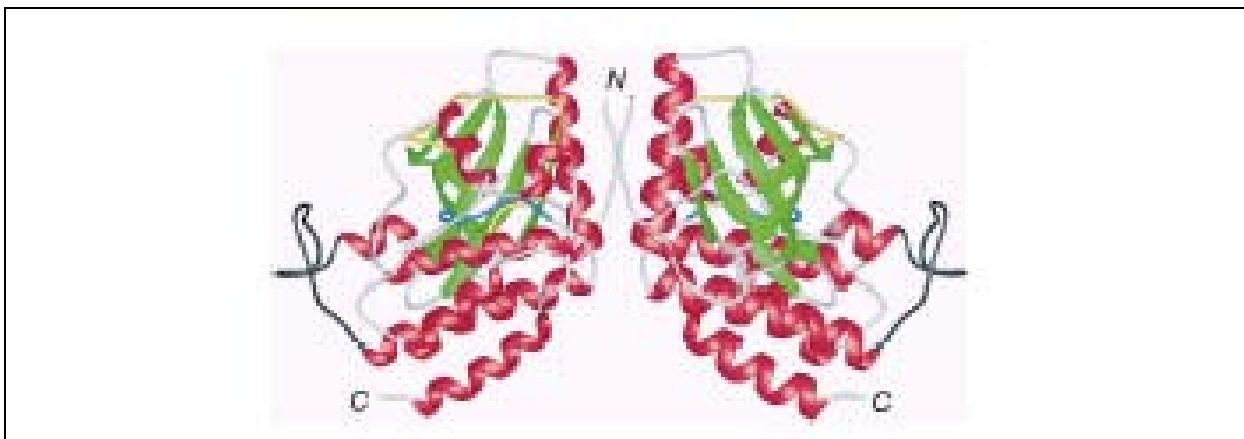


Figure 10 : Structure cristallographique de la forme dimérique du domaine tyrosine kinase du FGFR₁. Les hélices α sont colorées en rouge, les feuillets β en vert, les boucles de liaison des nucléotides en orange, les boucles catalytiques en bleu, les boucles d'activation en jaune et les chaînes latérales de Tyr653 et de Tyr654 en pourpre.

La partie N-terminale comprend cinq feuillets β antiparallèles (β 1- β 5) et une hélice α (α C). La partie C-terminale est composée de deux feuillets β (β 7 et β 8) ainsi que de sept hélices α (α D, α E, α EF, α F- α I) (Figure 11).

⁹ Mohammadi, M.; Schlessinger, J.; Hubbard, S.R. *Cell* **1996**, 86, 577-587.

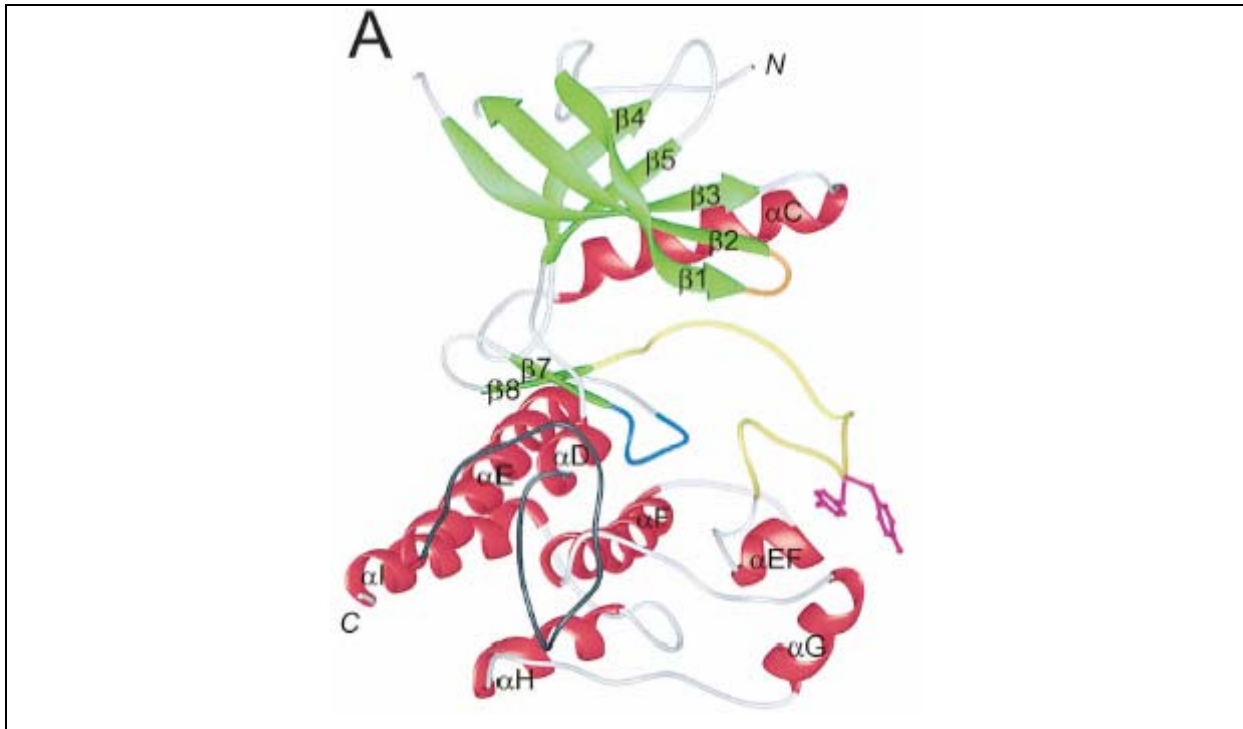


Figure 11 : Représentation du FGFR₁K. Les hélices α sont représentées en rouge, les feuillets β en vert, la boucle catalytique en bleu, la boucle d'activation en jaune et les chaînes latérales de Tyr653 et de Tyr654 en pourpre.

L'orientation relative des parties N- et C-terminales (disposition ouverte) est caractéristique de la conformation des kinases inactives. En effet, des interactions stériques entre des résidus de l'hélice α C et la triade DFG située au début de la boucle d'activation (séquence présente dans de nombreuses kinases correspondant dans ce cas à une succession acide aspartique 641, phénylalanine 642 et glycine 643) contribuent à cette conformation ouverte. Pour que l'autophosphorylation ait lieu il suffit que de l'ATP et du magnésium soient présents.

II.4.3.2- Site actif et liaison avec l'AMP-PCP

La boucle catalytique est située entre l'hélice α E et le feuillet β 7. Elle contient un résidu acide aspartique 623; la présence d'un résidu Asp dans la boucle catalytique est une caractéristique commune à toutes les kinases. Ce résidu pourrait servir de catalyseur basique pour la réaction de transfert d'un phosphate sur un résidu tyrosine. En effet, dans le domaine tyrosine kinase non phosphorylé de l'IR (Insulin Receptor) (IRK) qui présente des analogies structurales avec FGFR₁, le résidu Asp1132 présent dans la boucle catalytique est engagé dans une liaison hydrogène avec le résidu Tyr1162, qui est l'une des trois tyrosines sites d'autophosphorylation de ce récepteur. Le groupement hydroxyle de ce résidu tyrosine est probablement déjà en position pour le transfert d'un phosphate (Figure 12).

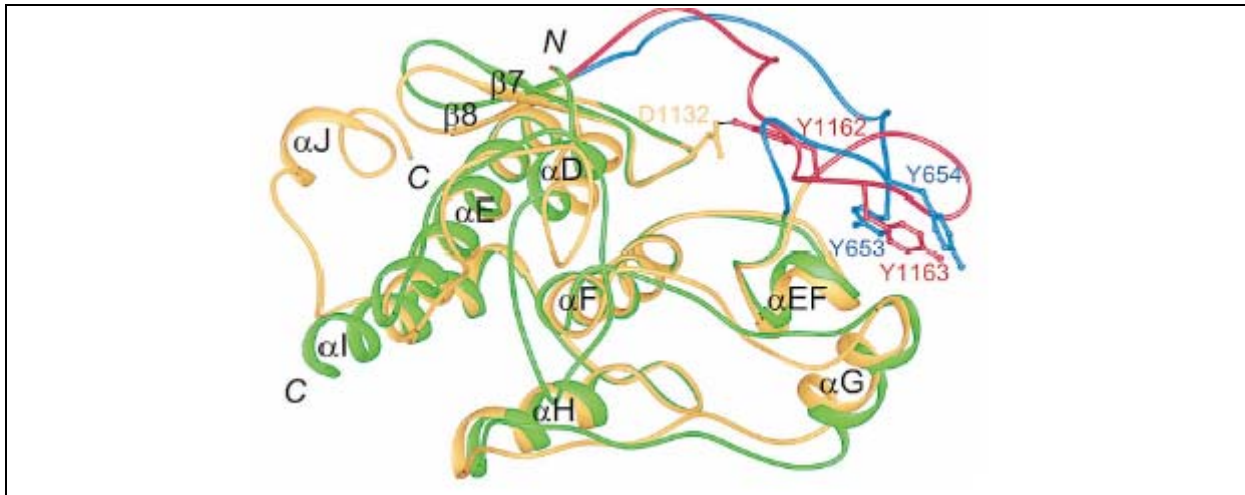


Figure 12 : Représentation de la partie C-terminale du FGFR₁K et de l'IRK. Les atomes C α des hélices α ont été superposés. Le FGFR₁K est coloré en vert et l'IRK est coloré en orange. Les boucles d'activation des FGFR₁K et IRK sont colorés respectivement en bleu et en rouge. Les sites d'autophosphorylation Tyr1162 et Tyr1163 (et la base catalytique Asp1132) pour l'IRK ainsi que Tyr653 et Tyr654 pour le FGFR₁K sont représentés. La liaison hydrogène entre Asp1132 et Tyr1162 est représentée par un trait noir.

En ce qui concerne FGFR₁, on retrouve deux sites d'autophosphorylation qui sont conservés dans tous les FGFR, les résidus Tyr653 et Tyr654. Par analogie avec ce que nous venons de voir pour l'IR, on peut penser que le résidu Tyr653 du domaine tyrosine kinase non phosphorylé est lié au résidu Asp623 dans le site actif.

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

Le motif adénine de l'AMP-PCP établit deux liaisons hydrogène d'une part entre le N1 et l'hydrogène de l'amide du résidu Ala564 et d'autre part entre le N6 et l'oxygène du carbonyle du Glu562 (Figure 13).

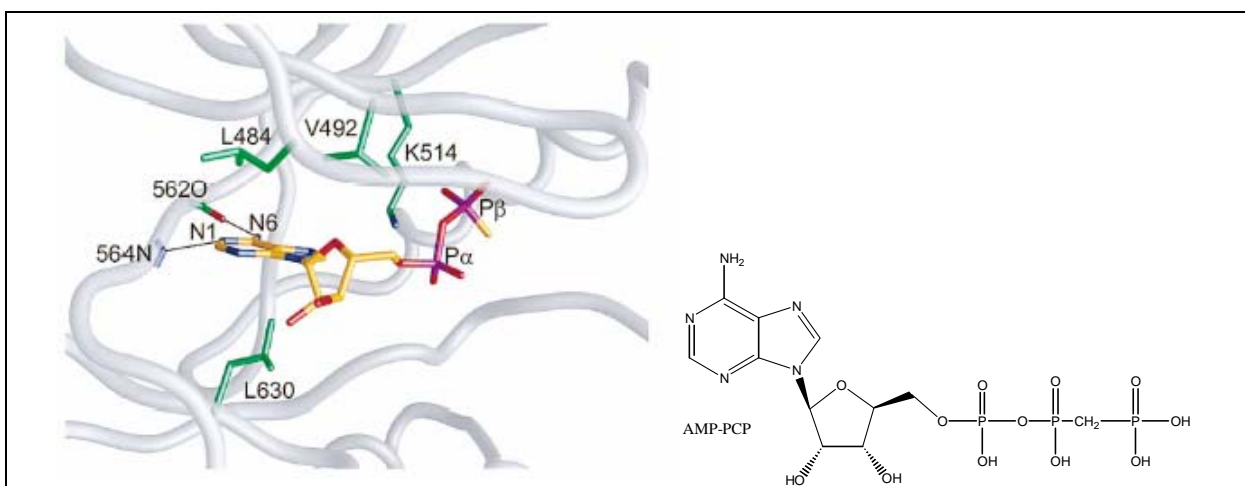


Figure 13 : Interactions de l'AMP-PCP avec le site actif du FGFR₁K. Les couleurs sont les mêmes que sur la figure précédente (12). Les atomes de carbone de l'AMP-PCP sont colorés en orange et les atomes de phosphore en pourpre. Les liaisons hydrogène sont représentées par des traits noirs.

Le cycle de l'adénine est entouré d'un côté par la Leu484 et la Val492 de la partie N-terminale tandis que de l'autre côté se trouve le résidu Leu630 de la partie C-terminale. Les groupements hydroxyles du ribose ne forment pas de liaisons hydrogène directes avec la protéine.

En fait, peu d'interactions sont observées entre l'AMP-PCP et le FGFR₁K non phosphorylé.

II.4.3.3- Mécanisme d'auto-inhibition

La structure du domaine kinase de l'IR suggère qu'il existe un mécanisme d'auto-inhibition. En effet, les sites d'interaction avec les peptides substrats et l'ATP sont bloqués par des résidus de la boucle d'activation. La stimulation de l'activité kinase par autophosphorylation résulterait principalement de la stabilisation de la boucle d'activation dans une conformation «non inhibitrice», ceci par l'intermédiaire d'interactions entre des résidus chargés positivement et des phosphotyrosines.

Au niveau de la boucle d'activation du FGFR₁K, les résidus tyrosine ne bloquent pas l'accès au site ATP mais l'extrémité C-terminale de cette boucle interfère avec le site de liaison d'une tyrosine substrat.

En effet, la position du résidu Arg661 et du motif pyrrolidine de la Pro663 (ce dernier étant présent dans toutes les tyrosine kinases) gêne l'interaction avec une tyrosine substrat. Relativement peu d'interactions stabilisent la conformation «inhibitrice» de la boucle d'activation de FGFR₁K. On peut néanmoins noter que la chaîne latérale de l'Arg661 est engagée dans une liaison hydrogène avec l'oxygène du carbonyle de la Gly697 située entre les hélices α F et α G ainsi qu'avec une molécule d'eau (Figure 14).

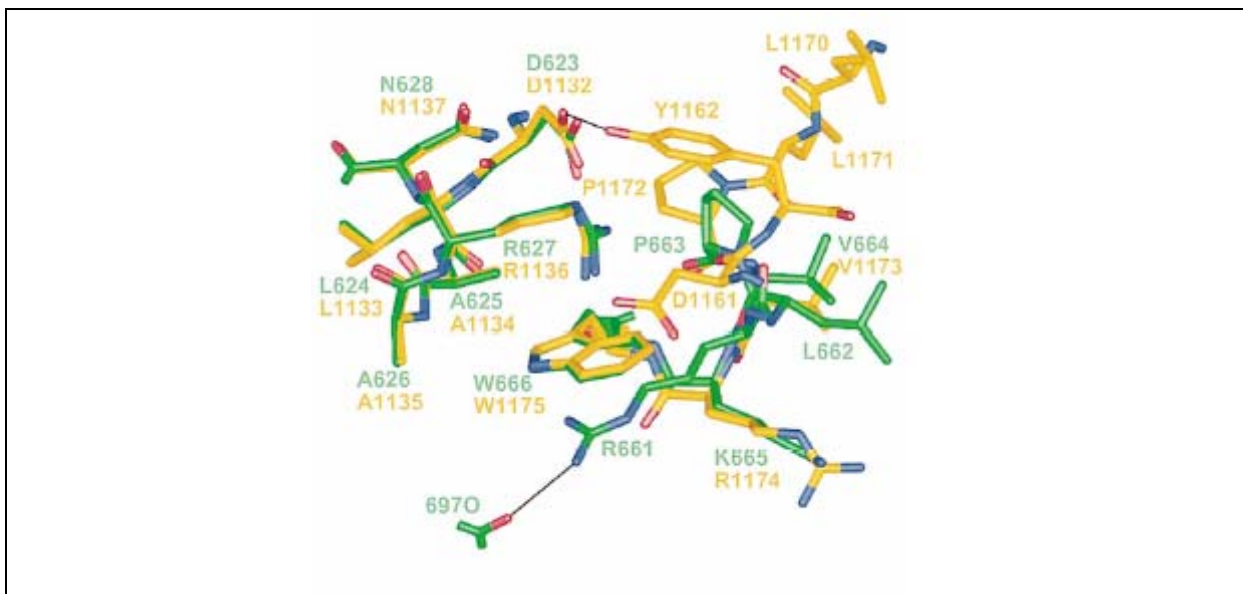


Figure 14 : Représentation des sites actifs du FGFR₁K et de l'IRK. Les atomes C α de la boucle catalytique ont été superposés. Les couleurs sont les mêmes que dans la figure 12. Les liaisons hydrogène sont représentées par un trait noir.

II.4.3.4- Résidus tyrosine, sites d'autophosphorylation

En plus des deux résidus tyrosine phosphorylables (Tyr653 et Tyr654) situés dans la boucle d'activation, il en existe quatre autres (Figure 15):

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

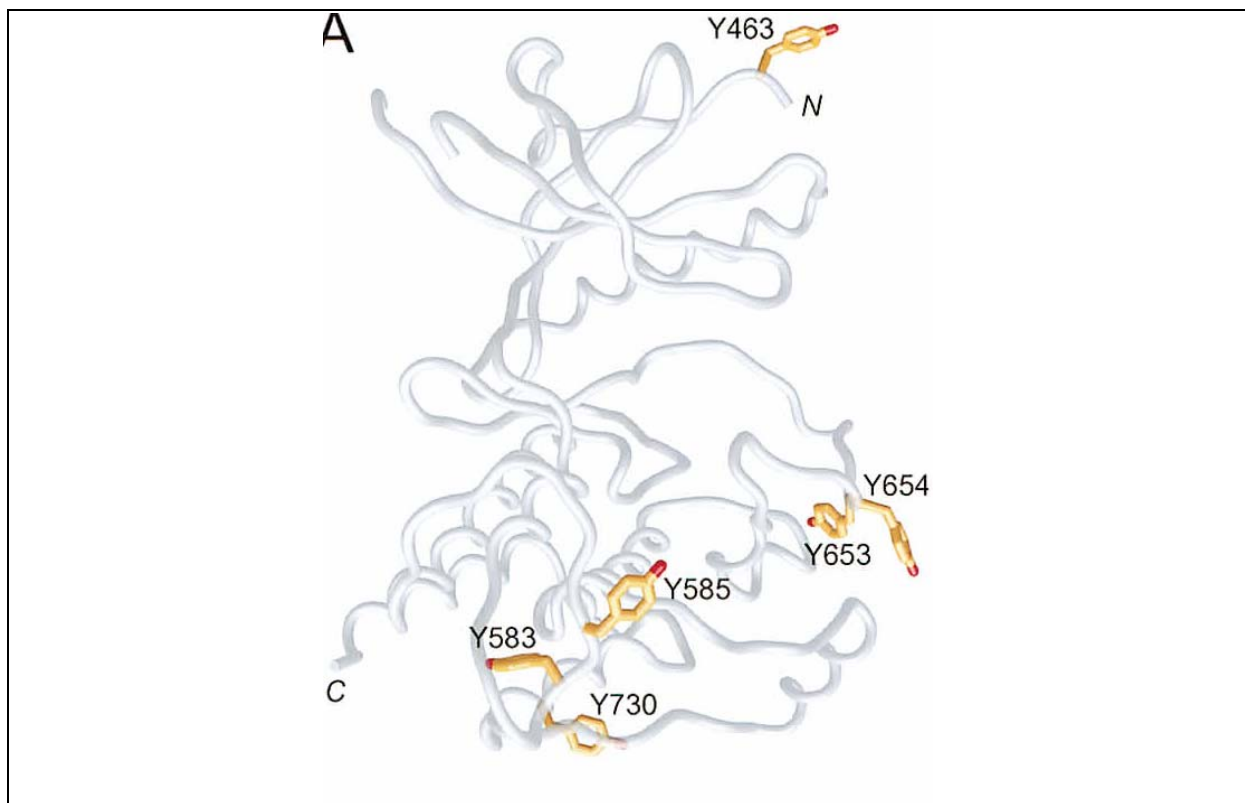


Figure 15 : Position des tyrosines des sites d'autophosphorylation dans le domaine kinase du FGFR₁.

Ces résidus sont plus ou moins conservés dans les différents FGFR de mammifères. Les Tyr463 et 585 sont présents dans FGFR₁ et FGFR₂, la Tyr583 dans FGFR₁₋₃ et la Tyr730 dans FGFR₁₋₄.

Les résidus Tyr730, Met732 et Met733 sont masqués ce qui sous-entend que l'autophosphorylation de la Tyr730 n'est possible qu'après un dépliement de l'hélice α H. Les cinq autres sites d'autophosphorylation sont situés dans des zones relativement flexibles. La position relative de ces résidus par rapport aux sites actifs indique que les réactions d'autophosphorylation se feraient en *trans* (d'un récepteur à un autre). Malgré le fait que les résidus Tyr653 et Tyr654 soient assez proches du site actif pour être autophosphorylés en *cis*, des données cinétiques sont plus favorables avec une autophosphorylation en *trans* de ces deux résidus.

Ces phosphotyrosines vont ensuite soit stimuler l'activité kinase du récepteur, soit servir de site de liaison à des protéines, possédant des domaines SH2 (Src Homology 2) ou PTB (PhosphoTyrosine Binding), intervenant en aval dans la transduction du signal (Figure 16).

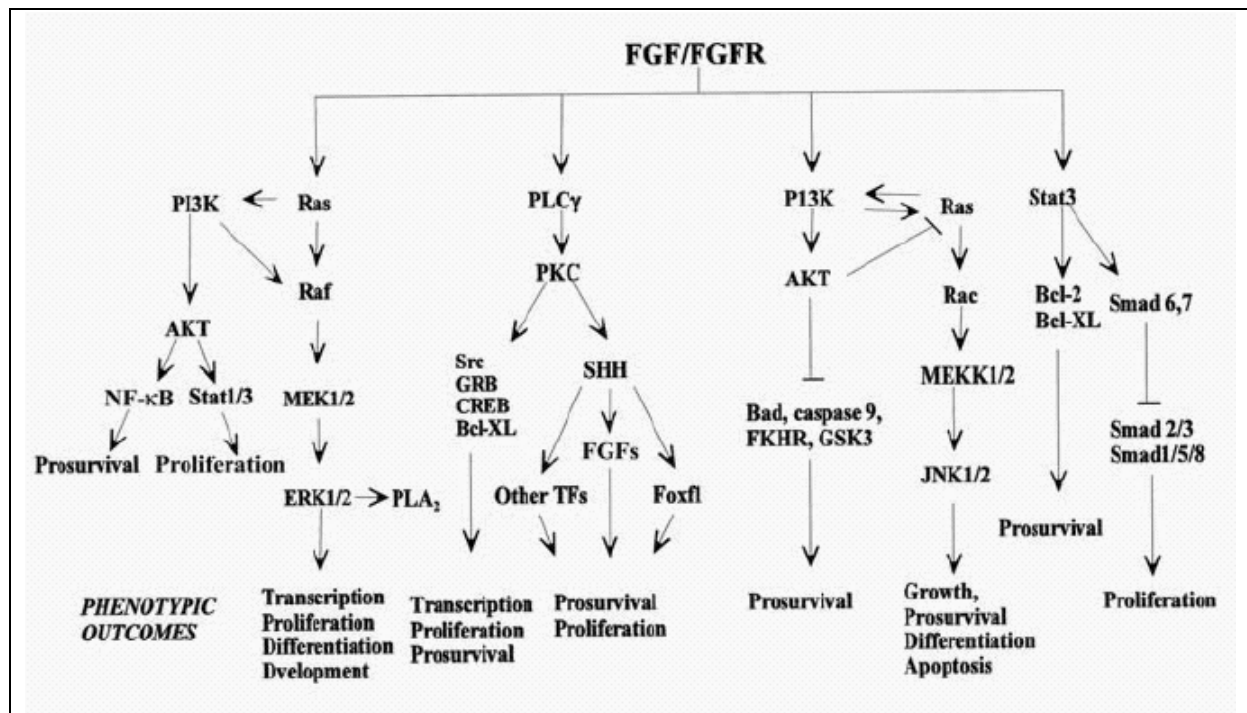


Figure 16 : Transduction du signal par le FGFR.

L'autophosphorylation des Tyr653 et 654 est indispensable pour stimuler l'activité kinase du récepteur. La Tyr766 est un autre site d'autophosphorylation dont nous n'avons pas parlé jusqu'à maintenant. Ce résidu est situé dans la partie C-terminale et constitue après phosphorylation un site d'interactions fortes avec la phospholipase $C\gamma$.

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

II.4.4- Les FGFR comme cibles thérapeutiques^{2,10}

Les facteurs de croissance des fibroblastes (FGF), surtout les FGF₁ et les FGF₂, ainsi que leurs récepteurs sont impliqués dans de nombreuses activités physiologiques ou pathologiques. En effet, les FGF₁ et les FGF₂ ont des effets dans les domaines de l'embryologie et du développement, mais aussi dans l'angiogénèse et la progression tumorale.

Récemment, il a été montré que ces facteurs de croissance ont une influence sur la prolifération et la différenciation *in vitro* et *in vivo* de diverses cellules. De plus, ils sont impliqués dans le contrôle d'évènements complexes qui ont lieu dans de nombreux organes durant la phase de développement embryonnaire ou bien dans des organes tels que les ovaires chez l'adulte.

Les facteurs de croissance des fibroblastes et leurs récepteurs ont donc un rôle biologique important dans les tissus normaux. En effet, ils sont impliqués dans :

² Manetti, F.; Corelli, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2000**, *6*, 1897-1924.

¹⁰ Madhusudan, S.; Ganesan, T.S. *Clinic. Biochem.* **2004**, *37*, 618-635.

- la formation et la régénération des muscles
- le développement du système nerveux
- la formation des os et du cartilage
- la morphogénèse des follicules ovariens
- la régulation et la croissance des cellules du foie et de la prostate
- l'angiogénèse et la progression tumorale

La surexpression des FGFR est généralement associée aux lymphomes et aux tumeurs solides (FGFR₁), aux cancers du sein, de l'estomac et de la prostate (FGFR₂) ainsi qu'aux mélanomes multiples (FGFR₃).

II.5- Les PDGFR (Platelet Derived Growth Factor Receptor)

*II.5.1- Généralités sur les PDGFR*¹¹

Il existe deux récepteurs de PDGF appelés PDGFR- α et PDGFR- β . Ces récepteurs possèdent cinq domaines immunoglobuline dans leur partie extra-cytoplasmique.

Les cibles cellulaires classiques pour les PDGF sont les fibroblastes et les fibres musculaires, qui ont à la fois des récepteurs α et β . D'autres cibles expriment également ces récepteurs (un seul ou les deux en même temps) : les cellules du système nerveux central (α et β), les megakaryocytes (seulement α) et les cellules capillaires endothéliales (seulement β).

Les récepteurs α et β des PDGF, homo ou hétérodimères, induisent des effets cellulaires similaires, mais pas identiques.

Les membres de la famille des PDGF sont des molécules dimériques, dont il existe trois isoformes, homo ou hétérodimères de chaînes polypeptidiques A et B, qui sont parfaitement caractérisées (PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB). Une autre isoforme homodimérique a été découverte récemment : PDGF-CC. Dans l'état actuel des connaissances, on ne sait toujours pas si on peut avoir des hétérodimères avec cette chaîne polypeptidique C.

Comme les isoformes des PDGF sont des molécules dimériques, leur liaison au récepteur provoque la dimérisation de celui-ci. Les chaînes A et C des PDGF se lient au récepteur α , tandis que la chaîne B peut se lier aux récepteurs α et β . On peut donc conclure que les PDGF-AA et les PDGF-CC induisent les récepteurs dimériques α - α , que le PDGF-AB induit des récepteurs α - α ou α - β et que le PDGF-BB peut induire les trois formes dimériques de récepteurs (Figure 17).

¹¹ Ostman, A.; Heldin, C.-H. *Adv. Cancer Res.* **2001**, 80, 1-38.

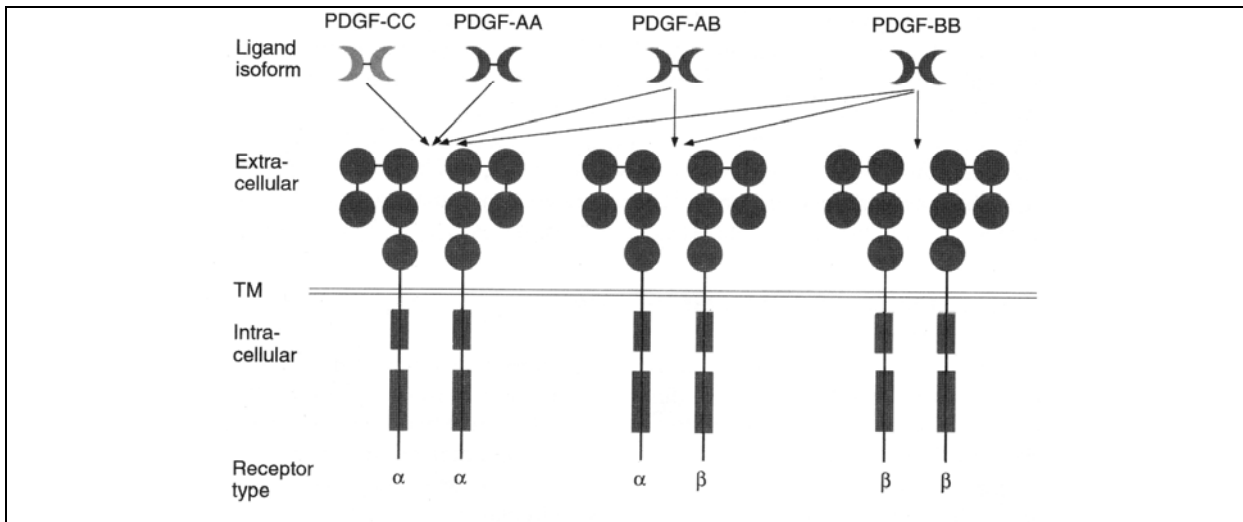


Figure 17 : Les différents dimères de récepteurs obtenus après fixation des PDGF connus.

La dimérisation des récepteurs rapproche les parties intracellulaires l'une de l'autre, ce qui favorise spécifiquement les autophosphorylations des résidus tyrosine. Ceci provoque l'activation du domaine tyrosine kinase des récepteurs, ce qui va permettre la transmission du signal, par l'intermédiaire d'une machinerie protéique complexe, de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule et aboutir à diverses réponses cellulaires telles que la croissance cellulaire (Figure 18).

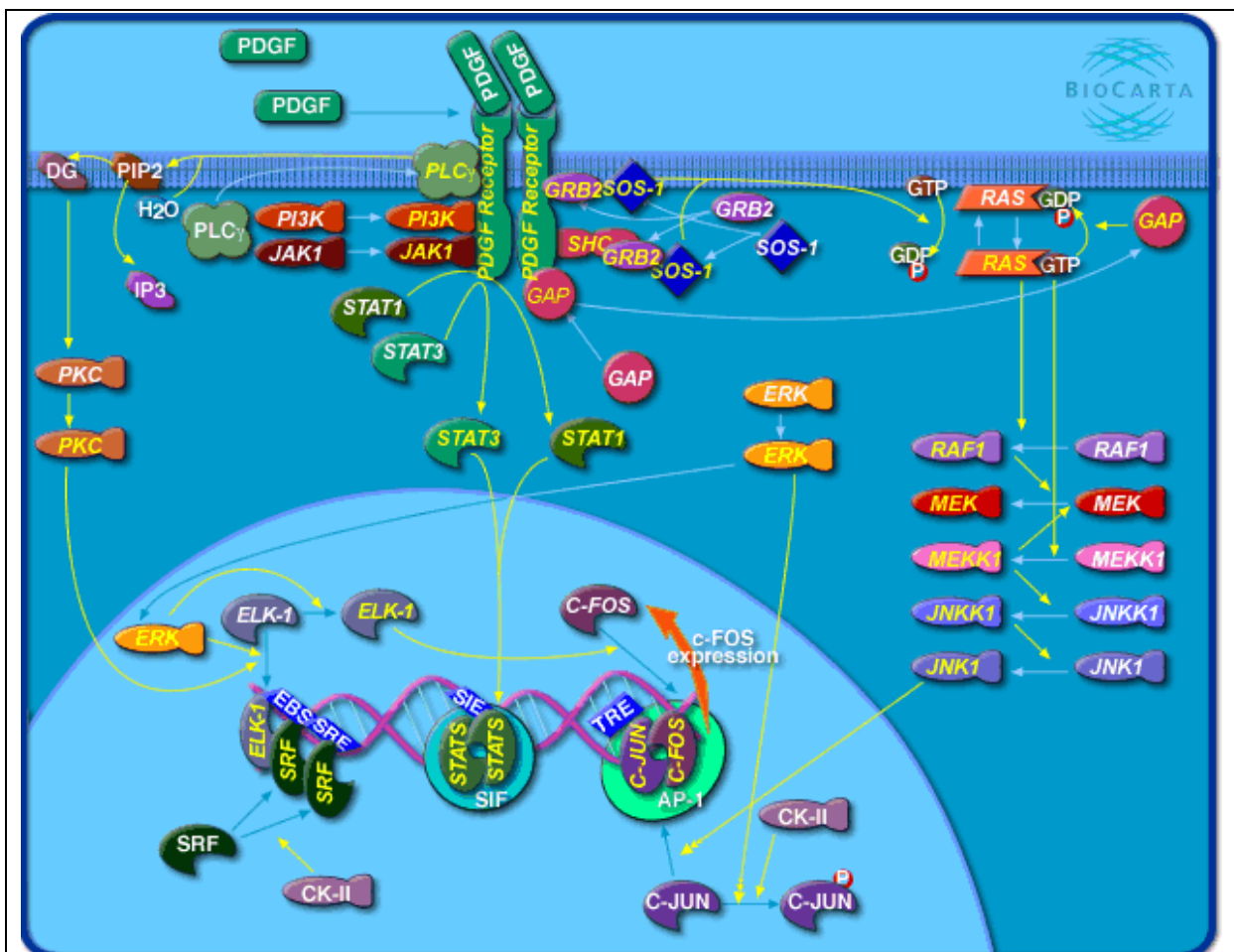


Figure 18 : Transduction du signal par les PDGFR (d'après le site <http://www.biocarta.com>).

II.5.2- Les PDGFR comme cibles anticancéreuses

Les PDGFR sont impliqués dans un certain nombre de cancers. La surexpression du PDGFR- α est associée à des gliomes, des glioblastomes et des cancers des ovaires. Celle du PDGFR- β est associée à des leucémies et des gliomes.¹⁰

II.6-Les EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)

II.6.1- Généralités sur les EGFR^{12,13}

L'EGFR diffère des autres récepteurs à activité tyrosine kinase car il n'existe que sous forme homodimérique. La région de fixation du ligand contient deux régions riches en cystéine qui peuvent se lier avec différents ligands: l'EGF et sept autres ligands, appelés EGF-like: l'HB-EGF (Heparin-binding EGF), l'amphiréguline, le TGF- α (Transforming Growth Factor α), la betacelluline, l'épiréguline, l'épigène et le crypto.

Les EGF-like ligands, sont des pro-ligands qui sont activés par des métallo-protéases. Une fois que l'activation de ces pro-ligands est effectuée, ceux-ci sont capables de se lier aux EGFR (Figure 19).

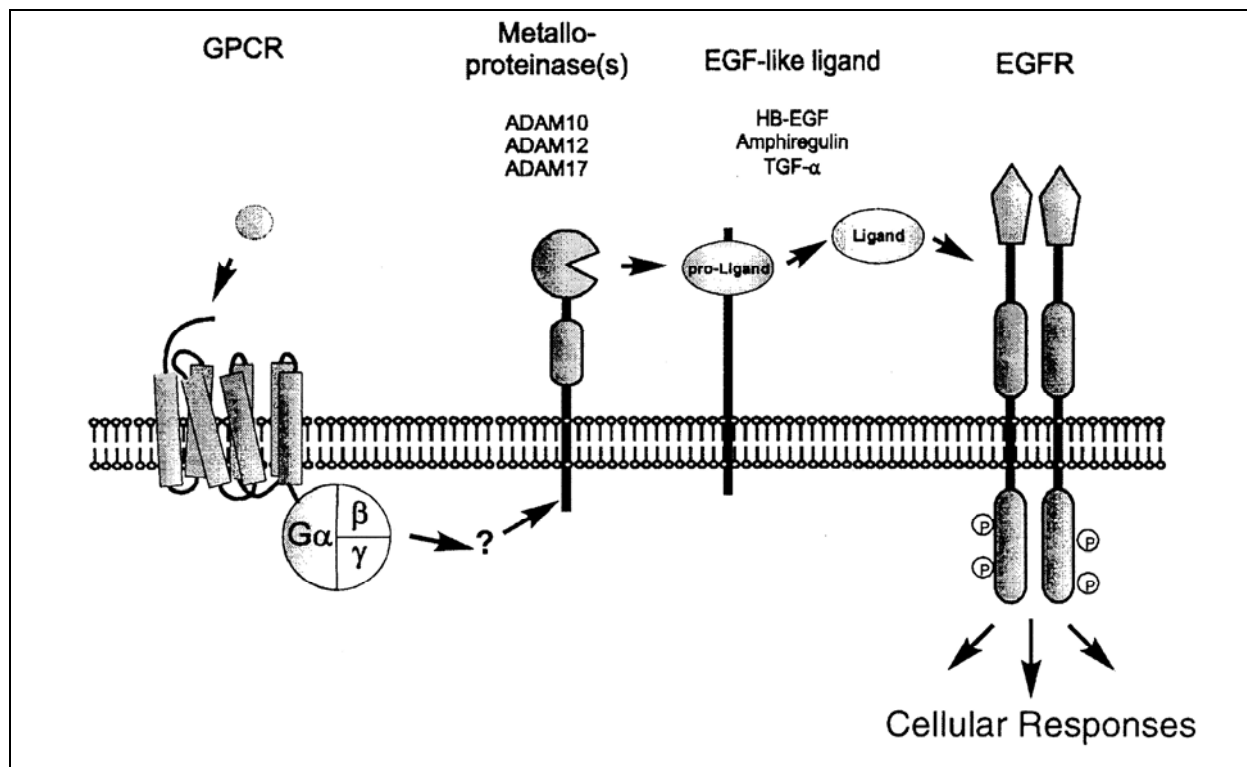


Figure 19 : Mode d'action des facteurs EGF-like.

¹⁰ Madhusudan, S.; Ganesan, T.S. *Clinic. Biochem.* **2004**, 37, 618-635.

¹² Fischer, O.M.; Hart, S.; Gschwind, A.; Ullrich, A. *Biochem. Soc. Trans.* **2003**, 31, 1203-1208.

¹³ Haluska, P.; Adjei, A.A. *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2001**, 2, 280-286.

A l'heure actuelle, trois autres membres sont connus dans la famille des EGFR : *erbB2* (HER-2), *erbB3* (HER-3), *erbB4* (HER-4). Les *erbB3* et *erbB4* sont des récepteurs de l'héréguline, tandis que le ligand de *erbB2* n'est pas encore connu à ce jour.

La liaison des EGF sur la partie extracellulaire du récepteur va l'activer et par la suite entraîner l'autophosphorylation de deux molécules de récepteur, conduisant à l'activation du site kinase et à une cascade de signaux intracellulaires (Figure 20).

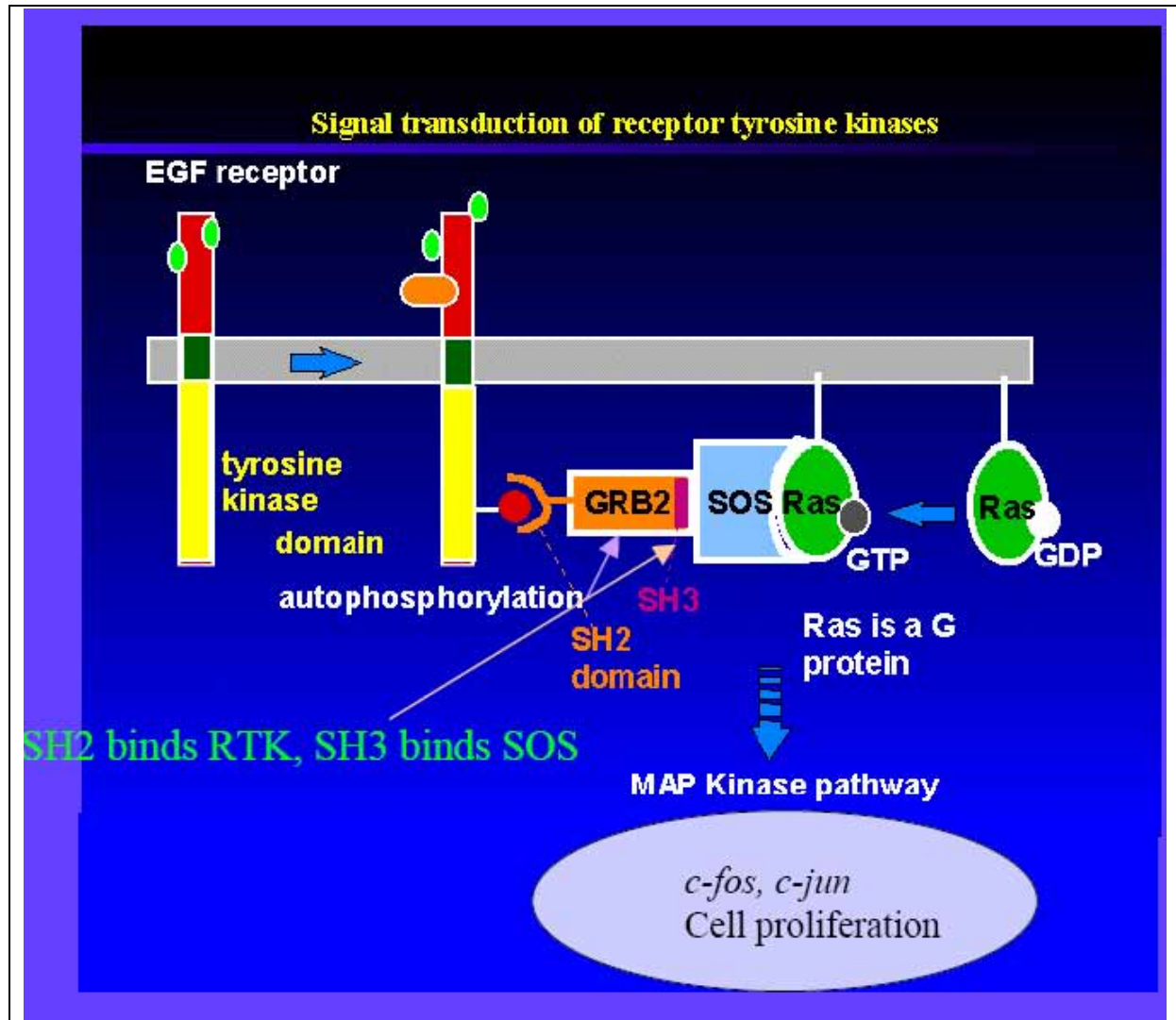


Figure 20 : Transduction du signal par les EGFR (d'après Rakesh Kumar, <http://gsbs.uth.tmc.edu/tutorial/kumar.html>).

II.6.2- Les EGFR comme cibles anticancéreuses¹⁰

La surexpression des EGFR est impliquée dans un certain nombre de cancers. L'EGFR (HER-1) est impliqué, entre autre dans les cancers du sein, des ovaires, des poumons ainsi que dans des glioblastomes. L'*erbB2* (HER-2) est également impliqué dans des cancers du sein, des ovaires, des poumons, mais aussi dans des cancers de l'estomac, du colon et des

¹⁰ Madhusudan, S.; Ganesan, T.S. *Clinic. Biochem.* **2004**, *37*, 618-635.

voies intestinales. L'*erbB3* (HER-3) est impliqué dans les cancers du sein. Enfin, l'*erbB4* (HER-4) est impliqué dans les cancers du sein et de la granulosa.

II.7-Les VEGFR (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor)^{13,14}

Les VEGF existent sous cinq isoformes qui sont des variants d'épissages: VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆ et VEGF₁₄₅ se lient à trois récepteurs de haute affinité: VEGFR₁ (appelé aussi Flt-1: Fms-like tyrosine kinase), VEGFR₂ (appelé aussi KDR: kinase insert domain-containing receptor ou bien Flk-1: fetal liver kinase-1 chez la souris), VEGFR₃ et Tie2 (endothelium specific receptor tyrosine kinase 2). Ces récepteurs sont des récepteurs monomériques de surface des cellules endothéliales (Figure 21).

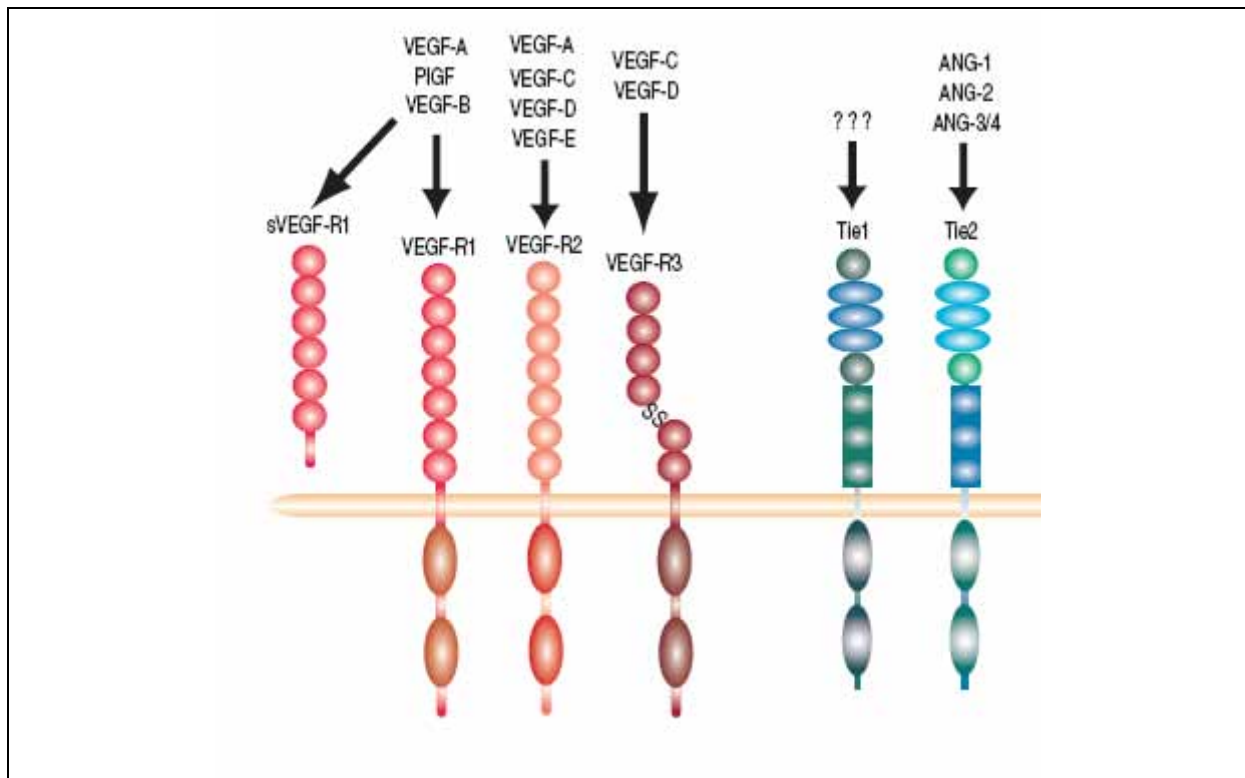


Figure 21 : Représentation schématique des VEGFR (d'après le site <http://www.sigma-aldrich.com>).

Les VEGF stimulent, lorsqu'ils se lient à leur récepteur spécifique, la croissance des cellules endothéliales durant le processus d'angiogénèse. En effet, la fixation d'un VEGF sur deux récepteurs proches, provoque leur dimérisation, ce qui induit l'activation par phosphorylation du domaine intracellulaire tyrosine kinase et va ainsi activer la transmission d'une cascade de signaux intracellulaires selon le même processus que pour les PDGFR (Figure 22).

¹³ Haluska, P.; Adjei, A.A. *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2001**, 2, 280-286.

¹⁴ Manley, P.W.; Bold, G.; Brüggem, J.; Fendrich, G.; Furet, P.; Mestan, J.; Schnell, C.; Stolz, B.; Meyer, T.; Meyhack, B.; Stark, W.; Strauss, A.; Wood, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, 1697, 17-27.

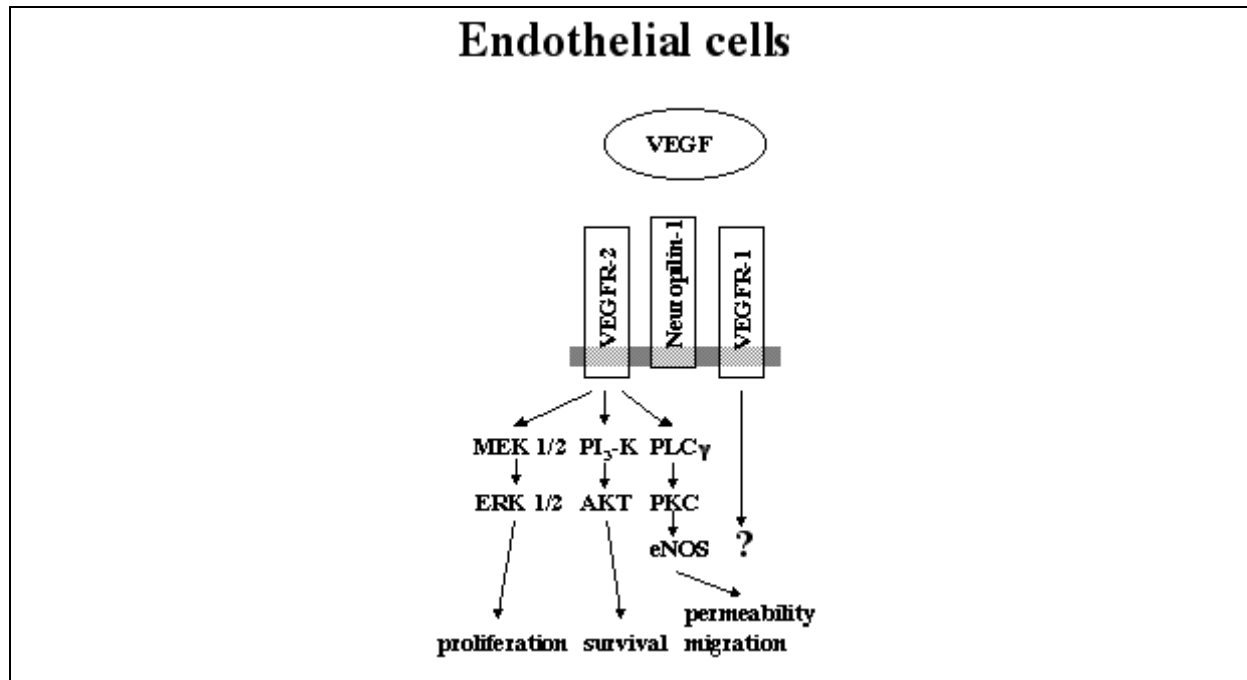


Figure 22 : Transduction du signal par les VEGFR.

La prolifération des cellules endothéliales et leur développement en nouveaux vaisseaux sanguins est la réponse à cette cascade de signaux. En plus d'être des stimulants de l'angiogénèse, les VEGF et leurs récepteurs sont aussi des agents importants pour le maintien de l'intégrité et de la perméabilité des vaisseaux sanguins.

Les VEGFR ne sont pas impliqués spécifiquement dans certaines tumeurs, mais ils sont impliqués dans l'angiogénèse des tumeurs, les inhiber paraît être un bon compromis pour lutter efficacement contre la progression tumorale et la généralisation du cancer dans le corps humain par métastases.

II.8-Les IGFR (Insulin Growth Factor Receptor) et les NGFR (Neurotrophe Growth Factor)

Les IGFR diffèrent des autres récepteurs de facteurs de croissance car ils ont une structure hétérotétramérique. Ils possèdent deux chaînes α et β , liées par deux ponts disulfure, ces deux dimères étant reliés entre eux par un pont disulfure entre les deux chaînes α afin de stabiliser le récepteur (Figure 23).¹⁵ Ils présentent cependant des ressemblances structurales avec les EGFR par leur domaine extracellulaire riche en cystéines.

¹⁵ Ullrich, A.; Schlessinger, J. *Cell* **1990**, 61, 203-212.

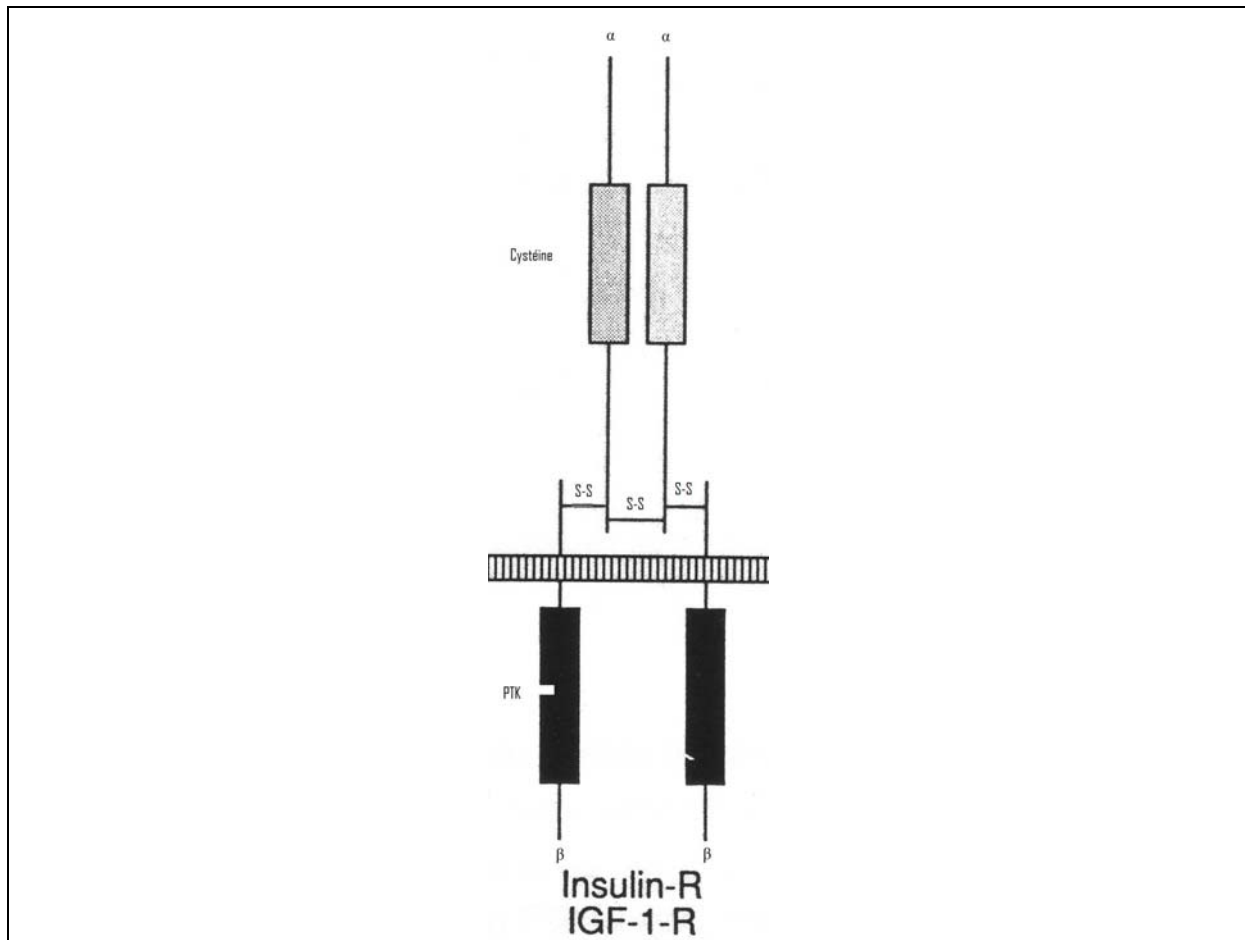


Figure 23 : Représentation schématique des IGFR.

Avant la liaison du ligand sur son récepteur, celui-ci est déjà sous forme de dimère, mais la liaison du facteur de croissance sur son récepteur dimérique stabilisé par un pont disulfure va provoquer des changements conformationnels à l'intérieur du complexe, ce qui provoquera les autophosphorylations et ainsi activera le site kinase afin de provoquer des cascades de signaux intracellulaires (Figure 24).¹⁵

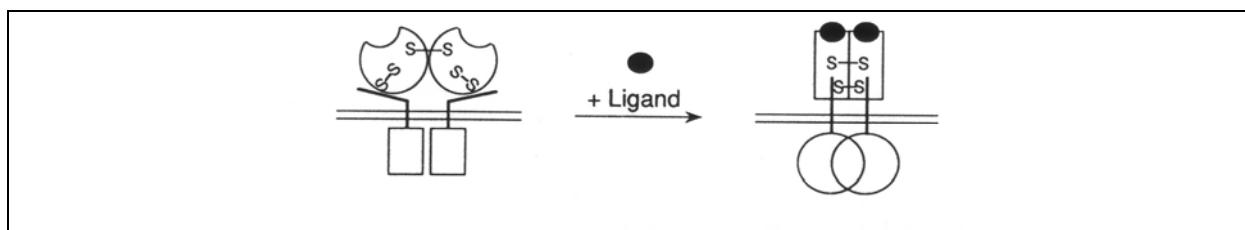


Figure 24 : Mécanisme d'activation des IGFR.

La surexpression des IGFR est impliquée dans les cancers du col de l'utérus et les cancers du rein¹⁰.

Les NGFR sont classés en trois sous unités: TrkA, TrkB et TrkC qui sont structurellement identiques, mais qui ont des ligands NGF différents. Les NGF sont des facteurs de croissance homodimériques, qui, lorsqu'ils se lient à leur récepteur, provoquent la

¹⁵ Ullrich, A.; Schlessinger, J. *Cell* **1990**, 61, 203-212.

¹⁰ Madhusudan, S.; Ganesan, T.S. *Clinic. Biochem.* **2004**, 37, 618-635.

dimérisation de celui-ci, ce qui va induire une cascade de phosphorylations, activer le site tyrosine et provoquer une cascade de signaux intracellulaires (Figure 25).¹⁶

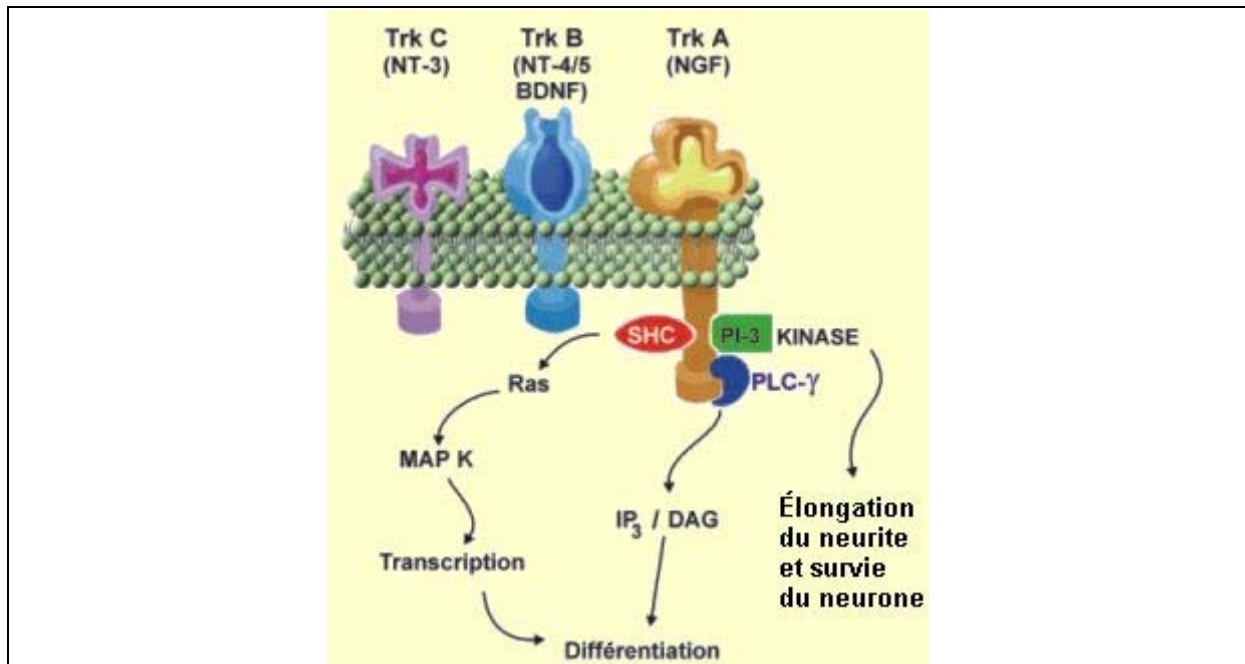


Figure 25 : Représentation schématique des NGFR.

La surexpression des NGFR est impliquée dans les cancers de la thyroïde, les neuroblastomes (TrkA) et dans certaines leucémies (TrkC).¹⁰

III- Le cycle cellulaire

III.1- Les différentes phases du cycle cellulaire¹⁷

Le cycle de division cellulaire est le moyen fondamental par lequel les êtres vivants se divisent et croissent. Les détails du cycle cellulaire peuvent varier mais certaines exigences sont universelles. Tout d'abord pour produire deux cellules filles identiques, l'ADN doit être répliqué correctement et les chromosomes dupliqués doivent être séparés de part et d'autre, chacun dans une cellule fille. Le cycle cellulaire est traditionnellement divisé en quatre phases distinctes: G1, S, G2 et M (Figure 26).

¹⁶ Wood, E.R.; Kuyper, L.; Petrov, K.G.; Hunter III, R.N.; Harris, P.A.; Lackey, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 953-957.

¹⁰ Madhusudan, S.; Ganesan, T.S. *Clinic. Biochem.* **2004**, 37, 618-635.

¹⁷ Johnson, D.G.; Walker, C.L. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1999**, 39, 295-312.

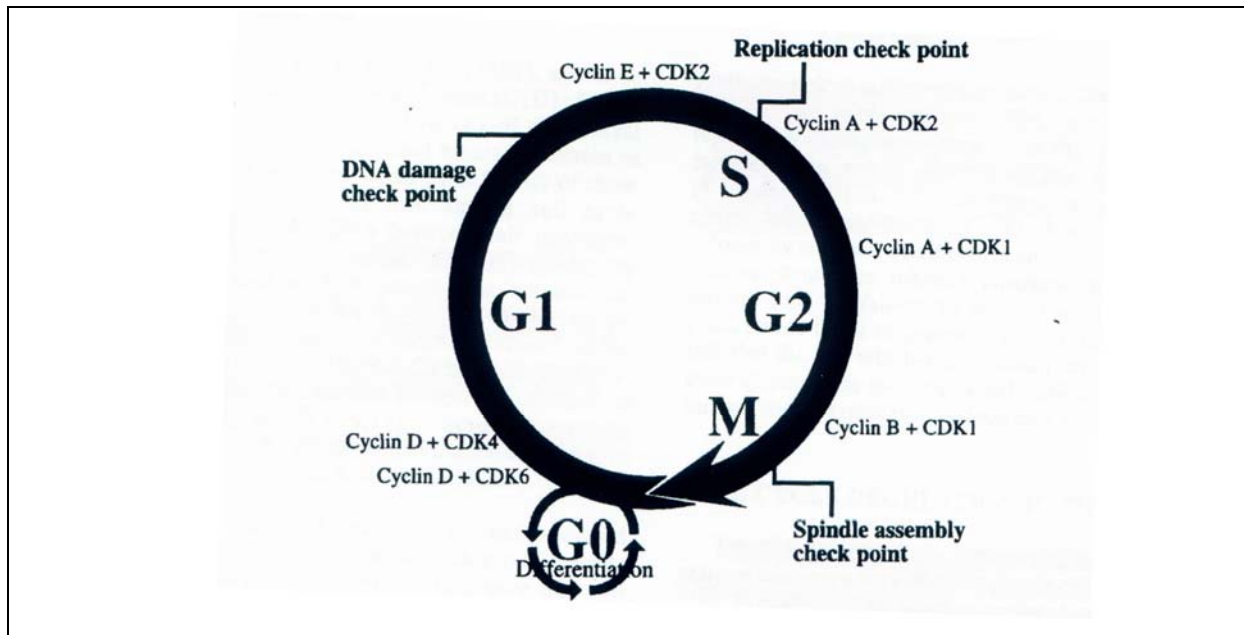


Figure 26 : Les différentes phases du cycle cellulaire.

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

La première phase G1 (pour Gap), qui peut durer de 10 heures à quelques jours est une phase de synthèse des protéines nécessaires au passage en phase S. La phase G1 est la phase durant laquelle les cellules se préparent pour effectuer la réplication de l'ADN. C'est au cours de cette phase G1 que les cellules intègrent les signaux activant ou inhibant leur croissance et qu'elles décident de procéder à un arrêt ou de continuer le cycle cellulaire. Un point de contrôle important en G1 a été identifié à la fois chez les levures et les mammifères.

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

Puis survient la phase G2, d'une durée de 4 heures, phase au cours de laquelle la cellule prépare le processus de division. Les cellules sont alors tétraploïdes.

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

La progression du cycle cellulaire est régie par l'activation d'une famille de protéines kinases, les kinases cycline-dépendantes (CDKs). La transition entre les différentes phases du cycle cellulaire est régulée par cette famille de protéines kinases et leurs protéines associées (cyclines) qui assurent l'activation de la kinase. Les cyclines sont appelées ainsi parce qu'elles subissent un cycle de synthèse et de dégradation à chaque cycle de division cellulaire. Les CDKs gouvernent l'initiation, la progression et l'accomplissement des événements du cycle cellulaire. Les différentes étapes du cycle cellulaire dépendent de l'activité de ces CDKs.

Les complexes formés par la kinase et la cycline sont reconnus pour être des régulateurs du cycle cellulaire, chaque complexe contrôlant une transition spécifique entre les différentes phases.

La survie des organismes dépend de la précision de la transmission du message génétique d'une cellule mère aux cellules filles. Le succès d'une telle transmission provient de l'extrême exactitude dans la réplication de l'ADN, de la précision, de la distribution des chromosomes mais aussi de la capacité des cellules à survivre aux effets des dommages de l'ADN tout en minimisant le nombre de mutations héréditaires. Quand un défaut dans la division cellulaire est détecté, les points de contrôle sont activés pour inhiber les CDKs jusqu'à ce que la réplication de l'ADN ou la mitose soit complète tout en rectifiant les erreurs afin d'obtenir un héritage génomique stable.

En plus de contrôler l'arrêt du cycle cellulaire, les points de contrôle activent aussi :

- les réparations de l'ADN,
- le mouvement des protéines réparatrices jusqu'aux sites des dommages de l'ADN,
- les programmes transcriptionnels.

De plus, ils contrôlent la composition de la chromatine télomérique, la longueur des télomères et l'induction de l'apoptose.

III.2- Intervention des facteurs de croissance dans le cycle cellulaire^{5,17}

Les facteurs de croissance interviennent seulement dans une petite portion du cycle cellulaire (Figure 27).

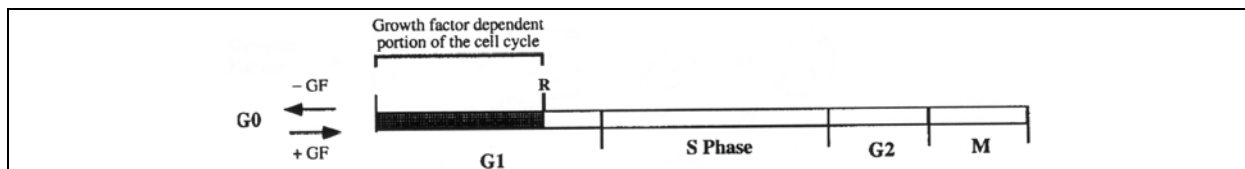


Figure 27 : Zone d'intervention des facteurs de croissance dans le cycle cellulaire.

Les facteurs de croissance, par l'intermédiaire de leurs récepteurs spécifiques, vont activer les cyclines de type D (D1, D2 et D3) et les CDKs associées (CDK4 et CDK6) afin d'initier le cycle cellulaire en G0 et entrer dans la phase G1 (Figure 27 et Figure 28).

⁵ Jones, S.M.; Kazlauskas, A. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 2413-2423.

¹⁷ Johnson, D.G.; Walker, C.L. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1999**, 39, 295-312.

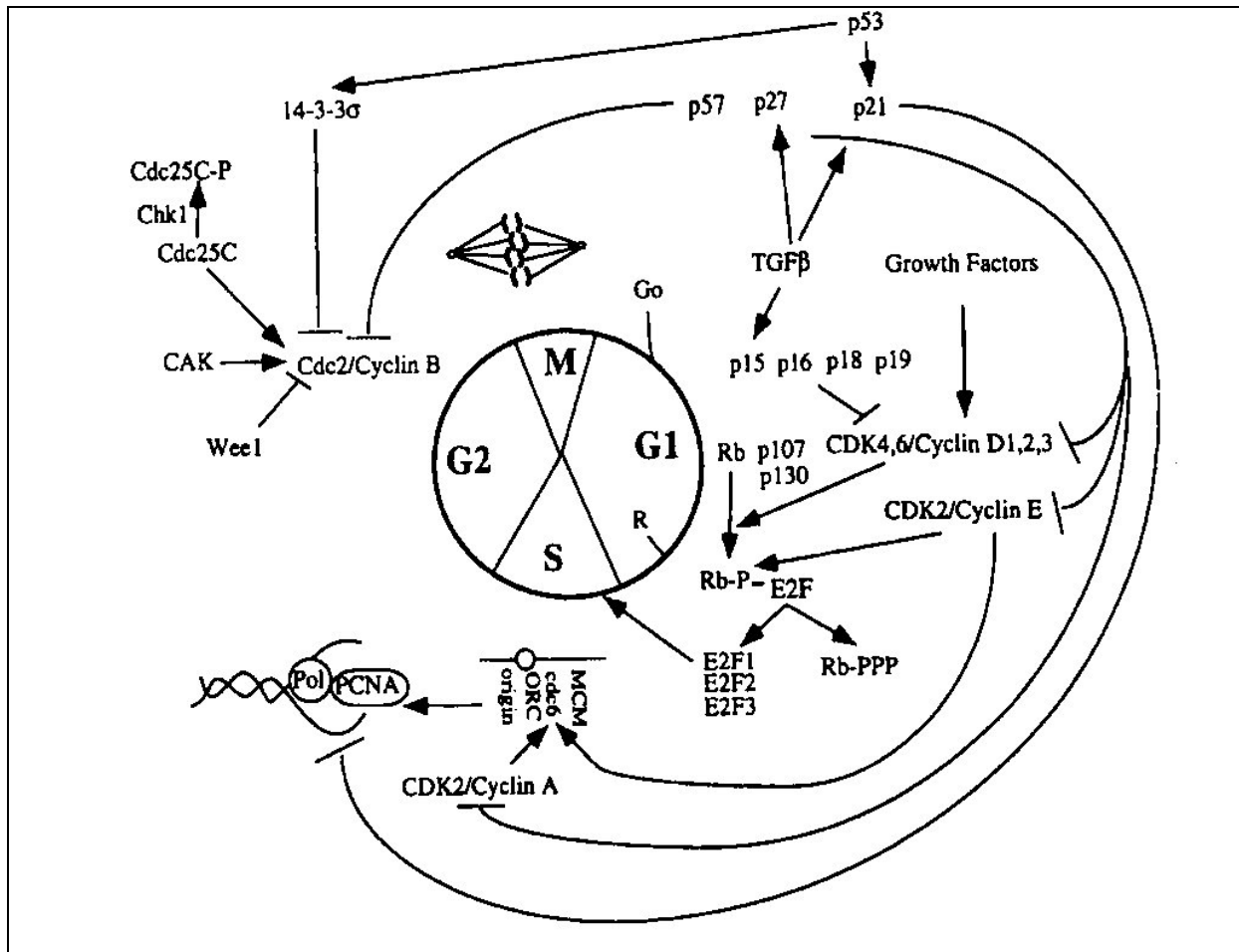


Figure 28 : Schéma des protéines impliquées dans la régulation de l'activité des complexes cyclines/CDKs. On voit très nettement que les facteurs de croissance régulent l'activité des complexes cyclines D1,2 et3 / CDK4 et 6.

Initiée par les facteurs de croissance, l'activité catalytique des complexes cyclines D1, 2 et 3 / CDK4 et 6 se manifeste d'abord au milieu de la phase G1. Ensuite, elle augmente pour atteindre un maximum à l'approche de la transition de phase G1/S et persiste au cours du premier cycle mais aussi au cours des cycles suivants aussi longtemps que la stimulation mitogène continue.

La protéine Rb (rétinoblastome) a un rôle critique dans la régulation de la phase G1 et c'est probablement un composant clé dans le réseau moléculaire contrôlant le point de restriction. La protéine Rb se lie à un grand nombre de protéines cellulaires, dont les membres de la famille des facteurs de transcription E2F. Les facteurs E2F régulent l'expression de nombreux gènes qui codent pour les protéines impliquées dans la progression du cycle cellulaire et de la synthèse de l'ADN.

La liaison entre Rb et E2F inhibe l'activité transcriptionnelle de E2F en convertissant l'effet activateur de E2F en effet répresseur pour la transcription. Les facteurs de croissance vont promouvoir la phosphorylation de la protéine Rb au sein du complexe Rb-E2F, en régulant l'activité des complexes cyclines D/CDK4 et 6. Cette phosphorylation de la protéine Rb va entraîner la dissociation de Rb et de E2F qui pourra donner le signal nécessaire pour que le cycle cellulaire passe de la phase G1 à la phase S.

En conclusion, la prolifération cellulaire est régulée par de nombreuses kinases. La résolution de la structure tridimensionnelle du site ATP de différents récepteurs de facteurs de croissance, que nous avons détaillée uniquement dans le cas du FGFR₁, a permis d'orienter les travaux portant sur la conception de différentes familles d'inhibiteurs potentiels de ces récepteurs. Compte tenu de l'existence dans la cellule d'une grande variété de protéines kinases, on pourrait penser qu'il est inconcevable de préparer des inhibiteurs spécifiques du site ATP présentant une sélectivité vis-à-vis de certaines kinases. Cependant, diverses études de cristallographie aux rayons X de complexes kinase-ATP ont montré que l'ATP n'occupe pas tout le site et que les régions adjacentes à la zone de fixation de l'ATP présentent d'importantes diversités structurales d'une kinase à l'autre. Ceci explique la sélectivité de certains inhibiteurs vis-à-vis de certaines kinases. Cependant, certains composés présentés dans la partie suivante sont capables d'inhiber plusieurs kinases. Dans le but d'inhiber le site ATP des récepteurs de facteurs de croissance, diverses familles de composés hétérocycliques ont été préparées, les principales, ainsi que leur sélectivité vis-à-vis des différentes kinases testées, sont présentées dans la partie suivante.

IV- Les inhibiteurs des récepteurs de facteurs de croissance

Depuis quelques années, la recherche d'inhibiteurs de récepteurs de facteurs de croissance à activité tyrosine kinase a connu un développement exponentiel.

Les récepteurs de facteur de croissance peuvent être inhibés à différents niveaux. En effet, on peut :

- neutraliser les facteurs de croissance (en utilisant des anticorps spécifiques ou des analogues de récepteurs solubles).
- inhiber l'interaction facteur de croissance-récepteur.
- inhiber l'activité kinase de ces récepteurs.

Nous nous sommes intéressés à cette dernière catégorie d'inhibiteurs et plus particulièrement aux inhibiteurs du site ATP du domaine tyrosine kinase des récepteurs de facteurs de croissance. A l'heure actuelle un grand nombre de ces inhibiteurs ont été synthétisés et sont en études cliniques ou déjà sur le marché (Gleevec, Iressa). Dans cette partie, nous allons passer en revue les différentes familles «chimiques» d'inhibiteurs du site ATP du domaine tyrosine kinase des récepteurs de facteur de croissance.

IV.1- Les phénylamino-pyrimidines

IV.1.1- L'imatinib (GLEEVEC®)^{10,18,19}

L'imatinib, ou Gleevec est le plus connu des inhibiteurs de récepteurs de facteurs de croissance. En effet, le 10 mai 2001, la FDA donne l'autorisation de mise sur le marché de

¹⁰ Madhusudan, S.; Ganesan, T.S. *Clinic. Biochem.* **2004**, 37, 618-635.

¹⁸ Traxler, P.; Bold, G.; Buchdunger, E.; Caravatti, G.; Furet, P.; Manley, P.; O'Reilly, T.; Wood, J.; Zimmermann, J. *Med. Res. Rev.* **2001**, 21, 499-512.

¹⁹ Smith, J.K.; Mamoon, N.M.; Duhé, R.J. *Oncol. Res.* **2004**, 14, 175-225.

l'imatinib mésylate qui est une nouvelle molécule pour le traitement de patients atteints de certaines formes de leucémies.

La découverte de l'imatinib résulte d'un long travail d'optimisation de composés de la famille des phénylaminopyrimidine (Figure 29).

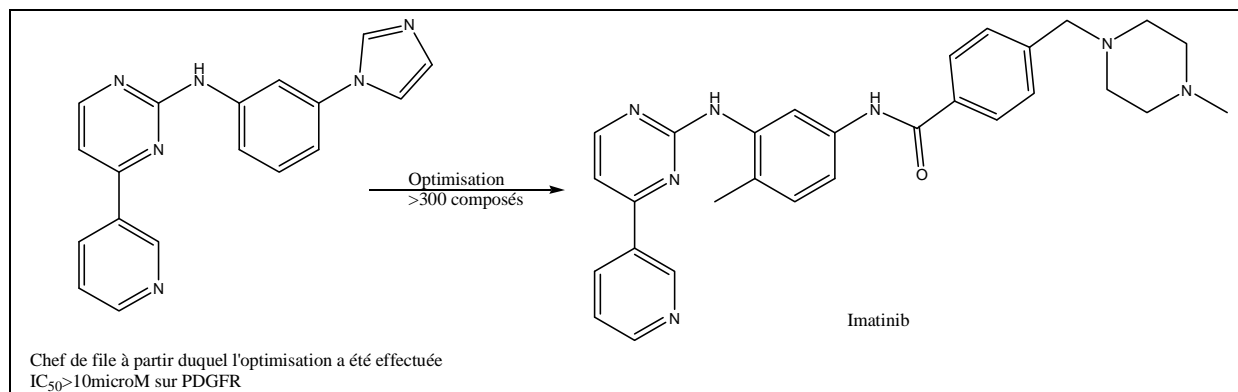


Figure 29 : Du screening à la mise sur le marché.

L'imatinib inhibe les PDGFR, qui sont surexprimés dans certaines leucémies, avec des IC_{50} de 386 ± 111 nM.

Les PDGFR jouent aussi un rôle dans la formation de glioblastomes, dans l'angiogénèse des tumeurs ainsi que dans la régulation de la pression interstitielle des fluides (IFP) dans les tumeurs solides.

Dans les essais cliniques, l'imatinib a surtout montré un fort potentiel d'inhibition de cellules cancéreuses surexprimant la protéine Bcr-Abl.

IV.1.2- Dérivés de l'imatinib possédant un motif urée²⁰

Afin d'augmenter la sélectivité de cette famille d'inhibiteurs, en 2004, Manley *et al* décrivent la synthèse d'une structure analogue de l'imatinib, possédant un motif urée (Figure 30).

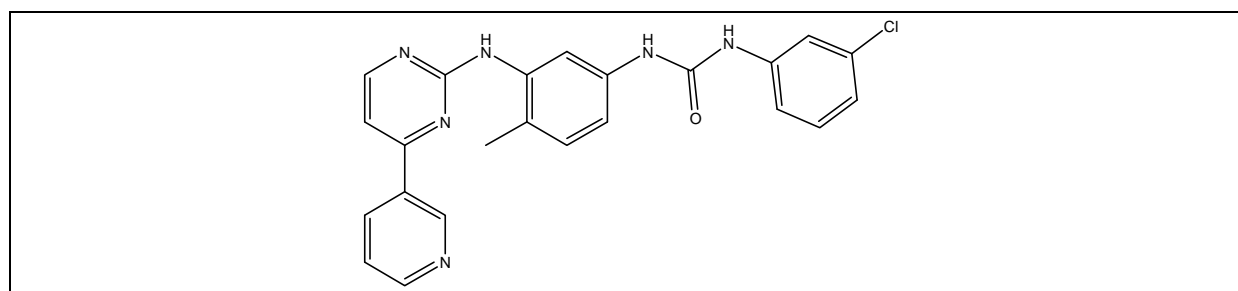


Figure 30 : Analogue de l'imatinib possédant un motif urée.

²⁰ Manley, P.W.; Breitenstein, W.; Brügggen, J.; Cowan-Jacob, S.W.; Furet, P.; Mestan, J.; Meyer, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 5793-5797.

Ce composé est un bon inhibiteur des PDGFR avec une IC_{50} de 17 ± 3 nM. D'autre part, celui-ci est relativement sélectif des PDGFR par rapport aux kinase Bcr-Abl ($IC_{50} = 1003$ nM).

IV.1.3- Quelques pyrazines-pyridines²¹

En 2005, Kuo *et al.* décrivent une série de pyrazines-pyridines (Figure 31).

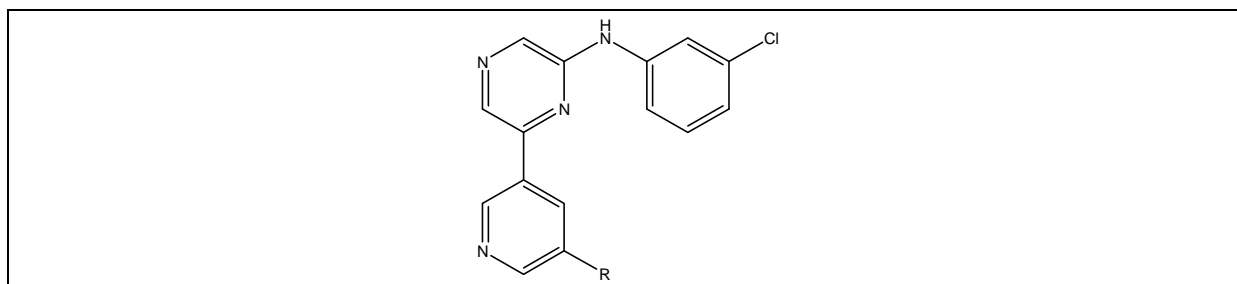


Figure 31 : Structure des pyrazines-pyridines.

Ces composés sont de bons inhibiteurs de VEGFR₂ (Tableau 1).

Composé	R	IC ₅₀ sur VEGFR ₂ en μ M
1	NH(CH ₂) ₃ OH	$0,084 \pm 0,014$
2	NH(CH ₂) ₄ OH	$0,063 \pm 0,015$
3	NH(CH ₂) ₂ N(CH ₃) ₂	$0,105 \pm 0,035$
4	NH(CH ₂) ₃ (3-pyridine)	$0,076 \pm 0,014$
5	NH(CH ₂) ₃ (1-pyrazole)	$0,094 \pm 0,015$
6	NH(CH ₂) ₃ -3-(1,2,4-triazole)	$0,067 \pm 0,015$

Tableau 1 : IC₅₀ en μ M des composés **1** à **6** sur VEGFR₂.

Leurs activités sur les autres récepteurs de facteurs de croissance sont au moins 5 fois inférieures, ce qui montre qu'ils sont relativement sélectifs de VEGFR₂.

IV.2- Les quinazolines, pyridopyrimidines et hétérocycles associés

IV.2.1- Le gefitinib (IRESSA®)¹⁹

Le gefitinib, connu aussi sous le nom de ZD1839, est un inhibiteur réversible des EGFR qui est utilisé au Japon, en Australie et aux Etats-Unis pour le traitement des NSCLC (Non-Small Cell Lung Cancers) (Figure 32).

²¹ Kuo, G.-H; Prouty, C.; Wang, A.; Emanuel, S.; DeAngelis, A.; Zha,g, Y.; Song, F.; Beall, L.; Connolly, P.J.; Karnachi, P.; Chen, X.; Gruninger, R.H.; Sechler, J.; Fuentes-Pesquera, A.; Middleton, S.A.; Jolliffe, L.; Murray, W.V. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 4892-4909.

¹⁹ Smith, J.K.; Mamoon, N.M.; Duhé, R.J. *Oncol. Res.* **2004**, 14, 175-225.

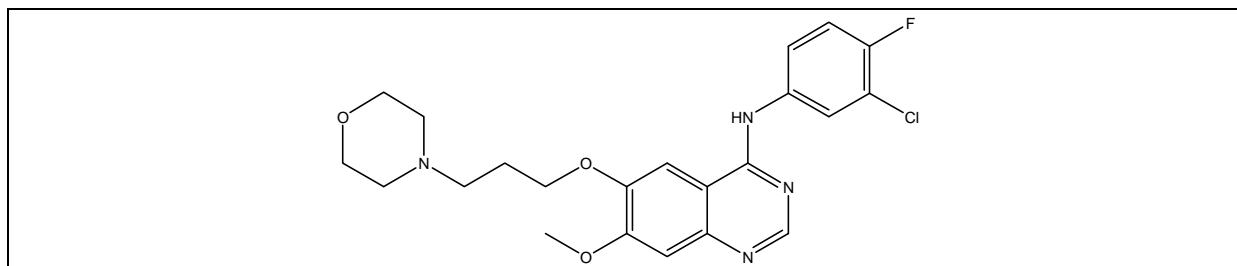


Figure 32: Structure du gefitinib.

Le gefitinib inhibe l'autophosphorylation des EGFR dans les cellules cancéreuses A431 avec des IC₅₀ comprises entre 23 et 79 nM. Les valeurs des IC₅₀ pour l'inhibition d'autres tyrosines kinases (HER2/neu, KDR et c-Flt) ou sérine/thréonine kinases (protéine kinase C, MEK-1 et Erk-2) sont au moins 100 fois plus grandes.

Il a été démontré que l'expression des EGFR dans les cellules cancéreuses était une cause de résistance de ces cellules à la radiothérapie. L'inhibition des EGFR en combinaison avec une radiothérapie semble donc être une bonne stratégie pour le traitement de certains cancers.

Des études d'essais cliniques de phase I ont été réalisées sur des patients présentant des cancers avancés de la gorge (NSCL). Les résultats obtenus ont montré qu'une faible réponse tumorale était obtenue, mais il a été démontré qu'une nette amélioration de la qualité de la vie pour les patients était visible.

Le cancer de la gorge est l'une des premières causes de mortalité dans le monde, les patients atteints de NSCL n'ayant pas beaucoup de choix thérapeutiques et leur espérance de vie demeurant très limitée, les objectifs du traitement ne sont pas seulement d'avoir une régression tumorale importante, mais aussi que les symptômes soient atténués et que leur qualité de vie soit améliorée.

IV.2.2- Le ZD4190 et le ZD6474¹⁹

Partant du constat que le gefitinib inhibe certains récepteurs des VEGF à des concentrations de l'ordre du micromolaire, une étude de relations structure-activité a été effectuée sur les composés de la série des 4-anilinoquinazolines afin de cibler l'inhibition des VEGFR. Issu de cette étude, le composé ZD4190 paraissait avoir un potentiel d'inhibition intéressant des VEGFR (Figure 33).

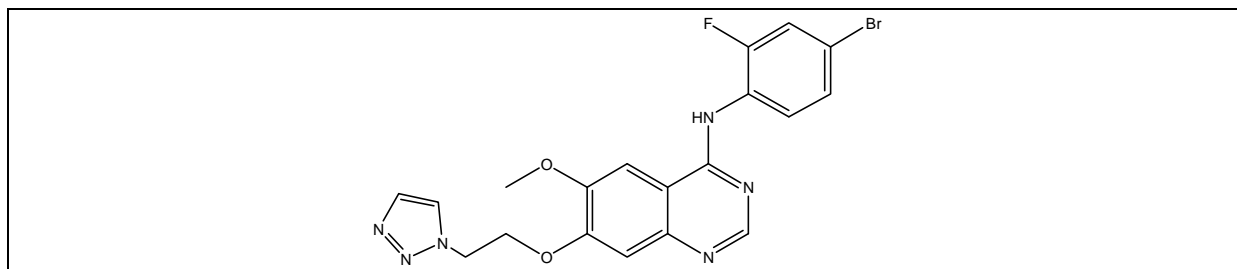


Figure 33 : Structure du ZD4190.

¹⁹ Smith, J.K.; Mamoon, N.M.; Duhé, R.J. *Oncol. Res.* **2004**, 14, 175-225.

Les essais d'inhibition *in vitro* de KDR-1, Flt-1 et FGFR1 ont donné des valeurs d'IC₅₀ respectives de 20 nM, 0,7 μM et 5,3 μM. On peut noter une inhibition sur EGFR avec une IC₅₀ de 0,4 μM.

Les études précliniques réalisées sur ZD4190 montrent que les composés de la famille des 4-anilinoquinazolines sont de bons candidats pour une thérapie antiangiogénique. Malheureusement, la mauvaise biodisponibilité de ce composé par voie orale a constitué un frein à la poursuite des études cliniques de ce produit. Une amélioration notable de la biodisponibilité par voie orale de cette famille de composés a été obtenue, avec le composé ZD6474, en introduisant un groupement *N*-méthylpipéridine sur la chaîne en C7 du noyau quinazoline (Figure 34). Le groupement *N*-méthylpipéridine est complètement protoné à pH physiologique, ce qui permet, sans effets négatifs sur son efficacité, une solubilité en solution aqueuse 470 fois plus élevée que celle du ZD4190.

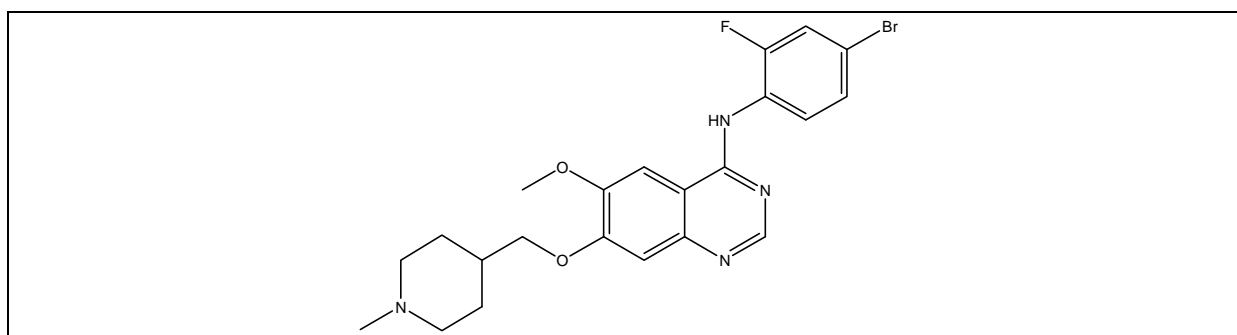


Figure 34 : Structure du ZD6474.

Ce composé est relativement sélectif sur KDR-1 (IC₅₀ = 40 nM), mais montre aussi une activité sur EGFR (IC₅₀ = 0,5 μM).

IV.2.3- L'erlotinib (TARCEVA®)¹⁹

L'erlotinib, connu aussi sous le nom de CP-358-774 et OSI-774, est un inhibiteur réversible des EGFR (Figure 35).

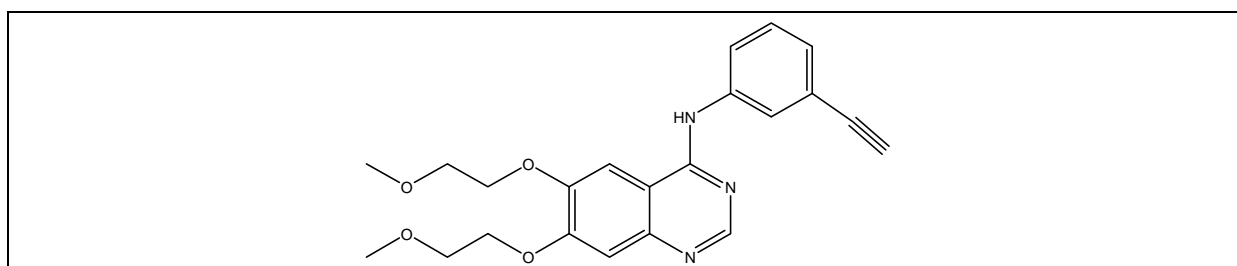


Figure 35 : Structure de l'erlotinib.

La structure cristalline de l'EGFR en présence de deux conformères de l'erlotinib a été déterminée (Figure 36). Sur cette structure, on voit que l'atome d'azote N1 du cycle quinazoline est engagé dans une liaison hydrogène avec la fonction amine du résidu méthionine 769 du récepteur (ligne en pointillé). L'autre atome d'azote de la quinazoline, N3 n'est pas à une distance compatible avec la formation d'une liaison hydrogène avec la chaîne latérale du résidu thréonine 766. Cependant, par l'intermédiaire d'une molécule d'eau

¹⁹ Smith, J.K.; Mamoon, N.M.; Duhé, R.J. *Oncol. Res.* **2004**, 14, 175-225.

(représentée par la sphère bleu-vert sur le schéma) une liaison hydrogène peut s'établir avec le résidu thréonine 766.

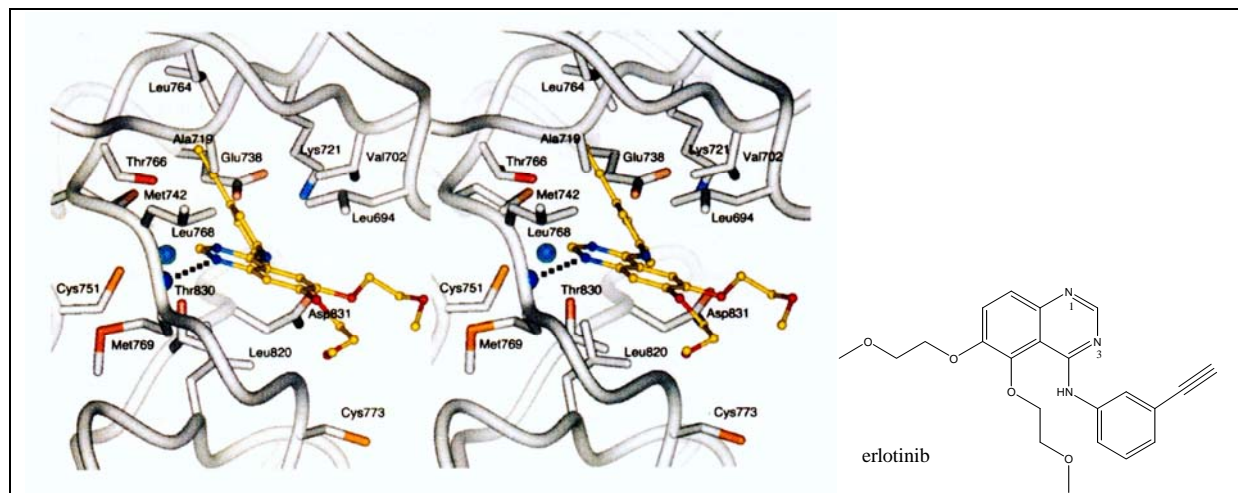


Figure 36 : Structure cristalline du complexe erlotinib/EGFR.

L'erlotinib provoque l'inhibition *in vitro* de l'autophosphorylation des EGFR et de la prolifération cellulaire des cellules cancéreuse humaines HN5 avec des IC_{50} respectives de 20 et 100 nM. Des concentration d'erlotinib 1000 fois supérieures sont nécessaires pour inhiber d'autres kinases telles que c-Src ou v-Abl. Des concentrations d'erlotinib supérieures à 1 μ M sont nécessaires pour inhiber l'induction de mitogénèse par les IGF, PDGF et FGF dans les cellules de fibroblastes FRE. D'autre part, la mitogénèse induite par les EGF est inhibée à des concentrations bien inférieures au micromolaire ($IC_{50} = 70$ nM). Ces résultats montrent bien la sélectivité de l'erlotinib pour les EGFR.

Actuellement, l'erlotinib est en phase III d'études cliniques pour le traitement des NSCLC (Non-Small Cell Lung Cancers). Au cours de ces études, il est administré en combinaison avec de la gemcitabine et du cisplatine (étude TALENT) ou bien avec du carboplatine et du paclitaxel (étude TRIBUTE) comme thérapie contre les NSCL.

IV.2.4- Le PKI166¹⁹

Le PKI166 est un inhibiteur sélectif des EGFR avec une IC_{50} de 1 nM sur EGFR purifié. Il montre aussi une grande sélectivité vis-à-vis des autres tyrosines kinases. La plus grande différence entre ce composé et les deux précédents est d'ordre structurelle: la structure de base du PKI166 est du type pyrrolo-pyrimidine alors que celles du gefitinib et de l'erlotinib est de type quinazoline (Figure 37).

¹⁹ Smith, J.K.; Mamoon, N.M.; Duhé, R.J. *Oncol. Res.* **2004**, 14, 175-225.

IV.2.6- Le RPR127963²², le AG1478 et le AG1295²³

Le RPR127963 est un inhibiteur sélectif des PDGFR dont le motif de base est une quinoxaline (Figure 39).

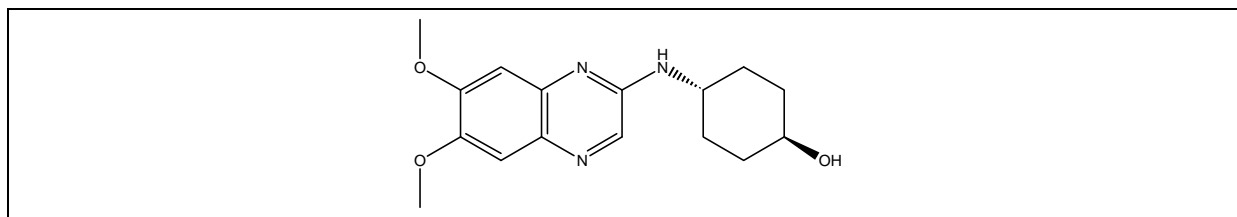


Figure 39 : Structure du RPR127963.

Son IC₅₀ sur PDGFR est de 0,076 ± 0,013 μM, tandis que son IC₅₀ sur EGFR est de 3,7 μM.

Actuellement les activités *in vivo* de ce composé sont évaluées et les premiers résultats semblent prometteurs.

Les composés AG1478 et AG1295 (Figure 40) sont actifs sur EGFR et sur PDGFR.

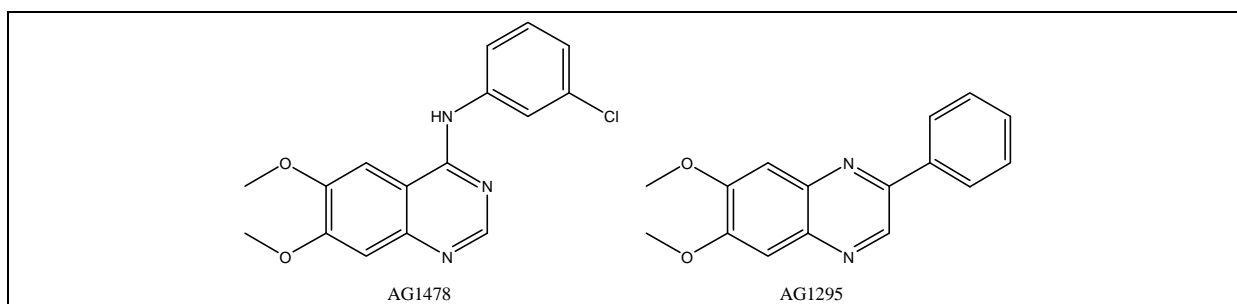


Figure 40 : Structures de l'AG1478 et de l'AG1295.

L'IC₅₀ du composé AG1478 sur EGFR est de 10 μM et celle du composé AG1295 sur PDGFR est de 0,8 μM.

IV.2.7- Le AZD2171²⁴

Le composé AZD2171 (Figure 41) est un inhibiteur très puissant des KDR (IC₅₀ < 1 nM)

²² He, W.; Myers, M.R.; Hanney, B.; Spada, A.P.; Bilder, G.; Galzinski, H.; Amin, D.; Needle, S.; Page, K.; Jayyosi, Z.; Perrone, M.H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 3097-3100.

²³ Al-Obeidi, F.A.; Lam, K.S. *Oncogene* **2000**, 19, 5690-5701.

²⁴ Wedge, S.R.; Kendrew, J.; Hennequin, L.F.; Valentine, P.J.; Barry, S.T.; Brave, S.R.; Smith, N.R.; James, N.H.; Dukes, M.; Curwen, J.O.; Chester, R.; Jackson, J.A.; Boffey, S.J.; Kilburn, L.L.; Barnett, S.; Richmond, G.H.P.; Wadsworth, P.F.; Walker, M.; Bigley, A.L.; Taylor, S.T.; Cooper, L.; Beck, S.; Jürgensmeier, J.M.; Ogilvie, D.J. *Cancer Res.* **2005**, 65, 4389-4400.

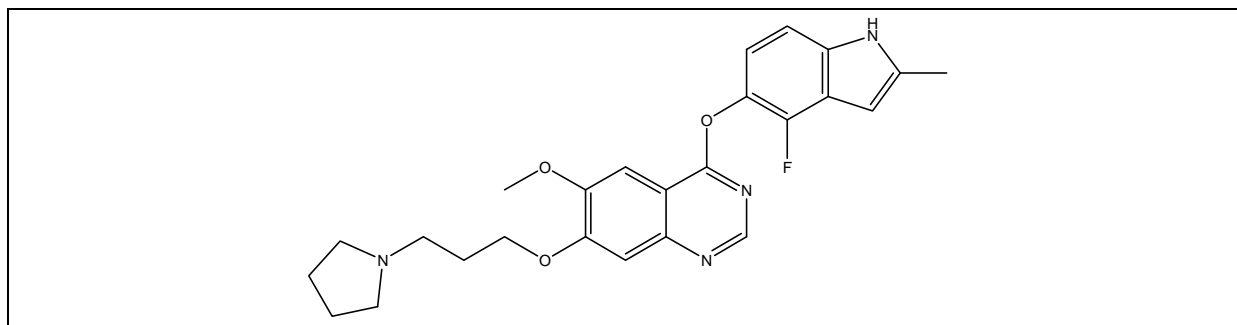


Figure 41 : Structure du AZD 2171.

Ce composé est également actif sur les autres VEGFR: Flt-1 ($IC_{50} = 5$ nM) et Flt-4 ($IC_{50} < 3$ nM). L'activité sur les PDGFR (qui ont des structures similaires aux VEGFR) a également été évaluée: sur c-kit ($IC_{50} = 2$ nM) et PDGFR β ($IC_{50} = 5$ nM) on retrouve la même activité. Par contre sur PDGFR α l' IC_{50} est 36 fois supérieure à celle observée sur KDR.

Une excellente sélectivité est observé par rapport aux EGFR et FGFR (1600 fois moins actifs).

Ce composé est actuellement en études cliniques.

IV.2.8- Le PD089828⁶

Le PD089828 est un inhibiteur de FGFR $_1$, PDGFR et EGFR avec une IC_{50} de l'ordre de 0,14 μ M (Figure 42).

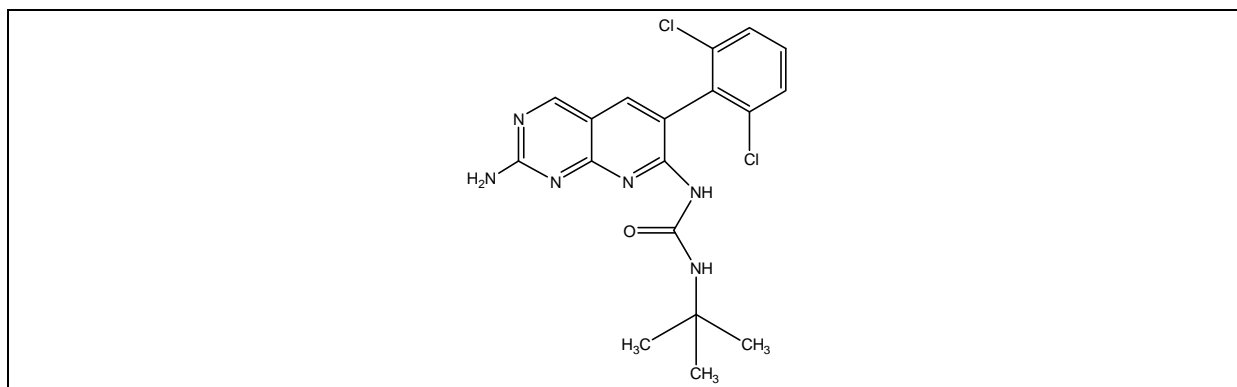


Figure 42 : Structure du PD089828.

Ce composé est le précurseur des inhibiteurs de récepteurs de facteurs de croissance à activité tyrosine kinase du groupe Parke-Davis.

IV.2.9- Le PD166866⁶

Les chercheurs de Parke-Davis se sont rendu compte que le fait d'incorporer un groupement méthyle ou méthoxy en méta sur le noyau phényle permettait d'augmenter la sélectivité vis-à-vis du FGFR $_1$. Le composé PD166866, qui est un dérivé 3',5'-

⁶ Manetti, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, 9, 399-409.

diméthoxyphényle, a une activité intéressante sur $FGFR_1$ ($IC_{50} = 0,06 \mu M$) et surtout, il est sélectif par rapport aux autres tyrosines kinases ($IC_{50} > 50 \mu M$) (Figure 43).

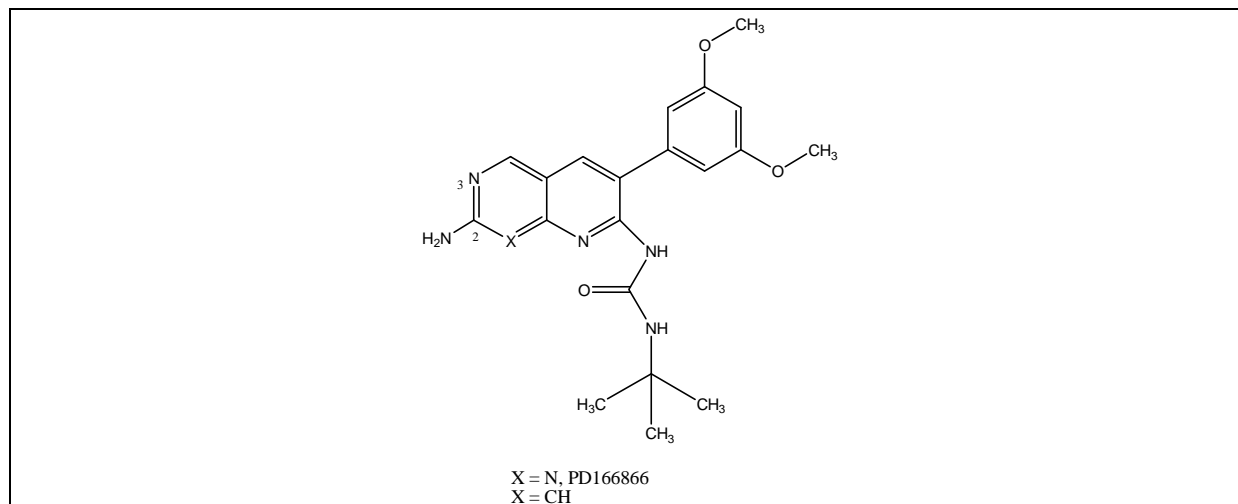


Figure 43 : Structure du PD166866 (X = N) et de son analogue non-aza (X = CH).

Il est à noter également que dans cette série, l'analogue non-aza de ce composé (X = CH) possède des activités similaires avec une IC_{50} de $0,04 \mu M$ sur $FGFR_1$.

IV.2.10- Le PD161570⁶

Le composé PD161570 est un analogue du PD089828, substitué en position 2 par une chaîne diéthylaminobutylamino (Figure 44).

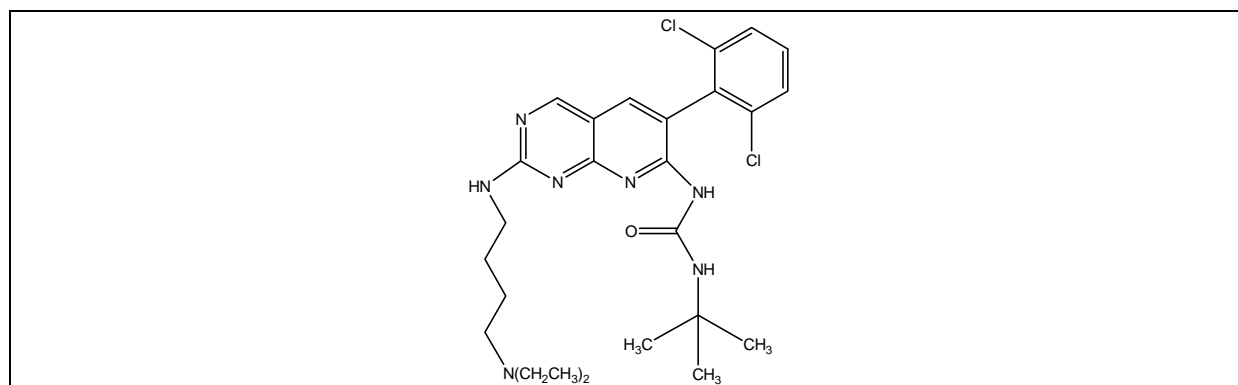


Figure 44 : Structure du PD161570.

C'est un bon inhibiteur du $FGFR_1$ avec une IC_{50} de $0,05 \mu M$, mais il est moins sélectif que le composé PD166866.

La préparation d'analogues substitués en position 2 par un groupement $MeN(pip)(CH_2)_4NH$ n'améliore pas l'activité puisque les composés correspondants possèdent également une IC_{50} de $0,05 \mu M$ sur $FGFR_1$.

⁶ Manetti, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, 9, 399-409.

IV.2.11- Le PD173074^{6,25}

Afin d'obtenir un composé possédant une bonne activité sur FGFR₁ et aussi une bonne sélectivité par rapport aux autres kinases, il faut que le composé possède un noyau 3',5'-diméthoxyphényle en position 6. Le PD173074 (Figure 45) est un inhibiteur sélectif des FGFR₁ avec une IC₅₀ de 0,02 µM et des IC₅₀ > 50 µM sur les autres kinases.

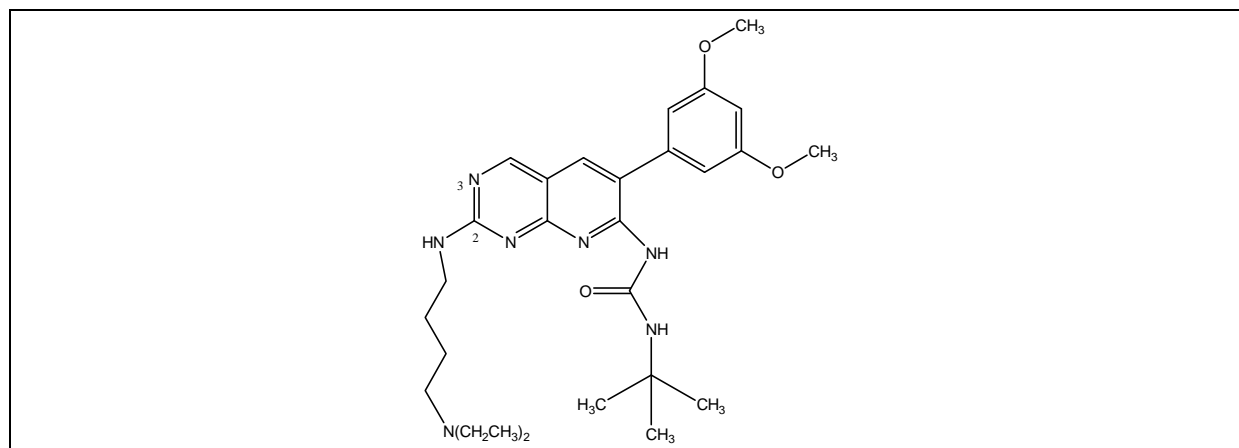


Figure 45 : Structure du PD173074.

Ce composé a été cocrystallisé avec FGFR₁. L'étude du complexe ainsi formé a montré que l'atome d'azote N3 du noyau pyrimidine est engagé dans une liaison hydrogène avec l'atome d'hydrogène du NH du résidu Ala564 et l'hydrogène porté par l'azote de la chaîne latérale en position 2 du cycle pyrimidique est engagé dans une liaison hydrogène avec l'atome d'oxygène du CO du résidu Ala564 du FGFR₁. Une autre liaison hydrogène est établie entre un atome d'oxygène d'un groupement méthoxy et l'amide du résidu Asp641. Cette liaison hydrogène, ainsi que les contacts hydrophobes avec les résidu Ala640 et Phe642, sont entre autre responsables de la sélectivité en faveur des FGFR₁ des composés de cette famille possédant un noyau 3',5'-diméthoxyphényle en position 6 (Figure 46).

⁶ Manetti, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, 9, 399-409.

²⁵ Mohammadi, M.; Froum, S.; Hamby, J.M.; Schroeder, M.C.; Panek, R.L.; Lu, G.H.; Eliseenkova, A.V.; Green, D.; Schlessinger, J.; Hubbard, S.R. *EMBO J.* **1998**, 17, 5896-5904.

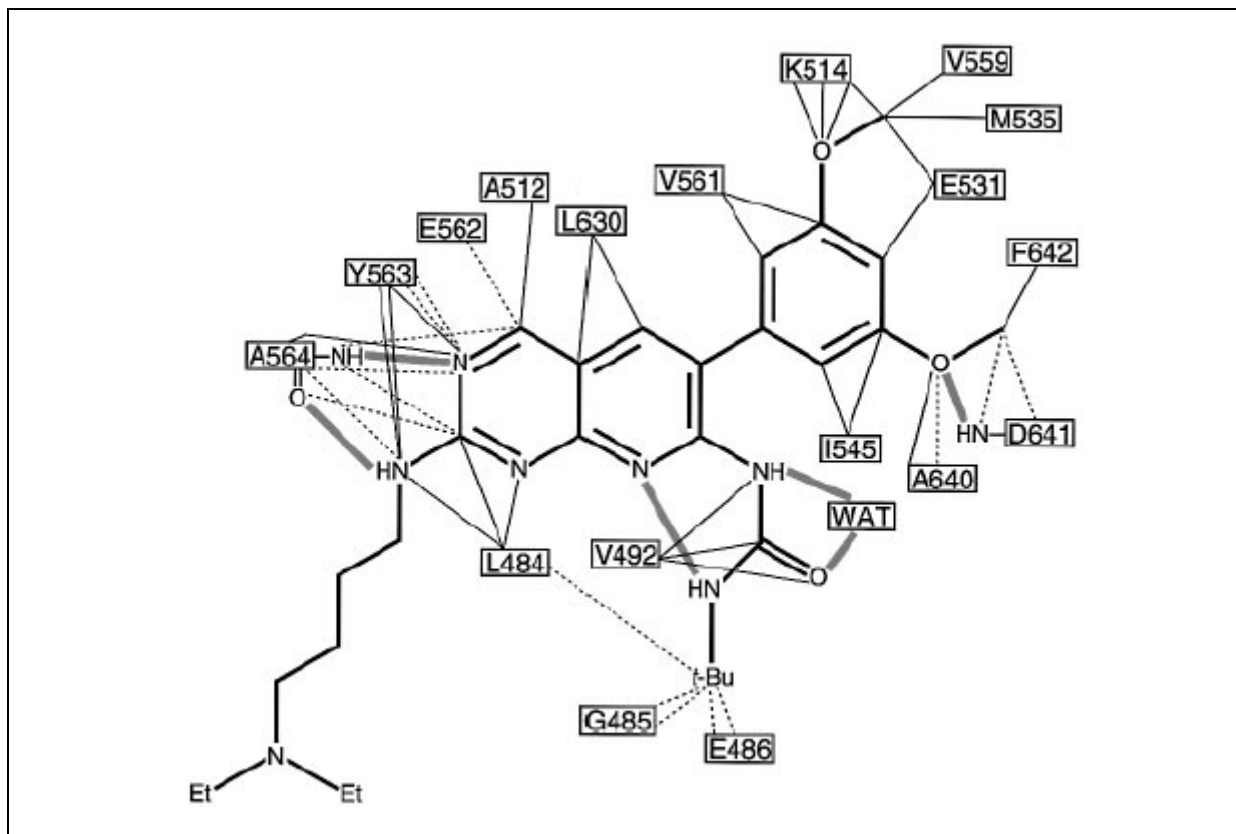


Figure 46 : Représentation schématique des interactions entre le PD173074 et le site actif du FGFR₁.

IV.2.12- Le PD166285⁶

Afin de poursuivre les études de relations structure-activité dans cette famille de composés, des analogues possédant un motif de type pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-one ont été préparés. Parmi les composés de cette nouvelle série, le PD166285 est l'inhibiteur le plus puissant et sélectif des FGFR₁ avec une IC₅₀ de 0,043 μM (Figure 47).

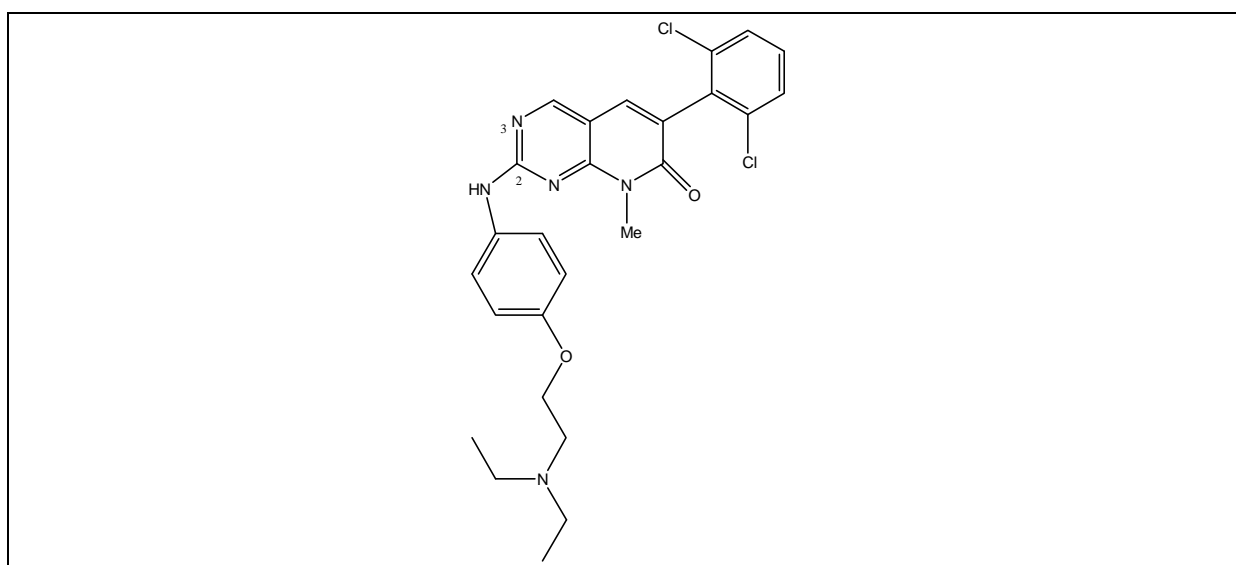


Figure 47 : Structure du PD166285.

⁶ Manetti, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, 9, 399-409.

IV.2.13- Les 1,6-naphtyridines et les pyrido[2,3-d]pyrimidines²⁶

En 2005, Thompson *et al.* décrivent des 1,6-naphtyridine-2-urées, dont certains représentants sont des inhibiteurs sélectifs des FGFR₁ et des VEGFR₂ par rapport aux PDGFR et c-Src (Figure 48).

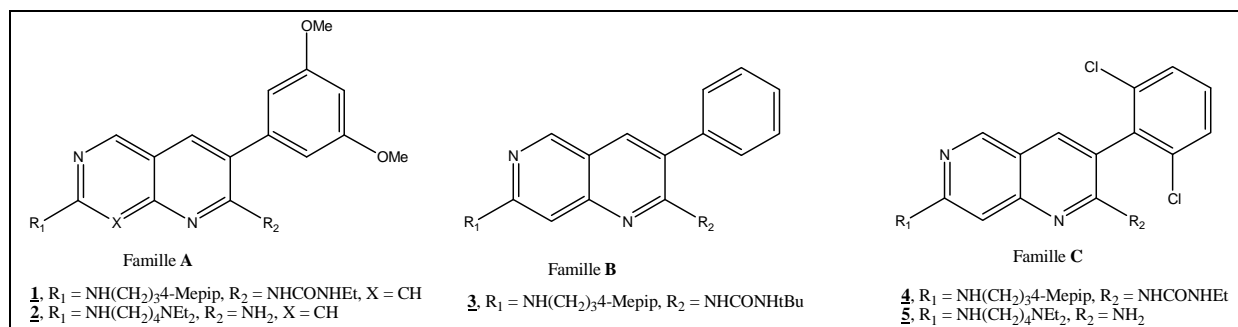


Figure 48 : Structure des composés **1** à **5**.

Quelle que soit la famille considérée, par rapport à la présence d'un motif urée, la présence d'un motif NH₂ en position 2 n'est pas favorable à l'inhibition des différentes kinases testées. Les composés de la famille **A** sont tous sélectifs des FGFR₁ et VEGFR par rapport aux PDGFR et c-Src; ceux de la famille **B** sont moins sélectifs et de moins bons inhibiteurs de FGFR₁ et VEGFR. Les composés appartenant à la famille **C** conservent de bonnes activités inhibitrices sur FGFR₁ tout en étant moins actifs sur VEGFR (Tableau 2).

Composé	IC ₅₀ sur FGFR ₁	IC ₅₀ sur VEGFR	IC ₅₀ sur PDGFR	IC ₅₀ sur c-Src
1	0,021	0,051	30	14
2	0,046	0,22	>50	26
3	0,19	0,054	1,2	0,23
4	0,032	0,11	0,54	0,019
5	0,35	1,2	4,0	0,042

Tableau 2 : IC₅₀ en μM des composés **1** à **5** sur FGFR₁, VEGFR, PDGFR et c-Src.

L'étude des analogues de la famille **A** possédant un motif de type pyrido[2,3]pyrimidine (Figure 42, X = N) a permis de démontrer que la présence de l'atome d'azote supplémentaire n'est pas avantageuse pour l'inhibition des kinases étudiées. L'ensemble des résultats obtenus lors de cette étude de relations structure-activité a permis d'obtenir deux composés (**6** et **7**) qui vont être évalués en tant qu'agents inhibant l'angiogénèse (Figure 49).

²⁶ Thompson, A.M.; Delaney, A.M.; Hamby, J.M.; Schroeder, M.C.; Spoon, T.A.; Crean, S.M.; Showalter, H.D.H.; Denny, W.A. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 4628-4653.

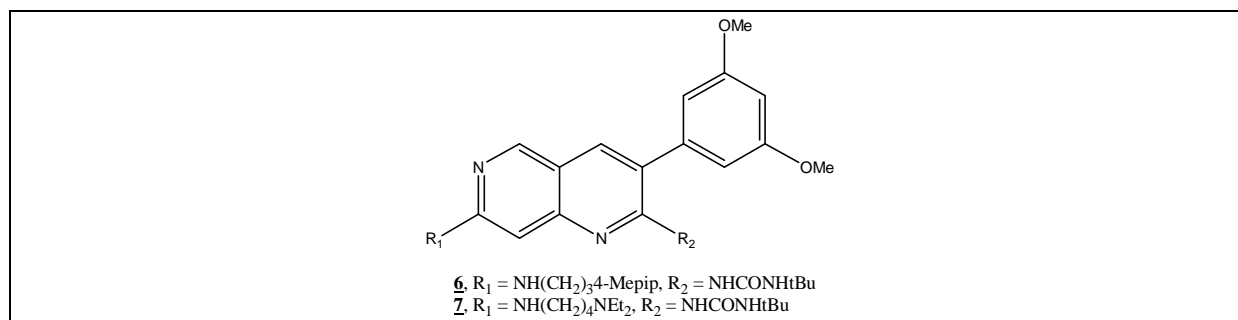


Figure 49 : Structure des composés **6** et **7**.

Les IC₅₀ de ces composés sur FGFR₁ et VEGFR sont très bonnes et du même ordre de grandeur. Il y a toujours une très bonne sélectivité de ces produits vis-à-vis des FGFR₁ et VEGFR par rapport aux PDGFR et c-Src (Tableau 3).

Composé	IC ₅₀ sur FGFR ₁	IC ₅₀ sur VEGFR	IC ₅₀ sur PDGFR	IC ₅₀ sur c-Src
3	0,005	0,005	16	9,1
4	0,006	0,006	2,6	4,6

Tableau 3 : IC₅₀ en μM des composés **6** et **7** sur FGFR1, VEGFR, PDGFR et c-Src.

IV.2.14- Comparaison des propriétés inhibitrices de 4-anilinoquinazolines et de 4-anilinopyrido[3,4-d]pyrimidines diversement substituées^{27,28}

En 1999 et 2001, Smaill *et al.* décrivent une étude de relations structure-activité de deux familles de composés dont le motif de base est soit une 4-anilinoquinazoline, soit une pyrido[3,4-d]pyrimidine (Figure 50 et Figure 51).

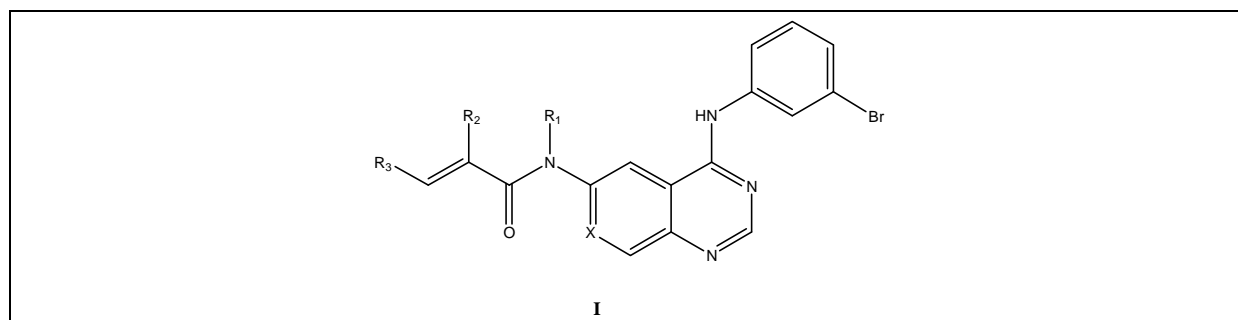


Figure 50 : Structure de la famille **I**.

Les IC₅₀ des composés diversement substitués de la famille **I** ont été déterminées sur EGFR (Tableau 4).

²⁷ Smaill, J.B.; Palmer, B.D.; Rewcastle, G.W.; Denny, W.A.; McNamara, D.J.; Dobrusin, E.M.; Bridges, A.J.; Zhou, H.; Hollis Showalter, H.D.; Winters, R.T.; Leopold, W.R.; Fry, D.W.; Nelson, J.M.; Slintak, V.; Elliot, W.L.; Roberts, B.J.; Vincent, P.W.; Patmore, S.J. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 1803-1815.

²⁸ Smaill, J.B.; Hollis Showalter, H.D.; Zhou, H.; Bridges, A.J.; McNamara, D.J.; Fry, D.W.; Nelson, J.M.; Sherwood, V.; Vincent, P.W.; Roberts, B.J.; Elliott, W.L.; Denny, W.A. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 429-440.

N°	X	R ₁	R ₂	R ₃	IC ₅₀ sur EGFR (nM)
<u>1</u>	CH	H	H	H	0,70
<u>2</u>	N	H	H	H	3,4
<u>3</u>	CH	H	Me	H	1,2
<u>4</u>	N	H	Me	H	1,6
<u>5</u>	CH	H	H	Me	0,55
<u>6</u>	N	H	H	Me	0,50
<u>7</u>	CH	H	H	COOEt	2,7
<u>8</u>	N	H	H	COOEt	1,5
<u>9</u>	CH	(CH ₂) ₃ -N-morpholinyl	H	H	3,3
<u>10</u>	N	(CH ₂) ₃ -N-morpholinyl	H	H	2,7
<u>11</u>	N	Me	H	H	0,17

Tableau 4 : IC₅₀ des composés de la famille I sur EGFR (en nM).

Lorsque l'on compare les dérivés non aza et leurs analogues aza (1 et 2, 3 et 4, 5 et 6, 7 et 8, 9 et 10), on constate que la différence d'activité n'est pas significative. Le composé le plus actif de cette famille est le composé 11, qui est un composé aza, mais l'activité de son analogue non aza n'est pas connue.

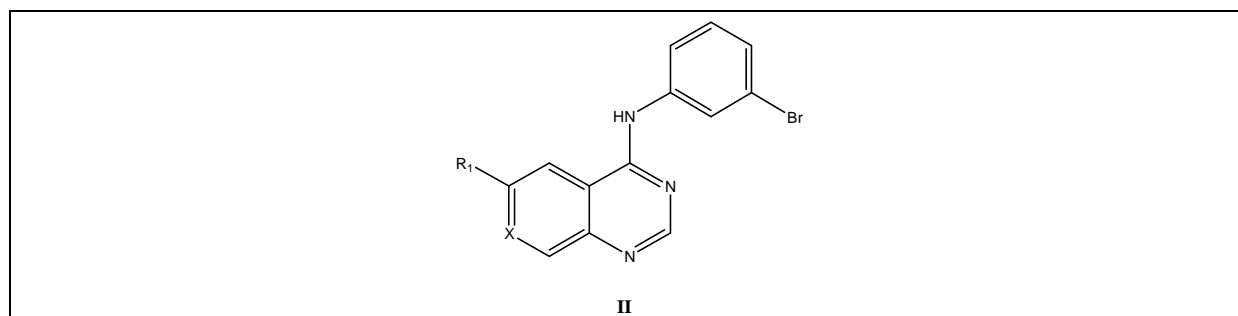


Figure 51 : Structure de la famille II.

Les IC₅₀ des composés diversement substitués de la famille II ont également été déterminées sur EGFR (Tableau 5).

N°	X	R ₁	IC ₅₀ sur EGFR (nM)
<u>12</u>	CH	NHSO ₂ CH=CH ₂	1,4
<u>13</u>	N	NHSO ₂ CH=CH ₂	0,76

Tableau 5 : IC₅₀ des composés de la famille II sur EGFR (en nM).

Dans ce cas également, on peut constater que la différence d'activité entre le composé aza 13 et le composé non aza 12 n'est pas significative.

Pour ces deux familles, l'introduction d'un atome d'azote hétérocyclique supplémentaire n'améliore donc pas les activités biologiques recherchées.

IV.2.15- Les dérivés de 4-pipérazinylquinazolines^{29,30}

En 2003, Matsuno *et al.* décrivent des composés, dérivés de 4-pipérazinylquinazolines (Figure 52), qui sont des inhibiteurs sélectifs de la phosphorylation des PDGFR.

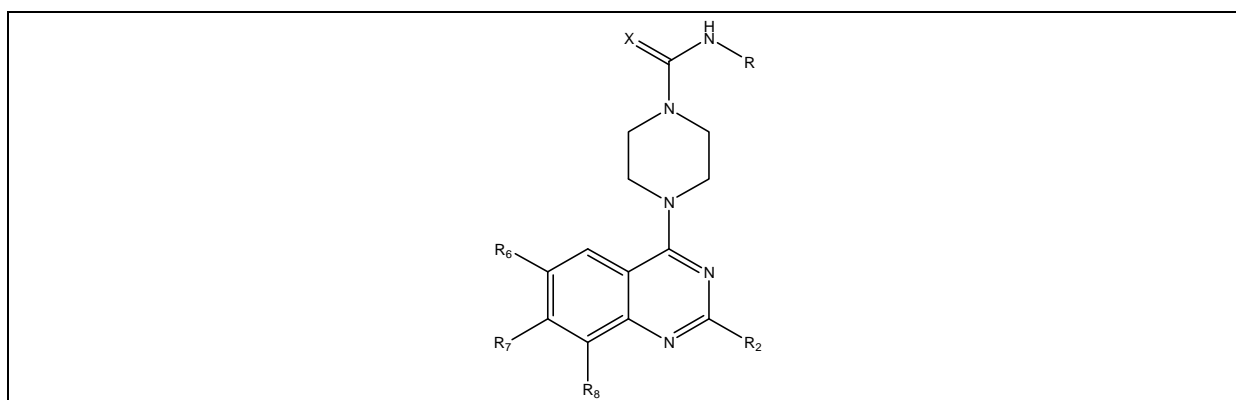


Figure 52 : Structure des dérivés de 4-pipérazinylquinazolines.

On peut voir que la 4-phénoxyphényluréequinazoline **2** a une activité modérée alors que son analogue **1** dont le noyau quinazoline est substitué en positions 6 et 7 par le groupement méthoxy est plus actif (Tableau 6).

N°	R ₂	R ₆	R ₇	R ₈	R	X	IC ₅₀
1	H	OMe	OMe	H	4-PhOPh	O	0,08
2	H	H	H	H	4-PhOPh	O	0,38
3	H	NO ₂	NHEt	H	4-PhOPh	O	0,20
4	H	O(CH ₂) ₂ OMe	OMe	H	4-PhOPh	O	0,02
5	H	OMe	OEt	H	4-PhOPh	O	0,01
6	H	OMe	O(CH ₂) ₂ OMe	H	4-PhOPh	O	0,01

Tableau 6 : Activité inhibitrice (IC₅₀ en μM) de l'autophosphorylation des PDGFRβ par des dérivés de 4-pipérazinylquinazolines **1** à **6**.

Il faut noter que des substitutions en position 6 et 7 par des groupements alkoxy entraînent une meilleure activité dans cette famille de molécules (composés **1**, **4**, **5** et **6** par rapport aux composés **2** et **3**). Les composés **4** et **6**, qui sont substitués en position 6 ou en position 7 par un groupement 2-méthoxyéthoxy, ont de très bonnes activités, ce qui laisse penser que l'atome d'oxygène inséré dans la chaîne alkyle doit favoriser l'interaction du produit dans le site actif du PDGFRβ.

Afin de compléter cette étude, des dérivés avec des structures de type quinazoline tricycliques ont été testés (Figure 53).

²⁹ Matsuno, K.; Ushiki, J.; Seishi, T.; Ichimura, M.; Giese, N.A.; Yu, J.-C.; Takahashi, S.; Oda, S.; Nomoto, Y. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 4910-4925.

³⁰ Matsuno, K.; Seishi, T.; Nakajima, T.; Ichimura, M.; Giese, N.A.; Yu, J.-C.; Oda, S.; Nomoto, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 3001-3004.

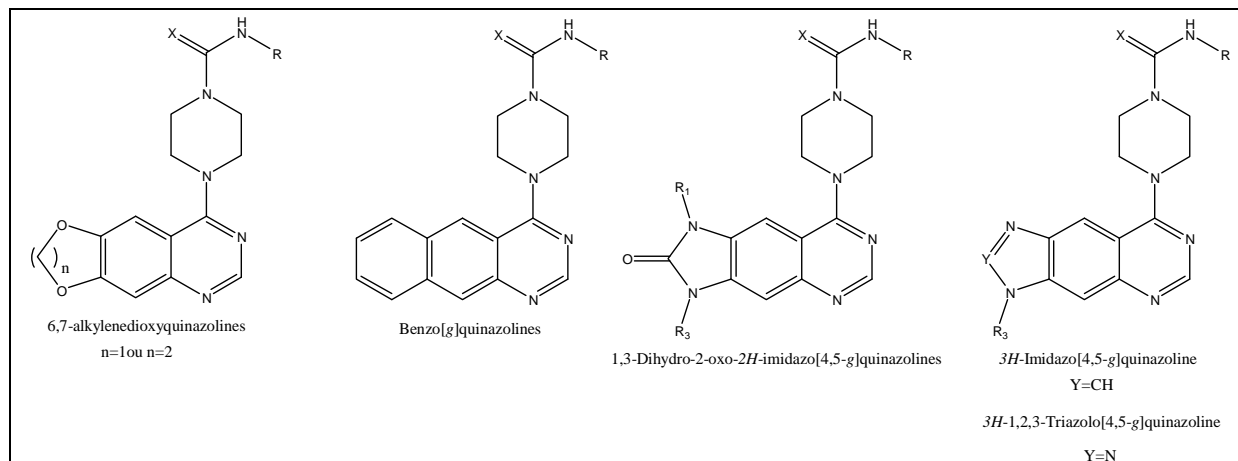


Figure 53 : Structures de dérivés de type quinazoline tricycliques.

Cependant, ces composés ont des activités modérées par rapport à leur analogue 6,7-(OMe)₂ initial **1**.

L'addition d'un cycle à la structure de base n'améliore donc pas les propriétés biologiques de cette famille de composés.

IV.2.16- Les thiényrimidines et thiényridines³¹

En 2004, Munchhof *et al.* publient le chef de file **1** d'une nouvelle famille d'inhibiteurs de VEGFR₂ et d'EGFR de la famille des thiényrimidines (Figure 54).

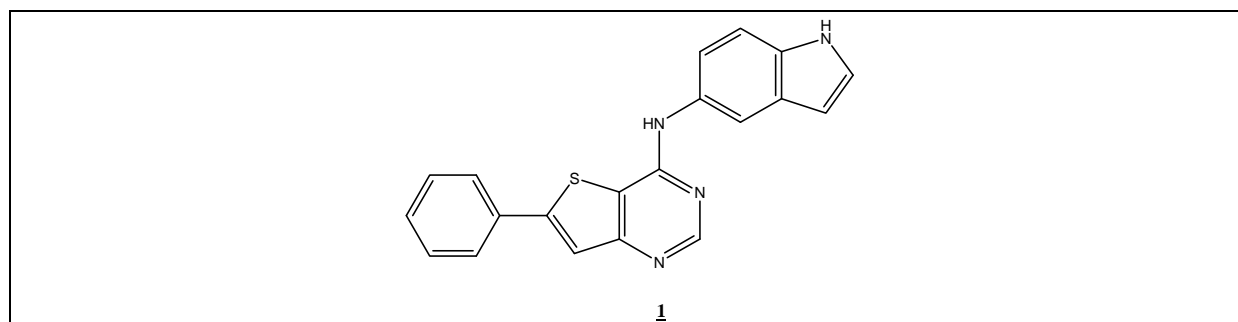
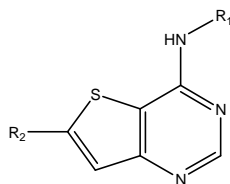


Figure 54 : Structure du chef de file **1**.

Ce composé s'est révélé actif sur VEGFR (IC₅₀ = 80 nM) et sur EGFR (IC₅₀ = 3 nM). A partir de cette structure, une étude de relations structure-activité a été menée (Tableau 7).

³¹ Munchhof, M.J.; Beebe, J.S.; Casavant, J.M.; Cooper, B.A.; Doty, J.L.; Higdon, R.C.; Hillerman, S.M.; Soderstrom, C.I.; Knauth, E.A.; Marx, M.A.; Rossi, A.M.K.; Sobolov, S.B.; Sun, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 21-24.



N°	R ₁	R ₂	IC ₅₀ sur VEGFR	IC ₅₀ sur EGFR
1	5-indolyle	Ph	0,08	0,003
2	H	Ph	>1,25	-
3	CH ₂ Ph	Ph	>2,50	-
4	4-PhCONH ₂	Ph	0,25	>1,00
5	4-PhNHPh	Ph	0,39	-
6	4-PhNHMe	Ph	0,19	-
7	4-PhNMe ₂	Ph	0,5	0,094
8	5-indazolyle	Ph	0,62	1,6
9	5-benzotriazolyle	Ph	0,47	-
10	1-Méthyl-5-indolyle	Ph	>2,50	-
11	2-Méthyl-5-indolyle	Ph	0,14	0,1
12	3-Méthyl-5-indolyle	Ph	0,29	0,005

Tableau 7 : IC₅₀ des composés **1** à **12** sur VEGFR et EGFR en μM.

Les composés **2** à **12** permettent de constater l'effet du remplacement du groupement indole sur l'activité biologique. On peut voir qu'un groupement susceptible de former une liaison hydrogène (donneur ou accepteur d'hydrogène) dans la région occupée par l'azote de l'indole est nécessaire à l'activité. Cette remarque est confirmée par le fait que le composé **10** dont l'azote indolique est méthylé n'a aucune activité. D'autre part, les composés **11** et **12** dont la partie indole est substituée par un méthyle en position 2 ou 3 sont de bons inhibiteurs.

Pour les composés **13** à **24** (Tableau 8), qui ont subi des modifications en position 7 du noyau thienopyrimidine, on peut constater que l'activité biologique est maintenue quel que soit le substituant. Cependant les composés qui possèdent un noyau phényle substitué en para sont de meilleurs inhibiteurs que le chef de file **1**, quelle que soit la taille ou le caractère donneur ou attracteur d'électrons de ce substituant.

N°	R ₁	R ₂	IC ₅₀ sur VEGFR	IC ₅₀ sur EGFR
1	5-indolyle	Ph	0,08	0,003
13	5-indolyle	H	1,41	0,6
14	5-indolyle	Br	0,22	-
15	5-indolyle	COPh	0,77	0,009
16	5-indolyle	C(CH)OHPH	2,21	-
17	5-indolyle	CONHnPr	2	-
18	5-indolyle	2-thiophène	0,13	0,001
19	5-indolyle	4-HOCH ₂ Ph	0,056	0,001
20	5-indolyle	4-N-pyrrolidine (CH ₂) ₃ NHPH	0,043	0,001
21	5-indolyle	4- N-imidazole-(CH ₂) ₃ Ph	0,036	0,001
22	5-indolyle	4- HOCH ₂ C(CH ₃) ₂ CH ₂ NHPH	0,025	0,001
23	5-indolyle	4- Me ₂ N(CH ₂) ₂ Ph	0,022	0,005
24	5-indolyle	4-NH ₂ CH ₂ Ph	0,018	0,004

Tableau 8 : IC₅₀ des composés **13** à **24** sur VEGFR et EGFR en µM.

On peut voir que la plupart des composés sont de 5 à 60 fois plus actifs sur EGFR que sur VEGFR, ce qui est une bonne sélectivité.

IV.2.17- Le PTK787^{18,19}

Le PTK787, connu aussi sous les noms de CGP79787D ou ZK222584, est une molécule de la famille des anilinophthalazines aux propriétés antiangiogéniques intéressantes (Figure 55). Il est relativement sélectif des tyrosine kinases Flk-1 et Flt-1 avec des IC₅₀ respectives de 37 et 77 nM. Il est aussi inhibiteur de Flt-4, PDGFR-β et c-kit avec des IC₅₀ allant de 0,6 à 0,7 µM. On peut noter la bonne sélectivité de ce composé car il n'est actif sur FGFR₁, c-Met, c-Src, v-ABL, PKC-α, CDK1 et EGFR qu'à des concentrations supérieures à 10 µM.

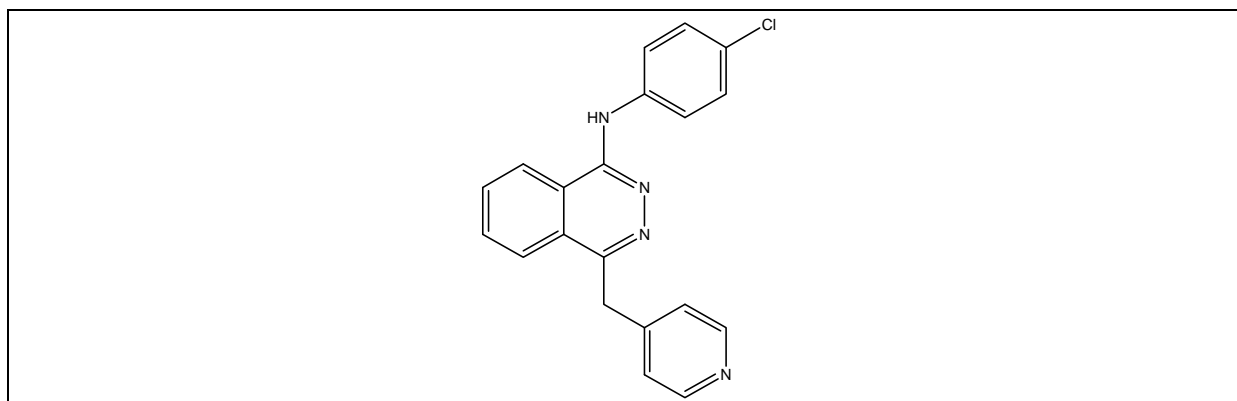


Figure 55 : Structure du PTK787.

¹⁸ Traxler, P.; Bold, G.; Buchdunger, E.; Caravatti, G.; Furet, P.; Manley, P.; O'Reilly, T.; Wood, J.; Zimmermann, J. *Med. Res. Rev.* **2001**, 21, 499-512.

¹⁹ Smith, J.K.; Mamoon, N.M.; Duhé, R.J. *Oncol. Res.* **2004**, 14, 175-225.

IV.2.18- Le AAL993¹⁴

A partir de la structure de PTK787 et la configuration du site de fixation de l'ATP du VEGFR₂, il a été postulé qu'un motif anthranilamide dans lequel une liaison hydrogène intramoléculaire pourrait s'établir entre le NH de l'aniline et le C=O de l'amide serait une bonne option. Ces études ont conduit à la synthèse de l'AAL993 qui est un inhibiteur sélectif et puissant des VEGFR (Figure 56).

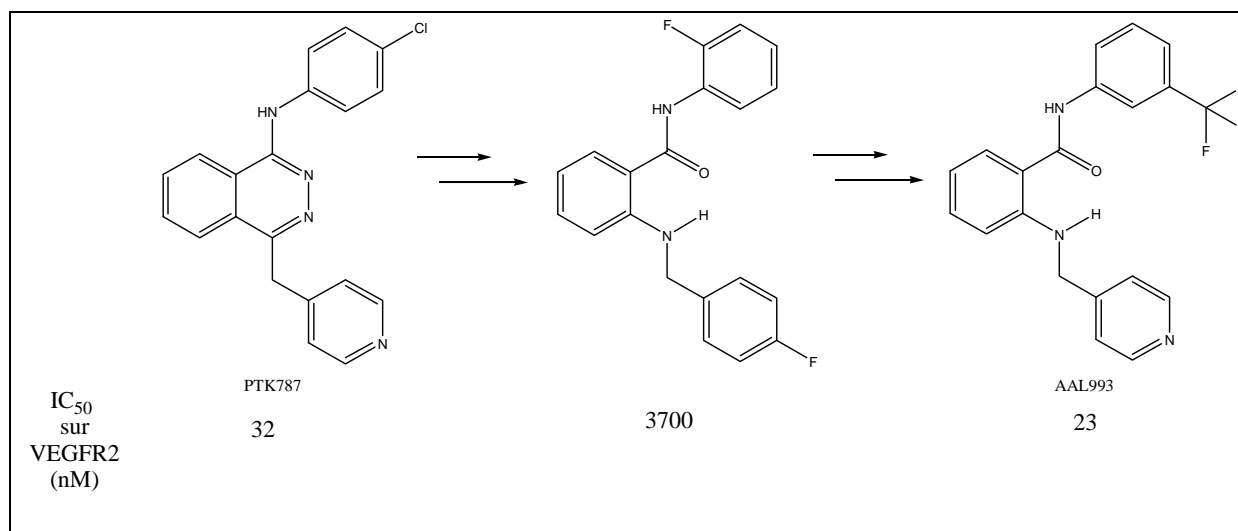


Figure 56 : Etapes clés de la progression du PTK787 vers l'AAL993. Pour chaque composé les IC₅₀ sur VEGFR₂ sont données.

L'AAL993 présente de bonnes propriétés pharmacologiques avec une IC₅₀ de 130 ± 81 nM sur VEGFR₁, de 23 ± 6 nM sur VEGFR₂ et de 18 ± 1 nM sur VEGFR₃; de plus, il semble avoir une excellente biodisponibilité par voie orale.

IV.3- Les 2-anilino-5-aryloxazoles³²

En 2005, Harris *et al.* ont identifié une nouvelle famille d'inhibiteurs de VEGFR₂ : les 2-anilino-5-aryloxazoles (Figure 57).

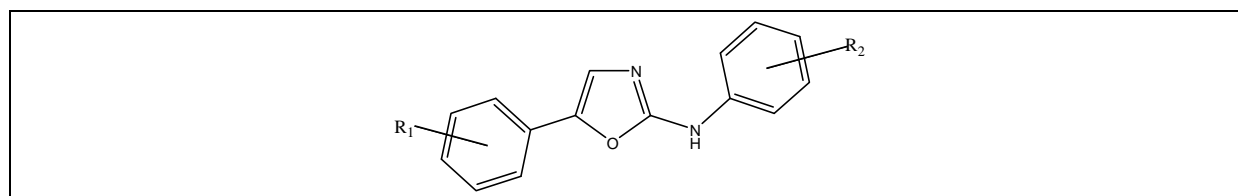


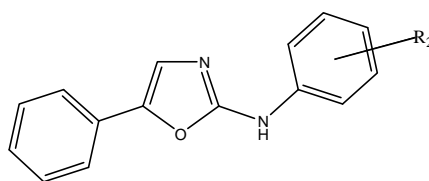
Figure 57 : Structures des 2-anilino-5-aryloxazoles.

Le chef de file de cette nouvelle famille **1** (R₁ = R₂ = H) a montré un potentiel d'inhibition modéré de VEGFR₂ avec une IC₅₀ de 1,2 μM. Afin de trouver des inhibiteurs plus

¹⁴ Manley, P.W.; Bold, G.; Brüggem, J.; Fendrich, G.; Furet, P.; Mestan, J.; Schnell, C.; Stolz, B.; Meyer, T.; Meyhack, B.; Stark, W.; Strauss, A.; Wood, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, 1697, 17-27.

³² Harris, P.A.; Cheung, M.; Hunter III, R.N.; Brown, M.L.; Veal, J.M.; Nolte, R.T.; Wang, L.; Liu, W.; Crosby, R.M.; Johnson, J.H.; Epperly, A.H.; Kumar, R.; Luttrell, D.K.; Stafford, J.A. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 1610-1619.

actifs possédant cette structure de base, une étude de relations structure-activité a été entreprise. Dans un premier temps, des substitutions ont été effectuées sur le noyau aniline (Tableau 9).



<u>1 à 15</u>		
N°	R ₂	IC ₅₀ sur VEGFR ₂ (μM)
<u>1</u>	H	1,2
<u>2</u>	2-CN	0,87
<u>3</u>	2-OMe	0,38
<u>4</u>	3-CN	0,93
<u>5</u>	3-OPh	1,41
<u>6</u>	3-CH ₂ OH	0,50
<u>7</u>	3-SO ₂ Et	0,72
<u>8</u>	3-Me	0,87
<u>9</u>	4-SO ₂ NH ₂	0,50
<u>10</u>	4-OPh	>10
<u>11</u>	3,4-di-OMe	0,14
<u>12</u>	3,5-di-OMe	0,17
<u>13</u>	3,4,5-tri-OMe	0,10
<u>14</u>	2-OMe, 5-SO ₂ NEt ₂	0,023
<u>15</u>	2-OMe, 5-SO ₂ Et	0,050

Tableau 9 : IC₅₀ des composés 1 à 15 sur VEGFR₂.

On peut constater qu'une monosubstitution ne provoque pas de grands changements d'activité (2 à 9), à l'exception du composé 10 beaucoup moins actif. Des disubstitutions en positions 3 et 4 (composé 11) ou en position 3 et 5 (composé 12) améliorent légèrement l'activité, de même que les substitutions en positions 3, 4 et 5 (composé 13). Les résultats les plus intéressants sont obtenus avec les composés disubstitués en position 2 par un groupement OMe et en position 5 par un groupement SO₂NEt₂ ou SO₂Et (composés 14 et 15). De plus, le composé 15 est particulièrement intéressant, car il inhibe fortement la prolifération cellulaire des cellules HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cell) avec une IC₅₀ de 0,29 μM, contre 3 μM pour le chef de file 1.

A partir de ces résultats, des modifications sur le noyau phényle ont été entreprises en gardant une substitution 2-OMe, 5-SO₂Et sur le noyau aniline. Le composé 16 s'est révélé particulièrement intéressant (Figure 58).

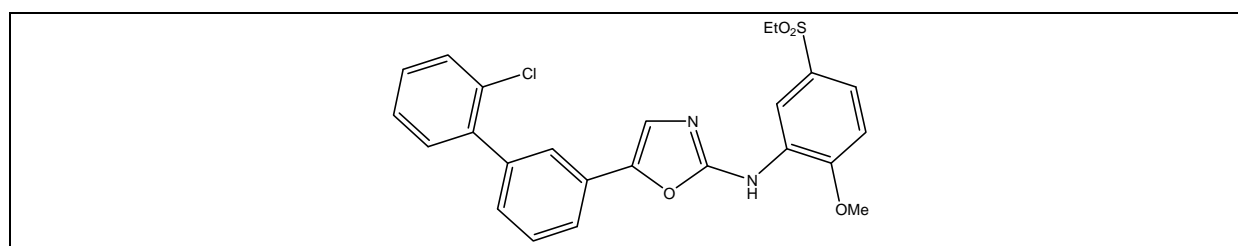


Figure 58 : Structure du composé 16.

En effet, il inhibe le VEGFR₂ avec une IC₅₀ de 0,039 µM et son activité sur cellules HUVEC est très bonne (IC₅₀ = 0,05 µM). Les propriétés du composé **16** sont très largement supérieures à celles du chef de file **1**.

IV.4- Les produits naturels et leurs dérivés

IV.4.1- Les sesquiterpènes³³

En 2004, Vasquez *et al.* décrivent 7 nouveaux sesquiterpènes isolés de la fermentation de *Starchybotrys chortarum* (Figure 59).

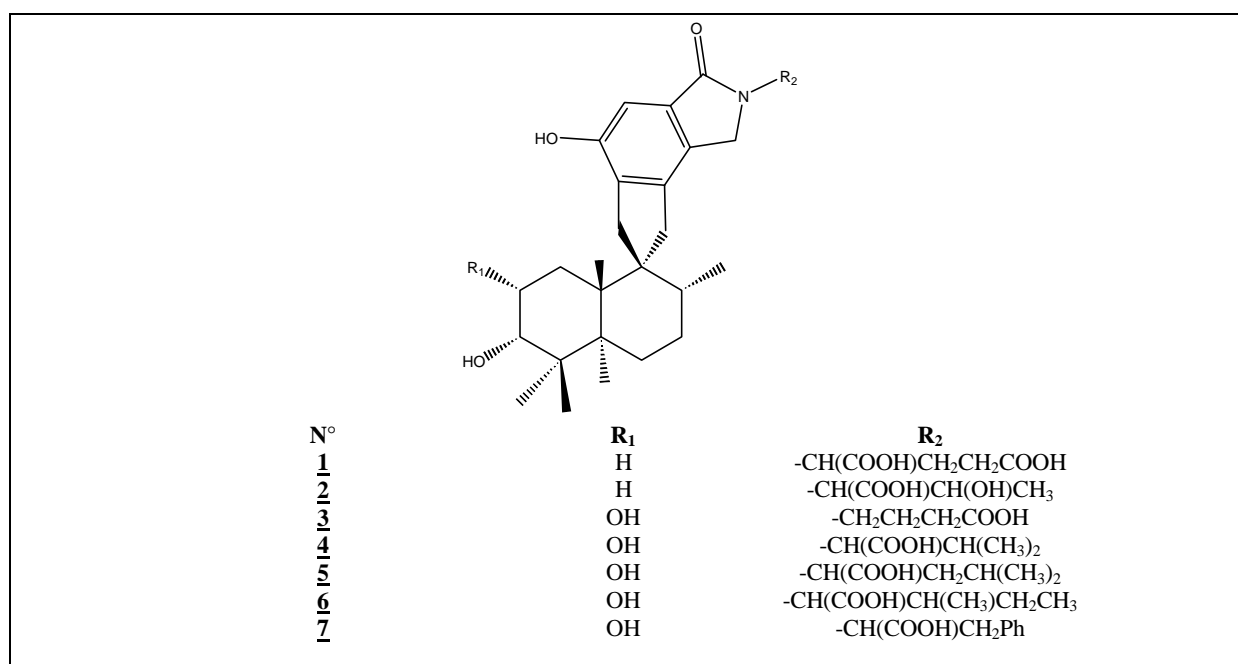


Figure 59 : Structure des 7 sesquiterpènes isolés.

L'activité biologique de ces 7 composés a été testée sur la kinase Tie2 (Tableau 10).

N°	IC ₅₀ (mM) sur Tie2
1	>0,2
2	0,031
3	>0,4
4	0,025
5	0,097
6	0,146
7	0,046

Tableau 10 : IC₅₀ en mM des 7 sesquiterpènes sur Tie2.

On peut remarquer que l'activité inhibitrice de Tie2 de ces composés reste modeste, cependant le composé **4** pourrait servir de chef de file pour la synthèse de nouveaux inhibiteurs de Tie2 dont le motif de base serait sesquiterpénique.

³³ Vasquez, M.J.; Vega, A.; Rivera-Sagredo, A.; Jiménez-Alfaro, M.; Diez, E.; Hueso-Rodríguez, J.A. *Tetrahedron* **2004**, 60, 2379-2385.

IV.4.2- La lavendustine et l'erbstatine²³

La lavendustine issue de la fermentation de *Streptomyces griseolavendus* et l'erbstatine issue de la fermentation de *Streptomyces actinomycetes* (Figure 60) sont connus comme étant de faibles inhibiteurs non sélectifs des EGFR.

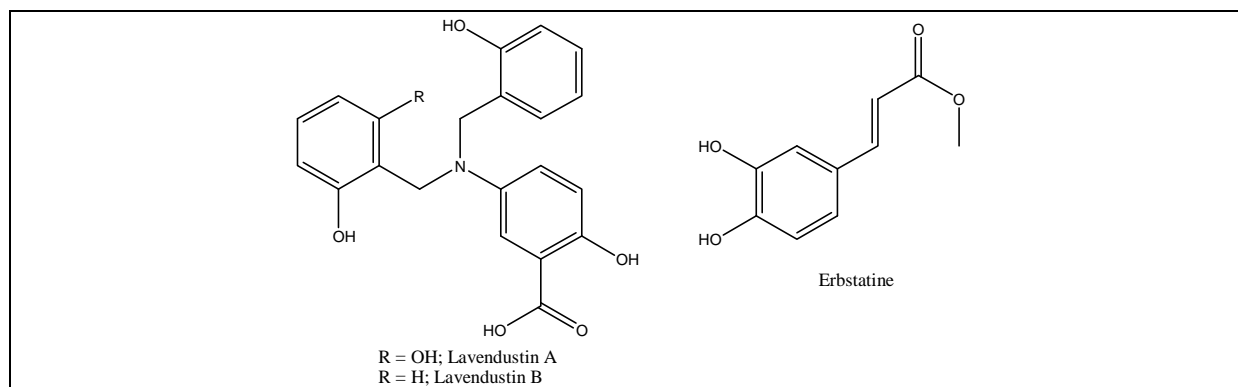


Figure 60 : Structures de la lavendustine et de l'erbstatine.

IV.4.3- Les indolocarbazoles^{23,34}

La staurosporine issue de la fermentation de *Streptomyces staurosporeus* (Figure 61) est connue comme étant un inhibiteur de tyrosine kinase non sélectif.

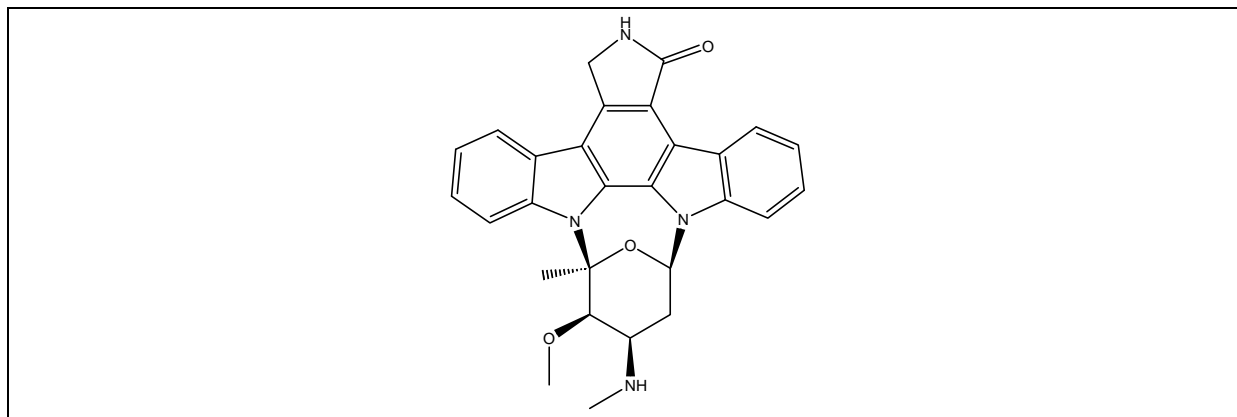


Figure 61 : Structure de la staurosporine.

Un indolocarbazole, l'alcaloïde K-252a a été isolé d'une souche de *Nocardioopsis* et son épimère a été synthétisé (Figure 62) afin de comparer leurs activités respectives (Tableau 11).

²³ Al-Obeidi, F.A.; Lam, K.S. *Oncogene* **2000**, 19, 5690-5701.

²³ Al-Obeidi, F.A.; Lam, K.S. *Oncogene* **2000**, 19, 5690-5701.

³⁴ Gringrich, D.E.; Hudkins, R.L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 2829-2831.

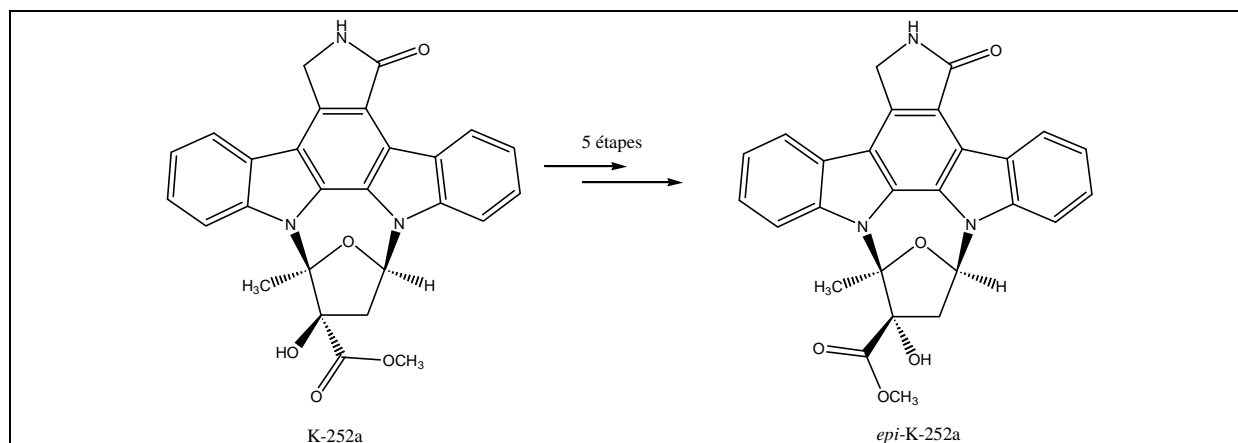


Figure 62 : Le K-252a et son épimère.

	PKC	TrkA	VEGFR2	MLK1
K-252a	250 ± 25	13 ± 4	43 ± 16	22 ± 5
epi-K-252a	114	1,2 ± 0,2	19 ± 2	25 ± 4

Tableau 11 : Activités de K-252a et de son épimère sur diverses kinases (IC₅₀ en nM).

On voit nettement que l'épimère synthétique de K-252a est entre 2 et 10 fois plus actif que le produit naturel sur PKC, TrkA et VEGFR₂, alors que sur MLK1 (myosin light chain kinase) l'activité est sensiblement la même.

IV.4.4- Le CEP-5214 et le CEP-7055³⁵

En 2003, Gingrich *et al.* décrivent la synthèse de deux indolocarbazoles prometteurs, le CEP-5214 et le CEP-7055 (Figure 63).

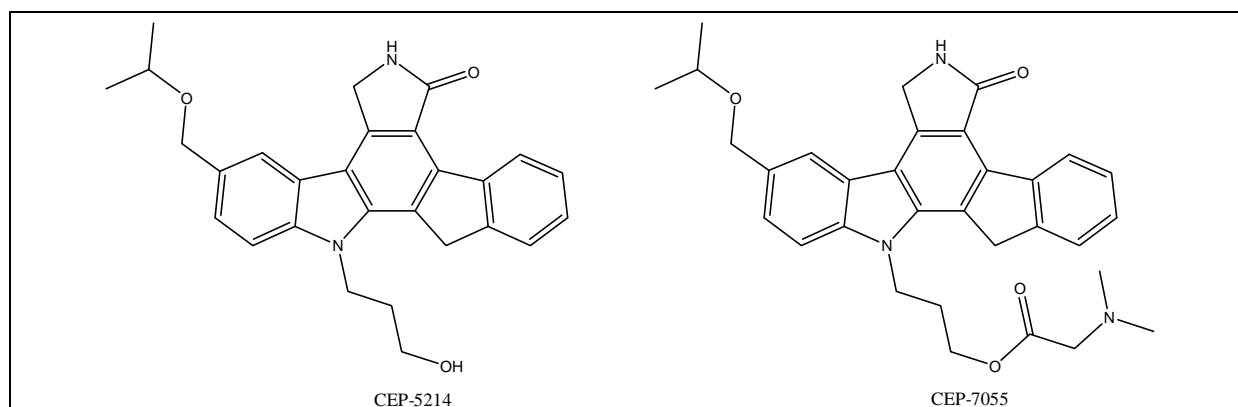


Figure 63 : Structures du CEP-5214 et du CEP-7055.

Le CEP-5214 est un bon inhibiteur sélectif des VEGFR dont l'IC₅₀ sur VEGFR₂ est de 8 nM. Le CEP-7055, qui est un analogue dont la biodisponibilité est meilleure que celle du CEP-5214, est lui aussi un bon inhibiteur sélectif des VEGFR dont l'IC₅₀ est de 18 nM. Il est actuellement en études cliniques de phase I.

³⁵ Gingrich, D.E.; Reddy, D.R.; Iqbal, M.A.; Singh, J.; Aimone, L.D.; Angeles, T.S.; Albom, M.; Yang, S.; Ator, M.A.; Meyer, S.L.; Robinson, C.; Ruggeri, B.A.; Dionne, C.A.; Vaught, J.L.; Mallamo, J.P.; Hudkins, R.L. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 5375-5388.

IV.4.5- Les clavilactones²³

Les clavilactones CA, CB et CD sont isolées de cultures de *Clitocybe clavipes* (Figure 64). Elles sont actives sur les protéines tyrosine kinase Ret/ptcl (récepteurs des GDNF: Glial cell Derived Neurotrophic Factor) et EGFR.

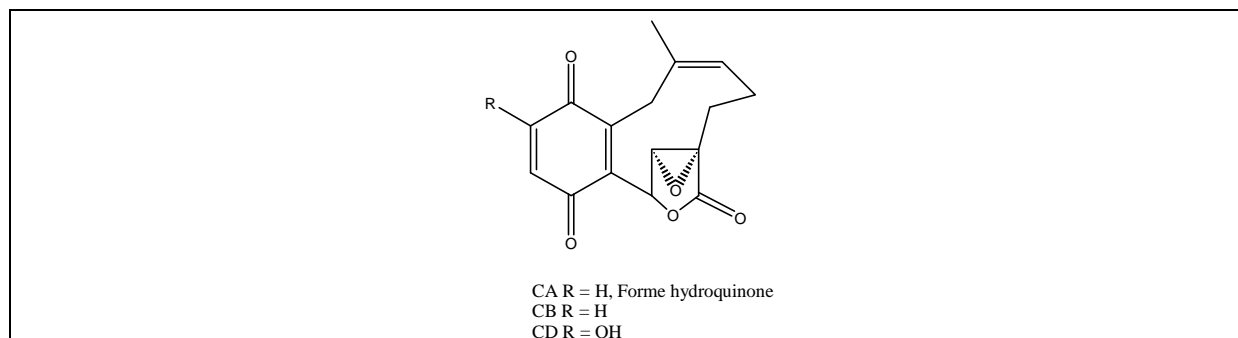


Figure 64 : Structure des clavilactones CA, CB et CD.

IV.6- Les quinolines

IV.6.1- Les dérivés de 4-phénoxyquinoline³⁶

Dans cette partie, l'étude de relation structure-activité de différentes familles de dérivés de 4-phénoxyquinolines va être décrite (Figure 65).

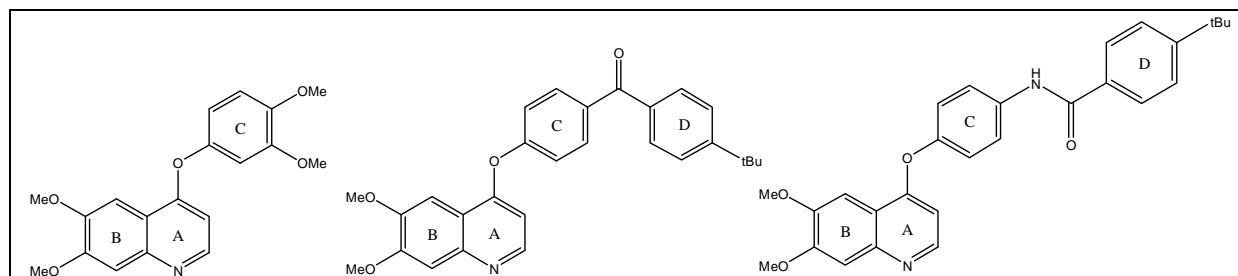
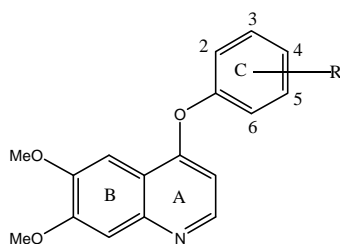


Figure 65 : Structures représentatives des dérivés de 4-phénoxyquinolines.

L'activité biologique des composés substitués par différents groupements fonctionnels sur le noyau aromatique C a été évaluée (Tableau 12).

²³ Al-Obeidi, F.A.; Lam, K.S. *Oncogène* **2000**, 19, 5690-5701.

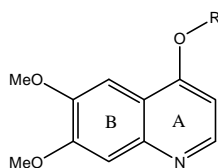
³⁶ Kubo, K.; Ohyama, S.-I.; Shimizu, T.; Takami, A.; Murooka, H.; Nishitoba, T.; Kato, S.; Yagi, M.; Kobayashi, Y.; Iinuma, N.; Isoe, T.; Nakamura, K.; Iijima, H.; Osawa, T.; Izawa, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 5117-5133.



N°	R	IC ₅₀ sur PDGFR	IC ₅₀ sur EGFR
1	H	0,76	50
2	2-OMe	0,60	92
3	3-COMe	0,56	>100
4	4-COMe	15	>100
5	3-COOMe	15	>100
6	3-NO ₂	0,70	35
7	3-Me	6,9	14
8	3-OH	0,56	19
9	4-OH	0,048	16
10	3-F	1,5	24
11	3-Br	8,4	2,5
12	4-Br	0,20	20
13	2-NH ₂	7,7	<10
14	3-NH ₂	1,7	40
15	4-NH ₂	0,20	>100
16	2,3-(OMe) ₂	4,4	>100
17	2,6-(OMe) ₂	69	81
18	3,4-(OMe) ₂	0,13	>100
19	3,5-(OMe) ₂	5,5	49

Tableau 12 : Valeurs des IC₅₀, en μM, pour les composés **1** à **19** sur PDGFR et EGFR

On peut voir que le composé **18**, substitué en positions 3 et 4 par des groupements méthoxy, est le plus intéressant de cette série en termes d'inhibition et de sélectivité sur les PDGFR. En revanche, la disubstitution par des groupements méthoxy en positions 2 et 6 diminue l'activité dans cette série de composés sur PDGFR (composé **17**). D'autre part, on peut voir qu'un groupement carbonyle fait chuter fortement l'activité inhibitrice sur les EGFR tout en maintenant une très bonne activité sur PDGFR (composés **3**, **4** et **5**). Afin d'essayer d'obtenir des composés encore plus sélectifs que **18** en faveur des PDGFR par rapport aux EGFR, les activités de composés avec un groupement oxo entre les cycles aromatiques C et D ont été étudiées (Tableau 13).

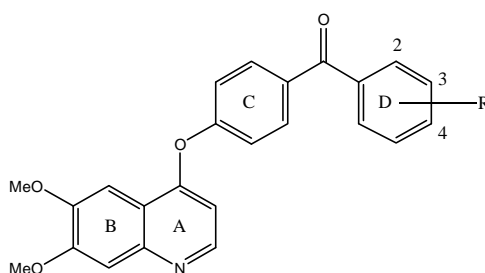


N°	R	IC ₅₀ sur PDGFR	IC ₅₀ sur EGFR
<u>20</u>		48	14
<u>21</u>		37	89
<u>22</u>		7,1	50

Tableau 13 : Valeurs des IC₅₀, en μM, pour les composés 20 à 22 sur PDGFR et EGFR

On voit que la substitution sur le noyau aromatique C par un groupement benzoyle fait chuter la capacité d'inhibition du PDGFR. Cependant, le composé 22 qui est substitué en para garde une activité modérée sur PDGFR.

Ensuite, l'effet de l'introduction d'un substituant sur le groupement benzoyle a été étudiée (Tableau 14).



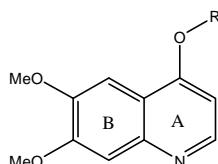
N°	R	IC ₅₀ sur PDGFR	IC ₅₀ sur EGFR
<u>22</u>	H	7,1	50
<u>23</u>	4-Me	1,7	>100
<u>24</u>	4-CF ₃	0,85	>100
<u>25</u>	4-F	6,9	75
<u>26</u>	4-Cl	3,9	>100
<u>27</u>	3,4-Cl ₂	3,5	31
<u>28</u>	4-Br	2,4	>100
<u>29</u>	4-I	0,77	>100
<u>30</u>	4-NO ₂	0,89	>100
<u>31</u>	4-OCF ₃	1,0	>100
<u>32</u>	4-CN	4,2	>100
<u>33</u>	4- <i>n</i> Bu	0,15	>100
<u>34</u>	4- <i>t</i> Bu	0,31	>100
<u>35</u>	4-Ph	0,90	>100

Tableau 14 : Valeurs des IC₅₀, en μM, pour les composés 22 à 35 sur PDGFR et EGFR

On peut noter que le cycle aromatique D augmente l'inhibition vis-à-vis des PDGFR, mais réduit celle vis-à-vis des EGFR. On remarque que plus le substituant en position 4 est hydrophobe, plus l'inhibition des PDGFR est importante (22<23<24<34 et 33), mais le degré de ramification de la chaîne butyle (33 et 34) n'affecte pas l'activité. Le substituant en

position 4 n'a pas d'effet sur l'inhibition des EGFR. Ces observations laissent penser que le site actif du PDGFR possède une poche hydrophobe dans laquelle le substituant en position 4 du cycle D se fixe.

Un motif amide est souvent utilisé comme bioisostère d'un groupement carbonyle. Afin de voir l'importance du groupement carbonyle du composé **34**, l'amide correspondant a été synthétisé et testé (Tableau 15).



N°	R	IC ₅₀ sur PDGFR	IC ₅₀ sur EGFR
36		0,050	>100
37		1,8	30
38		0,33	6,0
39		0,044	0,65

Tableau 15 : Valeurs des IC₅₀, en μM, pour les composés **36** à **39** sur PDGFR et EGFR

Le composé **36** est à peu près 6 fois plus actif que le composé **34** sur PDGFR tout en gardant une très bonne sélectivité pour les PDGFR vis-à-vis des EGFR. Par contre, l'amide «inversé» **37** est 36 fois moins actif que le composé **36** et montre une mauvaise sélectivité. L'amide **38**, qui est méthylé, est moins actif et beaucoup moins sélectif que le composé non méthylé **36**. Le composé substitué en position 3 (composé **39**) montre une inhibition similaire à celle du composé **36** sur PDGFR, mais la sélectivité est bien moindre. D'après ces résultats, l'absence de substituant sur la fonction amide (**36** et **38**) paraît importante pour l'inhibition et la sélectivité vis-à-vis de la kinase. Dans cette série, le composé **36** est le plus intéressant pour inhiber sélectivement les PDGFR.

Cette étude de relations structure-activité a permis de trouver 3 composés **18**, **34** et **36** qui semblent avoir une bonne activité et une bonne sélectivité vis-à-vis des PDGFR (Figure 66).

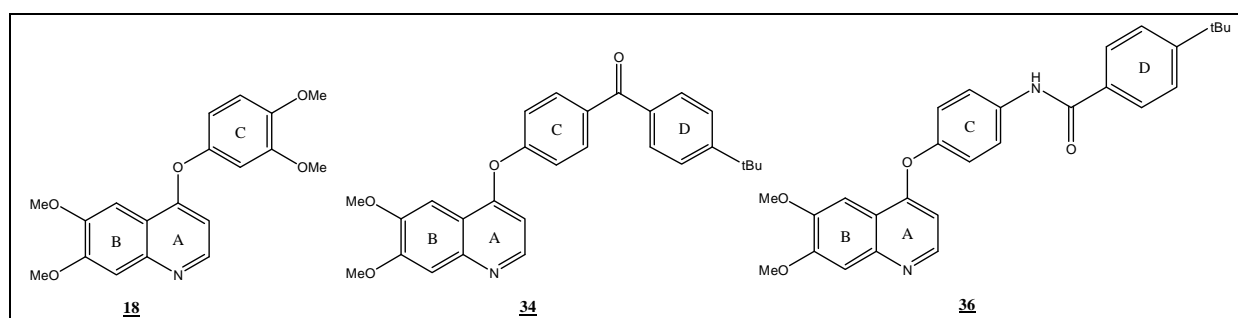


Figure 66 : Structure des composés **18**, **34** et **36**.

Enfin, ces 3 composés ont été testés sur différentes tyrosine kinase afin de vérifier leur sélectivité (Tableau 16).

N°	IC ₅₀ sur PDGFR	IC ₅₀ sur EGFR	IC ₅₀ sur FGFR	IC ₅₀ sur IGF1Rβ
18	0,13	>100	>100	>100
34	0,31	>100	3,8	>100
36	0,050	>100	>100	>100

Tableau 16 : IC₅₀, en μM, des composé **18**, **34** et **36** sur diverses tyrosines kinases.

On peut voir que le composé **34** montre une bonne activité, à la fois sur PDGFR et FGFR. Quant au deux autres composés il sont actifs et sélectifs des PDGFR.

IV.6.2- Les 4-phenoxyquinoline diphénylaminés³⁷

En 2004, Shimizu *et al.* décrivent la synthèse d'un inhibiteur des FGFR₂ (Figure 67).

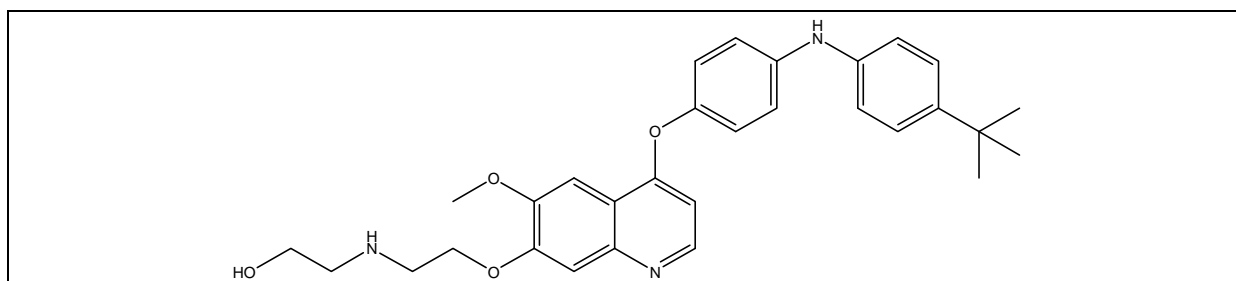


Figure 67 : Structure de l'inhibiteur de FGFR₂ décrit par Shimizu *et al.*

Ce composé qui est soluble dans le milieu physiologique, présente une bonne activité inhibitrice sur KDR, PDGFRβ, c-kit et FGFR₂. Par contre, il n'a aucune activité sur EGFR, IGF-1R et c-Met à une concentration de 10 μM (Tableau 17).

RTK	IC ₅₀ (nM)
FGFR ₂	88
KDR	83
PDGFR	100
c-kit	480
EGFR	>10000
IGF-1R	>10000
c-Met	>10000

Tableau 17 : IC₅₀ en nM sur diverses tyrosines kinases.

Ces résultats montrent que ce composé a une bonne sélectivité pour les tyrosine kinases de la famille des KDR, PDGFR et FGFR.

³⁷ Shimizu, T.; Fujiwara, Y.; Osawa, T.; Sakai, T.; Kubo, K.; Kubo, K.; Nishitoba, T.; Kimura, K.; Senga, T.; Murooka, H.; Iwai, A.; Fukushima, K.; Yoshino, T.; Miwa, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 875-879.

IV.6.3- Les 4-phenoxyquinoline urées³⁸

Dans la continuité de leurs travaux sur les 4-phenoxyquinolines, Shimizu *et al.* décrivent en 2005 la synthèse d'un inhibiteur de VEGFR₂ et de PDGFR α possédant un motif urée (Figure 68).

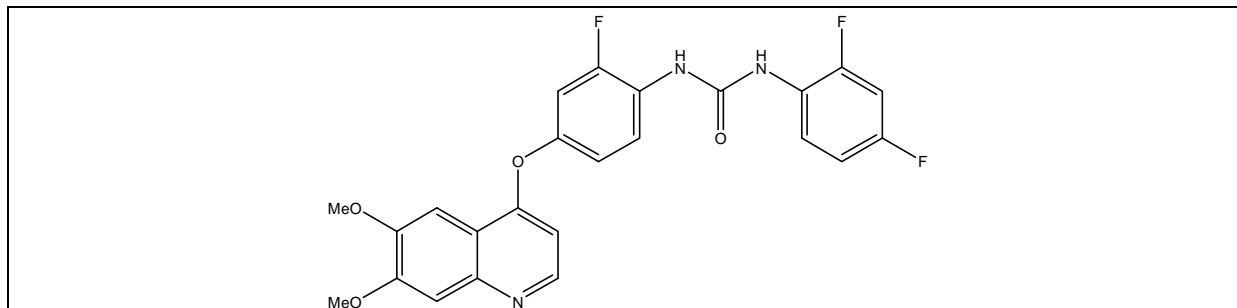


Figure 68 : Structure de l'inhibiteur de VEGFR₂ et de PDGFR α décrit par Shimizu *et al.* en 2005.

Ce composé présente une bonne activité sur VEGFR₂, PDGFR α , c-kit et à un degré moindre sur FGFR₂. Par contre, il ne présente aucune activité sur EGFR et IGFR (Tableau 18).

RTK	IC ₅₀ en nM
VEGFR ₂	0,9
PDGFR α	67
c-kit	40
FGFR ₂	170
EGFR	>10000
IGFR	>10000

Tableau 18 : IC₅₀ en nM sur diverse kinases.

Ce composé est un inhibiteur très puissant et sélectif de VEGFR₂.

³⁸ Kubo, K.; Shimizu, T.; Ohyama, S.-I.; Murooka, H.; Iwai, A.; Nakamura, K.; Hasegawa, K.; Kobayashi, Y.; Takahashi, N.; Takahashi, K.; Kato, S.; Izawa, T.; Isoe, T. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 1359-1366.

IV.6.4- Le CP673451³⁹

Le CP673451 est un inhibiteur puissant et sélectif des PDGFR α et β (Figure 69).

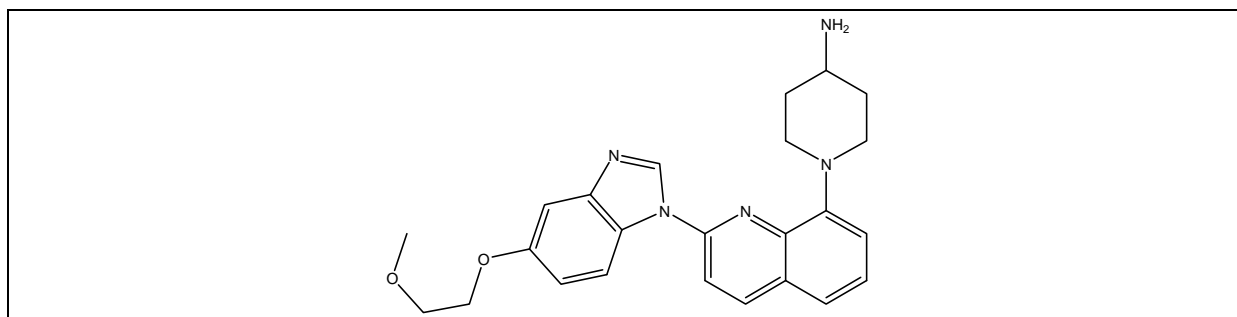


Figure 69 : Structure du CP673451.

Le CP673491 inhibe sélectivement les PDGFR α et β , il a une légère activité sur c-kit ainsi que sur VEGFR₁ et sur VEGFR₂. Son activité est quasi nulle sur FGFR, EGFR et IGFR.

IV.7- Les indoles

IV.7.1- Les 3-(5-thièn-3-ylpyridin-3-yl)-1H-indoles⁴⁰

En 2003, Fraley *et al.* décrivent une nouvelle famille d'indoles inhibiteurs sélectifs des KDR (Figure 70 et Tableau 19).

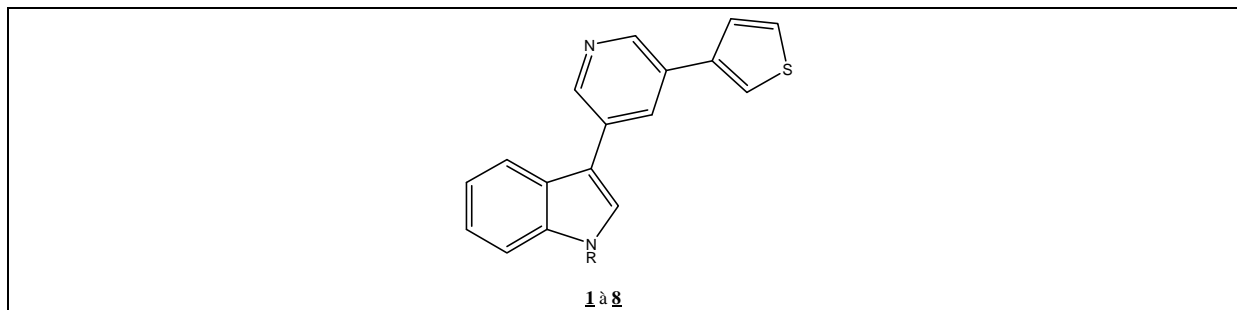


Figure 70 : Structure des indoles préparés.

³⁹ Roberts, W.G.; Whalen, P.M.; Soderstrom, E.; Moraski, G.; Lyssikatos, J.P.; Wang, H.-F.; Cooper, B.; Baker, D.A.; Savage, D.; Dalvie, D.; Atherton, J.A.; Ralston, S.; Szewc, R.; Kath, J.C.; Lin, J.; Soderstrom, C.; Tkalcevic, G.; Cohen, B.D.; Pollack, V.; Barth, W.; Hungerford, W.; Ung, E. *Cancer Res.* **2005**, *65*, 957-966.

⁴⁰ Fraley, M.E.; Arrington, K.L.; Hambaugh, S.R.; Hoffman, W.F.; Cunningham, A.M.; Young, M.B.; Hungate, R.W.; Tebben, A.J.; Rutledge, R.Z.; Kendall, R.L.; Huckle, W.R.; McFall, R.C.; Coll, K.E.; Thomas, K.A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2973-2976.

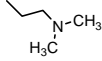
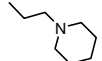
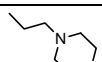
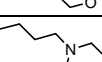
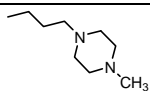
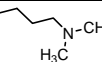
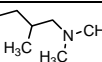
N°	R	IC ₅₀ sur KDR en nM
<u>1</u>	H	126
<u>2</u>		115
<u>3</u>		111
<u>4</u>		60
<u>5</u>		38
<u>6</u>		16
<u>7</u>		64
<u>8</u>		46

Tableau 19 : IC₅₀ en nM sur KDR des indoles 1 à 8.

Le composé 6 est le plus actif sur KDR. En plus, celui-ci possède une bonne solubilité à pH 5,2 (18,17 mg/mL contre 0,177 mg/mL pour le composé 5).

Le composé 6 possède une sélectivité assez faible pour les KDR par rapport aux kinases qui possèdent une homologie importante avec celles-ci (PDGFR β , Flt-1 et Flt-4) pour lesquelles les rapports des IC₅₀ sont compris entre 7 et 20. Par contre, il y a une grande sélectivité pour les KDR par rapport aux FGFR₁ et FGFR₂.

IV.7.2- Le PD145709⁶

Parmi une famille de dérivés de type 2,2'-dithiobisindoles, le groupe Parke-Davis a décrit le composé PD145709 comme un inhibiteur de FGFR ayant une IC₅₀ de 4,5 μ M (Figure 71).

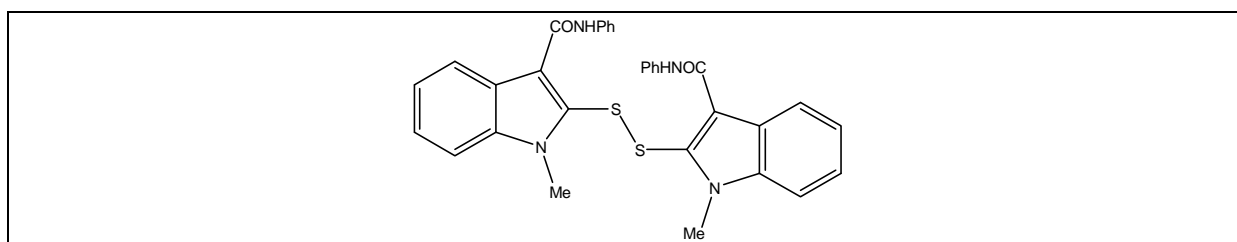


Figure 71 : Structure du PD145709.

⁶ Manetti, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, 9, 399-409.

IV.8- Les indènones⁶

Des études de relations structure-activité portant sur une famille de dérivés de l'indène ont permis de mettre en évidence deux inhibiteurs de FGFR₁ présentant une bonne sélectivité vis-à-vis d'autres kinases telles que c-Src et PDGFR (Figure 72).

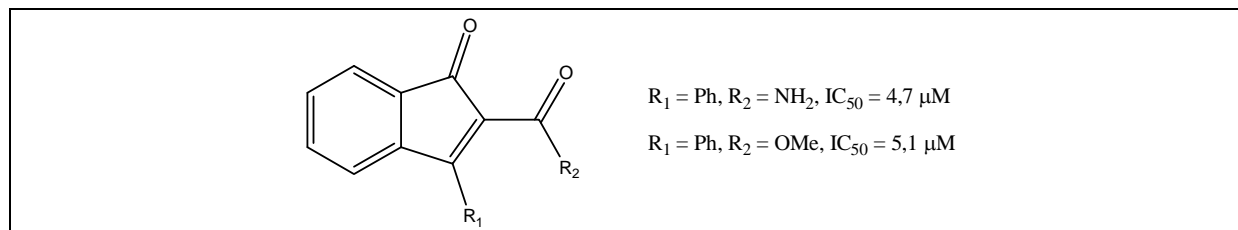


Figure 72 : Structure et IC₅₀ en μM des inhibiteurs du FGFR₁ dérivés de l'indène.

IV.9- Les oxindoles

IV.9.1- Les 3-(arylidényl)-oxindoles⁴¹

En 1999, la société Sugen publie un brevet dans lequel sont décrits 150 composés, à base d'oxindole, potentiellement inhibiteurs de récepteurs de facteurs de croissance (Figure 73).

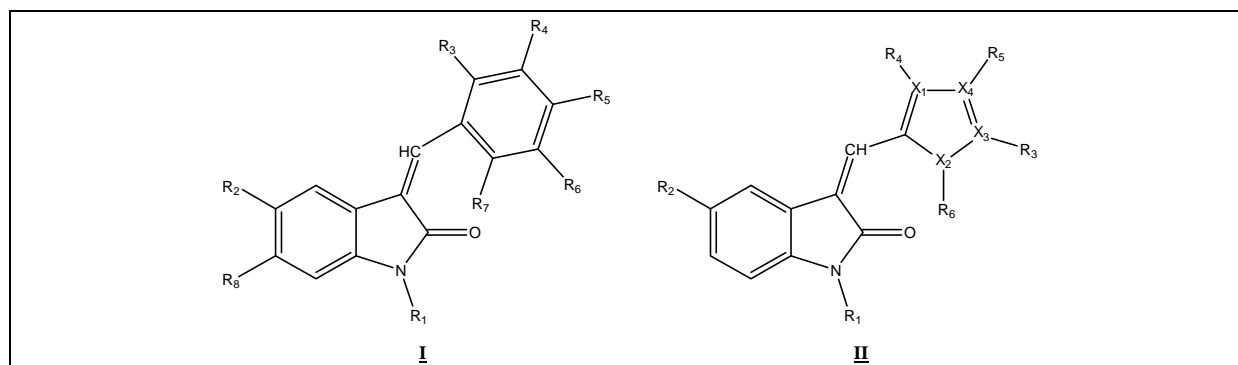


Figure 73 : Structures des composés brevetés par Sugen.

Parmi ceux-ci, 9 composés de la famille II semblent avoir une activité intéressante sur Flk-1 (Figure 74).

⁶ Manetti, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, 9, 399-409.

⁴¹ Tang, P.C.; Sun, L.; McMahon, G. US Patent 5886020, 1999; *Chem. Abs.* **1999**, 130, 252240.

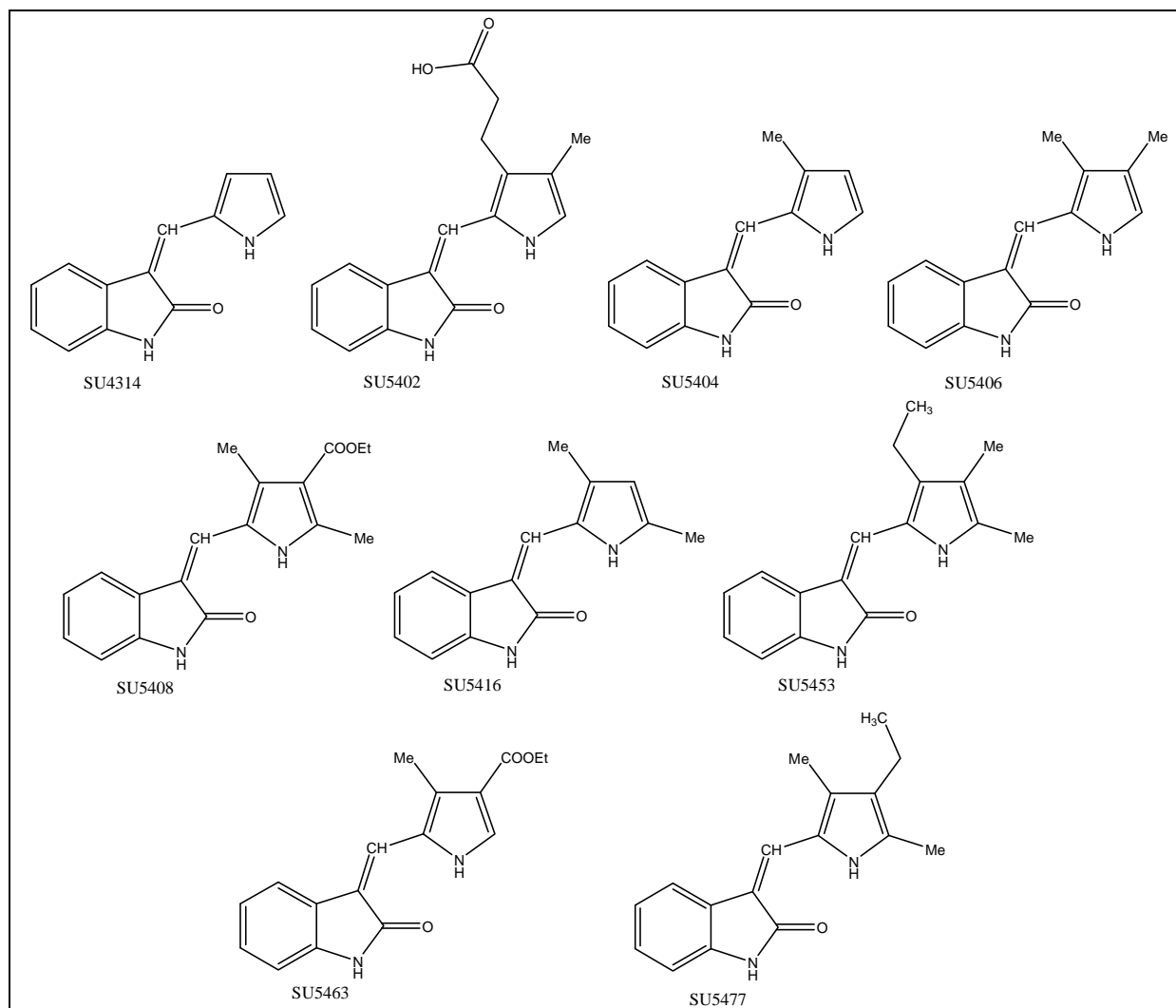


Figure 74 : Structures de composés de la famille **II** qui ont une activité biologique sur Flk-1.

Les IC_{50} sur PDGFR et Flk-1 ont été déterminées (Tableau 20).

N°	IC_{50} sur PDGFR (μM)	IC_{50} sur Flk-1 (μM)
4314	12	0,39
5402	-	0,4
5404	17	0,24
5406	-	0,17
5408	-	0,07
5416	10,8	0,11
5453	65,5	0,14
5477	-	0,15

Tableau 20 : IC_{50} en μM des composés brevetés par Sugen sur PDGFR et Flk-1.

On peut remarquer que ces composés sont relativement sélectifs des Flk-1 par rapport aux PDGFR.

Le SU4312 est le seul composé appartenant à la famille **I** qui possède une légère activité sur Flk-1 avec une IC_{50} de 0,8 μM et sur PDGFR avec une IC_{50} de 19,4 μM (Figure 75).

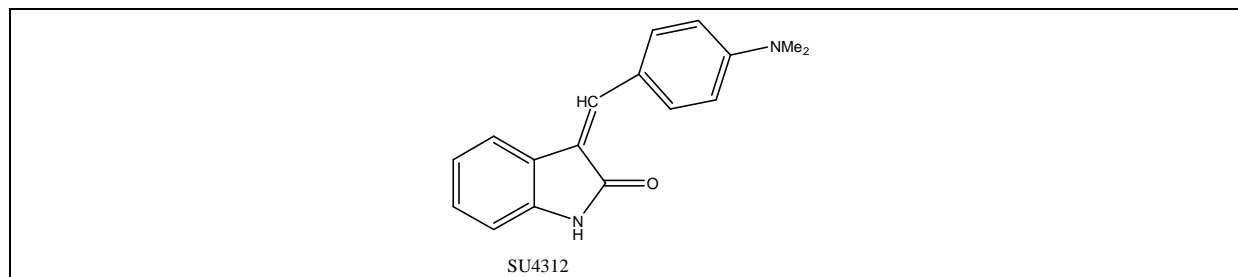


Figure 75 : Structure du SU4312.

Dans ce cas également, on peut remarquer que ce composé est relativement sélectif des Flk-1 par rapport aux PDGFR.

Le chef de file, SU4314 possède une bonne activité, mais le problème de ce composé est sa faible solubilité, ce qui réduit fortement sa biodisponibilité. La plupart des substitutions qui ont été introduites ont pour but de solubiliser le composé dans le milieu physiologique.

De cette étude, les composés SU5402 et SU5416 sont ceux qui ont connu le développement le plus important.

IV.9.2- Le SU5402^{19,42}

Le SU5402 est l'inhibiteur de référence de protéines tyrosines kinases dont la structure de base est un oxindole (Figure 76).

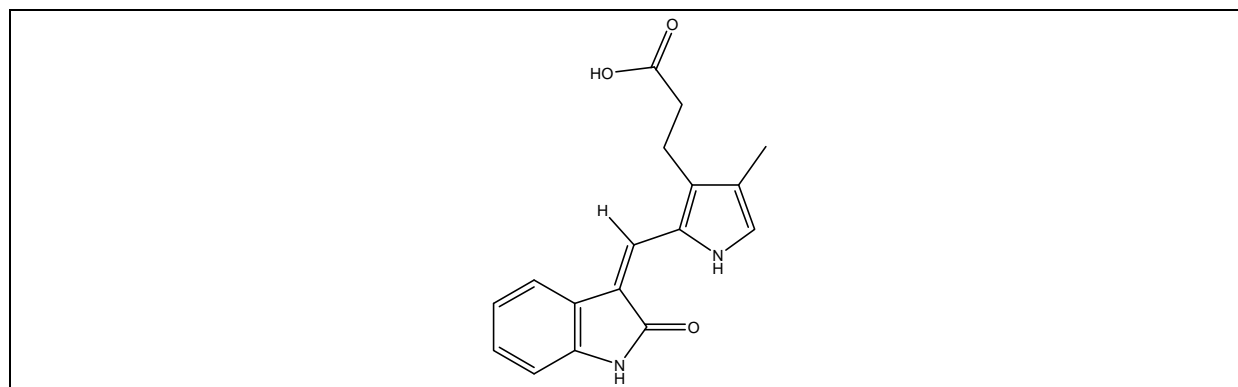


Figure 76 : Structure du SU5402.

L'effet du SU5402 sur l'activité du domaine tyrosine kinase purifié du FGFR₁ a été étudié. On observe une IC₅₀ de l'ordre de 10 à 20 μM en présence d'adénosine triphosphate (ATP) à une concentration de 1 mM. Cette expérience démontre que l'inhibition est due aux interactions de l'inhibiteur avec le domaine catalytique du FGFR₁.

Ensuite l'effet du SU5402 a été testé sur des cellules surexprimant le FGFR₁ (NIH 3T3). Ici aussi, on observe une inhibition de l'autophosphorylation du FGFR₁ avec une IC₅₀ de l'ordre de 10 à 20 μM.

¹⁹ Smith, J.K.; Mamoon, N.M.; Duhé, R.J. *Oncol. Res.* **2004**, 14, 175-225.

⁴² Mohammadi, M.; McMahon, G.; Sun, L.; Tang, C.; Hirth, P.; Yeh, B.K.; Hubbard, S.R.; Schlessinger, J. *Science* **1997**, 276, 955-960.

Par contre, le SU5402 n'a pas d'effet sur les IGFR et très peu sur les PDGFR et les EGFR (IC_{50} de l'ordre de 200 μ M).

Le complexe FGFR₁-SU5402 a été cocrystallisé et les études de radiocristallographie aux rayons X réalisées sur ce complexe ont montré que la partie oxindole se lie au domaine de liaison de l'adénine et utilise le même réseau de liaisons hydrogène que l'ATP. Ainsi, l'hydrogène porté par l'atome d'azote indolique établit une liaison hydrogène avec un groupement carbonyle du résidu acide glutamique 562 et l'atome d'oxygène de la fonction carbonyle de l'oxindole établit une liaison hydrogène avec le NH du résidu alanine 564. La spécificité du SU5402 pour le FGFR1 provient de la formation d'une liaison hydrogène entre la fonction acide carboxylique située à l'extrémité de la chaîne latérale en position 3' du noyau pyrrole et le résidu Asn568. D'autre part, on observe la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'atome d'hydrogène porté par l'azote du motif pyrrole et l'atome d'oxygène de la partie oxindole. Cette liaison hydrogène permet de maintenir les deux cycles dans un même plan, ce qui semble nécessaire à l'activité de ce composé car des analogues substitués par un groupement méthyle sur l'atome d'azote du noyau pyrrole ne présentent aucune activité (Figure 77).

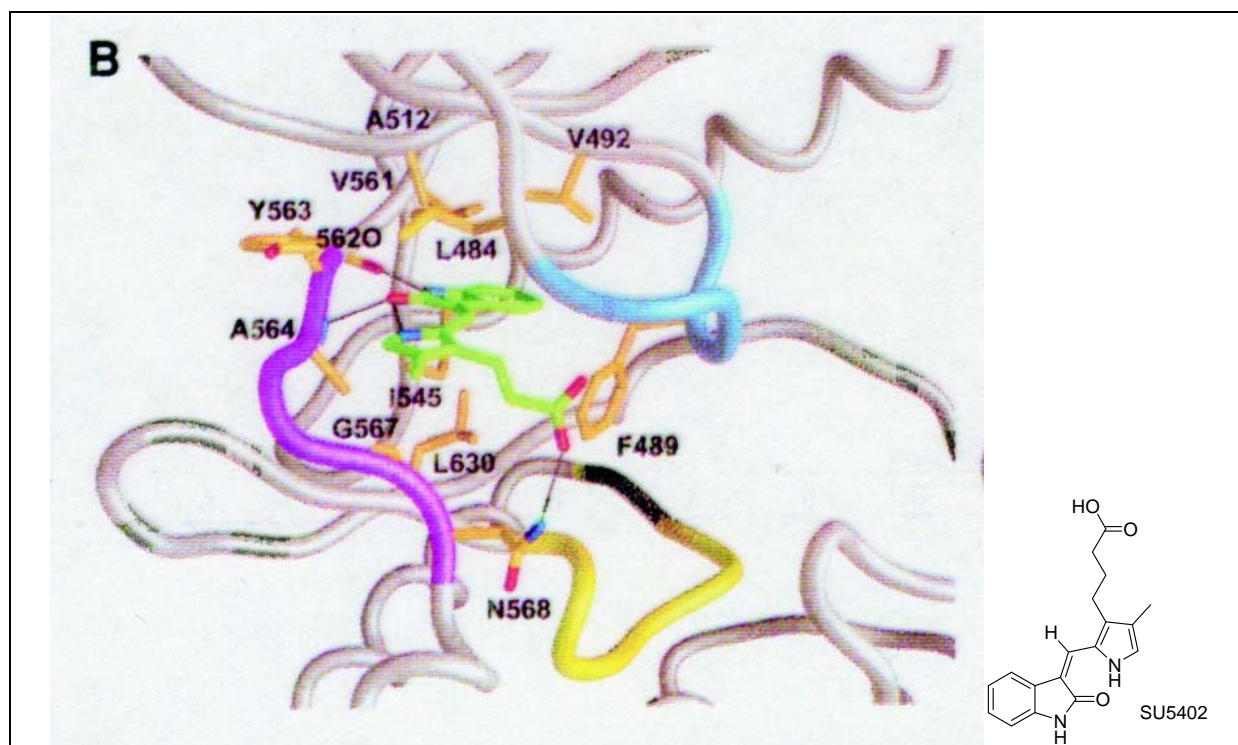


Figure 77 : Le complexe FGFR₁-SU5402.

Suite à ces résultats, de nombreux autres composés dérivés d'oxindole ont été synthétisés.

IV.9.3- Le SU5416 et le SU6668^{14,19}

Le SU5416 est connu sous le nom de semaxinib (Figure 78).

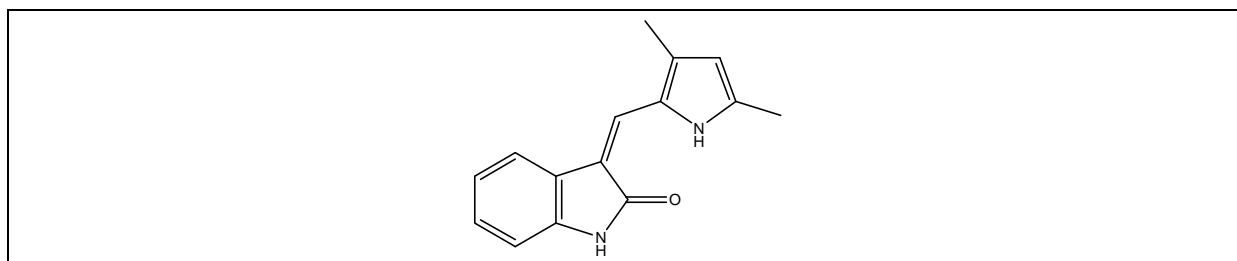


Figure 78 : Structure du SU5416.

C'est un inhibiteur sélectif des VEGFR et de PDGFR β qui est également impliqué dans l'angiogénèse. C'est également un inhibiteur de CSFR1 (granulocyte-macrophage Colony Stimulating Factor Receptor), de Flt-3 et de c-kit (Tableau 21). Cependant, ce composé est sélectif puisqu'il inhibe les autres kinases avec des IC₅₀ > 2000 nM.

Kinase	IC₅₀ en nM
VEGFR ₁	43 ± 11
VEGFR ₂	220 ± 34
VEGFR ₃	54 ± 4
PDGFR β	68 ± 2
CSFR1	84 ± 4
Flt-3	35 ± 4
c-kit	660 ± 165

Tableau 21 : IC₅₀ en nM du SU5416 sur diverses kinases.

Le SU5416 présente des effets antiangiogéniques intéressants, ainsi qu'une bonne activité antitumorale dans un grand nombre de modèles animaux, il a donc été sélectionné pour des études cliniques comme agent anticancéreux, seul, ou bien en combinaison avec d'autres médicaments. Cependant, en raison de sa faible biodisponibilité par voie orale, due à sa faible solubilité ainsi que des effets secondaires très gênants, les essais cliniques sur ce produit ont été arrêtés.

Le SU6668 (Figure 79) est un analogue plus soluble du SU5416.

¹⁴ Manley, P.W.; Bold, G.; Brüggem, J.; Fendrich, G.; Furet, P.; Mestan, J.; Schnell, C.; Stolz, B.; Meyer, T.; Meyhack, B.; Stark, W; Strauss, A.; Wood, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, 1697, 17-27.

¹⁹ Smith, J.K.; Mamoon, N.M.; Duhé, R.J. *Oncol. Res.* **2004**, 14, 175-225.

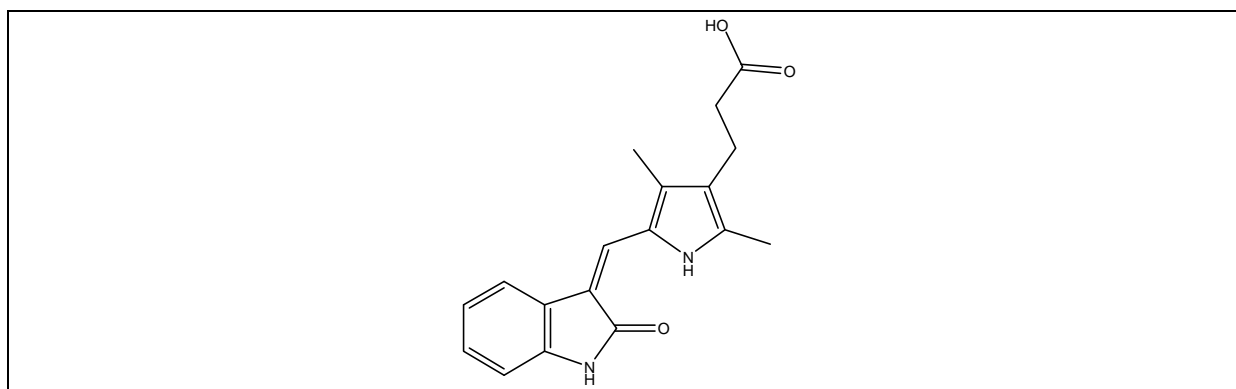


Figure 79 : Structure du SU6668.

Il présente le même profil d'inhibition de différentes kinases que le SU5416 (Tableau 22).

Kinase	IC ₅₀ en nM
VEGFR ₁	15 ± 3
VEGFR ₂	200 ± 15
VEGFR ₃	10 ± 2
PDGFRβ	39 ± 1
CSFR1	45 ± 2
Flt-3	26 ± 7
c-kit	750 ± 120

Tableau 22 : IC₅₀ en nM du SU6668 sur diverses kinases.

Les études précliniques confirment son effet antiangiogénique et antitumoral. Les résultats de la phase I d'études cliniques indiquent qu'il est relativement bien toléré. Actuellement, il est en études cliniques de phase II.

IV.9.4- Le SU11248^{14,19}

Les dérivés d'oxindoles aux propriétés antiangiogéniques ont subi des modifications afin d'améliorer la solubilité du produit ainsi que sa biodisponibilité. Le remplacement de la chaîne acide carboxylique en position 4' sur le SU6668 par une chaîne comportant un groupement amine tertiaire doit améliorer les propriétés d'inhibition des VEGFR₂ tout en conservant l'inhibition des PDGFRβ. Des études de relations structure-activité ont montré qu'un dérivé d'oxindole neutre est sélectif des VEGFR, qu'un dérivé acide est sélectif des PDGFR et qu'un dérivé basique présente des propriétés inhibitrices sur les deux kinases.

Un grand nombre de groupements basiques ont été introduits en 4' et leur évaluation biologique a abouti à la découverte du SU11248 (Figure 80).

¹⁴ Manley, P.W.; Bold, G.; Brügger, J.; Fendrich, G.; Furet, P.; Mestan, J.; Schnell, C.; Stolz, B.; Meyer, T.; Meyhack, B.; Stark, W.; Strauss, A.; Wood, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, 1697, 17-27.

¹⁹ Smith, J.K.; Mamoon, N.M.; Duhé, R.J. *Oncol. Res.* **2004**, 14, 175-225.

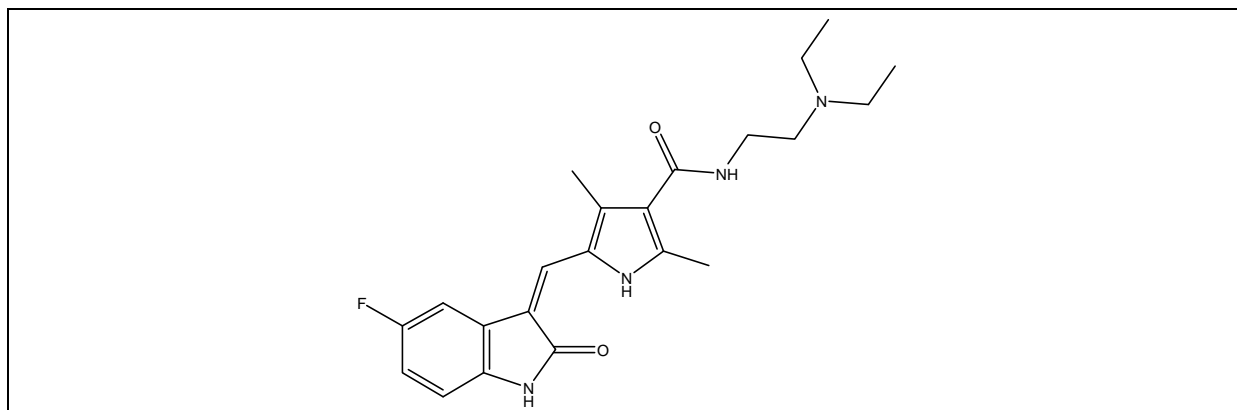


Figure 80 : Structure du SU11248.

Ce composé inhibe aussi bien les VEGFR que les PDGFR (Tableau 23). Il présente aussi une inhibition, plus ou moins importante sur d'autres tyrosine kinases.

Kinase	IC ₅₀ en nM
VEGFR ₁	15 ± 1
VEGFR ₂	38 ± 11
VEGFR ₃	30 ± 6
PDGFRβ	55 ± 1
CSFR ₁	35 ± 6
Flt-3	21 ± 5
c-kit	211 ± 34
FGFR ₁	675 ± 69
InsR	560 ± 140
c-Src	1000
CDK ₁	2600
c-Abl	610

Tableau 23 : IC₅₀ en nM du SU11248 sur diverses kinases.

Il est intéressant de noter qu'une grande différence entre le SU11248 et ses prédécesseurs (SU5416 et SU6668) est la solubilité. En effet, SU11248 est soluble à une concentration de 2,9 mg/mL à pH 2 et à 0,5 mg/mL à pH 6 alors que la meilleure solubilité du SU6668 est de 18 µg/mL à pH 6. La solubilité du SU5416 ne dépassant pas 1 µg/mL quel que soit le pH. Cette bonne solubilité du SU11248 fait de ce composé, qui est actuellement en études cliniques de phase I, un bon candidat pour un traitement antitumoral par voie orale.

IV.9.5- Le SU4984⁶

Le SU4984 est un inhibiteur non sélectif des récepteurs de facteurs de croissance à activité tyrosine kinase (Figure 81).

⁶ Manetti, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, 9, 399-409.

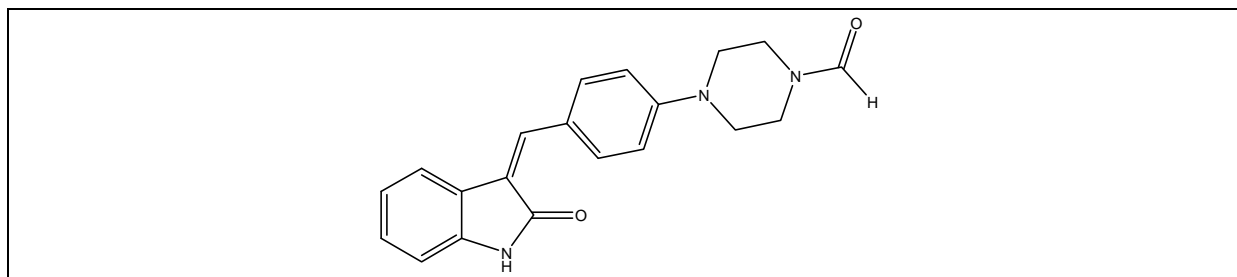


Figure 81 : Structure du SU4984.

Le complexe FGFR₁-SU4984 a été cristallisé et les études de radiocristallographie aux rayons X réalisées sur ce complexe ont montré qu'il se fixait dans le site de liaison de l'ATP du FGFR₁ par l'intermédiaire du même réseau de liaisons hydrogène que l'adénine de l'ATP (Figure 82).

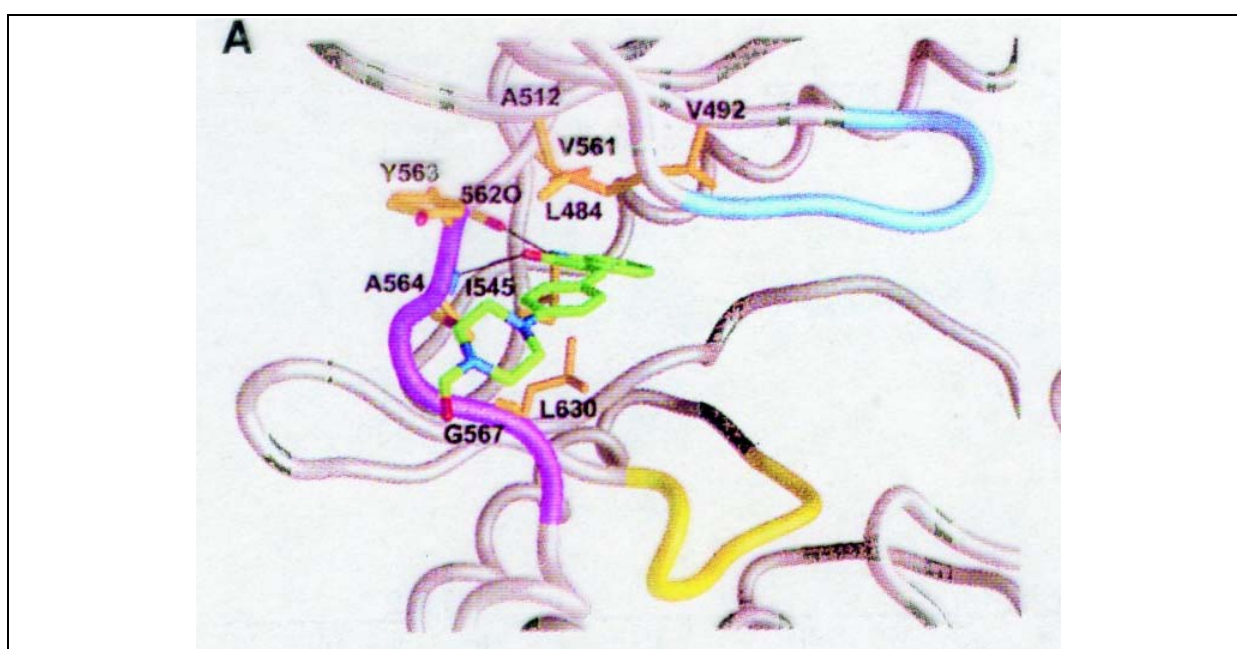


Figure 82 : Le complexe FGFR₁-SU4984.

En effet, on retrouve les deux liaisons hydrogène mettant en jeu les résidus acide glutamique 562, alanine 564 et la partie oxindolique (NH-CO) du SU4984.

IV.9.6- Les 3-(arylamino)méthylènoxindoles^{16,43}

En 2003, le groupe Allergan dépose un brevet sur une série de 323 composés dérivés de 3-(arylamino)méthylènoxindole (Figure 83).

¹⁶ Wood, E.R.; Kuyper, L.; Petrov, K.G.; Hunter III, R.N.; Harris, P.A.; Lackey, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 953-957.

⁴³ Andrews, S.W.; Wurster, J.A.; Hull, C.E.; Wang, E.H.; Malone, T. International Patent, WO03/027102 A1, 2003; *Chem. Abs.* **2003**, 138, 287525.

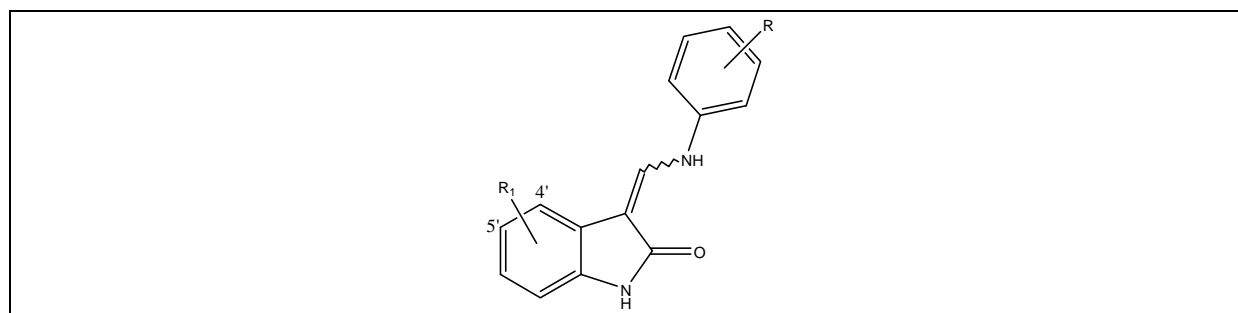


Figure 83 : Structure des composés brevetés par Allergan.

Sur ces 323 composés, 17 possèdent une bonne activité sur KDR (Tableau 24).

Composé	R ₁	Substituant R		IC ₅₀ sur KDR (μM)
		3	4	
<u>1</u>	4'-Me	H	N(Et) ₂	0,07
<u>2</u>	4'-Me	H		0,05
<u>3</u>	4'-Me	H	SO ₂ NHCH ₂ CH ₂ OH	0,09
<u>4</u>	4'-Me	H		0,06
<u>5</u>	4'-Me	H		0,05
<u>6</u>	6'-F	H		0,08
<u>7</u>	6'-F	H		0,08
<u>8</u>	4'-Me	H		0,07
<u>9</u>	4'-Me	H		0,06
<u>10</u>	4'-Me	H		0,07
<u>11</u>	4'-Me	H		0,09
<u>12</u>	4'-Me	F		0,07
<u>13</u>	4' Me	H		0,07
<u>14</u>	6'-(3-methoxyphenyl)	H		0,08
<u>15</u>	4' Me	H		0,08
<u>16</u>	4'-Me	H		0,04
<u>17</u>	4'-Me	H		0,09

Tableau 24 : IC₅₀ sur KDR des composés brevetés par Allergan.

D'autres dérivés du type 3-(arylamino)méthylènoxindole ont également été décrits comme inhibiteurs de TrkA (Tableau 25).

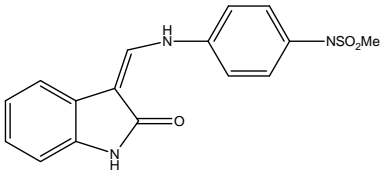
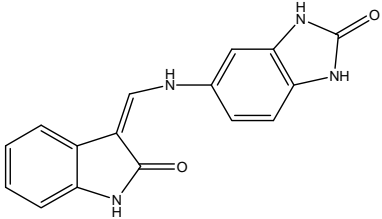
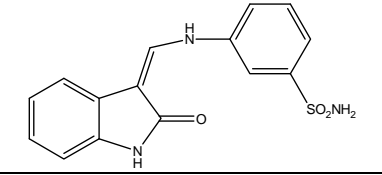
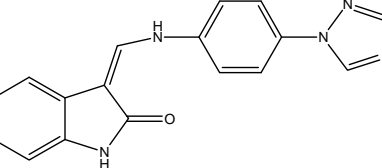
Composé	IC ₅₀ sur TrkA en μM	IC ₅₀ sur c-Raf ₁ en μM	IC ₅₀ sur CDK ₂ en μM
	0,006	>10	4,8
	0,007	>10	2,5
	0,063	>10	>10
	0,008	>10	7,2

Tableau 25 : Structure et IC₅₀ en μM des 3-(arylamino)méthylènoxindole sur TrkA, c-Raf₁ et CDK₂.

Ces composés sont tous sélectifs de TrkA vis-à-vis de c-Raf₁ (sérine/thréonine kinase intervenant dans la transduction de signal qui met en jeu la MAP kinase) et de CDK₂.

IV.9.7- Les azaoxindoles¹⁶

En 2004, le groupe GlaxoSmithKline décrit des dérivés possédant un motif azaoxindolique comme des inhibiteurs de TrkA relativement sélectifs (Figure 84 et Tableau 26).

¹⁶ Wood, E.R.; Kuyper, L.; Petrov, K.G.; Hunter III, R.N.; Harris, P.A.; Lackey, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 953-957.

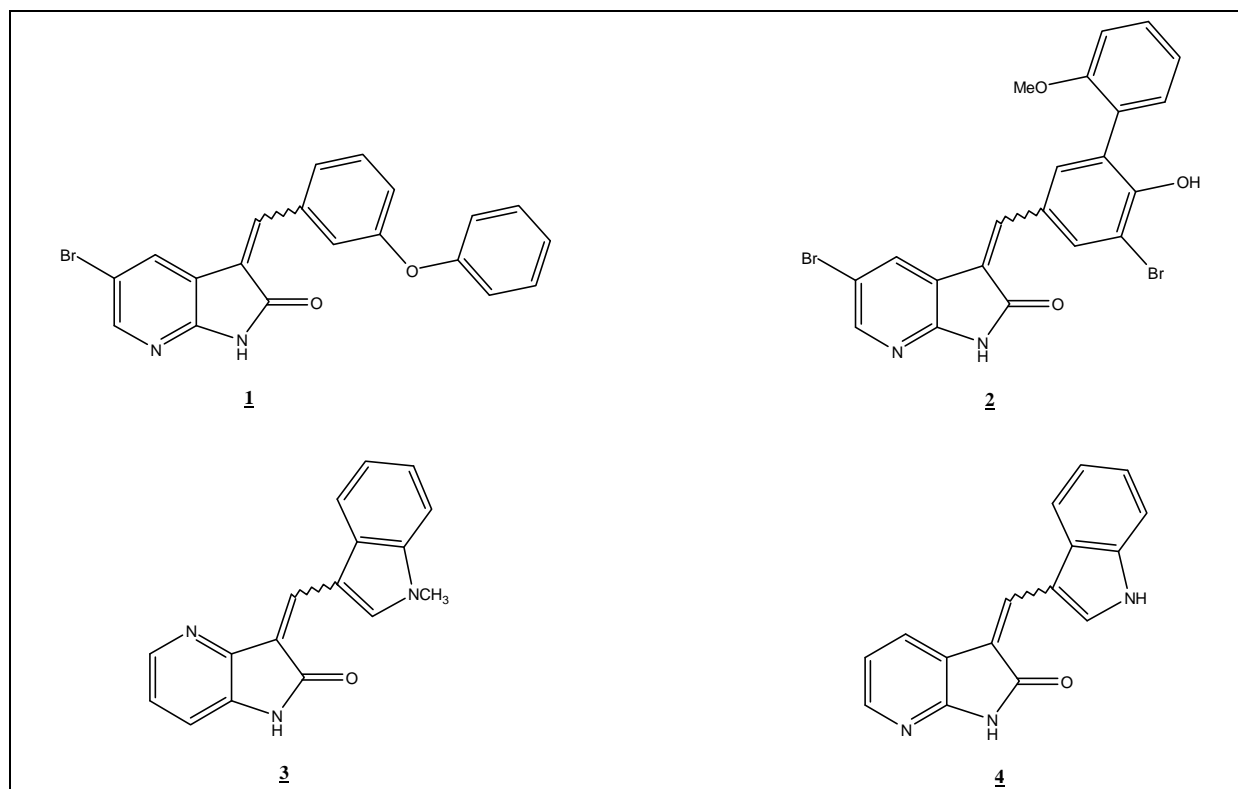


Figure 84 : Structures des azaoxindoles.

Composé	IC ₅₀ sur TrkA en μM	IC ₅₀ sur c-Raf ₁ en μM	IC ₅₀ sur CDK ₂ en μM
<u>1</u>	0,061	>50	>50
<u>2</u>	0,008	0,70	10,4
<u>3</u>	0,002	>12	>7
<u>4</u>	0,012	7,2	>6

Tableau 26 : IC₅₀ en μM des composés 1 à 4 sur TrkA, c-Raf₁ et CDK₂.

Ces dérivés possèdent tous des IC₅₀ de l'ordre de 0,01-0,06 μM sur TrkA, alors que les IC₅₀ sur c-Raf₁ et CDK₂ sont de l'ordre du μM , voire même supérieures.

V- Conclusion

Nous avons vu que les récepteurs de facteur de croissance sont impliqués dans l'apparition et la progression de diverses formes de cancers. En effet, des taux intracellulaires ou sériques élevés pour différentes familles de récepteurs de facteurs de croissance ont été retrouvés dans plusieurs types de cancer. Les interactions entre le facteur de croissance et son récepteur spécifique permettent la transduction des signaux de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule aboutissant à des réponses cellulaires multiples, dont la prolifération cellulaire. Ces interactions jouent également un rôle important dans l'angiogénèse.

Les récepteurs de facteurs de croissance constituent donc des cibles de choix pour le développement de nouveaux agents antitumoraux.

La plupart des inhibiteurs décrits dans la littérature sont des inhibiteurs compétitifs de l'ATP dans le domaine tyrosine kinase

De plus, de nombreux travaux portant sur le site ATP des récepteurs de facteurs de croissance ont permis d'obtenir d'importantes informations sur son environnement et sur les interactions mises en jeu avec un certain nombre d'inhibiteurs connus.

Relativement peu d'inhibiteurs du FGFR₁ sont décrits dans la littérature. Après étude de leur structure, nous nous sommes orientés vers la synthèse de trois nouvelles familles de composés, inhibitrices potentielles du FGFR₁. Les différentes synthèses réalisées au cours de ce travail sont décrites dans la partie suivante.

Deuxième partie: Synthèse de nouveaux inhibiteurs du FGFR₁

I- Introduction

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, nous nous sommes intéressés aux inhibiteurs du site ATP du domaine tyrosine kinase des récepteurs de facteurs de croissance.

Afin de concevoir un nouveau modèle d'inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase de récepteurs de facteurs de croissance, principalement du FGFR₁, nous nous sommes tout d'abord orientés vers la synthèse de composés constitués d'un motif oxindolique par analogie avec les composés décrits dans la littérature. Afin d'optimiser nos travaux, nous avons effectué des études de docking en superposant nos molécules cibles tout d'abord avec l'ATP puis avec des inhibiteurs cocrystallisés avec le FGFR₁ : les composés SU5402, SU4984 et PD173074. Compte tenu des résultats publiés concernant d'une part les interactions entre le FGFR₁ et les inhibiteurs connus et d'autre part la structure de ces inhibiteurs, nous nous sommes orientés vers la préparation de trois familles de composés possédant les structures figurant ci-dessous (Figure 85).

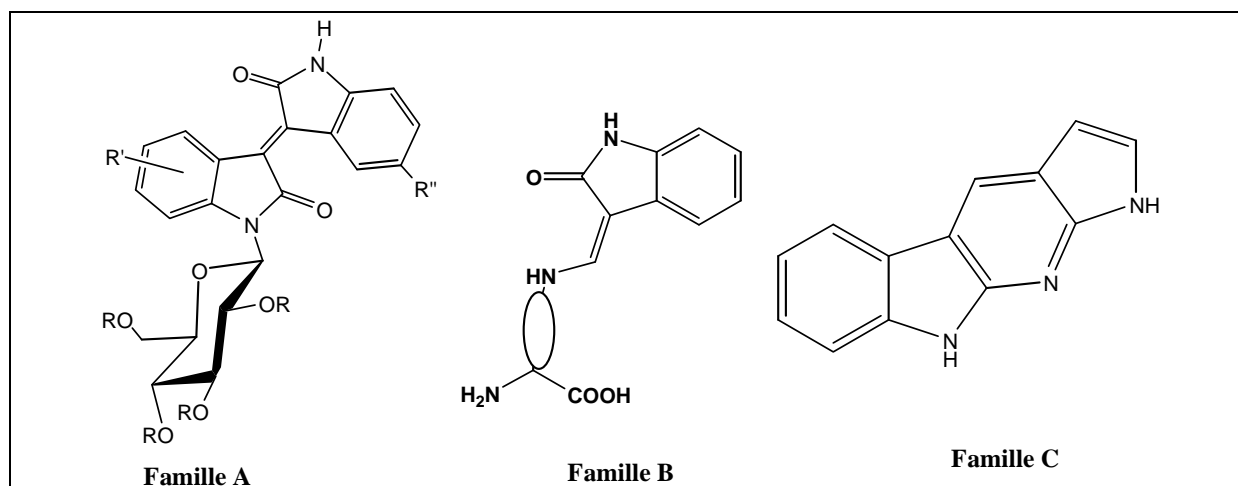


Figure 85 : Structures des familles A, B et C.

On peut noter certains points communs entre ces diverses structures. En ce qui concerne les familles A et B, ces structures possèdent un motif amide de type oxindole dans lequel l'atome d'azote n'est pas substitué. En effet, comme nous l'avons décrit précédemment dans le cas des inhibiteurs de type oxindole, ceci devrait permettre à la partie hétérocyclique de se lier au domaine de liaison de l'ATP en utilisant le même réseau de liaisons hydrogène que l'adénine. Les composés de ces deux familles présentent également une analogie au niveau de la substitution de la position 3 de l'oxindole. En effet, dans les deux cas, cette position est substituée par un système conjugué comme c'est le cas pour la plupart des dérivés oxindoliques inhibiteurs de récepteurs de facteurs de croissance décrits dans la littérature.

Dans le cas des inhibiteurs possédant une structure oxindolique substituée en position 3 par un noyau pyrrole tel que le SU5402, la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'atome d'hydrogène porté par l'azote du motif pyrrole et l'atome d'oxygène du carbonyle de l'oxindole a été observée sur la structure cristallographique du complexe *FGFR₁-SU5402*. Cette liaison hydrogène permet notamment de maintenir les deux cycles dans un même plan. Compte tenu de ces résultats, nous avons envisagé la préparation d'un système plus rigide, en remplaçant cette liaison hydrogène par une liaison covalente, ce qui nous a conduits à envisager la synthèse de composés de la famille C (Figure 86).

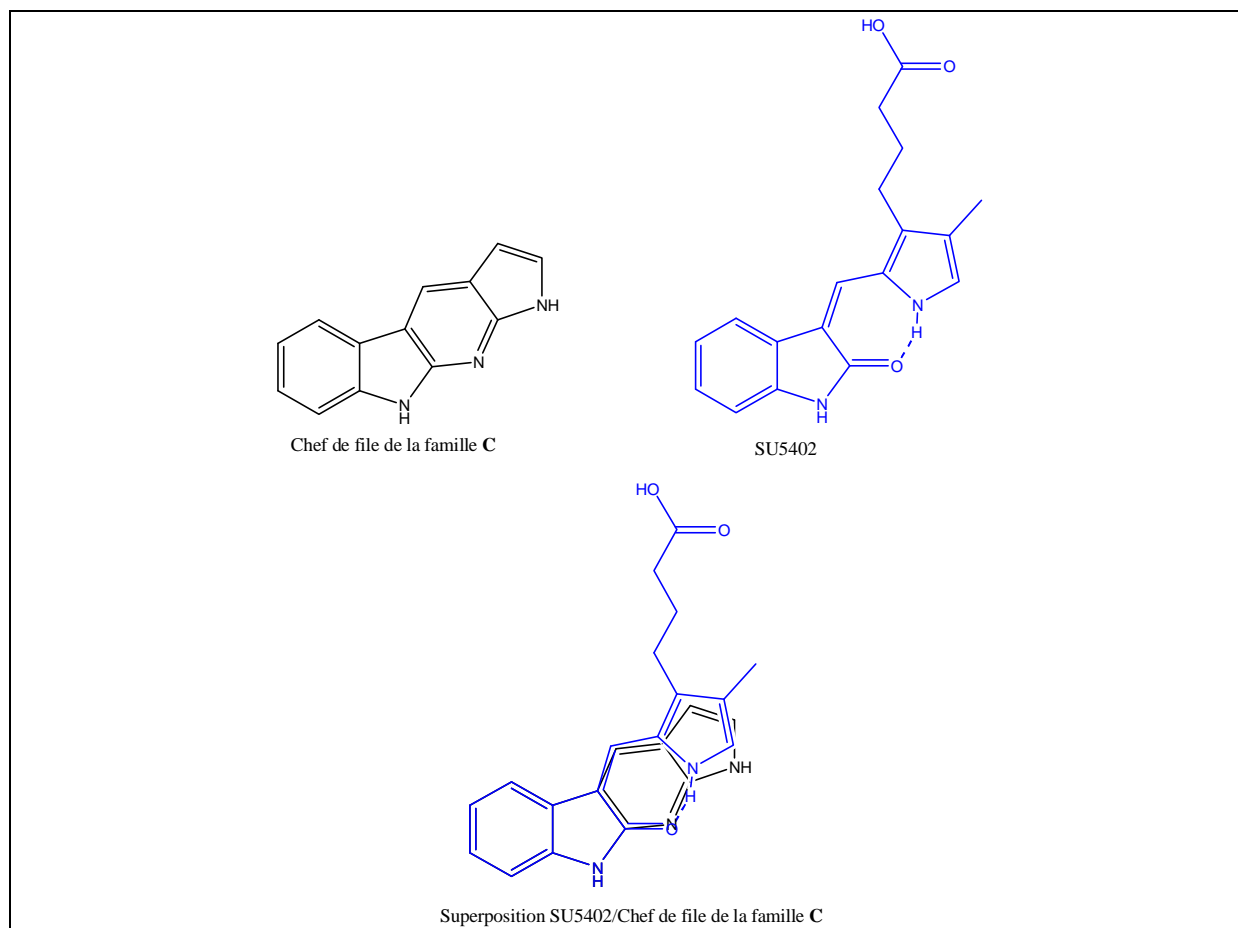


Figure 86 : Structure du chef de file de la famille C, du SU5402 et superposition du chef de file de la famille C et du SU5402.

II- Préparation de composés possédant un motif oxindole (Familles A et B)

Dans cette partie, nous allons étudier la synthèse des composés des familles A et B.

Le noyau oxindole est présent dans de nombreuses molécules biologiquement actives.

Pour notre part, nous avons choisi d'utiliser un motif oxindole déjà construit. Cependant, diverses méthodes sont couramment utilisées pour préparer le motif hétérocyclique des oxindoles. Dans un premier temps, nous allons présenter les principales synthèses connues du motif oxindole.

II.1- Synthèses connues du motif oxindole

II.1.1- Cyclisation de Friedel-Crafts intramoléculaire

La cyclisation de Friedel-Crafts des α -halogénoacétanilides est une des méthodes classiques pour synthétiser des oxindoles substitués par des groupements activants (Figure 87)⁴⁴.

⁴⁴ Beckett, A.H.; Daisley, R.W.; Walker, J. *Tetrahedron* **1968**, 24, 6093-6109.

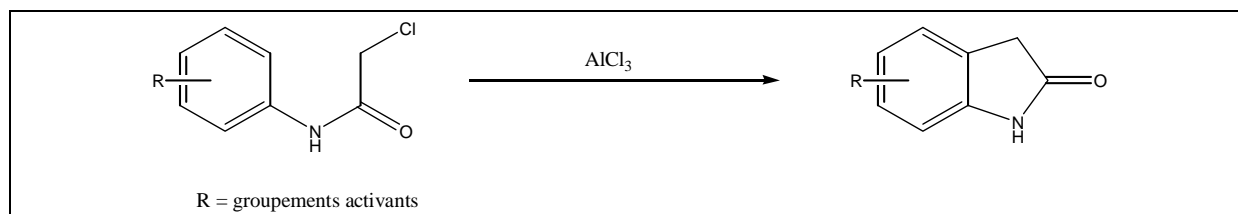


Figure 87 : Synthèse d'oxindoles par réaction de Friedel-Crafts.

Cette méthode est peu utilisée, car il y a souvent des réactions intermoléculaires parasites, et la régiosélectivité est difficile à contrôler.

II.1.2- Cyclisation de 2-halogénoacryloylanilides

En 1976, Mori et Ban décrivent la formation d'oxindoles monosubstitués en position 3 avec des rendements compris entre 20 et 70%. Les oxindoles sont obtenus par cyclisation de 2-chloroacryloylanilides en présence de Ni(PPh₃)₄ dans le DMF ou le toluène (Figure 88).⁴⁵

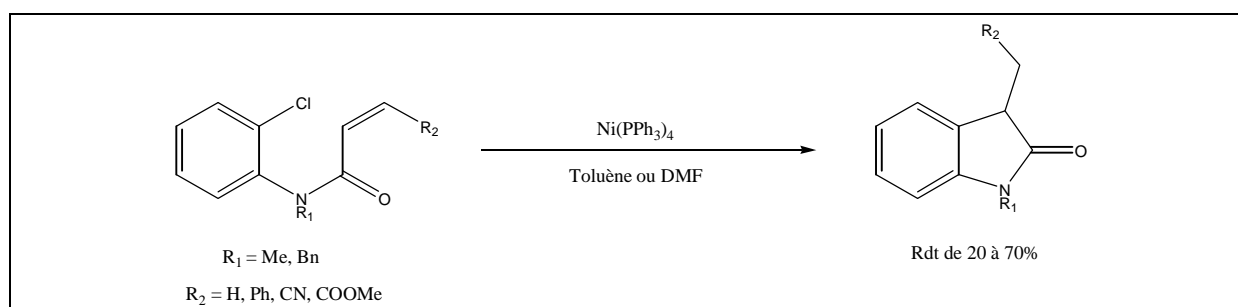


Figure 88 : Formation d'oxindoles par cyclisation de 2-chloroacryloylanilides en présence de Ni(PPh₃)₄ dans le DMF ou le toluène.

Les cyclisations de 2-halogénoacryloylanilides ont été également décrites en présence d'un grand nombre d'initiateurs de radicaux.

En 1986, Jones *et al.* décrivent la formation d'oxindoles mono ou di-substitués en position 3 avec des rendements élevés par traitement de 2-bromoacryloylanilides substitués sur l'atome d'azote avec de l'hydru de tributylétain en présence d'une quantité catalytique d'AIBN dans le toluène à reflux.⁴⁶ La réaction 5-exo-trig conduisant à l'oxindole est favorisée (Figure 89).

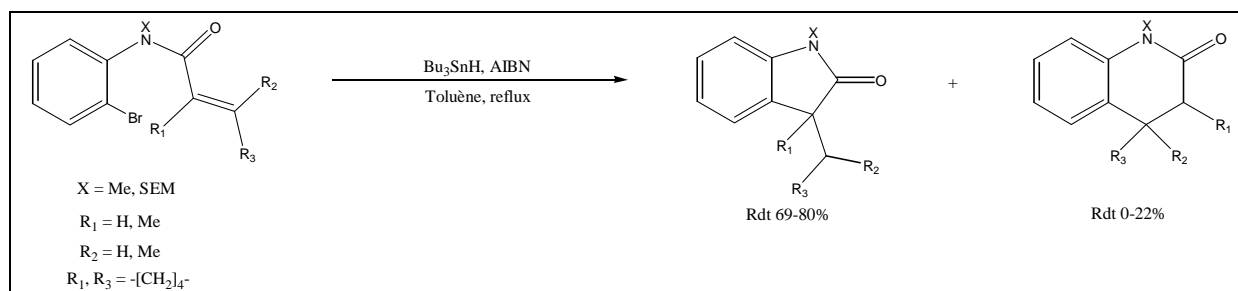


Figure 89 : Formation d'oxindoles par cyclisation radicalaire de 2-bromoacryloylanilides, initiée par de l'hydru de tributylétain en présence d'une quantité catalytique d'AIBN.

⁴⁵ Mori, M.; Ban, Y. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 21, 1807-1810.

⁴⁶ Jones, K.; Thompson, M.; Wright, C. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1986**, 115-116.

En 1994, Clark *et al.* décrivent une réaction de cyclisation d'orthoiodoacryloylanilides par traitement de celui-ci par du chlorure de cobalt (II) anhydre en présence d'un réactif de Grignard, l'iodure de méthylmagnésium, comme précurseur de radicaux afin de former des oxindoles substitués en position 3 (Figure 90).⁴⁷

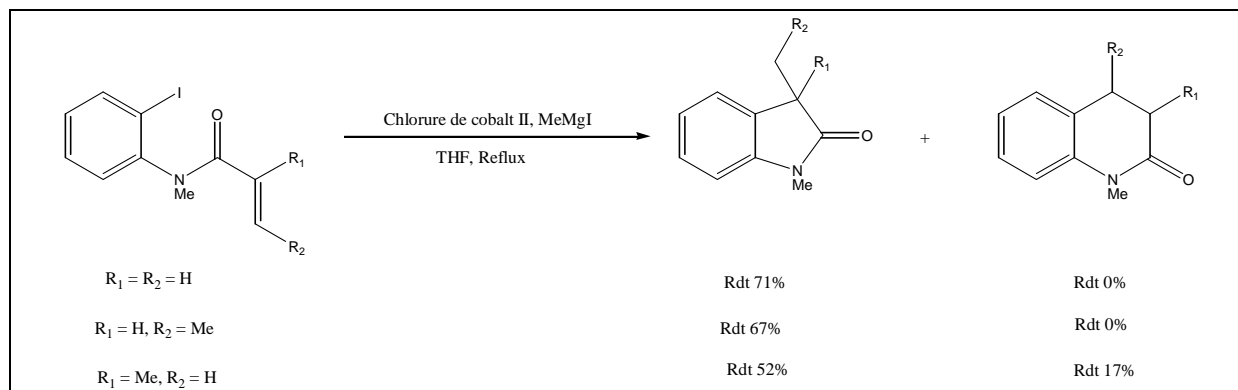


Figure 90 : Formation d'oxindoles par cyclisation de 2-iodoacryloylanilides, initiée par du chlorure de cobalt II anhydre et de l'iodure de méthylmagnésium.

En 1995, Cabri *et al.* décrivent des cyclisations radicalaires initiées par de l'iodure de samarium, en présence de ligand azoté, le 1,1,3,3-tétraméthylguanidine (TMG) (Figure 91).⁴⁸

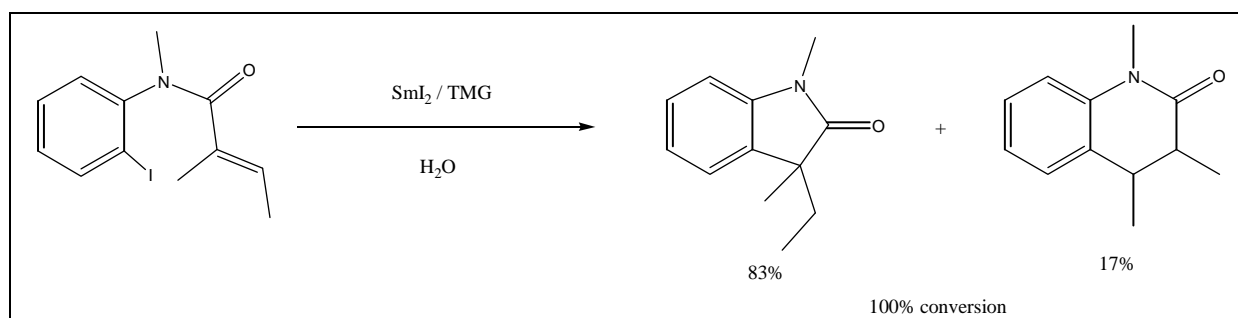


Figure 91 : Synthèse d'oxindole par cyclisation radicalaire initiée par de l'iodure de samarium en présence de ligand azoté.

Ces méthodes sont intéressantes pour former des oxindoles substitués en position 3, mais aucune substitution n'est présente sur la partie aromatique.

II.1.3- Cyclisation de 2-bromo-N-méthylanilides⁴⁹

En 1995, Beckwith *et al.* décrivent la formation d'oxindoles par traitement de 2-bromo-N-méthylanilides par de l'hydruide de tributylétain en présence de peroxyde de di-tertio-butyle dans le tertio-butylbenzène à 160°C (Figure 92).

⁴⁷ Clark, A.J.; Davies, D.I.; Jones, K.; Millbanks, C. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 41-42.

⁴⁸ Cabri, W.; Candiani I.; Colombo, M.; Franzoi, L.; Bedeschi, A. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 949-952.

⁴⁹ Beckwith, A.L.J.; Storey, J.M.D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 977-978.

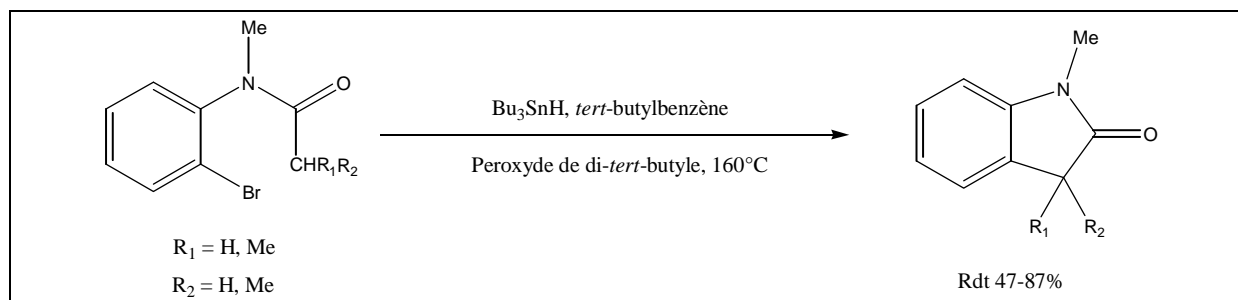


Figure 92 : Formation d'oxindole par cyclisation radicalaire de 2-bromo-*N*-méthylanilides par de l'hydrure de tributylétain en présence de peroxyde de di-*tert*-butyle dans le *tert*-butylbenzène à 160°C.

On obtient par cette méthode des oxindoles mono ou disubstitué en position 3, Mais aucune substitution n'est présente sur le noyau aromatique.

II.1.4- Cyclisation catalysée par les métaux de transition

II.1.4.1- Cyclocarbonylation de 2-aminostyrènes catalysée par le palladium⁵⁰

En 1996, El Ali *et al.* décrivent la formation d'oxindoles par cyclocarbonylations intramoléculaires, catalysées par du palladium, de 2-aminostyrènes diversement substitués sur leur noyau aromatique ou sur la partie vinylique par des groupements électrodonneurs (Figure 93).

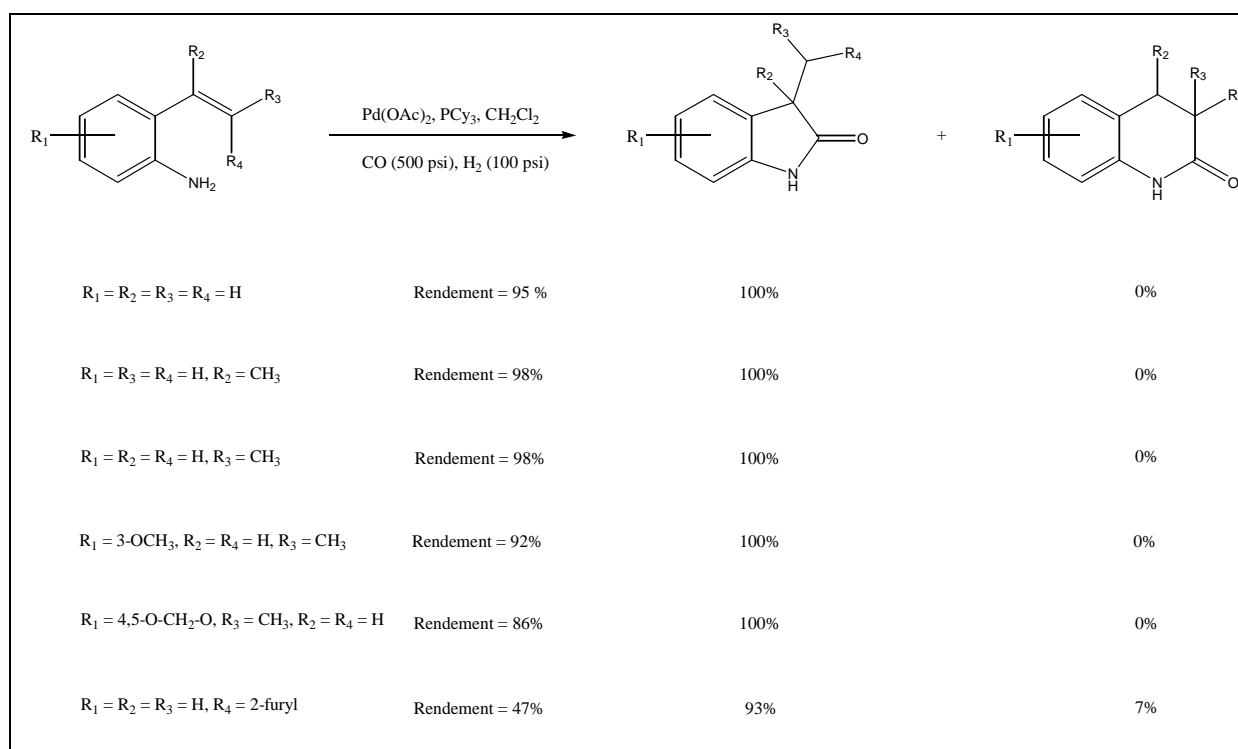


Figure 93 : Cyclocarbonylations intramoléculaires de 2-aminostyrènes catalysées par du palladium.

Cette méthode est intéressante pour l'introduction de groupements électrodonneurs sur la partie aromatique, ainsi qu'en position 3, de l'oxindole.

⁵⁰ El Ali, B.; Okuro, K.; Vasapollo, G.; Alper, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 4264-4270.

II.1.4.2- Carbonylation de 2-alkynylanilines catalysée par le rhodium⁵¹

En 1995, Hirao *et al.* décrivent la synthèse de 1,3-alkynyloxindoles par l'intermédiaire d'une réaction de carbonylation de 2-alkynylanilines, diversement substituées, catalysée par du rhodium (Figure 94).

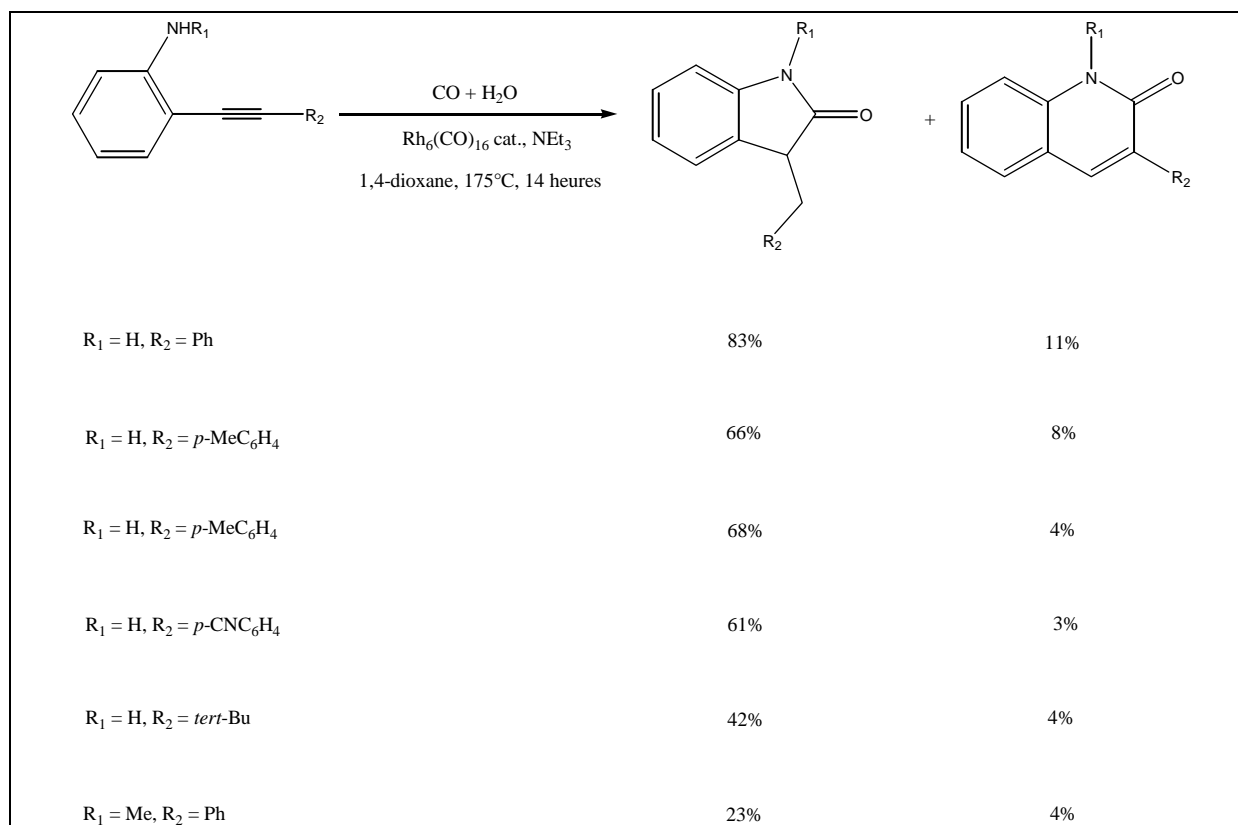


Figure 94 : Réactions de carbonylation de 2-alkynylanilines, diversement substituées, catalysée par du rhodium.

II.1.4.3- Cyclisation de α -diazooamides catalysée par le rhodium et le Nafion-H⁵²

L'acétate de rhodium (II) catalyse la cyclisation intramoléculaire des N-aryldiazoamides pour former des oxindoles avec des rendements élevés à température ambiante dans le dichlorométhane (Figure 95).

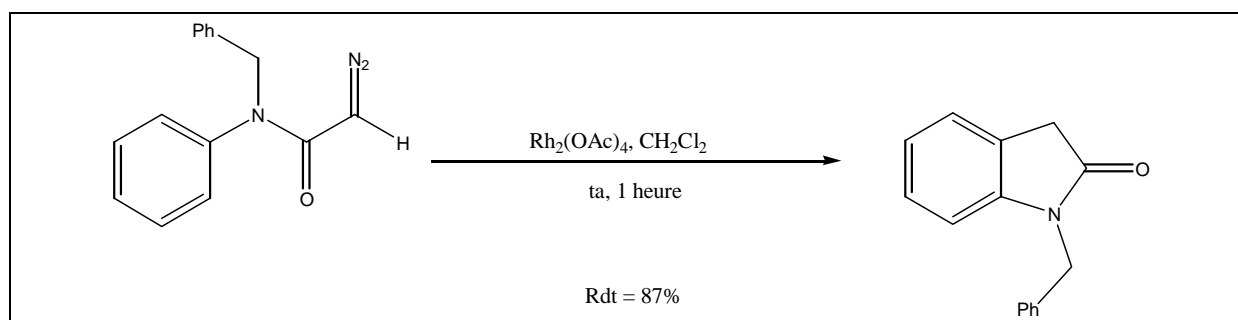


Figure 95 : Cyclisation intramoléculaire de N-aryldiazoamides catalysée par l'acétate de rhodium (II).

⁵¹ Hirao, K.; Morii, N.; Joh, T.; Takahashi, S. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 6243-6246.

⁵² Doyle, M.P.; Shanklin, M.S.; Pho, H.Q.; Mahapatro, S.N. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 1017-1022.

Le Nafion-H semble être une alternative intéressante au $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ pour ce genre de réaction. Lorsque la réaction est réalisée au reflux du chloroforme en présence d'une quantité catalytique de résine acide, celle-ci est plus rapide et plus propre (Figure 96).

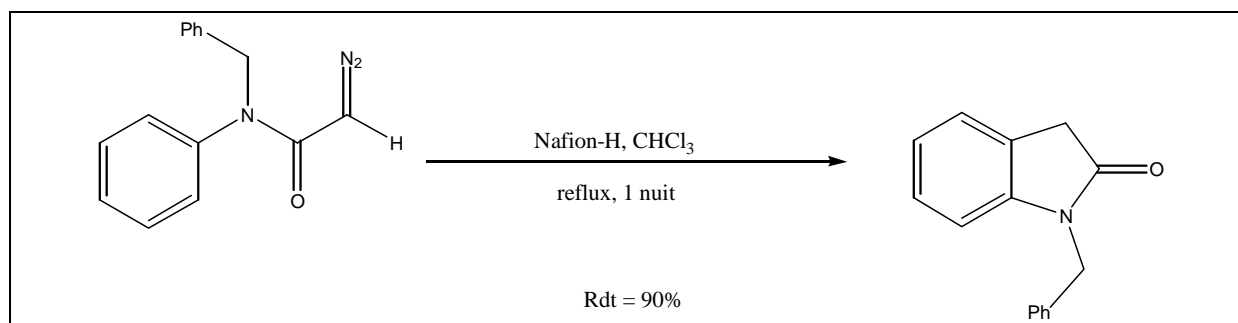


Figure 96 : Cyclisation intramoléculaire de N-aryldiazoamides catalysée par le Nafion-H.

Cette réaction peut être généralisée avec un nombre important de groupements électrodonneurs sur la partie aromatique: 2,3-diMe, OMe.

II.1.4.4- α -arylation intramoléculaire d'amides⁵³

Le traitement du *N*-benzyl-2-bromoacétanilide avec le *tert*-butoxide de sodium en présence de $\text{Pd}(\text{dba})_2$ et d'une phosphine chélatante comme le BINAP ou le DPPF conduit à la formation du 1-benzylindole avec un rendement de 66% (Figure 97).

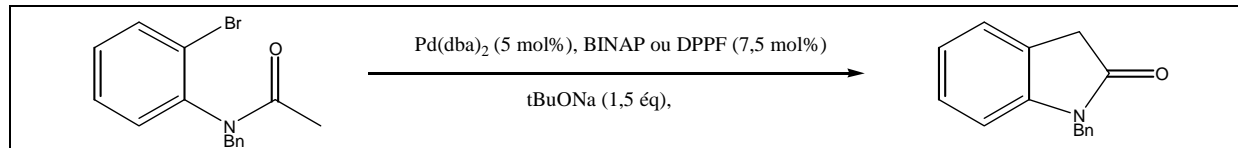


Figure 97 : Formation du 1-benzylindole par α -arylation intramoléculaire du *N*-benzyl-2-bromoacétanilide.

II.1.4.5- Cyclisation de α -chloroacétanilides catalysée par le palladium⁵⁴

En 2003, Hennessy *et al.* décrivent une nouvelle variante de la réaction de Friedel et Craft catalysée au palladium. La combinaison d'une quantité catalytique d'acétate de palladium, de 2-(di-*tert*-butylphosphino)biphényle comme ligand et de triéthylamine comme base permet la transformation, dans des conditions douces, des α -chloroacétanilides en oxindoles avec des rendement élevés (76 à 99%) et une grande régiosélectivité (Figure 98).

⁵³ Shaughnessy, K.H.; Hamann, B.C.; Hartwig, J.F. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 6546-6553.

⁵⁴ Hennessy, E.J.; Buchwald, S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 12084-12085.

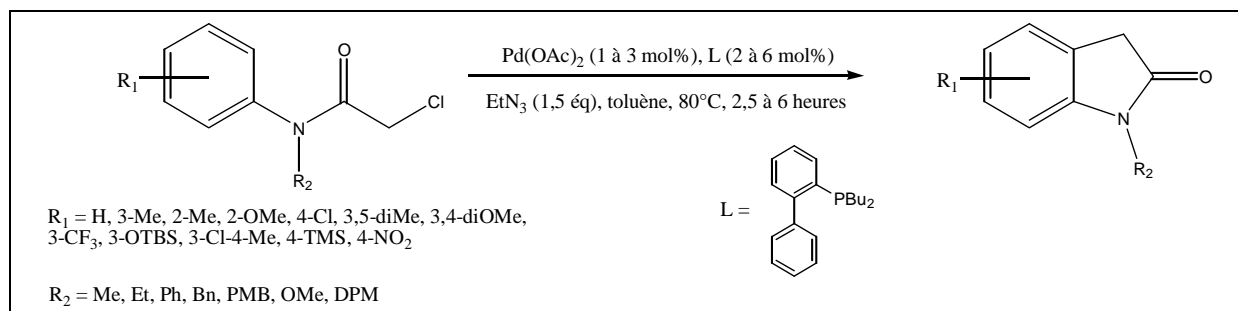


Figure 98 : Formation d'oxindoles par cyclisation d' α -chloroacétanilides catalysée par le palladium.

Une grande variété d'oxindoles substitués peuvent être obtenus par cette méthode avec des rendements élevés.

II.1.4.6- Couplage de Heck intramoléculaire sur des 2-halogénoacryloylanilides

En 1998, Ashimori *et al.* décrivent la préparation d'oxindoles diversement substitués par un couplage de Heck intramoléculaire catalysé par du Pd₂(dba)₃ en présence de (R)-BINAP dans le DMA à 100°C (Figure 99).⁵⁵

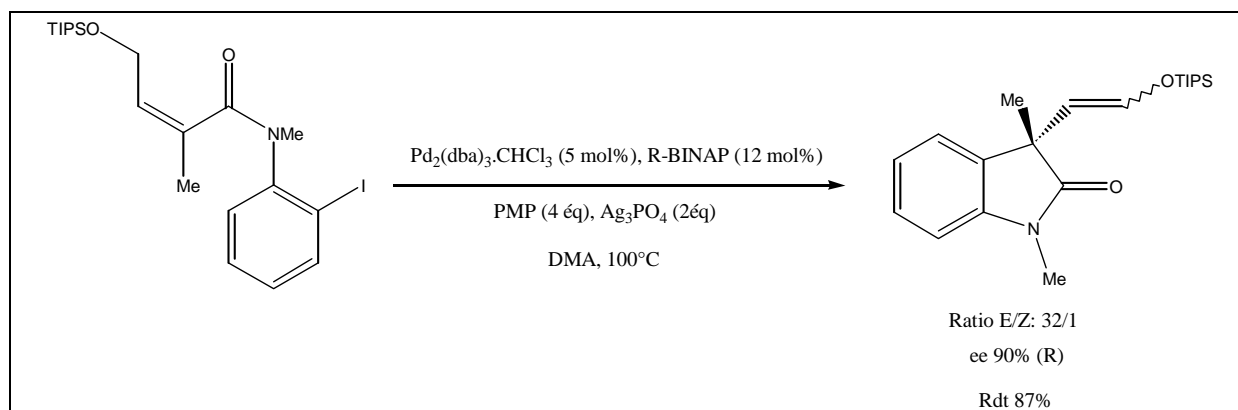


Figure 99 : Couplage de Heck intramoléculaire sur des 2-halogénoacryloylanilides.

Les oxindoles sont obtenus avec de très bons rendements et une excellente stéréosélectivité sur le carbone en position 3 de l'oxindole, dont la configuration est très majoritairement R. Mais la préparation de dérivés substitués sur le noyau aromatique n'est pas décrite par cette méthode.

Des réactions de Heck intramoléculaires pour la formation d'oxindoles sur support solide ont également été réalisées (Figure 100).⁵⁶

⁵⁵ Ashimori, A.; Bachand, B.; Calter, M.A.; Govek, S.P.; Overmann, L.E.; Poon, D.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 6488-6499.

⁵⁶ Arumugan, V.; Routledge, A.; Abell, C.; Balasubramanian, S. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 6473-6476.

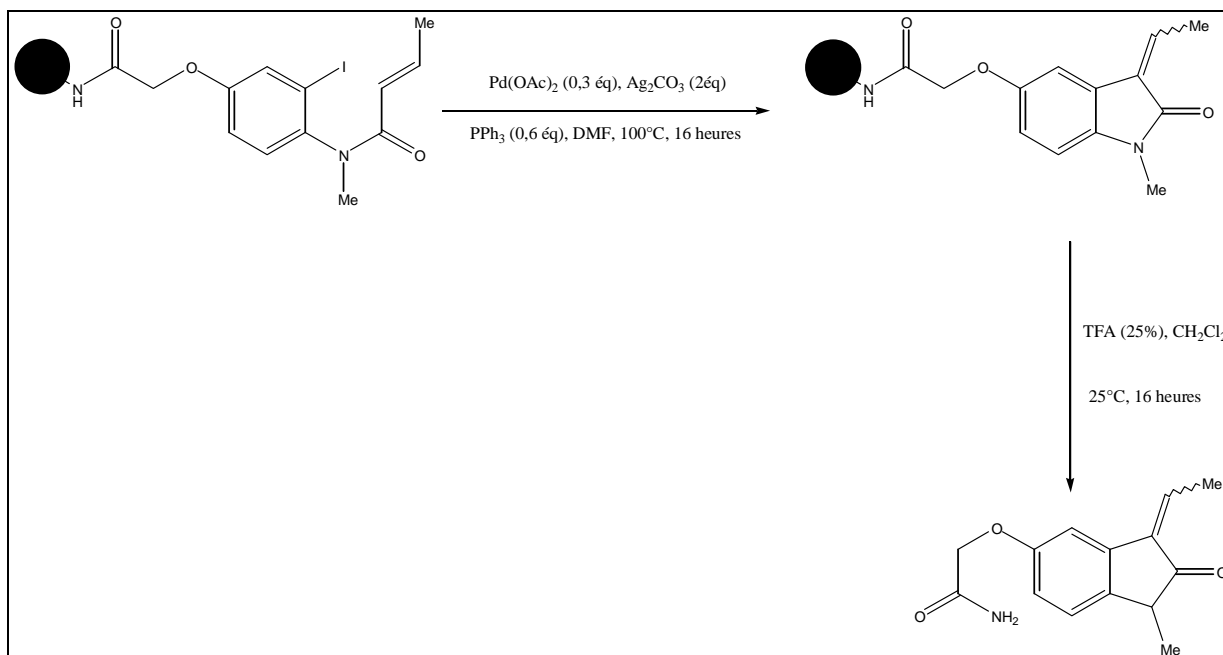


Figure 100: Synthèse d'oxindole par réaction de Heck intramoléculaire sur support solide.

II.1.4.7- Synthèse stéréosélective de 3,3-(diarylméthylène)oxindoles asymétriques par une réaction tandem de carbocyclisation de Heck/couplage de Suzuki⁵⁷

En 2005, Cheung *et al.* décrivent une synthèse stéréosélective de 3,3-diarylméthylèneoxindoles par une réaction tandem de carbocyclisation de Heck/couplage de Suzuki catalysée par le palladium (Figure 101).

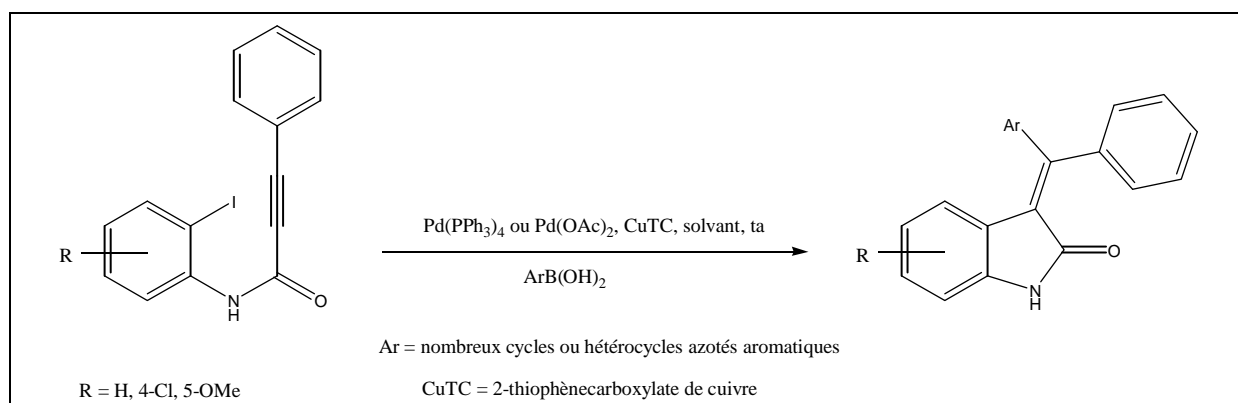


Figure 101 : Synthèse stéréosélective de 3,3-diarylméthylèneoxindoles asymétriques par une réaction tandem de carbocyclisation de Heck / couplage de Suzuki catalysée par le palladium.

Cette réaction de couplage tandem Heck/Suzuki a été développée et optimisée pour la synthèse de diarylméthylényloxindoles. A température ambiante, les rendements sont très élevés (>90%), la stéréosélectivité est excellente et la réaction peut être accélérée par un choix judicieux de mélange de solvants. Cette méthode peut être étendue à un grand nombre de partenaires de couplage.

⁵⁷ Cheung, W.S.; Patch, R.J.; Player, M.R. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 3741-3744.

II.1.5- Cyclisation photochimique

En 1980 et en 1985, Goehring *et al.* décrivent la cyclisation photochimique de diverses *N*-acyl-ortho-chloroanilines afin de former des oxindoles substitués ou non par des groupements électrodonneurs.^{58,59} Ces réactions sont réalisées en présence d'une base (LDA ou KNH₂) en excès dans un mélange THF-hexane (Figure 102).

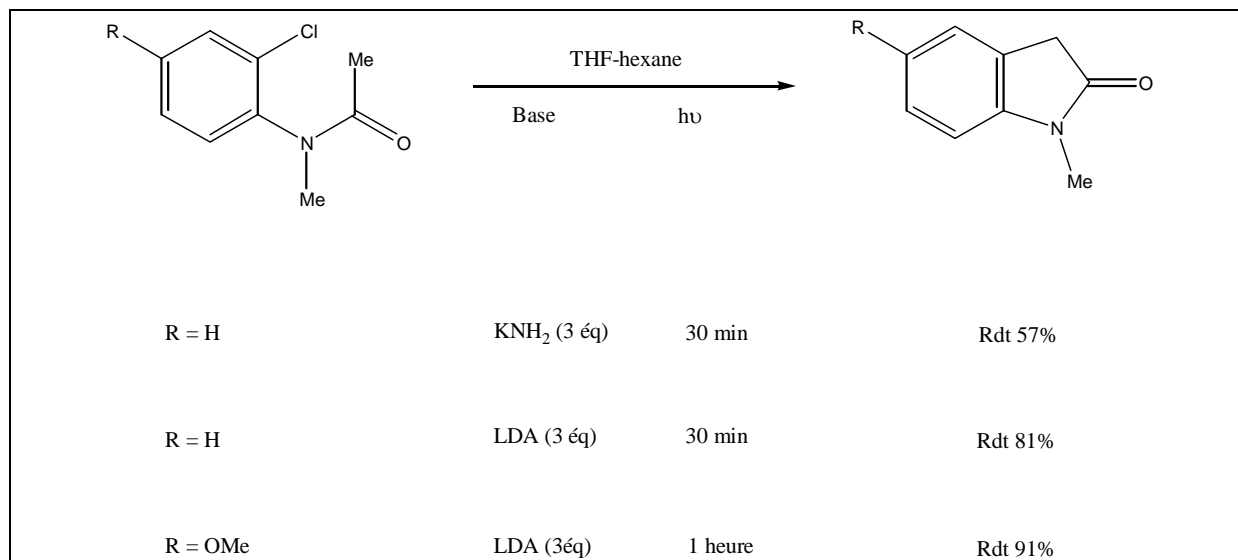


Figure 102 : Formation d'oxindoles par cyclisation photochimique de *N*-acyl-ortho-chloroanilines.

Les mêmes auteurs ont également décrit la cyclisation photochimique d'anilides α,β -insaturés afin de former des 3-alkylidènoxindoles dans les mêmes conditions (Figure 103).

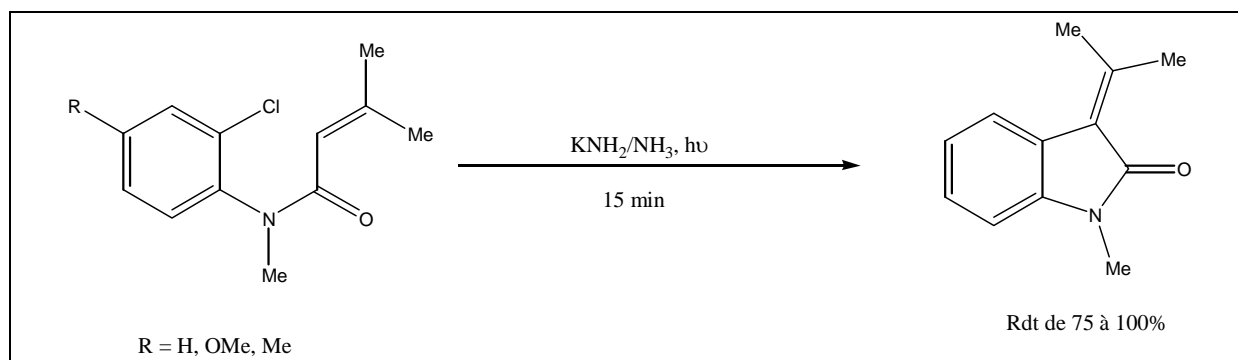


Figure 103 : Formation de 3-alkylidènoxindoles par cyclisation photochimique d'anilides α,β -insaturés.

II.1.6- Cyclisation de type Ullmann⁶⁰

En 1980, Kametani *et al.* décrivent la synthèse d'oxindole par traitement du *N*-méthyl-2-bromo-4,5-diméthoxyacétamide avec de l'hydrure de sodium et du bromure de cuivre dans le DMF à température ambiante pendant 10 heures avec un rendement de 63% (Figure 104).

⁵⁸ Goehring, R.R.; Sleevi, M.C.; Wolfe, J.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 3646-3647.

⁵⁹ Goehring, R.R.; Sachdeva, Y.P.; Pisipati, J.S.; Sleevi, M.C.; Wolfe, J.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 435-443.

⁶⁰ Kametani, T.; Ohsawa, T.; Ihara, M. *Heterocycles* **1980**, 14, 277-280.

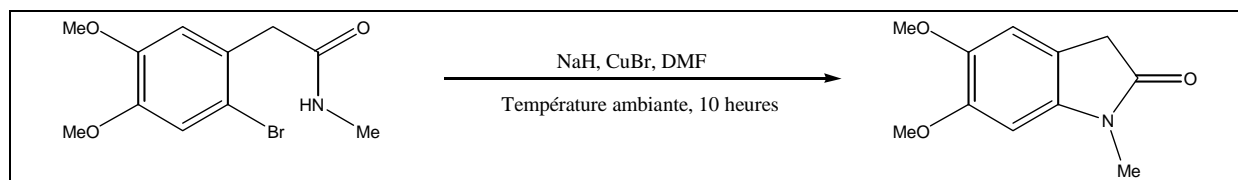


Figure 104 : Synthèse d'oxindole par cyclisation du *N*-méthyl-2-bromo-4,5-diméthoxyacétamide.

Cette méthode permet l'introduction de groupements électrodonneurs sur le noyau aromatique.

II.1.7- Cyclisation par addition-élimination intramoléculaire⁶¹

En 2003, O'Connor *et al.* décrivent la synthèse d'oxindoles par addition-élimination intramoléculaire. Une solution alcoolique de nitroester aromatique est chauffée avec de la poudre de fer en présence d'acide chlorhydrique aqueux. Après réduction du groupement nitro en l'amine correspondante, une réaction de cyclisation intramoléculaire conduit à l'oxindole attendu avec 44% de rendement (Figure 105).

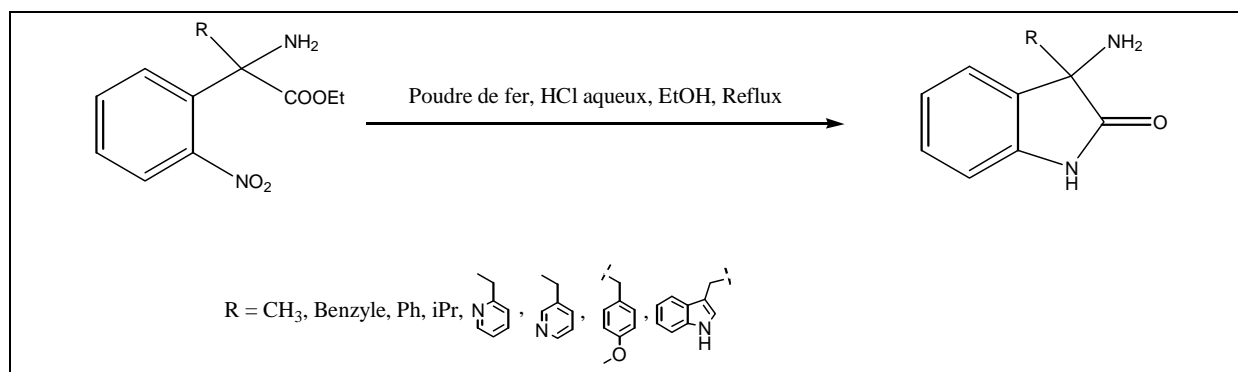


Figure 105 : Formation d'oxindoles par addition-élimination intramoléculaire.

II.2- Synthèse de glycosyl-isoindigos diversement substitués (Famille A)

Cette partie du travail a donné lieu à une publication dans la revue *Tetrahedron Letters*.⁶²

II.2.1- Synthèse du Natura

Parallèlement à nos travaux, la synthèse d'isoindigos glycosylés acétylés, dont le Natura, a été décrite dans deux brevets (Figure 106).^{63,64}

⁶¹ O'Connor, S.J.; Liu, Z. *Synlett*. **2003**, 2135-2138.

⁶² Sassatelli, M.; Saab, E.; Anizon, F.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 4827-4830.

⁶³ Wang, L.; Liu, X.; Chen, R. U.S. Patent 6,566,341, 2003; *Chem. Abs.* **2003**, 138, 379213.

⁶⁴ Wang, L.; Liu, X.; Chen, R. WO Patent, WO 03051900, 2003; *Chem. Abs.* **2003**, 139, 47135.

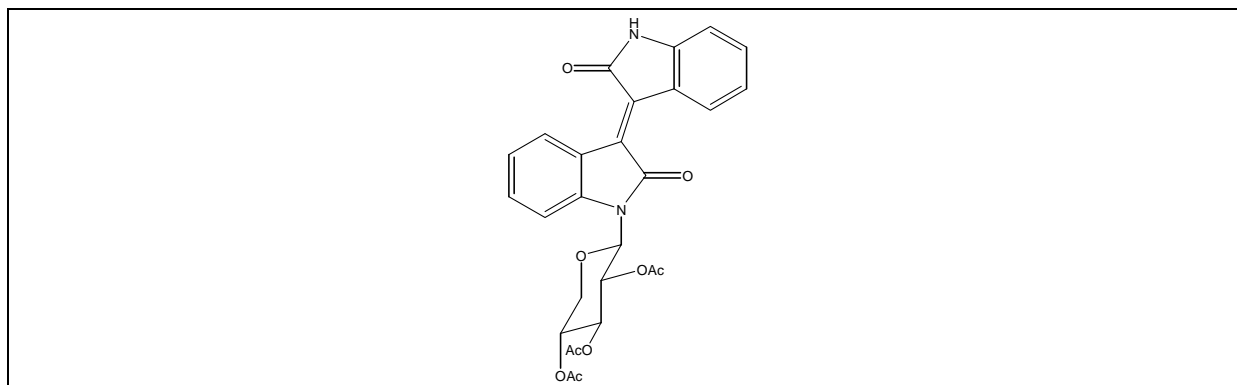


Figure 106: Structure du Natura.

Ce composé a été préparé à partir d'une *N*-glycosylaniline **1** qui après réaction avec du chlorure d'oxalyle conduit au composé **2**, qui est très instable. Le composé **2** donne l'isatine **3** en présence de chlorure d'aluminium anhydre. Une réaction de couplage en milieu acide entre l'oxindole commercial et l'isatine **3** conduit à l'isoindigo **4**. Le Natura est obtenu après acétylation du composé **4** (Figure 107).

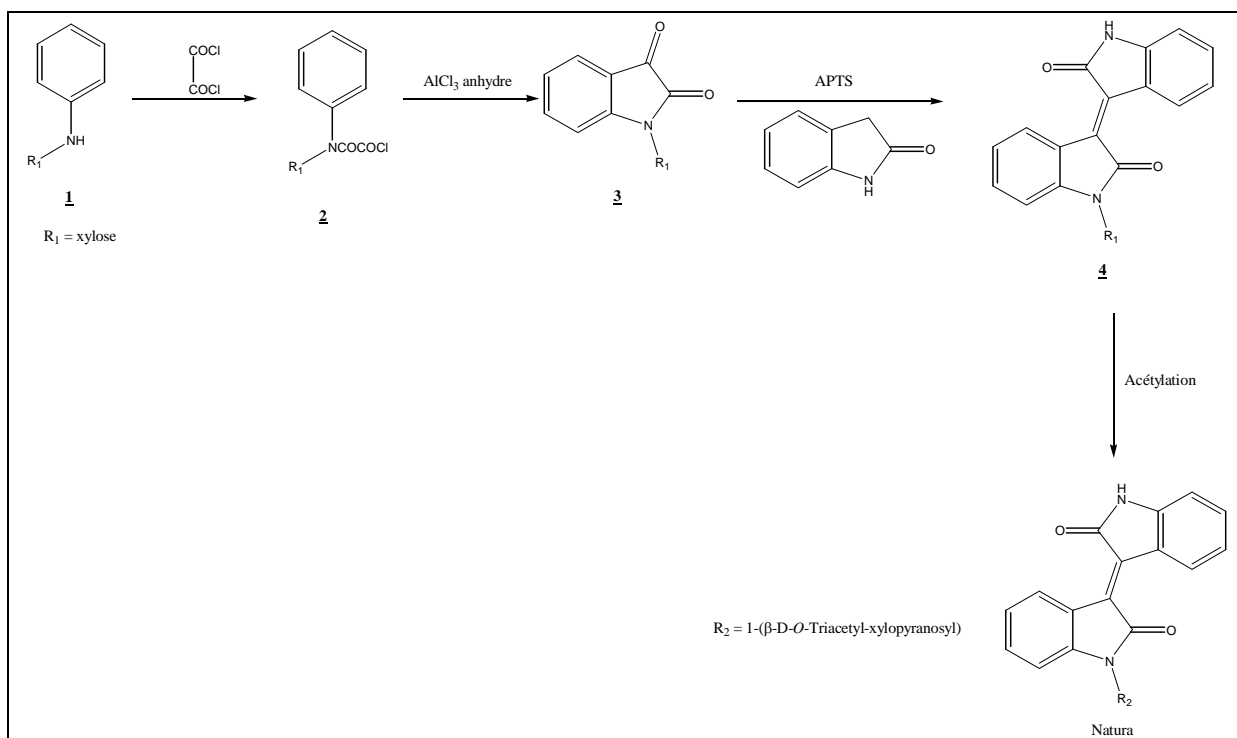


Figure 107 : Schéma de synthèse du Natura.

La préparation de dérivés substitués sur les noyaux aromatiques par des groupements électrodonneurs ou électroattracteurs n'est pas clairement décrite dans ce brevet.

Dans notre approche, nous sommes partis d'un squelette indoline déjà construit, substitué par différents groupements électrodonneurs ou électroattracteurs dans une position déterminée sur les noyau aromatiques dès le début de la synthèse.

II.2.2- Rétrosynthèse

Le schéma de synthèse permettant l'accès à ces composés met en jeu un intermédiaire du type isatine glycosylée, synthétisé à partir d'une indoline commerciale ou non, couplé à un oxindole afin d'accéder au motif isoindigo attendu (Figure 108).

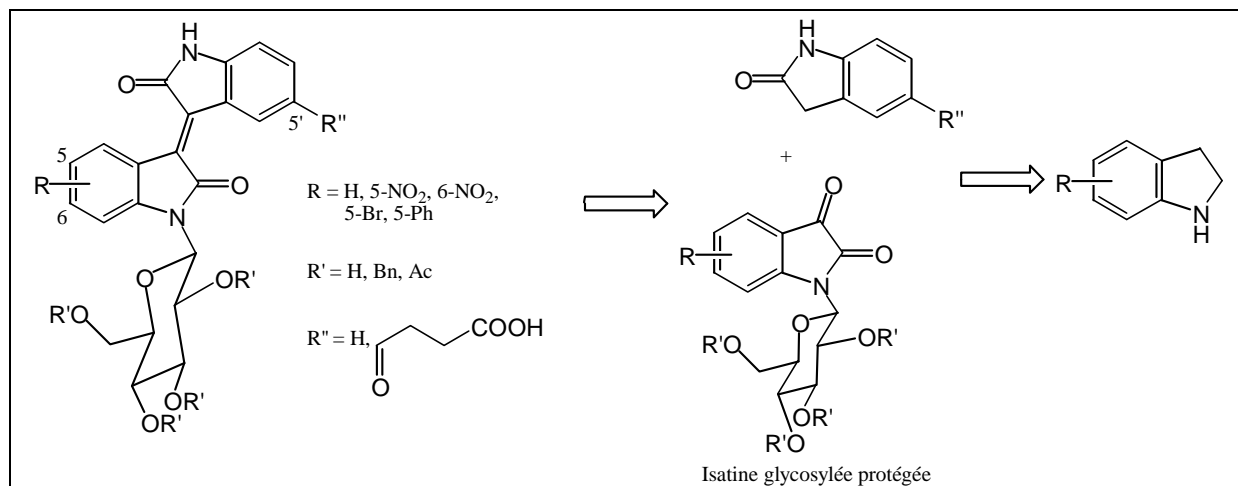


Figure 108 : Rétrosynthèse des glycosyl-isoindigos.

II.2.3- Synthèse des indolines non commerciales

La plupart des indolines de départ utilisées sont commerciales (Figure 109).

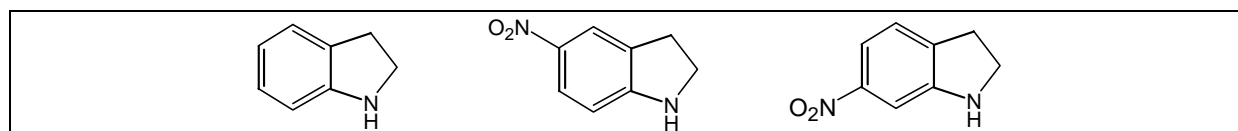


Figure 109 : Structure des indolines commerciales utilisées.

La 5-bromoindoline est vendue sous sa forme acétylée, une simple déprotection en milieu basique permet d'obtenir la 5-bromoindoline **1** avec un rendement de 80%. Afin d'accéder à l'analogue **2** substitué en position 5 par un groupement phényle, nous avons réalisé un couplage de Suzuki entre la 5-bromoindoline **1** et l'acide phénylboronique en présence de palladium de tetrakis(triphénylphosphine) et de carbonate de sodium dans un mélange toluène/éthanol.⁶⁵ La 5-phénylindoline **2** est ainsi obtenue avec un rendement de 44% (Figure 110).

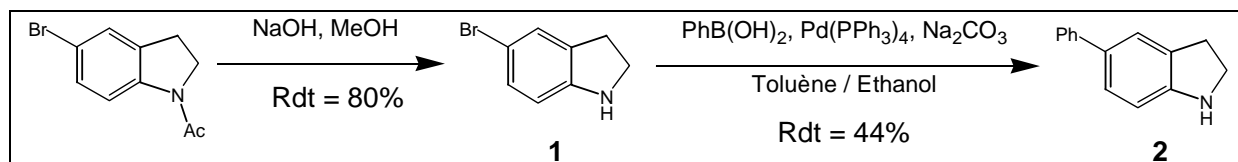


Figure 110 : Synthèse de la 5-bromoindoline **1** et de la 5-phénylindoline **2**.

⁶⁵ Sun, L.; Tran, N.; Liang, C.; Tang, F.; Rice, A.; Schreck, R.; Waltz, K.; Shawver, L.K.; McMahon, G.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 5120-5130.

II.2.4- Synthèse des isatines glycosylées benzylées

Les isatines glycosylées benzylées sont synthétisées en quatre étapes à partir des indolines diversement substituées (Figure 111).

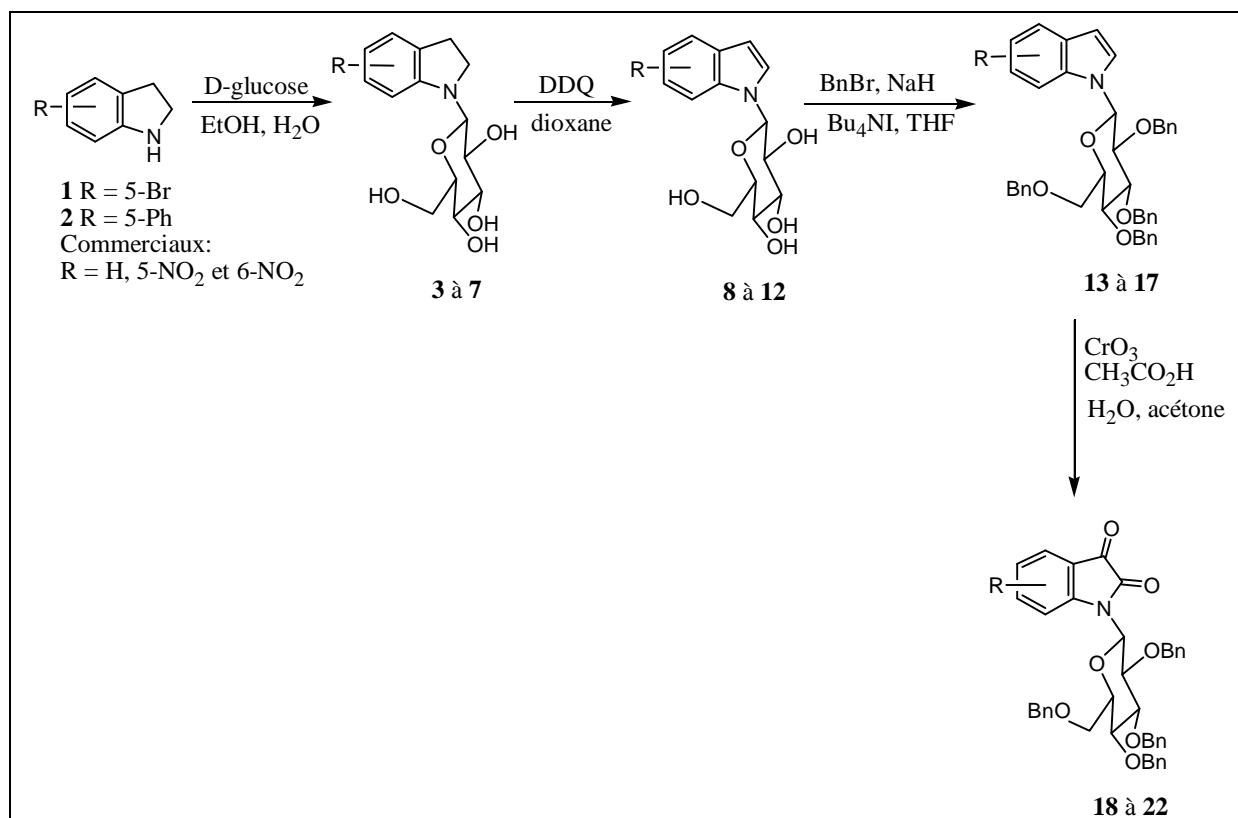


Figure 111 : Synthèse des isatines glycosylées benzylées **18 à 22**.

II.2.4.1- Etape de glycosylation des indolines

La première étape de cette synthèse consiste en un couplage du D-glucose sur une indoline (substituée ou non) suivant la méthode de Mel'nik.⁶⁶ Les rendements de cette réaction vont de 95 à 72% suivant les substituants (Tableau 27). Cette réaction se fait à reflux d'un mélange éthanol/eau. Il est intéressant de noter que la réaction dure 24 heures pour les composés **3**, **6** et **7**, mais qu'il faut 6 jours pour les composés **4** et **5** qui sont substitués par des groupement nitro électroattracteurs.

R	Composé	Rendement
H	3	95%
5-NO ₂	4	80%
6-NO ₂	5	72%
5-Br	6	80%
5-Ph	7	85%

Tableau 27 : Rendements obtenus pour l'étape de glycosylation.

⁶⁶ Mel'nik, S.Y.; Bakhmedova, A.A.; Garaeva, L.D.; Goryunova, O.V.; Miniker, T.D.; Plikhtyak, I.L.; Ektova, L.V.; Ivanova, T.P.; Yartseva, I.V. *Bioorg. Khim.* **1996**, 22, 467-476.

De plus, cette glycosylation conduit au seul isomère β . La configuration du carbone anomère est déterminée par la mesure de la constante de couplage du proton 1' avec le proton 2'. Cette constante de couplage est habituellement de 8 à 9 Hz, ce qui est caractéristique d'un anomère β (position axiale-axiale des deux protons voisins) (Figure 112 et Figure 113). Dans le cas d'un anomère α (position équatoriale-axiale des deux protons voisins) la constante de couplage est de l'ordre de 4 à 6 Hz.

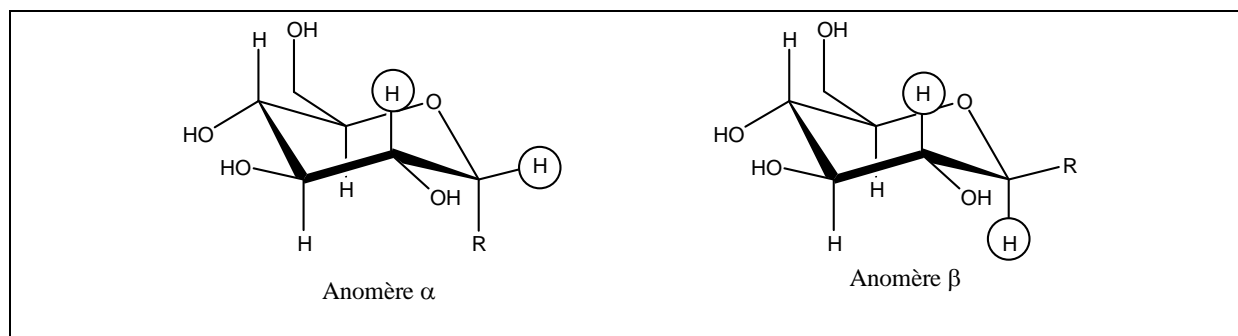


Figure 112 : Les anomères α et β de glucosides.

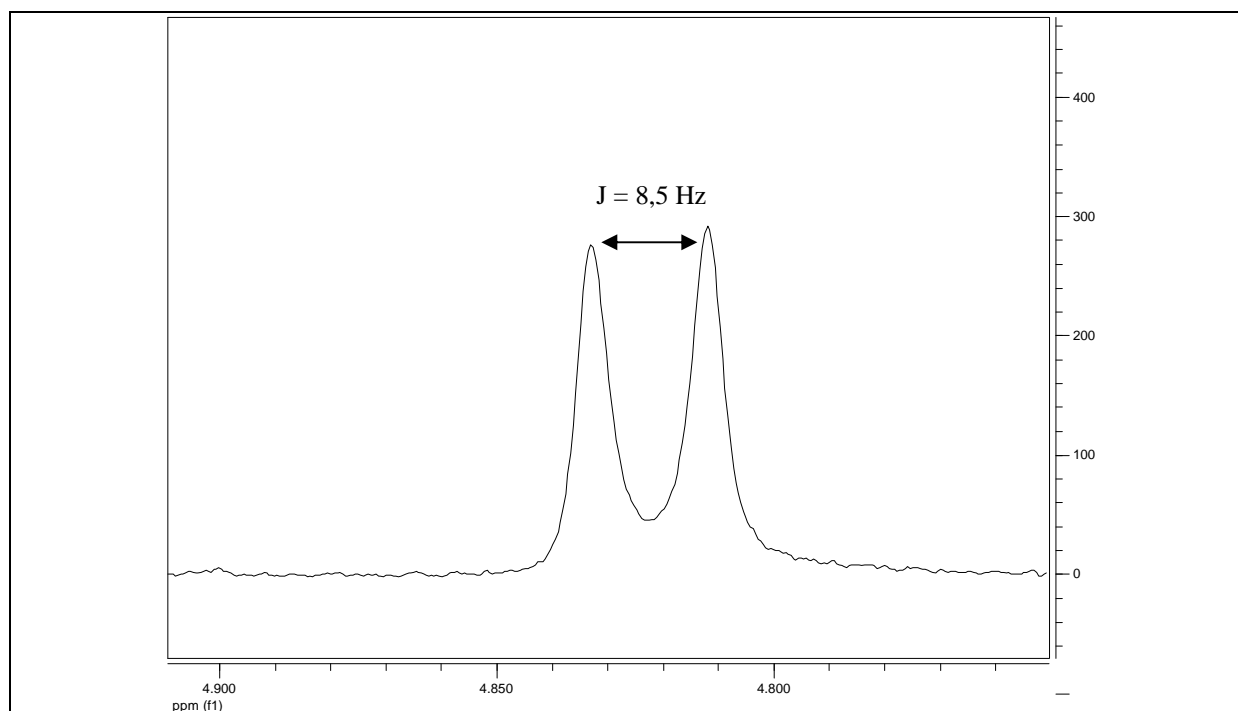


Figure 113 : Signal du proton anomérique du composé **4** en RMN (400 MHz) du proton dans le DMSO- d_6 .

Lors de ce couplage, la fonction aldéhyde de la forme ouverte du D-glucose, traitée par les indolines diversement substituées, subit une réaction d'addition-élimination conduisant à l'ion ϵ iminium correspondant. La refermeture du sucre se fait par une réaction d'addition nucléophile de l'oxygène de la fonction alcool en position 5' sur l'ion ϵ iminium en formant le composé de configuration β qui est le plus stable (Figure 114).

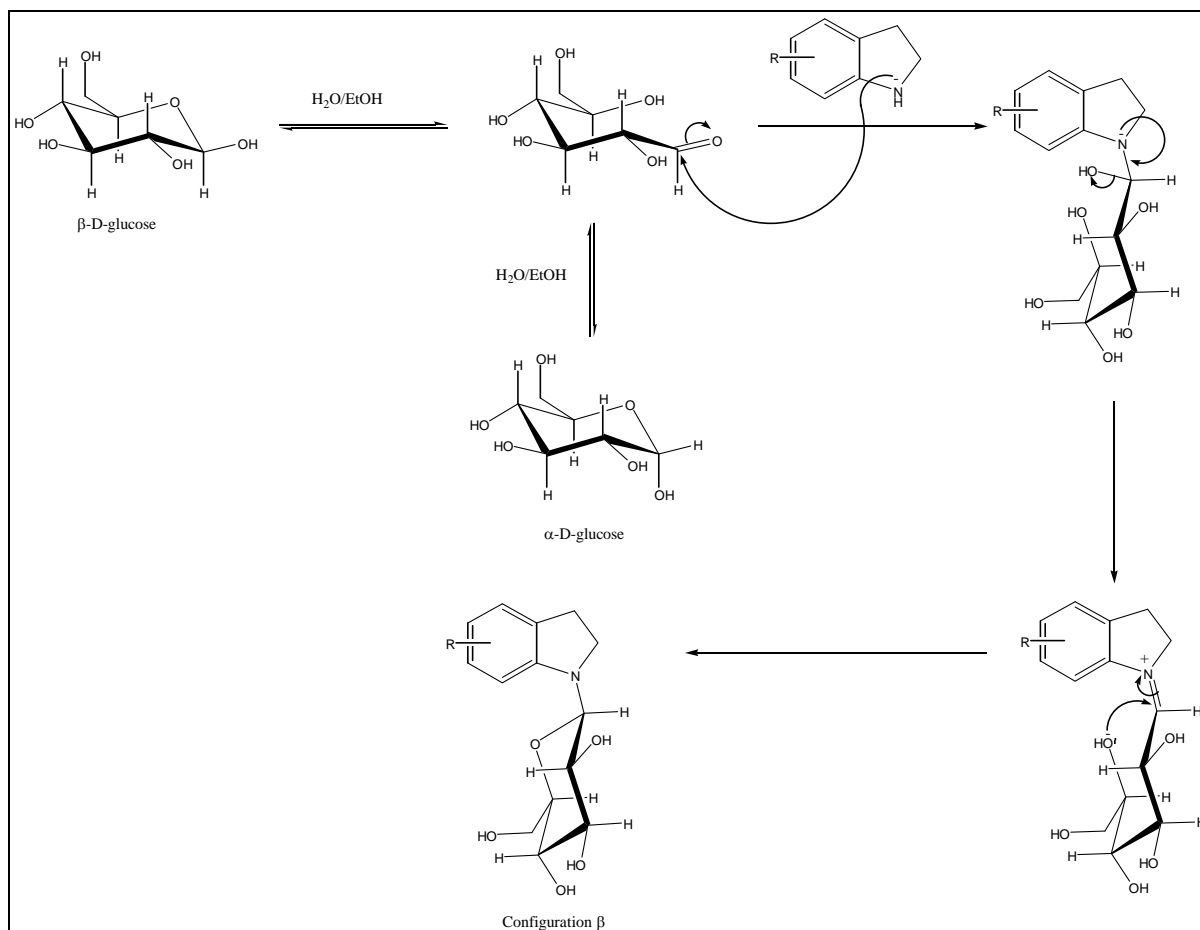


Figure 114 : Mécanisme du couplage entre diverses indolines et le D-glucose.

II.2.4.2- Etape d'aromatisation au DDQ

L'étape d'aromatisation au DDQ dans le dioxane, réalisée selon la méthode utilisée par Mel'nik *et al.*⁶⁶ pour la préparation d'indoles à partir d'indolines, aboutit aux composés indoliques **8** à **12** avec des rendements allant de 65 à 90% (Tableau 28). Elle est menée à température ambiante pendant 12 à 18 heures avec 1,2 équivalents de DDQ pour les composés **8**, **11**, **12** et à 50°C pendant 48 heures avec 3 équivalents de DDQ pour les composés nitro **9** et **10**.

R	Composé	Rendement
H	8	74%
5-NO ₂	9	65%
6-NO ₂	10	83%
5-Br	11	88%
5-Ph	12	90%

Tableau 28 : Rendements obtenus pour l'étape d'aromatisation.

Afin de diminuer la durée de la réaction pour la synthèse des composés **9** et **10**, nous avons essayé une aromatisation à l'aide de Co(salen) dans le méthanol selon la méthode

⁶⁶ Mel'nik, S.Y.; Bakhmedova, A.A.; Garaeva, L.D.; Goryunova, O.V.; Miniker, T.D.; Plikhtyak, I.L.; Ektova, L.V.; Ivanova, T.P.; Yartseva, I.V. *Bioorg. Khim.* **1996**, *22*, 467-476.

décrite par Borror *et al.* pour l'aromatisation de la 5-(méthylsulfamoyl)indoline à température ambiante (Figure 115).⁶⁷ Dans notre cas, nous avons récupéré uniquement du produit de départ, malgré divers essais à différentes températures, vraisemblablement en raison de la faible solubilité des composés nitrés.

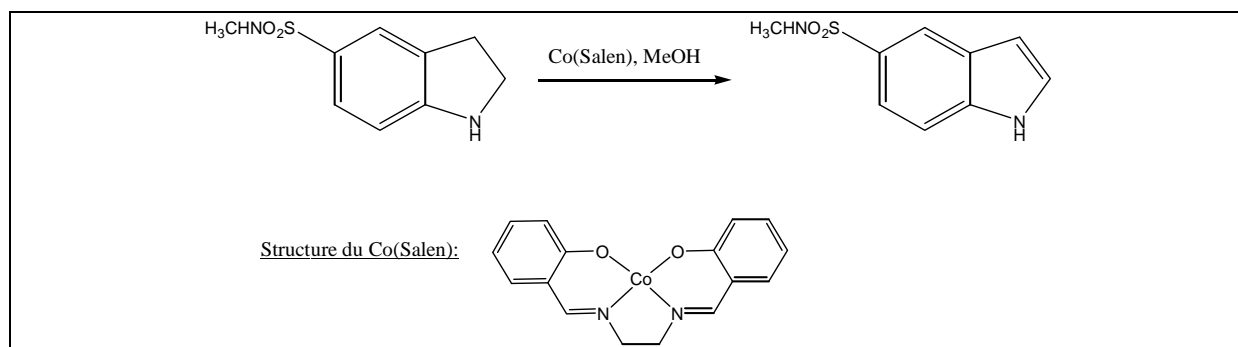


Figure 115 : Aromatisation au Co(salen) décrite par Borror *et al.*

II.2.4.3- Etape de benzylation des groupements hydroxyles du sucre

Ensuite les groupements hydroxyles du sucre sont protégés en faisant réagir l'hydrure de sodium et le bromure de benzyle en présence d'iodure de tétrabutylammonium dans le THF à reflux pendant 18 heures.⁶⁸ On obtient les composés indoliques glycosylés benzylés **13** à **17** avec des rendements allant de 64 à 82% (Tableaux 29).

R	Composé	Rendement
H	13	70%
5-NO ₂	14	64%
6-NO ₂	15	67%
5-Br	16	82%
5-Ph	17	68%

Tableau 29 : Rendements obtenus pour l'étape de benzylation.

II.2.4.4- Etape d'oxydation de l'indole en isatine

Enfin les composé **13** à **17** sont oxydés par de l'oxyde de chrome dans un mélange acide acétique/eau/acétone pour aboutir aux isatines glycosylées benzylées avec des rendements allant de 40 à 66% (Tableau 30).⁶⁹

⁶⁷ Borror, A.L.; Chinoporos, E.; Filosa, M.P.; Herchen, S.R.; Petersen, C.P.; Stern, C.A. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2047-2052.

⁶⁸ Czernecki, S.; Georgoulis, C.; Provenlenghiou, C. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 17, 3535-3536.

⁶⁹ Da Settimo, A.; Menicagli, C.; Nannipieri, E. *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 1995-1998.

R	Composé	Rendement
H	18	62%
5-NO ₂	19	66%
6-NO ₂	20	61%
5-Br	21	49%
5-Ph	22	40%

Tableau 30 : Rendements obtenus pour l'étape d'oxydation.

Pour ces composés, les spectres de RMN ont du être réalisés dans le chloroforme deutéré, car contrairement à tous les autres produits de cette famille, ces composés se dégradent dans le DMSO deutéré.

Sur le composé bromé **21**, avec les expériences de RMN classiques (Jmod, HSQC, ¹³C quantitatif), il manquait un carbone quaternaire, celui-ci a pu être détecté à 146,9 ppm grâce à une HMBC (Figure 116).

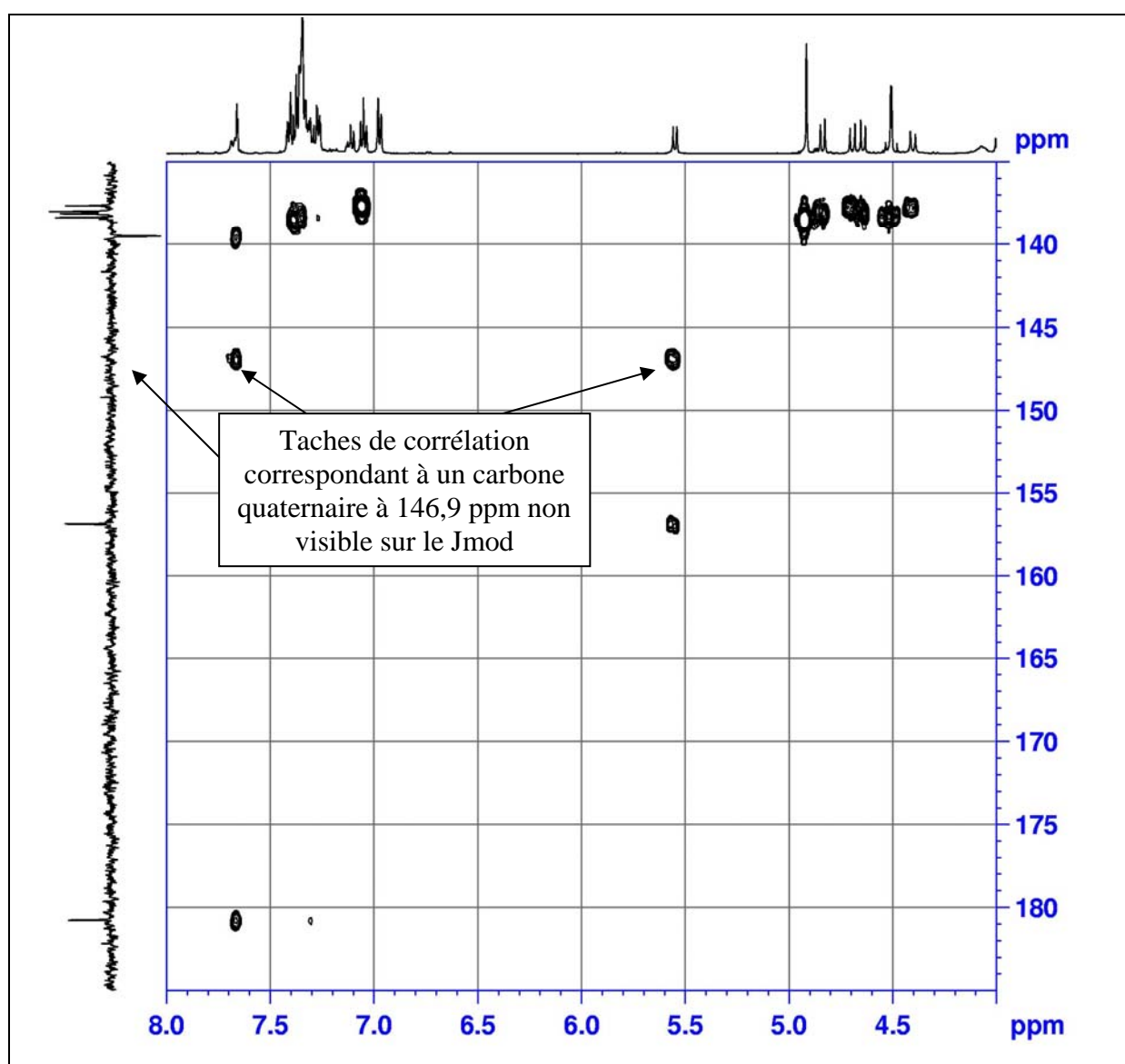


Figure 116 : Détection du carbone quaternaire à 146,9 ppm du composé **21** par HMBC.

II.2.5- Synthèse des isoindigos glycosylés benzylés ou non

II.2.5.1- Synthèse des isoindigos glycosylés benzylés

Dans un premier temps, lors du stage de Diplôme Professionnel Universitaire d'Elias Saab, la synthèse de l'isoindigo glycosylé benzylé **23** a été réalisée par une réaction de Knoevenagel entre l'isatine **18** et l'oxindole commercial selon la méthode utilisée par Sun *et al.*⁷⁰ pour la préparation d'isoindigos non glycosylés (Figure 117). Le produit de couplage attendu a ainsi été obtenu avec un rendement de 17%.

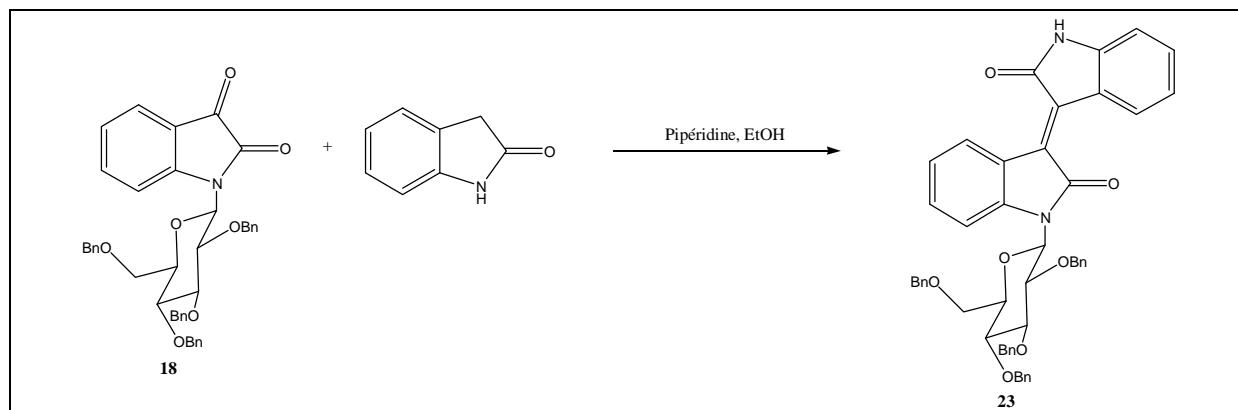


Figure 117 : Synthèse de **23** par réaction de Knoevenagel.

Malheureusement, malgré de nombreux essais d'optimisation du rendement, celui-ci n'a jamais été supérieur à 17%.

Ce genre de couplage entre une isatine et un oxindole est également décrit en milieu acide. Les composés **18** à **22** ont donc été traités à reflux d'un mélange acide acétique/acide chlorhydrique concentré en présence d'oxindole pendant 24 heures pour obtenir les composés **23** à **27** selon la méthode décrite par Papageorgiou *et al.* pour la synthèse de l'isoindigo (Figure 118).⁷¹

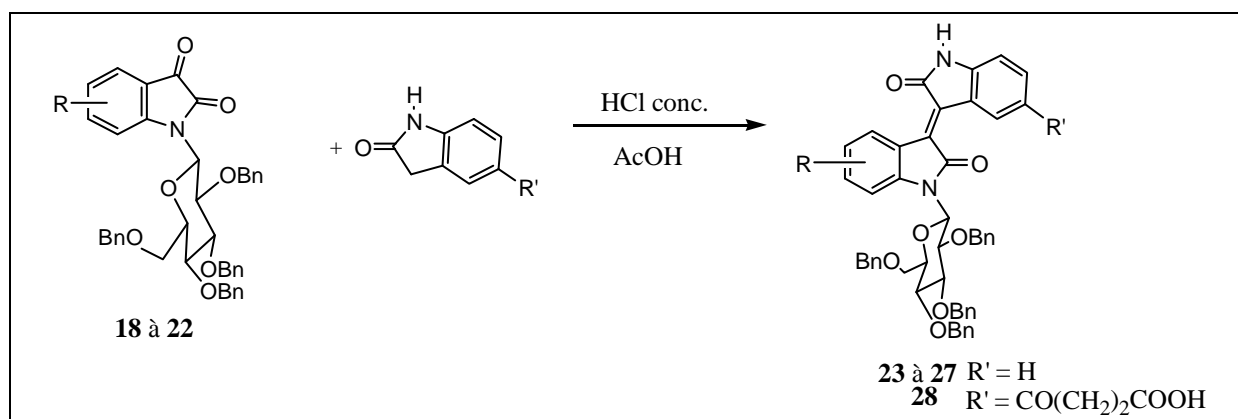


Figure 118 : Synthèse des isoindigos glycosylés benzylés.

⁷⁰ Sun, L.; Tran, N.; Liang, C.; Hubbard, S.; Tang, F.; Lipson, K.; Schreck, R.; Zhou, Y.; McMahon, G.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 2655-2663.

⁷¹ Papageorgiou, C.; Borer, X. *Helv. Chim. Acta* **1988**, 71, 1079-1083.

Cette réaction met en jeu un mécanisme classique de couplage en milieu acide (Figure 119).

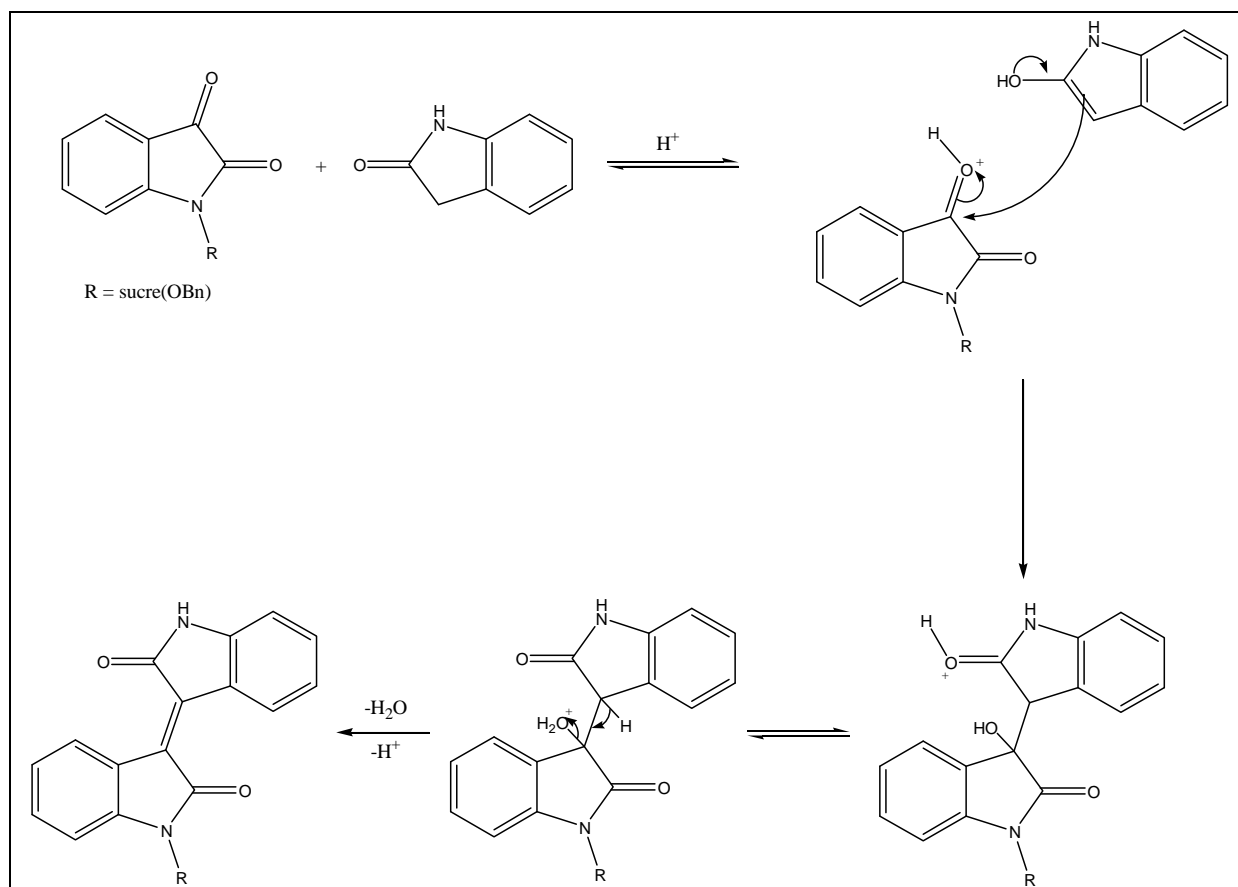


Figure 119 : Mécanisme du couplage en milieu acide entre l'isatine et l'oxindole commercial.

Les rendements de cette étape vont de 25 à 60% (Tableau 31). On peut noter que les rendements les plus faibles sont obtenus pour les composés nitrés **24** et **25**, et que dans ce cas, on récupère le produit de départ. Ceci est certainement dû à la faible solubilité des isatines **19** et **20** dans le milieu réactionnel.

R	Composé	Rendement
H	23	40%
5-NO ₂	24	25%
6-NO ₂	25	30%
5-Br	26	43%
5-Ph	27	60%

Tableau 31 : Rendements des réactions de couplage entre les isatines glycosylées benzylées et l'oxindole.

Le composé **28** est obtenu par couplage en milieu acide entre l'isatine **18** et un oxindole **29** substitué en 6 par un groupement acide 4-oxobutanoïque avec 88% de rendement. L'oxindole substitué **29** a été obtenu par une acylation de Friedel et Crafts entre l'oxindole et l'anhydride succinique avec un rendement de 88% (Figure 120).⁷²

⁷² Kakushima, M.; Hamel, P.; Frenette, R.; Rokach, J. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 3214-3219.

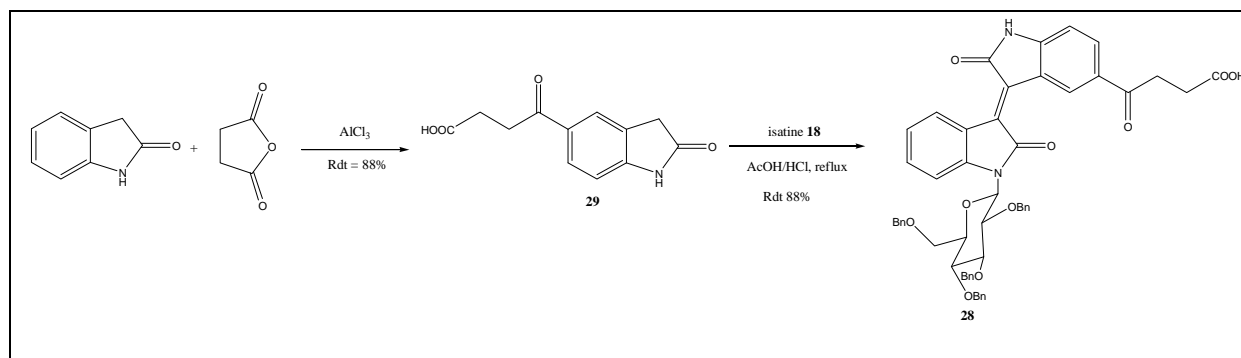


Figure 120 : Acylation de Friedel et Crafts entre l'oxindole et l'anhydride succinique afin d'accéder à l'isoidindigo **28**.

Il est intéressant de noter que pour les composés **23**, **26**, **27** et **28**, comparativement aux composés **3-22**, **24** et **25**, le signal du proton anomérique n'est pas un doublet mais un signal élargi. Des expériences de RMN à 70°C , afin de déterminer si les produits sont sous la forme de différents isomères, et dans des solvants différents (CDCl_3 , CD_3OD), pour étudier les effets de solvation, ont été effectuées. Quels que soient la température et le solvant, la forme du signal ne change pas. La configuration du carbone anomère étant bien établie, d'après les spectres des précurseurs, la forme de ce signal est probablement liée au fait que, dans ce cas, le sucre a une conformation différente (Figure 121).

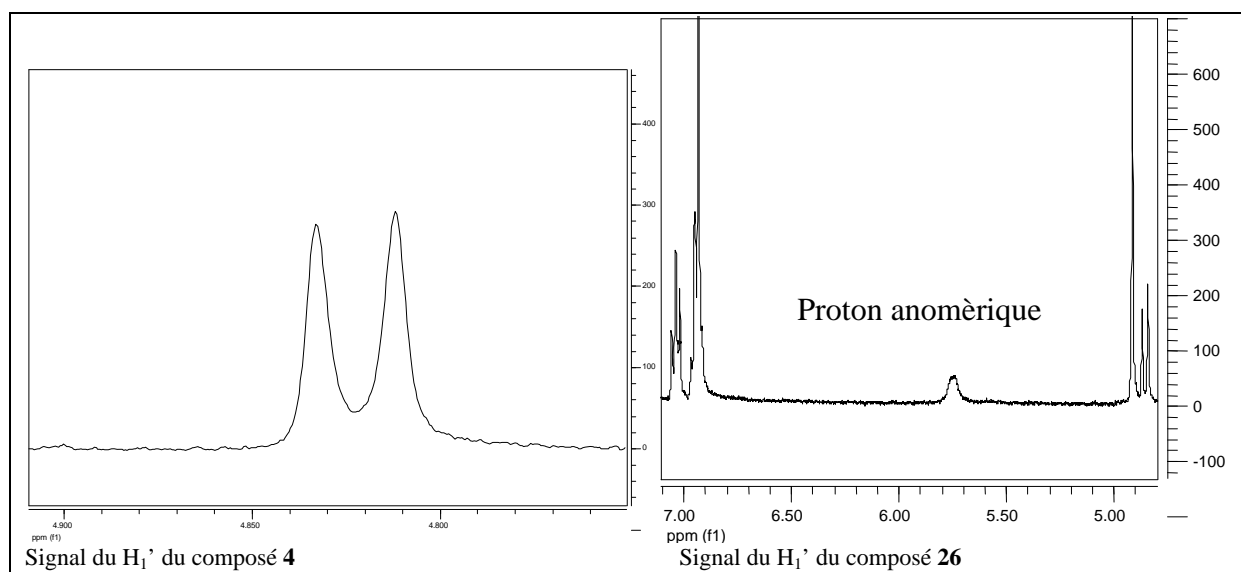


Figure 121 : Comparaison des signaux du proton anomérique en RMN du proton (400 MHz) dans le $\text{DMSO}-d_6$ du composé **26** et du composé **4**.

Sur les composés nitrés **24** et **25**, bromé **26**, et phényle **27** avec les expériences de RMN classiques (Jmod, HSQC, ^{13}C quantitatif), il manquait un carbone quaternaire, celui-ci a pu être détecté grâce à une HMBC (Tableau 32).

Composé	δ (ppm) du carbone quaternaire détecté par HMBC
24	145,9
25	141,5
26	140,5
27	140,7

Tableau 32 : Déplacements chimiques des carbones quaternaires détectés par HMBC pour les composés **24**, **25**, **26** et **27**.

II.2.5.2- Déprotection des groupements hydroxyles du sucre

La première méthode testée pour la déprotection des fonctions alcools du sucre a été une hydrogénation catalytique. Cependant, comme on pouvait s'y attendre, la double liaison entre les deux oxindoles a été réduite et de plus la débenzylation n'a été que partielle (Figure 122).

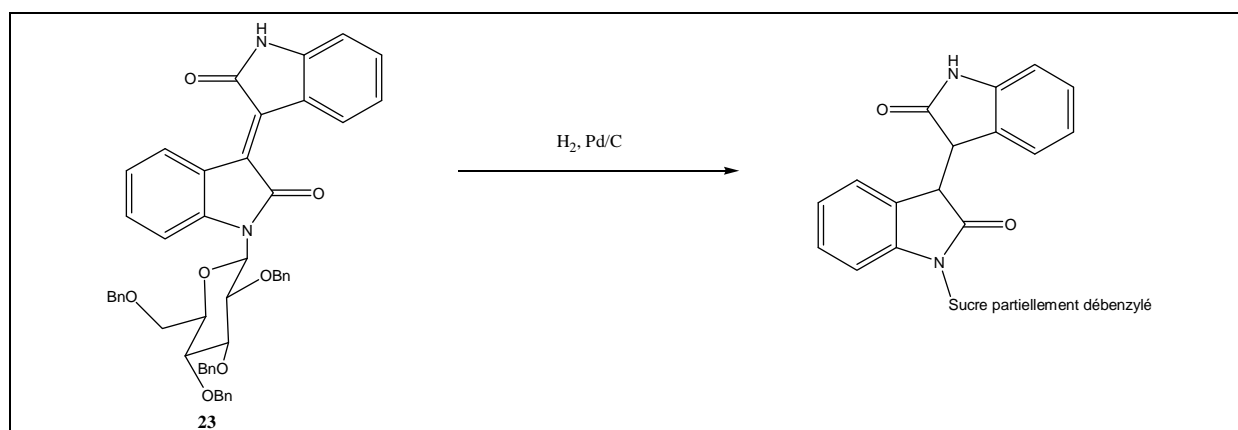


Figure 122 : Tentative de débenzylation par hydrogénolyse.

Ensuite, nous avons essayé une méthode de débenzylation, en présence de chlorure d'aluminium et de *N,N*-diméthylaniline dans le dichlorométhane, utilisée précédemment avec succès au laboratoire afin de déprotéger le sucre porté par le 3-benzylidénylindolin-2-one (Figure 123).⁷³ Le mécanisme de la réaction est identique à celui décrit Figure 126 avec BBr_3 .

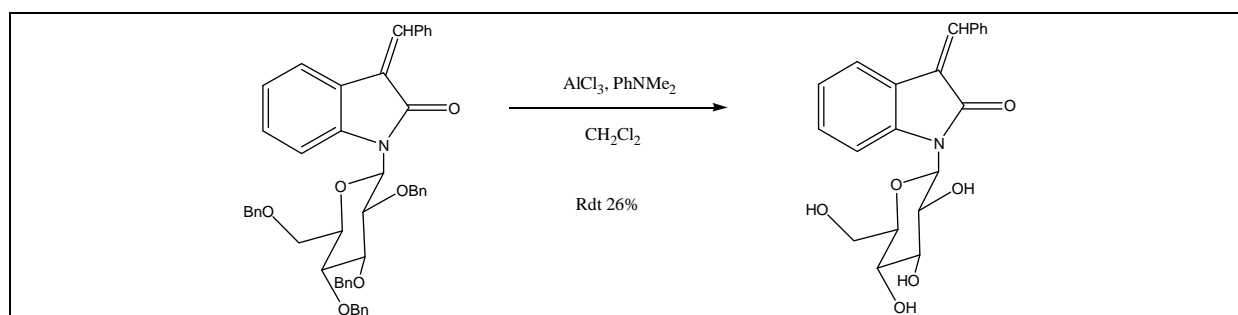


Figure 123 : Débenzylation déjà réalisée au laboratoire.

⁷³ Messaoudi, S.; Sancelme, M.; Polard-Housset, V.; Aboab, B.; Moreau, P.; Prudhomme, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39, 453-458.

Cependant, lorsque le composé **23** a été traité dans ces conditions, aucun produit identifiable n'a pu être isolé vraisemblablement en raison de la complexation du produit avec des sels d'aluminium (Figure 124).

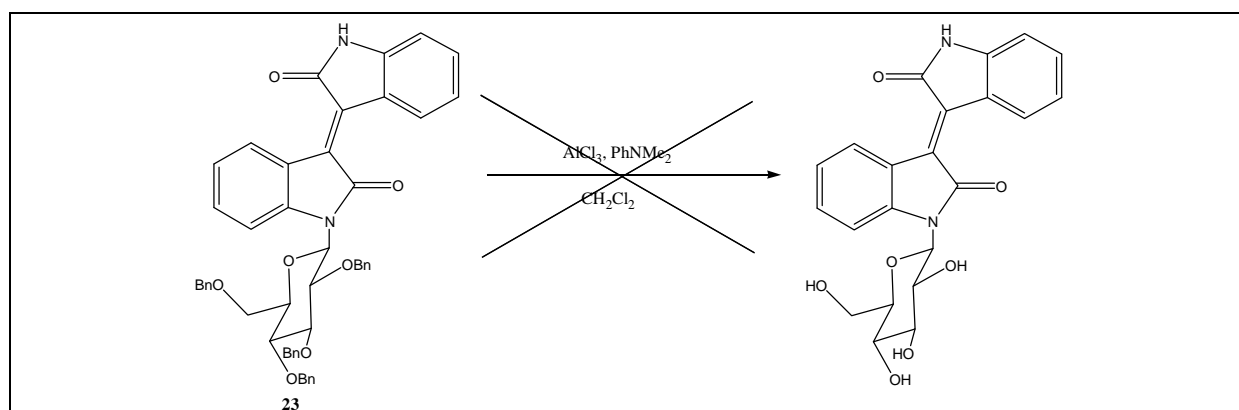


Figure 124 : Tentative de débenzylation du composé **23** en présence de chlorure d'aluminium et de N,N-diméthylaniline dans le dichlorométhane.

Enfin, la déprotection des groupements hydroxyles du sucre a été réalisée à -80°C dans le dichlorométhane en présence de tribromure de bore (Figure 125).⁷⁴

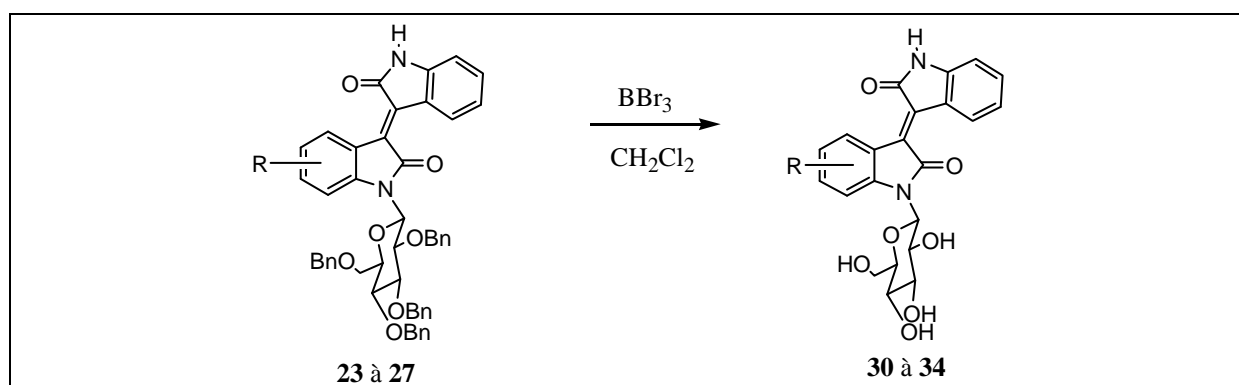


Figure 125 : Débenzylation des composés **23** à **27** à l'aide de BBr_3 .

Les fonctions alcools du sucre sont régénérées par hydrolyse du trialkoxyborate obtenu par élimination du bromure de benzyle sur le complexe acide-base de Lewis, constitué par le tribromure de bore et l'éther benzylique (Figure 126).

⁷⁴ Ward, D.E.; Gai, Y.; Kaller, B.F. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 7830-7836.

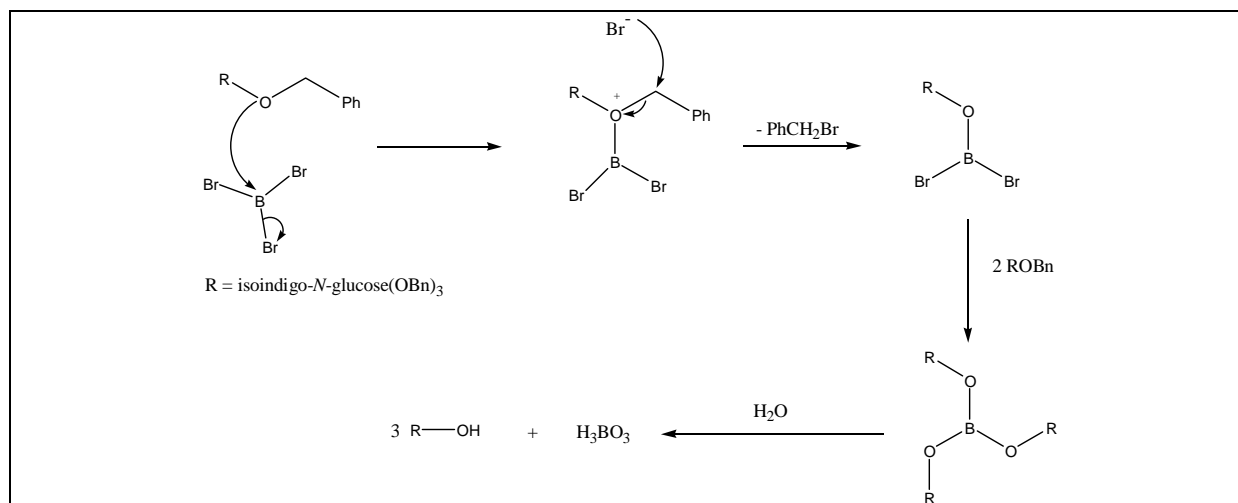


Figure 126 : Mécanisme de la déprotection des fonctions alcools du sucre par BBr₃.

On obtient les composés **30** à **34** avec des rendements allant de 5 à 66% (Tableau 33).

R	Composé	Rendement
H	30	60%
5-NO ₂	31	18%
6-NO ₂	32	5%
5-Br	33	59%
5-Ph	34	66%

Tableau 33 : Rendements obtenus pour la réaction de débenzylation.

Pour déprotéger les composés **30**, **31**, **33** et **34**, la réaction dure 2 heures, mais il est important de noter que le rendement de déprotection du composé **32** demeure faible malgré une réaction qui dure deux jours à -80°C . Enfin la déprotection du composé **28** n'a jamais permis d'obtenir le composé déprotégé attendu vraisemblablement en raison de sa grande solubilité dans la phase aqueuse (Figure 127).

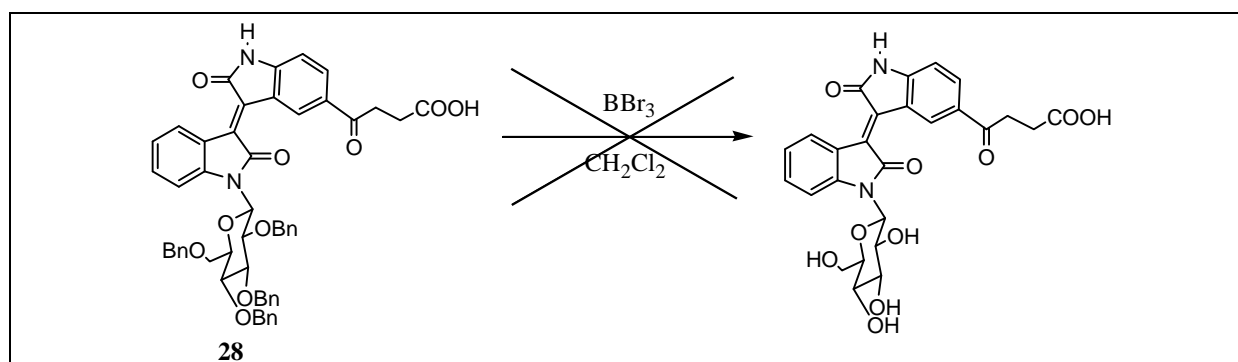


Figure 127 : Tentative de déprotection du composé **28**.

Afin d'améliorer le rendement de la déprotection du 6-nitroisoindigo glycosylé benzylé **25**, nous avons effectué différents essais.

Un des grands problèmes rencontrés lors de la synthèse du composé **32**, et des isoindigos glycosylés déprotégés en général, c'est leur grande solubilité dans la phase aqueuse. Afin d'améliorer le rendement de la synthèse du composé **32**, nous avons essayé différents traitements à l'issue de la réaction : évaporation de la phase aqueuse et reprise du

résidu dans l'acétate d'éthyle, hydrolyse avec un minimum d'eau, extraction avec différents solvants (CH₂Cl₂, acétate d'éthyle, toluène, chloroforme). Mais, dans tous les cas, ces essais ce sont révélés infructueux.

Nous avons également essayé d'effectuer une débenzylation par du palladium sur charbon, en présence d'un large excès de cyclohexa-1,4-diène, comme donneur d'hydrogène, dans l'éthanol selon la méthode décrite par Wille *et al.* pour déprotéger un éther benzylique aromatique sans réduire la double liaison C=C située entre deux motifs oxindoles (Figure 128).⁷⁵

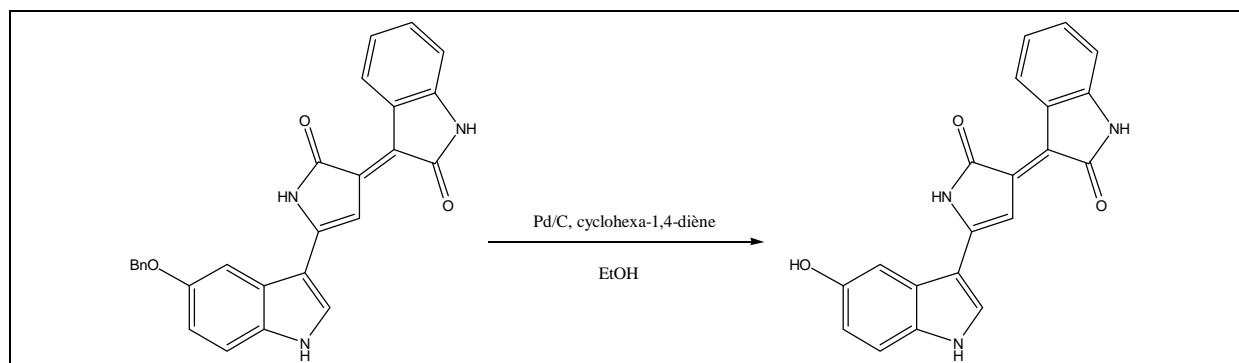


Figure 128 : Débenzylation de Wille *et al.*

Cependant, dans notre cas, malgré la disparition du produit de départ, cette réaction ne nous a pas permis d'isoler un produit intéressant (Figure 129).

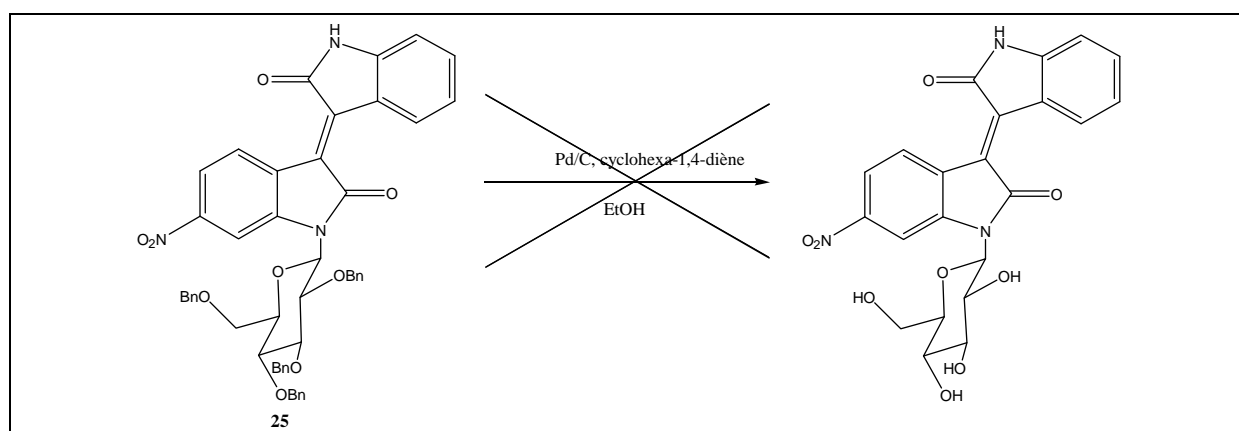


Figure 129 : Tentative de débenzylation du composé **25** selon la méthode de Wille *et al.*

Nous avons également essayé une méthode d'hydrogénation utilisant du palladium sur charbon en présence de formiate d'ammonium comme donneur d'hydrogène dans le méthanol (Figure 130).⁷⁶ Cette réaction a été utilisée pour l'hydrogénolyse des atomes de chlore de la rébeccamycine.

⁷⁵ Wille, G.; Steglich, W. *Synthesis* **2001**, 759-762.

⁷⁶ Moreau, P.; Anizon, F.; Sancelme, M.; Prudhomme, M.; Bailly, C.; Carrasco, C.; Ollier, M.; Severe, D.; Riou, J.-F.; Fabbro, D.; Meyer, T.; Aubertin, A.-M. *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 1631-1640.

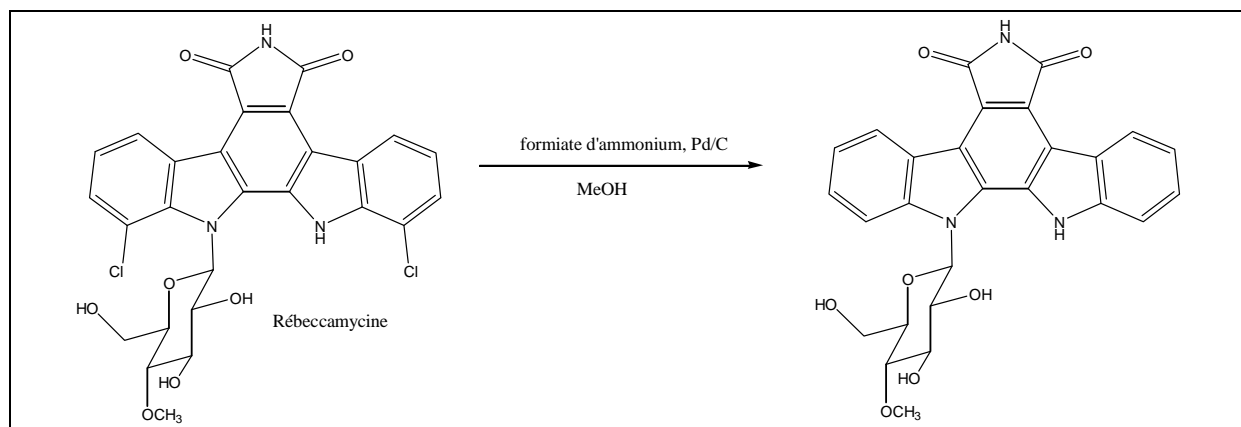


Figure 130 : Hydrogénolyse par le formiate d'ammonium en présence de palladium sur charbon.

L'application de ces conditions au composé **25** ne nous a pas permis d'accéder au produit attendu (Figure 131).

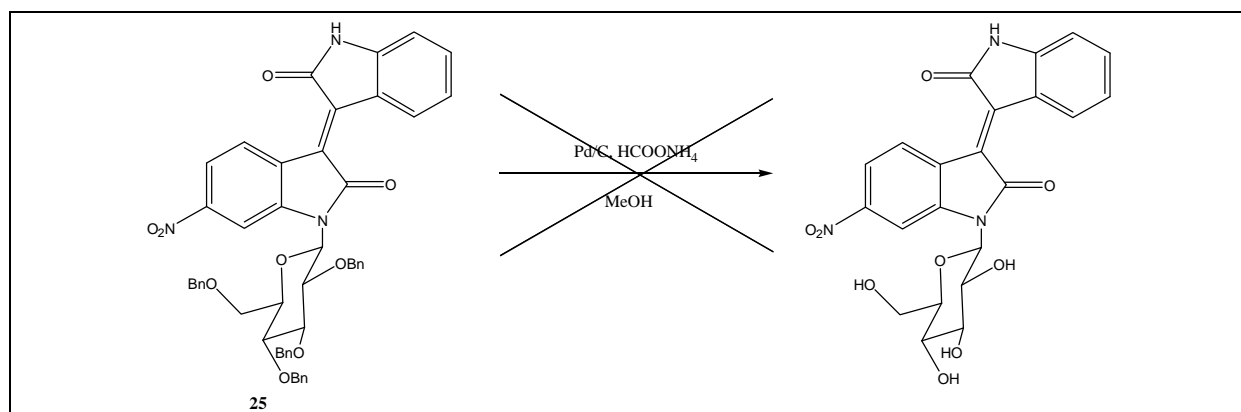


Figure 131 : Tentative de débenzylation du composé **25** par hydrogénolyse utilisant du palladium sur charbon en présence de formiate d'ammonium dans le méthanol.

L'acide trifluoroacétique est également connu pour débenzyler les fonctions alcools (Figure 132).⁷⁷ Cette méthode a d'ailleurs déjà été utilisée au laboratoire pour déprotéger des hydroxyles de sucres.

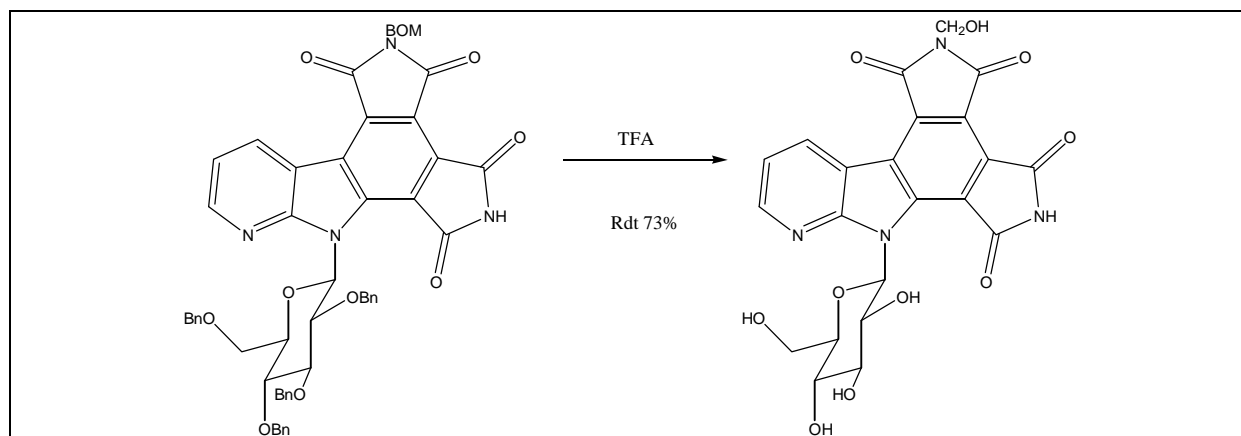


Figure 132 : Débenzylation des fonctions alcools de sucre par l'acide trifluoroacétique.

⁷⁷ Samir Messaoudi, Thèse de l'Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand, **2004**, D.U. 1537.

Nous avons donc mis en œuvre une débenzylation du 6-nitroisindigo glycosylé benzylé **25** par l'acide trifluoroacétique (Figure 133). Dans ce cas également, aucun produit identifiable n'a pu être isolé. Ici encore la solubilité dans l'eau du produit attendu est sans doute la cause.

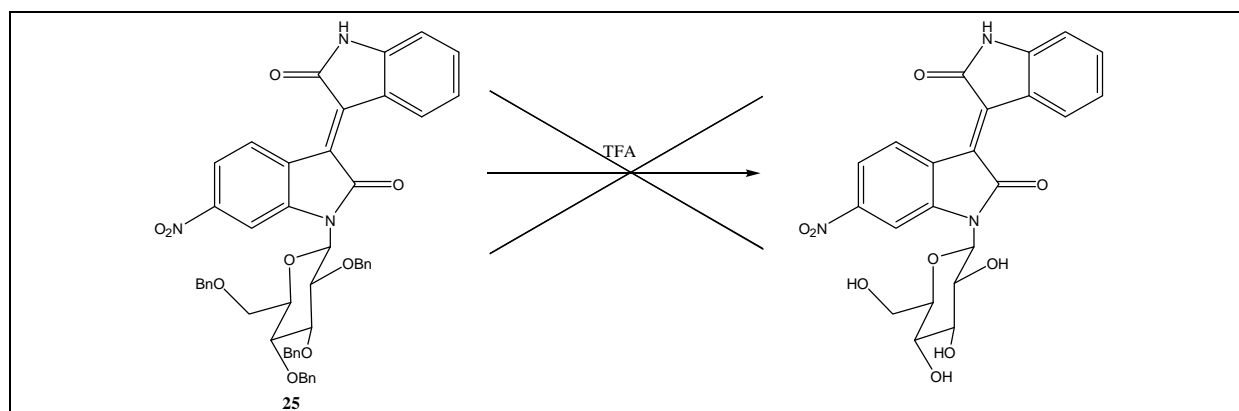


Figure 133 : Tentative de débenzylation du composé **25** par de l'acide trifluoroacétique.

La dernière méthode essayée pour obtenir le composé **32** avec un meilleur rendement a été une débenzylation à l'aide de diméthyl-dioxirane selon la méthode décrite par Hénon *et al.* pour débenzyler des sucres (Figure 134).⁷⁸

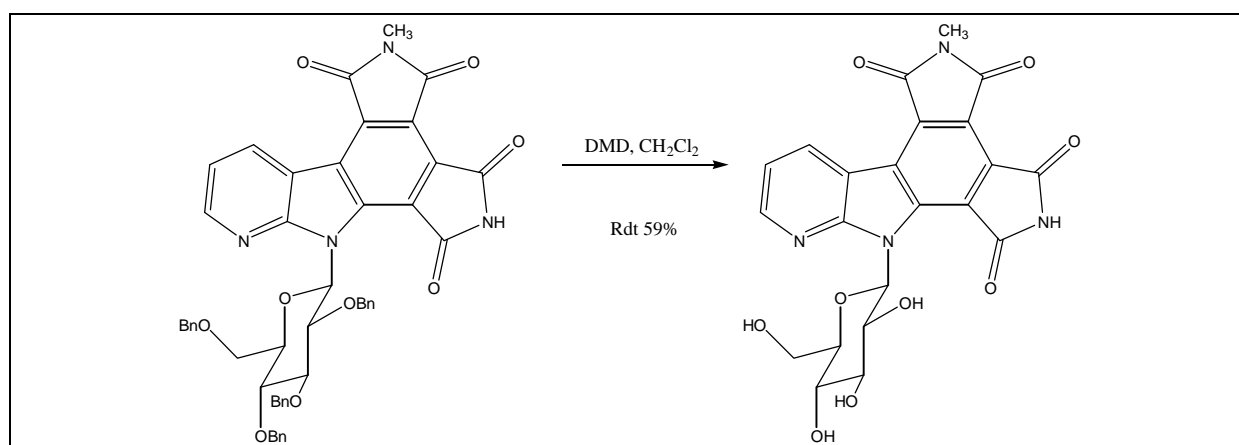


Figure 134 : Débenzylation de sucre par la méthode au DMD.

Cet essai s'est révélé encore une fois infructueux (Figure 135). Il se pourrait qu'un époxyde se soit formé sur la double liaison située entre les deux oxindoles.

⁷⁸ Hénon, H.; Messaoudi, S.; Hugon, B.; Anizon, F.; Pfeiffer, B.; Prudhomme, M. *Tetrahedron* **2005**, 61, 5599-5614.

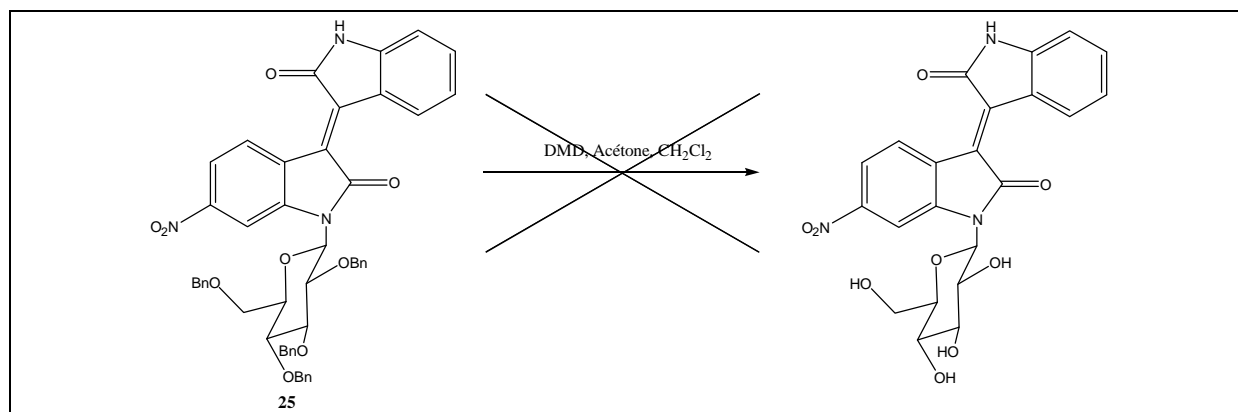


Figure 135 : Tentative de débenzylation du composé **25** par du DMD.

Pour les composés **30** à **34**, le signal du proton anomérique n'est pas un doublet mais un signal élargi, ce qui laisse penser, comme dans le cas des composés protégés sur la partie sucre par des groupements benzyles, que la conformation du sucre est peut être différente (Figure 121).

Compte tenu de la faible quantité de composé **32** obtenue, le spectre de RMN Jmod correspondant n'a jamais pu être réalisé.

En ce qui concerne les composés **30**, **31**, **33** et **34** avec les expériences de RMN classiques (Jmod, HSQC, ¹³C quantitatif), il manquait un (ou deux pour le composé **34**) carbone(s) quaternaire(s), celui(ceux)-ci a(ont) pu être détecté(s) grâce à une HMBC (Tableau 34).

Composé	δ (ppm) du carbone quaternaire détecté par HMBC
30	142,3
31	147,0
33	141,2
34	132,0 et 141,3

Tableau 34 : Déplacements chimiques des carbones quaternaires détectés par HMBC pour les composés **30** à **34**.

Comme nous l'avons vu précédemment, la synthèse d'un isoindigo glycosylé acétylé, le Natura, a été décrit dans deux brevets. Ce composé, dont la partie sucre est acétylée, a une meilleure activité sur CDK2 que son analogue non acétylé, vraisemblablement en raison d'une plus grande capacité à franchir les membranes biologiques. Nous avons donc préparé trois analogues acétylés de nos composés.

II.2.6- Synthèse des isatines glycosylées acétylées

Ce travail a été réalisé par Fadoua Bouchikhi lors de son stage de maîtrise de chimie.

La préparation des isatines glycosylées acétylées se fait selon une voie de synthèse analogue à celle décrite en série benzylée. Les indolines glycosylées **3**, **4** et **6** sont acétylées

en présence de pyridine et d'anhydride acétique avant aromatisation au DDQ et oxydation à l'oxyde de chrome (Figure 136).

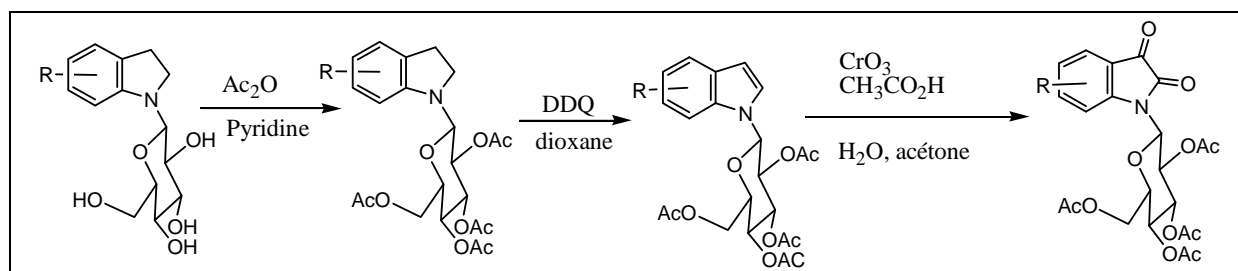


Figure 136 : Synthèse des isatines glycosylées acétylées.

II.2.6.1- Etape d'acétylation des fonctions alcools du sucre

Les indolines glycosylées **3**, **4** et **6** sont acétylées par réaction avec de l'anhydride acétique en présence de pyridine.

Les indolines glycosylées acétylées **35**, **36** et **37** sont obtenues avec des rendements allant de 78 à 96% (Tableau 35).

R	Composé	Rendements
H	35	96%
5-NO ₂	36	78%
5-Br	37	78%

Tableau 35 : Rendements de la réaction d'acétylation des indolines glycosylées **3**, **4** et **6**.

II.2.6.2- Etape d'aromatisation au DDQ

L'étape d'aromatisation au DDQ dans le dioxane, réalisée selon la méthode décrite par Mel'nik *et al.*⁶⁶, aboutit aux composés indoliques **38** à **40** avec des rendements allant de 90 à 98% (Tableau 36). Elle est menée à température ambiante pendant 12 à 18 heures avec 1,2 équivalents de DDQ pour les composés **38** et **40** et à 50°C pendant 48 heures avec 3 équivalents de DDQ pour le composé nitré **39**.

R	Composé	Rendement
H	38	74%
5-NO ₂	39	65%
5-Br	40	88%

Tableau 36 : Rendements obtenus pour l'étape d'aromatisation.

II.2.6.3- Etape d'oxydation de l'indole en isatine

Enfin les composés **38** à **40** sont oxydés par de l'oxyde de chrome dans un mélange acide acétique/eau/acétone selon la méthode utilisée par Da Settimo *et al.*⁶⁹ pour la

⁶⁶ Mel'nik, S.Y.; Bakhmedova, A.A.; Garaeva, L.D.; Goryunova, O.V.; Miniker, T.D.; Plikhtyak, I.L.; Ektova, L.V.; Ivanova, T.P.; Yartseva, I.V. *Bioorganicheskaya Khimiya* **1996**, 22, 467-476.

⁶⁹ Da Settimo, A.; Menicagli, C.; Nannipieri, E. *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 1995-1998.

préparation d'isatines non glycosylées à partir d'indoles. Cette réaction conduit aux isatines glycosylées acétylées avec des rendements allant de 57 à 88% (Tableau 37).

R	Composé	Rendement
H	41	88%
5-NO ₂	42	57%
5-Br	43	75%

Tableau 37 : Rendements obtenus pour l'étape d'oxydation.

II.2.7- Synthèse des isoindigos glycosylés acétylés

Afin d'accéder aux isoindigos **44** à **46**, les composés **41** à **43** ont été traités à reflux du toluène en présence d'acide paratoluènesulfonique, d'oxindole et de tamis moléculaire 4Å pendant 24 heures pour obtenir les composés **44** à **46** de la même manière que Wang *et al.* le décrivent pour la synthèse du Natura (Figure 137).^{63,64} Nous effectuons ce couplage dans des conditions plus douces que pour les composés benzylés afin d'éviter la désacétylation.

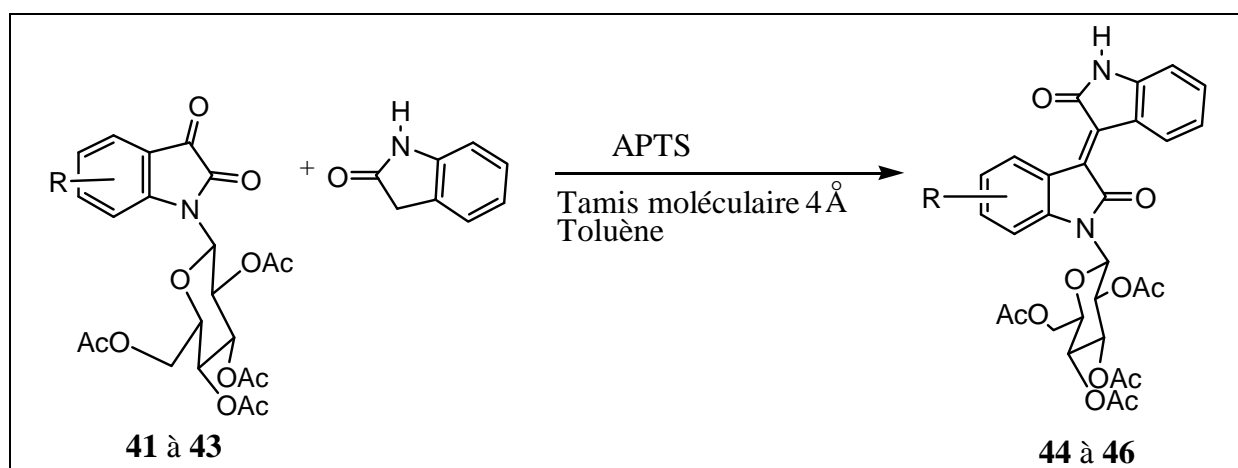


Figure 137: Synthèse des isoindigos glycosylés acétylés.

Les rendements de cette étape vont de 13 à 48% (Tableau 38). Ils ne sont pas élevés, car une quantité importante du produit est perdu lors du traitement de la manipulation. En effet, il est impossible de séparer le produit final de l'isatine glycosylée résiduelle par chromatographie sur colonne. Après une première purification par chromatographie sur colonne de silice permettant d'éliminer l'oxindole, il est nécessaire d'effectuer une purification supplémentaire. Les isoindigos purs sont finalement obtenus par filtration après cristallisation dans un mélange acide acétique/toluène/eau. Par manque de temps, nous n'avons pas cherché à optimiser ces rendements.

R	Composé	Rendement
H	44	15%
5-NO ₂	45	48%
5-Br	46	13%

Tableau 38 : Rendements des réactions de couplage entre les isatines glycosylées acétylées et l'oxindole.

⁶³ Wang, L.; Liu, X.; Chen, R. U.S. Patent 6,566,341, 2003; *Chem. Abs.* **2003**, 138, 379213.

⁶⁴ Wang, L.; Liu, X.; Chen, R. WO Patent, WO 03051900, 2003; *Chem. Abs.* **2003**, 139, 47135.

Il est également intéressant de noter que pour les composés **44**, **45** et **46**, comparativement aux composés **35** à **43**, le signal du proton anomérique n'est pas un doublet mais un signal élargi, ce qui laisse penser, là encore, que la conformation du sucre est peut être différente (Figure 138).

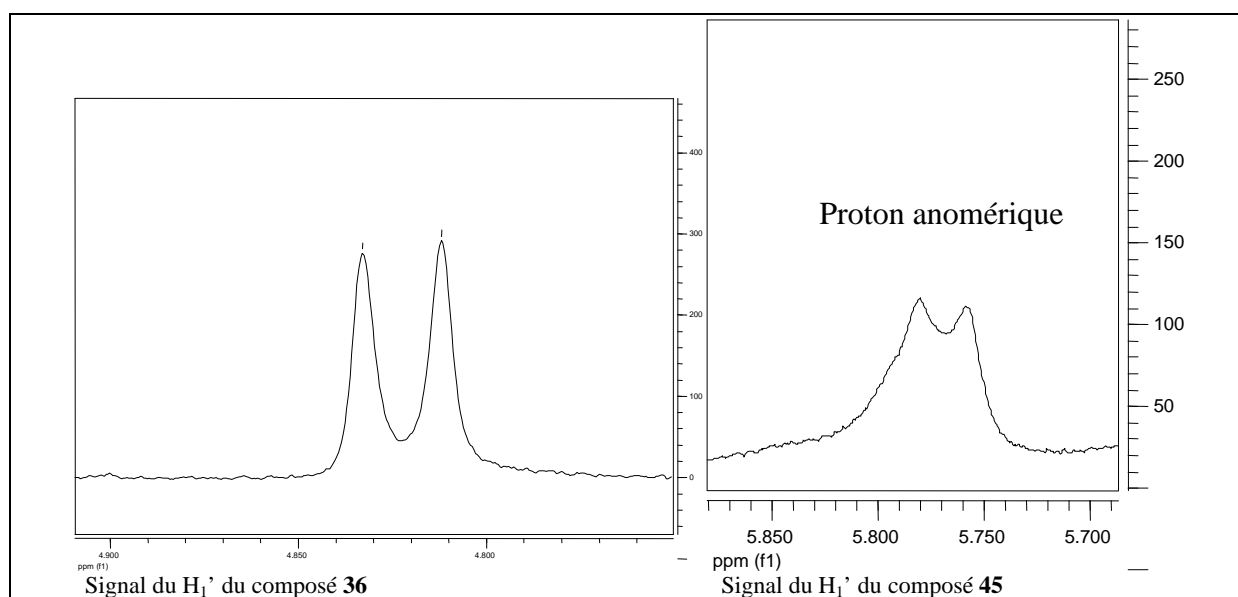


Figure 138 : Comparaison des signaux du proton anomérique en RMN du proton (400 MHz) dans le DMSO-*d*₆ du composé **45** et du composé **36**.

Quant aux composés **44**, **45** et **46**, dans les spectres de RMN classiques (Jmod, HSQC, ¹³C quantitatif), il manquait un carbone quaternaire, celui-ci a pu être détecté grâce à une HMBC (Tableau 39).

Composé	δ (ppm) du carbone quaternaire détecté par HMBC
44	141,3
45	145,6
46	140,1

Tableau 39: Déplacements chimiques des carbones quaternaires détectés par HMBC pour les composés **44** à **46**.

II.2.7- Bilan

Dans cette famille, 14 produits qui diffèrent entre eux par la protection ou non de la partie osidique et par la nature des groupements présents sur la partie aromatique ont été synthétisés et soumis à différents test biologiques (Figure 139).

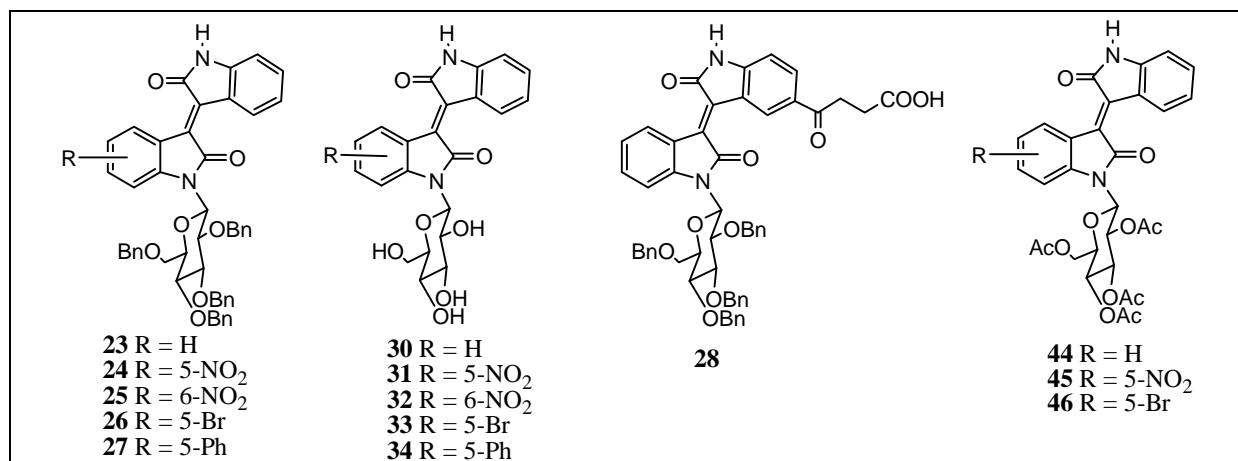


Figure 139 : Structures des composés de la famille A soumis aux tests biologiques.

Les résultats de ces différents tests seront détaillés dans la partie IV de ce manuscrit.

II.3- Synthèse d'oxindoles substitués en position 3 par des acides aminés (Famille B)

Comme nous l'avons indiqué en introduction, l'étude de la structure des inhibiteurs connus du FGFR₁ nous a incités à préparer de nouvelles séries de composés inhibiteurs potentiels de ce récepteur. Nous avons donc également mis au point la synthèse d'oxindoles substitués en position 3 par différents groupements amino-acides.

II.3.1- Méthodes de synthèse de 3-(arylamino)méthylènoxindoles

Il existe des méthodes de synthèse de 3-(arylamino)méthylènoxindoles par couplage en milieu acide d'aryle amines sur des 3-méthylènoxindoles substitués par des groupements partant (NMe₂, OEt, OMe, OH) (Figure 140).^{16,43,79}

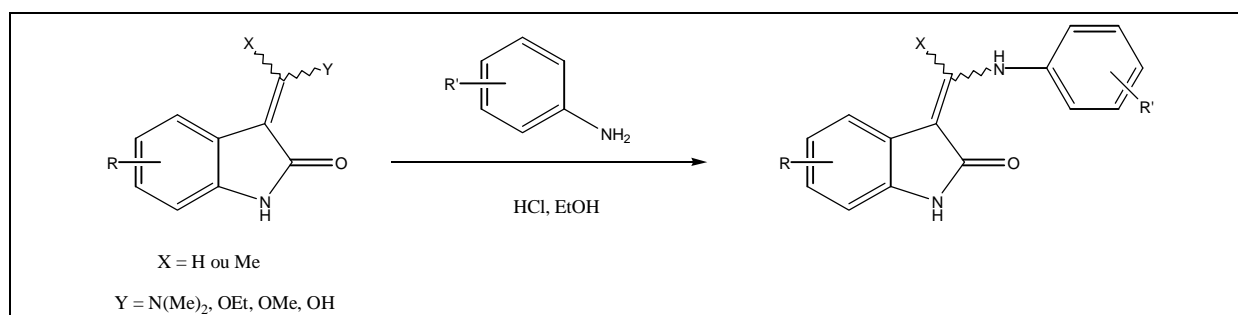


Figure 140 : Synthèse de 3-(arylamino)méthylènoxindoles.

¹⁶ Wood, E.R.; Kuyper, L.; Petrov, K.G.; Hunter III, R.N.; Harris, P.A.; Lackey, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 953-957.

⁴³ Andrews, S.W.; Wurster, J.A.; Hull, C.E.; Wang, E.H.; Malone, T. International Patent, WO03/027102 A1, 2003; *Chem. Abs.* **2003**, 138, 287525.

⁷⁹ Bramson, H.N.; Corona, J.; Davis, S.T.; Dickerson, S.H.; Edelstein, M.; Frye, S.V.; Gampe, R.T.; Harris, P.A.; Hassel, A.; Holmes, W.D.; Hunter, R.N.; Lackey, K.E.; Veal, J.M.; Walker, D.H.; Kuyper, L.F. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 4339-4358.

Il est également connu que l'on peut déplacer le chlorure vinylique du 3-chlorométhylèneoxindole par la diméthylamine dans un mélange d'éthanol et de dichlorométhane à température ambiante afin d'obtenir le 3-diméthylaminométhylèneoxindole correspondant (Figure 141).⁸⁰

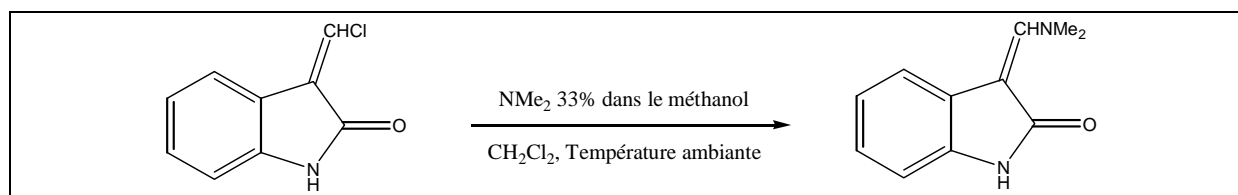


Figure 141 : Déplacement du chlorure vinylique par la diméthylamine.

II.3.2- Rétrosynthèse

La voie de synthèse des composés de la famille **B** que nous avons envisagée passe par la préparation du 3-chlorométhylèneoxindole **47** lui-même obtenu à partir de l'isatine commerciale (Figure 142).

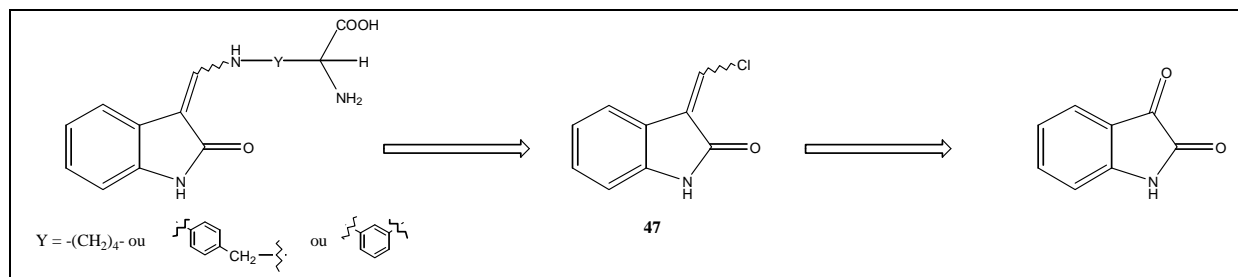


Figure 142 : Rétrosynthèse des composés de la famille **B**.

II.3.3- Synthèse du 3-chlorométhylèneoxindole **47**

En 1978 et 1979, Miyano *et al.* décrivent la conversion d'aldéhydes et de cétones en chlorooléfines utilisant le chloriodométhane comme source de méthylène et le tertibutylate de potassium comme base, à température ambiante (Figure 143).^{81,82}

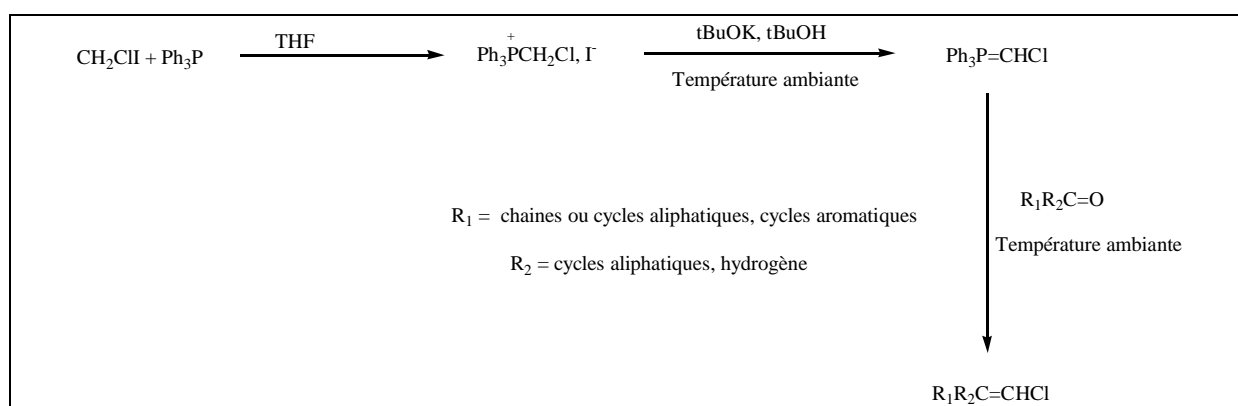


Figure 143 : Conversion d'aldéhydes et de cétones en chlorooléfines.

⁸⁰ Erba, E.; Pocar, D.; Valle, M. *J. Chem. Soc., Trans. 1* **1999**, 421-425.

⁸¹ Miyano, S.; Izumi, Y.; Hashimoto, H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1978**, 446-447.

⁸² Miyano, S.; Izumi, Y.; Fujii, K.; Ohno, Y.; Hashimoto, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, 52, 1197-1202.

Dans notre cas de figure, la réaction de Wittig entre l'isatine commerciale et l'iodure de chlorométhyltriphenylphosphonium dans le THF en présence de tertibutylate de potassium à température ambiante n'a conduit à aucun produit identifiable (Figure 144).

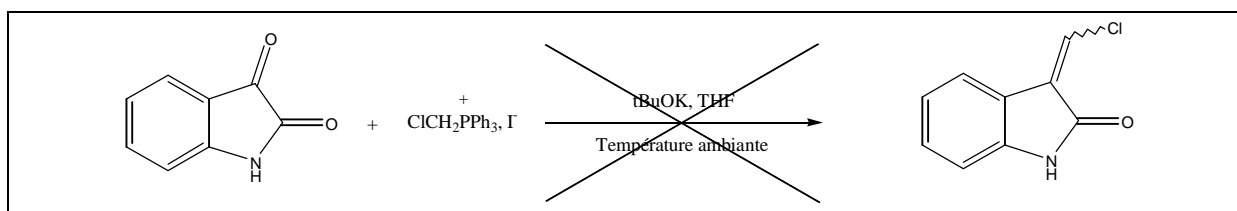


Figure 144 : Réaction de Wittig entre l'isatine commerciale et l'iodure de chlorométhyltriphenylphosphonium en présence de tertibutylate de potassium.

Dans ce cas, on peut penser que l'ylure ne se fait pas dans ces conditions (pas de changement de couleur, caractéristique de sa formation), nous avons donc décidé de travailler avec une base plus forte.

Au cours de travaux précédents au laboratoire, la mise au point d'une réaction de Wittig entre l'isatine glycosylée benzylée **18** et le bromure de benzyltriphenylphosphonium (1 équivalent) dans le THF en présence de butyllithium (1,2 équivalent) à température ambiante a été effectuée pour conduire à la 3-benzylidènyl-1-(2, 3, 4, 6)-tétra-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-indolin-2-one (Figure 145).⁷³

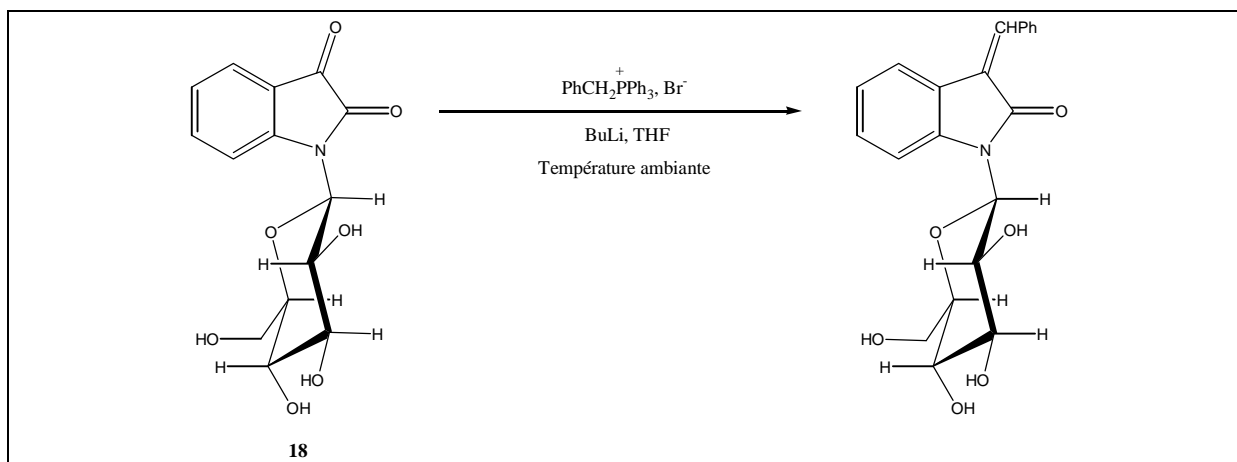


Figure 145 : Réaction de Wittig entre l'isatine glycosylée benzylée **18** et le bromure de benzyltriphenylphosphonium en présence de butyllithium.

Dans notre cas de figure, la réaction de Wittig entre l'isatine commerciale et l'iodure de chlorométhyltriphenylphosphonium (1 équivalent) dans le THF en présence de butyllithium (1,2 équivalent) à température ambiante n'a conduit à aucun produit identifiable (Figure 146).

⁷³ Messaoudi, S.; Sancelme, M.; Polard-Housset, V.; Aboab, B.; Moreau, P.; Prudhomme, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39, 453-458.

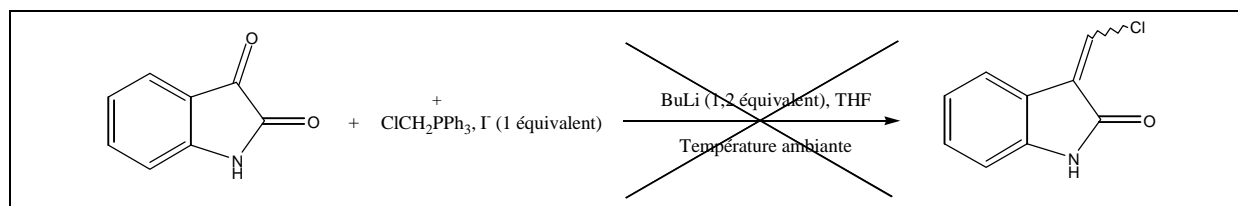


Figure 146 : Réaction de Wittig entre l'isatine commerciale et l'iodure de chlorométhyltriphenylphosphonium (1 équivalent) en présence de butyllithium (1,2 équivalent) à température ambiante.

Dans ce cas, on observe bien la formation de l'ylure par une coloration très nette du milieu réactionnel en rouge-orangé lorsque l'on fait réagir le butyllithium sur le sel de phosphonium. Nous avons donc décidé de faire l'addition de la solution d'isatine sur l'ylure à froid et de jouer sur la stoechiométrie des réactifs comme décrit en 2002 par Sato *et al.* pour la préparation d' α -chlorooléfines à partir de cétones aliphatiques par réaction de Wittig entre celles-ci et l'iodure de chlorométhyltriphenylphosphonium (3 équivalents) en présence de butyllithium (1,5 équivalents) dans le THF à -18°C (Figure 147).⁸³

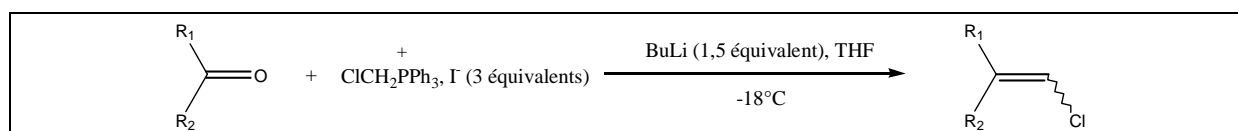


Figure 147 : Préparation d' α -chlorooléfines à partir de cétones aliphatiques.

Dans ces conditions, la réaction de Wittig entre l'isatine commerciale et l'iodure de chlorométhyltriphenylphosphonium a conduit à deux produits, le produit attendu **47** avec 51% de rendement et un produit dichloré **48** avec 4% de rendement (Figure 148).

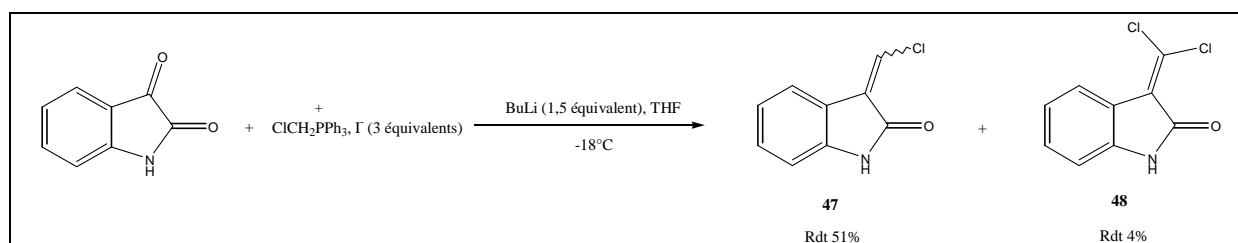


Figure 148 : Synthèse du dérivé monochloré **47** et du dérivé dichloré **48**.

Le composé **47** est obtenu sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomère Z et E, dont le rapport (70/30) est déterminé par la mesure des courbes d'intégration des signaux situés à 7,31 et 7,39 ppm correspondant respectivement aux isomères Z et E (Figure 149).

⁸³ Sato, K.-I.; Sekiguchi, T.; Hozumi, T.; Yamazaki, T.; Akai, S. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 3087-3090.

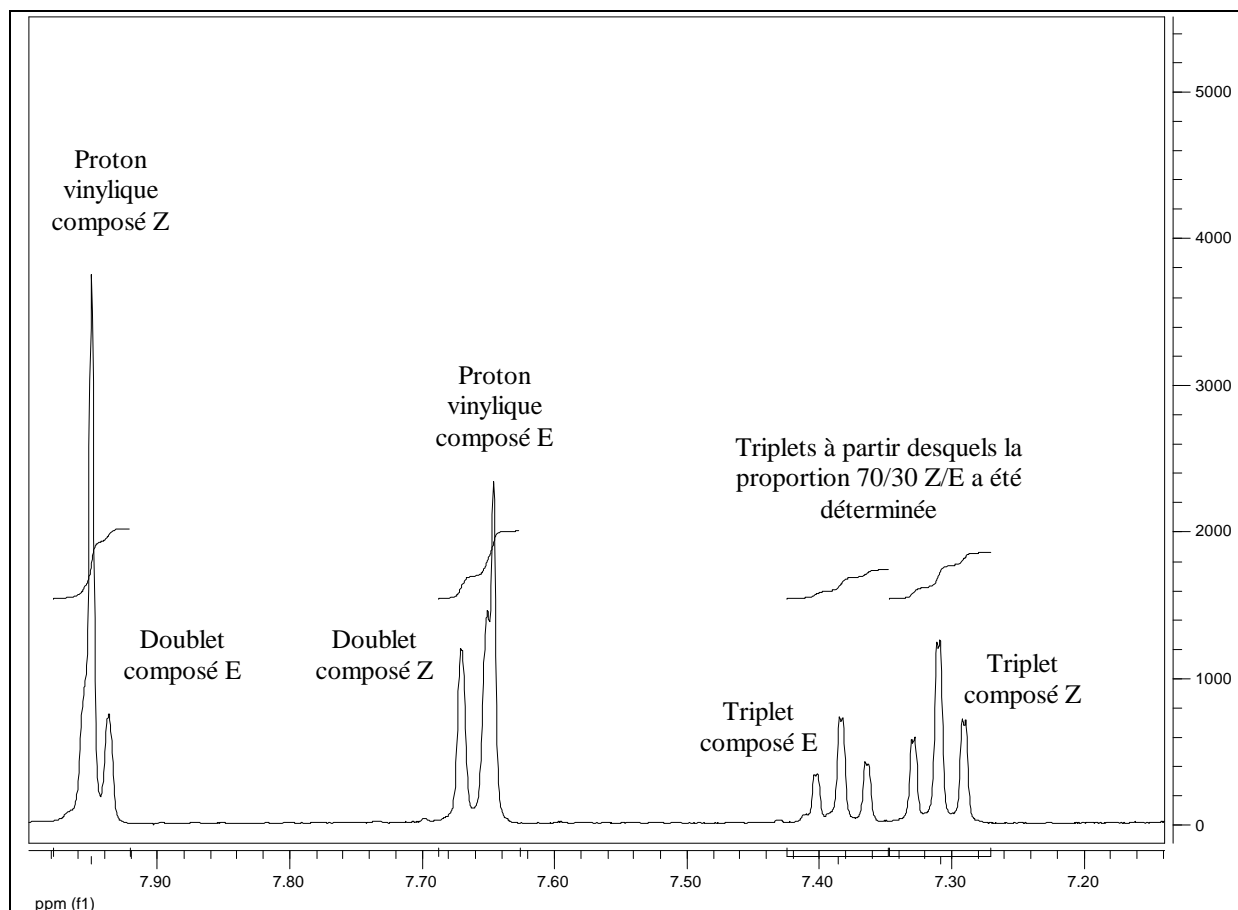


Figure 149 : Détermination de la proportion Z/E du composé **47** à partir du spectre RMN ^1H (400 MHz) dans le $\text{DMSO}-d_6$.

La position du proton vinylique de chaque diastéréoisomère a pu être déterminée par RMN du proton par comparaison avec les travaux publiés par Long *et al.* en 1978⁸⁴, Morales-Rios *et al.* et Osman *et al.* en 2000.^{85,86} En effet, ces auteurs décrivent des oxindoles substitués en 3 par différents groupements et dans tous les cas, le proton vinylique du composé Z est plus déblindé que le proton vinylique du composé E en RMN du proton (Figure 150).

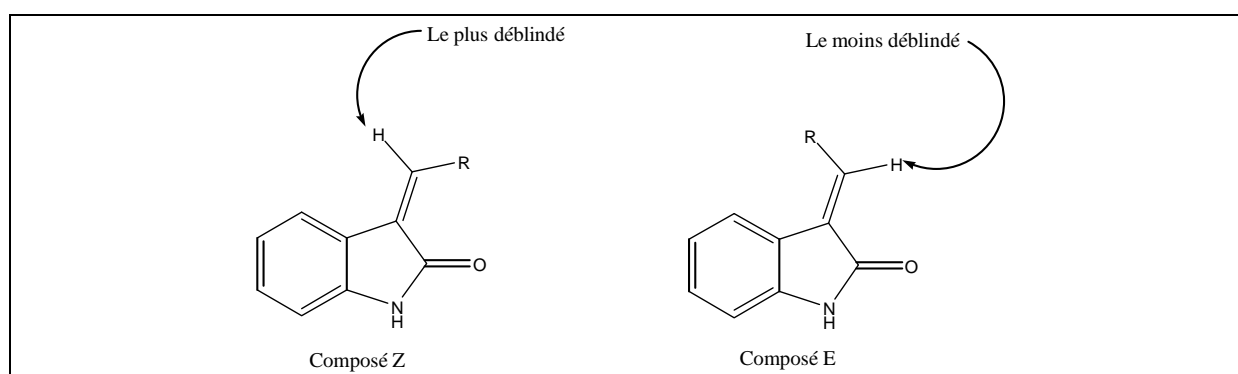


Figure 150 : Comparaison des déplacements chimiques en RMN du proton des protons vinyliques des deux diastéréoisomères.

⁸⁴ Long, D.R.; Richards, C.G.; Ross, M.S.F. *J. Heterocyclic Chem.* **1978**, 15, 633-636.

⁸⁵ Morales-Rios, M.S.; Garcia-Velgara, M.; Cervantes-Cuevas, H.; Alvarez-Cisneros, C.; Joseph-Nathan, P. *Magn. Reson. Chem.* **2000**, 38, 172-176.

⁸⁶ Osman, F.H.; El-Samahy, F. *Tetrahedron* **2000**, 56, 1863-1871.

Diverses techniques ont alors été utilisées afin de séparer le mélange de diastéréoisomères obtenu : chromatographie sur colonne de silice, HPLC, cristallisation fractionnée. Malheureusement, aucune de ces méthodes ne nous a permis de séparer les deux diastéréoisomères dans de bonnes conditions. Seuls les essais de cristallisation fractionnée dans l'acétate d'éthyle ont permis l'obtention de l'isomère Z en très faible quantité.

Nous avons pu voir que le composé **48**, qui est dichloré, se forme également et que la proportion des deux produits reste sensiblement la même quel que soit le lot d'iodure de chlorométhyltriphenylphosphonium utilisé. La formation du produit dichloré vient sans doute du fait que le sel de phosphonium (3 équivalents) et le butyllithium (1,2 équivalents) sont en excès lors de la manipulation. Au cours de la réaction, un sel de dichlorométhyltriphenylphosphonium pourrait se former et conduire au composé dichloré **48** par réaction de Wittig sur l'isatine (Figure 151).

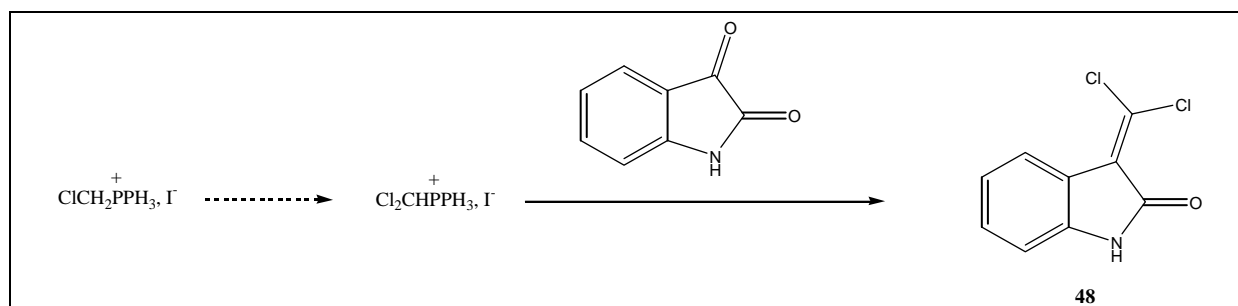


Figure 151 : Explication probable de la formation du composé dichloré **48**.

II.3.4- Réaction de couplage des amino-acides sur le composé chloré **47**

Afin de mettre au point la réaction, nous avons tout d'abord effectué le couplage entre le composé chloré **47** et la L-lysine commerciale.

II.3.4.1- Couplage entre le composé **47** et la *N*(α)-Boc-L-lysine commerciale

Le couplage entre le composé monochloré **47** et la L-lysine a tout d'abord été essayé sur la L-lysine non protégée, afin d'éviter l'étape de déprotection. Les réactions de couplage ont tout d'abord été effectuées sur le mélange de diastéréoisomères Z et E du composé **47**.

Le premier essai de couplage a été réalisé en faisant réagir 1 équivalent de composé **47** et 1 équivalent de L-lysine commerciale non protégée en présence de soude aqueuse 1N (1 équivalent) dans le méthanol à température ambiante pendant 4 heures (Figure 152).

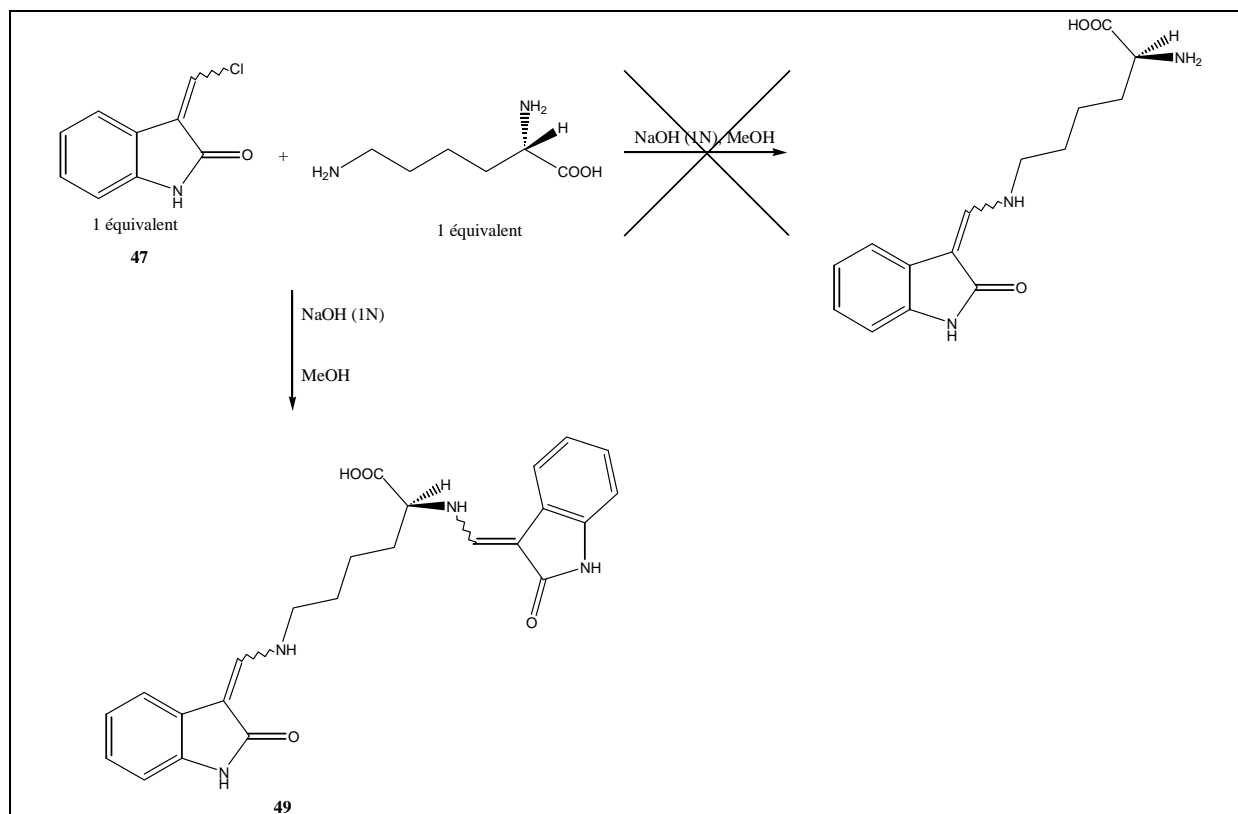


Figure 152 : Tentative de couplage entre le composé **47** et la L-lysine commerciale en présence de soude aqueuse dans le méthanol.

Cette réaction n'a pas permis l'obtention du composé attendu, mais celle du composé **49**, qui provient de la réaction des deux fonctions amines de la lysine sur deux molécules de 3-chlorovinylindolin-2-one **47**.

Pour éviter cette réaction et essayer de favoriser uniquement la réaction de substitution du chlore vinylique par l'amine primaire en bout de chaîne de la lysine, nous avons modifié la stoechiométrie de la réaction. Le couplage a ainsi été effectué en faisant réagir 1 équivalent du composé **47** avec 2 équivalents de la L-lysine commerciale en présence de soude aqueuse 1N (2 équivalents) dans le méthanol (Figure 153).

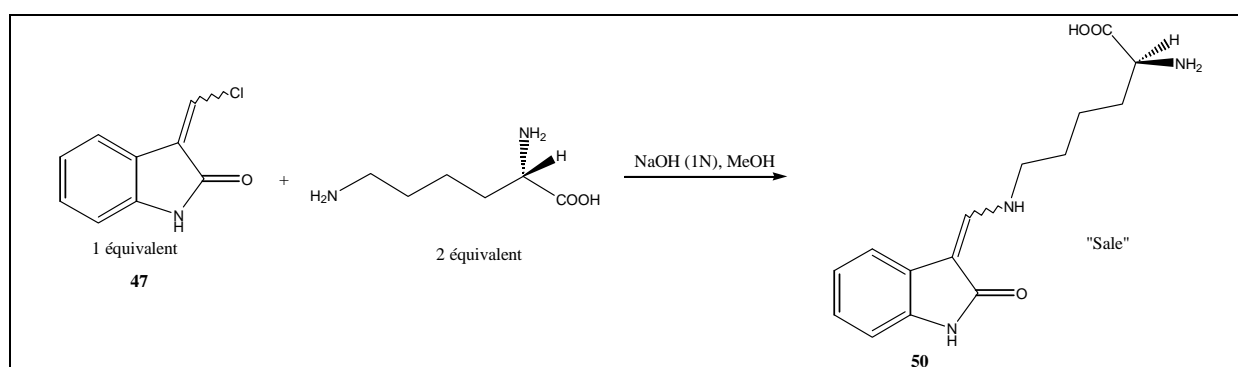


Figure 153 : Couplage entre le composé **47** et la L-lysine commerciale en présence de soude aqueuse (1N) dans le méthanol.

Dans ce cas, le composé attendu **50** est identifiable en RMN du proton, mais il est obtenu dans un mélange qui n'a pas pu être purifié.

Dans le but d'obtenir le produit **50** purifié, nous avons décidé d'utiliser une lysine protégée sur la fonction amine en position α afin de limiter les réactions secondaires.

Le couplage a donc été réalisé par réaction du composé **47** (1 équivalent) avec la *N*(α)-Boc-L-lysine commerciale (1 équivalent) en présence de soude aqueuse (1N) dans le méthanol. Le groupement Boc a ensuite été éliminé en milieu acide pour donner le composé **50** sous forme de chlorhydrate, avec 41% de rendement, sous la forme d'un mélange de diastéréoisomères Z/E, dans un rapport 70/30 (Figure 154).

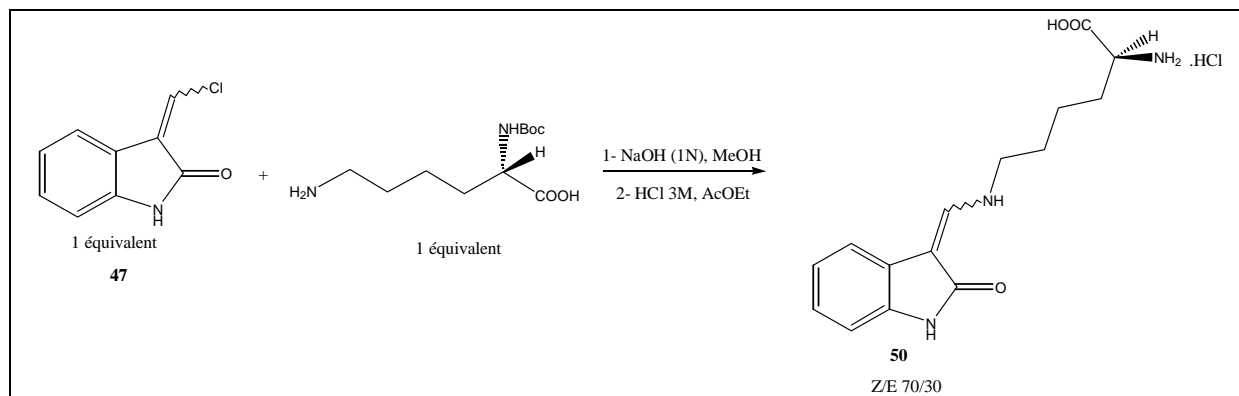


Figure 154 : Synthèse du composé **50**.

Le rapport des diastéréoisomères Z/E est déterminé par l'intégration des signaux du proton vinylique, qui est un doublet, ayant une constante de couplage de 13,5 Hz avec le NH vinylique qui apparaît sous la forme d'un triplet dédoublé (Figure 155).

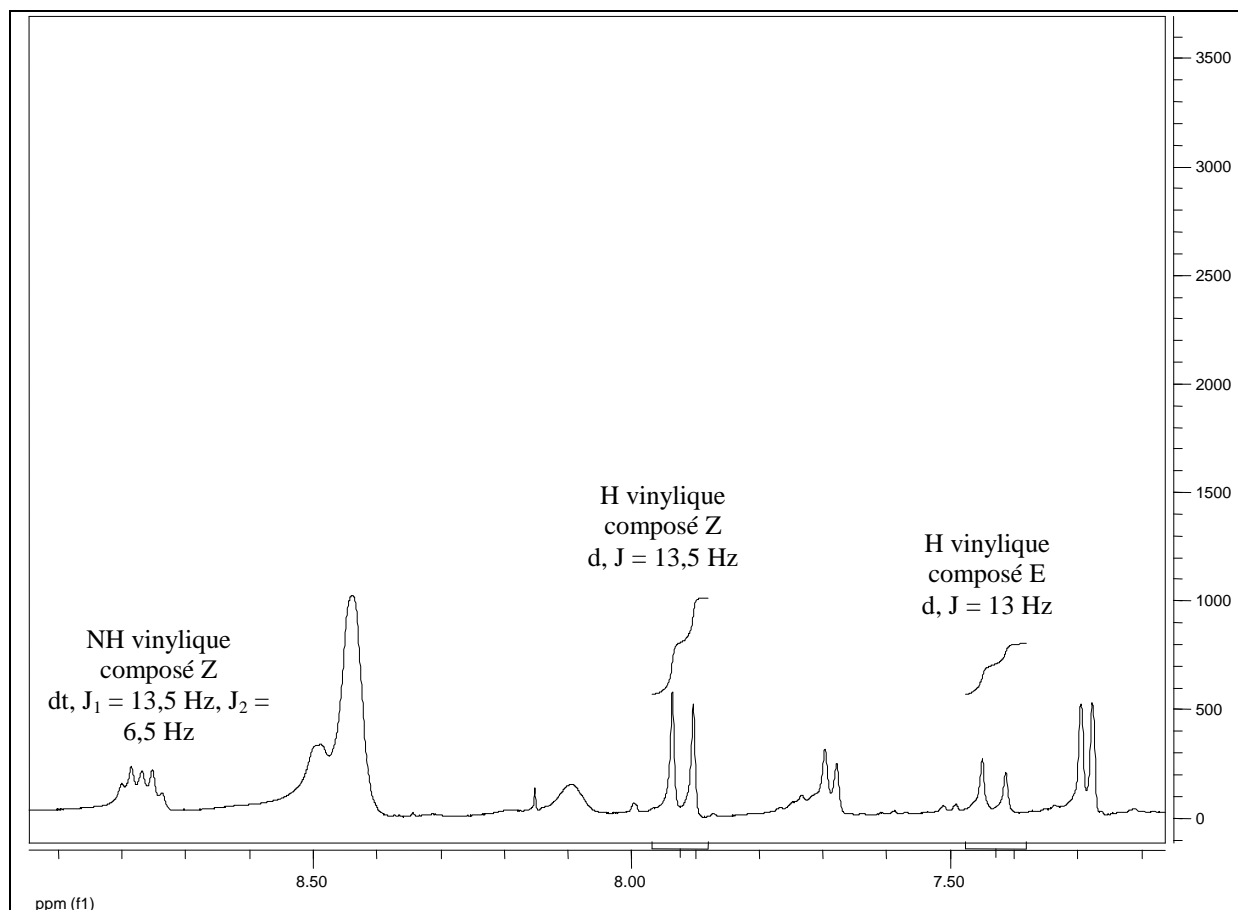


Figure 155 : Les signaux du proton vinylique et du NH vinylique du composé **50** en RMN ¹H (400 MHz) dans le DMSO-*d*₆.

Ce genre de couplage a déjà été décrit par Quintanilla-Licea *et al.* en 2002. Ces auteurs ont montré que dans certains cas, il existait une constante de couplage entre le proton porté par un atome de carbone sp² et le NH situé en α. La constante de couplage mesurée dans ce système est de l'ordre de 10,5 Hz dans le cas d'une conformation *anti*, alors qu'elle est nulle quand la conformation est *syn* (Figure 156).⁸⁷

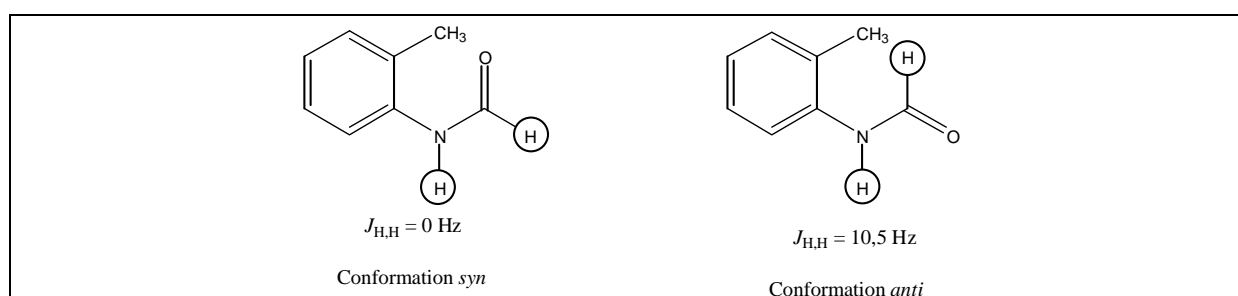


Figure 156 : Constante de couplage entre un proton porté par un atome de carbone sp² et le NH situé en α suivant sa conformation.

Nos résultats de RMN, laissent penser que les deux diastéréoisomères du composé **50** : **50Z** et **50E** sont obtenus sous leur forme *anti* au niveau de la liaison entre le carbone vinylique et le NH de la lysine (Figure 157).

⁸⁷ Quintilla-Licea, R.; Colunga-Valladares, J.F.; Caballero-Quintero, A.; Rodrigues-Padilla, C.; Tamez-Guerra, R.; Gomez-Flores, R.; Waksman, N. *Molecules* **2002**, *7*, 662-673.

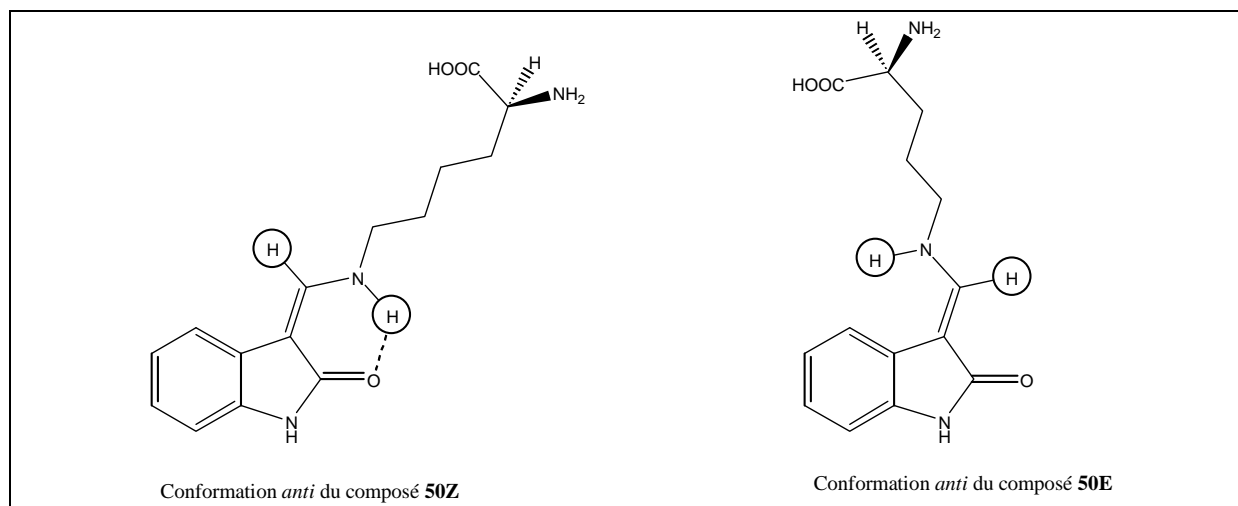


Figure 157 : Conformation *anti* des deux diastéréoisomères du composé **50**.

On peut alors remarquer que le composé **50Z**, qui est obtenu de façon majoritaire, peut être stabilisé par une liaison hydrogène intramoléculaire entre le NH vinylique et le carbonyle de l'oxindole.

Ceci a pu être confirmé par des calculs de minimisation d'énergie par mécanique quantique des structures. Ces calculs ont pour but d'établir les chaleurs de formation des composés et de déduire l'isomère le plus stable (celui qui a la chaleur de formation la plus faible). Cette étude a été réalisée par Pierre Saliba dans le cadre de son stage de Master 1 de chimie.

Ces calculs confirment que le composé **50Z** dont la chaleur de formation est de 20 kcal.mol⁻¹ est stabilisé par une liaison hydrogène intramoléculaire entre le NH vinylique et le carbonyle de l'oxindole. Le composé **50E**, dont énergie de formation est plus élevée (23 kcal.mol⁻¹), est moins stable, de plus il ne possède aucune liaison hydrogène intramoléculaire (Figure 158).

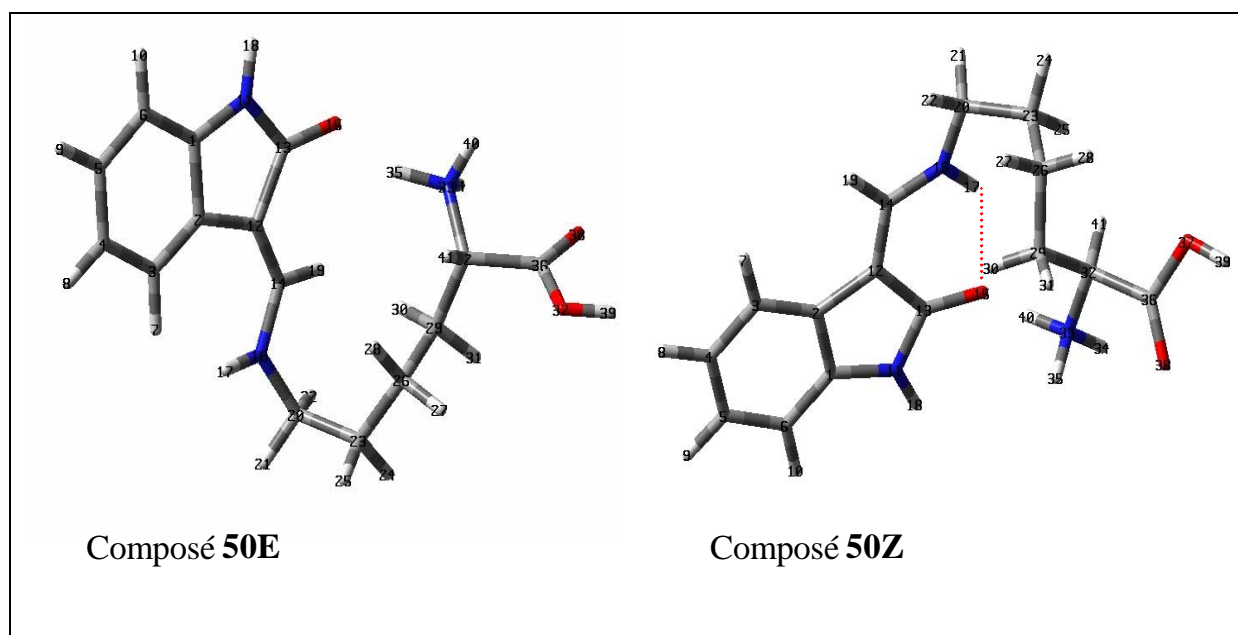


Figure 158 : Etude des structures des composés **50E** et **50Z** par mécanique quantique.

En mesurant la différence d'énergie entre deux isomères, il est possible de déterminer un rapport théorique de formation de chaque isomère.⁸⁸

Pour le composé **50**, le rapport Z/E théorique qui est de 99/1, donc en faveur de l'isomère Z, va dans le même sens que le rapport Z/E déterminé par RMN.

De la même manière que nous l'avons essayé à l'étape précédente sur le composé **47**, nous avons tenté de séparer les diastéréoisomères du composé **50**. Là encore, aucune séparation n'a été possible ni par cristallisation fractionnée ni par chromatographie sur colonne de silice. Nous avons donc essayé d'effectuer une séparation au niveau de l'intermédiaire protégé **51** (Figure 159).

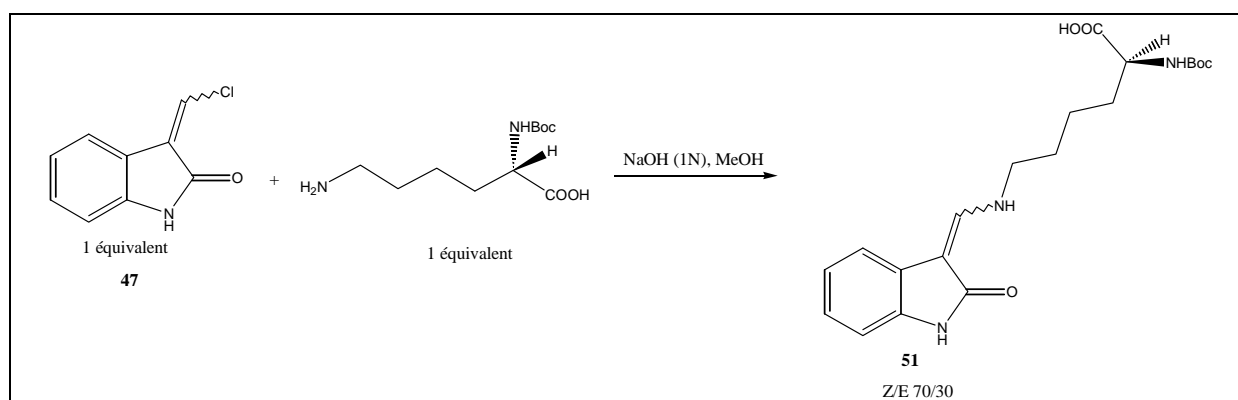


Figure 159 : Isolation du composé **51**.

Le composé **51** est lui aussi obtenu sous la forme de deux diastéréoisomères Z/E avec un rapport 70/30. Malheureusement, aucune séparation n'a été possible à ce stade. Cet essai de séparation a été réalisé sur une très faible quantité, nous ne décrivons donc pas le composé **51** dans la partie expérimentale, car comme nous l'avons vu précédemment nous n'avons pas cherché à isoler ce composé protégé intermédiaire.

Afin d'avoir une quantité, même minimum de l'un des deux diastéréoisomères pur du composé **50**, nous avons tenté d'effectuer un couplage sur la petite quantité de diastéréoisomère Z du composé **47** (**47Z**) que nous avons obtenu par précipitation dans l'AcOEt.

Ce couplage a été effectué dans les mêmes conditions que pour la synthèse des deux diastéréoisomères du composé **50** (Figure 160).

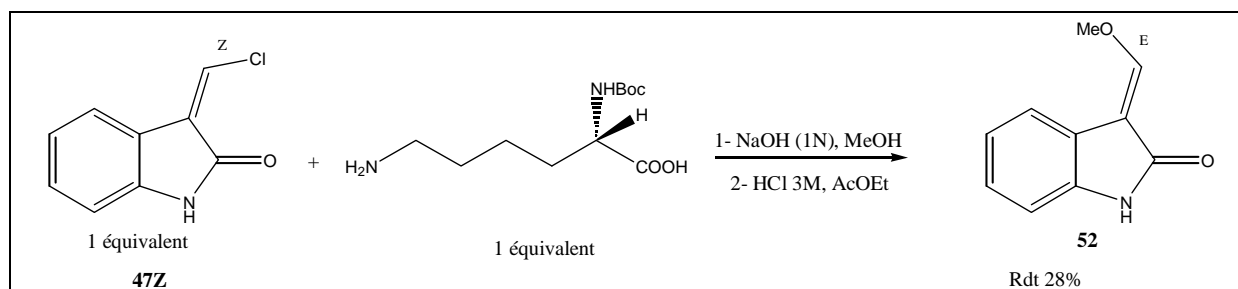


Figure 160 : Couplage du composé **47Z** avec la N(α)-Boc-L-lysine.

⁸⁸ Eliel, E.L. *Stereochemistry of Carbon Compounds*; Mac Graw Hill; 1962; p 207.

Notre surprise fut grande lorsque nous avons isolé le produit et constaté qu'il ne s'agissait pas du produit attendu, mais du composé **52**, avec un rendement de 28%, résultant d'une réaction secondaire avec le méthanol, isolé sous la forme du seul diastéréoisomère E. La configuration de la double liaison exocyclique a été déterminée sur la base du déplacement chimique du proton vinylique.^{85,86}

Compte tenu des résultats obtenus d'une part avec le mélange **47Z+E** et d'autre part avec l'isomère **47Z**, il semblerait que seul l'isomère E du dérivé chloré (**47E**) ait réagi avec la L-lysine pour conduire au composé **50Z**. A partir de l'isomère **47Z**, le seul produit isolé a été le composé méthoxy **52** de configuration E, ce qui n'exclut pas la formation d'une très petite quantité de composé **50E** qui n'a pas été détectée.

Afin de pouvoir évaluer l'influence de la rigidité de la chaîne située en position 3 du motif oxindole ainsi que celle de l'orientation de la fonction amino-acide, nous avons choisi d'introduire des anilines diversement substituées en cette position.

Dans un premier temps, nous avons donc préparé des dérivés de la 3-aminophénylglycine et de la 4-aminophénylalanine. Ces composés ont été obtenus en réalisant une nitration, suivie d'une réduction sur la phénylglycine et la phénylalanine commerciales (Figure 161).

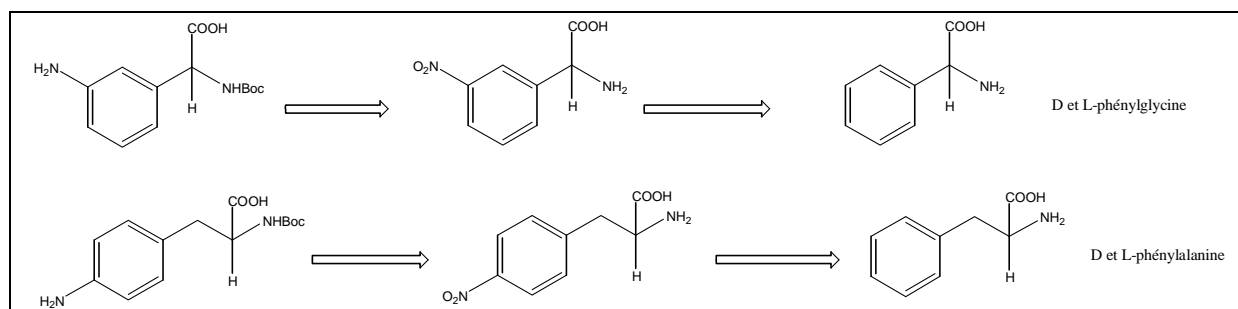


Figure 161 : Rétrosynthèse des dérivés de la 3-aminophénylglycine et de la 4-aminophénylalanine.

II.3.4.2- Synthèse des *N*(α)-Boc-3-aminophénylglycines

La synthèse a tout d'abord été mise au point en série racémique selon l'approche synthétique suivante (Figure 162).

⁸⁵ Morales-Rios, M.S.; Garcia-Velgara, M.; Cervantes-Cuevas, H.; Alvarez-Cisneros, C.; Joseph-Nathan, P. *Magn. Reson. Chem.* **2000**, 38, 172-176.

⁸⁶ Osman, F.H.; El-Samahy, F. *Tetrahedron* **2000**, 56, 1863-1871.

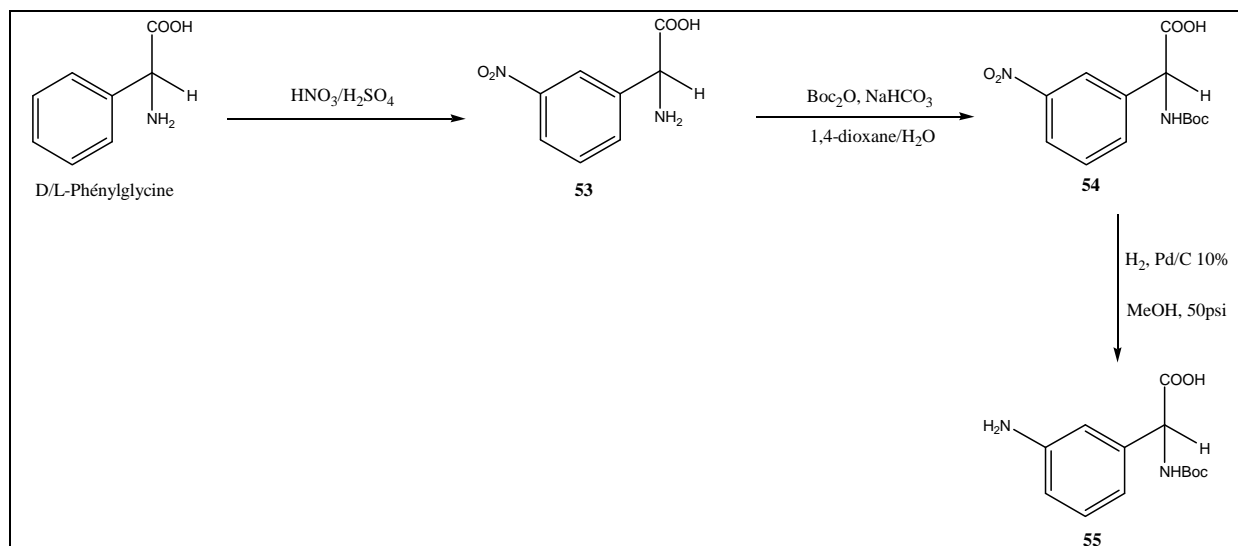


Figure 162 : Synthèse de la *N*(α)-Boc-3-amino-D/L-Phénylglycine **55**.

Afin de réaliser la première étape qui est une nitration de la D/L-phénylglycine commerciale, nous avons essayé une méthode classique de nitration de noyaux aromatiques à l'aide d'un mélange sulfonitrique. Dans les conditions utilisées, nous n'avons pu isoler aucun produit identifiable (Figure 163).

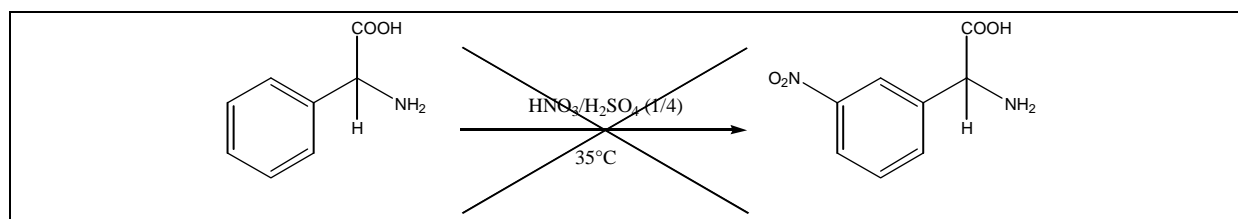


Figure 163 : Tentative de nitration de la D/L-phénylglycine par un mélange $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ (1/4) à 35°C.

Nous avons ensuite essayé d'effectuer la réaction à 0°C, dans un mélange $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$ (1/1) (Figure 164).

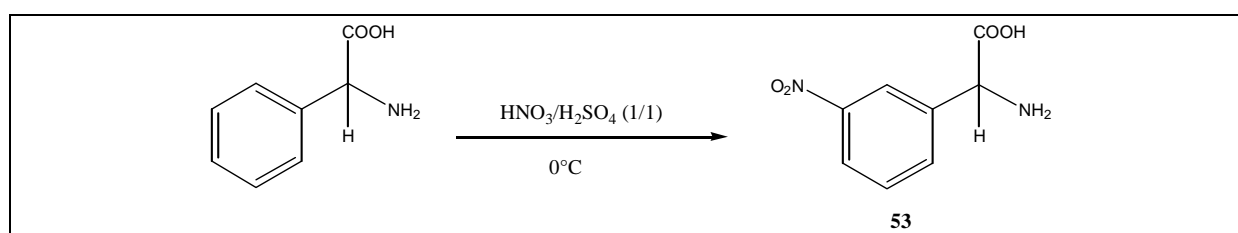


Figure 164 : Nitration de la D/L-phénylglycine par un mélange $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ (1/1) à 0°C.

Dans ce cas, nous avons obtenu le produit nitré **53** attendu, mais avec un rendement de seulement 25%. Afin d'améliorer le rendement de cette réaction nous nous sommes inspirés des travaux de Davies *et al.*⁸⁹ qui décrivent la nitration de la phénylalanine dans les mêmes conditions, avec un traitement différent. En effet, après hydrolyse, le pH du milieu réactionnel est ajusté à 8-9 à l'aide d'une solution d'hydroxyde d'ammonium 4M afin de faciliter la précipitation du produit nitré. Dans ces conditions, le rendement de la réaction est de 55%.

⁸⁹ Davies, J.S.; Mohammed, A.K.A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II* **1984**, 1723-1727.

La deuxième étape consiste en la protection du groupement amino en α . Dans un premier temps, nous avons tenté d'effectuer cette protection par une méthode utilisée au laboratoire. On fait réagir le composé à protéger avec du $(\text{Boc})_2\text{O}$ en présence de DMAP dans le THF. Lorsque cette méthode a été utilisée pour protéger la nitrophénylglycine **53**, aucun produit identifiable n'a pu être isolé, vraisemblablement en raison de l'insolubilité du produit de départ dans le milieu réactionnel (Figure 165).

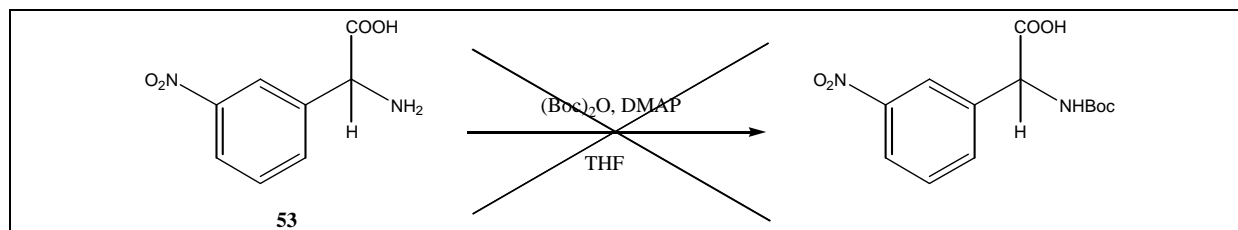


Figure 165 : Tentative de protection du composé **53** par du $(\text{Boc})_2\text{O}$ en présence de DMAP, dans le THF.

En 1999, Atkinson *et al.*⁹⁰ décrivent la synthèse du *N*(α)-Boc-4-nitrophénylalanine par réaction de la 4-nitrophénylalanine avec du $(\text{Boc})_2\text{O}$ dans le 1,4-dioxane, en présence d'une solution saturée de NaHCO_3 . Nous avons appliqué cette méthode pour la protection du composé **53** et nous avons ainsi isolé le composé protégé **54** avec un rendement de 99% (Figure 166).

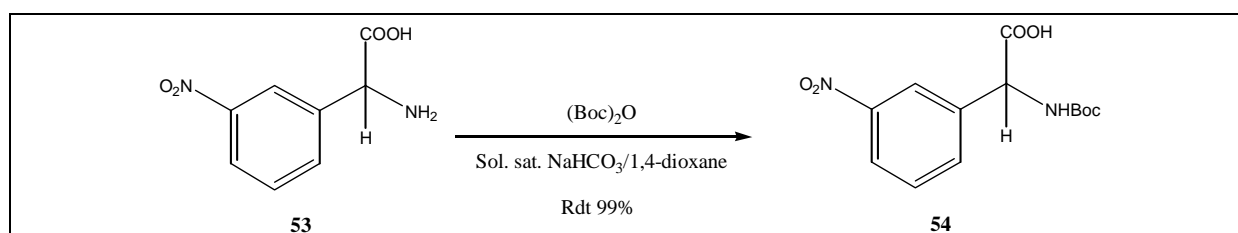


Figure 166 : Protection du composé **53** par du $(\text{Boc})_2\text{O}$ dans un mélange de solution saturée de NaHCO_3 /1,4-dioxane.

L'ajout d'hydrogénocarbonate de sodium entraîne une meilleure solubilité du composé **53** dans le milieu réactionnel.

La dernière étape consiste en la réduction du groupement nitro du composé **54** par une hydrogénation sous 50 psi dans le méthanol, catalysée par du Pd/C à 10%, selon la méthode décrite par Atkinson *et al.*⁹⁰ pour la réduction de la *N*(α)-Boc-4-nitrophénylalanine en *N*(α)-Boc-4-aminophénylalanine. Dans ces conditions, la *N*(α)-Boc-D/L-3-aminophénylglycine **55** a été obtenue avec un rendement de 75% (Figure 167)

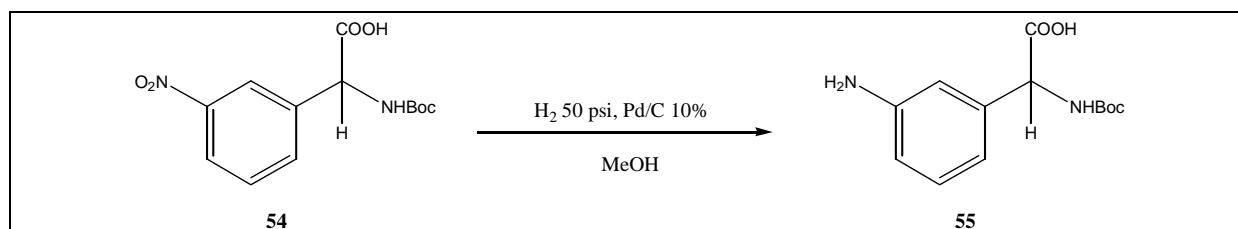


Figure 167 : Obtention du composé **55** par hydrogénation catalytique du composé **54**.

⁹⁰ Atkinson, R.N.; Moore, L.; Tobin, J.; King, S.B. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 3467-3475.

⁹⁰ Atkinson, R.N.; Moore, L.; Tobin, J.; King, S.B. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 3467-3475.

Cette synthèse a ensuite été réalisée en partant d'un produit de départ énantiomériquement pur, la L-phénylglycine afin d'aboutir à la *N*(α)-Boc-3-amino-L-phénylglycine (Figure 168).

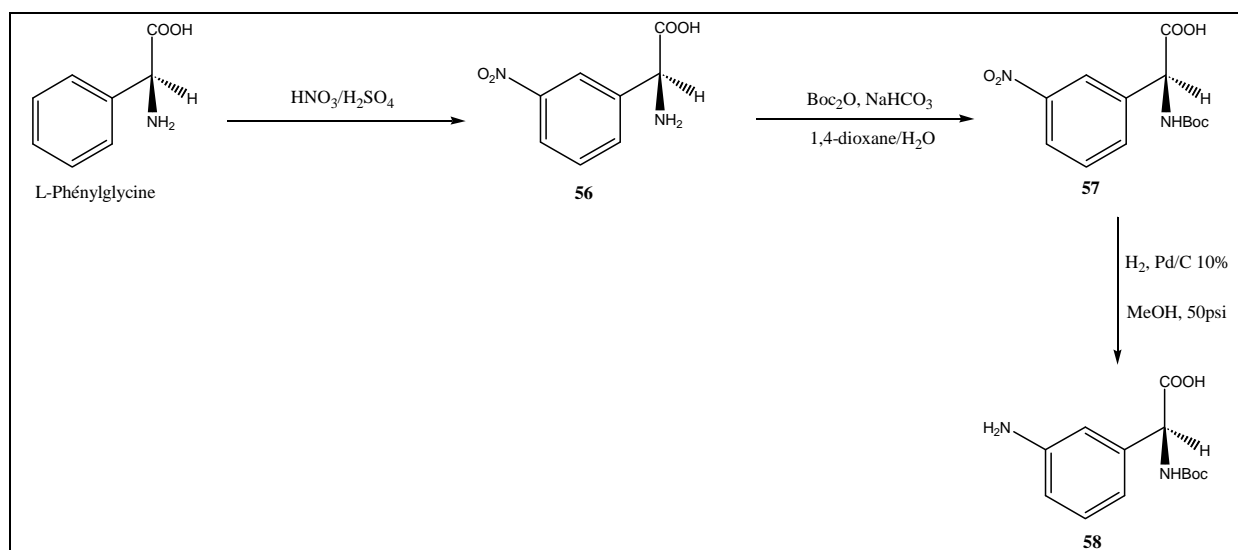


Figure 168 : Synthèse de la *N*(α)-Boc-3-amino-L-Phénylglycine **58**.

Les conditions de réaction pour la synthèse du composé énantiomériquement pur **58** sont exactement les mêmes que pour la synthèse du produit racémique **55** et les rendements sont quasiment identiques (Tableau 40).

Série racémique		Série énantiopure	
Composé	Rendement	Composé	Rendement
53	50%	56	50%
54	99%	57	99%
55	75%	58	75%

Tableau 40 : Rendements des différentes étapes de synthèse en série racémique et en série énantiopure.

II.3.4.3- Synthèse de la *N*(α)-Boc-4-amino-D-phénylalanine

La voie de synthèse décrite par Atkinson *et al.*⁹⁰ a été utilisée pour la préparation de la *N*(α)-Boc-4-amino-L-phénylalanine (Figure 169).

⁹⁰ Atkinson, R.N.; Moore, L.; Tobin, J.; King, S.B. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 3467-3475.

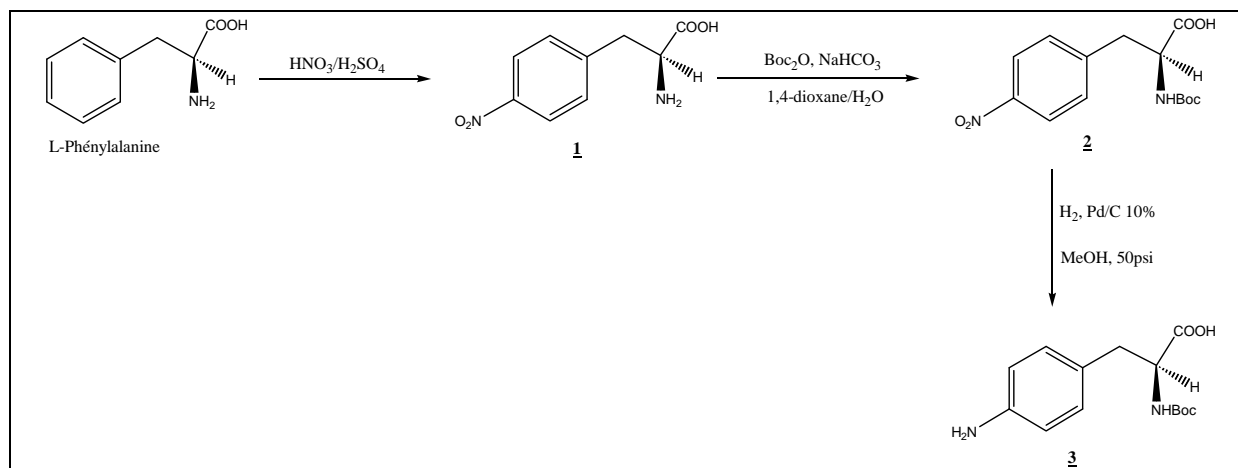


Figure 169 : Synthèse de la *N*(α)-Boc-4-amino-L-phénylalanine décrite par Atkinson *et al.*

Malheureusement, nous n'avons pas pu mener cette synthèse à son terme, car la première étape n'a jamais conduit à l'obtention du produit attendu malgré de nombreux essais de nitration réalisés dans diverses conditions.

En parallèle, nous avons essayé la synthèse de son énantiomère la *N*(α)-Boc-4-amino-D-phénylalanine **61** (Figure 170).

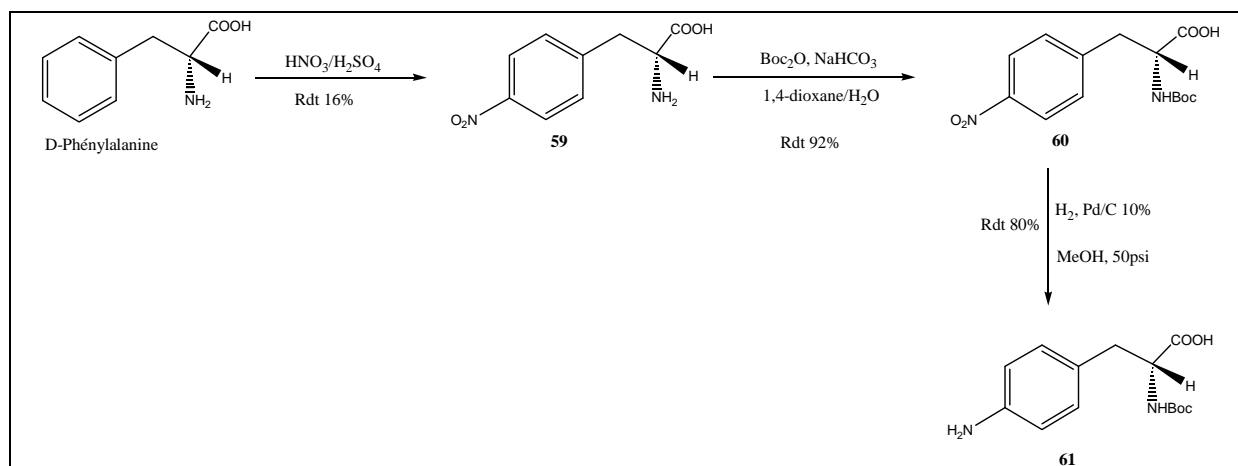


Figure 170 : Synthèse de la *N*(α)-Boc-4-amino-D-phénylalanine **61**.

La première étape consiste en la nitration de la D-phénylalanine commerciale dans un mélange acide sulfurique/acide nitrique (1/1) à 0°C. Curieusement, contrairement à l'échec de cette réaction à partir de la L-phénylalanine, le composé **59** nitré en position 4 est obtenu avec un rendement de 16%.

Au cours de la deuxième étape, l'amine en position α du composé **59** est protégée par un groupement Boc en faisant réagir le composé **59** avec du (Boc)₂O dans le 1,4-dioxane, en présence de solution saturée en NaHCO₃. Le composé protégé **60** est obtenu avec un rendement de 92%.

Enfin, la *N*(α)-Boc-4-amino-D-phénylalanine **61** est obtenue par hydrogénation catalytique du composé protégé **60** sous pression d'hydrogène (50 psi), en présence de Pd/C 10% dans le méthanol. Le rendement de cette étape est de 80%.

Il est à noter que partant de la D-phénylalanine, les composés **59**, **60** et **61**, que nous avons obtenus, ont le même pouvoir rotatoire que ceux décrits dans la littérature pour les composés **1**, **2** et **3** obtenus par Atkinson *et al.*⁹⁰ à partir de la L-phénylalanine.

II.3.4.4- Couplage entre le composé **47** et les 3-amino-*N*(α)-Boc-phénylglycine **55** et **58**

Dans un premier temps, nous avons couplé le composé **47** avec la 3-amino-*N*(α)-Boc-phénylglycine racémique **55** dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment pour synthétiser le composé **50** (Figure 171).

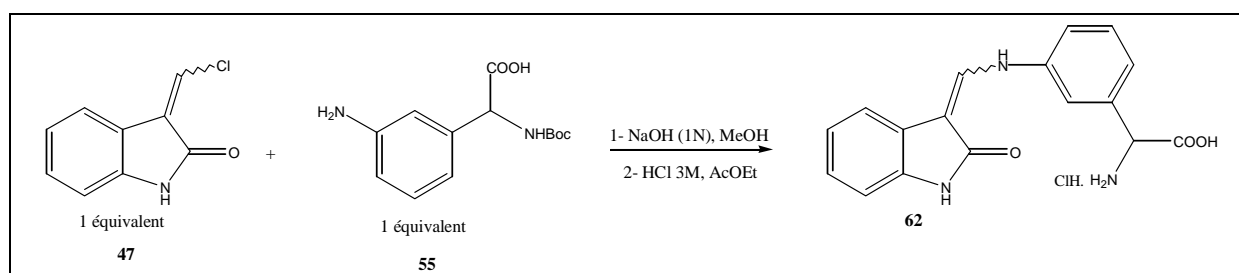


Figure 171 : Synthèse du composé **62**.

Le composé **62** est obtenu avec un rendement de 45%, sous la forme d'un mélange de stéréoisomères.

Nous avons ensuite effectué le couplage entre le composé **47** et la 3-amino-*N*(α)-Boc-L-phénylglycine énantionpure **58** dans les mêmes conditions (Figure 172).

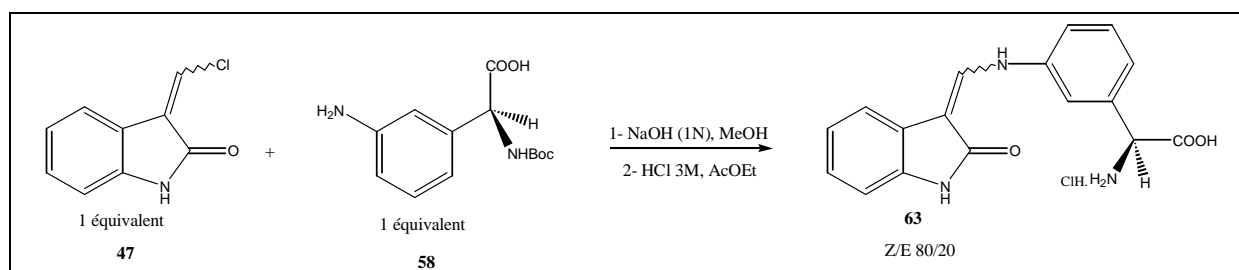


Figure 172 : Synthèse du composé **63**.

Le composé **63** est obtenu avec un rendement de 52% sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères Z/E dans un rapport 80/20.

De la même manière que pour le composé **47**, le rapport des diastéréoisomères Z/E est déterminé par l'intégration des signaux du proton vinylique.

D'autre part, il est intéressant de constater que pour le composé **63**, les signaux des protons vinyliques sont des doublets qui ont des constantes de couplage de 12 Hz avec le NH vinylique pour le diastéréoisomère majoritaire Z (**63Z**) et de 13,5 Hz pour le diastéréoisomère minoritaire E (**63E**) (Figure 173).

⁹⁰ Atkinson, R.N.; Moore, L.; Tobin, J.; King, S.B. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 3467-3475.

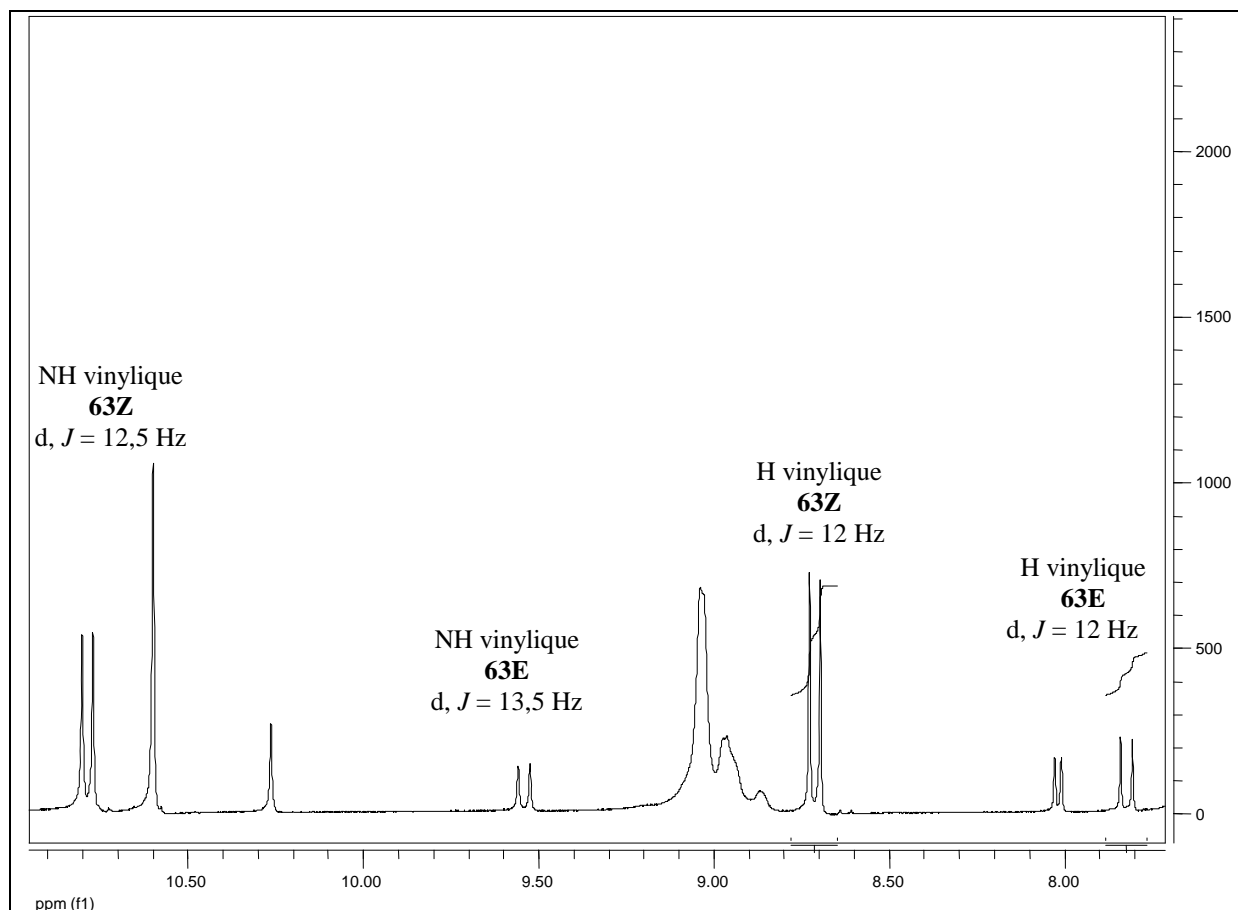


Figure 173 : Les signaux des protons vinyliques et des NH vinyliques des composés **63E** et **63Z** en RMN ¹H (400 MHz) dans le DMSO-*d*₆.

Ces résultats de RMN, laissent penser que dans les deux diastéréoisomères du composé **63** (**63Z** et **63E**), l'hydrogène vinylique et l'hydrogène porté par l'atome d'azote sont en position antipériplanaire (Figure 174).

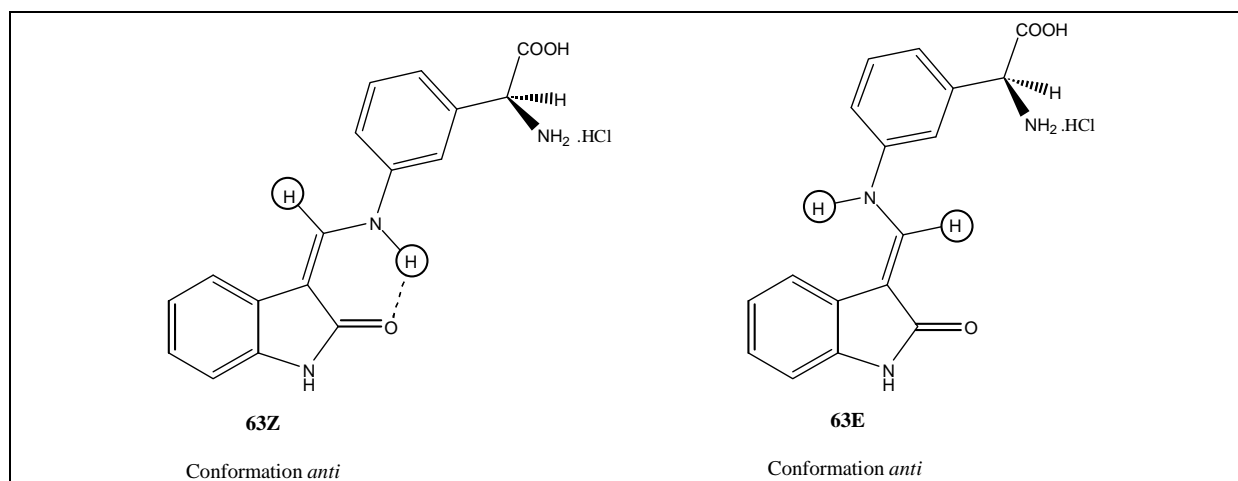


Figure 174 : Conformation *anti* des deux diastéréoisomères du composé **63**.

Comme nous l'avons montré pour le composé **50**, le composé **63Z**, qui est obtenu de façon majoritaire, semble pouvoir être stabilisé par une liaison hydrogène intramoléculaire entre le NH vinylique et le carbonyle de l'oxindole.

Ceci a également pu être confirmé par des calculs de minimisation d'énergie par mécanique quantique des structures.

Ces calculs confirment que le composé **63Z** dont la chaleur de formation est de 72 kcal.mol⁻¹ est stabilisé par une liaison hydrogène intramoléculaire entre le NH vinylique et le carbonyle de l'oxindole. Le composé **63E** est moins stable car son énergie de formation est plus élevée (75 kcal.mol⁻¹), de plus il ne possède aucune liaison hydrogène intramoléculaire (Figure 175).

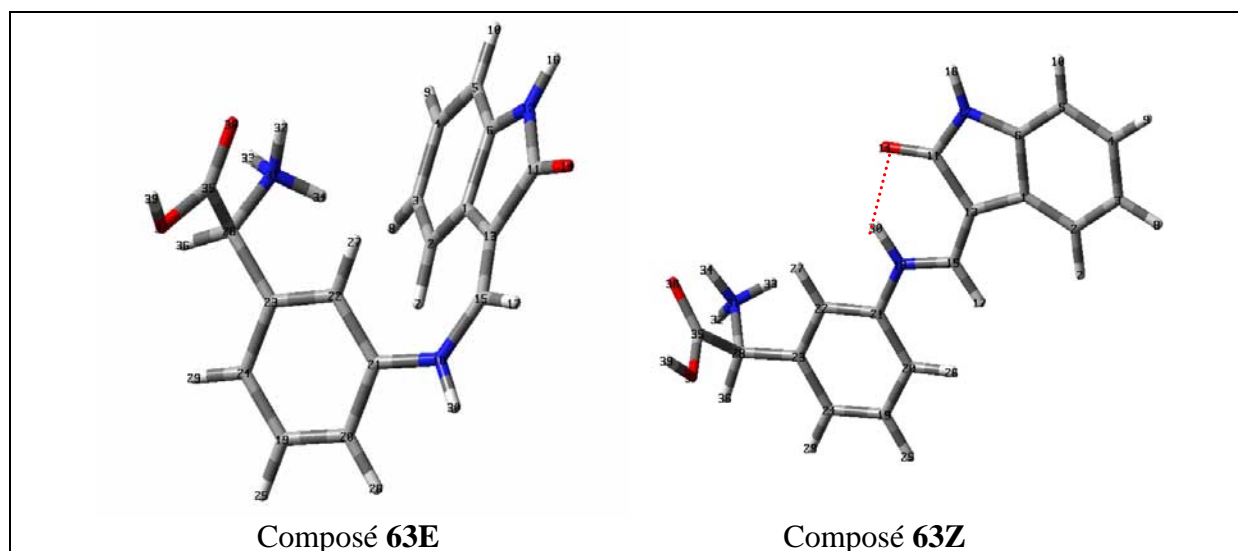


Figure 175 : Etude des structures des composés **63E** et **63Z** par mécanique quantique.

Le rapport Z/E du composé **63** déterminé par RMN du proton, qui montre que l'isomère Z est majoritaire, est en accord avec les calculs de modélisation moléculaire (rapport Z/E théorique 99/1%).

II.3.4.5- Couplage entre le composé **47** et la 4-amino-*N*(α)-Boc-D-phénylalanine **61**

Le couplage entre le composé chloré **47** et la 4-amino-*N*(α)-Boc-D-phénylalanine **61** réalisé dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment a permis d'obtenir le composé **64**, avec un rendement de 29%, sous la forme d'un mélange de diastéréoisomères Z/E dans un rapport 85/15 (Figure 176).

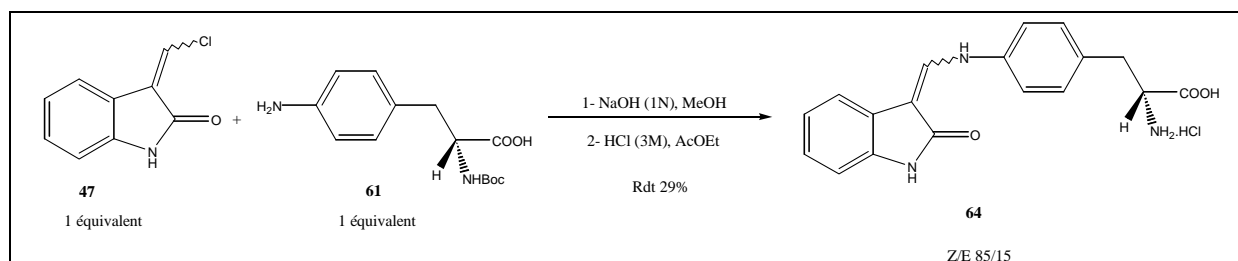


Figure 176 : Synthèse du composé **64**

De la même manière que pour le composé **47**, le rapport des diastéréoisomères Z/E pour le composé **64** est déterminé par l'intégration des signaux du proton vinylique.

D'autre part, il est intéressant de constater que pour le composé **64**, les signaux des protons vinyliques sont des doublets qui ont des constantes de couplage de 12,5 Hz avec le NH vinylique pour le diastéréoisomère majoritaire Z (**64Z**) et de 14 Hz pour le diastéréoisomère minoritaire E (**64E**) (Figure 177).

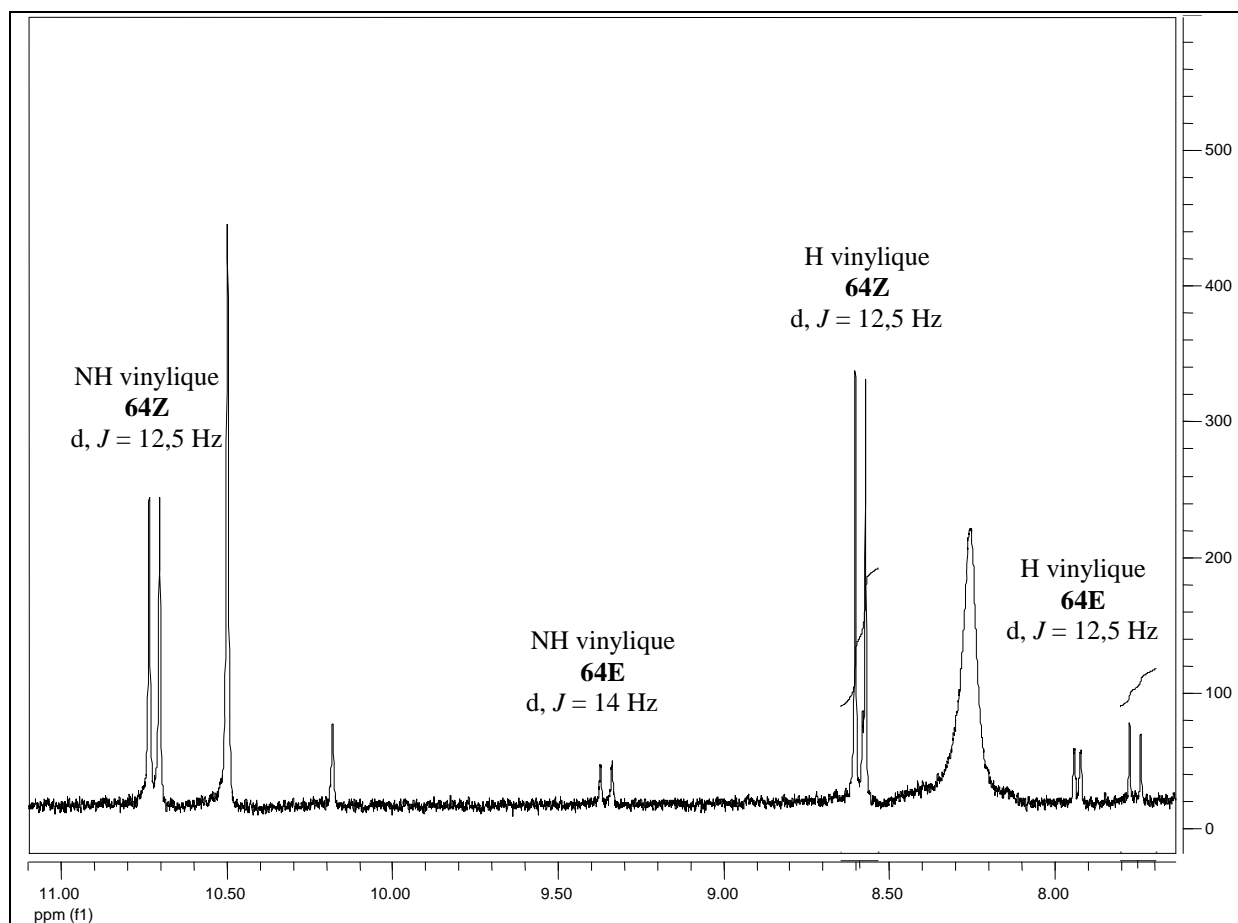


Figure 177 : Les signaux des protons vinyliques et des NH vinyliques des composés **64E** et **64Z** en RMN ¹H (400 MHz) dans le DMSO-*d*₆.

Dans ce cas également, les deux diastéréoisomères du composé **64** (**64Z** et **64E**) sont obtenus sous leur forme *anti* au niveau de la liaison entre le carbone vinylique et le NH de la lysine (Figure 178).

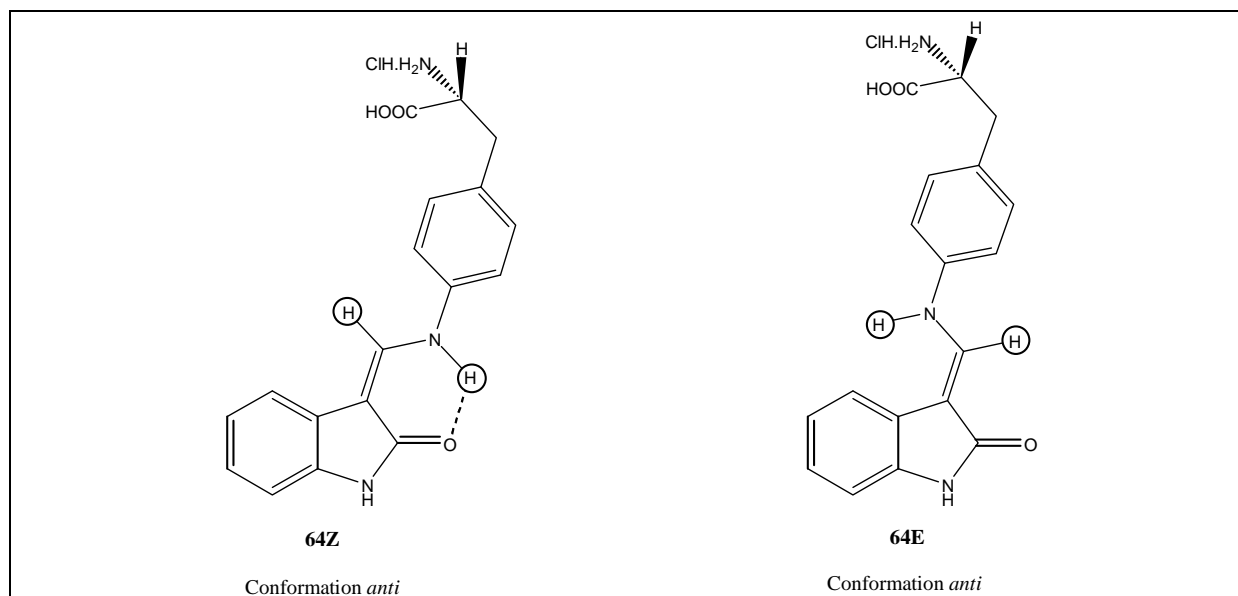


Figure 178 : Conformation *anti* des deux diastéréoisomères du composé **64**.

Cette conformation de l'isomère **64Z**, qui est obtenu de façon majoritaire, peut être stabilisée par une liaison hydrogène intramoléculaire entre le NH vinylique et le carbonyle de l'oxindole.

Des calculs de minimisation d'énergie confirment que le composé **64Z** dont la chaleur de formation est de 63 kcal.mol⁻¹ est stabilisé par une liaison hydrogène intramoléculaire entre le NH vinylique et le carbonyle de l'oxindole. Le composé **64E** est moins stable car son énergie de formation est plus élevée (66 kcal.mol⁻¹), de plus il ne possède aucune liaison hydrogène intramoléculaire (Figure 179).

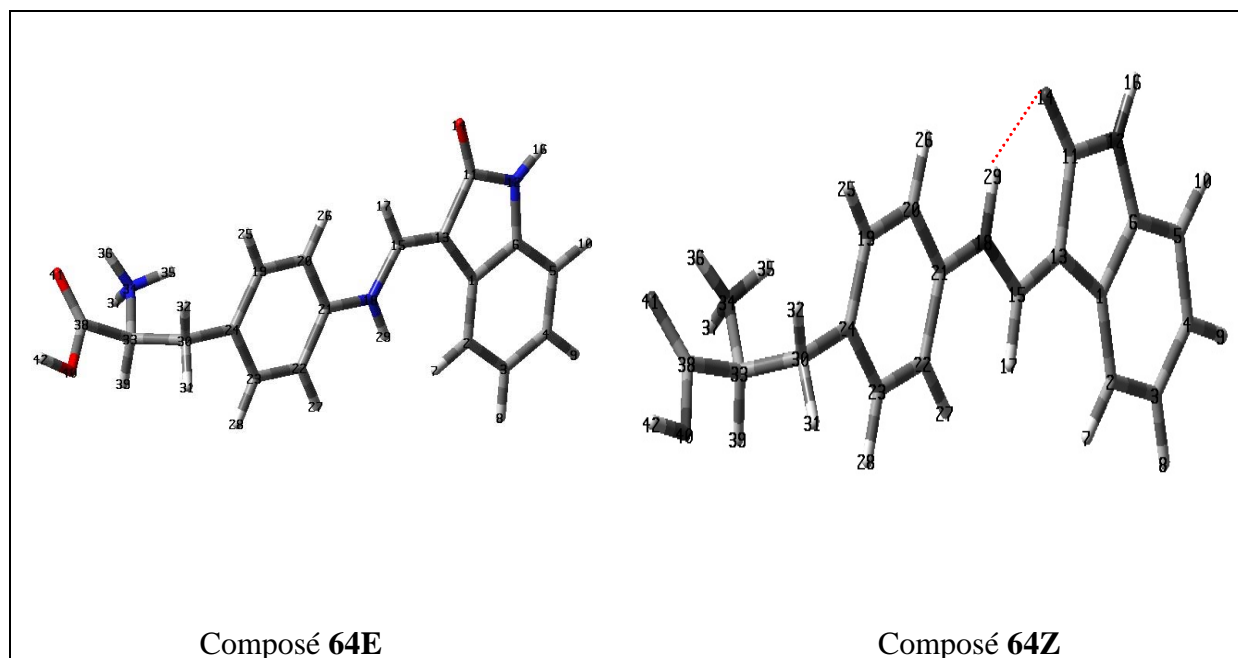


Figure 179 : Etudes des structures des composés **64E** et **64Z** par mécanique quantique.

Le rapport Z/E du composé **64** déterminé par RMN du proton, qui montre que l'isomère Z est majoritaire, est en accord avec les calculs de modélisation moléculaire (rapport Z/E théorique 99/1%).

II.3.5 Bilan

Dans cette famille, 4 produits qui diffèrent entre eux par la nature de l'acide aminé introduit en position 3 de l'oxindole ont été synthétisés et soumis à différents tests biologiques (Figure 180).

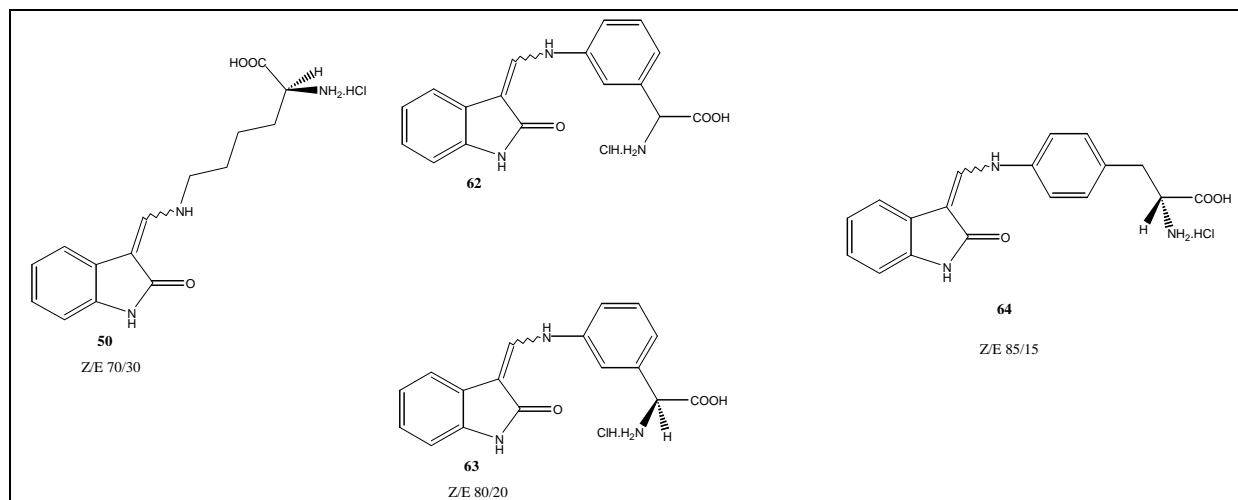


Figure 180 : Structures des différents composés de la famille **B** soumis aux tests biologiques.

Les résultats de ces différents tests sont détaillés dans la partie IV de ce manuscrit.

III- Synthèse du Tétracycle II (Famille C)

Comme nous l'avons mentionné au début de cette partie, la synthèse de cette famille **C** a été envisagée en nous inspirant de la structure du SU5402. La planéité due à la liaison hydrogène intramoléculaire du SU5402 a été apportée par la création de liaisons covalentes.

III.1- Rétrosynthèse du tétracycle II.

Le schéma rétrosynthétique suivant a été envisagé pour l'obtention du tétracycle **II** (Figure 181).

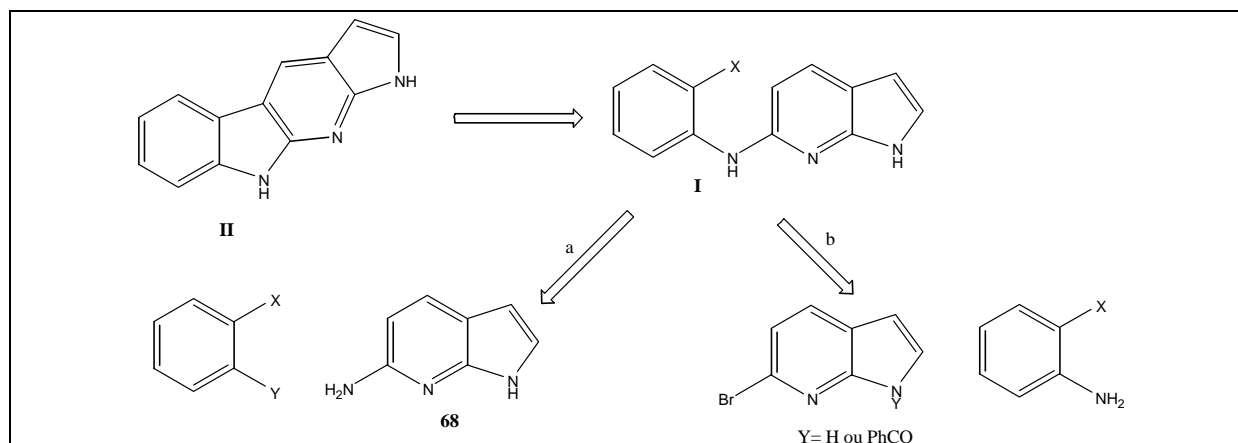


Figure 181 : Rétrosynthèse du tétracycle **II**.

Le tétracycle **II** devrait être facilement obtenu par cyclisation de l'intermédiaire **I**. Cet intermédiaire peut être préparé de deux manières différentes :

- selon la voie a par réaction du 6-amino-7-azaindole **68** sur un benzène orthodihalogéné,
- selon la voie b par réaction d'un 6-bromo-7-azaindole sur une aniline.

III.2- Synthèse du 6-amino-7-azaindole **68**.

Le 6-amino-7-azaindole **68** est synthétisé en 4 étapes selon les méthodes décrites dans la littérature (Figure 182).^{91,92,93,94}

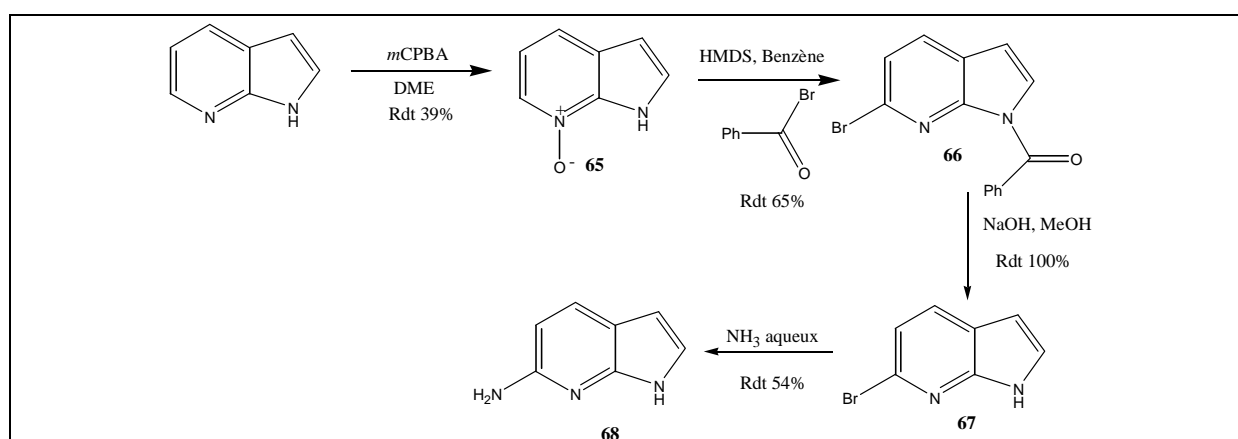


Figure 182 : Synthèse du 6-amino-7-azaindole **68**.

Dans un premier temps, on forme le *N*-oxyde de l'azaindole par oxydation de celui-ci en présence de *m*CPBA dans le DME. Ensuite, le *N*-oxyde **65** réagit avec le bromure de benzoyle en présence de HMDS dans le benzène pour donner le 6-bromoazaindole protégé **66**. Cette technique est une méthode classique de fonctionnalisation en position 6 d'un 7-azaindole. D'une part, le *N*-oxide **65** empêche la benzylation sur l'azote du cycle pyridinique

⁹¹ Schneller, S.W.; Luo, J.-K; *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 4045-4048.

⁹² Antonini, I.; Claudi, F.; Cristalli, G.; Franchetti, P.; Griffantini, M.; Martelli, S. *J. Med. Chem.* **1982**, 25, 1258-1261.

⁹³ Minikata, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. *Synthesis* **1992**, 661-663.

⁹⁴ Minikata, S.; Itoh, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, 65, 2992-2997.

qui pourrait s'effectuer à partir de la forme tautomère de l'azaindole. De plus, cette fonctionnalisation active la position 6 et permet l'attaque de l'ion Br⁻ sur cette position (Figure 183).

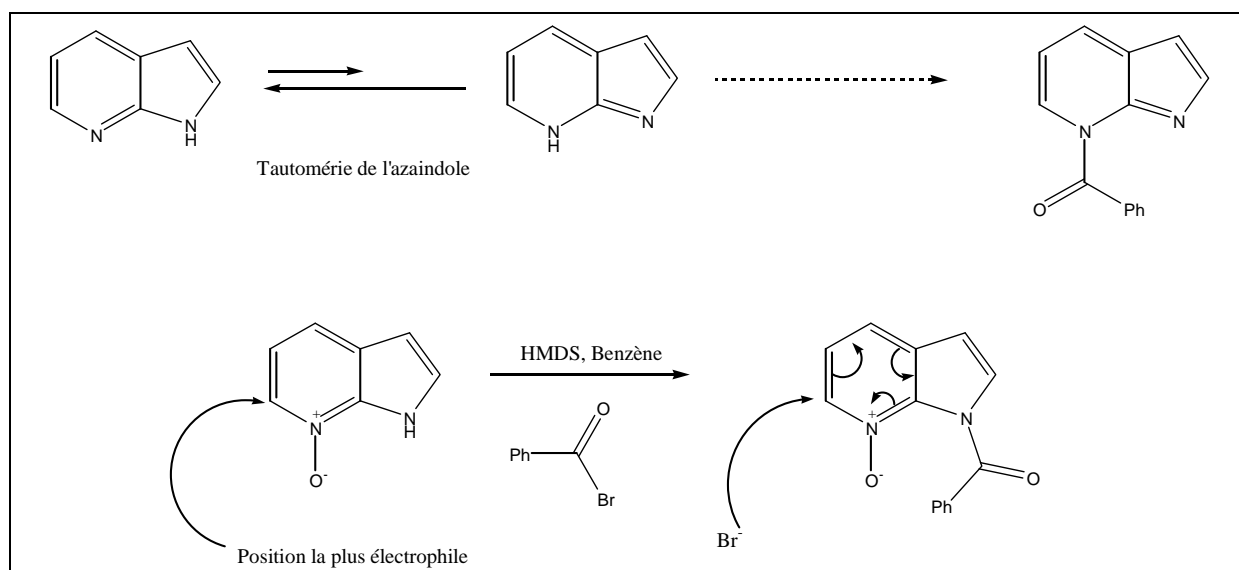


Figure 183 : Utilité de bloquer la tautomérie de l'azaindole par le *N*-oxyde pour substituer en position 6.

Après déprotection de l'azote indolique et déplacement du brome par une solution aqueuse d'ammoniaque à 35% on obtient le 6-aminoazaindole **68** (Figure 182).

III.3- Synthèse de l'intermédiaire **I**

La synthèse de l'intermédiaire **I** a été envisagée de plusieurs manières.

D'une part, par réaction de l'orthoiodoaniline sur l'azaindole bromé protégé **66** ou non protégé **67** en présence de catalyseur au palladium, au cuivre ou bien sans catalyseur (Figure 184).

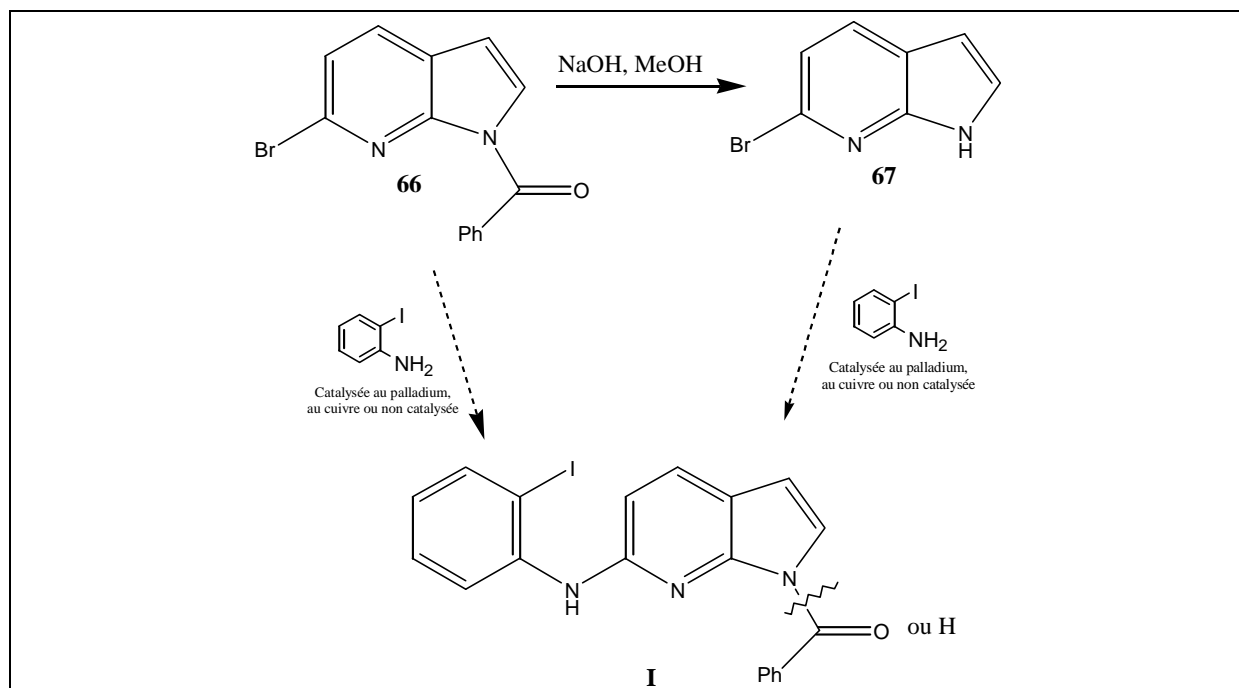


Figure 184 : Essai de préparation de l'intermédiaire **I** par réaction de l'orthoiodoaniline sur le bromoazaindole protégé ou non.

D'autre part, par réaction du 6-aminoazaindole **68** sur l'orthobromiodobenzène ou l'acide phénylboronique en présence de catalyseur au palladium, au cuivre ou bien sans catalyseur (Figure 185).

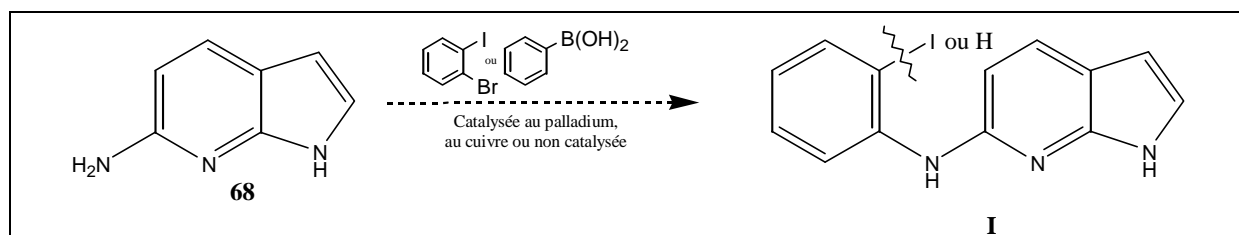


Figure 185 : Essai de préparation de l'intermédiaire **I** par réaction du 6-aminoazaindole **68** sur l'orthobromiodobenzène ou l'acide phénylboronique.

III.3.1- Essais sans catalyseur

En 1998, Batt *et al.* décrivent la réaction d'une aniline **1** sur un dérivé bromé **2** au reflux de l'éthanol pour former le produit de couplage **3** avec des rendements compris entre 50 et 80 % (Figure 186).⁹⁵

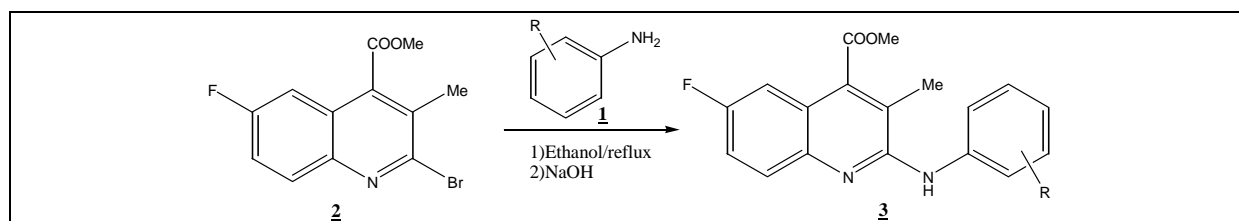


Figure 186 : Synthèse de Batt *et al.*

⁹⁵ Batt, D.G.; Petraitis, J.J.; Sherk, S.R.; Copeland, R.A.; Dowling, R.L.; Taylor, T.L.; Jones, E.A.; Magolda, R.L.; Jaffee, B.D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 1745-1750.

En 2004, Byth *et al.* décrivent la réaction entre la 3-chloroaniline **4** et le dérivé chloré **5** au reflux du butanol pour donner le benzimidazole **6** avec un rendement de 13% (Figure 187).⁹⁶

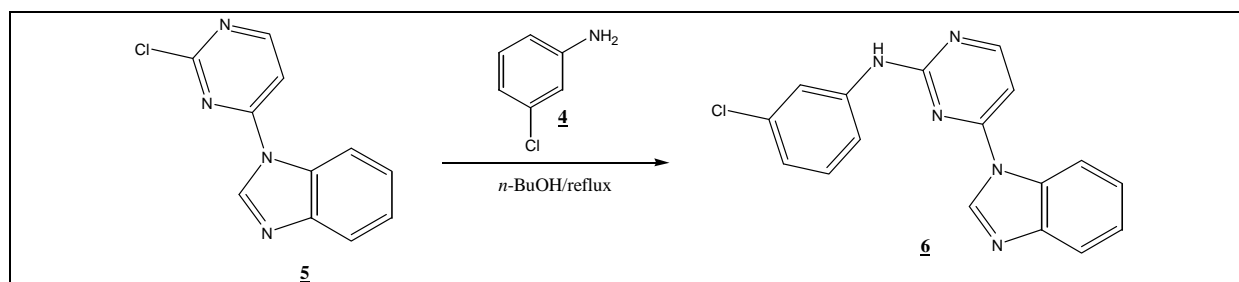


Figure 187 : Synthèse de Byth *et al.*

En 1992, Minaka *et al.* ont décrit la réaction entre le 6-aminoazaindole **68** et le dichlorure d'isophtaloyle **7** dans le dichlorométhane, en présence de triéthylamine pour donner le produit **8** avec un rendement de 48% (Figure 188).⁹⁴

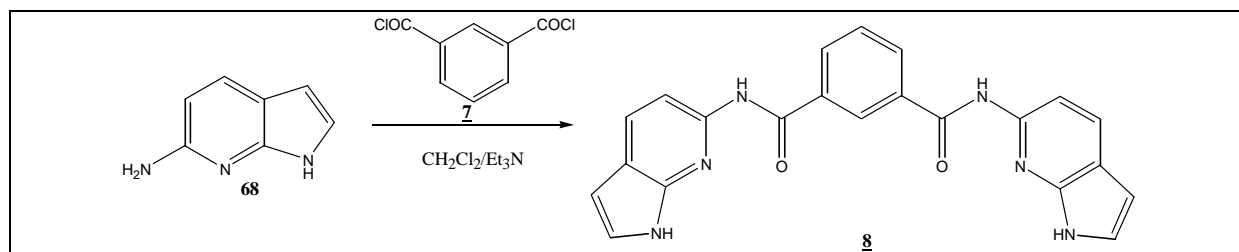


Figure 188 : Synthèse de Minaka *et al.*

En nous inspirant de ces travaux, nous avons effectué différents essais afin de synthétiser l'intermédiaire **I** (Tableau 41).

⁹⁶ Byth, K.F.; Culshaw, J.D.; Green, S.; Oakes, S.E.; Thomas, A.P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 2245-2248.

⁹⁴ Minikata, S.; Itoh, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, 65, 2992-2997.

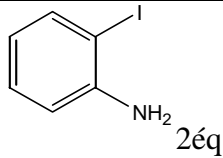
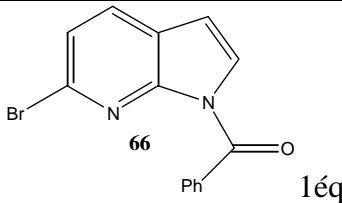
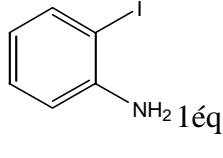
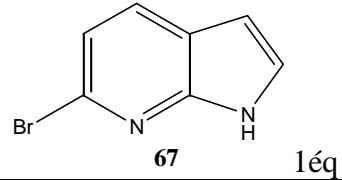
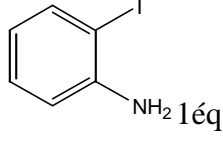
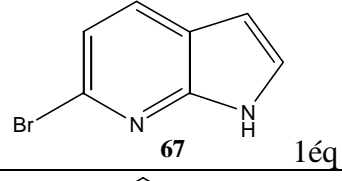
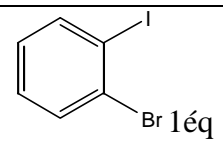
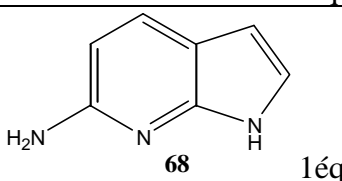
Essai	Réactif 1	Réactif 2	Solvant	T°C/durée	Résultat
1	 2éq	 1éq	Ethanol	Reflux/3 jours	Récupération du réactif 2 et de son produit de déprotection.
2	 1éq	 1éq	Ethanol	Reflux/3 jours	Récupération des deux réactifs
3	 1éq	 1éq	CH ₂ Cl ₂ / Et ₃ N	Température ambiante/18 heures	Récupération des deux réactifs
4	 1éq	 1éq	CH ₂ Cl ₂ / Et ₃ N	Température ambiante/7 jours	Récupération des deux réactifs

Tableau 41 : Essais de synthèse de l'intermédiaire **I** sans catalyseur.

Pour les essais 1 et 2, nous nous sommes inspirés des travaux de Batt *et al.*⁹⁵ et de Byth *et al.*⁹⁶

Dans le premier essai, nous faisons réagir l'orthoiodoaniline avec le bromoazaindole protégé **66** dans l'éthanol au reflux. Nous récupérons le bromoazaindole protégé **66** ainsi que du bromoazaindole déprotégé **67**. La déprotection est sans doute provoquée par l'orthoiodoaniline dans une réaction d'addition-élimination sur le carbonyle, c'est pour cela que l'on en utilise 2 équivalents.

Dans le deuxième essai, nous faisons réagir 1 équivalent d'orthoiodoaniline avec le bromoazaindole déprotégé **67** dans l'éthanol au reflux. Au bout de 3 jours, nous récupérons les deux réactifs de départ.

Dans les travaux dont nous nous sommes inspirés,^{95,96} le carbone portant l'halogène est plus électrophile que dans notre cas de figure. C'est peut-être la raison de l'échec des essais 1 et 2.

Pour les essais 3 et 4, nous nous sommes inspirés des travaux de Minaka *et al.*⁹⁴ qui décrivent la réaction d'addition-élimination d'un aminoazaindole sur un chlorure d'acide.

⁹⁵ Batt, D.G.; Petraitis, J.J.; Sherck, S.R.; Copeland, R.A.; Dowling, R.L.; Taylor, T.L.; Jones, E.A.; Magolda, R.L.; Jaffee, B.D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 1745-1750.

⁹⁶ Byth, K.F.; Culshaw, J.D.; Green, S.; Oakes, S.E.; Thomas, A.P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 2245-2248.

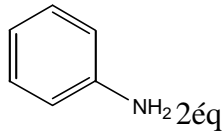
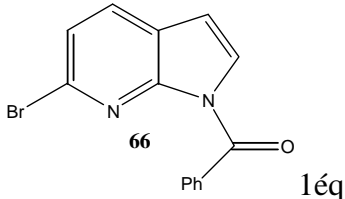
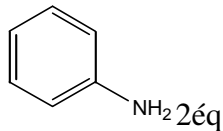
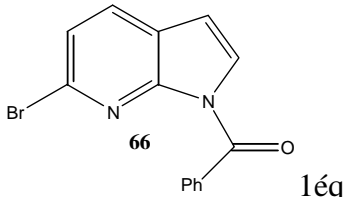
⁹⁴ Minikata, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. *Synthesis* **1992**, 661-663.

Dans l'essai n°3, nous faisons réagir l'orthoiodoaniline et le bromoazaindole **67** dans le dichlorométhane en présence de triéthylamine à température ambiante. Au bout de 18 heures, nous récupérons les deux réactifs de départ.

Dans l'essai n°4, nous faisons réagir l'orthobromiodobenzène avec l'aminoazaindole **68** dans les mêmes conditions que pour l'essai n°3. Au bout de 7 jours d'agitation à température ambiante, nous récupérons les deux réactifs de départ.

Les échecs des essais 3 et 4 sont vraisemblablement dus à la faible électrophilie du carbone portant l'halogène.

Aucun de ces essais n'ayant donné de résultats satisfaisants, nous avons également effectué des essais de synthèse de l'intermédiaire **I** sous microondes (Tableau 42). La chimie assistée par microondes a connu un essor considérable ces dernières années avec l'arrivée sur le marché d'appareillages spécifiquement adaptés pour la synthèse. Ces nouveaux appareils favorisent une meilleure reproductibilité des réactions et permettent actuellement une production quasi-industrielle. Les irradiations microondes ont un effet bénéfique sur des réactions qui nécessitent des températures élevées et dont les durées sont importantes. En effet, l'utilisation de cette technologie pour ces réactions, permet de rendre celles-ci beaucoup plus rapides et également plus propres que par la voie « classique ». Les expériences microondes ont été réalisées à pression atmosphérique ou bien sous pression à l'aide de réacteurs microondes focalisés dont la puissance varie de 0 à 300 W (CEM Discover). Les réactions à pression atmosphérique ont été accomplies dans des montages « classiques » composés d'un ballon muni d'un barreau aimanté recouvert de teflon, surmonté d'un réfrigérant. Les réactions sous pression (0 à 20 bars) ont été effectuées dans des tubes en verre munis d'un barreau aimanté recouvert de teflon et fermés par un septum. L'agitation du milieu réactionnel est réalisée à l'aide d'un système d'agitation magnétique intégré sous la cavité microonde. La température du milieu réactionnel est déterminée grâce à un capteur infra-rouge placé sous le réacteur. La température de réaction désirée est obtenue en réalisant une montée en puissance (généralement jusqu'à la puissance maximum) de 2 minutes, puis en maintenant la puissance nécessaire à l'obtention de la température de réaction voulue. Ces expériences ont été réalisées en collaboration avec le Professeur Thierry Besson de l'Université de La Rochelle.

Essai	Réactif 1	Réactif 2	Solvant	T°C/durée	Résultat
5	 NH ₂ 2éq	 66 Ph 1éq	Ethanol	Reflux/30 min	Récupération du réactif 2 et de son produit de déprotection.
6	 NH ₂ 2éq	 66 Ph 1éq	Ethanol	140°C/53 min	Récupération du réactif 2 et de son produit de déprotection.

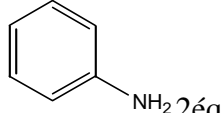
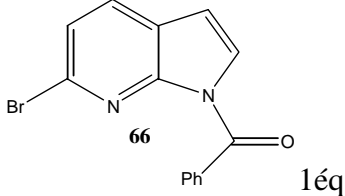
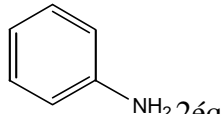
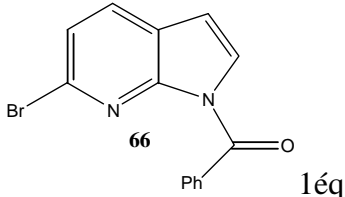
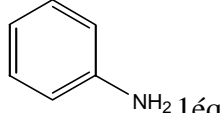
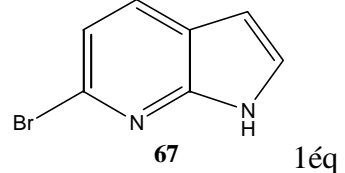
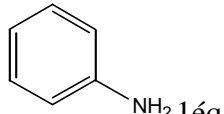
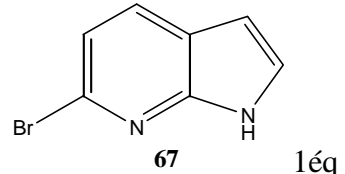
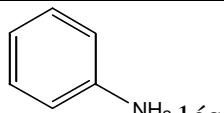
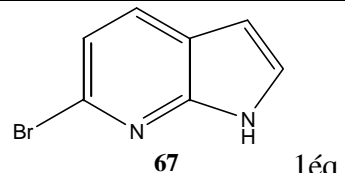
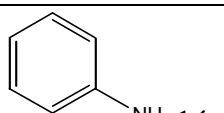
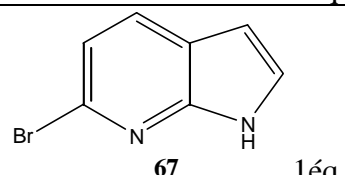
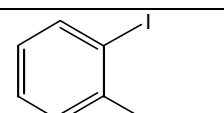
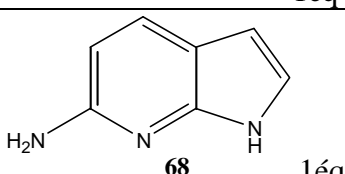
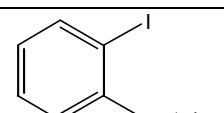
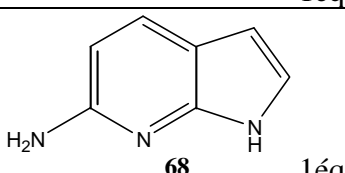
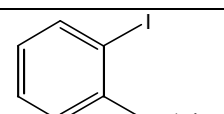
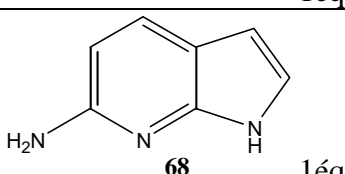
7	 NH ₂ 2éq	 66 1éq	Ethanol	150°C/26 min	Récupération du réactif 2 et de son produit de déprotection.
8	 NH ₂ 2éq	 66 1éq	Ethanol	160°C/13 min	Récupération du réactif 2 et de son produit de déprotection.
9	 NH ₂ 1éq	 67 1éq	Ethanol	140°C/53 min	Récupération des deux réactifs
10	 NH ₂ 1éq	 67 1éq	Ethanol	150°C/26 min	Récupération des deux réactifs
11	 NH ₂ 1éq	 67 1éq	Ethanol	160°C/13 min	Récupération des deux réactifs
12	 NH ₂ 1éq	 67 1éq	Sans solvant, sur graphite	160°C/13 min	Récupération des deux réactifs
13	 Br 1éq	 68 1éq	Ethanol	140°C/53 min	Récupération des deux réactifs
14	 Br 1éq	 68 1éq	Ethanol	150°C/26 min	Récupération des deux réactifs
15	 Br 1éq	 68 1éq	Ethanol	160°C/13 min	Récupération des deux réactifs

Tableau 42 : Essais de synthèse de l'intermédiaire **I** sans catalyseur et sous microondes.

Dans les essais n°5, 6, 7 et 8, nous faisons réagir l'aniline avec le bromoazaindole protégé **66** dans l'éthanol sous irradiation microondes en faisant varier les températures et les durées d'irradiation. Dans tous les cas, nous récupérons le bromoazaindole protégé **66** ainsi

que du bromoazaindole déprotégé **67**. Comme nous l'avons suggéré précédemment, la déprotection est sans doute provoquée par l'aniline, c'est pour cela que l'on en utilise 2 équivalents.

Dans les essais n°9, 10 et 11, nous faisons réagir 1 équivalent d'aniline avec le bromoazaindole déprotégé **67** dans l'éthanol sous irradiation microondes en faisant varier les températures et les durées d'irradiation. Pour chaque essai, nous récupérons les deux réactifs de départ.

Dans l'essai n° 12, nous faisons réagir 1 équivalent d'aniline avec le bromoazaindole **67** sans solvant, à 160°C pendant 13 minutes. Dans cet essai également nous récupérons les deux réactifs de départ.

Dans les essais n°13, 14 et 15 nous faisons réagir l'orthobromiodobenzène avec l'aminoazaindole **68** dans les mêmes conditions que pour les essais n°9, 10 et 11. Pour chacun de ces essais, nous récupérons les deux réactifs de départ.

Aucune de ces tentatives ne nous a permis d'accéder au produit attendu, pas même à l'état de traces. Nous n'avons donc pas essayé de modifier les conditions réactionnelles (stoechiométrie des réactifs).

Nous nous sommes alors inspirés des travaux de Minaka *et al.* qui ont décrit en 1992 le couplage d'une amine primaire aliphatique sur le bromoazaindole **67** à 200°C pendant 12 heures (Figure 189).⁹⁴

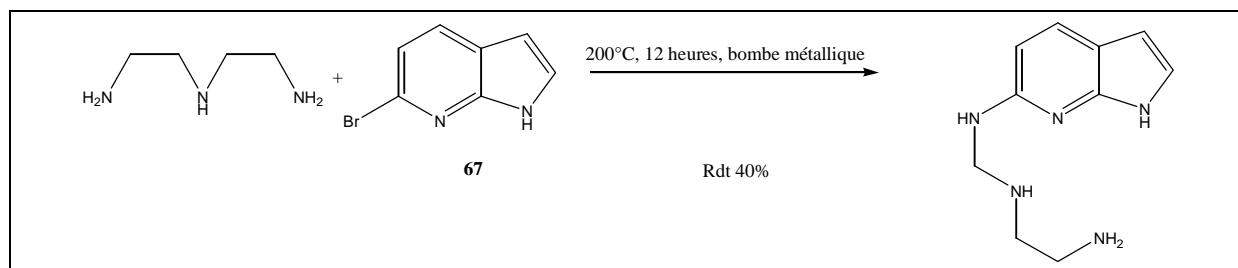


Figure 189 : Couplage entre le bromoazaindole **67** et une amine primaire aliphatique.

Nous avons tout d'abord fait réagir dans une bombe métallique le bromoazaindole **67** avec un large excès d'aniline dans les mêmes conditions. Nous avons ainsi obtenu le produit de couplage **69** avec un rendement de 2%. Lors de travaux réalisés précédemment au laboratoire,⁹⁷ une solution aqueuse de méthylamine a été utilisée pour déplacer un halogène sur un résidu osidique. Lorsque nous avons effectué la réaction en présence de 10% d'eau à 200°C pendant 12 heures, nous avons obtenu le produit de couplage **69** avec un rendement de 23% (Figure 190). L'eau, solvant protique polaire, facilite le départ de l'ion bromure par solvation.

⁹⁴ Minikata, S.; Itoh, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, 65, 2992-2997.

⁹⁷ Anizon, F.; Moreau, P.; Sancelme, M.; Laine, W.; Bailly, C.; Prudhomme, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3709-3722.

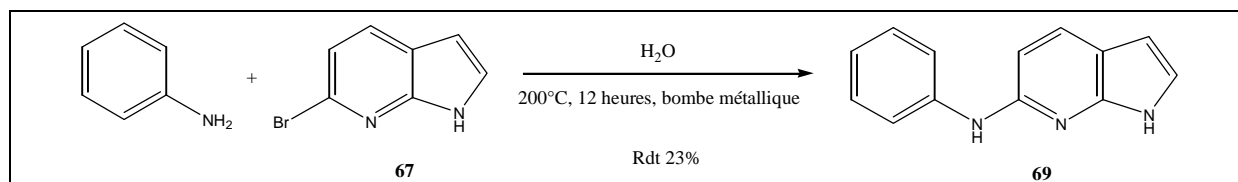


Figure 190 : Synthèse du composé **69** par couplage thermique entre l'aniline et le bromoazaindole **67**.

Afin d'améliorer le rendement, nous avons tenté de réaliser cette réaction sous microondes à 200°C pendant 45 min. Malheureusement, nous n'avons récupéré que les produits de départ. Le problème venait sûrement d'une part de la non miscibilité de l'eau avec l'aniline, ce qui fait que le milieu réactionnel n'était pas homogène, et, d'autre part, du fait que le milieu réactionnel n'était pas assez polaire.

Compte tenu de ces résultats, les divers essais décrits précédemment pourraient peut-être conduire au produit attendu en travaillant avec un large excès d'amine et un solvant plus protique que l'éthanol.

III.3.2- Essais avec un catalyseur au palladium

La deuxième stratégie employée consiste à réaliser le couplage en présence d'un catalyseur au palladium.

En 2003, Ferreira *et al.* ont décrit la synthèse d'*ortho*-bromodiarylamines, avec des rendements compris entre 30 et 35%, par couplage entre le 6-bromo ou 6-amino 2,3,5-triméthylbenzo[*b*]thiophène avec différentes *ortho*-bromoanilines ou 1,2,4-tribromobenzène dans les conditions d'amination de Buchwald-Hartwig mettant en jeu de l'acétate de palladium en présence de BINAP et d'une base (Figure 191).⁹⁸

⁹⁸ Ferreira, I.C.F.R.; Queiroz, M.-J.R.P.; Kirsch, G. *Tetrahedron* **2003**, 59, 3737-3743.

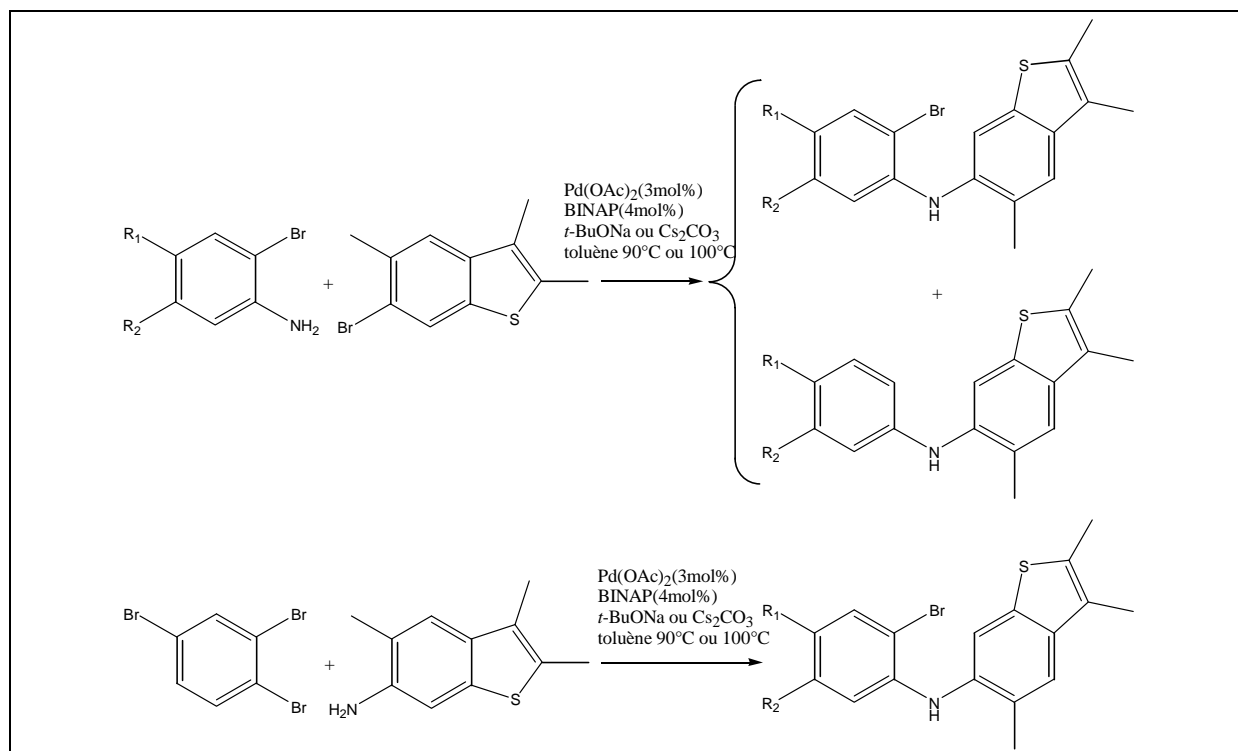


Figure 191 : Réaction d'amination de Buchwald-Hartwig.

Dans des conditions analogues, en utilisant une autre base, le K₂CO₃, Dajka-Halasz *et al.* ont décrit le couplage du composé **1** avec la 2-bromoaniline **2** afin de donner le produit **3** avec un rendement de 85% (Figure 192).⁹⁹

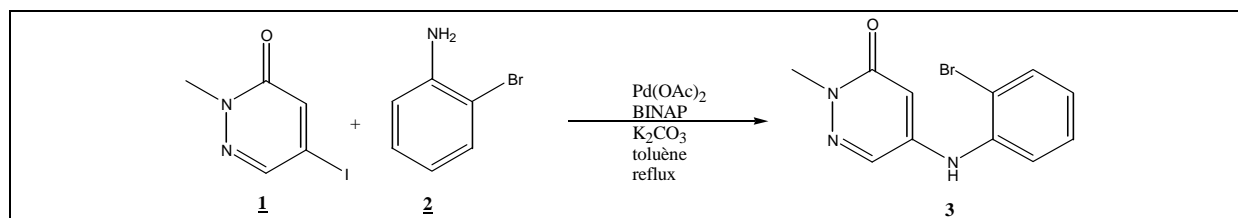


Figure 192 : Réaction d'amination de Dajka-Halasz *et al.*

En 2004, Schlapbach *et al.* ont décrit un couplage catalysé par du palladium tetrakis en présence de tertibutylate de sodium entre la dihydroquinazolinone **4** et le 2,4-difluorothiophénol **5** pour donner un thioéther de diaryle **6** avec un rendement de 10% (Figure 193).¹⁰⁰

⁹⁹ Dajka-Halasz, B.; Monsieurs, K.; Elias, O.; Karolyhazy, L.; Tapolcsanyi, P.; Maes, B.U.W.; Riedl, Z.; Hajos, G.; Dommissie, R.A.; Lemièrre, G.L.F.; Kosmrlj, J.; Matyus, P. *Tetrahedron* **2004**, 60, 2283-2291.

¹⁰⁰ Schlapbach, A.; Heng, R.; Di Padova, F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 357-360.

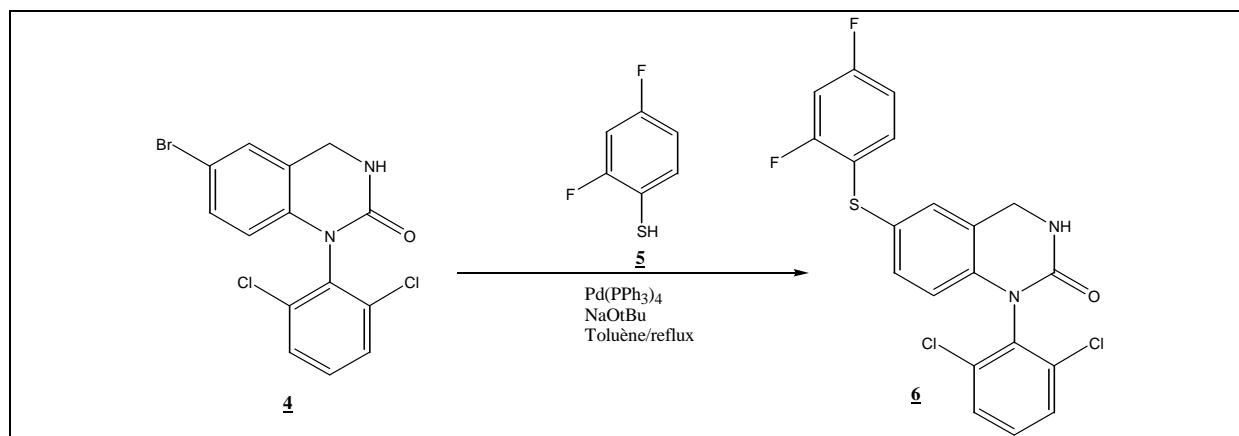


Figure 193 : Couplage catalysé par Pd(PPh₃)₄.

Dans les réactions d'amination de type Buchwald-Hartwig, la base sert à déprotoner le complexe Pd-amine. On peut remarquer que si l'on effectue la réaction avec une amine dont la structure permet d'avoir une β -élimination, il y a un risque de réaction parasite qui aboutit à l'obtention de l'énamine correspondante (Figure 194).

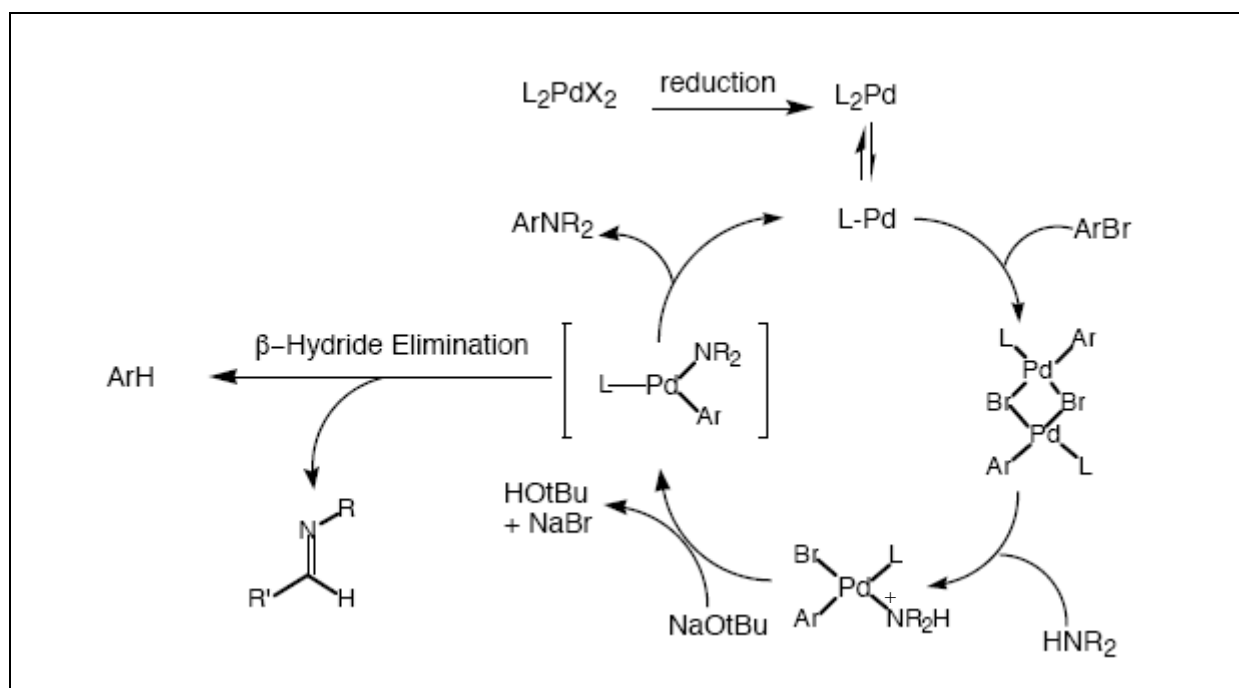


Figure 194 : Mécanisme général de la réaction d'amination de Buchwald-Hartwig.

En nous inspirant de ces différents travaux, nous avons effectué divers essais afin de synthétiser l'intermédiaire **I** (Tableau 43).

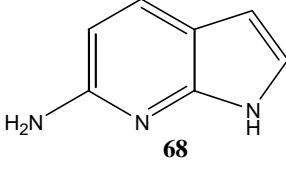
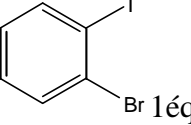
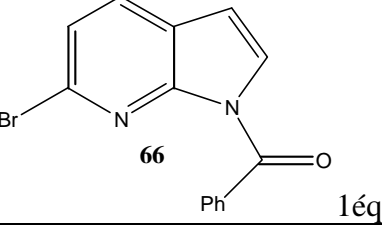
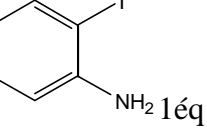
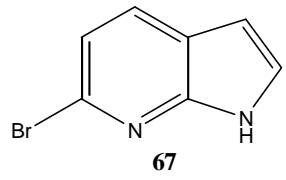
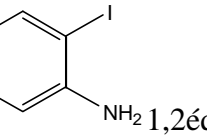
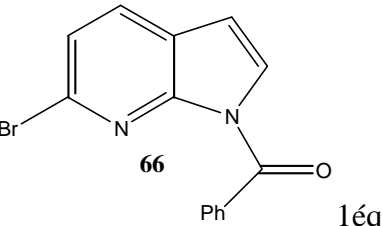
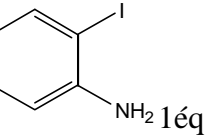
Essai	Réactif 1	Réactif 2	Système Catalytique / Base	Solvant /T°C/ durée	Résultat
1	 68 1éq	 Br 1éq	Pd(OAc) ₂ , 3mol%/ BINAP, 4mol%/ <i>t</i> BuOK	Toluène /100°C/ 30 heures	Dégradation
2	 66 1éq	 NH ₂ 1éq	Pd(OAc) ₂ , 3mol%/ BINAP, 4mol%/ <i>t</i> BuOK	Toluène /100°C/ 5 jours	Récupération du réactif 1 et de son produit de déprotection.
3	 67 1éq	 NH ₂ 1,2éq	Pd(OAc) ₂ , 0,02éq/ BINAP, 0,02éq/ K ₂ CO ₃	Toluène /Reflux/ 4 jours	Récupération des deux réactifs
4	 66 1éq	 NH ₂ 1éq	Pd(PPh ₃) ₄ , 10 mol%/ <i>t</i> BuOK	Toluène /Reflux/ 35 heures	Récupération du réactif 1 et de son produit de déprotection. Formation d'un complexe du palladium

Tableau 43 : Essais de synthèse de l'intermédiaire **I** avec catalyseur au palladium.

Pour les deux premiers essais, nous nous sommes inspirés des travaux de Ferreira *et al.*⁹⁸

Dans l'essai n°1, nous avons essayé de réaliser une réaction d'amination de Buchwald-Hartwig entre l'aminoazaindole **68** et l'orthobromoiodobenzène dans le toluène à 100°C. Cette réaction est catalysée par l'acétate de palladium avec le BINAP comme ligand, en présence de *t*BuOK comme base. Après 30 heures de réaction, aucun produit identifiable n'a pu être isolé du milieu réactionnel.

Dans l'essai n°2, la réaction d'amination de Buchwald-Hartwig entre le bromoazaindole protégé **66** et l'orthoiodoaniline est réalisée dans les mêmes conditions que dans l'essai n°1. Après 5 jours de réaction, nous récupérons le composé **66** ainsi que son analogue déprotégé **67**.

⁹⁸ Ferreira, I.C.F.R.; Queiroz, M.-J.R.P.; Kirsch, G. *Tetrahedron* **2003**, 59, 3737-3743.

Pour l'essai n°3, nous nous sommes inspirés des travaux de Dajka-Halasz *et al.*⁹⁹ Nous faisons réagir le bromoazaindole **67** et l'orthoiodoaniline dans le toluène à reflux en présence de Pd(OAc)₂ comme catalyseur, de BINAP comme ligand et de K₂CO₃ comme base. Au bout de 4 jours de réaction, les deux réactifs de départ sont récupérés.

Pour l'essai n°4, nous nous sommes inspirés des travaux de Schlapbach *et al.*¹⁰⁰ Nous faisons réagir le bromoazaindole protégé **66** avec l'orthoiodoaniline dans le toluène à reflux en présence de palladium tetrakis(triphénylphosphine) et de *t*BuOK. Après 35 heures de réaction, on récupère le composé **66** ainsi que son produit de déprotection **67**. Cette réaction a également permis la formation d'un complexe du palladium que nous avons cherché à caractériser par RMN du proton, du carbone et du phosphore ainsi que par spectrométrie de masse. Cependant, les données obtenues par RMN ne nous ont pas permis de conclure, seule la spectrométrie de masse, en nous basant sur le pic moléculaire, nous a permis de proposer la structure suivante (Figure 195).

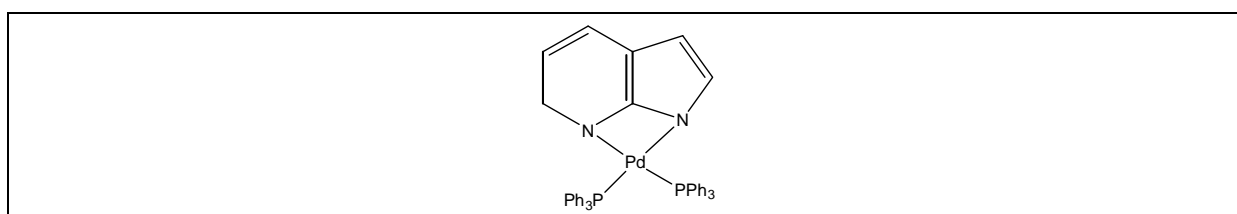


Figure 195 : Proposition de structure du complexe de palladium isolé lors de l'essai n°4.

La formation de ce complexe est sans doute la raison pour laquelle les essais précédents ont échoué. Il faudrait peut-être reprendre ces essais en utilisant plusieurs équivalents de dérivé de palladium.

III.3.3- Essais avec un catalyseur au cuivre

Les résultats obtenus en présence d'un catalyseur au palladium n'étant pas concluant, nous avons envisagé une catalyse au cuivre.

En 2002, Ferreira *et al.* décrivent la synthèse, après chauffage, sans solvant, à 180°C pendant 12 heures d'acétamides **2**, avec un rendement de 40%, par réaction entre l'orthobromoiodobenzène et l'acétamide **1** en présence de Cu₂O (30 mol%) et de K₂CO₃. L'amide déhalogénée **3** se forme également avec un rendement de 4% (Figure 196).¹⁰¹

⁹⁹ Dajka-Halasz, B.; Monsieurs, K.; Elias, O.; Karolyhazy, L.; Tapolcsanyi, P.; Maes, B.U.W.; Riedl, Z.; Hajos, G.; Dommissé, R.A.; Lemièrre, G.L.F.; Kosmrlj, J.; Matyus, P. *Tetrahedron* **2004**, 60, 2283-2291.

¹⁰⁰ Schlapbach, A.; Heng, R.; Di Padova, F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 357-360.

¹⁰¹ Ferreira, I.C.F.R.; Queiroz, M.-J.R.P.; Kirsch, G. *Tetrahedron* **2002**, 58, 7943-7949.

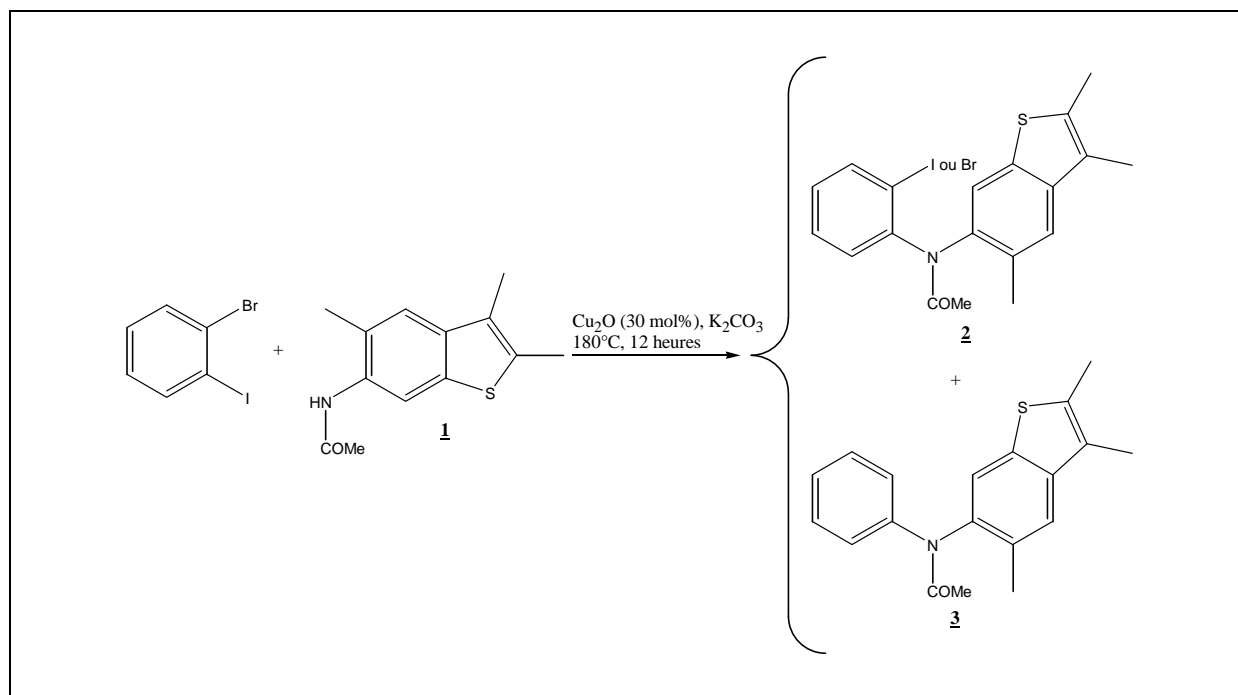


Figure 196 : Synthèse de **2** catalysée par Cu₂O.

En 2004, Lavecchia *et al.* décrivent la réaction de la 2-chloro-3-cyanopyridine **4** avec un excès d'hydrazines **5**, en présence de 5/10 mol% de CuI/*o*-phénanthroline et de carbonate de césium dans le DMF à 60°C pendant 12 heures. Les 1-R-3-aminopyrazolo[3,4-*b*]pyridines **6** sont ainsi obtenues avec des rendements compris entre 50 et 93% (Figure 197).¹⁰²

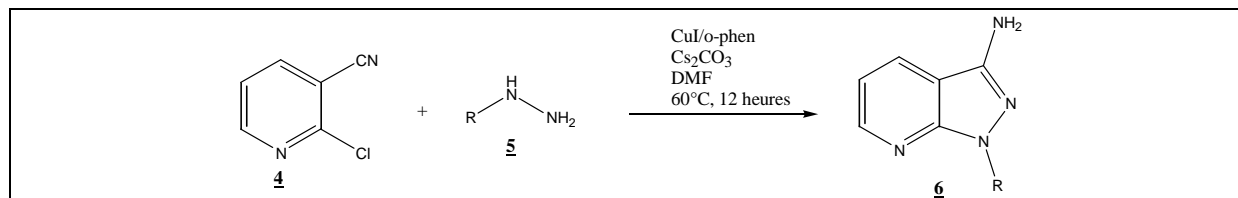


Figure 197 : Réaction catalysée par un système CuI/*o*-phénanthroline.

Dans ce cas, il s'agit de réactions d'amination de Buchwald-Hartwig catalysées par le cuivre selon un mécanisme similaire à celui des réactions catalysées par le palladium. L'utilisation d'un catalyseur au cuivre est un avantage considérable, par rapport au catalyseur au palladium, en termes de stabilité, de facilité d'utilisation et de coût.

En nous inspirant de ces résultats, nous avons effectué différents essais afin de synthétiser l'intermédiaire **I** (Tableau 44).

¹⁰² Lavecchia, G.; Bertina-Raboin, S.; Guillaumet, G. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45, 2389-2392.

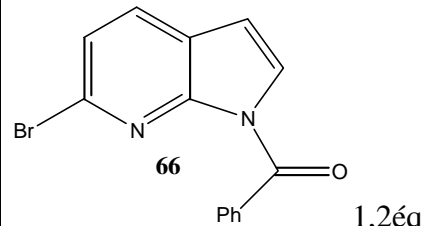
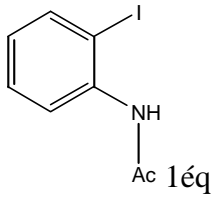
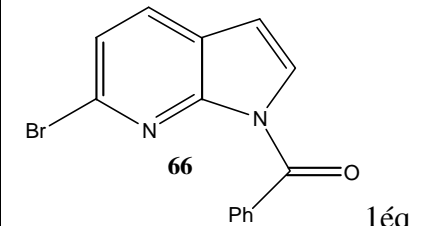
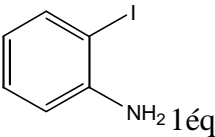
Essai	Réactif 1	Réactif 2	Système Catalytique / Base	Solvant /T°C/ durée	Résultat
1	 66 Ph 1,2éq	 NH Ac 1éq	Cu ₂ O, 0,3éq / K ₂ CO ₃ , 0,3éq	Pas de solvant /180°C/ 5 heures	Dégradation
2	 66 Ph 1éq	 NH ₂ 1éq	CuI, 5mol%/ o-phen, 10mol%/ Cs ₂ CO ₃ , 2éq	DMF /60°C/ 3 jours	Récupération du réactif 1 déprotégé et du réactif 2.

Tableau 44 : Essais de synthèse de l'intermédiaire **I** avec catalyseur au cuivre.

Pour l'essai n°1, nous nous sommes inspirés des travaux de Ferreira *et al.*¹⁰¹ Nous avons fait réagir le bromoazaindole protégé **66** (1,2 équivalent) avec la *N*-acétylorthoiodoaniline (1 équivalent) en présence de Cu₂O (0,3 équivalent) et de K₂CO₃ (0,3 équivalent). Après chauffage du milieu réactionnel en absence de solvant, aucun produit n'a pu être isolé.

Pour l'essai n°2, nous nous sommes inspiré des travaux de Lavecchia *et al.*¹⁰². Nous avons fait réagir le bromoazaindole protégé **66** (1 équivalent) et l'orthoiodoaniline (1 équivalent) en présence de 5 mol% de CuI, de 10 mol% d'orthophénanthroline et de 2 équivalent de Cs₂CO₃ dans le DMF à 60°C. Au bout de trois jours de réaction, nous récupérons le composé **66** et son produit de déprotection **67**.

L'insuccès de ces essais est sans doute dû, comme dans le cas de la catalyse au palladium, à la complexation du métal par les azotes de l'azaindole.

En 2004, Lan *et al.* décrivent une réaction de *N*-arylation, mettant en œuvre des amines, des imides, des amides ou des sulfonamides, catalysée par un sel de cuivre dans le méthanol à reflux. Ces réactions se font avec des rendements allant de 1% à 96% (Figure 198).¹⁰³

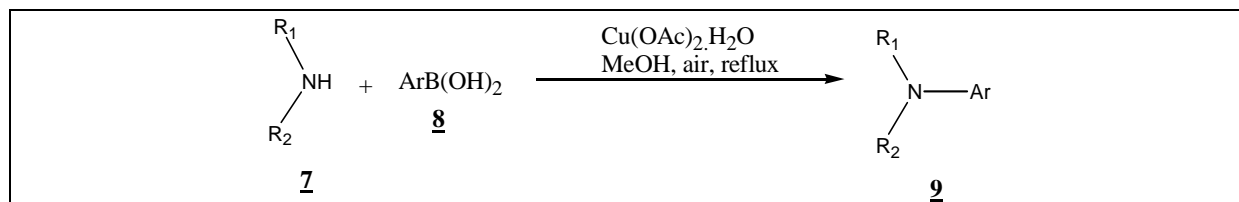


Figure 198 : Réaction de *N*-arylation catalysée par Cu(OAc)₂.

¹⁰¹ Ferreira, I.C.F.R.; Queiroz, M.-J.R.P.; Kirsch, G. *Tetrahedron* **2002**, 58, 7943-7949.

¹⁰² Lavecchia, G.; Bertina-Raboin, S.; Guillaumet, G. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45, 2389-2392.

¹⁰³ Lan, J.-B.; Zhang, G.-L.; Yu, X.-Q.; You, J.-S.; Chen, L.; Yan, M.; Xie, R.-G. *Synlett* **2004**, 6, 1095-1097.

Le mécanisme de cette réaction est une variante de la réaction de Suzuki catalysée par le palladium. Dans ce cas également, l'utilisation d'un catalyseur au cuivre, par rapport au catalyseur au palladium, est un avantage considérable en termes de stabilité, de facilité d'utilisation et de coût (Figure 199).

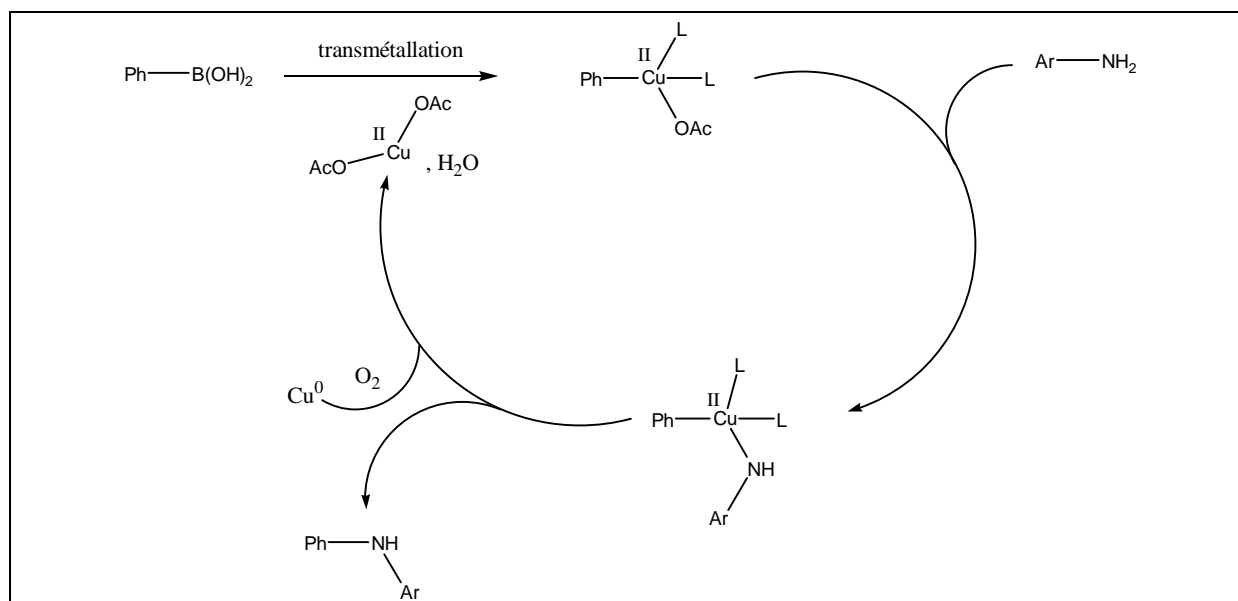


Figure 199 : Mécanisme probable de la réaction de *N*-arylation catalysée par Cu(OAc)₂.

En nous inspirant de ces travaux, nous avons fait réagir l'aminoozaindole **68** (2 équivalents) avec l'acide phénylboronique (1 équivalent) en présence de Cu(OAc)₂ (10 mol%) dans le méthanol à reflux pendant 3 jours. Nous avons obtenu le composé de couplage **69** avec 1% de rendement. Nous récupérons également les deux réactifs de départ (Figure 200).

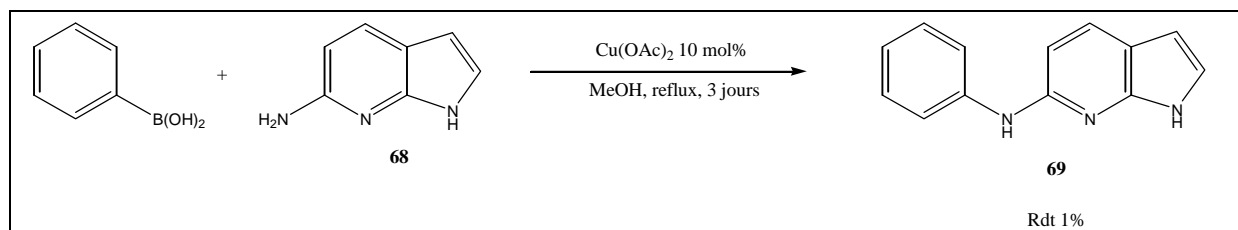


Figure 200 : Synthèse du composé **69** catalysée par Cu(OAc)₂.

Afin d'améliorer le rendement de cette réaction, des essais sous irradiation microondes ont été effectués en collaboration avec le Professeur Thierry Besson de l'université de La Rochelle (Tableau 45).

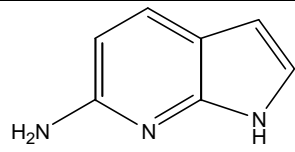
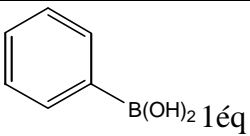
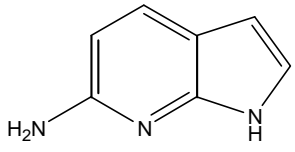
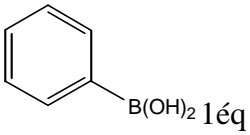
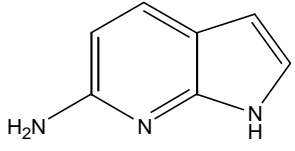
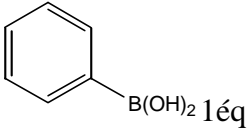
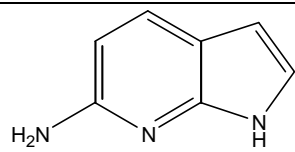
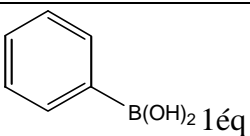
Essai	Réactif 1	Réactif 2	Système Catalytique / Base	Solvant /T°C/ durée	Résultat
1	 68 2 éq	 B(OH) ₂ 1 éq	Cu(OAc) ₂ , 10 mol%	Méthanol /Reflux/ 1h30min	Récupération des deux réactifs et du composé 69 avec 2% de rendement
2	 68 2 éq	 B(OH) ₂ 1 éq	Cu(OAc) ₂ , 10 mol%	Ethanol /140°C/ 1 heure	Récupération des deux réactifs et du composé 69 avec 1% de rendement
3	 68 2 éq	 B(OH) ₂ 1 éq	Cu(OAc) ₂ , 10 mol%	NMP/MeOH /200°C/ 10 min	Ne donne rien (dégradation)
4	 68 2 éq	 B(OH) ₂ 1 éq	Cu(OAc) ₂ , 10 mol%	DMF /200°C/ 30 minutes	Dégradation des deux réactifs et récupération du composé 69 avec 1% de rendement

Tableau 45 : Tentatives de couplage entre l'aminobenzimidazole **68** et l'acide phénylboronique sous microondes.

Dans l'essai n°1, nous nous sommes mis dans les mêmes conditions que celles utilisées en mode classique, en irradiant pendant 1h30 afin d'être au reflux du méthanol. Nous récupérons les deux réactifs de départ, ainsi que le composé **69** avec 2% de rendement.

Dans l'essai n°2, nous avons remplacé le méthanol par de l'éthanol afin de pouvoir chauffer le milieu réactionnel sous microondes à 140°C pendant 1 heure. Nous récupérons également les deux réactifs de départ, ainsi que le composé **69** avec 1% de rendement.

Dans l'essai n°3, nous avons utilisé le NMP (*N*-méthylpyrrolidine) avec quelques gouttes de méthanol comme solvant, afin de pouvoir chauffer à une température de 200°C pendant 10 minutes sous microondes. Dans ce cas, nous observons une dégradation des réactifs de départ.

Dans l'essai n°4, nous utilisons le DMF, que nous chauffons à 200°C pendant 30 minutes sous microondes. Nous récupérons le composé **69** avec 1% de rendement et nous observons également une dégradation des réactifs de départ.

Les rendements insignifiants obtenus sont sans doute dus, comme dans les cas précédents, à une complexation du cuivre par les atomes d'azote de l'azaindole.

En conclusion, compte tenu de tous ces résultats, le meilleur moyen de préparer le composé **69** semble être, malgré un rendement de 23%, le couplage thermique entre le bromoazaindole **67** et l'aniline (Figure 201).

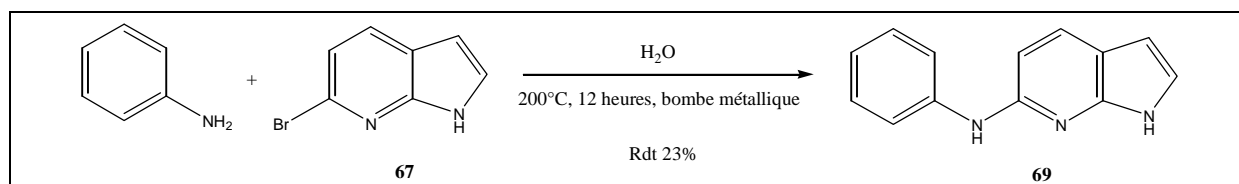


Figure 201 : Synthèse du composé **69** par couplage thermique entre l'aniline et le bromoazaindole **67**.

III.4- Tentatives de cyclisation du composé **69**

Afin d'obtenir le chef de file de la famille **C**, nous avons essayé différentes méthodes afin de cycliser le composé **69** directement ou après modification afin de favoriser la cyclisation (Figure 202).

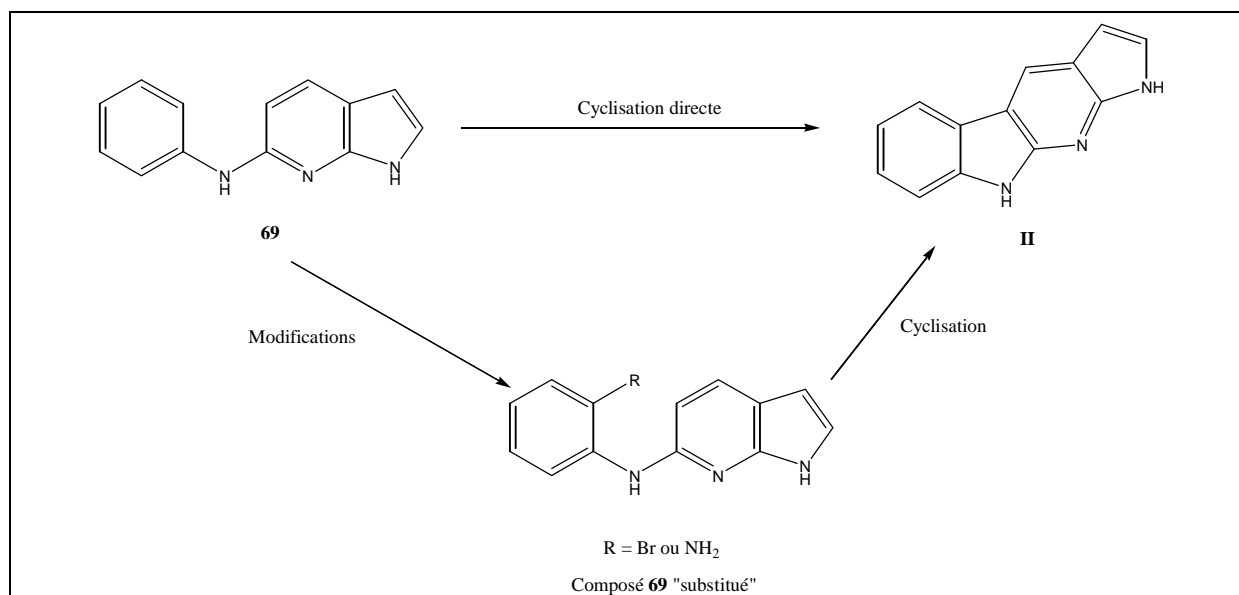


Figure 202 : Les différentes voies testées pour accéder au chef de file de la famille **C**.

Dans un premier temps, nous verrons les tentatives de cyclisation directe, ensuite nous verrons les essais d'introduction de divers groupements (Br , NH_2) sur le composé **69** afin de faciliter la réaction de cyclisation.

III.4.1- Tentatives de cyclisation directe du composé **69**

III.4.1.1- Tentatives de cyclisation directe du composé **69** en présence de dérivés de palladium

Comme nous l'avons vu précédemment, les métaux de transition ont tendance à se complexer avec les deux atomes d'azote de l'azaindole. Néanmoins, on peut penser qu'en

utilisant plusieurs équivalents de dérivés de métaux de transition, les réactions de cyclisation décrites ci-dessous pourraient nous permettre d'accéder au produit cyclisé attendu.

En 2003, Yudine et Bergman décrivent la condensation de la bis(paraméthoxyphényl)phénylènediamine, avec un rendement de 20%, en présence de Pd(OAc)₂ dans l'AcOH à 100°C pendant 5 heures (Figure 203).¹⁰⁴

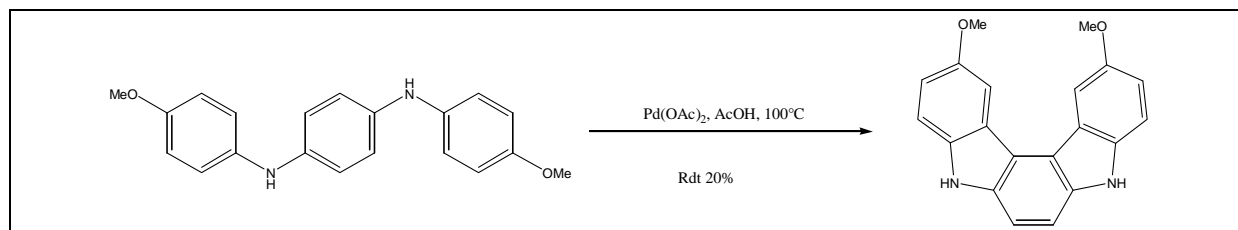


Figure 203 : Cyclisation de diarylamines catalysée par le Pd(OAc)₂ dans l'AcOH.

En nous inspirant de ces travaux, nous avons chauffé le composé **69** à 100°C dans l'acide acétique en présence de 2,2 équivalents de Pd(OAc)₂. Au bout de 24 heures de réaction, nous n'avons pu isoler aucun produit identifiable du milieu réactionnel (Figure 204).

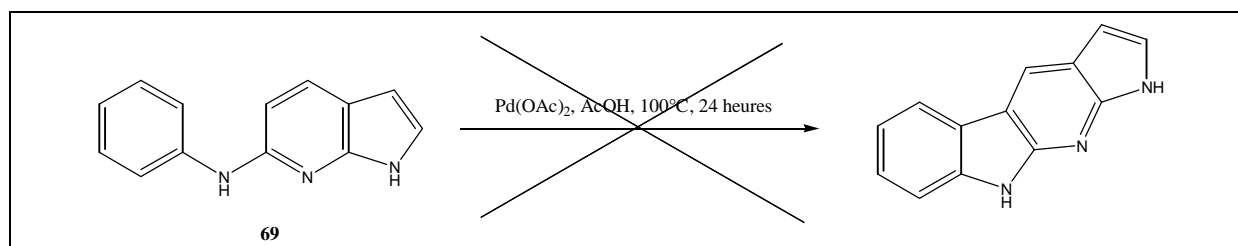


Figure 204 : Tentative de cyclisation directe du composé **69** par de l'acétate de palladium dans l'acide acétique.

En 1980, Miller et Moock décrivent la cyclisation de l'anilinoisoquinoline en utilisant 2 équivalents d'acétate de palladium dans de l'acide acétique contenant 10% d'acide trifluoroacétique. Ils obtiennent le produit cyclisé avec 15 à 25 % de rendement (Figure 205).¹⁰⁵

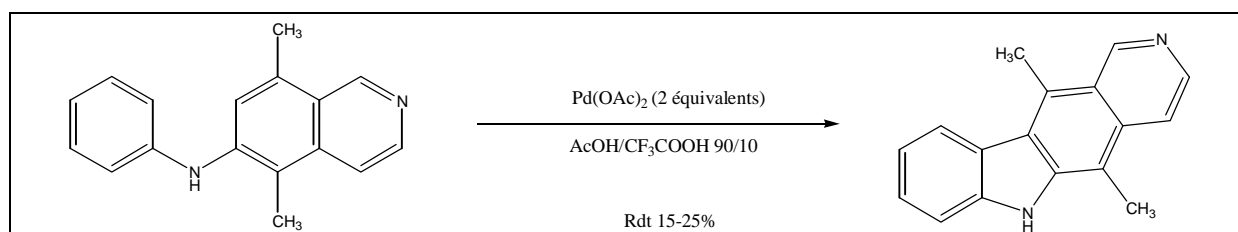


Figure 205 : Cyclisation de l'anilinoisoquinoline en présence d'acétate de palladium dans de l'acide acétique contenant 10% d'acide trifluoroacétique.

Lorsque nous avons fait réagir le composé **69** avec 2 équivalents d'acétate de palladium au reflux d'un mélange acide acétique/acide trifluoroacétique 90/10 pendant 5 heures, aucun produit identifiable n'a pu être isolé (Figure 206).

¹⁰⁴ Yudina, L.N.; Bergman, J. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 1265-1275.

¹⁰⁵ Miller, R.B.; Moock, T. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 3319-3322.

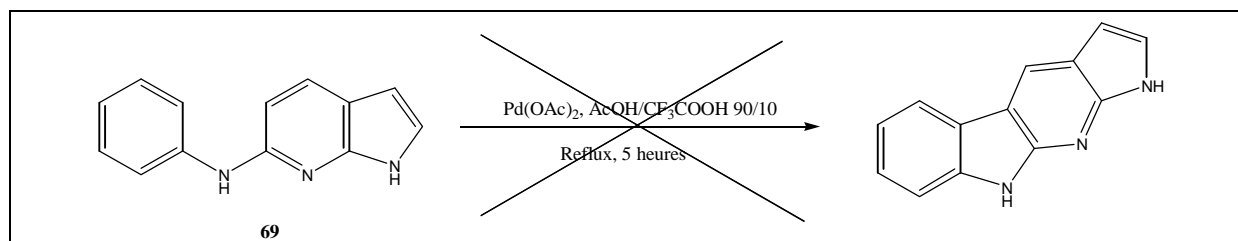


Figure 206 : Tentative de cyclisation directe du composé **69** par de l'acétate de palladium dans un mélange acide acétique/acide trifluoroacétique 90/10.

En 1997, Ohkubo *et al.* décrivent la synthèse d'un indolocarbazole par cyclisation oxydante d'un bisindolylmaléimide en utilisant 2,7 équivalents de palladium trifluoroacétate dans du DMF à 90°C pendant 30 minutes (Figure 207).¹⁰⁶

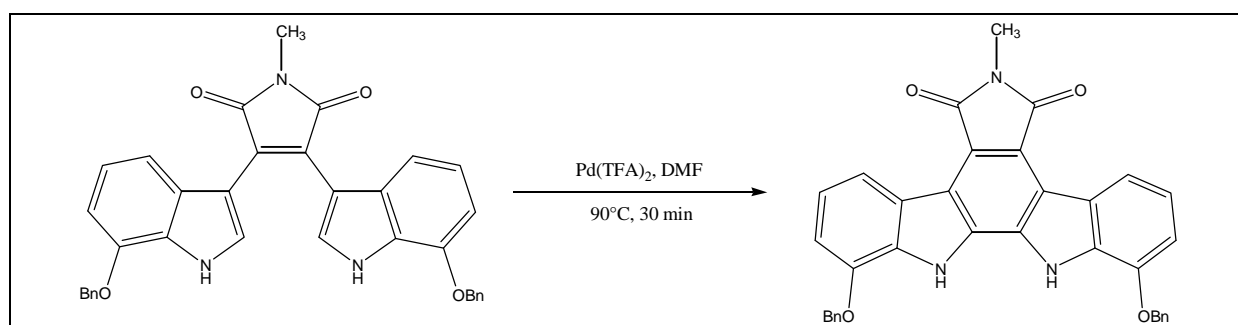


Figure 207 : Cyclisation oxydante d'un bisindolylmaléimide en présence de Pd(TFA)₂ dans le DMF.

Nous avons donc fait réagir le composé **69** avec 3 équivalents de Pd(TFA)₂ dans du DMF à 90°C pendant 1 heure. Malheureusement, aucun produit n'a pu être identifié dans le mélange issu de la réaction (Figure 208).

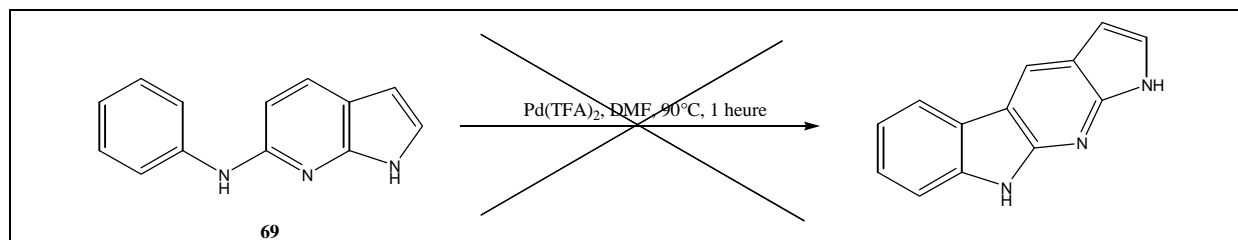


Figure 208 : Tentative de cyclisation du composé **69** par du Pd(TFA)₂ dans du DMF.

Nous avons également tenté de cycliser le composé **69** en le chauffant à 160°C dans du décane en présence d'un équivalent de palladium black. Au bout de 72 heures de réaction, nous avons récupéré le produit de départ (Figure 209).

¹⁰⁶ Ohkubo, M.; Kawamoto, H.; Ohno, T.; Nakano, M.; Morishima, H. *Tetrahedron* **1997**, 53, 585-592.

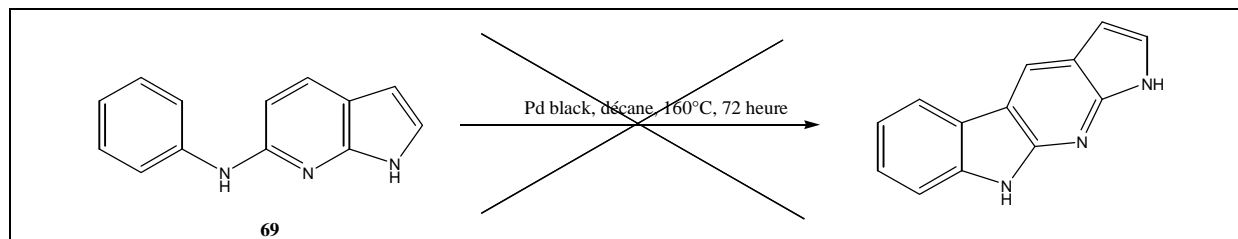


Figure 209 : Tentative de cyclisation du composé **69** par chauffage de celui-ci dans du décane en présence de palladium black.

En 2001 et en 2005, Wang *et al.* décrivent des cyclisations oxydantes de bisindolylmaléimides et de 5,6-difluorobenzothiophène-5,6-difluoroindolylmaléimide. Cette cyclisation est catalysée par un système de type Wacker, Pd(OAc)₂ (5 mol%), CuCl₂ (1 équivalent), dans le DMF à des températures de 90 à 120°C pendant 4 à 12 heures pour la cyclisation des bisindolylmaléimides et à 90°C pendant 6 heures pour la cyclisation du 5,6-difluorobenzothiophène-5,6-difluoroindolylmaléimide (Figure 210).^{107,108}

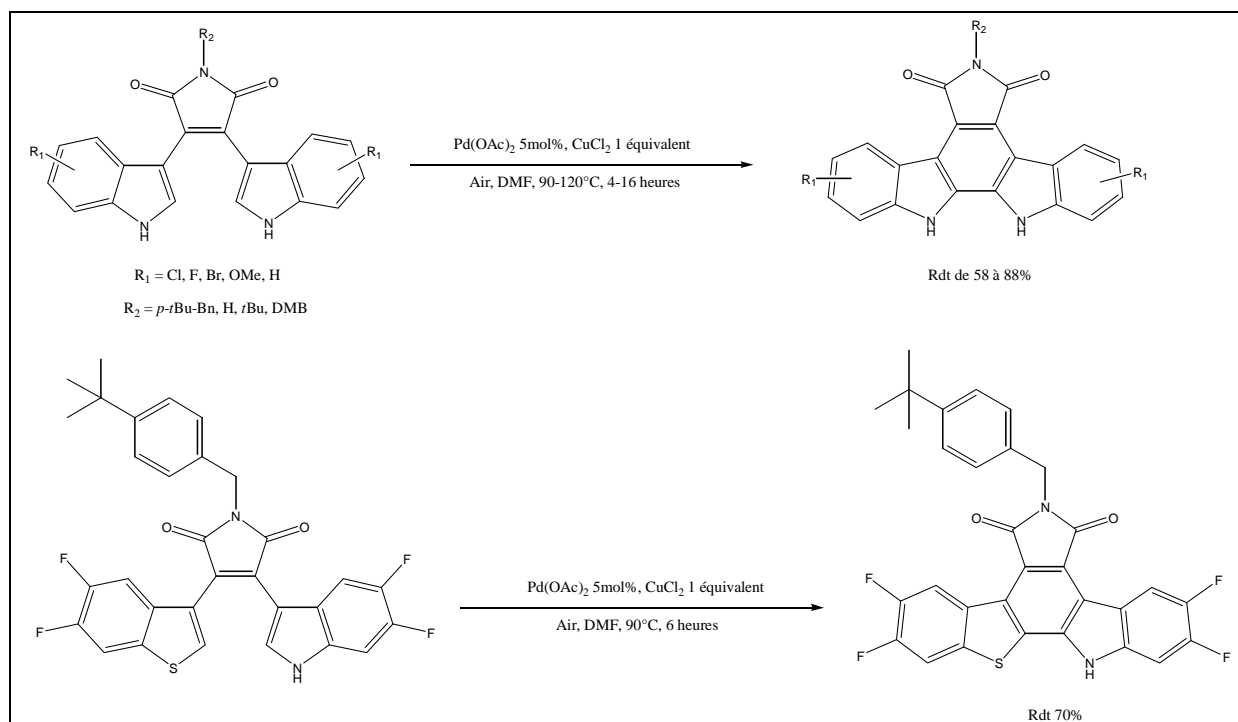


Figure 210 : Cyclisations oxydantes de bisindolylmaléimides et de 5,6-difluorobenzothiophène-5,6-difluoroindolylmaléimide par un système catalytique de type Wacker.

Nous avons donc tenté de cycliser le composé **69** avec un système catalytique de type Wacker, en faisant réagir le composé **69** avec du Pd(OAc)₂ (5 mol%), en présence de CuCl₂ (1 équivalent). Après chauffage à 90°C en présence d'air, aucun produit n'a pu être isolé du milieu réactionnel et caractérisé (Figure 211).

¹⁰⁷ Wang, J.; Rosingana, M.; Watson, D.J.; Dowdy, E.D.; Discordia, R.P.; Soundarajan, N.; Li, W.-S. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 8935-8937.

¹⁰⁸ Wang, J.; Soundarajan, N.; Liu, N.; Zimmermann, K.; Naidu, B.N. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 907-910.

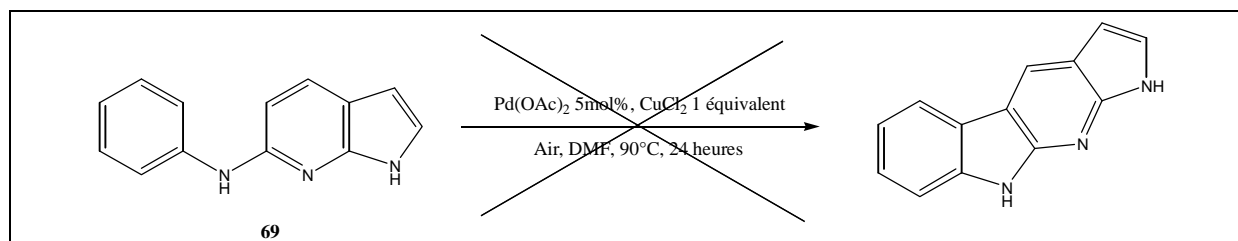


Figure 211 : Tentative de cyclisation du composé **69** avec un système catalytique de type Wacker.

En conclusion, malgré l'utilisation de plusieurs équivalents de dérivé palladié, aucun des essais n'a permis la cyclisation attendue. En effet, si un complexe se forme avec les atomes d'azote de l'azaindole, l'addition oxydante ultérieure risque fort d'être défavorisée, ce qui est vraisemblablement la raison de nos échecs.

III.4.1.2- Tentatives de cyclisations radicalaires du composé **69**

Plusieurs auteurs ont décrit des cyclisations radicalaires de diphenylamines substituées ou non (Figure 212).^{104,109,110}

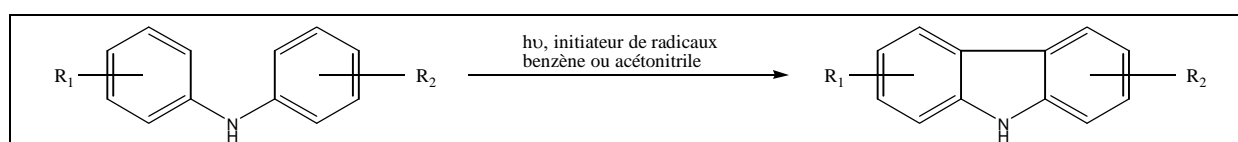


Figure 212 : Cyclisation radicalaire de diarylamines.

Pour notre part, nous avons irradié le composé **69** avec une lampe à mercure moyenne pression (400W) dans le benzène en présence d'iode comme initiateur de radicaux. Au bout de 7 heures, nous ne récupérons que le produit de départ (Figure 213).

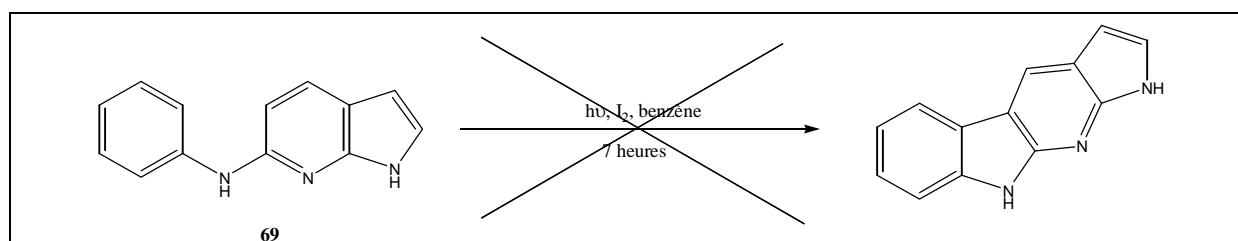


Figure 213 : Tentative de cyclisation radicalaire du composé **69**.

Au cours de travaux précédents au laboratoire, une réaction de cyclisation oxydante par irradiation d'une solution d'azaindolyimidazolmaléimide dans l'acétonitrile a été mise au point au laboratoire (Figure 214).¹¹¹

¹⁰⁴ Miller, R.B.; Mook, T. *Tetrahedron Letters* **1980**, 21, 3319-3322.

¹⁰⁹ Grellmann, K.H.; Schmitt, U. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 6267-6272.

¹¹⁰ Bhattacharyya, P.; Jash, S.S.; Dey, A.K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 1668-1669.

¹¹¹ Hugon, B.; Pfeiffer, B.; Renard, P.; Prudhomme, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 4607-4611.

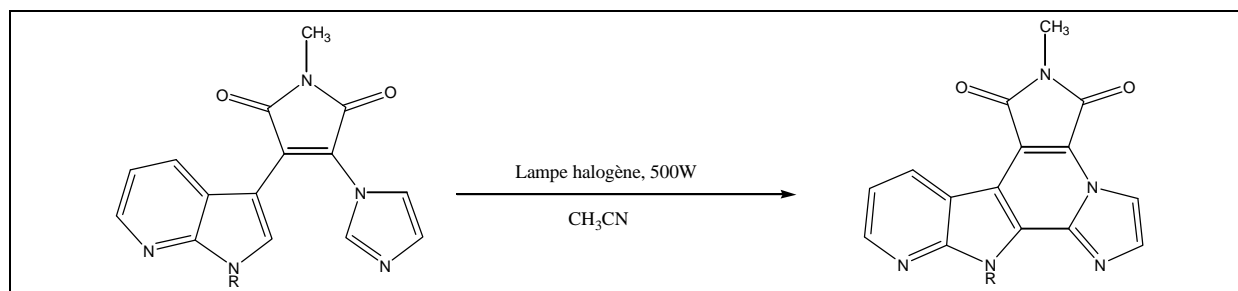


Figure 214 : Cyclisation oxydante par irradiation d'azaindolyimidazolmaléimide.

Lorsque nous avons irradié sous une lampe halogène (500W) une solution du composé **69** dans l'acétonitrile, nous n'avons pas obtenu le composé cyclisé attendu, mais le composé **70** avec 30% de rendement et le produit de départ **69** avec un rendement de 65%. Ce composé est le résultat d'une coupure oxydante de la double liaison indolique. Le composé **70** est obtenu sous sa forme énol, car cette forme est sans doute stabilisée par une liaison hydrogène intramoléculaire. Il est intéressant de noter que le composé **70** est le seul composé obtenu, avec le produit de départ **69** et qu'il n'y a aucune trace de l'intermédiaire **70'** (Figure 215).

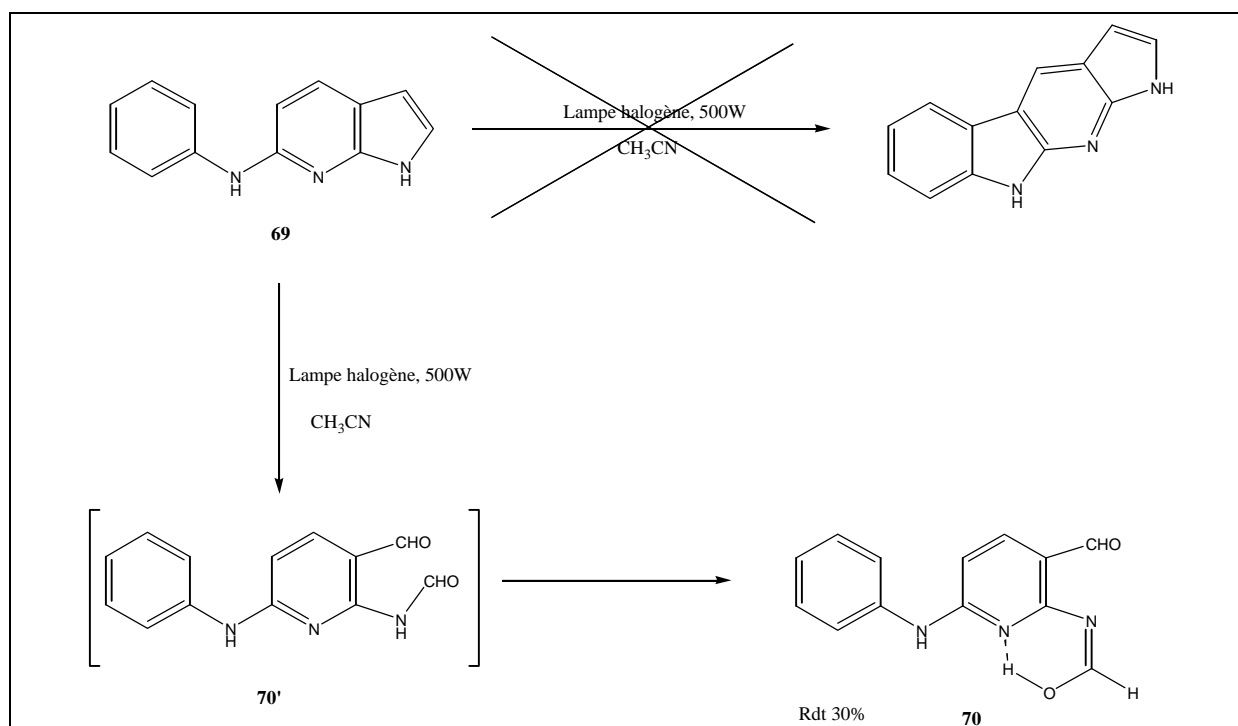


Figure 215 : Synthèse du composé **70** par irradiation du composé **69** par une lampe halogène.

Ce type de coupure oxydante n'a jamais été décrite pour des dérivés azaindoliques. Quelques exemples de coupures oxydantes sont décrits sur des motifs indoles ou pyrrole, par ozonolyse ou irradiation, en présence ou non de peroxyde de benzoyle. Un dérivé dicarbonylé est obtenu dans tous les cas. Dans certains cas, avec des dérivés d'indoles non substitués en position 2 et en position 3, et suivant les conditions de réaction, le produit de la réaction peut être un dérivé d'acide carboxylique (Figure 216).^{112,113,114}

¹¹² Witkop, B.; Fiedler, H. *Just. Liebig Ann. Chem.* **1947**, 558, 91-98.

¹¹³ D'Ischia, M.; Prota, G. *Gazz. Chim. Ital.* **1986**, 116, 407-410.

¹¹⁴ Waterhouse, A.L.; Pessah, I.N.; Francini, A.O.; Casida, J.E. *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 710-716.

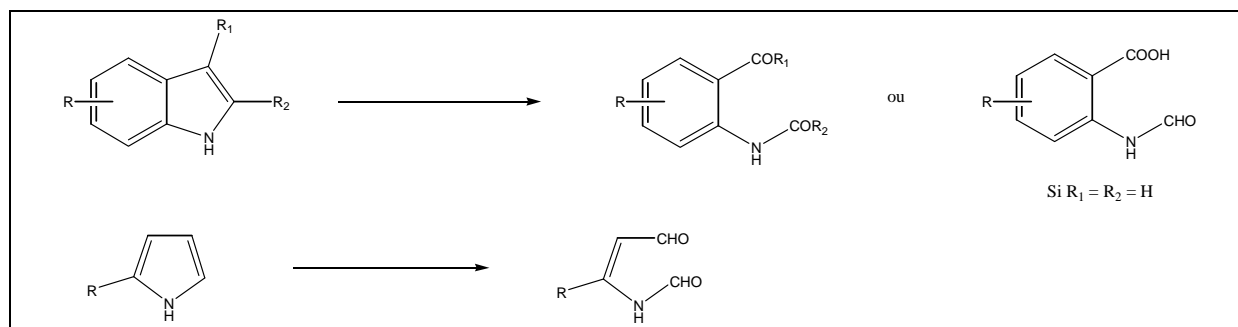


Figure 216 : Exemples de coupures oxydantes sur les dérivés d'indoles et de pyrroles.

Cette réaction d'oxydation est sans doute due à la formation d'ozone entraînant l'ozonolyse de l'azaindole. Cette réaction devrait être essayée sous atmosphère inerte.

III.4.2- Tentatives de cyclisation après transformation du composé **69**

Toutes les tentatives de cyclisations directes s'étant révélées infructueuses, nous avons essayé d'introduire différents substituants sur le composé **69** afin de faciliter la réaction de cyclisation.

En 1999, Iwaki *et al.* décrivent des cyclisations de (2-bromoanilino)pyridines ou d'anilino bromopyridines catalysées par l'acétate de palladium en présence de Na₂CO₃ dans le DMF à reflux, avec des rendements allant de 31 à 61% suivant la position de l'atome d'azote de la pyridine (Figure 217).¹¹⁵

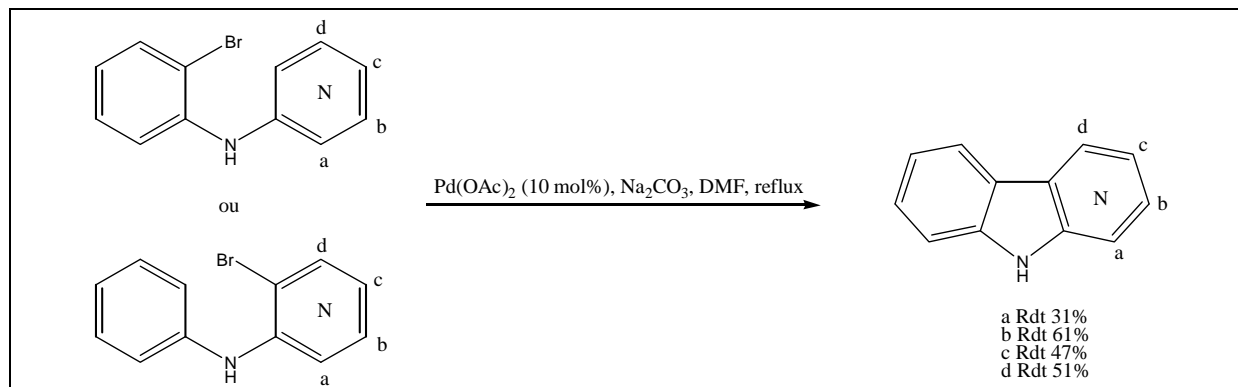


Figure 217 : Cyclisations de (2-bromoanilino)pyridines ou d'anilino bromopyridines catalysées par l'acétate de palladium.

En nous inspirant de ces travaux, nous avons voulu introduire un atome de brome en ortho du NH.

Dans un premier temps, nous avons tenté de bromer le composé **69** à l'aide de brome (2 équivalents) dans le THF à température ambiante. Après 20 heures d'agitation, aucun produit n'a pu être isolé du milieu réactionnel et caractérisé (Figure 218).

¹¹⁵ Iwaki, T.; Yasuhara, A.; Sakamoto, T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 1505-1510.

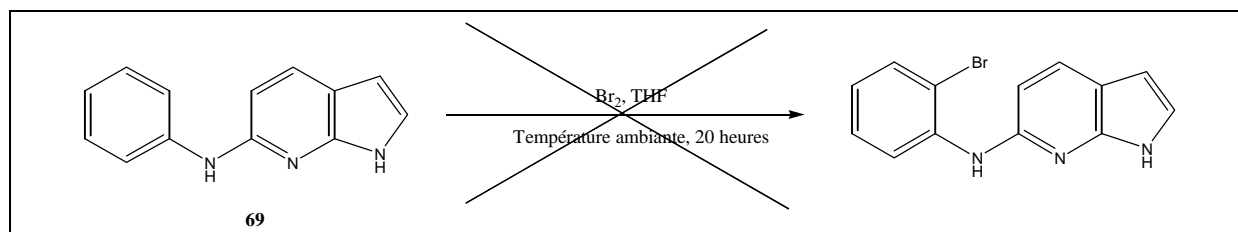


Figure 218 : Tentative de bromation du composé **69** par du brome dans le THF.

Nous avons ensuite essayé une bromation du composé **69** par du NBS dans le THF. Après 18 heures d'agitation à température ambiante, nous avons isolé un mélange de produits polybromés **71** (Figure 219).

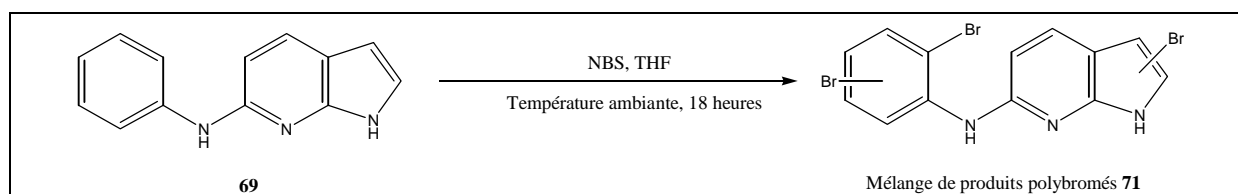


Figure 219 : Tentative de bromation du composé **69** par du NBS dans le THF.

Nous avons ensuite engagé ce mélange, sans purification, dans une réaction de cyclisation en présence d'acétate de palladium et de Na₂CO₃ dans le DMF à reflux. Malheureusement, une fois de plus, cette essai n'a pas conduit à l'obtention du(des) produit(s) cyclisé(s) (Figure 220).

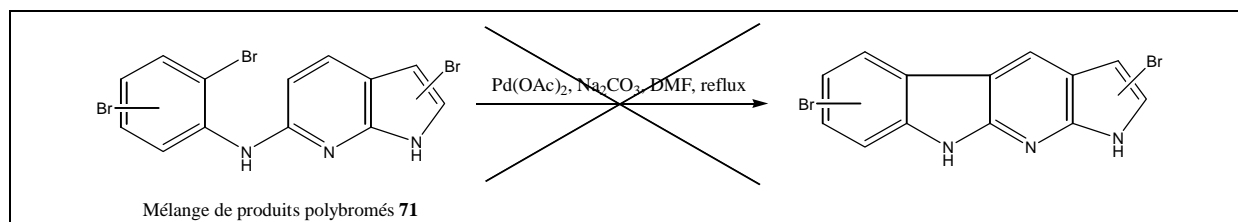


Figure 220 : Tentative de cyclisation du mélange de produits polybromés **71**.

En 1969, le groupe Glaxo a déposé un brevet sur la synthèse d' α -carbolines diversement substituées. Ces carbolines sont synthétisées par cyclisation de la 3-amino-6-chloro-2-(*N*-méthylanilino)pyridine dans l'eau en présence d'acide sulfurique, de nitrite de sodium et de cuivre (Figure 221).¹¹⁶

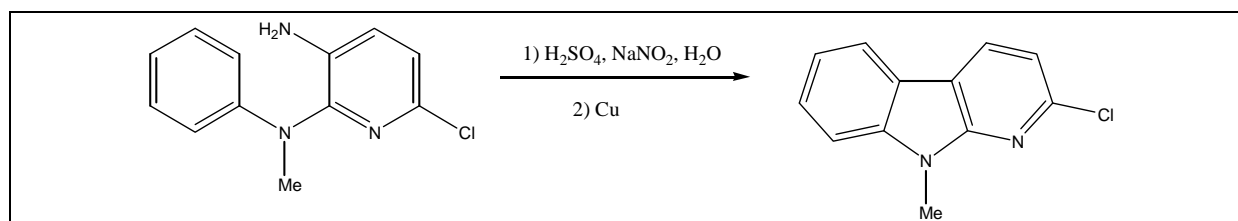


Figure 221 : Synthèse de carbolines par cyclisation de 3-amino-6-chloro-2-(*N*-méthylanilino)pyridine.

Cette réaction est une cyclisation intramoléculaire de Pschorr.

En nous inspirant de ces travaux, nous avons donc tenté de synthétiser le 2-(2-aminoanilino)azaindole en faisant réagir dans une bombe métallique le bromoazaindole **67**

¹¹⁶ Glaxo. Fr. Patent 2,003,999, 1969; *Chem. Abs.* **1969**, 72, 111444.

avec un large excès d'orthophénylènediamine commerciale en présence d'eau à 200°C pendant 12 heures. Malheureusement, cette méthode, qui avait permis l'obtention du composé **69** par réaction entre le composé **67** et l'aniline, n'a pas, dans ce cas, permis de conduire au dérivé attendu. Nous n'avons donc pas pu essayer la réaction de cyclisation du sel de diazonium correspondant catalysée par du cuivre (Figure 222).

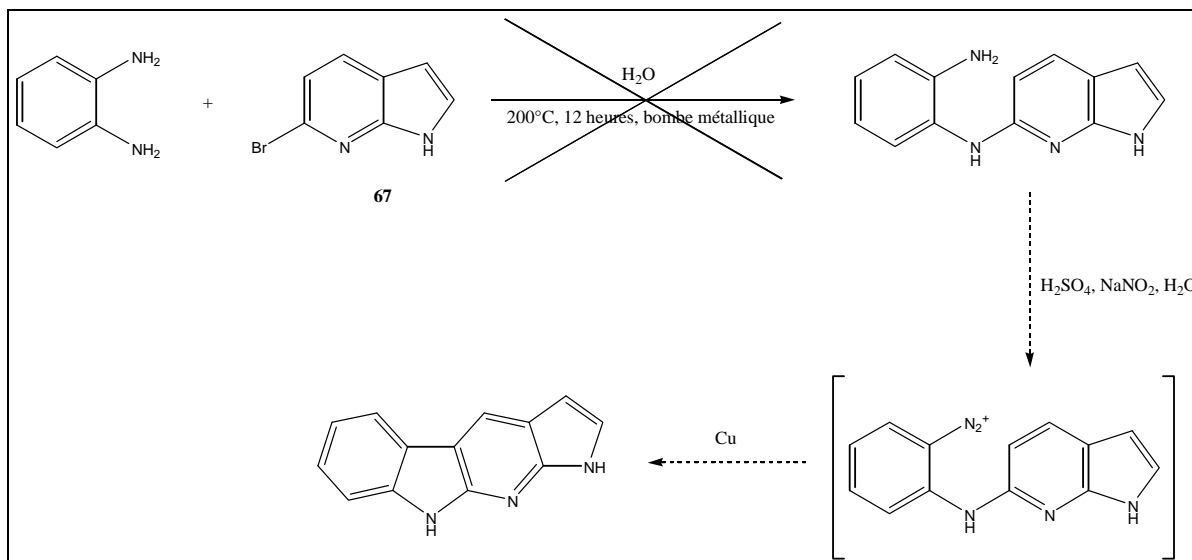


Figure 222 : Tentative de couplage entre le bromoazaindole **67** et l'orthophénylènediamine commerciale.

Cette méthode avait conduit au produit de couplage **69** en utilisant de l'aniline au lieu de l'ortho-phénylènediamine. Cette différence de réactivité pourrait venir d'un manque d'homogénéité du milieu réactionnel (l'ortho-phénylènediamine est un solide à température ambiante tandis que l'aniline est un liquide).

III.5- Bilan

Dans cette famille, malgré de nombreuses tentatives, le chef de file de la famille **C** n'a jamais été obtenu, seul l'intermédiaire **69** et le produit de photooxydation correspondant **70** ont été préparés (Figure 223).

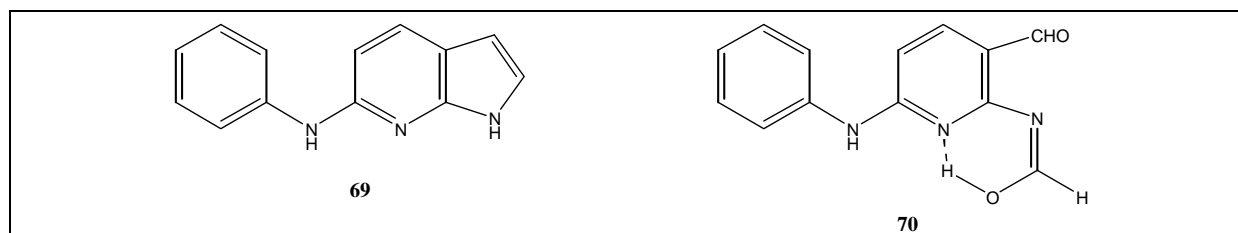


Figure 223 : Composés de la famille **C** soumis aux tests d'activité antiproliférative.

Ces composés **69** et **70** ont été soumis à des tests d'activité antiproliférative

IV- Conclusion

Au cours de ce travail, trois familles de composés ont été développées.

Dans la famille **A**, 14 produits, qui diffèrent entre eux par la protection ou non de la partie osidique et par la nature des groupements présents sur la partie aromatique, ont été synthétisés et soumis à différents tests biologiques (Figure 224).

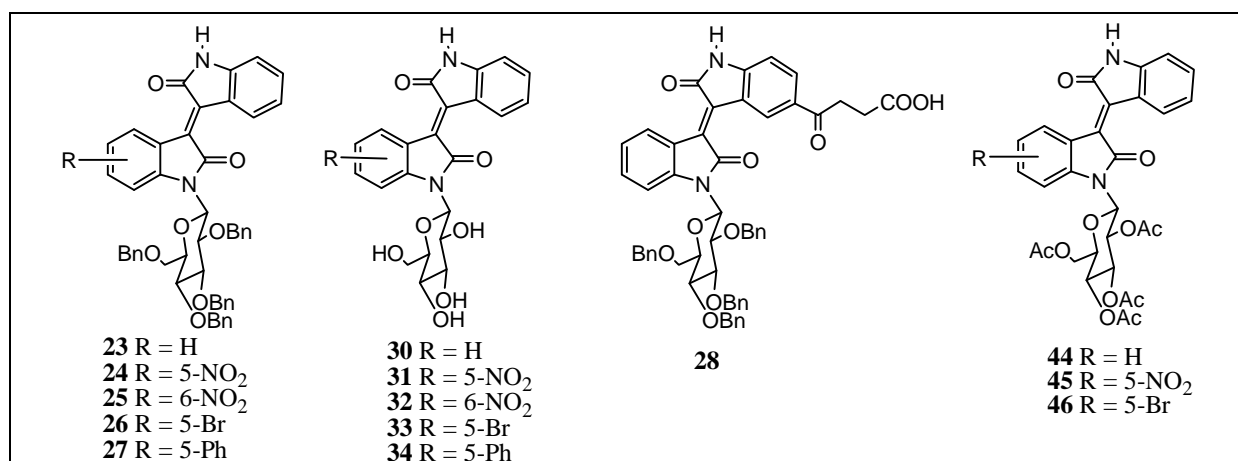


Figure 224 : Structures des composés de la famille **A** soumis aux tests biologiques.

Dans la famille **B**, 4 produits, qui diffèrent entre eux par la nature de l'acide aminé introduit en position 3 de l'oxindole, ont été synthétisés et soumis à différents tests biologiques (Figure 225).

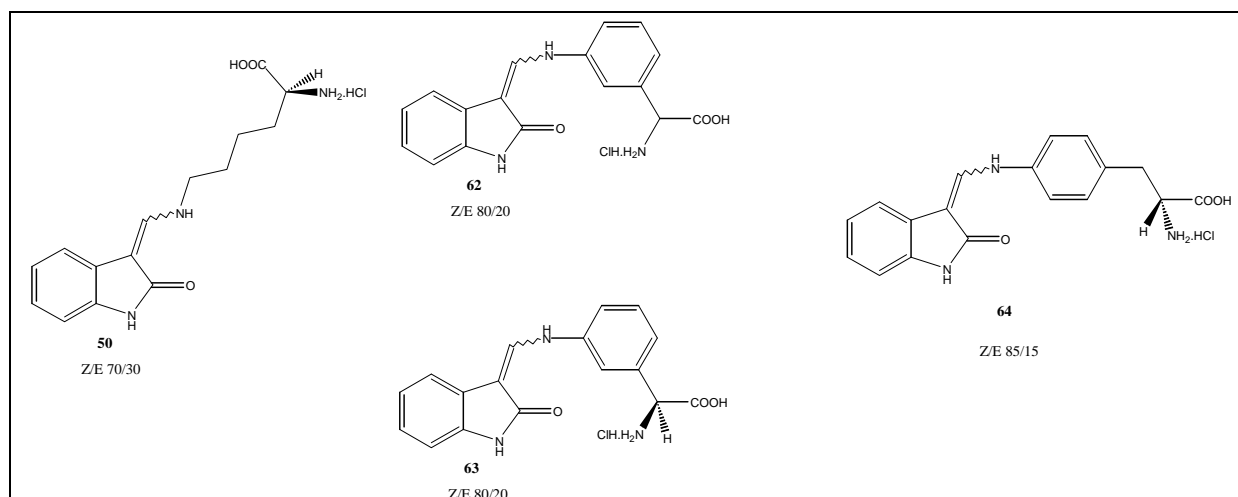


Figure 225 : Structures des différents composés de la famille **B** soumis aux tests biologiques.

Dans la famille **C**, malgré de nombreux essais, le chef de file n'a jamais été synthétisé. Seuls le composé **69**, intermédiaire réactionnel dans la préparation du tétracycle **II**, et un produit de photooxydation **70** ont été synthétisés et caractérisés. Ces deux composés ont ensuite également été soumis à des tests d'activité antiproliférative (Figure 226).

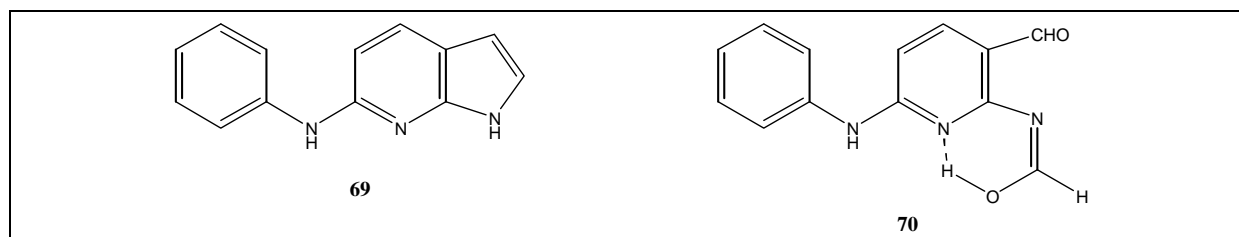


Figure 226 : Composés de la famille C soumis aux tests d'activité antiproliférative.

Les résultats de ces différents tests sont détaillés dans la partie IV de ce manuscrit.

Troisième partie: Modélisation moléculaire

I- Introduction

Une étude de docking (fixation du ligand dans le site de fixation de l'ATP de l'enzyme cible) et de minimisation d'énergie par mécanique moléculaire des complexes formés par le chef de file de la famille des bisoxindoles **30** et les différents représentants de la famille des amino acides **50**, **63** et **64** dans le site de fixation de l'ATP du FGFR₁ a été mise en oeuvre afin de voir si ces molécules pouvaient présenter une bonne affinité pour ce site (Figure 227). Ces travaux ont été réalisés par Pierre Saliba lors de son stage de Master 1, sous la direction de Bettina Aboab.

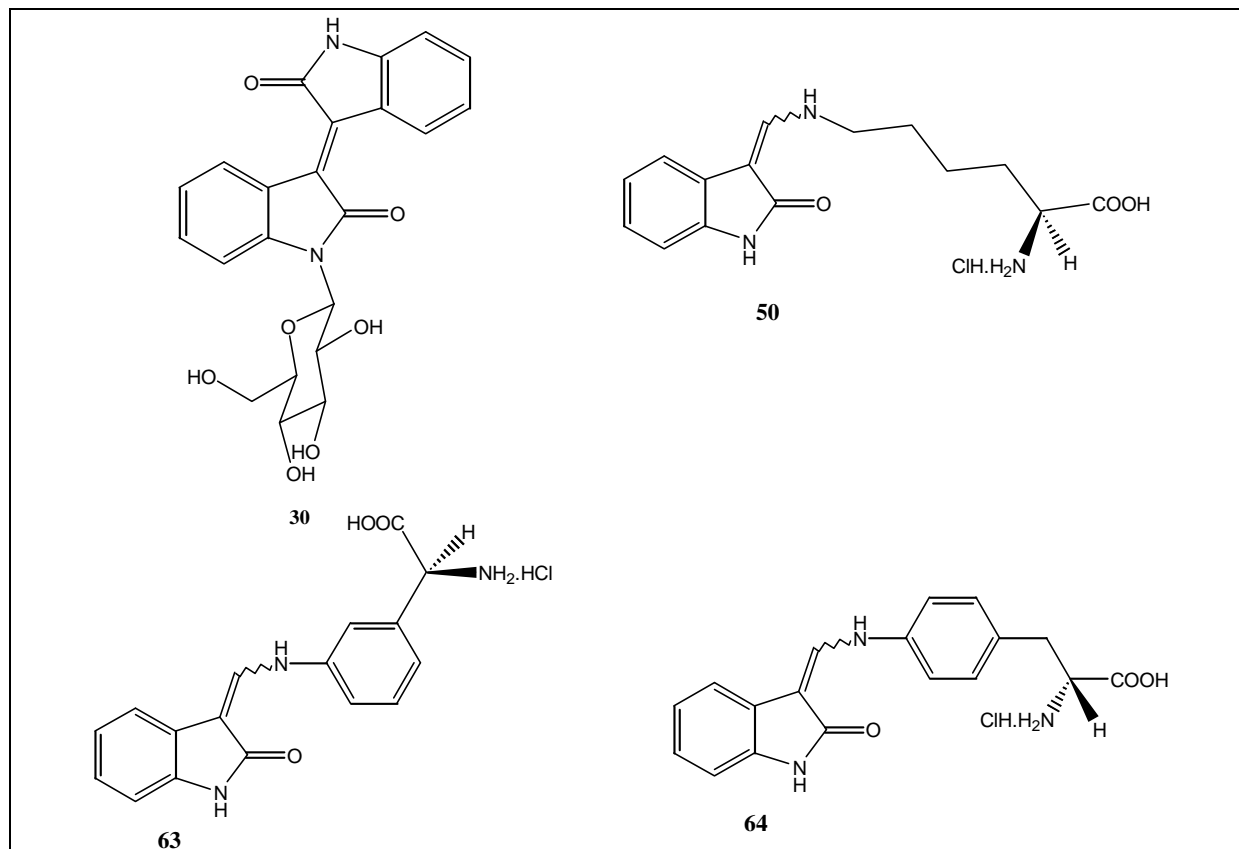


Figure 227 : Structures des composés **30**, **50**, **63** et **64**.

II- Principe des calculs réalisés

Après docking, une minimisation d'énergie par mécanique moléculaire de chaque complexe FGFR₁-ligand permet d'obtenir un système moléculaire stable et d'en prédire les activités inhibitrices en déterminant les liaisons susceptibles de s'établir dans le système. En effet, pour qu'un inhibiteur ait une activité inhibitrice potentielle, il est nécessaire que deux liaisons hydrogène s'établissent entre cet inhibiteur et les résidus glutamate 562 et alanine 564 du site de fixation de l'ATP du FGFR₁.

Tous les calculs de mécanique moléculaire et de dynamique moléculaire sont effectués en posant plusieurs hypothèses :

- Un seul monomère du domaine tyrosine kinase du FGFR₁ est pris en compte lors du docking. On suppose que les inhibiteurs auront le même comportement dans un environnement comportant un seul monomère que dans un environnement dimérique.
- La conformation de plus basse énergie du ligand en phase gaz est la même que lorsqu'il est dans le site actif de la molécule. C'est pourquoi les molécules ont été minimisées en phase gaz avant d'être placées dans le site actif pour l'étude de docking.
- Les charges partielles utilisées sont celles déterminées par les calculs quantiques préliminaires.

Les critères retenus afin de vérifier la possibilité d'établir une liaison hydrogène sont les suivants :

- La distance entre l'atome d'hydrogène et l'atome accepteur X est comprise entre 1,2 et 2,6 Å.

- L'angle de valence XHX doit être compris entre 120 et 180 degrés.

De plus, pour étudier la flexibilité des différents ligands dans le site ATP du FGFR₁ et obtenir le complexe de moindre énergie, on réalise une étude de recuit simulé par dynamique moléculaire sur chacun des complexes à partir de la structure minimisée par mécanique moléculaire.

Le recuit simulé est une technique qui permet de déterminer le minimum absolu sur une surface d'énergie potentielle correspondant à une molécule. Il s'effectue par dynamiques moléculaires successives en refroidissant le système moléculaire par paliers de 310 à 0 K.

Pour cette étude, nous réalisons deux types de recuit simulé :

- Recuit simulé par dynamique moléculaire de 310 à 0 K du complexe FGFR₁-ligand : les molécules sont positionnées à l'intérieur même du site actif afin de simuler leur comportement une fois fixées au récepteur.
- Recuit simulé par dynamique moléculaire de 310 à 0 K simulant l'entrée du ligand dans le site ATP du FGFR₁ afin de déterminer si le ligand pénètre dans la poche de fixation de l'ATP ou non.

Les calculs sont effectués à l'aide du logiciel Insight II¹¹⁷ en utilisant le champ de force CFF91.¹¹⁸

Pour tester notre méthode de prédiction d'activité biologique, nous avons effectué un calcul de dynamique moléculaire test sur le complexe FGFR₁-SU4984 (inhibiteur connu du FGFR₁).

Nous obtenons le cliché suivant lors de la phase de simulation à l'intérieur du site actif (Figure 228). On peut constater que les liaisons hydrogène mettant en jeu, d'une part le carbonyle de l'oxindole du SU4984 et le résidu Ala 564 du site ATP, et, d'autre part l'hydrogène porté par l'atome d'azote de l'oxindole du SU4984 et le résidu Glu 562 de l'ATP peuvent s'établir. Ceci permet de valider notre méthode en montrant que les calculs donnent des résultats cohérents avec les activités réelles des molécules.

¹¹⁷ Accelrys, release 2000.1, San Diego CA.

¹¹⁸ Maple, J.R.; Hwang, M.-J.; Stockfisch, T.P.; Dinur, U.; Waldman, M.; Ewig, C.S.; Hagler, A.T. *J. Comp. Chem.* **1994**, 15, 162-182.

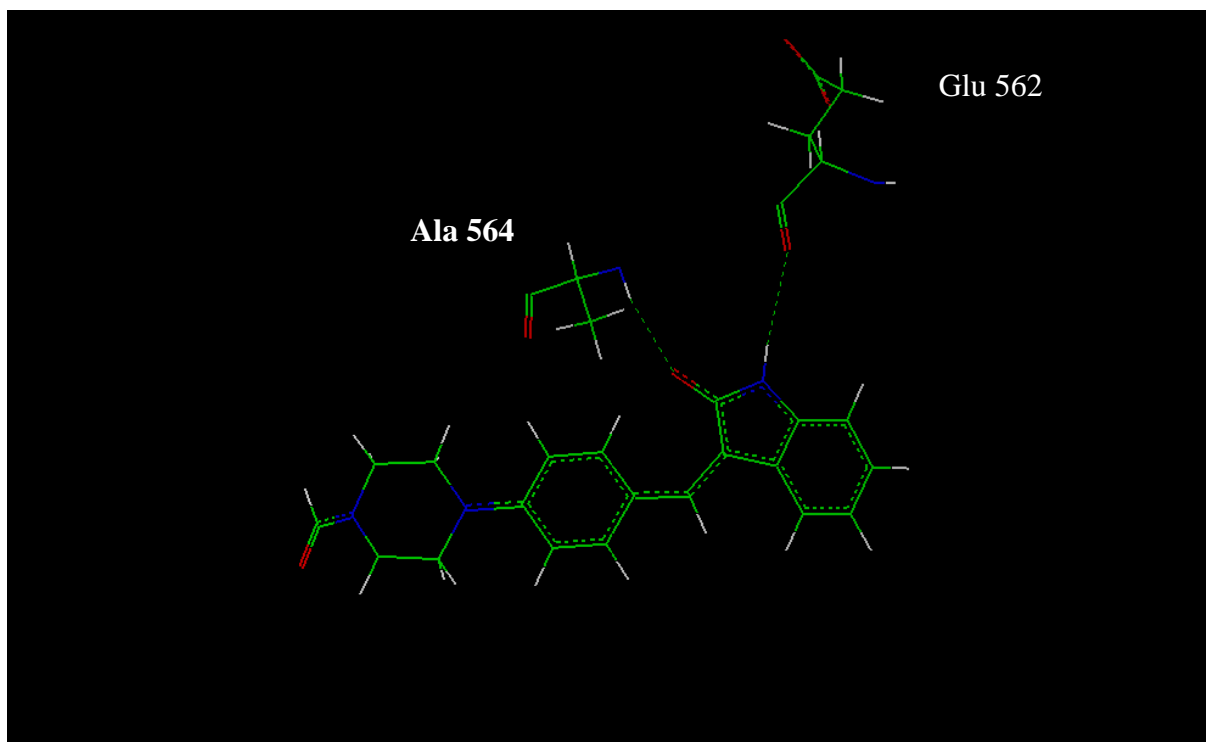


Figure 228 : Recuit simulé du complexe FGFR₁-SU4984 (les liaisons hydrogène sont représentées en pointillés).

III- Etude dans le site actif

Les recuits simulés des différents complexes FGFR₁-ligand sont réalisés à partir des complexes obtenus par minimisation d'énergie.

III.1- Etude de la molécule **30**

Après recuit simulé, l'énergie du complexe FGFR1-**30** est de -4928 kcal/mol. Sur la Figure 229, on peut voir que des liaisons hydrogène mettant en jeu, d'une part le carbonyle de l'oxindole de cette molécule et le résidu Ala 564 du site ATP, et, d'autre part l'hydrogène porté par l'atome d'azote de l'oxindole et le carbonyle du résidu Glu 562 du site ATP, peuvent s'établir.

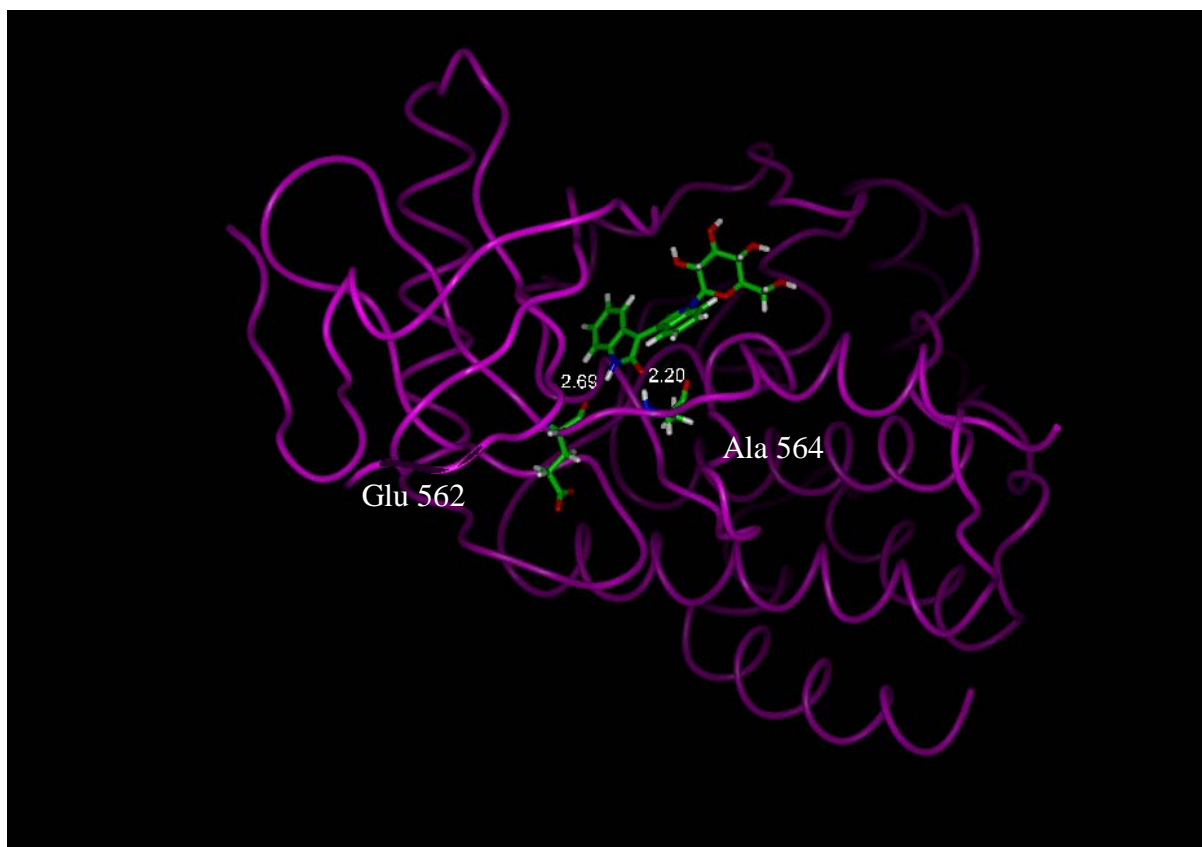


Figure 229 : Résultat de la minimisation d'énergie de la molécule **30** dans le site actif du FGFR₁.

Ce composé semble donc être un bon candidat pour l'inhibition du FGFR₁.

III.2- Etude de la molécule **50**

La molécule **50** est obtenue sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères (**50E** et **50Z**), le diastéréoisomère Z étant largement majoritaire. Chacun de ces deux diastéréoisomères est étudié.

Après recuit simulé, le complexe FGFR₁-**50E** a une énergie de -5195 kcal/mol. On observe une liaison hydrogène entre le carbonyle de l'oxindole et le résidu Ala 564 du site ATP, mais pas de liaison hydrogène entre l'hydrogène porté par l'azote de l'oxindole et le carbonyle du résidu Glu 562 du site ATP. Par contre, on observe une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'hydrogène de l'amine en bout de chaîne et le carbonyle de l'oxindole (Figure 230).

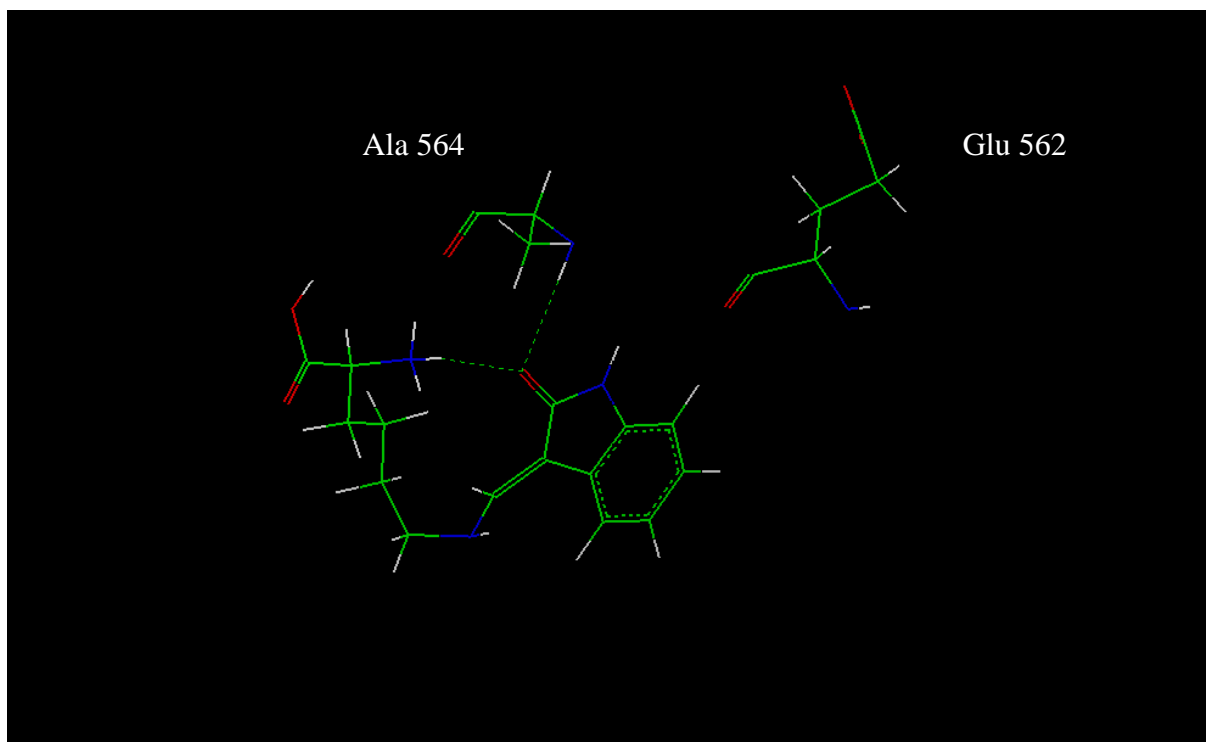


Figure 230 : Recuit simulé du complexe FGFR₁-**50E** (les liaisons hydrogène sont représentées en pointillé).

Le diastéréoisomère E de la molécule **50** ne semble donc pas être un bon candidat pour l'inhibition de FGFR₁.

Le complexe FGFR₁-**50Z** a une énergie est de -5329 kcal/mol. On n'observe pas de liaison hydrogène intermoléculaire ni entre le carbonyle de l'oxindole et le résidu Ala 564 du site ATP, ni entre l'hydrogène porté par l'azote de l'oxindole et le carbonyle du résidu Glu 562 du site ATP. Par contre, on observe une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'oxygène du carbonyle de l'oxindole et l'hydrogène porté par l'azote vinylique (Figure 231).

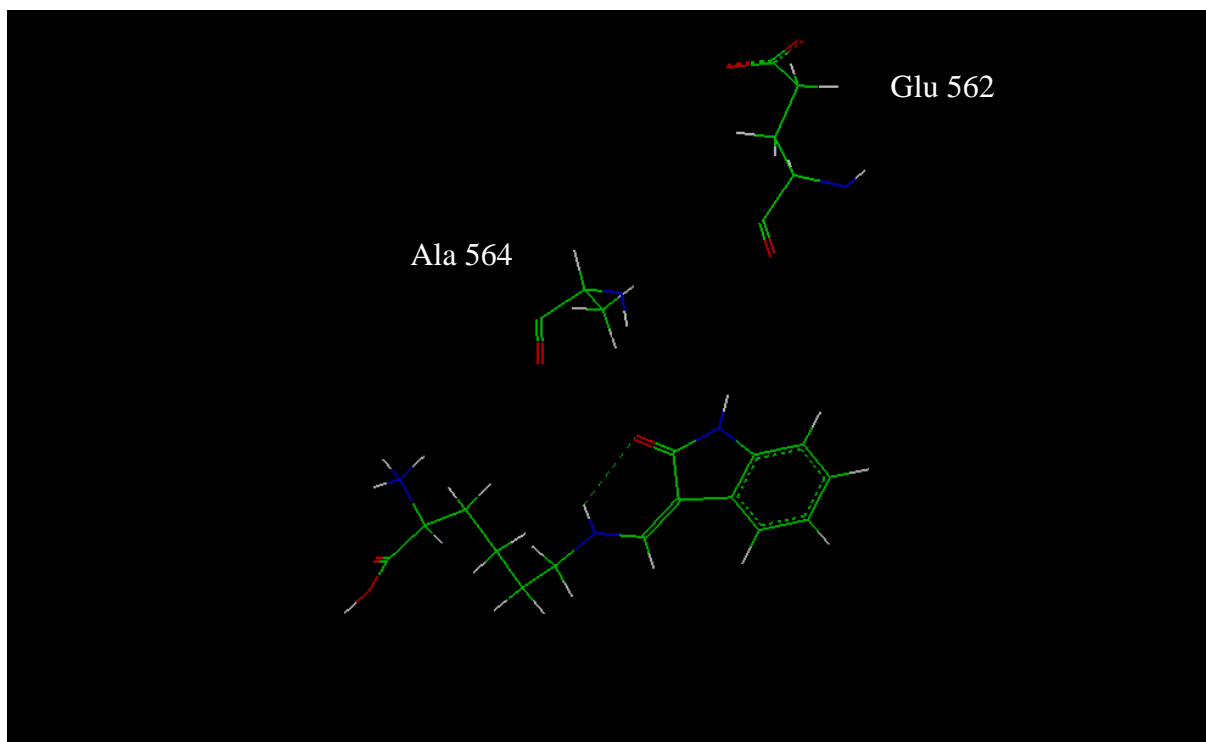


Figure 231 : Dynamique moléculaire du complexe FGFR₁-**50Z** (la liaison hydrogène est représentée en pointillé).

Le diastéréoisomère Z de la molécule **50** ne semble donc pas être un bon candidat pour l'inhibition de FGFR₁.

III.3- Etude de la molécule **63**

La molécule **63** est également obtenue sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères (**63E** et **63Z**), le diastéréoisomère Z étant très largement majoritaire. Chacun de ces deux diastéréoisomères est étudié.

Après recuit simulé le complexe FGFR₁-**63E** a une énergie est de -5312 kcal/mol. On observe une liaison hydrogène entre le carbonyle de l'oxindole et le résidu Ala 564 du site ATP, mais on n'observe pas de liaison hydrogène entre l'hydrogène porté par l'azote de l'oxindole et le carbonyle du résidu Glu 562 du site ATP (Figure 232).

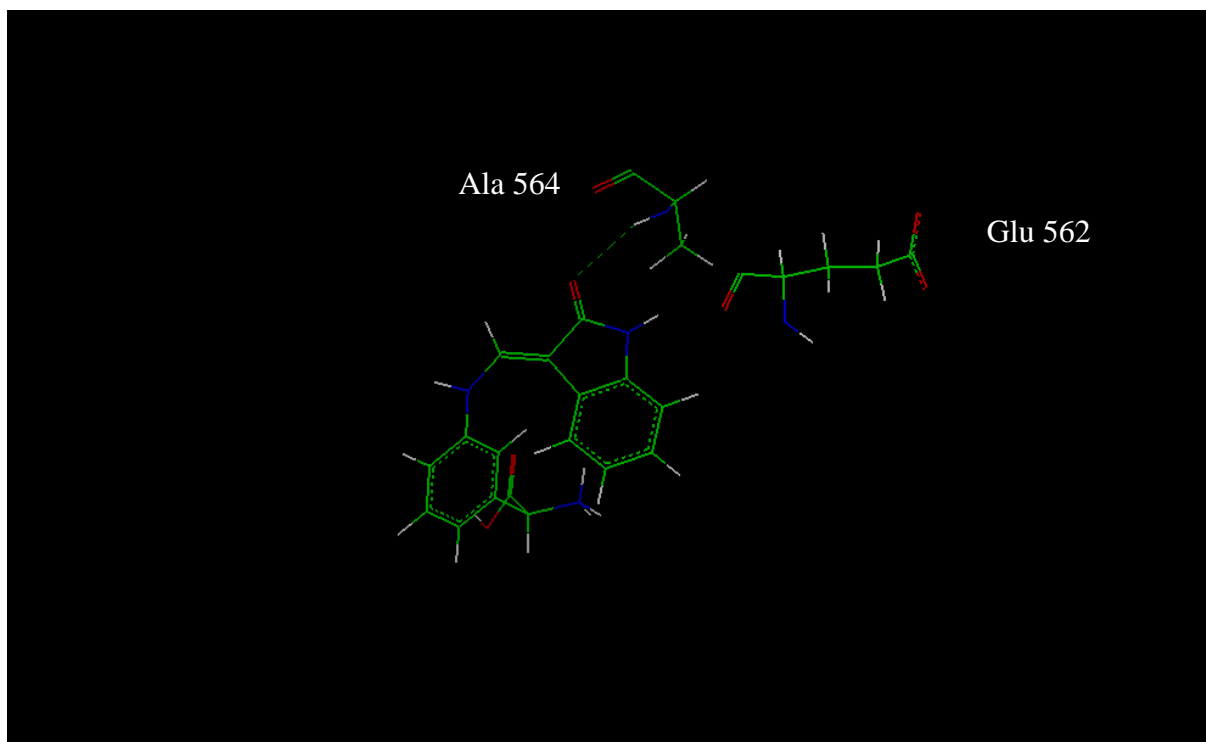


Figure 232 : Recuit simulé du complexe FGFR₁-**63E** (la liaison hydrogène est représentée en pointillés).

Le diastéréoisomère E de la molécule **63** ne semble donc pas être un bon candidat pour l'inhibition de FGFR₁.

Le complexe FGFR₁-**63Z** a une énergie est de -5302 kcal/mol. On observe une liaison hydrogène entre le carbonyle de l'oxindole et le résidu Ala 564 du site ATP, une liaison hydrogène entre l'hydrogène porté par l'azote de l'oxindole et le carbonyle du résidu Glu 562 du site ATP ainsi qu'une liaison hydrogène intramoléculaire entre le carbonyle de l'oxindole et l'hydrogène porté par l'atome d'azote vinylique (Figure 233).

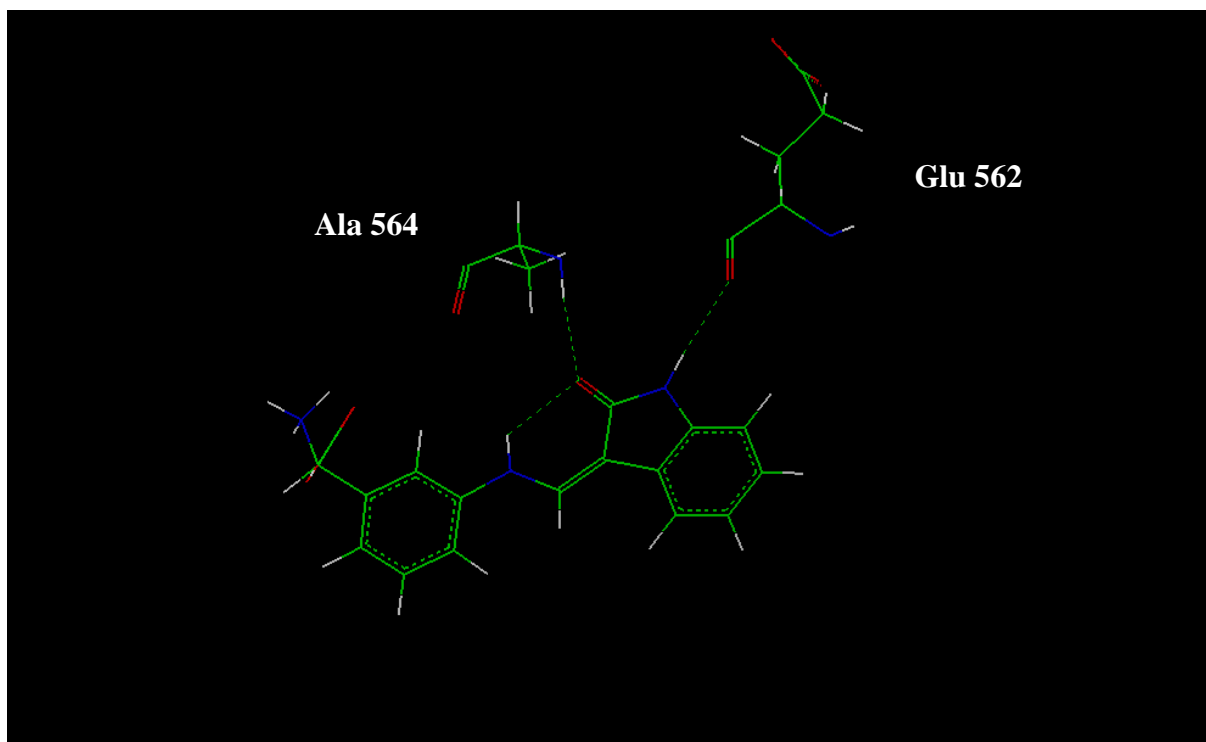


Figure 233 : Recuit simulé du complexe FGFR₁-**63Z** (les liaisons hydrogène sont représentées en pointillé).

Le diastéréoisomère Z de la molécule **63** devrait donc être un bon inhibiteur du FGFR₁.

III.4- Etude de la molécule **64**

La molécule **64** est également obtenue sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères (**64E** et **64Z**), le diastéréoisomère Z étant largement majoritaire. Chacun de ces deux diastéréoisomères a été étudié.

Après recuit simulé, le complexe FGFR₁-**64E** a une énergie est de -5287 kcal/mol. On observe une liaison hydrogène entre l'oxygène du carbonyle de l'oxindole et le résidu Ala 564 du site de l'ATP mais il n'y a pas de liaison hydrogène entre l'hydrogène porté par l'azote de l'oxindole et le carbonyle du résidu Glu 562 du site de l'ATP (Figure 234).

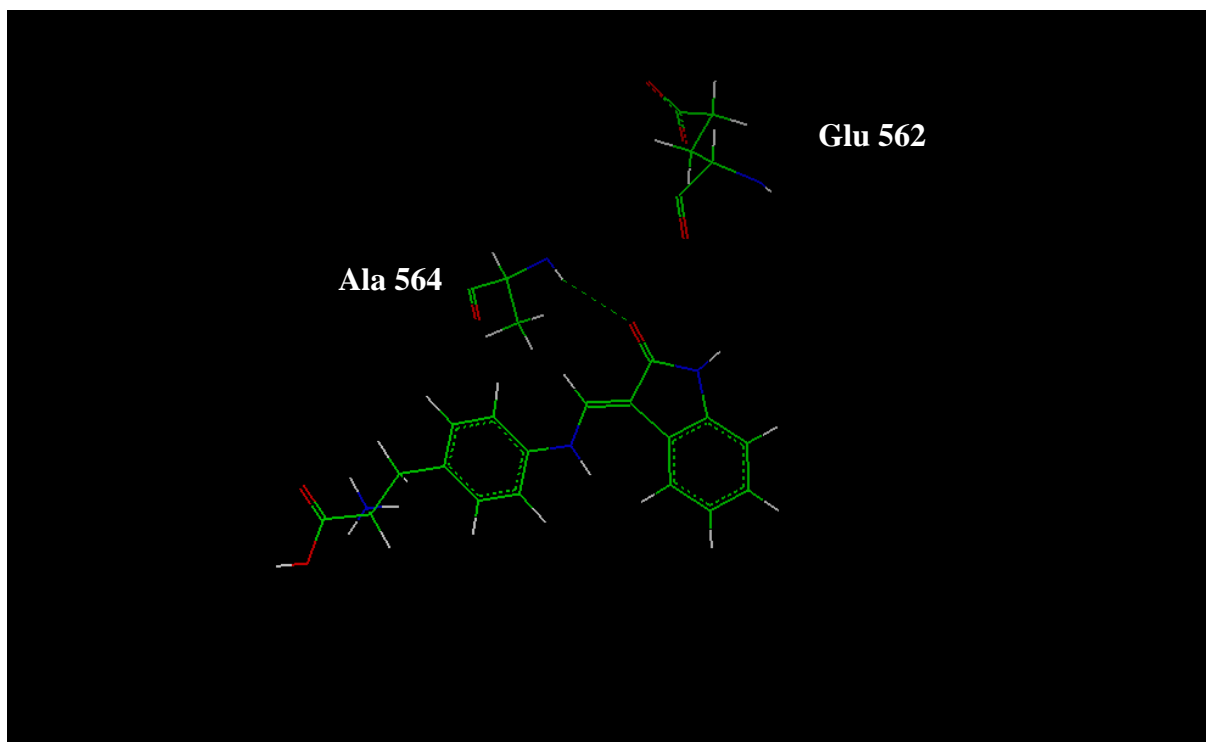


Figure 234 : Recuit simulé du complexe FGFR₁-**64E** (la liaison hydrogène est représentée en pointillés).

Le diastéréoisomère E de la molécule **64** ne semble donc pas être un bon candidat pour l'inhibition du FGFR₁

Pour le complexe FGFR₁-**64Z**, l'énergie est de -5306 kcal/mol. On observe une liaison hydrogène entre le carbonyle de l'oxindole et le résidu Ala 564 du site de l'ATP, ainsi qu'une liaison hydrogène entre l'hydrogène porté par l'azote de l'oxindole et le carbonyle du résidu Glu 562 de l'ATP ainsi qu'une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'oxygène du carbonyle de l'oxindole et l'hydrogène porté par l'atome d'azote vinylique (Figure 235).

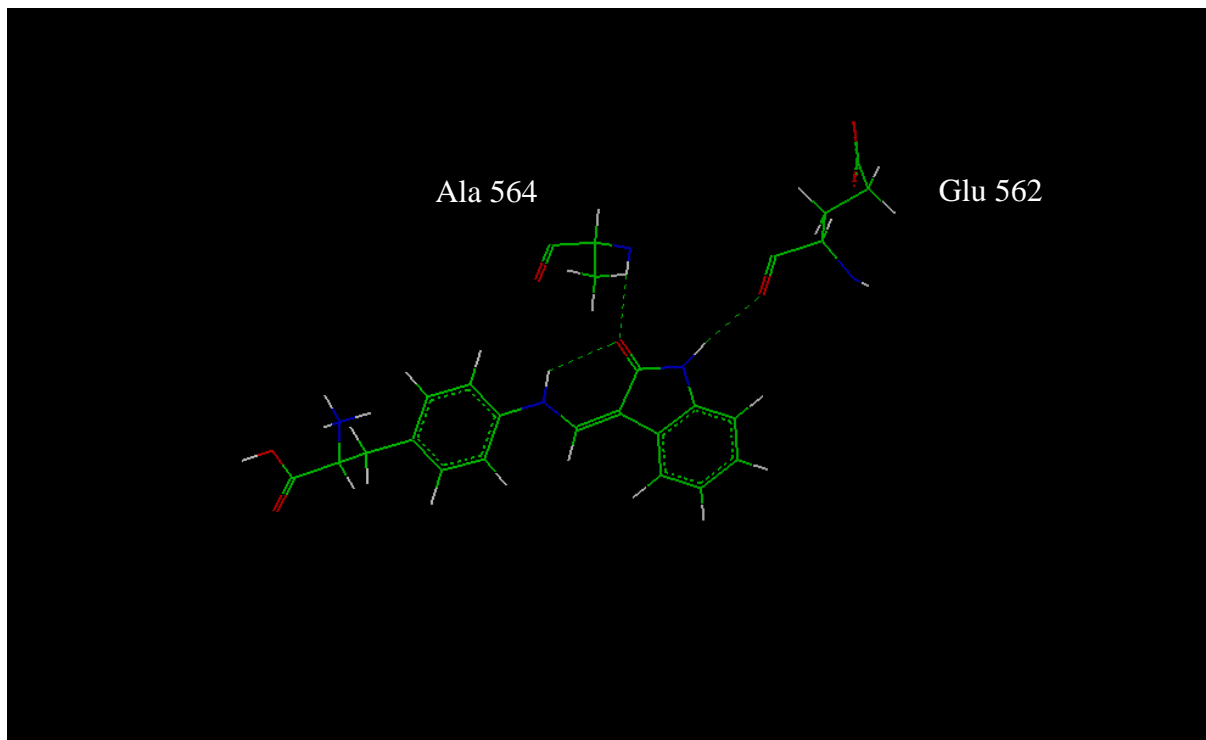


Figure 235 : Recuit simulé du complexe FGFR₁-**64Z** (les liaisons hydrogène sont représentées en pointillés).

Le diastéréoisomère Z de la molécule **64** semble donc être un bon candidat pour l'inhibition du FGFR₁.

Ces études ont été réalisées avec les inhibiteurs potentiels positionnés dans le site ATP dès le départ, donc en supposant que le ligand arrive à pénétrer dans le site de fixation de l'ATP. Il faut maintenant compléter ce travail par des simulations réalisées avec les inhibiteurs potentiels hors du site ATP, ceci afin de mimer l'approche de ces molécules et de voir ainsi si elles sont susceptibles d'atteindre leur cible ou au contraire d'aller établir d'autres liaisons hydrogène avec d'autres acides aminés.

IV- Etude hors-site du composé **30**

Un calcul de surface de Van der Waals sur le FGFR₁ a été effectué en déterminant le caractère lipophile à la surface de la protéine. Les zones de couleur bleue correspondent à des acides aminés hydrophiles tels que l'aspartate ou le glutamate. Ces acides aminés pourraient établir des liaisons hydrogène avec la partie sucre du composé **30** et ainsi l'empêcher de parvenir jusqu'à l'intérieur de la poche de fixation de l'ATP (Figure 236).

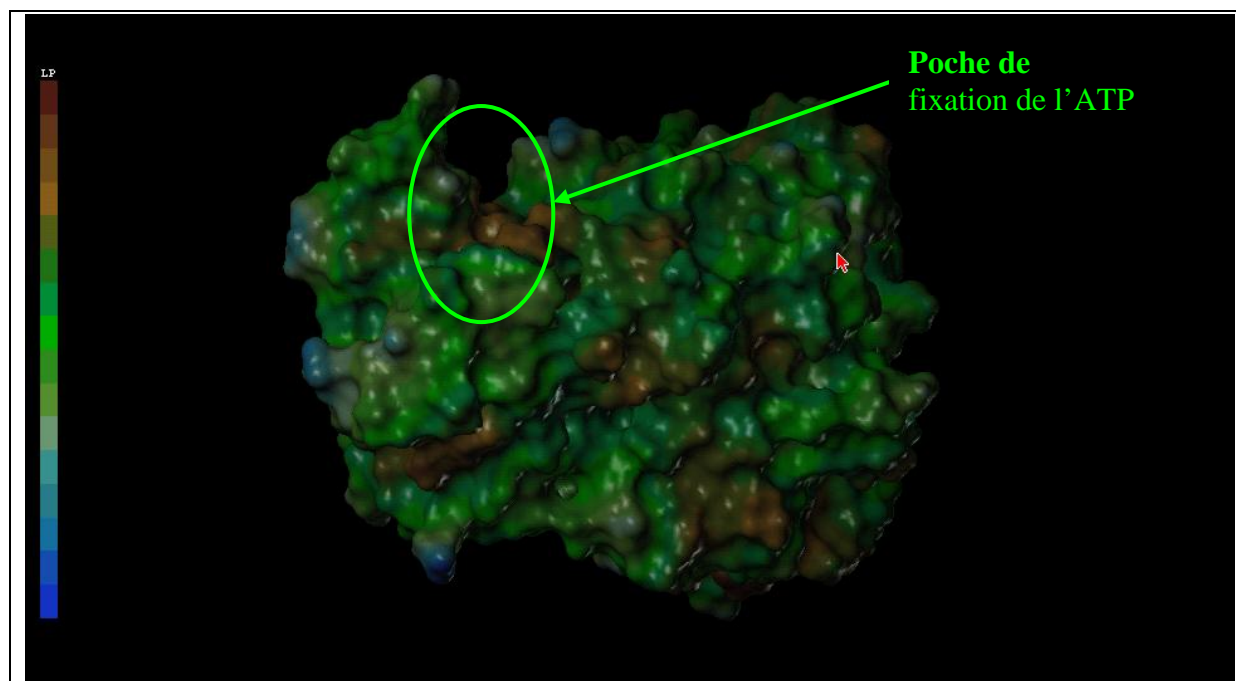


Figure 236 : Surface de Van der Waals du FGFR₁. L'échelle de lipophilie va du bleu (zone moins lipophile) au vert (zone plus lipophile).

Le recuit simulé par dynamique moléculaire fourni un complexe dont l'énergie est de -4946 kcal/mol. Sur la Figure 237 on peut remarquer que le composé **30** reste bloqué à l'extérieur du site de fixation de l'ATP.

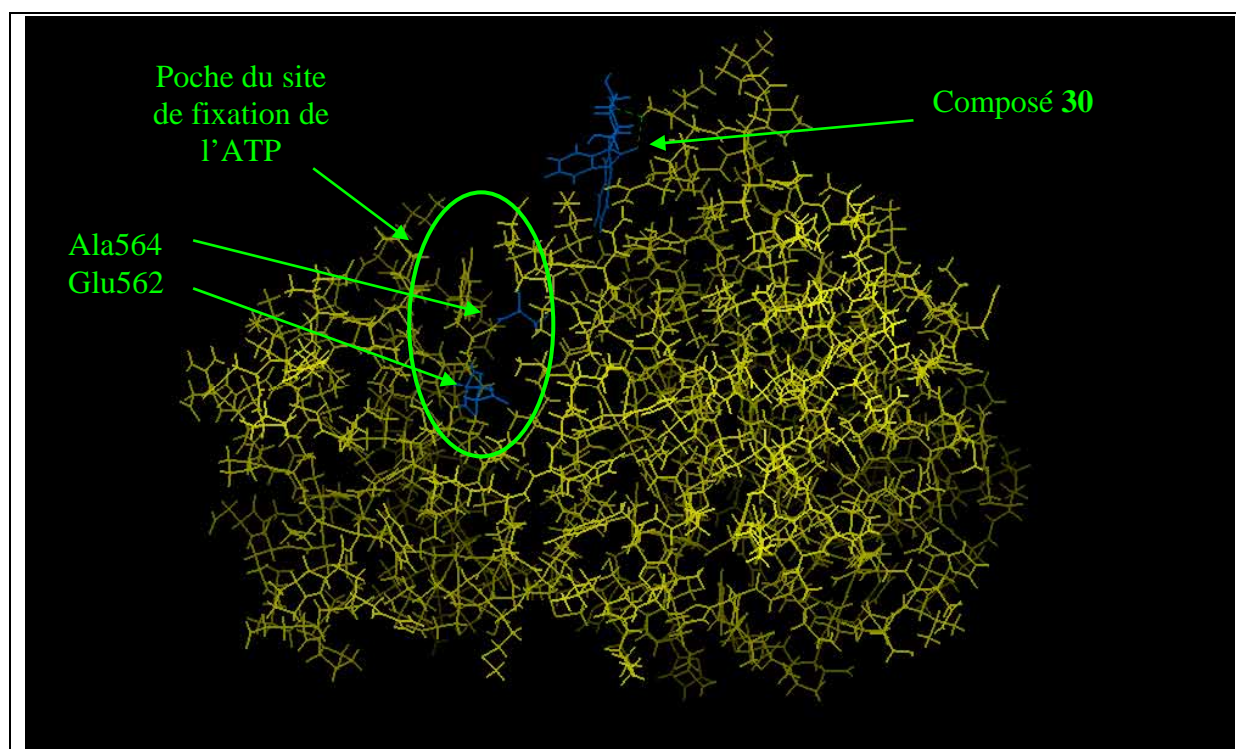


Figure 237 : Vue complète du FGFR₁ et du composé **30**.

En effet, on voit que le composé **30** a établi une liaison hydrogène avec le résidu glutamate 592 qui se trouve à la surface du monomère du FGFR₁ considéré. Ceci empêche l'entrée du composé **30** dans le site de fixation de l'ATP (Figure 238).

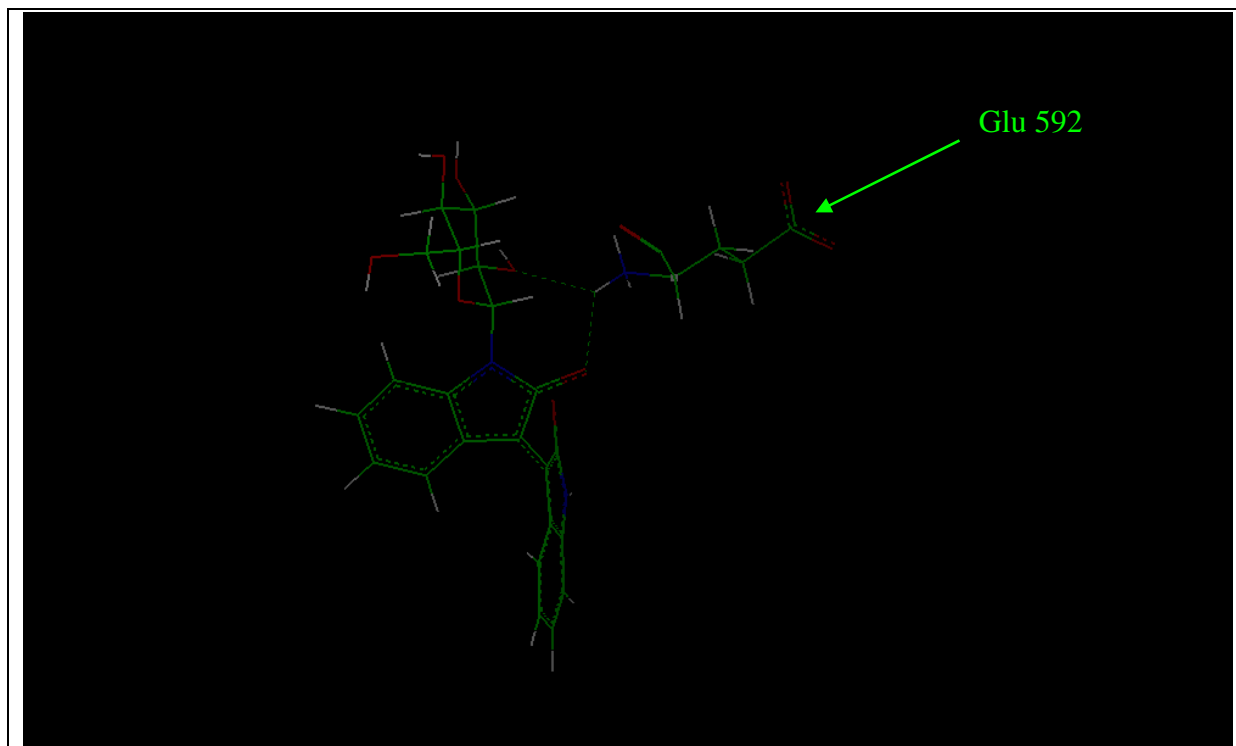


Figure 238 : Les liaisons hydrogène du composé **30** avec le résidu glutamate 592.

Les résultats préliminaires de cette étude «hors-site» devraient être complétés en réalisant plusieurs approches du composé **30** vers le site ATP du FGFR₁ à partir de différents points de départ. Cependant, la présence d'acides aminés hydrophiles à la surface du monomère de FGFR₁, permettant l'établissement de liaisons hydrogène avec le composé **30**, semble défavorable à son entrée dans le site ATP du FGFR₁. Cette expérience devra être validée avec un inhibiteur connu tel que le SU4984.

V- Conclusion

Cette étude de modélisation moléculaire a permis, en nous basant sur la possibilité d'établir les deux liaisons hydrogène indispensables à l'interaction des oxindoles avec le site ATP du FGFR₁, de prédire l'activité inhibitrice potentielle de nos molécules sur FGFR₁ (Tableau 46).

Molécule	Activité présumée sur FGFR ₁ après docking	Activité présumée sur FGFR ₁ après étude «hors-site»
30	Oui	Non
50E	Non	-
50Z	Non	-
63E	Non	-
63Z	Oui	-
64E	Non	-
64Z	Oui	-

Tableau 46 : Récapitulatif des résultats de modélisation moléculaire.

Le recuit simulé du complexe FGFR₁-**30** a montré que le composé **30** devrait être un bon candidat pour l'inhibition du FGFR₁. Cependant, une étude «hors-site» vient contrebalancer ce résultat. En effet, en raison d'interactions avec des résidus hydrophiles présents à la surface du récepteur, le composé pourrait ne pas parvenir jusque dans la poche de fixation de l'ATP. Ce composé ne semble donc pas être un bon candidat pour l'inhibition du FGFR₁.

On peut remarquer que les molécules **63** et **64** présentent une différence d'affinité pour le site ATP du FGFR₁ entre les deux diastéréoisomères. En effet, cette étude prévoit que seuls les diastéréoisomères Z pourraient être actifs. Le composé **50** pourrait ne pas être actif sans doute à cause de la trop grande flexibilité de la chaîne située en position 3 de l'oxindole. En effet, ceci permet un repliement de la molécule sur elle même par établissement de liaisons hydrogène intramoléculaires.

Cependant, ces résultats préliminaires devraient être complétés par des études «hors-site», en cours de réalisation, pour toutes les molécules testées.

Les résultats biologiques sont présentés dans le chapitre suivant. Nous examinerons si nos prédictions d'activité inhibitrice sont en accord avec les résultats des tests biologiques.

Quatrième partie: Tests d'activité biologique

I-Introduction

Les activités antiprolifératives des nouveaux produits préparés au cours de ce travail ont été déterminées sur différentes lignées cellulaires en collaboration avec le Docteur Eric Debiton de l'UMR-INSERM U-484 de Clermont-Ferrand. L'activité inhibitrice de certains produits sur diverses tyrosine kinases purifiées a également été déterminée. Les activités sur PDGFR β , FGFR $_1$, KDR, Tie2 et EGFR ont été déterminées en collaboration avec le Docteur Valérie Polard-Housset de la société Aventis Pharma à Vitry sur Seine. Les activités sur Alk ont été déterminées en collaboration avec le Docteur Rosalind Gunby du Département d'Oncologie Expérimentale du National Cancer Institute de Milan. Enfin, les activités sur PKA ont été étudiées en collaboration avec le Professeur Stein Dorskeland, Kirsten Bronstad et Kristin Viste de l'Université de Bergen.

Les résultats de ces différents tests sont exposés et commentés dans cette quatrième partie.

II- Principe des différents tests effectués

II.1- Activité antiproliférative

Pour tous les composés, les activités antiprolifératives ont été testées sur fibroblastes humains sains, ainsi que sur diverses lignées de cellules cancéreuses humaines : M4Beu (mélanome), MCF7 (adénocarcinome de sein), PC3 (adénocarcinome de la prostate), DLD1 (adénocarcinome du colon), A549 (carcinome pulmonaire non à petites cellules), PA1 (cancer des ovaires) et une lignée de fibroblastes murins L929.

L'activité antiproliférative est exprimée comme étant la concentration de drogue inhibant de 50% la prolifération cellulaire (IC $_{50}$ en μ M).

La cytotoxicité globale est mesurée séquentiellement par l'étude du potentiel réducteur de la culture et par la mesure de la biomasse. Le test à la résazurine¹¹⁹ reflète le potentiel réducteur cellulaire : la résazurine est réduite en résorufine fluorescente par réaction avec différents agents cellulaires réducteurs (Figure 239).

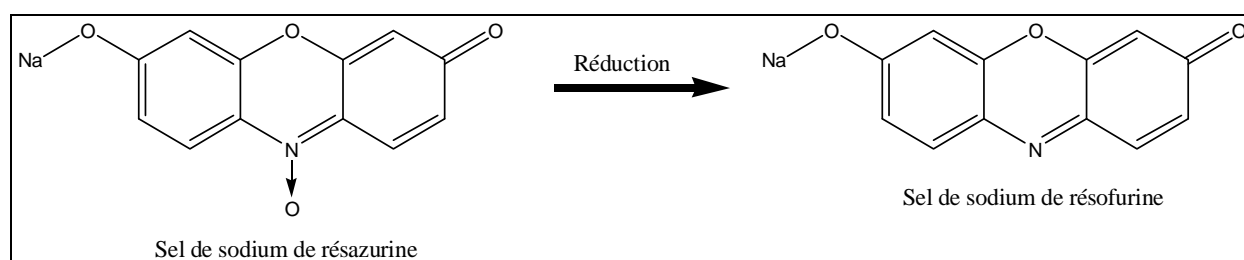


Figure 239 : Réduction de la résazurine en résorufine.

Le test à l'Hoescht 33342¹²⁰ permet de mesurer la biomasse dans chacun des puits, en effet, ce composé est un intercalant des zones riches en AT de l'ADN. Son intercalation dans

¹¹⁹ O'Brien, J.; Wilson, I.; Orton, T.; Pognan, F. *Eur. J. Biochem.* **2000**, 267, 5421-5426.

¹²⁰ Rago, R.; Mitchen, J.; Wilding, G. *Anal. Biochem.* **1990**, 191, 31-34.

l'ADN provoque une forte augmentation de sa fluorescence et permet d'évaluer la quantité d'ADN cellulaire dans le puits de culture (Figure 240).

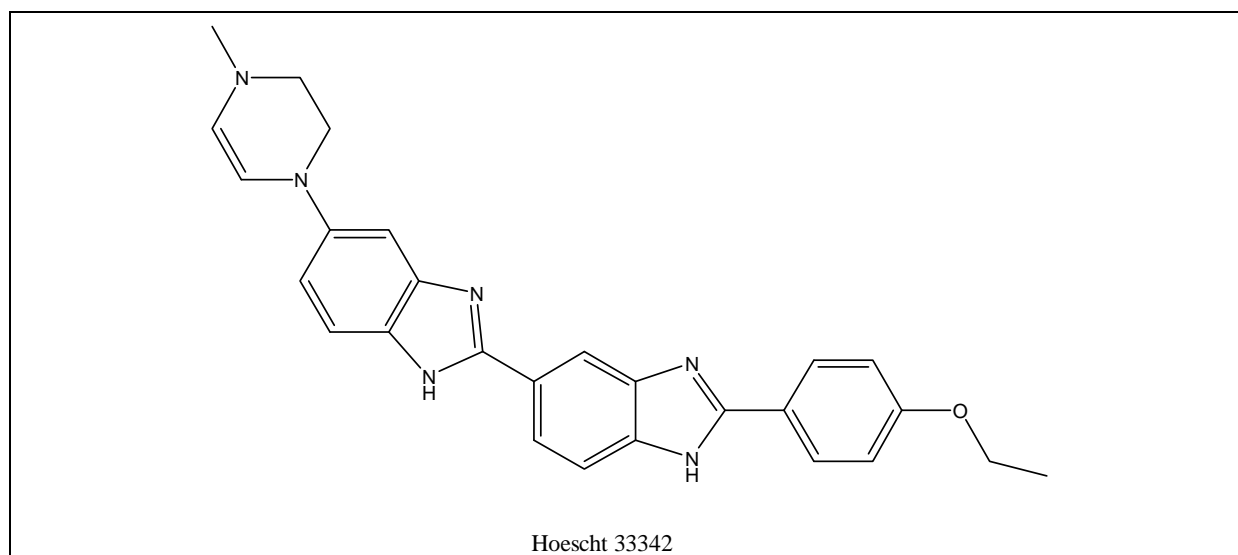


Figure 240: Structure de l'Hoescht 33342.

Pour ces deux techniques, la fluorescence est proportionnelle à la quantité de cellules présentes dans l'échantillon. Ainsi, en comparant au témoin solvant, il est possible de déterminer la quantité de cellules présentes en fonction du traitement réalisé. Cependant, il est important de noter que le test à la résazurine donne une évaluation du métabolisme cellulaire alors que celui à l'Hoechst mesure la biomasse. Ceci explique les différences de résultats obtenus parfois entre les deux tests. En effet, dans certaines lignées cellulaires, le potentiel réducteur est important et pas forcément directement proportionnel à la quantité de cellules encore vivantes.

II.2- Activités sur des tyrosines kinases surexprimées ou purifiées

Certains composés ont été testés comme inhibiteurs potentiels de sept kinases. Deux domaines kinases de récepteurs à activité tyrosine kinase (PDGFR β et FGFR $_1$), des récepteurs spécifiques des cellules endothéliales (KDR, Tie2) et EGFR. L'inhibition de la protéine kinase A (PKA), qui est une sérine/thréonine kinase, et de l'Alk, un récepteur à activité tyrosine kinase exprimé dans le système nerveux central, a également été étudiée.

Les pourcentages d'inhibition *in vitro* sur PDGFR β , FGFR $_1$, KDR, Tie2 et EGFR ont été déterminés grâce à un test biochimique réalisé en présence d'une protéine de fusion contenant le domaine cytoplasmique complet de la tyrosine kinase considérée.⁷³ L'inhibition de la réaction de phosphorylation réalisée en présence d'ATP marqué au ^{33}P a été calculée par différence entre la radioactivité mesurée en l'absence et en présence d'inhibiteur, selon le calcul suivant:

$$\% \text{ d'inhibition} = [1 - (\text{cpm}_{(+\text{molécule})} / \text{cpm}_{(-\text{molécule})})] \times 100$$

Le pourcentage d'inhibition de la PKA a été déterminé, par l'évaluation de son activité de transfert de phosphore radioactif (amené par de l'ATP marqué au ^{32}P) en présence d'une

⁷³ Messaoudi, S.; Sancelme, M.; Polard-Housset, V.; Aboab, B.; Moreau, P.; Prudhomme, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39, 453-458.

quantité déterminée de l'inhibiteur potentiel et d'un heptapeptide accepteur de phosphate («kemptide», Leu-Arg-Ala-Ser-Leu-Gly).^{121,122}

L'inhibition de la protéine Alk a été déterminée par un test d'immunoabsorption spécifique utilisant un peptide substrat et le domaine kinase purifié d'Alk.¹²³ Le peptide substrat est immobilisé et phosphorylé par Alk en présence d'ATP, des co-facteurs nécessaires et en présence ou en l'absence d'inhibiteur potentiel. Le substrat phosphorylé est ensuite détecté en utilisant un anticorps anti-phosphotyrosine conjugué à la Horse Raddish Peroxidase (HRP) et la 3,3',5,5'-tetraméthylbenzidine (TMB) (Figure 241) qui est un substrat de l'HRP. L'oxydation de la TMB provoque la formation d'un complexe coloré en bleu. La détection s'effectue ensuite à 450 nm lorsque la réaction a été stoppée par ajout d'acide (passage du bleu au jaune). Le pourcentage d'inhibition est ensuite déterminé en comparant les résultats obtenus en l'absence et en présence d'inhibiteur.

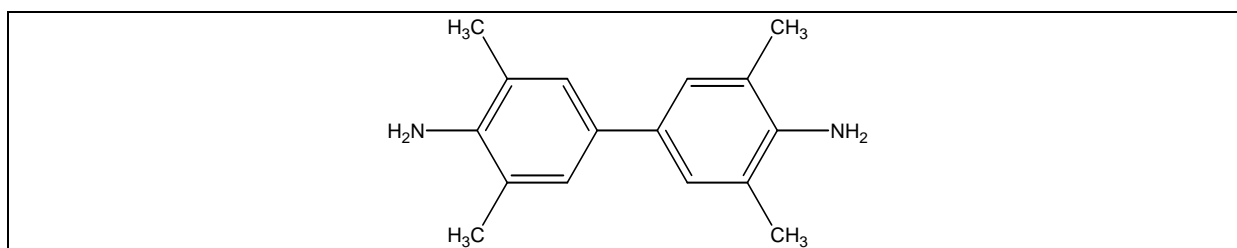


Figure 241 : Structure de la TMB.

III- Résultats

Les résultats biologiques sont présentés par famille de composés synthétisés. Tout d'abord, les bisoxindoles, puis les acides aminés et enfin la famille des arylamineazaindoles.

III.1- Les isoindigos (Famille A)

III.1.1- Tests d'activité antiproliférative

Les activités antiprolifératives ont été mesurées sur 14 produits qui diffèrent entre eux par la protection ou non de la partie osidique et par la nature des groupements présents sur la partie aromatique (Figure 242).

¹²¹ Ekangert, R.; Vintermyrt, O.K.; Houge, G.; Sand, T.-E.; Scott, J.D.; Krebs, E.G.; Eikhom, T.S.; Christoffersen, T.; Ogreid, D.; Doskelandt, S.O. *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 4374-4382.

¹²² Roskoski, R. *Methods Enzymol.* **1983**, 99, 3-6.

¹²³ Gunby, R.H.; Tartari, C.J.; Porchia, F.; Donella-Deana, A.; Scapozza, L.; Gambacorti-Passerini, C. *Haematologica* **2005**, 90, 988-990.

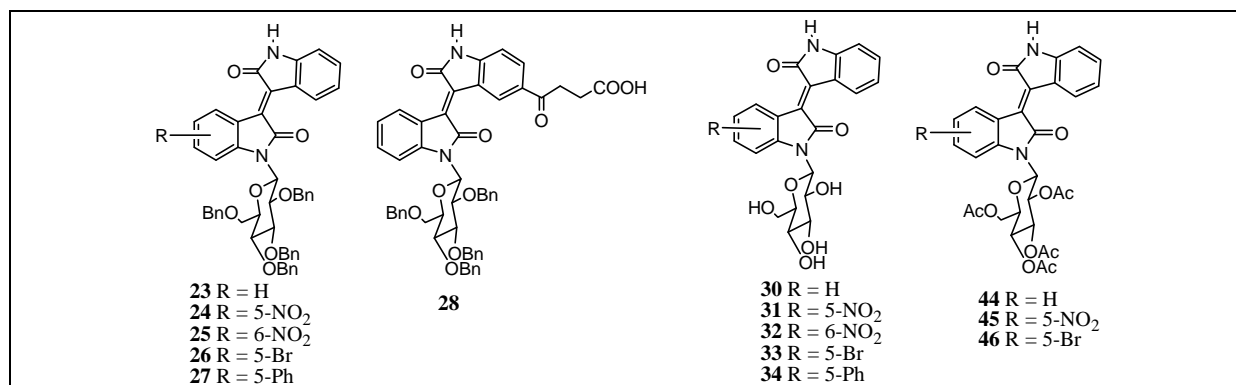


Figure 242: Structure des bisoxindoles soumis aux tests antiprolifératifs.

Parmi les composés testés, seuls trois, les composés **28**, **44** et **46** possèdent des IC₅₀ < 50 μM sur les différentes lignées testées. Dans les tableaux 47 et 48 sont regroupés les résultats, obtenus respectivement à l'aide du test à la résazurine et du test à l'Hoechst 33342 sur 6 lignées cellulaires cancéreuses humaines, 1 lignée cancéreuse murine et des fibroblastes humains.

	Fibro	L929	A549	DLD1	M4Beu	MCF7	PA1	PC3
28	4,2	6,5	12,4	6,0	7,0	8,0	2,5	4,7
44	>50	8,7	>50	17,3	>50	25,1	6,2	25
46	>50	8,1	>50	17,0	>50	24	6,1	3,7

Tableau 47 : IC₅₀ (en μM) des 3 composés actifs de la famille des oxindoles obtenues avec le test à la résazurine.

	Fibro	L929	A549	DLD1	M4Beu	MCF7	PA1	PC3
28	5,1	6,1	12,4	5,3	7,1	5,1	2,7	5,0
44	>50	8,3	>50	11,7	>50	17,9	5,5	21,8
46	>50	7,3	>50	13,5	>50	12	5,5	3,1

Tableau 48 : IC₅₀ (en μM) des 3 composés actifs de la famille des oxindoles obtenues avec le test à l'Hoechst 33342.

Le point commun entre ces 3 composés vient du fait que les trois composés sont protégés sur la partie osidique.

Les composés **44** et **46** qui sont acétylés sont sélectifs des lignées cancéreuses car ils n'ont pas d'activité sur les fibroblastes qui sont des cellules humaines saines. On peut constater aussi qu'ils présentent une sélectivité vis-à-vis des lignées testées; ils sont actifs sur L929, DLD1, MCF7, PA1 et PC3. On remarque aussi que le composé **46** qui est un produit bromé présente une activité légèrement supérieure à celle de son chef de file **44** sur PC3.

Le composé **28** ne fait pas de distinction entre les cellules saines et les cellules cancéreuses, en effet il est actif sur toutes les lignées cellulaires testées. Son activité provient certainement du groupement acide 4-oxobutanoïque en position 5 de l'hétérocycle supérieur puisque son analogue non substitué **23** n'est pas actif. Malheureusement, la grande cytotoxicité de ce composé sur les cellules non cancéreuses compromet l'utilisation de cette molécule dans un quelconque traitement.

III.1.2- Tests sur kinases purifiées

Le composé **30** a été testé sur KDR, FGFR₁, PDGFR β , EGFR et Tie2.

Ce composé a été testé à une concentration de 10 μ M, les résultats sont consignés dans le tableau 49. Dans ce même tableau, on retrouve les pourcentages d'inhibition des différentes références utilisées pour chaque kinases testées.

	KDR	FGFR₁	PDGFRβ	EGFR	Tie2
Référence	52	72	51	82	87
30	5	5	5	15	5

Tableau 49 : Pourcentages d'inhibition du composé **30** à 10 μ M sur différentes kinases.

La référence pour KDR et PDGFR est le SU5614 testé à 1 μ M et pour les autres kinases, la référence est la staurosporine testée à 0,1 μ M (Figure 243).

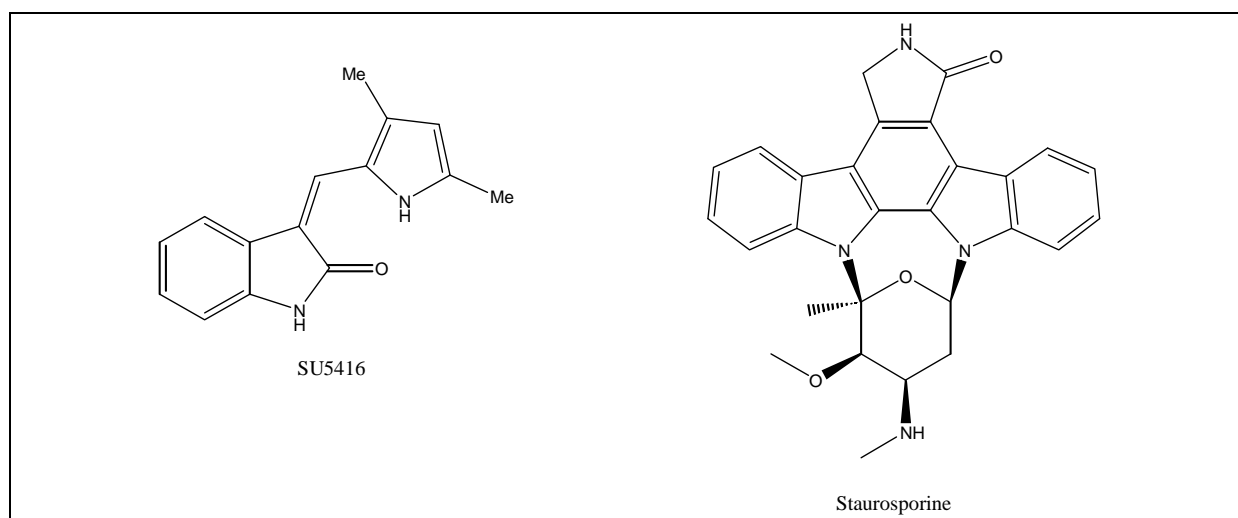


Figure 243 : Structures du SU5614 et de la staurosporine.

On peut noter que le composé **30** est très légèrement actif sur EGFR avec un pourcentage d'inhibition de 15% à 10 μ M. Cependant, on est bien loin de l'efficacité de la référence utilisée. Ces tests ayant été réalisés avant de connaître les résultats des activités antiprolifératives de cette série, seul le chef de file **30** a été testé. Cependant, il serait intéressant de soumettre à ce test les composés **28**, **44** et **46** qui sont cytotoxiques, alors que le composé **30** ne l'est pas.

D'autre part, 13 composés de cette famille ont été testés sur la protéine kinase A à une concentration de 40 μ M: **24**, **25**, **26**, **27**, **28**, **30**, **31**, **32**, **33**, **34**, **44**, **45** et **46** (Figure 244).

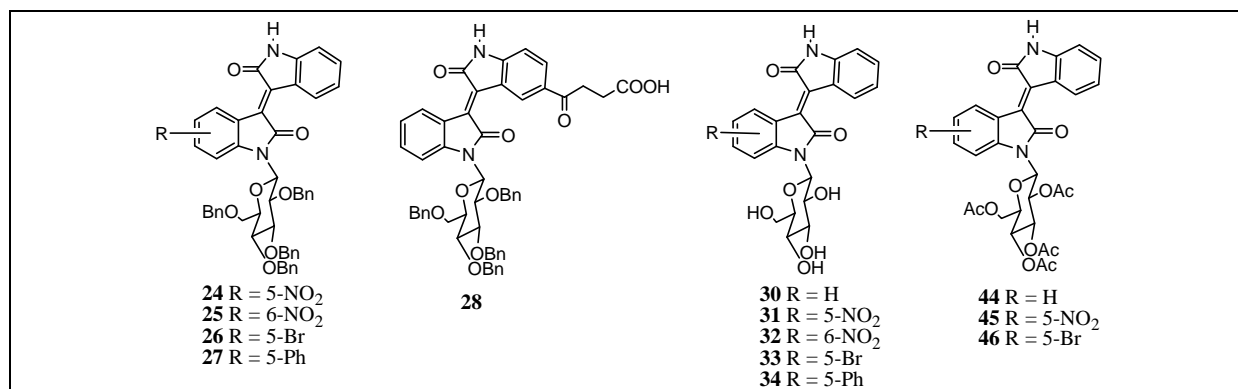


Figure 244 : Structure des composés testés sur PKA.

Dans le tableau 50, sont consignés les pourcentages d'inhibition de ces composés à 40 μ M sur PKA.

	24	25	26	27	28	30	31	32	33	34	44	45	46
% d'inhibition	4,7	2,3	5,6	3,4	9,4	15	2,2	4,2	7,4	6,8	4,7	6,6	5,9

Tableau 50 : Pourcentages d'inhibition de la PKA après traitement par les composés **24**, **25**, **26**, **27**, **28**, **30**, **31**, **32**, **33**, **34**, **44**, **45** et **46** à 40 μ M.

On peut voir que seul le composé **30**, qui est le chef de file, possède une légère activité de 15% comme dans les tests précédents.

Les 13 composés de cette famille ont également été testés sur Alk à des concentrations de 10 et 50 μ M.

Le tableau 51 regroupe les résultats de cette série de tests.

	24	25	26	27	28	30	31	32	33	34	44	45	46
10μM	78,5	84,7	87,8	83,2	71,0	0	6,5	11,9	0	0	17,8	66,9	39,1
50μM	80,6	99,3	96,7	96,2	98,6	0	66,0	6,4	0	89,3	81,1	63,7	51,2

Tableau 51 : Pourcentages d'inhibition de l'Alk après traitement par les composés **24**, **25**, **26**, **27**, **28**, **30**, **31**, **32**, **33**, **34**, **44**, **45** et **46** à 10 μ M et 50 μ M.

Cinq composés semblent avoir une activité intéressante sur Alk : les composés **24**, **25**, **26**, **27** et **28**.

On constate que les 5 produits actifs sont tous benzylés sur leur partie osidique. Cependant, il n'y a pas de relation directe entre l'inhibition de la kinase Alk et les activités antiprolifératives décrites précédemment car parmi les produits actifs sur Alk, seul le composé **28** a montré une activité antiproliférative. Ceci est peut-être dû à des problèmes de passage à travers les membranes cellulaires qui empêchent l'inhibiteur testé d'atteindre sa ou ses cibles biologiques.

III.2- Les amino-acides (Famille B)

III.2.1- Tests d'activité antiproliférative

Les activités antiprolifératives ont été mesurées sur 4 produits qui diffèrent entre eux par la rigidité et l'orientation de la chaîne amino-acide fixée en position 3 sur l'oxindole (Figure 245).

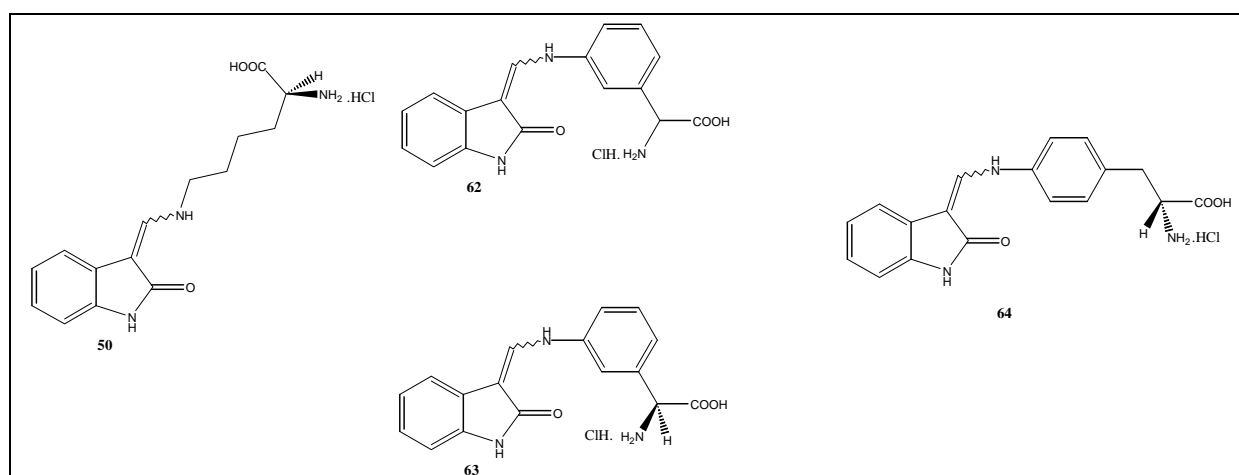


Figure 245 : Structures des amino-acides soumis aux tests antiprolifératifs.

Dans le tableau 52 sont regroupés les résultats, obtenus respectivement à l'aide du test à la résazurine et du test à l'Hoechst 33342 sur 6 lignées cellulaires cancéreuses humaines, 1 lignée cellulaire murine et des fibroblastes humains.

Dans cette famille, seul le composé **50**, qui est substitué en position 3 par la chaîne amino-acide la plus flexible, possède une légère activité. On peut voir une légère sélectivité entre les lignées cancéreuses (pas d'activité sur A549, M4Beu et MCF7), mais il n'y a pas de sélectivité entre cellules cancéreuses et cellules saines (Tableau 52).

	Fibro	L929	A549	DLD1	M4Beu	MCF7	PA1	PC3
50 Test à la résazurine	15 ± 2	19 ± 2	>50	10,9 ± 0,8	>50	>50	17 ± 2	33 ± 2
50 Test à l'Ho33342	14 ± 2	17 ± 1	>50	9,7 ± 0,3	34 ± 4	34 ± 4	15 ± 1	26 ± 1

Tableau 52 : IC₅₀ (en µM) du composé **50** obtenues avec le test à la résazurine et à l'Hoechst 33342.

III.2.2- Tests sur kinases purifiées

Dans cette famille, seul le composé **50** a été testé sur PKA à 40 μM et sur Alk à 10 et 50 μM (Tableau 53).

	PKA (40 μM)	Alk (10 μM)	Alk (50 μM)
50	5,9	16,9	9,5

Tableau 53 : Pourcentages d'inhibition de PKA à 40 μM et d'Alk à 10 μM et 50 μM après traitement avec le composé **50**.

On peut constater que le composé **50** possède une très légère activité inhibitrice sur Alk.

III.3- Les arylamineazaindoles (Famille C)

Dans cette famille, seules les activités antiprolifératives ont été étudiées sur les composés **69** et **70** (Figure 246).

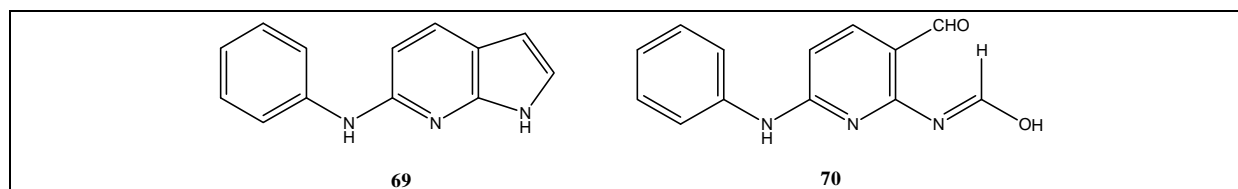


Figure 246 : Structures des arylamineazaindoles soumis aux tests antiprolifératifs.

Aucun de ces composés ne présente une cytotoxicité intéressante.

IV- Conclusion

D'après les tests biologiques, on peut remarquer que les composés de la famille des oxindoles qui sont les plus actifs sont tous protégés sur leur partie osidique, soit par un groupement benzyle ou un groupement acétyle (Figure 247).

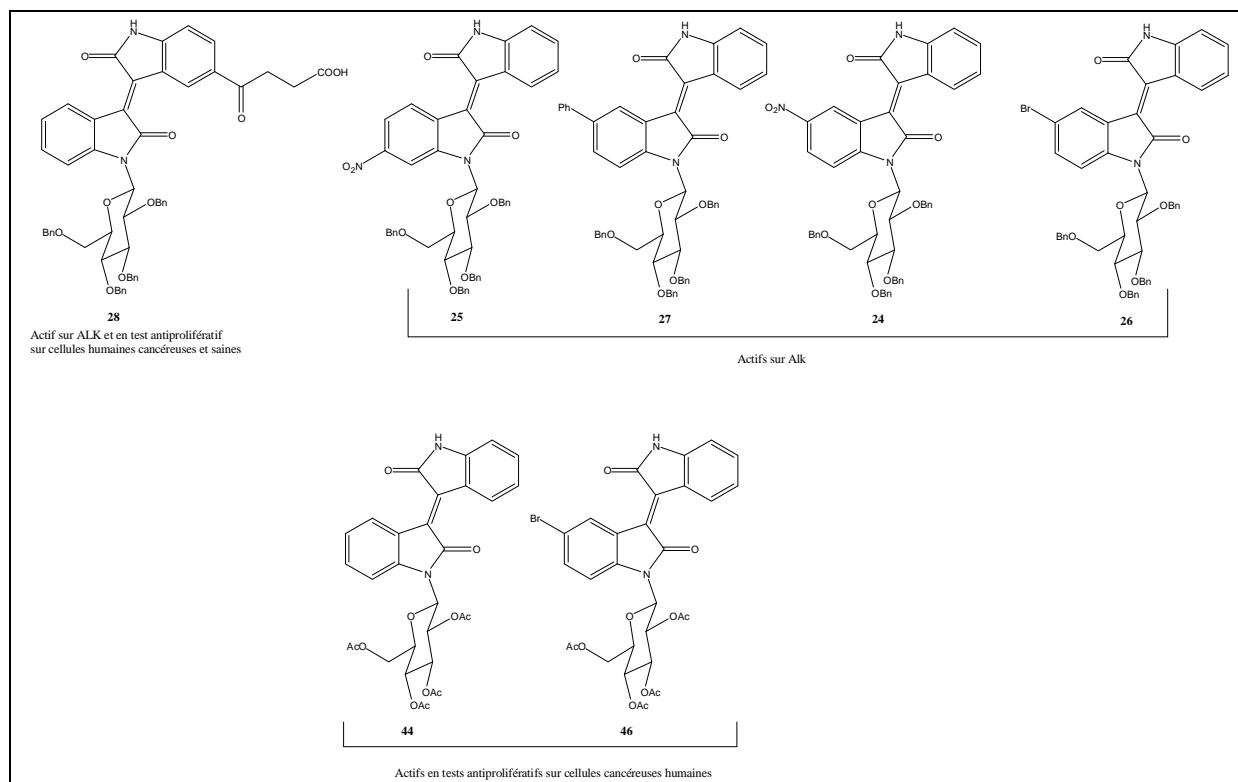


Figure 247 : Structure des oxindoles qui possèdent une activité.

On peut remarquer que le composé **30**, qui pourrait être actif sur $FGFR_1$ d'après les résultats de modélisation moléculaire ne l'est pas du tout. Ceci peut venir du fait que la molécule n'atteint pas le site actif, car d'après les premiers résultats obtenus en dynamique moléculaire pour cette molécule hors du site actif, celle-ci resterait accrochée à l'entrée du site actif.

Pour la famille des amino-acides, seule la molécule **50** possède une légère activité sur cellules cancéreuses et sur Alk. Les résultats de modélisation moléculaire qui ont été faits sur $FGFR_1$ indiquaient que ce composé n'était pas un bon candidat pour l'inhibition du $FGFR_1$. Ceci n'est pas incompatible avec les résultats obtenus lors des études de cytotoxicité, en effet ce composé pourrait agir sur d'autres cibles biologiques.

Enfin, les composés de la famille des arylamineazaindoles testés n'ont révélé aucune activité biologique intéressante.

Conclusion

Conclusion

Ce travail, réalisé grâce à une Bourse de Docteur Ingénieur (BDI) financée par le CNRS et la Région Auvergne, s'inscrit dans le cadre de la recherche de composés antitumoraux.

Au cours de ce travail, trois familles de composés potentiellement inhibiteurs du FGFR₁ ont été développées et leurs activités biologiques ont été évaluées.

Dans la famille **A**, 14 produits qui diffèrent entre eux par la protection ou non de la partie osidique et par la nature des groupements présents sur la partie aromatique ont été synthétisés et soumis à différents tests biologiques (Figure 248).

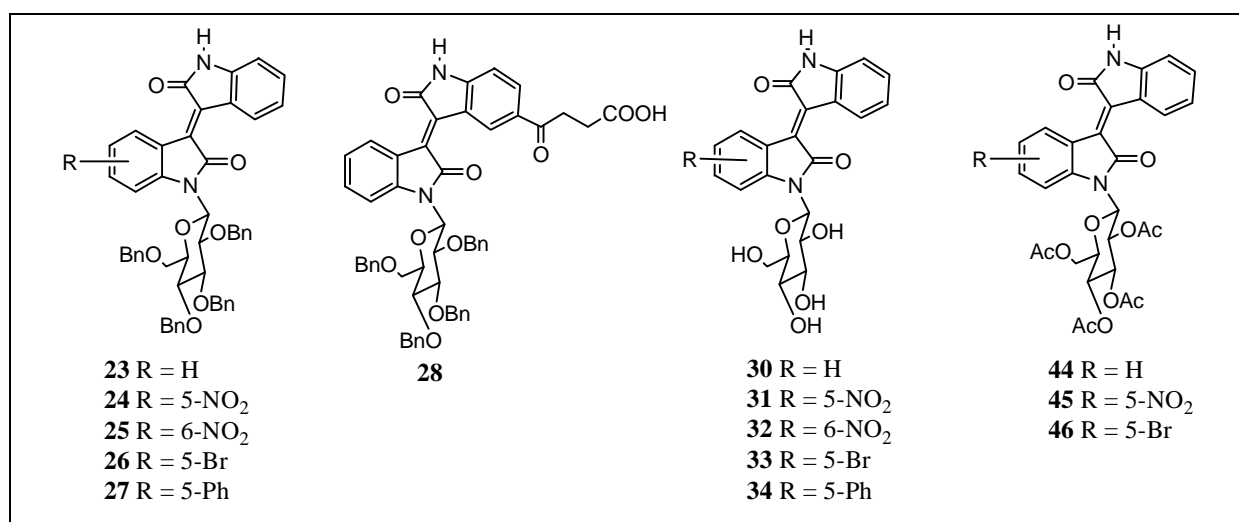


Figure 248 : Structures des composés de la famille **A** soumis aux tests biologiques.

Des études de docking du composé **30**, chef de file de cette famille, dans le site actif du FGFR₁ ont montré que celui-ci devrait avoir une activité inhibitrice. Cependant, comme le montrent les résultats des tests biologiques, ce composé ne possède pas d'activité inhibitrice du FGFR₁. En effet, des études de l'approche du composé **30** vers le site actif ont montré que celui-ci reste accroché en dehors du site ATP du FGFR₁.

D'après les résultats de l'évaluation des activités antiprolifératives de cette famille, on peut remarquer que les composés qui sont les plus actifs sont tous protégés sur leur partie osidique (**28**, **44** et **46**), soit par un groupement benzyle, soit par un groupement acétyle, ce qui permet vraisemblablement un meilleur passage transmembranaire (Figure 249).

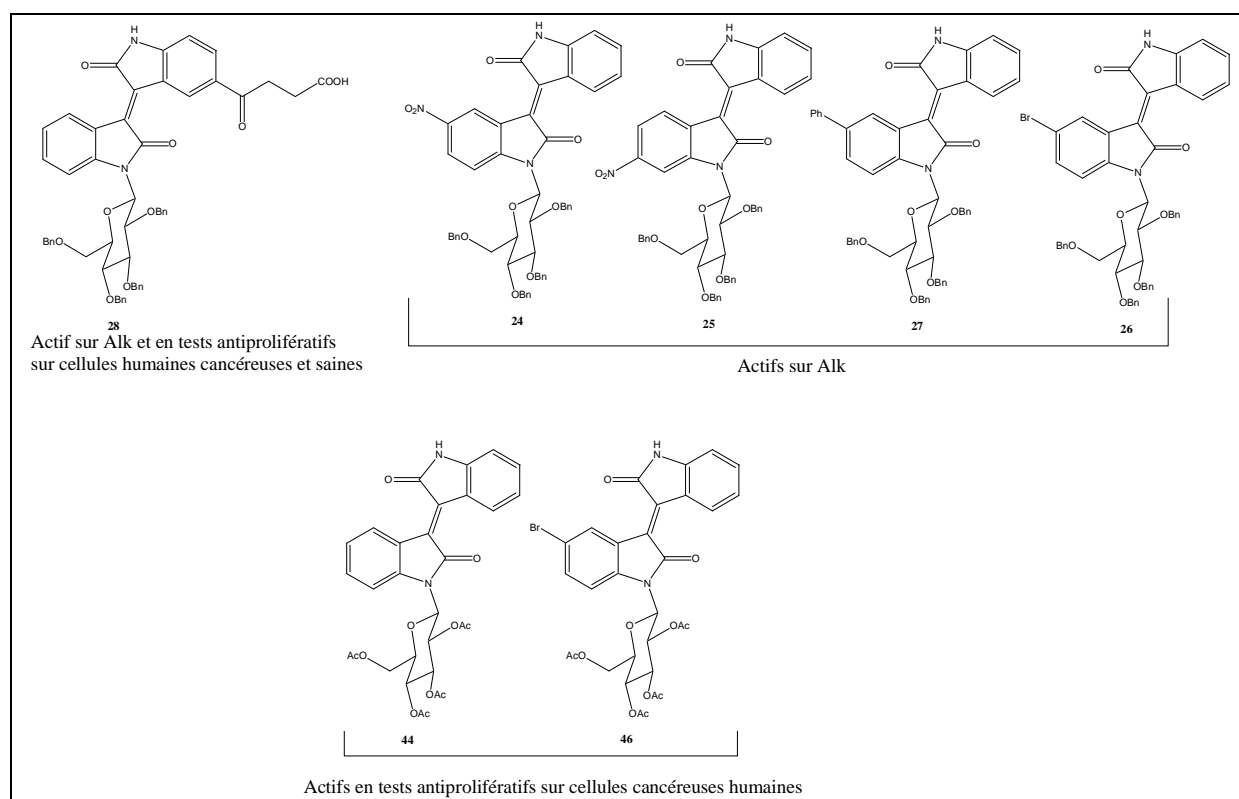


Figure 249 : Structure des oxindoles qui possèdent une activité.

Les composés **44** et **46** qui sont acétylés semblent sélectifs des lignées cancéreuses par rapport aux cellules saines car ils n'ont pas d'activité sur les fibroblastes qui sont des cellules humaines saines. On peut constater aussi qu'ils présentent une sélectivité vis-à-vis des lignées testées ; ils sont actifs sur L929, DLD1, MCF7, PA1 et PC3. On remarque aussi que le composé **46** qui est un produit bromé présente une activité légèrement supérieure à celle de son chef de file **44** sur PC3.

Le composé **28** ne fait pas de distinction entre les cellules saines et les cellules cancéreuses, en effet il est actif sur toutes les lignées cellulaires testées. Son activité provient certainement du groupement acide 4-oxobutanoïque en position 5 de l'hétérocycle supérieur puisque son analogue non substitué **23** n'est pas actif. Malheureusement, la grande cytotoxicité de ce composé sur les cellules non cancéreuses compromet l'utilisation de cette molécule dans un quelconque traitement.

Afin de déterminer leur(s) cible(s) biologique(s), des tests d'inhibition de diverses kinases ont été réalisés sur cette famille. Cinq composés (**24**, **25**, **26**, **27** et **28**) semblent avoir une activité intéressante sur Alk qui est un récepteur à activité tyrosine kinase exprimé dans le système nerveux central. On constate que les 5 produits actifs sont tous benzylés sur leur partie osidique. Cependant, ces essais préliminaires n'ont pas réellement permis de mettre en évidence une cible biologique commune à tous ces composés. En effet, il n'y a pas de relation directe entre l'inhibition de la kinase Alk et les activités antiprolifératives décrites précédemment car, parmi les produits actifs sur Alk, seul le composé **28** a montré une activité antiproliférative. Ceci est peut-être dû à des problèmes de passage à travers les membranes cellulaires qui empêchent l'inhibiteur testé d'atteindre sa ou ses cibles biologiques.

Afin d'améliorer les activités biologiques de cette famille de composés, il semble donc judicieux de préparer des analogues du produit **28** dans le but d'effectuer une étude de relations structure-activité à partir de ce nouveau chef de file.

Dans la famille **B**, 4 produits, qui diffèrent entre eux par la nature de l'acide aminé introduit en position 3 de l'oxindole, ont été synthétisés et soumis à différents tests biologiques (Figure 250).

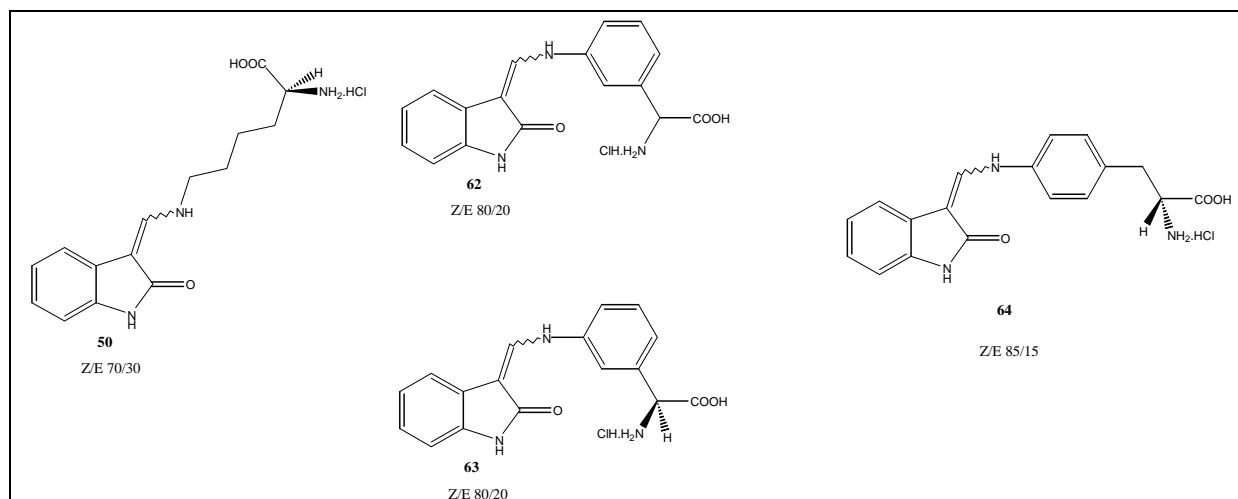


Figure 250 : Structures des différents composés de la famille **B** soumis aux tests biologiques.

Des études de modélisation moléculaire ont permis d'avoir une idée de l'activité potentielle de ces molécules sur FGFR₁. Les isomères Z et E des représentants de cette famille ont été étudiés. Seuls les composés **63Z** et **64Z** semblent pouvoir interagir avec le site ATP du FGFR₁. Cependant, les tests biologiques sur FGFR₁ n'ont pas été réalisés.

Pour cette famille, seule la molécule **50** possède une légère activité sur cellules cancéreuses et sur Alk. La présence d'une chaîne amino-acide flexible en position 3 de l'oxindole semble donc favorable à l'activité biologique de cette famille. Les résultats de modélisation moléculaire qui ont été réalisés sur FGFR₁ indiquaient que ce composé n'était pas un bon candidat pour l'inhibition de ce récepteur, ce qui laisse supposer que ce composé pourrait agir sur d'autres cibles biologiques. Les tests réalisés à ce jour ont montré qu'une des cibles potentielles est la kinase Alk.

Il serait donc intéressant d'effectuer un screening plus large sur différentes cibles biologiques afin de pouvoir entreprendre une étude de relations structure-activité sur des analogues du composé **50**.

Dans la famille **C**, les tests d'activité antiproliférative réalisés sur les composés **69** et **70** n'ont pas mis en évidence d'activité significative (Figure 251).

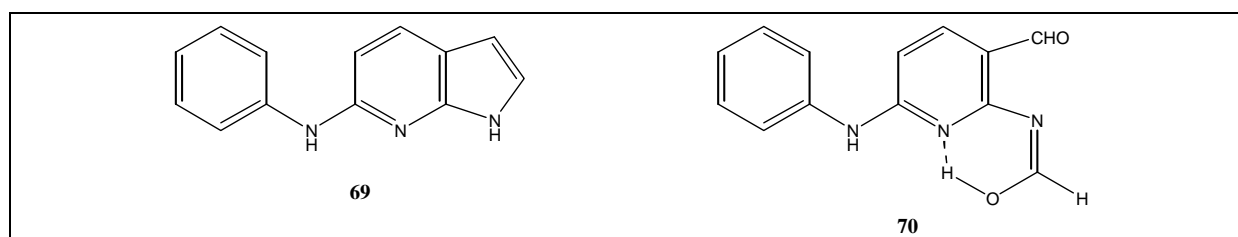


Figure 251 : Composés de la famille **C** soumis aux tests d'activité antiproliférative.

Cependant, il serait intéressant de réussir à obtenir le tétracycle **II**. Pour cela, plusieurs options sont envisageables.

Tout d'abord, nous pouvons essayer une cyclisation radicalaire en absence d'oxygène après avoir protégé les fonctions amines du composé **69** (Figure 252). En effet, tous les essais effectués à ce jour, ont été réalisés sur le composé **69** non protégé.

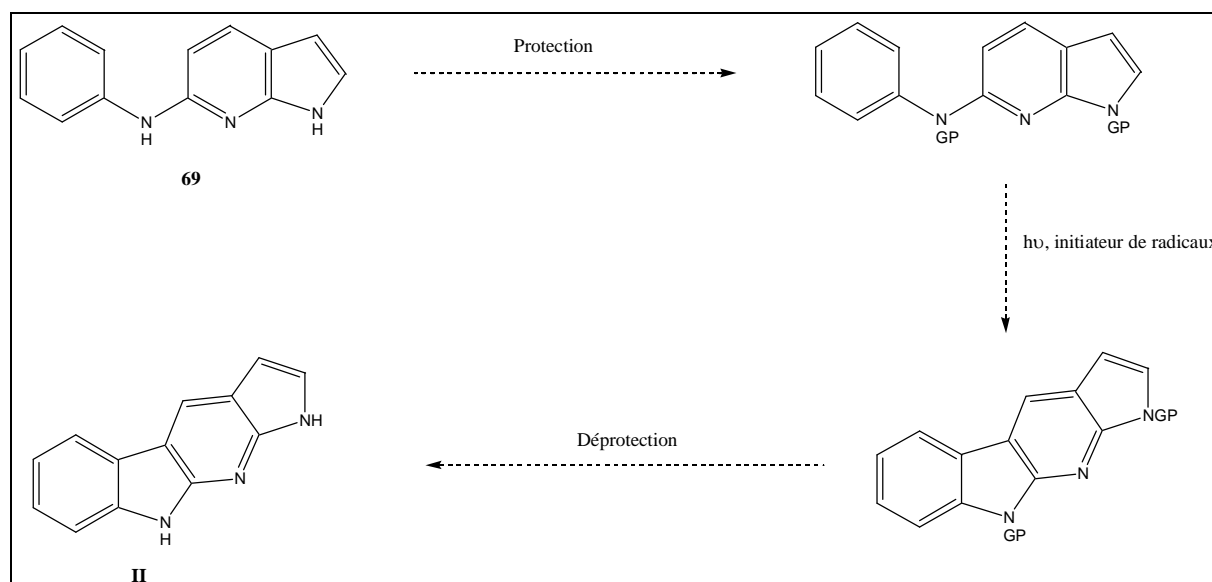


Figure 252 : Proposition de synthèse du tétracycle **II** par cyclisation radicalaire.

Nous pouvons également envisager une synthèse totalement différente, à partir de la 2,6-dichloropyridine commerciale, en formant tout d'abord le noyau α -carboline, puis en effectuant une indolisation de Fischer afin d'obtenir le tétracycle attendu (Figure 253).

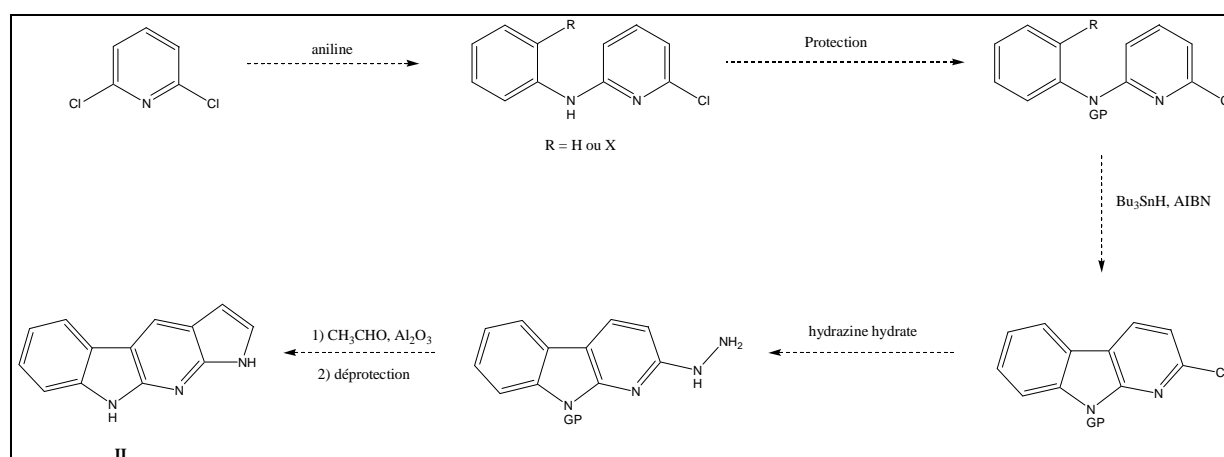


Figure 253 : Proposition de synthèse alternative du tetracycle **II**.

La première étape de cette voie de synthèse consiste en un déplacement de l'un des atomes de chlore de la 2,6-dichloropyridine par une aniline. La réaction de cyclisation afin de former le motif α -carboline sera envisagée par voie radicalaire. Les deux dernières étapes correspondent à l'indolisation de Fischer qui est une des méthodes classiquement utilisées pour former le motif azaindole à partir d'une pyridine.

Partie expérimentale

I- Partie expérimentale de chimie

I.1- Méthodes générales

L'évolution des réactions est suivie par chromatographie sur couche mince (C.C.M), sur des feuilles d'aluminium recouvertes de gel de silice Merck 60 F 254 (épaisseur 0,2 mm).

La révélation est réalisée sous une lampe ultra-violet (UV) à 254 ou 365 nm.

Les solvants utilisés sont distillés et séchés sur :

- ✓ Potassium (métal) pour le tétrahydrofurane ;
- ✓ Potasse pour la pyridine ;
- ✓ Magnésium pour le méthanol et l'éthanol.

Les points de fusions (F en °C) sont mesurés sur un microscope à point de fusion Reichert.

Les spectres infrarouges (IR) ont été réalisés sur un appareil PERKIN-ELMER 881 (ν en cm^{-1}).

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur un appareil BRUKER AVANCE 400 (400MHz pour le ^1H et 100 MHz pour le ^{13}C). Les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million (ppm).

Les abréviations utilisées pour décrire les signaux sont :

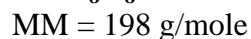
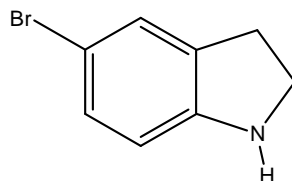
- s pour singulet
- d pour doublet
- t pour triplet
- dd pour doublet dédoublé
- td pour triplet dédoublé
- m pour multiplet
- se pour signal élargi
- *J* pour la constante de couplage

Lorsque les signaux correspondant à tous les atomes de carbone de certains produits n'étaient pas visibles directement sur le spectre ^{13}C enregistré sur l'appareil BRUKER AVANCE 400, des expériences complémentaires (HSQC, HMBC, JMOD modifié pour C quaternaires) ont été réalisées sur un appareil BRUKER AVANCE 500 afin de visualiser l'ensemble des atomes de carbone du produit correspondant.

Les purifications par chromatographie sur colonne ont été effectuées avec de la silice GEDURAN (Merck) SI 60 (40-63 μm) pour les chromatographies flash sous pression.

I.2- Synthèse des composés de la famille A

5-bromoindoline 1

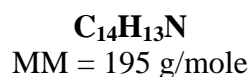
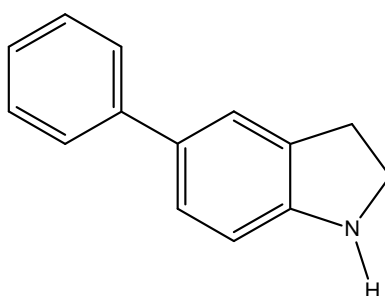


Une solution aqueuse de soude à 40% (40 mL) est additionnée à une solution de *N*-acétyl-5-bromoindoline commerciale (2 g ; 8,33 mmol) dans le méthanol (40 mL). Le milieu réactionnel est alors chauffé à reflux pendant 18 heures avant hydrolyse. Après extraction au dichlorométhane, la phase organique est séchée sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 70 : 30). Le produit est isolé sous la forme d'une huile marron (1,34 g ; 6,75 mmol) avec un rendement de 81%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 2,91 (t, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH_2) ; 3,42 (t, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH_2) ; 5,65 (s, 1H, NH) ; 6,42 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) ; 7,02 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz, 1H) ; 7,14 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 29,0 ; 46,6 (CH_2) ; 109,6 ; 126,8 ; 129,3 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 107,1 ; 131,7 ; 151,9 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : ν_{NH} 3380 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1600 cm^{-1} .

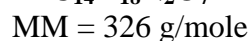
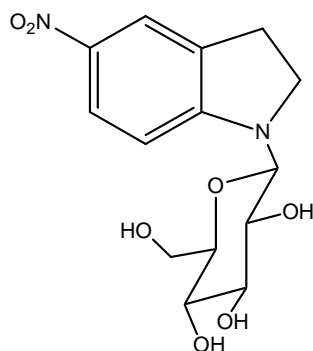
5-phenylindoline 2

Sous atmosphère inerte, la 5-bromoindoline **1** (490 mg ; 2,47 mmol) est solubilisée dans un mélange de toluène (6 mL) et d'éthanol (6 mL). L'acide phénylboronique (332 mg ; 2,72 mmol) est ajouté avant addition d'une solution de carbonate de sodium 2M (2,5 mL ; 5 mmol) et de palladium tetrakis(triphénylphosphine) (85 mg ; 0,08 mmol). Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 22 heures puis concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est repris dans l'acétate d'éthyle puis les composés insolubles sont éliminés par filtration. Le filtrat est lavé à l'eau puis séché sur sulfate de magnésium anhydre. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/AcOEt (v/v) 90 : 10 à 60 : 40). Le produit est isolé sous la forme d'une huile marron (216 mg ; 1,11 mmol) avec un rendement de 45%.

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,00 (t, *J* = 8,5 Hz, 2H, CH₂) ; 3,49 (td, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 2,0 Hz, 2H, CH₂) ; 5,63 (se, 1H, NH) ; 6,59 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 7,25 (td, *J*₁ = 7,5 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz, 2H) ; 7,40 (m, 3H) ; 7,56 (m, 2H).

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 29,1 ; 46,5 (CH₂) ; 108,3 ; 122,6 ; 125,5 (2C) ; 125,6 (2C) ; 128,6 (2C) (CH_{arom.}) ; 128,9 ; 129,6 ; 141,1 ; 152,2 (C_{arom.}).

IR (KBr) : ν_{NH} 3417 cm⁻¹ ; ν_{C=C} 1599 cm⁻¹.

1-(β-D-glucopyranosyl)-5-nitroindoline 4

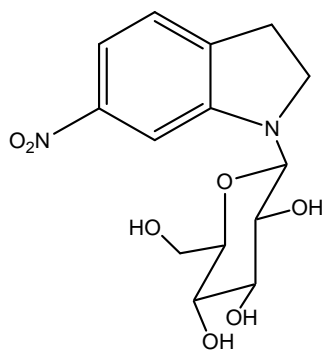
La 5-nitroindoline commerciale (1g ; 6,1 mmol) est mise en solution dans un mélange éthanol (46,7 mL)/eau (3,1 mL) avant addition de D-glucose (549 mg ; 3,1 mmol). Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 6 jours en ajoutant 0,6 ml d'eau après 7h et 14h de chauffage. Le mélange réactionnel est évaporé, puis purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 98 : 2 à 90 : 10). Le composé est isolé sous forme d'une poudre jaune orangée (808 mg ; 2,48 mmol) avec un rendement de 80%.

^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,00-3,15 (m, 3H) ; 3,28-3,36 (m, 3H) ; 3,36-3,48 (m, 1H) ; 3,60-3,76 (m, 2H) ; 3,80-3,91 (m, 1H) ; 4,49 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H, OH) ; 4,83 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 5,04 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,15 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,28 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 6,74 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 7,91 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H) ; 8,02 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 26,3 ; 46,0 (CH_2) ; 60,9 (CH_2 sucre) ; 69,9 ; 70,4 ; 77,3 ; 78,6 ; 84,2 (CH_{sucre}) ; 105,6 ; 120,5 ; 125,8 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 130,6 ; 137,8 ; 157,0 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : ν_{OH} 3680-3040 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1610 cm^{-1} .

F = 70-75°C.

1-(β -D-glucopyranosyl)-6-nitroindoline 5

MM = 326 g/mole

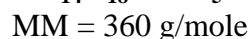
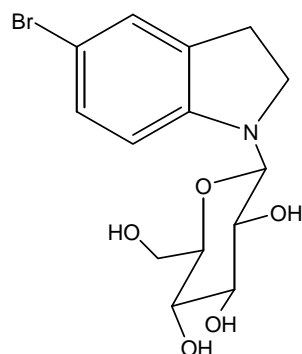
La 6-nitroindoline commerciale (1 g ; 6,1 mmol) est mise en solution dans un mélange éthanol (46,7 mL)/eau (3,1 mL) avant addition de D-glucose (549 mg ; 3,1 mmol). Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 6 jours en ajoutant 0,6 mL d'eau après 7h et 14h de chauffage. Après évaporation du mélange réactionnel, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution: acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 98 : 2 à 90 : 10). Le composé est isolé sous forme d'une poudre jaune orangée (728 mg ; 2,23 mmol) avec un rendement de 72%.

^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,00-3,13 (m, 3H) ; 3,28-3,36 (m, 3H) ; 3,38-3,44 (m, 1H) ; 3,58-3,65 (m, 2H) ; 3,72-3,80 (m, 1H) ; 4,40 (t, $J = 6,5$ Hz, 1H, OH) ; 4,80 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 4,95 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,07 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,10 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 7,24 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) ; 7,30 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H) ; 7,48 (dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 27,4 ; 45,7 (CH_2) ; 60,9 (CH_2 sucre) ; 70,0 ; 70,5 ; 77,3 ; 78,2 ; 84,4 (CH_{sucre}) ; 100,6 ; 113,3 ; 124,5 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 138,3 ; 147,9 ; 152,0 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : ν_{OH} 3400 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1615 ; 1600 cm^{-1} .

F = 195°C.

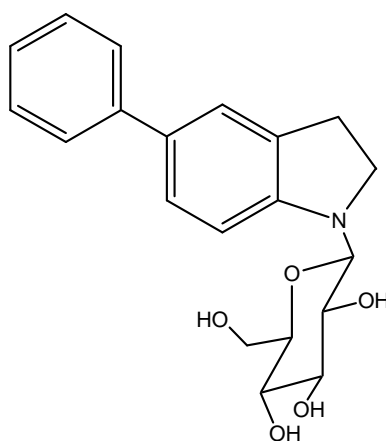
1-(β-D-glucopyranosyl)-5-bromoindoline 6

La 5-bromoindoline **1** (1,3 g ; 6,6 mmol) est mise en solution dans un mélange éthanol (50,5 mL)/eau (3,3 mL) avant addition de D-glucose (594 mg ; 3,3 mmol). Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 24 heures en ajoutant 0,7 mL d'eau après 7h et 14h de chauffage. Le mélange réactionnel est évaporé, puis purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 95 : 5 à 90 : 10). Le composé est isolé sous forme d'une huile marron (784 mg ; 2,18 mmol) avec un rendement de 66%.

^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,89-3,04 (m, 2H) ; 3,09-3,16 (m, 1H) ; 3,21-3,27 (m, 1H) ; 3,28-3,36 (m, 2H) ; 3,41-3,56 (m, 2H) ; 3,63 (ddd, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 5,5$ Hz, $J_3 = 2,0$ Hz, 1H) ; 3,66-3,72 (m, 1H) ; 4,43 (t, $J = 6,5$ Hz, 1H, OH) ; 4,68 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 4,99 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,09 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H ; OH) ; 5,11 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H, OH) ; 6,59 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) ; 7,17 (dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 7,22 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 27,3 ; 45,3 (CH_2) ; 60,8 ($\text{CH}_2_{\text{sucré}}$) ; 69,9 ; 70,6 ; 77,5 ; 78,1 ; 84,8 ($\text{CH}_{\text{sucré}}$) ; 109,0 ; 126,9 ; 129,3 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 108,1 ; 132,5 ; 150,1 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : ν_{OH} 3402 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1606 cm^{-1} .

1-(β-D-glucopyranosyl)-5-phénylindoline 7

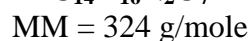
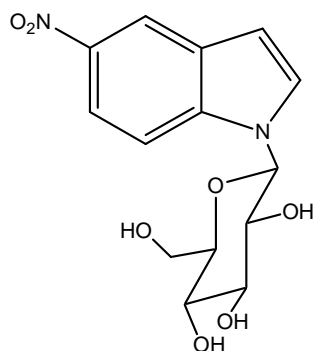
C₂₀H₂₃NO₅
MM = 357 g/mole

La 5-phénylindoline **2** (160 mg ; 0,82 mmol) est solubilisée dans un mélange éthanol (5,8 mL)/eau (0,2 mL) avant addition du D-glucose (74 mg ; 0,41 mmol). Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 24 heures en ajoutant 0,1 mL d'eau après 7h et 14h de chauffage. Le mélange réactionnel est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) 90 : 10). Le produit est isolé sous la forme d'une gomme marron (124 mg ; 0,35 mmol) avec un rendement de 85%.

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,96-3,09 (m, 2H) ; 3,13-3,21 (m, 1H) ; 3,26-3,31 (m, 1H) ; 3,32-3,42 (m, 2H) ; 3,44-3,51 (m, 1H) ; 3,58 (dd, *J*₁ = 19,0 Hz, *J*₂ = 10,5 Hz, 1H) ; 3,66 (ddd, *J*₁ = 12,0 Hz, *J*₂ = 5,0 Hz, *J*₃ = 2,0 Hz, 1H) ; 3,70-3,77 (m, 1H) ; 4,42 (t, *J* = 6,5 Hz, 1H, OH) ; 4,73 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H_{1'}) ; 4,97 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, OH) ; 5,08 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H, OH) ; 5,09 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, OH) ; 6,69 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 7,27 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H) ; 7,34 (dd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz, 1H) ; 7,37-7,44 (m, 3H) ; 7,59 (dd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz, 2H).

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 27,6 ; 45,3 (CH₂) ; 60,9 (CH₂_{sucré}) ; 70,0 ; 70,7 ; 77,7 ; 78,2 ; 85,1 (CH_{sucré}) ; 107,6 ; 122,7 ; 125,6 ; 125,7 (2C) ; 125,9 ; 128,7 (2C) (CH_{arom.}) ; 129,9 ; 130,5 ; 140,9 ; 150,4 (C_{arom.}).

IR (KBr) : ν_{OH} 3400 cm⁻¹ ; ν_{C=C} 1620 cm⁻¹.

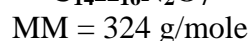
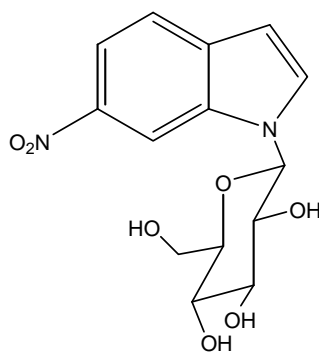
1-(β-D-glucopyranosyl)-5-nitroindole 9

La 5-nitroindoline glycosylée **4** (90 mg ; 0,28 mmol) est mise en solution dans le 1,4-dioxane (17 mL) avant addition de DDQ (193 mg ; 0,85 mmol) par petites portions. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 50°C pendant 48 heures avant hydrolyse par une solution aqueuse saturée en NaHCO_3 et évaporation. Le résidu est lavé avec de l'acétate d'éthyle. Le filtrat est récupéré et séché sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 100 : 0 à 90 : 10). Le produit est isolé sous forme d'une gomme jaune (59 mg ; 0,18 mmol) avec un rendement de 65%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,30-3,37 (m, 1H) ; 3,43-3,58 (m, 3H) ; 3,71-3,78 (m, 2H) ; 4,61 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,19 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,28 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,34 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,59 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 6,83 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 7,78 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 7,84 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 8,09 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 8,61 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 60,9 (CH_2 sucre) ; 69,7 ; 72,0 ; 77,2 ; 79,6 ; 85,0 (CH_{sucre}) ; 104,2 ; 111,5 ; 116,6 ; 117,3 ; 130,1 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 127,8 ; 139,2 ; 141,1 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : ν_{OH} 3426 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1615 cm^{-1} .

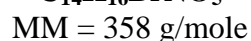
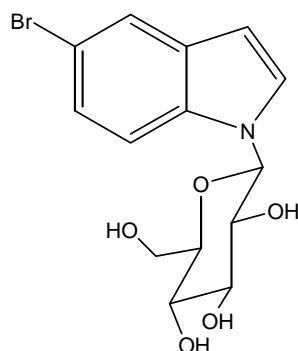
1-(β -D-glucopyranosyl)-6-nitroindole 10

La 6-nitroindoline glycosylée **5** (90 mg ; 0,28 mmol) est mise en solution dans le 1,4-dioxane (17 mL) avant addition de DDQ (193 mg ; 0,85 mmol) par petites portions. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 50°C pendant 48 heures avant hydrolyse par une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 et évaporation. Le résidu est lavé avec de l'acétate d'éthyle. Le filtrat est récupéré et séché sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'éluion : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 100 : 0 à 90 : 10). Le produit est isolé sous forme d'une gomme jaune (75 mg ; 0,23 mmol) avec un rendement de 83%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,30-3,37 (m, 1H) ; 3,48-3,54 (m, 2H) ; 3,59-3,65 (m, 1H) ; 3,71-3,78 (m, 2H) ; 4,60 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,18 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,27 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,30 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,73 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H_1') ; 6,73 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H) ; 7,77 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 7,93 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 7,97 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz, 1H) ; 8,65 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 60,9 ($\text{CH}_2_{\text{sucré}}$) ; 69,8 ; 72,3 ; 77,1 ; 79,5 ; 84,6 ($\text{CH}_{\text{sucré}}$) ; 102,9 ; 107,8 ; 114,8 ; 120,7 ; 132,8 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 133,4 ; 134,7 ; 142,2 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : ν_{OH} 3400 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1610 cm^{-1} .

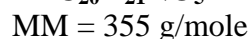
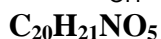
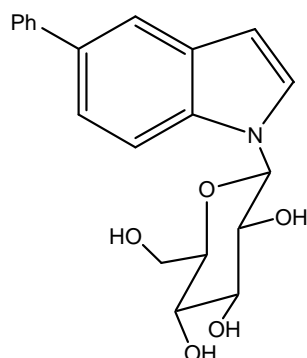
1-(β-D-glucopyranosyl)-5-bromoindole 11

La 5-bromoindoline glycosylée **6** (200 mg ; 0,55 mmol) est mise en solution dans le 1,4-dioxane (30 mL) avant addition de DDQ (150 mg ; 0,66 mmol) par petites portions. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 18 heures avant hydrolyse par une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 et évaporation. Le résidu est lavé avec de l'acétate d'éthyle. Le filtrat est récupéré et séché sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 100 : 0 à 90 : 10). Le produit est isolé sous forme d'une gomme marron (173 mg ; 0,48 mmol) avec un rendement de 88%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,27-3,34 (m, 1H) ; 3,41-3,55 (m, 3H) ; 3,69-3,78 (m, 2H) ; 4,58 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,15 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,24 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,26 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,45 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 6,50 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 7,29 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 7,56 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 7,59 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 7,78 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 60,9 ($\text{CH}_2_{\text{sucre}}$) ; 69,8 ; 71,8 ; 77,4 ; 79,4 ; 84,8 (CH_{sucre}) ; 101,2 ; 113,0 ; 122,5 ; 123,6 ; 127,8 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 112,1 ; 130,3 ; 134,9 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : ν_{OH} 3395 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1606 cm^{-1} .

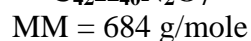
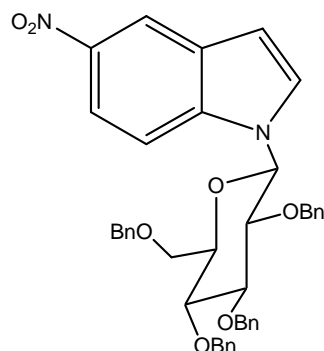
1-(β-D-glucopyranosyl)-5-phenylindole 12

La 5-phénylindoline glycosylée **7** (120 mg ; 0,34 mmol) est mise en solution dans le 1,4-dioxane (16 mL) avant addition de DDQ (91 mg ; 0,4 mmol) par petites portions. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 18 heures puis hydrolysé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 . La phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle et les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) 98 : 2). Le produit est isolé sous la forme d'une gomme beige (107 mg ; 0,30 mmol) avec un rendement de 90%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,27-3,35 (m, 1H) ; 3,43-3,56 (m, 3H) ; 3,71-3,84 (m, 2H) ; 4,59 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,15 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,24 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,26 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,48 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H_1) ; 6,57 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H) ; 7,34 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H) ; 7,46-7,51 (m, 3H) ; 7,54 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 7,68 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) ; 7,71 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H) ; 7,85 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 61,0 ($\text{CH}_2_{\text{sucre}}$) ; 69,9 ; 71,8 ; 77,5 ; 79,4 ; 84,9 (CH_{sucre}) ; 102,0 ; 111,4 ; 118,3 ; 120,5 ; 126,3 ; 126,7 (2C) ; 127,1 ; 128,8 (2C) ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 129,1 ; 132,2 ; 135,8 ; 141,6 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : ν_{OH} 3395 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1600 cm^{-1} .

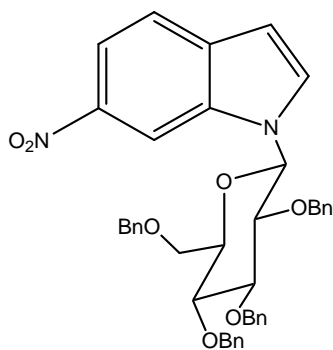
1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-5-nitroindole 14

Sous atmosphère inerte, le 5-nitroindole glycosylé **9** (280 mg ; 0,86 mmol) est mis en solution dans le THF anhydre (12 mL) avant addition d'hydrure de sodium (329 mg ; 8,23 mmol) à 0°C. Une fois que le milieu réactionnel est devenu homogène, l'iodure de tétrabutylammonium (25 mg ; 0,07 mmol) puis le bromure de benzyle (0,8 mL ; 6,70 mmol) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 0°C pendant 15-20 mn puis on laisse revenir à température ambiante pour ensuite chauffer à reflux pendant 17 heures. Du florisil (60/100 mesh) est ensuite ajouté au mélange réactionnel avant évaporation. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) de 98 : 2 à 80 : 20). Le produit est isolé sous forme de gomme jaune (376 mg ; 0,55 mmol) avec un rendement de 64%.

^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,71-3,77 (m, 3H) ; 3,81 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 3,92-4,00 (m, 2H) ; 4,17 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 4,38 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,50 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,56 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,66 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,84 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,89 (s, 2H) ; 5,96 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 6,70 (dd, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 2H) ; 6,94 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H) ; 7,06-7,11 (m, 2H) ; 7,12-7,18 (m, 1H) ; 7,26 (dd, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz, 2H) ; 7,30-7,41 (m, 13H) ; 7,92 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 7,98 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H) ; 8,09 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 8,67 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 68,5 ; 72,3 ; 73,6 ; 74,1 ; 74,6 ($\text{CH}_2_{\text{sucre+benzyle}}$) ; 76,5 ; 77,5 ; 80,3 ; 83,8 ; 84,6 (CH_{sucre}) ; 105,1 ; 111,5 ; 116,9 ; 117,6 ; 127,4-128,2 ; 130,0 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 127,8 ; 137,2 ; 138,0 ; 138,1 ; 138,4 ; 138,9 ; 141,4 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr): $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1612 cm^{-1} .

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucoopyranosyl)-6-nitroindole **15**

MM = 684 g/mole

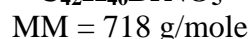
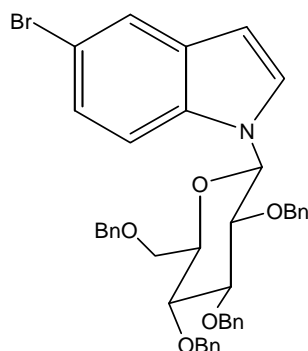
Sous atmosphère inerte, le 6-nitroindole glycosylé **10** (400 mg ; 1,23 mmol) est mis en solution dans le THF anhydre (17 mL) avant addition d'hydrure de sodium (470 mg ; 11,80 mmol) à 0°C. Une fois que le milieu réactionnel est devenu homogène, l'iodure de tétrabutylammonium (35 mg ; 0,10 mmol) puis le bromure de benzyle (1,15 mL ; 9,70 mmol) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 0°C pendant 15-20 mn puis on laisse revenir à température ambiante pour ensuite chauffer à reflux pendant 17 heures. Après addition de florasil (60/100 mesh), le mélange réactionnel est évaporé. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane-acétate d'éthyle (v/v) de 98 : 2 à 80 : 20). Le produit est isolé sous forme de gomme jaune (563 mg ; 0,82 mmol) avec un rendement de 67%.

^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,68-3,76 (m, 3H) ; 3,81 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 3,95-4,04 (m, 2H) ; 4,16 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 4,39 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,50 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,57 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,66 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,85 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,90 (s, 2H) ; 6,11 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 6,65 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H) ; 6,87 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H) ; 7,06 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H) ; 7,10-7,17 (m, 1H) ; 7,25-7,40 (m, 15H) ; 7,85 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 8,03 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 8,15 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 8,73 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 68,5 ; 72,3 ; 73,6 ; 74,1 ; 74,6 ($\text{CH}_2_{\text{sucrose+benzyle}}$) ; 76,4 ; 77,5 ; 80,6 ; 83,3 ; 84,5 ($\text{CH}_{\text{sucrose}}$) ; 103,8 ; 107,7 ; 115,1 ; 121,0 ; 127,4-128,2 ; 132,5 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 133,3 ; 134,6 ; 137,2 ; 138,0 ; 138,1 ; 138,4 ; 142,6 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=C}}$ 1586 cm^{-1} .

Masse (ES) : calculée pour $\text{C}_{42}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{NaO}_7$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 707 ; trouvée 707.

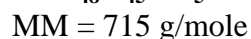
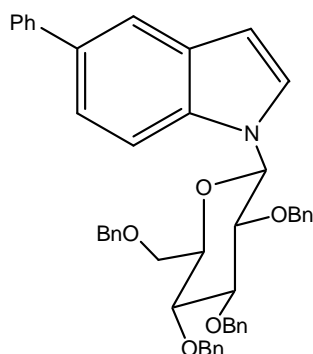
1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-5-bromoindole 16

Sous atmosphère inerte, le 5-bromoindole glycosylé **11** (330 mg ; 0,92 mmol) est mis en solution dans le THF anhydre (15 mL) avant addition d'hydrure de sodium (394 mg ; 9,90 mmol) à 0°C. Une fois que le milieu réactionnel est devenu homogène on ajoute l'iodure de tétrabutylammonium (30 mg ; 0,09 mmol), puis le bromure de benzyle (0,94 mL ; 8,00 mmol). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 0°C pendant 15-20 mn puis on laisse revenir à température ambiante pour ensuite chauffer à reflux pendant 17 heures. Après addition de florisil (60/100mesh), le mélange réactionnel est évaporé. Le résidu ainsi obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) de 95 : 5 à 80 : 20). Le produit est isolé sous forme d'une gomme beige (542 mg ; 0,75 mmol) avec un rendement de 82%.

^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,65 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H) ; 3,71-3,75 (m, 2H) ; 3,78 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 3,88-3,97 (m, 2H) ; 4,12 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 4,29 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H) ; 4,50 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,55 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H) ; 4,64 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,83 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,87 (s, 2H) ; 5,82 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 6,63 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 6,73 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H) ; 7,09-7,15 (m, 2H) ; 7,16-7,22 (m, 1H) ; 7,23-7,28 (m, 2H) ; 7,29-7,41 (m, 14H) ; 7,70 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) ; 7,77 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 7,85 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 68,6 ; 72,3 ; 73,4 ; 74,1 ; 74,5 ($\text{CH}_2_{\text{sucrose+benzyle}}$) ; 76,3 ; 77,5 ; 80,2 ; 83,9 ; 84,6 ($\text{CH}_{\text{sucrose}}$) ; 102,2 ; 113,1 ; 122,9 ; 124,1 ; 127,5-128,3 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 112,5 ; 130,3 ; 134,6 ; 137,4 ; 138,0 ; 138,1 ; 138,4 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=C}}$ 1604 cm^{-1} .

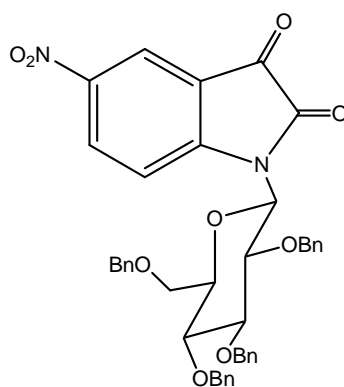
1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-5-phénylindole 17

Sous atmosphère inerte, le 5-phénylindole glycosylé **12** (120 mg ; 0,34 mmol) est mis en solution dans le THF anhydre (5 mL). Le mélange est refroidi à 0°C avant addition d'hydrure de sodium (127 mg ; 3,19 mmol). Une fois que le milieu réactionnel est devenu homogène on ajoute l'iodure de tétrabutylammonium (10 mg ; 0,03 mmol) puis le bromure de benzyle (0,35 mL ; 2,90 mmol). Le mélange réactionnel est agité à 0°C pendant 15 min puis chauffé à reflux pendant 16 heures. Après addition de florasil (60/100 mesh), le mélange réactionnel est évaporé. Le résidu ainsi obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Le produit est isolé sous la forme d'une gomme beige (165 mg ; 0,23 mmol) avec un rendement de 68%.

^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,71 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H) ; 3,73-3,77 (m, 2H) ; 3,79 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 3,91-3,98 (m, 2H) ; 4,16 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 4,30 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H) ; 4,51 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,57 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H) ; 4,65 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,84 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,86 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H) ; 4,90 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H) ; 5,84 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H_1) ; 6,70 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 6,74-6,78 (m, 2H) ; 7,08-7,13 (m, 2H) ; 7,14-7,19 (m, 1H) ; 7,24-7,27 (m, 2H) ; 7,31-7,40 (m, 14H) ; 7,48-7,54 (m, 3H) ; 7,72-7,77 (m, 3H) ; 7,80 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) ; 7,93 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 68,7 ; 72,3 ; 73,4 ; 74,1 ; 74,6 ($\text{CH}_2_{\text{sucre+benzyle}}$) ; 76,3 ; 77,6 ; 80,2 ; 84,0 ; 84,6 (CH_{sucre}) ; 103,1 ; 111,6 ; 118,7 ; 121,0 ; 125,8-128,8 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 129,1 ; 132,5 ; 135,5 ; 137,5 ; 138,1 (2C) ; 138,5 ; 141,4 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=C}}$ 1450 ; 1490 ; 1500 cm^{-1} .

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-5-nitroindoline-2,3-dione **19**

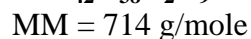
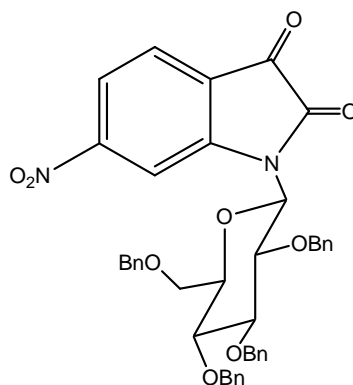
MM = 714 g/mole

Le 5-nitroindole glycosylé benzylé **14** (150 mg ; 0,22 mmol) est dissout dans un mélange d'acétone (1 mL), d'acide acétique (2,4 mL) et d'eau (0,75 ml) avant addition d'anhydride chromique (285 mg ; 2,85 mmol) par petites portions. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant deux heures avant hydrolyse puis extraction avec du chlorure de méthylène. Ensuite la phase organique est lavée successivement avec de l'eau puis une solution saturée de NaCl jusqu'à pH neutre. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (élution : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Le produit est isolé sous forme d'une gomme jaune (104 mg ; 0,15 mmol) avec un rendement de 66%.

^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,68-3,78 (m, 2H) ; 3,88 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 3,93-3,99 (m, 1H) ; 4,00-4,14 (m, 2H) ; 4,41 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,49 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H) ; 4,53 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H) ; 4,66 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,72 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,86 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,94 (s, 2H) ; 5,63 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H_1) ; 6,94-7,07 (m, 5H) ; 7,27-7,45 (m, 15H) ; 7,53 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 8,16 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H) ; 8,32 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 68,0 ; 73,3 ; 74,5 ; 75,2 ; 76,0 (CH_2 sucre+benzyle) ; 75,6 ; 76,8 ; 77,2 ; 80,8 ; 86,0 (CH_{sucre}) ; 113,9 ; 120,4 ; 127,4-128,6 ; 132,3 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 117,2 ; 137,3 ; 137,7 ; 137,8 (2C) ; 143,7 ; 152,1 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 156,8 ; 180,4 (C=O).

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}}$ 1753 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1615 cm^{-1} .

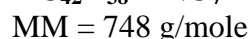
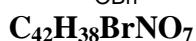
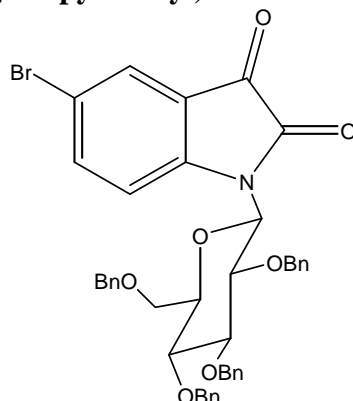
1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-6-nitroindoline-2,3-dione **20**

Le 6-nitroindole glycosylé benzylé **15** (310 mg ; 0,45 mmol) est dissout dans un mélange d'acétone (1 mL), d'acide acétique (5 ml) et d'eau (1,55 ml) avant addition d'anhydride chromique (589 mg ; 5,89 mmol) par petites portions. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant deux heures avant hydrolyse puis extraction à l'aide de chlorure de méthylène. Ensuite la phase organique est lavée successivement avec de l'eau puis une solution saturée de NaCl jusqu'à pH neutre. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Le produit est isolé sous forme d'une gomme jaune (196 mg ; 0,27 mmol) avec un rendement de 61%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,68-3,78 (m, 2H) ; 3,83 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 3,92-3,98 (m, 1H) ; 4,02 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 4,10-4,16 (m, 1H) ; 4,43 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,50 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H) ; 4,57 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H) ; 4,64 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,70 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,84 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,93 (s, 2H) ; 5,62 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H_1) ; 6,96-7,09 (m, 5H) ; 7,25-7,46 (m, 15H) 7,73 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) ; 7,92 (se, 1H) ; 7,95 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 67,9 ; 73,4 ; 74,6 ; 75,4 ; 76,3 ($\text{CH}_2_{\text{sucre+benzyle}}$) ; 75,3 ; 77,3 ; 77,7 ; 81,0 ; 86,4 (CH_{sucre}) ; 108,8 ; 118,7 ; 125,9 ; 127,7-128,9 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 120,9 ; 137,4 ; 137,7 ; 137,8 ; 137,9 ; 148,7 ; 153,0 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 156,3 ; 181,4 (C=O),

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}}$ 1750 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1620 ; 1600 cm^{-1} .

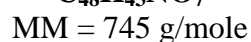
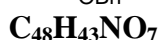
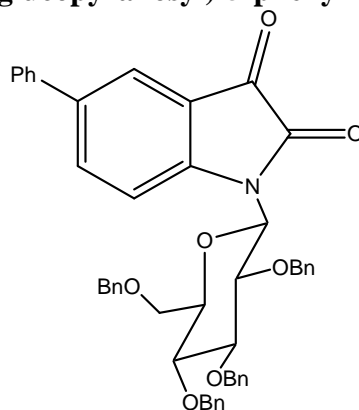
1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-5-bromoindolin-2,3-dione 21

Le 5-bromoindole glycosylé benzylé **16** (118 mg ; 0,16 mmol) est dissout dans un mélange d'acétone (1 mL), d'acide acétique (1,8 mL) et d'eau (0,9 mL) avant addition d'anhydride chromique (209 mg ; 2,09 mmol) par petites portions. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant deux heures avant hydrolyse puis extraction avec du chlorure de méthylène. Ensuite la phase organique est lavée successivement avec de l'eau puis une solution saturée de NaCl jusqu'à pH neutre. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) de 95 : 5 à 80 : 20). Le produit est isolé sous forme d'une gomme jaune (59 mg ; 0,08 mmol) avec un rendement de 49%.

^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,66-3,74 (m, 2H) ; 3,81 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 3,87-3,93 (m, 1H) ; 3,98 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 4,02-4,10 (m, 1H) ; 4,39 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,48 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H) ; 4,52 (d, $J = 13,0$ Hz, 1H) ; 4,63 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,69 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H) ; 4,83 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H) ; 4,91 (s, 2H) ; 5,53 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H, H_1) ; 6,97 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H) ; 7,05 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H) ; 7,09-7,14 (m, 1H) ; 7,23-7,43 (m, 16H) ; 7,65-7,70 (m, 2H).

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 68,4 ; 72,2 ; 73,8 ; 74,2 ; 74,8 (CH_2 sucre+benzyle) ; 76,1 ; 76,2 ; 77,3 ; 79,9 ; 85,0 (CH_{sucre}) ; 127,0 ; 127,4-128,3 ; 139,5 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 115,6 ; 119,2 ; 137,6 ; 138,0 ; 138,1 ; 138,3 ; 146,9 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 156,9 ; 180,7 ($\text{C}=\text{O}$).

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1747 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1606 cm^{-1} .

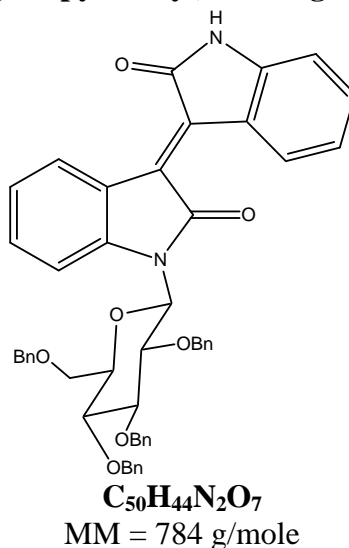
1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D- glucopyranosyl)-5-phénylindolin-2,3-dione 22

Le 5-phénylindole glycosylé benzylé **17** (165 mg ; 0,23 mmol) est solubilisé dans l'acétone (1 mL). Un mélange d'acide acétique (2,1 mL) et d'eau (1 mL) est ensuite ajouté avant addition d'anhydride chromique (236 mg ; 2,30 mmol) par petites portions. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 2 heures avant d'être hydrolysé. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane, les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Le produit est isolé sous la forme d'une gomme jaune (69 mg ; 0,09 mmol) avec un rendement de 40%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 3,68-3,76 (m, 2H) ; 3,84 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 3,93 (dt, $J_1 = 9,5$ Hz, $J_2 = 3,0$ Hz, 1H) ; 4,00 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 4,07-4,18 (se, 1H) ; 4,42 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H) ; 4,51 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H) ; 4,54 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H) ; 4,65 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,71 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,84 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,92 (s, 2H) ; 5,58 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 6,98 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H) ; 7,04 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H) ; 7,07-7,13 (m, 1H) ; 7,25-7,29 (m, 2H) ; 7,31-7,47 (m, 15H) ; 7,54 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H) ; 7,72 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H) ; 7,77 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H) ; 7,83 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 68,3 ; 73,5 ; 75,0 ; 75,4 ; 76,2 (CH_2 sucre+benzyle) ; 76,4 ; 77,4 ; 77,5 ; 81,0 ; 86,4 (CH_{sucre}) ; 114,1 ; 123,8 ; 126,6 ; 127,6-128,7 ; 129,2 ; 136,3 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 118,2 ; 137,2 ; 137,5 ; 138,0 ; 138,2 ; 138,3 ; 139,2 ; 147,5 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 157,7 ; 182,7 ($\text{C}=\text{O}$).

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1741 ; 1694 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1610 cm^{-1} .

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucoopyranosyl)-isoindigo 23

Une solution d'isatine glycosylée benzylée **18** (130 mg ; 0,19 mmol) et d'oxindole (26 mg ; 0,19 mmol) dans un mélange d'acide acétique (0,4 mL) et d'acide chlorhydrique concentré (2,6 μ L) est chauffée à reflux pendant 24 heures. Après refroidissement du milieu réactionnel, celui-ci est repris dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée deux fois à l'eau, puis séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Le produit est isolé sous la forme d'une poudre rouge (60 mg ; 0,08 mmol) avec un rendement de 40%.

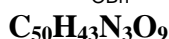
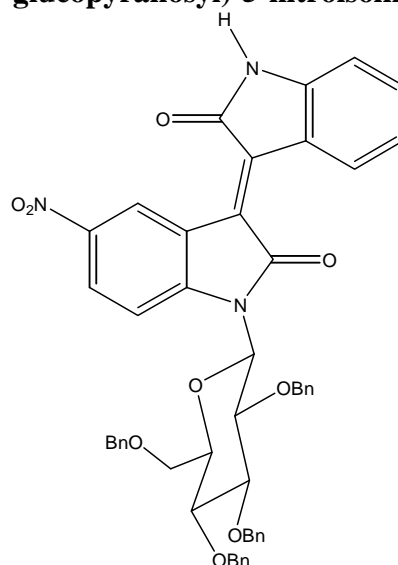
¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,75 (d, *J* = 2,5 Hz, 2H) ; 3,80-3,87 (m, 1H) ; 3,88-3,94 (m, 1H) ; 3,96 (t, *J* = 9,0 Hz, 1H) ; 4,10-4,28 (m, 2H) ; 4,54 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H) ; 4,57 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H) ; 4,57-4,63 (m, 1H) ; 4,65 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H) ; 4,84 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H) ; 4,89 (s, 2H) ; 5,73 (se, 1H, H₁) ; 6,90-6,95 (m, 3H) ; 6,98 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H) ; 7,01-7,10 (m, 2H) ; 7,13-7,18 (m, 1H) ; 7,27-7,47 (m, 18H) ; 8,97 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 9,15 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 11,0 (s, 1H, NH).

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 68,5 ; 72,2 ; 73,9 ; 74,2 ; 74,6 (CH₂ sucre+benzyle) ; 76,5 ; 76,8 ; 77,5 ; 80,1 ; 84,8 (CH_{sucre}) ; 109,7 ; 121,2 ; 122,2 ; 127,4-128,2 ; 129,0 ; 129,3 ; 132,3 ; 133,2 (CH_{arom.}) ; 120,9 ; 121,6 ; 131,3 ; 134,6 ; 137,4 ; 138,0 (2C) ; 138,2 ; 138,5 ; 144,5 (C_{arom.}) ; 168,6 (2 C=O).

Masse exacte (FAB +) calculée pour C₅₀H₄₅N₂O₇ [M+H]⁺ 785,3227 ; trouvée 785,3224.

IR (KBr) : ν_{NH} 3410 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1700 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1600 cm⁻¹.

F = 205°C.

1-(2,3,4,6-tétra-O-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-5-nitroisindigo 24

MM = 829 g/mole

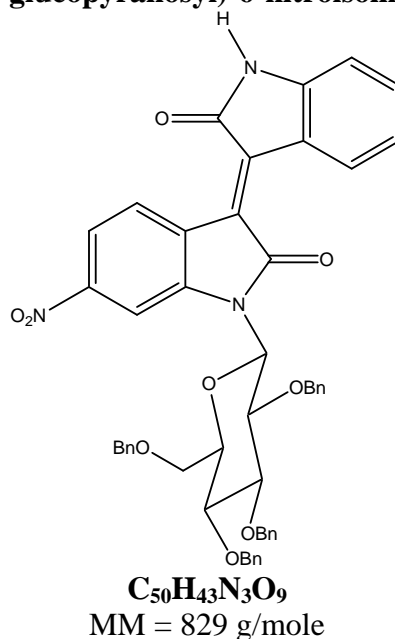
La 5-nitroisatine glycosylée benzylée **19** (100 mg ; 0,14 mmol) et l'oxindole commercial (19 mg ; 0,14 mmol) sont mis en solution dans un mélange d'acide acétique (0,3 mL) et d'acide chlorhydrique concentré (2,4 μL). Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 24 heures. Après refroidissement du milieu réactionnel, celui-ci est repris dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée deux fois avec de l'eau, puis séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Le produit est isolé sous forme d'une gomme rouge (27 mg ; 0,03 mmol) avec un rendement de 23%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 3,72-3,76 (m, 2H) ; 3,84-3,96 (m, 2H) ; 4,00 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 4,22-4,29 (m, 1H) ; 4,50 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,55 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,66 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H) ; 4,62-4,69 (m, 1H) ; 4,85 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H) ; 4,92 (s, 2H) ; 5,76 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 6,84-6,90 (m, 4H) ; 6,94-6,98 (m, 2H) ; 7,04-7,10 (m, 1H) ; 7,26-7,45 (m, 15H) ; 7,47-7,53 (m, 2H) ; 8,15-8,23 (m, 1H) ; 9,00 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) ; 10,11 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H) ; 11,10 (s, 1H, NH). Le signal d'un proton du sucre n'est pas visible sur le spectre.

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 68,4 ; 72,2 ; 73,8 ; 74,1 ; 74,6 (CH_2 sucre+benzyle) ; 76,5 ; 76,6 ; 77,3 ; 80,1 ; 85,0 (CH_{sucre}) ; 120,9 ; 121,2 ; 128,6 ; 137,2 ; 137,3 ; 138,0 ; 138,2 ; 138,3 ; 142,3 ; 145,2 ; 145,9 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 110,0 ; 121,5 ; 124,3 ; 127,2-128,3 ; 129,8 ; 134,3 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 166,8 ; 168,6 (C=O).

Masse exacte (ES) calculée pour $\text{C}_{50}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{NaO}_9$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 852,2897 ; trouvée 852,2924.

IR (KBr) : ν_{NH} 3409 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1702 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1615 cm^{-1} .

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-6-nitroisindigo **25**

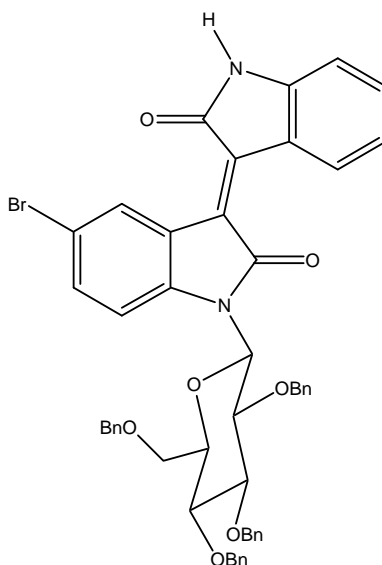
La 6-nitroisatine glycosylée benzylée **20** (60 mg ; 0,084 mmol) et l'oxindole commercial (11 mg ; 0,08 mmol) sont mis en solution dans un mélange d'acide acétique (0,17 mL) et d'acide chlorhydrique concentré (1,1 μ L). Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 24 heures. Après refroidissement du milieu réactionnel, celui-ci est repris dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée deux fois à l'eau, puis séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant, le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) de 80 : 20 à 0 : 100). Le produit est isolé sous forme d'une gomme rouge (21 mg ; 0,025 mmol) avec un rendement de 30%.

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,76 (s, 2H) ; 3,81-3,89 (m, 1H) ; 3,94-4,00 (m, 1H) ; 4,01 (t, *J* = 9,0 Hz, 1H) ; 4,10-4,21 (se, 1H) ; 4,29 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H) ; 4,52 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H) ; 4,60 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H) ; 4,65 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H) ; 4,66 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H) ; 4,85 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H) ; 4,93 (s, 2H) ; 5,78 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H₁) ; 6,85-6,90 (m, 4H) ; 6,91-7,00 (m, 2H) ; 7,04 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 7,25-7,43 (m, 15H) ; 7,47 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 7,92 (se, 1H) ; 7,97 (dd, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz, 1H) ; 8,96 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 9,27 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H) ; 11,12 (s, 1H, NH).

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 68,2 ; 72,2 ; 73,4 ; 74,2 ; 74,7 (CH₂ sucre+benzyle) ; 76,2 ; 76,6 ; 77,4 ; 80,2 ; 85,1 (CH_{sucre}) ; 105,5 ; 110,1 ; 117,1 ; 121,5 ; 127,3-128,2 ; 129,3 ; 130,2 ; 134,7 (CH_{arom.}) ; 121,4 ; 126,4 ; 128,6 ; 137,3 ; 138,1 ; 138,2 ; 138,4 ; 138,5 ; 141,5 ; 145,5 ; 148,5 (C_{arom.}) ; 166,4 ; 168,3 (C=O).

IR (KBr) : ν_{NH} 3400 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1710 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1615 cm⁻¹.

Masse (ES) : calculée pour C₅₀H₄₃N₃NaO₉ [M+Na]⁺ 852 ; trouvée 852.

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucoopyranosyl)-5-bromoindigo **26**

C₅₀H₄₃BrN₂O₇

MM = 863 g/mole

La 5-bromoisatine glycosylée benzylée **21** (63 mg ; 0,084 mmol) et l'oxindole commercial (11 mg ; 0,08 mmol) sont mis en solution dans un mélange d'acide acétique (0,2 mL) et d'acide chlorhydrique concentré (1,5 μ L). Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 24 heures.

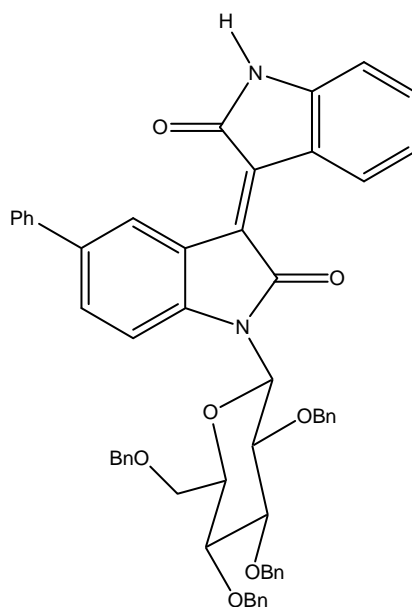
Après refroidissement du milieu réactionnel, celui-ci est repris dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée deux fois à l'eau, puis séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant, le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Le produit est isolé sous forme d'une gomme rouge (31 mg ; 0,036 mmol) avec un rendement de 43%.

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,70-3,76 (m, 2H) ; 3,79-3,86 (m, 1H) ; 3,87-3,93 (m, 1H) ; 3,96 (t, *J* = 8,5 Hz, 1H) ; 4,03-4,26 (m, 2H) ; 4,51 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H) ; 4,55 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H) ; 4,59-4,67 (m, 2H) ; 4,84 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H) ; 4,90 (s, 2H) ; 5,70 (se, 1H, H₁) ; 6,88-6,99 (m, 5H) ; 7,00-7,07 (m, 2H) ; 7,25-7,56 (m, 18H) ; 8,98 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H) ; 9,36 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H) ; 11,04 (s, 1H, NH).

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 68,4 ; 72,2 ; 73,9 ; 74,2 ; 74,6 (CH₂ sucre+benzyle) ; 76,5 (2C) ; 77,4 ; 80,0 ; 84,9 (CH_{sucre}) ; 109,9 ; 113,3 ; 121,4 ; 127,4-128,3 ; 129,6 ; 131,1 ; 133,8 ; 134,1 (CH_{arom.}) ; 114,1 ; 121,3 ; 122,7 ; 129,8 ; 136,1 ; 137,4 ; 138,0 ; 138,2 ; 138,4 ; 140,5 ; 144,8 (C_{arom.}) ; 166,4 ; 168,7 (C=O).

Masse exacte (ES) calculée pour C₅₀H₄₃BrN₂NaO₇ [M+Na]⁺ 885,2151/887,2131 ; trouvée 885,2130/887,2128.

IR (KBr) : ν_{NH} 3214 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1696, 1661 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1606 cm⁻¹.

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucoopyranosyl)-5-phénylisindigo **27**

MM = 860 g/mole

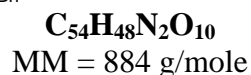
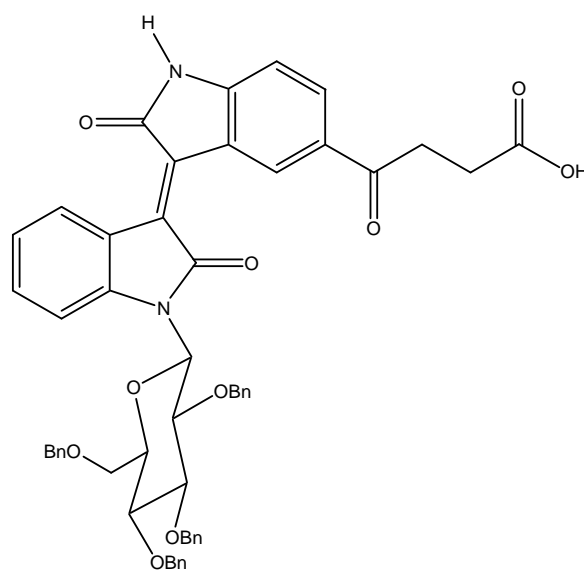
La 5-phénylisatine glycosylée benzylée **22** (115 mg ; 0,15 mmol) et l'oxindole commercial (20 mg ; 0,15 mmol) sont mis en solution dans un mélange d'acide acétique (0,4 mL) et d'acide chlorhydrique concentré (3 μ L). Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 24 heures, puis après refroidissement, repris dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée deux fois à l'eau puis séchée sur sulfate de magnésium anhydre. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Le produit est isolé sous la forme d'une gomme rouge (77 mg ; 0,09 mmol) avec un rendement de 60%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 3,72-3,79 (m, 2H) ; 3,82-3,90 (m, 1H) ; 3,91-3,96 (m, 1H) ; 3,99 (t, $J = 8,5$ Hz, 1H) ; 4,12-4,30 (m, 2H) ; 4,54 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,58 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H) ; 4,61-4,66 (m, 1H) ; 4,67 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) ; 4,85 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H) ; 4,91 (s, 2H) ; 5,75 (se, 1H, H_1) ; 6,90-6,99 (m, 5H) ; 7,01-7,07 (m, 2H) ; 7,27-7,48 (m, 18H) ; 7,55 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H) ; 7,62-7,69 (m, 1H) ; 7,69 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H) ; 9,00 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H) ; 9,51 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H) ; 10,95 (s, 1H, NH).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 68,5 ; 72,3 ; 73,8 ; 74,2 ; 74,6 (CH_2 sucre+benzyle) ; 76,6 ; 76,7 ; 77,5 ; 80,1 ; 84,9 (CH_{sucre}) ; 109,8 ; 112,4 ; 121,2 ; 126,2 ; 127,0 ; 127,3-128,2 ; 129,0 ; 129,4 ; 130,4 ; 133,3 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 121,5 ; 121,6 ; 131,3 ; 134,1 ; 135,0 ; 137,4 ; 138,0 ; 138,2 ; 138,4 ; 140,1 ; 140,7 ; 144,5 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 167,0 ; 168,7 (C=O).

Masse exacte (ES) calculée pour $\text{C}_{56}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{NaO}_7$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ 883,3359 ; trouvée 883,3333.

IR (KBr) : ν_{NH} 3410 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1780 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1610 cm^{-1} .

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-5'-(acide 4-oxobutanoïque)-isoindigo 28

Un mélange d'isatine glycosylée benzylée **18** (115 mg ; 0,17 mmol), d'oxindole substitué **29** (41 mg ; 0,17 mmol), d'acide acétique (0,4 mL) et d'acide chlorhydrique concentré (2,3 μ L) est chauffé à reflux pendant 22 heures. Le solide formé lors de l'hydrolyse du mélange réactionnel est isolé par filtration sur verre fritté. Après lavage à l'eau, le composé attendu (132 mg ; 0,15 mmol) est isolé avec un rendement de 88% sous forme d'un solide rouge.

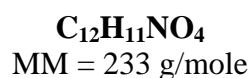
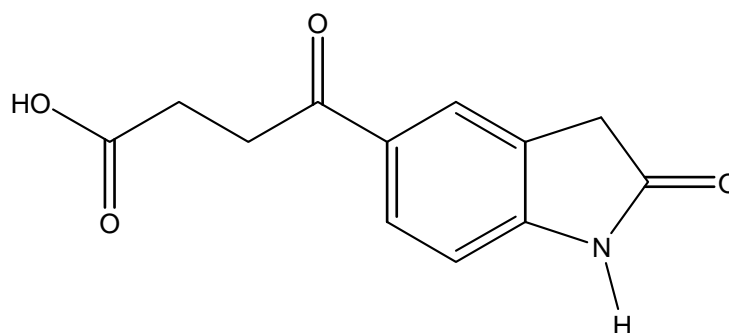
¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,61 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂) ; 3,18-3,25 (m, 2H, CH₂) ; 3,72 (d, *J* = 2,0 Hz, 2H, CH₂) ; 3,78-3,86 (m, 1H) ; 3,90-3,95 (m, 1H) ; 3,99 (t, *J* = 8,5 Hz, 1H) ; 4,08-4,24 (m, 2H) ; 4,47-4,55 (m, 3H) ; 4,62 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H) ; 4,80 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H) ; 4,86 (s, 2H) ; 5,79 (se, 1H, H_{1'}) ; 6,86-6,95 (m, 4H) ; 6,96-7,03 (m, 2H) ; 7,12 (dt, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz, 1H) ; 7,19-7,43 (m, 17H) ; 8,06 (dd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz, 1H) ; 9,11 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 9,71 (s, 1H) ; 11,43 (s, 1H, NH). Le signal du proton de la fonction acide carboxylique n'est pas visible sur le spectre.

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 27,9 ; 32,7 (CH₂) ; 68,5 ; 72,2 ; 73,9 ; 74,1 ; 74,6 (CH₂ sucre+benzyle) ; 76,4 ; 76,9 ; 77,4 ; 80,0 ; 84,7 (CH_{sucre}) ; 109,6 ; 122,3 ; 123,7 ; 124,8 ; 127,4-128,2 ; 129,3 ; 129,8 ; 132,8 ; 133,2 (CH_{arom.}) ; 120,8 ; 121,3 ; 130,1 ; 132,6 ; 133,4 ; 137,6 ; 138,1 (2C) ; 138,2 ; 138,5 ; 148,1 (C_{arom.}) ; 167 ; 168,9 ; 173,9 ; 196,7 (C=O).

IR (KBr) : $\nu_{\text{NH, OH}}$ 3380 ; 3260 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1740 ; 1710 ; 1680 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1610 cm⁻¹.

Masse exacte (ES) calculée pour C₅₄H₄₉N₂O₁₀ [M+H]⁺ 885,3387 ; trouvée 885,3412.

F = 105-106°C.

Acide 4-(5-oxoindoliny)-4-oxobutanoïque 29

Sous atmosphère inerte, l'anhydride succinique (226 mg ; 2,25 mmol) est ajouté à une solution de chlorure d'aluminium (601 mg ; 4,5 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (3,1 mL). Le mélange réactionnel est alors maintenu sous agitation à température ambiante pendant 15 minutes avant addition d'une solution d'oxindole (100 mg ; 0,75 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (2 mL). Le mélange réactionnel est ensuite hydrolysé après 24 heures d'agitation à température ambiante. Le solide formé lors de l'hydrolyse est isolé par filtration sur verre fritté. Le produit est isolé sous forme d'un solide grisâtre (154 mg ; 0,66 mmol) avec un rendement de 88% après lavage à l'eau puis au dichlorométhane.

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,59 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂) ; 3,21 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂) ; 3,60 (s, 2H, CH₂) ; 6,95 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 7,86 (s, 1H) ; 7,92 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 10,80 (s, 1H, NH) ; 12,15 (s, 1H, OH).

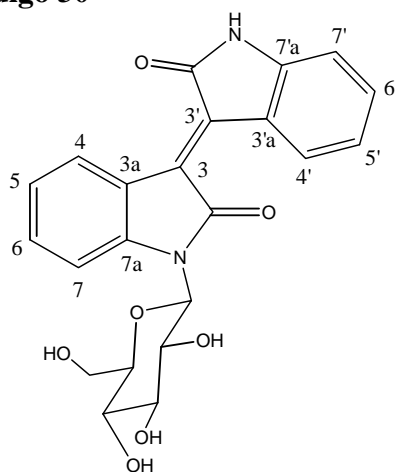
¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 27,9 ; 32,6 ; 35,5 (CH₂) ; 108,7 ; 124,0 ; 128,9 (CH_{arom.}) ; 126,1 ; 130,1 ; 148,3 (C_{arom.}) ; 173,9 ; 176,7 ; 196,9 (C=O).

IR (KBr) : ν_{OH, NH} 3560 ; 3300 cm⁻¹ ; ν_{C=O} 1730 ; 1710 ; 1680 cm⁻¹ ; ν_{C=C} 1610 cm⁻¹.

Masse exacte (ES) calculée pour C₁₂H₁₁NNaO₄ [M+Na]⁺ 256,0586 ; trouvée 256,0594.

F = 252-255°C. F_{litt} = 246-250°C⁷².

⁷² Kakushima, M.; Hamel, P.; Frenette, R.; Rokach, J. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 3214-3219.

1-(β -D-glucopyranosyl)-isoindigo **30**

MM = 424 g/mole

Sous atmosphère inerte, 1,5 mL (1,5 mmol) d'une solution 1M de BBr_3 dans le dichlorométhane sont additionnés goutte à goutte à une solution d'isoindigo glycosylé benzylé **23** (80 mg ; 0,10 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (9,5 mL) refroidie à -80°C . Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à -80°C pendant 12 heures avant hydrolyse à -80°C puis retour progressif à température ambiante. Après décantation puis extraction du mélange réactionnel avec de l'acétate d'éthyle, les phases organiques sont rassemblées puis séchées sur sulfate de magnésium. Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'éluion : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 95/5 à 85/15). Le composé déprotégé est obtenu sous la forme d'une poudre rouge (25 mg ; 0,06 mmol) avec un rendement de 60%.

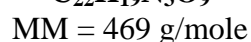
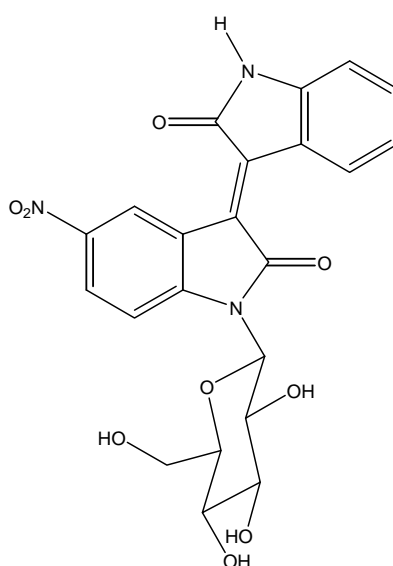
^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,29-3,46 (m, 3H) ; 3,52-3,59 (m, 1H) ; 3,78-3,84 (m, 1H) ; 3,86-4,02 (se, 1H) ; 4,68 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,18 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,22 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,40 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,36-5,44 (se, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 6,92 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, $\text{H}_{7'}$) ; 7,04 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, H_5) ; 7,13 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, H_5) ; 7,28 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H_7) ; 7,42 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, H_6) ; 7,48 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, H_6) ; 9,05 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{4'}$) ; 9,19 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, H_4) ; 11,0 (s, 1H, NH).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 61,0 (CH_2) ; 68,4 ; 69,8 ; 77,3 ; 80,1 ; 81,9 ($\text{CH}_{\text{sucrose}}$) ; 109,7 ($\text{C}_{7'}$) ; 111,5 (C_7) ; 121,2 ($\text{C}_{5'}$) ; 121,7 (C_5) ; 128,8 (C_4) ; 129,4 ($\text{C}_{4'}$) ; 132,3 (C_6) ; 132,9 ($\text{C}_{6'}$) ; 121,1 (C_{3a}) ; 121,6 ($\text{C}_{3'a}$) ; 132,1 (C_3) ; 134,0 ($\text{C}_{3'}$) ; 142,3 (C_{7a}) ; 144,3 ($\text{C}_{7'a}$) ; 167,0 ; 168,7 ($\text{C}=\text{O}$).

Masse exacte (FAB +) calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 425,1349 ; trouvée 425,1357.

IR (KBr) : $\nu_{\text{NH, OH}}$ 3377 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1696 ; 1680 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1604 cm^{-1} .

F > 300°C.

1-(β-D-glucopyranosyl)-5-nitroisindigo 31

Sous atmosphère inerte, une solution de 5-nitroisindigo glycosylé benzylé **24** (50 mg ; 0,06 mmol) dans 5,7 mL de dichlorométhane anhydre est refroidie à -80°C avant addition goutte à goutte de 0,84 mL (0,84 mmol) d'une solution de BBR_3 1M dans le dichlorométhane. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à -80°C pendant 2 heures, ensuite celui-ci est hydrolysé à -80°C avant retour progressif à température ambiante. Après extraction à l'acétate d'éthyle, séchage de la phase organique sur sulfate de magnésium, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 95/5 à 90/10). Le produit est obtenu sous la forme d'une poudre rouge (5 mg ; 0,01 mmol) avec un rendement de 18%.

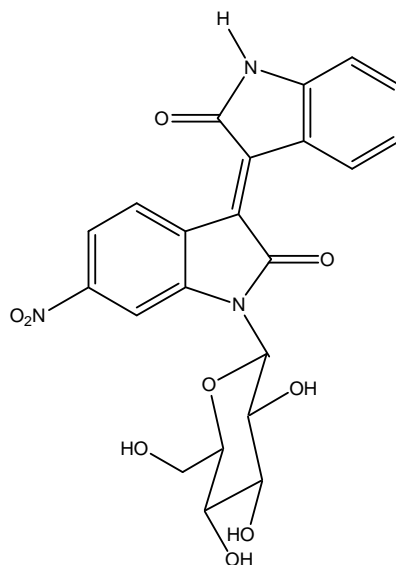
^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,30-3,45 (m, 3H) ; 3,47-3,58 (m, 1H) ; 3,80 (dd, $J_1 = 10,5$ Hz, $J_2 = 5,5$ Hz, 1H) ; 3,76-3,95 (m, 1H) ; 4,70 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,21 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,23 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,45 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,42 (se, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 6,94 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H) ; 7,09 (td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1H) ; 7,47 (td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1H) ; 7,51 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 8,38 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz, 1H) ; 9,05 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) ; 10,21 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H) ; 11,10 (s, 1H, NH).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 61,0 (CH_2) ; 68,7 ; 69,7 ; 77,0 ; 80,2 ; 82,2 (CH_{sucre}) ; 110,1 ; 111,7 ; 121,5 ; 124,2 ; 127,6 ; 130,0 ; 134,2 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 121,1 ; 121,2 ; 129,2 ; 136,9 ; 142 ; 1 ; 145,2 ; 147,0 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 167,1 ; 168,7 (C=O).

Masse exacte (ES) calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{NaO}_9$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 492,1019 ; trouvée 492,1006.

IR (KBr) : $\nu_{\text{NH, OH}}$ 3424 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1720, 1703 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1618 cm^{-1} .

F > 300°C.

1-(β -D-glucopyranosyl)-6-nitroisindigo **32**

C₂₂H₁₉N₃O₉
MM = 469 g/mole

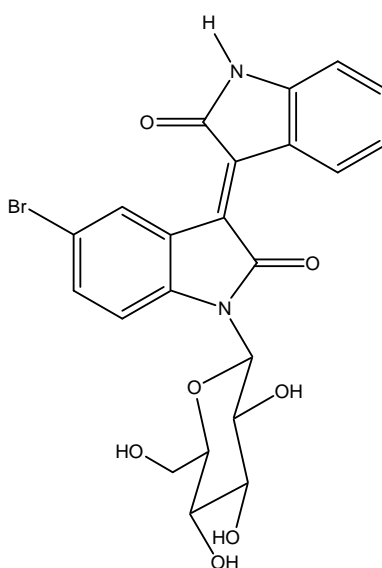
Sous atmosphère inerte, une solution de 6-nitroisindigo glycosylé benzylé **25** (25 mg ; 0,03 mmol) dans 3 mL de dichlorométhane anhydre est refroidie à -80°C avant addition goutte à goutte de 0,42 mL (0,42 mmol) d'une solution de BBr_3 1M dans le dichlorométhane. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à -80°C pendant 2 jours, ensuite celui-ci est hydrolysé à -80°C avant retour progressif à température ambiante. Après extraction à l'acétate d'éthyle, séchage de la phase organique sur sulfate de magnésium, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'éluion : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 95/5 à 90/10). Le produit est obtenu sous la forme d'une poudre rouge ($0,7 \text{ mg}$; $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mmol}$) avec un rendement de 5 %.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,30-3,58 (m, 4H) ; 3,76-3,83 (m, 1H) ; 3,84-3,97 (m, 1H) ; 4,68 (t, $J = 5,5 \text{ Hz}$, 1H, OH) ; 5,20-5,27 (m, 2H, OH) ; 5,42-5,50 (m, 2H, OH+ $\text{H}_{1'}$) ; 6,92 (d, $J = 7,5 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,05 (dt, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,47 (dt, $J_1 = 7,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,96 (br s, 1H) ; 8,01 (dd, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$, 1H) ; 9,03 (d, $J = 7,5 \text{ Hz}$, 1H) ; 9,36 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 1H) ; 11,12 (s, 1H, NH).

Le spectre Jmod n'a pas pu être enregistré en raison de la trop faible quantité de produit obtenu.

Masse exacte (ES) calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{NaO}_9$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ 492,1019 ; trouvée 492,1022.

F > 300°C .

1-(β-D-glucopyranosyl)-5-bromoindigo 33

MM = 503 g/mole

Sous atmosphère inerte, une solution de 5-bromoindigo glycosylé benzylé **26** (99 mg ; 0,11 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (10 mL) est refroidie à -80°C avant addition goutte à goutte de 1,54 mL (1,54 mmol) d'une solution de BBR_3 1M dans le dichlorométhane. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à -80°C pendant 2 heures avant hydrolyse à -80°C et retour progressif à température ambiante. Après extraction avec de l'acétate d'éthyle et séchage de la phase organique sur sulfate de magnésium, le résidu brut ainsi obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'éluion : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 95 : 5 à 90 : 10). Le produit est obtenu sous la forme d'une poudre rouge (34 mg ; 0,07 mmol) avec un rendement de 59%.

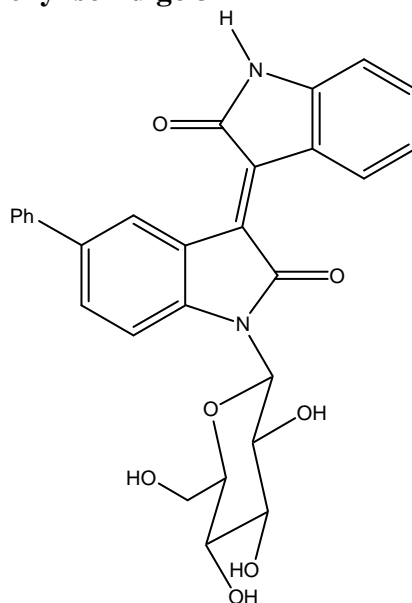
^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,27-3,45 (m, 3H) ; 3,49-3,58 (m, 1H) ; 3,78 (dd, $J_1 = 11,0$ Hz, $J_2 = 5,0$ Hz, 1H) ; 3,79-3,96 (m, 1H) ; 4,66 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,17 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,21 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,37 (se, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 5,40 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 6,91 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) ; 7,03 (td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1H) ; 7,23 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) ; 7,43 (td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1H) ; 7,64 (dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 9,04 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) ; 9,43 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H) ; 11,04 (s, 1H, NH).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 61,0 (CH_2) ; 68,4 ; 69,7 ; 77,2 ; 80,1 ; 82,0 (CH_{sucre}) ; 109,9 ; 113,3 ; 121,3 ; 129,8 ; 130,9 ; 133,6 ; 134,2 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 113,7 ; 121,4 ; 122,9 ; 130,4 ; 135,6 ; 141,2 ; 144,7 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 166,6 ; 168,7 (C=O).

Masse exacte (ES) calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{BrN}_2\text{NaO}_7$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 525,0273/527,0253 ; trouvée 525,0261/527,0282

IR (KBr) : $\nu_{\text{NH, OH}}$ 3540 ; 3500-3200 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1700 ; 1680 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1620 ; 1600 cm^{-1} .

F > 300°C.

1-(β-D- glucopyranosyl)-5-phénylisoindigo 34

C₂₈H₂₄N₂O₇
MM = 500 g/mole

Sous atmosphère inerte, une solution de 5-phénylisoindigo glycosylé benzylé **27** (75 mg ; 0,09 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (9 mL) est refroidie à -80°C avant addition goutte à goutte de 1,2 mL (1,2 mmol) d'une solution de BBr_3 1M dans le dichlorométhane. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à -80°C pendant 2 heures avant hydrolyse à -80°C et retour progressif à température ambiante. Après extraction avec de l'acétate d'éthyle et séchage de la phase organique sur sulfate de magnésium, le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 95 : 5 à 90 : 10). Le produit est obtenu sous la forme d'une poudre rouge (30 mg ; 0,06 mmol) avec un rendement de 66%.

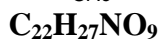
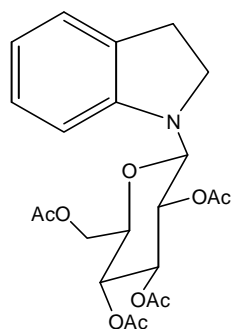
^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 3,30-3,46 (m, 3H) ; 3,52-3,60 (m, 1H) ; 3,77-3,84 (m, 1H) ; 3,88-4,03 (se, 1H) ; 4,66 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH) ; 5,15 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,20 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 5,40 (se, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 5,40 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, OH) ; 6,92 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H) ; 7,03 (dt, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1H) ; 7,35 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) ; 7,38-7,44 (m, 2H) ; 7,51-7,56 (m, 2H) ; 7,67-7,71 (m, 2H) ; 7,77 (dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 9,05 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H) ; 9,55 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H) ; 10,94 (s, 1H, NH).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 61,1 ($\text{CH}_2_{\text{sucré}}$) ; 68,6 ; 69,9 ; 77,3 ; 80,1 ; 82,0 ($\text{CH}_{\text{sucré}}$) ; 109,8 ; 111,7 ; 121,2 ; 126,2 (2C) ; 127,0 ; 127,3 ; 129,0 (2C) ; 129,5 ; 130,5 ; 133,1 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 121,6 (2C) ; 132,0 ; 133,9 ; 134,5 ; 140,3 ; 141,3 ; 144,4 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 167,1 ; 168,8 (C=O).

Masse exacte (ES) calculée pour $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{NaO}_7$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ 523,1481 ; trouvée 523,1497.

IR (KBr) : $\nu_{\text{NH, OH}}$ 3400 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1706 ; 1683 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1616 cm^{-1} .

F > 300°C.

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-indoline 35

MM = 449 g/mole

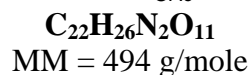
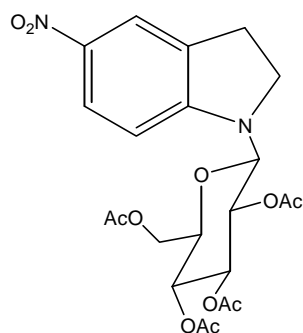
Une solution de 1-(β -D-glucopyranosyl)-indoline **3** (1 g ; 3,55 mmol) dans la pyridine (10,7 ml) est refroidie à 0°C avant addition d'anhydride acétique. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante. Après 24 heures d'agitation, le mélange réactionnel est hydrolysé avant d'être extrait à l'aide d'acétate d'éthyle. La phase organique ainsi récupérée est lavée à l'eau puis par une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ et à nouveau à l'eau jusqu'à obtention d'un pH neutre. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane (v/v) 50 : 50). Le produit est isolé sous forme d'un solide blanc (1,53 g ; 3,4 mmol) avec un rendement de 96%.

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,95 ; 1,99 ; 2,00 ; 2,03 (4s, 12H, CH₃ acetate) ; 2,80-2,90 (m, 1H) ; 2,93-3,04 (m, 1H) ; 3,42-3,55 (m, 2H) ; 3,95-4,04 (m, 1H) ; 4,14 (m, *J* = 9,0 Hz, 2H) ; 4,97 (t, *J* = 9,0 Hz, 1H) ; 5,19 (t, *J* = 9,0 Hz, 1H) ; 5,46 (t, *J* = 9,0 Hz, 1H) ; 5,54 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H_{1'}) ; 6,70 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H) ; 6,80 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H) ; 7,05-7,12 (m, 2H).

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 20,3 ; 20,4 (2C) ; 20,7 (CH₃acetate) ; 27,5 ; 45,1 (CH₂indoline) ; 61,9 (CH₂sucré) ; 68,4 ; 68,6 ; 71,8 ; 73,1 ; 82,4 (CH_{sucré}) ; 108,1 ; 119,0 ; 124,6 ; 127,0 (CH_{arom.}) ; 129,9 ; 149,7 (C_{arom.}) ; 169,3 ; 169,4 ; 169,6 ; 170,0 (C=O_{acétate}).

IR (KBr) : $\nu_{C=O}$ 1780-1730 cm⁻¹ ; $\nu_{C=C}$ 1610 cm⁻¹.

F = 100°C.

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-5-nitroindoline 36

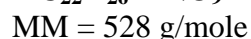
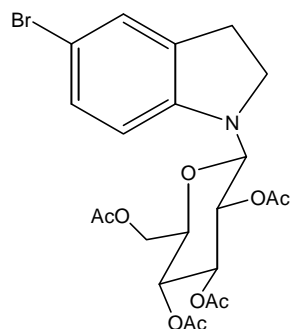
Une solution de 1-(β -D-glucopyranosyl)-5-nitroindoline **4** (600 mg ; 1,84 mmol) dans la pyridine (6,4 ml) est refroidie à 0°C avant addition d'anhydride acétique (4,7 ml). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante. Après 24 heures d'agitation, le mélange réactionnel est hydrolysé avant d'être extrait à l'aide d'acétate d'éthyle. La phase organique ainsi récupérée est lavée à l'eau puis par une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ et à nouveau à l'eau jusqu'à obtention d'un pH neutre. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'éluion: acétate d'éthyle/cyclohexane (v/v) de 20 : 80 à 50 : 50). Le produit est isolé sous forme d'un solide jaune (709 mg ; 1,43 mmol) avec un rendement de 78%.

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,94 ; 2,00 ; 2,04 (3s, 12H, CH₃ acetate) ; 2,95-3,06 (m, 1H) ; 3,08-3,18 (m, 1H) ; 3,63-3,73 (m, 2H) ; 4,03-4,20 (m, 3H) ; 5,03 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 5,25 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 5,46 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 5,67 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H, H_{1'}) ; 6,89 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H) ; 7,95 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H) ; 8,09 (dd, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 2,5 Hz, 1H).

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 20,4 (2C) ; 20,5 ; 20,6 (CH₃ acetate) ; 26,5 ; 46,2 (CH₂ indoline) ; 61,9 (CH₂ sucre) ; 68,1 ; 68,4 ; 72,4 ; 72,8 ; 81,6 (CH_{sucre}) ; 106,4 ; 120,8 ; 125,6 (CH_{arom.}) ; 131,1 ; 139,1 ; 155,8 (C_{arom.}) ; 169,5-170,2 (C=O acetate).

IR (KBr) : $\nu_{C=O}$ 1750 cm⁻¹ ; $\nu_{C=C}$ 1606 cm⁻¹.

F = 158°C.

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-5-bromoindoline 37

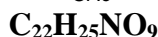
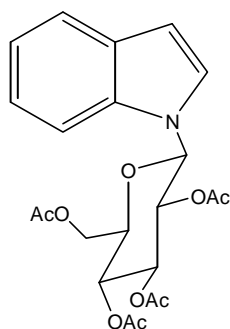
Une solution de 1-(β -D-glucopyranosyl)-indoline **6** (214 mg ; 0,59 mmol) dans la pyridine (2,3 ml) est refroidie à 0°C avant addition d'anhydride acétique (1,7 ml). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante. Après 24 heures d'agitation, le mélange réactionnel est hydrolysé avant d'être extrait à l'aide d'acétate d'éthyle. La phase organique ainsi récupérée est lavée à l'eau puis par une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 et à nouveau à l'eau jusqu'à obtention d'un pH neutre. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane (v/v) 20 : 80 à 40 : 60). Le produit est isolé sous forme d'un solide jaune (243 mg ; 0,46 mmol) avec un rendement de 78%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 1,98 ; 1,99 ; 2,00 ; 2,04 (4s, 12H, CH_3 acétate) ; 2,83-2,94 (m, 1H) ; 2,96-3,05 (m, 1H) ; 3,45-3,56 (m, 2H) ; 3,97-4,04 (m, 1H) ; 4,09-4,16 (m, 2H) ; 4,98 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 5,18 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 5,44 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 5,49 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 6,74 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) ; 7,23 (dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 7,25 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz ; $\text{DMSO}-d_6$) : 20,2 ; 20,3 (2C) ; 20,4 (CH_3 acétate) ; 27,2 ; 45,4 (CH_2 indoline) ; 61,8 (CH_2 sucre) ; 68,2 ; 68,4 ; 71,8 ; 72,9 ; 82,1 (CH_{sucre}) ; 109,7 ; 127,4 ; 129,4 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 109,7 ; 132,8 ; 149,1 ; ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 169,2 ; 169,3 ; 169,5 ; 169,9 ($\text{C}=\text{O}_{\text{acétate}}$).

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1741 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1597 cm^{-1} .

F = 142°C.

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-indole 38

MM = 447 g/mole

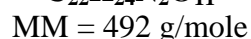
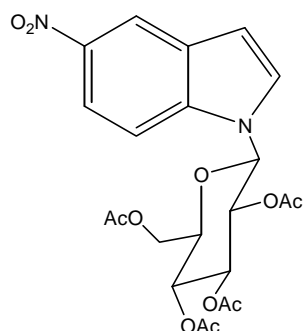
Le DDQ (361 mg ; 1,5 mmol) est additionné par petites portions à une solution de 1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-indoline **35** (600 mg ; 1,3 mmol) dans le 1,4-dioxane (78 ml). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante. Après 12 heures d'agitation, le mélange réactionnel est hydrolysé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ avant d'être extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution de chlorure de sodium saturée. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane (v/v) 50 : 50). Le produit est isolé sous forme d'un solide blanc (569 mg ; 1,27 mmol) avec un rendement de 98%.

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,67 ; 2,00 ; 2,02 ; 2,08 (4s, 12H, CH₃ acétate) ; 4,10-4,20 (m, 2H) ; 4,32-4,38 (m, 1H) ; 5,27 (t, *J* = 10,0 Hz, 1H) ; 5,58 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 5,65 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 6,26 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H_{1'}) ; 6,55 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H) ; 7,12 (dt, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz, 1H) ; 7,24 (dt, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz, 1H) ; 7,50 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H) ; 7,58 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 7,68 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H).

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 19,8 ; 20,2 ; 20,4 ; 20,5 (CH₃ acétate) ; 62,1 (CH₂ sucre) ; 68,1 ; 69,9 ; 72,7 ; 73,0 ; 81,3 (CH_{sucré}) ; 103,2 ; 110,4 ; 120,2 ; 120,6 ; 121,8 ; 125,7 (CH_{arom.}) ; 128,4 ; 136,0 (C_{arom.}) ; 168,4 ; 169,4 ; 169,6 ; 170,1 (C=O_{acétate})

IR (KBr) : ν_{C=O} 1790-1720 cm⁻¹ ; ν_{C=C} 1650, 1610 cm⁻¹

F = 140°C.

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-5-nitroindole 39

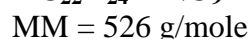
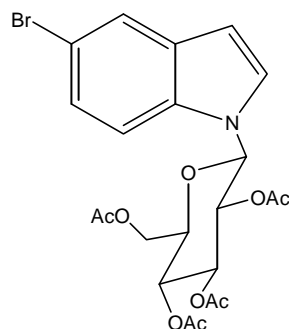
Le DDQ (60 mg ; 0,2 mmol) est additionné par petites portions à une solution de 1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-5-nitroindoline **36** (100 mg ; 0,2 mmol) dans le 1,4-dioxane (13 ml). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 100°C pendant 3 jours, avant hydrolyse avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ et extraction à l'aide d'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution de chlorure de sodium saturée. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane (v/v) 50 : 50). Le produit est isolé sous forme d'un solide jaune (96 mg ; 0,19 mmol) avec un rendement de 98%.

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,67 ; 2,01 ; 2,04 ; 2,09 (4s, 12H, CH₃ acétate) ; 4,13-4,23 (m, 2H) ; 4,33-4,39 (m, 1H) ; 5,34 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 5,58 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 5,66 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 6,36 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H_{1'}) ; 6,86 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H) ; 7,81 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H) ; 7,92 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 8,16 (dd, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 2,5 Hz, 1H) ; 8,61 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H).

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 19,7 ; 20,2 ; 20,4 ; 20,5 (CH₃ acétate) ; 62,0 (CH₂ sucre) ; 67,9 ; 70,0 ; 72,4 ; 73,3 ; 81,8 (CH_{sucré}) ; 105,5 ; 111,1 ; 117,2 ; 117,6 ; 129,6 (CH_{arom.}) ; 127,9 ; 138,7 ; 141,6 (C_{arom.}) ; 168,4 ; 169,4 ; 169,6 ; 170,0 (C=O acétate).

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}}$ 1749 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1616 cm⁻¹.

F = 163°C.

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-5-bromoindole 40

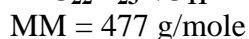
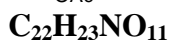
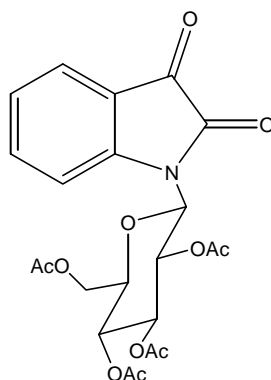
Le DDQ (152 mg ; 0,67 mmol) est additionné par petites portions à une solution de 1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-5-bromoindoline **37** (253 mg ; 0,48 mmol) dans le 1,4-dioxane (33 ml). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante. Après 24 heures d'agitation, le mélange réactionnel est hydrolysé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 avant d'être extrait avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution de chlorure de sodium saturée. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane (v/v) 50 : 50). Le produit est isolé sous forme d'un solide blanc (227 mg ; 0,43 mmol) avec un rendement de 90%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 1,68 ; 2,00 ; 2,03 ; 2,08 (4s, 12H, CH_3 acétate) ; 4,10-4,21 (m, 2H) ; 4,30-4,35 (m, 1H) ; 5,29 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H) ; 5,55 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 5,63 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 6,23 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 6,54 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 7,37 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 7,57 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) ; 7,69 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 7,79 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 19,8 ; 20,2 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3 acétate) ; 62,0 (CH_2 sucre) ; 67,9 ; 69,8 ; 72,5 ; 73,1 ; 81,6 (CH_{sucre}) ; 102,7 ; 112,6 ; 122,9 ; 124,4 ; 127,5 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 112,7 ; 130,3 ; 134,6 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 168,4 ; 169,4 ; 169,6 ; 170,0 ($\text{C}=\text{O}$ acétate).

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1740 cm^{-1} .

F = 168°C.

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-indoline-2,3-dione 41

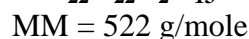
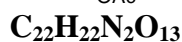
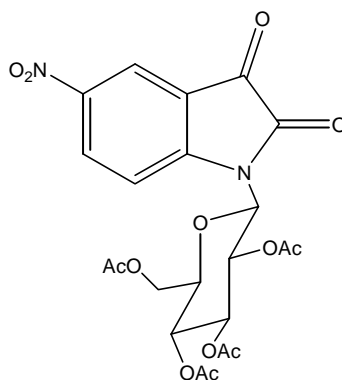
Le dérivé indolique **38** (500 mg ; 1,12 mmol) est mis en suspension dans un mélange d'acétone (1,6 ml), d'acide acétique (8 ml) et d'eau (2,5 ml) avant addition d'anhydride chromique (950 mg ; 9,5 mmol) par petites portions. Au bout de cinq heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est hydrolysé puis extrait au chlorure de méthylène. La phase organique est lavée successivement avec de l'eau, puis avec une solution saturée de NaCl jusqu'à pH neutre. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Le produit est isolé sous forme d'une gomme jaune (470 mg ; 0,98 mmol) avec un rendement de 88%.

^1H (400 MHz, CDCl_3) : 1,92 ; 2,03 ; 2,09 ; 2,11 (4s, 12H, CH_3 acétate) ; 3,96 (ddd, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz, $J_3 = 2,0$ Hz, 1H) ; 4,20 (dd, $J_1 = 12,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 4,28 (dd, $J_1 = 12,5$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz, 1H) ; 5,26 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H) ; 5,41 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 5,57 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 5,70 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 7,22 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H) ; 7,30 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) ; 7,63-7,68 (m, 2H).

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 20,3 ; 20,6 ; 20,7 ; 20,8 (CH_3 acétate) ; 61,7 (CH_2 sucre) ; 67,7 ; 67,8 ; 73,0 ; 74,9 ; 79,9 (CH_{sucre}) ; 113,6 ; 124,7 ; 125,8 ; 138,7 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 117,9 ; 148,0 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 157,6 ; 181,7 ($\text{C}=\text{O}_{\text{isatine}}$) ; 169,5 ; 169,6 ; 169,8 ; 170,5 ($\text{C}=\text{O}_{\text{acétate}}$).

Masse exacte (ES) : calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{NNaO}_{11}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 500,1163 ; trouvée 500,1170.

IR (NaCl) : $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1750 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1612 cm^{-1} .

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-5-nitroindoline-2,3-dione 42

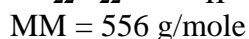
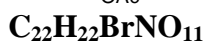
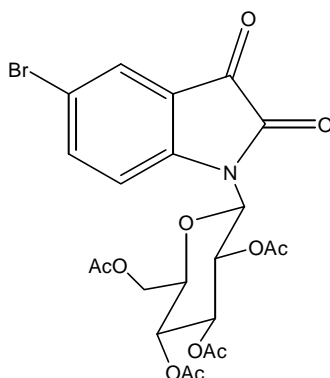
Le dérivé indolique **39** (97 mg ; 0,20 mmol) est mis en suspension dans un mélange d'acétone (0,3 ml), d'acide acétique (1,5 ml) et d'eau (0,5 ml) avant addition d'anhydride chromique (184 mg ; 1,84 mmol) par petites portions. Au bout de cinq heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est hydrolysé puis extrait au chlorure de méthylène. La phase organique est ensuite lavée successivement avec de l'eau puis avec une solution saturée de NaCl jusqu'à pH neutre. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel desilice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Le produit est isolé sous forme d'un solide jaune (60 mg ; 0,11 mmol) avec un rendement de 57%.

^1H (400 MHz, CDCl_3) : 1,93 ; 2,04 ; 2,10 ; 2,12 (4s, 12H, CH_3 acétate) ; 3,99 (ddd, , $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz, $J_3 = 2,0$ Hz, 1H) ; 4,20 (dd, $J_1 = 12,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 4,32 (dd, $J_1 = 12,5$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz, 1H) ; 5,28 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H) ; 5,42-5,52 (m, 2H) ; 5,73 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 7,50 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 8,53 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H) ; 8,58 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 20,3 ; 20,6 (2C) ; 20,8 (CH_3 acétate) ; 61,5 (CH_2 sucre) ; 67,6 ; 68,0 ; 72,5 ; 75,2 ; 80,2 (CH_{sucre}) ; 114,2 ; 121,3 ; 133,4 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 117,7 ; 144,7 ; 152,1 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 156,9 ; 179,8 ($\text{C}=\text{O}_{\text{isatine}}$) ; 169,6 ; 169,7 ; 169,9 ; 170,3 ($\text{C}=\text{O}_{\text{acétate}}$).

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1754 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1616 cm^{-1} .

F = 60°C.

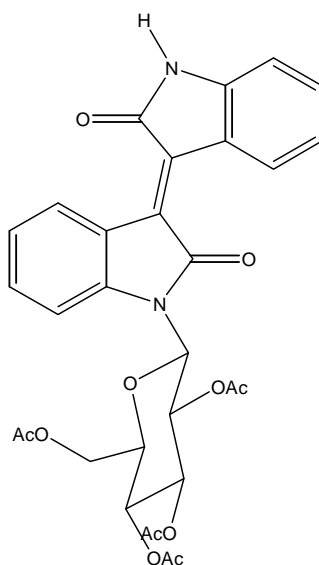
1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-5-bromoindoline-2,3-dione 43

Le dérivé indolique **40** (220 mg ; 0,42 mmol) est mis en suspension dans un mélange d'acétone (0,73ml), d'acide acétique (3,65ml) et d'eau (1,13ml) avant addition d'anhydride chromique (430 mg ; 4,3 mmol) par petites portions. Au bout de cinq heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est hydrolysé puis extrait au chlorure de méthylène. La phase organique est ensuite lavée successivement avec de l'eau, puis avec une solution saturée de NaCl jusqu'à pH neutre. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Le produit est isolé sous forme d'une gomme jaune (175 mg ; 0,32 mmol) avec un rendement de 75%.

^1H (400 MHz, CDCl_3) : 1,91 ; 2,01 ; 2,07 ; 2,09 (4s, 12H, CH_3 acétate) ; 3,94 (ddd, , $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz, $J_3 = 2,0$ Hz, 1H) ; 4,17 (dd, $J_1 = 12,5$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz, 1H) ; 4,27 (dd, $J_1 = 12,5$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz, 1H) ; 5,23 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 5,40 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H) ; 5,48 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H) ; 5,67 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 7,20 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1H) ; 7,74 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz, 1H) ; 7,75 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H).

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 20,3 ; 20,6 (2C) ; 20,7 (CH_3 acétate) ; 61,6 (CH_2 sucre) ; 67,7 (2C) ; 72,8 ; 74,9 ; 79,9 (CH_{sucre}) ; 115,4 ; 128,5 ; 140,9 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 117,8 ; 119,1 ; 146,8 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 156,8 ; 180,5 ($\text{C}=\text{O}_{\text{isatine}}$) ; 169,6 ; 169,7 ; 169,8 ; 170,4 ($\text{C}=\text{O}_{\text{acétate}}$).

IR (NaCl) : $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1752 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1607 cm^{-1} .

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-isoindigo 44

C₃₀H₂₈N₂O₁₁
MM = 592 g/mole

L'isatine glycosylée acétylée **41** (50 mg ; 0,105 mmol) est mise en solution dans le toluène anhydre (5 ml), avec quelques grains de tamis moléculaire 4Å, avant addition d'oxindole commerciale (14,3 mg ; 0,2 mmol) puis d'APTS (3 mg ; 0,016 mmol). Le mélange réactionnel est agité à reflux pendant 24h. Après refroidissement, le milieu réactionnel est repris dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ puis séchée sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 50 : 50), puis cristallisé, dans un bain de glace, dans un mélange d'acide acétique (2 ml) et de toluène (1 ml) contenant quelques gouttes d'eau. Le produit est isolé après filtration sous forme d'un solide rouge (9 mg ; 0,016 mmol) avec un rendement non optimisé de 15 %.

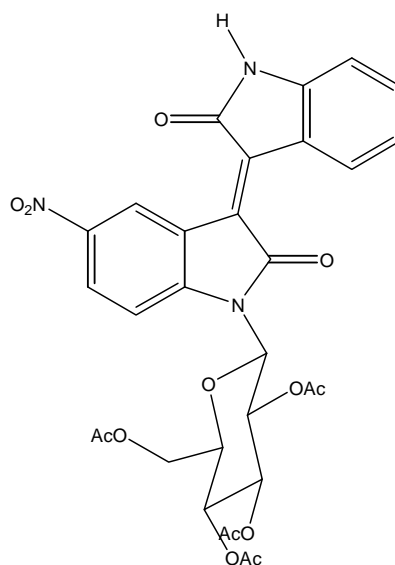
¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,85 ; 2,02 ; 2,09 ; 2,10 (4s, 12H, CH₃ acétate) ; 3,92-3,99 (m, 1H) ; 4,19-4,31 (m, 2H) ; 5,30 (t, *J* = 10,0 Hz, 1H) ; 5,42 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 5,70-5,78 (m, 1H) ; 5,86 (br s, 1H, H₁) ; 6,81 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 7,05 (dt, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz, 1H) ; 7,12 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 7,19 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 7,34 (dt, *J*₁ = 7,5 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz, 1H) ; 7,40 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 7,57 (s, 1H, NH) ; 9,03 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 9,14 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H).

¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 20,4 ; 20,7 (2C) ; 20,8 (CH₃ acétate) ; 61,9 (CH₂ sucre) ; 67,7 ; 68,1 ; 73,7 ; 74,9 ; 79,7 (CH_{sucre}) ; 121,7 ; 122,5 ; 132,3 ; 134,2 ; 141,3 ; 142,7 (C_{arom.}) ; 109,5 ; 111,0 ; 122,5 ; 123,2 ; 129,8 ; 130,1 ; 132,7 ; 133,0 (CH_{arom.}) ; 167,7 ; 169,0 ; 169,2 ; 169,6 ; 170,1 ; 170,6 (C=O).

Masse exacte (ES) : calculée pour C₃₀H₂₈N₂NaO₁₁ [M+Na]⁺ 615,1591 ; trouvée 615,1616.

IR (KBr) : ν_{NH} 3446 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1742, 1699 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1618 cm⁻¹.

F = 277°C.

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-5-nitroisindigo 45

C₃₀H₂₇N₃O₁₃
MM = 637 g/mole

La 5-nitroisatine glycosylée acétylée **42** (90 mg ; 0,17 mmol) est mise en solution dans le toluène anhydre (9 ml) avec quelques grains de tamis moléculaire 4Å, avant l'addition d'oxindole commerciale (14,3 mg ; 0,2 mmol) puis d'APTS (3 mg ; 0,016 mmol). Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 24h. Après refroidissement du milieu réactionnel, celui-ci est repris dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ puis séchée sur MgSO₄. Le produit est purifié par chromatographie sur gel silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 50 : 50), puis cristallisé, dans un bain de glace, dans un mélange d'acide acétique (1ml) et de toluène (0,5 ml) contenant quelques gouttes d'eau. Le produit est isolé après filtration sous forme d'un solide rouge (52 mg ; 0,08 mmol) avec un rendement non optimisé de 48 %.

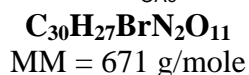
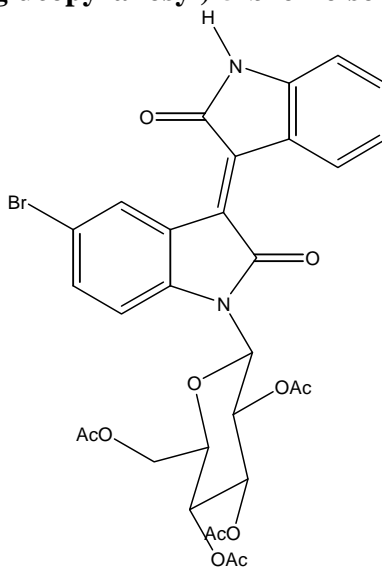
¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,82 ; 2,01 ; 2,08 ; 2,09 (4s, 12H, CH₃ acétate) ; 4,14-4,24 (m, 2H) ; 4,39-4,49 (m, 1H) ; 5,39-5,49 (m, 1H) ; 5,55-5,72 (m, 2H) ; 6,22 (br s, 1H, H₁) ; 6,93 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 7,06 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 7,47 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 7,83-7,90 (m, 1H) ; 8,33-8,40 (m, 1H) ; 8,98 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 10,19 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H) ; 11,12 (s, 1H, NH).

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 19,9 ; 20,2 ; 20,4 ; 20,5 (CH₃ acétate) ; 61,8 (CH₂ sucre) ; 67,4 ; 67,7 ; 72,2 ; 73,3 ; 78,3 (CH_{sucre}) ; 121,1 ; 121,2 ; 128,0 ; 137,7 ; 142,6 ; 145,4 ; 145,6 (C_{arom.}) ; 110,2 ; 112,3 ; 121,6 ; 124,1 ; 127,5 ; 129,8 ; 134,5 (CH_{arom.}) ; 166,8 ; 168,6 ; 169,0 ; 169,3 ; 169,5 ; 170,1 (C=O).

Masse exacte (ES) : calculée pour C₃₀H₂₇N₃NaO₁₃ [M+Na]⁺ 660,1442 ; trouvée 660,1467.

IR (KBr) : ν_{NH} 3463 cm⁻¹ ; ν_{C=O} 1749 cm⁻¹ ; ν_{C=C} 1614 cm⁻¹.

F > 300°C.

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-5-bromoindigo **46**

La 5-bromoisatine glycosylée acétylée **43** (63 mg ; 0,11 mmol) est mise en solution dans le toluène anhydre (6,3 ml) avec quelques grains de tamis moléculaire 4Å, avant addition d'oxindole commercial (12 mg ; 0,1 mmol) puis d'APTS (4,2 mg ; 0,22 mmol). Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 24 heures. Après refroidissement du milieu réactionnel, celui-ci est repris dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃, puis séchée sur MgSO₄. Le produit est purifié par chromatographie sur gel silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 50 : 50), puis cristallisé, dans un bain de glace, dans un mélange d'acide acétique (2 ml) et de toluène (1 ml) contenant quelques gouttes d'eau. Le produit est isolé après filtration sous forme d'un solide rouge (10 mg ; 0,014 mmol) avec un rendement non optimisé de 13%.

¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,86 ; 2,02 ; 2,09 ; 2,10 (4s, 12H, CH₃ acétate) ; 3,93-3,99 (m, 1H) ; 4,21 (dd, *J*₁ = 12,5 Hz, *J*₂ = 2,5 Hz, 1H) ; 4,27 (dd, *J*₁ = 12,5 Hz, *J*₂ = 4,0 Hz, 1H) ; 5,28 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 5,42 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H) ; 5,63-5,70 (m, 1H) ; 5,84 (br s, 1H, H_{1'}) ; 6,83 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 7,03-7,11 (m, 2H) ; 7,36 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 7,52 (dd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 2,0 Hz, 1H) ; 7,64 (s, 1H, NH) ; 9,03 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H) ; 9,39 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H).

¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 20,4 ; 20,7 (2C) ; 20,8 (CH₃ acétate) ; 61,8 (CH₂ sucre) ; 67,7 ; 68,0 ; 73,4 ; 74,9 ; 79,7 (CH_{sucre}) ; 116,2 ; 122,2 ; 123,3 ; 130,7 ; 135,6 ; 140,1 ; 143,2 (C_{arom.}) ; 109,8 ; 112,6 ; 122,7 ; 130,5 ; 132,4 ; 133,7 ; 135,0 (CH_{arom.}) ; 167,2 ; 169,0 ; 169,2 ; 169,6 ; 170,0 ; 170,6 (C=O).

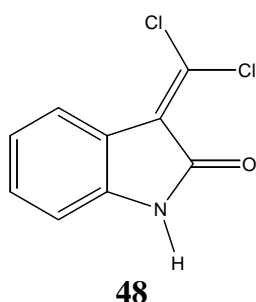
Masse exacte (ES) : calculée pour C₃₀H₂₇BrN₂NaO₁₁ [M+Na]⁺ 693,0696/695,0675 ; trouvée 693,0714/695,0713.

IR (KBr) : ν_{NH} 3425 cm⁻¹ ; ν_{C=O} 1747, 1699 cm⁻¹ ; ν_{C=C} 1618 cm⁻¹.

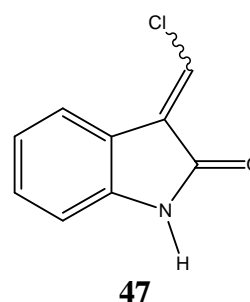
F = 285°C.

I.3- Synthèse des composés de la famille B

3,3-dichlorométhylèneindolin-2-one **48** et (Z/E)-3-chlorométhylèneindolin-2-one **47**



C₉H₅Cl₂NO
MM = 214 g/mole



C₉H₆ClNO
MM = 179,5 g/mole

Une solution de butyllithium 1,6 M dans l'hexane (1,8 mL ; 2,9 mmol) est ajoutée à la suspension d'iodure de chlorométhyltriphenylphosphine (1,3 g ; 3,06 mmol) dans le THF anhydre (20 mL). Après une heure d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est refroidi à -10°C avant addition d'une solution d'isatine (150 mg ; 1,02 mmol) dans le THF anhydre (20 mL). Après une heure d'agitation, le mélange réactionnel est hydrolysé à -10°C par une solution saturée de chlorure de sodium. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est extrait à l'acétate d'éthyle. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 80 : 20). Deux produits sont isolés: le produit dichloré **48** sous la forme d'une poudre jaune (9 mg ; 0,04 mmol) avec un rendement de 4% et le produit **47** (mélange des isomères Z et E) sous forme d'une poudre jaune (93 mg ; 0,52 mmol) avec un rendement de 51%. L'isomère Z est obtenu à partir du produit **47** (mélange des isomère Z et E) par précipitation dans l'acétate d'éthyle.

Produit **48** :

^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,93 (d, $J=7,5$ Hz, 1H) ; 7,08 (td, $J_1=8,0$ Hz, $J_2=1,0$ Hz, 1H) ; 7,38 (td, $J_1=7,5$ Hz, $J_2=1,0$ Hz, 1H) ; 7,93 (d, $J=8,0$ Hz, 1H) ; 10,85 (s, 1H, NH).

^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 109,9 ; 121,5 ; 124,3 ; 131,0 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 120,6 ; 125,4 ; 129,7 ; 140,8 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 164,2 (C=O).

IR (KBr) : ν_{NH} 3150 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1705 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1620 cm^{-1} .

Masse (IC) calculée pour $\text{C}_9\text{H}_6\text{Cl}_2\text{NO}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 214/216/218 ; trouvée 214/216/218.

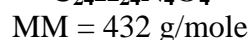
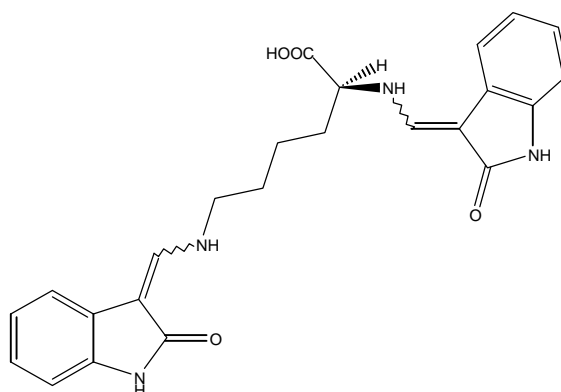
F = 205 $^{\circ}\text{C}$

Produit **47** (isomère Z) :

^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,96 (d, $J=7,5$ Hz, 1H) ; 7,09 (t, $J=7,5$ Hz, 1H) ; 7,38 (t, $J=7,5$ Hz, 1H) ; 7,72 (d, $J=7,5$ Hz, 1H) ; 8,01 (s, 1H, $\text{H}_{\text{vinylique}}$) ; 10,78 (s, 1H, NH).

^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 109,7 ; 120,5 ; 121,3 ; 126,1 ; 129,9 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 121,7 ; 128,4 ; 140,2 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 165,2 (C=O).

IR (KBr) : ν_{NH} 3444 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1711 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1612 cm^{-1} .

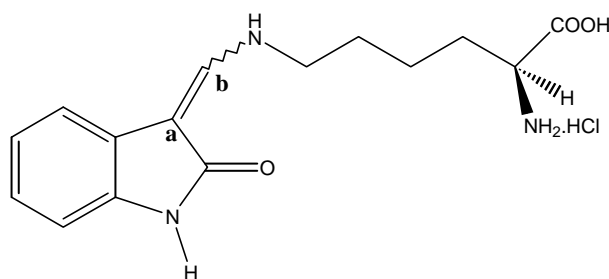
Dimère 49

A une solution de (Z/E)-3-chlorométhylèneindolin-2-one **47** (90 mg ; 0,5 mmol) dans 5 mL de méthanol sont additionnées successivement la L-Lysine commerciale (73 mg ; 0,5 mmol) et une solution aqueuse de soude 1N (0,5 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 4 heures. Après neutralisation du milieu réactionnel par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique (1N) puis extraction avec de l'acétate d'éthyle, les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO_4 . Après filtration et élimination du solvant par évaporation le produit est obtenu (34 mg ; 0,079 mmol) sous la forme d'un mélange de quatre diastéréoisomères (ZZ, ZE, EZ, EE), sous la forme d'un solide vert, avec un rendement de 32%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) du mélange des 4 diastéréoisomères : 1,35 à 1,46 (m, CH_2_{lys}) ; 1,55 à 1,70 (m, CH_2_{lys}) ; 1,78 à 1,98 (m, CH_2_{lys}) ; 3,35 à 3,48 (m, CH_2_{lys}) ; 4,06 à 4,15 (m, CH_{alys}) ; 6,76 à 7,01 (m) ; 7,26 à 7,35 (m) ; 7,38 à 7,50 (m) ; 7,55 à 7,68 (m) ; 7,92 (d, $J = 13,5 \text{ Hz}$, $\text{H}_{\text{vinylique}}$) ; 7,93 (d, $J = 13,5 \text{ Hz}$, $\text{H}_{\text{vinylique}}$) ; 8,82 (dt, $J_1 = 13,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 6,0 \text{ Hz}$, $\text{NH}_{\text{vinylique}}$) ; 8,99 à 9,06 (m, $\text{NH}_{\text{vinylique}}$) ; 9,91 (s, $\text{NH}_{\text{indole}}$) ; 9,96 (s, $\text{NH}_{\text{indole}}$) ; 10,17 (se, $\text{NH}_{\text{indole}}$) ; 10,23 (s, $\text{NH}_{\text{indole}}$). Le proton de la fonction acide carboxylique n'est pas visible sur le spectre.

IR (NaCl) : ν_{NH} 3671-3044 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1671 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1606 cm^{-1} .

Masse exacte (ES) calculée pour $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 433,1876 ; trouvée 433,1889.

(Z et E)-S-3-[5-amino-5-carboxypentylaminométhylène]-indolin-2-one 50

$\text{MM}_{\text{amine libre}} = 289 \text{ g/mole}$, $\text{MM}_{\text{chlorhydrate}} = 325,5 \text{ g/mole}$

Une solution aqueuse de soude 1N (0,35 mL) est ajoutée à une solution de N-(α)-Boc-L-lysine commerciale (86 mg ; 0,35 mmol) dans 3 mL de méthanol. Après addition d'une solution de (Z/E)-3-chlorométhylèneindolin-2-one **47** (62 mg ; 0,35 mmol) dans 3 mL de méthanol au mélange réactionnel, celui-ci est agité à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24 heures. Après neutralisation du milieu réactionnel par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique (1N) puis extraction avec de l'acétate d'éthyle, les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO_4 . Après filtration et élimination du solvant par évaporation, le résidu obtenu est repris dans 4,2 mL d'acétate d'éthyle auxquels on additionne 1,26 mL d'acide chlorhydrique (3M). Après 4 heures de chauffage à 50°C, le milieu est évaporé, repris dans un minimum d'acétate d'éthyle afin de permettre la formation d'un précipité qui est isolé par filtration. Le produit est obtenu (47 mg ; 0,14 mmol) sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères Z et E (70/30), sous la forme d'une poudre jaune, avec un rendement de 41%.

Spectres de l'isomère Z majoritaire :

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 1,33 à 1,55 (m, 2H, CH_2_{lys}) ; 1,58 à 1,69 (m, 2H, CH_2_{lys}) ; 1,78 à 1,92 (m, 2H, CH_2_{lys}) ; 3,34 à 3,44 (m, 2H, CH_2_{lys}) ; 3,92 à 3,99 (m, 1H, CH_{alys}) ; 6,78 à 6,93 (m, 3H) ; 7,31 (d, $J = 8,0 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,93 (d, $J = 13,5 \text{ Hz}$, 1H, $\text{H}_{\text{vinylique}}$) ; 8,29 à 8,41 (se, 3H, NH_3^+) ; 8,79 (dt, $J_1 = 13,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 6,5 \text{ Hz}$, 1H, $\text{NH}_{\text{vinylique}}$) ; 10,20 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{indole}}$). Le proton de la fonction acide carboxylique n'est pas visible sur le spectre.

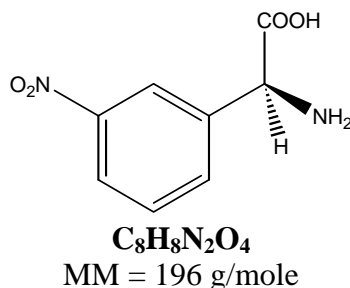
^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 21,3 ; 29,5 ; 30,2 ; 47,9 (CH_2_{lys}) ; 51,7 (CH_{lys}) ; 94,3 (Ca) ; 125,3 ; 135,5 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 108,6 ; 114,9 ; 119,7 ; 121,9 ; 147,8 (Cb) ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 169,5 ; 170,9 (C=O).

IR (KBr) : ν_{NH} 3426 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1735 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1653 cm^{-1} .

Masse exacte (ES) calculée pour $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{NaO}_3$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ 312,1324 ; trouvée 312,1342.

Cette synthèse a été réalisée exactement dans les mêmes conditions en série racémique. La synthèse à partir de la S(+)-phénylglycine est décrite ci-dessous.

(S)-(+)-méta-nitrophénylglycine 56



La (S)-(+)-phénylglycine (1g ; 6,6 mmol) est additionnée, à 0°C, à un mélange de 1 mL d'acide sulfurique concentré et 1 mL d'acide nitrique fumant. Le milieu réactionnel est agité une heure à 0°C puis 30 minutes à température ambiante. Après hydrolyse du milieu réactionnel avec 20 mL d'eau glacée, le pH de celui-ci est ramené à 9 à l'aide d'une solution 4 M de NH₄OH. Au bout de 96 heures d'agitation à 4°C, le précipité est filtré et lavé à l'eau glacée. Le produit est isolé sous la forme d'une poudre jaune (647 mg ; 3,3 mmol) avec un rendement de 50%.

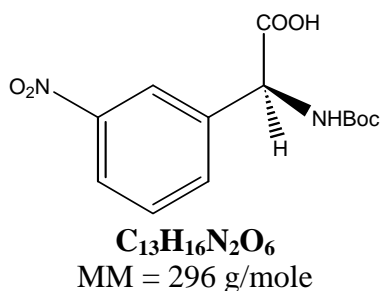
¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 4,50 (s, 1H, H_α) ; 7,65 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 7,87 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 8,16 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 8,34 (s, 1H).

En raison de l'insolubilité du produit dans le DMSO, le spectre Jmod n'a pas pu être enregistré.

IR (KBr) : ν_{NH, OH} 3639-3267 cm⁻¹ ; ν_{C=O} 1682 cm⁻¹ ; ν_{C=C} 1623 cm⁻¹.

F = 160°C.

[α]_D²⁵ = +100 (c = 0,66 ; HCl 1M).

(S)-(+)-N(α)-Boc-méta-nitrophénylglycine 57

A 0°C, une solution de NaHCO₃ saturée (1,16 mL) et de di-*tert*butyldicarbonate (0,43 mL ; 2,04 mmol) est additionnée à une solution de (S)-(+)-méta-nitrophénylglycine **56** (200 mg ; 1,02 mmol) dans un mélange de 1,4-dioxane (3,4 mL) et d'eau (2,3 mL). Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est agité pendant 24 heures. Après avoir ramené le pH vers 2-3 par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique 3M, le milieu réactionnel est extrait à l'acétate d'éthyle. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 100 : 0 à 80 : 20). Le produit est isolé sous la forme d'une poudre jaune (299 mg ; 1,01 mmol) avec un rendement de 99%.

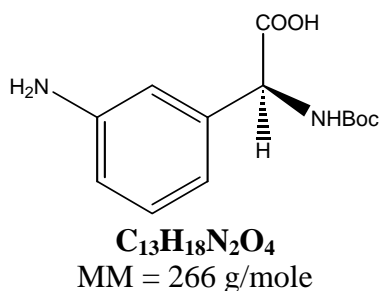
¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,40 (s, 9H, Boc) ; 4,77 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, H α) ; 6,75 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, NH-Boc) ; 7,59 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 7,83 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H) ; 8,08 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 8,18 (s, 1H). Le proton de la fonction acide carboxylique n'est pas visible sur le spectre.

Le produit n'est pas suffisamment soluble dans le DMSO pour enregistrer le spectre Jmod. D'autre part, l'ajout de DCl entraîne l'élimination du groupement Boc.

IR (KBr) : ν_{OH} 3396 cm⁻¹ ; ν_{NH} 2980 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1683 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1605 cm⁻¹.

F = 115°C (décomposition).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +90$ (c = 1 ; MeOH).

(S)-(+)-N(α)-Boc-méta-aminophénylglycine 58

Dans un hydrogénateur de Parr, 30 mg de Pd/C (10%) sont additionnés à une solution de (S)-(+)-N(α)-Boc-méta-nitrophénylglycine **57** (310 mg ; 1,05 mmol) dans 30 mL de méthanol dégazé. Le milieu réactionnel est agité sous 50 psi d'hydrogène pendant 24 heures. Après filtration du milieu réactionnel sur célite, le solvant est évaporé. Le produit est obtenu sous la forme d'une poudre jaune (209 mg ; 0,79 mmol) avec un rendement de 75%.

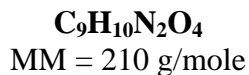
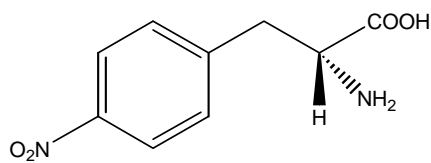
¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,39 (s, 9H, Boc) ; 4,38 (se, 1H, H α) ; 4,88 (se, 1H, NH-Boc) ; 6,37 (dd, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz 1H) ; 6,48 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H) ; 6,56 (s, 1H) ; 6,88 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H). Les protons de la fonction acide carboxylique et du groupement NH₂ ne sont pas visibles sur le spectre.

Le produit n'est pas suffisamment soluble dans le DMSO pour enregistrer le spectre Jmod. D'autre part, l'ajout de DCl entraîne l'élimination du groupement Boc.

IR (KBr) : ν_{OH} 3410 cm⁻¹ ; ν_{NH} 2990 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1680 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1589 cm⁻¹.

F = 110°C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +75$ (c = 1 ; MeOH).

Para-nitro-D-phénylalanine 59

La D-phénylalanine (1g ; 6 mmol) est additionnée, à 0°C, à un mélange de 1 mL d'acide sulfurique concentré et 1 mL d'acide nitrique fumant. Le milieu réactionnel est agité une heure à 0°C puis 30 minutes à température ambiante. Après hydrolyse du milieu réactionnel avec 20 mL d'eau glacée, le pH de celui-ci est ramené à 9 à l'aide d'une solution 4 M de NH₄OH. Au bout de 96 heures d'agitation à 4°C, le précipité est filtré et lavé à l'eau glacée. Le produit est isolé sous la forme d'une poudre jaune (202 mg ; 0,96 mmol) avec un rendement de 16%.

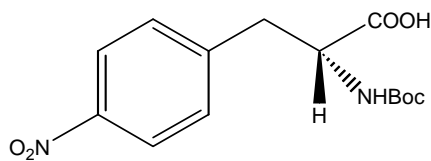
¹H (400 MHz, D₂O-DCl) : 3,22 (dd, $J_1 = 14,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 6,0 \text{ Hz}$, 1H) ; 3,33 (dd, $J_1 = 14,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 7,5 \text{ Hz}$, 1H) ; 4,14 (t, $J = 7,0 \text{ Hz}$, 1H, CH α) ; 7,43 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 2H) ; 8,14 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 2H).

¹³C (100 MHz, D₂O-DCl) : 33,1 (CH₂) ; 51,8 (CH α) ; 121,4 (2C) ; 127,7 (2C) (CH_{arom.}) ; 140,0 ; 144,5 (C_{arom.}) ; 169,4 (C=O).

IR (KBr) : $\nu_{\text{NH, OH}}$ 3657-2850 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1662 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1610 cm⁻¹.

F = 230°C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +12$ (c = 1 ; HCl 1M).

***N*(α)-Boc-para-nitro-D-phénylalanine 60**

C₁₄H₁₈N₂O₆
MM = 310 g/mole

A 0°C, 1,16 mL de solution aqueuse saturée de NaHCO₃ et de di-*tert*butyldicarbonate (0,43mL ; 2,04 mmol) sont additionnés à une solution de *N*(α)-Boc-para-nitro-D-phénylalanine (210 mg ; 1,00 mmol) dans un mélange de 3,4 mL de 1,4-dioxane et de 2,3 mL d'eau. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est agité pendant 24 heures. Après avoir ramené le pH vers 2-3 par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique 3M, le milieu réactionnel est extrait à l'acétate d'éthyle. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : acétate d'éthyle/méthanol (v/v) de 100 : 0 à 80 : 20). Le produit est isolé sous la forme d'une poudre jaune (285 mg ; 0,92 mmol) avec un rendement de 92%.

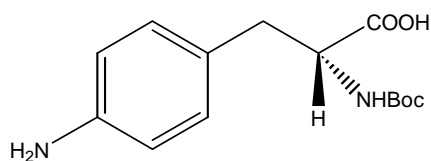
¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,33 (s, 9H, Boc) ; 3,01 (dd, *J*₁ = 13,0 Hz, *J*₂ = 8,5 Hz, 1H) ; 3,21 (dd, *J*₁ = 13,5 Hz, *J*₂ = 5,0 Hz, 1H) ; 3,98 à 4,06 (m, 1H, CH α) ; 7,48 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H) ; 8,14 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H). Les protons échangeables ne sont pas visibles sur le spectre.

Le produit n'est pas suffisamment soluble dans le DMSO pour enregistrer le spectre Jmod. D'autre part, l'ajout de DCl entraîne l'élimination du groupement Boc.

IR (KBr) : ν_{OH} 3364 cm⁻¹ ; ν_{NH} 2950 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1679 cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1605 cm⁻¹.

F = 115°C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +8$ (c = 1 ; MeOH).

***N*(α)-Boc-para-amino-D-phénylalanine 61**

C₁₄H₂₀N₂O₄
MM = 280 g/mole

Dans un hydrogénateur de Parr, 25 mg de Pd/C (10%) sont additionnés à une solution de *N*(α)-Boc-para-nitro-D-phénylalanine **60** (200 mg ; 0,65 mmol) dans 25 mL de méthanol dégazé. Le milieu réactionnel est agité sous 50 psi d'hydrogène pendant 24 heures. Après filtration du milieu réactionnel sur célite, le solvant est évaporé. Le produit est obtenu sous la forme d'une poudre verte (146 mg ; 0,52 mmol) avec un rendement de 80%.

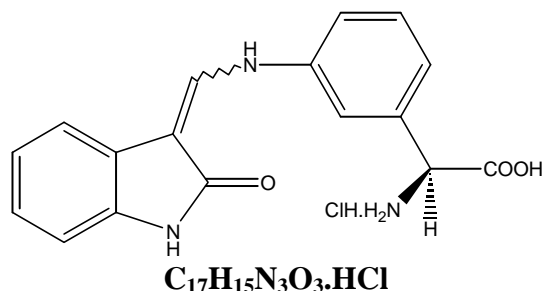
¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,38 (s, 9H, Boc) ; 2,67 à 2,77 (m, 1H) ; 2,83 à 2,93 (m, 1H) ; 3,83 (se, 1H, CHα) ; 6,46 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H) ; 6,86 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H). Les protons échangeables ne sont pas visibles sur le spectre.

Le produit n'est pas suffisamment soluble dans le DMSO pour enregistrer le spectre Jmod. D'autre part, l'ajout de DCl entraîne l'élimination du groupement Boc.

IR (KBr) : ν_{OH} 3426 cm⁻¹ ; ν_{NH} 2978 cm⁻¹ ; ν_{C=O} 1691 cm⁻¹ ; ν_{C=C} 1610 cm⁻¹.

F = 131°C.

[α]_D²⁵ = +20 (c = 1 ; MeOH).

(Z et E)-(S)-3-[(3-aminométhyl-3-carboxyméthyl)phénylaminométhylène]-indolin-2-one
63

MM_{amine libre} = 309 g/mole, MM_{chlorhydrate} = 345,5 g/mole

Une solution aqueuse de soude 1N (0,42 mL) est ajoutée à une solution de (S)-(+)-*N*(α)-Boc-méta-aminophénylglycine **58** (111 mg ; 0,42 mmol) dans 5 mL de méthanol avant addition d'une solution de (Z/E)-3-chlorométhylèneindolin-2-one **47** (75 mg ; 0,42 mmol) dans 5 mL de méthanol. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24 heures. Après neutralisation du milieu réactionnel par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique (1N), celui-ci est extrait avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO₄ et le solvant est éliminé par évaporation. Le résidu est repris dans 3,7 mL d'acétate d'éthyle auxquels on additionne 1,12 mL d'acide chlorhydrique (3M). Après 4 heures de chauffage à 50°C, le milieu est refroidi, le précipité formé est isolé par filtration. Le produit, constitué d'un mélange de deux diastéréoisomères Z et E (80/20), est obtenu sous la forme d'une poudre jaune (75 mg ; 0,22 mmol) avec un rendement de 52%.

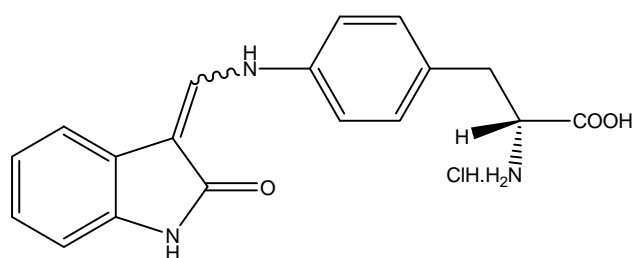
Spectres de l'isomère Z majoritaire :

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 5,13 (se, 1H, CH α) ; 6,88 à 6,95 (m, 1H) ; 6,97 à 7,00 (m, 1H) ; 7,06 à 7,10 (m, 1H) ; 7,20 à 7,22 (m, 1H) ; 7,50 à 7,55 (m, 2H) ; 7,58 à 7,63 (m, 2H) ; 8,65 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H, H_{vinyle}) ; 8,81 à 8,92 (m, 4H, H_{échangeables}) ; 10,61 (s, 1H, NH_{indolique}) ; 10,86 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H, NH_{vinyle}).

¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 55,3 (CH α) ; 109,2 ; 115,4 ; 116,1 ; 117,2 ; 120,4 ; 122,3 ; 124,3 ; 130,2 ; 137,4 (CH_{arom.}) ; 100,3 ; 123,9 ; 134,6 ; 137,1 ; 140,3 (C_{arom.}) ; 169,3 ; 169,8 (C=O).

IR (KBr) : $\nu_{\text{NH, OH}}$ 3665-3136 cm⁻¹, $\nu_{\text{C=O}}$ 1732, 1668 cm⁻¹, $\nu_{\text{C=C}}$ 1594 cm⁻¹.

Masse exacte (ES) calculée pour C₁₇H₁₆N₃O₃ [M+H]⁺ 310,1192 ; trouvée 310,1205.

(Z et E)-(R)-3-[(3-aminoéthyl-3-carboxyéthyl)phénylaminométhylène]-indolin-2-one 64

$\text{MM}_{\text{amine libre}} = 323 \text{ g/mole}$, $\text{MM}_{\text{chlorhydrate}} = 359,5 \text{ g/mole}$

Une solution aqueuse de soude 1N (0,42 mL) est ajoutée à une solution de *N*(α)-Boc-para-amino-D-phénylalanine (118 mg ; 0,42 mmol) dans 5 mL de méthanol avant addition d'une solution de (Z/E)-3-chlorométhylèneindolin-2-one **47** (75 mg ; 0,42 mmol) dans 7 mL de méthanol. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24 heures. Après neutralisation du milieu réactionnel par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique (1N), celui-ci est extrait avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO_4 et le solvant est éliminé par évaporation. Le résidu obtenu est repris dans 8,4 mL d'acétate d'éthyle auxquels on additionne 2,5 mL d'acide chlorhydrique (3M). Après 24 heures d'agitation à température ambiante, à l'abri de la lumière, le précipité formé est isolé par filtration. Le produit, constitué d'un mélange de deux diastéréoisomères Z et E (85/15), est obtenu sous la forme d'une poudre jaune (44 mg ; 0,12 mmol) avec un rendement de 29%.

Spectres de l'isomère Z majoritaire :

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,02 à 3,14 (m, 2H) ; 4,23 (se, 1H, CH_α) ; 6,88 (d, $J = 7,5 \text{ Hz}$, 1H) ; 6,97 (dt, $J_1 = 7,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,05 (dt, $J_1 = 7,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,31 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 2H) ; 7,43 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 2H) ; 7,62 (d, $J = 7,5 \text{ Hz}$, 1H) ; 8,20-8,38 (se, 3H, $\text{H}_{\text{échangeables}}$) ; 8,63 (d, $J = 12,5 \text{ Hz}$, 1H, $\text{H}_{\text{vinylique}}$) ; 10,54 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{indole}}$) ; 10,76 (d, $J = 12,5 \text{ Hz}$, 1H, $\text{NH}_{\text{vinylique}}$). Le proton de la fonction acide carboxylique n'est pas visible sur le spectre.

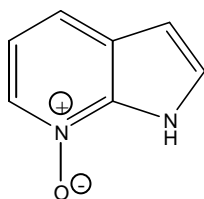
^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 35,0 (CH_2) ; 53,1 (CH_α) ; 99,7 ; 124,1 ; 129,3 ; 137,0 ; 139,1 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 109,1 ; 115,9 (2C) ; 117,0 ; 120,3 ; 124,0 ; 130,6 (2C) ; 137,7 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 169,8 ; 170,3 (C=O).

Masse exacte (ES) calculée pour $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 324,1348 ; trouvée 324,1364,

IR (KBr) : $\nu_{\text{NH, OH}}$ 3664-3147 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ 1737, 1661 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1610 cm^{-1} .

I.4- Synthèse des composés de la famille C

7-oxyde-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine 65



MM = 134 g/mole

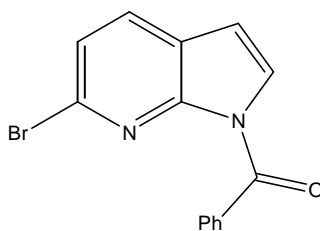
Sous atmosphère inerte, de l'acide méta-chloroperbenzoïque à 77% (12 g ; 37 mmol) est additionné à une solution de 7-azaindole (4 g ; 34 mmol) dans le 1,2-diméthoxyéthane fraîchement distillé (120 mL). Le milieu réactionnel est agité à 4°C pendant 24 heures. Le précipité formé est filtré et lavé au diéthyléther froid. Après séchage, on obtient 5,16 g d'un solide beige très clair qui est dissous dans 50 mL d'eau. Après avoir ramené le pH à 9 par ajout de K_2CO_3 solide, le milieu réactionnel est mis à agiter à 4°C pendant 48 heures. Le précipité formé est filtré. Le produit est isolé sous la forme d'une poudre blanche (1,8 g ; 13,26 mmol) avec un rendement de 39%.

Le composé étant déjà décrit dans la littérature^{91,92}, on ne présentera que le spectre RMN du proton:

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 6,57 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H) ; 7,04 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 6,0$ Hz, 1H) ; 7,48 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H) ; 7,62 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1H) ; 8,10 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H). Le proton échangeable n'est pas visible sur le spectre.

⁹¹ Schneller, S.W.; Luo, J.-K; *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 4045-4048.

⁹² Antonini, I.; Claudi, F.; Cristalli, G.; Franchetti, P.; Griffantini, M.; Martelli, S. *J. Med. Chem.* **1982**, 25, 1258-1261.

1-benzoyl-6-bromo-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine 66

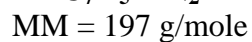
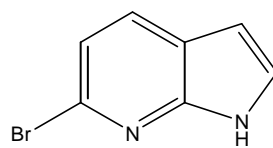
C₁₄H₉BrN₂O
MM = 301 g/mole

Sous atmosphère inerte, une solution de bromure de benzoyle (926 mg ; 5 mmol) dans le benzène anhydre (20 mL) puis une solution de HMDS (324 mg ; 2 mmol) dans le benzène anhydre (20 mL) sont additionnées successivement à une solution de 7-oxyde-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **65** (268 mg ; 2 mmol) dans le benzène anhydre (40 mL). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 2 heures, avant d'être lavé à l'aide d'une solution aqueuse saturée en NaHCO₃. Après séchage de la phase organique sur MgSO₄ et évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 90/10). Le produit est obtenu sous la forme d'un solide blanchâtre (391 mg ; 1,3 mmol) avec un rendement de 65%.

Le composé étant déjà décrit dans la littérature⁹³, on ne présentera que le spectre RMN du proton:

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 6,89 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H) ; 7,53 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 7,61 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H) ; 7,76 (td, *J*₁ = 7,0 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz, 1H) ; 7,81 (dd, *J*₁ = 7,0 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz, 2H) ; 7,88 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H) ; 8,10 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H).

⁹³ Minikata, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. *Synthesis* **1992**, 661-663.

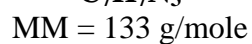
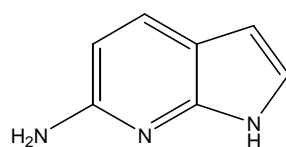
6-bromo-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine 67

Une solution de soude 1N (8,4 mL) est additionnée à une solution de 1-benzoyl-6-bromo-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine **66** (275 mg ; 0,91 mmol) dans le méthanol (27 mL). Après 18 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est hydrolysé puis extrait au dichlorométhane. Après séchage de la phase organique sur MgSO_4 , le solvant est évaporé. Le produit est obtenu sous la forme d'un solide blanc (179 mg ; 0,91 mmol) avec un rendement de 100%.

Le composé étant déjà décrit dans la littérature⁹³, on ne présentera que le spectre RMN du proton:

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 6,50 (dd, $J_1 = 3,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,23 (d, $J = 8,0 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,50 (dd, $J_1 = 3,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,93 (d, $J = 8,0 \text{ Hz}$, 1H) ; 11,90 (se, 1H, NH).

⁹³ Minikata, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. *Synthesis* **1992**, 661-663.

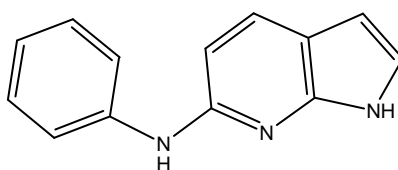
6-amino-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine 68

Le 6-bromo-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine **67** (180 mg ; 0,91 mmol) dissous dans une solution aqueuse d'ammonique à 35% (10 mL) est chauffé, dans une bombe métallique, à 200°C pendant 12 heures. Après addition de K₂CO₃ solide, le milieu réactionnel est hydrolysé et extrait au dichlorométhane. Après séchage de la phase organique sur MgSO₄ et évaporation du solvant, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : acétate d'éthyle). Le produit est obtenu sous la forme d'un solide blanchâtre (65 mg ; 0,49 mmol) avec un rendement de 54%.

Le composé étant déjà décrit dans la littérature⁹⁴, on ne présentera que le spectre RMN du proton:

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 5,55 (se, 2H, NH₂) ; 6,15 (dd, *J*₁ = 3,5 Hz, *J*₂ = 2,0 Hz, 1H) ; 6,25 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H) ; 6,91 (dd, *J*₁ = 3,0 Hz, *J*₂ = 2,5 Hz, 1H) ; 7,54 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) ; 10,80 (se, 1H, NH).

⁹⁴ Minikata, S.; Itoh, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, 65, 2992-2997.

6-phénylamino-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine 69

MM = 209 g/mole

Un solution de 6-bromo-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine **68** (180 mg ; 0,91 mmol) dans l'aniline (5 mL) est chauffé, en présence d'eau (0,5 mL) dans une bombe métallique à 200°C pendant 12 heures. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 70/30). Le produit est obtenu sous la forme d'un solide marron (44 mg ; 0,21 mmol) avec un rendement de 23%.

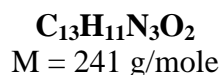
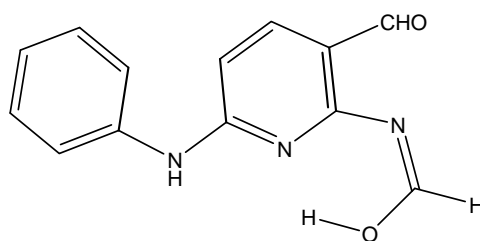
^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,31 (dd, $J_1 = 3,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H) ; 6,65 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) ; 6,87 (td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1H) ; 7,11 (dd, $J_1 = 3,0$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz, 1H) ; 7,27 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H) ; 7,29 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H) ; 7,77 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) ; 7,83 (dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 2H) ; 8,92 (s, 1H, NH) ; 11,23 (s, 1H, NH).

^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 100,0 ; 104,9 ; 117,1 (2C) ; 119,3 ; 121,3 ; 128,4 (2C) ; 129,8 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 111,9 ; 142,4 ; 146,3 ; 151,3 ($\text{C}_{\text{arom.}}$).

IR (KBr) : ν_{NH} 3411 ; 3147 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ 1593 cm^{-1} .

Masse exacte (ES) calculée pour $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 210,1031 ; trouvée 210,1035.

F = 145°C.

2-(*N*-hydroxyméthylènamino)-3-formyl-6-(*N*-phénylamino)pyridine 70

Une solution de 6-phénylamino-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **69** (35 mg ; 0,17 mmol) dans l'acétonitrile (10 mL) est agitée sous irradiation d'une lampe halogène ($P = 500 \text{ W}$) pendant 6 jours en maintenant la température constante à 10°C . Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (v/v) 70/30). Le produit est obtenu sous la forme d'un solide marron (12 mg ; 0,05 mmol) avec un rendement de 30%.

^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 6,68 (dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,11 (t, $J = 7,5 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,41 (td, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$, 1H) ; 7,66 (d, $J = 7,5 \text{ Hz}$, 1H) ; 8,01 (d, $J = 8,5 \text{ Hz}$, 1H) ; 9,49 (d, $J = 10,0 \text{ Hz}$, 1H, $\text{H}_{\text{vinylique}}$) ; 9,73 (s, 1H, $\text{H}_{\text{aldéhyde}}$) ; 10,03 (s, 1H, NH) ; 10,88 (d, $J = 10,0 \text{ Hz}$, 1H, OH).

^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 106,0 ; 120,3 (2C) ; 123,1 ; 129,0 (2C) ; 143,3 ; 161,9 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$) ; 107,0 ; 139,1 ; 151,7 ; 157,3 ($\text{C}_{\text{arom.}}$) ; 190,9 ($\text{C}=\text{O}_{\text{aldéhyde}}$).

IR (KBr) : $\nu_{\text{OH, NH}}$ 3480-3332 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1684 cm^{-1} ; $\nu_{\text{N}=\text{COH}}$ 1591 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1533 cm^{-1} .

Masse exacte (ES) calculée pour $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{NaO}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 264,0749 ; trouvée 264,0759.

F = 235°C .

II- Partie expérimentale de biologie

Dans cette partie, seuls les tests d'activités antiprolifératives que nous avons réalisés sont décrits en détail. Pour les autres tests biologiques auxquels nous n'avons pas participé, seul le principe des méthodes utilisées est décrit.

II.1-Protocole des tests d'activité antiproliférative

II.1.1- Préparation des solutions

Préparation du PBS avec Ca²⁺ et Mg²⁺

Le PBS se trouve sous la forme d'une solution 10X. Pour le préparer, il faut le diluer au 1/10 dans de l'eau MilliQ et ajuster son pH à 7,4 par addition de 5 mL de NaOH 1N.

Solution de résazurine

La solution de travail de résazurine est préparée en ajoutant 2 mL de la solution stock (solution de résazurine dans le PBS-D à 1,25 mg/mL) à 98 mL de milieu MEM complet sans rouge de phénol et sans SVF.

Solution SDS 0,01%

0,25 mL d'une solution de SDS à 20% sont additionnées à 500 mL d'eau MilliQ.

Solution d'Hoechst 33342

La solution de travail d'Hoechst 33342 est préparée en ajoutant 3 mL de solution stock (solution d'Hoechst 33342 dans de l'eau MilliQ à 1 mg/mL) à 97 mL de TNE.

II.1.2- Conditions de culture cellulaire

Les cellules sont cultivées dans un milieu de culture adapté dans une étuve à 37°C sous une atmosphère de 5% de CO₂ et de 95% d'humidité. Tous les milieux et tampons utilisés sur les cellules sont préalablement chauffés à 37°C.

Le milieu de culture utilisé est le suivant :

MEM (Eagle), GLUTAMAX I, Earle's salt	supplémenté en :
- Sérum de veau fœtal (SVF)	10% (v/v).
- Antibiotique large spectre, Gentamicine	4µg/mL.
- Acides aminés non essentiels 100 mM	1% (v/v).
- Sodium pyruvate 100mM	1% (v/v).
- Vitamines 100X	1% (v/v).

II.1.3- Ensemencement des cellules

Les plaques 96 puits sontensemencées manuellement à raison de $5 \cdot 10^3$ cellules dans 150 μL de milieu de culture par puits. Les cellules sont comptées à l'aide d'une cellule de Malassez. Elles sont laissées à incuber à 37°C sous atmosphère humide (95%) enrichie en CO_2 (5%) pendant 16 heures environ.

II.1.4- Traitement des cellules

On prépare des solutions stock d'inhibiteur à 20 mM dans le DMSO, et à partir de celles-ci, on prépare, par dilutions successives, quatre (pour le préciblage) ou sept solutions de concentrations différentes (pour la détermination des IC_{50}) d'inhibiteur dans le DMSO. Chacune de ces solutions est diluée au quart dans le milieu de culture avant de distribuer 50 μL de celles-ci selon le plan de plaque utilisé (Figure 254). Après une agitation d'une minute [Titramax 100, Heidolph, (750 tours/min, vitesse = 5)], les plaques sont mises à incuber pendant 48 heures à 37°C sous 5% de CO_2 .

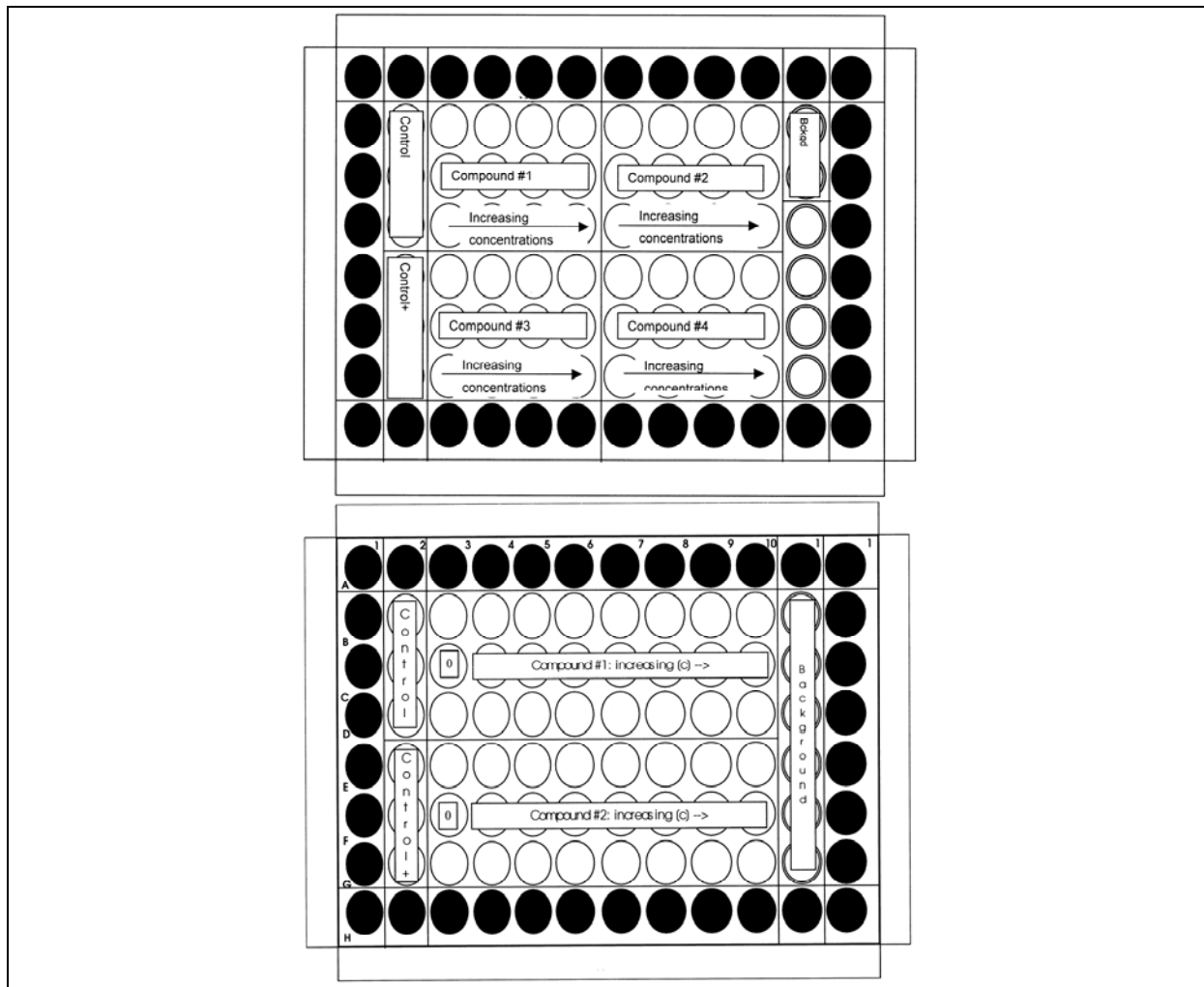


Figure 254 : Plan de plaque pour le préciblage (au dessus) et la détermination des IC_{50} (en dessous).

II.1.5- Dosage du potentiel réducteur cellulaire

Les plaques sont sorties de l'étuve et le milieu de culture est éliminé par retournement sur papier absorbant. Le tapis cellulaire est lavé une fois avec 200 μL de PBS-D avec Ca^{2+} et Mg^{2+} (1X, 37°C, Gibco). Après élimination du PBS-D, 150 μL de solution de résazurine sont distribués manuellement dans chacun des puits. Les plaques sont incubées pendant 1 à 2 heures (de façon à obtenir dans les puits de contrôle milieu une fluorescence au moins trois fois supérieure au bruit de fond). La fluorescence est lue à 590/630 nm avec un fluoroskan (Labsystems). Les données brutes sont ensuite traitées à l'aide d'une feuille de calcul Excel. Le milieu est éliminé par retournement de la plaque sur du papier absorbant et les plaques sont congelées à -80°C jusqu'à la réalisation du test de quantification de l'ADN cellulaire.

II.1.6- Quantification de l'ADN cellulaire

Les plaques sont décongelées à température ambiante pendant environ 1 heure puis 100 μL d'une solution de sodium dodécyl sulfate à 0,01% (m/v) dans de l'eau MilliQ est distribuée dans chacun des puits manuellement. Les plaques sont incubées pendant une heure à température ambiante avant d'être congelées à -80°C pendant 1 heure. Elles sont ensuite redécongelées à température ambiante et 100 μL de la solution d'Hoechst 33342 à 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dans du TNE sont distribués dans chacun des puits. Après 1 heure d'incubation à température ambiante, à l'abri de la lumière et sous agitation [Titramax 100 (750 tours/min, vitesse = 5)], la fluorescence est lue à 360/460 nm avec un fluoroskan et les données traitées à l'aide d'une feuille de calcul Excel.

II.2- Tests d'activité sur Alk

Le peptide de séquence ARDIYRASFFRKGGCAMLVK (25 $\mu\text{g}/\text{puits}$) est immobilisé sur plaque et phosphorylé par Alk (50 ng/puits) en présence ou en absence d'inhibiteur et de 300 μg d'ATP, 50 mM de tampon Tris (pH 7,8) et 5 mM de MnCl à 30°C pendant 10 minutes. Le peptide phosphorylé est ensuite détecté en utilisant un anticorps monoclonal 4G10 antiphosphotyrosine (Upstate Biotech Ltd.), un conjugué anti IgG-HRP de souris (Amersham Pharmacia Biotech) et une solution de TMB (Endogen). L'absorbance est ensuite lue à 450 nm en utilisant un lecteur de plaque Ultrospec 300 microtiter.

II.3- Tests d'activité sur PDGFR β , FGFR $_1$, KDR, Tie et EGFR

L'inhibiteur (1 μM ; 0,1% DMSO), additionné de 200 ng de GST-RTK cyt dans un tampon phosphate (20 mM de MOPS ; 10 mM de MgCl_2 ; 10 mM de MnCl_2 ; 1 mM de DTT ; 2,5 mM d'EGTA ; 10 mM de β -glycérophosphate ; 1 mM de Na_3VO_4 et 1 mM de NaF) est immobilisé sur plaque. Après 5 minutes d'incubation, 2 μg de GST-PLC- γ et 2 μCi $\gamma^{33}\text{P}$ -ATP en présence de 2 μM d'ATP non radioactif sont additionnés. Après 1 heure d'incubation à 37°C, de l'EDTA (100 mM au final) est ajouté pour stopper la réaction. Les puits sont lavés au PBS-tween et les plaques sont lues avec un lecteur micro β Wallac.

II.4- Tests d'activité sur PKA

L'inhibiteur (40 μM) est mis à incuber à 30°C dans un mélange contenant 0,1 nM du domaine catalytique de PKA, 0,1 mM de $\gamma^{32}\text{P-ATP}$, 2 mM de $\text{Mg}(\text{OAc})_2$, 70 μM d'heptapeptide phosphoaccepteur «kemptide» dans 15 mM d'un milieu Hepes-NaOH (Ph 7,2) contenant 0,13 M de KCl, 0,3 mM d'EGTA, 0,3 mM d'EDTA et 1 mM de phosphate de sodium. De la glutathione (2 mM), du DTE (0,4 mM), du sérum d'albumine bovin (1 mg/mL), de l'inhibiteur de trypsine de graine de soja (0,1 mg/mL) et du Triton X-100 (0,2%) sont additionnés au milieu. La quantité de ^{32}P transférée au «kemptide» est déterminée après 4, 8 et 12 minutes d'incubation, puis toutes les 10 minutes pendant 90 minutes, après transfert sur bande de papier cellulose et traitement à l'aide d'acide phosphorique pour stopper la réaction, par lecture de la radioactivité résiduelle.

Références bibliographiques

- ¹ Kurup, A.; Garg, R.; Hansch, C. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 2573-2600.
- ² Manetti, F.; Corelli, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2000**, 6, 1897-1924.
- ³ Klohs, W.D.; Hamby, J.M. *Curr. Opin. Biotech.* **1999**, 10, 544-549.
- ⁴ Hubbard, S.R. *Front. Biosci.* **2002**, 7, 330-340.
- ⁵ Jones, S.M.; Kazlauskas, A. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 2413-2423.
- ⁶ Manetti, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, 9, 399-409.
- ⁷ Stauber, D.J.; DiGabriele, A.D.; Hendrickson, W.A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 49-54.
- ⁸ Schlessinger, J.; Plotnikov, A.N.; Ibrahimi, O.A.; Eliseenkova, A.V.; Yeh, B.K.; Yayon, A.; Linhardt, R.J.; Mohammadi, M. *Mol. Cell* **2000**, 6, 743-750.
- ⁹ Mohammadi, M.; Schlessinger, J.; Hubbard, S.R. *Cell* **1996**, 86, 577-587.
- ¹⁰ Madhusudan, S.; Ganesan, T.S. *Clinic. Biochem.* **2004**, 37, 618-635.
- ¹¹ Ostman, A.; Heldin, C.-H. *Adv. Cancer Res.* **2001**, 80, 1-38.
- ¹² Fischer, O.M.; Hart, S.; Gschwind, A.; Ullrich, A. *Biochem. Soc. Trans.* **2003**, 31, 1203-1208.
- ¹³ Haluska, P.; Adjei, A.A. *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2001**, 2, 280-286.
- ¹⁴ Manley, P.W.; Bold, G.; Brügger, J.; Fendrich, G.; Furet, P.; Mestan, J.; Schnell, C.; Stolz, B.; Meyer, T.; Meyhack, B.; Stark, W.; Strauss, A.; Wood, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, 1697, 17-27.
- ¹⁵ Ullrich, A.; Schlessinger, J. *Cell* **1990**, 61, 203-212.
- ¹⁶ Wood, E.R.; Kuyper, L.; Petrov, K.G.; Hunter III, R.N.; Harris, P.A.; Lackey, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 953-957.
- ¹⁷ Johnson, D.G.; Walker, C.L. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1999**, 39, 295-312.
- ¹⁸ Traxler, P.; Bold, G.; Buchdunger, E.; Caravatti, G.; Furet, P.; Manley, P.; O'Reilly, T.; Wood, J.; Zimmermann, J. *Med. Res. Rev.* **2001**, 21, 499-512.
- ¹⁹ Smith, J.K.; Mamoon, N.M.; Duhé, R.J. *Oncol. Res.* **2004**, 14, 175-225.
- ²⁰ Manley, P.W.; Breitenstein, W.; Brügger, J.; Cowan-Jacob, S.W.; Furet, P.; Mestan, J.; Meyer, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 5793-5797.
- ²¹ Kuo, G.-H.; Prouty, C.; Wang, A.; Emanuel, S.; DeAngelis, A.; Zha, Y.; Song, F.; Beall, L.; Connolly, P.J.; Karnachi, P.; Chen, X.; Gruninger, R.H.; Sechler, J.; Fuentes-Pesquera, A.; Middleton, S.A.; Jolliffe, L.; Murray, W.V. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 4892-4909.
- ²² He, W.; Myers, M.R.; Hanney, B.; Spada, A.P.; Bilder, G.; Galzinski, H.; Amin, D.; Needle, S.; Page, K.; Jayyosi, Z.; Perrone, M.H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 3097-3100.
- ²³ Al-Obeidi, F.A.; Lam, K.S. *Oncogene* **2000**, 19, 5690-5701.
- ²⁴ Wedge, S.R.; Kendrew, J.; Hennequin, L.F.; Valentine, P.J.; Barry, S.T.; Brave, S.R.; Smith, N.R.; James, N.H.; Dukes, M.; Curwen, J.O.; Chester, R.; Jackson, J.A.; Boffey, S.J.; Kilburn, L.L.; Barnett, S.; Richmond, G.H.P.; Wadsworth, P.F.; Walker, M.; Bigley, A.L.; Taylor, S.T.; Cooper, L.; Beck, S.; Jürgensmeier, J.M.; Ogilvie, D.J. *Cancer Res.* **2005**, 65, 4389-4400.
- ²⁵ Mohammadi, M.; Froum, S.; Hamby, J.M.; Schroeder, M.C.; Panek, R.L.; Lu, G.H.; Eliseenkova, A.V.; Green, D.; Schlessinger, J.; Hubbard, S.R. *EMBO J.* **1998**, 17, 5896-5904.
- ²⁶ Thompson, A.M.; Delaney, A.M.; Hamby, J.M.; Schroeder, M.C.; Spoon, T.A.; Crean, S.M.; Showalter, H.D.H.; Denny, W.A. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 4628-4653.
- ²⁷ Smaill, J.B.; Palmer, B.D.; Rewcastle, G.W.; Denny, W.A.; McNamara, D.J.; Dobrusin, E.M.; Bridges, A.J.; Zhou, H.; Hollis Showalter, H.D.; Winters, R.T.; Leopold, W.R.; Fry, D.W.; Nelson, J.M.; Slintak, V.; Elliot, W.L.; Roberts, B.J.; Vincent, P.W.; Patmore, S.J. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 1803-1815.
- ²⁸ Smaill, J.B.; Hollis Showalter, H.D.; Zhou, H.; Bridges, A.J.; McNamara, D.J.; Fry, D.W.; Nelson, J.M.; Sherwood, V.; Vincent, P.W.; Roberts, B.J.; Elliott, W.L.; Denny, W.A. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 429-440.
- ²⁹ Matsuno, K.; Ushiki, J.; Seishi, T.; Ichimura, M.; Giese, N.A.; Yu, J.-C.; Takahashi, S.; Oda, S.; Nomoto, Y. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 4910-4925.
- ³⁰ Matsuno, K.; Seishi, T.; Nakajima, T.; Ichimura, M.; Giese, N.A.; Yu, J.-C.; Oda, S.; Nomoto, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 3001-3004.
- ³¹ Munchhof, M.J.; Beebe, J.S.; Casavant, J.M.; Cooper, B.A.; Doty, J.L.; Higdon, R.C.; Hillerman, S.M.; Soderstrom, C.I.; Knauth, E.A.; Marx, M.A.; Rossi, A.M.K.; Sobolov, S.B.; Sun, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 21-24.
- ³² Harris, P.A.; Cheung, M.; Hunter III, R.N.; Brown, M.L.; Veal, J.M.; Nolte, R.T.; Wang, L.; Liu, W.; Crosby, R.M.; Johnson, J.H.; Epperly, A.H.; Kumar, R.; Luttrell, D.K.; Stafford, J.A. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 1610-1619.
- ³³ Vasquez, M.J.; Vega, A.; Rivera-Sagredo, A.; Jiménez-Alfaro, M.; Diez, E.; Hueso-Rodríguez, J.A. *Tetrahedron* **2004**, 60, 2379-2385.
- ³⁴ Gringrich, D.E.; Hudkins, R.L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 2829-2831.

- ³⁵ Gingrich, D.E.; Reddy, D.R.; Iqbal, M.A.; Singh, J.; Aimone, L.D.; Angeles, T.S.; Albom, M.; Yang, S.; Ator, M.A.; Meyer, S.L.; Robinson, C.; Ruggeri, B.A.; Dionne, C.A.; Vaught, J.L.; Mallamo, J.P.; Hudkins, R.L. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5375-5388.
- ³⁶ Kubo, K.; Ohyama, S.-I.; Shimizu, T.; Takami, A.; Murooka, H.; Nishitoba, T.; Kato, S.; Yagi, M.; Kobayashi, Y.; Iinuma, N.; Isoe, T.; Nakamura, K.; Iijima, H.; Osawa, T.; Izawa, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 5117-5133.
- ³⁷ Shimizu, T.; Fujiwara, Y.; Osawa, T.; Sakai, T.; Kubo, K.; Kubo, K.; Nishitoba, T.; Kimura, K.; Senga, T.; Murooka, H.; Iwai, A.; Fukushima, K.; Yoshino, T.; Miwa, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 875-879.
- ³⁸ Kubo, K.; Shimizu, T.; Ohyama, S.-I.; Murooka, H.; Iwai, A.; Nakamura, K.; Hasegawa, K.; Kobayashi, Y.; Takahashi, N.; Takahashi, K.; Kato, S.; Izawa, T.; Isoe, T. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1359-1366.
- ³⁹ Roberts, W.G.; Whalen, P.M.; Soderstrom, E.; Moraski, G.; Lyssikatos, J.P.; Wang, H.-F.; Cooper, B.; Baker, D.A.; Savage, D.; Dalvie, D.; Atherton, J.A.; Ralston, S.; Szewc, R.; Kath, J.C.; Lin, J.; Soderstrom, C.; Tkalcovic, G.; Cohen, B.D.; Pollack, V.; Barth, W.; Hungerford, W.; Ung, E. *Cancer Res.* **2005**, *65*, 957-966.
- ⁴⁰ Fraley, M.E.; Arrington, K.L.; Hambaugh, S.R.; Hoffman, W.F.; Cunningham, A.M.; Young, M.B.; Hungate, R.W.; Tebben, A.J.; Rutledge, R.Z.; Kendall, R.L.; Huckle, W.R.; McFall, R.C.; Coll, K.E.; Thomas, K.A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2973-2976.
- ⁴¹ Tang, P.C.; Sun, L.; McMahon, G. US Patent 5886020, 1999; *Chem. Abs.* **1999**, *130*, 252240.
- ⁴² Mohammadi, M.; McMahon, G.; Sun, L.; Tang, C.; Hirth, P.; Yeh, B.K.; Hubbard, S.R.; Schlessinger, J. *Science* **1997**, *276*, 955-960.
- ⁴³ Andrews, S.W.; Wurster, J.A.; Hull, C.E.; Wang, E.H.; Malone, T. International Patent, WO03/027102 A1, 2003; *Chem. Abs.* **2003**, *138*, 287525.
- ⁴⁴ Beckett, A.H.; Daisley, R.W.; Walker, J. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 6093-6109.
- ⁴⁵ Mori, M.; Ban, Y. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *21*, 1807-1810.
- ⁴⁶ Jones, K.; Thompson, M.; Wright, C. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1986**, 115-116.
- ⁴⁷ Clark, A.J.; Davies, D.I.; Jones, K.; Millbanks, C. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 41-42.
- ⁴⁸ Cabri, W.; Candiani, I.; Colombo, M.; Franzoi, L.; Bedeschi, A. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 949-952.
- ⁴⁹ Beckwith, A.L.J.; Storey, J.M.D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 977-978.
- ⁵⁰ El Ali, B.; Okuro, K.; Vasapollo, G.; Alper, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4264-4270.
- ⁵¹ Hirao, K.; Morii, N.; Joh, T.; Takahashi, S. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6243-6246.
- ⁵² Doyle, M.P.; Shanklin, M.S.; Pho, H.Q.; Mahapatro, S.N. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1017-1022.
- ⁵³ Shaughnessy, K.H.; Hamann, B.C.; Hartwig, J.F. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6546-6553.
- ⁵⁴ Hennessy, E.J.; Buchwald, S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12084-12085.
- ⁵⁵ Ashimori, A.; Bachand, B.; Calter, M.A.; Govek, S.P.; Overmann, L.E.; Poon, D.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6488-6499.
- ⁵⁶ Arumugan, V.; Routledge, A.; Abell, C.; Balasubramanian, S. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6473-6476.
- ⁵⁷ Cheung, W.S.; Patch, R.J.; Player, M.R. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3741-3744.
- ⁵⁸ Goehring, R.R.; Sleevi, M.C.; Wolfe, J.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 3646-3647.
- ⁵⁹ Goehring, R.R.; Sachdeva, Y.P.; Pisipati, J.S.; Sleevi, M.C.; Wolfe, J.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 435-443.
- ⁶⁰ Kametani, T.; Ohsawa, T.; Ihara, M. *Heterocycles* **1980**, *14*, 277-280.
- ⁶¹ O'Connor, S.J.; Liu, Z. *Synlett.* **2003**, 2135-2138.
- ⁶² Sassatelli, M.; Saab, E.; Anizon, F.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4827-4830.
- ⁶³ Wang, L.; Liu, X.; Chen, R. U.S. Patent 6,566,341, 2003; *Chem. Abs.* **2003**, *138*, 379213.
- ⁶⁴ Wang, L.; Liu, X.; Chen, R. WO Patent, WO 03051900, 2003; *Chem. Abs.* **2003**, *139*, 47135.
- ⁶⁵ Sun, L.; Tran, N.; Liang, C.; Tang, F.; Rice, A.; Schreck, R.; Waltz, K.; Shawver, L.K.; McMahon, G.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 5120-5130.
- ⁶⁶ Mel'nik, S.Y.; Bakhmedova, A.A.; Garaeva, L.D.; Goryunova, O.V.; Miniker, T.D.; Plikhtyak, I.L.; Ektova, L.V.; Ivanova, T.P.; Yartseva, I.V. *Bioorg. Khim.* **1996**, *22*, 467-476.
- ⁶⁷ Borrer, A.L.; Chinoporos, E.; Filosa, M.P.; Herchen, S.R.; Petersen, C.P.; Stern, C.A. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2047-2052.
- ⁶⁸ Czernecki, S.; Georgoulis, C.; Provenlenghiou, C. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 3535-3536.
- ⁶⁹ Da Settimo, A.; Menicagli, C.; Nannipieri, E. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1995-1998.
- ⁷⁰ Sun, L.; Tran, N.; Liang, C.; Hubbard, S.; Tang, F.; Lipson, K.; Schreck, R.; Zhou, Y.; McMahon, G.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2655-2663.
- ⁷¹ Papageorgiou, C.; Borer, X. *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 1079-1083.
- ⁷² Kakushima, M.; Hamel, P.; Frenette, R.; Rokach, J. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3214-3219.
- ⁷³ Messaoudi, S.; Sancelme, M.; Polard-Housset, V.; Aboab, B.; Moreau, P.; Prudhomme, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 453-458.
- ⁷⁴ Ward, D.E.; Gai, Y.; Kaller, B.F. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7830-7836.
- ⁷⁵ Wille, G.; Steglich, W. *Synthesis* **2001**, 759-762.

- ⁷⁶ Moreau, P.; Anizon, F.; Sancelme, M.; Prudhomme, M.; Bailly, C.; Carrasco, C.; Ollier, M.; Sevère, D.; Riou, J.-F.; Fabbro, D.; Meyer, T.; Aubertin, A.-M. *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 1631-1640.
- ⁷⁷ Samir Messaoudi, Thèse de l'Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand, **2004**, D.U. 1537.
- ⁷⁸ Hénon, H.; Messaoudi, S.; Hugon, B.; Anizon, F.; Pfeiffer, B.; Prudhomme, M. *Tetrahedron* **2005**, 61, 5599-5614.
- ⁷⁹ Bramson, H.N.; Corona, J.; Davis, S.T.; Dickerson, S.H.; Edelstein, M.; Frye, S.V.; Gampe, R.T.; Harris, P.A.; Hassel, A.; Holmes, W.D.; Hunter, R.N.; Lackey, K.E.; Veal, J.M.; Walker, D.H.; Kuyper, L.F. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 4339-4358.
- ⁸⁰ Erba, E.; Pocar, D.; Valle, M. *J. Chem. Soc., Trans. 1* **1999**, 421-425.
- ⁸¹ Miyano, S.; Izumi, Y.; Hashimoto, H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1978**, 446-447.
- ⁸² Miyano, S.; Izumi, Y.; Fujii, K.; Ohno, Y.; Hashimoto, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, 52, 1197-1202.
- ⁸³ Sato, K.-I.; Sekiguchi, T.; Hozumi, T.; Yamazaki, T.; Akai, S. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 3087-3090.
- ⁸⁴ Long, D.R.; Richards, C.G.; Ross, M.S.F. *J. Heterocyclic Chem.* **1978**, 15, 633-636.
- ⁸⁵ Morales-Rios, M.S.; Garcia-Velgara, M.; Cervantes-Cuevas, H.; Alvarez-Cisneros, C.; Joseph-Nathan, P. *Magn. Reson. Chem.* **2000**, 38, 172-176.
- ⁸⁶ Osman, F.H.; El-Samahy, F. *Tetrahedron* **2000**, 56, 1863-1871.
- ⁸⁷ Quintilla-Licea, R.; Colunga-Valladares, J.F.; Caballero-Quintero, A.; Rodrigues-Padilla, C.; Tamez-Guerra, R.; Gomez-Flores, R.; Waksman, N. *Molecules* **2002**, 7, 662-673.
- ⁸⁸ Eliel, E.L. *Stereochemistry of Carbon Compounds*; Mac Graw Hill; 1962; p 207.
- ⁸⁹ Davies, J.S.; Mohammed, A.K.A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II* **1984**, 1723-1727.
- ⁹⁰ Atkinson, R.N.; Moore, L.; Tobin, J.; King, S.B. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 3467-3475.
- ⁹¹ Schneller, S.W.; Luo, J.-K. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 4045-4048.
- ⁹² Antonini, I.; Claudi, F.; Cristalli, G.; Franchetti, P.; Griffantini, M.; Martelli, S. *J. Med. Chem.* **1982**, 25, 1258-1261.
- ⁹³ Minikata, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. *Synthesis* **1992**, 661-663.
- ⁹⁴ Minikata, S.; Itoh, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, 65, 2992-2997.
- ⁹⁵ Batt, D.G.; Petraitis, J.J.; Sherk, S.R.; Copeland, R.A.; Dowling, R.L.; Taylor, T.L.; Jones, E.A.; Magolda, R.L.; Jaffee, B.D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 1745-1750.
- ⁹⁶ Byth, K.F.; Culshaw, J.D.; Green, S.; Oakes, S.E.; Thomas, A.P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 2245-2248.
- ⁹⁷ Anizon, F.; Moreau, P.; Sancelme, M.; Laine, W.; Bailly, C.; Prudhomme, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3709-3722.
- ⁹⁸ Ferreira, I.C.F.R.; Queiroz, M.-J.R.P.; Kirsch, G. *Tetrahedron* **2003**, 59, 3737-3743.
- ⁹⁹ Dajka-Halasz, B.; Monsieurs, K.; Elias, O.; Karolyhazy, L.; Tapolcsanyi, P.; Maes, B.U.W.; Riedl, Z.; Hajos, G.; Dommissé, R.A.; Lemièrre, G.L.F.; Kosmrlj, J.; Matyus, P. *Tetrahedron* **2004**, 60, 2283-2291.
- ¹⁰⁰ Schlappbach, A.; Heng, R.; Di Padova, F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 357-360.
- ¹⁰¹ Ferreira, I.C.F.R.; Queiroz, M.-J.R.P.; Kirsch, G. *Tetrahedron* **2002**, 58, 7943-7949.
- ¹⁰² Lavecchia, G.; Berteina-Raboin, S.; Guillaumet, G. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45, 2389-2392.
- ¹⁰³ Lan, J.-B.; Zhang, G.-L.; Yu, X.-Q.; You, J.-S.; Chen, L.; Yan, M.; Xie, R.-G. *Synlett* **2004**, 6, 1095-1097.
- ¹⁰⁴ Yudina, L.N.; Bergman, J. *Tetrahedron* **2003**, 59, 1265-1275.
- ¹⁰⁵ Miller, R.B.; Moock, T. *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21, 3319-3322.
- ¹⁰⁶ Ohkubo, M.; Kawamoto, H.; Ohno, T.; Nakano, M.; Morishima, H. *Tetrahedron* **1997**, 53, 585-592.
- ¹⁰⁷ Wang, J.; Rosingana, M.; Watson, D.J.; Dowdy, E.D.; Discordia, R.P.; Soundarajan, N.; Li, W.-S. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 8935-8937.
- ¹⁰⁸ Wang, J.; Soundarajan, N.; Liu, N.; Zimmermann, K.; Naidu, B.N. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 907-910.
- ¹⁰⁹ Grellmann, K.H.; Schmitt, U. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 6267-6272.
- ¹¹⁰ Bhattacharyya, P.; Jash, S.S.; Dey, A.K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 1668-1669.
- ¹¹¹ Hugon, B.; Pfeiffer, B.; Renard, P.; Prudhomme, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 4607-4611.
- ¹¹² Witkop, B.; Fiedler, H. *Just. Liebig Ann. Chem.* **1947**, 558, 91-98.
- ¹¹³ D'Ischia, M.; Prota, G. *Gazz. Chim. Ital.* **1986**, 116, 407-410.
- ¹¹⁴ Waterhouse, A.L.; Pessah, I.N.; Francini, A.O.; Casida, J.E. *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 710-716.
- ¹¹⁵ Iwaki, T.; Yasuhara, A.; Sakamoto, T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 1505-1510.
- ¹¹⁶ Glaxo. Fr. Patent 2,003,999, 1969; *Chem. Abs.* **1969**, 72, 111444.
- ¹¹⁷ Accelrys, release 2000.1, San Diego CA.
- ¹¹⁸ Maple, J.R.; Hwang, M.-J.; Stockfisch, T.P.; Dinur, U.; Waldman, M.; Ewig, C.S.; Hagler, A.T. *J. Comp. Chem.* **1994**, 15, 162-182.
- ¹¹⁹ O'Brien, J.; Wilson, I.; Orton, T.; Pognan, F. *Eur. J. Biochem.* **2000**, 267, 5421-5426.
- ¹²⁰ Rago, R.; Mitchen, J.; Wilding, G. *Anal. Biochem.* **1990**, 191, 31-34.
- ¹²¹ Ekangert, R.; Vintermyrt, O.K.; Houge, G.; Sand, T.-E.; Scott, J.D.; Krebs, E.G.; Eikhom, T.S.; Christoffersen, T.; Ogreid, D.; Doskeland, S.O. *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 4374-4382.

¹²² Roskoski, R. *Methods Enzymol.* **1983**, 99, 3-6.

¹²³ Gunby, R.H.; Tartari, C.J.; Porchia, F.; Donella-Deana, A.; Scapozza, L.; Gambacorti-Passerini, C. *Haematologica* **2005**, 90, 988-990.

Résumé

Les facteurs de croissance et leurs récepteurs sont surexprimés dans un grand nombre de cancers et ont un rôle très important dans la prolifération cellulaire. Nous nous sommes intéressés aux inhibiteurs compétitifs de l'ATP du domaine tyrosine kinase des récepteurs de facteurs de croissance, plus particulièrement du FGFR₁, l'un des quatre récepteurs à activité tyrosine kinase des facteurs de croissance de fibroblastes. Les interactions FGF/FGFR sont impliquées dans le développement tumoral et dans la stimulation de l'angiogénèse. Ce récepteur constitue donc une cible privilégiée pour le développement de nouveaux agents anticancéreux.

Dans la première partie bibliographique, les différents facteurs de croissance et leurs récepteurs, ainsi que le rôle de leurs interactions spécifiques dans le cycle cellulaire sont décrits. Les principales familles d'inhibiteurs des récepteurs de facteurs de croissance sont ensuite détaillées.

Afin de concevoir un nouveau modèle d'inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase de ces récepteurs, principalement du FGFR₁, nous nous sommes orientés vers trois familles de composés. La synthèse de ces composés est présentée dans la deuxième partie.

La troisième partie, présente une étude de docking (fixation du ligand dans le site de fixation de l'ATP de l'enzyme cible) et de minimisation d'énergie par mécanique moléculaire des complexes de certains des composés synthétisés dans le site de fixation de l'ATP du FGFR₁. Cette étude a été mise en oeuvre afin de voir si ces molécules pouvaient présenter une bonne affinité pour ce site.

Les activités antiprolifératives sur différentes lignées cellulaires des nouveaux produits préparés au cours de ce travail ont été déterminées, ainsi que l'activité inhibitrice de certains produits sur diverses kinases. Ces résultats sont présentés dans la quatrième partie.

Abstract

The growth factors receptors are overexpressed in a great number of cancers and play a very important role in cell proliferation. We were interested in the ATP competitive inhibitors of the tyrosine kinase domain of the growth factors receptors, more particularly of the FGFR₁. This receptor constitutes a privileged target for the development of new anti-cancer agents.

The first part of this work is a bibliographical study on growth factors receptors. The principal families of growth factors receptors inhibitors are detailed.

To design a new model of inhibitors of the FGFR₁ tyrosine kinase activity, we prepared three families of compounds. The synthesis of these compounds is reported in the second part.

The third part, presents a study of docking and energy minimization by molecular mechanics on the complexes of some of the synthesized compounds in the FGFR₁ ATP-site.

In the fourth part, the cytotoxicity on various tumor and healthy cell lines and the inhibitory activity on various kinases of the new products prepared during this work are detailed.