



HAL
open science

Synthèse de nouveaux inhibiteurs de kinases Pim et de modulateurs des protéines de la famille des Bcl-2, anticancéreux potentiels

Emmanuelle Saugues

► To cite this version:

Emmanuelle Saugues. Synthèse de nouveaux inhibiteurs de kinases Pim et de modulateurs des protéines de la famille des Bcl-2, anticancéreux potentiels. Autre. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2011. Français. NNT : 2011CLF22170 . tel-00743912

HAL Id: tel-00743912

<https://theses.hal.science/tel-00743912>

Submitted on 22 Oct 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.

N° d'Ordre : D.U. 2170

UNIVERSITE BLAISE PASCAL

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES

U.F.R. de Recherche Scientifique et Technique

N°689

THESE

Présentée en vue de l'obtention du grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité Chimie Organique Biologique

par

Emmanuelle SAUGUES

Synthèse de nouveaux inhibiteurs de kinases Pim et de modulateurs des protéines de la famille des Bcl-2, anticancéreux potentiels

Soutenue publiquement le 21 octobre 2011 devant la commission d'examen :

Rapporteurs : E. DELFOURNE, CR, Université Paul Sabatier, Toulouse

M. LE BORGNE, Pr., Université Claude Bernard, Lyon I

Examineurs : F. SUZENET, MCU, Université d'Orléans

F. ANIZON, Pr., Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand

P. MOREAU, Pr., Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Madame Anne-marie DELORT, Directrice de Recherche CNRS, responsable du laboratoire SEESIB (UMR 6504) pour m'avoir accueillie dans son unité.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur Fabrice ANIZON et Madame Pascale MOREAU, Professeurs et encadrants de thèse pour m'avoir permis de poursuivre la construction de mon parcours professionnel. Merci à Fabrice pour ses encouragements et ses nombreux conseils et à Pascale pour sa disponibilité et son professionnalisme. Je garderai un excellent souvenir de mon passage au SEESIB malgré les périodes difficiles de début et fin de thèse.

Toute ma gratitude s'adresse également à mes deux rapporteurs : le Dr. Evelyne DELFOURNE, Chargée de Recherche à l'Université de Toulouse III et le Pr. Marc LE BORGNE, de l'Université de Lyon I pour avoir accepté d'évaluer mon travail. Je remercie également le Dr. Franck SUZENET, Maître de Conférences à l'Université d'Orléans d'avoir participé à mon jury de thèse.

Je remercie nos collaborateurs biologistes, Mesdames Nathalie BONNEFOY-BERARD, Directrice de Recherche INSERM et Anne-Laure DEBAUD, Ingénieur de Recherche INSERM, ainsi que Monsieur Georges ALVES (GReD, UMR 6247, Clermont-Ferrand) pour avoir effectué l'évaluation biologique de nos composés. Je tiens à remercier en particulier le Dr. Eric DEBITON, Maître de Conférences à l'Université d'Auvergne pour m'avoir fait partager ses connaissances en biologie et m'avoir permis d'effectuer les tests d'activité antiproliférative.

Je remercie ensuite Messieurs Lionel NAUTON et Vincent THERY, Ingénieur d'Etude et Maître de Conférences pour la réalisation des études de modélisation moléculaire. Mes remerciements s'adressent également à Messieurs Régis EGROT et Bertrand LEGERET pour la réalisation des analyses RMN et masse.

La vie au laboratoire n'aurait pas été la même sans mes deux camarades de paillasse Francis et Laurent. Un grand merci pour votre bonne humeur et votre soutien durant ces deux dernières années. Une garderai un souvenir impérissable de nos grandes théories (chimiques ou pas) élaborées entre deux manip...

J'ai également une pensée pour toutes les personnes que j'ai pu côtoyer pendant ces trois années :

- Les étudiants pour leur gentillesse et leur écoute : Edith, Juliane, Mickaël, Nadia,...
- Les amis de la « pause café » : Cyril, Marie, Martine, Stéphane,...
- Les autres membres du labo : Aurélie, Elisabeth, Mounir, Virginie,...

Merci à mes amis qui malgré la distance ont su être là quand j'en avais besoin.

Je terminerai par les personnes les plus chères à mes yeux. Merci à toute ma famille pour leur accompagnement durant cette expérience. Une pensée particulière pour mes parents. Il y a eu des moments d'appréhension, de doute, de remise en question durant ces trois ans. Merci d'avoir cru en moi, de m'avoir écoutée et conseillée et d'avoir su respecter mes choix de vie.

RESUME

La formation de cancers est liée à des dérèglements de la progression du cycle cellulaire ou de l'apoptose. L'identification des acteurs cellulaires mis en jeu dans la maladie et l'élucidation des mécanismes responsables de ces dysfonctionnements sont à la base de nouveaux traitements anticancéreux.

Ainsi, en vue du développement de thérapies ciblées, les kinases Pim et les protéines anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2, surexprimées dans de nombreux types de cancers et associées à des phénomènes de chimiorésistance, constituent des cibles pertinentes.

Les kinases Pim (Pim-1,-2 et -3) sont une famille de sérine/thréonine kinases qui jouent un rôle fondamental dans les processus de survie, de prolifération ou de différenciation cellulaire. Bien qu'elles possèdent un substrat commun avec les autres protéines kinases, l'ATP, des différences structurales permettent de les différencier et de les inhiber sélectivement. En tenant compte de ces spécificités, nous nous sommes intéressés à la synthèse de nouveaux inhibiteurs sélectifs des kinases Pim, compétitifs de l'ATP.

Parmi les autres agents impliqués dans la formation de tumeurs, les protéines de la famille des Bcl-2, responsables du phénomène d'apoptose ou mort cellulaire programmée, font l'objet d'un domaine d'étude récent. Elles se classent en deux familles selon leur fonction : les protéines pro-apoptotiques et les protéines anti-apoptotiques dont la surexpression est observée dans de nombreux cancers. Nous avons poursuivi l'étude de relations structure-activité initiée au laboratoire à partir de trimères d'alkoxyquinoléines, inhibiteurs micromolaires des protéines anti-apoptotiques Bcl-2 et Bcl-x_L, en préparant de nouveaux analogues.

ABSTRACT

Cancer development is associated with dysfunctions in cell cycle progression or apoptosis. The identification of cellular agents involved in this disease, and the elucidation of mechanisms responsible for these dysfunctions provide the basis for the development of novel anti-cancer drugs.

Thus, Pim kinases and Bcl-2 anti-apoptotic proteins which are overexpressed in many malignancies and contribute significantly to chemoresistance are of great interest for the development of targeted cancer therapy.

Pim kinases (Pim-1,-2 and -3) belong to a family of serine/threonine kinases which play a key role in cell survival, proliferation and differentiation. Although all protein kinases share ATP as a common substrate, the structure of the ATP-binding pocket of Pim kinases is unique and offers an opportunity for a selective inhibition. Taking account of these specificities, we were interested in the synthesis of novel selective ATP competitive Pim kinase inhibitors.

Among the other agents involved in tumorigenesis, Bcl-2 family proteins, which govern apoptosis (or programmed cell death), are subject of a recent interest. These proteins are divided in two classes depending on their function: pro-apoptotic and anti-apoptotic members that are overexpressed in a variety of cancers. In a preliminary work in the laboratory, alkoxyquinoline trimers have demonstrated micromolar inhibition against anti-apoptotic proteins Bcl-2 and Bcl-x_L. Therefore, we carried on this structure-activity relationship study with the synthesis of novel analogues.

SOMMAIRE

Abréviations et acronymes	8
Préambule.....	10
PARTIE I : Synthèse de nouveaux inhibiteurs de kinases Pim	17
Premier chapitre : Etude bibliographique	18
I. Introduction générale sur les protéines kinases.....	19
II. Présentation des kinases Pim	21
II.1. Rôle	21
II.1.a. Généralités	21
II.1.b. Fonctions biologiques	22
II.1.b.i. Régulation du cycle cellulaire et prolifération	22
II.1.b.ii. Contrôle de l'apoptose	24
II.1.b.iii. Rôle oncogénique	24
II.2. Structure de Pim-1	25
III. Les inhibiteurs de kinases Pim.....	28
III.1. Introduction	28
III.2. Inhibiteurs ATP mimétiques.....	28
III.2.a. Staurosporine et ses dérivés	28
III.2.b. Flavonoïdes	30
III.2.c. Complexes de ruthénium.....	31
III.2.d. Isoxazolo[3,4- <i>b</i>]quinoléine-3,4(1 <i>H</i> ,9 <i>H</i>)-diones.....	33
III.3. Inhibiteurs non mimétiques de l'ATP	33
III.3.a. Dérivés d'imidazo[1,2- <i>b</i>]pyridazine et de triazolo[4,3- <i>b</i>]pyridazine.....	34
III.3.a.i. Imidazo[1,2- <i>b</i>]pyridazines	34
III.3.a.ii. Triazolo[4,3- <i>b</i>]pyridazines	35
III.3.b. Quinoléines 2-substituées	36
III.3.c. Thiazolidines-2,4-diones	37
III.3.d. Benzothiénylopyrimidinones	37
III.3.e. Pyrrolo[2,3- <i>a</i>]carbazoles	38
III.3.f. 2-cinamyl-6-amino-pyrazines.....	40
III.3.g. Dérivés d'acide 2-benzofuranique	40
IV. Conclusion	42
Deuxième chapitre : Résultats et discussion.....	43
I. Conception de nouveaux inhibiteurs potentiels de kinases Pim	44
II. Série isoindole.....	46
II.1. Généralités	46
II.2. Première voie de synthèse.....	47
II.2.a. Passage par un phtalimide	47
II.2.a.i. Synthèse du phtalimide protégé	47

II.2.a.ii. Amination pallado-catalysée de Buchwald-Hartwig	49
II.2.b. Passage par une isoindoline.....	52
II.2.b.i. Préparation du dérivé di-bromé 3	53
II.2.b.ii. Préparation d'isoindolines protégées	53
II.2.b.iii. Oxydation des isoindolines protégées	54
II.2.c. Essai à partir d'aryltriflates.....	57
II.2.d. Conclusion.....	58
II.3. Deuxième voie de synthèse.....	58
II.4. Conclusion	60
III. Série indazole.....	61
III.1. Introduction	61
III.2. Préparation de l'indazole J	62
III.3. Protection de l'atome d'azote en position 1 du cycle indazole	63
III.4. Première voie de synthèse	64
III.5. Deuxième voie de synthèse	68
III.6. Autre voie de synthèse.....	71
III.7. Evaluation biologique.....	75
IV. Conclusion-Perspectives	78

Troisième chapitre : Partie expérimentale..... 80

PARTIE II : Synthèse de ligands potentiels des protéines anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2..... 106

Premier chapitre : Etude bibliographique..... 107

I. L'apoptose ou mort cellulaire programmée.....	108
I.1. Présentation	108
I.2. Mécanisme	109
II. Contrôle de l'apoptose par les protéines de la famille des Bcl-2.....	111
II.1. Classification.....	111
II.2. Structure tridimensionnelle.....	112
II.3. Localisation.....	113
II.4. Mécanisme mis en jeu dans la régulation de l'apoptose.....	114
II.5. Interactions fondamentales	115
III. Inhibition des protéines anti-apoptotiques	118
III.1. Thérapie antisens	118
III.2. Inhibiteurs peptidiques	119
III.2.a. Peptides mutés.....	120
III.2.b. Peptides « en agraphe ».....	121
III.2.c. Peptides « mixtes ».....	122
III.3. Inhibiteurs non peptidiques	123
III.3.a. HA 14-1	124
III.3.b. Famille des BH3I	125
III.3.c. NSC 365400	126
III.3.d. Chélérythrine.....	126
III.3.e. Antimycine A	127
III.3.f. Polyphénols	127

III.3.g. Méiogynine A	128
III.3.h. Dérivés de 8-oxo-8 <i>H</i> -acénaphtho[1,2- <i>b</i>]pyrrole-9-carbonitrile.....	128
III.3.i. Dérivés de quinazoline-2(1 <i>H</i>)-thione	129
III.3.j. Pyrimidinylpipérazines	130
III.3.k. Gossypol et ses dérivés	130
III.3.l. Obatoclax (GX015-070)	134
III.3.m. ABT-737 et ses dérivés.....	134
III.3.n. Terphényles.....	136
III.3.o. Térépthalamides	137
III.3.p. Biphenyl 4,4'-dicarboxamides	138
III.3.q. Oligopyridines carboxamides	139
III.3.r. Benzoylurées	139
III.3.s. Dérivés de bi- et terquinoléines	140
IV. Conclusion	142
Deuxième chapitre : Résultats et discussion.....	143
I. Introduction.....	144
II. Série alkoxyquinoléine.....	148
II.1. Modélisation moléculaire	148
II.2. Synthèse des monomères	150
II.2.a. Synthèse des monomères I et II.....	150
II.2.a.i. Famille I	150
II.2.a.ii. Famille II.....	151
II.2.b. Synthèse des monomères III et IV	152
II.3. Synthèse des dimères et des trimères par couplage pallado-catalysé de Suzuki-Miyaura	155
II.4. Evaluation biologique	157
III. Série alkoxy-alkylaminoquinoléine	158
III.1. Synthèse des bi- et des ter-alkylaminoquinoléines.....	158
III.1.a. Préparation des monomères	159
III.1.b. Préparation des dimères et des trimères par couplage pallado-catalysé de Suzuki-Miyaura	163
III.2. Synthèse des bi- et des ter-alkoxy-alkylaminoquinoléines.....	168
III.2.a. Préparation des dimères	168
III.2.b. Préparation des trimères.....	171
IV. Conclusion-Perspectives	175
Troisième chapitre : Partie expérimentale.....	177
Chimie	178
Tests biologiques d'activité antiproliférative.....	244
I. Présentation.....	245
II. Protocole expérimental	246
II.1. Conditions de culture cellulaire	246
II.2. Ensemencement des cellules.....	246
II.3. Traitement des cellules	246
II.4. Dosage du potentiel réducteur cellulaire.....	247
Références bibliographiques.....	248

ABREVIATIONS ET ACRONYMES

Ac :	Acétyle
ADN :	Acide DésoxyriboNucléique
ADP :	Adénosine DiPhosphate
AGC :	Nommé d'après les kinases <u>A</u> , <u>G</u> et <u>C</u>
AIBN :	Azo Bis-isoButyroNitrile
Alk :	Alkyle
AMP-PNP :	5'-adenylyl- β , γ -imidodiphosphate
Apaf1 :	Apoptotic protease-activating factor-1
APTS :	Acide <i>Para</i> -Toluène Sulfonique
ARNm :	Acide RiboNucléique messenger
ATP :	Adénosine TriPhosphate
Bcl :	B-cell lymphoma
BH :	Bcl2-Homology
Bn :	Benzyle
Boc :	<i>tert</i> -butyloxycarbonyle
CAMK :	Calcium/calmodulin dependent kinase
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
CD :	Circular Dichroism
Cdc25 :	Cell division cycle 25
Cdk :	Cycline dependant kinase
cHex :	Cyclohexyle
CK1 :	Casein Kinase 1
CMGC :	Nommé d'après les kinases <u>CDK</u> , <u>MAPK</u> , <u>GSK</u> et <u>CLK</u>
cPr :	Cyclopropyle
C-TAK1 :	Cdc25C-associated kinase 1
Cy :	Cyclohexyle
dATP :	2'-deoxyAdenosine Triphosphate
dba :	dibenzylidèneacétone
DBU :	1,8-DiazaBicyclo[5,4,0]Undéc-7-ène
DHP :	3,4-DiHydro-2 <i>H</i> -Pyrane
DIAD :	DiIsopropyl AzoDicarboxylate
DIBAL-H :	Hydrure de diisobutylaluminium
DISC :	Death-Inducing Signaling Complex
DMF :	<i>N,N</i> -DiMéthylFormamide
DMSO :	DiMéthylSulfoxide
EC ₅₀ :	Concentration Effective maximale à 50%
EtOH :	Ethanol
FADD :	Fas-Associated Death Domain
FP :	Polarisation de Fluorescence
HP1 β :	Heterochromatin Protein 1 β
IC ₅₀ :	Concentration Inhibitrice à 50%
<i>i</i> Pr :	Isopropyle
K _D :	Constante de dissociation
K _i :	Constante d'inhibition
KSHV-Bcl-2 :	Kaposi Sarcoma-associated Herpes Virus
LTMP :	Lithium TétraméthylPipéridine

MeOH :	Méthanol
Ms :	Mésyle
na :	non actif
NBS :	N-Bromo Succinimide
nd :	non déterminé
NuMA :	Nuclear Mitotic Apparatus
Pim :	Provirus Insertion site of Moloney murine leukemia virus
PMB :	<i>Para</i> -MéthoxyBenzyle
PrOH :	Propanol
Smac :	Second mitochondrial activator of caspases
t.a. :	Température ambiante
Tf :	Triflate
TFA :	Acide TrifluoroAcétique
TFE :	TriFluoroEthanol
THF :	TétraHydroFurane
THP :	TétraHydroPyrane
TIPS :	TriIsoPropylsilyle
TK :	Tyrosine Kinase
TKL :	Tyrosine Kinase-Like
TMEDA :	TétraMéthylEthylèneDiamine
TMS :	Triméthylsilyle
TNF :	Tumor Necrosis Factor
Tol :	Tolyle
Ts :	Tosyle
Xantphos :	4,5-Bis(diphenylphosphino)-9,9-dimethylxanthene
X-Phos :	2-Dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyle

PRÉAMBULE

Le cancer, de par son incidence élevée et sa constante progression, constitue actuellement un enjeu majeur de santé publique.

En effet, environ 147 000 décès dus au cancer ont été recensés dans notre pays en 2009, faisant de cette maladie la première cause de mortalité en France¹.

L'apparition de cette maladie de la prolifération cellulaire se fait en plusieurs étapes. Sous l'effet de facteurs environnementaux (tabac, radiations, virus...), des mutations génétiques irréversibles peuvent avoir lieu, ce qui se traduit par une altération des systèmes de contrôle qui régulent la prolifération ou la mort cellulaire. Ceci va conduire à une cellule maligne qui va se diviser de manière anarchique, aboutissant au développement de tumeurs.

La complexité des mécanismes à l'origine des cancers constitue un frein à la compréhension de la maladie et donc au développement de traitements efficaces et ciblés.

La première génération d'anticancéreux, dits traitements « conventionnels », en agissant sur les principaux mécanismes impliqués dans la division cellulaire ou au niveau de l'ADN, affichent un manque de sélectivité criant vis-à-vis des cellules saines, provoquant ainsi de nombreux effets secondaires sur l'organisme. On peut citer parmi ces traitements anticancéreux des agents alkylants comme le Chlorambucil, des antimétabolites (5-fluorouracile), des inhibiteurs de la dépolymérisation des microtubules comme le Taxol™, ou encore des inhibiteurs de topoisomérasés I et II tels que le Topotécan (Hycamtin™) ou l'Etoposide (Figure 1).

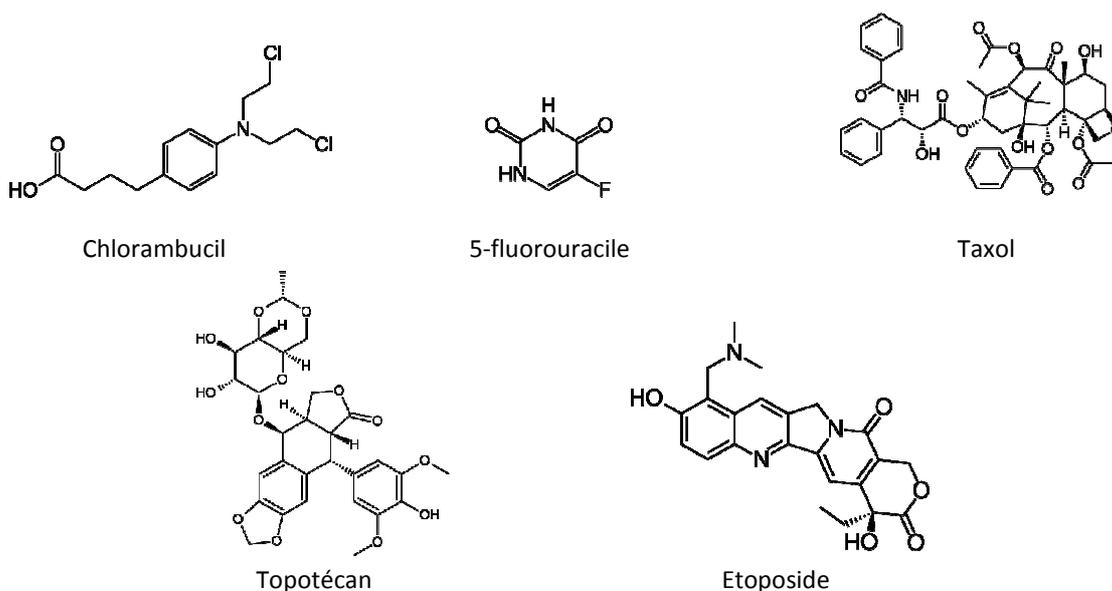


Figure 1 : Exemples d'agents anticancéreux « conventionnels ».

¹ Institut de Veille Sanitaire. <http://www.invs.sante.fr>

Les progrès des recherches en biologie ont permis l'identification de gènes à l'origine de la multiplication anormale de la cellule et ont également conduit à la compréhension de nombreux mécanismes moléculaires spécifiques aux cancers. Ceci a abouti depuis une dizaine d'années au développement des thérapies ciblées dont certaines sont d'une grande efficacité contre les cellules tumorales et provoquent moins d'effets secondaires. A titre d'exemples, l'Herceptine™ (anti-corps anti-HER2) depuis sa commercialisation en 1998 a été utilisé pour traiter plus de 700 000 cancers du sein. Le Glivec™ (inhibiteur de la tyrosine kinase Bcr-Abl, Figure 2) est quant à lui utilisé pour traiter les patients souffrant de leucémie myéloïde chronique.

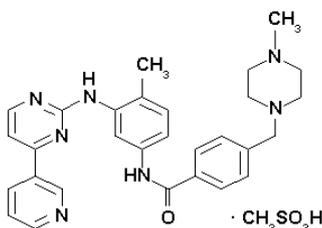


Figure 2 : Structure du Glivec™.

Ainsi, dans le but d'élargir l'arsenal des traitements anticancéreux, les efforts de la recherche se concentrent vers l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques. Parmi elles les kinases Pim et les protéines anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2 font l'objet d'une attention particulière depuis quelques années.

Les kinases Pim et les protéines Bcl-2 interviennent dans les processus de prolifération, de différenciation ou d'apoptose. De plus, elles sont surexprimées dans de nombreux cancers et jouent un rôle dans les processus de résistance à certains traitements de chimio- ou radiothérapie. C'est pourquoi elles apparaissent comme des cibles intéressantes pour le développement d'agents anticancéreux.

Je me suis intéressée au cours de ma thèse à ces deux familles de protéines qui font l'objet de deux parties distinctes du mémoire.

La première partie est consacrée aux kinases Pim. Ces protéines sont une famille de sérine/thréonine kinases impliquées dans de nombreux processus biologiques tels que la survie, la prolifération ou la différenciation cellulaire.

Afin de satisfaire à la demande en nouveaux agents anticancéreux, le domaine récent des kinases Pim reste encore à explorer. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à la synthèse de nouveaux inhibiteurs de ces kinases.

La conception des inhibiteurs potentiels sélectifs, compétitifs de l'ATP, s'appuie sur les différences structurales qui existent entre les kinases.

La principale singularité des kinases Pim par rapport aux autres protéines kinases se situe au niveau du site de fixation de l'adénine de l'ATP. En effet, alors que le substrat naturel des kinases se lie généralement au site actif par l'intermédiaire de deux liaisons hydrogène, celui-ci n'établit dans le cas des Pim qu'une seule liaison hydrogène entre le NH₂ de l'adénine et l'oxygène d'un carbonyle de liaison peptidique (Glu¹²¹ pour Pim-1) à cause de la présence d'un résidu proline en position 123 (Figure 3).

Les kinases se différencient également entre elles par la structure des zones voisines du site de fixation de l'ATP avec la présence de poches hydrophobes spécifiques.

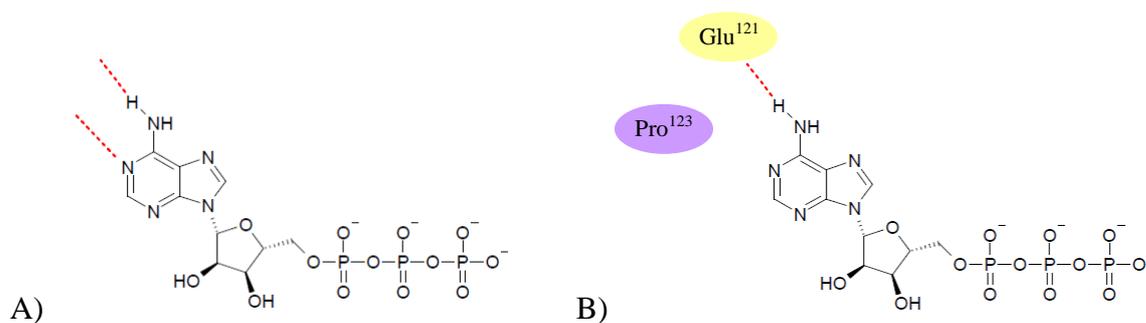


Figure 3 : Liaisons hydrogène essentielles qu'établit l'ATP avec les kinases A) de manière générale B) cas spécifique de la Pim-1.

Ainsi, afin d'optimiser l'affinité et la sélectivité pour les kinases Pim, nos composés auront les caractéristiques structurales suivantes (Figure 4) :

- Une partie hétérocyclique aromatique plane mimant l'adénine de l'ATP qui devra établir une liaison hydrogène avec le site actif de la kinase.
- Des substituants judicieusement choisis et placés sur le squelette de base de manière à atteindre les poches hydrophobes et ainsi renforcer les interactions avec les kinases ciblées.
- Une partie mimant le ribose de l'ATP afin de favoriser l'ancrage de l'inhibiteur potentiel dans le site ATP de la kinase.

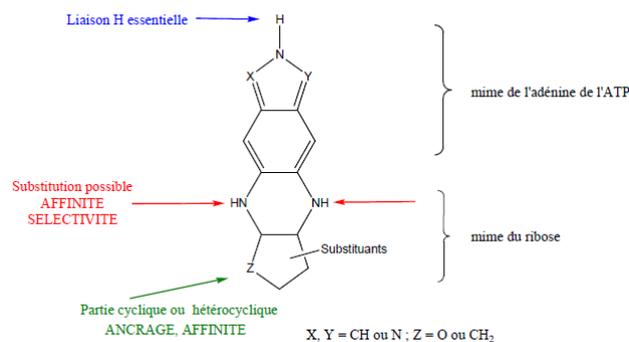


Figure 4 : Structure générale des nouveaux inhibiteurs de kinases Pim

A partir de ce squelette de base, nous avons choisi de développer deux séries hétéroaromatiques sélectionnées en raison de leur caractère donneur de liaison hydrogène : les isoindoles ($X=Y=CH$) et les indazoles ($X=CH, Y=N$) (Figure 4).

Les protéines de la famille des Bcl-2, faisant l'objet de la seconde partie du mémoire, régulent la mort cellulaire programmée ou apoptose. Ce phénomène permet dans tout organisme pluricellulaire d'assurer un équilibre entre prolifération et mort cellulaire et est soumis aux interactions entre les protéines pro-apoptotiques, qui permettent le déclenchement de la mort cellulaire, et les protéines anti-apoptotiques qui maintiennent la cellule en vie. Les deux familles de protéines interagissent entre elles pour former des hétérodimères par le biais d'un domaine en hélice α des protéines pro-apoptotique, nommé domaine BH3, qui vient se complexer au niveau d'une poche hydrophobe des protéines anti-apoptotiques, ce qui entraîne la séquestration des protéines pro-apoptotiques.

Une surexpression des protéines anti-apoptotiques conduit à un déséquilibre de l'homéostasie cellulaire et est associée au développement d'un cancer. C'est pourquoi les protéines anti-apoptotiques constituent une cible de choix pour la conception de nouveaux agents chimiothérapeutiques afin de restaurer le processus normal d'apoptose.

Dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs de protéines anti-apoptotiques, les travaux effectués précédemment au laboratoire par S. Broch ont concerné la préparation de trimères de quinolones et de quinoléines substitués par des chaînes alkoxy (Figure 5). Ces composés se comportent comme des mimes de l'hélice α du domaine BH3 des protéines pro-apoptotiques.

Ils sont substitués en position 5, 5' et/ou 5'' par des groupements alkyles mimant les groupements hydrophobes portés par les chaînes latérales de certains résidus d'acides aminés du domaine BH3 des protéines pro-apoptotiques intervenant dans l'interaction entre les protéines pro- et anti-apoptotiques.

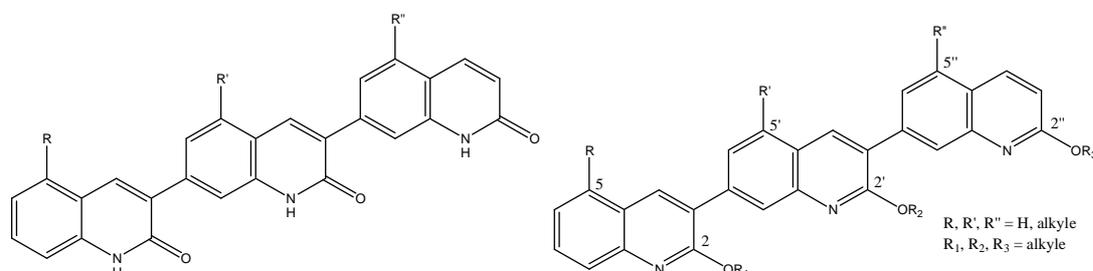


Figure 5 : Structure générale des trimères de quinolones et d'alkoxyquinoléines.

Certains dérivés d'alkoxyquinoléines préparés par S. Broch ont présenté des activités inhibitrices intéressantes sur les protéines anti-apoptotiques Bcl-2 et Bcl-x_L. C'est pourquoi, afin d'approfondir l'étude de relations structure-activité, nous avons voulu poursuivre le développement de cette famille.

D'une part, nous introduirons de nouvelles chaînes alkoxy en position 2 des noyaux quinoléines et nous ferons varier la position d'un ou plusieurs groupement(s) isopropyle(s), choisi(s) pour des commodités synthétiques, en position 5, 5' ou 5''.

D'autre part, afin d'améliorer les propriétés physico-chimiques des composés préparés, les groupements alkoxy en position 2, 2' ou 2'' seront remplacés par des groupements alkylamino (Figure 6).

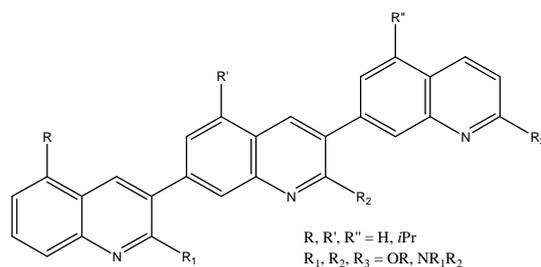


Figure 6 : Structures cibles en série alkoxy-aminoquinoléine.

Les propriétés cytotoxiques des composés synthésés, inhibiteurs potentiels des kinases Pim ou ligands potentiels des protéines anti-apoptotiques Bcl-2, seront évaluées. De

plus, des tests d'inhibition des protéines anti-apoptotiques seront réalisés sur les nouveaux analogues alkoxyquinoléines.

Chaque partie du mémoire comportera trois chapitres :

- Une étude bibliographique consacrée à la description des cibles biologiques et de leur rôle dans l'organisme. Nous établirons également une liste des principaux inhibiteurs décrits dans la littérature.
- Une description des synthèses réalisées.
- Une partie expérimentale relative à la chimie et une consacrée aux tests biologiques (pour la deuxième partie).

Pour la numérotation des produits, nous avons adopté la convention suivante :

- **Chiffres soulignés** : composés des parties bibliographiques.
- **Chiffres non soulignés** : composés obtenus et décrits en partie expérimentale.
- **Chiffres romains** : désignent des familles de composés.
- **Lettres majuscules** : produits déjà décrits dans la littérature.

PARTIE I

Synthèse de nouveaux inhibiteurs de kinases Pim

Premier chapitre

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. INTRODUCTION GENERALE SUR LES PROTEINES KINASES

Un grand nombre de processus biochimiques sont régis par des protéines. Parmi la multitude d'acteurs impliqués, les protéines kinases apparaissent comme des protagonistes essentiels dans la régulation des voies de signalisation cellulaire. En effet, ces enzymes jouent un rôle fondamental dans la croissance et la différenciation cellulaire ainsi que dans les phénomènes d'apoptose.

De façon générale, les protéines kinases ont pour fonction de catalyser des réactions de phosphorylation sur les hydroxyles des résidus sérine/thréonine ou tyrosine de protéines cibles en utilisant l'ATP (*Adénosine TriPhosphate*) comme substrat (Figure 7).

Ces réactions de phosphorylation catalysées par les protéines kinases sont essentielles car elles sont responsables de l'activation ou l'inhibition d'autres enzymes ou de récepteurs inhérents aux processus cellulaires.

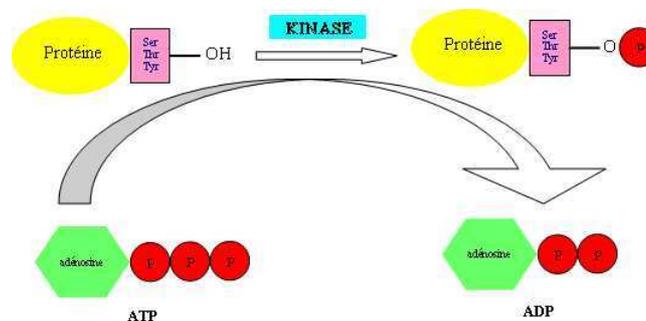


Figure 7 : Réaction générale de phosphorylation catalysée par une protéine kinase.

A ce jour, plus de 500 kinases humaines ont été identifiées et répertoriées au sein du kinome, dans lequel elles sont classées en différentes familles (Figure 8).

Au vu de la diversité et de l'implication de ces enzymes dans de nombreuses voies métaboliques, il n'est pas surprenant que certaines pathologies soient liées au dérèglement de l'expression d'une ou plusieurs kinases.

Comme nous allons le voir par la suite, les connaissances acquises ces dernières années en biologie ont montré que certaines kinases pouvaient être des cibles de choix en vue de développer de nouvelles thérapies, par exemple dans le domaine du cancer.

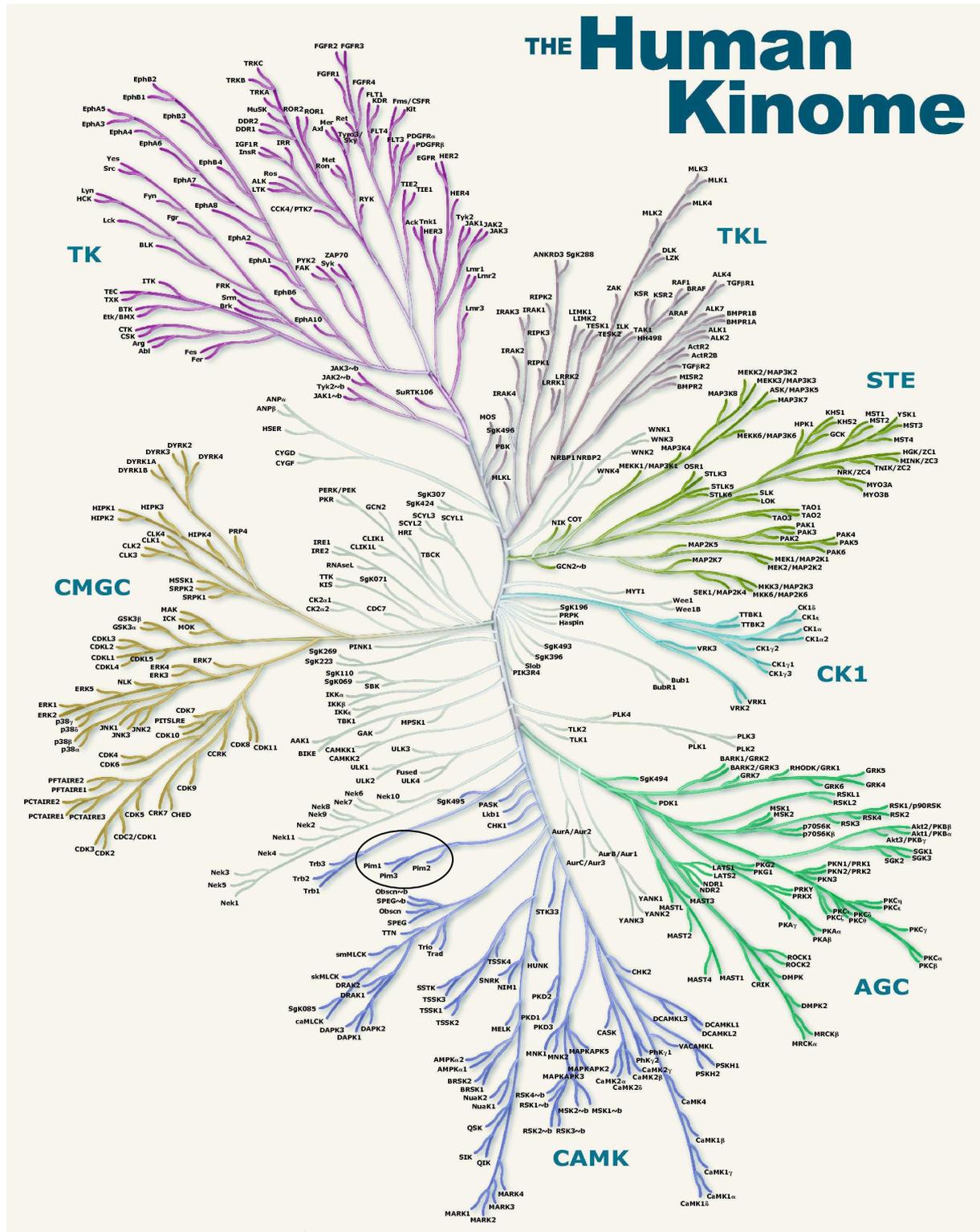


Figure 8 : Le kinome humain. (D'après Manning et al.²)

² G. Manning, D. B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, S. Sudarsanam, *Science*, **2002**, 298, 1912-1934.

II. PRESENTATION DES KINASES PIM

Les protéines kinases Pim (*Proviral Integration site for Moloney murine leukemia virus*) constituent une famille d'oncoprotéines dont les gènes *pim* ont été identifiés comme les sites d'intégration du virus de la leucémie Moloney.

Les gènes *pim* codent pour trois isoformes (Pim-1, Pim-2 et Pim-3) appartenant à la famille des sérine/thréonine kinases et ayant conservé une importante homologie de séquence au cours de l'évolution. Répertoirees au sein du kinome dans la famille des protéines kinases calcium/calmoduline dépendantes (CAMK) (Figure 8), elles sont localisées au niveau cellulaire principalement dans le cytoplasme et le noyau.

II.1. Rôle

II.1.a. Généralités

Comme toutes les kinases, les Pim sont impliquées dans de nombreux processus biologiques rythmant la vie de la cellule.

Bien que leur rôle soit encore mal connu, il a été montré que les kinases Pim participent à la régulation de nombreuses protéines impliquées dans la prolifération, la différenciation ou encore la survie ou la mort cellulaire, agissant ainsi sur le bon déroulement de ces processus fondamentaux.

Contrairement à la plupart des autres protéines kinases, les Pim ne nécessitent aucune activation par phosphorylation par une autre protéine kinase, et sont donc qualifiées de constitutivement actives. Leur expression est cependant gouvernée par une variété de facteurs de croissance et est régulée à plusieurs niveaux : transcriptionnel, post-transcriptionnel, translationnel et post-translationnel.³

Compte-tenu du fait que Pim-1 soit l'isoforme des kinases Pim la plus largement étudiée dans la littérature, nous nous focaliserons dans la suite de cette introduction bibliographique uniquement sur Pim-1.

³ Z. Wang, N. Bhattacharya, M. Weaver, K. Petersen, M. Meyer, L. Gapter, N.S. Magnuson, *J. Vet. Sci.*, **2001**, 2, 167-179.

II.1.b. Fonctions biologiques

Les fonctions des kinases Pim sont variées et concernent de nombreux processus fondamentaux de la biologie cellulaire. L'étendue d'action rend parfois complexe l'élucidation des mécanismes par lesquelles elles interviennent ainsi que l'identification de leurs partenaires. Néanmoins, un certain nombre de leurs fonctions biologiques a été étudié et associé à des processus de transformation maligne.

II.1.b.i. Régulation du cycle cellulaire et prolifération^{4,5}

Le cycle cellulaire est constitué d'un ensemble de processus contrôlant la division cellulaire (Figure 9). Il permet à une cellule mère de se diviser pour donner deux cellules filles identiques.

L'alternance des différentes phases du cycle (G₁, S, G₂ et M) est régulée par des mécanismes complexes impliquant notamment les kinases cycline-dépendantes (Cdk). Le bon déroulement du cycle est également assuré grâce à la présence de points de contrôle aux transitions G₁/S, G₂/M et pendant la mitose (M) (Figure 9).

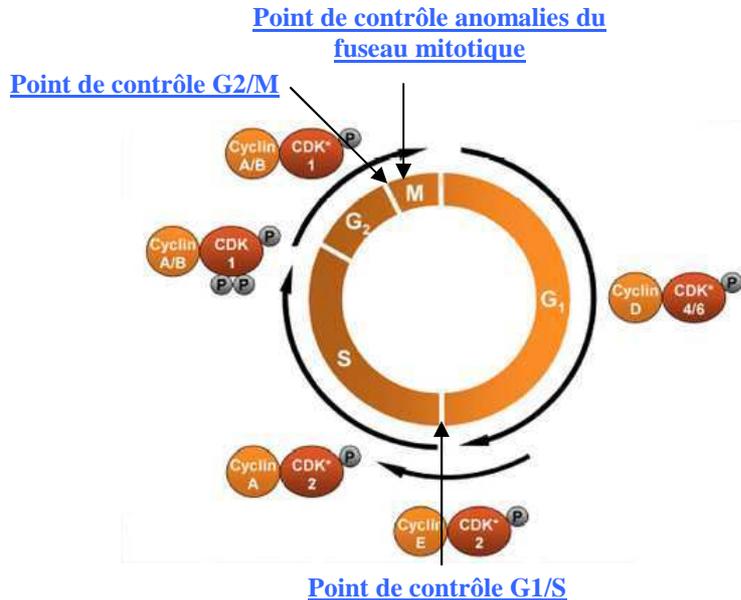


Figure 9 : le cycle cellulaire (AK eisenbrand <http://www.chemie.uni-kl.de/forschung/lmctox/eisenbra/forschung/cyclin.html>) (G : Gap , S : Synthesis, M : Mitosis)

La kinase Pim-1 est directement impliquée dans la régulation des différents stades du cycle :

⁴ N.S. Magnuson, Z. Wang, G. Ding, R. Reeves, *Future Oncol.*, **2010**, *6*, 1461-1478.

⁵ M. Bachmann, T. Möröy, *Int. J. Biochem. Cell. B.*, **2005**, *37*, 726-730.

- Transition G1/S

Lors de ce premier point de contrôle, la cellule s'assure du bon état de l'ADN avant la réplication qui se produit en phase S. Dans le cas contraire, le cycle est arrêté pour donner le temps à la cellule de réparer l'ADN endommagé.

Il a été montré que Pim-1 intervient au niveau de cette transition G1/S en phosphorylant la phosphatase Cdc25a, activant ainsi la progression du cycle (Figure 10). De plus, Pim-1 inhibe l'action de p27^{Kip1} et p21^{Cip1/WAF1}, deux inhibiteurs de Cdk dont le rôle est d'induire l'arrêt du cycle cellulaire.

Au final, Pim-1 accélère le passage en phase S par sa double action sur des enzymes activatrices et inhibitrices du cycle.

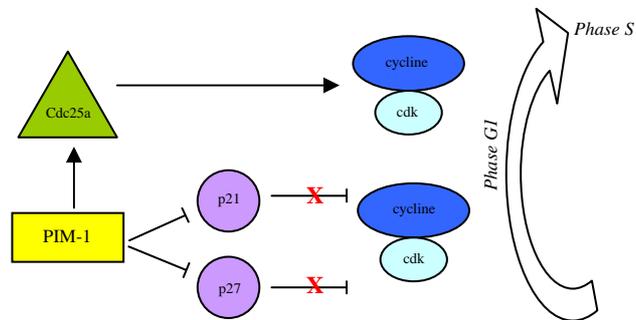


Figure 10 : Implication de Pim-1 au point de contrôle G1/S

- Transition G2/M

Pim-1 intervient également au niveau de la transition G2/M en phosphorylant la phosphatase Cdc25c et la kinase C-TAK1, inhibitrice de Cdc25c. Au final, Pim-1, par sa double action directe et indirecte sur Cdc25c se comporte donc comme un régulateur positif du point de contrôle en G2/M, favorisant la progression du cycle cellulaire (Figure 11).

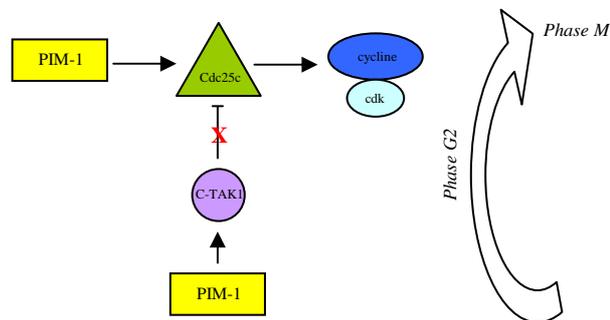


Figure 11 : Implication de Pim-1 au point de contrôle G2/M.

- Mitose

Le passage en mitose dépend de la bonne conformité de l'appareil chromosomique. La mise en place du fuseau mitotique est régie par un certain nombre de protéines, dont des dynéines,

comme HP1 β , ou des protéines de l'appareil mitotique comme NuMA (*Nuclear Mitotic Apparatus*). D'elles dépendent la stabilisation et l'alignement des microtubules pour assurer une bonne dynamique du fuseau mitotique.

Pim-1, en phosphorylant NuMA et en s'associant avec HP1 β facilite le partage du matériel chromosomique et aide à la mitose.

II.1.b.ii. Contrôle de l'apoptose

Le phénomène de mort cellulaire programmée ou apoptose est régulé entre autres par les protéines de la famille des Bcl-2, qui sont divisées en deux classes : les protéines pro- et anti-apoptotiques.

Le signal apoptotique peut être inhibé par la protéine anti-apoptotique Bcl-x_L qui est elle-même inhibée par la protéine pro-apoptotique Bad. Il a été montré que Pim-1 pouvait inactiver Bad en la phosphorylant sur le résidu Ser¹¹² ce qui restaure la fonction de Bcl-x_L, à savoir maintenir la cellule en vie^{6,7} (Figure 12).

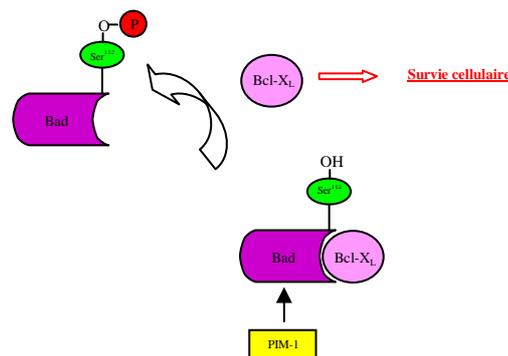


Figure 12 : Rôle de Pim-1 dans les phénomènes d'apoptose.

II.1.b.iii. Rôle oncogénique

Comme nous l'avons évoqué précédemment, la famille des kinases Pim joue un rôle dans les phénomènes de prolifération, de survie et de mort cellulaires. L'implication des Pim dans les phénomènes de cancérisation a d'abord été montrée dans les maladies hématologiques. Ainsi, une surexpression de Pim-1 a été observée dans certains lymphomes et leucémies aiguës tandis qu'un taux élevé de Pim-2 a été retrouvé dans les leucémies

⁶A. Macdonald, D.G. Campbell, R. Toth, H. McLauchlan, C.J. Hastie, J.S.C. Arthur, *BMC Cell Biology*, **2006**, 7.

⁷T.L.T. Aho, J. Sandholm, K.J. Peltola, H.P. Mankonen, M. Lilly, P.J. Koskinen, *FEBS Letters*, **2004**, 571, 43-49.

lymphoïdes chroniques et les lymphomes non Hodgkiniens. Les kinases Pim sont également impliquées dans le développement de tumeurs solides telles que celles de la prostate, du côlon, du pancréas ou encore du sein^{8,9}.

De plus, les kinases Pim participent aux phénomènes de résistance à certains traitements de chimiothérapie anticancéreuse (résistance de cellules cancéreuses à la rapamycine¹⁰ ou aux inhibiteurs de tyrosine kinase¹¹).

De par l'implication des kinases Pim dans la prolifération, la survie et la mort cellulaires, ainsi que par leur participation aux phénomènes de résistance à certains traitements de chimiothérapie anticancéreuse, leur inhibition constitue un enjeu majeur dans le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses.

II.2. Structure de Pim-1

La kinase Pim-1 présente une structure typique constituée de deux lobes : un domaine N-terminal (résidus 33-121) formé principalement de feuillets β et un domaine C-terminal (résidus 128-305) comportant des hélices α , les deux étant reliés par une région charnière (résidus 121-126)¹² (Figure 13).

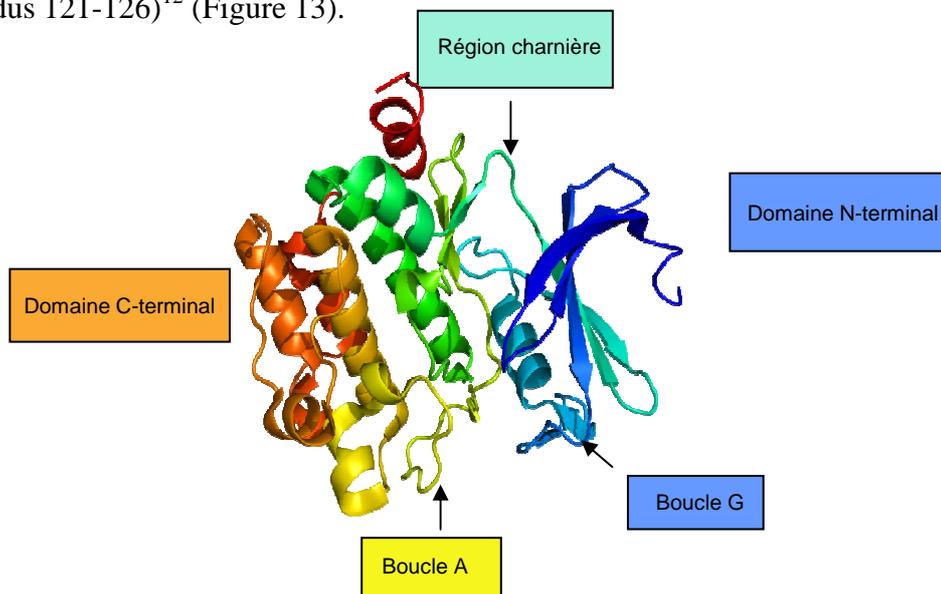


Figure 13 : Structure cristalline de la kinase Pim-1 (PDB 1XQZ). (D'après Schenone et al.¹²).

⁸ L. Brault, C. Gasser, F. Bracher, K. Huber, S. Knapp, J. Schwaller, *Haematologica*, **2010**, 95, 1004-1015.

⁹ N. Shah, B. Pang, K.-G. Yeoh, S. Thorn, C. Shing Chen, M. B. Lilly, M. Salto-Tellez, *Eur. J. Cancer*, **2008**, 44, 2144-2151.

¹⁰ F. Giles, *Blood*, **2006**, 105, 4158-4159.

¹¹ M. Adam, V. Pogacic, M. Bendit, R. Chappuis, M.C. Nawijn, J. Duyster, C.J. Fox, C.B. Thompson, J. Cools, J. Schwaller, *Cancer Res.*, **2006**, 66, 3828-3835.

¹² S. Schenone, C. Tintori, M. Botta, *Curr. Pharm. Design*, **2010**, 16, 3964-3978.

La poche catalytique, site de fixation de l'ATP, se situe entre les deux lobes et est délimitée par la région charnière, la boucle G (résidus 44-52) riche en glycines et la boucle A (résidus 186-210) dite boucle d'activation (Figure 13).

En 2004, la co-cristallisation de Pim-1 avec l'AMP-PNP, un analogue non hydrolysable de l'ATP par Qian et *al.*¹³ a livré des informations capitales sur la structure de la kinase.

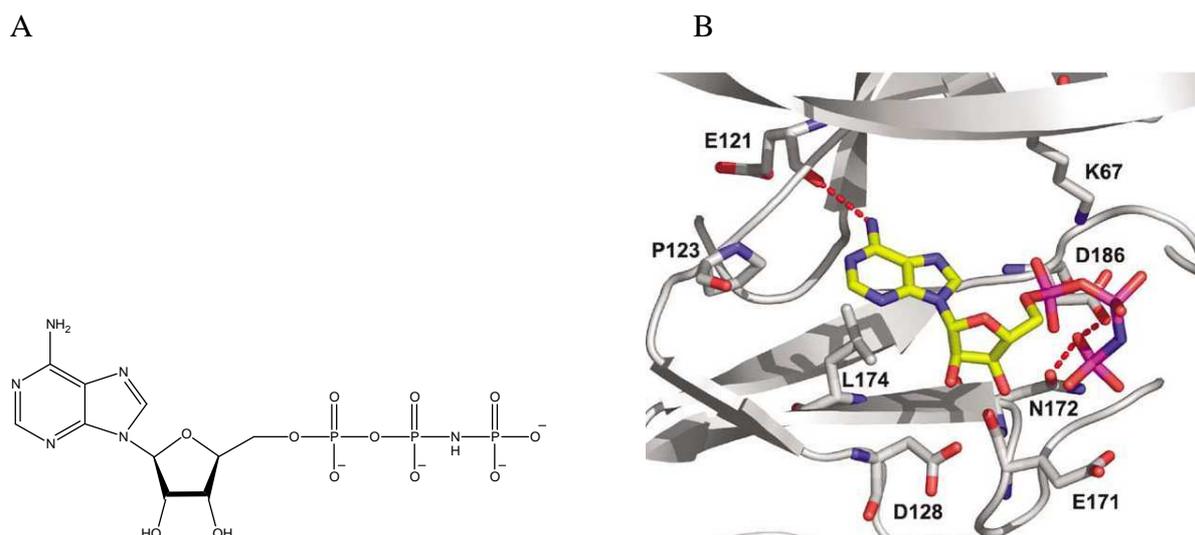


Figure 14 : A) Structure de l'AMP-PNP. B) Complexe Pim-1/AMP-PNP. (D'après Kumar et *al.*¹⁴).

La caractéristique la plus marquante concerne les interactions clés au niveau du site de fixation de l'ATP : alors que ce substrat se lie par l'intermédiaire de deux liaisons hydrogène chez toutes les kinases, une seule subsiste dans le cas de Pim-1. En effet, le résidu proline en position 123 ne peut agir comme donneur de liaison hydrogène à l'adénine de l'ATP. Il ne subsiste donc qu'une liaison hydrogène entre l'atome d'oxygène du groupement carbonyle du résidu Glu¹²¹ et le NH₂ de l'adénine (Figure 14 B).

De plus, la partie phosphate participe à la stabilisation du substrat dans le site catalytique en formant deux liaisons conservées parmi les kinases. D'une part, le résidu Lys⁶⁷ établit une liaison ionique avec l'oxygène du phosphate en α du sucre. D'autre part, les résidus Asn¹⁷² et Asp¹⁸⁶ interagissent avec les phosphates via une coordination avec des ions Mg²⁺ (Figure 15).

¹³ K. C. Qian, L. Wang, E. R. Hickey, J. Studts, K. Barringer, C. Peng, A. Kronkaitis, J. Li, A. White, S. Mische, B. Farmer, *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280, 6130-6137.

¹⁴ A. Kumar, V. Mandiyan, Y. Suzuki, C. Zhang, J. Rice, J. Tsai, D. R. Artis, P. Ibrahim, R. Bremer, *J. Mol. Biol.*, **2005**, 348, 183-193.

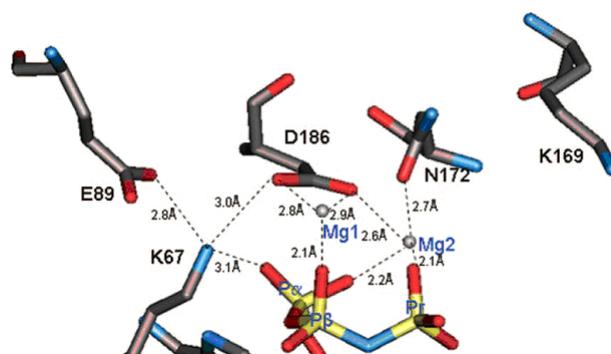


Figure 15 : Interaction des phosphates de l'AMP-PNP avec Pim-1. (D'après Qian et al.¹³).

La résolution du complexe Pim-1/AMP-PNP a permis de dégager une autre spécificité structurale : au niveau de la région charnière, l'insertion d'un ou deux résidus supplémentaires après la Pro¹²³ (comparativement à la séquence de la plupart des kinases) provoque un excentrage de la région charnière et de surcroît un élargissement de la poche catalytique.

Comme nous l'avons déjà mentionné, la kinase Pim-1 adopte une conformation active en l'absence de phosphorylation activatrice. La stabilisation de la conformation active fait intervenir des interactions ioniques et des ponts hydrogène entre les résidus Arg¹⁶⁶ du domaine C-terminal et Asp²⁰⁰ de la boucle A, ainsi que des interactions hydrophobes impliquant des résidus de la boucle d'activation et du domaine C-terminal¹⁵.

La structure atypique de Pim-1 (ainsi que celle des deux autres isoformes, Pim-2 et Pim-3) par rapport aux autres kinases, notamment au niveau de la région charnière, ouvre des possibilités quant au développement d'inhibiteurs sélectifs de cette famille.

¹⁵ A.N. Bullock, J. Debreczeni, A.L. Amos, S. Knapp, B.E. Turk, *J. Biol. Chem.*, **2005**, 208, 41675-41682.

III. LES INHIBITEURS DE KINASES PIM

III.1. Introduction

Au vu de l'implication des Pim dans les phénomènes de cancérogénèse, cette famille de kinases fait l'objet d'un intérêt particulier au sein de la communauté scientifique. Depuis une dizaine d'année elles sont considérées comme des cibles intéressantes pour le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses.

Le nombre croissant de résolutions aux rayons X de structures tridimensionnelles de co-cristaux de la kinase Pim-1 avec divers inhibiteurs a permis d'identifier les interactions moléculaires mises en jeu et ainsi favoriser la conception de nouveaux inhibiteurs.

La liste d'inhibiteurs de kinases Pim proposée ci-dessous n'est pas exhaustive. Les exemples présentés ont été choisis afin d'illustrer la variété structurale des inhibiteurs compétitifs de l'ATP connus à ce jour. Des revues récentes décrivent de façon plus complète les différents squelettes retrouvés dans les inhibiteurs des kinases Pim^{8,12,16,17}.

Les inhibiteurs seront classés en deux groupes en fonction de leur mode d'interaction avec la kinase, mimétique ou non de l'ATP.

III.2. Inhibiteurs ATP mimétiques

La première catégorie d'inhibiteurs regroupe les molécules établissant une liaison hydrogène similaire à celle qu'établit l'ATP avec le résidu Glu¹²¹ de Pim-1.

III.2.a. Staurosporine et ses dérivés¹⁸

La staurosporine est décrite comme un inhibiteur non sélectif de kinases. L'indolocarbazole se place au sein d'une zone hydrophobe du site catalytique et l'atome d'hydrogène de la pyrrolidinone permet d'établir la liaison hydrogène avec la charnière

⁸ L. Brault, C. Gasser, F. Bracher, K. Huber, S. Knapp, J. Schwaller, *Haematologica*, **2010**, *95*, 1004-1015.

¹² S. Schenone, C. Tintori, M. Botta, *Curr. Pharm. Design*, **2010**, *16*, 3964-3978.

¹⁶ T. Morwick, *Expert Opin. Ther. Patents*, **2010**, *20*, 193-212.

¹⁷ F. Anizon, A.A. Shtil, V.N. Danilenko, P. Moreau, *Curr. Med. Chem.*, **2010**, *17*, 4133-4141.

¹⁸ A.N. Bullock, J.E. Debreczeni, O.Y. Fedorov, A. Nelson, B.D. Marsden, S. Knapp, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 7604-7614.

(Glu¹²¹ pour Pim-1). Enfin, la partie osidique se place dans le site de fixation du ribose par l'intermédiaire d'une liaison hydrogène entre l'amine exocyclique et le résidu Asp¹²⁸ de Pim-1 (Figure 16).

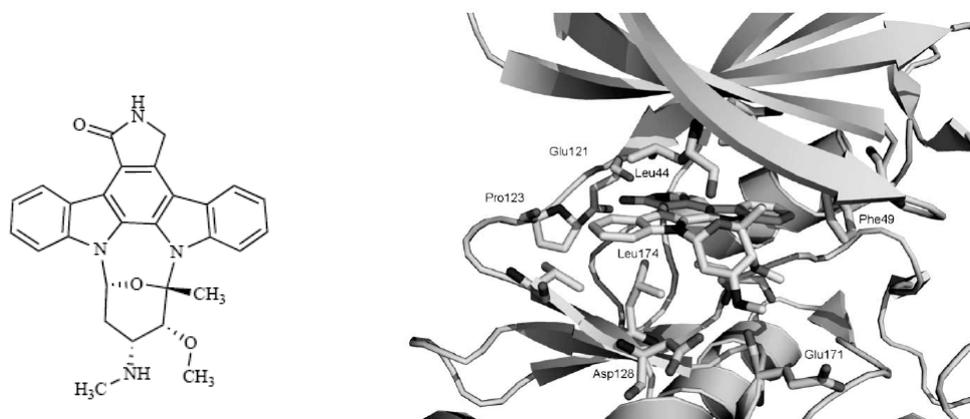


Figure 16 : Structure et modélisation de la staurosporine dans le site actif de Pim-1. (D'après Schenone et al.¹²).

La staurosporine étant un bon inhibiteur de kinases, des analogues ont été synthétisés comme des bisindolyl-maléimides (BIM et LY333531). Ces composés présentent une **IC₅₀ sub-micromolaire** vis-à-vis de Pim-1 (Figure 17 et Figure 18).

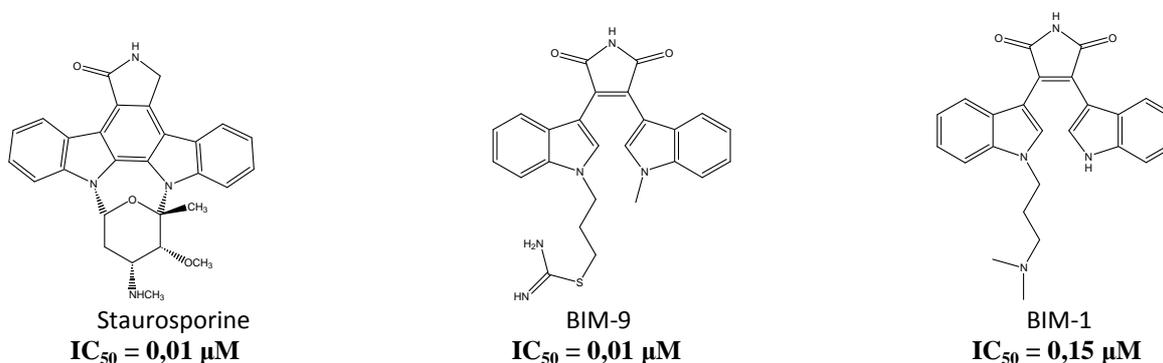
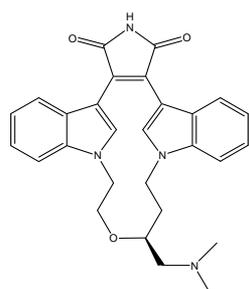


Figure 17 : Valeurs d'IC₅₀ sur Pim-1 de la staurosporine et des dérivés de bisindolyl-maléimides.

La partie bisindolyl-maléimide se place dans une poche hydrophobe. Par exemple, dans le cas du LY333531, des interactions hydrophobes¹⁹ sont établies avec les résidus Phe⁴⁹, Ile¹⁰⁴ et Ile¹⁸⁵ (Figure 18).

¹² S. Schenone, C. Tintori, M. Botta, *Curr. Pharm. Design*, **2010**, *16*, 3964-3978.

¹⁹ O. Fedorov, B. Marsden, V. Pogacic, P. Rellos, S. Müller, A.N. Bullock, J. Schwaller, M. Sundström, S. Knapp, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2007**, *104*, 20523-20528.



LY333'531
 IC_{50} (Pim-1) = 0,2 μ M

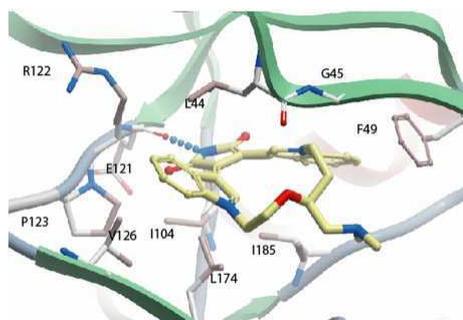


Figure 18 : Représentation de LY333531 co-cristallisé avec Pim-1. (D'après Fedorov et al.¹⁹).

III.2.b. Flavonoïdes²⁰

Un premier criblage de 20 représentants de cette famille de composés, déjà connus pour leur activité inhibitrice vis-à-vis de kinases, a permis d'identifier la quercétagétine comme étant un inhibiteur modéré de Pim-1 avec une IC_{50} de 0,34 μ M (Figure 19).

Les analyses cristallographiques de la quercétagétine complexée à Pim-1 ont mis en évidence l'établissement d'une liaison hydrogène entre le résidu Glu¹²¹ et le groupement hydroxyle en position 3. Deux interactions hydrogène supplémentaires mettent en jeu l'hydroxyle en position 4' de la quercétagétine et les résidus Lys⁶⁷ et Glu⁸⁹ de la poche de liaison au phosphate (Figure 19).

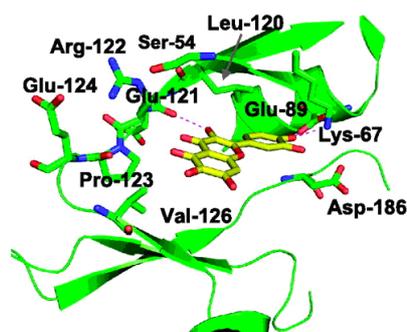
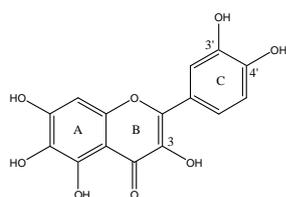


Figure 19 : Structure RX du co-cristal Pim-1/quercétagétine. (D'après Holder et al.²⁰).

De plus, la quercétagétine est sélective de Pim-1 vis-à-vis d'autres sérine/thréonine kinases (Figure 20).

²⁰ S. Holder, M. Zemskova, C. Zhang, M. Tabrizizad, R. Bremer, J.W. Neidigh, M.B. Lilly, *Mol. Cancer Ther.*, 2007, 6, 163-172.

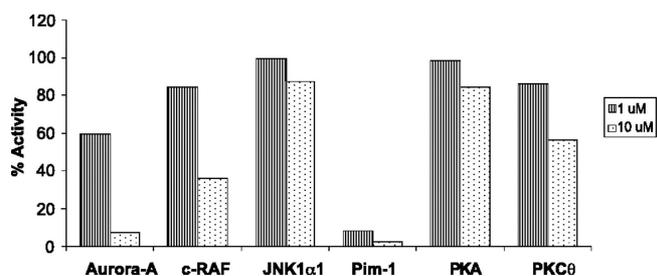


Figure 20 : Pourcentages d'activité résiduelle sur des Ser/Thr kinases à 1 et 10 μM. (D'après Holder et al.²⁰).

III.2.c. Complexes de ruthénium

Des complexes organométalliques de ruthénium ont été identifiés par E. Meggers comme de puissants inhibiteurs de kinases. L'étude de relations structure-activité effectuée sur ces composés s'appuie sur la structure de la staurosporine en remplaçant le motif indolocarbazole par un pyridocarbazole et le lactame par un imide. Les atomes d'azote de la partie pyridocarbazole sont ligandés avec le métal dans un complexe métallique qui remplace la partie hétérocyclique oxygénée de la staurosporine²¹ (Figure 21).

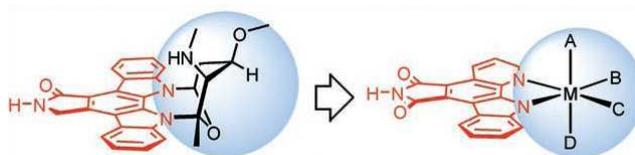


Figure 21 : Conception du squelette général des complexes de ruthénium en utilisant la staurosporine comme modèle (D'après Debreczeni et al.²¹).

L'un des représentants de cette famille, le composé **(S)-1** a démontré une très bonne activité inhibitrice de Pim-1 avec une IC_{50} de **0,22 nM**, bien inférieure à celle de la staurosporine (Figure 22).

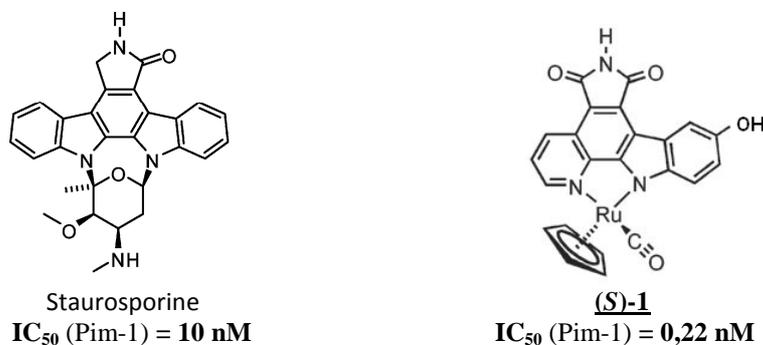


Figure 22 : Structure et activité sur Pim-1 de la staurosporine et du composé **(S)-1**.

²¹ J. É. Debreczeni, A. N ; Bullock, G. Ekin Atilla, D. S. Williams, H. Bregman, S. Knapp, E. Meggers, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 1580-1585.

La résolution par diffraction aux rayons X de la structure du co-cristal Pim-1/**(S)-1** a révélé que le motif pyridocarbazole était situé dans une poche hydrophobe et que la cohésion du complexe était assurée entre autres par trois liaisons hydrogène. La première entre l'hydrogène du NH de l'imide et le résidu Glu¹²¹, les deux autres entre la fonction alcool portée par le pyridocarbazole et deux molécules d'eau au voisinage du Glu⁸⁹. Les autres ligands du ruthénium (cyclopentadiényle et CO) sont engagés dans des interactions faibles de type Van der Waals, notamment avec le méthylène du résidu Gly⁴⁵. Il est intéressant de noter que le métal n'interagit pas avec l'enzyme et joue un rôle purement structural en orientant spatialement ses ligands²² (Figure 23).

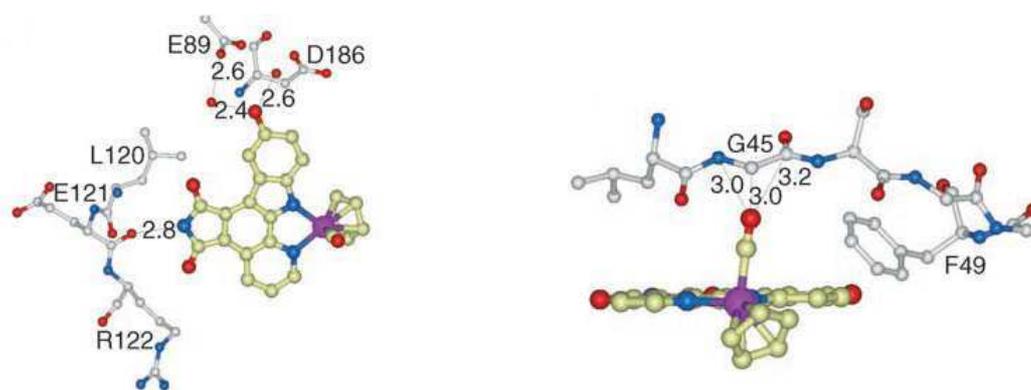


Figure 23 : Interactions de **(S)-1** avec le site actif de Pim-1. (D'après Meggers et al.²²).

L'activité biologique est corrélée à la configuration de l'atome de ruthénium. Par exemple, il a été montré que le composé **(S)-2** possède une activité inhibitrice sur Pim-1 dix fois supérieure à celle de l'énantiomère correspondant²³ (Figure 24).



Figure 24 : IC₅₀ des deux isomères de **2** sur Pim-1.

²² E. Meggers, G.E. Atilla-Gokcumen, H. Bregman, J. Maksimoska, S.P. Mulcahy, N. Pagano, D.S. Williams, *Synlett*, **2007**, 8, 1177-1189.

²³ G. E. Atilla-Gokcumen, D. S. Williams, H. Bregman, N. Pagano, E. Meggers, *ChemBioChem*, **2006**, 7, 1443-1450.

III.2.d. Isoxazolo[3,4-*b*]quinoléine-3,4(1*H*,9*H*)-diones

Les laboratoires Abbott ont identifié le composé **3** comme chef de file en série isoxazolo[3,4-*b*]quinoléine-3,4(1*H*,9*H*)-dione²⁴. Ce composé possède des activités d'ordre **nanomolaire** sur Pim-1 et d'ordre **sub-micromolaire** sur Pim-2 (Figure 25).

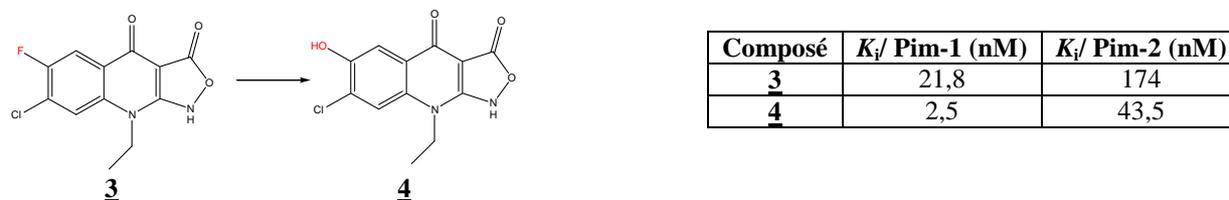


Figure 25 : K_i de dérivés d' isoxazolo[3,4-*b*]quinoléine-3,4(1*H*,9*H*)-diones **3** et **4**.

Une étude de modélisation moléculaire simulant l'arrimage de la molécule **3** dans le site ATP de Pim-1 a montré que ce composé était engagé, par l'intermédiaire de ses deux carbonyles, dans un réseau de liaisons hydrogène avec la Lys⁶⁷ et une molécule d'eau (Figure 26). Afin d'optimiser les interactions avec l'enzyme dans cette série, l'atome de fluor a été remplacé par un groupement hydroxyle (composé **4**, Figure 25) destiné à former une liaison hydrogène avec le résidu Glu¹²¹ de la région charnière. Lorsque le composé **4** a été testé sur un panel de 22 kinases, il a démontré une bonne sélectivité pour Pim-1 avec un K_i de **2,5 nM** (Figure 25).

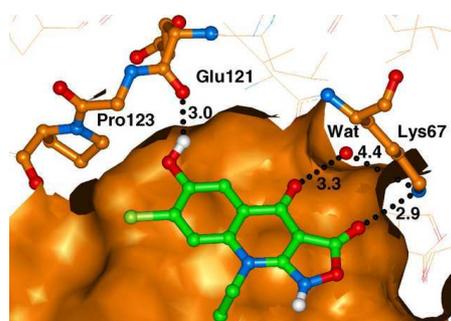


Figure 26 : Modélisation de **4** dans Pim-1. (D'après Tong et al.²⁴).

III.3. Inhibiteurs non mimétiques de l'ATP

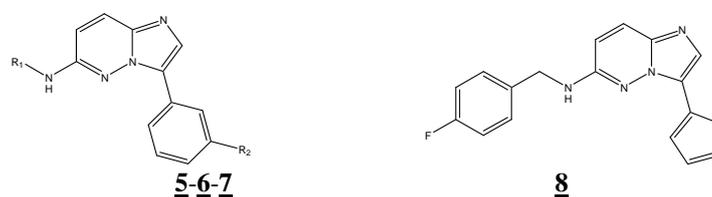
Cette catégorie d'inhibiteurs présente un mode de fixation atypique pour lesquels l'interaction avec le résidu Glu¹²¹ de la région charnière n'est pas retrouvée.

²⁴ Y. Tong, K.D. Steward, S. Thomas, M. Przytulinska, E.F. Johnson, V. Klinghofer, J. Levenson, O. McCall, N.B. Soni, Y. Luo, N.-H. Lin, T.J. Sowin, V.L. Giranda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 18, 5206-5208.

III.3.a. Dérivés d'imidazo[1,2-*b*]pyridazine et de triazolo[4,3-*b*]pyridazine

III.3.a.i. Imidazo[1,2-*b*]pyridazines^{18, 25}

Bullock et *al.* ont identifié par criblage d'une bibliothèque de composés le motif imidazo[1,2-*b*]pyridazine comme point de départ pour le développement de composés inhibiteurs de Pim. Les imidazo[1,2-*b*]pyridazines **5-8**, testées à une concentration finale de 1 μ M, inhibent à plus de 90% Pim-1 (Figure 27). De plus, l'évaluation de l'activité biologique de **5** et **6** sur un panel de 50 kinases a permis de montrer que ces composés étaient très sélectifs de Pim-1.



Composé	R ₁	R ₂	% d'activité résiduelle à 1 μ M
5	cyclopropylméthyle	acétyle	2
6	tétrahydropyran-4-yle	Cl	1
7	2-pyridin-2-yléthyl	Cl	0
8	/	/	5

Figure 27 : Activité sur Pim-1 des composés **5-8**.

L'étude de la structure du co-cristal Pim-1/**5** a mis en évidence l'ancrage de ce composé dans le site actif par l'intermédiaire d'un réseau de liaisons hydrogène impliquant le N1 de l'imidazole et les résidus Lys⁶⁷, Glu⁸⁹, Ile¹⁸⁵, Phe¹⁸⁷ ainsi qu'une molécule d'eau. En outre, des interactions hydrophobes accroissent la stabilité du complexe (Figure 28)²⁵.

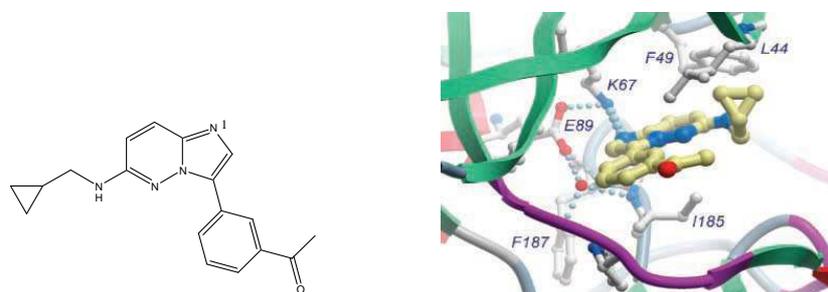


Figure 28 : Interactions du composé **5** dans le site actif de Pim-1. (D'après Pogacic et *al.*²⁵).

¹⁸ A.N. Bullock, J.E. Debreczeni, O.Y. Fedorov, A. Nelson, B.D. Marsden, S. Knapp, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 7604-7614.

²⁵ V. Pogacic, A.N. Bullock, O. Fedorov, P. Filippakopoulos, C. Gasser, A. Biondi, S. Meyer-Monard, S. Knapp, J. Schwaller, *Cancer Res.*, **2007**, *67*, 6916-6924.

Une autre imidazo[1,2-*b*]pyridazine, le SGI-1776, inhibiteur de Pim-1, Pim-2 et Pim-3 a été identifié par criblage virtuel^{26,27}. Ce composé présente des activités *in vitro* **nanomolaires** sur les Pim-1,-2 et -3 (Figure 29). Lors d'un criblage large sur plus de 200 protéines kinases, seules deux autres protéines (Flt-3 et Haspin) ont été inhibées par le SGI-1776 avec des IC₅₀ du même ordre de grandeur (IC₅₀ = 44 nM et 34 nM respectivement).

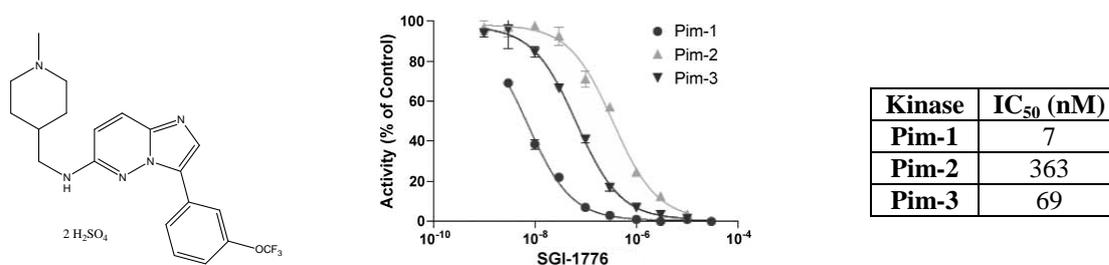


Figure 29 : Structure et activité inhibitrice sur les kinases Pim du SGI-1776. (D'après Mumenthaler et al.²⁷).

III.3.a.ii. Triazolo[4,3-*b*]pyridazines²⁸

L'introduction d'un atome d'azote supplémentaire sur le squelette des séries précédentes a permis d'accéder à de nouveaux inhibiteurs sélectifs de Pim-1.

Après identification du chef de file **9** par criblage haut-débit, une étude de relations structure-activité a été entreprise sur une série de triazolo[4,3-*b*]pyridazines. Ces travaux ont permis d'accéder à des inhibiteurs plus actifs sur la Pim-1 que le chef de file. De plus, les composés **10–13** se sont avérés sélectifs de la kinase Pim-1 lorsqu'ils ont été testés sur un panel de 21 autres kinases (Figure 30).

Composé	R ₁	R ₂	K _i /Pim-1 (nM)
9	4-CF ₃	cPr	320
10	3-CF ₃	cPr	18
11	3-CF ₃	cHex	11
12	3-CF ₃		21
13	3-CF ₃		< 5

Figure 30 : Activité des composés **9–13** sur Pim-1.

²⁶ L.S. Chen, S. Redkar, D. Bearss, W.G. Wierda, V. Gandhi, *Blood*, **2009**, *114*, 4150-4157.

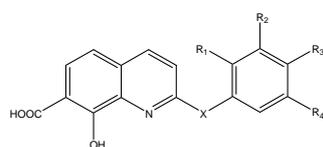
²⁷ S.H. Mumenthaler, P.Y.B. Ng, A. Hodge, D. Bearss, G. Berk, S. Kanetal, S. Redkar, P. Taverna, D.B. Agus, A. Jain, *Mol. Cancer Ther.*, **2009**, *10*, 2882-2893.

²⁸ R. Grey, A.C. Pierce, G.W. Bemis, M.D. Jacobs, C.S. Moody, R. Jajoo, N. Mohal, J. Green, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, *19*, 3019-3022.

Une structure aux rayons X du co-cristal Pim-1/**11** a permis de mettre en évidence un mode d'interaction comparable à celui de l'imidazopyridazine **5**, avec une liaison hydrogène entre l'atome d'azote N1 du triazole et la chaîne latérale de la Lys⁶⁷.

III.3.b. Quinoléines 2-substituées

Sliman *et al.*²⁹ ont décrit récemment une série de 7-carboxy-8-hydroxyquinoléines dont certains représentants possèdent des **IC₅₀** d'ordre **submicromolaire** sur Pim-1. Le composé **19** est le plus actif de cette série avec une **IC₅₀** de **0,2 μM** (Figure 31).



Composé	X	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	IC ₅₀ /Pim-1 (μM)
14	(CH) ₂	OH	H	OH	H	0,5
15	(CH) ₂	H	OH	OMe	H	0,5
16	(CH) ₂	H	OH	H	OH	0,4
17	CONHCH ₂	H	OH	H	OH	0,6
18	HNCONHCH ₂	H	H	OH	OH	0,5
19	CONHCH ₂	OH	H	OH	H	0,2

Figure 31 : Activité des composés **14–19** sur Pim-1

Afin d'étudier le mode d'interaction entre ces composés et le site actif de la kinase Pim-1, des travaux de modélisation moléculaire ont été entrepris sur le composé **16**. Cela a permis de mettre en évidence l'ancrage de la molécule dans le site ATP, par l'intermédiaire de la fonction acide carboxylique et des groupements hydroxyles, via un réseau de ponts hydrogène établi au voisinage des résidus Phe⁴⁹, Gly⁴⁸, Gly⁵⁰, Lys⁶⁷ et Asp¹⁸⁶ (Figure 32).

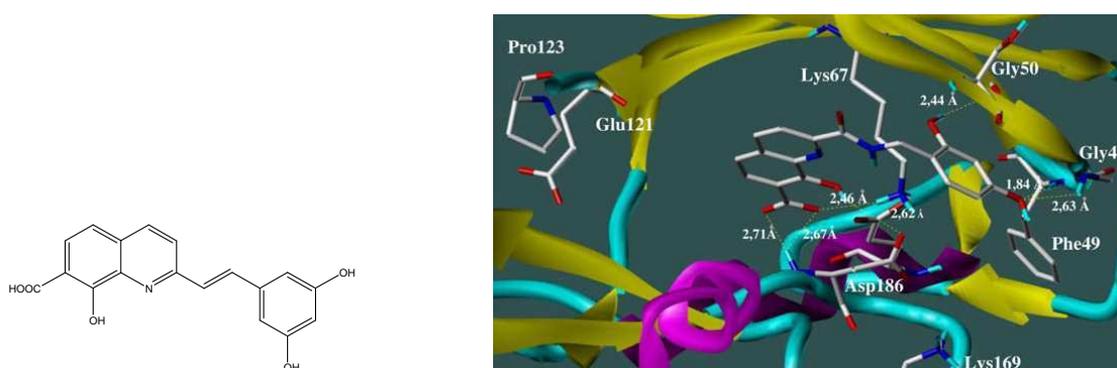
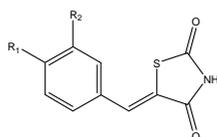


Figure 32 : Modélisation du composé **16** dans Pim-1. (D'après Sliman *et al.*²⁹).

²⁹ F. Sliman, M. Blairvacq, E. Durieu, L. Meijer, J. Rodrigo, D. Desmaële, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 2801-2805.

III.3.c. Thiazolidines-2,4-diones

Le criblage d'une bibliothèque de composés de ChemBridge Corporation a permis de souligner l'intérêt notable du squelette thiazolidine-2,4-dione pour l'inhibition des kinases Pim-1 et -2³⁰. Les composés inhibent également Pim-3 avec des **IC₅₀ micromolaires** (Figure 33).



Composé	R ₁	R ₂	IC ₅₀ /Pim-1 (μM)	IC ₅₀ /Pim-2 (μM)	IC ₅₀ /Pim-3 (μM)
20	H	CF ₃	0,024	0,1	17
21	F	H	0,013	2,3	93
22	C ₃ H ₇ O	H	0,15	0,02	48

Figure 33 : Activité des composés **20–22** sur les kinases Pim.

Certains dérivés de la série confrontés à 50 kinases affichent une bonne sélectivité pour Pim-1 et Pim-2 vis-à-vis des autres kinases testées.

III.3.d. Benzothiényrimidinones

Les laboratoires Abbott ont rapporté pour la première fois une famille de composés inhibant les trois kinases Pim avec des **activités d'ordre nanomolaire**³¹.

Après identification du chef de file **23** (**K_i = 130 nM** sur Pim-1, **K_i = 164 nM** sur Pim-2), une étude de relations structure-activité a été entreprise sur une série de benzothiényrimidinones. Ces travaux ont permis d'accéder à de puissants inhibiteurs **24–27** des trois isoformes de Pim. De plus, le composé **27** s'est avéré sélectif des kinases Pim lorsqu'il a été testé sur un panel de 15 autres kinases (Figure 34).

³⁰ Z. Xia, C. Knaak, J. Ma, Z.M. Beharry, C. McInnes, W. Wang, A.S. Kraft, C.D. Smith, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 74-86.

³¹ Z.-F. Tao, L.A. Hasvold, J.D. Levenson, E.K. Han, R. Guan, E.F. Johnson, V.S. Stoll, K.D. Steward, G. Stamper, N. Soni, J.J. Bouska, Y. Luo, T.J. Sowin, N.-H. Lin, V.S. Giranda, S.H. Rosenberg, T.D. Penning, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 6621-6636.



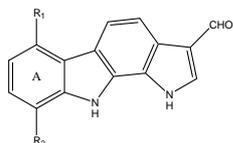
Composé	R ₁	R ₂	K _i /Pim-1 (nM)	K _i /Pim-2 (nM)	K _i /Pim-3 (nM)
23	/	/	130	164	0,7
24			1	2	0,2
25			2	3	0,5
26			5	3	<0,1
27			0,7	2	0,4

Figure 34 : Activité des composés **23–27** sur les kinases Pim.

III.3.e. Pyrrolo[2,3-*a*]carbazoles^{32,33}

Un criblage sur 66 kinases a permis d'identifier le squelette pyrrolo[2,3-*a*]carbazole comme point de départ pour la conception d'inhibiteurs de kinases Pim.

Une étude de relations structure-activité a été entreprise à partir du composé **28** qui inhibe les trois isoformes de Pim avec des **IC₅₀ submicromolaires**. Suite à cette étude, des dérivés diversement substitués sur le cycle A ont été synthétisés (Figure 35). Parmi les divers analogues préparés, le composé **29** substitué par un atome de brome en position 6 présente la meilleure activité sur Pim-1 avec une **IC₅₀ de 6,8 nM**.



Composé	R ₁	R ₂	IC ₅₀ /Pim-1 (nM)	IC ₅₀ /Pim-2 (nM)	IC ₅₀ /Pim-3 (nM)
28	H	H	120	510	10
29	Br	H	6,8	131	12,4
30	H	Br	31	nd	24
31	H	Et	66	nd	60
32	H	COOMe	30	nd	40
33	H	CF ₃	18	nd	6

Figure 35 : Activité des composés **28–33** sur les kinases Pim.

³² R. Akué-Gédu, E. Rossignol, S. Azzaro, S. Knapp, P. Filippakopoulos, A.N. Bullock, J. Bain, P. Cohen, M. Prudhomme, F. Anizon, P. Moreau, *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 6369-6381.

³³ R. Akué-Gédu, L. Nauton, V. Théry, J. Bain, P. Cohen, F. Anizon, P. Moreau, *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 6865-6873.

La résolution par diffraction aux rayons X de la structure du co-cristal Pim-1/**28** a permis de mettre en évidence le mode d'interaction mis en jeu. De manière inattendue, les NH aromatiques sont orientés vers l'extérieur de la poche catalytique et par conséquent n'établissent pas de liaison hydrogène avec l'enzyme. Toutefois, l'ancrage est assuré notamment par l'établissement d'une liaison hydrogène entre l'oxygène de l'aldéhyde et le résidu Lys⁶⁷ (Figure 36).

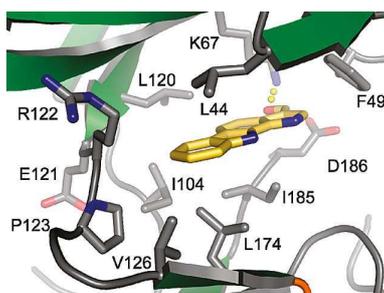


Figure 36 : Représentation de la structure du co-cristal Pim-1/**28**. (D'après Akué-Gédu et *al.*³²).

Afin d'expliquer la meilleure activité du composé **29** sur Pim-1 (comparé à **28**), une étude de modélisation moléculaire a été entreprise. Les résultats obtenus ont montré qu'une répulsion stérique entre l'atome de brome et la région charnière de l'enzyme conduit à un positionnement de l'inhibiteur plus haut dans la poche catalytique. Ceci permettrait l'établissement d'une liaison hydrogène supplémentaire entre l'inhibiteur et l'enzyme via une molécule d'eau, stabilisant ainsi l'interaction (Figure 37).

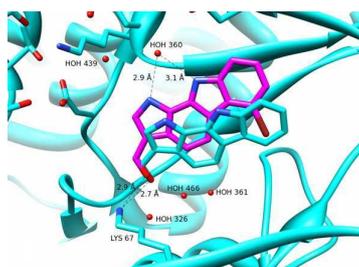
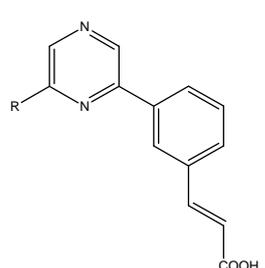


Figure 37 : Superposition des composés **28** (bleu) et **29** (rose) dans le site actif de Pim-1. (D'après Akué-Gédu et *al.*³³).

III.3.f. 2-cinamyl-6-amino-pyrazines

Dans le cadre d'une étude de relations structure-activité réalisée sur des pyrazines diversement substituées³⁴, le chef de file **34** a été identifié comme un puissant inhibiteur sélectif des kinases Pim-1 et Pim-2. Seuls deux autres analogues ont présenté une meilleure affinité pour Pim-1 et Pim-2 par rapport au composé **34** (Figure 38).



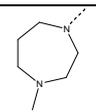
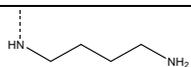
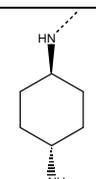
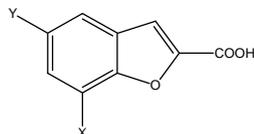
Composé	R	IC ₅₀ /Pim-1 (nM)	IC ₅₀ /Pim-2 (nM)
34		57	40
35		33	22
36		13	12

Figure 38 : IC₅₀ des composés **34-36** sur Pim-1 et Pim-2.

III.3.g. Dérivés d'acide 2-benzofuranique

Après criblage de 1800 petites molécules sur Pim-1, des dérivés d'acide 2-benzofuranique se sont avérés particulièrement intéressants et ont constitué le point de départ d'une étude de relations structure-activité³⁵ (Figure 39).



Composé	X	Y	IC ₅₀ /Pim-1 (μM)
37	H	H	119
38	H	Br	8,5
39	OMe	Br	5,8

Figure 39 : Inhibiteurs de Pim-1 identifiés par criblage moléculaire.

³⁴ K. Qian, L. Wang, C.L. Cywin, B. T. Farmer, E. Hickey, C. Homon, S. Jakes, M.A. Kashem, G. Lee, S. Leonard, J. Li, R. Magboo, W. Mao, E. Pack, C. Peng, A. Prokopowicz, M. Welzel, J. Wolak, T. Morwick, *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 1814-1827.

³⁵ Y. Xiang, B. Hirth, G. Asmussen, H.-P. Biemann, K. A. Bishop, A. Good, M. Fitzgerald, T. Gladysheva, A. Jain, K. Jancsics, J. Liu, M. Metz, A. Papoulis, R. Skerlj, J. D. Stepp, R. R. Wei, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2011**, *21*, 3050-3056.

L'étude de la structure RX des deux composés chefs de file **38** et **39** dans le site ATP de Pim-1 a donné de nombreuses indications sur les interactions clé s'établissant entre la kinase et ces deux dérivés de benzofurane.

A partir de là, l'optimisation de la structure de base grâce à une étude de relations structure-activité a conduit à la synthèse de plusieurs analogues dont le plus actif sur Pim-1 ($IC_{50} = 1$ nM) est représenté en Figure 40.

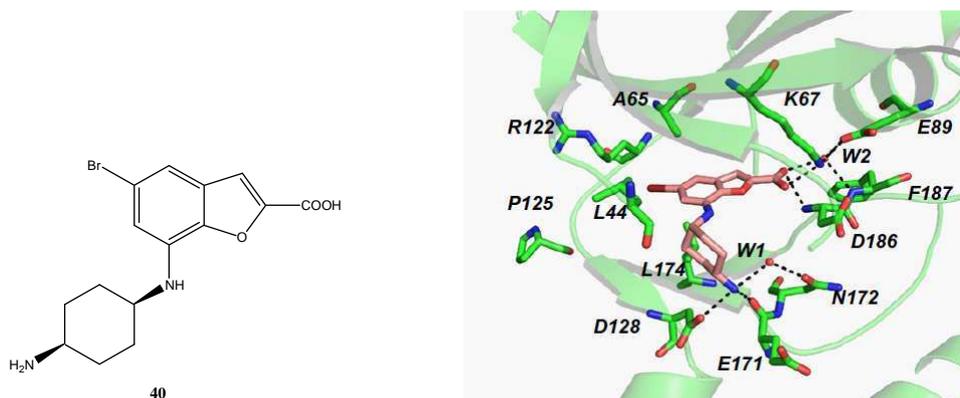


Figure 40 : A) Structure du dérivé d'acide 2-benzofurannique le plus actif sur Pim-1. B) Structure RX de **40** complexé à Pim-1. (D'après Xiang et al.³⁵).

L'étude du co-cristal **40**/Pim-1 a permis de révéler les interactions clé permettant l'ancrage du composé **40** dans le site actif de Pim-1 (Figure 40 B). Ainsi, l'atome de brome s'insère dans une poche hydrophobe formée par les résidus Ala⁶⁵, Arg¹²² et Leu⁴⁴ situés à proximité de la région charnière. L'affinité repose aussi sur des interactions polaires : la fonction acide carboxylique établit une interaction ionique avec le résidu Lys⁶⁷ et est impliquée dans un réseau de liaisons hydrogène avec le Glu⁸⁹ et Asp¹⁸⁶ par le biais d'une molécule d'eau. Par ailleurs, le motif diaminocyclohexyle en position 7 du squelette benzofurane contribue à l'affinité grâce à l'amine primaire terminale qui établit une liaison ionique avec le résidu Asp¹²⁸ ainsi que des ponts hydrogène avec Glu¹⁷¹ et Asn¹⁷² par l'intermédiaire d'une molécule d'eau.

Ce dérivé a également été testé sur Pim-2 sur laquelle il présente une activité nanomolaire ($IC_{50} = 4$ nM).

IV. CONCLUSION

Les kinases Pim ont un rôle important dans l'organisme puisqu'elles sont impliquées dans la régulation du cycle cellulaire et interviennent dans les phénomènes d'apoptose.

Une dérégulation de l'expression des gènes *pim* conduit à un taux anormalement élevé de protéines Pim ce qui peut être à l'origine de la formation de cancers. De plus, une surexpression des kinases Pim est souvent associée à des phénomènes de résistance à certains agents de chimiothérapie. C'est pourquoi ces kinases font l'objet d'une attention particulière depuis quelques années et sont considérées aujourd'hui comme une cible thérapeutique prometteuse.

Cependant, il existe à ce jour trop peu d'inhibiteurs sélectifs des Pim, ce qui fait de ces kinases un domaine de recherche qui reste à explorer.

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à la synthèse de nouveaux inhibiteurs des kinases Pim. En tirant profit de leurs spécificités structurales par rapport aux autres kinases, nous souhaitons développer de nouvelles molécules plus actives et plus sélectives.

Deuxième chapitre

RESULTATS ET DISCUSSION

I. CONCEPTION DE NOUVEAUX INHIBITEURS POTENTIELS DE KINASES PIM

La caractéristique structurale principale des kinases Pim par rapport aux autres kinases est la présence d'un résidu proline au niveau de la région charnière (Pro¹²³ pour Pim-1). Ainsi, contrairement à ce qui est observé pour la majorité des kinases qui établissent deux liaisons hydrogène avec l'adénine de l'ATP, dans le cas des kinases Pim, l'adénine n'est liée au site catalytique que par une unique liaison hydrogène établie entre le NH₂ de l'adénine et l'oxygène d'un carbonyle de liaison peptidique (Glu¹²¹ pour Pim-1) (Figure 41).

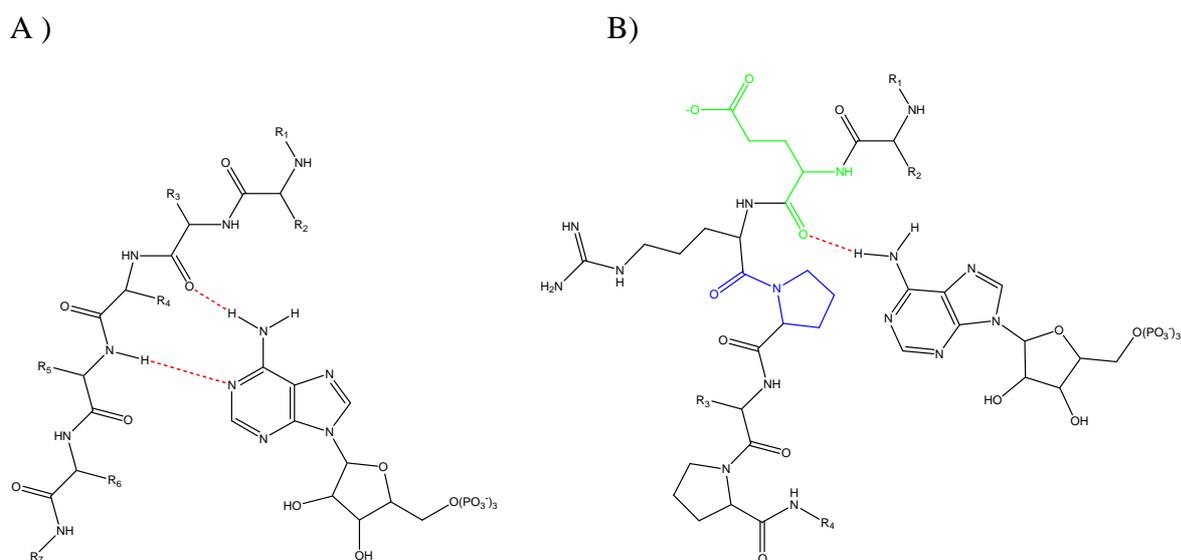


Figure 41 : Représentation schématique des interactions établies entre l'ATP et les kinases. A) Cas général où l'adénine de l'ATP se lie par l'intermédiaire de deux liaisons hydrogène. B) Cas particulier des kinases Pim où une seule liaison hydrogène s'établit.

Cette singularité peut être mise à profit pour la conception de nouveaux inhibiteurs sélectifs des kinases Pim, compétitifs de l'ATP. Les composés préparés posséderont les caractéristiques structurales suivantes :

- Comporter une partie hétéroaromatique plane ayant pour rôle de mimer l'adénine de l'ATP. De plus, cette partie devra établir une liaison hydrogène avec la région charnière.

- Contenir une partie mimant le ribose de l'ATP afin de favoriser l'ancrage de l'inhibiteur potentiel dans le site ATP de la kinase.

- Posséder divers substituants sur le squelette de base de manière à renforcer les interactions avec les kinases visées.

Ceci nous a conduits à la structure générale donnée en Figure 42.

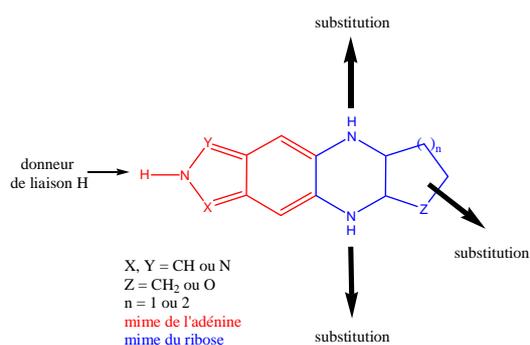


Figure 42 : Structure générale des cibles de synthèse.

Tenant compte de ce squelette de base, nous nous sommes orientés vers deux types de systèmes hétérocycliques aromatiques : les isoindoles (X=Y=CH) et les indazoles (X=CH, Y=N).

La première partie de ce chapitre concerne la préparation de dérivés en série isoindole.

II. SERIE ISOINDOLE

II.1. Généralités

La chimie autour du système isoindolique s'est développée ces dernières années en vue de tirer profit de ses propriétés fluorescentes et électroluminescentes. Cet hétérocycle peut également être intégré dans des édifices à visée antitumorale^{36,37}.

Nous avons donc entrepris plusieurs voies de synthèse en série isoindole afin d'accéder aux molécules cibles décrites précédemment.

Dans un premier temps, afin de mettre au point une voie de synthèse pour parvenir aux structures désirées, nous nous sommes orientés vers la préparation d'un composé comportant un motif cyclohexyle (cycle D) (Figure 43).

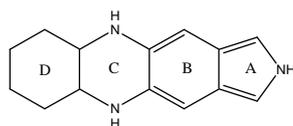


Figure 43 : Première molécule cible en série isoindole.

Pour ce faire, deux stratégies de synthèse ont été envisagées successivement face aux difficultés rencontrées (Figure 44).

- Dans la première voie de synthèse, l'accès à la structure cible reposerait sur l'étape clé d'amination pallado-catalysée de Buchwald-Hartwig à partir du dichlorophthalimide **D**. Ce dernier composé serait obtenu à partir de l'acide dichlorophthalique commercial **A**.

- Une seconde approche viserait à d'introduire les atomes d'azote dès le début de la synthèse : après des étapes de protection/déprotection des amines du composé **G** commercial, et fonctionnalisation des groupements méthyles, nous aboutirions au dérivé tétracyclique désiré.

³⁶ P. Diana, A. Martorana, P. Barraja, A. Montalbano, A. Carbone, G. Cirrincione, *Tetrahedron*, **2001**, 67, 2072-2080.

³⁷ P. Barraja, V. Spanò, P. Diana, A. Carbone, G. Cirrincione, D. Vedaldi, A. Salvador, G. Viola, F. Dall'Acqua, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19, 1711-1714.

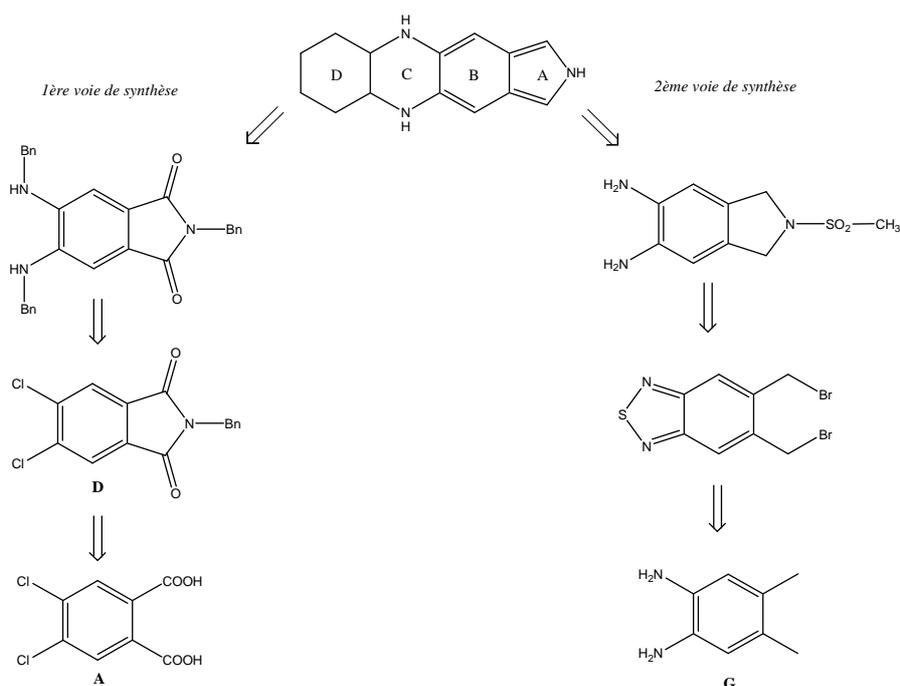


Figure 44 : Schéma rétrosynthétique des deux voies de synthèse envisagées en série isoindole.

II.2. Première voie de synthèse

II.2.a. Passage par un phtalimide

L'étape clé de cette première approche est un couplage pallado-catalysé de Buchwald-Hartwig entre des amines et un phtalimide halogéné. Le composé résultant **1** serait ensuite réduit en isoindole. Dans un dernier temps, le cycle C serait formé après introduction du cycle D (Figure 45).

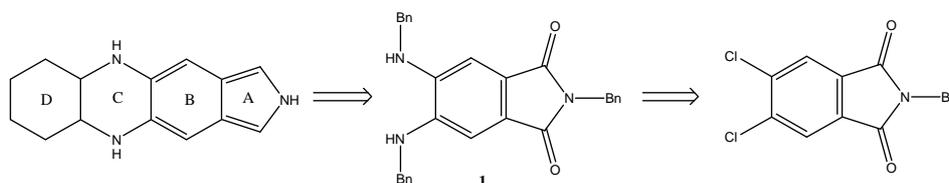


Figure 45 : Voie rétrosynthétique de la première stratégie.

II.2.a.i. Synthèse du phtalimide protégé

L'acide dichlorophthalique étant un produit commercial, nous l'avons choisi comme produit de départ pour cette voie de synthèse.

Tout d'abord, le diester **B** est synthétisé avec un rendement de 99% à partir de l'acide dichlorophthalique **A** en présence de chlorure de thionyle dans le méthanol selon la procédure décrite par Hennessy et *al.*³⁸ (Figure 46). L'étape suivante consiste en la formation du phtalimide benzylé dichloré **D**.

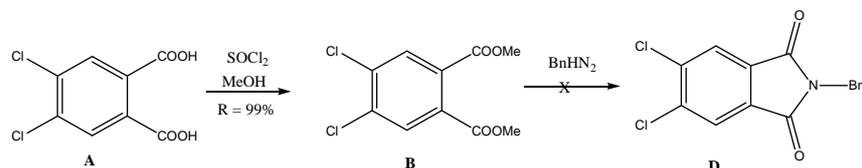


Figure 46 : Essai de synthèse du phtalimide **D** à partir du diester **B**.

Des exemples d'obtention de phtalimides substitués par un groupement benzyle à partir de diesters méthyliques aromatiques vicinaux sont relatés dans la littérature^{39,40}.

Ainsi, pour la synthèse d'indolo-carbazoles, Janosik et *al.*³⁹ forment le motif phtalimide protégé en plaçant le diester méthylique correspondant dans la benzylamine à reflux (Figure 47).

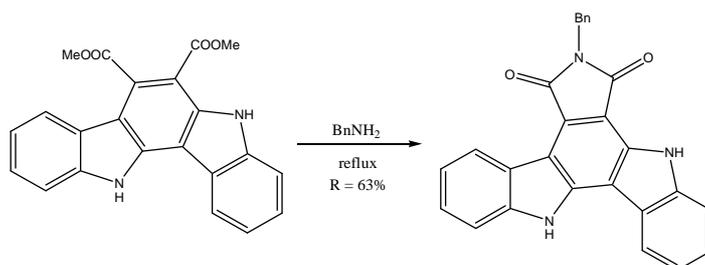


Figure 47 : Exemple de synthèse de phtalimide *N*-benzylé. (D'après Janosik et *al.*³⁹).

Malheureusement, lorsque le composé **B** a été traité dans ces mêmes conditions, aucune réaction n'a été observée (Figure 46).

Nous avons donc envisagé d'accéder au composé **D** via l'anhydride correspondant.

La synthèse d'anhydrides phtaliques peut se faire en traitant un diacide vicinal avec du chlorure de thionyle d'après une procédure décrite par Billinton et *al.*⁴¹ (Figure 48).

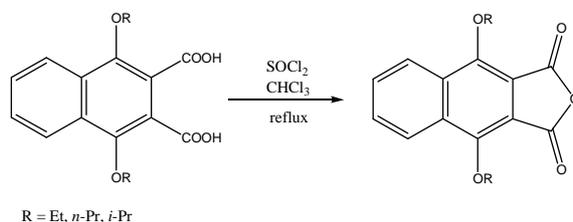


Figure 48 : Accès à des dérivés d'anhydride phtalique à partir de diacides via le chlorure d'acyle correspondant. (D'après Billinton et *al.*⁴¹).

³⁸ E.J.Hennessy, S.L. Buchwald, *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 7371-7375.

³⁹ T. Janosik, J. Bergman, *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 2371-2380.

⁴⁰ N. Haider, R. Jbara, J. Käferböck, U. Traar, *Arkivoc*, **2009**, *6*, 38-47.

⁴¹ A. Billinton, N. Clayton, G. Giblin, M. Healy, Glaxo group limited, WO 2007088190 (A1), **2007**.

Ainsi, en additionnant du chlorure de thionyle à l'acide dichlorophthalique, nous obtenons l'anhydride **C** avec un rendement de 97% (Figure 49).

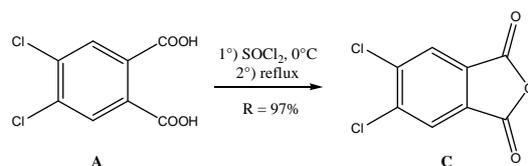


Figure 49 : Synthèse de l'anhydride dichlorophthalique **C**.

Caswell et *al.*⁴² ont préparé une variété de phthalimides *N*-substitués par réaction de l'anhydride **C** avec diverses amines dans l'acide acétique glacial à reflux.

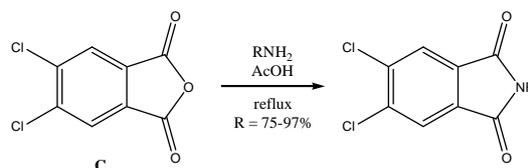


Figure 50 : Exemple de synthèse de phthalimides *N*-substitués. (D'après Caswell et *al.*⁴²).

En appliquant les mêmes conditions réactionnelles, nous obtenons le phthalimide *N*-benzylé **D** avec un rendement de 58% après recristallisation dans l'éthanol. Nous avons cherché à améliorer ce rendement en suivant un autre protocole expérimental.

Ainsi, l'utilisation de toluène en tant que solvant et l'introduction d'un large excès de benzylamine (4 équivalents) conduit après chauffage à reflux au produit désiré **D**⁴³. Après une purification par recristallisation dans l'éthanol, le rendement atteint 82% (Tableau 1).

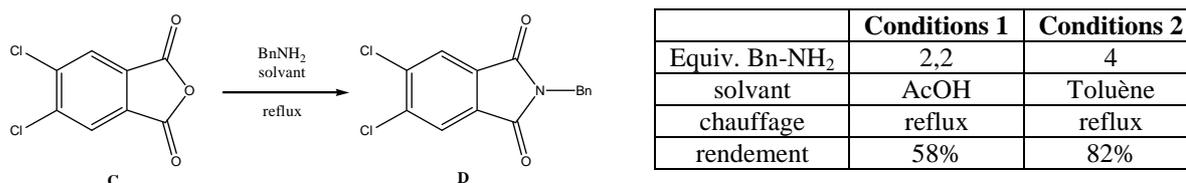


Tableau 1 : Synthèse du phthalimide **D**.

II.2.a.ii. Amination pallado-catalysée de Buchwald-Hartwig

Nous souhaitons introduire les atomes d'azote par substitution des atomes d'halogène à partir du composé **D**. Pour cela, nous avons choisi une amination catalysée au palladium.

⁴² L.R. Caswell, M. Guevara, L.D. Corley, A.V. Martinez, T. Hollis, K. Largess, D.L. Thornley, *Synthesis*, **1992**, 9, 823-825.

⁴³ V. Maslak, Z. Yan, S. Xia, J. Gallucci, C.M. Hadad, J. D. Badjic, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 5887-5894.

L'utilisation de la benzylamine dans cette réaction permet de protéger les amines. Une seule étape serait nécessaire pour cliver les groupements benzyles présents sur les cycles A et C et aboutir à la structure cible (Figure 45, page 47).

La formation pallado-catalysée de liaisons carbone-azote sur des squelettes hétéroaromatiques est un outil extrêmement attractif et efficace en synthèse organique.

Les groupes de Stephen L. Buchwald et John F. Hartwig, pionniers dans ce domaine ont ainsi développé des méthodes de préparation d'anilines à partir d'halogénoaryles et d'amines en utilisant divers ligands et sources de palladium^{44,45,46}.

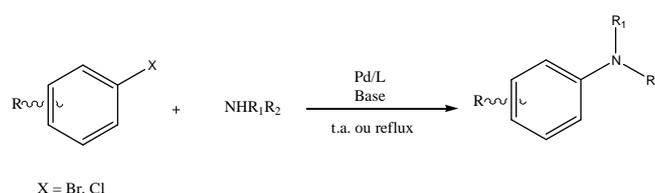


Figure 51 : Création pallado-catalysée de liaison C-N aromatique.

Le mécanisme proposé pour ce couplage est donné en Figure 52.

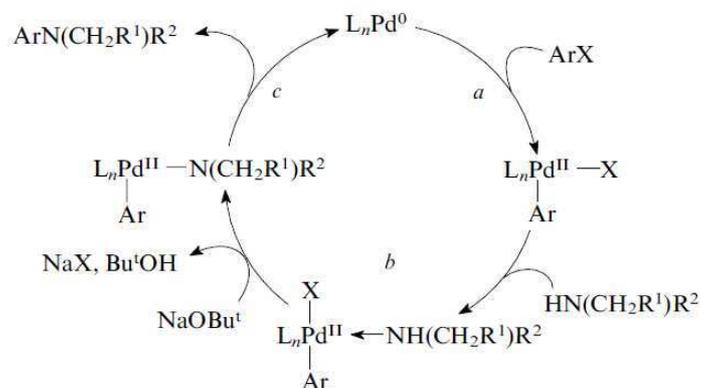


Figure 52 : Mécanisme du couplage pallado-catalysé de Buchwald-Hartwig. (D'après Abaev et *al.*⁴⁶).

Le cycle catalytique démarre par l'addition oxydante de l'halogénure ArX sur le complexe de palladium (0) (étape a). Il s'en suit une étape où l'amine se chélate au métal (étape b). Une base capte le proton de l'amine et soustrait l'halogénure du complexe avant l'élimination réductrice conduisant à l'arylamine (étape c).

⁴⁴ J.P. Wolfe, S. Wagam, J.-F. Marcoux, S.L. Buchwald, *Acc. Chem. Res.*, **1998**, *31*, 805-818.

⁴⁵ J.F. Hartwig, *Pure Appl. Chem.*, **1999**, *71*, 1417-1423.

⁴⁶ V.T. Abaev, O.V. Serduyk, *Russ. Chem. Rev.*, **2008**, *77*, 177-192.

Hennessy et Buchwald décrivent l'amination pallado-catalysée sur des systèmes hétéroaromatiques analogues à nos composés³⁸, seule diffère la nature du groupement protecteur sur l'atome d'azote du phtalimide (Figure 53).

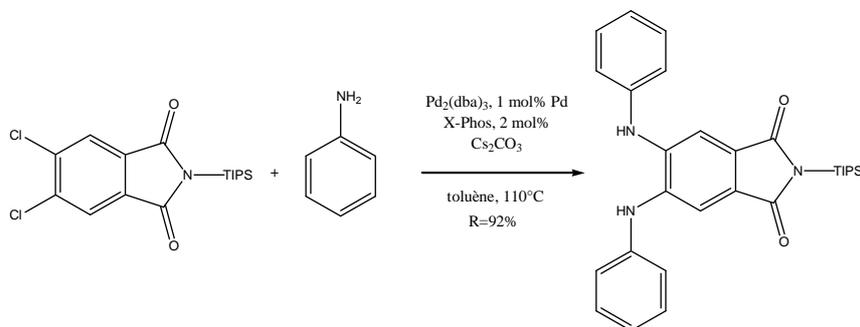


Figure 53 : Exemple d'amination pallado-catalysée réalisée sur un dichloro-phthalimide. (D'après Hennessy et al.³⁸).

En utilisant les mêmes conditions réactionnelles avec la benzylamine (Figure 54), il reste beaucoup de produit de départ **D** malgré un temps de réaction de 24 h. Les produits **1** et **2** sont obtenus avec des rendements respectifs de 2% et 1%. On observe en outre une importante dégradation du milieu réactionnel.

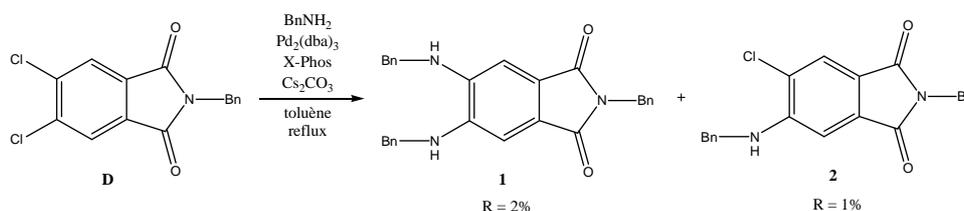


Figure 54 : Préparation des composés **1** et **2**.

Nous avons essayé, sans succès, de réaliser la réaction sous irradiation micro-onde afin de diminuer le temps de réaction et limiter la dégradation du milieu réactionnel.

Suite au très faible rendement obtenu en produit **1**, nous avons décidé de tenter le couplage plus en aval dans la synthèse, c'est-à-dire après formation de l'isoindole à partir du phtalimide **D** (Figure 55).

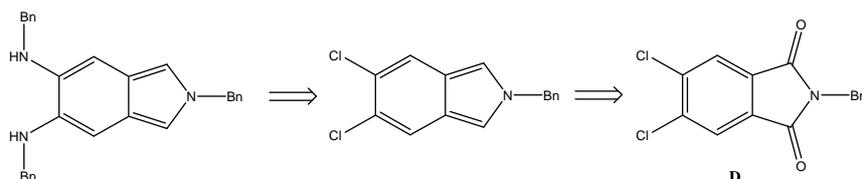


Figure 55 : Schéma rétrosynthétique de la voie alternative envisagée.

³⁸ E.J.Hennessy, S.L. Buchwald, *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 7371-7375.

La littérature montre qu'un phthalimide *N*-benzylé peut être réduit en isoindole correspondant en employant LiAlH_4 en présence de méthanol dans le THF⁴⁷ (Figure 56).

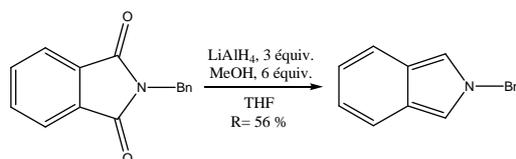
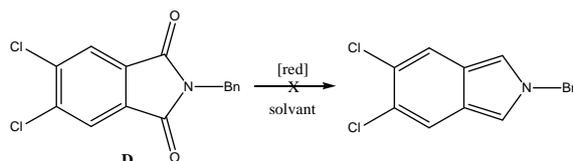


Figure 56 : Réduction de l'anhydride phthalique *N*-benzylé. (D'après Carpino et al.⁴⁷).

Lorsque nous avons appliqué ces conditions réactionnelles au produit **D**, aucun nouveau produit ne s'est formé malgré l'excès d'hydrure introduit. Nous avons également essayé la réaction avec LiAlH_4 en l'absence de méthanol. Dans ces conditions, deux nouveaux produits ont été observés par CCM. Cependant, ils n'ont pas pu être isolés par chromatographie sur colonne de silice.

Deux autres essais de réduction ont été réalisés en présence de DIBAL-H ou de $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$. Malheureusement, dans ces conditions, aucune réaction n'a été observée (Tableau 2).



Réducteur	Solvant	Produit
LiAlH_4 / MeOH (3 équiv.)	THF	Produit de départ
LiAlH_4 (3 équiv.)	THF	Mélange
DIBAL-H (12 équiv.)	CH_2Cl_2	Produit de départ
$\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ (3 équiv.)	THF	Produit de départ

Tableau 2 : Conditions réactionnelles utilisées pour la réduction du phthalimide *N*-benzylé **D**.

Les différents essais menés n'ayant pu aboutir à la préparation de l'isoindole *N*-benzylé, nous avons envisagé une voie de synthèse alternative.

II.2.b. Passage par une isoindoline

Cette nouvelle stratégie passe par un intermédiaire isoindoline **4** qui peut être préparé à partir de l'acide dichlorophthalique **A** suivant une séquence de réduction, bromation et cyclisation (Figure 57).

⁴⁷ L.A. Carpino, R.E. Padykula, D.E. Barr, F.H. Hall, J.G. Krause, R.F. Dufresne, C.J. Thoman, *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 2565-2572.

Il est à noter que le synthon dibromé **3** offre la possibilité de diversifier la nature des groupements protecteurs présents sur l'isoindoline **4**.

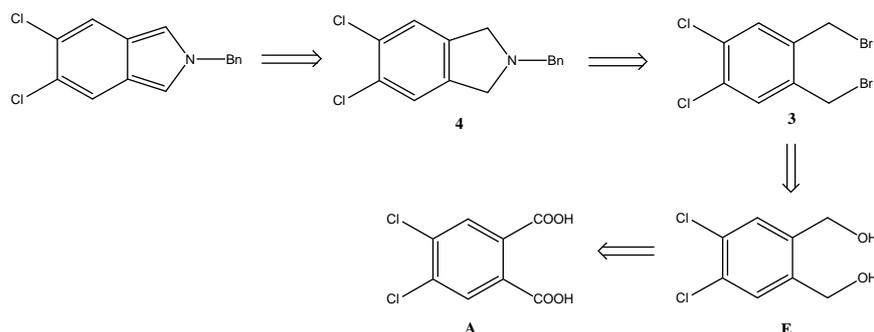


Figure 57 : Schéma rétrosynthétique permettant l'accès à l'isoindole *N*-benzylé en passant par une isoindoline.

II.2.b.i. Préparation du dérivé di-bromé **3**

Dans un premier temps, afin de préparer l'intermédiaire **3**, nous avons appliqué les conditions réactionnelles décrites dans la littérature pour la réduction de l'acide dichlorophtalique. L'emploi du complexe $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ ⁴⁸ conduit au diol **E** avec un rendement de 55% après recristallisation dans un mélange cyclohexane/acétone 90:10 (Figure 58).

L'emploi de HBr dans l'acide acétique comme agent de bromation⁴⁹ permet d'obtenir le synthon clé **3** avec un bon rendement de 92% (Figure 58).

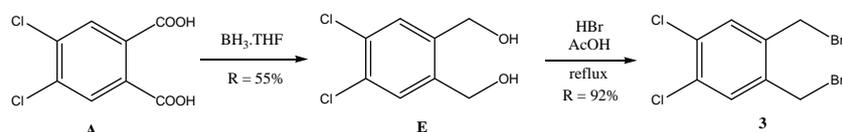


Figure 58 : Synthèse de l'intermédiaire dibromé **3**.

II.2.b.ii. Préparation d'isoindolines protégées

La synthèse d'isoindolines à partir de précurseurs benzéniques dibromométhylés en présence de 2-aminoacétate de méthyle a été rapportée par Hou et *al.*⁵⁰ (Figure 59).

⁴⁸ D.F. Peregichka, M. Bendikov, H. Meng, F. Wudl, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 10190-10191.

⁴⁹ L.A. Levy, *Synth. Comm.*, **1983**, *13*, 639-648.

⁵⁰ D.-R. Hou, M.-S. Wang, M.-W. Chung, Y.-D. Hsieh, H.-H. Gavin Tsai, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 9231-9239.

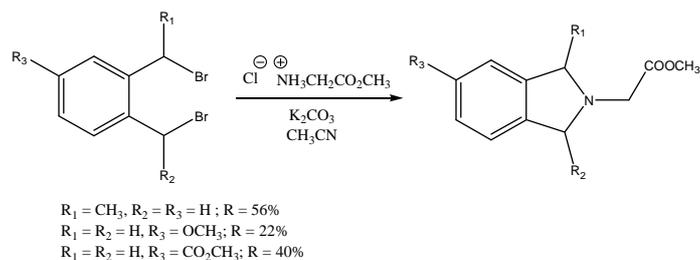


Figure 59 : Exemple de formation d'isoindolines *N*-substituées. (D'après Hou et al.⁵⁰).

En se référant à ce protocole expérimental, une double substitution nucléophile par la benzylamine a été réalisée sur le composé **3** en présence de K_2CO_3 à reflux de l'acétonitrile afin de conduire à l'isoindoline **4** avec un rendement de 73% (Figure 60).

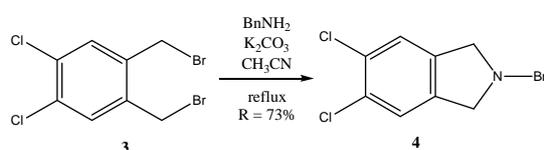


Figure 60 : Synthèse du composé **4**.

II.2.b.iii. Oxydation des isoindolines protégées

Les travaux de Thesing et al.⁵¹ réalisés sur des isoindolines *N*-alkylées ont montré qu'il était possible de synthétiser les isoindoles correspondants via le *N*-oxyde (Figure 61).

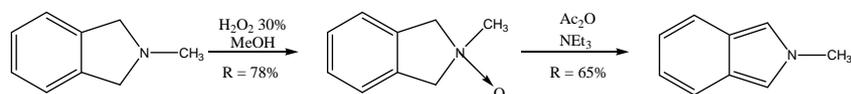


Figure 61 : Exemple de synthèse d'isoindoles *N*-substitués.

Lorsque nous avons appliqué des conditions similaires au dérivé **4**, la réaction n'a conduit qu'à une dégradation lente du produit de départ (Figure 62).

Une alternative consistant à employer du dioxyde de manganèse dans le dichlorométhane a également été décrite pour oxyder des indolines *N*-substituées⁵². Le traitement du composé **4** par du MnO_2 dans le dichlorométhane n'a conduit qu'à une dégradation du milieu réactionnel (Figure 62).

⁵¹ J. Thesing, W. Schäfer, D. Melchior, *Liebigs Ann. Chem.*, **1964**, 119, 119-126.

⁵² P. E. Mahaney, A. T. Vu, C. C. McComas, P. Zhang, L. M. Nogle, W. L. Watts, A. Sarkahian, L. Leventhal, N. R. Sullivan, A. J. Uveges, E. J. Trybulski, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 8455-8466.

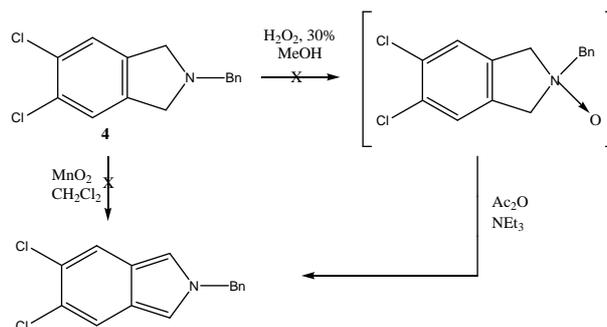


Figure 62 : Tentatives d'obtention de l'isoindole *N*-benzylé.

L'échec de la formation de l'isoindole peut se justifier par l'instabilité du composé **4** à l'air et à la lumière. Par conséquent, une autre méthode de préparation des isoindoles a été envisagée. Kreher et *al.*⁵³ ont montré que la synthèse de *2H*-isoindoles pouvait être réalisée en milieu basique à partir d'isoindolines substituées par un groupement méthanesulfonyle (Figure 63).

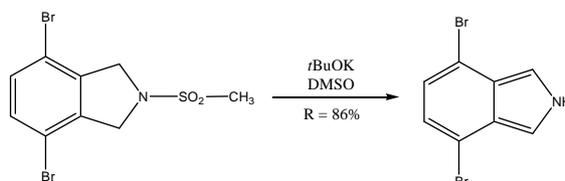


Figure 63 : Exemple de synthèse d'isoindole. (D'après Kreher et *al.*⁵³).

Dans un premier temps, nous avons donc traité le dérivé **3** en présence de méthanesulfonamide dans les mêmes conditions réactionnelles que celles utilisées pour la préparation du composé **4**. Ainsi, le produit **5** a été obtenu avec un bon rendement de 91% et se présente sous forme d'un solide stable à l'air libre (Figure 64).

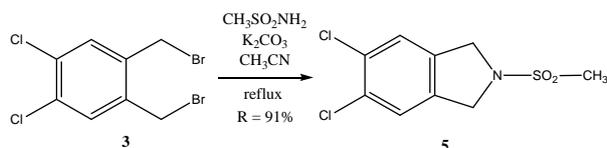


Figure 64 : Protection de l'azote par un sulfonamide.

En présence de *tert*-butanolate de potassium dans le DMSO, le composé **5** conduit à l'isoindole **6** après élimination du méthanesulfonyle et aromatisation du système. Le rendement de la réaction est de 97% (Figure 65).

⁵³ R. Kreher, K. J. Herd, *Angew. Chem. Internat. Edit.*, **1974**, *13*, 739-740.

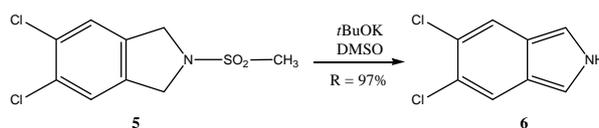


Figure 65 : Synthèse du composé **6**.

La suite de la synthèse consistant en l'amination de Buchwald-Hartwig sur les positions chlorées aurait pu se poursuivre à partir de cet intermédiaire. Mais l'isoindole s'est révélé particulièrement instable, ce qui nous a amené à reprotéger l'hétérocycle avant la réaction de couplage.

Ainsi, la protection de l'isoindole **6** a été réalisée dans les mêmes conditions que celles employées par Simon *et al.* pour la synthèse de *N*-tosylindoles⁵⁴.

Le produit **7** a ainsi été obtenu avec un rendement de 99% (Figure 66).

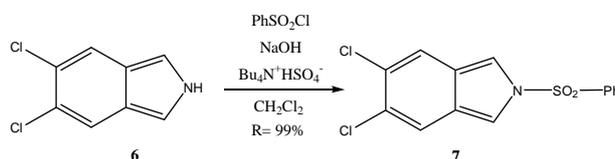


Figure 66 : Synthèse de l'isoindole **7**.

L'isoindole **7** a ensuite été engagé dans une réaction d'amination pallado-catalysée dans les mêmes conditions que pour la préparation des composés **1** et **2** (Figure 54, page 51). Aucun produit formé n'a pu être identifié à l'issue de la réaction : nous n'observons que de la dégradation du produit de départ (Figure 67).

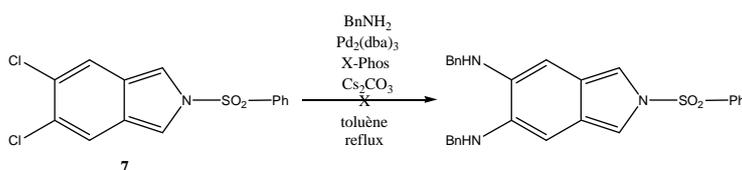


Figure 67 : Essai de couplage de Buchwald-Hartwig sur le dérivé **7**.

Face à ces problèmes de réactivité, nous avons envisagé de réaliser l'amination de Buchwald-Hartwig sur des aryltriflates.

⁵⁴ G. Simon, H. Couthon-Gourves, J.-P. Haelters, B. Corbel, N. Kervarec, F. Michaud, L. Meijer, *J. Heterocyclic Chem.*, **2007**, *44*, 793-797.

II.2.c. Essai à partir d'aryltriflates

Le schéma de rétrosynthèse envisagé nécessite la préparation de l'aryltriflate **8** (Figure 68) sur lequel sera effectuée la réaction d'amination de Buchwald-Hartwig.

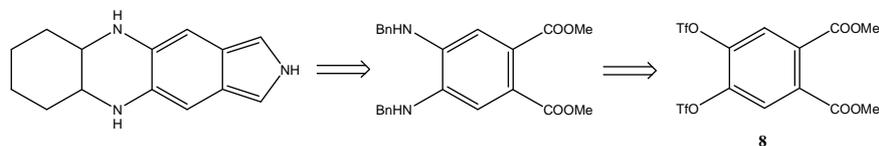


Figure 68 : Nouvelle voie de synthèse impliquant des groupements triflate.

De nombreux exemples de couplages pallado-catalysés de Buchwald-Hartwig entre une amine et des triflates sont rapportés dans la littérature⁵⁵ (Figure 69).

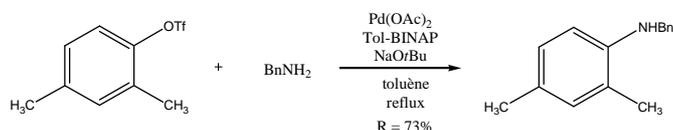


Figure 69 : Exemple d'amination pallado-catalysée d'aryltriflate par de la benzylamine. (D'après Wolfe et al.⁵⁵).

Nous avons donc préparé l'aryltriflate **8** à partir de la butan-2,3-dione après O-silylation, cycloaddition avec de l'acétylène dicarboxylate de méthyle puis déprotection selon des procédures décrites dans la littérature^{56,57} (Figure 70).

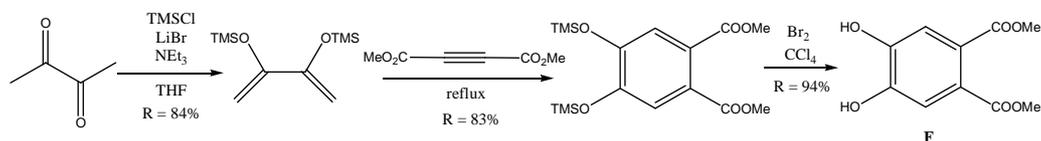


Figure 70 : Voie d'accès au 4,5-bis(hydroxy) acide phtalique diméthyl ester F.

Le diol **F**, obtenu au laboratoire par F. Anizon a été traité avec de l'anhydride triflique pour donner le triflate correspondant **8**⁵⁸ avec un rendement de 40% (Figure 71).

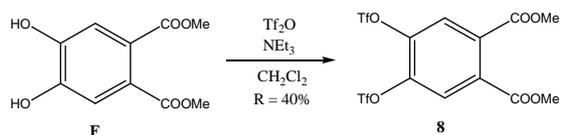


Figure 71 : Synthèse du composé **8**.

⁵⁵ J.P. Wolfe, S.L. Buchwald, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 1264-1267.

⁵⁶ L. Hanson, R. Carlson, *Acta Chem. Scand.*, **1989**, *43*, 304-306.

⁵⁷ A.S. Drager, D.F. O'Brien, *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 2257-2260.

⁵⁸ U. Dreschler, M. Pfaff, M. Hanack, *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, 3441-3453.

Le composé **8** a ensuite été engagé dans une réaction d'amination en présence de benzylamine et du système catalytique décrit par Buchwald précédemment utilisé. Dans notre cas, seule l'hydrolyse du triflate a été observée (Figure 72).

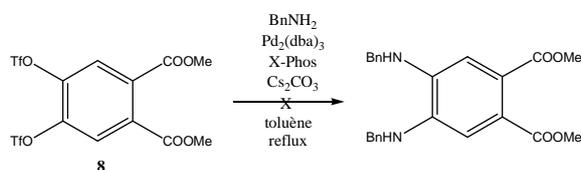


Figure 72 : Tentative d'amination pallado-catalysée sur l'aryltriflate.

II.2.d. Conclusion

Face aux problèmes de réactivité rencontrés lors de l'étape d'amination, nous avons décidé d'introduire les atomes d'azote dès le début de la synthèse dans le but de nous affranchir de l'étape de couplage pallado-catalysée.

II.3. Deuxième voie de synthèse

Afin d'introduire les atomes d'azote dès le début de la synthèse, nous avons choisi comme produit de départ le 1,2-diamino-4,5-diméthylbenzène commercial **G**.

Cette nouvelle voie repose, après bromation des groupements méthyles en position benzylique, sur la construction de la partie isoindoline selon la procédure mise au point précédemment, en ayant au préalable masqué la réactivité des amines sous forme de thiadiazole (Figure 73).

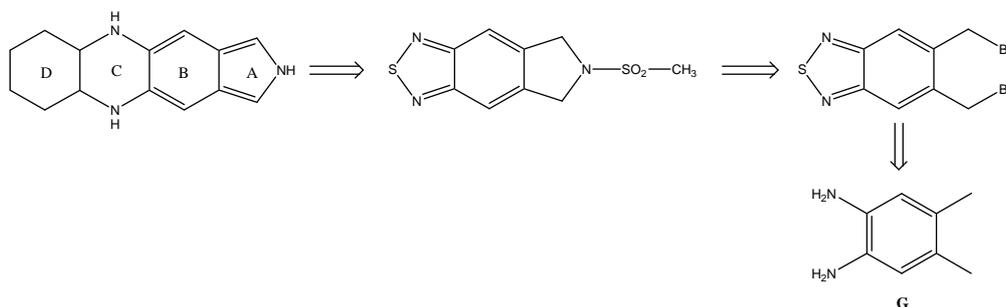


Figure 73 : Schéma rétrosynthétique de la deuxième voie de synthèse.

Burmester et *al.*⁵⁹ ont effectué la protection des amines du 1,2-diamino-4,5-dibromobenzène en présence de chlorure de thionyle et de triéthylamine dans le dichlorométhane avec un rendement de 66% (Figure 74).

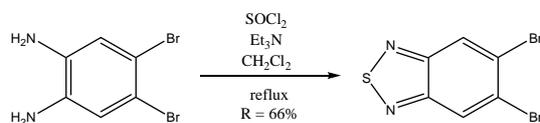


Figure 74 : Protection des amines sous forme de benzothiadiazole. (D'après Burmester et *al.*⁵⁹).

En appliquant les mêmes conditions réactionnelles au produit **G**, nous obtenons le dérivé **9** avec un rendement de 68% (Figure 75).

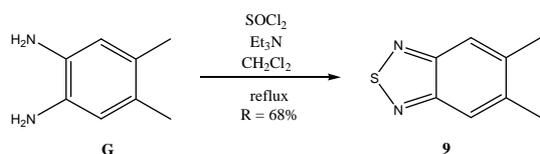


Figure 75 : Synthèse du composé **9**.

Après bromation des groupements méthyles selon un protocole expérimental décrit par Carroll et *al.*⁶⁰ pour l'analogue monométhylé de **9**, nous obtenons le composé **10** avec un rendement de 73% (Figure 76).

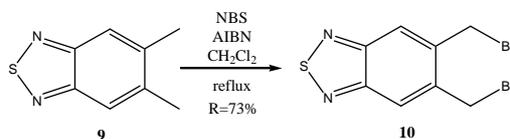


Figure 76 : Synthèse du composé **10**.

Le composé **11** préparé dans les mêmes conditions que celles utilisées pour son analogue dichloré **5** est obtenu avec un rendement de 91% (Figure 77).

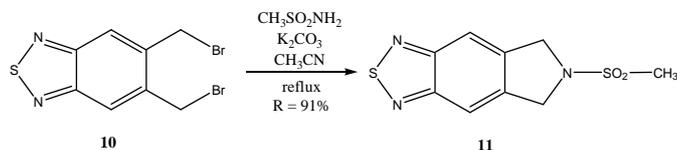


Figure 77 : Synthèse du composé **11**.

⁵⁹ C. Burmester, R. Faust, *Synthesis*, **2008**, 8, 1179-1181.

⁶⁰ W.A. Carroll, R.J. Altenbach, H. Bai, J. D. Brioni, M.E. Brune, S.A. Buckner, C. Cassidy, Y. Chen, M. J. Coghlan, A.V. Daza, I. Drizin, T.A. Fey, M. Fitzgerald, M. Gopalakrishnan, R.J. Gregg, R.F. Henry, M.W. Holladay, L.L. King, M.E. Kort, P.R. Kym, I. Milicic, R. Tang, S.C. Turner, K.L. Whiteaker, L. Yi, H. Zhang, J.P. Sullivan, *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 3163-3179.

Parmi les nombreux systèmes réducteurs décrits dans la littérature pour cliver le cycle benzothiadiazole^{61,62,63}, nous avons choisi d'utiliser NaBH₄ avec une catalyse au chlorure de cobalt comme l'ont décrit DaSilveira Neto et *al.*⁶⁴ sur le 1,2,3-benzothiadiazole (Figure 78).

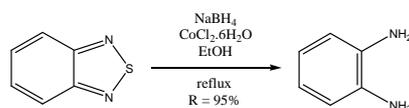


Figure 78 : Exemple de réduction de benzothiadiazoles. (D'après DaSilveira Neto et *al.*⁶⁴).

Ainsi, en employant un protocole expérimental analogue, l'étape de réduction du thiadiazole **11** a été réalisée avec un rendement de 56% dans un mélange THF/EtOH (Figure 79).

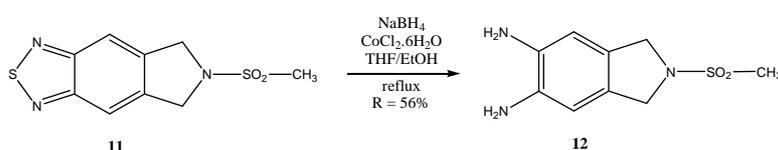


Figure 79 : Synthèse du composé 12.

La dernière étape de condensation du dérivé **12** sur une dione vicinale ou une α -chlorocétone cycliques n'a pas été essayée. En effet, le caractère non reproductible de l'étape de réduction nous a conduits à abandonner cette voie de synthèse.

II.4. Conclusion

Malgré l'attractivité que présentaient ces voies de synthèse, les rendements modestes obtenus ainsi que des problèmes de reproductibilité s'avèrent problématiques. De plus, la faible stabilité des isoindoles ou de certaines isoindolines préparés laisse présager des composés finaux peu accommodants. Ces observations nous ont par conséquent conduits à renoncer aux travaux en série isoindole au profit des indazoles développés en parallèle.

⁶¹ Y. Ito, T. Miyake, S. Hatano, R. Shima, T. Ohara, M. Sugimoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 11880-11893.

⁶² M.D. Rosen, M.D. Hack, B.D. Allison, V.K. Phuong, C.R. Woods, M.F. Morton, C.E. Prendergast, T.D. Barrett, C. Schubert, L. Li, X. Wu, J. Wu, J.M. Freedman, N.P. Shankley, M.H. Rabinowitz, *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *16*, 3917-3925.

⁶³ S. Miao, C.G. Bangcuyo, M.D. Smith, U.H.F. Bunz, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 661-665.

⁶⁴ B.A. DaSilveira Neto, A.S. Lopes, M. Wüst, V.E.U. Costa, G. Ebeling, J. Dupont, *Tet. Lett.*, **2005**, *46*, 6843-6846.

III. SERIE INDAZOLE

III.1. Introduction

Les cibles de synthèse en série indazole sont analogues à celles de la série isoindole. Leur structure générale est donnée en Figure 80.

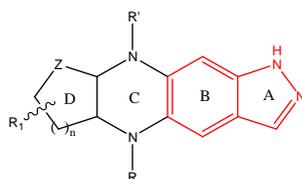


Figure 80 : Cibles de synthèse en série indazole.

Je me suis consacrée dans cette série à la préparation de composés comportant un cycle D carboné à 5 chaînons. Afin de valider les voies de synthèse envisagées, nous nous sommes donné pour objectif la synthèse du composé représenté en Figure 81.

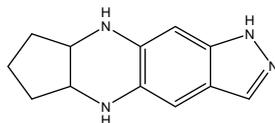


Figure 81 : Première molécule cible en série indazole.

La voie de synthèse mise au point pourra ensuite être utilisée pour préparer des composés substitués sur les deux atomes d'azote du cycle C (Figure 80).

Deux stratégies de synthèse ont été explorées à partir de l'indazole **J**, facilement accessible à partir de la 2-méthyl-4-bromo-aniline **H** commerciale⁶⁵ (Figure 82).

- 1^{ère} voie de synthèse : après réduction du groupement nitro du composé **J**, l'ouverture d'une aziridine *N*-substituée suivie d'une cyclisation conduirait, via la création d'une liaison C-N, à la formation du cycle C.

- 2^{ème} voie de synthèse : une amination pallado-catalysée sur la position bromée en C5 de l'indazole **J** pourrait aboutir, après réduction du groupement nitro et condensation avec une dicétone vicinale ou une α -chlorocétone cycliques, à la formation des cycles C et D. Une dernière étape de réduction permettrait l'accès à la molécule cible.

⁶⁵ G.-D. Zhu, J. Gong, V. B. Gandhi, K. Woods, Y. Luo, X. Liu, R. Guan, V. Klinghofer, E. F. Johnson, V. S. Stoll, M. Mamo, Q. Li, S. H. Rosenberg, V. L. Giranda, *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 2441-2452.

On peut remarquer que les positions 5 et 6 du composé **J** ne sont pas équivalentes. Ainsi, le squelette indazole pourra être fonctionnalisé régiosélectivement.

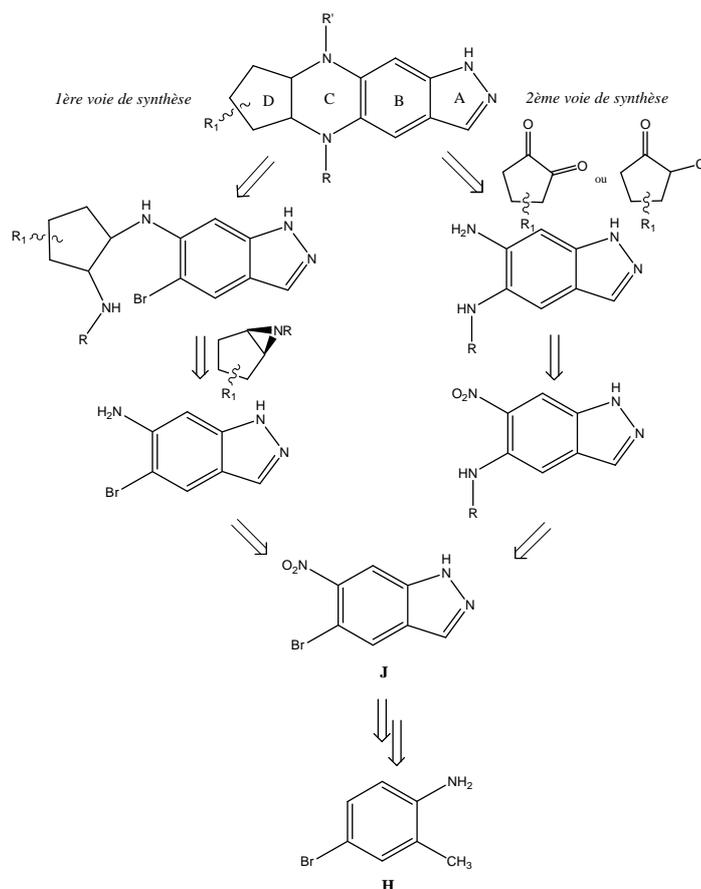


Figure 82 : Schéma rétrosynthétique des deux voies de synthèse envisagées en série isoindole.

III.2. Préparation de l'indazole **J**

Le 5-bromo-6-nitroindazole **J** a été synthétisé aisément en deux étapes en appliquant un protocole décrit dans la littérature⁶⁵. L'aniline **H** commerciale a tout d'abord été nitrée en présence de KNO_3 et H_2SO_4 . Dans un deuxième temps, l'indazole **J** a été obtenu par réaction de NaNO_2 sur le composé **I** dans l'acide acétique. Le rendement sur deux étapes est de 59% (Figure 83).

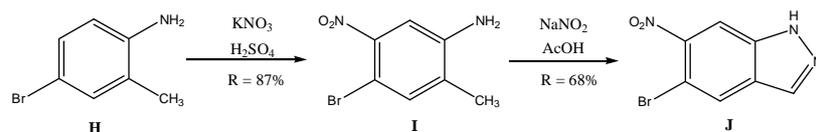


Figure 83 : Synthèse du 5-bromo-6-nitroindazole **J**.

Les premiers essais de réduction et de fonctionnalisation en position 5 du composé **J** ont été réalisés par L. Gavara, post-doctorant au laboratoire (Figure 84).

Une réduction du groupement nitro en amine catalysée au palladium sur charbon à 10% en présence de formiate d'ammonium dans le méthanol à reflux a conduit au dérivé **K** avec un rendement de 94%. Cependant, ce composé s'est avéré instable, ne permettant pas de modification ultérieure.

Des aminations catalysées au cuivre ou au palladium ont également été tentées sur le composé **J**, sans succès.

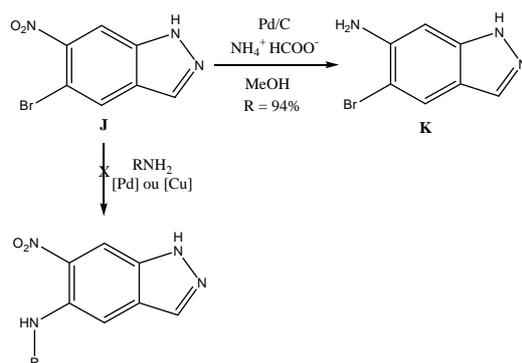


Figure 84 : Essais de réduction et d'amination à partir du composé **J**.

Nous avons supposé que la présence du groupement 1,2-diazole non protégé pouvait être à l'origine de l'instabilité du composé **K** et de l'échec des réactions de couplage.

Nous avons donc envisagé la protection du NH de l'indazole **J**.

III.3. Protection de l'atome d'azote en position 1 du cycle indazole

Divers groupements protecteurs (Boc, acétyle et PMB) ont été introduits par L. Gavara sur le composé **J**. Aucun des dérivés *N*-Boc et *N*-PMB n'ont été synthétisés avec une bonne régiosélectivité N1/N2. Bien que la protection de l'atome d'azote en position 1 du motif indazole de **J** par un groupement acétyle ait été sélective, le composé s'est avéré instable.

Slade et *al.*⁶⁶ ont publié récemment un article décrivant la protection sélective de l'atome d'azote en position 1 du cycle indazole par un groupement THP en présence d'APTS et de DHP (Figure 85).

⁶⁶ D.J. Slade, N.F. Pelz, W. Bodnar, J.W. Lampe, P.S. Watson, *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 6331-6334.

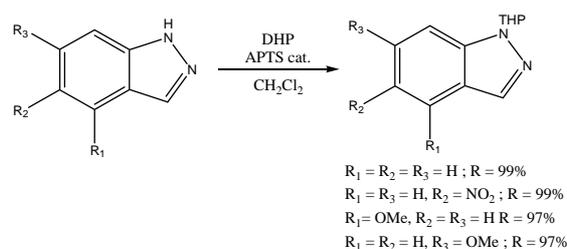


Figure 85 : Protection régiosélective de dérivés d'indazole par un groupement THP. (D'après Slade et *al.*⁶⁶).

En se plaçant dans les mêmes conditions réactionnelles, nous obtenons le dérivé **13** protégé de façon régiosélective avec un bon rendement de 78%.

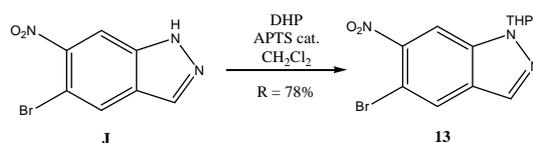


Figure 86 : Protection du dérivé J par un groupement THP.

Partant de ce synthon clé, nous avons envisagé la suite de la synthèse selon les deux voies présentées en Figure 82, page 62.

III.4. Première voie de synthèse

La formation du cycle C repose sur l'étape clé d'ouverture d'une aziridine par l'amine primaire en position 6 de l'indazole et sur la réaction de couplage intramoléculaire entre la position C5 de l'indazole substituée par un atome de brome et l'amine issue de l'ouverture de l'aziridine (Figure 87).

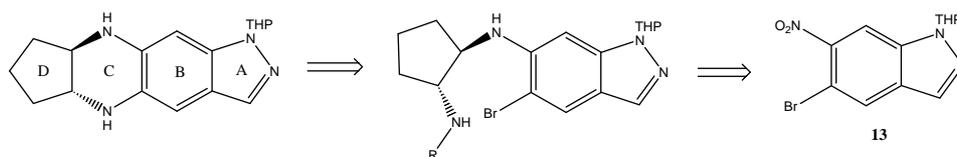


Figure 87 : Analyse rétrosynthétique de la première voie d'accès aux composés finaux.

Dans un premier temps, la réduction du groupement NO₂ du composé **13** a été effectuée avec du dithionite de sodium dans l'éthanol selon la procédure décrite dans la littérature sur des composés nitro-aromatiques⁶⁷.

Nous obtenons par cette méthode un rendement de 35% en composé **14** (Figure 88).

⁶⁷ A. Er-Rhaimini, R. Mornet, *Synthesis*, **1988**, 2, 154-155.

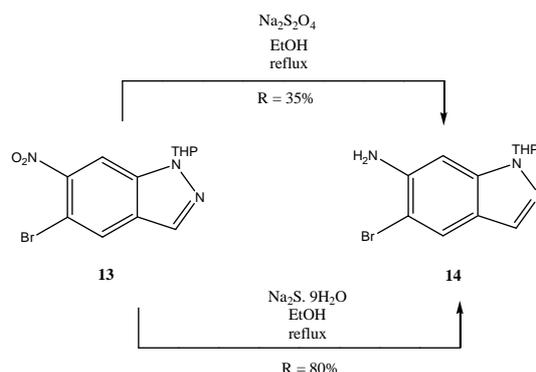


Figure 88 : Réduction du composé 14.

L'utilisation du sulfure de sodium comme autre réducteur⁶⁸ a permis d'améliorer le rendement qui atteint 80% (Figure 88).

L'étape suivante a consisté en un couplage du composé **14** avec des aziridines.

Ces hétérocycles azotés sont couramment employés comme précurseurs de composés diaminés. En effet, leur caractère électrophile permet leur ouverture par divers nucléophiles, dont des amines.

Nous avons choisi d'utiliser une aziridine *N*-benzylée, ce groupement pouvant être facilement éliminé en fin de synthèse par hydrogénolyse.

Ainsi, nous nous sommes intéressés aux travaux de Sekar *et al.* concernant l'ouverture d'une aziridine *N*-benzylée par de l'aniline catalysée par du triflate d'étain⁶⁹ (Figure 89).

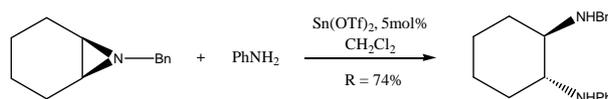


Figure 89 : Exemple d'ouverture d'aziridine catalysée au triflate d'étain. (D'après Sekar *et al.*⁶⁹).

L'aziridine *N*-benzylée **M** a été préparée en deux étapes à partir de l'époxyde **L** avec un rendement global de 47%, selon des protocoles expérimentaux de la littérature⁷⁰ (Figure 90).

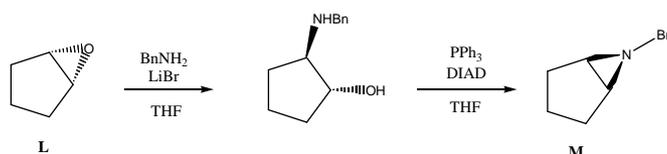


Figure 90 : Synthèse de l'aziridine *N*-benzylée **M.**

⁶⁸ F. Grillet, B. Baumlová, G. Prévost, J.F. Constant, S. Chaumeron, D. C. H. Bigg, A. E. Greene, A. Kanazawa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 2143-2146.

⁶⁹ G. Sekar, V.K. Singh, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 2537-2539.

⁷⁰ A. B. Pulipaka, S. C. Bergmeir, *Synthesis*, **2008**, *9*, 1420-1430.

La mise en réaction de l'aziridine **M** avec l'indazole **14** en utilisant les conditions de Sekar et *al.* n'a conduit qu'à une conversion partielle du produit de départ, malgré un ajout supplémentaire de triflate d'étain (charge catalytique finale de 15 mol%) et un chauffage à reflux durant 72 h. Cependant nous avons observé par CCM la formation d'un nouveau produit très polaire. Après chromatographie sur colonne de silice, l'étude du spectre RMN ^1H a révélé la présence du produit attendu sous forme de deux diastéréoisomères **15** dans le rapport 6:4, isolés avec un rendement de 16% (Figure 91).

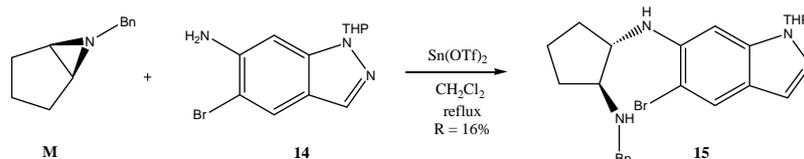
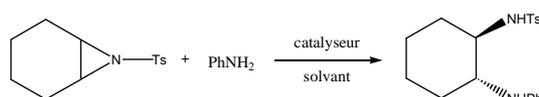


Figure 91 : Ouverture d'aziridine par le dérivé **14** catalysée au triflate d'étain.

Une chélation du catalyseur par le N2 de l'indazole ou l'oxygène du THP pourrait expliquer le faible avancement de la réaction malgré la charge catalytique importante introduite.

Face à ce problème, nous avons opté pour la synthèse d'une aziridine plus réactive en remplaçant le groupement benzyle par un arylsulfonamide.

En effet, diverses conditions réactionnelles sont décrites dans la littérature pour l'ouverture d'aziridines *N*-tosylées par des amines aromatiques. Quelques exemples sont donnés dans le Tableau 3.



Catalyseur	Solvant	Température	Rendement	Ref.
LiClO ₄ (10 mol%)	CH ₃ CN	ambiante	90%	⁷¹
/	DMSO	60°C	85%	⁷²
β-cyclodextrine (25 mol%)	H ₂ O/acétone	ambiante	89%	⁷³

Tableau 3 : Conditions réactionnelles décrites dans la littérature pour l'ouverture d'aziridines *N*-tosylées par l'aniline.

Comme pour son analogue benzylé **M**, la synthèse de l'aziridine tosylée **N** se fait en deux étapes à partir de l'époxyde **L**. Nous l'avons obtenue avec un rendement de 66% sur deux étapes en utilisant les conditions décrites par Huang et *al.*⁷⁴ (Figure 92).

⁷¹ X. E. Hu, *Tetradron*, **2004**, *60*, 2701-2743.

⁷² J. Wu, X. Sun, W. Sun, *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 4231-4235.

⁷³ M. A. Reddy, L. R. Reddy, N. Bhanumathi, K.R. Rao, *Chem. Lett.*, **2001**, 246-247.

⁷⁴ J. Huang, P. O'Brien, *Tet. Lett.*, **2005**, *46*, 3253-3256

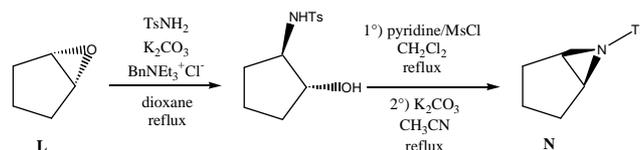
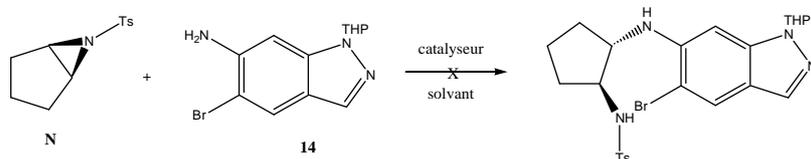


Figure 92 : Synthèse de l'aziridine *N*-tosylée **N**.

La réaction d'ouverture de l'aziridine *N*-tosylée **N** par l'indazole **14** a été testée selon les trois conditions opératoires présentées dans le Tableau 3.

La réaction en l'absence de catalyseur dans le DMSO a conduit à la récupération du produit de départ **14**. De même, ni la catalyse au perchlorate de lithium, malgré une charge totale en catalyseur de 1 équivalent, ni l'utilisation de β -cyclodextrine (25 mol%) n'ont conduit à l'ouverture de l'aziridine **N** (Tableau 4).



catalyseur	Solvant	Température	Produit
LiClO ₄	CH ₃ CN	t.a. → 80°C	Produit de départ
/	DMSO	60°C	Produit de départ
β -cyclodextrine	H ₂ O/acétone	ambiante	Produit de départ

Tableau 4 : Essais d'ouverture de l'aziridine *N*-tosylée par le dérivé **14**.

Nous avons attribué l'échec de ces essais à la faible nucléophilie de l'amine de l'indazole **14**. Finalement, nous avons envisagé une dernière alternative présentée en Figure 93. Une amination pallado-catalysée serait tout d'abord réalisée entre l'indazole **16** et l'aziridine **O**. Dans un second temps, l'ouverture de l'aziridine ainsi obtenue par la benzylamine permettrait l'introduction du cycle D sur le squelette indazole. Par ailleurs cette méthode présente l'avantage de pouvoir diversifier la nature du substituant R de l'amine introduit à cette étape (Figure 93).

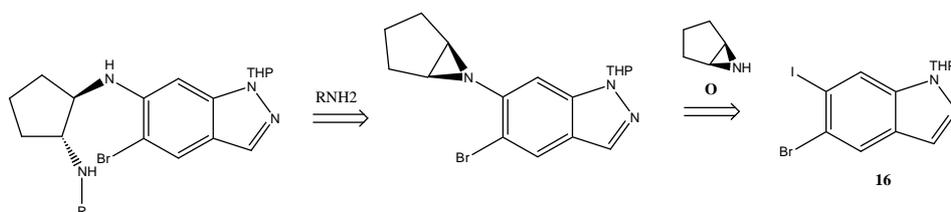


Figure 93 : Schéma rétrosynthétique de la voie de synthèse impliquant un indazole dihalogéné.

Sasaki et *al.*⁷⁵ rapportent des exemples de *N*-arylation d'aziridines catalysées au palladium (Figure 94).

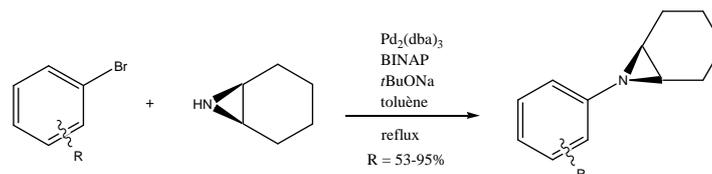


Figure 94 : Exemple d'amination catalysée au palladium de bromobenzènes par une aziridine. (D'après Sasaki et *al.*⁷⁵).

A partir du composé **16**, la régiosélectivité de la réaction repose sur la plus grande réactivité de la liaison C-I par rapport à la liaison C-Br vis-à-vis de l'addition oxydante.

Afin d'obtenir l'indazole **16**, nous nous sommes basés sur une méthode générale d'iodation impliquant une diazotation à partir d'anilines aromatiques⁷⁶ (Figure 95).

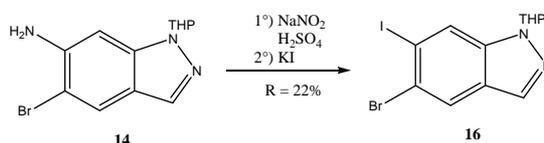


Figure 95 : Synthèse du dérivé iodé **16.**

Le sel de diazonium a été préparé en traitant le dérivé **14** avec NaNO₂ dans l'acide sulfurique. Cette étape a été suivie d'une substitution par l'iode conduisant au produit attendu **16** avec un rendement de 22% sur les deux étapes.

En raison du faible rendement en composé **16**, nous avons abandonné cette voie de synthèse.

Par conséquent, nous avons poursuivi nos recherches en appliquant la seconde voie de synthèse exposée en Figure 82, page 62.

III.5. Deuxième voie de synthèse

Les structures cibles pourraient être synthétisées par condensation d'une α -chlorocétone cyclique ou d'une dione vicinale cyclique sur le composé **18** suivie d'une étape de réduction. L'indazole **18** serait obtenu par amination de Buchwald-Hartwig puis réduction du groupement nitro à partir du bromo-nitroindazole protégé **13**.

⁷⁵ M. Sasaki, S. Dalili, A. K. Yudin, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 2045-2047.

⁷⁶ S.E. Tunney, J.K. Stille, *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 748-753.

Une amination pallado-catalysée du composé **13** permettrait la fonctionnalisation de l'indazole en position 5 et l'introduction d'une variété de groupements R en fonction des amines choisies (Figure 96).

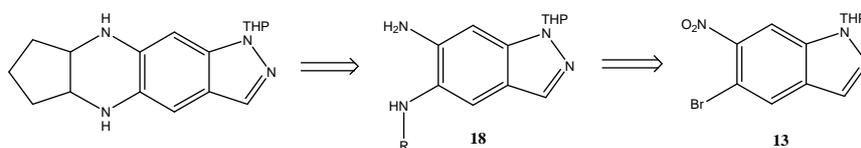


Figure 96 : Analyse rétrosynthétique de la seconde voie d'accès aux composés finaux.

Dans un premier temps, nous avons choisi d'utiliser la benzylamine pour le couplage de Buchwald-Hartwig car le groupement benzyle pourra être clivé facilement dans la dernière étape.

Nous nous sommes inspirés d'un exemple de la littérature où l'amination a été réalisée entre le 1-bromo-2,4-dinitrobenzène et la benzylamine en présence de Pd(OAc)₂, de BINAP et de Cs₂CO₃⁷⁷ (Figure 97).

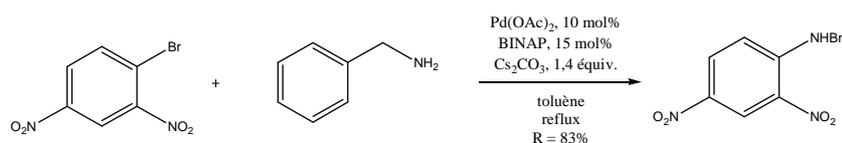


Figure 97 : Exemple d'amination de Buchwald-Hartwig sur un nitrobenzène. (D'après Hubbard et al.⁷⁷).

En appliquant ces conditions réactionnelles au composé **13**, nous avons obtenu l'indazole **17** avec un rendement de 27% (Figure 98).

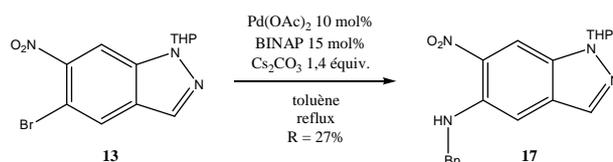
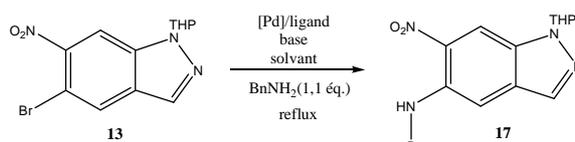


Figure 98 : Synthèse du composé **17**.

Une brève étude méthodologique employant des systèmes catalytiques fréquemment décrits dans la littérature a été entreprise afin d'améliorer ce rendement (Tableau 5).

Nous avons ainsi utilisé plusieurs sources de palladium (Pd⁰ ou Pd^{II}) ainsi que des ligands mono- (X-Phos) ou bi-dentés (BINAP), dans le toluène ou le THF. La base employée est organique (*t*BuONa) ou minérale (Cs₂CO₃).

⁷⁷ J.W. Hubbard, A.M. Piegols, B.C.G. Söderberg, *Tetrahedron*, **2007**, 63, 7077-7085.



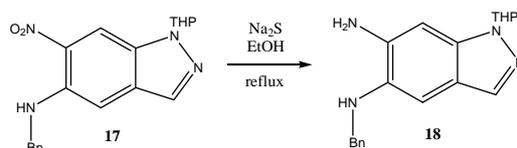
	Catalyseur	Ligand	Base	Solvant	Rendement
A	Pd(OAc) ₂ (10 mol%)	BINAP (15 mol%)	Cs ₂ CO ₃ (1,4 équiv.)	toluène	27%
B	Pd ₂ (dba) ₃ (5 mol%)	BINAP (12 mol%)	<i>t</i> BuONa (3 équiv.)	THF	68%
C	Pd ₂ (dba) ₃ (5 mol%)	BINAP (10 mol%)	Cs ₂ CO ₃ (3 équiv.)	toluène	68%
D	Pd ₂ (dba) ₃ (5 mol%)	X-Phos (10 mol%)	Cs ₂ CO ₃ (3 équiv.)	toluène	/

Tableau 5 : Conditions réactionnelles utilisées pour le couplage de Buchwald-Hartwig sur **13**.

Les meilleurs rendements ont été obtenus avec le système Pd₂(dba)₃/BINAP, en utilisant comme base *t*BuONa dans le THF ou Cs₂CO₃ dans le toluène (68%).

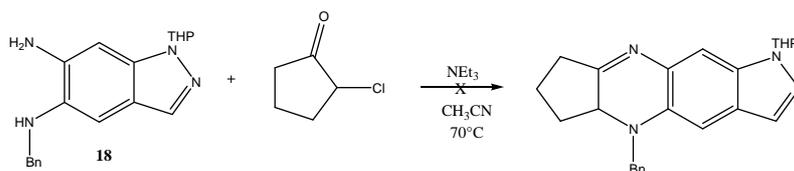
On note que le rendement chute lorsque l'on emploie une source de palladium (II) à la place de palladium (0) (expérience A). De même, la nature du ligand semble primordiale : aucun nouveau produit ne se forme avec le ligand mono-denté X-Phos.

Le groupement nitro du composé **17** a ensuite été réduit en se plaçant dans les mêmes conditions opératoires que pour la réduction du dérivé **13**. Après chromatographie, le spectre RMN ¹H du produit obtenu indique la présence d'un mélange de produits malgré une seule tache en CCM. Cependant, le spectre RMN ¹H laisse apparaître des signaux qui pourraient correspondre au dérivé réduit **18** (Figure 99).

Figure 99 : Réduction du composé **17** par Na₂S.

Nous avons malgré tout envisagé l'accès aux molécules finales par une réaction de condensation avec une α -chlorocétone à partir du mélange précédent.

Ainsi, la réaction menée dans l'acétonitrile en présence de 2-chlorocyclopentanone dans l'acétonitrile n'a conduit qu'à une dégradation partielle du produit de départ après un chauffage prolongé de 24 h (Figure 100).

Figure 100 : Tentative de condensation de la chloro-cyclopentanone sur le composé **18**.

Face à cette impasse, une autre voie a été envisagée : la nouvelle stratégie permettrait d'accéder aux molécules cibles à partir d'un intermédiaire diamino-indazole.

III.6. Autre voie de synthèse

Cette voie alternative permet d'accéder aux composés finaux à partir de l'intermédiaire **20** préparé à partir du 6-nitroindazole commercial **P** (Figure 101).

Ainsi, la condensation de diones vicinales ou d' α -chlorocétones cycliques sur le diamino-indazole **20** suivie d'une étape de réduction aboutirait aux composés tétracycliques désirés.

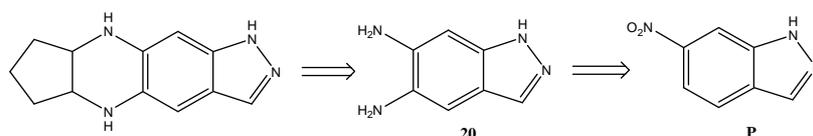


Figure 101 : Analyse rétrosynthétique de la voie d'accès aux composés non *N*-substitués.

La préparation du diamino-indazole **20** a été décrite pour la première fois par Fries et *al.*⁷⁸ par nitration du 6-nitroindazole **P** dans un mélange H_2SO_4/HNO_3 suivie d'une réduction au $ZnCl_2$ en présence de HCl . Nous avons appliqué d'autres conditions qui nous ont permis d'améliorer le rendement en composé **20**. Ainsi, le 6-nitroindazole a été nitré en utilisant H_2SO_4/KNO_3 selon une procédure analogue à celle utilisée dans le cas de la 4-bromo-2-méthylaniline présentée page 62. L'intermédiaire di-nitré **19** a été obtenu avec un rendement de 84% puis a été réduit par du formiate d'ammonium en présence de palladium sur charbon. On obtient ainsi le dérivé clé **20** avec un rendement de 86% (Figure 102).

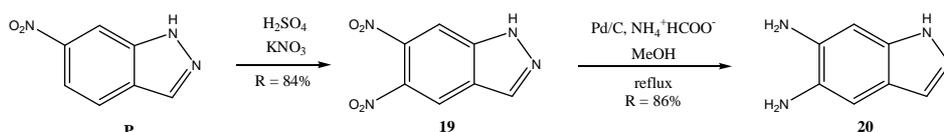
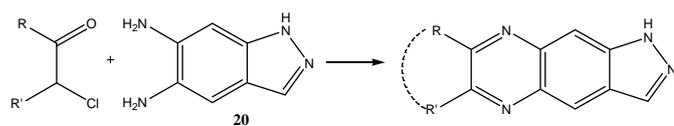


Figure 102 : Synthèse du composé **20**.

La diamine **20** a été engagée dans des réactions de condensation avec des 1,2-dicétones ou des α -chlorocétones pour donner des dérivés de quinoxaline avec des rendements modestes allant de 22 à 50% (Tableau 6).

⁷⁸ K. Fries, K. Fabel, H. Eckhardt, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1942**, 550, 31-49.



1,2-dicéto ^{ne} ou α -chlorocéto ^{ne}	Conditions	Produit	Rendement
 Q	A	 R	50%
 S	A	 Ta	35%
		 Tb	50%
 U	A	 V	32%
 W	B	 21	22%
 X	C	 22	33%
 Y	C	 23a	32%
		 23b	
 Z	C	 24a	30%
		 24b	

 Tableau 6 : Obtention de dérivés de pyrazolo[3,4-g]quinoxalines. A : APTS, CH₃CN ; B : NEt₃, THF ; C : AcOH.

Le premier dérivé de cette série a été synthétisé par L. Gavara par condensation de la hexan-3,4-dione **Q** sur le diamino-indazole **20** dans l'acétonitrile, en présence catalytique d'APTS. Le composé **R** a ainsi été obtenu avec un rendement de 50%.

Par la suite, ces mêmes conditions ont été utilisées pour la préparation des dérivés cycliques à 6 chaînons à partir de diones ou d' α -chlorocétones. Ainsi, les dérivés de la camphorquinone ou de la 2-chlorocyclohexanone **Ta/b** et **V** ont été obtenus par L. Gavara avec des rendements allant de 32 à 50%.

J'ai pour ma part, complété la série de pyrazoloquinoxalines en synthétisant des analogues cycliques à cinq chaînons.

Lorsque les conditions de préparation de **V** ont été appliquées à la 2-chlorocyclopentanone **W**, le produit désiré n'a pas été obtenu (dégradation du milieu réactionnel). Nous avons finalement réalisé la réaction dans le THF en présence de triéthylamine, ce qui a conduit au dérivé **21** avec un rendement de 22%.

Nous avons également effectué les réactions de condensation de diverses 1,2-dicétones à cinq chaînons commerciales (**Y**, **Z**) ou préparée au laboratoire (**X**) sur l'indazole **20**. En nous référant aux protocoles expérimentaux de la littérature^{79,80}, nous avons synthétisé la dione **X** selon une séquence d'acétalisation, aldolisation, déprotection et cyclisation avec un rendement global de 11 % sur 4 étapes (Figure 103).

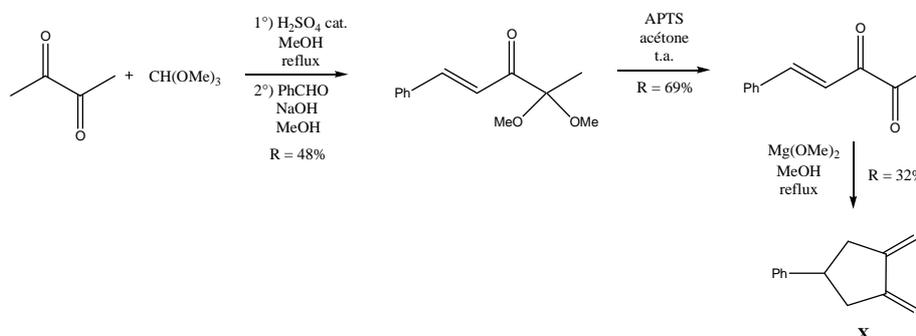


Figure 103 : synthèse de la 4-phénylcyclopentane-1,2-dione **X**.

Les réactions de condensation des dicétones **X**, **Y** et **Z** avec l'indazole **20** réalisées dans les mêmes conditions que pour la synthèse des composés **R** et **T** (APTS, acétonitrile) n'ont aboutit qu'à l'obtention de produits de dégradation. En revanche, en s'appuyant sur un

⁷⁹ A. Salgado, Y. Dejaegher, G. Verniest, M. Boeykens, C. Gauthier, C. Lopin, K.A. Tehrani, N. De Kimpe, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 297-315.

⁸⁰ H. Muxfeldt, M. Weigele, V. Van Rheezen, *J. Org. Chem.*, **1965**, 30, 3573-3574.

protocole décrit dans la littérature⁸¹, les dérivés de quinoxalines **22**, **23** et **24** ont pu être préparés en se plaçant à reflux dans l'acide acétique avec des rendements allant de 30 à 33%.

Il faut noter que le choix de diones non symétriques a conduit à l'obtention de régioisomères qui n'ont pas tous pu être séparés.

En effet, les régioisomères **23a** et **23b** issus de la monométhylcyclopentanedione **Y** n'ont pu être séparés par chromatographie sur colonne de silice contrairement aux régioisomères **Ta** et **Tb**. Les régioisomères **24a** et **24b** obtenus par condensation de la diméthylcyclopentanedione **Z** sur l'indazole **20** n'ont été que partiellement séparés par chromatographie.

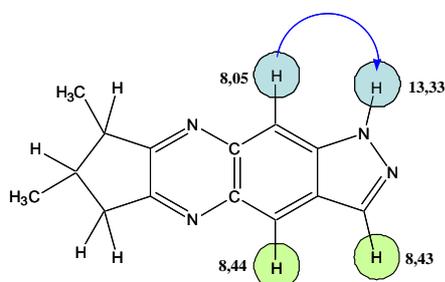
Des expériences de RMN 1D (¹H, ¹³C) et 2D (HSQC ¹H-¹³C, HMBC ¹H-¹³C, HMBC ¹H-¹⁵N et NOESY) ont été effectuées afin d'attribuer les différents signaux de RMN ¹H aux composés **24a/b** (Figure 104).

Une étude NOESY ¹H-¹H sur le dérivé **24a** a permis d'observer une corrélation entre les hydrogènes à 8,05 et 13,33 ppm (Figure 104A).

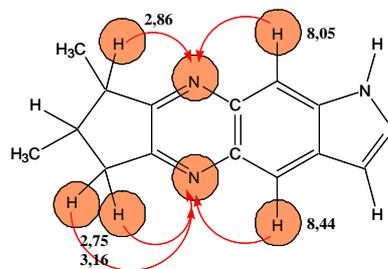
Avec l'aide des expériences de HSQC et HMBC ¹H-¹⁵N tous les hydrogènes du motif indazole ont pu être attribués. En effet, les résultats d'une expérience de HMBC ¹H-¹⁵N réalisée sur le régioisomère **24a** a permis d'observer des corrélations entre les protons aromatiques à 8,05 et 8,44 ppm et les deux azotes de la quinoxaline. Ces deux atomes d'azote étant également couplés aux protons aliphatiques à 2,86 ; 2,75 et 3,16 ppm, le régioisomère **24a** a ainsi pu être clairement identifié (Figure 104B).

En outre, la visualisation de couplages longue distance entre les hydrogènes à 2,86 ; 2,75 et 3,16 ppm et les carbones aromatiques à 135,4 et 139,2 ppm par HMBC ¹H-¹³C a permis de réaliser les dernières attributions et de confirmer la structure des produits **24a** et **24b** (Figure 104C).

A)



B)



⁸¹ R.W. Bost, E.E. Towel, *J. Am. Chem. Soc.*, **1948**, *70*, 903-905.

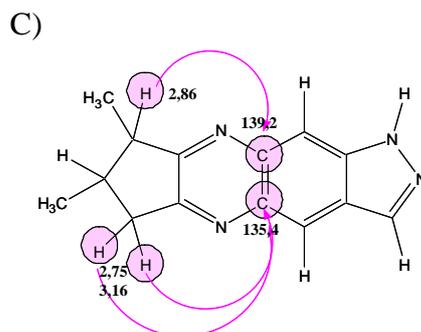


Figure 104 : Corrélations ^1H - ^{13}C et ^1H - ^{15}N observées sur **24a** par RMN 2D. A) NOESY. B) HMBC ^1H - ^{15}N . C) HMBC ^1H - ^{13}C . (déplacements chimiques en ppm).

L'activité des dérivés de pyrazolo[3,4-*g*]quinoxaline **R**, **Ta/b**, **V**, **21**, **22** et **24a/b** a été évaluée sur les kinases Pim et différentes lignées de cellules cancéreuses humaines. Les résultats de ces tests seront détaillés dans le paragraphe suivant.

III.7. Evaluation biologique

Deux types de tests ont été effectués pour évaluer l'activité biologique des dérivés de pyrazolo[3,4-*g*]quinoxalines : d'une part des tests d'inhibition de kinases Pim *in vitro* réalisés au centre national d'évaluation des kinases (Université de Dundee, Ecosse). D'autre part, des mesures de l'activité antiproliférative *in vitro* des composés sur une culture humaine de fibroblastes et trois lignées cellulaires cancéreuses : PA1 (ovaire), PC3 et DU145 (prostate). L'étude des activités antiprolifératives de ces composés a été réalisée en collaboration avec G. Alves (GReD, UMR 6247, Clermont-Ferrand) et E. Debiton (INSERM, UMR U990, Clermont-Ferrand).

Tous les composés finaux de la série, exception faite du mélange de régioisomères **23a/23b**, ainsi que le diamino-indazole **20** ont été testés. Les résultats sont donnés dans les Tableau 7 et Tableau 8.

Les pourcentages d'activité résiduelle ont été déterminés sur les trois isoformes de Pim à des concentrations finales en composés de 10 μM et 1 μM (Tableau 7).

Les résultats obtenus indiquent que la kinase Pim-3 est la plus fortement inhibée. Ainsi, une activité résiduelle inférieure à 50% est observée lorsque les composés (sauf le dérivé **22**) sont testés à une concentration de 10 μM . Le composé le plus actif est l'analogue cyclohexyl **V** qui provoque 80% d'inhibition de l'activité de Pim-3 à 10 μM .

Les résultats sur Pim-1 sont plus modérés avec cependant des pourcentages d'activité résiduelle allant de 45 à 60 % pour les dérivés **20**, **R**, **Ta**, **V** et **24b** testés à 10 μM .

Par ailleurs, aucun composé n'inhibe de façon significative Pim-2 (activité résiduelle supérieure à 76% lorsque les composés sont testés à 10 μM).

	% d'activité résiduelle					
	Pim-1		Pim-2		Pim-3	
	10 μM	1 μM	10 μM	1 μM	10 μM	1 μM
20	59 \pm 7	95 \pm 1	na	na	32 \pm 3	69 \pm 1
R	49 \pm 13	89 \pm 3	na	na	31 \pm 8	84 \pm 5
Ta	45 \pm 7	88 \pm 5	76 \pm 13	82 \pm 20	37 \pm 2	95 \pm 4
Tb	71 \pm 5	96 \pm 4	78 \pm 9	na	43 \pm 3	83 \pm 12
V	55,1 \pm 0,3	90 \pm 2	na	na	19,7 \pm 0,2	58 \pm 2
21	66,6 \pm 0,8	95 \pm 1	na	na	46,4 \pm 0,2	81 \pm 2
22	83 \pm 9	na	na	na	79 \pm 3	95 \pm 14
24a	69 \pm 2	na	na	na	33 \pm 3	73 \pm 2
24b	59 \pm 1	88,5 \pm 0,5	na	na	44 \pm 8	72 \pm 3

Tableau 7 : Activités inhibitrices des composés 20, R, T, V, 21, 22 et 24 sur les kinases Pim.

Ces résultats encourageants nous ont incités à étudier les activités antiprolifératives des dérivés de quinoxaline et du composé **20**. Ces composés ont ainsi été testés sur une culture de fibroblastes humains et les lignées cellulaires cancéreuses PA1 (ovaire), PC3 et DU145 (prostate) (Tableau 8).

Dans un premier temps, tous les produits ont été testés à des concentrations de 10 μM et 1 μM sur PA1 et PC3. Les composés ayant démontré des activités intéressantes lors du pré-criblage ont également été testés sur une culture de fibroblastes et la lignée cellulaire cancéreuse DU145. Les résultats obtenus ont montré qu'aucun composé n'était actif sur les cultures de fibroblastes ni sur les lignées cellulaires de cancer prostatique (PC3 et DU145).

En revanche, le composé comportant deux groupements éthyles sur le noyau quinoxaline (**R**), ainsi que les dérivés tétracycliques **V**, **22** et **24a/b** ont présenté des activités inhibitrices sur PA1 intéressantes, de l'ordre du micromolaire.

	Activité antiproliférative (IC ₅₀ en μM)			
	Fibro	PA1	PC3	DU145
20	nd	nd	nd	nd
R	> 50	6,5 ± 0,8	> 50	> 50
Ta	nd	nd	nd	nd
Tb	nd	nd	nd	nd
V	> 50	16 ± 1	> 50	> 50
21	nd	nd	nd	nd
22	> 50	4,1 ± 0,3	> 50	35 ± 4
24a	> 50	4,7 ± 0,4	> 50	> 50
24b	> 50	6,1 ± 0,5	> 50	> 50

Tableau 8 : Activités antiprolifératives des composés 20, R, T, V, 21, 22 et 24.

L'ensemble de ces travaux a fait l'objet d'une publication dans *Eur. J. Med. Chem.*⁸²

⁸² L. Gavara, E. Saugues, G. Alves, E. Debiton, F. Anizon, P. Moreau, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, *45*, 5520-5526.

IV. CONCLUSION-PERSPECTIVES

Lors des travaux effectués en série isoindole, nous avons pu synthétiser des isoindolines dont certaines se sont avérées stables. Par exemple, l'intermédiaire di-amino **12** ($R'' = \text{SO}_2\text{CH}_3$) que nous avons obtenu pourrait être fonctionnalisé de la même façon que les composés de la série indazole pour aboutir à des analogues quinoxalines. De plus, nous pourrions envisager de faire varier la nature du groupement R'' porté par l'atome d'azote de l'isoindoline (Figure 105).

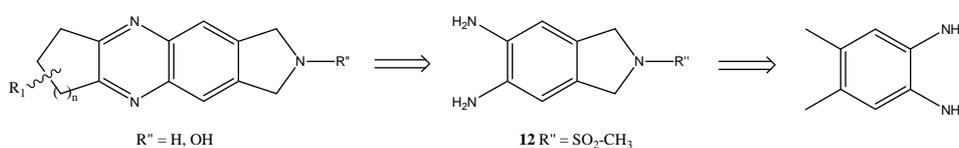


Figure 105 : Analyse rétrosynthétique des nouvelles cibles potentielles en série isoindoline.

Par ailleurs, nous avons été confrontés à la réactivité particulière des hétérocycles azotés durant ces travaux de recherche, aussi bien dans la première série avec l'instabilité du motif isoindole que dans la seconde avec la faible nucléophilie de l'amine en position 6 du squelette indazole. C'est pourquoi, en dépit des différentes stratégies de synthèse explorées, aucune d'entre elles n'a conduit à l'obtention des structures cibles.

Cependant, nos travaux en série indazole ont abouti à la synthèse de dérivés de pyrazolo-quinoxalines. Certains de ces dérivés tétracycliques se sont avérés être des inhibiteurs modérés des kinases Pim, plus particulièrement Pim-3 et ont en outre présenté des activités antiprolifératives de l'ordre du micromolaire sur la lignée cellulaire cancéreuse PA1.

Troisième chapitre

PARTIE EXPERIMENTALE

METHODES ET PROCEDURES GENERALES

Les réactions sont suivies 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 des plaques est réalisée sous une lampe ultra-violet (U.V.) à 254 ou 365 nm.

Les purifications par chromatographie sur colonne ont été effectuées avec de la silice flash Silicycle SiliaFlash P60 (40-63 μm).

Les solvants anhydres sont séchés sur CaH_2 (CH_2Cl_2), KOH (méthanol), potassium (THF, toluène), et distillés avant utilisation. L'éthanol et le propanol anhydres sont commerciaux.

La diisopropylamine est séchée sur KOH et fraîchement distillée avant utilisation.

Les points de fusion (F en $^\circ\text{C}$) sont mesurés sur un microscope à point de fusion Reichert.

Les spectres infrarouges sont enregistrés sur un appareil Shimadzu FTIR-8400S (ATR) ou Perkin-Elmer Spectrum 65 ($\bar{\nu}$ en cm^{-1}).

Les spectres de masse haute résolution sont réalisés en ionisation ElectroSpray positive (ES+) sur un appareil Waters Micro Q-ToF (Centre Régional de Mesures Physiques, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand). Un appareil GC 6890 Agilent Technologies couplé MS 5973 Agilent Technologies a permis la détermination des spectres de masse basse résolution en impact électronique (EI).

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) sont réalisés sur un spectromètre Bruker AVANCE 400 (400 MHz en ^1H et 100 MHz en ^{13}C) ou Bruker AVANCE 500 (500 MHz en ^1H et 126 MHz en ^{13}C).

Des expériences COSY ^1H - ^1H , HSQC ^1H - ^{13}C , HMBC ^1H - ^{13}C , HMBC ^1H - ^{15}N et NOESY ^1H - ^1H ont été réalisées lorsque la RMN 1D ne suffisait pas à caractériser les produits synthétisés.

Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm). Les constantes de couplage (J) sont exprimées en Hertz (Hz). Les abréviations utilisées pour la multiplicité des signaux sont les suivantes :

- s : singulet
- se : signal élargi
- d : doublet
- dd : doublet de doublets
- ddd : doublet de doublets de doublets
- dq : doublet de quadruplets
- t : triplet
- q : quadruplet
- quint : quintuplet
- sext : sextuplet
- hept : heptuplet
- m : multiplet

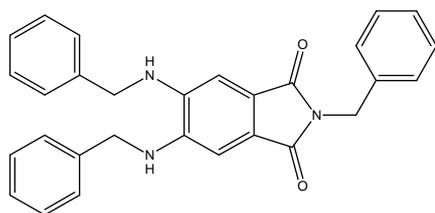
Les autres abréviations utilisées sont :

P_{\max} : Puissance maximum

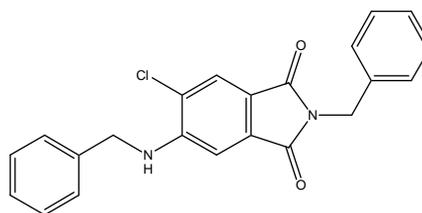
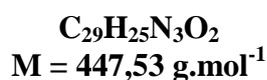
P_{atm} : Pression atmosphérique

Les expériences sous irradiation micro-ondes ont été réalisées à l'aide d'un appareil CEM Discover Benchmate.

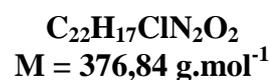
**2-Benzyl-5-(benzylamino)-6-chloro-1*H*-isoindole-1,3(2*H*)-dione (1) et
2-Benzyl-5,6-bis(benzylamino)-6-chloro-1*H*-isoindole-1,3(2*H*)-dione (2)**



1



2



Du toluène anhydre (1 mL) est ajouté à un mélange de carbonate de césium (830 mg ; 2,55 mmol ; 2,6 équiv.), de $Pd_2(dba)_3\cdot CHCl_3$ (10,1 mg ; 9,8 μmol ; 1 mol%), de X-Phos (9,3 mg ; 19,5 μmol ; 2 mol%) et du composé **D** (300 mg ; 0,98 mmol) placés sous atmosphère d'argon. Après 5 minutes d'agitation, la benzylamine (256 μL ; 2,34 mmol ; 2,4 équiv.) et du toluène (0,5 mL) sont ajoutés. Après 24 h de chauffage à reflux, le mélange est versé dans l'eau et extrait à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur $MgSO_4$ puis évaporées sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 9:1 à 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **1** (8,6 mg ; 19 μmol ; 2%) sous forme d'un solide jaune et le composé **2** (4,8 mg, 13 μmol ; 1%) sous forme d'une huile jaune.

Composé 1 :

F = 71–73 °C.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,50 (4H, d, $J = 5,5$ Hz) ; 4,58 (2H, s) ; 6,42 (2H, t, $J = 5,5$ Hz) ; 6,68 (2H, s) ; 7,15–7,42 (15H, m).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 40,2 ; 46,6 (2C) (CH_2) ; 102,4 ; 127,0–127,2 (9C) ; 128,45 (2C) ; 128,48 (4C) (CH_{arom}) ; 121,0 ; 137,5 ; 138,9 ; 140,0 (C_{arom}) ; 168,6 (C=O).

Masse exacte (ES+) calculée pour $C_{29}H_{26}N_3O_2$ (M+H) $^+$ 448,2025 ; trouvée 448,2030.

Composé 2 :

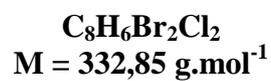
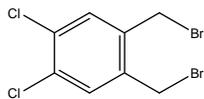
IR (ATR) : 3550–3150, 1706, 1614, 1389 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,61 (2H, d, $J = 6$ Hz) ; 4,65 (2H, s) ; 6,90 (1H, s) ; 7,20–7,35 (10H, m) ; 7,47 (1H, t, $J = 6$ Hz) ; 7,78 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 40,7 ; 45,6 (CH_2) ; 104,9 ; 124,4 ; 126,6 (2C) ; 127,0 ; 127,2 (2C) ; 127,3 ; 128,5 (2C) ; 128,6 (2C) (CH_{arom}) ; 117,6 ; 121,9 ; 132,6 ; 136,8 ; 138,4 ; 149,0 (C_{arom}) ; 166,8 ; 167,4 (C=O).

Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{17}^{35}\text{ClN}_2\text{NaO}_2$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 399,0876 ; trouvée 399,0862.

1,2-Bis(bromométhyl)-4,5-dichlorobenzène (3)

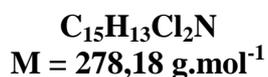
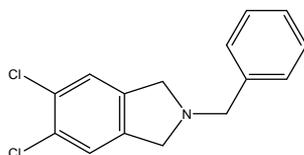


La procédure de préparation du composé **3** et la caractérisation de ce composé (excepté le spectre RMN ^{13}C) sont décrits dans l'article référence numéro 49.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : 4,55 (4H, s) ; 7,47 (2H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 28,2 (2C) (CH_2) ; 132,8 (2C) (CH_{arom}) ; 133,3 (2C) ; 136,6 (2C) (C_{arom}).

2-Benzyl-5,6-dichloro-2,3-dihydro-1H-isoindole (4)



A une solution de composé dibromé **3** (100 mg ; 0,30 mmol) dans le THF (15 mL) sont ajoutés la benzylamine (36 μL ; 0,33 mmol ; 1,1 équiv.) puis le carbonate de potassium (414 mg ; 3,0 mmol ; 10 équiv.). Le mélange est chauffé à reflux pendant 3 jours à l'abri de la lumière. Après retour à température ambiante, le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO_4 puis évaporées sous pression réduite ce qui permet d'obtenir le composé **4** sous forme d'une huile rouge (61 mg ; 0,22 mmol ; 73%).

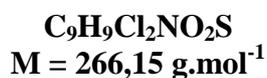
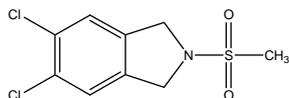
IR (ATR) : 1475, 1466, 1454, 1373, 1344, 1134, 1113 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6) : 3,87 (4H, s) ; 3,89 (2H, s) ; 7,24–7,29 (1H, m) ; 7,32–7,37 (2H, m) ; 7,38–7,42 (2H, m) ; 7,43 (2H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, acétone- d_6) : 58,7 (2C) ; 60,3 (CH_2) ; 125,2 (2C) ; 127,9 ; 129,2 (2C) ; 129,4 (2C) (CH_{arom}) ; 130,6 (2C) ; 140,1 ; 142,5 (2C) (C_{arom}) ;

Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{15}\text{H}_{14}^{35}\text{Cl}_2\text{N}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 278,0503 ; trouvée 278,0492.

5,6-Dichloro-2-(méthylsulfonyl)-2,3-dihydro-1H-isoindole (5)



A une solution de composé dibromé **3** (200 mg ; 0,60 mmol) dans l'acétonitrile (30 mL) sont ajoutés le méthanesulfonamide (68 mg ; 0,71 mmol ; 1,2 équiv.) et le carbonate de potassium (662 mg ; 4,8 mmol ; 8 équiv.). Le mélange est chauffé à reflux pendant 4 h. Après retour à température ambiante, l'acétonitrile est évaporé sous pression réduite. De l'eau est ajoutée et le solide obtenu est filtré, ce qui permet d'obtenir le composé **5** sous la forme d'un solide blanc (146 mg ; 0,55 mmol ; 91%).

F = 267–273 °C.

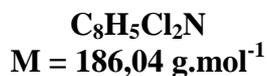
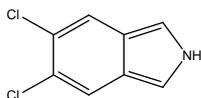
IR (ATR) : 1320, 1151 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,98 (3H, s) ; 4,61 (4H, s) ; 7,65 (2H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 33,7 (CH₃) ; 52,8 (2C) (CH₂) ; 125,1 (2C) (CH_{arom}) ; 130,1 (2C) ; 137,7 (2C) (C_{arom}).

Masse (IE) *m/z* 264/266/268 (M-H)⁺.

5,6-Dichloro-2*H*-isoindole (6)



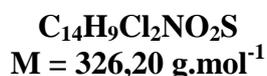
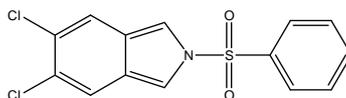
L'isoindoline **5** (200 mg ; 0,75 mmol) est ajoutée à un mélange de *tert*-butanolate de potassium (846 mg ; 7,54 mmol, 10 équiv.) dans le DMSO (4 mL). Après 30 min d'agitation à température ambiante et à l'abri de la lumière, le mélange est versé dans l'eau puis extrait à l'AcOEt. La phase organique est lavée à l'eau puis les phases aqueuses sont de nouveau extraites à l'AcOEt et lavées avec une solution saturée de NaCl. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ puis évaporées sous pression réduite ce qui permet d'obtenir le composé **6** (136 mg ; 0,73 mmol ; 97%) sous forme d'un solide gris-vert.

En raison de son instabilité, seule la caractérisation du produit par RMN a pu être réalisée.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 7,32 (2H, d, *J* = 3 Hz) ; 7,82 (2H, s) ; 12,55 (1H, se).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 108,8 (2C) ; 121,5 (2C) (CH_{arom}) ; 121,9 (2C) ; 122,2 (2C) (C_{arom}).

5,6-Dichloro-2-(phénylesulfonyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole (7)



A un mélange d'isoindole **6** (35 mg ; 0,19 mmol), d'hydrogénosulfate de tétrabutylammonium (6,4 mg ; 0,019 mmol ; 0,1 équiv.) dans le dichlorométhane (0,2 mL) et une solution aqueuse de NaOH 50% w/w (0,12 mL) sont ajoutés le chlorure de benzènesulfonyle (38 μ L, 0,30 mmol ; 1,6 équiv.). Après 1,5 h d'agitation vigoureuse à température ambiante, le mélange est versé dans l'eau et extrait à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄ puis évaporées. Le produit **7** est obtenu sous forme d'un solide gris-rose (61 mg ; 0,19 mmol, 99%).

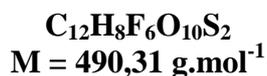
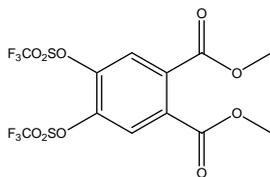
F = 167–169 °C.

IR (ATR) : 1374, 1176, 1058 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 7,65–7,71 (2H, m) ; 7,77–7,82 (1H, m) ; 7,83 (2H, s) ; 7,93 (2H, s) ; 8,08–8,12 (2H, m).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 111,9 (2C) ; 122,0 (2C) ; 127,3 (2C) ; 130,2 (2C) ; 135,5 (CH_{arom}), 123,8 (2C) ; 126,4 (2C) ; 137,0 (C_{arom}).

Diméthyl 4,5-bis{[(trifluorométhyl)sulfonyl]oxy}benzène-1,2-dicarboxylate (**8**)



A une solution d'anhydride trifluorométhanesulfonique (170 μ L ; 1,01 mmol ; 2,3 équiv.) dans le dichlorométhane (0,5 mL) sont ajoutées goutte à goutte à -20 °C les solutions de diester **F** (100 mg ; 0,44 mmol) dans le dichlorométhane (0,5 mL), puis de triéthylamine (140 μ L ; 1,00 mmol ; 2,3 équiv.) dans le dichlorométhane (0,5 mL), refroidies à -20 °C. Après 2 h d'agitation à température ambiante, le mélange jaune est versé dans de l'eau glacée (6 mL). Après extraction à l'AcOEt, les phases organiques rassemblées sont lavées à l'eau, séchées sur MgSO₄ puis évaporées. L'huile brune obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 8:2 à 6:4) ce qui permet d'obtenir le composé **8** (86 mg ; 0,18 mmol ; 40%) sous forme d'un solide blanc.

F = 39–43 °C.

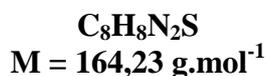
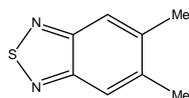
IR (ATR) : 1732, 1435, 1220, 1208, 1135 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 3,93 (6H, s) ; 8,20 (2H, s).

RMN ¹³C (126 MHz, acétone-*d*₆) : 53,8 (2C) (CH₃) ; 125,7 (2C) (CH_{arom}) ; 119,5 (2C, q, *J*_{CF} = 320 Hz, CF₃) ; 134,8 (2C) ; 142,5 (2C) (C_{arom}) ; 165,4 (2C) (C=O)

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₁₂H₈F₆NaO₁₀S₂ (M+Na)⁺ 512,9361 ; trouvée 512,9347.

5,6-Diméthyl-2,1,3-benzothiadiazole (**9**)



A une solution de 1,2-diamino-4,5-diméthylbenzène (2,00 g ; 14,7 mmol) et de NEt_3 (8,2 mL, 6,0 g ; 59 mmol ; 4 équiv.) dans le dichlorométhane (40 mL) est ajouté goutte à goutte, à température ambiante, une solution de chlorure de thionyle (1,6 mL ; 2,6 g ; 22 mmol ; 1,5 équiv.) dans le CH_2Cl_2 (10 mL). Le mélange est chauffé à reflux pendant 3 h. Après retour à température ambiante, de l'eau (20 mL) est ajoutée et le mélange est extrait au CH_2Cl_2 . Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl puis séchées sur MgSO_4 . La phase organique est séchée sur MgSO_4 . Après évaporation, le solide obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/ AcOEt 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé **9** (1,63 g ; 9,93 mmol ; 68%) sous forme d'un solide blanc.

F = 80–84 °C.

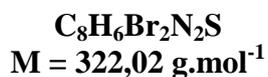
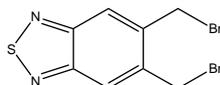
IR (ATR) : 1504, 1476, 1460, 1449, 1431 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : 2,45 (6H, s) ; 7,74 (2H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 20,9 (CH_3) ; 119,9 (CH) ; 140,6 ; 154,4 (C).

Masse (IE) m/z 164 (M^+), 149 ($\text{M}-\text{CH}_3$) $^+$.

5,6-Bis(bromométhyl)-2,1,3-benzothiadiazole (**10**)



A une solution du composé **9** (200 mg ; 1,22 mmol) dans le chloroforme (3 mL) sont ajoutés du *N*-bromosuccinimide (438 mg ; 2,46 mmol ; 2,0 équiv.) et de l'AIBN (2,0 mg ; 0,012 mmol ; 1 mol%). Le mélange est porté à reflux pendant 2 h. Après refroidissement, le mélange est filtré puis le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le solide obtenu est recristallisé l'éthanol à 96% ce qui permet d'obtenir le composé **10** (285 mg ; 0,89 mmol ; 73%) sous forme d'un solide blanc.

F = 100–110 °C.

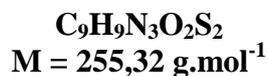
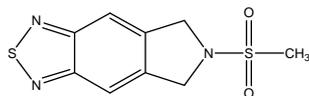
IR (ATR) : 1508, 1466, 1456, 1433 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : 4,85 (4H, s) ; 8,06 (2H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 30,2 (CH_2) ; 123,6 (CH_{arom}) ; 138,3 ; 154,6 (C_{arom}).

Masse (IE) m/z 320/322/324 (M^+), 241/243 ($\text{M}-\text{Br}^+$), 162 ($\text{M}-2\text{Br}^+$).

6-(Méthylsulfonyl)-6,7-dihydro-5H-[1,2,5]thiadiazolo[3,4-f]isoindole (11)



Un mélange de composé **10** (200 mg ; 0,62 mmol), de méthanesulfonamide (71 mg ; 0,75 mmol ; 1,2 équiv.) et de carbonate de potassium (684 mg ; 4,95 mmol ; 8 équiv.) dans l'acétonitrile (30 mL) est porté à reflux pendant une nuit. Après retour à température ambiante, le mélange est concentré sous pression réduite puis le solide obtenu est filtré et lavé à l'eau ce qui permet d'obtenir le composé **11** (144 mg ; 0,56 mmol ; 91%) sous forme d'un solide beige.

F > 250 °C (décomposition).

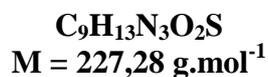
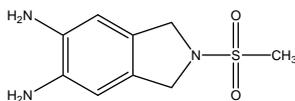
IR (ATR) : 1321, 1155, 1136, 1086 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,03 (3H, s) ; 4,79 (4H, s) ; 8,04 (2H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 33,8 (CH₃) ; 52,0 (CH₂) ; 114,5 (CH_{arom}) ; 141,2 ; 154,2 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) : calculée pour C₉H₉N₃NaO₂S₂ : 278,0034 ; trouvée 278,0036.

2-(Méthylsulfonyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-5,6-diamine (**12**)



A une solution de composé **11** (50 mg ; 0,20 mmol) dans un mélange THF/EtOH 1:1 (1,6 mL) sont ajoutés le NaBH₄ (14,8 mg ; 0,39 mmol ; 2 équiv.) puis le CoCl₂.6H₂O (0,9 mg ; 4 μmol, 2 mol%). Le mélange est chauffé à reflux pendant 1 h. Après retour à température ambiante, la solution est filtrée sur Célite puis le solide est lavé avec de l'éthanol et de l'AcOEt. Le filtrat est évaporé sous pression réduite ce qui permet d'obtenir le composé **12** (25 mg, 0,11 mmol, 56%) sous forme d'un solide marron.

F = 197–203 °C.

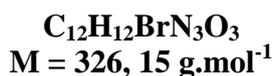
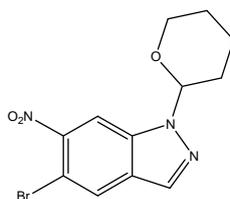
IR (ATR) : 3394, 1511, 1314, 1146, 1083 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,89 (3H, s) ; 4,37 (4H, s) ; 4,50 (4H, se) ; 6,42 (2H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 33,1 (CH₃) ; 53,3 (2CH₂) ; 107,7 (2CH_{arom}) ; 124,3 (2C) ; 135,2 (2C) (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₉H₁₄N₃OS (M+H)⁺ 228,0807 ; trouvée 228,0808.

5-Bromo-6-nitro-1-(tétrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-indazole (13)



A un mélange de 5-bromo-6-nitroindazole **J** (1,30 g ; 5,40 mmol) dans le CH_2Cl_2 anhydre (40 mL) sont ajoutés le 3,4-dihydro-2H-pyrane (1,46 mL ; 1,35 g ; 16 mmol ; 3 équiv.) et l'APTS monohydraté (93 mg ; 0,49 mmol ; 0,1 équiv.). La solution prend un aspect brun limpide puis fonce peu à peu. Après 1 h d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 . Les phases aqueuses rassemblées sont réextraites au dichlorométhane. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , évaporée puis le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice préalablement neutralisée avec de la triéthylamine (cyclohexane/AcOEt 95:5). Après évaporation, du pentane est ajouté au composé obtenu puis le précipité est filtré sur verre fritté et lavé avec un minimum de mélange pentane/MeOH 9:1. Le composé **13** (1,37 g ; 4,2 mmol ; 78%) est obtenu sous forme d'un solide jaune-orangé.

F = 96–98 °C.

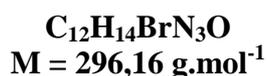
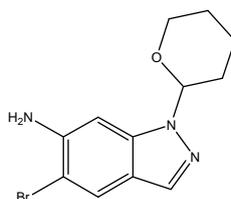
IR (ATR) : 1574, 1528, 1468, 1439, 1416 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : 1,66–1,84 (3H, m) ; 2,09–2,18 (2H, m) ; 2,41–2,51 (1H, m) ; 3,73–3,80 (1H, m) ; 3,96–4,02 (1H, m) ; 5,75 (1H, dd, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,5 \text{ Hz}$) ; 8,05 (1H, d, $J = 1,0 \text{ Hz}$) ; 8,07 (1H, s) ; 8,15 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 22,0 ; 25,0 ; 29,5 ; 67,4 (CH_2) ; 86,5 (CH) ; 108,7 ; 126,9 ; 133,1 (CH_{arom}) ; 105,1 ; 127,1 ; 136,8 ; 148,0* (C_{arom}). *Déterminé d'après une expérience HMBC ^1H - ^{13}C .

Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_{12}^{79}\text{BrN}_3\text{NaO}_3$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺ 347,9960 ; trouvée 347,9960.

5-Bromo-1-(tétrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-indazol-6-amine (**14**)



A une solution de composé **13** (500 mg ; 1,53 mmol) dans l'éthanol (10 mL) est ajouté le Na₂S.9H₂O (1,10 g ; 4,6 mmol ; 3 équiv.). Le mélange est chauffé à reflux pendant 45 min puis, après retour à température ambiante, le solvant est évaporé sous pression réduite. De l'eau est ajoutée puis le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées et séchées sur MgSO₄. Après évaporation du solvant sous pression réduite, du pentane est ajouté. Le précipité est filtré ce qui permet d'obtenir le composé **14** (363 mg ; 1,23 mmol ; 80%) sous forme d'un solide jaune.

F = 107–112 °C.

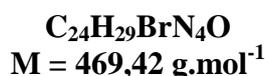
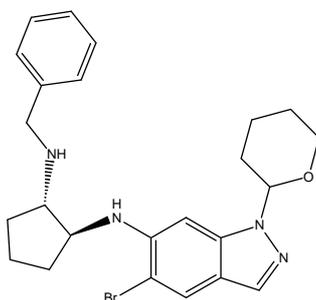
IR (ATR) : 3439, 3343, 1624, 1474 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,51–1,60 (2H, m) ; 1,66–1,79 (1H, m) ; 1,88–1,95 (1H, m) ; 1,97–2,05 (1H, m) ; 2,28–2,39 (1H, m) ; 3,61–3,69 (1H, m) ; 3,83–3,90 (1H, m) ; 5,50 (2H, se) ; 5,56 (1H, dd, *J*₁ = 9,5 Hz, *J*₂ = 2,5 Hz) ; 6,91 (1H, m) ; 7,79 (1H, d, *J* = 0,5 Hz) ; 7,82 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 22,1 ; 24,8 ; 28,7 ; 66,4 (CH₂) ; 84,2 (CH) ; 92,3 ; 124,0 ; 132,6 (CH_{arom}) ; 105,7, 117,7 ; 140,2 ; 144,3 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₁₂H₁₄⁷⁹BrN₃NaO (M+Na)⁺ 318,0218 ; trouvée 318,0230.

***trans* N-Benzyl-N³-[5-bromo-1-(tétrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-1*H*-indazol-6-yl]cyclopentane-1,2-diamine (**15**)**



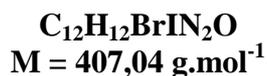
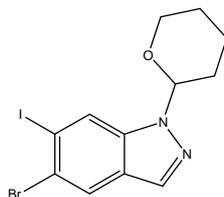
A une solution de l'aziridine **M** (47 mg ; 0,27 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (1,5 mL), sous atmosphère d'argon, sont ajoutés le composé **14** (97 mg ; 0,33 mmol ; 1,2 équiv.) et le trifluorométhanesulfonate d'étain (II) (17,0 mg ; 0,04 mmol ; 15 mol%). Le mélange est chauffé à reflux pendant 72 h. Après évaporation du solvant sous pression réduite, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé **15** (20 mg ; 0,043 mmol ; 16%) sous forme d'une huile jaune.

IR (ATR) : 1620, 1496, 1080, 1042 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), mélange de diastéréoisomères dans un rapport ~6:4 (rapport mesuré sur les signaux à 5,69 ppm et 5,76 ppm ; H^a, majoritaire ; H^b, minoritaire) : 1,37–1,58 (4H^{a+b}, m) ; 1,60–1,82 (3H^{a+b}, m) ; 1,84–1,95 (2H^{a+b}, m) ; 1,95–2,06 (1H^{a+b}, m) ; 2,20–2,43 (2H^{a+b}, m) ; 2,93–2,99 (1H^{a+b}, m) ; 3,57–3,63 (1H^{a+b}, m) ; 3,63–3,90 (4H^{a+b}, m) ; 4,83 (1H^a, d, *J* = 6 Hz) ; 4,86 (1H^b, d, *J* = 5,5 Hz) ; 5,69 (1H^b, dd, *J*₁ = 9,5 Hz, *J*₂ = 2,5 Hz) ; 5,76 (1H^a, dd, *J*₁ = 9,5 Hz, *J*₂ = 2,5 Hz) ; 6,857 (1H^a, s) ; 6,864 (1H^b, s) ; 7,16–7,23 (1H^{a+b}, m) ; 7,26–7,31 (1H^{a+b}, m) ; 7,35–7,38 (1H^{a+b}, m) ; 7,82 (1H^b, s) ; 7,83 (1H^a, s) ; 7,877 (1H^b, s) ; 7,880 (1H^a, s). Le NH aliphatique n'est pas observé.

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₂₄H₃₀⁷⁹BrN₄O (M+H)⁺ 469,1603 ; trouvée 469,1607.

5-Bromo-6-iodo-1-(tétrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-indazole (16)



A un mélange de composé **14** (30 mg ; 0,10 mmol) dans l'eau (0,2 mL) est ajouté de l'acide sulfurique (60 μ L). Le mélange est refroidi à 0 °C puis une solution de nitrite de sodium (7 mg ; 0,10 mmol ; 1 équiv.) dans l'eau (0,2 mL) est ajoutée. Après 5 min d'agitation, une solution d'iodure de potassium (21 mg ; 0,13 mmol ; 1,25 équiv.) dans l'eau (0,5 mL) est ajoutée. Après 10 minutes d'agitation supplémentaires, une solution aqueuse 5 N de NaOH est ajoutée goutte à goutte jusqu'à pH ~8–9, puis la solution est extraite à l'AcOEt puis lavée avec une solution aqueuse saturée de NaCl. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄ puis le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé **16** (9 mg ; 0,022 mmol , 22%) sous forme d'un solide beige.

F = 123–126 °C

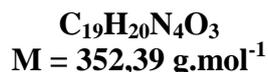
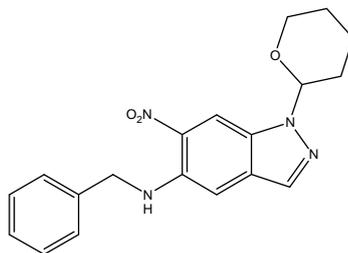
IR (ATR) : 1601, 1462, 1412, 1078, 1040, 993, 909 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,52–1,61 (2H, m) ; 1,65–1,79 (1H, m) ; 1,90–2,06 (2H, m) ; 2,28–2,40 (1H, m) ; 3,72–3,81 (1H, m) ; 3,82–3,90 (1H, m) ; 5,89 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,09 (1H, s) ; 8,22 (1H, s) ; 8,45 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 22,1 ; 24,7 ; 28,8 ; 66,5 (CH₂) ; 83,7 (CH) ; 121,6 ; 124,0 ; 133,2 (CH_{arom}) ; 99,8 ; 120,3 ; 125,4 ; 139,2 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) calculée pour C₁₂H₁₃⁷⁹BrIN₂O (M+H)⁺ 406,9256 ; trouvée 406,9236.

***N*-benzyl-6-nitro-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-1*H*-indazol-5-amine (17)**



A une solution du composé **13** (50 mg ; 0,153 mmol) dans le toluène anhydre (1 mL) sont ajoutés le Pd₂dba₃.CHCl₃ (7,9 mg ; 0,0076 mmol ; 5 mol%), le BINAP (11,4 mg ; 0,018 mmol ; 12 mol%), et le Cs₂CO₃ (150 mg ; 0,46 mmol ; 3 équiv.). De l'argon est mis à buller dans la solution pendant quelques minutes, sous agitation, puis la benzylamine (18,3 μL, 0,168 mmol, 1,1 équiv.) est additionnée goutte à goutte. Après une nuit de chauffage dans un bain d'huile à 80 °C, de l'AcOEt est ajouté et le mélange est filtré sur Célite. Le solide est lavé à l'AcOEt puis le filtrat est évaporé. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 9:1 à 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **17** (37 mg ; 0,105 mmol ; 68%) sous forme d'un solide rouge-violet.

La préparation du composé **17** peut être réalisée avec un rendement comparable en appliquant la même procédure en substituant le toluène par le THF, le Cs₂CO₃ par le ^tBuONa, et en chauffant dans un bain d'huile à 50 °C.

Mp = 113–117 °C.

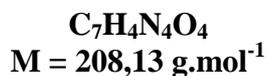
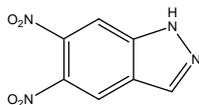
IR (ATR) : 3416, 1638, 1574, 1522, 1499, 1476, 1439 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,64–1,83 (3H, m) ; 2,04–2,18 (2H, m) ; 2,44–2,55 (1H, m) ; 3,73–3,81 (1H, m) ; 3,99–4,05 (1H, m) ; 4,54 (2H, s) ; 5,68 (1H, dd, J₁ = 9,5 Hz, J₂ = 2,5 Hz) ; 7,00 (1H, s) ; 7,27–7,41 (5H, m) ; 7,86 (1H, s) ; 8,53 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 22,5 ; 25,1 ; 29,4 ; 47,9 ; 67,6 (CH₂) ; 85,7 (CH) ; 102,2 ; 109,1 ; 127,2 (2C) ; 127,6 ; 128,9 (2C) ; 132,7 (CH_{arom}) ; 130,3 ; 131,6 ; 135,0 ; 137,9 ; 139,5 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) calculée pour C₁₉H₂₁N₄O₃ (M+H)⁺ 353,1614 ; trouvée 353,1630.

5,6-Dinitro-1*H*-indazole (**19**)



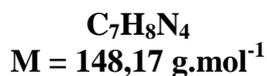
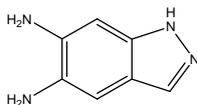
Un mélange de 6-nitro-1*H*-indazole **P** (5 g ; 31 mmol) dans l'acide sulfurique concentré (70 mL) est refroidi à 0 °C puis ajouté lentement à une solution à 0 °C et sous agitation de nitrate de potassium (3,44 g ; 34 mmol) dans H₂SO₄ concentré (30 mL). La solution est agitée pendant 16 h à température ambiante puis versée dans la glace (800 g). Le solide est filtré, lavé à l'eau puis recristallisé dans l'acide acétique glacial (50 mL) ce qui permet d'obtenir le composé **19** (5,35 g ; 26 mmol ; 84%) sous forme d'un solide jaune.

La préparation du composé **19** est également décrite dans l'article référence numéro 78.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 8,45 (1H, s) ; 8,56 (1H, s) ; 8,84 (1H, s) ; 13,01 (1H, se, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): 109,1 ; 121,3 ; 137,2 (CH_{arom}) ; 122,2 ; 135,8 ; 138,4 ; 141,6 (C_{arom}).

1H-Indazole-5,6-diamine (20)



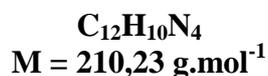
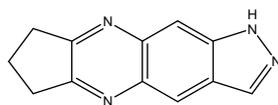
A un mélange de composé **19** (200 mg ; 0,96 mmol) et de Pd/C à 10% (200 mg ; 0,19 mmol ; 20 mol%) dans le méthanol (6 mL) est ajouté le formiate d'ammonium (600 mg ; 9,5 mmol). Le mélange est chauffé à reflux pendant 1 h puis le catalyseur est supprimé par filtration sur Célite. Le solide est lavé au méthanol (30 mL) puis le filtrat est évaporé sous pression réduite, ce qui permet d'obtenir le composé **20** (122 mg ; 0,82 mmol ; 86%) sous forme d'un solide gris. Le composé **20** peut être utilisé directement sans purification supplémentaire.

La préparation du composé **20** est également décrite dans l'article référence numéro 78.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): 4,29 (2H, se, NH $_2$) ; 4,80 (2H, se, NH $_2$) ; 6,57 (1H, s) ; 6,72 (1H, s) ; 7,53 (1H, s) ; 12,02 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 91,6 ; 101,7 ; 131,3 (CH $_{\text{arom}}$) ; 115,8 ; 132,1 ; 136,3 ; 138,4 (C $_{\text{arom}}$).

1,6,7,8-Tétrahydrocyclopenta[*b*]pyrazolo[3,4-*g*]quinoxaline (21)



A une solution de 1*H*-indazole-5,6-diamine **20** (100 mg ; 0,67 mmol) dans le THF anhydre (3 mL) sont ajoutées la triéthylamine (0,19 mL ; 138 mg ; 1,36 mmol ; 2 équiv.) puis la 2-chlorocyclopentanone (76 μ L ; 90 mg ; 0,76 mmol ; 1,1 équiv.). Le mélange est chauffé à reflux pendant une nuit puis le solvant est évaporé sous pression réduite. De l'eau est ajoutée au résidu puis le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, évaporées, puis le mélange brut est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 6:4 à AcOEt 100%) ce qui permet d'obtenir le composé **21** (30,8 mg ; 0,15 mmol ; 22%) sous forme d'un solide jaune clair.

F = 139–144 °C

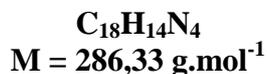
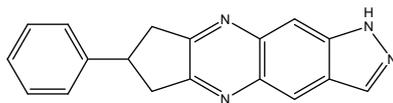
IR (ATR) : 3468, 1635, 1597 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,22 (2H, quint, *J* = 7,5 Hz) ; 3,10 (2H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 3,11 (2H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 8,02 (1H, s) ; 8,43 (1H, s) ; 8,44 (1H, s) ; 13,31 (1H, se).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 20,9 ; 31,5 ; 31,8 (CH₂) ; 105,6 ; 119,2 ; 134,4 (CH_{arom}) ; 124,9 ; 135,1 ; 139,0 ; 139,4 ; 159,3 ; 161,5 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₁₂H₁₁N₄ (M+H)⁺ 211,0984 ; trouvée 211,0998.

7-Phényl-1,6,7,8-tétrahydrocyclopenta[*b*]pyrazolo[3,4-*g*]quinoxaline (**22**)



A une solution de 1*H*-indazole-5,6-diamine **20** (12,6 mg ; 0,085 mmol) dans l'acide acétique glacial (0,3 mL) est ajoutée une solution de 4-phénylcyclopentane-1,2-dione (14,8 mg ; 0,085 mmol ; 1 équiv.) dans l'acide acétique glacial (0,3 mL). Le mélange est agité pendant 1 h dans un bain d'huile chauffé à 80 °C. Après retour à température ambiante, la solution est versée dans de l'eau glacée (10 mL) puis neutralisée avec une solution aqueuse de NaOH 5 M. Après extraction à l'AcOEt, les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄ puis évaporées. L'huile brune obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 7:3) de qui permet d'obtenir le composé **22** (8 mg ; 0,03 mmol ; 33%) sous forme d'un solide jaune clair.

F > 280°C.

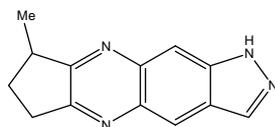
IR (ATR) : 3190, 1644, 1607, 1494, 1355 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,25–3,33 (2H, m) ; 3,51 (1H, dd, *J*₁ = 17,0 Hz, *J*₂ = 8,0 Hz) ; 3,52 (1H, dd, *J*₁ = 17,0 Hz, *J*₂ = 8,0 Hz) ; 3,82–3,92 (1H, m) ; 7,27 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,37 (2H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,45 (2H, d, *J* = 7,5 Hz) ; 8,06 (1H, s) ; 8,45 (1H, s) ; 8,48 (1H, s) ; 13,34 (1H, se).

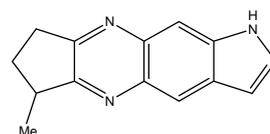
RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 39,6 (CH₂) ; 40,8 (CH) ; 105,7 ; 119,4 ; 126,6 ; 127,1 (2C) ; 128,5 (2C) ; 134,5 (CH_{arom}) ; 125,0 ; 135,3 ; 139,2 ; 139,4 ; 143,7 ; 158,6 ; 160,8 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) calculée pour C₁₈H₁₅N₄ (M+H)⁺ 287,1297 ; trouvée 287,1290.

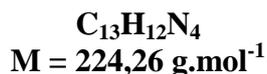
**8-Méthyl-1,6,7,8-tétrahydrocyclopenta[*b*]pyrazolo[3,4-*g*]quinoxaline (23a) et
6-Méthyl-1,6,7,8-tétrahydrocyclopenta[*b*]pyrazolo[3,4-*g*]quinoxaline (23b)**



23a



23b



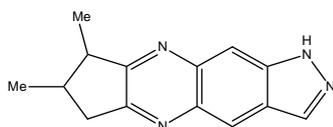
A une solution de 1*H*-indazole-5,6-diamine **20** (50 mg ; 0,34 mmol) dans l'acide acétique glacial (1,5 mL) est ajoutée la 3-méthylcyclopentane-1,2-dione (37,8 mg ; 0,34 mmol ; 1 équiv.). Le mélange est agité pendant 30 min dans un bain d'huile chauffé à 110 °C. Après retour à température ambiante, la solution est versée dans de l'eau glacée (10 mL) puis neutralisée avec une solution aqueuse de NaOH 5 M. Après extraction à l'AcOEt les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄ puis évaporées. L'huile brune obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 7:3 à 2:8), ce qui permet d'obtenir un mélange de régioisomères **23a** et **23b** (24 mg ; 0,11 mmol ; 32%) sous forme d'un solide jaune clair. Le rapport entre les deux régioisomères (81:19) a été déterminé d'après le spectre RMN ¹H, d'après les signaux à 8.03 ppm (isomère minoritaire) et 8.06 ppm (isomère majoritaire).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,41 (3H^a+3H^b, d, *J* = 7,0 Hz) ; 1,72–1,82 (1H^a+1H^b, m) ; 3,04–3,10 (2H^a+2H^b, m) ; 8,03 (1H^b, s) ; 8,06 (1H^a, s) ; 8,43 (1H^a+1H^b, s) ; 8,45 (1H^a, s) ; 8,48 (1H^b, s) ; 13,28–13,35 (1H^a+1H^b, se).

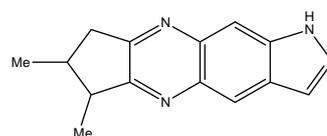
RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆), régioisomère majoritaire : 17,6 (CH₃) ; 30,2 ; 30,4 (CH₂) ; 37,9 (CH) ; 105,8 ; 119,2 ; 134,4 (CH_{arom}) ; 124,9 ; 135,2 ; 139,1 ; 139,4 ; 159,2 ; 164,1 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₁₃H₁₃N₄ (M+H)⁺ 225,1140 ; trouvée 225,1144.

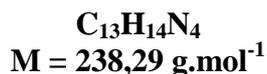
7,8-Diméthyl-1,6,7,8-tétrahydrocyclopenta[*b*]pyrazolo[3,4-*g*]quinoxaline (24a) et 6,7-Diméthyl-1,6,7,8-tétrahydrocyclopenta[*b*]pyrazolo[3,4-*g*]quinoxaline (24b)



24a



24b



A une solution de 1*H*-indazole-5,6-diamine **20** (200 mg ; 1,35 mmol) dans l'acide acétique glacial (5 mL) est ajoutée la 3,4-diméthylcyclopentane-1,2-dione (170 mg ; 1,35 mmol ; 1 équiv.). Le mélange est agité pendant 30 min dans un bain d'huile chauffé à 80 °C. Après retour à température ambiante, la solution est versée dans de l'eau glacée (40 mL) puis neutralisée avec une solution aqueuse de NaOH 5 M. Après extraction à l'AcOEt, les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄ puis évaporées. L'huile brune obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice flash (Et₂O/cyclohexane, 6:4) ce qui permet d'obtenir un mélange de régioisomères **24a** et **24b** (96 mg ; 0,40 mmol ; R = 30%) sous forme d'un solide jaune. Une purification supplémentaire par chromatographie a permis d'isoler le régioisomère **24a** (9,6 mg, 0,04 mmol ; 3%), et le régioisomère **24b** (12 mg, 0,05 mmol ; 4%) sous forme de solides jaunes.

Régioisomère **24a** :

F = 183–189 °C.

IR (ATR) : 3179, 1635, 1570 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,30 (3H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 1,41 (3H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 2,06–2,18 (1H, m) ; 2,75 (1H, dd, *J*₁ = 17,0 Hz, *J*₂ = 10,5 Hz) ; 2,86 (1H, dq, *J*₁ = 10,0 Hz, *J*₂ = 7,0 Hz) ; 3,16 (1H, dd, *J*₁ = 17,0 Hz, *J*₂ = 7,5 Hz) ; 8,05 (1H, s) ; 8,43 (1H, s) ; 8,44 (1H, s) ; 13,33 (1H, se).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 15,0 ; 18,4 (CH₃) ; 38,8 (CH₂) ; 39,6 ; 45,4 (CH) ; 105,8 ; 119,2 ; 134,4 (CH_{arom}) ; 124,9 ; 135,4 ; 139,2 ; 139,4 ; 158,9 ; 164,1 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₁₄H₁₅N₄ (M+H)⁺ 239,1297 ; trouvée 239,1303.

Régioisomère **24b** :

Mp = 206–216 °C.

IR (ATR) : 3142, 1638, 1601 cm⁻¹.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,30 (3H, d, $J = 6,5$ Hz) ; 1,41 (3H, d, $J = 7,0$ Hz) ; 2,06–2,18 (1H, m) ; 2,77 (1H, dd, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,5$ Hz) ; 2,86 (1H, dq, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz) ; 3,17 (1H, dd, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 7,5$ Hz) ; 8,03 (1H, s) ; 8,42 (1H, s) ; 8,47 (1H, s) ; 13,31 (1H, se).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 15,1 ; 18,4 (CH_3) ; 39,0 (CH_2) ; 39,6 ; 45,1 (CH) ; 105,7 ; 119,4 ; 134,4 (CH_{arom}) ; 124,8 ; 135,3 ; 139,3 ; 139,4 ; 161,0 ; 161,9 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_4$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 239,1297 ; trouvée 239,1295.

PARTIE II

Synthèse de ligands potentiels des protéines anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2

Premier chapitre

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. L' APOPTOSE OU MORT CELLULAIRE PROGRAMMEE

I.1. Présentation

Le terme d'apoptose (du grec *apo-* : au loin, *-ptosis* : chute) était utilisé dans l'antiquité pour décrire la décomposition *post mortem* des corps (« chute des os »).

C'est en 1972 que John Kerr et *al.*⁸³ introduisent le mot apoptose pour décrire un nouveau mode de mort cellulaire au cours duquel les cellules en surnombre, endommagées ou infectées par un virus seraient éliminées. Jouant par ailleurs un rôle déterminant au cours du développement embryonnaire, l'apoptose concourt surtout au respect de l'homéostasie tissulaire⁸⁴.

En effet, tout organisme pluricellulaire est sous le contrôle d'un ensemble de processus physiologiques garants de son bon fonctionnement. Parmi eux, l'homéostasie tissulaire est la résultante d'un équilibre entre :

- La prolifération cellulaire régie par la mitose au cours du cycle cellulaire qui régénère les tissus.

- La mort cellulaire programmée ou apoptose qui contrairement à la nécrose est un processus actif soumis à un programme génétiquement contrôlé (Figure 106).

Ce mécanisme régulateur essentiel va permettre d'éliminer les cellules en trop grand nombre ou dysfonctionnelles.

Au cours de ce processus, la cellule va être soumise à des modifications morphologiques et biochimiques conduisant à sa destruction.

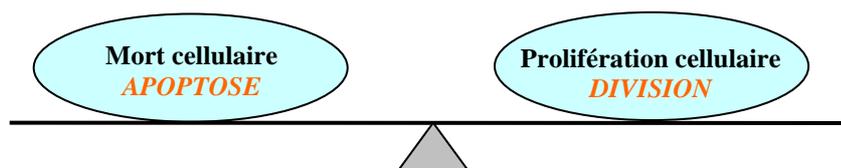


Figure 106 : Respect de l'homéostasie tissulaire chez un sujet sain.

⁸³ J.F.R. Kerr, A.H. Wyllie, A.R. Currie, *Br. J. Cancer*, **1972**, 26, 239-257.

⁸⁴ T.D. Pollard, W.C. Earnshaw, *Biologie cellulaire*, Elsevier, **2004**, 819-821.

Les changements structurels induits lors du processus d'apoptose se déroulent en plusieurs étapes : des stimuli internes ou externes provoquent une condensation nucléaire et cytoplasmique ainsi qu'une dislocation des organites (*a*). Cet état évolue vers un bourgeonnement de la membrane cytoplasmique qui aboutit à la fragmentation cellulaire en corps apoptotiques (*b*). Dans un second temps, ces fragments sont phagocytés par des macrophages ou des cellules épithéliales voisines (*c*) (Figure 107).

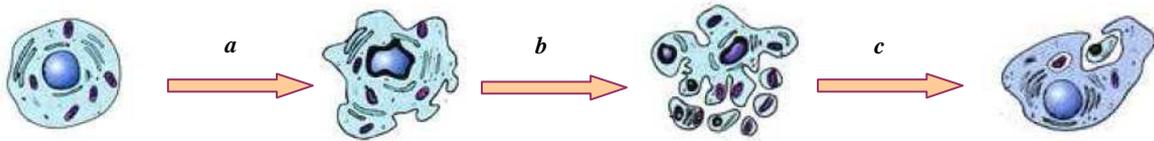


Figure 107 : Changements morphologiques induits lors de l'apoptose. (Adapté de http://bictel.ulg.ac.be/ETD-db/collection/available/ULgetd-06122007-215057/unrestricted/05INTRO_CHAPITRE2.pdf).

I.2. Mécanisme

L'apoptose est gouvernée par un réseau complexe d'évènements intracellulaires selon deux voies^{85,86} (Figure 108) que nous détaillerons ci-dessous.

Chacune des voies conduit à l'activation de caspases, une famille de cystéines protéases, qui en clivant une large gamme de substrats cellulaires conduisent à la mort cellulaire. Elles sont de deux types :

- les caspases initiatrices qui s'oligomérisent après interaction avec une protéine adaptatrice et deviennent alors actives.

- les caspases effectrices⁸⁷ qui sont activées par les caspases initiatrices. Ces enzymes vont ensuite être à l'origine d'une suite de réactions aboutissant à l'apoptose.

La première voie dite intrinsèque (ou voie apoptotique mitochondriale) est activée par de nombreux signaux (radiations, agents anticancéreux, carence en facteurs de croissance, ADN endommagé) entraînant la libération dans le cytoplasme de facteurs apoptogènes tels que le cytochrome *c*, ou encore Smac/diablo (*second mitochondrial activator of caspases*).

Le cytochrome *c* se fixe à la protéine Apaf1 (*Apoptotic protease-activating factor-1*) qui va se complexer avec la procaspase-9 en présence d'ATP ou de dATP et ainsi former l'apoptosome. Ceci provoque l'activation de la caspase-9 et déclenche l'activation de

⁸⁵ E. Ségal-Bendirdjian, C. Dudognon, J. Mathieu, J. Hillion, F. Besançon, *Bull. Cancer*, **2005**, 92, 23-35.

⁸⁶ K.L. Moffitt, S.L. Martin, B. Walker, *J. Pharm. Pharmacol.*, **2010**, 62, 547-562.

⁸⁷ K.M. Boatright, G.S. Salvesen, *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **2003**, 15, 725-731.

plusieurs caspases effectrices en cascade. Il en résulte les changements morphologiques et biochimiques caractéristiques de la mort cellulaire programmée (Figure 108).

La seconde voie extrinsèque (également nommée « à domaine de mort ») fonctionne indépendamment de la mitochondrie et est activée par des récepteurs à la surface de la cellule. La liaison de ligands à des récepteurs de mort transmembranaires comme Fas ou ceux de la famille des TNF (*Tumor Necrosis Factor*) induit la mobilisation de protéines intracellulaires adaptatrices FADD (*Fas-Associated Death Domain*) qui s'associent à la procaspase-8 pour former le DISC (*Death-Inducing Signaling Complex*). Ce complexe permet d'activer la caspase-8 qui à son tour initie la cascade d'évènements biochimiques gouvernés par les caspases (en particulier 3 et 7) aboutissant à l'apoptose (Figure 108).

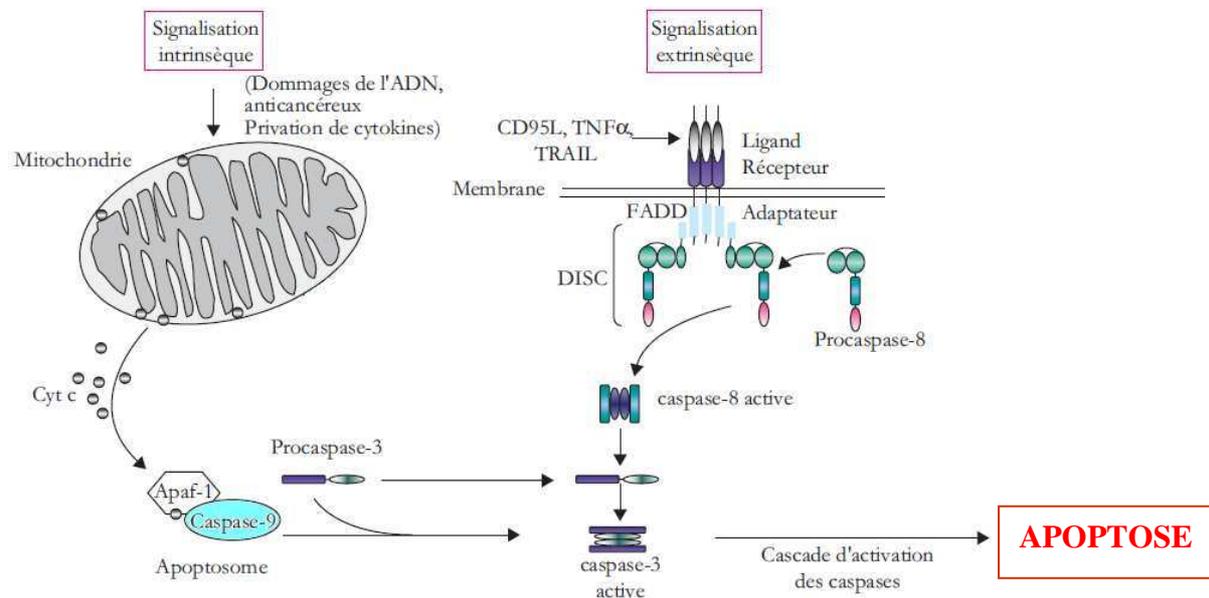


Figure 108 : Voies de signalisation de l'apoptose. (Adapté de Ségal-Bendirdjian et al.⁸⁵)

Il faut noter que, dans le cas de la voie intrinsèque, la perméabilisation de la membrane mitochondriale externe qui permet le relargage des protéines responsables de l'apoptose est sous le contrôle des protéines de la famille des Bcl-2 dont le rôle primordial dans l'apoptose sera détaillé dans la partie suivante.

II. CONTROLE DE L' APOPTOSE PAR LES PROTEINES DE LA FAMILLE DES BCL-2

II.1. Classification

Comme nous l'avons évoqué précédemment, l'apoptose est contrôlée génétiquement, notamment par les gènes codant pour la famille des protéines Bcl-2 (*B-cell lymphoma-2*) qui permettent le maintien des cellules en vie ou déclenchent leur mort par la voie mitochondriale. Bcl-2 désigne un ensemble de protéines dont le premier représentant nommé également Bcl-2, a été identifié par observation d'une translocation chromosomique caractéristique t(14;18) se produisant dans 85% des lymphomes folliculaires et 20% des lymphomes diffus à cellules B et causant la dérégulation de l'expression de ce gène au niveau transcriptionnel⁸⁸.

Les protéines de la famille Bcl-2 ont été classées d'une part selon leur fonction, à savoir déclencher la mort cellulaire programmée ou maintenir la cellule en vie et d'autre part sur des critères structuraux.

Bien que les 25 membres de cette famille affichent une relativement faible similarité de séquence (<20%), tous se caractérisent par la présence d'au moins une des quatre régions conservées dénommées domaines BH (*Bcl2-Homology domain*) qui sont à la base des interactions entre les différents membres de la famille des protéines Bcl-2⁸⁹.

On distingue ainsi deux groupes de protéines (Figure 109) :

- les protéines anti-apoptotiques comme Bcl-2, Bcl-x_L, Bcl-w, Mcl-1 ou Bfl-1 qui maintiennent la cellule en vie. Toutes ces protéines partagent une homologie de séquence au niveau des quatre domaines BH1-4.
- les protéines pro-apoptotiques responsables du déclenchement de l'apoptose, se divisent en deux catégories :

- les membres pro-apoptotiques multidomains qui comportent, entre autres, Bax, Bak et Bok.

⁸⁸ M.H. Kang, C.P. Reynolds, *Clin. Cancer Res.*, **2009**, *15*, 1126-1132.

⁸⁹ G.J.P. Rautureau, C.L. Day, M.G. Hinds, *Int. J. Mol. Sci.*, **2010**, *11*, 1808-1824.

- les membres pro-apoptotiques « BH3 seulement » ne contenant que le domaine BH3 dont font partie Bid, Bad, Bim, Bik et Hrk.

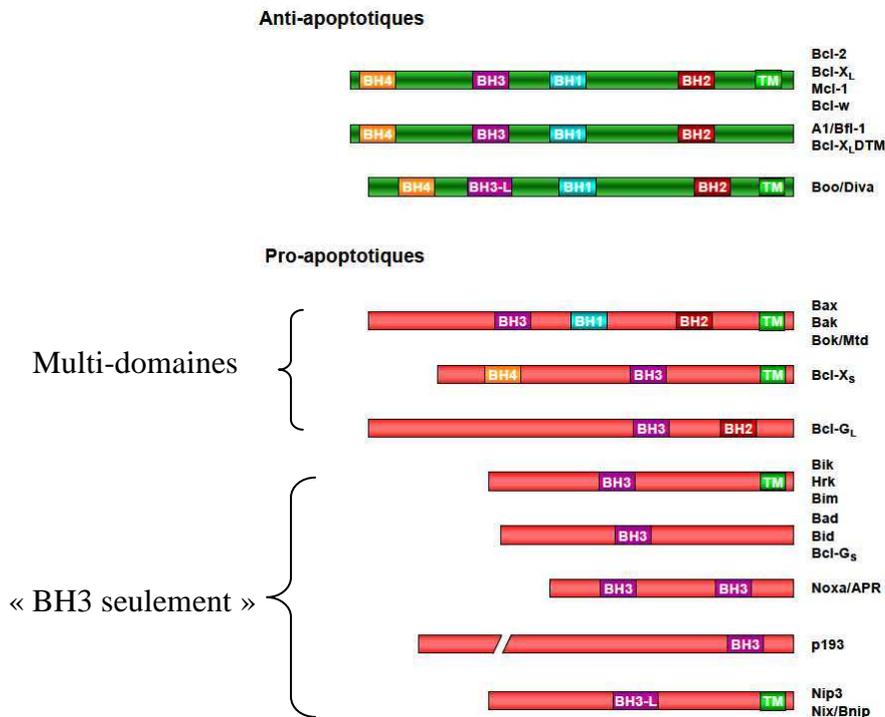


Figure 109 : Domaines structuraux des protéines pro- et anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2. (D'après bictel.ulg.ac.be/ETD-db/collection/.../05INTRO_CHAPITRE2.pdf)

La détermination de la structure tridimensionnelle des protéines de la famille des Bcl-2 a permis de mettre en évidence les interactions entre les protéines pro- et anti-apoptotiques à l'origine de la régulation de l'apoptose.

II.2. Structure tridimensionnelle

La première structure caractérisée par cristallographie aux rayons X (PDB 1MAZ) et par RMN (PDB 1LXL) a été celle de la protéine anti-apoptotique Bcl-x_L^{90,91}. Deux hélices α hydrophobes ($\alpha 5$ et $\alpha 6$) constituent le cœur de la protéine qui est entouré de 6 autres hélices amphiphiles, connectées entre elles par des boucles de différentes longueurs (Figure 110A).

La séquence NWGR précédant l'hélice $\alpha 5$ est hautement conservée chez les protéines Bcl-2 et joue un rôle structural et fonctionnel important. En effet, le résidu tryptophane permet

⁹⁰ S.W. Muchmore, M. Sattler, H. Liang, R.P. Meadows, J.E. Harlan, H.S. Yoon, D. Nettlesheim, B.S. Chang, C.B. Thompson, S.-L. Wong, S.-C. Ng, S.W. Fesik, *Nature*, **1996**, *381*, 335-341.

⁹¹ A.M. Petros, E.T. Olejniczak, S.W. Fesik, *Biochim. Biophys. Acta*, **2004**, *1644*, 83-94.

d'établir des contacts hydrophobes avec certains résidus de $\alpha 6$ et $\alpha 7$, tandis que l'arginine intervient dans les interactions avec les protéines pro-apoptotiques.

Le site d'interaction protéine/protéine régulant les phénomènes d'apoptose se situe au niveau d'un sillon hydrophobe localisé à la surface des protéines anti-apoptotiques, délimité par les hélices $\alpha 3$ et $\alpha 4$ et au sommet par les domaines d'homologie BH1, BH2 et BH3. Le sillon hydrophobe de Bcl-x_L est représenté en jaune en Figure 110B.

La forte analogie entre les domaines BH3 des différents membres des protéines de la famille des Bcl-2 se traduit par des structures tridimensionnelles proches comme le montre la superposition des protéines anti-apoptotiques Bcl-x_L et Bcl-2 (Figure 110C).

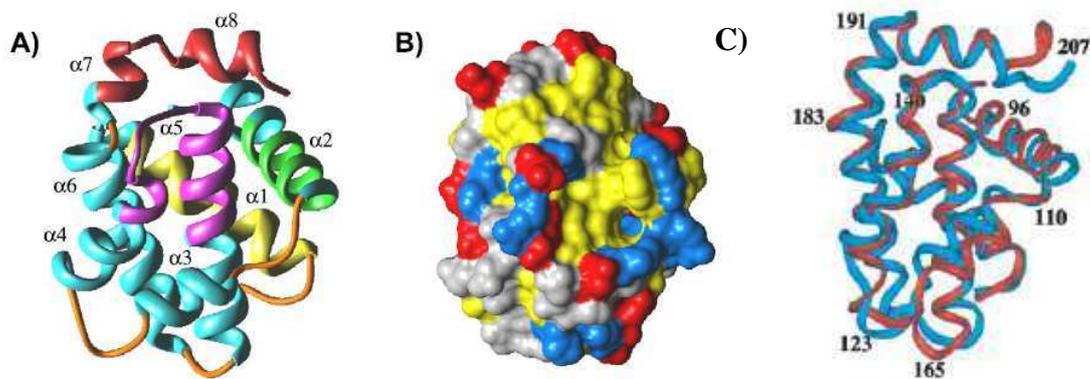


Figure 110 : Représentation de la structure 3D (A) et de la surface (B) de Bcl-x_L. Surposition de Bcl-x_L (bleu) avec Bcl-2 (rouge) (C). (D'après Petros et al.⁹¹).

En outre, la structure RX de cinq autres protéines a été déterminée : Bcl-2⁹², Bcl-w⁹³, Mcl-1⁹⁴, Bax⁹⁵, Bid⁹⁶ et KSHV-Bcl-2⁹⁷ (*Kaposi Sarcoma-associated Herpes Virus*).

II.3. Localisation

Les protéines anti-apoptotiques se situent principalement au niveau de la membrane externe mitochondriale mais également au niveau de l'enveloppe nucléaire et du réticulum endoplasmique.

⁹² A. M. Petros, A. Medek, D. G. Nettesheim, D. H. Kim, H. S. Yoon, K. Swift, E. D. Matayoshi, T. Oltersdorf, S. W. Fesik, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2001**, 98, 3012-3017.

⁹³ A. Y. Denisov, M. S. R. Madiraju, G. Chen, A. Khadir, P. Beuparlant, G. Attardo, G. C. Shore, K. Gehring, *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278, 21124-21128.

⁹⁴ C. L. Day, L. Chen, S. J. Richardson, P. J. Harrison, D. C. S. Huang, M. G. Hinds, *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280, 4738-4744.

⁹⁵ M. Suzuki, R. J. Youle, N. Tjandra, *Cell*, **2000**, 103, 645-654.

⁹⁶ J. J. Chou, H. Li, G. S. Salvesen, J. Yuan, G. Wagner, *Cell*, **1999**, 96, 615-624.

⁹⁷ Q. Huang, A. M. Petros, H. W. Virgin, S. W. Fesik, E. T. Olejniczak, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2002**, 99, 3428-3433.

Les pro-apoptotiques, quant à elles, sont localisées dans le cytoplasme ou dans la membrane mitochondriale ou nucléaire selon leur état d'activation.

Par exemple, la protéine Bad est phosphorylée et associée aux protéines 14-3-3 dans la cellule saine. En réponse à des stimuli apoptotiques, Bad est déphosphorylée par des phosphatases et migre du cytoplasme vers la mitochondrie où elle va interagir avec les protéines anti-apoptotiques⁸⁶.

II.4. Mécanisme mis en jeu dans la régulation de l'apoptose

Nous exposerons dans ce paragraphe la façon dont les protéines de la famille des Bcl-2 interagissent pour réguler l'apoptose.

Comme nous l'avons évoqué précédemment, le relargage du cytochrome *c* dans le cytosol déclenche l'activation en cascade des caspases, ce qui marque un point de non retour dans la voie conduisant à l'apoptose.

En amont, ce sont les protéines de la famille des Bcl-2 qui, par le biais d'interactions protéine/protéine orchestrent les mécanismes apoptotiques dans la voie de signalisation intrinsèque.

Ainsi, l'entrée de la cellule en apoptose repose sur une activation des protéines pro-apoptotiques Bak ou Bax. Ces protéines multi-domaine, lorsqu'elles ne sont pas activées, se trouvent sous forme monomérique dans le cytoplasme (Bax) ou dans la membrane mitochondriale externe (Bak). En réponse à divers signaux apoptotiques, elles vont subir des changements conformationnels, s'homo-oligomériser et former des pores induisant la perméabilisation de la membrane externe mitochondriale.

L'activation de Bak et de Bax se fait grâce aux protéines pro-apoptotiques « BH3 seulement » selon un mécanisme encore controversé. Deux modèles possibles ont été proposés pour la régulation de l'apoptose par Bak et Bax^{98,99} :

- un mode d'activation directe (Figure 111A) : les protéines pro-apoptotiques « BH3 seulement » se classeraient en deux catégories : les « activateurs » (Bim, tBid, Puma) qui se lient à la fois aux protéines anti-apoptotiques et à Bak/Bax, et les « sensibilisateurs » (Bad,

⁸⁶ K.L. Moffitt, S.L. Martin, B. Walker, *J. Pharm. Pharmacol.*, **2010**, *62*, 547-562.

⁹⁸ M.F. van Delft, D.C.S. Huang, *Cell Res.*, **2006**, *16*, 203-213.

⁹⁹ S.N. Willis, J.M. Adams, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2005**, *17*, 617-625.

Bik, Hrk, Noxa) qui ne peuvent interagir qu'avec les anti-apoptotiques. Dans les cellules en fonctionnement normal, les activateurs (Bim par exemple) sont séquestrés par les protéines anti-apoptotiques Bcl-2. Faisant suite à des stimuli cytotoxiques, le sensibilisateur Bad est déphosphorylé et peut se lier aux protéines Bcl-2, libérant ainsi Bim qui va se lier alors à Bak/Bax pour déclencher leur oligomérisation et ainsi conduire la cellule vers l'apoptose.

- un mode d'activation indirecte (Figure 111B): encore appelé modèle de neutralisation des protéines anti-apoptotiques car il remet en cause la capacité des protéines « BH3 seulement » à se lier aux pro-apoptotiques multi-domaines Bak/Bax. Ainsi Bim activerait Bak/Bax en dissociant le complexe que ces protéines pro-apoptotiques établissent avec Bcl-2 au profit de la formation du complexe Bim/Bcl-2. Ceci entraîne la libération des protéines Bak/Bax qui peuvent alors se complexer et induire l'apoptose.

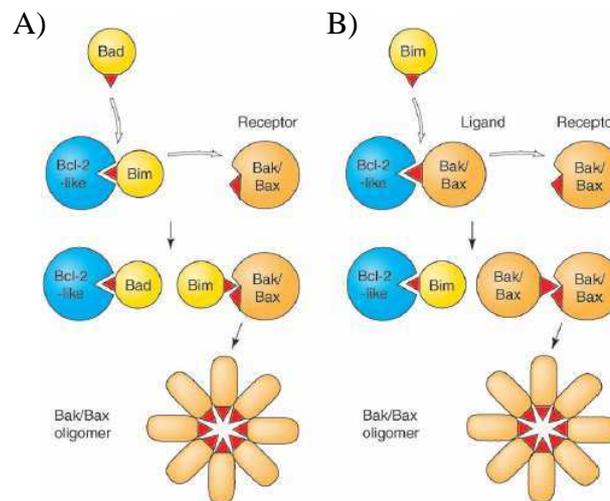


Figure 111 : Modèles d'activation de Bak/Bax par les protéines « BH3 seulement ». A) Direct. B) Indirect. (D'après Willis et al.⁹⁹).

II.5. Interactions fondamentales

Les protéines de la famille des Bcl-2 sont des régulateurs clé de l'apoptose : leur expression est à l'origine du maintien de la cellule en vie ou du déclenchement de sa mort.

Les interactions protéine/protéine mises en jeu entre les membres pro- et anti-apoptotiques vont déterminer le devenir de la cellule (Figure 112).

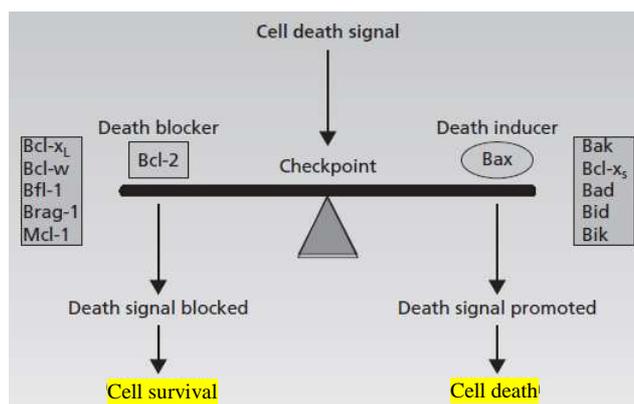


Figure 112 : Contrôle du devenir de la cellule par les protéines pro- et anti-apoptotiques. (D'après Moffitt et al.⁸⁶).

En effet, les protéines pro-apoptotiques peuvent se lier par l'intermédiaire de leur domaine BH3 au sillon hydrophobe présent chez les anti-apoptotiques. De façon plus détaillée, il a été montré que l'affinité repose sur l'interaction entre un court segment du domaine BH3 des protéines pro-apoptotiques et une surface plus étendue incluant les domaines BH1 et BH2 des représentants anti-apoptotiques⁹¹. Ces interactions ont été mises en évidence lors de l'étude du complexe entre Bcl-x_L et un court peptide de 16 résidus provenant de Bak (Bak₇₂₋₈₇). Les caractéristiques moléculaires de cette hétérodimérisation ont été davantage explorées par RMN.

Le peptide Bak se présente sous forme d'une hélice α amphiphile lorsqu'il est complexé à Bcl-x_L. Son affinité avec la protéine anti-apoptotique Bcl-x_L ($K_d = 340$ nM) repose principalement sur la présence de résidus hydrophobes qui pointent à l'intérieur de la zone d'interaction protéine/protéine et établissent des interactions clé avec des zones hydrophobes du sillon de Bcl-x_L (Figure 113). L'importance de ces interactions a été démontrée en testant l'affinité d'un peptide mutant de Bak pour Bcl-x_L : l'introduction d'un résidu Ala à la place du résidu Leu⁷⁸ induit une diminution de l'affinité de 800 fois pour la protéine.

De plus, les chaînes latérales chargées du peptide contribuent à la stabilisation du complexe par le biais d'interactions de nature électrostatique.

⁹¹ A.M. Petros, E.T. Olejniczak, S.W. Fesik, *Biochim. Biophys. Acta*, **2004**, 1644, 83-94.

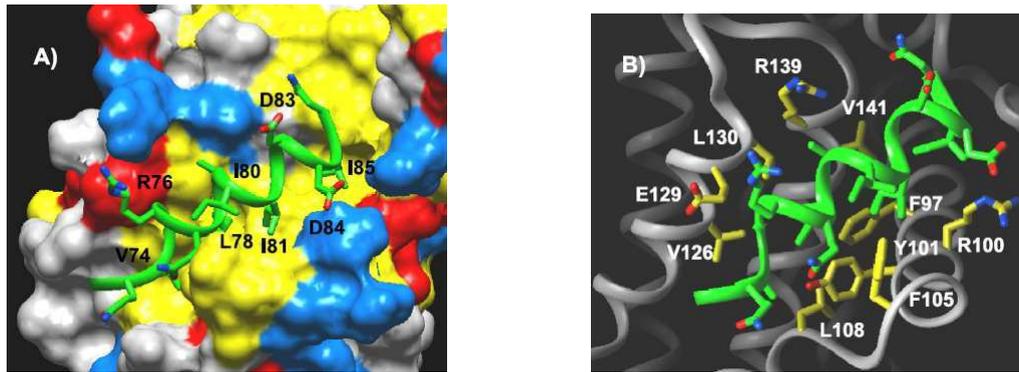


Figure 113 : Représentation du complexe Bak/Bcl-x_L. Les résidus hydrophobes clé du peptide (A) et de Bcl-x_L (B) sont indiqués. (D'après Petros et al.⁹¹).

Les effets sur l'organisme résultant d'une surexpression des protéines anti-apoptotiques ne sont pas anodins : un déséquilibre du ratio pro-/anti-apoptotiques conduit au développement de tumeurs. Ainsi, Bcl-2 serait surexprimée dans 80% des lymphomes à cellule B, 90% des adénocarcinomes colorectaux ainsi que dans les cancers de la prostate. En outre, un taux anormalement élevé de Bcl-x_L aurait été relevé principalement dans les cancers du sein ou du poumon¹⁰⁰.

De plus, la surexpression de ces protéines confère une résistance des cellules malades aux traitements de chimiothérapie. Par exemple, une diminution de la sensibilité cellulaire vis-à-vis de 122 agents anticancéreux a été corrélée à une surexpression de Bcl-x_L¹⁰¹.

Afin de rétablir l'apoptose dans les cellules tumorales, plusieurs approches détaillées dans la section suivante ont pu être abordées.

¹⁰⁰ S. E. Rutledge, J. W. Chin, A. Schepartz, *Cur. Opin. Chem. Biol.*, **2002**, 6, 479-485.

¹⁰¹ S.A. Amundsons, T.G. Myers, D. Scudiero, S. Kitada, J.C. Reed, A.J. Fornace Jr., *Cancer Res*, **2000**, 60, 6101-6110.

III. INHIBITION DES PROTEINES ANTI-APOPTOTIQUES

La plupart des thérapies anticancéreuses actuelles, en endommageant l'ADN ou en altérant sa réplication induisent indirectement l'apoptose dans les cellules tumorales. Ces traitements échouent lorsque les Bcl-2 sont surexprimées ou quand des mutations affectent les voies conduisant à l'activation des protéines « BH3 seulement ».

Ainsi, différentes approches visant à inhiber les protéines anti-apoptotiques de la famille Bcl-2 telles que les stratégies décrites ci-dessous ont été développées.

III.1. Thérapie antisens

L'utilisation d'outils biologiques est l'une des stratégies dédiées à rétablir l'équilibre entre les protéines pro- et anti-apoptotiques. Ainsi, une des premières approches explorées a été la thérapie antisens¹⁰².

Cette technique repose sur l'utilisation d'un oligonucléotide antisens conçu pour reconnaître et se lier spécifiquement à l'ARNm de façon à inhiber sa traduction en protéine (Figure 114).

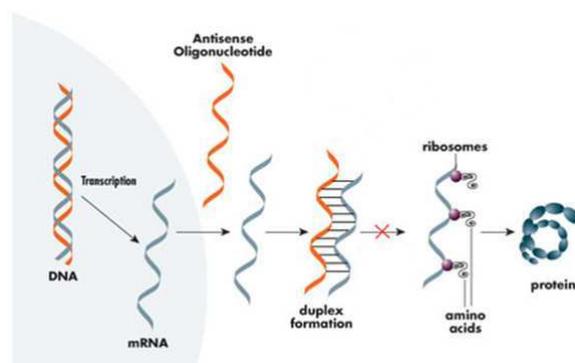


Figure 114 : Schéma explicatif de la thérapie antisens. (D'après A. Patel, *Drug Discovery & Development*, 2008, 11, 30-32).

L'agent le plus efficace à ce jour est l'Oblimersen (Genasense[®])¹⁰³. Développé par Genta Inc., cet oligonucléotide est complémentaire à l'ARNm de Bcl-2. Il est actuellement en phase II

¹⁰² N. Dias, C. A. Stein, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2002, 54, 263-269.

¹⁰³ R.S. Herbst, S.R. Frankel, *Clin. Cancer Res.*, 2004, 10, 4245s.

d'essais cliniques pour le lymphome non Hodgkinien et en phase III pour le mélanome et la leucémie lymphocytaire chronique¹⁰⁴.

Cependant, les problèmes de stabilité *in vivo* des oligonucléotides a induit le développement d'agents thérapeutiques interagissant directement avec les protéines Bcl-2.

On peut supposer que de petites molécules s'insérant dans le site de fixation du domaine BH3 des protéines anti-apoptotiques pourraient bloquer l'hétérodimérisation des protéines Bcl-2. Ceci permettrait de neutraliser les protéines anti-apoptotiques et ainsi restaurer l'apoptose (Figure 115).

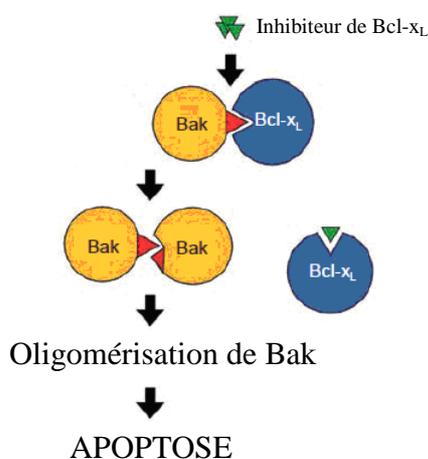


Figure 115 : Action des inhibiteurs antagonistes du domaine BH3 des protéines anti-apoptotiques. (D'après van Delft et al.⁹⁸).

Depuis une dizaine d'années, la recherche autour de nouveaux agents anticancéreux ciblant les Bcl-2 a été florissante et concerne différentes classes de composés : des peptides correspondant au domaine BH3 des protéines pro-apoptotiques ou des petites molécules de nature non peptidique.

III.2. Inhibiteurs peptidiques

Un intérêt croissant a été apporté au développement de structures mimant les hélices α en raison de leur rôle prépondérant dans les interactions protéine/protéine. Plus précisément, le développement de peptides correspondant au domaine BH3 des protéines pro-apoptotiques a été entrepris.

¹⁰⁴ http://www.genta.com/Products_and_Pipeline/Genasense/Genasense.html

III.2.a. Peptides mutés

Une première stratégie consiste à employer des peptides analogues de Bad ou Bak afin de rétablir le phénomène d'apoptose. Ainsi, Petros et *al.*¹⁰⁵, en modifiant les séquences peptidiques de Bad et Bak par mutagenèse dirigée, ont pu accéder à des peptides présentant un taux d'hélicité supérieur et une affinité accrue pour Bcl-x_L par rapport aux peptides Bad et Bak originels (Figure 116).

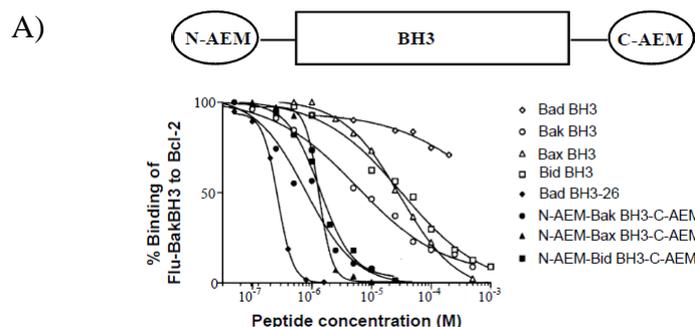
Sequence		<i>K_d</i> (nM)
GQVGRQLAIIIGDDINR	(Bak 16-mer)	480
QRYGRELRRMSDEFVD	(Bad 16-mer)	50,000
NLWAAQRYGRELRRMSDEFVDSFVK	(Bad 25-mer)	0.6
AL WAAQRYGRELRRMSDEFVDSFVK		0.4
NA WAAQRYGRELRRMSDEFVDSFVK		0.7
NLAAA AQRYGRELRRMSDEFVDSFVK		0.3
AAAA AQRYGRELRRMSDEFVDSFVK		0.5
NLWGA QRYGRELRRMSDEFVDSFVK		0.8
NLWAGQ RYGRELRRMSDEFVDSFVK		2.4
NLWAAQRYGRELRRMSDEFV DA FKK		0.3
NLWAAQRYGRELRRMSDEFV SA KK		2.1
NLWAAQRYGRELRRMSDEFV DF AK		1.2
NLWAAQRYGRELRRMSDEFV DF KA		0.2

Figure 116 : Affinité des peptides mutés pour Bcl-x_L. (D'après Petros et *al.*¹⁰⁵).

La longueur de la séquence peptidique est un paramètre à prendre en compte pour augmenter l'inhibition. C'est pourquoi l'ajout de motifs de 5 résidus aux extrémités C et N-terminales de la séquence du domaine BH3 nécessaire à la complexation (16 résidus) de Bad ou de Bak a été réalisée. Ceci a permis d'augmenter la surface d'interaction protéine/protéine existant avec le sillon hydrophobe des protéines anti-apoptotiques mais surtout d'accroître le taux d'hélicité, ce qui se traduit par un gain d'affinité pour Bcl-2¹⁰⁶ comme l'illustre la Figure 117 A. Ainsi, le peptide Bak BH3 modifié possède une **IC₅₀** de **0,65 μM** sur Bcl-2 contre **8,36 μM** pour le peptide de 16 résidus, cette différence d'affinité étant corrélée au taux d'hélicité (67,7 % contre 21,8% dans l'eau avec 50% de TFE) (Figure 117 B).

¹⁰⁵ A. M. Petros, D. G. Nettesheim, Y. Wang, E. T. Olejniczak, R. P. Meadows, J. Mack, K. Swift, E. D. Matayoshi, H. Zhang, C. B. Thompson, S. W. Fesik, *Protein Sci.*, **2000**, 9, 2528-2534.

¹⁰⁶ D. Liu, B. Yang, R. Cao, Z. Huang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 4467-4469.



B)

BH3 domain peptides	Sequence	IC ₅₀ (μM)	% Helix
Bak BH3	GQVGRQLAIIGDDINR	8.36	6.1/7.3/14.6/21.8
Bak BH3-26	PSSTMGOVGRQLAIIGDDINRRYDSE	3.03	7.3/8.9/25.2/37.7
N-AEM-Bak BH3-C-AEM	NLWAAGQVGRQLAIIGDDINRSFKGL	0.65	8.1/11.4/56.7/67.7

CD spectra were acquired in 0%, 10%, 30%, 50% TFE.

Figure 117 : A) Affinités des peptides modifiés et non modifiés pour Bcl-2. (AEM = Affinity-Enhancing Motifs). B) Taux d'hélicité et IC₅₀(Bcl-2) du peptide Bak BH3 modifié et non modifié. (D'après Liu et al.¹⁰⁶).

Cependant, l'utilisation *in vivo* de ces structures peptidiques semble compromise en raison de leur mauvaise stabilité et de leur faible capacité à traverser les membranes cellulaires.

III.2.b. Peptides « en agraphe »

Une alternative consistant à incorporer un ou plusieurs ponts hydrocarbonés à la structure des peptides permettrait de limiter la dégradation protéolytique¹⁰⁷. Le groupe de Korsmeyer a inséré dans la séquence peptidique du domaine BH3 de Bid ou de Bad des acides aminés non naturels substitués en α par une chaîne oléfinique. Une réaction par méthathèse croisée catalysée au ruthénium entre deux résidus non naturels conduit à la formation de ces ponts hydrocarbonés intramoléculeaires. Le renforcement de la structure hélicoïdale induite par ces « agraphes » a été démontré par dichroïsme circulaire : le peptide Bid BH3 ne présente que 16% d'hélicité en solution contre 86% pour le peptide stabilisé (Figure 118).

¹⁰⁷ L. D. Walensky, A. L. Kung, I. Escher, T. J. Malia, S. Barbuto, R. D. Wright, G. Wagner, G. L. Verdine, S. J. Korsmeyer, *Science*, **2004**, 305, 1466-1470.

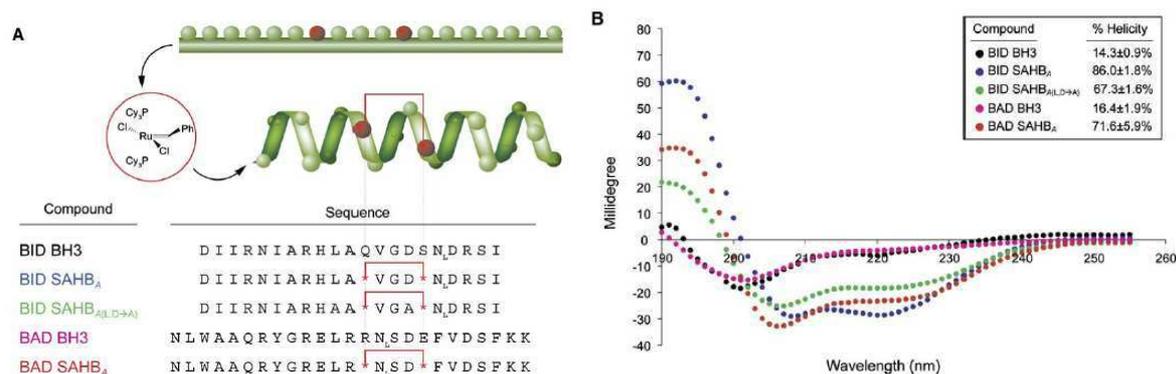


Figure 118 : A) Stabilisation du peptide Bid par une agrafe de S-pentenyl alanine. B) Dichroïsme circulaire montrant la structure α-hélicoïdale des peptides modifiés. (D'après Walensky et al.¹⁰⁸).

Des expériences par polarisation de fluorescence ont montré la corrélation entre le gain d'hélicité et l'affinité : ainsi, le peptide Bid SAHB_A (*Stabilized alpha-helix of Bcl-2 domains*) se complexe à Bcl-x_L en solution avec une meilleure affinité que le peptide Bid BH3 ($EC_{50} = 230$ vs. 745 nM)¹⁰⁸.

III.2.c. Peptides « mixtes »

Dans un dernier temps, la synthèse d'oligomères non naturels pouvant adopter une conformation particulière a été effectuée afin de mimer la structure hélicoïdale des protéines pro-apoptotiques^{109,110}. Les squelettes mixtes α/β-peptidiques se sont révélés être de bons mimés du domaine BH3 : les foldamères **1** et **2** représentés en Figure 119 se lient à Bcl-x_L avec des K_i de **2 nM** et **5 nM** respectivement.

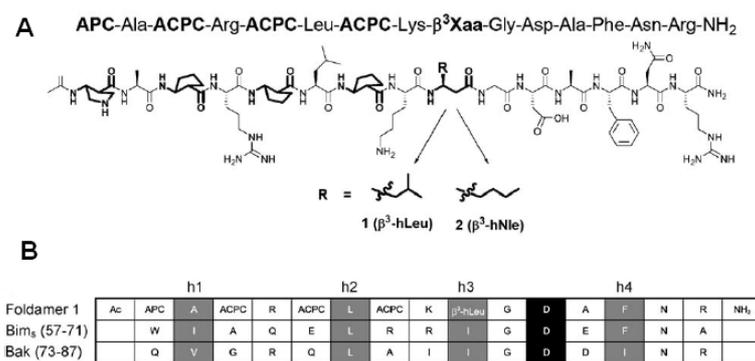


Figure 119 : A) Structure des peptides **1 et **2** (β-aminoacides représentés en gras). B) Alignement des séquences des domaines BH3 (h1-h4) de Bim et Bak avec **1**. (D'après Lee et al.¹¹⁰).**

¹⁰⁸ L. D. Walensky, K. Pitter, J. Morash, K. Joon Ho, S. Barbuto, J. Fisher, E. Smith, G. L. Verdine, S. J. Korsmeyer, *Mol. Cell*, **2006**, *24*, 199-210.

¹⁰⁹ J. D. Sadowsky, M. A. Schmitt, H.-S. Lee, N. Umezawa, S. Wang, Y. Tomita, S. H. Gellmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 11966-11968.

¹¹⁰ E. F. Lee, J. D. Sadowsky, B. J. Smith, P. E. Czabotar, K. J. Peterson-Kaufman, P. M. Colman, S. H. Gellman, W. D. Fairlie, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 4318-4322.

La co-cristallisation de **1** avec Bcl-x_L montre que l'oligomère adopte une conformation en hélice et s'oriente dans le site de fixation du domaine BH3 de la protéine anti-apoptotique de la même manière que le ligand naturel en formant un enchaînement régulier de liaisons hydrogène C=O(*i*)...H-N(*i*+4) (Figure 120).

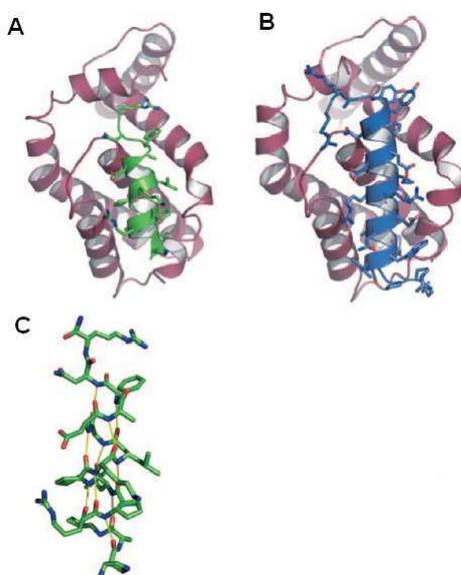


Figure 120 : Structures RX de Bcl-x_L complexée à **1** (en vert, A) et au peptide Bim (en bleu, B). C) Structure de **1**. (D'après Lee et al.¹¹⁰).

Parmi les différents peptides présentés ci-dessus, les peptides « en agraphe » présentent une meilleure affinité avec les protéines anti-apoptotiques et sont plus stables. Cependant, malgré les modifications chimiques apportées, ces structures ne répondent pas aux exigences pharmacologiques requises pour des tests cliniques.

C'est pourquoi les recherches actuelles sur l'inhibition des protéines anti-apoptotiques s'orientent vers le développement de petites molécules qui permettraient de pallier les problèmes de stabilité et de pénétration cellulaire des composés de nature peptidique.

III.3. Inhibiteurs non peptidiques

Cette catégorie regroupe la plupart des inhibiteurs de protéines anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2 connus à ce jour. Nous en présenterons ci-dessous les principaux en terminant par les mimes d'hélices qui correspondent au concept sur lequel est basé le projet de recherche sur lequel j'ai travaillé.

III.3.a. HA 14-1

Le premier ligand non peptidique de protéines anti-apoptotiques Bcl-2 a été découvert en 2000 par criblage virtuel de 190 000 composés. Ce composé nommé HA14-1 est un inhibiteur modéré puisqu'il dissocie le complexe Bak BH3/Bcl-2 avec une IC_{50} de $9 \mu M$ ¹¹¹.

Il restaure l'apoptose dans de nombreux cancers tels que les lymphomes, glioblastomes, neuroblastomes ou cancer du côlon⁸⁸.

Mais la faible stabilité en solution de HA14-1 compromet son utilisation en milieu biologique¹¹². Afin de pallier cet inconvénient, Tian *et al.* ont synthétisé un analogue de HA14-1, le sHA 14-1 qui s'est avéré 96 fois plus stable que le HA14-1 ($t_{1/2} > 24h$ contre 15 min).

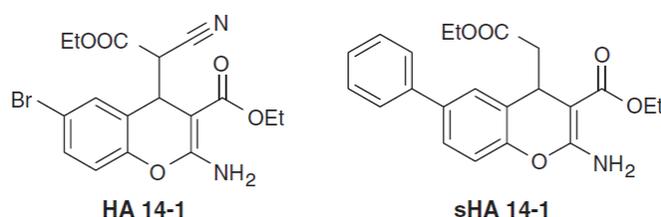


Figure 121 : Structures du HA 14-1 et du sHA 14-1.

Cet analogue présente par ailleurs une cytotoxicité similaire à celle de HA14-1 et déplace le peptide Bak BH3 de Bcl-2 ou Bcl-x_L de façon plus marquée que HA14-1 comme l'ont démontré des expériences de polarisation de fluorescence (Figure 122).

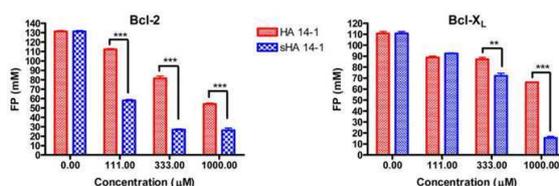


Figure 122 : Expériences de FP mesurant la compétition de fixation entre HA 14-1 ou sHA 14-1 et le peptide Bak BH3. (D'après Tian *et al.*¹¹²). Une diminution de la fluorescence de polarisation se traduit par une plus grande affinité de complexation

⁸⁸ M.H. Kang, C.P. Reynolds, *Clin. Cancer Res.*, **2009**, *15*, 1126-1132.

¹¹¹ J.-L. Wang, D. Liu, Z.-J. Zhang, S. Shan, X. Han, S. M. Srinivasula, C. M. Croce, E. S. Alnemri, Z. Huang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2000**, *97*, 7124-7129.

¹¹² D. Tian, S. G. Das, J. M. Doshi, J. Peng, J. Lin, C. Xing, *Cancer Lett.*, **2008**, *259*, 198-208.

III.3.b. Famille des BH3I

Après criblage d'une bibliothèque de 16 320 composés, Degterev et *al.*¹¹³ ont retenu sept composés comme inhibiteurs de l'interaction Bak BH3/Bcl-x_L. Ces molécules ont été classées en deux familles : des thiazolidines (BH3I-1) et des benzamides (BH3I-2).

Des études de polarisation de fluorescence ont montré que ces composés avaient une affinité modérée pour Bcl-x_L, de l'ordre du **micromolaire**. Les constantes d'inhibition relatives à la dissociation du complexe Bak BH3/Bcl-x_L ainsi que la structure de représentants de la famille BH3I sont répertoriées en Figure 123.

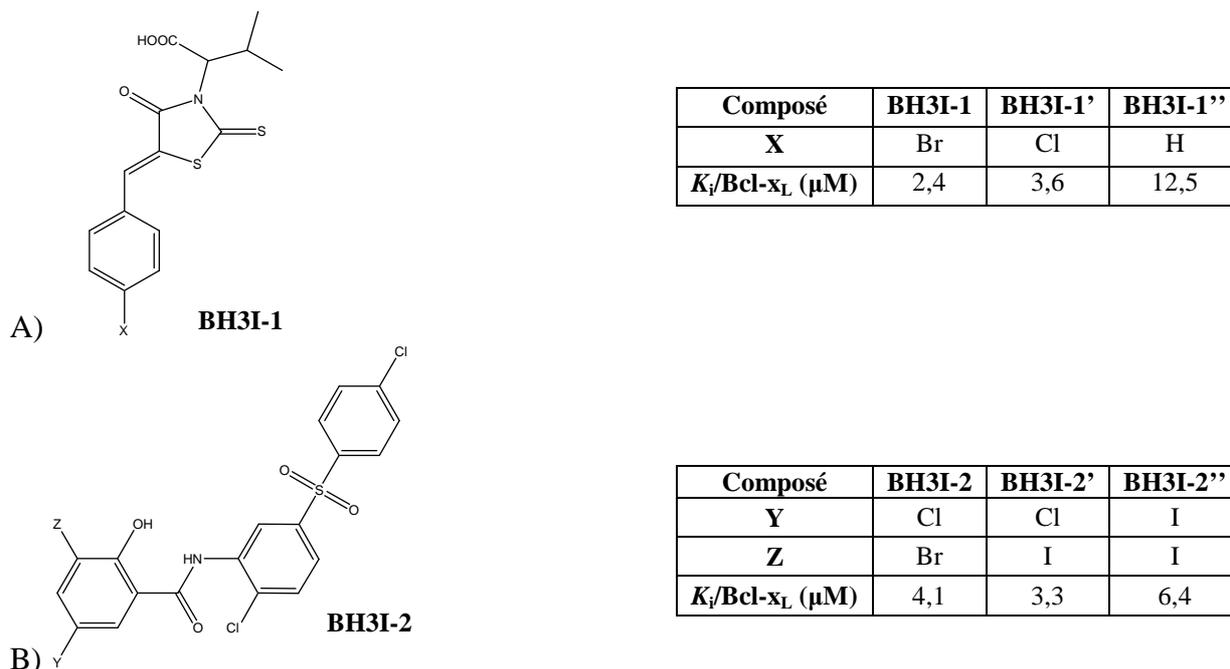


Figure 123 : Structure et constantes d'affinité $K_i(\text{Bcl-x}_L)$ des composés BH3I-1 (A) et BH3I-2 (B).

Lugovskoy et *al.*¹¹⁴ ont développé une méthode de modélisation moléculaire permettant de prédire les activités inhibitrices des BH3I sur Bcl-x_L. Ils ont aussi démontré la concordance des prédictions avec les résultats expérimentaux. Cette méthode appliquée à des analogues des BH3I issus d'une bibliothèque de composés a conduit à l'identification de BH3I-1SCH₃ (Figure 124) comme nouvel inhibiteur de Bcl-x_L avec un **K_i de 8,5 μM**.

¹¹³ A. Degterev, A. Lugovskoy, M. Cardone, B. Mulley, G. Wagner, T. Mitchinson, J. Yuan, *Nat. Cell Biol.*, **2001**, 3, 173-182.

¹¹⁴ A. A. Lugovskoy, A. I. Degterev, A. F. Fahmy, P. Zhou, J. D. Gross, J. Yuan, G. Wagner, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 1234-1240.

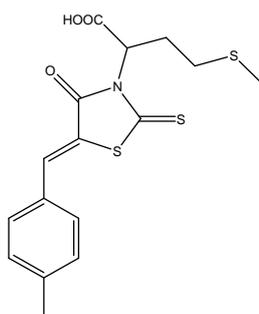


Figure 124 : Structure du BH3I-1SCH₃.

III.3.c. NSC 365400

Dans le but de découvrir de nouvelles classes d'inhibiteurs de l'interaction entre le domaine BH3 des protéines pro-apoptotiques et Bcl-2, le groupe de Wang a entrepris le criblage virtuel de composés issus de la banque de molécules de l'Institut National du Cancer américain¹¹⁵. Le composé le plus actif identifié lors de ces travaux, NSC 365400, possède une **IC₅₀** de **7 μM** pour Bcl-x_L (déterminée par RMN). De plus, ce composé inhibe la croissance cellulaire de la lignée HL-60 (leucémie myéloïde) avec une **IC₅₀** de **4 μM**.

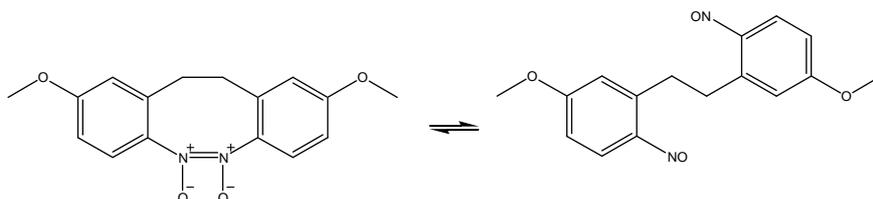


Figure 125 : Structure du NSC 365400.

III.3.d. Chélérythrine

La chélérythrine, identifiée par criblage haut débit d'une bibliothèque de produits naturels, inhibe la complexation de Bak BH3/Bcl-x_L avec une **IC₅₀** de **1,5 μM**. En outre, cet alcaloïde inhibe Bcl-2 et rétablit l'apoptose chez les cellules du neuroblastome humain de la lignée SH-SY5Y surexprimant Bcl-x_L et résistantes à la staurosporine et à l'étoposide¹¹⁶.

¹¹⁵ I. J. Enyedy, Y. Ling, K. Nacro, Y. Tomita, X. Wu, Y. Cao, R. Guo, B. Li, X. Zhu, Y. Huang, Y.-Q. Long, P. P. Roller, D. Yang, S. Wang, *J. Med. Chem.*, **2001**, *44*, 4313-4324.

¹¹⁶ S.-L. Chan, M. C. Lee, K. O. Tan, L.-K. Yang, A. S. Y. Lee, H. Flotow, N. Y. Fu, M. S. Butler, D. D. Soejarto, A. D. Buss, V. C. Yu, *J. Biol. Chem.*, **2003**, *278*, 20453-20456.

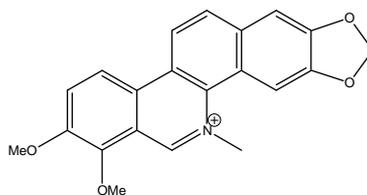


Figure 126 : Structure de la chélerythrine.

III.3.e. Antimycine A

L'antimycine A a été identifiée comme inhibiteur de la respiration mitochondriale. Sa capacité à induire l'apoptose a motivé des simulations d'arrimage sur Bcl-2 et Bcl-x_L. Ainsi, il a été montré que l'antimycine A3 (Figure 127), un analogue de l'antimycine A, se fixe au niveau du sillon hydrophobe de Bcl-2 et dissocie l'hétérodimère Bak BH3/Bcl-2 avec un K_D de **0,82 μM** ¹¹⁷. De plus, ce composé présente des activités antiprolifératives sur des cellules hépatiques surexprimant Bcl-2 et Bcl-x_L qui sont résistantes à d'autres agents anticancéreux¹¹⁸.

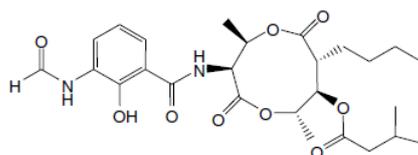


Figure 127 : Structure de l'antimycine A3.

III.3.f. Polyphénols

L'étude par des techniques de RMN, de polarisation de fluorescence et d'arrimage virtuel de la fixation à Bcl-x_L de divers polyphénols issus de thé vert ou noir a permis d'identifier les dérivés d'épigallocatechine comme ligands de Bcl-x_L avec des K_i d'ordre **nanomolaire**. Le plus actif (ECG) est représenté en Figure 128 (K_i (Bcl-x_L) = **120 nM**)¹¹⁹.

¹¹⁷ K. M. Kim, C. D. Giedt, G. Basanez, J. W. O'Neill, J. J. Hill, Y. H. Han, S.-P. Tzung, J. Zimmerberg, D. M. Hockenbery, K. Y. J. Zhang, *Biochemistry*, **2001**, *40*, 4911-4922.

¹¹⁸ S. Shangary, D. E. Johnson, *Leukemia*, **2003**, *17*, 1470-1481.

¹¹⁹ M. Leone, D. Zhai, S. Sareth, S. Kitada, J. C. Reed, M. Pellecchia, *Cancer Res.*, **2003**, *63*, 8118-8121.

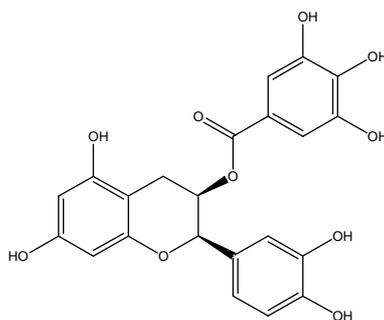


Figure 128 : Structure de l'ECG.

Par ailleurs, certains polyphénols présentent également une activité nanomolaire sur Bcl-2.

III.3.g. Méiogynine A

La synthèse de différents isomères de la méiogynine A, sesquiterpène connu comme inhibiteur de l'interaction Bak/Bcl-x_L (IC₅₀ = 10,7 μM), a permis d'accéder à des analogues possédant une affinité supérieure pour Bcl-x_L. Ainsi, un des isomères de la méiogynine A représenté en Figure 129 possède une IC₅₀ de 2,9 μM sur Bcl-x_L¹²⁰.

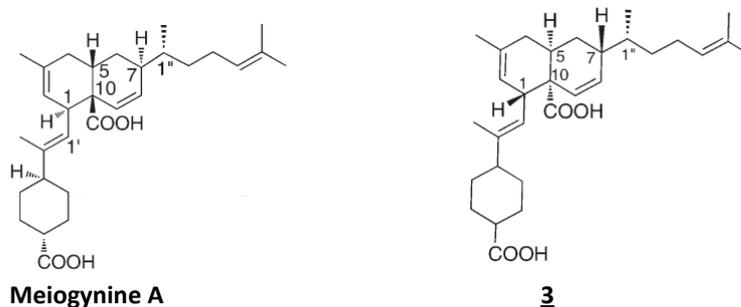


Figure 129 : Structure de la méiogynine A et de **3**, son isomère le plus actif sur Bcl-x_L.

III.3.h. Dérivés de 8-oxo-8H-acénaphtho[1,2-b]pyrrole-9-carbonitrile

Récemment, Zhang et al.¹²¹ ont identifié le composé **4** (Figure 131) comme inhibiteur nanomolaire de Bcl-2 et de Mcl-1.

L'étude des différences structurales entre Bcl-2 et Mcl-1 par modélisation moléculaire a permis de montrer que le domaine BH3 de ces deux protéines se différencie au niveau d'une

¹²⁰ D. Fomekong Fotsop, F. Roussi, A. Leverrier, A. Bretéché, F. Guéritte, *J. Org. Chem.*, **2010**, 75, 7412-7415.

¹²¹ Z. Zhang, G. Wu, F. Xie, T. Song, X. Chang, *J. Med. Chem.*, **2011**, 54, 1101-1105.

poche hydrophobe appelée p2. En effet cette poche est plus étroite et plus profonde chez Mcl-1 que chez Bcl-2.

L'arrimage virtuel de **4** dans Bcl-2 et Mcl-1 a montré que la poche p2 était occupée par la partie thiomorpholine (Figure 130). L'étude de relations structure-activité entreprise par la suite sur cette famille de composés a permis l'accès au dérivé **5** plus spécifique de Mcl-1 avec une IC_{50} de **5 nM** (Figure 131).

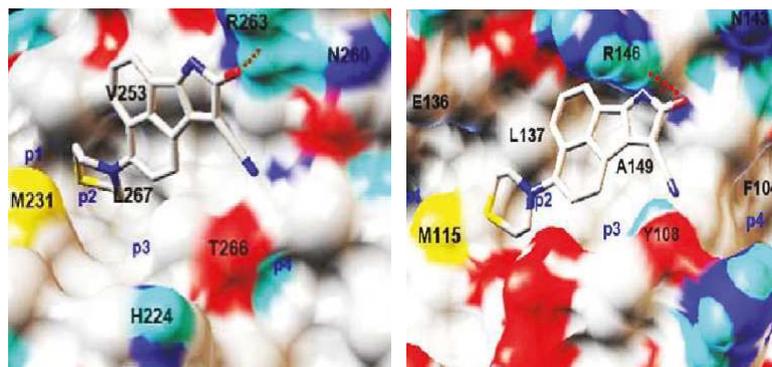
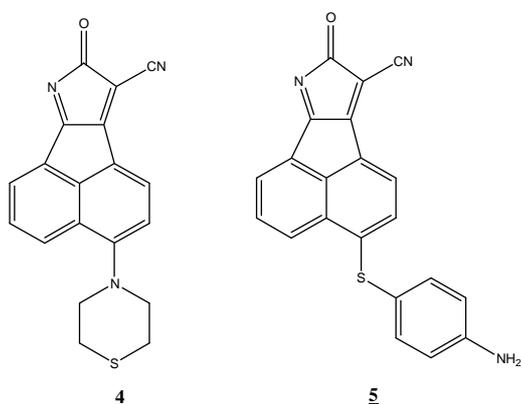


Figure 130 : Modélisation moléculaire de **4** complexé à Mcl-1 (A) et Bcl-2 (B).



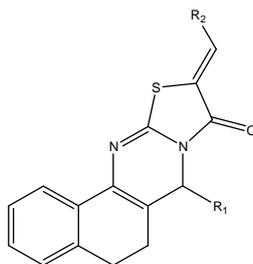
Composé	IC_{50} /Mcl-1 (nM)	IC_{50} /Bcl-2 (nM)
4	35	285
5	5	302

Figure 131 : Valeurs d' IC_{50} des composés **4** et **5** sur Mcl-1 et Bcl-2.

III.3.i. Dérivés de quinazoline-2(1H)-thione

Après criblage virtuel d'une bibliothèque de 77 composés, Feng et *al.*¹²² ont identifié le dérivé **6** comme inhibiteur de Bcl-x_L, avec une IC_{50} de **3,4 μM**. L'étude de relations structure-activité effectuée à partir de ce composé a permis l'accès à plusieurs dérivés dont certains possèdent des activités intéressantes sur Bcl-x_L, Mcl-1 et Bcl-2 (Figure 132).

¹²² Y. Feng, X. Ding, T. Chen, L. Chen, F. Liu, X. Jia, X. Luo, X. Shen, K. Chen, H. Jiang, H. Wang, H. Liu, D. Liu, *J. Med. Chem.*, **2010**, 53, 3465-3479.

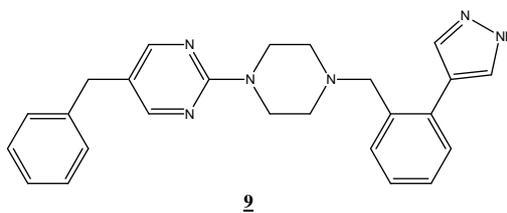


Composé	R ₁	R ₂	IC ₅₀ /Bcl-x _L (μM)	IC ₅₀ /Mcl-1 (μM)	IC ₅₀ /Bcl-2 (μM)
6			3,4	6,4	3,1
7			3	8,6	3,2
8			1,9	nd	nd

Figure 132 : Valeurs d'IC₅₀ déterminées sur Bcl-x_L, Mcl-1 et Bcl-2 pour les composés **6**, **7** et **8**.

III.3.j. Pyrimidinylpiperazines

Des études d'arrimage moléculaire sur Bcl-x_L ont permis à Shallal et *al.*¹²³ de dégager une structure générale de pyrimidinylpiperazine comme point de départ pour la synthèse d'inhibiteurs potentiels de Bcl-x_L. Parmi les dérivés préparés, le composé **9** représenté en Figure 133 présente la meilleure affinité vis-à-vis de Bcl-x_L ($K_i = 127$ nM).

Figure 133 : Structure du dérivé de pyrimidinylpiperazine le plus actif sur Bcl-x_L.

III.3.k. Gossypol et ses dérivés

Le premier inhibiteur de protéines anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2 à entrer en phase clinique est le gossypol (Figure 134). Extrait des graines et des racines de coton, le

¹²³ H. M. Shallal, J. S. Faridi, W. A. Russu, *Bioorg. Med., Chem.*, **2011**, 21, 1325-1328.

gossypol à été étudié originellement pour ses propriétés contraceptives. La forme racémique de ce produit naturel présente des activités inhibitrices encourageantes vis-à-vis des protéines anti-apoptotiques puisqu'il déplace un peptide BH3 de Bcl-x_L avec une IC₅₀ de **0,5 μM**¹²⁴.

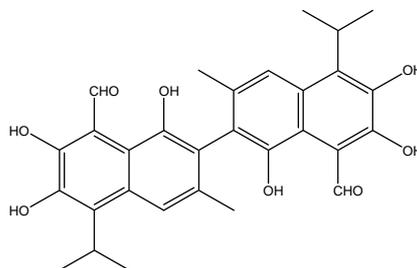


Figure 134 : Structure du Gossypol.

Par ailleurs, les capacités de chaque énantiomère du gossypol à inhiber les protéines de la famille des Bcl-2 ont également été évaluées. Le dérivé lévogyre se lie à Bcl-2, Bcl-x_L et Mcl-1 avec de meilleures affinités (K_i (Bcl-2) = **320 nM**, K_i (Bcl-x_L) = **480 nM**, K_i (Mcl-1) = **180 nM**) que le dextrogyre¹²⁵. Actuellement, le (-)-gossypol (AT-101) est en phase III d'essais cliniques sur les leucémies lymphocytiques chroniques et le cancer de la prostate, en combinaison avec d'autres agents anti-cancéreux¹²⁶.

Bien que le gossypol soit en essai clinique, un certain nombre d'effets secondaires sont attribués à la réactivité de ses fonctions aldéhyde. Des études d'arrimage virtuel on montré que ces deux fonctions n'étaient pas essentielles à l'interaction avec les protéines de la famille Bcl-2. Ainsi, l'apogossypol, son analogue déformylé a été synthétisé (Figure 135). Ce composé possède une affinité de l'ordre du **micromolaire** pour Bcl-2, Bcl-x_L et Mcl-1¹²⁷. L'apogossypol présente en outre une toxicité moindre et de meilleures propriétés pharmacocinétiques en comparaison du gossypol.

Par la suite, Wei et al.¹²⁸, guidés par des expériences de modélisation moléculaire et de RMN, ont synthétisé une bibliothèque de dérivés de l'apogossypol diversement substitués en 5 et 5'.

¹²⁴ S. Kitada, M. Leone, S. Sareth, D. Zhai, J.C. Reed, M. Pellecchia, *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 4269-4264.

¹²⁵ G. Wang, Z. Nikolovska-Coleska, C.-Y. Yang, R. Wang, G. Tang, J. Guo, S. Shangary, S. Qiu, W. Gao, D. Yang, J. Meagher, J. Stuckey, K. Krajewski, S. Jiang, P. P. Roller, H. O. Abaan, Y. Tomita, S. Wang, *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 6139-6142.

¹²⁶ A. S. Azmi, Z. Wang, P. A. Philip, R. M. Mohammad, F. H. Sarkar, *Expert Opin. Emerging Drugs*, **2011**, *16*, 59-70.

¹²⁷ J. Wei, S. Kitada, M. F. Rega, J. L. Stebbins, D. Zhai, J. Cellitti, H. Yuan, A. Emdadi, R. Dahl, Z. Zhang, L. Yang, J. C. Reed, M. Pellecchia, *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 4511-4523.

¹²⁸ J. Wei, S. Kitada, M. F. Rega, A. Emdadi, H. Yuan, J. Cellitti, J.L. Stebbins, D. Zhai, J. Sun, L. Yang, R. Dahl, Z. Zhang, B. Wu, S. Wang, T.A. Reed, N. Lawrence, S. Sebti, J. C. Reed, M. Pellecchia, *Mol. Cancer Ther.*, **2009**, *8*, 904-913.

Parmi eux, le composé BI79D10 s'est révélé être le plus intéressant (Figure 135). En effet, il inhibe Bcl-2, Bcl-x_L et Mcl-1 avec des valeurs d'IC₅₀ de **360, 190 et 520 nM** respectivement. De plus, son action cytotoxique sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses avec des valeurs submicromolaires a été démontrée.

Mais l'intérêt suscité par ce composé quant au gain d'efficacité *in vitro* et *in vivo* comparé à l'apogossypol est à nuancer : il présente une toxicité gastrointestinale chez la souris probablement attribuable à ses fonctions cétone.

Sur ces considérations, le groupe de Wei a publié des résultats concernant la synthèse de nouveaux composés substitués en 5 et 5' par des groupements amides et alkyles. Le composé BI-97C1^{129,127} (Figure 135) possède des propriétés antiprolifératives intéressantes sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate, du poumon et du lymphome à cellule B. De plus, il est un meilleur antagoniste de Bcl-x_L, Bcl-2, Mcl-1 que l'apogossypol (IC₅₀ = **0,31 ; 0,32 ; et 0,20 μM** respectivement) et cible également la protéine anti-apoptotique Bfl-1 avec une bonne affinité (IC₅₀ = **0,62 μM**). Il représente à ce jour le meilleur candidat potentiel pour poursuivre les essais cliniques.

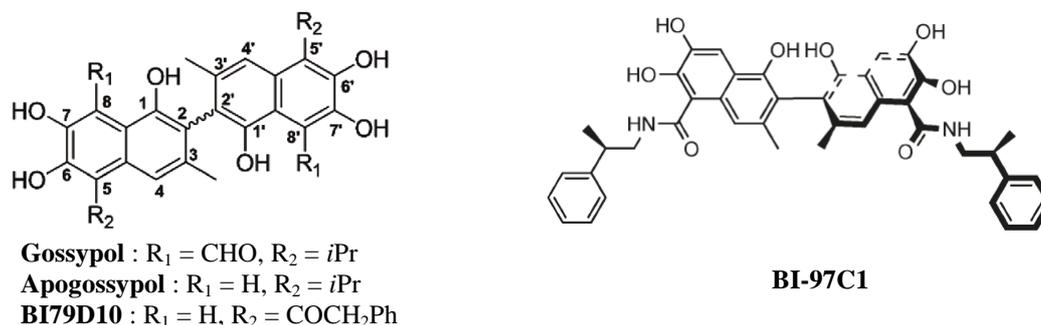


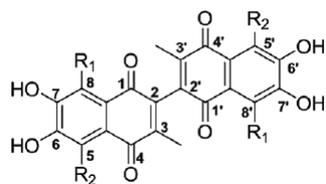
Figure 135 : Structure des dérivés du gossypol.

Plus récemment, Wei et *al.* ont décrit la synthèse et l'évaluation biologique d'apogossypolones, dérivés oxydés de l'apogossypol¹³⁰. Ces composés présentent une cytotoxicité similaire à celle du gossypol sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses et inhibent les protéines anti-apoptotiques Bcl-x_L, Bcl-2, Mcl-1 et Bfl-1 avec des IC₅₀ allant du **nano-** à quelques **micromolaires** (Figure 136).

¹²⁷ J. Wei, S. Kitada, M. F. Rega, J. L. Stebbins, D. Zhai, J. Cellitti, H. Yuan, A. Emdadi, R. Dahl, Z. Zhang, L. Yang, J. C. Reed, M. Pellecchia, *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 4511-4523.

¹²⁹ J. Wei, J.L. Stebbins, S. Kitada, R. Dash, W. Placzek, M.F. Rega, B. Wu, J. Cellitti, D. Zhai, L. Yang, R. Dahl, P.B. Fisher, J.C. Reed, M. Pellecchia, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 4166-4176.

¹³⁰ J. Wei, S. Kitada, J. L. Stebbins, W. Placzek, D. Zhai, B. Wu, M. F. Rega, Z. Zhang, J. Cellitti, L. Yang, R. Dahl, J. C. Reed, M. Pellecchia, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 8000-8011.



Gossypolone : R₁ = CHO, R₂ = *i*Pr

Apogossypolone : R₁ = H, R₂ = *i*Pr

10 : R₁ = H, R₂ = COCH₂Ph

11 : R₁ = H, R₂ = CONHCH₂CH(CH₃)Ph

Composé	IC ₅₀ /Bcl-x _L (μM)	IC ₅₀ /Bcl-2 (μM)	IC ₅₀ /Mcl-1 (μM)	IC ₅₀ /Bfl-1 (μM)
Apogossypolone	0,63	0,37	0,54	2,17
10	0,34	0,22	0,35	0,69
11	0,32	0,23	0,47	0,71

Figure 136 : Activités inhibitrices de dérivés de gossypolone sur Bcl-x_L, Bcl-2, Mcl-1 et Bfl-1.

En prenant comme point de départ la modélisation du (-)-gossypol dans le site actif de Bcl-2, Wang et *al.* ont mis en place un modèle d'arrimage virtuel de Bim BH3 dans le site de fixation de Bcl-2 pour la conception de nouveaux inhibiteurs. Ceci a permis d'accéder au composé TW-37, meilleur représentant de cette nouvelle classe d'inhibiteurs qui se lie de façon plus marquée avec Bcl-2 que le (-)-gossypol ($K_i = 290 \text{ nM}$)¹²⁵ (Figure 137).

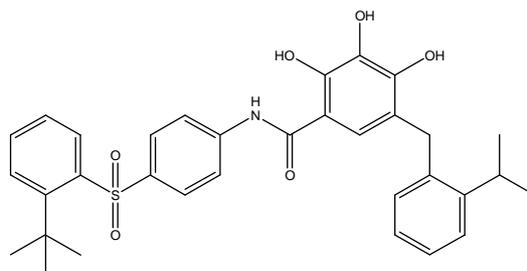


Figure 137 : Structure du TW-37.

Des études de relation structure-activité ont conduit à la synthèse des dérivés de pyrogallol¹³¹ (Figure 138). Ainsi, le dérivé TM-1206 présente des activités large spectre, d'ordre sub-micromolaire vis-à-vis des protéines anti-apoptotiques Bcl-2, Bcl-x_L et Mcl-1 (K_i (Bcl-2) = **110 nM**, K_i (Bcl-x_L) = **638 nM**, K_i (Mcl-1) = **150 nM**). Mais le composé le plus actif est un acylpyrogallol (TM-179) qui inhibe Mcl-1 avec un K_i de **37 nM** et Bcl-2 avec une IC_{50} de **170 nM** (Figure 138). Ce composé inhibe également la croissance cellulaire des lignées MDA-MB-231 (cancer du sein) et PC-3 (cancer de la prostate) ($IC_{50} = 120 \text{ nM}$ et **260 nM** respectivement)¹³².

¹²⁵ G. Wang, Z. Nikolovska-Coleska, C.-Y. Yang, R. Wang, G. Tang, J. Guo, S. Shangary, S. Qiu, W. Gao, D. Yang, J. Meagher, J. Stuckey, K. Krajewski, S. Jiang, P. P. Roller, H. O. Abaan, Y. Tomita, S. Wang, *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 6139-6142.

¹³¹ G. Tang, C.-Y. Yang, Z. Nikolovska-Coleska, J. Guo, S. Qiu, R. Wang, W. Gao, G. Wang, J. Stuckey, K. Krajewski, S. Jiang, P. P. Roller, S. Wang, *J. Med. Chem.*, **2007**, *50*, 1723-1726.

¹³² G. Tang, Z. Nikolovska-Coleska, S. Qiu, C.-Y. Yang, J. Guo, S. Wang, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 717-720.

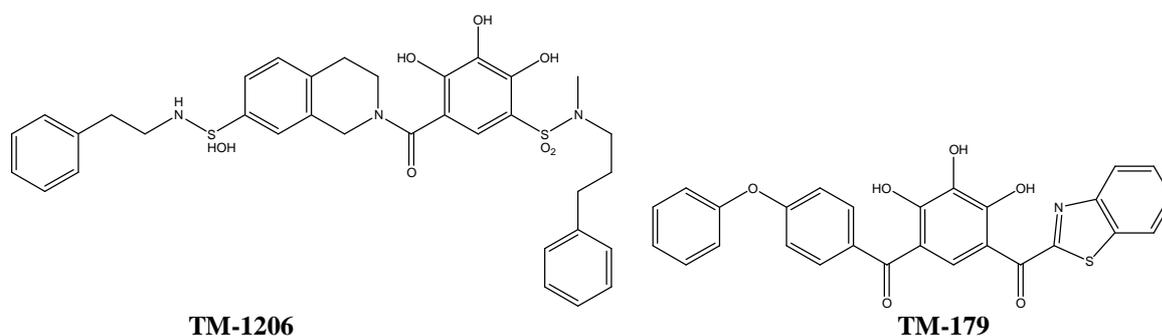


Figure 138 : Structures du TM-1206 et du TM-179.

III.3.1. Obatoclast (GX015-070)

Ce dérivé indolique développé par Gemin X Biotech (structure représentée en Figure 139) est un inhibiteur de protéines anti-apoptotiques large spectre puisqu'il inhibe Bcl-2 ($K_i = 220$ nM) ainsi que Bcl-x_L, Bcl-w et Mcl-1 avec des affinités relativement bonnes, de l'ordre de $0,5 \mu\text{M}^{88}$.

Actuellement, le composé est en phase I d'essais cliniques en ce qui concerne les leucémies lymphocytaires chroniques et le cancer du poumon en combinaison avec le docétaxel.

En outre, des essais précliniques ont démontré la cytotoxicité intrinsèque du composé et son rôle dans l'augmentation de l'action anticancéreuse du bortézomib contre le myélome humain¹³³.

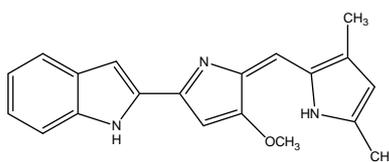


Figure 139 : Structure de l'obatoclast.

III.3.m. ABT-737 et ses dérivés

Ce composé conçu par les laboratoires Abott inhibe avec des IC_{50} inférieures à 1 nM Bcl-2, Bcl-x_L et Bcl-w, ce qui en fait le dérivé le plus actif à ce jour. Cependant, l'ABT-737 ne cible pas Mcl-1, ce qui réduit considérablement son champ d'action en tant qu'unique agent thérapeutique pour les lignées cellulaires cancéreuses où Mcl-1 est surexprimée. Son utilisation peut cependant être envisagée dans le traitement de tumeurs dont les cellules

⁸⁸ M.H. Kang, C.P. Reynolds, *Clin. Cancer Res.*, **2009**, *15*, 1126-1132.

¹³³ S. Trudel, Z. Hua Li, J. Rauw, R. E. Tiedemann, X. Y. Wen, A. K. Stewart, *Blood*, **2007**, *109*, 5430-5438.

présenteraient un taux faible de protéines Mcl-1 ou en combinaison avec d'autres inhibiteurs de Mcl-1¹³⁴.

La structure cristalline de l'ABT-737 en complexe avec Bcl-x_L a montré que l'affinité avec la cible était due, entre autres, à l'ancrage des parties chloro-biphényle et thiophényle dans des poches (p2 et p4) du sillon hydrophobe de Bcl-x_L¹³⁵ (Figure 140A).

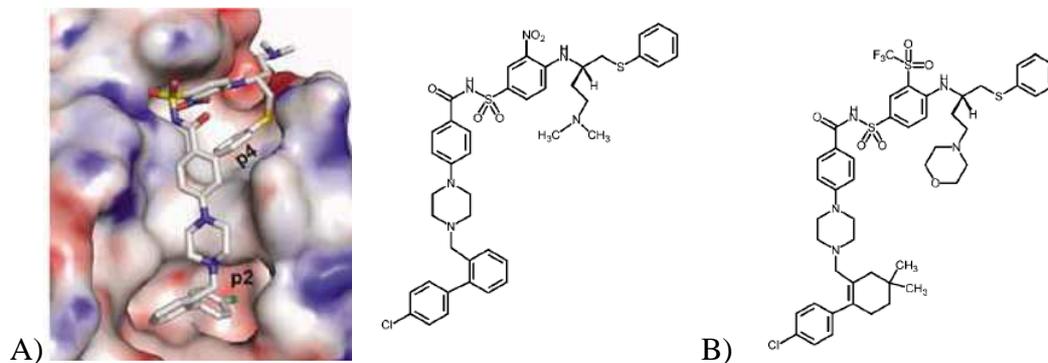


Figure 140 : A) Structure et représentation de l'ABT-737 complexé à Bcl-x_L. B) Structure de l'ABT-263. (D'après Lee et al.¹³⁵).

Afin d'améliorer les propriétés *in vivo*, une forme administrable par voie orale, l'ABT-263, a été synthétisée. Ce composé se lie aux protéines anti-apoptotiques Bcl-2, Bcl-x_L et Bcl-w avec des **K_i subnanomolaires**. Des essais cliniques sont en cours (phase II) avec ce composé et concernent les leucémies lymphocytaires chroniques, le lymphome et le cancer du poumon à petite cellule¹³⁶ (Figure 140B).

Récemment, une nouvelle série de composés dérivés de l'ABT-737 comportant un motif quinazoline a été synthétisée. Quelques représentants ont montré une activité proche de celle du chef de file sur Bcl-x_L et Bcl-2. Par exemple, le composé **12** représenté en Figure 141 inhibe Bcl-x_L et Bcl-2 avec des **IC₅₀** de **7** et **9 nM** respectivement. Cependant, tous ces analogues présentent une affinité vis-à-vis de Bcl-w moins bonnes que l'ABT-737 et aucune interaction avec Mcl-1 n'a pu être notée¹³⁷.

¹³⁴ L. Zhang, L. Ming, J. Yu, *Drug Resist. Update.*, **2007**, *10*, 207-217.

¹³⁵ E.F. Lee, P.E. Czabotar, B.J. Smith, K. Deshayes, K. Zobel, P.M. Colman, W.D. Fairlie, *Cell Death Diff.*, **2007**, *14*, 1711-1719.

¹³⁶ T. Ni Chonghaile, A. Letai, *Oncogene*, **2009**, *27*, S149-S157.

¹³⁷ B. E. Sleebs, P. E. Czabotar, W. J. Fairbrother, W. D. Fairlie, J. A. Flygare, D. C. S. Huang, W. J. A. Kersten, M. F. T. Koehler, G. Lessene, K. Lowes, J. P. Parisot, B. J. Smith, M. L. Smith, A.J. Souers, I. P. Street, H. Yang, J. B. Baell, *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 1914-1926.

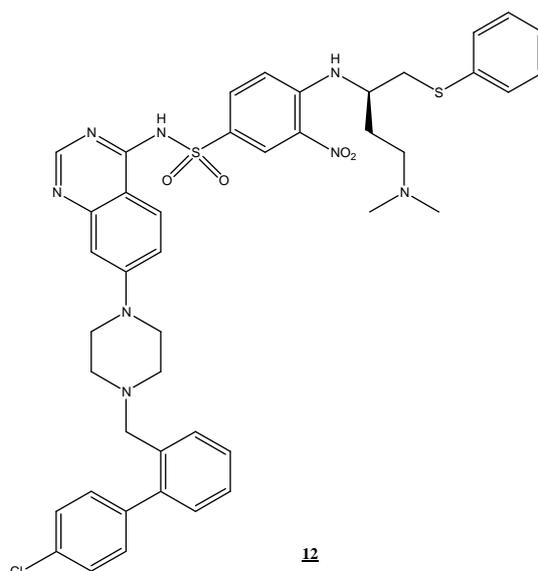


Figure 141 : Dérivé de quinazoline le plus actif sur Bcl-2 et Bcl-x_L.

Comme mentionné dans l'introduction de ce chapitre consacré aux principaux inhibiteurs des protéines anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2 décrits dans la littérature, nous allons conclure sur les inhibiteurs non peptidiques mimes d'hélices alpha.

En effet, l'étude du complexe Bak/Bcl-x_L révèle que les interactions protéine/protéine mises en jeu s'établissent majoritairement par le biais de quatre résidus hydrophobes du peptide Bak en position *i* (Val⁷⁴), *i*+4 (Leu⁷⁸), *i*+7 (Ile⁸¹) et *i*+11 (Ile⁸⁵) se projetant sur une face de l'hélice α du peptide dans le sillon hydrophobe des protéines anti-apoptotiques. Des oligomères adoptant une structuration hélicoïdale pourraient donc potentiellement mimer le domaine BH3 des ligands naturels des protéines anti-apoptotiques.

III.3.n. Terphényles

Des dérivés de terphényle substitués par des groupements alkyles ou des arylalkyles constituent la première famille de composés non peptidiques, mimes d'hélices α décrits dans la littérature. Ces composés adoptent une conformation décalée permettant de mimer la position des substituants hydrophobes de Bax ou de Bak qui jouent un rôle essentiel dans la formation de l'hétérodimère. Comme le montre la Figure 142 (A et B), l'arrangement dans l'espace des substituants R₁, R₂ et R₃ est en accord avec la distribution spatiale des résidus Val⁷⁴, Leu⁷⁸ et Ile⁸¹ du peptide Bak BH3¹³⁸.

¹³⁸ O. Kutzki, H. S. Park, J. T. Ernst, B. P. Orner, H. Yin, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 11838-11839.

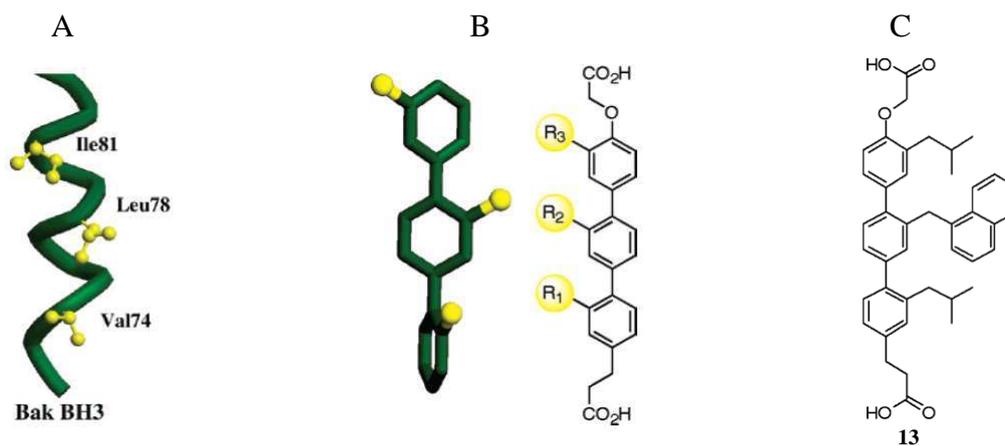


Figure 142 : A) Structure RMN du domaine BH3 de Bak. B) Structure générale des dérivés de terphényle. C) Structure du composé **13**. (D'après Yin et al.¹³⁹).

Ces mimes d'hélices α provoquent effectivement la dissociation du complexe Bak BH3/Bcl-x_L. Parmi les dérivés étudiés, le composé **13** pour lequel R₁ = R₃ = isobutyle, R₂ = 1-naphtalèneméthylène présente la meilleure affinité vis-à-vis de Bcl-x_L avec un K_D égal à **114 nM**¹³⁸ (Figure 142 C).

Cependant, la solubilité limitée de ces composés dans l'eau constitue une entrave à leur utilisation *in vivo*. Afin de contourner ce problème, des travaux ultérieurs ont consisté à remplacer le squelette benzénique par des cycles hétéroaromatiques.

III.3.o. Téréphtalamides

L'introduction de groupements carboxamides a permis d'augmenter la polarité des édifices. De plus, une liaison hydrogène intramoléculaire entre le -NH de l'amide et l'oxygène de l'alkoxy confère une contrainte conformationnelle supplémentaire à l'édifice et influence la position du groupement alkyle R₄ (Figure 143 A). Ces caractéristiques permettent aux téréphtalamides d'être considérés comme des mimes d'hélices orientant les substituants R₁-R₄ du même côté qu'une hélice α (Figure 143 B)¹⁴⁰.

¹³⁹ H. Yin, G.-in Lee, K. A. Sedey, J. M. Rodriguez, H.-G. Wang, S. M. Sebt, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 5463-5468.

¹⁴⁰ H. Yin, A. D. Hamilton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 1375-1379.

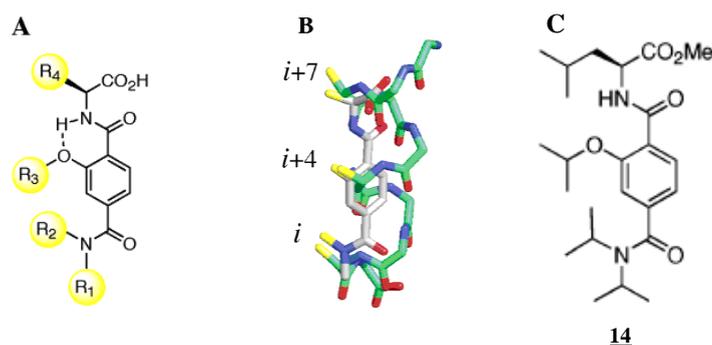


Figure 143 : A) Structure générale des téréphtalamides. B) Superposition du téréphtalamide avec une hélice α . C) Structure du composé **14**. (D'après Yin et al.¹³⁹).

L'étude de leur capacité à inhiber les interactions protéine/protéine de la famille des Bcl-2 a conduit à l'identification du composé le plus actif de cette série, à savoir le dérivé **14** pour lequel $R_1 = R_2 = R_3 = iPr$, $R_4 = iBu$ (Figure 143 C) avec un K_i de **0,78 μM** vis-à-vis de Bak/Bcl-x_L.

III.3.p. Biphenyl 4,4'-dicarboxamides

Le groupe d'Hamilton a développé une nouvelle série d'antagonistes de Bcl-x_L à partir de la série téréphtalamide qui miment non plus trois mais quatre résidus en position i , $i+4$, $i+7$ et $i+11$ d'une hélice α . Le but est d'augmenter la surface d'interaction entre la protéine Bcl-x_L et l'inhibiteur et ainsi accroître l'affinité avec la cible. Parmi les biphenyl 4,4'-dicarboxamides étudiés, **15** est le plus actif ($R^1 = R^4 = R^5 = iBu$, $R^2 = iPr$, $R^3 = 1$ -naphtyl, Figure 144) et inhibe Bcl-x_L avec un K_i de **1,8 μM** ¹⁴¹.

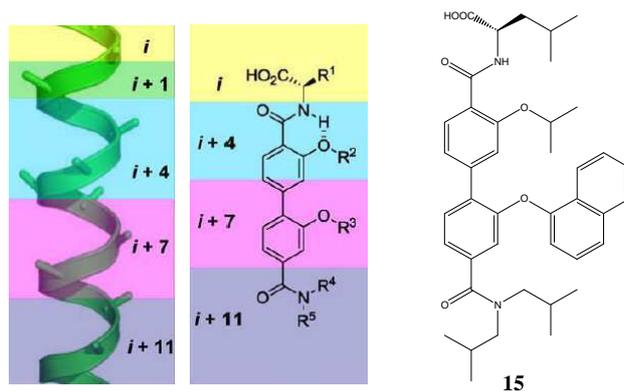


Figure 144 : Structure de **15**. (D'après Cummings et al.¹⁴²)

¹⁴¹ J. M. Rodriguez, L. Nevola, N. T. Ross, G.-in Lee, A. D. Hamilton, *ChemBioChem*, **2009**, *10*, 829-833.

¹⁴² C. G. Cummings, A. D. Hamilton, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2010**, *14*, 341-346.

III.3.q. Oligopyridines carboxamides

Ernst et *al.*¹⁴³ ont identifié le squelette d'oligopyridine comme mème peptidique présentant une bonne affinité pour Bcl-x_L.

La stabilité de l'édifice est renforcée par l'établissement d'un réseau de liaisons hydrogène entre les atomes d'azote du cycle pyridine, les -NH des amides et les atomes d'oxygène des groupements alkoxy portés par chaque motif pyridine. Ceci permet la projection des groupes fonctionnels R¹, R² et R³ d'une manière analogue à celle des résidus en *i*, *i*+4 et *i*+7 d'une hélice α .

Les trispyridilamides provoquent une inhibition **micromolaire** de l'interaction Bak BH3/Bcl-x_L. Le dérivé le plus actif (**16**, K_i = 1,6 μ M) est représenté en Figure 145.

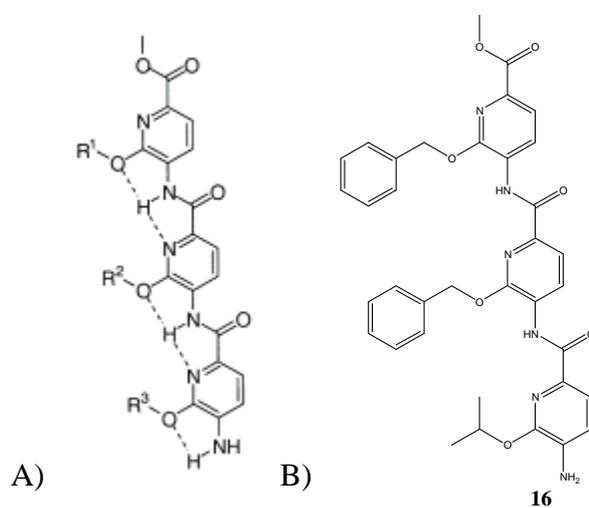


Figure 145 : A) Structure générale des oligopyridines carboxamides. B) Structure de **16**.

III.3.r. Benzoylurées

Alors qu'un allongement du nombre de motifs en série phényle est difficile à mettre en œuvre sur le plan synthétique et conduirait à des oligomères très hydrophobes, les benzoylurées, alternant un noyau benzénique et un motif acylurée, apparaissent comme une alternative attractive pour la conception de nouveaux mimes d'hélices¹⁴⁴ (Figure 146).

¹⁴³ J. T. Ernst, J. Becerril, H. S. Park, H. Yin, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 535-539.

¹⁴⁴ J. M. Rodriguez, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 8614-8617.

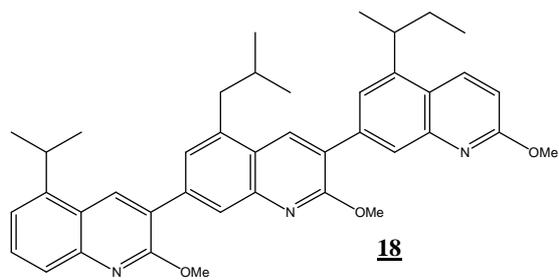


Figure 147 : Dérivé de quinoléine le plus actif sur Bcl-x_L.

IV. CONCLUSION

La surexpression des protéines anti-apoptotiques dans de nombreux cancers et leur implication dans les phénomènes de résistance à certains agents de chimiothérapie ont motivé l'intérêt de la communauté scientifique pour le développement de stratégies visant à rétablir l'apoptose dans les cellules cancéreuses.

L'étude du complexe Bak/Bcl-x_L en 2004 a permis de mettre en évidence les interactions mises en jeu dans la régulation de l'apoptose, ce qui a ouvert la voie vers la conception rationnelle d'inhibiteurs de protéines anti-apoptotiques. Parmi les différentes classes d'antagonistes des protéines anti-apoptotiques, les petites molécules inhibitrices ont fait l'objet d'une attention particulière.

Afin d'apporter un intérêt notable, les composés doivent, en plus d'avoir une activité satisfaisante, cibler un spectre de protéines anti-apoptotiques le plus large possible. En effet, dans de nombreux types de cancers, plusieurs protéines anti-apoptotiques sont surexprimées.

Or, à ce jour, trop peu d'inhibiteurs remplissent simultanément ces deux conditions. L'inhibiteur le plus prometteur, l'ABT-737 actuellement en phase II d'essais cliniques inhibe de manière sélective les protéines Bcl-2, Bcl-x_L et Bcl-w, mais il n'est pas actif sur Mcl-1, ce qui compromet son utilisation comme agent simple. Les enjeux actuels concernent donc le développement de molécules large spectre, ciblant un panel plus large de protéines anti-apoptotiques avec de bonnes affinités. C'est pour cela que nous nous sommes consacrés à la conception de nouvelles molécules susceptibles de satisfaire à ces exigences.

Deuxième chapitre

RESULTATS ET DISCUSSION

I. INTRODUCTION

La seconde partie de mes travaux de thèse a été consacrée à la synthèse de composés hétéroaromatiques, ligands potentiels des protéines anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2.

Des travaux préliminaires réalisés au laboratoire par S. Broch ont concerné la préparation de trimères de quinolones et de quinoléines, mimes potentiels de la structure hélicoïdale du domaine BH3 des protéines pro-apoptotiques^{146, 147, 148} (Figure 148).

La substitution en position 5 de chaque motif quinoléine par des chaînes alkyles a pour objectif de mimer les groupements hydrophobes portés par les chaînes latérales des résidus *i*, *i*+4 et *i*+11 du domaine BH3 des protéines pro-apoptotiques, ligands naturels des protéines anti-apoptotiques.

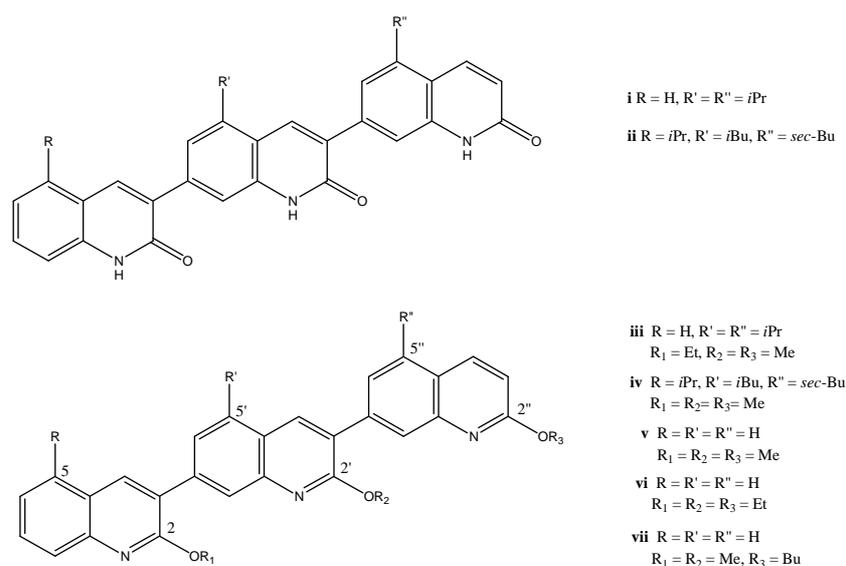


Figure 148 : Premiers trimères de quinolones et de quinoléines préparés au laboratoire.

Les résultats des tests biologiques réalisés sur les dérivés de quinoléines et de quinolones représentés en Figure 148 ont montré que les trimères substitués en 2 par des chaînes alkoxy étaient de meilleurs modulateurs des interactions entre les protéines de la famille des Bcl-2 que leurs analogues quinolones, ceci étant probablement dû en partie à la différence de

¹⁴⁶ S. Broch, H. Hénon, A.-L. Debaut, M.-L. Fogeron, N. Bonnefoy-Bérard, F. Anizon, P. Moreau, *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 7132-7143.

¹⁴⁷ S. Broch, F. Anizon, P. Moreau, *Synthesis*, **2008**, 2039.

¹⁴⁸ S. Broch, B. Aboab, F. Anizon, P. Moreau, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, *45*, 1657-1662.

solubilité entre les deux familles de composés. Les deux trimères **iii** et **iv** les plus actifs sur la protéine anti-apoptotique Bcl-x_L sont représentés en Figure 149.

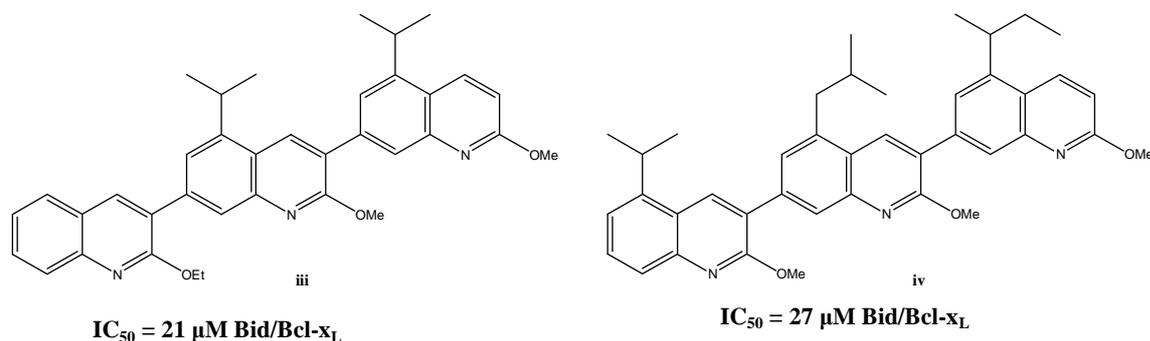


Figure 149 : Dérivés les plus actifs sur Bcl-x_L.

Mon travail a, dans un premier temps, consisté à étoffer la série de trimères en série alkoxyquinoléine afin de poursuivre l'étude de relations structure-activité entreprise.

Afin de déterminer une éventuelle influence sur l'activité biologique, nous avons introduit deux ou trois groupements isopropyles en position 5 du noyau quinoléine, en faisant varier leur position relative.

De plus, nous avons souhaité évaluer l'influence de la longueur de la chaîne alkyle en position 2, 2' et 2'' sur l'activité biologique de ces composés. C'est pourquoi les molécules synthétisées comporteront des groupements éthoxy ou propoxy en ces positions.

Les nouvelles structures cibles sont présentées en Figure 150.

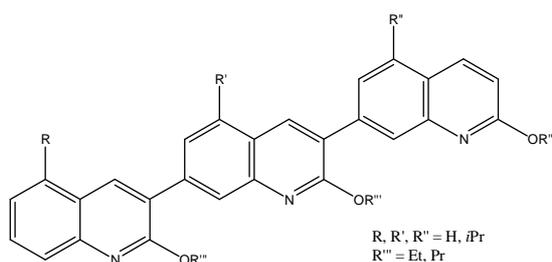


Figure 150 : Nouvelles cibles de synthèse en série alkoxyquinoléine.

Afin de vérifier que ces composés constituent de bons mimés du domaine BH3 des protéines pro-apoptotiques, une étude de modélisation moléculaire sera réalisée.

D'un point de vue synthétique, les composés seront préparés selon la voie mise au point au laboratoire^{146,148}. L'étape clé de cette stratégie est une réaction de Suzuki-Miyaura entre un acide quinoléine-3-boronique et une 7-bromoquinoléine. Cette réaction conduit à la formation de la liaison C₃-C₇. L'*ortho*-méallation puis la boration du dimère suivie d'un second couplage de Suzuki avec un monomère bromé en position 7 conduit aux trimères attendus (Figure 151).

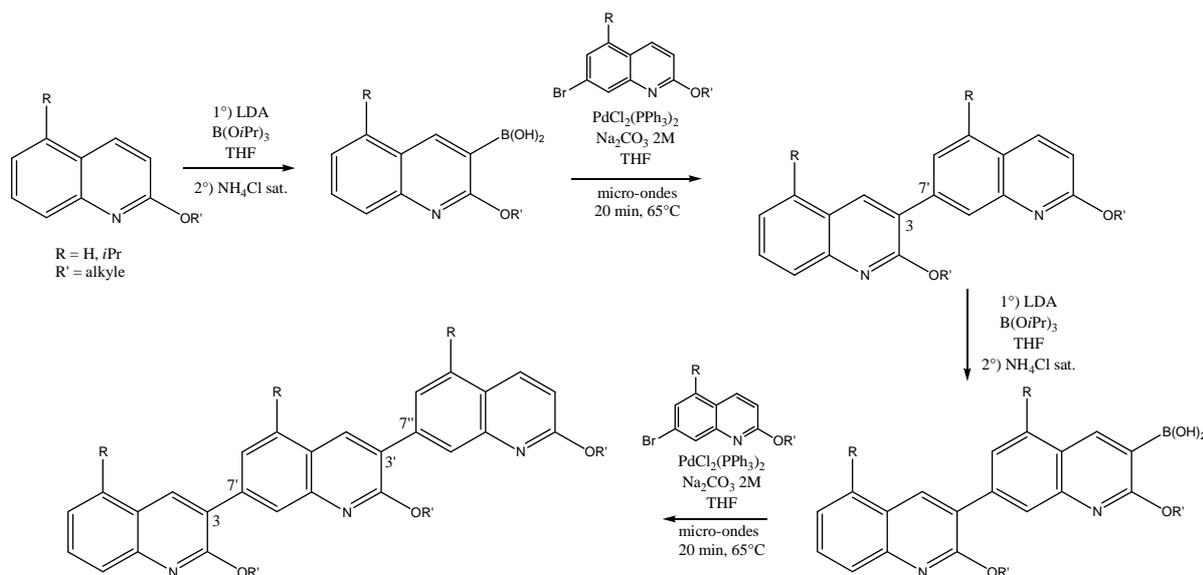


Figure 151 : Voie d'accès aux terquinolines.

Afin d'approfondir l'étude de relations structure-activité, nous avons par ailleurs développé une nouvelle série de dimères et de trimères substitués en position 2, 2' et 2'' par des chaînes alkoxy et/ou des groupements alkylamino (Figure 152).

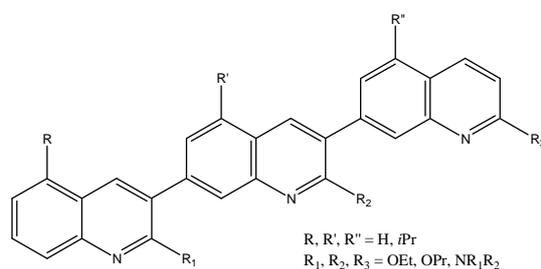


Figure 152 : Cibles de synthèse en série alkoxy-alkylaminoquinoléine.

¹⁴⁶ S. Broch, H. Hénon, A.-L. Debaud, M.-L. Fogeron, N. Bonnefoy-Bérard, F. Anizon, P. Moreau, *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 7132-7143.

¹⁴⁸ S. Broch, B. Aboab, F. Anizon, P. Moreau, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, *45*, 1657-1662.

La première partie de ce chapitre sera tout d'abord consacrée à l'étude de modélisation moléculaire puis à la description des voies de synthèse employées pour accéder aux composés de la série alkoxyquinoléine (Figure 150). Nous exposerons la synthèse des monomères ainsi que les réactions de couplage nécessaires à l'obtention des structures cibles.

Nous détaillerons dans une seconde partie les travaux effectués sur la série alkoxy-alkylaminoquinoléine afin d'accéder aux produits finaux (Figure 152).

II. SERIE ALKOXYQUINOLEINE

II.1. Modélisation moléculaire

La capacité à mimer le domaine BH3 des protéines pro-apoptotiques est directement liée à la structuration dans l'espace des cibles de synthèse présentées en introduction.

Ainsi, afin d'étudier la structure tridimensionnelle de ces composés, des travaux de modélisation moléculaire ont été réalisés au laboratoire par L. Nauton et V. Théry¹⁴⁹.

Dans un premier temps, les biquinoléines **12** et **13** (synthèse présentée page 156) ont été utilisées comme modèle afin d'effectuer une analyse conformationnelle autour de la liaison C3-C7' (angle dièdre Φ C4-C3-C7'-C8', méthode DFT/B3LYP/6-31G du programme Gaussian03). Les résultats montrent une différence d'énergie de 12-13 kJ.mol⁻¹ entre les conformations de plus haute et de plus basse énergie, ce qui indique une libre rotation autour de la liaison C3-C7' (Figure 153).

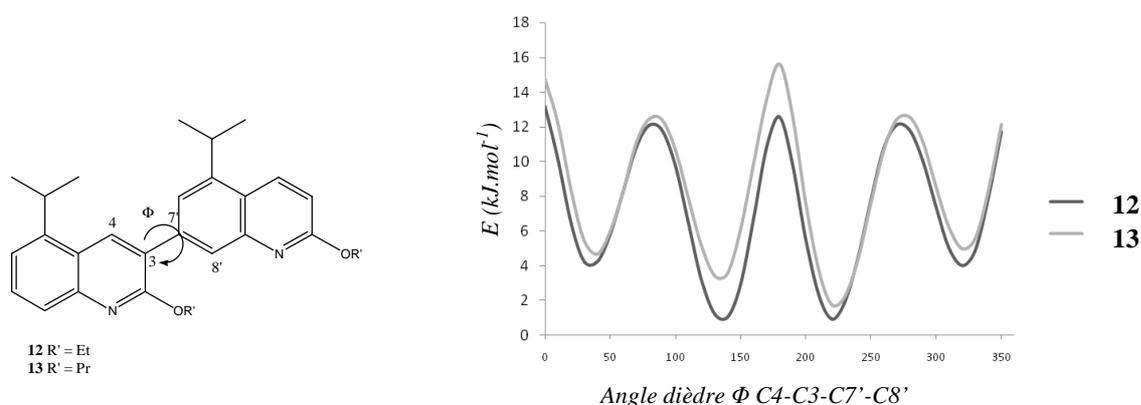


Figure 153 : Structure et analyse conformationnelle des composés **12** et **13**.

Ces résultats peuvent être extrapolés aux terquinoléines **16** et **17** (synthèse présentée page 156) indiquant une libre rotation autour des liaisons C₃-C_{7'} et C_{3'}-C_{7''} (angles dièdres Ψ_1 et Ψ_2), (Figure 154).

Afin d'évaluer la capacité du trimère **16** à mimer la structure en hélice du peptide Bak (PDB 1BXL), un alignement de ces deux structures a été effectué à l'aide du logiciel Sybyl 1.3.

¹⁴⁹ E. Saugues, L. Nauton, V. Théry, F. Anizon, P. Moreau, *Bioorg. Chem.*, **2011**, *39*, 143-150.

Comme le montre la Figure 154, les substituants isopropyle du trimère **16** se superposent bien aux chaînes hydrophobes portées par les résidus Val⁷⁴, Leu⁷⁸ et Ile⁸⁵ en position *i*, *i* +4 et *i* +11 de l'hélice α du peptide Bak.

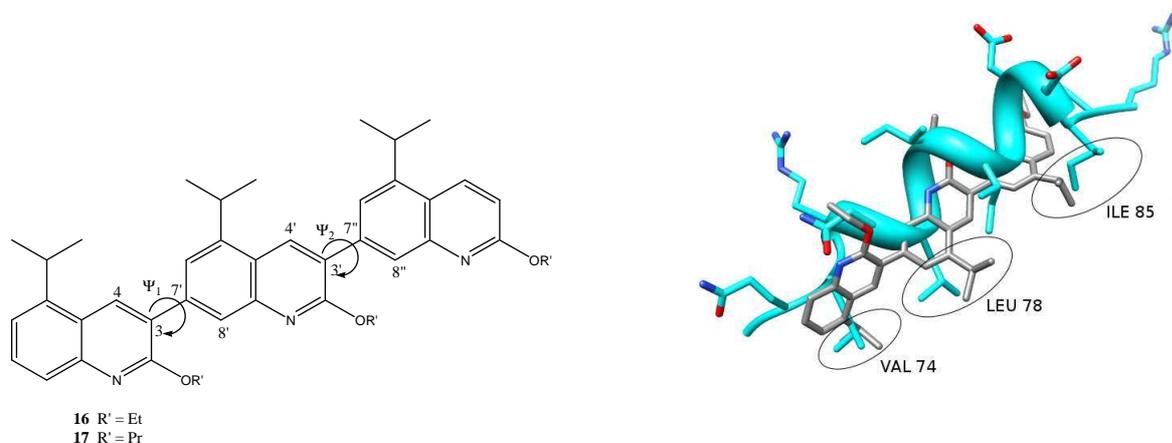


Figure 154 : Superposition du peptide Bak avec **16**.

Pour valider d'un point de vue théorique cette hypothèse, la conformation du composé **16** obtenue par alignement avec le peptide Bak a été utilisée pour modéliser par arrimage virtuel les interactions du trimère **16** dans le site de fixation de Bcl-x_L. Aucune gêne stérique ni répulsion électronique n'ont alors été relevées et **16** reste lié au site de fixation de Bcl-x_L.

De plus, la modélisation de **16** dans le sillon hydrophobe de Bcl-x_L a permis de mettre en évidence les principales interactions mises en jeu : le trimère **16** se lie à Bcl-x_L via des interactions hydrophobes entre les groupements isopropyle en 5, 5' et 5'' des noyaux quinoléines et les chaînes latérales des résidus Phe⁹⁷, Leu¹¹², Val¹²⁶, Leu¹³⁰, Val¹⁴¹, Ala¹⁴², Phe¹⁴⁶ et Leu¹⁶² du site de fixation de Bcl-x_L (Figure 155).

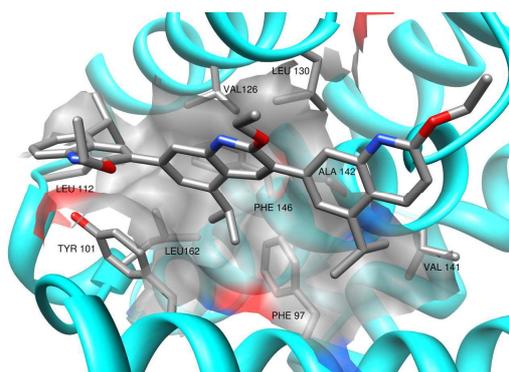


Figure 155 : Modélisation du composé **16** dans le site de fixation de Bcl-x_L.

Ces derniers résultats indiquent que les trimères synthétisés constituent de bons candidats pour l'inhibition des protéines anti-apoptotiques.

II.2. Synthèse des monomères

L'étape clé permettant le couplage entre les sous-unités quinoléines est une réaction de Suzuki-Miyaura qui nécessite un acide boronique et un dérivé halogéné. La voie d'accès mise au point par S. Broch permet le couplage entre un acide quinoléine-3-boronique et une 7-bromoquinoléine. Les monomères quinoléines sont substitués ou non par un groupement isopropyle en position 5.

Pour faciliter la compréhension, nous avons classé ces monomères en plusieurs familles (Figure 156) : les familles **I** et **II** qui regroupent des monomères non substitués en position 5 et les familles **III** et **IV**, substituées en position 5 par un groupement isopropyle.

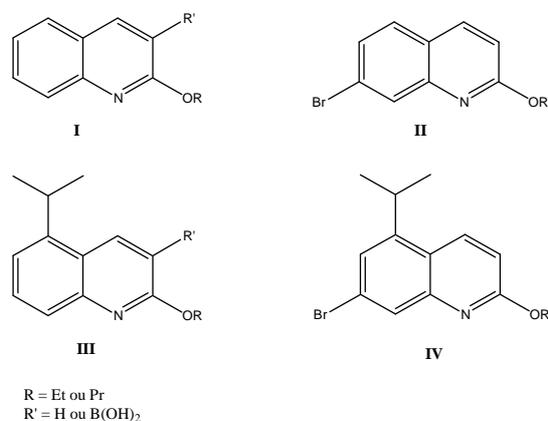


Figure 156 : Monomères préparés en série alkoxy.

II.2.a. Synthèse des monomères I et II

II.2.a.i. Famille I

Les 2-éthoxy et 2-propoxyquinoléines **B** et **1** ont été préparées en une étape à partir de la 2-chloroquinoléine **A** commerciale¹⁴⁸ par réaction avec les alcoolates de sodium dans l'alcool correspondant. Nous avons obtenu de bons rendements de 83 et 96% respectivement (Figure 157).

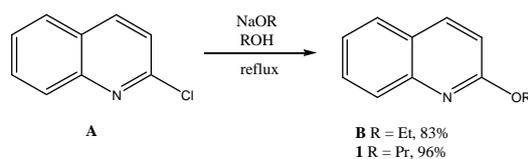


Figure 157 : Synthèse des composés **B** et **1**.

¹⁴⁸ S. Broch, B. Aboab, F. Anizon, P. Moreau, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, *45*, 1657-1662.

Ces composés ont été engagés dans une séquence de lithiation-boration en position 3 du noyau quinoléine pour aboutir aux acides boroniques correspondants **B'** et **1'** selon une procédure décrite par Fang *et al.*¹⁵⁰ (Figure 158).

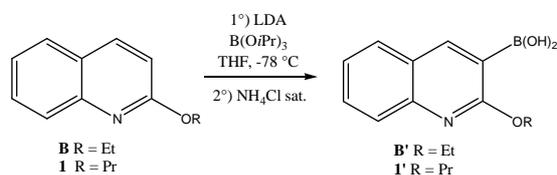


Figure 158 : Synthèse des acides boroniques B' et 1'.

L'*ortho*-lithiation a été réalisée à l'aide de diisopropylamidure de lithium (LDA). Dans un second temps, la réaction avec du triisopropylborate suivie d'une hydrolyse permet de former les acides boroniques. En raison de leur instabilité, les acides boroniques ont été engagés dans la réaction de couplage de Suzuki, en excès et sans purification.

II.2.a.ii. Famille II

L'accès aux monomères substitués en position 7 par un atome de brome a été réalisé à partir de la 7-bromoquinolone **C** elle-même préparée en 4 étapes à partir de la 4-bromo-2-nitroaniline commerciale¹⁴⁷.

La chloration de la 7-bromoquinolone **C** disponible au laboratoire par de l'oxychlorure de phosphore à reflux conduit au composé **D** avec un rendement de 91%.

Cet intermédiaire clé a permis d'introduire les chaînes alkoxy en position 2 du noyau quinoléine. Ainsi, en procédant de même que pour la préparation des composés **B** et **1**, les analogues bromés **E** et **2** ont été obtenus avec des rendements respectifs de 88 et 93% (Figure 159).

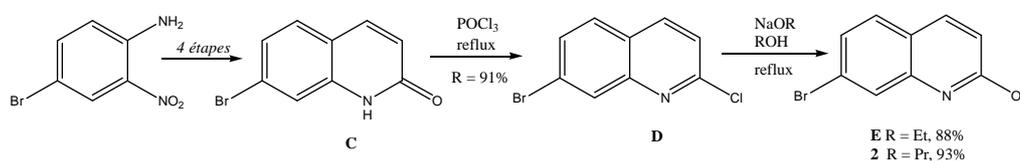


Figure 159 : Synthèse des composés E et 2.

¹⁴⁷ S. Broch, F. Anizon, P. Moreau, *Synthesis*, **2008**, 2039.

¹⁵⁰ Y.-Q. Fang, R. Karisch, M. Lautens, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 1341-1346.

II.2.b. Synthèse des monomères III et IV

La synthèse des monomères substitués en position 5 par un groupement isopropyle (**7-10**, Figure 162, page153) passe par une chloroquinoléine intermédiaire (**R** ou **S**) obtenue en 6 étapes à partir de l'acide 3-aminobenzoïque ou 3-amino-5-bromobenzoïque¹⁴⁶ (Figure 160).

Après une estérification de la fonction acide des composés commerciaux **F** et **G** dans le méthanol en présence de chlorure de thionyle, une acylation de l'amine par le chlorure de (*E*)-3-éthoxyprop-2-énoyle préparé selon une procédure décrite dans la littérature¹⁵¹ conduit aux composés **J** et **K**. Une cyclisation de l'anilide dans l'acide sulfurique concentré permet ensuite d'accéder aux quinolones **L** et **M**. L'addition de bromure de méthylmagnésium sur la fonction ester conduit à la formation de l'alcool tertiaire correspondant (composés **N** et **O**). Enfin, la déshydratation de l'alcool en présence d'acide *para*-toluènesulfonique dans le toluène aboutit aux alcènes **P** et **Q** avec un rendement global de 28% et 29% respectivement sur cinq étapes (Figure 160).

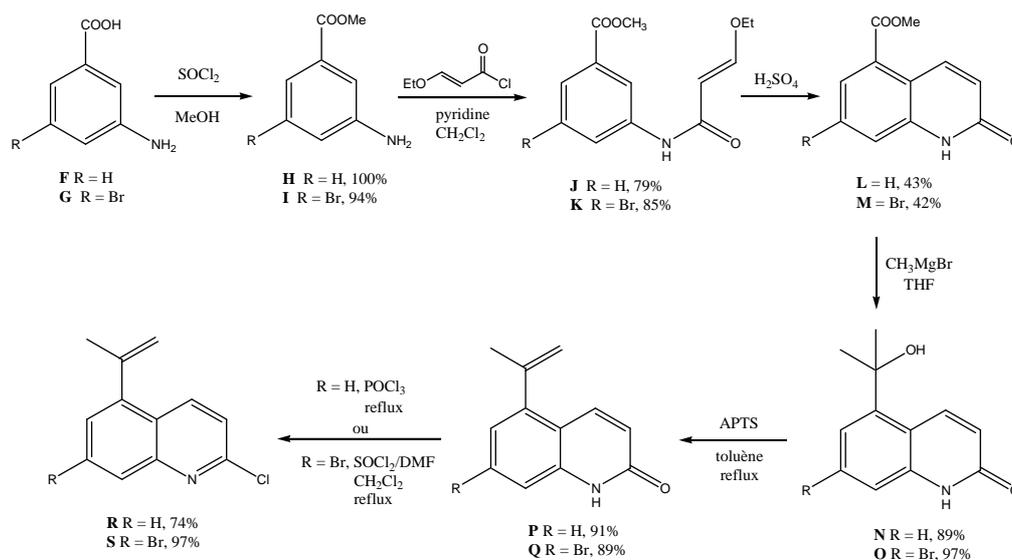


Figure 160 : Voie d'accès aux dérivés **R** et **S**.

Par la suite, les 2-chloroquinoléines **R** et **S** ont été obtenues en appliquant des conditions réactionnelles différentes : la quinolone **P** traitée dans de l'oxychlorure de phosphore à reflux conduit au composé **R** avec un rendement de 74%, tandis que son analogue bromé **Q** est traité par du chlorure de thionyle et du DMF dans le dichlorométhane à reflux pour obtenir le composé **S** avec un rendement de 97%. (Figure 160).

¹⁴⁶ S. Broch, H. Hénon, A.-L. Debaud, M.-L. Fogeron, N. Bonnefoy-Bérard, F. Anizon, P. Moreau, *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 7132-7143.

¹⁵¹ F. Zaragoza, H. Stephensen, B. Peschke, K. Rimmvall, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 306-311.

Comme pour la synthèse des composés **B**, **1**, **E** et **2** (Figure 157 et Figure 159), les alkoxyquinoléines substituées en position 5 par un groupement propylène ont été préparées en présence de l'alkoolate correspondant, conduisant aux composés **3-6** (Figure 161).

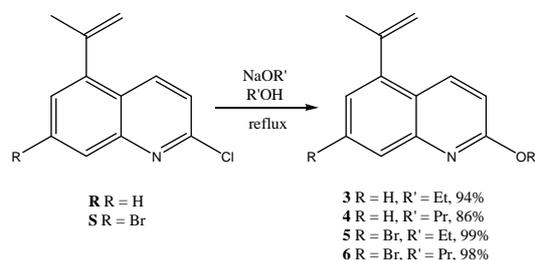


Figure 161 : Préparation des composés 3-6.

Une hydrogénation catalytique de la double liaison du groupement propylène en présence d'oxyde de platine a ensuite permis d'accéder aux monomères **7** à **10** avec des rendements allant de 76 à 88% (Figure 152).

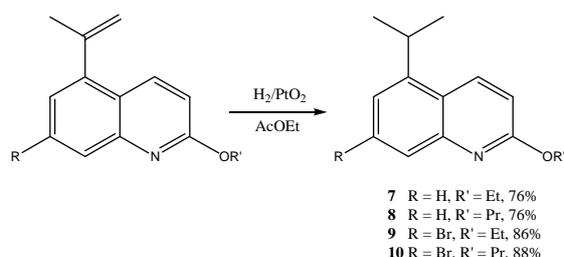


Figure 162 : Préparation des composés 7-10.

Un article paru dans *Bioorg. Med. Chem.* en 2009 nous a incités à améliorer la voie de synthèse utilisée jusqu'à présent. En effet, le groupe de B. Joseph a rapporté la réduction de l'alcool tertiaire du composé **T** par un mélange $\text{NaBH}_4/\text{TFA}^{152}$ (réduction de Gribble) (Figure 163).

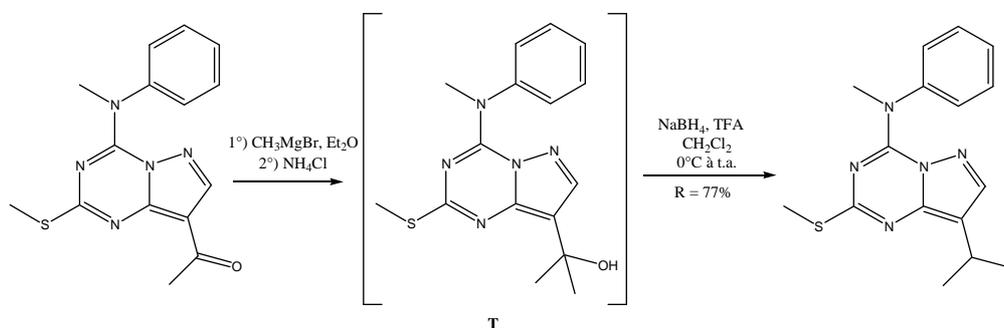


Figure 163 : Exemple de déhydroxylation en présence de NaBH_4/TFA . (D'après Popowycz et al.¹⁵²).

¹⁵² F. Popowycz, C. Schneider, S. DeBonis, D. A. Skoufias, F. Kozielski, C. M. Galmarini, B. Joseph, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, *17*, 3471-3478.

Cette alternative nous permettrait de raccourcir la voie de synthèse en évitant l'étape d'hydrogénation. En effet, nous formerions le groupement isopropyle en position 5 de la quinoléine à partir du dérivé **N** ou **O** sans passer par l'isopropényle (Figure 164).

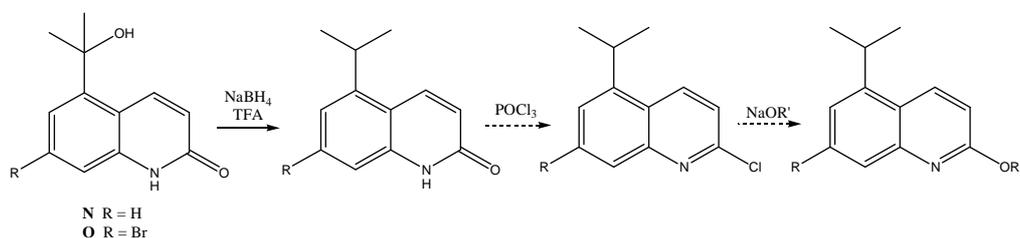


Figure 164 : Nouvelle voie de synthèse envisagée à partir des composés **N et **O**.**

En appliquant au composé **N** les mêmes conditions réactionnelles que Popowycz et *al.*, nous avons identifié par RMN ^1H le produit **11** issu de l'attaque du carbocation tertiaire par le TFA, ainsi que le produit d'élimination **P**. Une purification par chromatographie sur colonne de silice n'a pas permis d'isoler les produits de la réaction (Figure 165).

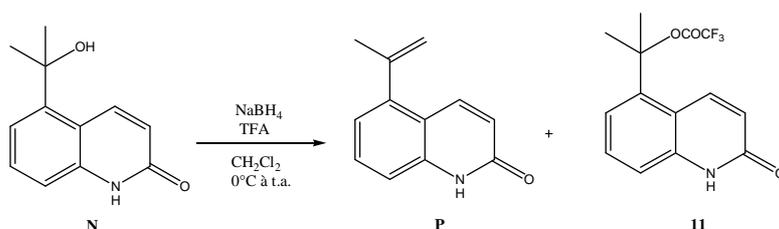


Figure 165 : Réduction de Gribble appliquée au composé **N.**

Cet essai s'étant révélé infructueux, nous avons conservé les conditions initialement mises au point au laboratoire.

Nous avons ensuite effectué la boration en position 3 des monomères **7** et **8** selon le protocole expérimental ayant conduit aux acides boroniques **B'** et **1'** (Figure 166).

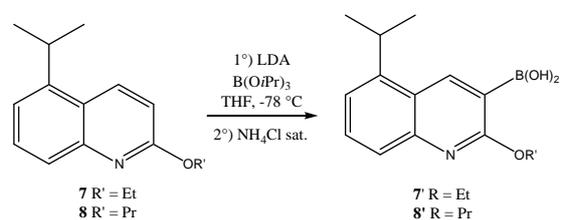


Figure 166 : Synthèse des acides boroniques **7' et **8'**.**

II.3. Synthèse des dimères et des trimères par couplage pallado-catalysé de Suzuki-Miyaura

Avec l'avènement des réactions catalysées au palladium, la réaction de Suzuki-Miyaura est devenue l'une des méthodes les plus efficaces et les plus employées pour la formation de liaisons C-C.

De manière générale, elle met en jeu un acide boronique et un dérivé halogéné aromatique ou hétéromatique en présence d'une base et d'un catalyseur palladié selon le mécanisme présenté en Figure 167.

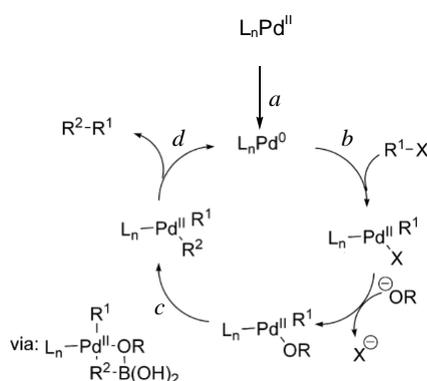


Figure 167 : Mécanisme de la réaction de Suzuki-Miyaura. (Adapté de Slagt et *al.*¹⁵³)

Après une activation du catalyseur pour générer l'espèce catalytique L_nPd^0 (a), le cycle démarre avec une addition oxydante de l'halogénure d'aryle R^1-X sur le complexe de palladium (0) (b). Dans un second temps, une étape de transmétaallation avec l'organoborate permet la formation d'un complexe d'arylpalladium (II) (c) puis l'élimination réductrice libère le produit formé et régénère le catalyseur (d) (Figure 167).

Dans notre cas, nous pouvons ainsi former la liaison 3-7' entre les acides boroniques **B'**, **1'**, **7'**, **8'** et les monomères bromés **E**, **2**, **9** et **10** afin d'accéder aux dimères de la famille **V** (Figure 168).

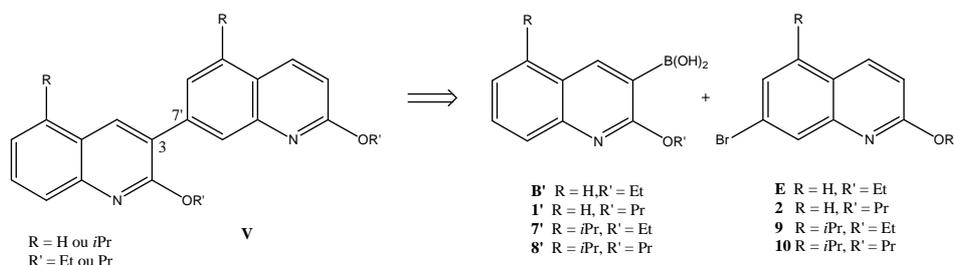


Figure 168 : Schéma rétrosynthétique de la formation des dimères de la famille V.

¹⁵³ V. F. Slagt, A. H. M. de Vries, J. G. de Vries, R. M. Kellogg, *Org. Process Res. Dev.*, **2010**, *14*, 30-47.

Afin d'effectuer ce couplage, nous avons utilisé $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ comme catalyseur et Na_2CO_3 comme base dans un mélange THF/ H_2O . La réaction a été activée par irradiation micro-ondes. La réaction de couplage entre les acides boroniques **B'**, **1'**, **7'**, **8'** et les alkoxybromoquinoléines **9** et **10** a permis l'obtention de 4 dimères avec des rendements allant de 49 à 77% (Figure 169).

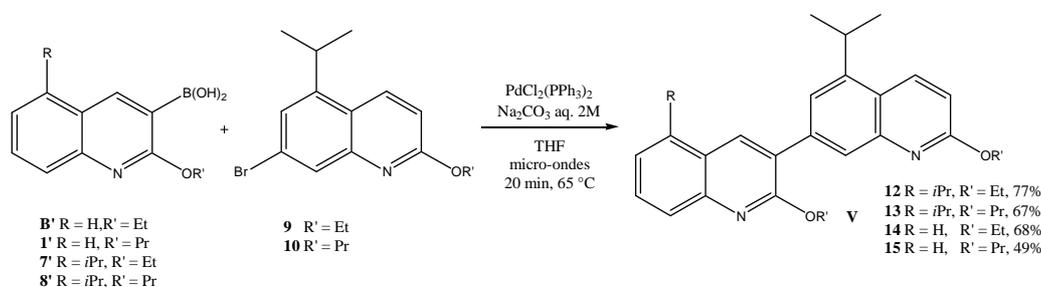


Figure 169 : Préparation des dimères de la famille V.

Afin de préparer les trimères de quinoléines de la famille VI (Figure 170), nous avons réitéré le protocole expérimental ayant conduit aux biquinoléines. Ainsi, les dimères **12-15** ont été engagés dans une séquence de lithiation-boration en position 3'. Les acides boroniques obtenus ont été utilisés sans purification et en excès dans une réaction de Suzuki-Miyaura avec les quinoléines bromées **E**, **2**, **9** et **10**. Les trimères **16-21** ont été obtenus avec de bons rendements supérieurs à 50% (Figure 170).

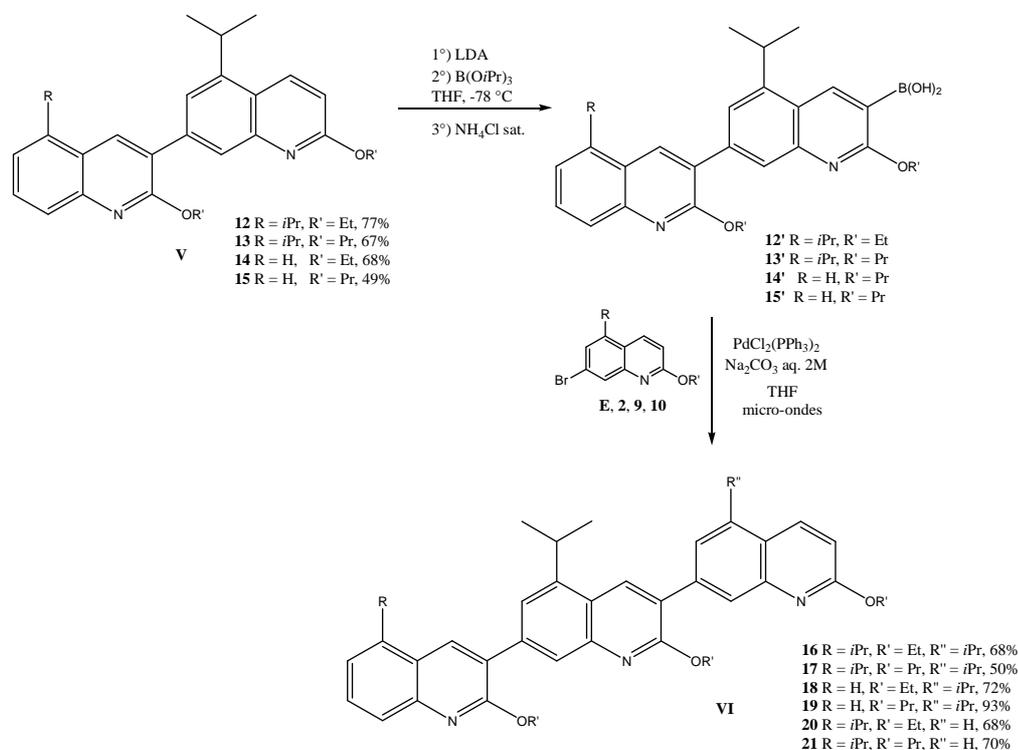


Figure 170 : Préparation des trimères de la famille VI.

II.4. Evaluation biologique

Deux types de tests biologiques ont été réalisés sur les dimères et trimères synthétisés : d'une part des tests visant à évaluer l'affinité des molécules pour les protéines anti-apoptotiques Bcl-x_L, Bcl-2 et Mcl-1, d'autre part des tests d'activité antiproliférative sur diverses lignées cellulaires cancéreuses.

Les tests de cytotoxicité que j'ai réalisés seront exposés de façon plus détaillée dans la troisième partie, page 246.

Les propriétés inhibitrices des composés préparés sur les protéines de la famille des Bcl-2 ont été déterminées par l'équipe du Dr. N. Bonnefoy-Bérard (INSERM U851, Université Lyon I). Dans un premier temps, les capacités de fixation de différents peptides BH3 (Bak, Bax, Bid, Bim et Puma) à se lier à Bcl-x_L, Bcl-2 et Mcl-1 ont été évaluées. Dans un second temps, l'aptitude des molécules synthétisées à déplacer les complexes ainsi formés a été quantifiée par polarisation de fluorescence.

Malheureusement, en dépit des résultats encourageants obtenus par modélisation moléculaire, aucun des composés ne s'est avéré actif sur les protéines anti-apoptotiques testées.

Nous avons en outre voulu tester l'activité antiproliférative de ces composés sur des lignées cellulaires cancéreuses humaines.

Malheureusement, aucun effet cytotoxique n'a pu être noté sur les lignées cellulaires cancéreuses PA1 (ovaire) ou PC3 (prostate).

Nous pensons que la mauvaise solubilité des dérivés pourrait expliquer ces résultats négatifs.

C'est pourquoi, afin d'améliorer le profil physico-chimique des dérivés de quinoléines préparés, nous avons envisagé l'introduction de groupements alkylamino sur le squelette de base.

III. SERIE ALKOXY-ALKYLAMINOQUINOLEINE

Nous avons voulu poursuivre l'étude de relations structure-activité entreprise en modifiant la substitution en position 2 des motifs quinoléines. Ainsi, en introduisant des amines tertiaires tout en conservant un groupement isopropyle en position 5, nous espérons améliorer les propriétés pharmacologiques et physico-chimiques des composés, notamment leur solubilité par rapport aux analogues alkoxyquinoléines.

Ainsi, nous nous sommes donnés pour objectif la synthèse de trimères substitués en position 2 par des groupements alkoxy et alkylamino dont la structure générale est indiquée en Figure 171.

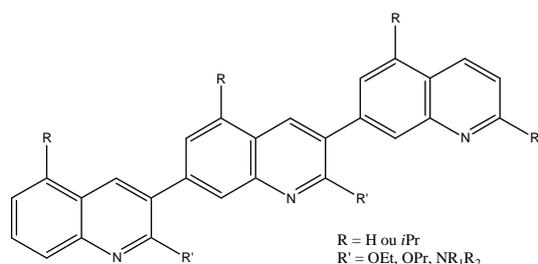


Figure 171 : Structures cibles alkoxy-alkylaminoterquinoléines.

III.1. Synthèse des bi- et des ter-alkylaminoquinoléines

Nous nous sommes consacrés dans un premier temps à la préparation de trimères alkylaminoquinoléines.

Nous avons tout d'abord adopté la même stratégie de synthèse qu'en série alkoxyquinoléine à savoir une étape clé de réaction de Suzuki-Miyaura entre un acide quinoléine-3-boronique et une 7-bromoquinoléine. Ici, les synthons préparés seront substitués en position 2 par des groupements alkylamino (Figure 172).

Nous avons choisi d'introduire dans un premier temps des amines cycliques (pyrrolidine et morpholine), souvent présentes dans les composés à intérêt thérapeutique.

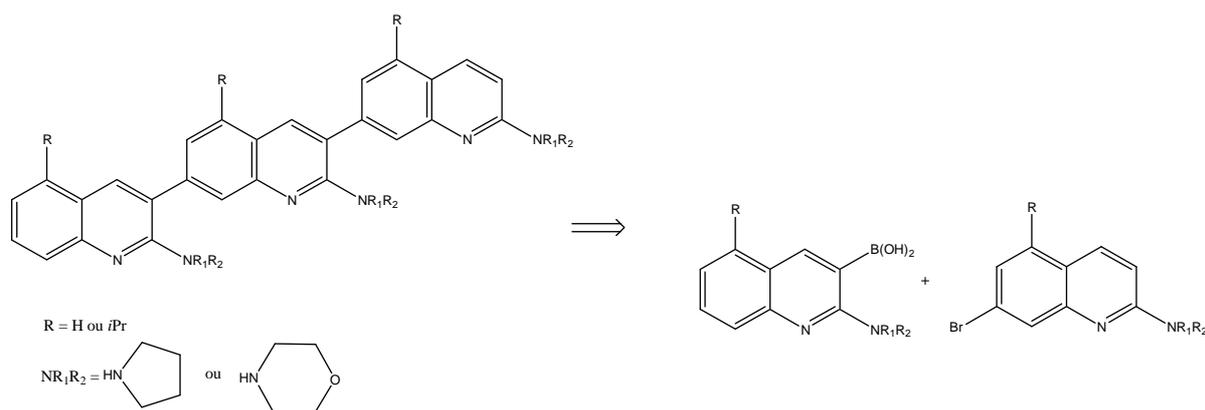


Figure 172 : Schéma rétrosynthétique de la préparation de trimères alkylaminoquinoléines.

III.1.a. Préparation des monomères

Dans un premier temps, nous avons envisagé la préparation des acides boroniques substitués en position 2 par les groupements amino à partir des 2-aminoquinoléines, elles-mêmes préparées à partir des intermédiaires chlorés **R** et **S**.

En effet, la réaction d'amination peut s'effectuer à reflux de l'amine que l'on souhaite substituer à l'atome de chlore, comme l'ont réalisé Kitahara et *al.*¹⁵⁴ (Figure 173).

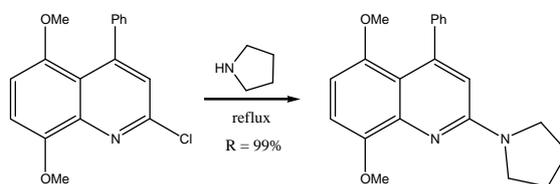


Figure 173 : Exemple d'amination d'un dérivé de 2-chloroquinoléine. (D'après Kitara et *al.*¹⁵⁴).

Dans les mêmes conditions, nous obtenons les composés **22** et **23** avec de très bons rendements (Figure 174).

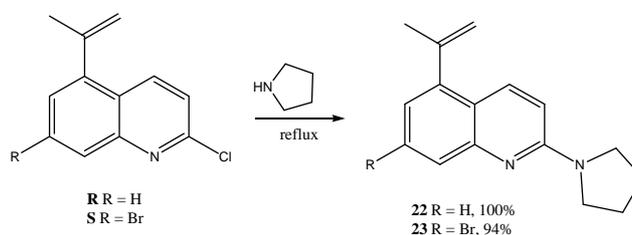


Figure 174 : Synthèse des composés **22** et **23**.

¹⁵⁴ Y. Kitahara, M. Nagatsu, Y. Shibano, A. Kubo, *Chem. Pharm. Bull.*, **1997**, *10*, 1697-1701.

Une dernière étape d'hydrogénation en présence de PtO_2 à 10 mol% a conduit aux dérivés **24** et **25** de manière quantitative (Figure 175).

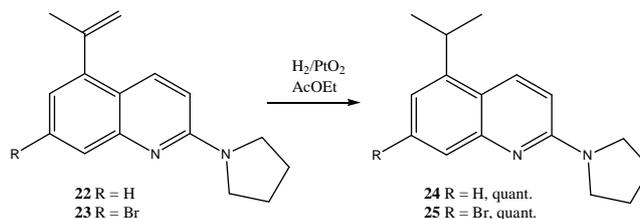


Figure 175 : Synthèse des composés **24** et **25**.

Nous avons également synthétisé la 2-morpholinoquinoléine bromée en suivant le même schéma de synthèse avec un rendement de 66% sur deux étapes (Figure 176).

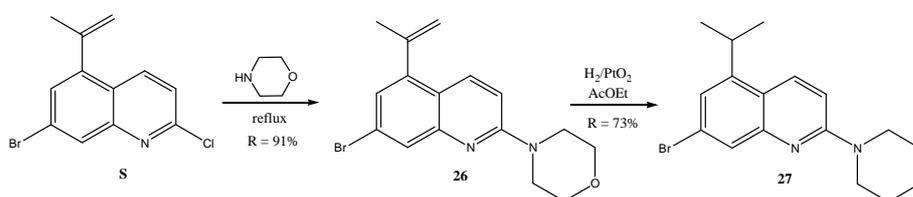


Figure 176 : Synthèse du composé **27**.

Nous avons ensuite entrepris de préparer les acides boroniques en position 3 à partir du composé **24**.

Dans un premier temps, nous avons appliqué les conditions réactionnelles utilisées pour la synthèse des acides 2-alkoxyquinoléine-3-boroniques **B'**, **1'**, **7'** et **8'**. Ainsi, l'utilisation de LDA puis de triisopropylborate dans le THF n'a conduit à aucune réaction (Figure 177).

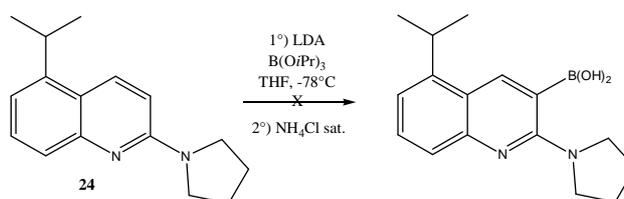


Figure 177 : Tentative de formation de l'acide 3-boronique à partir de **24**.

Nous avons alors recherché dans la littérature des conditions d'*ortho*-métallation-boration à partir d'amines aromatiques ou hétéroaromatiques.

Ainsi, des *N,N*-diméthylanilines ont été *ortho*-borées par Albrecht et *al.*¹⁵⁵ selon la procédure représentée en Figure 178.

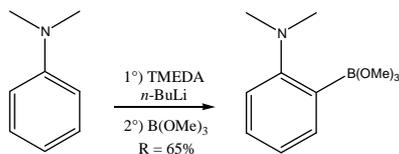


Figure 178 : Exemple d'*ortho*-boration d'aniline. (D'après Albrecht et *al.*¹⁵⁵).

En appliquant ces conditions au composé **24**, aucune réaction n'a été observée (Figure 179).

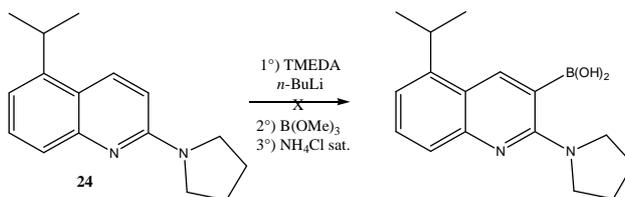


Figure 179 : Tentative de formation de l'acide 3-boronique à partir de **24** dans les conditions décrites par Albrecht et *al.*

Face à ces problèmes de réactivité, nous avons dû revoir notre stratégie. Nous avons donc envisagé d'introduire les amines plus en aval dans la synthèse, en préparant dans un premier temps les bi- et terquinoléines chlorées en position 2, 2' et 2'' à partir du monomère **29** et de l'acide boronique **A'**. En première intention, les composés cibles seront substitués en 5' et en 5'' par des groupements isopropyles (Figure 180).

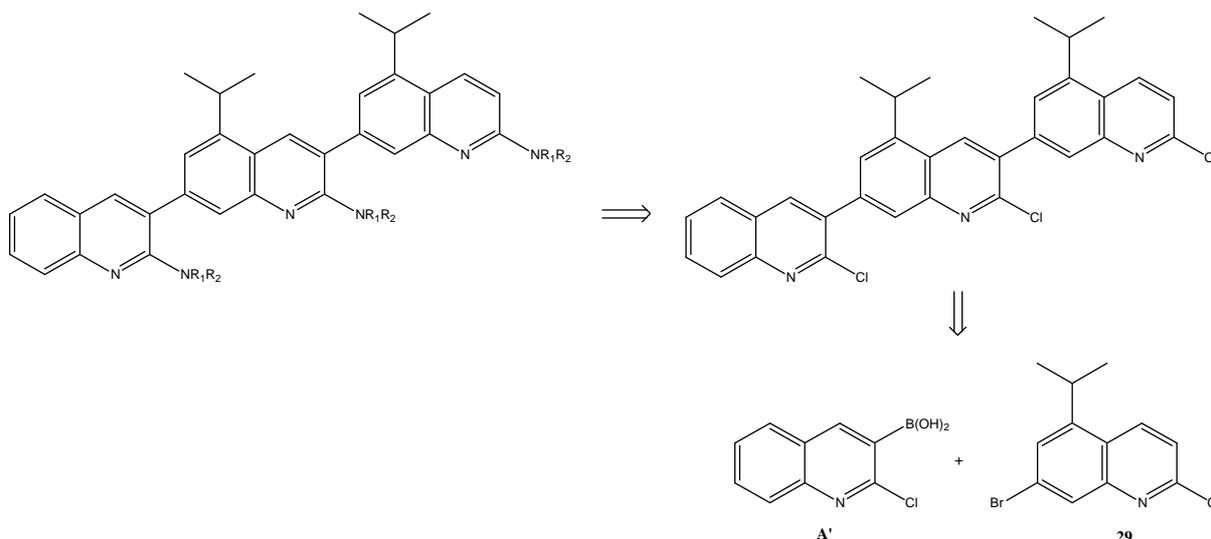


Figure 180 : Analyse rétrosynthétique alternative à l'obtention des composés cibles.

¹⁵⁵ K. Albrecht, V. Kaiser, R. Boese, J. Adams, D. E. Kaufmann, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2000**, 2153-2157.

Les monomères **28** et **29** ont été aisément synthétisés par hydrogénation à partir des composés **R** et **S** avec des rendements de 68 et de 88% respectivement (Figure 181).

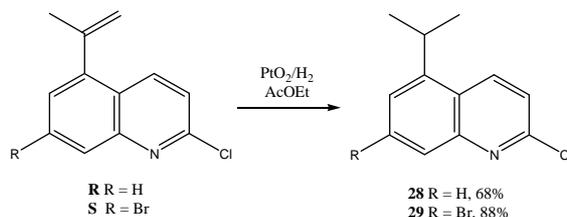


Figure 181 : Synthèse des composés **28** et **29**.

Tagawa *et al.* décrivent la préparation d'acides boroniques en position 3 du motif 2-chloroquinoléine. Ainsi, le dérivé désiré est obtenu par réaction de la 2-chloro-8-méthoxyquinoléine en présence de tétraméthylpipéridine de lithium (LTMP), suivie de l'addition de triméthylborate et d'une hydrolyse¹⁵⁶ (Figure 182).

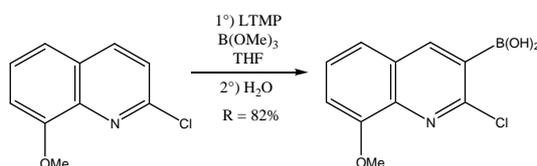


Figure 182 : Préparation de l'acide 2-chloro-8-méthoxyquinoléine-3-boronique par Tagawa *et al.*¹⁵⁶

Nous avons donc appliqué le même protocole expérimental à la 2-chloroquinoléine **A**. En CCM nous observons la formation d'un nouveau produit de façon quasi-exclusive. La comparaison du spectre RMN ¹H du produit brut obtenu avec celui de l'acide 2-chloroquinoléine-3-boronique confirme l'obtention du produit désiré (Figure 183). Cet acide boronique sera utilisé sans purification dans les étapes de couplage ultérieures.

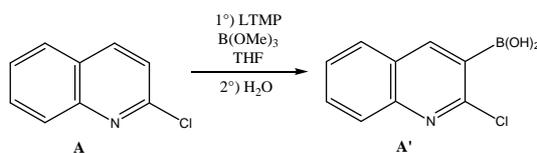


Figure 183 : Synthèse de l'acide boronique **A'**.

¹⁵⁶ Y. Tagawa, H. Yamashita, M. Nomura, Y. Goto, *Heterocycles*, **1998**, *11*, 2379-2387.

III.1.b. Préparation des dimères et des trimères par couplage pallado-catalysé de Suzuki-Miyaura

Comme l'a souligné S. Rault lors de ses travaux concernant la synthèse séquentielle d'oligopyridines^{157,158}, il est difficile de prévoir la régiosélectivité de la réaction de Suzuki-Miyaura lorsqu'une unité monomérique contient deux halogènes différents comme dans notre cas avec la quinoléine **29** (Figure 186, page 164).

En effet, deux paramètres vont généralement influencer sur la réactivité du dérivé halogéné : d'une part la nature de l'atome d'halogène et d'autre part sa position sur l'hétérocycle comme l'illustre la Figure 184.

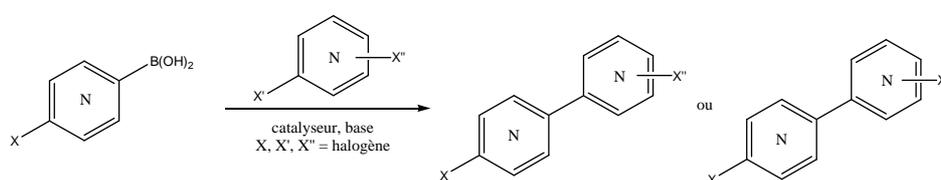


Figure 184 : Synthèse de dihalobipyridines.

Cependant, le groupe de Rault a mis au point l'accès à des halo-oligopyridines à partir de dihalopyridines mises en réaction avec des acides halopyridine boroniques. Un exemple illustrant ces réactions de couplage de Suzuki-Miyaura itératives régiocontrôlées est donné en Figure 185.

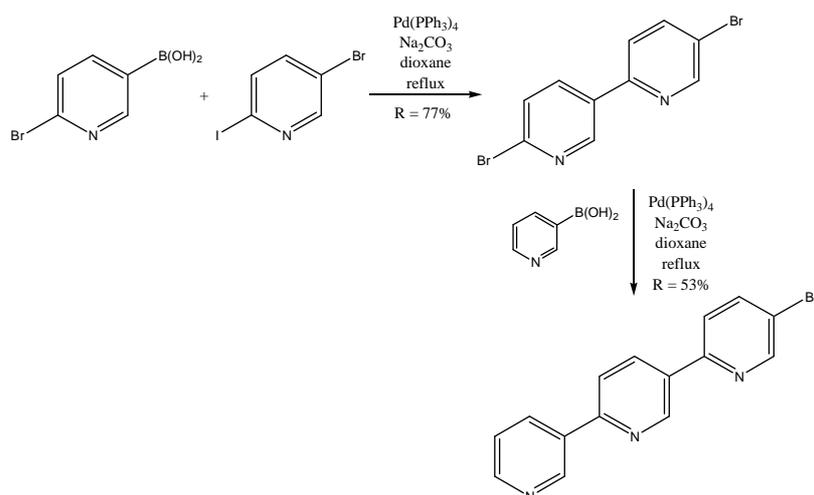


Figure 185 : Préparation de bromo-terpyridine. (D'après Burzicki et al.¹⁵⁸).

¹⁵⁷ A.-S. Voisin-Chiret, A. Bouillon, G. Burzicki, M. Célant, R. Legay, H. El-Kashef, S. Rault, *Tetrahedron*, **2009**, 607-612.

¹⁵⁸ G. Burzicki, A.-S. Voisin-Chiret, J. Sopková-de Oliveira Santos, S. Rault, *Synthesis*, **2010**, 16, 2804-2810.

A l'image des travaux réalisés par le groupe de S. Rault, nous désirons coupler sélectivement l'atome de brome de **29** à l'acide boronique **A'**. Pour ce faire, le choix des conditions opératoires pour effectuer la réaction entre **A'** et **29** a été guidé par les travaux de Marsais et *al.* qui concernent le couplage de Suzuki entre l'acide boronique **A'** et la 2-iodoaniline¹⁵⁹.

L'utilisation du catalyseur Pd(PPh₃)₄ comme source de palladium en présence de Na₂CO₃ dans un mélange THF/H₂O à température ambiante ou sous irradiation micro-ondes (20 min, 65 °C) a abouti à un mélange de produits dont trois ont pu être identifiés (Figure 186).

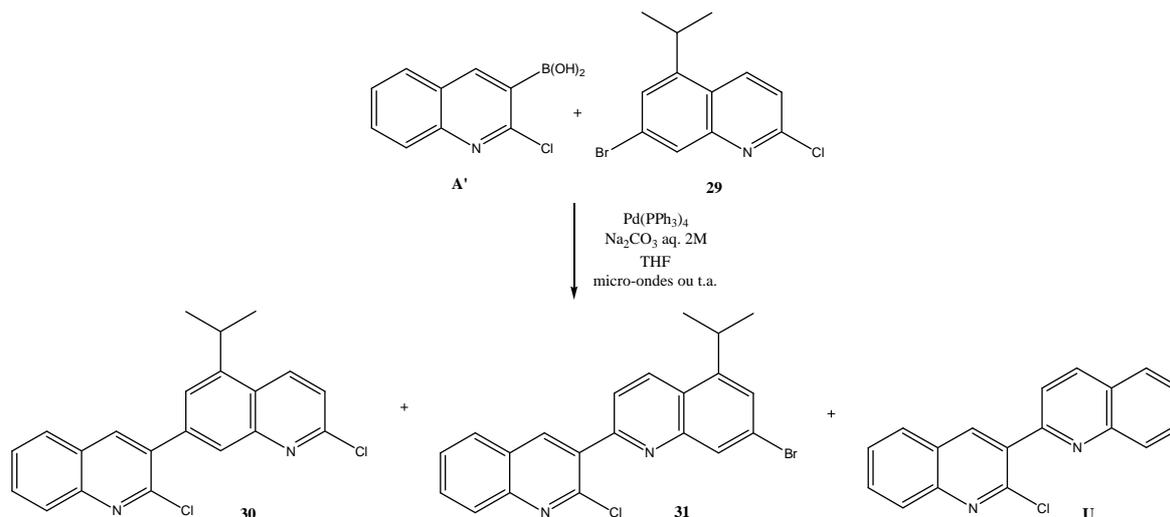


Figure 186 : Produits de la réaction de Suzuki-Miyaura en utilisant Pd(PPh₃)₄.

Le produit désiré **30** a été obtenu de façon très minoritaire (<10%), en mélange avec le composé **31**, identifié par RMN ¹H et par GC-MS. Les deux dimères n'ont pas pu être séparés par chromatographie sur colonne de silice. Ce mélange est obtenu avec un rendement de 24%.

Nous avons également isolé le dérivé **U** issu d'une réaction d'homocouplage du dérivé **A'** suivie d'une déboration. Ce composé a été obtenu avec un rendement de 11%.

Lorsque la réaction a été réalisée à température ambiante, un résultat comparable a été obtenu.

Afin de parvenir à synthétiser le dérivé souhaité **30**, nous avons utilisé en seconde intention les conditions de couplage précédemment employées pour la préparation des dimères et trimères alkoxyquinoléines **12-21** (PdCl₂(PPh₃)₂/Na₂CO₃ dans le THF sous irradiation micro-onde).

¹⁵⁹ F. Marsais, A. Godard, G. Queguiner, *J. Heterocyclic Chem.*, **1989**, 26, 1589-1594.

L'intégralité de la bromo-chloroquinoléine de départ **29** a réagi pour donner plusieurs produits (Figure 187). Parmi les composés formés, nous avons pu en identifier trois après purification par chromatographie sur colonne de silice.

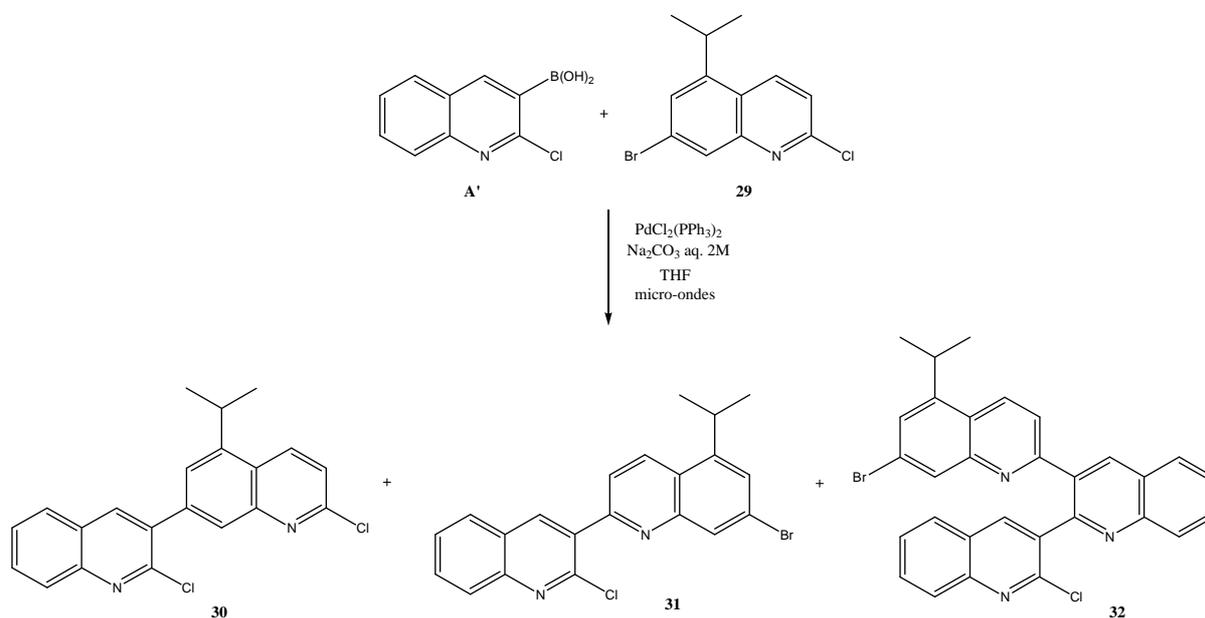


Figure 187 : Produits de la réaction de Suzuki-Miyaura en utilisant $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$.

Les composés **30** et **31** sont obtenus en mélange avec un rendement de 25%, dans un rapport 2:8 déterminé par RMN ^1H , après purification par chromatographie sur colonne de silice.

Nous avons de plus isolé le trimère **32** avec un rendement de 15%.

Afin que le couplage soit plus sélectif vis-à-vis de la position bromée de **29**, nous avons utilisé d'autres conditions réactionnelles.

Noronha *et al.*¹⁶⁰ ont réussi à coupler un acide 2,2'-dichlorophénylboronique et un dérivé de la bromobenzènetriazine avec le système $\text{Pd}_2(\text{dba})_3/\text{Xantphos}$ en présence de Cs_2CO_3 à reflux du dioxane (Figure 188).

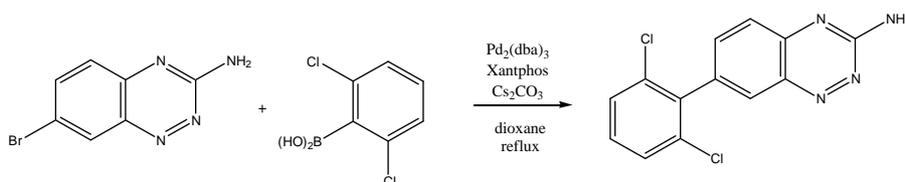


Figure 188 : Réaction de Suzuki-Miyaura dans les conditions décrites par Noronha *et al.*¹⁶⁰

¹⁶⁰ G. Noronha, K. Barrett, A. Boccia, T. Brodhag, J. Cao, C. P. Chow, E. Dneprovskaia, J. Doukas, R. Fine, X. Gong, C. Gritzen, H. Gu, E. Hanna, J. D. Hood, S. Hu, X. Kang, J. Key, B. Klebansky, A. Kousba, G. Li, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, *17*, 602-608.

Wegner et *al.*¹⁶¹ décrivent, quant à eux, l'emploi d'une base organique telle que le DBU dans le DMF en utilisant Pd(OAc)₂ comme catalyseur et P(Cy)₃ comme ligand. La réalisation de la réaction à partir de 1-bromonaphtalène et d'acide 2-bromophénylboronique a abouti à l'obtention de trois produits en proportions relatives 3:1:2,6 (Figure 189).

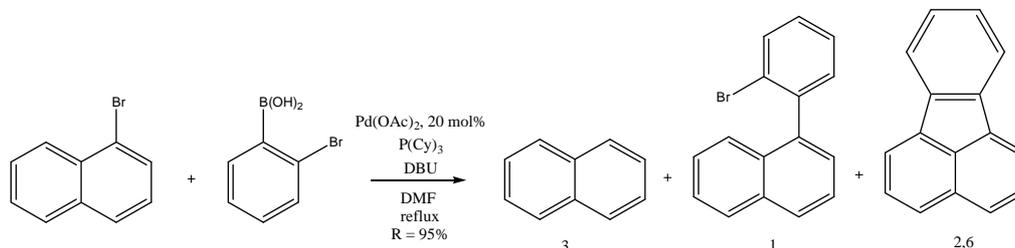


Figure 189 : Réaction de Suzuki-Miyaura dans les conditions décrites par Wegner et *al.*¹⁶¹

Les conditions réactionnelles utilisées dans les deux exemples cités précédemment ont été appliquées aux produits de départ **A'** et **29**. Malheureusement, aucun des essais n'a été concluant : dans le premier cas, il se forme du produit **U** et du produit de départ est récupéré. Dans les conditions de Wegner et *al.*, nous n'observons que de la dégradation du produit de départ.

Expérience	Catalyseur	Ligand	Base	Solvant	Chauffage	Produits
1	Pd ₂ (dba) ₃ (2,5 mol%)	X-Phos (5 mol%)	Cs ₂ CO ₃ (4 équiv.)	THF	reflux	Produit de départ + U
2	Pd(OAc) ₂ (20 mol%)	P(Cy) ₃ (40 mol%)	DBU (5 équiv.)	DMF	micro-ondes (15 min, 120 °C)	Dégradation

Figure 190 : Tentatives d'obtention du dimère **30** en utilisant les conditions décrites par Noronha et *al.* ou Wegner et *al.*

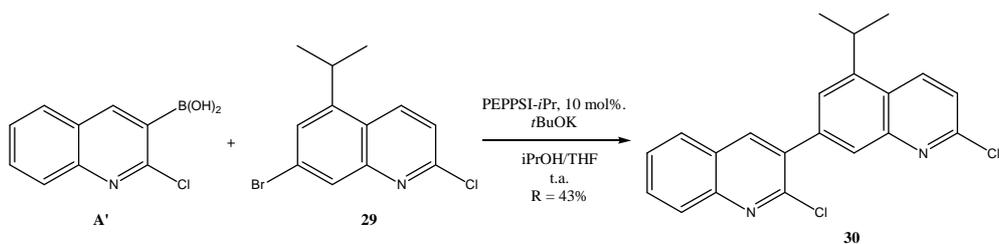
Face à l'inefficacité des systèmes catalytiques employés nous avons eu recours à une seconde génération de catalyseurs. Ainsi, nous avons couplé les produits **A'** et **29** en utilisant le PEPPSI-*i*Pr selon un protocole décrit dans Chemfiles¹⁶².

En introduisant une charge de 10 mol% de catalyseur en présence de *t*BuOK dans un mélange isopropanol/THF, il se forme sélectivement le dimère souhaité **30** avec un rendement de 43% (Figure 191).

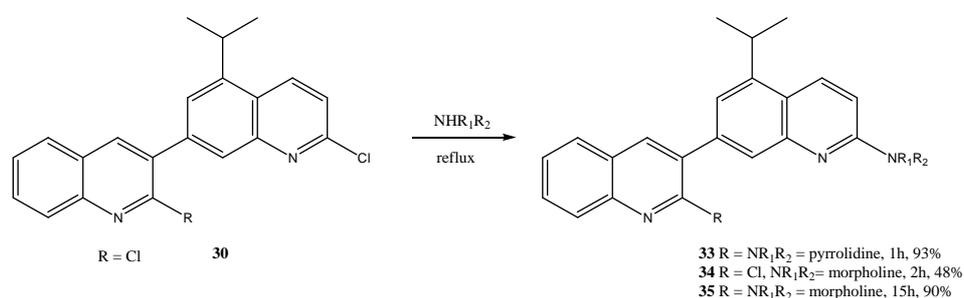
De plus, nous observons moins de dégradation que pour les essais précédents mais il reste toujours du produit de départ.

¹⁶¹ H. A. Wegner, L. T. Scott, A. de Meijere, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 883-887.

¹⁶² PEPPSITM Catalyst, *ChemFiles Aldrich*, **2006**, 3.

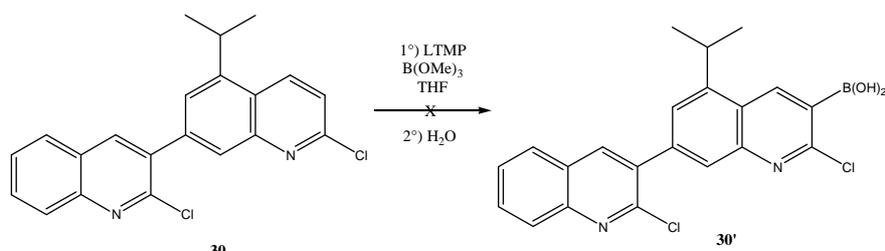
Figure 191 : Synthèse du dimère **30**.

Comme pour la synthèse des monomères **22** et **23** (Figure 174, page 159), une réaction de substitution nucléophile aromatique sur le dimère **30** en présence de pyrrolidine ou de morpholine a conduit à l'obtention des produits **33** et **35** avec des rendements respectifs de 93 et 90% (Figure 192).

Figure 192 : Préparation des composés **33-35**.

Le dérivé substitué par la pyrrolidine **33** se forme après 1 h de réaction, tandis que 15 h de chauffage à reflux sont nécessaires à l'obtention du dimère **35**. En contrôlant le temps de réaction avec la morpholine, il est possible d'aminier sur une seule position chlorée. Nous avons ainsi pu isoler le dérivé **34**, dont la structure a été confirmée par une expérience de RMN ¹H-¹H NOESY, après 2 h de chauffage à reflux avec un rendement de 48%.

Afin d'accéder aux trimères, nous avons envisagé la synthèse de l'acide boronique **30'**, préparé à partir du composé **30**. En appliquant le même protocole expérimental que celui décrit par Tagawa et *al.*¹⁵⁶, la réaction n'a conduit qu'à la dégradation du produit de départ (Figure 193).

Figure 193 : Tentative de formation de l'acide boronique **30'**.

¹⁵⁶ Y. Tagawa, H. Yamashita, M. Nomura, Y. Goto, *Heterocycles*, **1998**, *11*, 2379-2387.

L'accès aux trimères alkylaminoquinoléines est donc compromis par l'échec de cette réaction. Ainsi, nous nous sommes consacrés au développement d'une série de trimères mixtes alkoxy-alkylaminoquinoléines.

III.2. Synthèse des bi- et des ter-alkoxy-alkylaminoquinoléines

Nous envisageons la préparation de dimères et trimères de quinoléines substitués en position 2 des noyaux quinoléines par des chaînes alkoxy (éthyle ou propyle) ou par des amines (pyrrolidine ou morpholine).

En ce qui concerne les dimères, les diverses combinaisons possibles nous ont permis de distinguer 2 familles de composés (Figure 194) :

- des biquinoléines substituées en 2 par une chaîne alkoxy et en 2' par une amine (famille **VII**).
- des composés où la position aminée est en 2 du squelette biquinoléine et le groupement alkoxy en 2' (famille **VIII**).

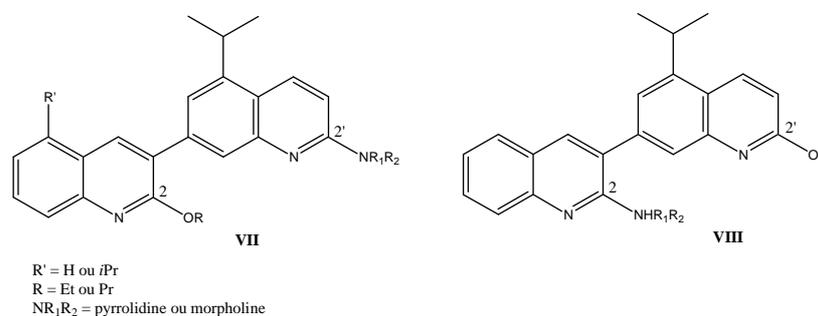


Figure 194 : Structure générale des familles VII et VIII de dimères à préparer.

III.2.a. Préparation des dimères

Les représentants de la 1^{ère} famille **VII** de dimères « mixtes » ont été synthétisés par réaction de Suzuki-Miyaura entre les acides 2-alkoxyquinoléine boroniques **1'** et **7'** et la 7-bromo-2-chloroquinoléine **29** suivie d'une amination en position 2' (Figure 195).

Le couplage de Suzuki a été réalisé dans les conditions mises au point précédemment pour la préparation du composé **30**.

Nous obtenons ainsi les dimères 2-alkoxy-2'-chloroquinoléine **36** et **37** avec des rendements respectifs de 58 et 59% (Figure 195).

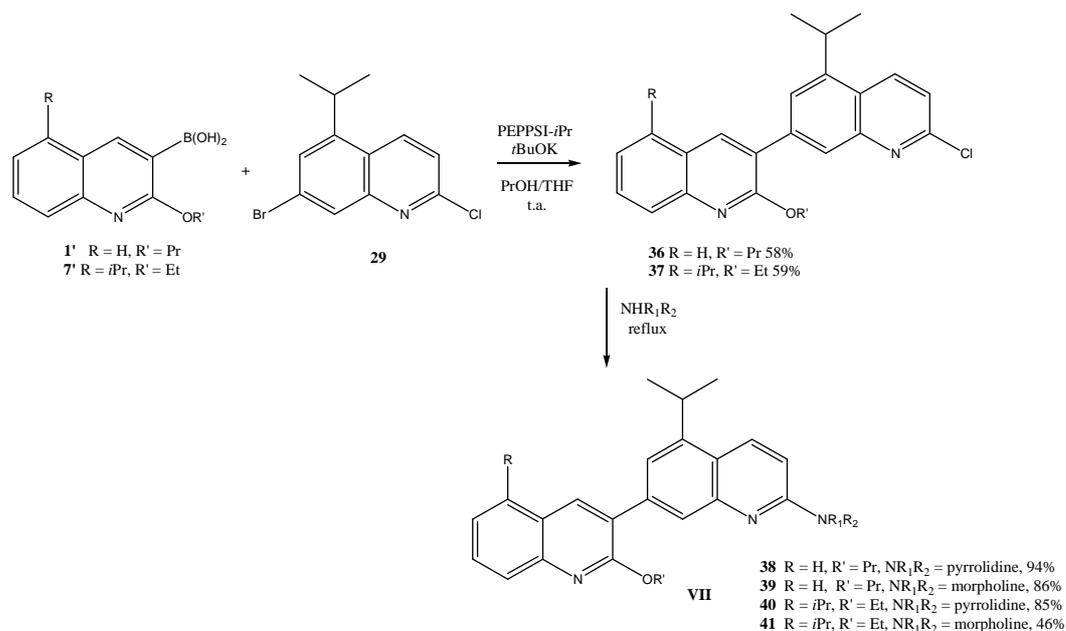


Figure 195 : Synthèses des dimères de la famille VII.

Dans un second temps, l'amination par la pyrrolidine ou la morpholine se réalise aisément et conduit aux dimères **38-41** avec des rendements allant de 46 à 94%.

Afin de préparer les dimères de la famille **VIII**, nous avons tout d'abord réalisé le couplage de Suzuki entre le composé **A'** et la quinoléine bromée **10** (Figure 196).

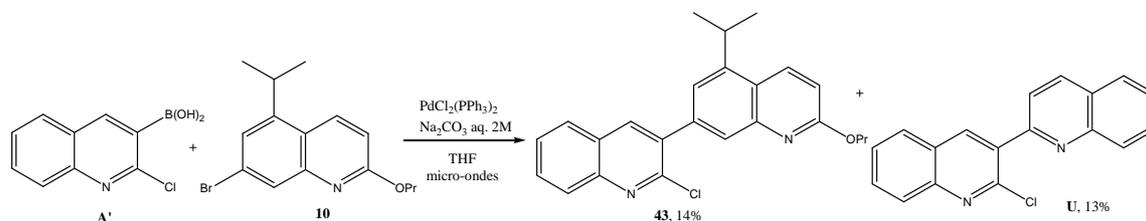
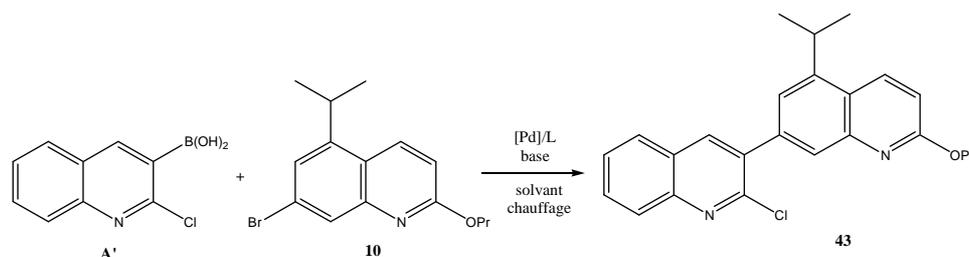


Figure 196 : Synthèse du dimère 43 catalysée par PdCl₂(PPh₃)₂.

En employant les conditions réactionnelles mises au point en série alkoxyquinoléine pour les composés **12-21** (PdCl₂(PPh₃)₂/Na₂CO₃ dans le THF sous irradiation micro-onde), l'avancement de la réaction reste faible puisque 80% du produit de départ a été isolé après purification par chromatographie sur colonne de silice, même après une irradiation prolongée (deux fois 20 min). Le produit désiré **43** a malgré tout été obtenu avec un rendement de 14%. Il se forme également le produit d'homocouplage déboré **U** (13%) (Figure 196).

Afin d'augmenter le rendement en produit désiré, nous avons utilisé d'autres conditions réactionnelles récapitulées dans le Tableau 9.



Expérience	Catalyseur	Ligand	Base	Solvant	Chauffage	Produits
1	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ (5 mol%)	/	Na ₂ CO ₃ (5 équiv.)	THF	micro-ondes (40 min, 65°C)	Produit de départ + 43 (14%) + U
2	Pd(PPh ₃) ₄ (20 mol%)	/	Na ₂ CO ₃ (5 équiv.)	THF	35 °C	Produit de départ + 43 (11%) + U
3	Pd(PPh ₃) ₄ (20 mol%)	/	Na ₂ CO ₃ (5 équiv.)	DME	reflux	Produit de départ + 43 (19%) + dégradation
4	PEPPSI- <i>i</i> Pr (2 mol%)	/	<i>t</i> BuOK (1,3équiv.)	<i>i</i> PrOH/THF	t.a.	Produit de départ
5	Pd(OAc) ₂ (10 mol%)	P(<i>t</i> Bu) ₃ (20mol%)	Na ₂ CO ₃ (3 équiv.)	dioxane/H ₂ O	reflux	Produit de départ + 43 (56%)

Tableau 9 : Conditions réactionnelles utilisées pour le couplage de Suzuki entre A' et 10.

L'utilisation de Pd(PPh₃)₄ dans le THF à 35 °C (essai 2) ou au reflux du DME (essai 3) n'a pas contribué à augmenter le rendement en produit désiré : le dimère **43** est isolé avec un rendement de 11% quand la réaction est réalisée dans le THF à 35 °C. En procédant dans le DME à reflux¹⁶³, il reste encore du produit de départ (40%) et le rendement en produit souhaité reste faible (19%). De plus, nous observons de la dégradation du milieu réactionnel. Contrairement à la synthèse du dimère dichloré **30**, aucune réaction n'a lieu avec le PEPPSI-*i*Pr (essai 4).

Finalement, le meilleur résultat est obtenu avec le système catalytique Pd(OAc)₂/P(*t*Bu)₃ dans un mélange dioxane/eau à reflux¹⁶⁴ (essai 5) : nous n'observons pas de produit **U** et le dimère **43** est isolé avec un rendement de 56%. Par cette même méthode, nous accédons aussi au dérivé éthoxy **42** avec un rendement de 57% (Figure 197).

¹⁶³ R. J. Gleave, P. J. Beswick, A. J. Brown, G. M. P. Giblin, C. P. Haslam, D. Livermore, A. Moses, N. H. Nicholson, L. W. Page, B. Slingsby, M. E. Swarbrick, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 6578-6581.

¹⁶⁴ B. L. Hodous, S. D. Geuns-Meyer, P. E. Hughes, B. K. Albrecht, S. Bellon, J. Bready, S. Caenepeel, V. J. Cee, S. C. Chaffee, A. Coxon, M. Emery, J. Fretland, P. Gallant, Y. Gu, D. Hoffman, R. E. Johnson, R. Kendall, J. L. Kim, A. M. Long, M. Morrisson, P. R. Olivieri, V. F. Patel, A. Polverino, P. Rose, P. Tempest, L. Wang, D. A. Whittington, H. Zhao, *J. Med. Chem.*, **2007**, *50*, 611-626.

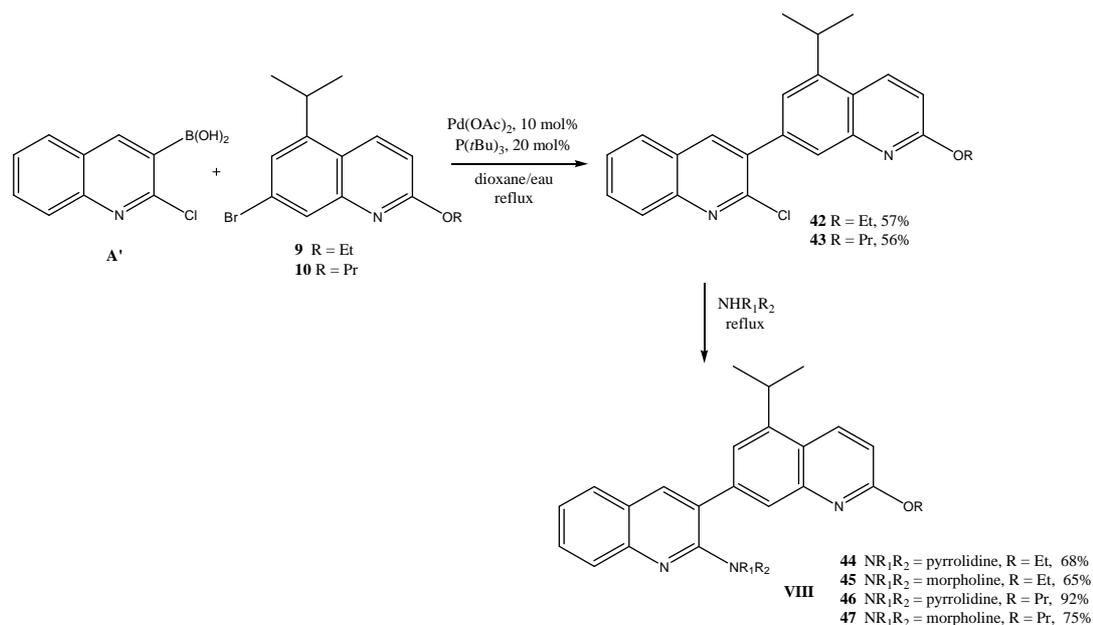


Figure 197 : Préparation des dimères de la famille VIII.

La substitution nucléophile aromatique sur les composés **42** et **43** en présence de pyrrolidine et de morpholine a finalement conduit aux quatre dimères de la famille **VIII** avec des rendements allant de 65 à 92% (Figure 197).

III.2.b. Préparation des trimères

La suite de mon travail a été consacrée à la synthèse de trimères alkoxy-alkylaminoquinoléines.

Les réactions d'*ortho*-métallation-boration en position 3 de la 2-aminoquinoléine **24** n'ayant pas conduit au composé attendu, la formation des acides boroniques correspondant à la famille **VII** n'a pas été envisagée. Nous nous sommes donc intéressés à la synthèse des trimères à partir des dimères des familles **V** et **VIII**.

Ainsi, nous pouvons accéder aux composés de structure générale présentée en Figure 198 qui se classent en trois familles :

- Famille **IX** : 2-alkylamino-2', 2''-dialkoxy terquinoléines.
- Famille **X** : 2, 2''-alkyldiamino-2'-alkoxy terquinoléines.
- Famille **XI** : 2, 2'-dialkoxy-2''-alkylamino terquinoléines.

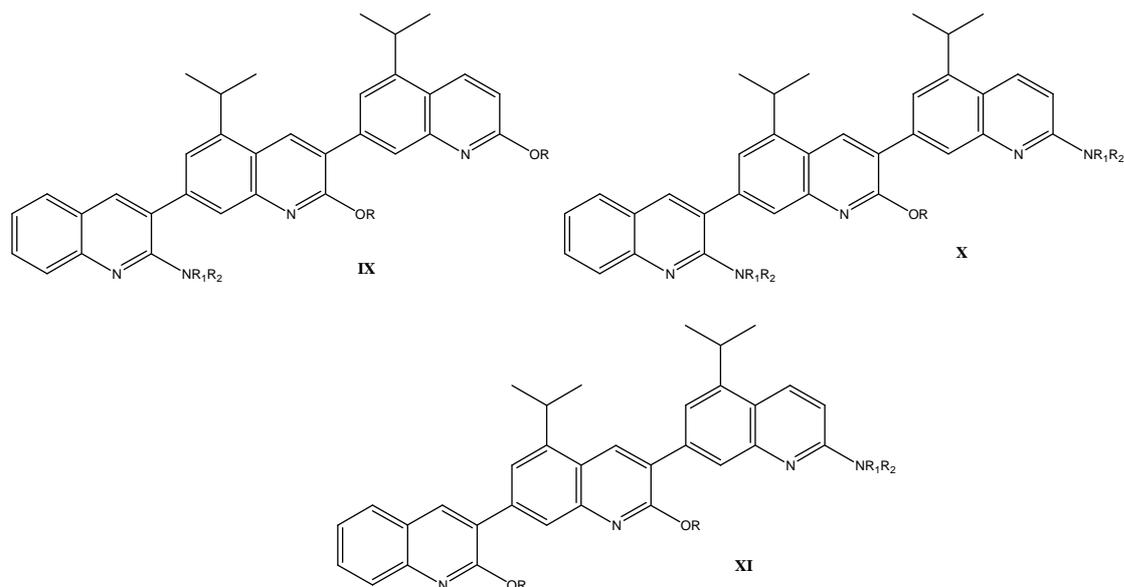


Figure 198 : Structure générale des familles IX, X et XI de trimères à préparer.

Comme pour la préparation des acides boroniques **B'**, **1'**, **7'**, **8'**, **12'-15'** en série alkoxy, nous avons réalisé sans difficulté l'*ortho*-métallation-boration en position 3' des dimères **VIII**. Le couplage avec les bromoquinoléines **9** et **10** a été effectué de façon analogue à la série alkoxy. Nous avons ainsi obtenu les trimères **48-53** avec des rendements allant de 44 à 98% (Figure 199).

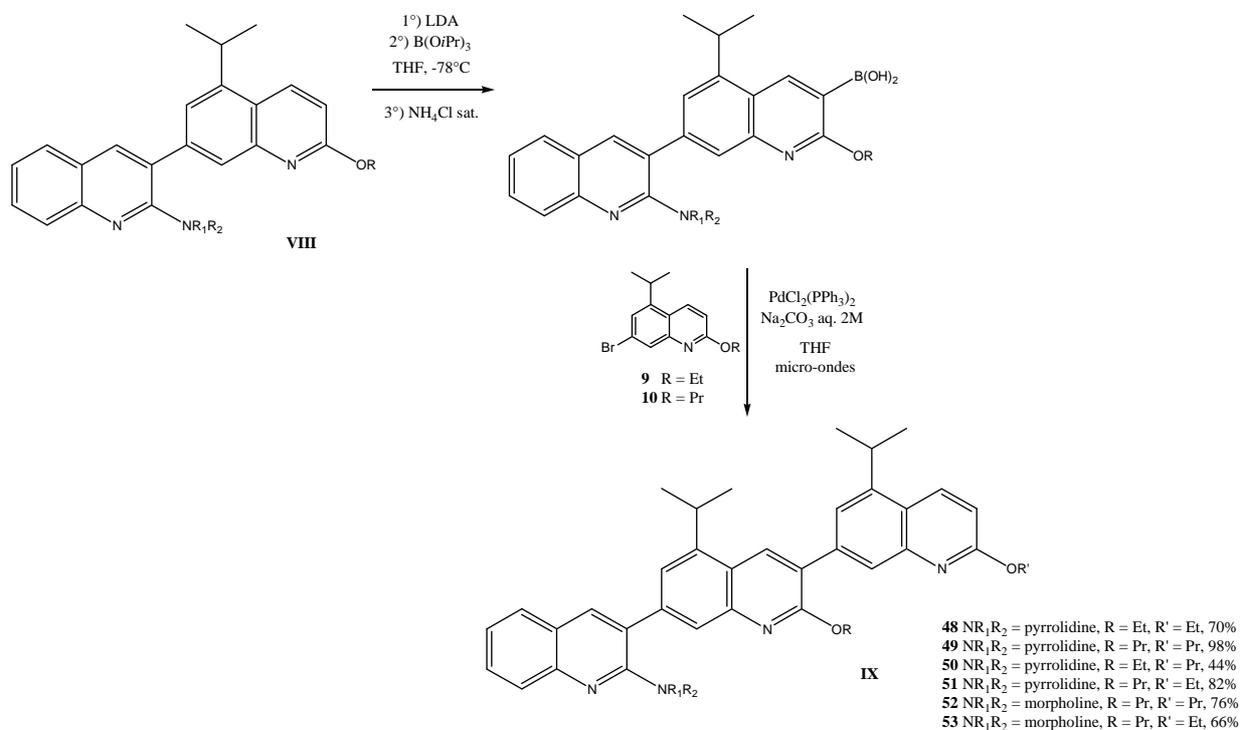


Figure 199 : Préparation des trimères de la famille IX.

Pour la préparation des trimères de la famille **X**, nous avons effectué la réaction de Suzuki-Miyaura à partir des 2-amino-7-bromoquinoléines **25** et **27**.

Cette méthode plus convergente permet de contourner d'éventuels problèmes de régiosélectivité rencontrés lors des couplages avec la bromo-chloroquinoléine **29**.

Nous accédons aux trimères **54-61** avec des rendements allant de 40 à 96% (Figure 200).

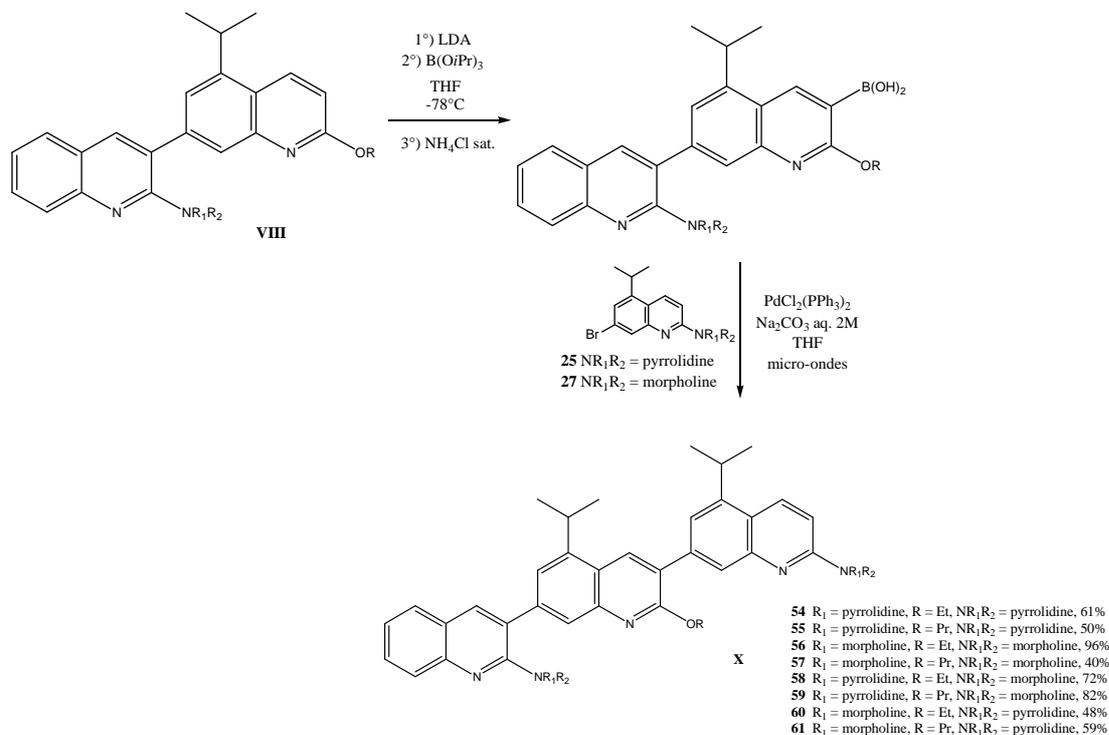


Figure 200 : Préparation des trimères de la famille **X**.

Enfin, les trimères de la famille **XI** sont obtenus en suivant un mode opératoire analogue à celui des familles **IX** et **X**, après *ortho*-métallation-boration des bialkoxyquinoléines puis couplage de Suzuki avec les monomères **25** et **27**.

Les trimères de la famille **XI** sont synthétisés avec des rendements supérieurs à 49% (Figure 201).

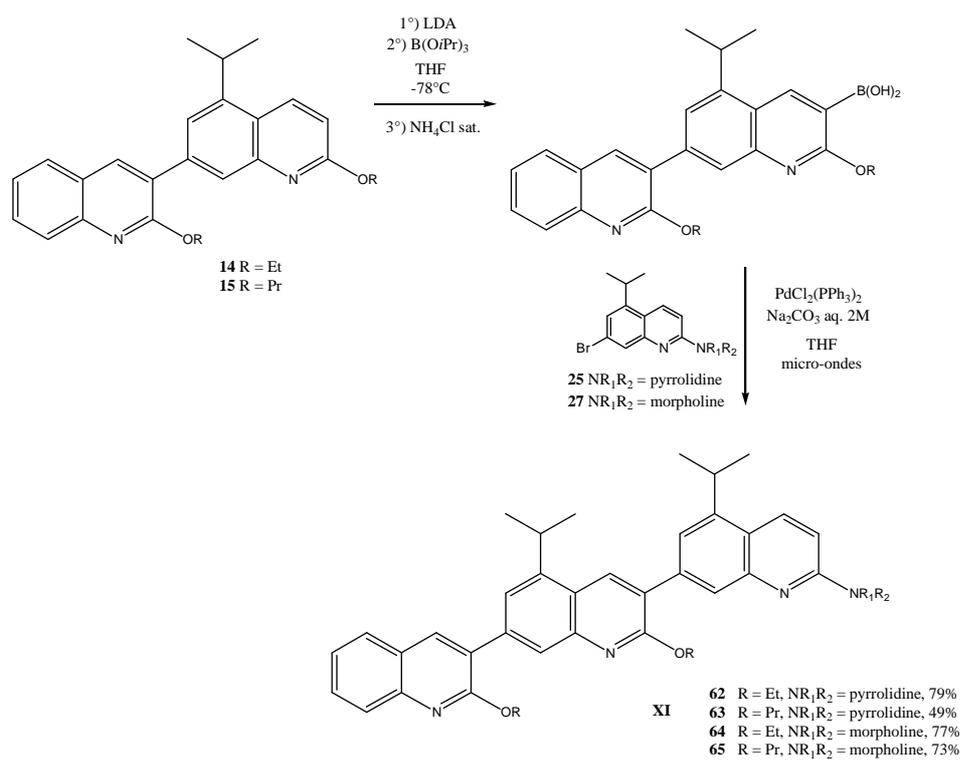


Figure 201 : Préparation des trimères de la famille XI.

IV. CONCLUSION-PERSPECTIVES

Les travaux préliminaires effectués au laboratoire ont conduit à une première série de terquinoléines qui ont fait l'objet de tests biologiques sur les protéines anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2. L'un des composés les plus intéressants (**iii**, Figure 202), a servi de point de départ pour la synthèse de nouveaux représentants en série alkoxyquinoléine.

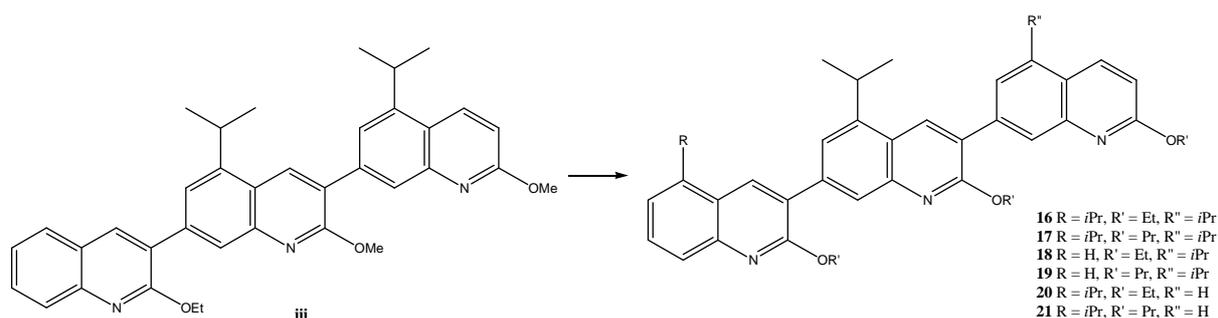


Figure 202 : Diversification de la série alkoxyquinoléine.

Des études de modélisation moléculaire réalisées sur les composés **16** et **17** ont montré qu'ils se structuraient en hélice et qu'ils projetaient leurs groupements isopropyles du même côté que les chaînes hydrophobes portées par des résidus en *i*, *i*+4 et *i*+11 du peptide Bak.

Malheureusement, malgré les résultats de modélisation moléculaire en accord avec l'hypothèse structurale de départ, les résultats obtenus lors des tests biologiques effectués sur ces composés (inhibition des protéines anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2 et activités antiprolifératives sur des lignées cellulaires cancéreuses) ne sont pas très encourageants. Ceci est probablement lié à un problème de solubilité de ces dérivés.

C'est pourquoi, nous nous sommes orientés vers le développement d'une nouvelle série de composés : des trimères « mixtes » alkoxy-alkylaminoquinoléines (Figure 203).

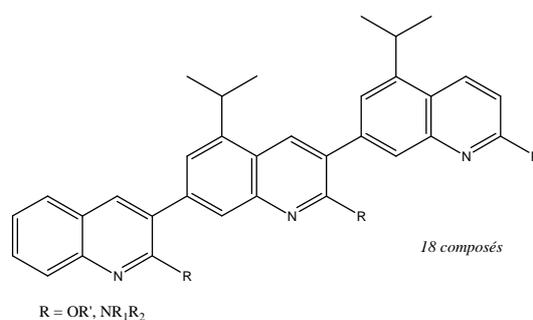


Figure 203 : Trimères préparés en série alkoxy-aminoquinoléine.

L'introduction d'amines cycliques en position 2 du noyau quinoléine a permis d'accroître la solubilité. De plus, ces structures originales s'inscrivent dans la poursuite de l'étude de relations structure-activité initiée avec la série alkoxy.

L'évaluation biologique de la seconde série de composés est actuellement en cours.

En perspective pour ce projet, il serait envisageable de faire varier la nature des chaînes latérales des quinoléines. Ainsi, nous pourrions introduire en position 2, 2' et 2'' des substituants alkoxy terminés en bout de chaîne par des amines (Figure 204).

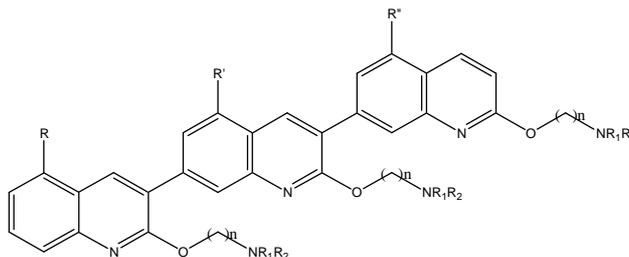


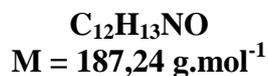
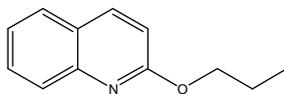
Figure 204 : Cibles de synthèse à envisager.

Troisième chapitre

PARTIE EXPERIMENTALE

Chimie

2-Propoxyquinoléine (1)



La 2-chloroquinoléine **A** (500 mg ; 3,06 mmol) est ajoutée à une solution de nPrONa (10,1 mmol ; 3,3 équiv. ; préparée à partir de 232 mg de sodium) dans le n-propanol (10 mL). Le mélange est chauffé à reflux pendant 4 h. Après évaporation du solvant sous pression réduite, de l'eau est ajoutée et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées et séchées sur MgSO₄. Après évaporation du solvant sous pression réduite, le composé **1** (551 mg ; 2,94 mmol ; 96%) est obtenu sous forme d'une huile incolore.

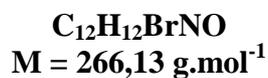
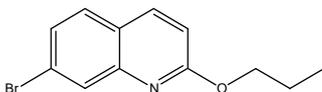
IR (ATR) : 1618, 1606, 1428, 1313, 1276, 1259, 1238 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,01 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,79 (2H, sext, *J* = 7,0 Hz) ; 4,36 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,00 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,41 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,65 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,87 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,75 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,22 (1H, d, *J* = 9,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 10,5 (CH₃) ; 21,8 ; 66,9 (CH₂) ; 113,0 ; 124,0 ; 126,7 ; 127,7 ; 129,7 ; 139,2 (CH_{arom}) ; 124,7 ; 145,9 ; 161,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₂H₁₄NO (M+H)⁺ 188,1075 ; trouvée 188,1077.

7-Bromo-2-propoxyquinoléine (2)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-propoxyquinoléine **1** ; 7-bromo-2-chloroquinoléine **D** (150 mg ; 0,62 mmol), nPrONa (5 équiv.), nPrOH (4,5 mL), 15 h ; le composé **2** (153 mg ; 0,57 mmol ; 93%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 54–59 °C.

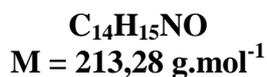
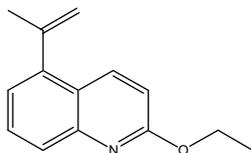
IR (ATR) : 1614, 1496, 1446, 1336, 1301, 1253, 1124 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,00 (3H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 1,78 (2H, sext, $J = 7$ Hz) ; 4,35 (2H, t, $J = 6,5$ Hz) ; 7,04 (1H, d, $J = 9$ Hz) ; 7,57 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,84 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,93 (1H, s) ; 8,25 (1H, d, $J = 9$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 10,4 (CH_3) ; 21,7 ; 67,2 (CH_2) ; 113,7 ; 127,1 ; 128,6 ; 129,6 ; 139,2 (CH_{arom}) ; 122,9 ; 123,6 ; 146,8 ; 162,4 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) : calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_{13}^{79}\text{BrNO}$ (M+H) $^+$ 266,0181 ; trouvée 266,0183.

5-(Propèn-2-yl)-2-éthoxyquinoléine (**3**)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-propoxyquinoléine **1** ; 2-chloro-5-(propèn-2-yl)quinoléine **R** (728 mg ; 3,57 mmol), EtONa (5 équiv.), EtOH (40 mL), 15 h ; le composé **3** (720 mg ; 3,38 mmol ; 94%) est obtenu sous forme d'une huile incolore.

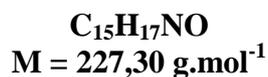
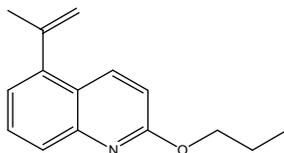
IR (ATR): 1609, 1412, 1314, 1260, 1042 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,38 (3H, t, *J* = 7,0 Hz) ; 2,15 (3H, s) ; 4,46 (2H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 4,97 (1H, s) ; 5,45 (1H, s) ; 6,99 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,27 (1H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 7,61 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,67 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,25 (1H, d, *J* = 9,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 14,4 ; 24,9 (CH₃) ; 61,2 (CH₂) ; 112,9 ; 122,4 ; 125,9 ; 129,2 ; 136,7 (CH_{arom}) ; 116,8 ; 121,8 ; 141,8 ; 142,9 ; 146,4 ; 161,3 (=CH₂, C).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₄H₁₆NO (M+H)⁺ 214,1232 ; trouvée 214,1230.

5-(Propèn-2-yl)-2-propoxyquinoléine (4)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-propoxyquinoléine **1** ; 2-chloro-5-(propèn-2-yl)quinoléine **R** (625 mg ; 3,07 mmol), nPrONa (5 équiv.), nPrOH (33 mL), 15 h ; le composé **4** (597 mg ; 2,63 mmol ; 86%) est obtenu sous forme d'une huile incolore.

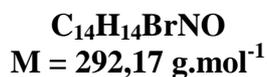
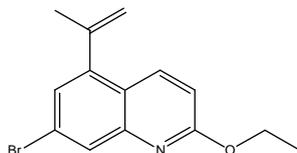
IR (ATR) : 1610, 1411, 1315, 1265 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,00 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,79 (2H, sext, *J* = 7,0 Hz) ; 2,15 (3H, s) ; 4,37 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 4,97 (1H, s) ; 5,45 (1H, s) ; 7,00 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,27 (1H, dd, *J*₁ = 7,0 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz) ; 7,61 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,67 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,25 (1H, d, *J* = 9,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 10,5 ; 24,9 (CH₃) ; 21,8 ; 67,0 (CH₂) ; 112,9 ; 122,4 ; 125,9 ; 129,2 ; 136,8 (CH_{arom}) ; 116,8 ; 121,9 ; 141,8 ; 143,0 ; 146,4 ; 161,5 (=CH₂, C).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₅H₁₈NO (M+H)⁺ 228,1388 ; trouvée 228,1383.

7-Bromo-2-éthoxy-5-(propèn-2-yl)quinoléine (5)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-propoxyquinoléine **1** ; 7-bromo-2-chloro-5-(propèn-2-yl)quinoléine **S** (350 mg ; 1,24 mmol), EtONa (4,5 équiv.), EtOH (10 mL), 2 h ; le composé **5** (357 mg ; 1,22 mmol ; 99%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 34–37 °C.

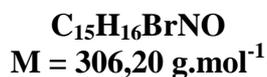
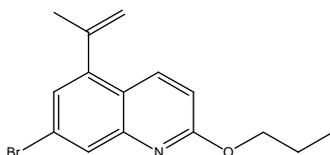
IR (ATR) : 1607, 1312, 1275, 1248, 1128, 1043 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,37 (3H, t, *J* = 7,0 Hz) ; 2,15 (3H, m) ; 4,45 (2H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 5,01 (1H, m) ; 5,48 (1H, m) ; 7,03 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,43 (1H, d, *J* = 2,0 Hz) ; 7,86 (1H, dd, *J*₁ = 2,0 Hz, *J*₂ = 0,5 Hz) ; 8,23 (1H, dd, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 0,5 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 14,4 ; 24,6 (CH₃) ; 61,6 (CH₂) ; 113,6 ; 125,2 ; 127,8 ; 136,9 (CH_{arom}) ; 117,8 ; 120,9 ; 122,4 ; 141,7 ; 143,8 ; 147,3 ; 162,1 (=CH₂, C).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₄H₁₅⁷⁹BrNO (M+H)⁺ 292,0337 ; trouvée 292,0331.

7-Bromo-5-(propèn-2-yl)-2-propoxyquinoléine (6)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-propoxyquinoléine **1** ; 7-bromo-2-chloro-5-(propèn-2-yl)quinoléine **S** (500 mg ; 1,77 mmol), nPrONa (4,5 équiv.), nPrOH (14,5 mL), 2 h ; le composé **6** (530 mg ; 1,73 mmol ; 98%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 30–32 °C.

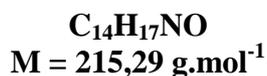
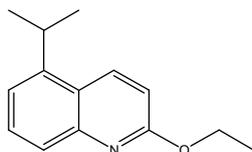
IR (ATR) : 1607, 1406, 1313, 1274, 1127 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,00 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,78 (2H, sext, *J* = 7,0 Hz) ; 2,15 (3H, s) ; 4,36 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 5,02 (1H, s) ; 5,49 (1H, s) ; 7,05 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,42 (1H, d, *J* = 2,0 Hz) ; 7,87 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 8,23 (1H, d, *J* = 9,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 10,4 ; 24,6 (CH₃) ; 21,7 ; 67,3 (CH₂) ; 113,5 ; 125,2 ; 127,8 ; 137,0 (CH_{arom}) ; 117,8 ; 120,9 ; 122,4 ; 141,7 ; 143,8 ; 147,3 ; 162,3 (=CH₂, C).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₅H₁₇⁷⁹BrNO (M+H)⁺ 306,0494 ; trouvée 306,0492.

2-Ethoxy-5-isopropylquinoléine (7)



Un mélange de 5-(propèn-2-yl)-2-éthoxyquinoléine **3** (26 mg ; 0,12 mmol) et de PtO₂ (5,5 mg ; 0,024 mmol ; 20 mol%) dans l'AcOEt (1 mL) est agité sous atmosphère d'hydrogène à température ambiante pendant 4 h. Après filtration sur Célite et évaporation du solvant sous pression réduite, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 98:2) pour obtenir le composé **7** (20 mg ; 0,093 mmol ; 76%) sous forme d'une huile incolore.

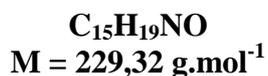
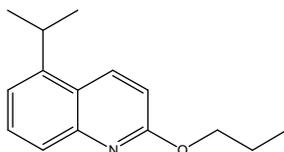
IR (ATR) : 1606, 1412, 1387, 1305, 1290, 1264, 1241, 1043 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,31 (6H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 1,37 (3H, t, *J* = 7,0 Hz) ; 3,67 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 4,45 (2H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 7,00 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,31–7,37 (1H, m) ; 7,57–7,64 (2H, m) ; 8,46 (1H, d, *J* = 9,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 14,5 ; 23,6 (2C) ; 27,8 (CH₃, CH) ; 61,1 (CH₂) ; 112,5 ; 119,9 ; 125,0 ; 129,5 ; 135,1 (CH_{arom}) ; 122,5 ; 145,1 ; 146,5 ; 161,0 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₄H₁₈NO (M+H)⁺ 216,1388 ; trouvée 216,1393.

5-Isopropyl-2-propoxyquinoléine (8)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **7** ; 5-(propèn-2-yl)-2-propoxyquinoléine **4** (552 mg ; 2,43 mmol) ; le composé **8** (422 mg ; 1,84 mmol ; 76%) est obtenu sous forme d'une huile incolore.

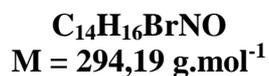
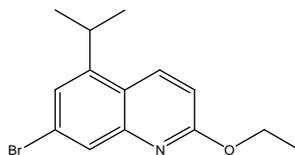
IR (ATR) : 1606, 1412, 1306, 1289, 1267, 1240 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,00 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,31 (6H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 1,79 (2H, sext, *J* = 7,0 Hz) ; 3,67 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 4,35 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,01 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,31–7,37 (1H, m) ; 7,56–7,64 (2H, m) ; 8,46 (1H, d, *J* = 9,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 10,5 ; 23,6 (2C) ; 27,8 (CH₃, CH) ; 21,8 ; 66,8 (CH₂) ; 112,4 ; 119,9 ; 124,9 ; 129,5 ; 135,1 (CH_{arom}) ; 122,5 ; 145,1 ; 146,5 ; 161,2 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) : calculée pour C₁₅H₂₀NO (M+H)⁺ 230,1545 ; trouvée 230,1545.

7-Bromo-2-éthoxy-5-isopropylquinoléine (9)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **7** ; 7-bromo-5-(propèn-2-yl)-2-éthoxyquinoléine **5** (356 mg ; 1,22 mmol) ; le composé **9** (309 mg ; 1,05 mmol ; 86%) est obtenu sous forme d'une huile incolore.

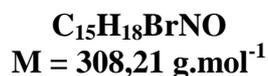
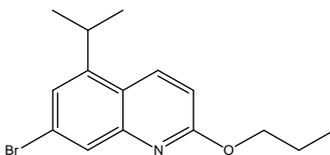
IR (ATR) : 1609, 1303, 1290, 1253, 1041 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,30 (6H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 1,37 (3H, t, *J* = 7,0 Hz) ; 3,67 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 4,45 (2H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 7,04 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,43 (1H, s) ; 7,79 (1H, s) ; 8,47 (1H, d, *J* = 9,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 14,4 ; 23,3 (2C) ; 27,9 (CH₃, CH) ; 61,5 (CH₂) ; 113,2 ; 121,4 ; 126,9 ; 135,4 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 123,2 ; 147,4 ; 147,7 ; 161,8 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₄H₁₇⁷⁹BrNO (M+H)⁺ 294,0494 ; trouvée 294,0494.

7-Bromo-5-isopropyl-2-propoxyquinoléine (10)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **7** ; 7-bromo-5-(propèn-2-yl)-2-propoxyquinoléine **6** (426 mg ; 1,39 mmol) ; le composé **10** (376 mg ; 1,22 mmol ; 88%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 39–41 °C.

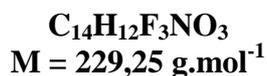
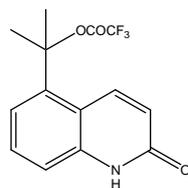
IR (ATR) : 1605, 1312, 1287, 1256 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,00 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,30 (6H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 1,78 (2H, sext, *J* = 7,0 Hz) ; 3,67 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 4,35 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,05 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,42 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,79 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 8,47 (1H, d, *J* = 9,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 10,4 ; 23,3 (2C) ; 28,0 (CH₃, CH) ; 21,7 ; 67,2 (CH₂) ; 113,1 ; 123,2 ; 126,9 ; 135,4 (CH_{arom}) ; 121,4 ; 123,1 ; 147,4 ; 147,7 ; 162,0 (C_{arom}).

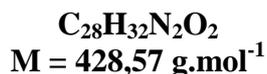
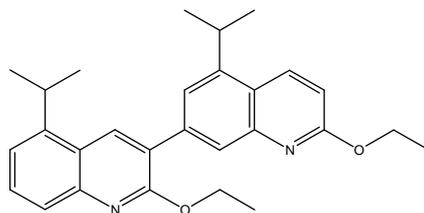
Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₅H₁₉⁷⁹BrNO (M+H)⁺ 308,0650 ; trouvée 308,0639.

Trifluoroacétate de 1-méthyl-1-(2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)éthyle (11)



A une solution de NaBH₄ (65 mg ; 1,72 mmol ; 3,5 équiv.) dans le TFA (5,15 mL), à 0 °C et sous atmosphère inerte, est ajoutée une solution de composé **N** (100 mg ; 0,49 mmol) dans le CH₂Cl₂ (5 mL). Après 1,5 h d'agitation à température ambiante, une solution aqueuse de NaOH 1 M (8 mL) est ajoutée puis le mélange est extrait au CH₂Cl₂. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ puis évaporées sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 1:1 à 3:7) ce qui permet d'obtenir le composé **11** en mélange avec le composé **P** dans un rapport ~1:1 (35 mg – rapport déterminé d'après le spectre de RMN ¹H).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,99 (6H, s) ; 6,55 (1H, d, *J* = 10 Hz) ; 7,30 (1H, d, *J* = 7,5 Hz) ; 7,36 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,52 (1H, t, *J* = 8 Hz) ; 8,21 (1H, d, *J* = 10 Hz) ; 11,91 (1H, se).

2,2'-Diéthoxy-5,5'-diisopropyl-3,7'-biquinoléine (12)

Etape 1 : Une solution de diisoprylamine (472 μL ; 3,34 mmol ; 4 équiv.) dans le THF anhydre (1,5 mL) est refroidie à -5°C avant addition goutte à goutte de n-BuLi (2,5 M dans l'hexane ; 1,24 mL ; 3,10 mmol ; 3,7 équiv.). Le mélange est agité 1 h à -5°C puis ajouté goutte à goutte à une solution refroidie à -78°C de composé **7** (180 mg ; 0,84 mmol) et de triisoprylborate (772 μL ; 3,34 mmol ; 4 équiv.) dans le THF anhydre (1,5 mL). Le mélange réactionnel est agité 4 h à -78°C puis laissé remonter à température ambiante et agité pendant 15 h. Après addition d'une solution aqueuse saturée de NH_4Cl , le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO_4 puis évaporées sous pression réduite ce qui permet d'obtenir l'acide boronique intermédiaire (282 mg).

Etape 2 : A une solution de quinoléine bromée **9** (148 mg ; 0,50 mmol) dans le THF (4,5 mL) sont ajoutés du $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (17,5 mg ; 25 μmol ; 5 mol%), une solution aqueuse de Na_2CO_3 2 M (1,23 mL ; 2,5 mmol ; 5 équiv) ainsi que l'acide boronique obtenu à l'étape 1 (260 mg). Le mélange est agité sous irradiation micro-ondes (65°C , $P_{\text{max}} = 50 \text{ W}$, P_{atm}) pendant 20 min, versé dans l'eau puis extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO_4 puis évaporées sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 100:0 à 99,8:0,2) ce qui permet d'obtenir le dimère **12** (165 mg ; 0,39 mmol ; 77%) sous forme d'un solide blanc.

F = 122–125 $^\circ\text{C}$.

IR (ATR) : 1608, 1261, 1254, 1046 cm^{-1} .

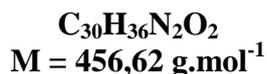
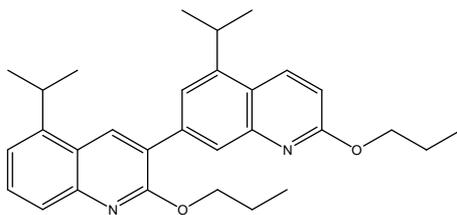
Masse exacte (ES+) : calculée pour $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_2$ (M+H)⁺ 429,2542 ; trouvée 429,2539.

RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6) : 1,39–1,45 (18H, m) ; 3,79 (1H, hept, $J = 7,0 \text{ Hz}$) ; 3,87 (1H, hept, $J = 7,0 \text{ Hz}$) ; 4,54 (2H, q, $J = 7,0 \text{ Hz}$) ; 4,59 (2H, q, $J = 7,0 \text{ Hz}$) ; 6,99 (1H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$) ; 7,41 (1H, d, $J = 7,0 \text{ Hz}$) ; 7,64 (1H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,70 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,77 (1H, s) ; 7,91 (1H, s) ; 8,50 (1H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$) ; 8,56 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, acétone- d_6) : 14,87 ; 14,88 ; 23,98 (2C) ; 24,03 (2C) (CH_3) ; 62,1 ; 62,4 (CH_2) ; 29,0 ; 29,2 (CH) ; 113,5 ; 121,0 ; 122,9 ; 125,8 ; 126,6 ; 130,3 ; 135,1 ; 135,4 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 124,2 ; 126,5 ; 139,3 ; 145,2 ; 146,4 ; 147,5 ; 148,2 ; 159,6 ; 162,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) : calculée pour $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_2$ (M+H)⁺ 429,2542 ; trouvée 429,2539.

5,5'-Diisopropyl-2,2'-dipropoxy-3,7'-biquinoléine (13)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **12** ; composé **10** (89 mg ; 0,29 mmol) ; le composé **13** (88 mg ; 0,19 mmol ; 67%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 110–116 °C.

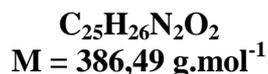
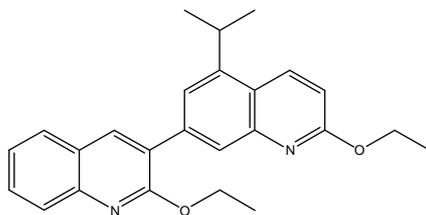
IR (ATR) : 1607, 1409, 1265, 1252 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,05 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,06 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,41 (6H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 1,43 (6H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 1,79–1,91 (4H, m) ; 3,79 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 3,87 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 4,45 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 4,50 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,01 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,41 (1H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 7,64 (1H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 7,71 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,75 (1H, s) ; 7,92 (1H, s) ; 8,51 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 8,55 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 10,8 ; 11,2 ; 23,95 (2C) ; 24,03 (2C) (CH₃) ; 22,98 ; 23,00 ; 67,9 ; 68,3 (CH₂) ; 29,0 ; 29,2 (CH) ; 113,5 ; 121,0 ; 122,8 ; 125,8 ; 126,7 ; 130,3 ; 135,1 ; 135,5 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 124,1 ; 126,6 ; 139,4 ; 145,3 ; 146,4 ; 147,5 ; 148,2 ; 159,7 ; 162,8 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₃₀H₃₇N₂O₂ (M+H)⁺ 457,2855 ; trouvée 457,2845.

2,2'-Diéthoxy-5'-isopropyl-3,7'-biquinoléine (14)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **12** ; composé **9** (88 mg ; 0,30 mmol) ; le composé **14** (79 mg ; 0,20 mmol ; 68%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 85–87 °C.

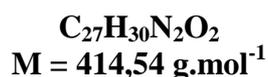
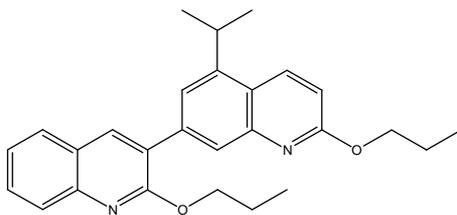
IR (ATR) : 1604, 1409, 1342, 1294, 1264, 1255, 1047 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,40–1,46 (12H, m) ; 3,78 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 4,53 (2H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 4,60 (2H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 6,99 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,46 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,68 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,77 (1H, s) ; 7,84 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,92 (1H, s) ; 7,96 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,35 (1H, s) ; 8,49 (1H, d, *J* = 9,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 14,85 ; 14,87 ; 24,0 (2C) (CH₃) ; 62,0 ; 62,6 (CH₂) ; 29,2 (CH) ; 113,5 ; 122,7 ; 125,1 ; 126,5 ; 127,5 ; 128,7 ; 130,3 ; 135,4 ; 139,2 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 126,5 ; 127,1 ; 138,9 ; 145,4 ; 146,9 ; 148,2 ; 160,1 ; 162,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₅H₂₇N₂O₂ (M+H)⁺ 387,2073 ; trouvée 387,2061.

5'-Isopropyl-2,2'-dipropoxy-3,7'-biquinoléine (15)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **12** ; composé **10** (164 mg ; 0,53 mmol) ; le composé **15** (109 mg ; 0,26 mmol ; 49%) est obtenu sous forme d'une gomme blanche.

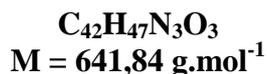
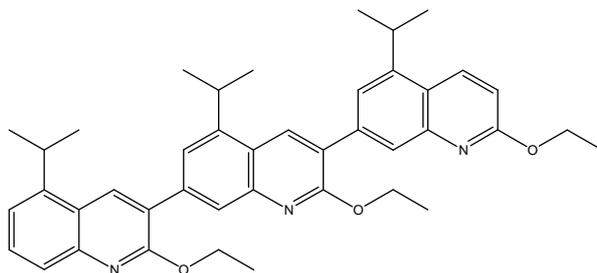
IR (ATR) : 1607, 1409, 1289, 1262, 1255 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,06 (6H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,43 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 1,80–1,91 (4H, m) ; 3,79 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 4,44 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 4,51 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,01 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,46 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,69 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,76 (1H, s) ; 7,85 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,93 (1H, s) ; 7,97 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,36 (1H, s) ; 8,50 (1H, d, *J* = 9,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 10,8 ; 11,2 ; 24,0 (2C) (CH₃) ; 22,97 ; 22,99 ; 67,9 ; 68,5 (CH₂) ; 29,2 (CH) ; 113,5 ; 122,6 ; 125,1 ; 126,7 ; 127,5 ; 128,7 ; 130,3 ; 135,4 ; 139,2 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 126,5 ; 127,1 ; 138,9 ; 145,4 ; 146,9 ; 148,2 ; 160,3 ; 162,8 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₇H₃₁N₂O₂ (M+H)⁺ 415,2386 ; trouvée 415,2391.

2,2',2''-Triéthoxy-5,5',5''-triisopropyl -3,7':3,7''-terquinoléine (16)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **12** ; composé **9** (23 mg ; 0,078 mmol) ; le composé **16** (34 mg ; 0,053 mmol ; 68%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 98–104 °C.

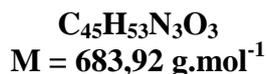
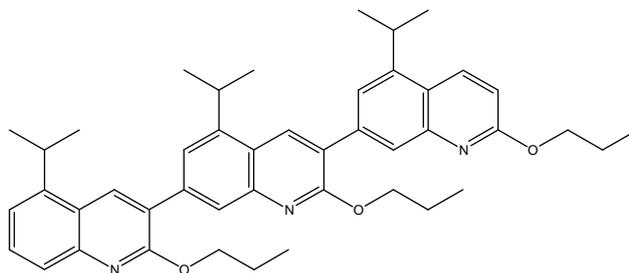
IR (ATR) : 1609, 1251, 1047 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,39–1,50 (27H, m) ; 3,79 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 3,88 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 3,94 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 4,55 (2H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 4,58–4,67 (4H, m) ; 7,00 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,41 (1H, d, *J* = 7,5 Hz) ; 7,64 (1H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 7,72 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,81 (1H, s) ; 7,83 (1H, s) ; 7,95 (1H, s) ; 7,99 (1H, s) ; 8,50 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 8,60 (2H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 14,88 ; 14,90 ; 14,92 ; 24,00 (2C) ; 24,04 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 62,1 ; 62,5 ; 62,6 (CH₂) ; 29,05 ; 29,14 ; 29,2 (CH) ; 113,5 ; 121,0 ; 122,9 ; 123,2 ; 125,8 ; 126,2 ; 126,6 ; 130,3 ; 134,9 ; 135,1 ; 135,4 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 123,5 ; 124,2 ; 126,5 ; 126,7 ; 139,3 ; 139,4 ; 145,3 ; 145,6 ; 146,4 ; 147,56 ; 147,62 ; 148,2 ; 159,6 ; 159,9 ; 162,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₂H₄₈N₃O₃ (M+H)⁺ 642,3696 ; trouvée 642,3679.

5,5',5''-Triisopropyl-2,2',2''-tripropoxy-3,7':3,7''-terquinoléine (17)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **12** ; composé **10** (29 mg ; 0,094 mmol) ; le composé **17** (32 mg ; 0,047 mmol ; 50%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 89–91 °C.

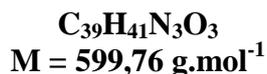
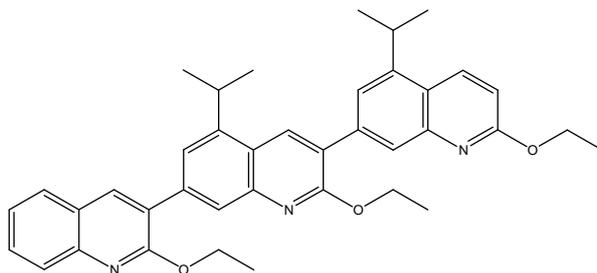
IR (ATR) : 1609, 1559, 1506, 1456, 1258 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,04–1,11 (9H, m) ; 1,41–1,50 (18H, m) ; 1,82–1,92 (6H, m) ; 3,81 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 3,89 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 3,95 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 4,46 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 4,52 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 4,55 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,02 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,42 (1H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 7,65 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,72 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,79 (1H, s) ; 7,82 (1H, s) ; 7,96 (1H, s) ; 8,00 (1H, s) ; 8,52 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 8,60 (2H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 10,8 ; 11,20 ; 11,21 ; 23,96 (2C) ; 24,04 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 22,98 ; 23,01 ; 23,03 ; 67,9 ; 68,37 ; 68,44 (CH₂) ; 29,1 ; 29,2 ; 29,3 (CH) ; 113,5 ; 121,0 ; 122,8 ; 123,1 ; 125,8 ; 126,3 ; 126,7 ; 130,3 ; 135,0 ; 135,1 ; 135,5 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 123,5 ; 124,2 ; 126,6 ; 126,8 ; 139,3 ; 139,4 ; 145,3 ; 145,6 ; 146,4 ; 147,57 ; 147,63 ; 148,2 ; 159,7 ; 160,0 ; 162,9 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₅H₅₄N₃O₃ (M+H)⁺ 684,4165 ; trouvée 684,4173.

2,2',2''-Triéthoxy-5',5''-diisopropyl-3,7':3,7''-terquinoléine (18)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **12** ; composé **9** (21 mg ; 0,071 mmol) ; le composé **18** (31 mg ; 0,052 mmol ; 72%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 90–92 °C.

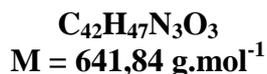
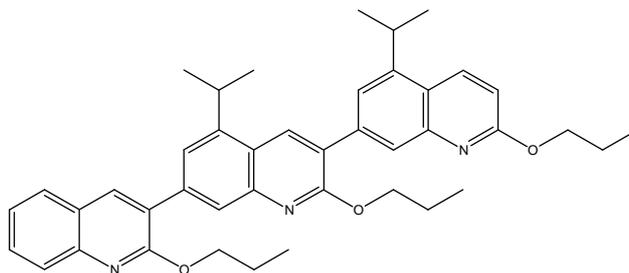
IR (ATR) : 1608, 1253, 1047 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,41–1,50 (21H, m) ; 3,80 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 3,94 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 4,55 (2H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 4,63 (4H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 7,00 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,47 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,70 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,81 (1H, s) ; 7,84 (1H, s) ; 7,86 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,95 (1H, s) ; 7,97–8,01 (2H, m) ; 8,40 (1H, s) ; 8,51 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 8,60 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 14,89 (2C) ; 14,91 ; 24,0 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 62,1 ; 62,5 ; 62,6 (CH₂) ; 29,1 ; 29,2 (CH) ; 113,5 ; 122,9 ; 123,0 ; 125,1 ; 126,1 ; 126,6 ; 127,6 ; 128,8 ; 130,4 ; 134,9 ; 135,4 ; 139,2 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 123,6 ; 126,5 ; 126,7 ; 127,1 ; 138,9 ; 139,3 ; 145,3 ; 145,7 ; 147,0 ; 147,6 ; 148,2 ; 159,9 ; 160,1 ; 162,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₃₉H₄₂N₃O₃ (M+H)⁺ 600,3226 ; trouvée 600,3231.

5',5''-Diisopropyl-2,2',2''-tripropoxy-3,7':3,7''-terquinoléine (19)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **12** ; composé **10** (18,5 mg ; 0,060 mmol) ; le composé **19** (36 mg ; 0,056 mmol ; 93%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 79–84 °C.

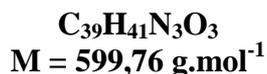
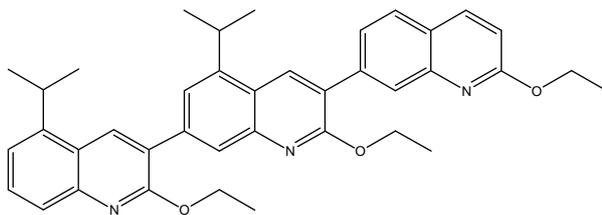
IR (ATR) : 1608, 1257, 1241 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,04–1,11 (9H, m) ; 1,45 (6H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 1,48 (6H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 1,82–1,93 (6H, m) ; 3,80 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 3,95 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz) ; 4,46 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 4,54 (4H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,02 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,47 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,70 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,79 (1H, s) ; 7,82 (1H, s) ; 7,86 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,96 (1H, s) ; 7,99 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,02 (1H, s) ; 8,40 (1H, s) ; 8,52 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 8,59 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 10,8 ; 11,19 ; 11,23 ; 24,0 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 22,98 ; 23,00 (2C) ; 67,9 ; 68,4 ; 68,5 (CH₂) ; 29,19 ; 29,25 (CH) ; 113,5 ; 122,8 ; 122,9 ; 125,1 ; 126,3 ; 126,7 ; 127,5 ; 128,7 ; 130,3 ; 135,0 ; 135,5 ; 139,2 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 123,5 ; 126,5 ; 126,8 ; 127,1 ; 138,9 ; 139,3 ; 145,3 ; 145,7 ; 146,9 ; 147,6 ; 148,2 ; 160,0 ; 160,3 ; 162,8 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₂H₄₈N₃O₃ (M+H)⁺ 642,3696 ; trouvée 642,3713.

2,2',2''-Triéthoxy-5,5'-diisopropyl-3,7':3,7''-terquinoléine (20)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **12** ; composé **E** (23 mg ; 0,091 mmol) ; le composé **20** (37 mg ; 0,062 mmol ; 68%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 72–76 °C.

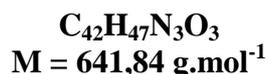
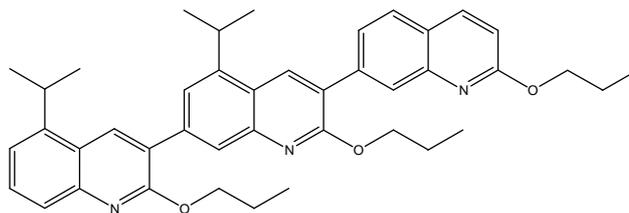
IR (ATR) : 1609, 1448, 1301, 1252, 1242, 1045 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,39–1,51 (21H, m) ; 3,83–4,00 (2H, m) ; 4,55 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 4,62 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 4,64 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 6,99 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,42 (1H, d, *J* = 7,5 Hz) ; 7,65 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,72 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,80–7,84 (1H, m) ; 7,83 (1H, s) ; 7,93 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,99 (1H, s) ; 8,11 (1H, s) ; 8,23 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,60 (2H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 14,83 ; 14,85 ; 14,92 ; 24,0 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 62,2 ; 62,5 ; 62,6 (CH₂) ; 29,07 ; 29,13 (CH) ; 114,2 ; 121,0 ; 123,3 ; 125,9 ; 126,2 ; 126,7 ; 127,9 ; 128,5 ; 130,3 ; 135,1 ; 135,2 ; 139,5 (CH_{arom}) ; 123,5 ; 124,2 ; 125,3 ; 126,4 ; 126,5 ; 139,49 ; 139,55 ; 145,6 ; 146,4 ; 147,5 ; 147,6 ; 147,7 ; 159,6 ; 159,8 ; 163,3 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₃₉H₄₂N₃O₃ (M+H)⁺ 600,3226 ; trouvée 600,3223.

5,5'-Diisopropyl-2,2',2''-tripropoxy-3,7':3,7''-terquinoléine (21)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation de la 2-éthoxy-5-isopropylquinoléine **12** ; composé **2** (31 mg ; 0,12 mmol) ; le composé **21** (52 mg ; 0,081 mmol ; 70%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 71–73 °C.

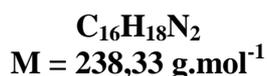
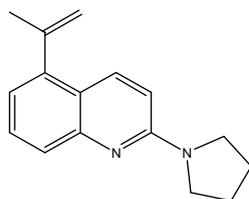
IR (ATR) : 1609, 1449, 1262, 1241 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6) : 1,02–1,11 (9H, m) ; 1,42 (6H, d, $J = 6$ Hz) ; 1,47 (6H, d, $J = 6,5$ Hz) ; 1,80–1,92 (6H, m) ; 3,83–4,00 (2H, m) ; 4,46 (2H, t, $J = 6,5$ Hz) ; 4,52 (2H, t, $J = 7$ Hz) ; 4,54 (2H, t, $J = 7$ Hz) ; 7,00 (1H, d, $J = 9$ Hz) ; 7,42 (1H, d, $J = 7$ Hz) ; 7,65 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,72 (1H, d, $J = 8$ Hz) ; 7,81 (1H, s) ; 7,80–7,84 (1H, m) ; 7,93 (1H, d, $J = 8$ Hz) ; 7,99 (1H, s) ; 8,13 (1H, s) ; 8,23 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 8,59 (1H, s) ; 8,60 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, acétone- d_6) : 10,8 ; 11,1 ; 11,2 ; 24,04 (2C) ; 24,06 (2C) (CH_3) ; 22,95 (2C) ; 23,03 ; 68,1 ; 68,37 ; 68,42 (CH_2) ; 29,1 ; 29,2 (CH) ; 114,2 ; 121,0 ; 123,1 ; 125,9 ; 126,3 ; 126,6 ; 127,8 ; 128,6 ; 130,3 ; 135,1 (2C) ; 139,5 (CH_{arom}) ; 123,5 ; 124,2 ; 125,3 ; 126,4 ; 126,6 ; 139,48 ; 139,49 ; 145,6 ; 146,4 ; 147,5 ; 147,6 ; 147,7 ; 159,7 ; 160,0 ; 163,4 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) : calculée pour $\text{C}_{42}\text{H}_{48}\text{N}_3\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 642,3696 ; trouvée 642,3707.

5-(Propèn-2-yl)-2-(pyrrolidin-1-yl)quinoléine (**22**)



Un mélange de 2-chloro-5-(propèn-2-yl)quinoléine **R** (30 mg ; 0,15 mmol) et de pyrrolidine (0,5 mL) est porté à reflux pendant 1 h. Après refroidissement, de l'eau est ajoutée puis le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées et séchées sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 8:2) pour obtenir le composé **22** (35 mg ; 0,15 mmol ; 100%) sous forme d'un solide blanc.

F = 70–72 °C.

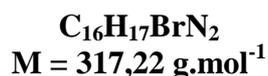
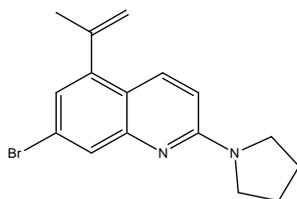
IR (ATR) : 1609, 1517, 1425 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,94–2,01 (4H, se) ; 2,13 (3H, s) ; 3,49–3,57 (4H, se) ; 4,93 (1H, s) ; 5,40 (1H, s) ; 6,86 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 6,96–7,02 (1H, m) ; 7,40–7,48 (2H, m) ; 8,05 (1H, d, *J* = 9 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 25,0 (CH₃) ; 25,1 (2C) ; 46,5 (2C) (CH₂) ; 110,5 ; 119,5 ; 124,9 ; 128,7 ; 134,4 (CH_{arom}) ; 116,3 ; 119,3 ; 141,7 ; 143,5 ; 148,4 ; 155,1 (=CH₂, C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₆H₁₉N₂ (M+H)⁺ 239,1548 ; trouvée 239,1546.

7-Bromo-5-(propèn-2-yl)-2-(pyrrolidin-1-yl)quinoléine (23)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **22** ; 7-bromo-2-chloro-5-(propèn-2-yl)quinoléine **S** (100 mg ; 0,35 mmol), pyrrolidine (1 mL), 2 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 95:5) ; le composé **23** (105 mg ; 0,33 mmol ; 94%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 103–106 °C.

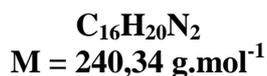
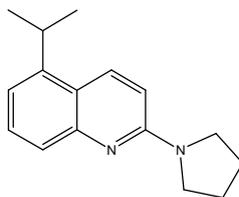
IR (ATR) : 1610, 1518, 1453, 1409 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,94–2,01 (4H, se) ; 2,12 (3H, s) ; 3,49–3,56 (4H, se) ; 4,97 (1H, s) ; 5,43 (1H, s) ; 6,90 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,11 (1H, s) ; 7,60 (1H, s) ; 8,00 (1H, d, *J* = 9,5 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 24,6 (CH₃) ; 24,9 (2C) ; 46,5 (2C) (CH₂) ; 111,0 ; 121,95 ; 126,5 ; 134,3 (CH_{arom}) ; 117,1 ; 118,1 ; 121,91 ; 142,1 ; 143,6 ; 149,3 ; 155,4 (=CH₂, C_{arom}).

Masse exacte (ES+) : calculée pour C₁₆H₁₈⁷⁹Br N₂ (M+H)⁺ 317,0653 ; trouvée 317,0647.

5-Isopropyl-2-(pyrrolidin-1-yl)quinoléine (**24**)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **7** ; composé **22** (175 mg ; 0,73 mmol), PtO_2 (16,7 mg ; 0,074 mmol ; 10 mol%), AcOEt (10 mL), 1 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 8:2) ; le composé **24** (176 mg ; 0,73 mmol ; 100%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 64–69 °C.

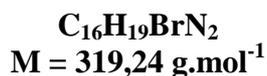
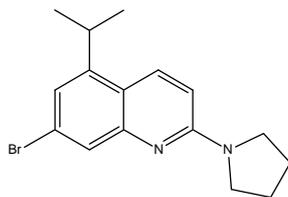
IR (ATR) : 1612, 1522, 1428 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,28 (6H, d, $J = 6,5$ Hz) ; 1,94–2,01 (4H, se) ; 3,49–3,56 (4H, se) ; 3,59 (1H, hept, $J = 7$ Hz) ; 6,87 (1H, d, $J = 9$ Hz) ; 7,07 (1H, d, $J = 7$ Hz) ; 7,36–7,46 (2H, m) ; 8,23 (1H, d, $J = 9$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 23,5 (2C) (CH_3) ; 25,0 (2C) ; 46,4 (2C) (CH_2) ; 27,6 (CH) ; 110,0 ; 116,8 ; 124,0 ; 128,9 ; 132,5 (CH_{arom}) ; 119,8 ; 144,6 ; 148,4 ; 154,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) : calculée pour $C_{16}H_{21}N_2$ (M+H) $^+$ 241,1705 ; trouvée 241,1696.

7-Bromo-5-isopropyl-2-(pyrrolidin-1-yl)quinoléine (25)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **7** ; composé **23** (240 mg ; 0,76 mmol), PtO₂ (17,2 mg ; 0,076 mmol ; 10 mol%), AcOEt (10 mL), 2 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 7:3) ; le composé **25** (187 mg ; 0,58 mmol ; 77%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 66–70 °C.

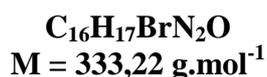
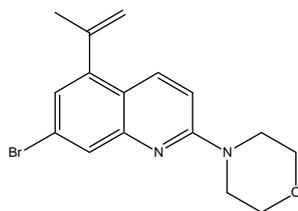
IR (ATR) : 1612, 1520, 1387 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,27 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 1,93–2,01 (4H, se) ; 3,48–3,56 (4H, se) ; 3,59 (1H, hept, *J* = 6,5 Hz) ; 6,89 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,13 (1H, s) ; 7,54 (1H, s) ; 8,22 (1H, d, *J* = 9,5 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 23,3 (2C) (CH₃) ; 25,0 (2C) ; 46,4 (2C) (CH₂) ; 27,7 (CH) ; 110,7 ; 119,9 ; 125,7 ; 132,7 (CH_{arom}) ; 118,6 ; 122,6 ; 147,3 ; 149,5 ; 155,2 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₆H₂₀⁷⁹Br N₂ (M+H)⁺ 319,0810 ; trouvée 319,0815.

7-Bromo-2-morpholin-4-yl-5-(propèn-2-yl)quinoléine (26)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **22** ; 7-bromo-2-chloro-5-(propèn-2-yl)quinoléine **S** (200 mg ; 0,71 mmol), morpholine (1 mL), 1 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 95:5 à 8:2) ; le composé **26** (214 mg ; 0,64 mmol ; 91%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 73–76°C.

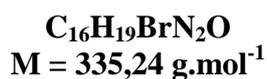
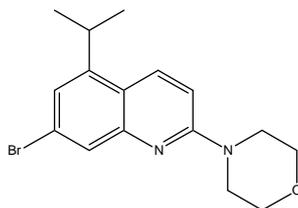
IR (ATR) = 1609, 1509, 1242, 1121 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,13 (3H, s) ; 3,62–3,76 (8H, m) ; 4,96–5,01 (1H, m) ; 5,42–5,47 (1H, m) ; 7,21 (1H, d, *J* = 2 Hz) ; 7,26 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,66 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 8,07 (1H, d, *J* = 9,5 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 24,6 (CH₃) ; 44,8 (2C) ; 66,0 (2C) (CH₂) ; 110,2 ; 123,1 ; 126,9 ; 135,1 (CH_{arom}) ; 117,4 ; 118,8 ; 122,1 ; 141,9 ; 143,5 ; 148,5 ; 157,3 (=CH₂, C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₆H₁₈⁷⁹BrN₂O (M+H)⁺ 333,0602 ; trouvée 333,0586.

7-Bromo-5-isopropyl-2-morpholin-4-ylquinoléine (27)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **7** ; composé **26** (200 mg ; 0,60 mmol) ; PtO₂ (13,6 mg, 0,060 mmol, 10 mol%) ; le composé **27** (146 mg ; 0,44 mmol ; 73%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 64–65 °C.

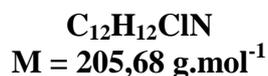
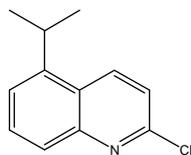
IR (ATR) = 1607, 1509, 1240, 1233, 1122, 1115 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,28 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 3,56–3,69 (5H, m) ; 3,69–3,75 (4H, m) ; 7,22 (1H, d, *J* = 2 Hz) ; 7,26 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,59 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 8,29 (1H, d, *J* = 9,5 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 23,2 (2C) (CH₃) ; 44,8 (2C) ; 66,0 (2C) (CH₂) ; 27,7 (CH) ; 109,9 ; 121,1 ; 126,1 ; 133,5 (CH_{arom}) ; 119,3 ; 122,8 ; 147,3 ; 148,5* ; 157,1 (C_{arom}).
*Déterminé d'après une expérience HMBC ¹H-¹³C.

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₆H₂₀⁷⁹BrN₂O (M+H)⁺ 335,0759 ; trouvée 335,0764.

2-Chloro-5-isopropylquinoléine (28)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **7** ; 2-chloro-5-(propène-2-yl)quinoléine **R** (132 mg ; 0,65 mmol), PtO₂ (14,7 mg ; 0,065 mmol ; 10 mol%), AcOEt (10 mL), 1 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 98:2) ; le composé **28** (90 mg ; 0,44 mmol ; 68%) est obtenu sous forme d'une huile incolore.

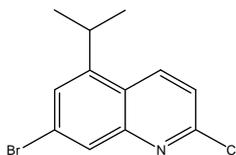
IR (ATR) : 1586, 1570, 1494, 1147, 1118 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,32 (3H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 3,73 (1H, hept, *J* = 6,5 Hz) ; 7,53–7,62 (2H, m) ; 7,74–7,84 (2H, m) ; 8,67 (1H, d, *J* = 9 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 23,5 (2C) (CH₃) ; 27,8 (CH) ; 121,9 ; 123,0 ; 126,0 ; 130,8 ; 136,1 (CH_{arom}) ; 124,7 ; 145,6 ; 147,8 ; 149,3 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₂H₁₃³⁵ClN (M+H)⁺ 206,0737 ; trouvée 206,0732.

7-Bromo-2-chloro-5-isopropylquinoléine (29)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **7** ; 7-bromo-2-chloro-5-(propèn-2-yl)quinoléine **S** (300 mg ; 1,06 mmol), PtO₂ (36 mg ; 0,16 mmol ; 15 mol%), AcOEt (16 mL), 2 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 99:1) ; le composé **29** (267 mg ; 0,94 mmol ; 88%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 42–46 °C.

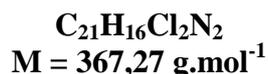
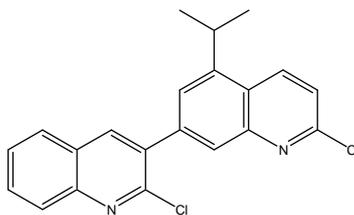
IR (ATR) : 1592, 1584, 1122 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,32 (3H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 3,74 (1H, hept, *J* = 6,5 Hz) ; 7,62–7,67 (1H, m) ; 7,65 (1H, s) ; 8,05 (1H, m) ; 8,68 (1H, d, *J* = 9 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 23,2 (2C) (CH₃) ; 28,0 (CH) ; 122,6 ; 126,4 ; 128,0 ; 136,5 (CH_{arom}) ; 123,7 ; 124,5 ; 148,2 ; 148,4 ; 150,6 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₁₂H₁₂⁷⁹Br³⁵ClN (M+H)⁺ 283,9842 ; trouvée 283,9842.

2,2'-Dichloro-5'-isopropyl-3,7'-biquinoléine (30)



Un ballon contenant du *tert*-butanolate de potassium (23 mg ; 0,205 mmol ; 1,5 équiv.) et du PEPPSI-*i*Pr (9,5 mg ; 0,014 mmol ; 10 mol%) est purgé à l'argon avant l'introduction d'isopropanol (0,3 mL). Après 10 min d'agitation à température ambiante, l'acide boronique **A'** (49 mg ; 0,24 mmol ; 1,7 équiv.) puis le composé **29** (40 mg ; 0,141 mmol) et du THF (0,5 mL) sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 4 h d'agitation à température ambiante, de l'eau est ajoutée puis le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ puis évaporées sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 99:1 à 95 :5) ce qui permet d'obtenir le composé **30** (22 mg ; 0,060 mmol, 43%) sous forme d'un solide blanc.

F = 55–59 °C.

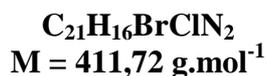
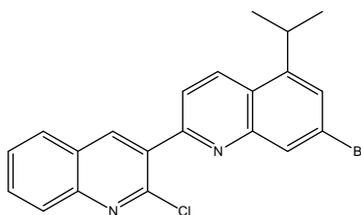
IR (ATR) : 1616, 1587, 1558, 1486 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,45 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 3,72 (1H, hept, *J* = 6,5 Hz) ; 7,48 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,63 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,69 (1H, s) ; 7,80 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,89 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 8,03 (1H, s) ; 8,11 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,23 (1H, s) ; 8,46 (1H, d, *J* = 9 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 23,7 (2CH₃) ; 28,9 (CH) ; 122,6 ; 124,8 ; 127,6 ; 127,7 ; 127,8 ; 128,6 ; 131,0 ; 134,9 ; 139,3 (CH_{arom}) ; 124,8 ; 127,3 ; 134,2 ; 139,9 ; 145,4 ; 147,3 ; 148,5 ; 149,3 ; 151,0 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₁H₁₇N₂Cl₂ (M+H)⁺ 367,0769 ; trouvée 367,0766.

7-Bromo-2'-chloro-5-isopropyl-2,3'-biquinoléine (31)



A une solution d'acide boronique **A'** (30 mg ; 0,145 mmol) dans le THF (0,5 mL) sont ajoutés la quinoléine **29** (41 mg, 0,144 mmol) dans le THF (0,5 mL), une solution aqueuse de Na₂CO₃ 2 M (0,29 mL ; 0,58 mmol ; 4 équiv.) puis le Pd(PPh₃)₄ (8,3 mg ; 0,0072 mmol ; 5 mol%). Le mélange est agité 1 h à température ambiante, versé dans l'eau puis extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ puis évaporées sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 99:1 à 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé **31** en mélange avec le dimère **30** dans un rapport ~92:8 (14 mg – rapport déterminé d'après le spectre de RMN ¹H)

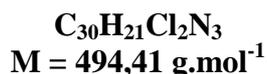
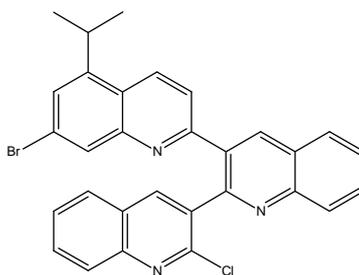
IR (ATR) : 1597, 1590, 1368, 1134, 1112, 1008 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,45 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 3,73 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 7,60–7,62 (1H, m) ; 7,63 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,81 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,91–7,96 (2H, m) ; 8,11 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,26 (1H, s) ; 8,51–8,55 (2H, m).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 23,6 (2CH₃) ; 28,8 (CH) ; 122,6 ; 126,9 ; 127,7 ; 128,3 ; 128,5 ; 130,1 ; 131,4 ; 132,2 ; 140,6 (CH_{arom}) ; 124,3 ; 124,6 ; 127,3 ; 147,2 ; 147,7 ; 148,4 ; 149,4 ; 156,0 (C_{arom}). Un C_{arom} n'est pas observé.

Masse exacte (ES+) : calculée pour C₂₁H₁₇⁷⁹Br³⁵ClN₂ (M+H)⁺ 411,0264 ; trouvée 411,0275.

2,2'-Dichloro-5'-isopropyl-3,2':7',3''-terquinoléine (32)



A une solution du composé **29** (50 mg ; 0,18 mmol) dans le THF (1 mL) sont ajoutés PdCl₂(PPh₃)₂ (6,2 mg ; 9 μmol ; 5 mol%), une solution aqueuse de Na₂CO₃ 2 M (350 μL ; 0,70 mmol ; 4 équiv.) ainsi que l'acide boronique **A'** (61 mg ; 0,35 mmol ; 2 équiv.). Le mélange est agité sous irradiation micro-onde (65 °C, P_{max} = 50 W, P_{atm}) pendant 20 min, puis versé dans l'eau et extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ puis évaporées sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 100:0 à 99:1) ce qui permet d'obtenir le trimère **32** (13 mg ; 0,026 mmol ; 15%) sous forme d'un solide blanc.

F = 76–82 °C.

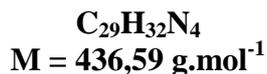
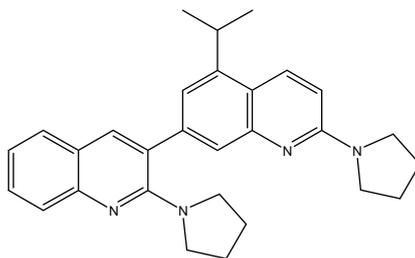
IR (ATR) : 1594, 1588, 1489, 1394, 1387, 1369 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,33 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 3,71 (1H, hept, *J* = 6,5 Hz) ; 7,46 (1H, s) ; 7,50 (1H, s) ; 7,67 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,77 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,83 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,89–7,98 (3H, m) ; 8,07 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 8,16–8,24 (2H, m) ; 8,56 (1H, s) ; 8,59 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 8,96 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 23,6 (2C) (CH₃) ; 29,0 (CH) ; 122,3 ; 126,8 ; 128,2 ; 128,6 ; 128,8 ; 128,9 ; 129,3 ; 130,06 ; 130,13 ; 131,5 ; 131,7 ; 133,8 ; 138,6 ; 140,3 (C_{arom}) ; 124,2 ; 124,4 ; 128,1 ; 128,4 ; 134,2 ; 136,4 ; 147,9 ; 148,4 ; 148,6 ; 149,5 ; 149,6 ; 156,2 ; 157,9 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₃₀H₂₁⁷⁹Br³⁵ClN₃Na (M+Na)⁺ 560,0505 ; trouvée 560,0523.

5'-Isopropyl-2,2'-dipyrrolidin-1-yl-3,7'-biquinoléine (33)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **22** ; composé **30** (18 mg ; 0,049 mmol), pyrrolidine (1 mL), 1 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 8:2) ; le composé **33** (20 mg ; 0,046 mmol ; 93%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 92–95 °C.

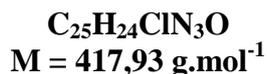
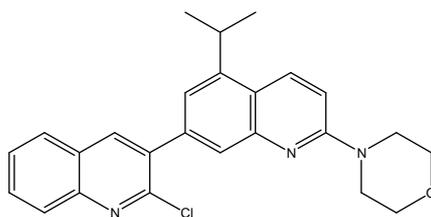
IR (ATR) : 1609, 1435 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,34 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 1,71–1,77 (4H, m) ; 2,02–2,09 (4H, m) ; 3,28–3,34 (4H, m) ; 3,56–3,70 (5H, m) ; 6,77 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,18 (1H, s) ; 7,20 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,53 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,61 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,70 (1H, s) ; 7,77 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,89 (1H, s) ; 8,17 (1H, d, *J* = 9 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 24,0 (2C) (CH₃) ; 26,16 (2C) ; 26,20 (2C) ; 47,4 (2C) ; 50,6 (2C) (CH₂) ; 28,9 (CH) ; 110,7 ; 119,3 ; 122,8 ; 124,8 ; 127,1 ; 128,3 ; 129,8 ; 133,2 ; 139,2 (CH_{arom}) ; 120,1 ; 124,7 ; 127,9 ; 142,5 ; 145,6 ; 148,1 ; 150,2 ; 156,5 ; 156,8 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₉H₃₃N₄ (M+H)⁺ 437,2705 ; trouvée 437,2726.

2-Chloro-5'-isopropyl-2'-morpholin-4-yl-3,7'-biquinoléine (34)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **22** ; composé **30** (22 mg ; 0,060 mmol), morpholine (1 mL), 2 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 98:2 à 80:20) ; le composé **34** (12 mg ; 0,029 mmol ; 48%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 77–82 °C.

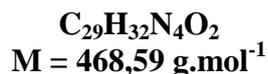
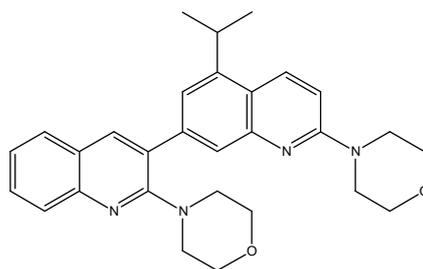
IR (ATR) : 1607, 1262, 1239 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,41 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 3,65 (1H, hept, *J* = 6,5 Hz) ; 3,71–3,77 (4H, m) ; 3,84–3,90 (4H, m) ; 7,04 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,37 (1H, s) ; 7,60 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,72 (1H, s) ; 7,77 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,86 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 8,09 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,23 (1H, s) ; 8,28 (1H, d, *J* = 9,5 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 23,8 (2C) (CH₃) ; 45,7 (2C) ; 67,0 (2C) (CH₂) ; 28,7 (CH) ; 109,4 ; 120,6 ; 125,9 ; 127,4 ; 127,7 ; 128,5 ; 130,6 ; 133,4 ; 139,1 (CH_{arom}) ; 120,9 ; 127,4* ; 135,3 ; 138,8 ; 144,9 ; 147,1 ; 148,2 ; 149,8 ; 157,5 (C_{arom}). *Déterminé d'après une expérience HMBC ¹H-¹³C.

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₅H₂₅³⁵ClN₃O (M+H)⁺ 418,1686 ; trouvée 418,1683.

5'-isopropyl-2,2'-dimorpholin-4-yl-3,7'-biquinoléine (35)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **22** ; composé **30** (14,0 mg ; 0,038 mmol), morpholine (1 mL), 15 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 9:1 à 7:3) ; le composé **35** (16 mg ; 0,034 mmol ; 90%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 108–112 °C.

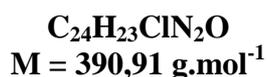
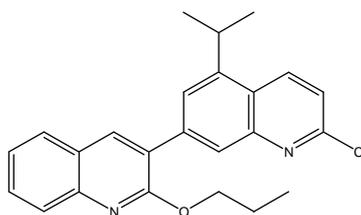
IR (ATR) : 1607, 1407, 1242, 1234, 1120 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,40 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 3,24–3,32 (4H, se) ; 3,59–3,68 (5H, m) ; 3,71–3,78 (4H, se) ; 3,85–3,92 (4H, se) ; 7,02 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,36 (1H, t, *J* = 7 Hz) ; 7,59 (1H, s) ; 7,61 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,70 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,79 (1H, s) ; 7,87 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,00 (1H, s) ; 8,25 (1H, d, *J* = 9,5 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 23,9 (2C) (CH₃) ; 45,6 (2C) ; 49,6 (2C) ; 67,0 (2C) ; 67,1 (2C) (CH₂) ; 28,7 (CH) ; 108,9 ; 119,1 ; 123,7 ; 124,3 ; 127,4 ; 127,5 ; 129,6 ; 133,5 ; 139,7 (CH_{arom}) ; 120,6 ; 125,5 ; 128,7 ; 141,8 ; 144,9 ; 146,7 ; 149,1 ; 157,4 ; 158,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₉H₃₃N₄O₂ (M+H)⁺ 469,2604 ; trouvée 469,2612.

2'-Chloro-5'-isopropyl-2-propoxy-3,7'-biquinoléine (36)



Etape 1 : L'acide boronique **1'** est préparé selon la procédure décrite pour la synthèse du composé **12**.

Un ballon contenant du *tert*-butanolate de potassium (43 mg ; 0,38 mmol ; 1,5 équiv.) et du PEPPSI-*i*Pr (17,4 mg ; 0,026 mmol ; 10 mol%) est purgé à l'argon avant l'introduction d'isopropanol (0,5 mL). Après 10 min d'agitation à température ambiante, une solution d'acide boronique **1'** (118 mg ; 0,51 mmol ; 2 équiv.) dans le THF (0,5 mL) puis le composé **29** (72 mg ; 0,25 mmol) sont ajoutés au milieu réactionnel. Après une nuit d'agitation à température ambiante, de l'eau est ajoutée puis le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ puis évaporées sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 100:0 à 99:1) ce qui permet d'obtenir le composé **36** (57 mg ; 0,15 mmol ; 58%) sous forme d'une gomme blanche.

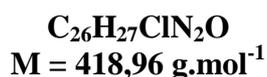
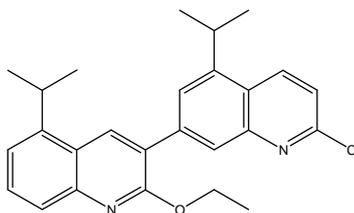
IR (ATR) : 1616, 1441, 1273, 1263, 1241 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,03 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,44 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 1,85 (2H, sext, *J* = 7 Hz) ; 3,70 (1H, hept, *J* = 6,5 Hz) ; 4,52 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,38–7,45 (2H, m) ; 7,65 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,79 (1H, d, *J* = 7,5 Hz) ; 7,85–7,90 (2H, m) ; 8,10 (1H, s) ; 8,12 (1H, s) ; 8,42 (1H, d, *J* = 9 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 11,0 ; 23,8 (2C) (CH₃) ; 22,5 ; 68,1 (CH₂) ; 28,9 (CH) ; 122,0 ; 124,4 ; 124,9 ; 126,96 ; 127,01 ; 127,8 ; 129,8 ; 134,7 ; 138,8 (CH_{arom}) ; 124,5 ; 125,5 ; 125,9 ; 139,6 ; 144,5 ; 146,4 ; 148,8 ; 150,5 ; 159,5 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₄H₂₄³⁵ClN₂O (M+H)⁺ 391,1577 ; trouvée 391,1565.

2'-Chloro-2-éthoxy-5,5'-diisopropyl-3,7'-biquinoléine (37)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **36** ; composé **29** (63 mg ; 0,221 mmol) , 4 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 100:0 à 99:1) ; le composé **37** (55 mg ; 0,131 mmol ; 59%) est obtenu sous forme d'un solide blanc

F = 34–37 °C.

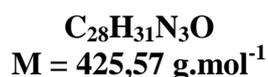
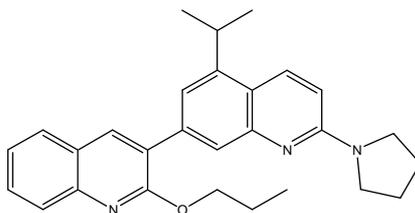
IR (ATR) : 1611, 1451, 1439, 1386, 1265, 1244 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,37–1,47 (15H, m) ; 3,61–3,77 (2H, m) ; 4,62 (2H, q, *J* = 6,5 Hz) ; 7,34 (1H, d, *J* = 7 Hz) ; 7,43 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,61 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,73 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,95 (1H, s) ; 8,11 (1H, s) ; 8,40–8,47 (2H, m).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 14,8 ; 23,8 (2C) 23,9 (2C) (CH₃) ; 62,1 (CH₂) ; 28,76 ; 28,81 (CH) ; 120,3 ; 121,9 ; 125,16 ; 125,19 ; 126,7 ; 129,8 ; 134,8 (2C) (CH_{arom}) ; 123,4 ; 124,5 ; 124,9 ; 140,2 ; 144,4 ; 145,6 ; 147,0 ; 148,9 ; 150,5 ; 158,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) : calculée pour C₂₆H₂₈³⁵ClN₂O (M+H)⁺ 419,1890 ; trouvée 419,1889.

5'-Isopropyl-2-propoxy-2'-pyrrolidin-1-yl-3,7'-biquinoléine (38)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **22** ; composé **36** (45 mg ; 0,12 mmol), 1 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 9:1) ; le composé **38** (46 mg ; 0,11 mmol ; 94%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 57–62 °C.

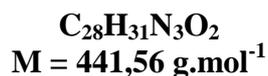
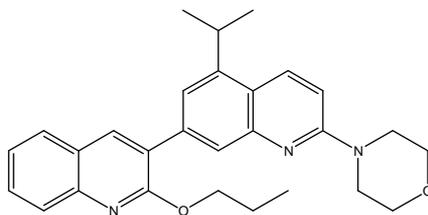
IR (ATR) : 1609, 1522, 1451, 1435, 1407, 1263 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,06 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,40 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,84 (2H, sext, *J* = 7 Hz) ; 2,02–2,07 (4H sous le signal du solvant) ; 3,58–3,65 (4H, m) ; 3,71 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,50 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 6,89 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,44 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,51 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,66 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,76 (1H, s) ; 7,83 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,95 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 8,27–8,31 (2H, m).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 11,3 ; 24,0 (2C) (CH₃) ; 23,0 ; 26,1 (2C) ; 47,3 (2C) ; 68,4 (CH₂) ; 29,1 (CH) ; 110,8 ; 119,8 ; 125,0 ; 126,0 ; 127,5 ; 128,7 ; 130,1 ; 133,1 ; 139,0 (CH_{arom}) ; 120,6 ; 126,6 ; 127,8 ; 138,3 ; 145,0 ; 146,8 ; 150,1 ; 156,3 ; 160,4 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₈H₃₂N₃O (M+H)⁺ 426,2545 ; trouvée 426,2564.

5'-Isopropyl-2'-morpholin-4-yl-2-propoxy-3,7'-biquinoléine (39)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **22** ; composé **36** (35 mg ; 0,090 mmol), 3 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 95:5 à 80:20) ; le composé **39** (34 mg ; 0,077 mmol ; 86%) est obtenu sous forme d'un solide blanc

F = 67–69 °C.

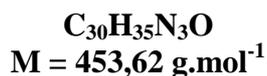
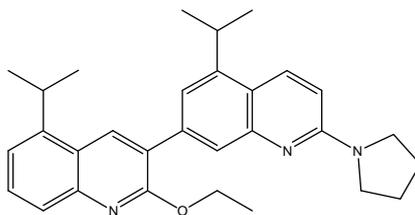
IR (ATR) : 1607, 1436, 1409, 1268, 1261, 1237, 1122 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,04 (3H, t, *J* = 7 Hz) ; 1,40 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 1,84 (2H, sext, *J* = 7 Hz) ; 3,64 (1H, hept, *J* = 6,5 Hz) ; 3,69–3,76 (4H, m) ; 3,84–3,91 (4H, m) ; 4,50 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,01 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,39 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,56 (1H, s) ; 7,62 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,76 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,81 (1H, s) ; 7,87 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 8,14 (1H, s) ; 8,25 (1H, d, *J* = 9,5 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 11,1 ; 23,8 (2C) (CH₃) ; 22,5 ; 45,8 (2C) ; 67,1 (2C) ; 68,0 (CH₂) ; 28,6 (CH) ; 109,0 ; 120,8 ; 124,2 ; 125,5 ; 126,9 ; 127,7 ; 129,4 ; 133,3 ; 138,4 (CH_{arom}) ; 120,7 ; 125,6 ; 127,0 ; 138,4 ; 144,0 ; 146,2 ; 148,4 ; 157,4 ; 159,9 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₈H₃₂N₃O₂ (M+H)⁺ 442,2495 ; trouvée 442,2492.

2-Ethoxy-5,5'-diisopropyl-2'-pyrrolidin-1-yl-3,7'-biquinoléine (40)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **22** ; composé **37** (25 mg ; 0,060 mmol), 1 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 9:1) ; le composé **40** (23 mg ; 0,051 mmol ; 85%) est obtenu sous forme d'une gomme blanche.

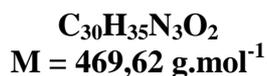
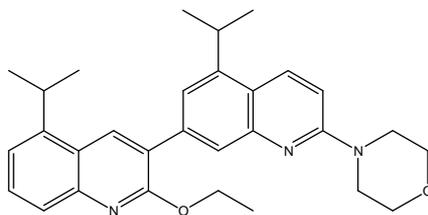
IR (ATR) : 1610, 1451, 1437, 1386, 1265 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,37–1,45 (15H, m) ; 2,01–2,09 (4H sous le signal du solvant) ; 3,59–3,66 (4H, m) ; 3,71 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,86 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,58 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 6,91 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,39 (1H, d, *J* = 7 Hz) ; 7,52 (1H, s) ; 7,62 (1H, t, *J* = 8 Hz) ; 7,69 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,73 (1H, s) ; 8,30 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 8,51 (1H, s).

RMN ¹³C (400 MHz, acétone-*d*₆) : 14,9 ; 24,1 (4C) (CH₃) ; 29,0 ; 29,1 (CH) ; 26,2 (2C) ; 47,4 (2C) ; 62,4 (CH₂) ; 110,8 ; 120,1 ; 120,9 ; 125,8 ; 125,9 ; 130,1 ; 133,1 ; 134,8 (CH_{arom}) ; 120,6 ; 124,2 ; 127,2 ; 138,8 ; 144,9 ; 146,3 ; 147,4 ; 150,2 ; 156,3 ; 159,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₃₀H₃₆N₃O (M+H)⁺ 454,2858 ; trouvée 454,2868.

2-Ethoxy-5,5'-diisopropyl-2'-morpholin-4-yl-3,7'-biquinoléine (41)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **22** ; composé **37** (35 mg ; 0,084 mmol), 2 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 95:5) ; le composé **41** (18 mg ; 0,038 mmol ; 46%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 62–67 °C.

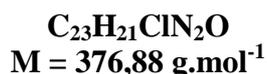
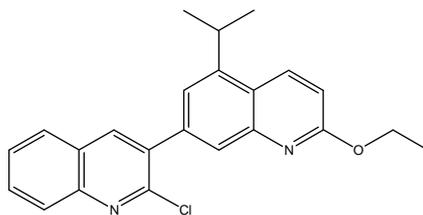
IR (ATR) : 1607, 1434, 1409, 1266, 1244, 1237, 1122 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,37–1,46 (15H, m) ; 3,68–3,92 (10H, m) ; 4,58 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 7,25 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,40 (1H, d, *J* = 7 Hz) ; 7,60–7,66 (2H, m) ; 7,70 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,78 (1H, s) ; 8,38 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 8,53 (1H, s).

RMN ¹³C (400 MHz, acétone-*d*₆): 14,9 ; 24,0 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 46,4 (2C) ; 62,4 ; 67,4 (2C) (CH₂) ; 29,0 ; 29,1 (CH) ; 110,2 ; 120,9 ; 121,38 ; 125,8 ; 126,3 ; 130,2 ; 133,8 ; 134,9 (CH_{arom}) ; 121,36 ; 124,2 ; 126,9 ; 139,1 ; 144,9 ; 146,4 ; 147,5 ; 149,3 ; 158,3 ; 159,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₃₀H₃₆N₃O₂ (M+H)⁺ 470,2808 ; trouvée 470,2805.

2-Chloro-2'-éthoxy-5'-isopropyl-3,7'-biquinoléine (42)



Un mélange de composé **9** (706 mg ; 2,40 mmol), d'acide boronique **A'** (623 mg ; 3,00 mmol ; 1,25 équiv.), de Pd(OAc)₂ (54 mg ; 0,24 mmol ; 10 mol%), de P(*t*Bu)₃ (120 μL ; 0,49 mmol ; 20 mol%) et de Na₂CO₃ (763 mg ; 7,2 mmol ; 3 équiv.) dans le le dioxane (7,5 mL) et l'eau (3 mL) est chauffé à reflux pendant une nuit. Après retour à température ambiante et concentration sous pression réduite, de l'eau est ajoutée et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ puis évaporées sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt, 99,5:0,5 à 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé **42** (517 mg ; 1,37 mmol ; 57%) sous forme d'un solide blanc.

F = 47–50 °C.

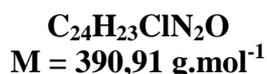
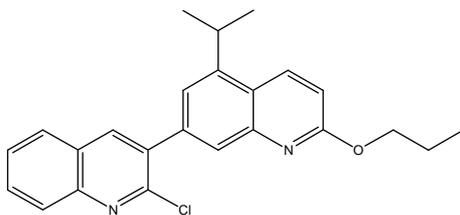
IR (ATR) : 1609, 1302, 1290, 1253, 1044 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,42 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,46 (3H, t, *J* = 7 Hz) ; 3,69 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,55 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 6,97 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,49 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,61 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,78 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,83 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,87 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 8,10 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,24 (1H, s) ; 8,34 (1H, d, *J* = 9 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 14,8 ; 23,8 (2C) (CH₃) ; 61,9 (CH₂) ; 28,8 (CH) ; 113,5 ; 121,8 ; 126,4 ; 127,5 ; 127,7 ; 128,5 ; 130,6 ; 134,5 ; 139,2 (CH_{arom}) ; 122,7 ; 127,4 ; 135,0 ; 138,6 ; 145,1 ; 147,1 ; 147,2 ; 149,7 ; 162,2 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₃H₂₂³⁵ClN₂O (M+H)⁺ 377,1421 ; trouvée 377,1432.

2-Chloro-5'-isopropyl-2'-propoxy-3,7'-biquinoléine (43)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **42** ; composé **10** (405 mg ; 1,31 mmol), 15 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 99,5:0,5 à 9:1) ; le composé **43** (288 mg ; 0,74 mmol ; 56%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 41–43 °C.

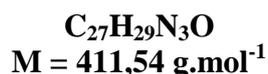
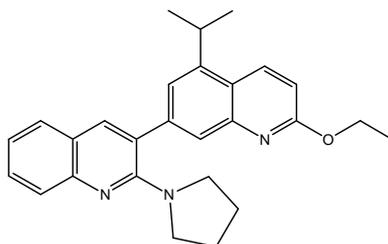
IR (ATR) : 1609, 1419, 1303, 1289, 1257 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : 1,07 (3H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 1,42 (6H, d, $J = 6,5$ Hz) ; 1,87 (2H, sext, $J = 7$ Hz) ; 3,69 (1H, hept, $J = 6,5$ Hz) ; 4,44 (2H, t, $J = 6,5$ Hz) ; 6,98 (1H, d, $J = 9$ Hz) ; 7,49 (1H, s) ; 7,61 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,78 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,84 (1H, s) ; 7,87 (1H, d, $J = 8$ Hz) ; 8,10 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 8,24 (1H, s) ; 8,34 (1H, d, $J = 9$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 10,8 ; 23,8 (2C) (CH_3) ; 22,5 ; 67,7 (CH_2) ; 28,8 (CH) ; 113,5 ; 121,8 ; 126,4 ; 127,5 ; 127,7 ; 128,5 ; 130,6 ; 134,4 ; 139,2 (CH_{arom}) ; 122,7 ; 127,4 ; 135,0 ; 138,6 ; 145,1 ; 147,1 ; 147,2 ; 149,7 ; 162,4 (C_{arom}).

Masse exacte (ES+) : calculée pour $\text{C}_{24}\text{H}_{24}^{35}\text{ClN}_2\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 391,1577 ; trouvée 391,1583.

5'-Isopropyl-2'-éthoxy-2-pyrrolidin-1-yl-3,7'-biquinoléine (44)



Un mélange de composé **42** (215 mg ; 0,57 mmol) et de pyrrolidine (1 mL) est chauffé à reflux pendant 2 h. Après retour à température ambiante et évaporation sous pression réduite, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (CH₂Cl₂/AcOEt, 10:0 à 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé **44** (159 mg ; 0,39 mmol ; 68%) sous forme d'un solide blanc.

F = 66–70 °C.

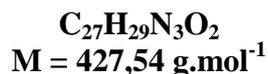
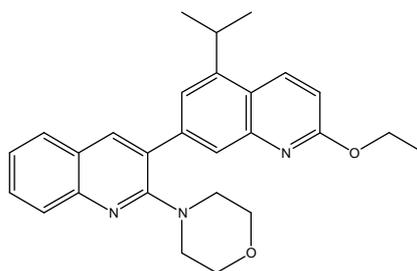
IR (ATR) : 1608, 1429, 1410, 1290 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,39 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,43 (3H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,75–1,80 (4H, m) ; 3,25–3,31 (4H, m) ; 3,78 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,53 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 6,98 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,25 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,49 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,56 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,72 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,75–7,79 (2H, m) ; 8,00 (1H, s) ; 8,50 (1H, d, *J* = 9 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 14,9 ; 23,9 (2C) (CH₃) ; 26,2 (2C) ; 50,7 (2C) ; 62,1 (CH₂) ; 29,1 (CH) ; 113,4 ; 122,1 ; 122,9 ; 125,4 ; 127,16 ; 128,4 ; 130,0 ; 135,5 ; 139,6 (CH_{arom}) ; 122,7 ; 124,6 ; 127,18 ; 143,0 ; 145,9 ; 148,1 ; 148,3 ; 156,7 ; 162,9 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₇H₃₀N₃O (M+H)⁺ 412,2389 ; trouvée 412,2391.

2'-Ethoxy-5'-isopropyl-2-morpholin-4-yl-3,7'-biquinoléine (45)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **44** ; composé **42** (71 mg ; 0,19 mmol), morpholine (1 mL), 24 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 99,5:0,5 à 95:5) ; le composé **45** (52 mg ; 0,12 mmol ; 65%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 56–58 °C.

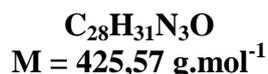
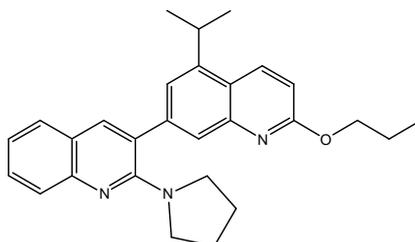
IR (ATR) = 1608, 1407, 1250, 1234, 1120, 1044 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,41–1,46 (9H, m) ; 3,19–3,24 (4H, m) ; 3,59–3,64 (4H, m) ; 3,79 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,55 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 6,99 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,41 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,66 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,81 (1H, s) ; 7,84 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,89 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,92 (1H, s) ; 8,17 (1H, s) ; 8,50 (1H, d, *J* = 9 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 14,9 ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 50,5 (2C) ; 62,1 ; 67,2 (2C) (CH₂) ; 29,3 (CH) ; 113,5 ; 121,0 ; 124,96 ; 125,01 ; 128,1 ; 128,6 ; 130,3 ; 135,6 ; 140,3 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 126,4 ; 129,2 ; 142,2 ; 146,2 ; 147,5 ; 148,8 ; 159,5 ; 162,8 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₇H₃₀N₃O₂ (M+H)⁺ 428,2338 ; trouvée 428,2348.

5'-Isopropyl-2'-propoxy-2-pyrrolidin-1-yl-3,7'-biquinoléine (46)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **44** ; composé **43** (10 mg ; 0,026 mmol), pyrrolidine (1 mL), 2 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 9:1) ; le composé **46** (10 mg ; 0,023 mmol ; 92%) est obtenu sous forme d'un solide blanc

F = 62–64 °C.

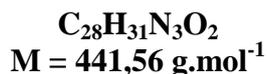
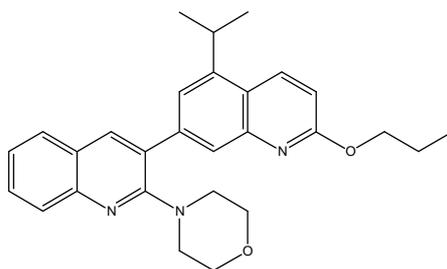
IR (ATR) : 1608, 1430, 1409, 1289, 1259 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,08 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,36 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 1,71–1,80 (4H, se) ; 1,87 (2H, sext, *J* = 7 Hz) ; 3,25–3,34 (4H, se) ; 3,65 (1H, hept, *J* = 6,5 Hz) ; 4,45 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 6,94 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,22 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,39 (1H, s) ; 7,55 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,63 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,78 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,82 (1H, s) ; 7,89 (1H, s) ; 8,30 (1H, d, *J* = 9 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 10,8 ; 23,8 (2C) (CH₃) ; 22,5 ; 25,8 (2C) ; 50,2 (2C) ; 67,6 (CH₂) ; 28,7 (CH) ; 112,7 ; 121,4 ; 122,3 ; 124,6 ; 126,3 ; 127,5 ; 129,5 ; 134,4 ; 139,3 (CH_{arom}) ; 121,9 ; 123,7 ; 126,4 ; 142,5 ; 144,8 ; 147,3 ; 147,5 ; 156,2 ; 162,4 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₈H₃₂N₃O (M+H)⁺ 426,2545 ; trouvée 426,2561.

5'-Isopropyl-2-morpholin-4-yl-2'-propoxy-3,7'-biquinoléine (47)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **44** ; composé **43** (32 mg ; 0,082 mmol), morpholine (1 mL), 6 h, chromatographie (cyclohexane/AcOEt, 95:5) ; le composé **47** (27 mg ; 0,061 mmol ; 75%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 61–65 °C

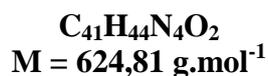
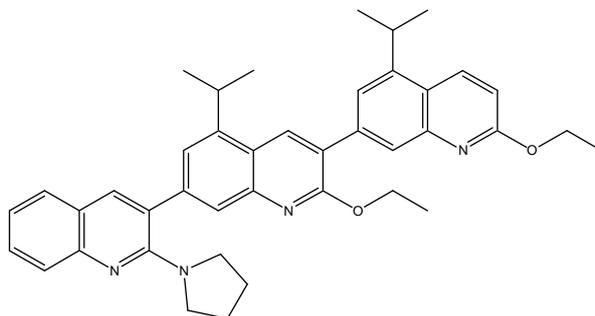
IR (ATR) : 1608, 1426, 1407, 1289, 1255, 1250, 1234, 1120 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,07 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,44 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,87 (2H, sext, *J* = 7 Hz) ; 3,19–3,24 (4H, m) ; 3,59–3,64 (4H, m) ; 3,79 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,46 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,01 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,41 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,66 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,80 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,84 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,89 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,92 (1H, s) ; 8,17 (1H, s) ; 8,50 (1H, d, *J* = 9 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 10,9 ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 23,0 ; 50,5 (2C) ; 67,2 (2C) ; 68,0 (CH₂) ; 29,3 (CH) ; 113,5 ; 121,0 ; 124,98 ; 125,01 ; 128,1 ; 128,6 ; 130,3 ; 135,6 ; 140,3 (CH_{arom}) ; 123,2 ; 126,4 ; 129,2 ; 142,2 ; 146,2 ; 147,5 ; 148,8 ; 159,5 ; 163,0 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₂₈H₃₂N₃O₂ (M+H)⁺ 442,2495 ; trouvée 442,2503.

2',2''-Diéthoxy-5',5''-Diisopropyl-2-pyrrolidin-1-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (48)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **9** (21 mg ; 0,071 mmol) ; le composé **48** (31 mg ; 0,050 mmol ; 70%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 72–75 °C.

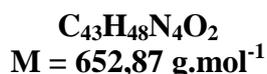
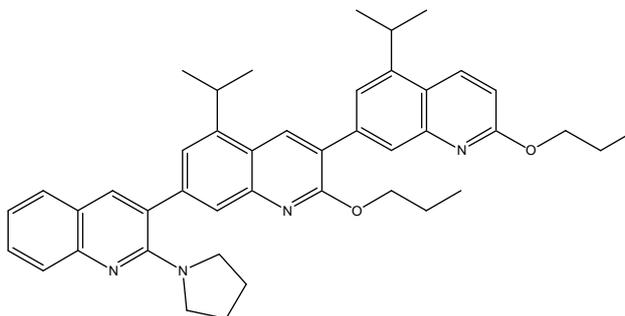
IR (ATR) = 1609, 1427, 1250, 1047 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,41–1,47 (18H, m) ; 1,77–1,84 (4H, m) ; 3,29–3,35 (4H, m) ; 3,80 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,94 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,55 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 4,63 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 7,01 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,26 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,54–7,60 (2H, m) ; 7,73 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,77–7,81 (2H, m) ; 7,84 (1H, s) ; 7,94 (1H, s) ; 8,05 (1H, s) ; 8,52 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 8,60 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 14,9 ; 15,0 ; 24,04 (2C) ; 24,05 (2C) (CH₃) ; 26,2 (2C) ; 50,8 (2C) ; 62,1 ; 62,6 (CH₂) ; 29,1 ; 29,2 (CH) ; 113,6 ; 122,4 ; 122,9 (2C) ; 125,0 ; 126,59 ; 127,18 ; 128,4 ; 130,1 ; 135,0 ; 135,5 ; 139,6 (CH_{arom}) ; 123,12 ; 123,15 ; 124,7 ; 126,60 ; 127,21 ; 139,3 ; 143,1 ; 145,3 ; 146,3 ; 147,7 ; 148,1 ; 148,3 ; 156,8 ; 160,1 ; 162,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₁H₄₅N₄O₂ (M+H)⁺ 625,3543 ; trouvée 625,3539.

5',5''-Diisopropyl-2',2''-dipropoxy-2-pyrrolidin-1-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (49)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **10** (30 mg ; 0,097 mmol) ; le composé **49** (62 mg ; 0,095 mmol ; 98%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 66–71 °C.

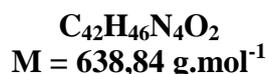
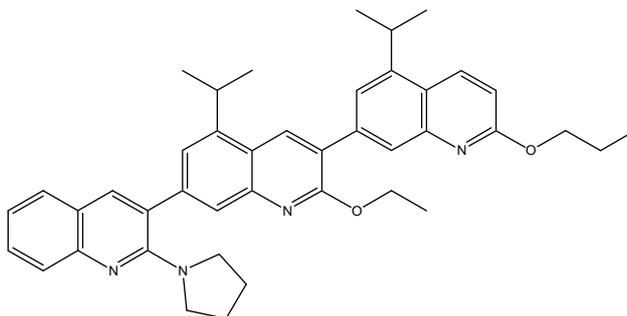
IR (ATR) : 1609, 1424, 1253, 1241 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,07 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,08 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,40–1,47 (12H, m) ; 1,76–1,92 (8H, m) ; 3,29–3,36 (4H, m) ; 3,80 (1H, hept, *J* = 6,5 Hz) ; 3,93 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,46 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 4,54 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,02 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,26 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,56 (1H, s) ; 7,54–7,60 (1H, m) ; 7,74 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,76–7,81 (2H, m) ; 7,84 (1H, s) ; 7,96 (1H, s) ; 8,04 (1H, s) ; 8,51 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 8,59 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 10,9 ; 11,3 ; 24,0 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 23,0 ; 23,1 ; 26,2 (2C) ; 50,8 (2C) ; 68,0 ; 68,5 (CH₂) ; 29,1 ; 29,3 (CH) ; 113,6 ; 122,4 ; 122,8 ; 123,0 ; 125,0 ; 126,7 ; 127,21 ; 128,4 ; 130,1 ; 135,1 ; 135,5 ; 139,6 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 123,2 ; 124,7 ; 126,7 ; 127,24 ; 139,3 ; 143,2 ; 145,3 ; 146,3 ; 147,7 ; 148,1 ; 148,3 ; 156,8 ; 160,3 ; 162,9 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₃H₄₉N₄O₂ (M+H)⁺ 653,3856 ; trouvée 653,3839.

2'-Ethoxy-5',5''-diisopropyl-2''-propoxy-2-pyrrolidin-1-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (50)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **10** (22 mg ; 0,071 mmol) ; le composé **50** (20 mg ; 0,031 mmol ; 44%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 84–89 °C.

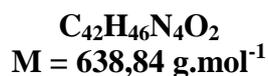
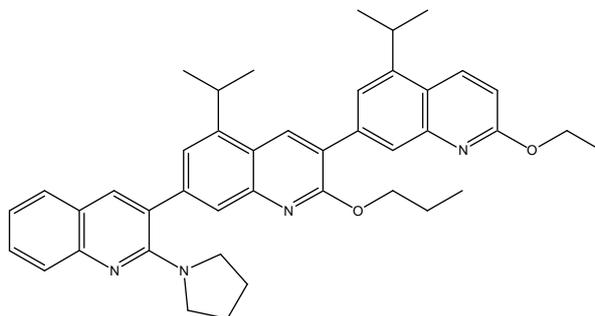
IR (ATR) = 1610, 1425, 1252, 1047 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,07 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,440 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,444 (3H, t, *J* = 7 Hz) ; 1,45 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,78–1,83 (4H, m) ; 1,87 (2H, sext, *J* = 7 Hz) ; 3,30–3,35 (4H, m) ; 3,80 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,94 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,46 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 4,63 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 7,02 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,26 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,56 (1H, d, *J* = 2 Hz), 7,57 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,73 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,80 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,77–7,81 (1H, m) ; 7,84 (1H, d, *J* = 1 Hz) ; 7,94 (1H, d, *J* = 1 Hz) ; 8,05 (1H, s) ; 8,52 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 8,60 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 10,9 ; 15,0 ; 24,0 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 23,0 ; 26,2 (2C) ; 50,8 (2C) ; 62,6 ; 68,0 (CH₂) ; 29,1 ; 29,2 (CH) ; 113,5 ; 122,4 ; 122,9 (2C) ; 125,0 ; 126,58 ; 127,18 ; 128,4 ; 130,1 ; 135,0 ; 135,5 ; 139,6 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 123,2 ; 124,7 ; 126,61 ; 127,21 ; 139,3 ; 143,1 ; 145,3 ; 146,3 ; 147,7 ; 148,1 ; 148,3 ; 156,8 ; 160,1 ; 162,9 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₂H₄₇N₄O₂ (M+H)⁺ 639,3699 ; trouvée 639,3719.

2''-Ethoxy-5',5''-diisopropyl-2'-propoxy-2-(pyrrolidin-1-yl)-3,7':3,7''-terquinoléine (51)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **9** (38 mg ; 0,129 mmol) ; le composé **51** (68 mg ; 0,106 mmol ; 82%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 67–69 °C.

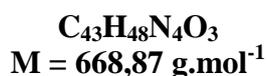
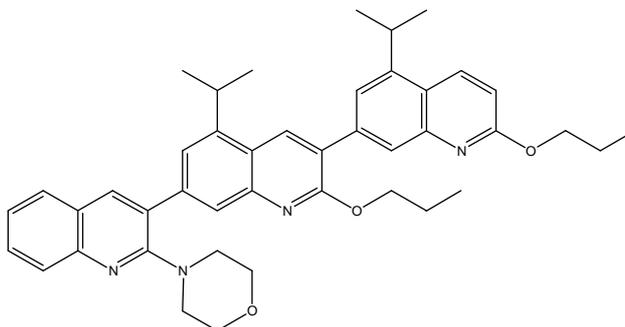
IR (ATR) : 1609, 1427, 1252 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,06 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,41–1,47 (15H, m) ; 1,76–1,84 (4H, m) ; 1,86 (2H, sext, *J* = 7 Hz) ; 3,29–3,36 (4H, m) ; 3,80 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,93 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,51–4,58 (4H, m) ; 7,00 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,26 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,54–7,60 (2H, m) ; 7,73 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,77–7,81 (2H, m) ; 7,84 (1H, s) ; 7,95 (1H, s) ; 8,04 (1H, s) ; 8,51 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 8,59 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 11,3 ; 14,9 ; 24,0 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 23,1 ; 26,2 (2C) ; 50,7 (2C) ; 62,1 ; 68,5 (CH₂) ; 29,0 ; 29,3 (CH) ; 113,6 ; 122,4 ; 122,8 ; 122,9 ; 125,0 ; 126,7 ; 127,20 ; 128,4 ; 130,0 ; 135,0 ; 135,4 ; 139,6 (CH_{arom}) ; 123,1 ; 123,2 ; 124,6 ; 126,7 ; 127,21 ; 139,3 ; 143,1 ; 145,3 ; 146,2 ; 147,7 ; 148,1 ; 148,3 ; 156,7 ; 160,3 ; 162,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₂H₄₇N₄O₂ (M+H)⁺ 639,3699 ; trouvée 639,3707.

5',5''-Diisopropyl-2-morpholin-4-yl-2',2''-dipropoxy-3,7':3,7''-terquinoléine (52)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **10** (14 mg ; 0,045 mmol) ; le composé **52** (23 mg ; 0,034 mmol ; 76%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 89–91 °C.

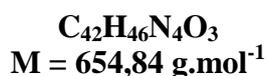
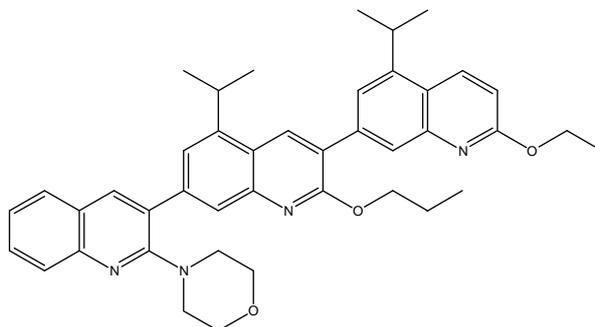
IR (ATR) = 1608, 1429, 1407, 1257, 1235 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,07 (6H, 2t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,45 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,49 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,81–1,93 (4H, m) ; 3,23–3,27 (4H, m) ; 3,63–3,67 (4H, m) ; 3,81 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,95 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,46 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 4,56 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,02 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,43 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,67 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,79 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,84–7,88 (2H, m) ; 7,92 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,95 (1H, s) ; 8,00 (1H, s) ; 8,21 (1H, s) ; 8,52 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 8,60 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 10,9 ; 11,3 ; 24,0 (2C) ; 24,2 (2C) (CH₃) ; 23,0 ; 23,1 ; 50,5 (2C) ; 67,2 (2C) ; 68,0 ; 68,5 (CH₂) ; 29,2 ; 29,3 (CH) ; 113,5 ; 121,3 ; 122,7 ; 124,5 ; 125,0 ; 126,7 ; 128,1 ; 128,6 ; 130,3 ; 135,1 ; 135,5 ; 140,3 (CH_{arom}) ; 123,2 ; 123,6 ; 126,4 ; 126,8 ; 129,2 ; 139,2 ; 142,3 ; 145,3 ; 146,5 ; 147,5 ; 148,20 ; 148,24 ; 159,5 ; 160,2 ; 162,9 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₃H₄₉N₄O₃ (M+H)⁺ 669,3805 ; trouvée 669,3785.

2''-Ethoxy-5',5''-diisopropyl-2-morpholin-4-yl-2'-propoxy-3,7':3,7''-terquinoléine (53)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **9** (17 mg ; 0,058 mmol) ; le composé **53** (25 mg ; 0,038 mmol ; 66%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 96–97 °C.

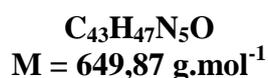
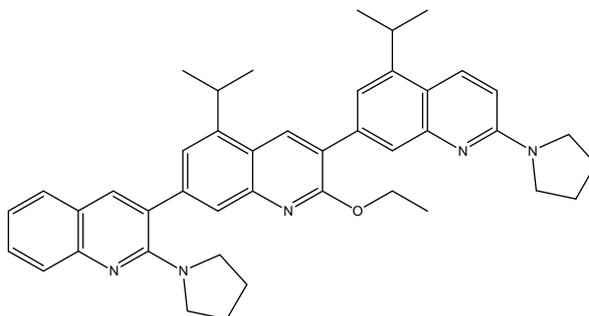
IR (ATR) = 1609, 1407, 1235, 1120 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,06 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,41–1,47 (9H, m) ; 1,49 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,88 (2H, sext, *J* = 7 Hz) ; 3,23–3,27 (4H, m) ; 3,63–3,67 (4H, m) ; 3,81 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,95 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,51–4,59 (4H, m) ; 7,01 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 7,43 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,67 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,79 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,84–7,88 (2H, m) ; 7,92 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,95 (1H, s) ; 8,00 (1H, s) ; 8,22 (1H, s) ; 8,52 (1H, d, *J* = 9 Hz) ; 8,60 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 11,3 ; 14,9 ; 24,0 (2C) ; 24,2 (2C) (CH₃) ; 23,1 ; 50,5 (2C) ; 62,1 ; 67,2 (2C) ; 68,5 (CH₂) ; 29,3 (2C) (CH) ; 113,6 ; 121,3 ; 122,8 ; 124,6 ; 125,0 ; 126,76 ; 128,1 ; 128,6 ; 130,3 ; 135,1 ; 135,5 ; 140,3 (CH_{arom}) ; 123,2 ; 123,6 ; 126,4 ; 126,79 ; 129,2 ; 139,3 ; 142,3 ; 145,3 ; 146,5 ; 147,5 ; 148,2 ; 148,3 ; 159,5 ; 160,2 ; 162,7 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₂H₄₇N₄O₃ (M+H)⁺ 655,3648 ; trouvée 655,3646.

2'-Ethoxy-5',5''-diisopropyl-2,2''-dipyrrolidin-1-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (54)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **25** (20 mg ; 0,063 mmol) ; le composé **54** (25 mg ; 0,038 mmol ; 61%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 118–120 °C.

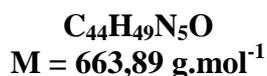
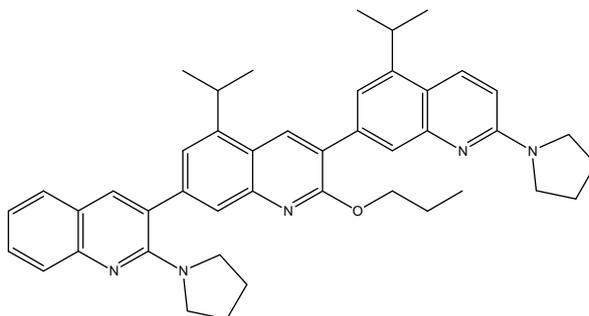
IR (ATR) = 1609, 1448, 1434 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,42 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,437 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,441 (3H, t, *J* = 7 Hz) ; 1,77–1,83 (4H, m) ; 2,01–2,10 (4H sous le signal du solvant) ; 3,29–3,35 (4H, m) ; 3,61–3,67 (4H, m) ; 3,72 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,93 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,62 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 6,92 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,26 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,53–7,60 (3H, m) ; 7,73 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,77 (1H, s) ; 7,79 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,83 (1H, s) ; 8,04 (1H, s) ; 8,31 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,55 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 15,0 ; 24,0 (2C) 24,1 (2C) (CH₃) ; 26,1 (2C) ; 26,2 (2C) ; 47,4 (2C) ; 50,7 (2C) ; 62,5 (CH₂) ; 29,0 ; 29,1 (CH) ; 110,8 ; 120,1 ; 122,3 ; 122,9 ; 125,0 ; 125,9 ; 127,2 ; 128,4 ; 130,0 ; 133,1 ; 134,7 ; 139,6 (CH_{arom}) ; 120,6 ; 123,1 ; 124,6 ; 127,3 (2C) ; 138,7 ; 142,9 ; 144,9 ; 146,1 ; 147,6 ; 148,1 ; 150,2 ; 156,3 ; 156,8 ; 160,3 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₃H₄₈N₅O (M+H)⁺ 650,3859 ; trouvée 650,3834.

5',5''-Diisopropyl-2'-propoxy-2,2''-dipyrrolidin-1-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (55)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **25** (22 mg ; 0,069 mmol) ; le composé **55** (23 mg ; 0,035 mmol ; 50%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 118–122 °C.

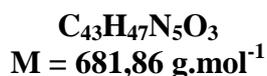
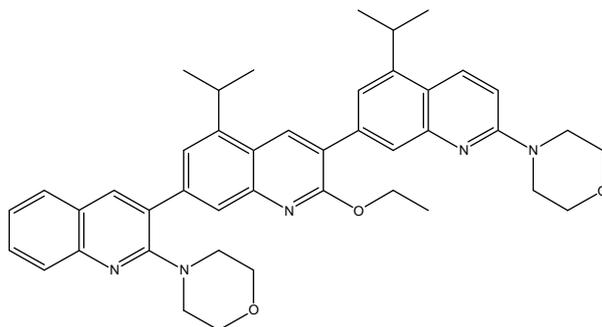
IR (ATR) : 1609, 1449, 1434 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,06 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,41 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,43 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,77–1,82 (4H, m) ; 1,86 (2H, sext, *J* = 7 Hz) ; 2,02–2,07 (4H sous le signal du solvant) ; 3,29–3,35 (4H, m) ; 3,60–3,66 (4H, m) ; 3,72 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,92 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,52 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 6,90 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,26 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,54 (2H, 2s) ; 7,57 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,73 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,78 (1H, dd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 1 Hz) ; 7,78 (1H, d, *J* = 1 Hz) ; 7,83 (1H, d, *J* = 1 Hz) ; 8,03 (1H, s) ; 8,30 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,54 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 11,3 ; 24,1 (4C) (CH₃) ; 23,1 ; 26,16 (2C) ; 26,23 (2C) ; 47,4 (2C) ; 50,7 (2C) ; 68,4 (CH₂) ; 29,07 ; 29,11 (CH) ; 110,8 ; 120,0 ; 122,3 ; 122,9 ; 125,0 ; 126,0 ; 127,2 ; 128,4 ; 130,0 ; 133,1 ; 134,7 ; 139,6 (CH_{arom}) ; 120,6 ; 123,2 ; 124,7 ; 127,28 ; 127,35 ; 138,8 ; 142,9 ; 144,9 ; 146,2 ; 147,6 ; 148,1 ; 150,2 ; 156,3 ; 156,8 ; 160,4 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₄H₅₀N₅O (M+H)⁺ 664,4015 ; trouvée 664,4029.

2'-Ethyl-5',5''-diisopropyl-2,2''-dimorpholin-4-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (56)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **27** (19 mg ; 0,057 mmol) ; le composé **56** (37 mg ; 0,054 mmol ; 96%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 104–108 °C.

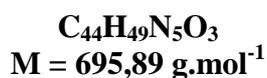
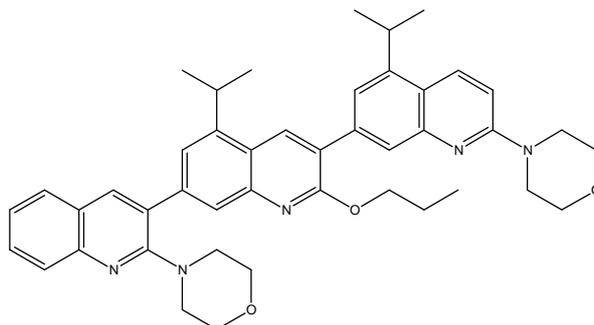
IR (ATR) = 1607, 1236, 1120 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,40–1,51 (15H, m) ; 3,22–3,27 (4H, m) ; 3,62–3,67 (4H, m) ; 3,70–3,82 (9H, m) ; 3,94 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,64 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 7,24 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,42 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,63–7,69 (2H, m) ; 7,81 (1H, s) ; 7,83–7,87 (2H, m) ; 7,90 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,99 (1H, s) ; 8,20 (1H, s) ; 8,39 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,56 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 15,0 ; 24,0 (2C) ; 24,2 (2C) (CH₃) ; 46,4 (2C) ; 50,6 (2C) ; 62,6 ; 67,2 (2C) ; 67,4 (2C) (CH₂) ; 29,1 ; 29,3 (CH) ; 110,3 ; 121,3 ; 121,4 ; 124,6 ; 125,0 ; 126,3 ; 128,1 ; 128,6 ; 130,3 ; 133,9 ; 134,9 ; 140,3 (CH_{arom}) ; 121,4 ; 123,6 ; 126,5 ; 127,2 ; 129,2 ; 139,0 ; 142,2 ; 145,0 ; 146,5 ; 147,5 ; 148,2 ; 149,4 ; 158,3 ; 159,5 ; 160,2 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₃H₄₈N₅O₃ (M+H)⁺ 682,3757 ; trouvée 682,3782.

5',5''-Diisopropyl-2,2''-dimorpholin-4-yl-2'-propoxy-3,7':3,7''-terquinoléine (57)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **27** (25 mg ; 0,075 mmol) ; le composé **57** (21 mg ; 0,030 mmol ; 40%) est obtenu sous forme d'un solide jaune.

F = 72–74 °C.

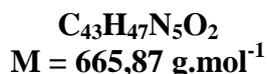
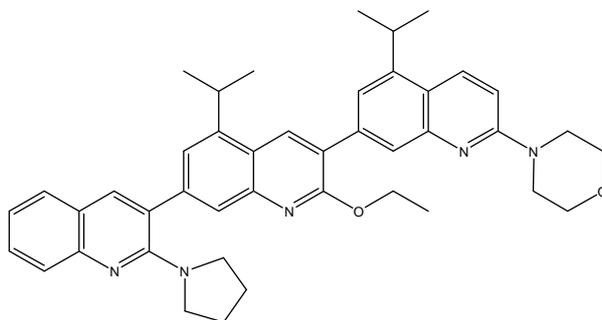
IR (ATR) : 1607, 1236, 1120 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,07 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,43 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 1,49 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,87 (2H, sext, *J* = 7 Hz) ; 3,23–3,27 (4H, m) ; 3,63–3,67 (4H, m) ; 3,71–3,82 (9H, m) ; 3,94 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,55 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,26 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,43 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,64 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,67 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,82 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,86 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,86 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,92 (1H, d, *J* = 7,5 Hz) ; 7,99 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 8,21 (1H, s) ; 8,40 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,56 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 11,3 ; 24,0 (2C) ; 24,2 (2C) (CH₃) ; 23,1 ; 46,4 (2C) ; 50,5 (2C) ; 67,2 (2C) ; 67,4 (2C) ; 68,5 (CH₂) ; 29,1 ; 29,3 (CH) ; 110,3 ; 121,2 ; 121,3 ; 124,6 ; 125,0 ; 126,4 ; 128,1 ; 128,6 ; 130,3 ; 133,9 ; 134,9 ; 140,3 (CH_{arom}) ; 121,4 ; 123,6 ; 126,5 ; 127,2 ; 129,2 ; 139,0 ; 142,2 ; 144,9 ; 146,4 ; 147,5 ; 148,1 ; 149,3 ; 158,3 ; 159,5 ; 160,3 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₄H₅₀N₅O₃(M+H)⁺ 696,3914 ; trouvée 696,3934.

2'-Ethyl-5',5''-Diisopropyl-2''-morpholin-4-yl-2-pyrrolidin-1-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (58)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **27** (19.5 mg ; 0,058 mmol) ; le composé **58** (28 mg ; 0,042 mmol ; 72%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 88–92 °C.

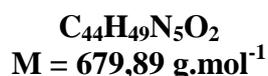
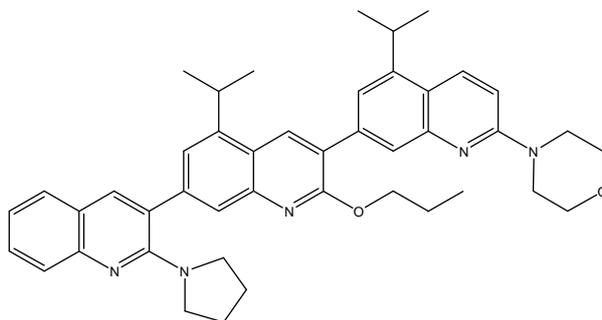
IR (ATR) = 1608, 1426, 1407, 1250, 1235, 1120, 1045 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,42 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 1,436 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,440 (3H, t, *J* = 7 Hz) ; 1,77–1,83 (4H, m) ; 3,29–3,35 (4H, m) ; 3,70–3,83 (9H, m) ; 3,93 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,62 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 7,25 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,23–7,29 (1H, m) ; 7,55 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,57 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,65 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,73 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,79 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,81 (1H, s) ; 7,83 (1H, s) ; 8,04 (1H, s) ; 8,39 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,57 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 15,0 ; 24,0 (4C) (CH₃) ; 26,2 (2C) ; 46,3 (2C) ; 50,8 (2C) ; 62,5 ; 67,4 (2C) (CH₂) ; 29,0 ; 29,1 (CH) ; 110,2 ; 121,37 ; 122,4 ; 122,9 ; 125,0 ; 126,2 ; 127,17 ; 128,4 ; 130,0 ; 133,8 ; 134,8 ; 139,6 (CH_{arom}) ; 121,38 ; 123,1 ; 124,6 ; 127,0 ; 127,23 ; 139,1 ; 143,0 ; 144,9 ; 146,2 ; 147,6 ; 148,1 ; 149,3 ; 156,8 ; 158,3 ; 160,2 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₃H₄₈N₅O₂ (M+H)⁺ 666,3808 ; trouvée 666,3831.

5',5''-Diisopropyl-2''-morpholin-4-yl-2'-propoxy-2-pyrrolidin-1-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (59)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **27** (30 mg ; 0,089 mmol) ; le composé **59** (50 mg ; 0,074 mmol ; 82%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 73–75 °C.

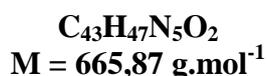
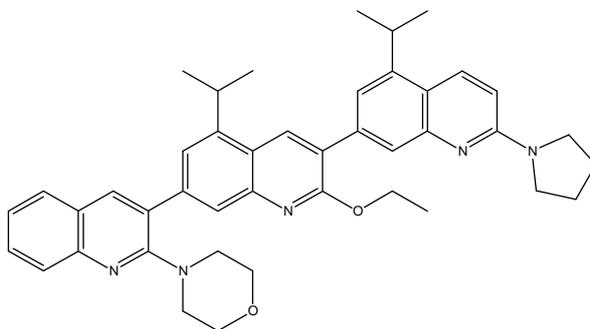
IR (ATR) : 1608, 1427, 1237 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,06 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,43 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 1,44 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,78–1,83 (4H, m) ; 1,86 (2H, sext, *J* = 7 Hz) ; 3,29–3,35 (4H, m) ; 3,70–3,82 (9H, m) ; 3,93 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,53 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,25 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,24–7,29 (1H, m) ; 7,55 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,57 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,64 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,73 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,79 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,82 (1H, s) ; 7,83 (1H, s) ; 8,04 (1H, s) ; 8,39 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,56 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 11,3 ; 24,02 (2C) ; 24,05 (2C) (CH₃) ; 23,1 ; 26,2 (2C) ; 46,4 (2C) ; 50,7 (2C) ; 67,4 (2C) ; 68,4 (CH₂) ; 29,10 ; 29,11 (CH) ; 110,2 ; 121,2 ; 122,4 ; 122,9 ; 125,0 ; 126,4 ; 127,19 ; 128,4 ; 130,0 ; 133,9 ; 134,8 ; 139,6 (CH_{arom}) ; 121,4 ; 123,1 ; 124,7 ; 127,1 ; 127,24 ; 139,1 ; 143,0 ; 144,9 ; 146,2 ; 147,6 ; 148,1 ; 149,3 ; 156,8 ; 158,3 ; 160,3 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₄H₅₀N₅O₂ (M+H)⁺ 680,3965 ; trouvée 680,3972.

2'-Ethoxy-5',5''-diisopropyl-2-morpholin-4-yl-2''-pyrrolidin-1-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (60)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **25** (16 mg ; 0,050 mmol) ; le composé **60** (16 mg ; 0,024 mmol ; 48%) est obtenu sous forme d'un solide jaune.

F = 107–112 °C.

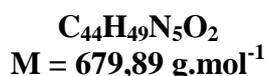
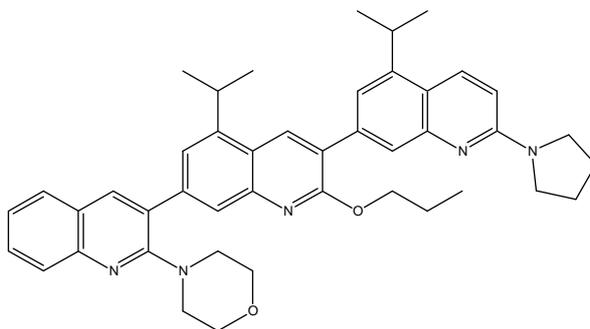
IR (ATR) = 1609, 1429, 1250, 1047 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,42 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,45 (3H, t, *J* = 7 Hz) ; 1,49 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 2,02–2,08 (4H sous le signal du solvant) ; 3,22–3,28 (4H, m) ; 3,59–3,69 (8H, m) ; 3,73 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,95 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,64 (2H, q, *J* = 7 Hz) ; 6,92 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,43 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,56 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,67 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,77 (1H, s) ; 7,84–7,88 (2H, m) ; 7,92 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,99 (1H, s) ; 8,21 (1H, s) ; 8,31 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,55 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 15,0 ; 24,1 (2C) ; 24,2 (2C) (CH₃) ; 26,2 (2C) ; 47,4 (2C) ; 50,5 (2C) ; 62,5 ; 67,2 (2C) (CH₂) ; 29,0 ; 29,3 (CH) ; 110,9 ; 120,1 ; 121,2 ; 124,5 ; 125,0 ; 125,9 ; 128,1 ; 128,6 ; 130,3 ; 133,1 ; 134,8 ; 140,2 (CH_{arom}) ; 120,6 ; 123,6 ; 126,5 ; 127,4 ; 129,3 ; 138,7 ; 142,0 ; 144,9 ; 146,4 ; 147,5 ; 148,1 ; 150,2 ; 156,4 ; 159,5 ; 160,2 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₃H₄₈N₅O₂ (M+H)⁺ 666,3808 ; trouvée 666,3813.

5',5''-Diisopropyl-2-morpholin-4-yl-2'-propoxy-2''-pyrrolidin-1-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (61)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **25** (16 mg ; 0,050 mmol) ; le composé **61** (20 mg ; 0,029 mmol ; 59%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 74–76 °C.

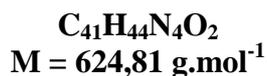
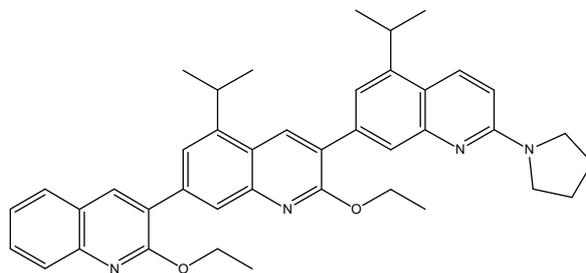
IR (ATR) = 1609, 1450, 1406, 1235, 1121 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,07 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,42 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ; 1,49 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 2,03–2,07 (4H sous le signal du solvant) ; 3,22–3,27 (4H, m) ; 3,59–3,68 (8H, m) ; 3,72 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,94 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,54 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 6,91 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,42 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,54 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,66 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,77 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,84–7,87 (2H, m) ; 7,91 (1H, d, *J* = 8 Hz) ; 7,98 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 8,20 (1H, s) ; 8,30 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,54 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 11,3 ; 24,0 (2C) ; 24,2 (2C) (CH₃) ; 23,1 ; 26,2 (2C) ; 47,4 (2C) ; 50,5 (2C) ; 67,2 (2C) ; 68,4 (CH₂) ; 29,1 ; 29,3 (CH) ; 110,8 ; 119,9 ; 121,2 ; 124,5 ; 125,0 ; 126,0 ; 128,1 ; 128,6 ; 130,3 ; 133,1 ; 134,8 ; 140,2 (CH_{arom}) ; 120,6 ; 123,6 ; 126,5 ; 127,5 ; 129,2 ; 138,7 ; 142,0 ; 144,9 ; 146,4 ; 147,5 ; 148,1 ; 150,2 ; 156,3 ; 159,5 ; 160,3 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₄H₅₀N₅O₂ (M+H)⁺ 680,3965 ; trouvée 680,3968.

2,2'-Diéthoxy-5',5''-diisopropyl-2''-pyrrolidin-1-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (62)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **25** (41 mg ; 0,128 mmol) ; le composé **62** (63 mg ; 0,101 mmol ; 79%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 72–76 °C.

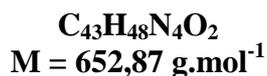
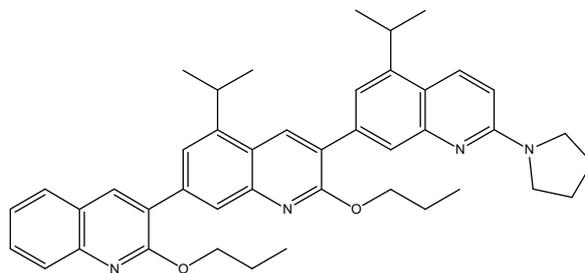
IR (ATR) = 1609, 1450, 1254 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,40–1,50 (18H, m) ; 2,02–2,08 (4H sous le signal du solvant) ; 3,60–3,67 (4H, m) ; 3,72 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,94 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,63 (4H, q, *J* = 7 Hz) ; 6,91 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,47 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,57 (1H, s) ; 7,69 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,78 (1H, s) ; 7,82 (1H, s) ; 7,86 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,97–8,01 (2H, m) ; 8,31 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,40 (1H, s) ; 8,55 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 14,9 ; 15,0 ; 24,07 (2C) ; 24,14 (2C) (CH₃) ; 26,2 (2C) ; 47,4 (2C) ; 62,5 ; 62,7 (CH₂) ; 29,0 ; 29,2 (CH) ; 110,8 ; 120,1 ; 123,0 ; 125,1 ; 125,9 ; 126,2 ; 127,6 ; 128,8 ; 130,4 ; 133,1 ; 134,6 ; 139,2 (CH_{arom}) ; 120,6 ; 123,6 ; 126,6 ; 127,2 ; 127,4 ; 138,7 ; 138,8 ; 144,9 ; 145,6 ; 147,0 ; 147,5 ; 150,2 ; 156,4 ; 160,1 ; 160,2 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₁H₄₅N₄O₂ (M+H)⁺ 625,3543 ; trouvée 625,3538.

5',5''-Diisopropyl-2,2'-Dipropoxy-2''-pyrrolidin-1-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (63)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **25** (37 mg ; 0,116 mmol) ; le composé **63** (37 mg ; 0,057 mmol ; 49%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 70–76 °C.

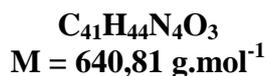
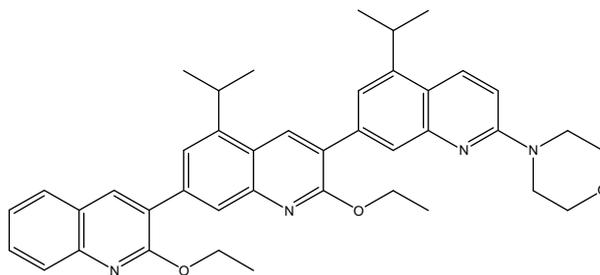
IR (ATR) = 1609, 1451, 1257 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,07 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,08 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,42 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,48 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,81–1,93 (4H, m) ; 2,03–2,07 (4H sous le signal du solvant) ; 3,61–3,66 (4H, m) ; 3,72 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 3,93 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,53 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 4,54 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 6,91 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,47 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,55 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,69 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,78 (1H, d, *J* = 1 Hz) ; 7,80 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,86 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,97–8,01 (2H, m) ; 8,31 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,40 (1H, s) ; 8,55 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 11,26 ; 11,27 ; 24,0 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 23,06 ; 23,07 ; 26,2 (2C) ; 47,4 (2C) ; 68,4 ; 68,5 (CH₂) ; 29,1 ; 29,3 (CH) ; 110,8 ; 120,0 ; 122,8 ; 125,1 ; 126,1 ; 126,3 ; 127,6 ; 128,8 ; 130,4 ; 133,1 ; 134,7 ; 139,3 (CH_{arom}) ; 120,6 ; 123,6 ; 126,6 ; 127,2 ; 127,5 ; 138,75 ; 138,80 ; 144,9 ; 145,6 ; 147,0 ; 147,5 ; 150,2 ; 156,4 ; 160,2 ; 160,3 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₃H₄₉N₄O₂ (M+H)⁺ 653,3856 ; trouvée 653,3846.

2,2'-Diéthoxy-5',5''-diisopropyl-2''-morpholin-4-yl-3,7':3,7''-terquinoléine (64)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **27** (22,5 mg ; 0,067 mmol) ; le composé **64** (33 mg ; 0,051 mmol ; 77%) est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle.

F = 113–116 °C.

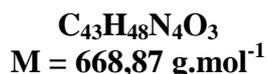
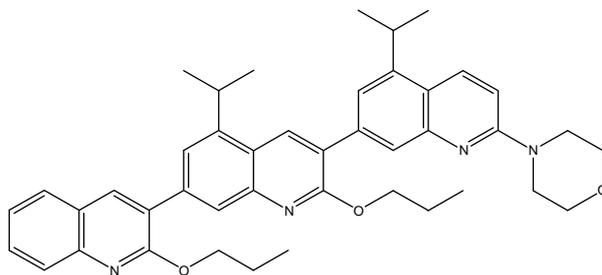
IR (ATR) = 1607, 1438, 1255, 1244, 1237 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,40–1,51 (18H, m) ; 3,70–3,78 (5H, m) ; 3,78–3,83 (4H, m) ; 3,94 (1H, hept, *J* = 6,5 Hz) ; 4,63 (4H, q, *J* = 7 Hz) ; 7,26 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,48 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,66 (1H, s) ; 7,70 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,82 (2H, s) ; 7,86 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,97–8,01 (2H, m) ; 8,37–8,42 (2H, m) ; 8,57 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 14,9 ; 15,0 ; 24,0 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 23,1 (2C) ; 46,4 (2C) ; 62,5 ; 62,7 ; 67,4 (2C) (CH₂) ; 29,0 ; 29,2 (CH) ; 110,2 ; 121,4 ; 123,0 ; 125,1 ; 126,2 ; 126,3 ; 127,6 ; 128,8 ; 130,4 ; 133,9 ; 134,7 ; 139,2 (CH_{arom}) ; 121,4 ; 123,6 ; 126,6 ; 127,15 ; 127,18 ; 138,8 ; 139,1 ; 144,9 ; 145,7 ; 147,0 ; 147,5 ; 149,3 ; 158,3 ; 160,0 ; 160,2 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₁H₄₅N₄O₃ (M+H)⁺ 641,3492 ; trouvée 641,3502.

5',5''-Diisopropyl-2''-morpholin-4-yl-2,2'-Dipropoxy-3,7':3,7''-terquinoléine (65)



Procédure expérimentale analogue à celle de préparation du composé **12** ; composé **27** (38 mg ; 0,113 mmol) ; le composé **65** (55 mg ; 0,082 mmol ; 73%) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 78–87 °C.

IR (ATR) = 1607, 1436, 1261, 1238 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, acétone-*d*₆) : 1,06 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,08 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 1,42 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,48 (6H, d, *J* = 7 Hz) ; 1,81–1,93 (4H, m) ; 3,70–3,82 (9H, m) ; 3,93 (1H, hept, *J* = 7 Hz) ; 4,53 (4H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 7,24 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 7,47 (1H, ddd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1 Hz) ; 7,64 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,69 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,81 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 7,82 (1H, s) ; 7,86 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,98 (1H, d, *J* = 7,5 Hz) ; 8,01 (1H, s) ; 8,39 (1H, d, *J* = 9,5 Hz) ; 8,39 (1H, s) ; 8,56 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-*d*₆) : 11,2 ; 11,3 ; 24,0 (2C) ; 24,1 (2C) (CH₃) ; 23,1 (2C) ; 46,4 (2C) ; 67,4 (2C) ; 68,4 ; 68,5 (CH₂) ; 29,1 ; 29,3 (CH) ; 110,2 ; 121,3 ; 122,9 ; 125,1 ; 126,3 ; 126,4 ; 127,6 ; 128,8 ; 130,4 ; 133,9 ; 134,8 ; 139,3 (CH_{arom}) ; 121,4 ; 123,6 ; 126,6 ; 127,21 ; 127,25 ; 138,9 ; 139,1 ; 144,9 ; 145,7 ; 147,0 ; 147,5 ; 149,3 ; 158,3 ; 160,2 ; 160,3 (C_{arom}).

Masse exacte (ES⁺) : calculée pour C₄₃H₄₉N₄O₃ (M+H)⁺ 669,3805 ; trouvée 669,3794.

Tests biologiques d'activité antiproliférative

Je présenterai dans cette partie le principe et le protocole expérimental des tests d'activité antiproliférative que j'ai réalisés sous la direction du Dr. E. Debiton (unité INSERM UMR U990, Clermont-Ferrand).

Ces tests ont concerné les nouveaux produits synthétisés en série alkoxyquinoléine.

I. PRESENTATION

Les activités antiprolifératives *in vitro* des composés ont été évaluées sur une culture humaine de fibroblastes et trois lignées cellulaires cancéreuses : PA1 (ovaire), PC3 et DU145 (prostate).

Les propriétés inhibitrices des composés sont quantifiées par les valeurs d'IC₅₀ correspondant à la concentration de drogue nécessaire pour obtenir 50% d'inhibition de la croissance cellulaire.

La cytotoxicité globale est déterminée par la mesure du potentiel réducteur de la cellule grâce au test à la résazurine¹⁶⁵.

La résazurine est réduite en résorufine fluorescente par l'activité métabolique cellulaire (Figure 205).

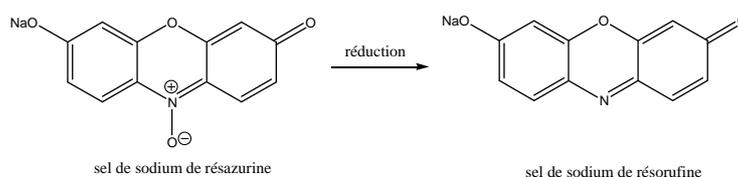


Figure 205 : Réduction de la résazurine en résorufine.

La fluorescence mesurée est alors directement proportionnelle à la quantité de cellules de l'échantillon. Par comparaison au témoin, il est alors possible de déterminer la quantité de cellule présente après traitement.

¹⁶⁵ J. O'Brien, I. Wilson, T. Orton, F. Pognan, *Eur. J. Biochem.*, **2000**, 267, 5421-5426.

II. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Un pré-criblage est d'abord effectué sur les lignées PA1 et PC3 à quatre concentrations : 50 μM ; 5 μM ; 0,5 μM et 0,05 μM . Les valeurs d' IC_{50} ne seront alors déterminées sur fibroblastes, PA1, PC3 et DU145 que pour les composés ayant provoqué une inhibition de la croissance cellulaire lors de ce pré-criblage.

II.1. Conditions de culture cellulaire

Les cellules sont placées dans un milieu de culture adapté et incubées dans une étuve à 37 °C, sous atmosphère contrôlée de 5% de CO_2 et 95% d'humidité.

Le milieu de culture utilisé est le Glutamax Eagle MEM (*Minimum Essential Medium*) supplémenté en :

- | | |
|--|---------------------------|
| - Sérum de veau fœtal 10% | 10% (v/v) |
| - Antibiotique large spectre Gentamicine | 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ |
| - Acides aminés non essentiels 100 mM | 1% (v/v) |
| - Pyruvate de sodium 100 mM | 1% (v/v) |
| - Vitamines 100x | 1% (v/v) |

II.2. Ensemencement des cellules

Les plaques 96 puits sont ensemencées avec une concentration 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. Les plaques sont laissées à incuber sous atmosphère contrôlée 16 h environ.

II.3. Traitement des cellules

Les solutions mères à 10 mM dans le DMSO des produits à tester sont préparées. Des dilutions successives sont réalisées à partir de là : 4 dilutions pour le pré-criblage et 7 dilutions échelonnées en concentration pour la détermination des valeurs d' IC_{50} .

Chacune des solutions est diluée à 2% v/v dans le milieu de culture, puis 50 μL de chaque solution ainsi préparée sont additionnés aux cellules selon le plan de plaque représenté en Figure 206.

Des puits sont réservés aux contrôle négatif (solution de DMSO à 2% dans le MEM) et contrôle positif (solution de DMSO à 20% dans le MEM) ainsi qu'au blanc (milieu de culture).

Après agitation d'une minute (titramax 100, Heidolph, 750 tours/min, vitesse = 5), les plaques sont placées 48 h à l'étuve.

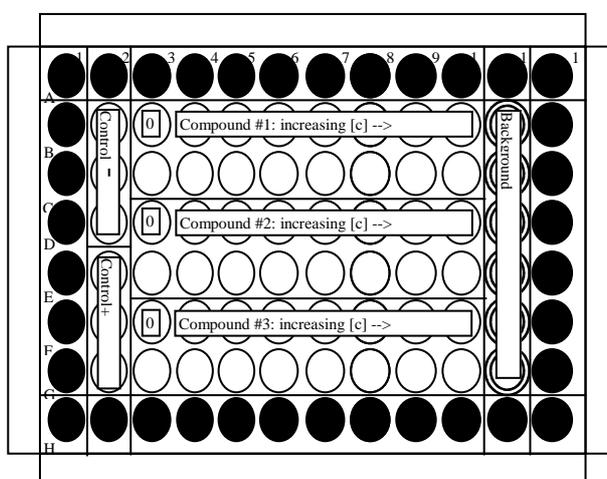


Figure 206 : Plan de plaque utilisé pour la détermination des IC_{50} .

II.4. Dosage du potentiel réducteur cellulaire

Le milieu de culture des plaques est éliminé par retournement sur du papier absorbant puis le tapis cellulaire est rincé avec 200 μL d'une solution de PBS avec Ca^{2+} et Mg^{2+} à 37 °C. Après élimination du PBS, 150 μL d'une solution de résazurine à 2% v/v dans le MEM sans rouge phénol sont distribués dans les puits. Les plaques sont incubées 1 à 2 h à 37 °C jusqu'à obtenir dans les puits de contrôle milieu une fluorescence au moins trois fois supérieure au bruit de fond.

La fluorescence est mesurée à une longueur d'onde d'excitation de 530 nm et une longueur d'onde d'émission de 590 nm (Fluoroskan, Labsystem).

Les données brutes sont traitées à l'aide d'une feuille de calcul excel.

TABLE DES REFERENCES

- ¹ Institut de Veille Sanitaire. <http://www.invs.sante.fr>
- ² G. Manning, D. B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, S. Sudarsanam, *Science*, **2002**, 298, 1912-1934.
- ³ Z. Wang, N. Bhattacharya, M. Weaver, K. Petersen, M. Meyer, L. Gapter, N.S. Magnuson, *J. Vet. Sci.*, **2001**, 2, 167-179.
- ⁴ N.S. Magnuson, Z. Wang, G. Ding, R. Reeves, *Future Oncol.*, **2010**, 6, 1461-1478.
- ⁵ M. Bachmann, T. Möröy, *Int. J. Biochem. Cell. B.*, **2005**, 37, 726-730.
- ⁶ A. Macdonald, D.G. Campbell, R. Toth, H. McLauchlan, C.J. Hastie, J.S.C. Arthur, *BMC Cell Biology*, **2006**, 7.
- ⁷ T.L.T. Aho, J. Sandholm, K.J. Peltola, H.P. Mankonen, M. Lilly, P.J. Koskinen, *FEBS Letters*, **2004**, 571, 43-49.
- ⁸ L. Brault, C. Gasser, F. Bracher, K. Huber, S. Knapp, J. Schwaller, *Haematologica*, **2010**, 95, 1004-1015.
- ⁹ N. Shah, B. Pang, K.-G. Yeoh, S. Thorn, C. Shing Chen, M. B. Lilly, M. Salto-Tellez, *Eur. J. Cancer*, **2008**, 44, 2144-2151.
- ¹⁰ F. Giles, *Blood*, **2006**, 105, 4158-4159.
- ¹¹ M. Adam, V. Pogacic, M. Bendit, R. Chappuis, M.C. Nawijn, J. Duyster, C.J. Fox, C.B. Thompson, J. Cools, J. Schwaller, *Cancer Res.*, **2006**, 66, 3828-3835.
- ¹² S. Schenone, C. Tintori, M. Botta, *Curr. Pharm. Design*, **2010**, 16, 3964-3978.
- ¹³ K. C. Qian, L. Wang, E. R. Hickey, J. Studts, K. Barringer, C. Peng, A. Kronkaitis, J. Li, A. White, S. Mische, B. Farmer, *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280, 6130-6137.
- ¹⁴ A. Kumar, V. Mandiyan, Y. Suzuki, C. Zhang, J. Rice, J. Tsai, D. R. Artis, P. Ibrahim, R. Bremer, *J. Mol. Biol.*, **2005**, 348, 183-193.
- ¹⁵ A.N. Bullock, J. Debreczeni, A.L. Amos, S. Knapp, B.E. Turk, *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280, 41675-41682.
- ¹⁶ T. Morwick, *Expert Opin. Ther. Patents*, **2010**, 20, 193-212.
- ¹⁷ F. Anizon, A.A. Shtil, V.N. Danilenko, P. Moreau, *Curr. Med. Chem.*, **2010**, 17, 4133-4141.
- ¹⁸ A.N. Bullock, J.E. Debreczeni, O.Y. Fedorov, A. Nelson, B.D. Marsden, S. Knapp, *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 7604-7614.
- ¹⁹ O. Fedorov, B. Marsden, V. Pogacic, P. Rellos, S. Müller, A.N. Bullock, J. Schwaller, M. Sundström, S. Knapp, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2007**, 104, 20523-20528.
- ²⁰ S. Holder, M. Zemskova, C. Zhang, M. Tabrizi, R. Bremer, J.W. Neidigh, M.B. Lilly, *Mol. Cancer Ther.*, **2007**, 6, 163-172.
- ²¹ J. É. Debreczeni, A. N ; Bullock, G. Ekin Atilla, D. S. Williams, H. Bregman, S. Knapp, E. Meggers, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 1580-1585.
- ²² E. Meggers, G.E. Atilla-Gokcumen, H. Bregman, J. Maksimoska, S.P. Mulcahy, N. Pagano, D.S. Williams, *Synlett*, **2007**, 8, 1177-1189.
- ²³ G. E. Atilla-Gokcumen, D. S. Williams, H. Bregman, N. Pagano, E. Meggers, *ChemBioChem*, **2006**, 7, 1443-1450.
- ²⁴ Y. Tong, K.D. Steward, S. Thomas, M. Przytulinska, E.F. Johnson, V. Klinghofer, J. Levenson, O. McCall, N.B. Soni, Y. Luo, N.-H. Lin, T.J. Sowin, V.L. Giranda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 18, 5206-5208.
- ²⁵ V. Pogacic, A.N. Bullock, O. Fedorov, P. Filippakopoulos, C. Gasser, A. Biondi, S. Meyer-Monard, S. Knapp, J. Schwaller, *Cancer Res.*, **2007**, 67, 6916-6924.
- ²⁶ L.S. Chen, S. Redkar, D. Bearss, W.G. Wierda, V. Gandhi, *Blood*, **2009**, 114, 4150-4157.
- ²⁷ S.H. Mumenthaler, P.Y.B. Ng, A. Hodge, D. Bearss, G. Berk, S. Kanetal, S. Redkar, P. Taverna, D.B. Agus, A. Jain, *Mol. Cancer Ther.*, **2009**, 10, 2882-2893.
- ²⁸ R. Grey, A.C. Pierce, G.W. Bemis, M.D. Jacobs, C.S. Moody, R. Jajoo, N. Mohal, J. Green, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, 19, 3019-3022.
- ²⁹ F. Sliman, M. Blairvacq, E. Durieu, L. Meijer, J. Rodrigo, D. Desmaële, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, 20, 2801-2805.
- ³⁰ Z. Xia, C. Knaak, J. Ma, Z.M. Beharry, C. McInnes, W. Wang, A.S. Kraft, C.D. Smith, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 74-86.
- ³¹ Z.-F. Tao, L.A. Hasvold, J.D. Levenson, E.K. Han, R. Guan, E.F. Johnson, V.S. Stoll, K.D. Steward, G. Stamper, N. Soni, J.J. Bouska, Y. Luo, T.J. Sowin, N.-H. Lin, V.S. Giranda, S.H. Rosenberg, T.D. Penning, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 6621-6636.
- ³² R. Akué-Gédu, E. Rossignol, S. Azzaro, S. Knapp, P. Filippakopoulos, A.N. Bullock, J. Bain, P. Cohen, M. Prudhomme, F. Anizon, P. Moreau, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 6369-6381.

- ³³ R. Akué-Gédu, L. Nauton, V. Théry, J. Bain, P. Cohen, F. Anizon, P. Moreau, *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 6865-6873.
- ³⁴ K. Qian, L. Wang, C.L. Cywin, B. T. Farmer, E. Hickey, C. Homon, S. Jakes, M.A. Kashem, G. Lee, S. Leonard, J. Li, R. Magboo, W. Mao, E. Pack, C. Peng, A. Prokopowicz, M. Welzel, J. Wolak, T. Morwick, *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 1814-1827.
- ³⁵ Y. Xiang, B. Hirth, G. Asmussen, H.-P. Biemann, K. A. Bishop, A. Good, M. Fitzgerald, T. Gladysheva, A. Jain, K. Jancsics, J. Liu, M. Metz, A. Papoulis, R. Skerlj, J. D. Stepp, R. R. Wei, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2011**, *21*, 3050-3056.
- ³⁶ P. Diana, A. Martorana, P. Barraja, A. Montalbano, A. Carbone, G. Cirrincione, *Tetrahedron*, **2001**, *67*, 2072-2080.
- ³⁷ P. Barraja, V. Spanò, P. Diana, A. Carbone, G. Cirrincione, D. Vedaldi, A. Salvador, G. Viola, F. Dall'Acqua, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 1711-1714.
- ³⁸ E.J.Hennessy, S.L. Buchwald, *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 7371-7375.
- ³⁹ T. Janosik, J. Bergman, *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 2371-2380.
- ⁴⁰ N. Haider, R. Jbara, J. Käferböck, U. Traar, *Arkivoc*, **2009**, *6*, 38-47.
- ⁴¹ A. Billinton, N. Clayton, G. Giblin, M. Healy, Glaxo group limited, WO 2007088190 (A1), **2007**.
- ⁴² L.R. Caswell, M. Guevara, L.D. Corley, A.V. Martinez, T. Hollis, K. Largess, D.L. Thornley, *Synthesis*, **1992**, *9*, 823-825.
- ⁴³ V. Maslak, Z. Yan, S. Xia, J. Gallucci, C.M. Hadad, J. D. Badjic, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 5887-5894.
- ⁴⁴ J.P. Wolfe, S. Wagam, J.-F. Marcoux, S.L. Buchwald, *Acc. Chem. Res.*, **1998**, *31*, 805-818.
- ⁴⁵ J.F. Hartwig, *Pure Appl. Chem.*, **1999**, *71*, 1417-1423.
- ⁴⁶ V.T. Abaev, O.V. Serduyk, *Russ. Chem. Rev.*, **2008**, *77*, 177-192.
- ⁴⁷ L.A. Carpino, R.E. Padykula, D.E. Barr, F.H. Hall, J.G. Krause, R.F. Dufresne, C.J. Thoman, *J. Org. Chem.*, **1988**, *53*, 2565-2572.
- ⁴⁸ D.F. Perepichka, M. Bendikov, H. Meng, F. Wudl, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 10190-10191.
- ⁴⁹ L.A. Levy, *Synth. Comm.*, **1983**, *13*, 639-648.
- ⁵⁰ D.-R. Hou, M.-S. Wang, M.-W. Chung, Y.-D. Hsieh, H.-H. Gavin Tsai, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 9231-9239.
- ⁵¹ J. Thesing, W. Schäfer, D. Melchior, *Liebigs Ann. Chem.*, **1964**, *119*, 119-126.
- ⁵² P. E. Mahaney, A. T. Vu, C. C. McComas, P. Zhang, L. M. Nogle, W. L. Watts, A. Sarkahian, L. Leventhal, N. R. Sullivan, A. J. Uveges, E. J. Trybulski, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 8455-8466..
- ⁵³ R. Kreher, K. J. Herd, *Angew. Chem. Internat. Edit.*, **1974**, *13*, 739-740.
- ⁵⁴ G. Simon, H. Couthon-Gourves, J.-P. Haelters, B. Corbel, N. Kervarec, F. Michaud, L. Meijer, *J. Heterocyclic Chem.*, **2007**, *44*, 793-797.
- ⁵⁵ J.P. Wolfe, S.L. Buchwald, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 1264-1267.
- ⁵⁶ L. Hanson, R. Carlson, *Acta Chem. Scand.*, **1989**, *43*, 304-306.
- ⁵⁷ A.S. Drager, D.F. O'Brien, *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 2257-2260.
- ⁵⁸ U. Dreschler, M. Pfaff, M. Hanack, *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, 3441-3453.
- ⁵⁹ C. Burmester, R. Faust, *Synthesis*, **2008**, *8*, 1179-1181.
- ⁶⁰ W.A. Carroll, R.J. Altenbach, H. Bai, J. D. Brioni, M.E. Brune, S.A. Buckner, C. Cassidy, Y. Chen, M. J. Coghlan, A.V. Daza, I. Drizin, T.A. Fey, M. Fitzgerald, M. Gopalakrishnan, R.J. Gregg, R.F. Henry, M.W. Holladay, L.L. King, M.E. Kort, P.R. Kym, I. Milicic, R. Tang, S.C. Turner, K.L. Whiteaker, L. Yi, H. Zhang, J.P. Sullivan, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 3163-3179.
- ⁶¹ Y. Ito, T. Miyake, S. Hatano, R. Shima, T. Ohara, M. Sugimoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 11880-11893.
- ⁶² M.D. Rosen, M.D. Hack, B.D. Allison, V.K. Phuong, C.R. Woods, M.F. Morton, C.E. Prendergast, T.D. Barrett, C. Schubert, L. Li, X. Wu, J. Wu, J.M. Freedman, N.P. Shankley, M.H. Rabinowitz, *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *16*, 3917-3925.
- ⁶³ S. Miao, C.G. Bangcuyo, M.D. Smith, U.H.F. Bunz, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 661-665.
- ⁶⁴ B.A. DaSilveira Neto, A.S. Lopes, M. Wüst, V.E.U. Costa, G. Ebeling, J. Dupont, *Tet. Lett.*, **2005**, *46*, 6843-6846.
- ⁶⁵ G.-D. Zhu, J. Gong, V. B. Gandhi, K. Woods, Y. Luo, X. Liu, R. Guan, V. Klinghofer, E. F. Johnson, V. S. Stoll, M. Mamo, Q. Li, S. H. Rosenberg, V. L. Giranda, *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 2441-2452.
- ⁶⁶ D.J. Slade, N.F. Pelz, W. Bodnar, J.W. Lampe, P.S. Watson, *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 6331-6334.
- ⁶⁷ A. Er-Rhaimini, R. Mornet, *Synthesis*, **1988**, *2*, 154-155.
- ⁶⁸ F. Grillet, B. Baumlová, G. Prévost, J.F. Constant, S. Chaumeron, D. C. H. Bigg, A. E. Greene, A. Kanazawa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 2143-2146.
- ⁶⁹ G. Sekar, V.K. Singh, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 2537-2539.
- ⁷⁰ A. B. Pulipaka, S. C. Bergmeir, *Synthesis*, **2008**, *9*, 1420-1430.
- ⁷¹ X. E. Hu, *Tetraedron*, **2004**, *60*, 2701-2743.
- ⁷² J. Wu, X. Sun, W. Sun, *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 4231-4235.
- ⁷³ M. A. Reddy, L. R. Reddy, N. Bhanumathi, K.R. Rao, *Chem. Lett.*, **2001**, 246-247.
- ⁷⁴ J. Huang, P. O'Brien, *Tet. Lett.*, **2005**, *46*, 3253-3256

Références bibliographiques

- ⁷⁵ M. Sasaki, S. Dalili, A. K. Yudin, *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 2045-2047.
- ⁷⁶ S.E. Tunney, J.K. Stille, *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*, 748-753.
- ⁷⁷ J.W. Hubbard, A.M. Piegols, B.C.G. Söderberg, *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 7077-7085.
- ⁷⁸ K. Fries, K. Fabel, H. Eckhardt, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1942**, *550*, 31-49.
- ⁷⁹ A. Salgado, Y. Dejaegher, G. Verniest, M. Boeykens, C. Gauthier, C. Lopin, K.A. Tehrani, N. De Kimpe, *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 297-315.
- ⁸⁰ H. Muxfeldt, M. Weigele, V. Van Rheeunen, *J. Org. Chem.*, **1965**, *30*, 3573-3574.
- ⁸¹ R.W. Bost, E.E. Towel, *J. Am. Chem. Soc.*, **1948**, *70*, 903-905.
- ⁸² L. Gavara, E. Saugues, G. Alves, E. Debiton, F. Anizon, P. Moreau, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, *45*, 5520-5526.
- ⁸³ J.F.R. Kerr, A.H. Wyllie, A.R. Currie, *Br. J. Cancer*, **1972**, *26*, 239-257.
- ⁸⁴ T.D. Pollard, W.C. Earnshaw, *Biologie cellulaire*, Elsevier, **2004**, 819-821.
- ⁸⁵ E. Ségal-Bendirdjian, C. Dudognon, J. Mathieu, J. Hillion, F. Besançon, *Bull. Cancer*, **2005**, *92*, 23-35.
- ⁸⁶ K.L. Moffitt, S.L. Martin, B. Walker, *J. Pharm. Pharmacol.*, **2010**, *62*, 547-562.
- ⁸⁷ K.M. Boatright, G.S. Salvesen, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2003**, *15*, 725-731.
- ⁸⁸ M.H. Kang, C.P. Reynolds, *Clin. Cancer Res.*, **2009**, *15*, 1126-1132.
- ⁸⁹ G.J.P. Rautureau, C.L. Day, M.G. Hinds, *Int. J. Mol. Sci.*, **2010**, *11*, 1808-1824.
- ⁹⁰ S.W. Muchmore, M. Sattler, H. Liang, R.P. Meadows, J.E. Harlan, H.S. Yoon, D. Nettesheim, B.S. Chang, C.B. Thompson, S.-L. Wong, S.-C. Ng, S.W. Fesik, *Nature*, **1996**, *381*, 335-341.
- ⁹¹ A.M. Petros, E.T. Olejniczak, S.W. Fesik, *Biochim. Biophys. Acta*, **2004**, *1644*, 83-94.
- ⁹² A. M. Petros, A. Medek, D. G. Nettesheim, D. H. Kim, H. S. Yoon, K. Swift, E. D. Matayoshi, T. Oltersdorf, S. W. Fesik, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2001**, *98*, 3012-3017.
- ⁹³ A. Y. Denisov, M. S. R. Madiraju, G. Chen, A. Khadir, P. Beauparlant, G. Attardo, G. C. Shore, K. Gehring, *J. Biol. Chem*, **2003**, *278*, 21124-21128.
- ⁹⁴ C. L. Day, L. Chen, S. J. Richardson, P. J. Harrisson, D. C. S. Huang, M. G. Hinds, *J. Biol. Chem.*, **2005**, *280*, 4738-4744.
- ⁹⁵ M. Suzuki, R. J. Youle, N. Tjandra, *Cell*, **2000**, *103*, 645-654.
- ⁹⁶ J. J. Chou, H. Li, G. S. Salvesen, J. Yuan, G. Wagner, *Cell*, **1999**, *96*, 615-624.
- ⁹⁷ Q. Huang, A. M. Petros, H. W. Virgin, S. W. Fesik, E. T. Olejniczak, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2002**, *99*, 3428-3433.
- ⁹⁸ M.F. van Delft, D.C.S. Huang, *Cell Res.*, **2006**, *16*, 203-213.
- ⁹⁹ S.N. Willis, J.M. Adams, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2005**, *17*, 617-625.
- ¹⁰⁰ S. E. Rutledge, J. W. Chin, A. Schepartz, *Cur. Opin. Chem. Biol.*, **2002**, *6*, 479-485.
- ¹⁰¹ S.A. Amundsons, T.G. Myers, D. Scudiero, S. Kitada, J.C. Reed, A.J. Fornace Jr., *Cancer Res*, **2000**, *60*, 6101-6110.
- ¹⁰² N. Dias, C. A. Stein, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2002**, *54*, 263-269.
- ¹⁰³ R.S. Herbst, S.R. Frankel, *Clin. Cancer Res.*, **2004**, *10*, 4245s.
- ¹⁰⁴ http://www.genta.com/Products_and_Pipeline/Genasense/Genasense.html
- ¹⁰⁵ A. M. Petros, D. G. Nettesheim, Y. Wang, E. T. Olejniczak, R. P. Meadows, J. Mack, K. Swift, E. D. Matayoshi, H. Zhang, C. B. Thompson, S. W. Fesik, *Protein Sci.*, **2000**, *9*, 2528-2534.
- ¹⁰⁶ D. Liu, B. Yang, R. Cao, Z. Huang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 4467-4469.
- ¹⁰⁷ L. D. Walensky, A. L. Kung, I. Escher, T. J. Malia, S. Barbuto, R. D. Wright, G. Wagner, G. L. Verdine, S. J. Korsmeyer, *Science*, **2004**, *305*, 1466-1470.
- ¹⁰⁸ L. D. Walensky, K. Pitter, J. Morash, K. Joon Ho, S. Barbuto, J. Fisher, E. Smith, G. L. Verdine, S. J. Korsmeyer, *Mol. Cell*, **2006**, *24*, 199-210.
- ¹⁰⁹ J. D. Sadowsky, M. A. Schmitt, H.-S. Lee, N. Umezawa, S. Wang, Y. Tomita, S. H. Gellmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 11966-11968.
- ¹¹⁰ E. F. Lee, J. D. Sadowsky, B. J. Smith, P. E. Czabotar, K. J. Peterson-Kaufman, P. M. Colman, S. H. Gellman, W. D. Fairlie, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 4318-4322.
- ¹¹¹ J.-L. Wang, D. Liu, Z.-J. Zhang, S. Shan, X. Han, S. M. Srinivasula, C. M. Croce, E. S. Alnemri, Z. Huang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2000**, *97*, 7124-7129.
- ¹¹² D. Tian, S. G. Das, J. M. Doshi, J. Peng, J. Lin, C. Xing, *Cancer Lett.*, **2008**, *259*, 198-208.
- ¹¹³ A. Degterev, A. Lugovskoy, M. Cardone, B. Mulley, G. Wagner, T. Mitchinson, J. Yuan, *Nat. Cell Biol.*, **2001**, *3*, 173-182.
- ¹¹⁴ A. A. Lugovskoy, A. I. Degterev, A. F. Fahmy, P. Zhou, J. D. Gross, J. Yuan, G. Wagner, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 1234-1240.
- ¹¹⁵ I. J. Enyedy, Y. Ling, K. Nacro, Y. Tomita, X. Wu, Y. Cao, R. Guo, B. Li, X. Zhu, Y. Huang, Y.-Q. Long, P. P. Roller, D. Yang, S. Wang, *J. Med. Chem.*, **2001**, *44*, 4313-4324.
- ¹¹⁶ S.-L. Chan, M. C. Lee, K. O. Tan, L.-K. Yang, A. S. Y. Lee, H. Flotow, N. Y. Fu, M. S. Butler, D. D. Soejarto, A. D. Buss, V. C. Yu, *J. Biol. Chem.*, **2003**, *278*, 20453-20456.

- ¹¹⁷ K. M. Kim, C. D. Giedt, G. Basanez, J. W. O'Neill, J. J. Hill, Y. H. Han, S.-P. Tzung, J. Zimmerberg, D. M. Hockenbery, K. Y. J. Zhang, *Biochemistry*, **2001**, *40*, 4911-4922.
- ¹¹⁸ S. Shangary, D. E. Johnson, *Leukemia*, **2003**, *17*, 1470-1481.
- ¹¹⁹ M. Leone, D. Zhai, S. Sareth, S. Kitada, J. C. Reed, M. Pellecchia, *Cancer Res.*, **2003**, *63*, 8118-8121.
- ¹²⁰ D. Fomekong Fotsop, F. Roussi, A. Leverrier, A. Bretéché, F. Guéritte, *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 7412-7415.
- ¹²¹ Z. Zhang, G. Wu, F. Xie, T. Song, X. Chang, *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 1101-1105.
- ¹²² Y. Feng, X. Ding, T. Chen, L. Chen, F. Liu, X. Jia, X. Luo, X. Shen, K. Chen, H. Jiang, H. Wang, H. Liu, D. Liu, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 3465-3479.
- ¹²³ H. M. Shallal, J. S. Faridi, W. A. Russu, *Bioorg. Med., Chem.*, **2011**, *21*, 1325-1328.
- ¹²⁴ S. Kitada, M. Leone, S. Sareth, D. Zhai, J.C. Reed, M. Pellecchia, *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 4269-4264.
- ¹²⁵ G. Wang, Z. Nikolovska-Coleska, C.-Y. Yang, R. Wang, G. Tang, J. Guo, S. Shangary, S. Qiu, W. Gao, D. Yang, J. Meagher, J. Stuckey, K. Krajewski, S. Jiang, P. P. Roller, H. O. Abaan, Y. Tomita, S. Wang, *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 6139-6142.
- ¹²⁶ A. S. Azmi, Z. Wang, P. A. Philip, R. M. Mohammad, F. H. Sarkar, *Expert Opin. Emerging Drugs*, **2011**, *16*, 59-70.
- ¹²⁷ J. Wei, S. Kitada, M. F. Rega, J. L. Stebbins, D. Zhai, J. Cellitti, H. Yuan, A. Emdadi, R. Dahl, Z. Zhang, L. Yang, J. C. Reed, M. Pellecchia, *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 4511-4523.
- ¹²⁸ J. Wei, S. Kitada, M. F. Rega, A. Emdadi, H. Yuan, J. Cellitti, J.L. Stebbins, D. Zhai, J. Sun, L. Yang, R. Dahl, Z. Zhang, B. Wu, S. Wang, T.A. Reed, N. Lawrence, S. Sebti, J. C. Reed, M. Pellecchia, *Mol. Cancer Ther.*, **2009**, *8*, 904-913.
- ¹²⁹ J. Wei, J.L. Stebbins, S. Kitada, R. Dash, W. Placzek, M.F. Rega, B. Wu, J. Cellitti, D. Zhai, L. Yang, R. Dahl, P.B. Fisher, J.C. Reed, M. Pellecchia, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 4166-4176.
- ¹³⁰ J. Wei, S. Kitada, J. L. Stebbins, W. Placzek, D. Zhai, B. Wu, M. F. Rega, Z. Zhang, J. Cellitti, L. Yang, R. Dahl, J. C. Reed, M. Pellecchia, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 8000-8011.
- ¹³¹ G. Tang, C.-Y. Yang, Z. Nikolovska-Coleska, J. Guo, S. Qiu, R. Wang, W. Gao, G. Wang, J. Stuckey, K. Krajewski, S. Jiang, P. P. Roller, S. Wang, *J. Med. Chem.*, **2007**, *50*, 1723-1726.
- ¹³² G. Tang, Z. Nikolovska-Coleska, S. Qiu, C.-Y. Yang, J. Guo, S. Wang, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 717-720.
- ¹³³ S. Trudel, Z. Hua Li, J. Rauw, R. E. Tiedemann, X. Y. Wen, A. K. Stewart, *Blood*, **2007**, *109*, 5430-5438.
- ¹³⁴ L. Zhang, L. Ming, J. Yu, *Drug Resist. Update.*, **2007**, *10*, 207-217.
- ¹³⁵ E.F. Lee, P.E. Czabotar, B.J. Smith, K. Deshayes, K. Zobel, P.M. Colman, W.D. Fairlie, *Cell Death Diff.*, **2007**, *14*, 1711-1719.
- ¹³⁶ T. Ni Chonghaile, A. Letai, *Oncogene*, **2009**, *27*, S149-S157.
- ¹³⁷ B. E. Sleebbs, P. E. Czabotar, W. J. Fairbrother, W. D. Fairlie, J. A. Flygare, D. C. S. Huang, W. J. A. Kersten, M. F. T. Koehler, G. Lessene, K. Lowes, J. P. Parisot, B. J. Smith, M. L. Smith, A.J. Souers, I. P. Street, H. Yang, J. B. Baell, *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 1914-1926.
- ¹³⁸ O. Kutzki, H. S. Park, J. T. Ernst, B. P. Orner, H. Yin, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 11838-11839.
- ¹³⁹ H. Yin, G.-in Lee, K. A. Sedey, J. M. Rodriguez, H.-G. Wang, S. M. Sebti, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 5463-5468.
- ¹⁴⁰ H. Yin, A. D. Hamilton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 1375-1379.
- ¹⁴¹ J. M. Rodriguez, L. Nevola, N. T. Ross, G.-in Lee, A. D. Hamilton, *ChemBioChem*, **2009**, *10*, 829-833.
- ¹⁴² C. G. Cummings, A. D. Hamilton, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2010**, *14*, 341-346.
- ¹⁴³ J. T. Ernst, J. Becerril, H. S. Park, H. Yin, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, *42*, 535-539.
- ¹⁴⁴ J. M. Rodriguez, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 8614-8617.
- ¹⁴⁵ J. M. Rodriguez, N. T. Ross, W. P. Katt, D. Dhar, Gui-in Lee, A. D. Hamilton, *ChemMedChem*, **2009**, *4*, 649-656.
- ¹⁴⁶ S. Broch, H. Hénon, A.-L. Debaud, M.-L. Fogeron, N. Bonnefoy-Bérard, F. Anizon, P. Moreau, *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 7132-7143.
- ¹⁴⁷ S. Broch, F. Anizon, P. Moreau, *Synthesis*, **2008**, 2039.
- ¹⁴⁸ S. Broch, B. Aboab, F. Anizon, P. Moreau, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, *45*, 1657-1662.
- ¹⁴⁹ E. Saugues, L. Nauton, V. Théry, F. Anizon, P. Moreau, *Bioorg. Chem.*, **2011**, *39*, 143-150.
- ¹⁵⁰ Y.-Q. Fang, R. Karisch, M. Lautens, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 1341-1346.
- ¹⁵¹ F. Zaragoza, H. Stephensen, B. Peschke, K. Rimmvall, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 306-311.
- ¹⁵² F. Popowycz, C. Schneider, S. DeBonis, D. A. Skoufias, F. Kozielski, C. M. Galmarini, B. Joseph, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, *17*, 3471-3478.
- ¹⁵³ V. F. Slagt, A. H. M. de Vries, J. G. de Vries, R. M. Kellogg, *Org. Process Res. Dev.*, **2010**, *14*, 30-47.
- ¹⁵⁴ Y. Kitahara, M. Nagatsu, Y. Shibano, A. Kubo, *Chem. Pharm. Bull.*, **1997**, *10*, 1697-1701.
- ¹⁵⁵ K. Albrecht, V. Kaiser, R. Boese, J. Adams, D. E. Kaufmann, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2000**, 2153-2157.
- ¹⁵⁶ Y. Tagawa, H. Yamashita, M. Nomura, Y. Goto, *Heterocycles*, **1998**, *11*, 2379-2387.

Références bibliographiques

- ¹⁵⁷ A.-S. Voisin-Chiret, A. Bouillon, G. Burzicki, M. Célant, R. Legay, H. El-Kashef, S. Rault, *Tetrahedron*, **2009**, 607-612.
- ¹⁵⁸ G. Burzicki, A.-S. Voisin-Chiret, J. Sopková-de Oliveira Santos, S. Rault, *Synthesis*, **2010**, 16, 2804-2810.
- ¹⁵⁹ F. Marsais, A. Godard, G. Queguiner, *J. Heterocyclic Chem.*, **1989**, 26, 1589-1594.
- ¹⁶⁰ G. Noronha, K. Barrett, A. Boccia, T. Brodhag, J. Cao, C. P. Chow, E. Dneprovskaia, J. Doukas, R. Fine, X. Gong, C. Gritzen, H. Gu, E. Hanna, J. D. Hood, S. Hu, X. Kang, J. Key, B. Klebansky, A. Kousba, G. Li, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, 17, 602-608.
- ¹⁶¹ H. A. Wegner, L. T. Scott, A. de Meijere, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 883-887.
- ¹⁶² PEPPSI™ Catalyst, *ChemFiles Aldrich*, **2006**, 3.
- ¹⁶³ R. J. Gleave, P. J. Beswick, A. J. Brown, G. M. P. Giblin, C. P. Haslam, D. Livermore, A. Moses, N. H. Nicholson, L. W. Page, B. Slingsby, M. E. Swarbrick, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19, 6578-6581.
- ¹⁶⁴ B. L. Hodous, S. D. Geuns-Meyer, P. E. Hughes, B. K. Albrecht, S. Bellon, J. Bready, S. Caenepeel, V. J. Cee, S. C. Chaffee, A. Coxon, M. Emery, J. Fretland, P. Gallant, Y. Gu, D. Hoffman, R. E. Johnson, R. Kendall, J. L. Kim, A. M. Long, M. Morrisson, P. R. Olivieri, V. F. Patel, A. Polverino, P. Rose, P. Tempest, L. Wang, D. A. Whittington, H. Zhao, *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 611-626.
- ¹⁶⁵ J. O'Brien, I. Wilson, T. Orton, F. Pognan, *Eur. J. Biochem.*, **2000**, 267, 5421-5426.

RESUME

La formation de cancers est liée à des dérèglements de la progression du cycle cellulaire ou de l'apoptose. L'identification des acteurs cellulaires mis en jeu dans la maladie et l'élucidation des mécanismes responsables de ces dysfonctionnements sont à la base de nouveaux traitements anticancéreux.

Ainsi, en vue du développement de thérapies ciblées, les kinases Pim et les protéines anti-apoptotiques de la famille des Bcl-2, surexprimées dans de nombreux types de cancers et associées à des phénomènes de chimiorésistance, constituent des cibles pertinentes.

Les kinases Pim (Pim-1,-2 et -3) sont une famille de sérine/thréonine kinases qui jouent un rôle fondamental dans les processus de survie, de prolifération ou de différenciation cellulaire. Bien qu'elles possèdent un substrat commun avec les autres protéines kinases, l'ATP, des différences structurales permettent de les différencier et de les inhiber sélectivement. En tenant compte de ces spécificités, nous nous sommes intéressés à la synthèse de nouveaux inhibiteurs sélectifs des kinases Pim, compétitifs de l'ATP.

Parmi les autres agents impliqués dans la formation de tumeurs, les protéines de la famille des Bcl-2, responsables du phénomène d'apoptose ou mort cellulaire programmée, font l'objet d'un domaine d'étude récent. Elles se classent en deux familles selon leur fonction : les protéines pro-apoptotiques et les protéines anti-apoptotiques dont la surexpression est observée dans de nombreux cancers. Nous avons poursuivi l'étude de relations structure-activité initiée au laboratoire à partir de trimères d'alkoxyquinoléines, inhibiteurs micromolaires des protéines anti-apoptotiques Bcl-2 et Bcl-x_L, en préparant de nouveaux analogues.

ABSTRACT

Cancer development is associated with dysfunctions in cell cycle progression or apoptosis. The identification of cellular agents involved in this disease, and the elucidation of mechanisms responsible for these dysfunctions provide the basis for the development of novel anti-cancer drugs.

Thus, Pim kinases and Bcl-2 anti-apoptotic proteins which are overexpressed in many malignancies and contribute significantly to chemoresistance are of great interest for the development of targeted cancer therapy.

Pim kinases (Pim-1,-2 and -3) belong to a family of serine/threonine kinases which play a key role in cell survival, proliferation and differentiation. Although all protein kinases share ATP as a common substrate, the structure of the ATP-binding pocket of Pim kinases is unique and offers an opportunity for a selective inhibition. Taking account of these specificities, we were interested in the synthesis of novel selective ATP competitive Pim kinase inhibitors.

Among the other agents involved in tumorigenesis, Bcl-2 family proteins, which govern apoptosis (or programmed cell death), are subject of a recent interest. These proteins are divided in two classes depending on their function: pro-apoptotic and anti-apoptotic members that are overexpressed in a variety of cancers. In a preliminary work in the laboratory, alkoxyquinoline trimers have demonstrated micromolar inhibition against anti-apoptotic proteins Bcl-2 and Bcl-x_L. Therefore, we carried on this structure-activity relationship study with the synthesis of novel analogues.

