



**HAL**  
open science

# Synthèse de spiro-oxindoles ligands des prohibitines

Sabria Elderwish

► **To cite this version:**

Sabria Elderwish. Synthèse de spiro-oxindoles ligands des prohibitines. Chimie thérapeutique. Université de Strasbourg, 2019. Français. NNT : 2019STRAF019 . tel-03202913

**HAL Id: tel-03202913**

**<https://theses.hal.science/tel-03202913v1>**

Submitted on 20 Apr 2021

**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.

**ÉCOLE DOCTORALE des SCIENCES CHIMIQUES – ED 222**  
**Laboratoire de Cardio-Oncologie et Chimie Médicinale (FRE 2033)**

# THÈSE

Présentée par :

**Sabria ELDERWISH**

Soutenue le : **13 Septembre 2019**

Pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : Chimie médicinale

## **Synthèse de spiro-oxindoles ligands des prohibitines**

**THÈSE dirigée par :**

**Dr DÉSAUBRY Laurent** Directeur de recherche au CNRS, Université de Strasbourg

**RAPPORTEURS :**

**Pr GALONS Hervé** Professeur à l'Université de Paris Descartes

**Pr DUCKI Sylvie** Professeur à l'École Nationale Supérieure de Chimie de  
Clermont-Ferrand

**AUTRE MEMBRE DU JURY :**

**Dr GULEA Mihaela** Directrice de recherches au CNRS, Université de Strasbourg

*Là où se trouve une volonté se trouve un chemin.*

*-Lénine*



# Remerciement

---

Au terme de cette thèse, je tiens à remercier chaleureusement tous ceux qui ont contribué à sa réalisation.

Je tiens à exprimer en premier lieu ma reconnaissance envers mon directeur de thèse, le Dr Laurent Désaubry. Un grand merci de m'avoir encadré, pour sa confiance, ses conseils, son expérience, sa bienveillance et son accompagnement tout au long de ce cheminement qui ont permis à cette thèse de prendre forme.

Je suis extrêmement reconnaissante au Ministère de l'Éducation et l'Enseignement Supérieur Libyen de m'avoir octroyé une bourse pour réaliser ce travail de thèse.

Je remercie aussi les membres de mon jury pour le temps qu'ils ont consacré évaluer mon travail, et notamment le Professeur Hervé Galons de l'Université Paris Descartes et le Professeur Sylvie Ducki de l'Université Clermont Auvergne d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail. Je voudrais aussi exprimer ma gratitude au Dr Mihaela Gulea, Directrice de recherches au CNRS à la faculté de pharmacie de Strasbourg, d'avoir bien voulu examiner mes travaux.

Je remercie aussi le Dr Canan Nebigil et Anaïs Audebrand à l'École de biotechnologie de Strasbourg et le Professeur Fahd Al-Mulla et Waleed Al-Ali à l'Université du Koweït qui ont effectué les tests biologiques sur mes composés.

Je remercie chaleureusement les thésards et post-doctorants côtoyés au cours de ces trois années : Redouane, Hussein, Qian, Amel, Zeyneb et Hassan. Ce fut un plaisir de travailler à vos côtés.

Mes remerciements vont vers mes amis et toutes les personnes qui m'ont soutenue moralement tout au long de cette thèse.

Je remercie aussi chaleureusement tous les membres de ma famille particulièrement mes sœurs pour leur soutien indéfectible durant ces années de travail, mon père, qui a insisté et qui m'a poussé à faire des études supérieures. Ma soutenance aurait été un rêve pour ma mère qui nous a quittés sans pouvoir y assister.

Je tiens à remercier plus particulièrement mon frère Emhemed pour sa confiance, son aide, son encouragement, et ses visites qui m'ont permis de garder le moral.

Enfin, je voudrais remercier pour sa patience, son soutien moral et ses encouragements la personne la plus proche à mon cœur, mon mari, Abdulaati, qui est mon énergie.



## Abréviations

---

|          |   |  |
|----------|---|--|
| <b>A</b> | anhy  | anhydre  |
| <b>B</b> | Boc<br>Bu   | Di-tert-butyl dicarbonate<br>Butyle  |
| <b>D</b> | DBU<br>DCM<br>DIPEA<br>DMF<br>DMSO<br>DAPI<br><br>DBDMH | 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène<br>Dichlorométhane<br><i>N,N</i> -Diisopropyléthylamine<br>Diméthylformamide<br>Diméthylsulfoxyde<br>4',6-diamidino-2-phénylindole<br><br>1,3-Dibromo-5,5-Diméthylhydantoin |
| <b>E</b> | Et <sub>3</sub> N                                       | Triéthylamine  |
| <b>C</b> | Cbz   | Carboxybenzyle   |
| <b>H</b> | HR-MS<br>HMBC   | Spectrométrie de Masse Haute Résolution<br>Heteronuclear Multiple Bond Connectivity  |
| <b>M</b> | m-CPBA<br>Me<br>MCF7                                    | Acide méta-chloroperoxybenzoïque<br>Méthyle<br>Michigan Cancer Foundation – 7  |
| <b>N</b> | NBS<br>NCS<br>NOESY                                     | N-bromosuccinimide<br>N-chlorosuccinimide<br>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy  |
| <b>P</b> | Pd/C<br>Ph<br>PHB<br>PhMe                               | Palladium sur charbon<br>Phényle<br>Prohibitine<br>Toluène   |
| <b>R</b> | RKIP  | Raf kinase inhibitor protein   |

**S**      STAT3      Signal transducer and activator of transcription 3

**T**      THF      Tétrahydrofurane  
TFA      Acide Trifloroacétique  
TFAA      Anhydride Trifloroacétique



# Synthèse de spiro-oxindoles ligands des prohibitines

## Résumé

Les prohibitines-1 et 2 (PHB1 et PHB2) sont des protéines d'échafaudage qui coordonnent plusieurs voies de signalisation et qui représentent des cibles émergentes en cardiologie et en oncologie. L'étude du rôle des PHBs est gênée par la variété de leurs modifications post-traductionnelles et par la létalité consécutive à leur invalidation génétique.

Dans ce travail de thèse, nous avons développé deux synthèses reproductibles d'un nouveau ligand de la PHB2, le 2'-phénylpyrrolidinyl-spirooxindole, et de ses analogues. Nous avons identifié des composés qui protègent les cardiomyocytes contre la toxicité de la doxorubicine, et établi les requis structuraux pour cette activité. Nous avons aussi synthétisé des outils qui ont permis de montrer qu'à la fois la PHB1 et la PHB2 se lient à ces spirooxindoles. Ces composés peuvent donc être utilisés comme sondes pharmacologiques pour étudier le rôle des PHBs et pourraient constituer une base pour le développement de nouvelles drogues pour traiter les affections cardiaques et les cancers.

**Résumé :** prohibitines, spirooxindoles, relation structure-activité, cardioprotection, signalisation cellulaire.

## Résumé en Anglais

The scaffold proteins prohibitins-1 and 2 (PHB1/2) play many important roles in coordinating many cell signaling pathways and represent emerging targets in cardiology and oncology. The investigation of the diverse physiological roles of PHBs is hampered by the complexity of their various post-translational modifications and also by the lethality consecutive to their genetic inactivation.

We report herein two convenient and robust syntheses of the new PHB ligand 2'-phenylpyrrolidinyl-spirooxindole and its analogs. We identified some analogs that protect cardiomyocytes against the toxicity induced by doxorubicin and identified the structural requirements for this activity. We also synthesized some tools that were used to find that both PHB1 and PHB2 are targeted by these spirooxindoles. Such compounds may be used as pharmacological probes to explore the role of PHBs and may provide the basis for the development of new drugs candidates to treat cardiac diseases or cancers.

**Keywords:** prohibitins, spirooxindoles, structure-activity relationships, cardioprotection, cell signaling.



# SOMMAIRE

---

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUCTION</b>  | <b>12</b> |
| <b>1.1. Structure et fonctions des prohibitines</b>   | <b>14</b> |
| <b>1.2. Ligands des prohibitines</b>  | <b>16</b> |
| 1.2.1. <i>Flavaglines</i>   | 16        |
| 1.2.2. <i>Trifluorothiazolines</i>  | 20        |
| 1.2.3. <i>Mélanogénine</i>  | 20        |
| 1.2.4. <i>Xanthohumol</i>   | 21        |
| 1.2.5. <i>Capsaïcine</i>  | 22        |
| 1.2.6. <i>Sulfonyl- and phosphoryl-amidines</i>   | 23        |
| 1.2.7. <i>Adipotide</i>   | 24        |
| 1.2.8. <i>Aftin-4</i>   | 24        |
| 1.2.9. <i>Spiro-oxindoles</i>   | 24        |
| <b>1.3. Activités pharmacologiques des spiro[pyrrolidine-3, 3'-oxindoles]</b>   | <b>27</b> |
| <b>1.4. Synthèses des spiro-oxindoles</b>   | <b>28</b> |
| <b>2. OBJECTIFS</b>   | <b>34</b> |
| <b>3. RESULTATS</b>   | <b>38</b> |
| <b>3.1. Synthèses des spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles]</b>   | <b>40</b> |
| 3.1.1. <i>Première stratégie, basée sur une réaction de Pictet- Spengler en présence de NBS</i>                           | 40        |
| 3.1.2. <i>Deuxième stratégie : oxydation d'une tétrahydro-<math>\beta</math>-carboline protégée</i>                       | 40        |
| 3.1.3. <i>Troisième stratégie de synthèse, utilisant un groupement protecteur d'amine clivable par photochimie</i>        | 42        |
| 3.1.4. <i>Quatrième stratégie de synthèse</i>   | 44        |
| 3.1.5. <i>Synthèse des analogues N-alkylés du spiro-oxindole 18a</i>  | 45        |
| 3.1.5.1. <i>Synthèse d'analogues N-méthylé</i>  | 45        |
| 3.1.5.2. <i>Synthèse des analogues N-alkylés du spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindole] 1 sur l'azote du pyrole de l'indole.</i> | 46        |
| 3.1.5.2. <i>Synthèse de l'analogue bromé</i>  | 49        |
| 3.1.7. <i>Synthèse de deux ligands d'affinité pour des expériences de "pull-down"</i>                                     | 50        |
| <b>3.2. Synthèse de composés hybrides spiro-oxindole-flavagline</b>   | <b>51</b> |

|  |            |
|--|------------|
| 3.2.1. Conception de composés hybrides basés sur la similarité structurale entre le spiro-oxindole 19 et les flavaglines | 51         |
| 3.2.2. Synthèse des spiro- $\gamma$ -hydroxylactame-oxindoles  | 52         |
| 3.2.2.1. Synthèse du 6-chloro-hydroxy spiro-oxindole 122   | 61         |
| <b>3.3. Résultats Pharmacologiques</b>   | <b>62</b>  |
| 3.3.1. Activité cardioprotectrice  | 62         |
| 3.3.2. Liaison aux PHBs et activation de STAT3   | 65         |
| 3.3.3. Effet sur la phosphorylation et localisation de RKIP  | 66         |
| <b>4. CONCLUSION</b>   | <b>70</b>  |
| <b>5. PARTIE EXPERIMENTALE</b>   | <b>74</b>  |
| <b>5.1. Procedures for Chapter 3.1.</b>  | <b>76</b>  |
| <b>5.2. Procedures for Chapter 3.2.</b>  | <b>104</b> |
| <b>6. REFERENCES</b>   | <b>116</b> |

# ***1. INTRODUCTION***

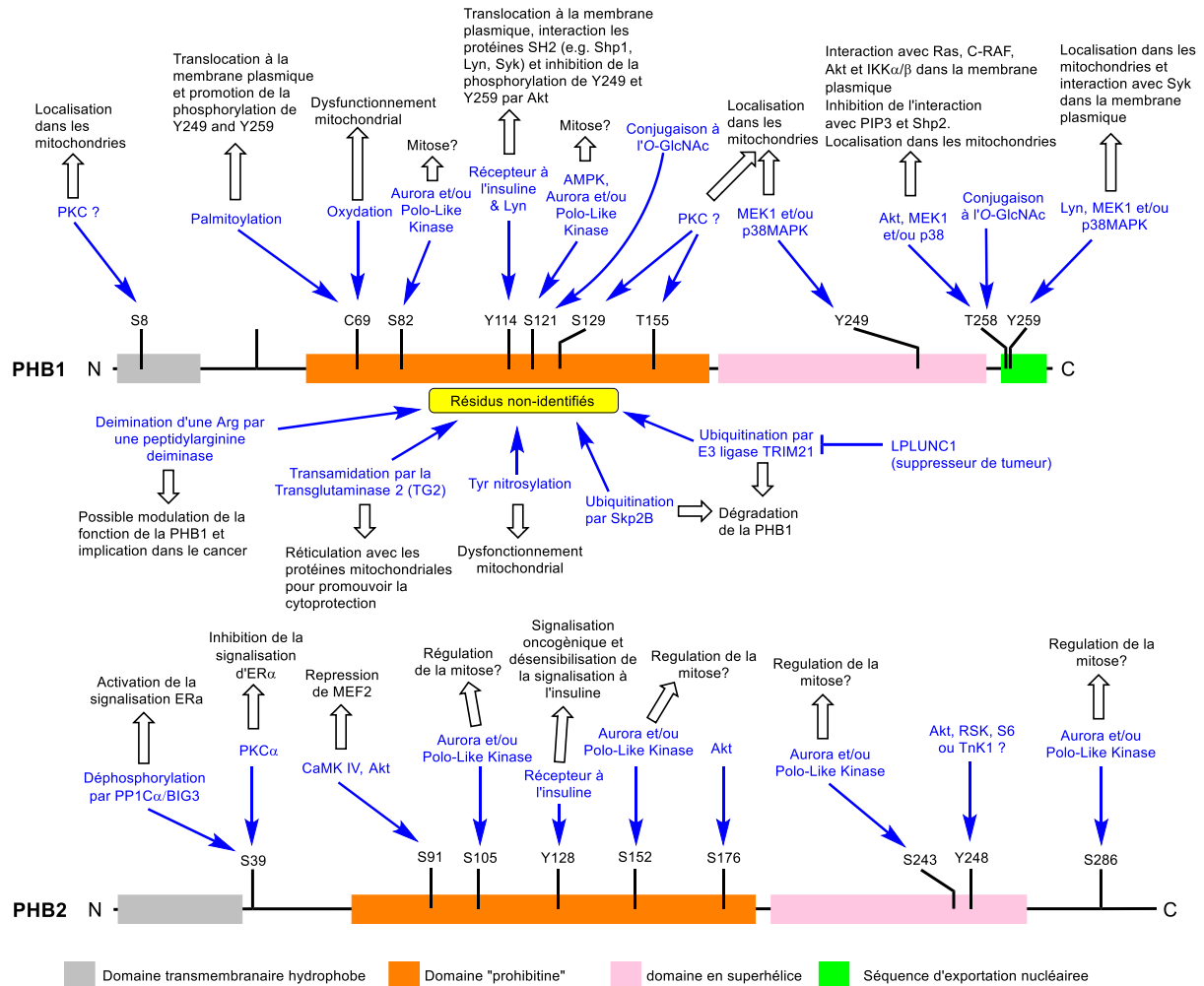
---

## INTRODUCTION

# INTRODUCTION

## 1.1. Structure et fonctions des prohibitines

Les Prohibitines-1 et 2 (PHB1/2) sont des protéines d'échafaudage ubiquitaires qui ont un rôle important dans la physiologie de la cellule, notamment dans la survie, la prolifération, le métabolisme, et les fonctions mitochondriales.<sup>1-2</sup> Elles sont régulées par plusieurs voies de signalisation qui contrôlent leur localisation dans la membrane plasmique, le réticulum endoplasmique, les mitochondries, le cytosol ou le noyau.

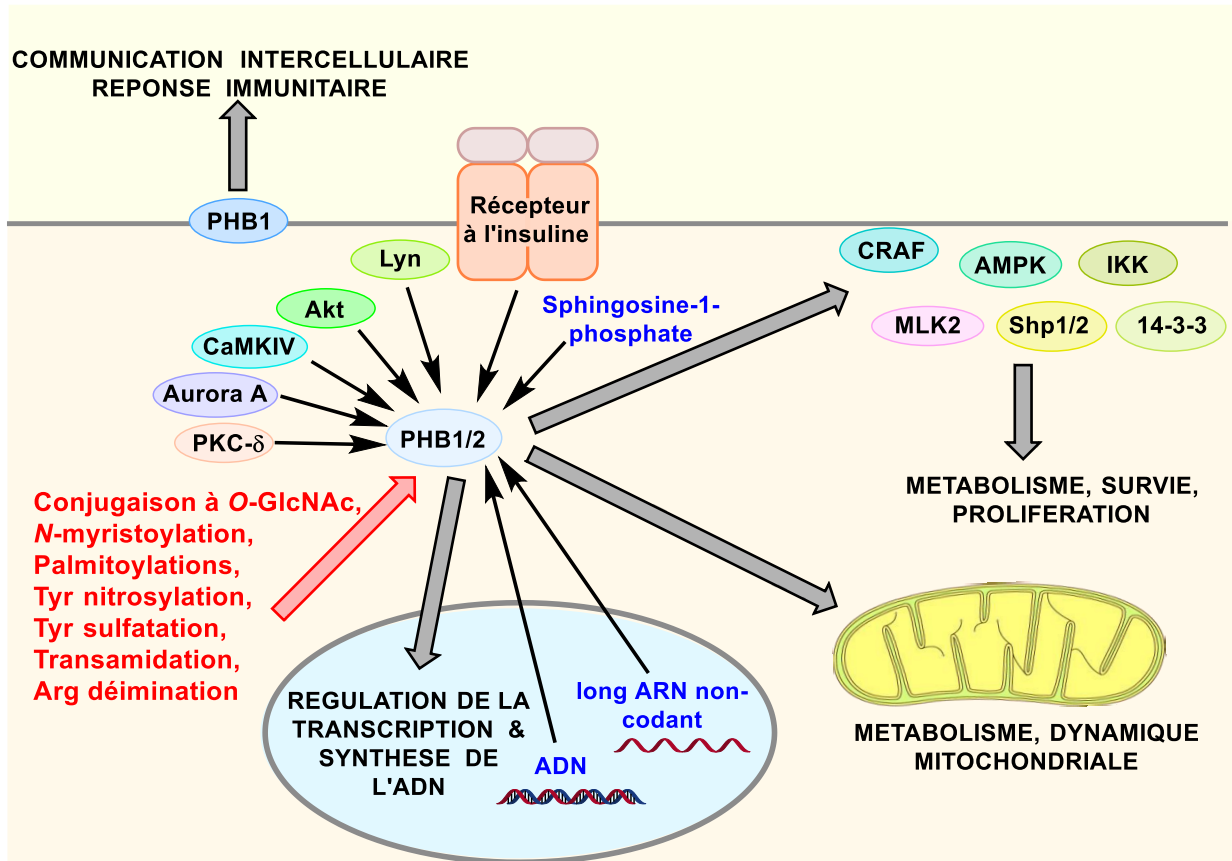


**Figure 1.** Représentation schématique de la PHB1 et de la PHB2 indiquant les sites de modification post-traductionnelle.

En effet, les PHBs peuvent être phosphorylés à plusieurs positions différentes par Akt, kinase IV, Aurora A, PKC- $\delta$  et le récepteur à l'insuline (Figure 1). Les PHBs sont également régulées par des conjugaisons à des résidus d'O-GlcNAc, des palmitoylations, des transamidations, des nitrosylations de tyrosine. Toutes ces régulations ont deux conséquences : premièrement, elles modifient la fixation des PHBs aux lipides spécifiques, ce qui oriente leur localisation dans des endroits spécifiques des cellules. Deuxièmement, cela modifie l'interaction de la PHB avec leurs protéines associées.

## INTRODUCTION

Dans le cytosol et à l'intérieur de la membrane plasmique, les PHBs interagissent avec de nombreuses, comme les kinases C-RAF (RAF1), Akt, MLK2, les phosphatases Shp1/2, les protéines d'échaffaudage 14-3-3, les protéines du cytosquelette comme l' $\alpha$ -actinine, pour ne citer que quelques exemples représentatifs (Figure 2).



**Figure 2.** Vue d'ensemble de la signalisation PHB. Les modifications post-traductionnelles et les ligands endogènes (sphingosine-1-phosphate, ADN et ARN long non codant) régulent la localisation intracellulaire des PHB et leurs interactions avec les protéines de signalisation telles que les kinases AMPK, C-Raf, IKK, MLK2, les phosphatases Shp 1/2 ou la protéine d'échafaudage 14-3-3.

Dans le noyau, les PHBs interagissent avec plusieurs facteurs de transcription (p53, STAT3, récepteur d'estrogènes), co-activateurs et co-répresseurs transcriptionnels pour régler la transcription, et aussi les protéines MCM qui contrôlent la duplication de l'ADN. De plus, les PHBs peuvent aussi se lier à l'ADN et aux RNAs. Effectivement, la PHB1 et la PHB2, se lient directement au promoteur du gène PIG3 pour promouvoir sa transcription et ainsi l'apoptose.<sup>3</sup> La PHB2, quant à elle, peut interagir avec le long ARN non-codant LOC283070 dans les noyaux des cellules cancéreuses de la prostate pour bloquer l'activité du récepteur aux androgènes.

Dans la membrane interne des mitochondries, les PHB1 et les PHB2 s'assemblent alternativement en anneaux ayant un diamètre d'environ 20 nm, où elles sont impliquées



## INTRODUCTION

dans la régulation du métabolisme, de la survie, de l'apoptose et la prolifération des cellules ainsi que dans la fusion, la morphogénèse et la dégradation des mitochondries.<sup>4</sup> De plus, la PHB2 est aussi directement régulée par un second messenger, la sphingosine-1-phosphate (S1P) dans ce compartiment, pour promouvoir la survie cellulaire, notamment dans le préconditionnement cardiaque.<sup>5</sup>

### **1.2. Ligands des prohibitines**

Il existe plusieurs classes de ligands des PHBs qui montrent différents profils d'activités pharmacologiques, suggérant qu'elles stabilisent différentes conformations des PHBs. Il est probable que leur affinité aux PHBs soit modulée par le statut post-traductionnel de celles-ci.

Les ligands des PHB les plus étudiés sont des composants naturels appelés flavaglines que l'on trouve dans des arbres utilisés en médecine traditionnelle chinoise. La plupart des autres ligands de PHBs sont de petites molécules synthétiques identifiées dans des tests phénotypiques.

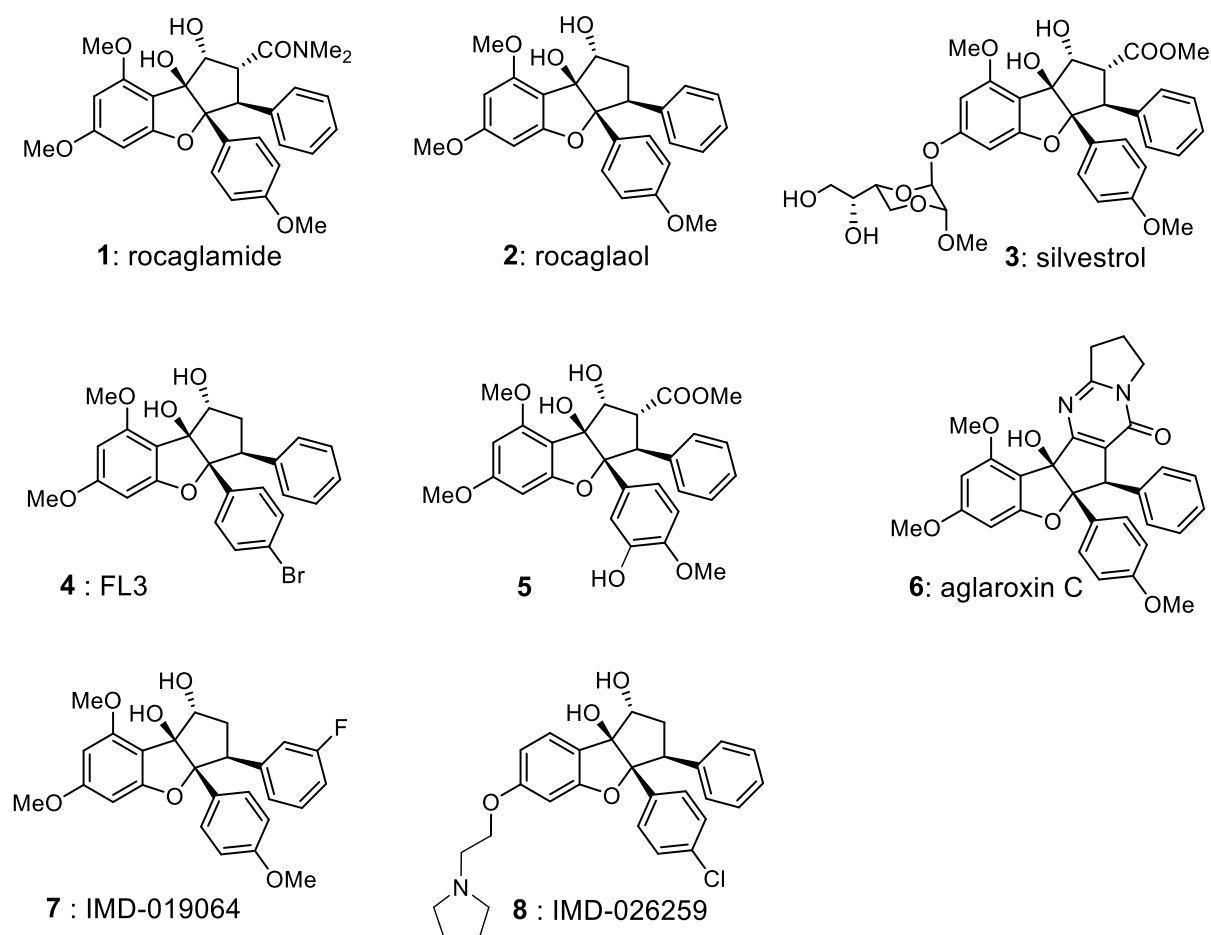
#### **1.2.1. Flavaglines**

Les Flavaglines ont été d'abord découvertes en 1982 sur la base de leurs effets antileucémiques.<sup>6</sup> Leur structure est caractérisée par un complexe cyclopenta[*b*]benzofurane (Figure 3), qui a fait l'objet de plusieurs synthèses totales.<sup>7</sup>

Leur caractéristique pharmacologique la plus frappante est leur incomparable capacité à provoquer la destruction des cellules cancéreuses et de promouvoir la survie des cellules normales face à différents types de stress.

La pharmacologie des flavaglines est complexe : en plus de leur effet sur les PHBs, les flavaglines empêchent aussi le facteur d'initiation de la traduction eIF4A, qui est nécessaire à la traduction d'une petite fraction de mRNA codant principalement pour des protéines impliquées dans le cancer. En effet, toutes les cellules cancéreuses semblent présenter une suractivation de eIF4A, permettant ainsi la tumorigénèse. Par ailleurs, une inhibition partielle de eIF4A peut être suffisante pour tuer les cellules cancéreuses sans être toxique pour les cellules normales.<sup>8</sup> A l'opposé, le rôle du PHBs dans le cancer varie énormément selon le type de cellule. Certaines tumeurs surexpriment les PHBs, mais pas toutes. De plus, cette

## INTRODUCTION



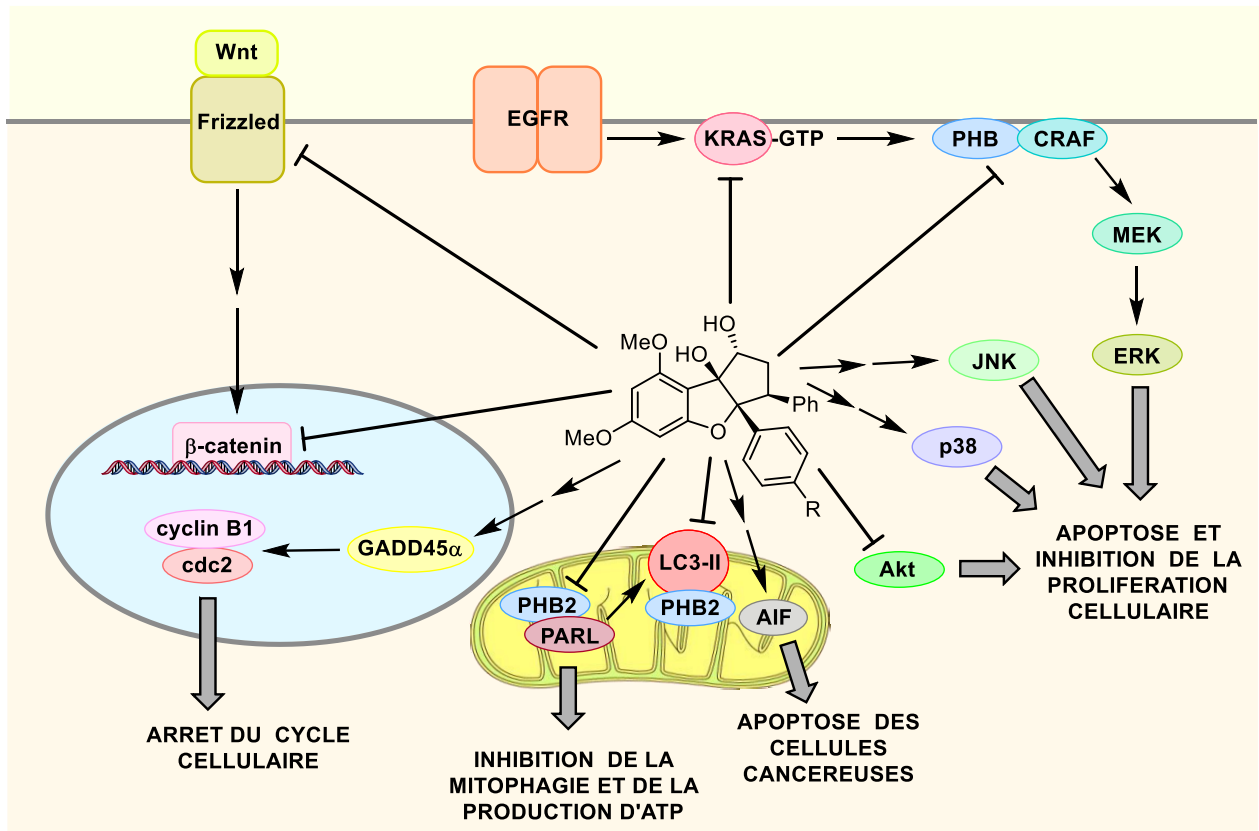
**Figure 3.** Exemples représentatifs de flavaglines naturelles et synthétiques.

surexpression peut se manifester dans les noyaux ou dans les mitochondries, également selon le type de cellule.

En utilisant une matrice de chromatographie d'affinité synthétisée au laboratoire, l'équipe du Dr Min Li-Weber a pu identifier les PHB1 et PHB2 comme des cibles des flavaglines.<sup>9</sup> Cette équipe a montré que ces composés bloquent l'activation de CRAF (Raf-1) par Ras. En effet, la liaison de facteurs de croissance (comme l'EGF) à leurs récepteurs tyrosine kinases déclenche une cascade d'événements qui induit la voie de signalisation Ras/CRAF/MEK/ERK pour favoriser le développement du cancer (Figure 4).

L'activation de CRAF par Ras nécessite une hétérodimérisation directe des PHB avec Raf-1 et cet événement est bloqué par les flavaglines. Récemment, les flavaglines ont également montré l'inhibition de l'activation de KRAS,<sup>10</sup> l'un des oncogènes les plus fréquemment mutés dans les cancers humains. Plus spécifiquement, les flavaglines inhibent la liaison du GTP à KRAS (sauvage et mutés).

## INTRODUCTION



**Figure 4.** Résumé du mécanisme d'action des flavaglines dans les cellules cancéreuses impliquant des PHB. Les flavaglines inhibent l'activation de KRAS et de CRAF, bloquant ainsi la voie Ras/CRAF/MEK/ERK nécessaire à la survie de nombreux types de cellules cancéreuses. Dans le cancer de la vessie, les flavaglines inhibent la phosphorylation de PHB1 par Akt, déplaçant ainsi la PHB1 dans les mitochondries. Les flavaglines induisent aussi une surexpression de GADD45α pour inhiber les kinases cdc2 / cycline B1 et la progression du cycle cellulaire en phase G2/M. Elles peuvent également inhiber la signalisation Wnt, nécessaire à la survie de plusieurs types de cellules cancéreuses. Dans les mitochondries, les flavaglines inhibent la protéase PARL, inhibant ainsi la mitophagie et la production d'ATP dans les cellules cancéreuses. Bien qu'essentielle aux effets antitumoraux, l'effet des flavaglines sur le facteur d'initiation eIF4A n'est pas présenté dans cette figure, pour rester seulement dans le cadre des ligands des PHBs.

Des nombreuses études ont montré que les flavaglines présentent de puissants effets anticancéreux dans des modèles murins de cancers humains, mais l'attribution de ces effets à eIF4A ou les PHB, reste incertaine dans de nombreux cas.<sup>11</sup>

Une flavagline, le FL3 (4), empêche également la croissance oncogénique dans les modèles murins de cancer de la vessie et du poumon non à petites cellules induit par KRAS.<sup>10, 12</sup> Il faut noter que la PHB1 était surexprimée dans les deux types de cancer. Il a été proposé que l'inhibition de la signalisation KRAS/CRAF soit déterminante pour l'apoptose des non petites cellules de tumeurs du poumon.<sup>10</sup>

## INTRODUCTION

Pour le carcinome urothélial de la vessie (UCB), un autre mécanisme a été proposé : la liaison de FL3 à PHB1 inhibe sa phosphorylation par Akt, ce qui diminue la localisation de PHB dans les mitochondries. En outre, le FL3 induit l'expression de l'ARNm du gène GADD45 $\alpha$  conduisant à une inhibition du cycle cellulaire. L'inhibition de la signalisation C-RAF présente un potentiel pour traiter non seulement les cancers, mais aussi les infections chroniques par le virus de l'hépatite C (VHC).<sup>13</sup>

En effet, les PHB interagissent avec le VHC au niveau de la membrane plasmique pour induire l'entrée du VHC de manière dépendante de CRAF. Ces événements sont inhibés par plusieurs flavaglines, et en particulier par l'aglaroxine C (**6**), qui présente une puissance et un indice thérapeutique supérieurs à ceux du rocaglamide (**1**) et d'autres flavaglines.

Les PHB participent également à l'internalisation du virus du Chikungunya dans les cellules microgliales. Cette internalisation est partiellement bloquée par flavaglines, mais pas suffisamment pour présenter un véritable potentiel thérapeutique.<sup>14</sup> Récemment, il a été démontré que la PHB1 exprimé à la surface des cellules est impliquée dans l'internalisation d'un autre virus, l'entérovirus 71 (EV71), responsable du syndrome pieds-mains-bouche.<sup>15</sup>

Non seulement les flavaglines ne semblent pas présenter des effets cytotoxiques sur les cellules non-cancéreuses, mais elles protègent le cœur contre la toxicité aiguë des anthracyclines, telles que la doxorubicine (Figure 5). Cette classe d'agents chimiothérapeutiques est encore extrêmement utilisée malgré ses effets cardiotoxiques graves.<sup>16</sup> Dans un modèle murin de toxicité aiguë vis-à-vis de la doxorubicine, il a été démontré que la flavagline FL3 augmente le taux de survie des souris traitées à la doxorubicine de 31 à 55%.<sup>17</sup> Cet effet cardioprotecteur est médié par l'activation de STAT3 mitochondrial et de la petite protéine de choc thermique HSP27.<sup>17-18</sup> Plus spécifiquement, FL3 induit une phosphorylation de STAT3 et une translocation de PHB1 et de STAT3 phosphorylée dans les mitochondries pour favoriser la survie cellulaire.<sup>18</sup>

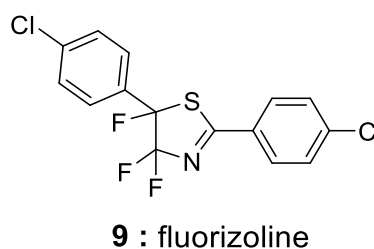
Fait intéressant, les requis structuraux pour la cardioprotection et les effets anticancéreux sont assez similaires. Dans une série d'analogues, l'ordre relatif d'activité peut changer, mais toutes les flavaglines cardioprotectrices sont également cytotoxiques dans les cellules cancéreuses et inversement.<sup>19</sup>

Bien que le potentiel thérapeutique de flavaglines ait été établi dans des modèles précliniques de cancers, de maladies inflammatoires, neurologiques et cardiaques, ces composés ne sont pas encore entrés dans un essai clinique. Le principal obstacle à cette fin est un problème de propriété intellectuelle.

## INTRODUCTION

### 1.2.2. Trifluorothiazolines

En 2014, les équipes d'Albericio et Lavilla ont synthétisé une série de trifluorothiazolines cytotoxiques, notamment la fluorizoline **9** (Figure 5), (CE<sub>50</sub> de 3,6 et 1,8 μM dans des cellules Jurkat et HeLa).<sup>20</sup> En utilisant une approche de chromatographie d'affinité, ces auteurs ont identifié les PHB1 et PHB2 comme cibles moléculaires de ces composés.



**9** : fluorizoline

**Figure 5.** Structure de la fluorizoline (**9**).<sup>20</sup>

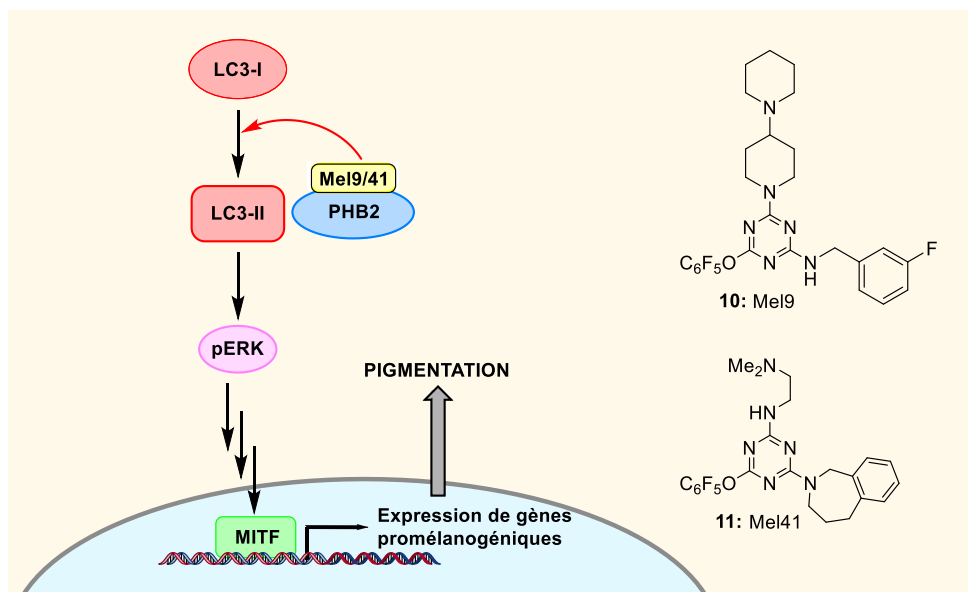
La fluorizoline induit la fragmentation mitochondriale et la voie intrinsèque de l'apoptose dans les cellules cancéreuses.<sup>21, 22</sup> Bien que ce composé soit cytotoxique dans les cellules de leucémie lymphoïde chronique, il est inactif dans un modèle murin de leucémie.<sup>23</sup>

Il est intéressant de noter que, de la même manière que les flavaglines, la fluorizoline inhibe l'activation de CRAF par RAS.<sup>10</sup> Cependant, le mécanisme détaillé entre ces 2 classes de ligands de PHB diffère. En effet, les flavaglines, mais pas la fluorizoline, empêchent la localisation des PHB au niveau de la membrane plasmique et la liaison du GTP au KRAS en réponse à l'EGF.<sup>10</sup>

### 1.2.3. Mélanogénine

En criblant une chimiothèque de triazines, l'équipe de Seth Orlow a identifié une triazine appelée mélanogénine qui induit la mélanogénèse, c'est-à-dire la synthèse de mélanine dans les mélanocytes et a montré que la cible de ce composé pour ces effets est la PHB1.<sup>24</sup> Des études de pharmacomodulation menées au laboratoire ont récemment conduit à la mise au point de composés plus actifs, tels que le Mel9 (**10**) et le Mel41 (**11**) (Figure 6).<sup>25</sup> La fluorizoline, également active dans la mélanogénèse, confirme que cet événement est bien médiatisé par les PHB. Des études mécanistiques ont démontré que la liaison de Mel9 et Mel41 aux PHB déclenche une cascade d'événements impliquant le facteur d'autophagie LC3, la kinase ERK et le facteur de transcription MITF. LC3 est une protéine impliquée dans l'autophagie et la mélanogénèse. Sa forme cytosolique (LC3-I) peut être clivée et conjuguée à la phosphatidyléthanolamine pour générer la LC3-II, qui interagit avec PHB2 dans les mitochondries endommagées pour induire leur destruction par mitophagie.

## INTRODUCTION



**Figure 6.** Structure et mode d'action de Mel9 et Mel41. La liaison de triazines telles que le Mel9 ou le Mel 41 à la PHB2 favorise la conversion de LC3-I en LC3-II, ce qui active la kinase ERK et le facteur de transcription MITF pour induire la mélanogénèse dans les mélanocytes.<sup>25</sup>

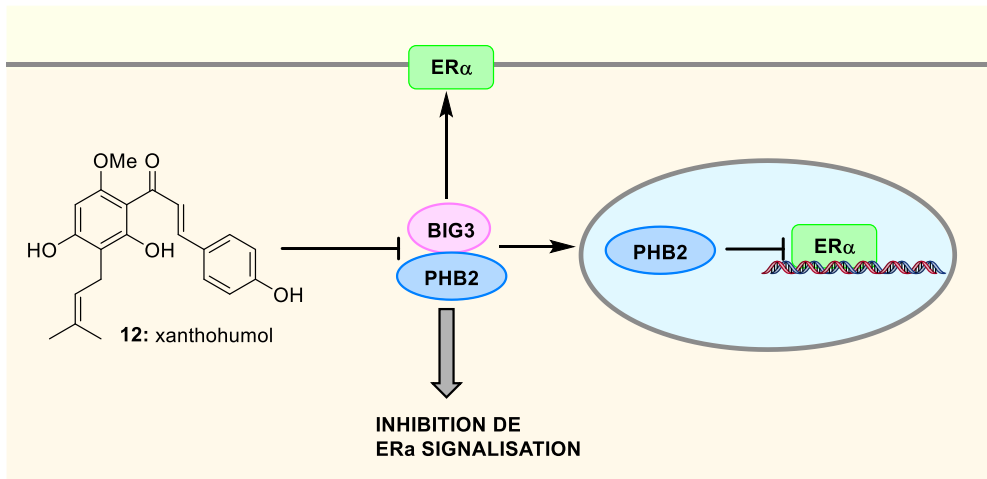
La découverte du Mel9 et du Mel41 a permis de montrer que la régulation de la mélanogénèse par LC3-II est médiée par les PHBs. Il a également été constaté que LC3-II active ERK, ce qui déclenche une cascade d'événements qui promeut l'activité transcriptionnelle du MITF, le régulateur principal de la mélanogénèse.

Considérant que les fonctions des PHB ne peuvent pas être examinées par inactivation ou suppression génétiques, du fait de leur présence nécessaire dans les mitochondries, cette étude a mis en évidence l'utilité de petites molécules pour explorer la signalisation des PHBs.

### 1.2.4. Xanthohumol

Le xanthohumol (**12**, Figure 7), un polyphénol présent dans le houblon, se lie à la PHB2 pour inhiber sa liaison à BIG3, une protéine qui supprime l'activité inhibitrice de la PHB2 sur le récepteur alpha des œstrogènes (ER $\alpha$ ) dans les cellules du cancer du sein.<sup>26</sup> Cependant, la structure polyphénolique de ce composé naturel couplée à sa puissance modérée empêche son développement en tant que candidat-médicament.

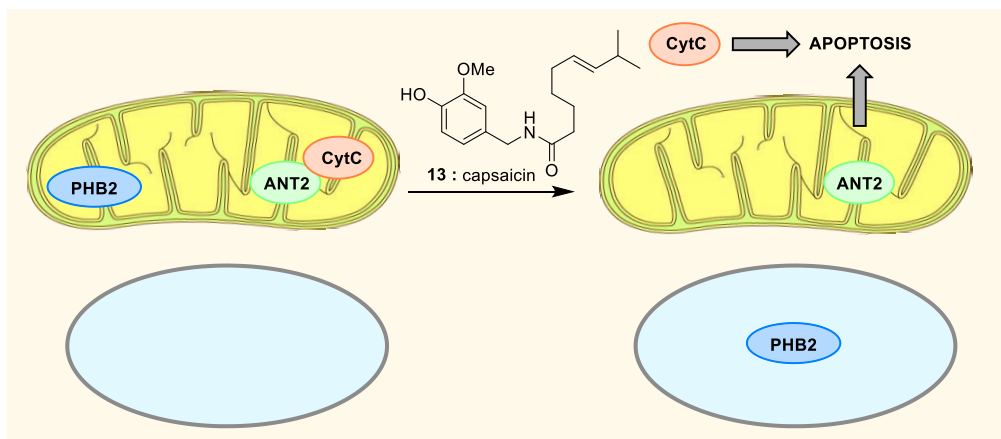
## INTRODUCTION



**Figure 7.** Structure et mécanisme d'action du xanthohumol (**12**). Xanthohumol se lie à PHB2, empêchant ainsi ses interactions avec BIG3. Le PHB2 libre se lie directement à l'ER $\alpha$  nucléaire et à celui associé à la membrane pour inhiber leur activité.<sup>26</sup>

### 1.2.5. Capsaïcine

La capsaïcine (**13**, Figure 8) est un composant des piments forts qui se lie également à PHB2 pour induire l'apoptose des cellules de leucémie myéloïde humaine en induisant la translocation de PHB2 des mitochondries vers le noyau, ce qui perturbe la fonction mitochondriale, comme en témoigne la dissociation de PHB2 avec le translocateur de nucléotide de l'adénine 2 (ANT2).<sup>27</sup>



**Figure 8.** Structure et mécanisme de cytotoxicité de la capsaïcine (**13**) dans les cellules cancéreuses. La capsaïcine induit la translocation vers le noyau de la PHB2, qui est normalement localisé dans la membrane mitochondriale interne.<sup>27</sup>

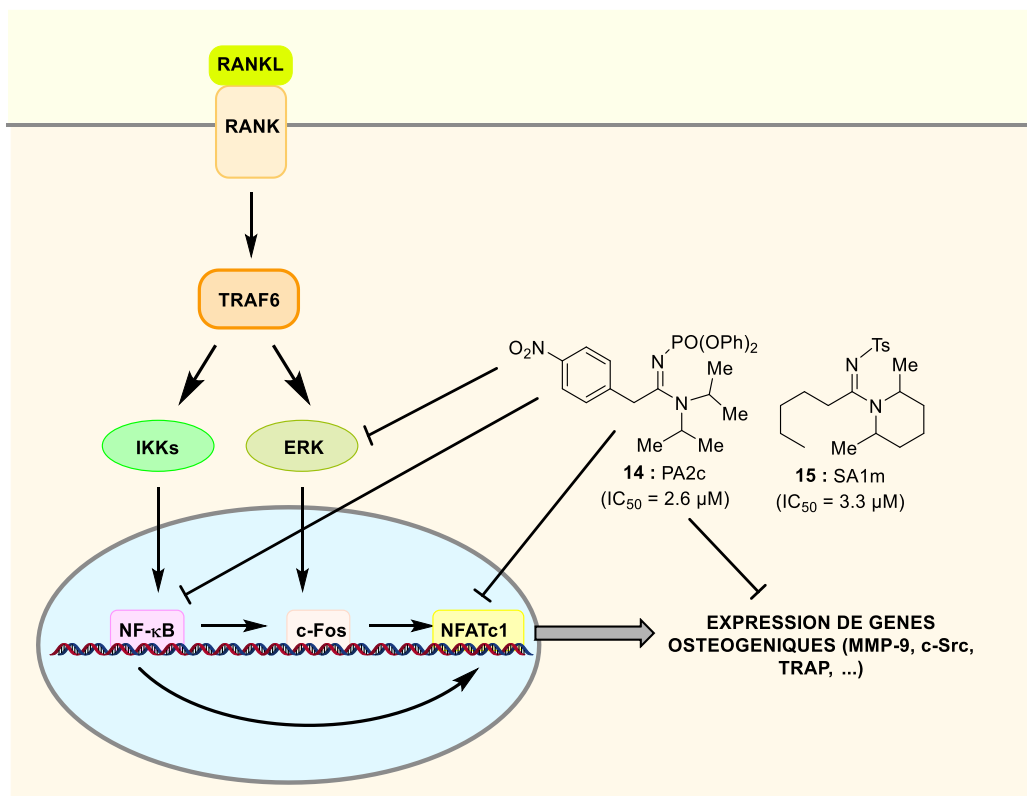
Dans ces expériences, la capsaïcine a été utilisée à des concentrations trop élevées pour être pertinentes à des fins thérapeutiques, mais ces travaux peuvent constituer la base d'un programme d'optimisation visant à développer un médicament.

## INTRODUCTION

### 1.2.6. Sulfonyl- and phosphoryl-amidines

Les traitements actuels de l'ostéoporose présentent certains effets indésirables et une efficacité limitée sur la réduction des fractures non vertébrales. En raison de ces limitations et du vieillissement de la population, la découverte de nouveaux agents anti-ostéoporotiques est une question de santé publique.

Dans ce contexte, Chang et coll. ont examiné une banque de sulfonyl- et de phosphoryl-amidine pour leur capacité à bloquer *in vitro* la différenciation des pré-ostéoclastes en ostéoclastes, qui assurent l'élimination des cellules osseuses.<sup>28</sup> En utilisant la chromatographie d'affinité, la PHB1 a été identifié comme cible moléculaire de ces composés.<sup>29</sup>



**Figure 9.** Structure des phosphoryl- et sulfonylamidines PA2c (**14**) et SA1M (**15**) et vue d'ensemble de leur mécanisme d'inhibition de l'ostéoclastogénèse. PA2c inhibe l'activation de ERK, la translocation de NF-κB sur le noyau et l'expression de gènes ostéogéniques (les facteurs de transcription c-Fos et NFATc1, la métalloprotéine matricielle 9 (MMP-9) et la kinase c-Src).

Depuis, il a été démontré que la PHB1 inhibe la formation d'ostéoclastes matures.<sup>30</sup> Cependant l'engagement de la PHB1 dans l'activité de ces composés n'a pas encore été établi, même s'il a été démontré que le composé PA2c inhibe l'activation de ERK induite par RANKL, ainsi que l'activité transcriptionnelle du NF-κB, c-Fos et NFATc1 (Figure 9).<sup>31</sup>



## INTRODUCTION

Comme pour la flavagline FL3, il a également été démontré que le composé SA1m bloque l'entrée dépendante des PHB du virus Chikungunya dans les cellules microgliales.<sup>14</sup>

### 1.2.7. Adipotide

L'adipotide résulte d'une séquence homologue à la région d'annexine A2 fusionnée avec une séquence proapoptotique.<sup>32</sup> Ce peptide chimère interagit avec PHB1 à la surface des cellules endothéliales du tissu adipeux afin de détruire le système vasculaire de ce tissu. Le traitement de souris et de rats suivants un régime riche en graisses par de l'adipotide a entraîné une réduction du poids corporel. Chez les singes obèses rhésus, l'adipotide réduit également la graisse corporelle, la prise de nourriture et la résistance à l'insuline.<sup>33</sup> Cependant, l'absence de rapport supplémentaire depuis 2012 suggère que son développement clinique est sérieusement compromis pour le traitement du diabète de type 2.

### 1.2.8. Aftin-4

En recherchant comment le peptide  $\beta$ 42-amyloïde est produit dans la maladie d'Alzheimer les équipes de Galons, Meijer et Flajolet ont observé que le dérivé de l'adénine Aftin-4 (Figure 10) interagit avec la PHB1 et deux autres protéines mitochondriales (VDAC1 and la mitofiline)<sup>34</sup>. Ce composé induit la production de peptide  $\beta$ 42-amyloïde *in vivo*, induisant ainsi un syndrome d'Alzheimer très sévère dans un modèle murin.<sup>35</sup>

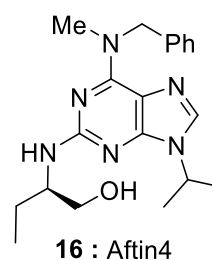


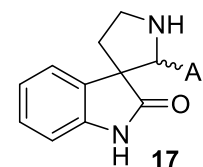
Figure 10. Structure de l'Aftin-4.<sup>34</sup>

### 1.2.9. Spiro-oxindoles

En 2016 le professeur Subhabrata Sen a décrit nouvelle synthèse de spiro-oxindoles 17 et montré que ces composés présentent une effet cytotoxique sur des cellules cancéreuses (Tableau 1).<sup>36</sup> L'étoposide a été utilisé comme un contrôle positif. Les composés les plus cytotoxiques sont présentés dans les trois quatre entrées du tableau 1. Le composé substitué par un simple phényle est particulièrement actif. Il est regrettable que sa stéréochimie n'ait pas été précisée. On ignore en effet s'il s'agit du composé 18a ou 18b, ou encore un mélange des deux (Figure 11).

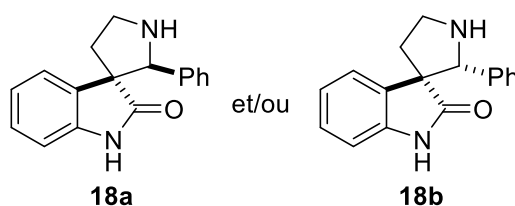
## INTRODUCTION

**Tableau 1.** Cytotoxicité de spiro [pyrrolidine-3, 3'-oxindoles] sur des cellules MCF-7 et COS-7.<sup>36</sup>



| Entry | Ar        | Inhibition de la croissance cellulaire<br>(%) à 50 $\mu$ M |                 |        | CE <sub>50</sub> ( $\mu$ M) |  |
|-------|-----------|--|-----------------|--------|-----------------------------|--|
|       |           | MCF-7  | COS-7           | MCF10A | MCF-7                       |  |
| 1     |           | 61 $\pm$ 0.1   | 15.4 $\pm$ 0.2  | 0.08   | 3.53                        |  |
| 2     |           | 54.7 $\pm$ 0.1   | 3.6 $\pm$ 0.2   | 4.48   | 6.00                        |  |
| 3     |           | 53.7 $\pm$ 0.1   | 15.6 $\pm$ 0.1  | 0.8    | 4.01                        |  |
| 4     |           | 53.7 $\pm$ 0.1   | 15.6 $\pm$ 0.1  | 0.8    | 4.01                        |  |
| 5     |           | 35.1 $\pm$ 0.1   | 11.7 $\pm$ 0.1  |        |                             |  |
| 6     |           | 33.1 $\pm$ 0.1   | 20.7 $\pm$ 0.1  |        |                             |  |
| 7     |           | 34.5 $\pm$ 0.1   | 28.8 $\pm$ 0.1  |        |                             |  |
| 8     |           | 44.3 $\pm$ 0.2   | 9.2 $\pm$ 0.1   |        |                             |  |
| 9     |           | 38.5 $\pm$ 0.2   | 34.9 $\pm$ 0.2  |        |                             |  |
| 10    |           | 25.3 $\pm$ 0.2   | 2.4 $\pm$ 0.2   |        |                             |  |
| 12    |           | 38.7 $\pm$ 0.2   | 7.5 $\pm$ 0.2   |        |                             |  |
| 13    |           | 44.4 $\pm$ 0.1   | 7.1 $\pm$ 0.2   |        |                             |  |
| 14    |           | 31.8 $\pm$ 0.1   | - 0.5 $\pm$ 0.3 |        |                             |  |
| 15    | Etoposide | 72 $\pm$ 0.1   | 77.7 $\pm$ 0.1  |        |                             |  |

## INTRODUCTION



**Figure 11.** Structures putatives du spiro-oxindole substitué par un phényle.<sup>36</sup>

Afin de déterminer si **18a/b** inhibe la migration cellulaire, des cellules MCF-7 ont été traitées par ce composé et ont été photographiées après 24 heures pour mesurer la distance de migration. Ces deux composés inhibent effectivement la migration cellulaire des cellules MCF-7 par rapport aux cellules non traitées avec une  $EC_{50}$  de 3.5  $\mu$ M.<sup>36</sup>

Cette équipe a ensuite identifié sept protéines capables de se lier à cette molécule en utilisant une technologie non-décrite (Tableau 2).<sup>36</sup> En effet, ni le mode de conjugaison du ligand sur une matrice d'affinité ni la méthode d'identification des cibles n'ont été reportés. La PHB2 figure parmi les protéines cibles identifiées. Une autre de ces protéines, l'histone déacétylase 2 (HDAC2) se lie à la PHB2.

**Tableau 2.** Liste des cibles putatives du spiro-oxindole **18**.<sup>36</sup>

| Entrée | Identification UniProt | Nom de la protéine                          | Classe de protéines   |
|--------|------------------------|---|-----------------------|
| 1      | Q92769                 | Histone déacétylase 2 (HDAC2)               | Enzyme nucléaire      |
| 2      | Q99623                 | Prohibitin 2                                | Echaffaudage          |
| 3      | Q9P2E9                 | Ribosome-binding protein 1                  | Récepteur             |
| 4      | Q08J23                 | tRNA (cytosine (34)-C(5))-methyltransferase | Enzyme                |
| 5      | Q5JTZ9                 | Alanine—tRNA ligase, mitochondrial          | Enzyme                |
| 6      | Q13423                 | NAD(P) transhydrogénase, mitochondrial      | Enzyme                |
| 7      | Q9NQC3                 | Reticulon-4                                 | Facteur de croissance |

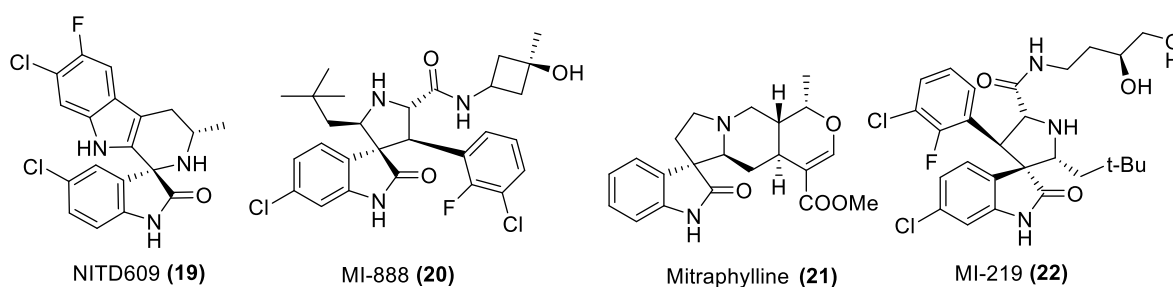
Depuis la sortie de cette article en 2016, il n'y a pas d'autres articles qui décrivent l'activité de ce composé ni l'effet d'un composé similaire sur la signalisation des prohibitines.

## INTRODUCTION

### 1.3. Activités pharmacologiques des spiro[pyrrolidine-3, 3'-oxindoles]

Les composés spironniques tiennent une place importante en chimie organique en raison de leurs activités biologiques prononcées.<sup>37</sup> En particulier, les cycles de spiro-oxindoles sont devenus des cibles synthétiques attrayantes en raison de leur prédominance dans de nombreux produits naturels et molécules biologiquement actives.<sup>38,39,40</sup>

Plusieurs spiro-oxindoles semblent être des candidats prometteurs pour la découverte de médicaments. Les exemples NITD609 (**19**) et MI-888 (**20**) (Figure 12) font actuellement l'objet d'une évaluation préclinique pour le traitement du paludisme et du cancer humain, respectivement. Le NITD609 (**19**) inhibe rapidement la synthèse des protéines chez *Plasmodium falciparum*, un effet supprimé par les parasites porteurs de mutations du gène codant pour le transporteur de cations de type P, l'ATPase 4.<sup>41</sup>



**Figure 12.** Exemples représentatifs de spiro-oxindoles pharmaco-logiquement actifs.<sup>41,42,45</sup>

La mitraphylline (**21**) isolée d'*Uncaria tomentosa* inhibe la croissance de diverses cellules cancéreuses, avec des  $DE_{50}$  comprises entre 10 et 20  $\mu\text{M}$  (Figure 12).<sup>42,43</sup>

Le MI-888 (**20**) est un puissant inhibiteur de l'interaction p53-MDM2 ( $K_i$  de 0,44 nM), qui induit une régression tumorale rapide, complète et durable dans deux types de modèles de xénogreffe de cancer humain après administration orale.<sup>44</sup> Le composé MI-219 (**22**) qui se lie aussi à MDM2 avec une haute affinité induit l'apoptose dans les cellules cancéreuses mais pas dans les cellules normales avec de  $CI_{50}$  comprises entre 0,4 et 0,8  $\mu\text{M}$ .<sup>45</sup>

Un produit naturel, la déméthoxyspirotryprostatine A (**23**) est modérément cytotoxique sur des cellules de cancer du sein MDA MB-468 à des concentrations micromolaires (Figure 13, Tableau 3).<sup>46</sup> En revanche son intermédiaire de synthèse (**24**) présente une activité plus prononcée.

## INTRODUCTION

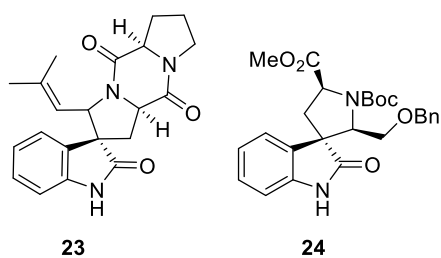


Figure 13. Structure de **23** et **24**.<sup>46</sup>

Tableau 3 . IC<sub>50</sub> pour l'inhibition de la croissance MDA MB-468 et MCF7 cellules du cancer du sein humain.<sup>46</sup>

| Composés                                | IC <sub>50</sub> (μM) |        |
|---|-----------------------|--------|
|   | MDA MB-468            | MCF7   |
| Spirotryprostatine A ( <b>23</b> )      | 0.11                  | >> 0.3 |
| Intermédiaire de synthèse ( <b>24</b> ) | 20                    | 0.04   |

### 1.4. Synthèses des spiro-oxindoles

Les oxindoles spirocycliques sont des motifs structuraux retrouvés dans de nombreux produits naturels<sup>47</sup> et molécules biologiquement actives.<sup>39,48</sup> Ces composés sont caractérisés par un noyau spiro fusionné en position 3 à un oxindole, avec divers degrés de substitution (Figure 14). De nombreux chimistes ont développé des synthèses de ces composés, du fait de leurs activités biologiques, et aussi par le défi que présente la création simultanée de centres chiraux quaternaires spiro.<sup>49,37, 50</sup>

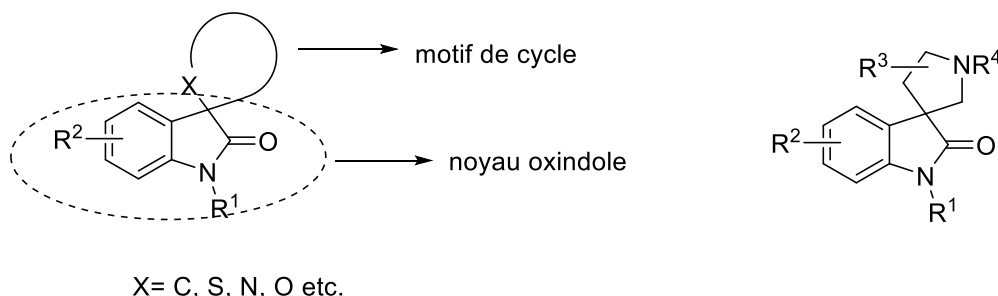
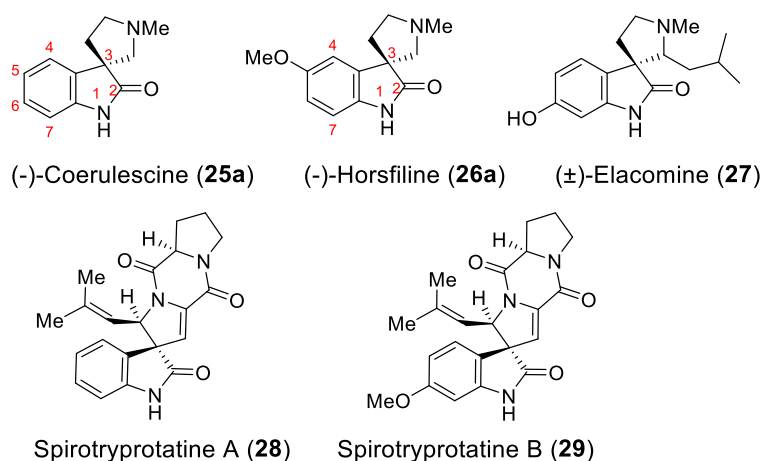


Figure 14. Oxindoles spirocycliques et spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles].<sup>37,49</sup>

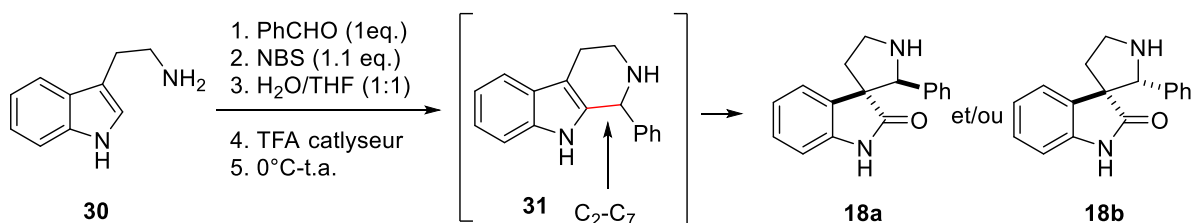
Dans cette section, nous allons nous restreindre à présenter seulement la synthèse des spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles]. Plusieurs produits naturels appartiennent à cette famille, notamment la horsfiline, la gelsémine, la mitraphylline, les spirotryprotatines A (**28**), B (**29**) (Figure 15).<sup>51</sup> Leur structures non planaires rigides sont propices à une bonne interaction avec leur cibles pharmacologiques.<sup>52</sup> L'architecture attrayante de ces composés souvent associée à une activité biologique fait de ces alcaloïdes des cibles synthétiques intéressantes.<sup>39, 53, 54</sup>

## INTRODUCTION



**Figure 15.** Exemples de spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles] naturels.<sup>39,51,54</sup>

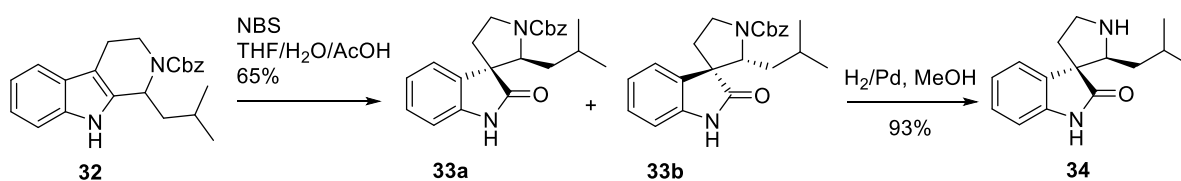
Concernant les spiro-oxindoles décrits dans la section 1.2.9., l'équipe du professeur Sen les a préparés de manière monotope en traitant la tryptamine par un aldéhyde aromatique en présence NBS dans un mélange du THF/H<sub>2</sub>O avec une quantité catalytique de TFA (Schéma 1). Par cette approche, il a pu préparer ces spiro-oxindoles avec des rendements compris entre 45 et 94%.<sup>36</sup>



**Schéma 1.** Synthèse monotope des spiro [pyrrolidine-3, 3'-oxindoles] **18a/b** décrite par Subhabrata Sen.<sup>36</sup>

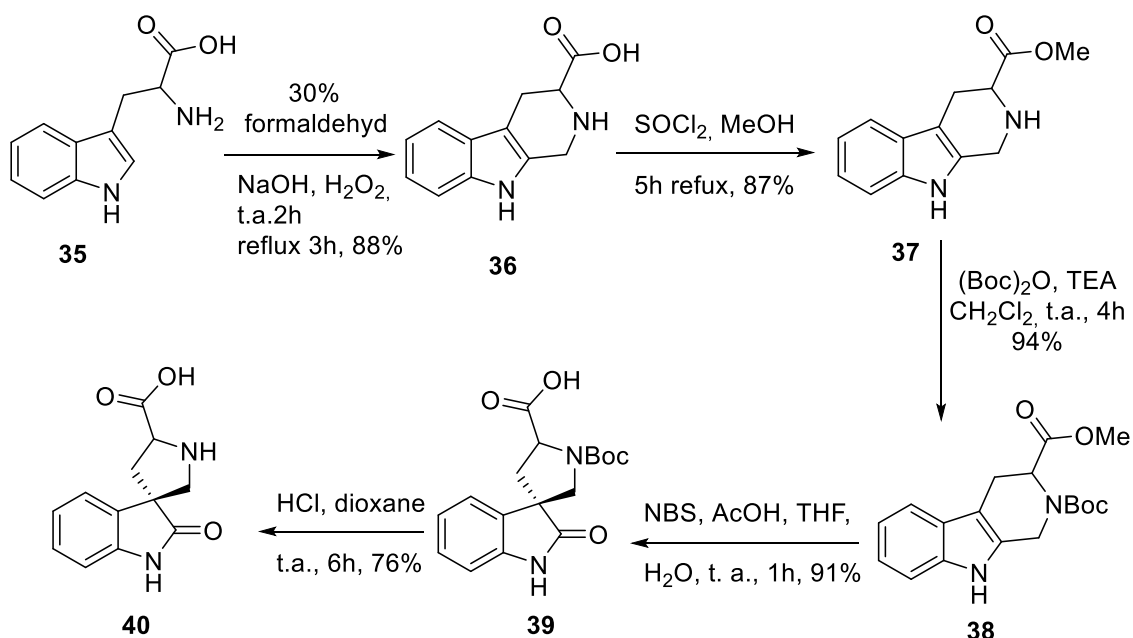
Une méthode classique pour préparer ces composés repose sur une réaction de Pictet-Spengler entre la tryptamine et un aldéhyde suivi d'un réarrangement oxydatif (Schéma 2). Cette approche requiert souvent une protection de la pyrrolidine. Ainsi, White et collaborateurs ont protégé l'amine secondaire de **32** par un carbobenzyloxy avant de l'oxyder par de la NBS en milieu acide pour donner les spiro-oxindoles **33a** et **33b**. La déprotection de **33a** a donné la 6-déoxyélacomine **34** (Schéma 2).<sup>55</sup>

## INTRODUCTION



**Schéma 2** : Synthèse de la 6-déoxyélacone **34** par White et coll.<sup>55</sup>

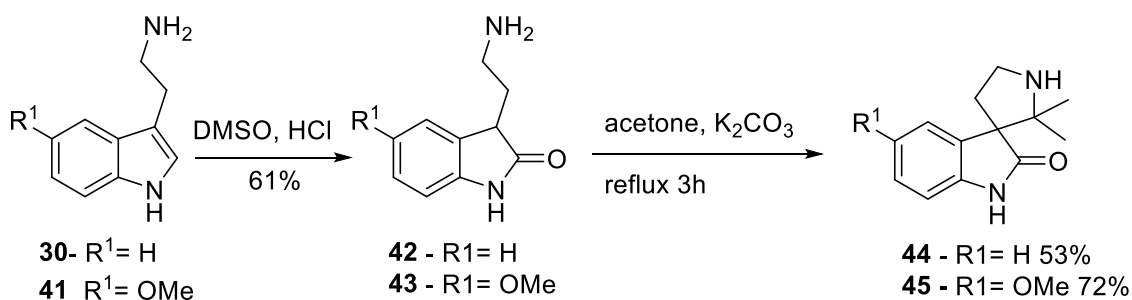
La même stratégie a été appliquée pour former le spiro-oxindole **39** à partir du L-tryptophane (Schéma 3).<sup>56</sup>



**Schéma 3** : Synthèse du spiro-oxindole **39** par Qingmin Wang et coll.<sup>56</sup>

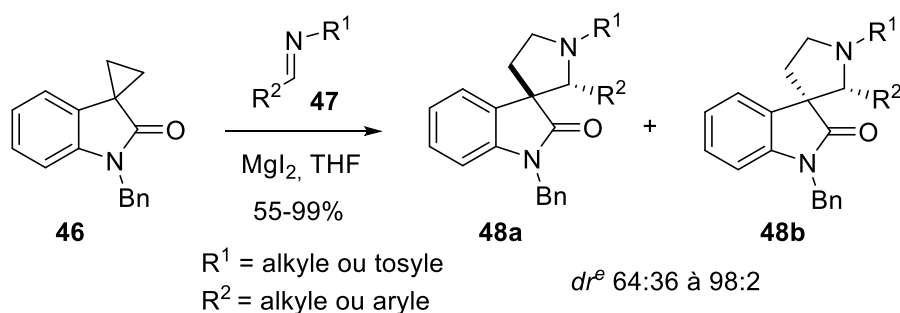
En 1999, Mária Incze et collaborateurs ont synthétisé des spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles] en oxydant de la tryptamine **30** et le 5-méthoxytryptamine **40** par du DMSO/HCl.<sup>57</sup> Une réaction intramoléculaire de Mannich a ensuite donné les composés désirés (Schéma 4).<sup>58</sup>

## INTRODUCTION



**Schéma 4** : Synthèse de spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles] de M. Incze et coll.<sup>58</sup>

En 1999, Carreira et coll. ont rapporté une nouvelle approche de construction du spiro [pyrrolidin-3,3'-oxindole] impliquant des cyclopropanes et des aldimines modérément activés. Le traitement de **46** avec des *N*-allyl aldimines aliphatiques ou aromatiques et des *N*-tosylaldimines en présence de quantités catalytiques de MgI<sub>2</sub> a permis d'obtenir des spiro [pyrrolidine-3,3'-oxindoles] avec de bons rendements (Schéma 5).<sup>59</sup>

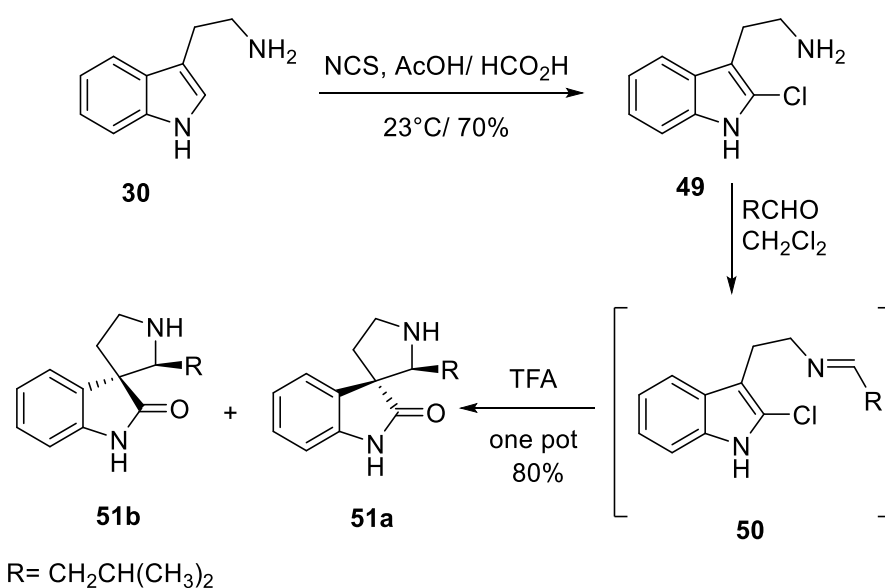


**Schéma 5.** Synthèse de spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles] par expansion de cycle de spiro [cyclopropane-1,3-oxindole] **46** avec des aldimines.<sup>59</sup>

David A. Horne et coll. ont décrit en 2004 une nouvelle spirocyclisation intramoléculaire stéréosélective pour construire deux spiro-oxindole, la déoxyisoélacomine et la 6-déoxyélacomine. Une chloration régiosélective de la tryptamine en position 2 à l'aide de la NCS (70%) suivie d'une condensation avec un aldéhyde a produit les bases de Schiff **50**. Leur activation par du TFA a permis d'obtenir la 6-déoxyisoélacomine **51** avec un rendement global de 80% et une diastéréosélectivité élevée (97: 3).<sup>60</sup>

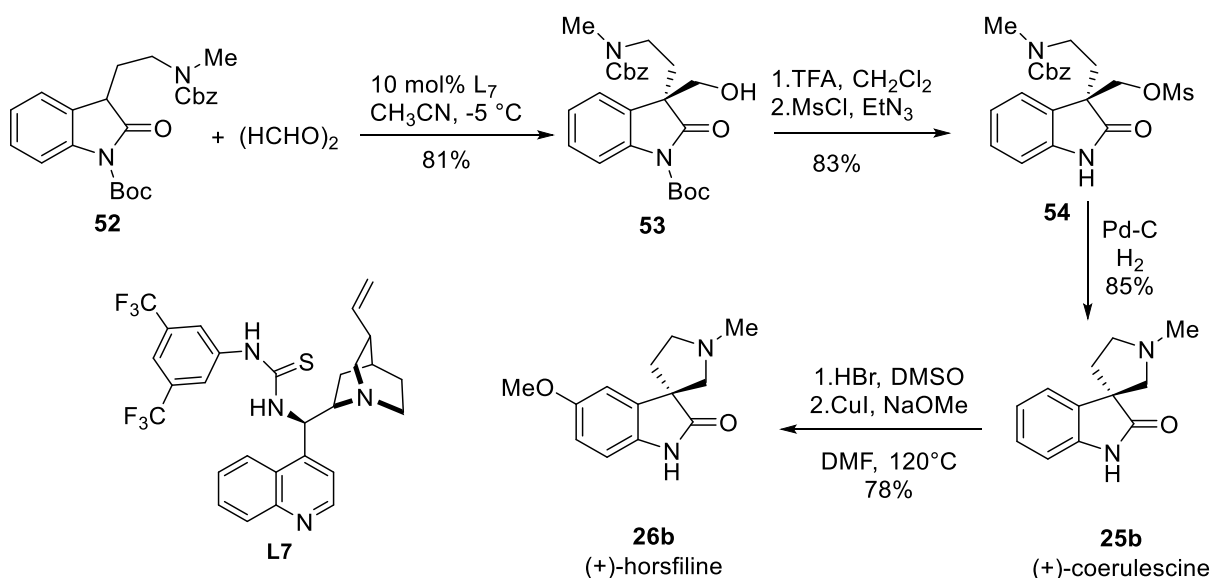


## INTRODUCTION



**Schéma 6.** Synthèse intramoléculaire stéréosélective de la 6-déoxyisoélacomine **51a** et **b** par David A. Horne et coll.<sup>60</sup>

Une synthèse asymétrique de la coerulescine et la horsfiline a été apportée par le professeur Alakesh Bisai et ses collègues en 2015 (Schéma 7). Celle-ci est basée sur l'hydroxyméthylation de l'oxindole **52** par du formaldéhyde en présence du catalyseur **L7** qui s'effectue avec un excès énantiomérique de 91%. La suite de la synthèse fait appel à des réactions très classiques.<sup>61</sup>



**Schéma 7.** Synthèses totales de la (+)coerulescine (**25b**) et la (+)horsfiline (**26b**).<sup>61</sup>

## INTRODUCTION

## ***2. OBJECTIFS***

---

## OBJECTIFS

## OBJECTIFS

L'objectif principal de cette thèse consistait à synthétiser des analogues des spiro-oxindoles pour :

- Déterminer les requis structuraux de ces composés pour leurs activités pharmacologiques impliquant les prohibitines
- Développer des outils pharmacologiques pour examiner le rôle des prohibitines dans différents systèmes physiologiques et pathophysiologiques, notamment la cardioprotection et les cancers.



## ***3. RESULTATS***

---



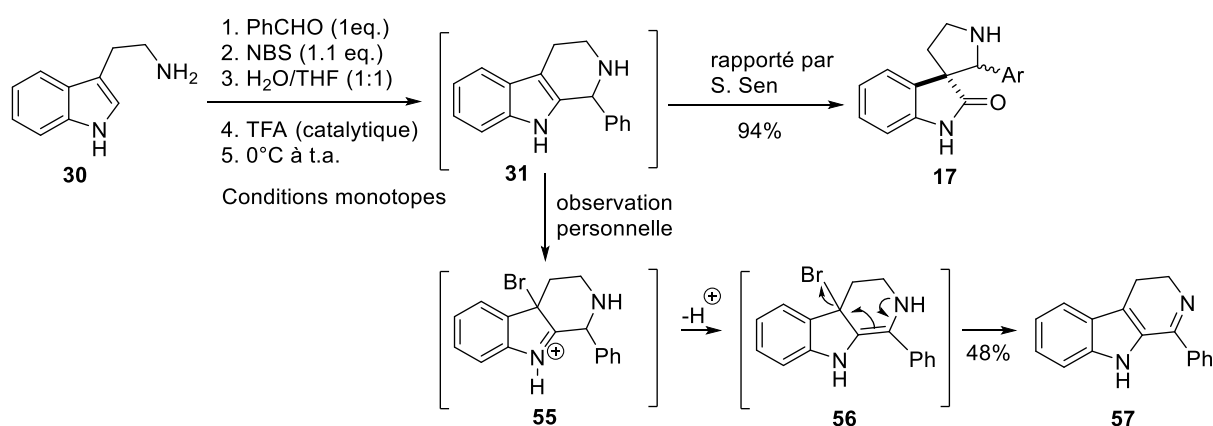


## RESULTATS

### 3.1. Synthèses des spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles]

#### 3.1.1. Première stratégie, basée sur une réaction de Pictet- Spengler en présence de NBS

S. Sen et coll. ont décrit la synthèse du spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindole] **18a/b** (Schéma 8)<sup>36</sup>. Quand nous avons essayé de répéter cette réaction, nous avons obtenu la dihydrocarboline **57** avec 48% de rendement. Une telle réaction d'oxydation de tétrahydro-β-carboline en dihydro-β-carboline par la NBS a déjà été décrite.<sup>62-63</sup>

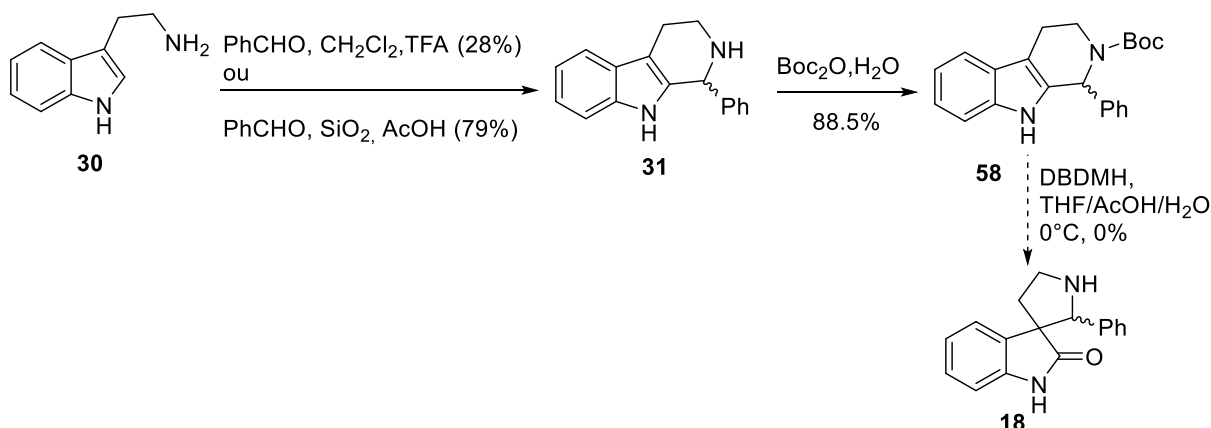


**Schéma 8.** Premier essai de synthèse du spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindole] **18** basé sur les travaux de S. Sen et coll.<sup>36</sup>

#### 3.1.2. Deuxième stratégie : oxydation d'une tétrahydro-β-carboline protégée

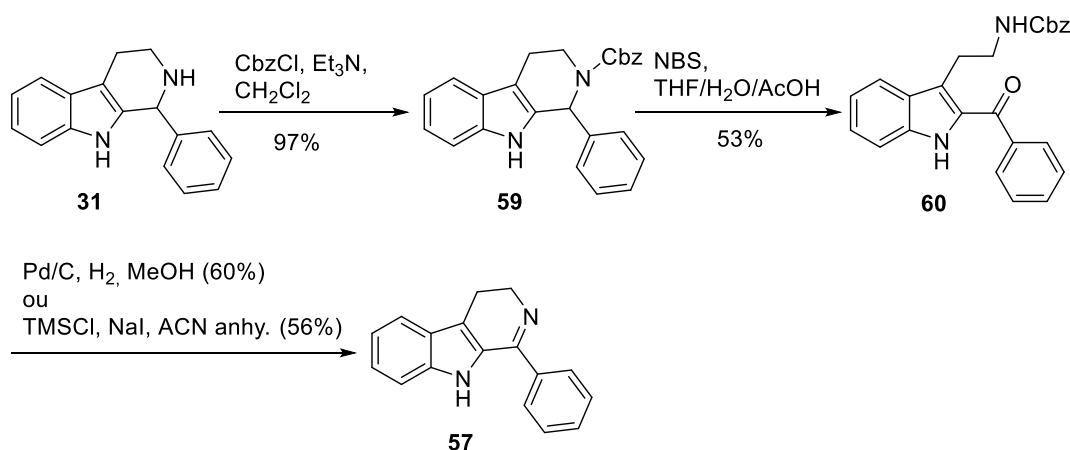
Ce résultat nous a conduit à changer de stratégie pour éviter l'oxydation en dihydro-β-carboline **57**. La tryptamine a été traitée sous deux conditions différentes pour arriver à la tétrahydro-β-carboline **31** (Schéma 9). Une condensation de la tryptamine avec le benzaldéhyde dans du dichlorométhane et du TFA (1.5 éq)<sup>64</sup> a donné le composé désiré avec un rendement 28 %. Un deuxième essai avec du benzaldéhyde en présence de silice dans l'acide acétique selon le protocole de A. Gellis et coll.<sup>65</sup> nous a permis d'obtenir la tétrahydro-β-carboline **31** avec 79% de rendement. Ce composé a été protégé sous forme de *N*-Boc comme décrit par G. Bartoli et coll.<sup>66</sup> avec un rendement de 88% puis traité par la 1,3-dibromo-5,5-diméthylhydantoïne (DBDMH), mais nous n'avons pas obtenu le composé désiré **18**. Le spectre de masse nous a montré que le composé formé est un dérivé bromé de **31**.

## RESULTATS

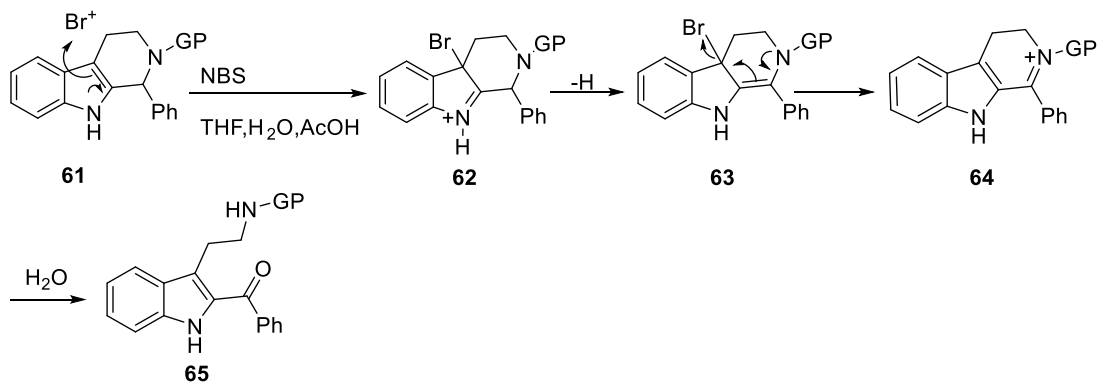


**Schéma 9.** Deuxième essai de synthèse du spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindole] **18**.

Nous avons ensuite protégé la tétrahydro-β-carboline par un Cbz avec 97% de rendement.<sup>67</sup> Un traitement par la NBS n'a pas permis d'obtenir le composé désiré **18**, mais la cétone **60** (Figure 16). Ce type de clivage oxydatif a déjà été décrit quand l'amine est protégé par un Cbz ou un acétyle<sup>62</sup> (Schéma 10). Une déprotection de l'amine a permis d'obtenir la dihydrocarboline **57**.

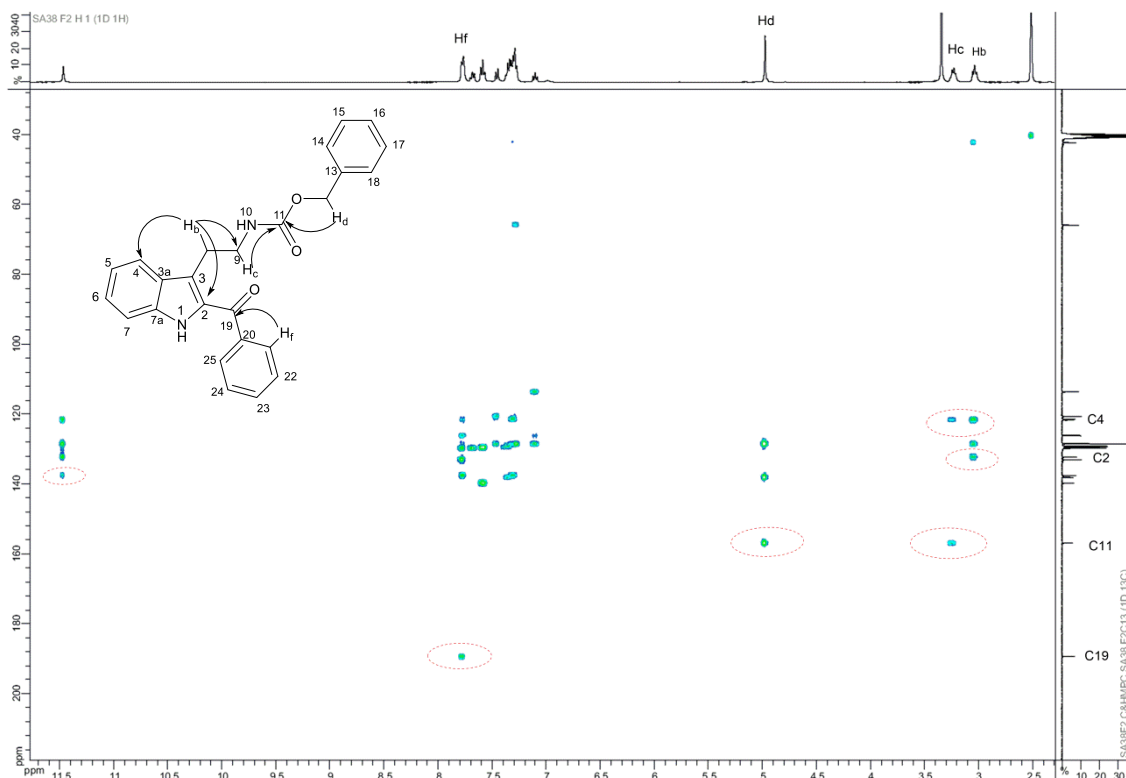


**Schéma 10.** Troisième essai de synthèse du spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindole] **18**.



**Schéma 11.** Mécanisme proposé rendant compte du clivage de **59** en cétone **60**.

## RESULTATS



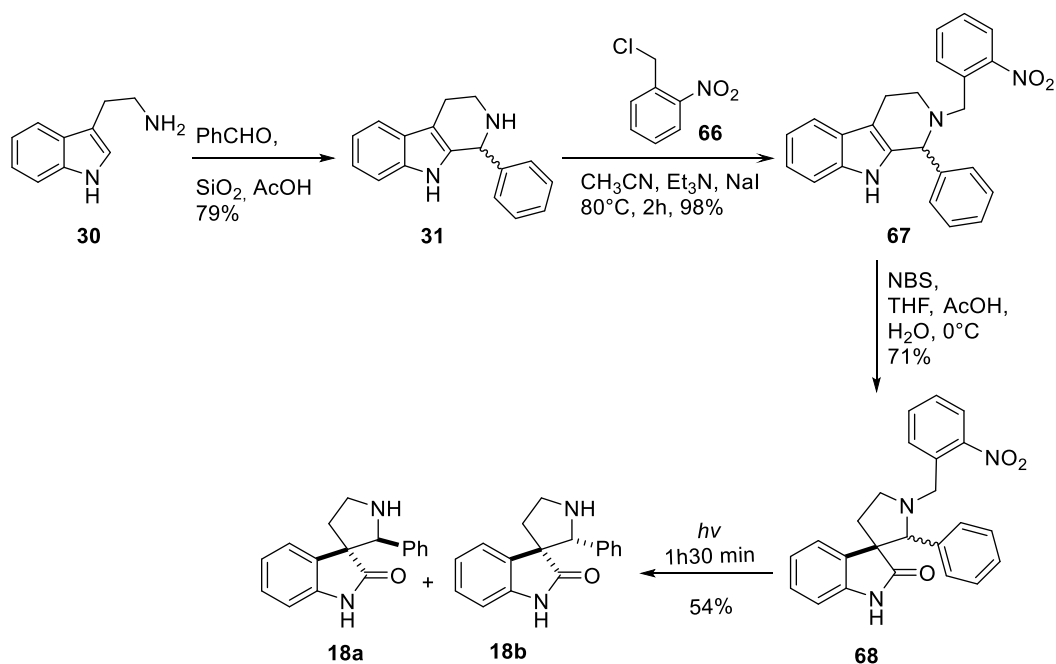
**Figure 16.** Analyse HMBC du composé **60** indiquant une corrélation entre Hd (protons benzylique) et C<sub>11</sub> (carbamate), entre Hc (protons en position  $\alpha$  de l'azote) et C<sub>11</sub> (carbamate), et entre Hf (protons du phényle) et C<sub>19</sub> (cétone).

### **3.1.3. Troisième stratégie de synthèse, utilisant un groupement protecteur d'amine clivable par photochimie**

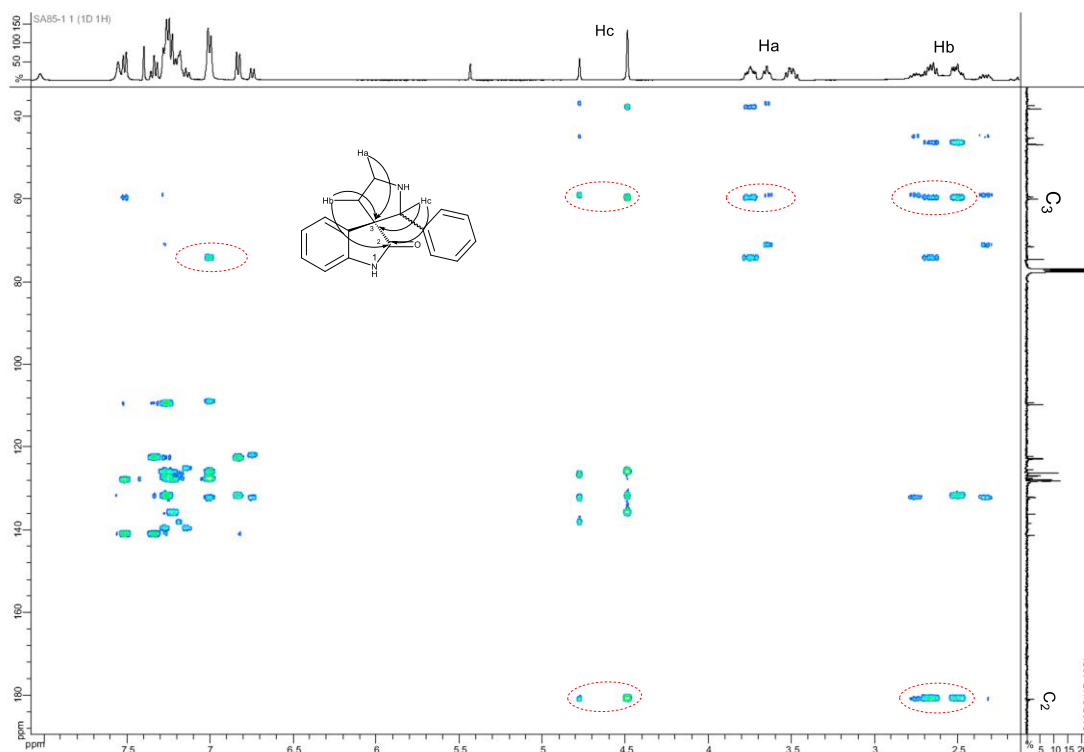
Afin d'éviter le clivage du cycle, nous avons décidé de protéger l'amine secondaire par un groupement 2-nitrobenzyle susceptible d'être déprotégé par irradiation aux UV (Schéma 12) selon le protocole décrit par Chloe et coll.<sup>68</sup>

Selon les analyses de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, HMBC, HSQC et NOESY nous avons obtenu le composé désiré avec un rendement 54% (Figure 17) sous forme d'un mélange de diastéréoisomères inséparables sur colonne de chromatographie dans un rapport 53/47. Il s'agit donc là, d'une méthode reproductible de synthèse du spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindole] **18**.

## RESULTATS



**Schéma 12.** Troisième essai de synthèse du composé **18**.

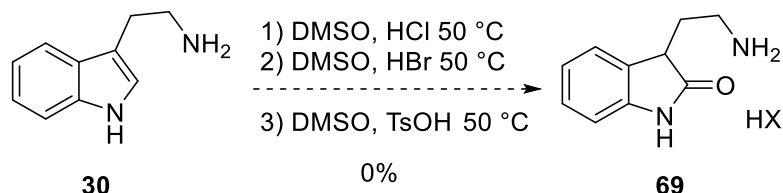


**Figure 17.** Analyse HMBC du composé **18a et b**. Les taches entourées en rouge dans le spectre montrent une corrélation entre Hc (protons benzylique) et C<sub>3</sub> (carbone spiro), entre Hc (proton benzylique) et C<sub>2</sub> (carbonyle), entre Ha (en position α de l'azote), Hb (en position β de l'azote) et C<sub>3</sub> (carbone spiro).

## RESULTATS

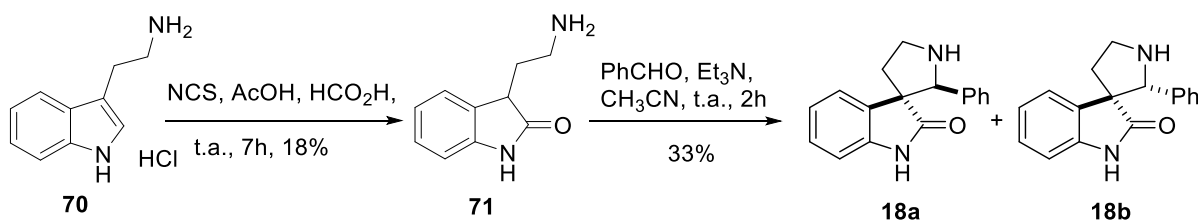
### 3.1.4. Quatrième stratégie de synthèse

Nous avons essayé, mais sans succès, d'oxyder la tryptamine par du DMSO en milieu acide (Schéma 13).<sup>57</sup>



**Schéma 13.** Essais d'oxydation de la tryptamine en oxindole par du DMSO en milieu acide.

Nous avons ensuite réussi à oxyder la tryptamine en utilisant de la NCS. Au lieu d'obtenir la chlorotryptamine attendue,<sup>60</sup> nous avons isolé directement l'oxindole **71** avec 18% de rendement (Schéma 14). La condensation avec du benzaldéhyde selon les conditions décrites par Henk Hiemstra et coll.<sup>69</sup> a permis d'obtenir les spiro-oxindoles **18a** et **18b** dans un rapport (70:30) avec 33% de rendement.



**Schéma 14.** Quatrième essai de synthèse des spiro-oxindoles **18a** et **18b**.

Nous avons aussi développé une autre synthèse, plus courte basée sur l'oxydation par DMSO de la tryptamine protégée **72** sous forme de trifluoroacétamide (Schéma 15). Une fois protégée, la tryptamine s'oxyde quantitativement en oxindole **73**.<sup>70</sup> Après déprotection par de l'hydrazine,<sup>71</sup> une réaction de Mannich avec le benzaldéhyde fourni les spiro-oxindoles **18a** et **18b** avec 92% de rendement,<sup>72</sup> dans un rapport 71 :29 quasiment identique à la synthèse précédente, suggérant que ces deux isomères sont en équilibre thermodynamique.

## RESULTATS

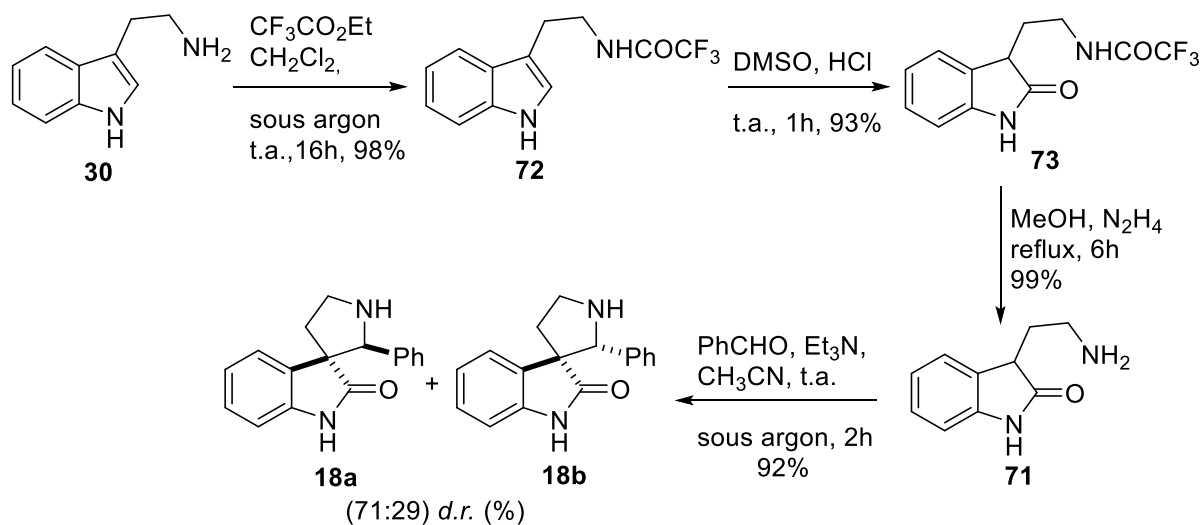


Schéma 15. Synthèses alternatives des spiro-oxindoles **18a** et **18b**.

### 3.1.5. Synthèse des analogues *N*-alkylés du spiro-oxindole **18a**

#### 3.1.5.1. Synthèse d'analogues *N*-méthylé **75**

Nous avons ensuite cherché à synthétiser le composé *N*-méthylé **75** (Schéma 16). Pour cela, nous avons méthylié l'intermédiaire **68** précédemment préparé par de l'iodure de méthyle (66 % de rendement).<sup>73</sup> L'adduit **74** ainsi obtenu a été ensuite déprotégé comme précédemment par irradiation aux UV<sup>68</sup> pour arriver au composé désiré **75a et b**, dont la structure a été vérifiée par analyse HMBC (Figure 18).

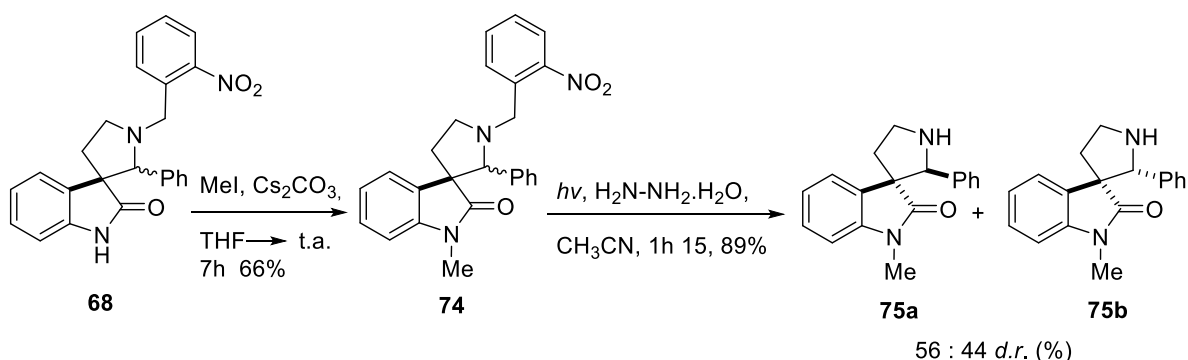
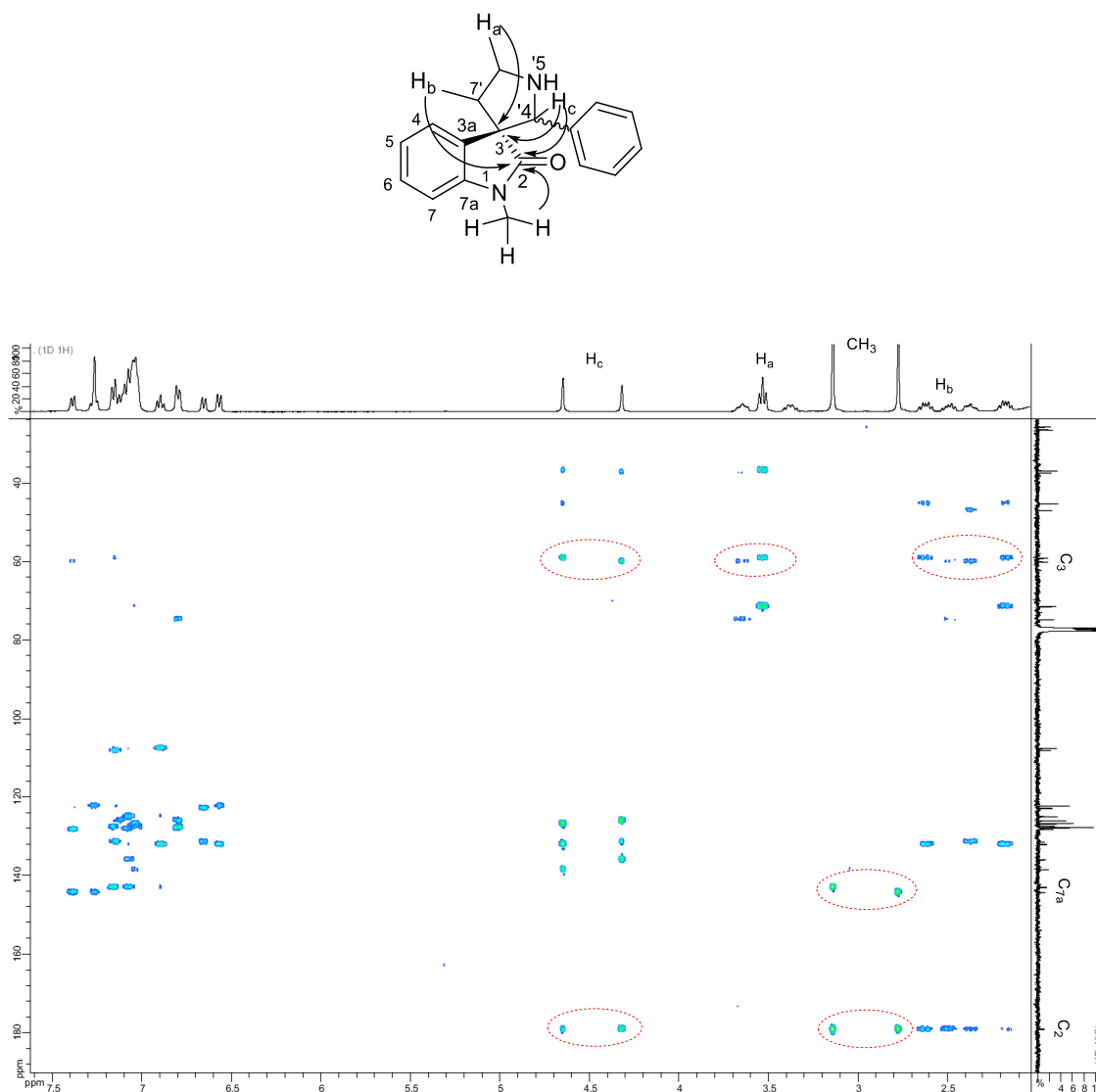


Schéma 16. Synthèse du composé *N*-méthylé **75a et b**.

## RESULTATS

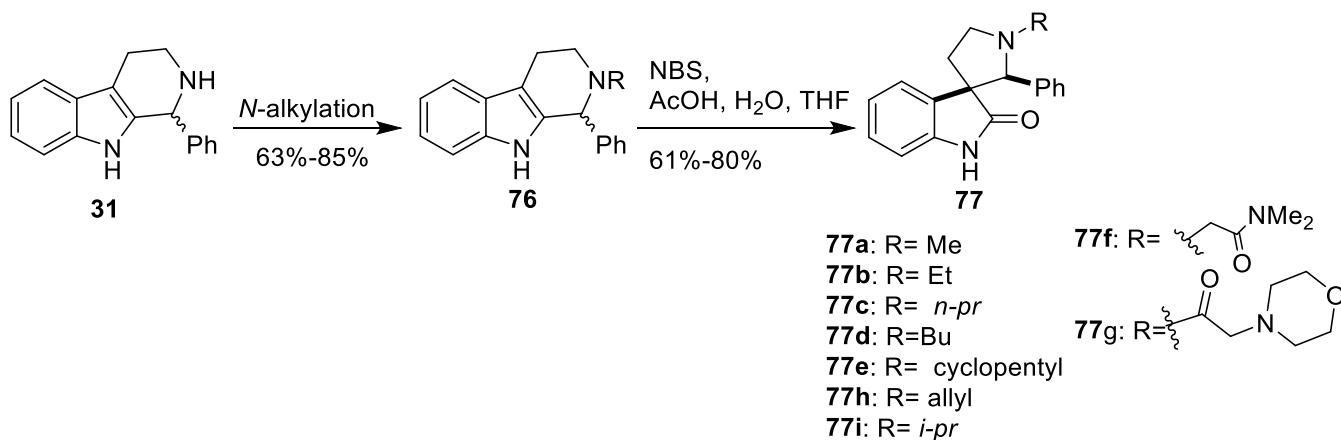


**Figure 18.** Résultat de corrélation HMBC du composé **75**. Les taches entourées en rouge dans le spectre montrent une corrélation entre H<sub>c</sub> (protons benzylique) et C<sub>3</sub> (carbon spiro), H<sub>c</sub> et C<sub>2</sub> (carbonyle), H<sub>a</sub> (en position α de l'azote) et C<sub>3</sub>, H<sub>b</sub> (en position β de l'azote) et C<sub>3</sub>, H<sub>d</sub> (protons du méthyle) et C<sub>2</sub>.

### 3.1.5.2. Synthèse des analogues N-alkylés du spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindole] **1** sur l'azote du pyrole de l'indole.

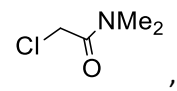
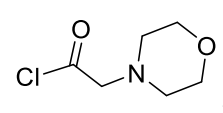
Pour explorer les requis structuraux des pyrrolidinyl-spirooxindoles pour leurs effets sur la signalisation des PHBs nous avons introduit plusieurs substituants sur la partie pyrrolidine en alkylant la tétrahydro-β-carboline **31** et en induisant un réarrangement oxydatif (Schéma 17, Tableau 4).<sup>74</sup>

## RESULTATS



**Schéma 17:** Synthèse des analogues *N*-alkylés de la spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindole] **77**.

**Tableau 4:** Synthèse des pyrrolidinyl-spirooxindoles *N*-alkylés.

| Conditions de <i>N</i> -alkylation (31→76)<br>(rendement %)   | Produit final obtenu (rendement<br>du réarrangement oxydatif %) |
|---|---|
| MeI, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> CN, reflux, 1h (70%)  | <b>77a</b> (65%)  |
| EtI, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> CN, reflux, 6h (72%)  | <b>77b</b> (66%)  |
| PrBr, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> CN, reflux, 6h (90%)   | <b>77c</b> (80%)  |
| BuI, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> CN, reflux, 6h (90%)  | <b>77d</b> (65%)  |
| Iodocyclopentane, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> CN,<br>t.a., 12h (60%)   | <b>77e</b> (65%)  |
| Bromure d'allyle, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> CN,<br>reflux, 6h (63%)  | <b>77h</b> (61%)  |
| <i>i-pr</i> I, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> CN, reflux, 6h (75%)  | <b>77i</b> (70%)  |
|  , K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> CN, reflux,<br>24h (65%) | <b>77f</b> (80%)  |
|  , K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> CN,<br>reflux, 24h (80%) | <b>77g</b> (79%)  |



## RESULTATS

Les dérivés *N*-méthyle **77a** et *N*-allyle **77g** ont également été préparés par alkylation de **18a et b** préparé par la réaction de Mannich illustrée dans le (Schéma 18). Les composés ainsi obtenus ont été chauffés à reflux dans du *n*-propanol pour donner après équilibration seulement les isomères thermodynamiquement les plus **77a** et **g** via une réaction de rétro-Mannich suivie d'une réaction de Mannich. Cet équilibre a déjà été reporté dans la littérature.<sup>60</sup>

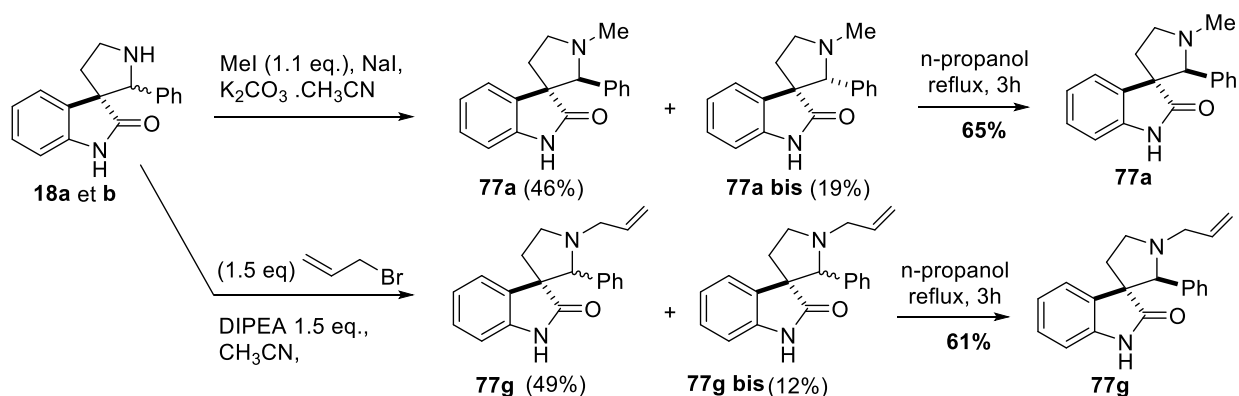


Schéma 18. Alkylation de **18a/b** et équilibration des adduits obtenus

Nous avons aussi effectué une condensation de Pictet-Spengler de l'ester méthylique du tryptophane **78** avec du benzaldéhyde pour obtenir la tétrahydro- $\beta$ -carboline **79**, qui a été traitée comme précédemment par de la NBS pour donner un mélange de quatre diastéréoisomères qui ont pu être séparés (Schéma 19). Ces résultats sont en cohérence avec ceux décrits dans la littérature.<sup>75</sup>

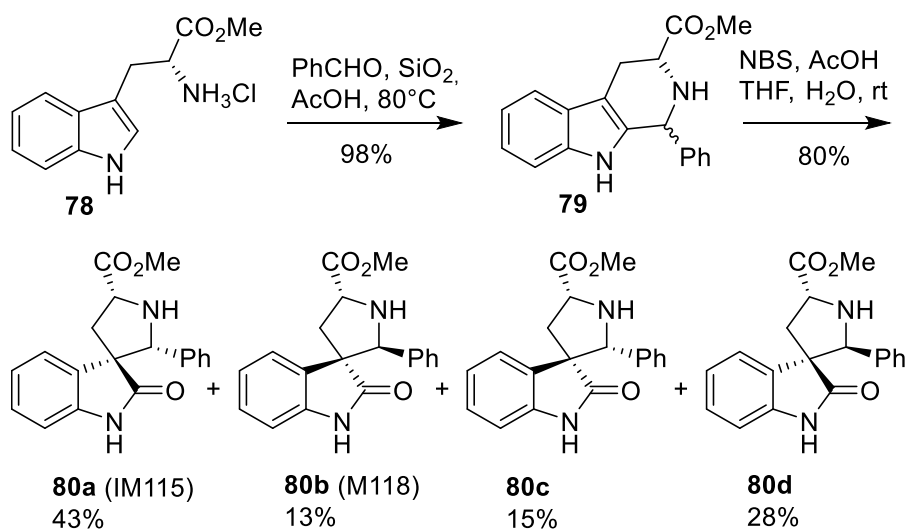


Schéma 19. Synthèse des esters **80a-d**.

## RESULTATS

### 3.1.5.2. Synthèse de l'analogue bromé **83**

Afin de synthétiser l'analogue bromé en position 6, nous avons d'abord cherché à protéger l'amine sous forme de trifluoroacétamide pour obtenir le composé **72** avec un rendement de 98%, nous avons ensuite bromé ce composé en utilisant du NBS (2 eq.).<sup>76</sup> pour arriver au composé **81** avec un rendement de 65%. Celui-ci a été déprotégé par de l'ammoniac dans le méthanol à température ambiante pendant 2 jours pour fournir le composé **82** avec un rendement de 59%.<sup>77</sup> La condensation de ce produit avec du benzaldéhyde selon le protocole décrit par Henk Hiemstra et coll.<sup>60</sup> n'a pas donné le composé désiré, mais un ensemble de produits non identifiés (Schéma 20). La bromation de la tryptamine protégée par un Boc **84**, s'est effectuée avec un faible rendement (15% au lieu de 65% pour **81**).

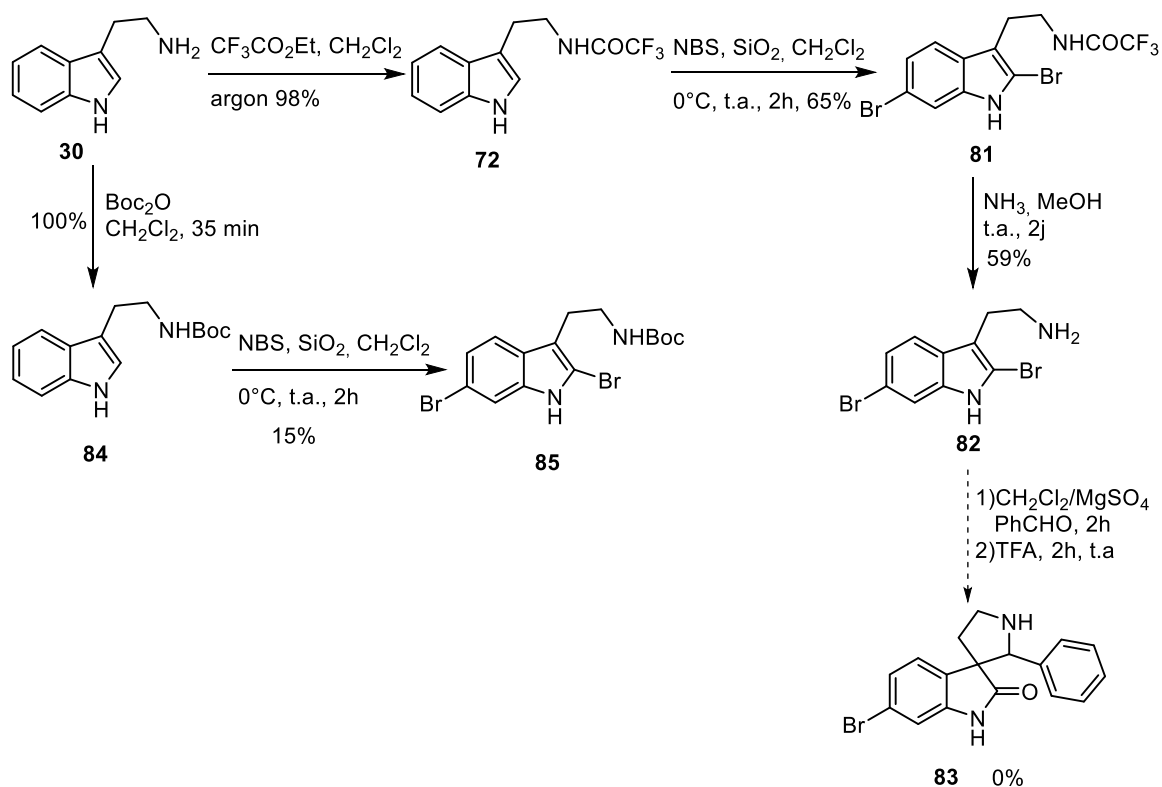
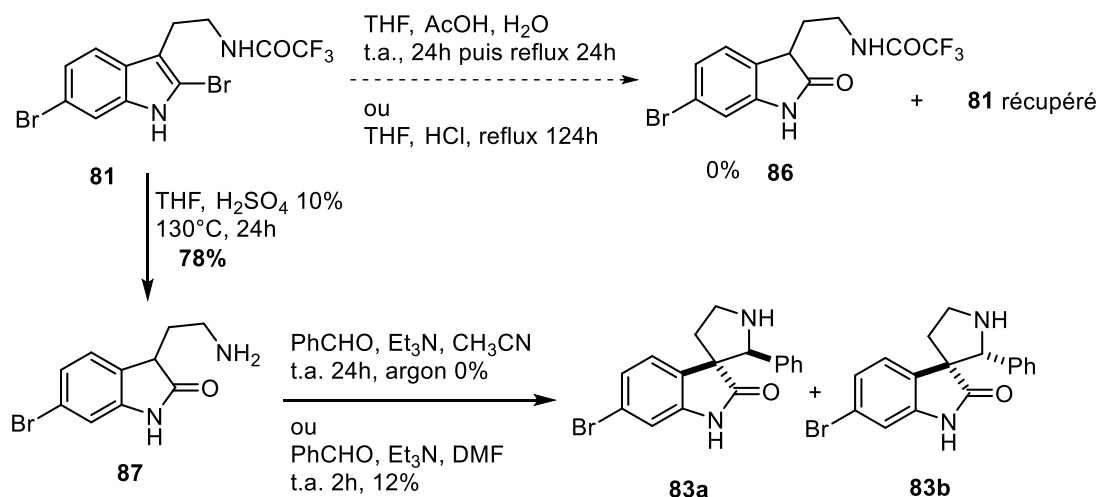


Schéma 20. Premier essai de synthèse de l'analogue bromé **83**.

Nous avons alors modifié notre approche en hydrolysant le composé **81** en oxindole (Schéma **21**). Des premiers essais utilisant de l'acide acétique ou chlorohydrique n'ont pas permis d'obtenir le composé désiré. En revanche, en chauffant une journée à 130 °C dans du THF en présence d'acide sulfurique<sup>78</sup> nous avons obtenu le spiro-oxindole **87** avec un rendement de 78%. Un premier essai de

## RESULTATS

réaction de Mannich avec du benzaldéhyde dans l'acétonitrile s'inspirant des conditions décrit par Henk Hiemstra et coll.<sup>69</sup> n'a pas permis d'obtenir le composé désiré. En utilisant le DMF<sup>79</sup> comme solvant nous avons pu obtenir 40 mg (12%) de spiro-oxindole **83a/b** dans un rapport 66:33.



**Schéma 21.** Synthèses des spiro-oxindoles bromés **83a/b**.

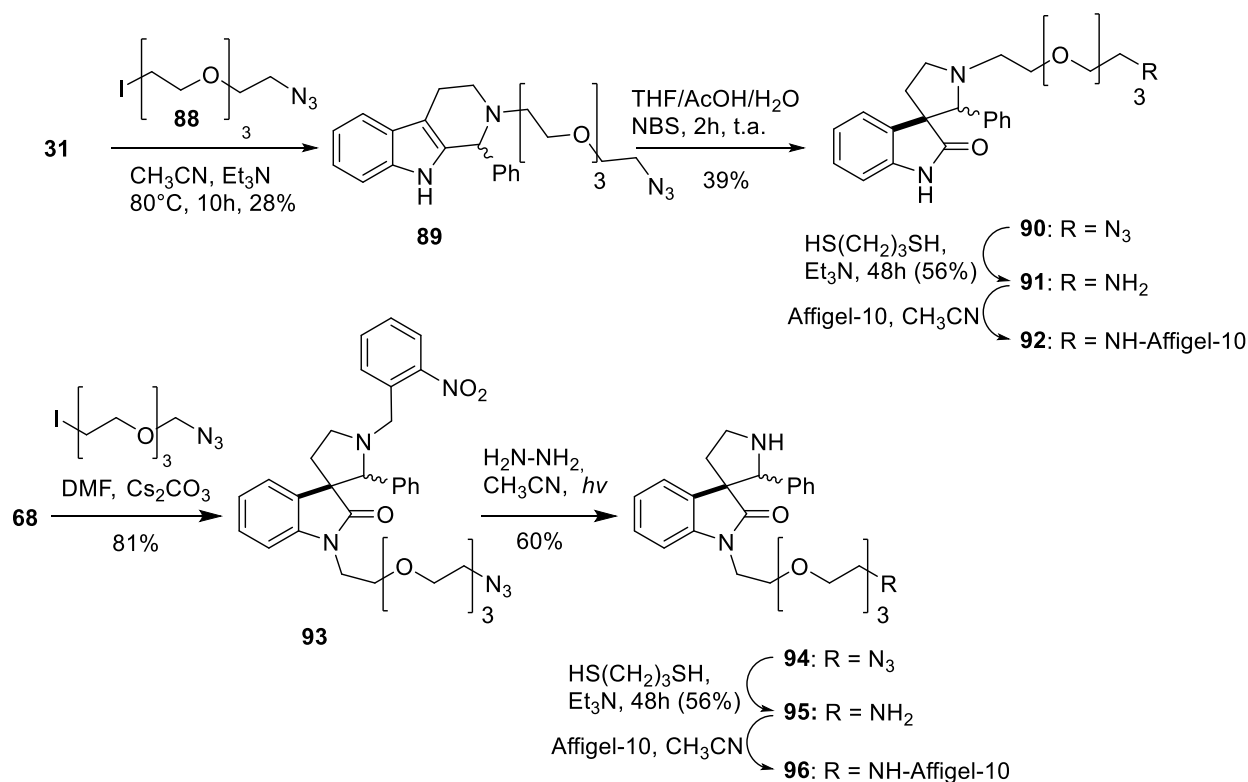
### 3.1.7. Synthèse de deux ligands d'affinité pour des expériences de "pull-down"

Deux spiro-oxindoles ont été couplés à un groupement espaceur à différents endroits pour vérifier par "pull-down" que ce type de composé se lie bien aux PHBs.

L'iodoazoture **88** a été préparé avec 80% de rendement selon la méthode décrite par Wen-Hwa Lee et coll.<sup>80</sup> L'alkylation de la tétrahydrocarboline **86** par ce réactif nous a permis d'obtenir l'adduit **89** avec 28% de rendement. Une réduction de l'azoture avec le propanedithiol dans les conditions décrit par Carolyn R. et coll.<sup>81</sup> a conduit au composé désiré **91** avec un rendement 56% (Schéma 22). Celui-ci a ensuite été couplé à de l'Affigel-10 (agarose activée sous forme d'ester de NHS) dans des conditions standards.

L'autre ligand **95**, a été préparé par alkylation de l'oxindole protégé **68** en suivant la même approche que précédemment.

## RESULTATS



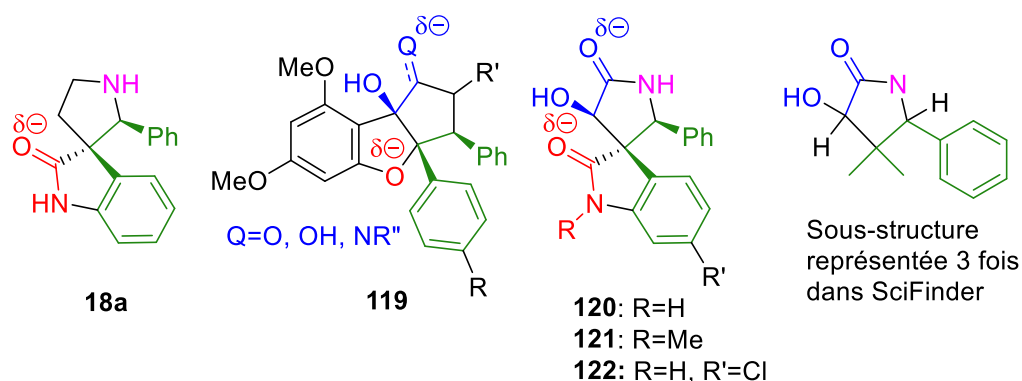
**Schéma 22.** Synthèse d'un spiro-oxindole conjugué à un bras espaceur.

### 3.2. Synthèse de composés hybrides spiro-oxindole-flavagline

#### 3.2.1. Conception de composés hybrides basés sur la similarité structurale entre le spiro-oxindole 19 et les flavaglines

Nous avons remarqué des similarités structurales entre le spiro-oxindole **18a** et les flavaglines, qui ciblent également les prohibitines. En effet les 2 groupements aryles de **18a** peuvent se superposer avec ceux des flavaglines (Figure 21). Il a été établi que le remplacement de l'éther des flavaglines par un méthylène abolit les propriétés pharmacologiques de ces composés, ce qui indique qu'un dipôle est nécessaire dans cette position.<sup>82</sup> Le lactame du spiro-oxindole **120** pourrait former une interaction dipolaire encore plus prononcée avec la PHB2 que l'éther des flavaglines **119**, ce qui compenserait l'absence du diméthoxyaryle, de l'hydroxyle tertiaire et du dipôle adjacent (alcool, cétone ou imine).

## RESULTATS



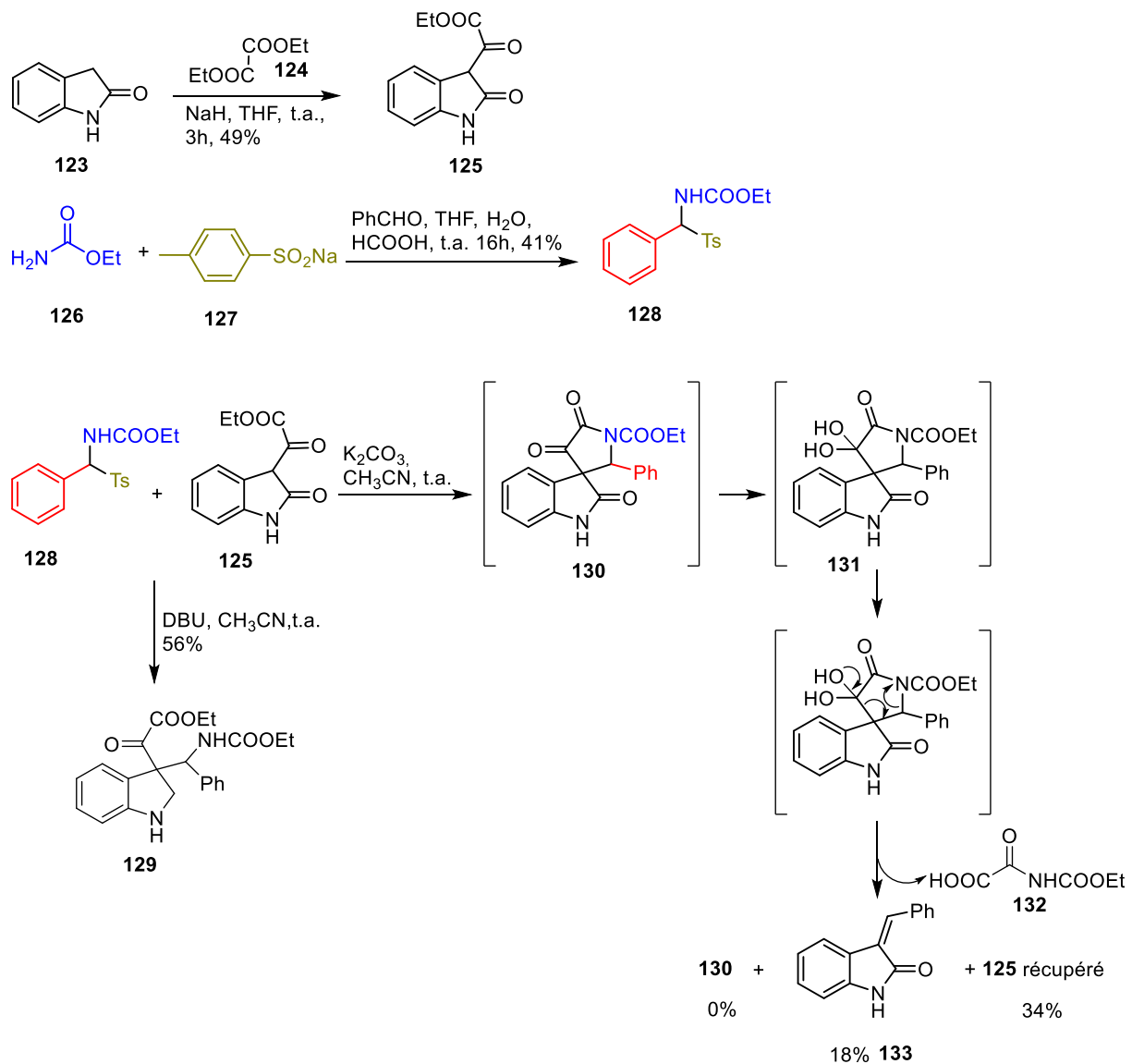
**Figure 21.** Spiro-oxindole **18a**, pharmacophore des flavaglines **119**, ligand hybride des PHBs **120** et sous-structure recherchée dans SciFinder.

### 3.2.2. Synthèse des spiro- $\gamma$ -hydroxylactame-oxindoles

Nous avons cherché à synthétiser des composés hybrides **120**, **121** et **122** (Figure 21) qui combinent les caractéristiques structurales de ces deux classes de ligands des PHBs. De manière surprenante, ce type de structures est très peu décrit dans SciFinder (Seulement 3 composés décrits dans 3 articles).<sup>83-85</sup> Pour synthétiser ces spiro-oxindoles hydroxylés, nous avons dû explorer plusieurs stratégies.

La première approche que nous avons explorée commence par la condensation de l'oxindole **123** avec de l'oxalate de diéthyle en présence de NaH selon un protocole décrit par P. Lewer *et al.*<sup>86</sup> Le sulfonylcarbamate **128** préparé selon la méthode de Matsuzaki et coll.<sup>87</sup> a été mise en réaction avec le cétoester **125** en présence de carbonate de potassium. Nous avons observé la formation du benzylidène **133** (18%) mais pas du produit désiré **130** (Schéma 24). Nous pensons que celui a été formé, mais qu'il s'est dégradé spontanément selon un mécanisme mettant en jeu une hydratation du cétoamide en gem-diol, pour libérer le dérivé d'acide oxalique **132** et le benzylidène **133**. L'essai de condensation entre **128** et **125** en présence de DBU a donné le composé **129** avec un rendement 56%.

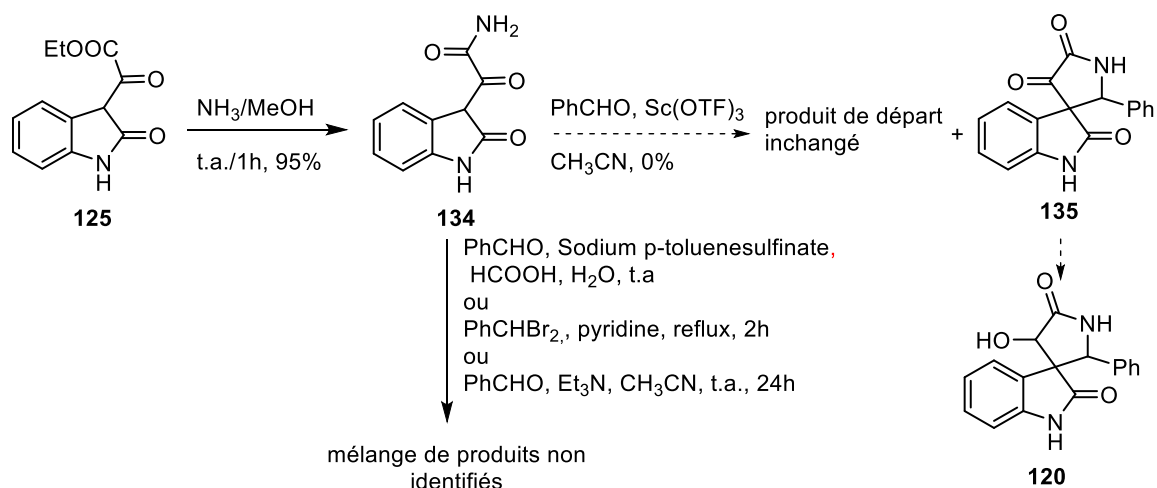
## RESULTATS



**Schéma 24.** Première approche examinée pour accéder à un hydroxy spiro-oxindole.

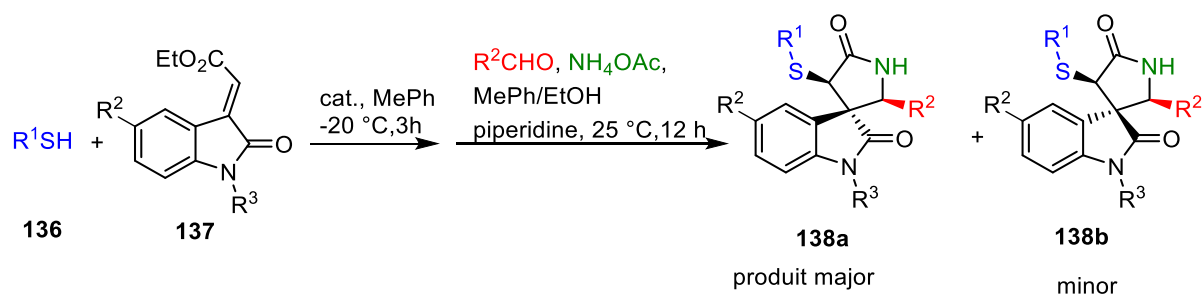
Nous avons alors modifié notre approche en transformant le cétoester **125** en acétamide **134**.<sup>88</sup> Un premier essai de condensation de celui-ci avec le benzaldéhyde en présence de triflate de scandium a été infructueux; seul le produit du départ récupéré. En essayant d'effectuer cette condensation en présence de p-toluènesulfinate de sodium, ou de triéthylamine, ou encore en remplaçant le benzaldéhyde par du bromure de benzal nous avons obtenu un mélange complexe de produits non identifiés, parmi lesquels ne figure pas le composé désiré (Schéma 25).

## RESULTATS



**Schéma 25.** Essai de synthèse de l'hydroxy spiro-oxindole **120** via l'amine **134**.

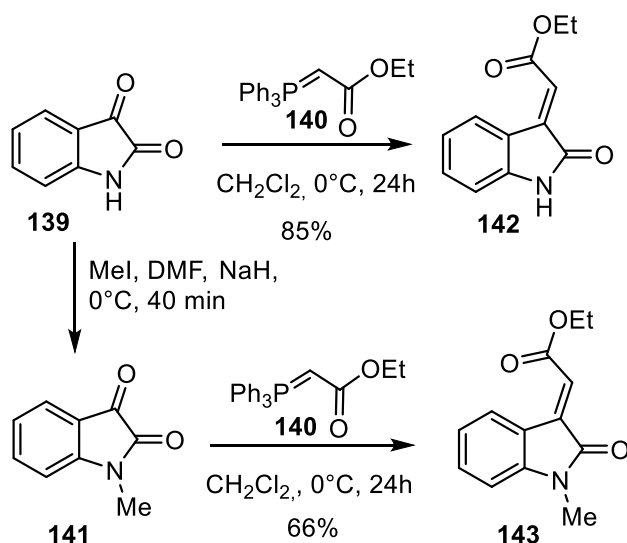
Face à ces échecs, nous avons à nouveau changé de stratégie en nous basant sur les travaux de Wei Zhang *et al.* qui ont rapporté en 2016 une nouvelle réaction à trois composants (Schéma 26).<sup>89</sup>



**Schéma 26.** Synthèse monotope de spiro- $\gamma$ -lactame oxindoles (Wei Zhang et coll.).<sup>89</sup>

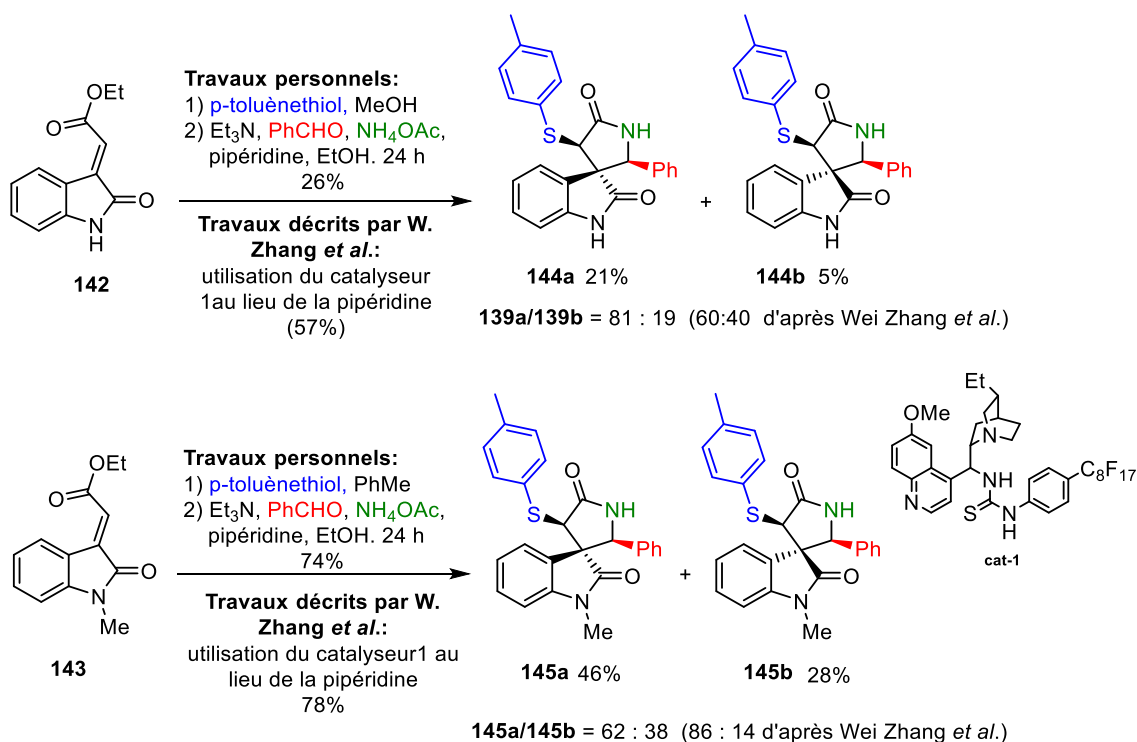
Les esters **142** et **143** ont été préparés à partir d'isatine par oléfination de Horner-Wadsworth-Emmons (Schéma 27).<sup>90</sup>

## RESULTATS



**Schéma 27.** Synthèse des esters **142** et **143**.

Les condensations de l'oxindole **142** avec le p-toluènethiol, le benzaldéhyde et l'ammoniaque ont donné un mélange de diastéréomères<sup>89</sup> **144a** et **144b** séparables par chromatographie sur silice avec un rendement global de 26% et dans un rapport 81:19. Les rendements et la sélectivité sont inférieurs à ceux décrits par Wei Zhang et coll., qui ont obtenu ces deux composés en utilisant un catalyseur chiral avec un rendement 57% dans un rapport 60 :40 (Schéma 28).



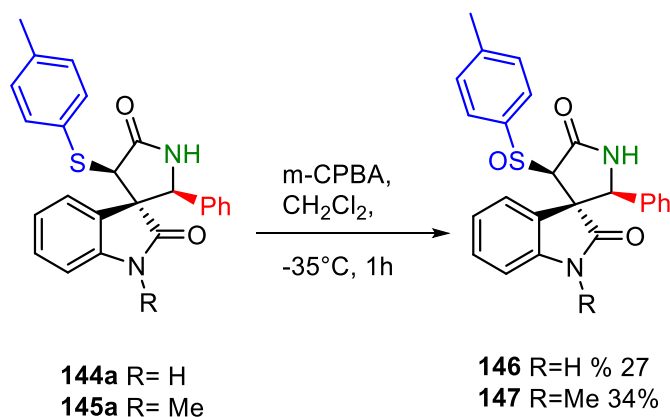
**Schéma 28.** Synthèse monotope de spiro-γ-lactame oxindoles et comparaison avec les résultats décrits par Wei Zang et al.<sup>88</sup>



## RESULTATS

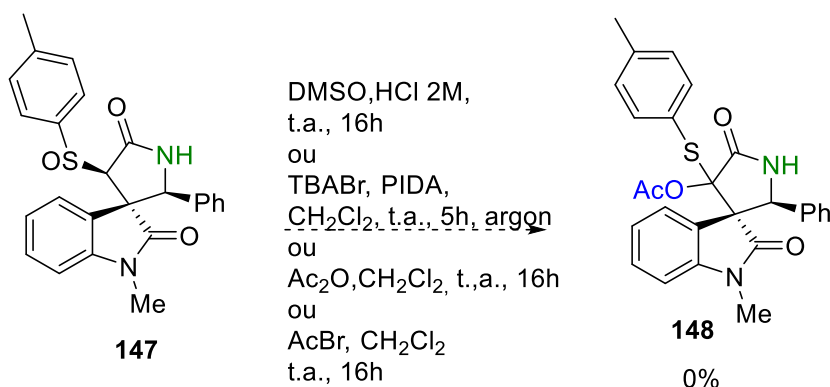
La *N*-méthylation de l'oxindole permet d'augmenter le rendement de cette réaction à 74% pour les composés **145a** et **145b** (également séparables par chromatographie sur silice), mais au détriment de la stéréosélectivité (62 :38). Wei Zhang et coll. ont quant à eux ont décrit cette même réaction avec un rendement 73% dans un rapport (86 :14) sans utiliser de catalyseur, et 78% (86 :14) avec un catalyseur chiral.

L'oxydation des thioéthers **144a** et **145a** par du *m*-CPBA a permis d'obtenir les sulfoxydes correspondants **146** et **147** avec 27% et 34% de rendement (Schéma 29).<sup>91</sup>



**Schéma 29.** Oxydation des composés **144a** et **145a** par du *m*-CPBA.

Nous avons essayé plusieurs protocoles pour effectuer une réaction d'acylation oxydative sur le composé **147** mais sans conduire au produit désiré. A chaque fois seul le produit de départ a été récupéré (Schéma 30).<sup>92</sup>

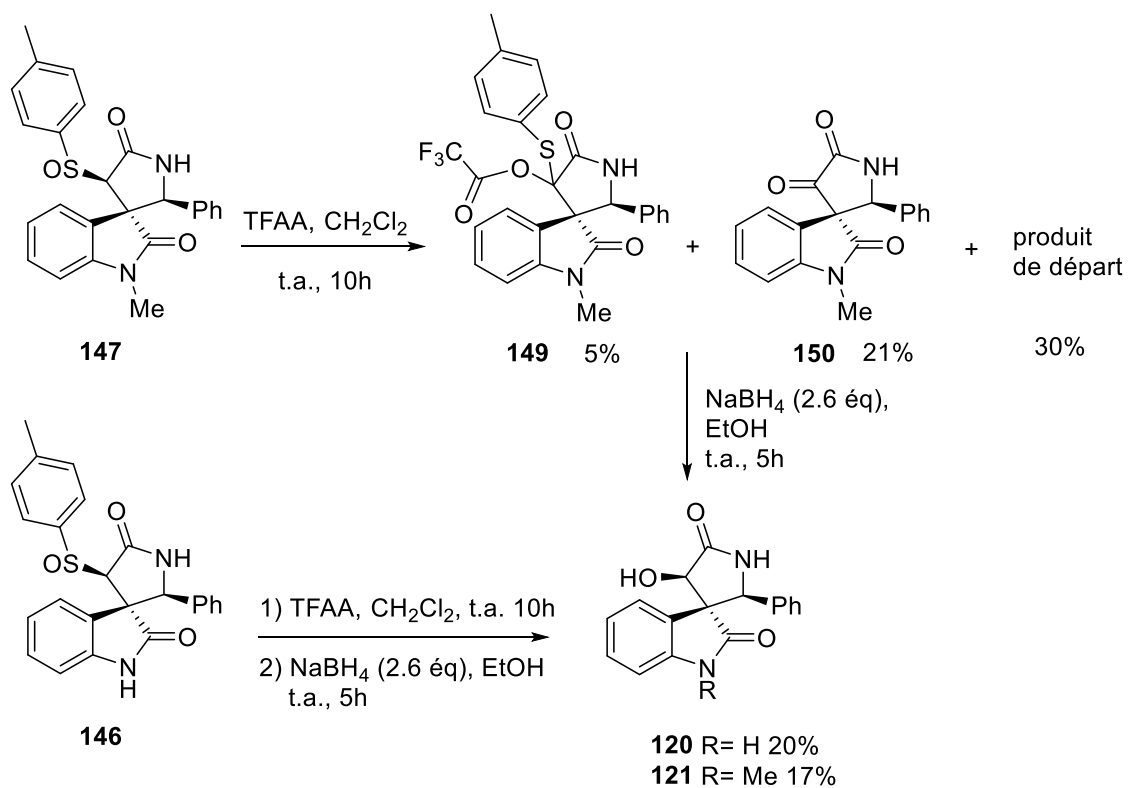


**Schéma 30.** Essais d'acylation oxydative du sulfoxyde **147**.

Finalement, nous avons réussi à obtenir les composés **149** et **150** en traitant le sulfoxyde **147** par de l'anhydride trifluoroacétique dans dichlorométhane à température ambiante,<sup>93</sup> avec des rendements respectifs de 5% et 21%. La réduction de **149** et **150** par

## RESULTATS

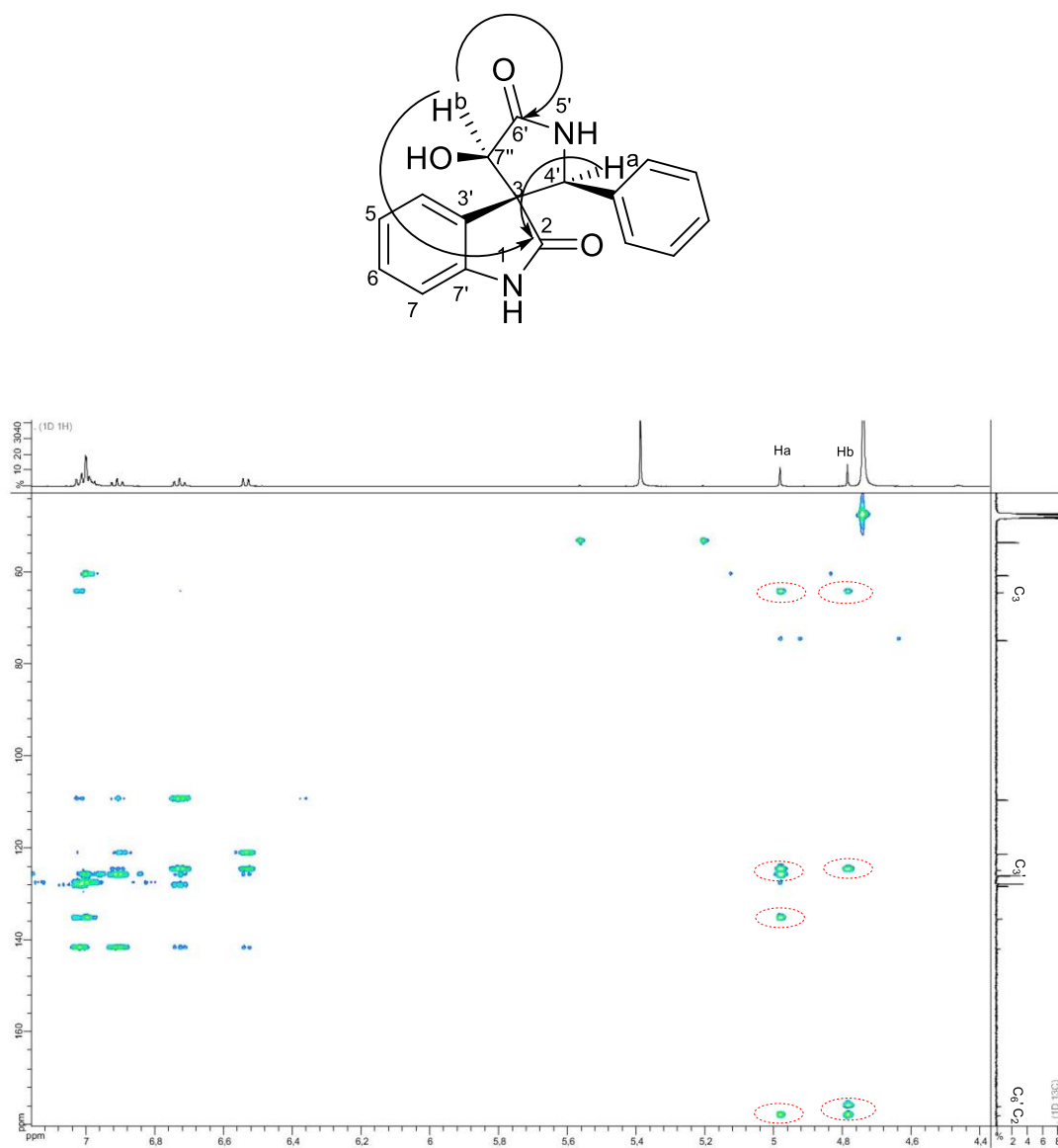
du borohydrure de sodium<sup>94</sup> nous a permis d'obtenir le composé désiré avec des rendements de 17 et 20% (Schéma 31).



**Schéma 31.** Acylation oxydative des sulfoxydes **146** et **147** suivie par une réduction au borohydrure de sodium.

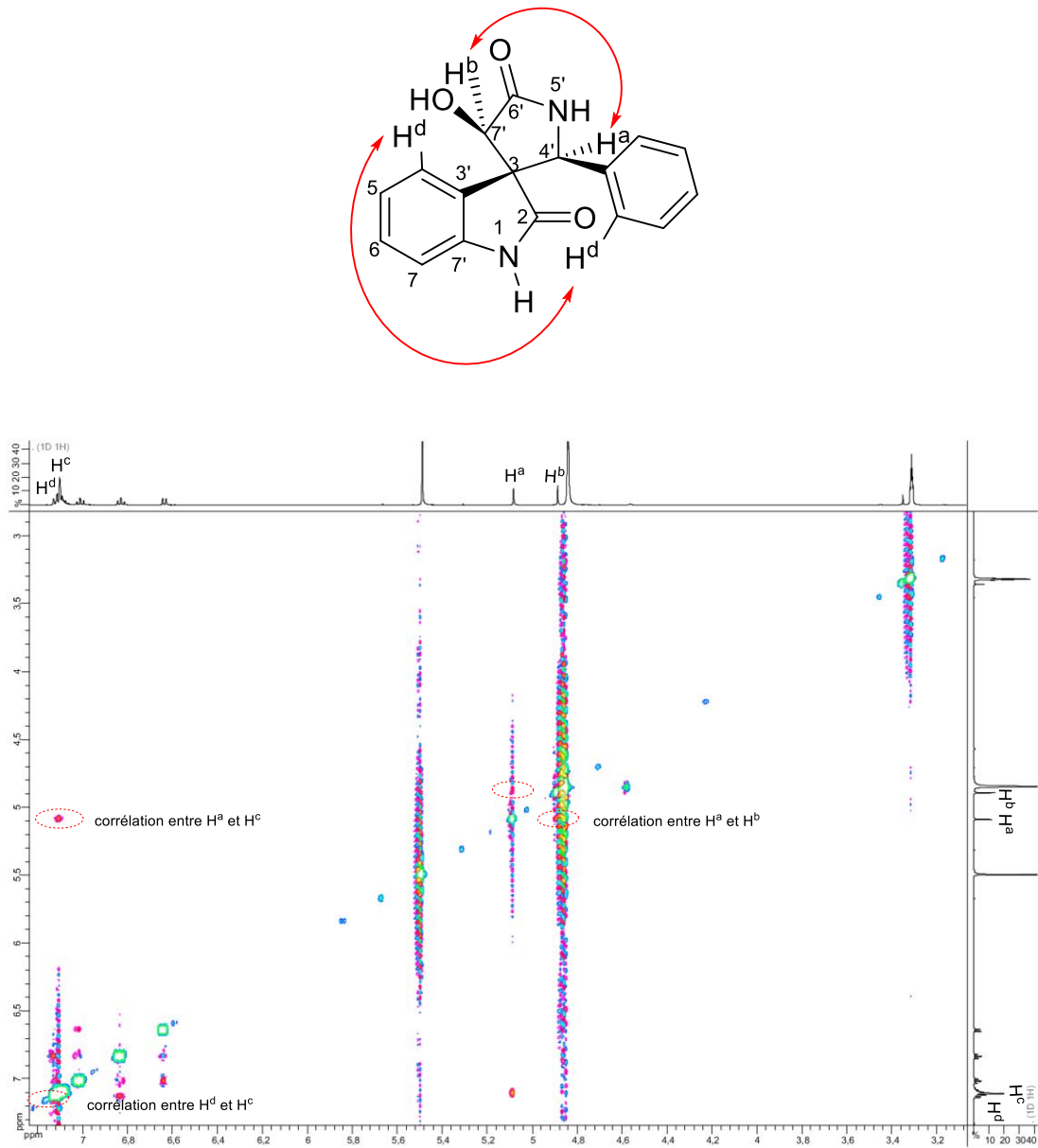
Les analyses RMN 2D (HMBC, NOESY) des composés **120** et **121** sont montrées dans les figures (23 et 24).

## RESULTATS



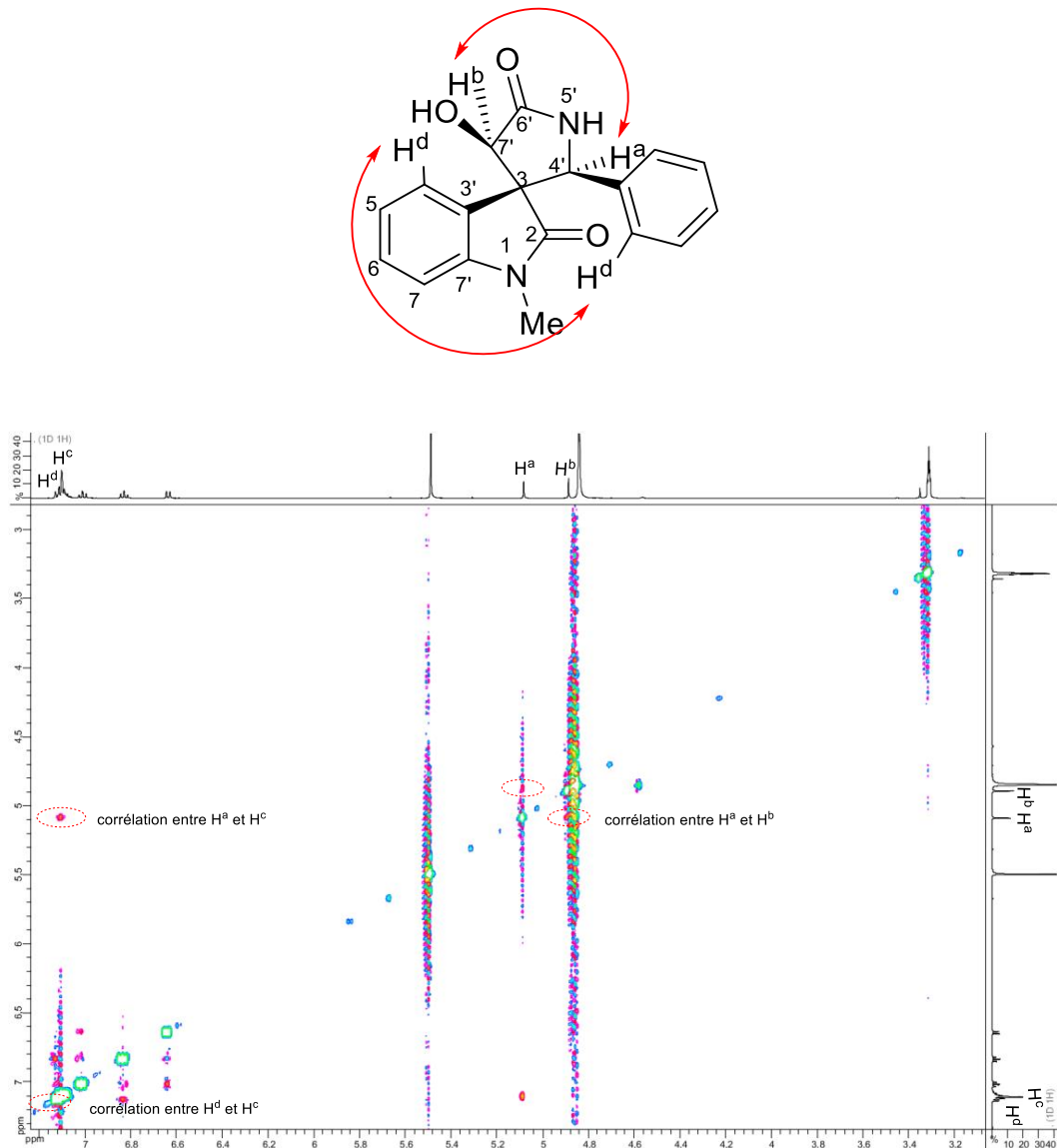
**Figure 23.** Analyse HMBC de composé **120** montrant des corrélations entre  $H^a$  (protons benzylique) et  $C_3$  (carbone spiro),  $H^a$  et  $C_2$  (carbonyle de l'oxindole),  $H^b$  (proton  $\alpha$  de l'hydroxyle) et  $C_2$ ,  $H^b$  et  $C_6$  (carbonyle de l'hydroxy lactame), et entre  $H^a$ ,  $H^b$  et  $C_3$ .

## RESULTATS



**Figure 24.** Analyse NOESY de composé **120** montre une corrèlation entre les protons du phènyle (H<sup>a</sup>) et celui en  $\alpha$  de l'hydroxyle (H<sup>b</sup>) et entre les protons aromatiques H<sup>c</sup> et H<sup>d</sup>.

## RESULTATS



**Figure 25.** Analyse NOESY de composé **121** montre une corrélation entre les protons du phényle (H<sup>a</sup>) et celui en α de l'hydroxyle (H<sup>b</sup>) et entre les protons aromatiques H<sup>c</sup> et H<sup>d</sup>.

En faisant l'acylation oxydative et la réduction en condition monotope, nous avons amélioré le rendement global à 11%. En rajoutant de la triéthylamine, celui-ci est passé à 17% (Schéma 32).

## RESULTATS

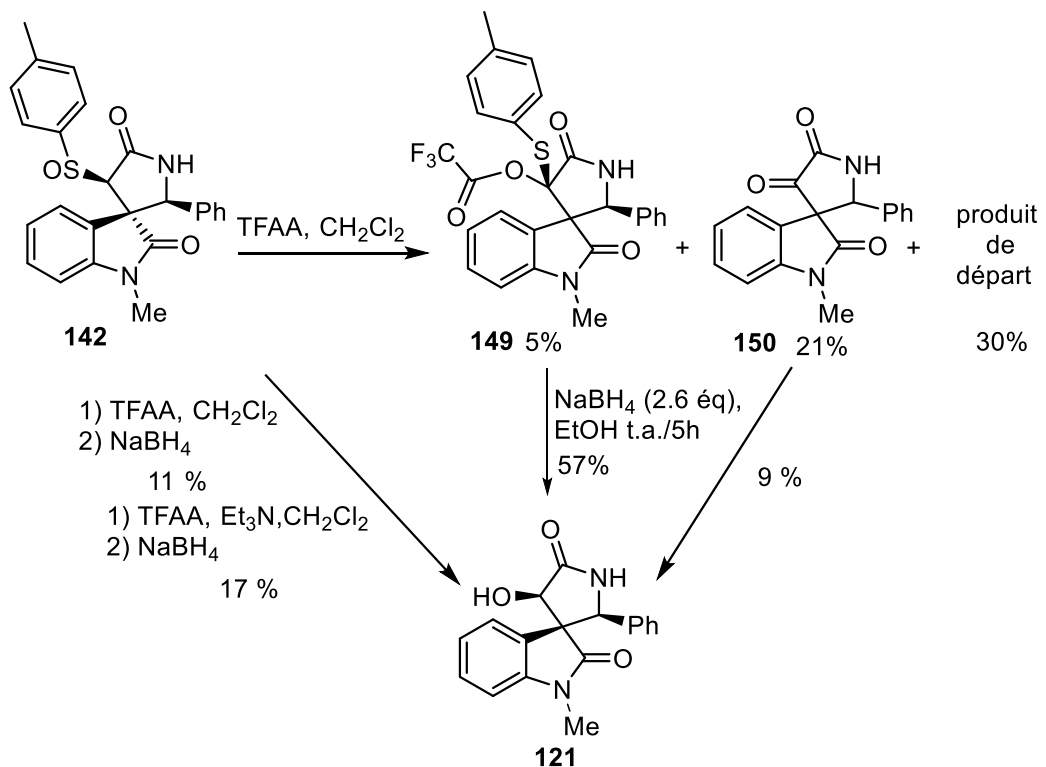


Schéma 32. Amélioration du rendement global en condition monotope.

### 3.2.2.1. Synthèse du 6-chloro-hydroxy spiro-oxindole 122

Le 6-chloro - hydroxy spiro-oxindole **122** a été obtenue avec 48% de rendement sous forme 3 isomères dans un rapport (1 : 1 : 0.5) à partir de la chloroisatine **151**, en utilisant les mêmes conditions que précédemment (Schéma 33).

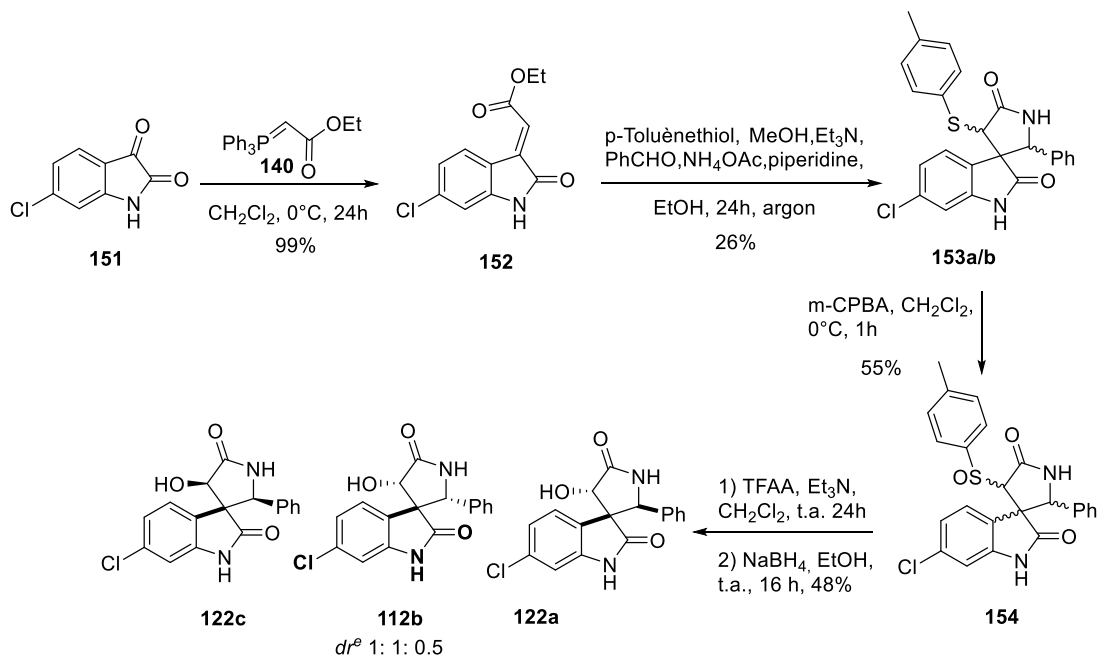
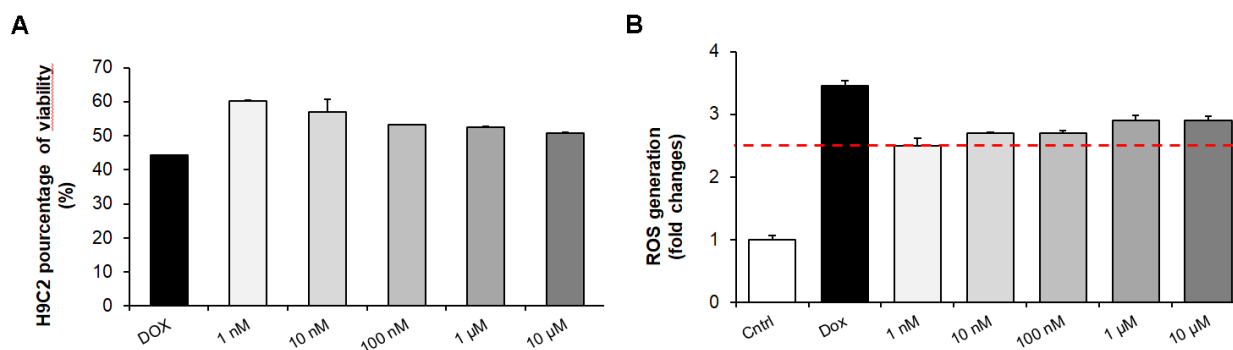


Schéma 33. Synthèse du 6-chloro-hydroxy spiro-oxindole **122**.

### 3.3. Résultats Pharmacologiques

#### 3.3.1. Activité cardioprotectrice

Au sein du laboratoire, l'équipe du Dr Canan Nebigil a examiné si le spiro-oxindole **18a/b** (IM100) protège les cardiomyocytes contre l'apoptose induite par la doxorubicine, de manière similaire aux flavaglines (cf. section 1.2.1.).<sup>95-96</sup> Cette étude a été menée sur des cardiomyocytes H9c2 dans un modèle cellulaire bien établi de cardiotoxicité aiguë aux anthracyclines en examinant le taux de survie des cellule et la génération d'espèces réactives oxygénées (ROS). La préincubation de cellules H9c2 pendant 10h avec différentes concentrations de spiro-oxindole **18a/b** a induit un effet cytoprotecteur et anti-ROS avec un effet maximal à 1 nM (Figure 26).



**Figure 26.** Activité cardioprotectrice du spiro-oxindole **18a/b**. Des cardiomyocytes H9c2 ont été prétraités par **18a/b** (1 nM-10μM) ou son véhicule pendant 10 h puis traités par de la doxorubicine (DOX) (1 μM) pendant 14 h de plus. **A)** Effet sur la survie cellulaire mesurée par un cQuant. **B)** Inhibition de la génération d'espèces réactives oxygénées (ROS) mesurée par un test au DCFDA.

Ce basant sur ces résultats l'équipe de Canan Nebigil a examiné les effets des composés synthétisés aux doses de 1 et 0.3 nM pour leurs effets cytoprotecteurs et anti-ROS sur des cardiomyocytes H9c2 traités par de la doxorubicine comme précédemment (Tableau 4).

Alors que l'introduction d'un méthyle en N1 (**75**), d'un brome en C6 (**83**) ou d'un carboxylate de méthyle en C5' (**80a**) ont un effet délétère, l'introduction d'un méthyle (**77a**) ou d'un éthyle (**77b**) sur l'amine de la pyrrolidine sont bien tolérés, mais des substituants plus encombrés, comme un *n*-propyle (**77c**) or un *n*-butyle (**77d**) sont moins bien efficaces.

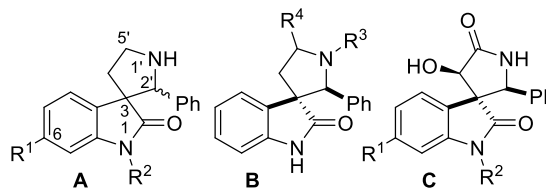
## RESULTATS

Une augmentation de la taille de ces substituants (**77e-g**) abolit l'activité cardioprotectrice, mais la substitution par un allyle (**77h**) ou un isopropyle (**77i**) augmentent légèrement la cardioprotection, ce qui suggèrent que dans le mélange **18a/b** l'activité cardioprotectrice est portée par **18a**, qui a la même configuration que les dérivés pharmacologiquement actifs.



## RESULTATS

**Tableau 4.** Effet des spiro-oxindoles sur la survie cellulaire mesurée par un test cQuant et inhibition de la génération d'espèces réactives oxygénées (ROS) mesurée par un test au DCFDA. Des cardiomyocytes H9c2 ont été prétraités par du FL3, **18a/b**, ses analogues ou son véhicule pendant 10 h puis traités par de la doxorubicine (DOX) (1  $\mu$ M) pendant 14h de plus.



| Entrée | Composé               | Sous-structure | Substituants  | Augmentation de la survie (%) |          | Réduction relative du taux de ROS (%) |          |
|--------|-----------------------|----------------|---|-------------------------------|----------|---------------------------------------|----------|
|        |                       |                |   | 0.3 nM                        | 1nM      | 0.3 nM                                | 1nM      |
| 1      | Véhicule              |                |   | 0                             | 0        | 0                                     | 0        |
| 2      | FL3                   |                |   | 3.5±2.9                       | 9.7±0.2  | 9.5±0.2                               | 15.9±0.4 |
| 3      | <b>18a/b</b>          | A              |   | 7.7±0.2                       | 11.3±0.3 | 12.5±0.1                              | 18.8±0.1 |
| 4      | <b>75a/b</b>          | A              | R <sup>2</sup> = Me   | 0.3±0.2                       | 2.6±0.4  | 0.0±0.1                               | 3.2±0.1  |
| 5      | <b>83a/b</b>          | A              | R <sup>1</sup> = Br   | 1.1±0.2                       | 6.5±0.1  | 3.2±0.1                               | 6.5±0.1  |
| 6      | <b>80a</b><br>(IM115) | B              | R <sup>4</sup> = COOMe<br>(2' <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,5' <i>R</i> ) | 4.0±0.1                       | 6.4±0.1  | 3.1±0.2                               | 9.4±0.1  |
| 7      | <b>80b</b><br>(IM118) | B              | R <sup>4</sup> = COOMe<br>(2' <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,5' <i>R</i> ) | 2.9±0.2                       | 7.1±0.2  | 2.9±0.2                               | 2.7±0.2  |
| 9      | <b>77a</b>            | B              | R <sup>3</sup> = Me   | 5.4±0.4                       | 7.6±0.3  | 9.4±0.1                               | 15.6±0.1 |
| 10     | <b>77b</b>            | B              | R <sup>3</sup> = Et   | 6.0±0.4                       | 7.4±0.2  | 9.4±0.1                               | 12.5±0.1 |
| 11     | <b>77c</b>            | B              | R <sup>3</sup> = <i>n</i> -Pr                                     | 1.3±0.3                       | 0.8±0.3  | 3.1±0.2                               | 6.2±0.1  |
| 12     | <b>77d</b>            | B              | R <sup>3</sup> = <i>n</i> -Bu                                     | 0.9±0.3                       | 5.7±0.1  | 6.2±0.2                               | 12.5±0.2 |
| 13     | <b>77e</b>            | B              | R <sup>3</sup> = cyclopentyl                                      | 2.6±2.6                       | 0.2±0.2  | 0.0±0.1                               | 12.5±0.2 |
| 14     | <b>77f</b>            | B              | R <sup>3</sup> = CH <sub>2</sub> CONMe <sub>2</sub>               | 1.4±5.5                       | 0.2±0.2  | 0.0±0.2                               | 9.4±0.2  |
| 15     | <b>77g</b>            | B              | R <sup>3</sup> = CH <sub>2</sub> CON                              | 0.3±0.3                       | 0.3±0.2  | 0.0±0.1                               | 6.2±0.1  |
| 16     | <b>77h</b>            | B              | R <sup>3</sup> = allyl  | 4.6±0.2                       | 11.6±0.3 | 12.7±0.3                              | 20.6±1.8 |
| 17     | <b>77i</b>            | B              | R <sup>3</sup> = <i>i</i> -Pr                                     | 6.7±0.8                       | 10.7±0.2 | 14.3±1.9                              | 20.5±1.6 |
| 18     | <b>120a</b>           | C              | R <sup>2</sup> = H  | 3.0±0.2                       | 5.80.1   | 6.25±0.2                              | 21.9±0.2 |

## RESULTATS

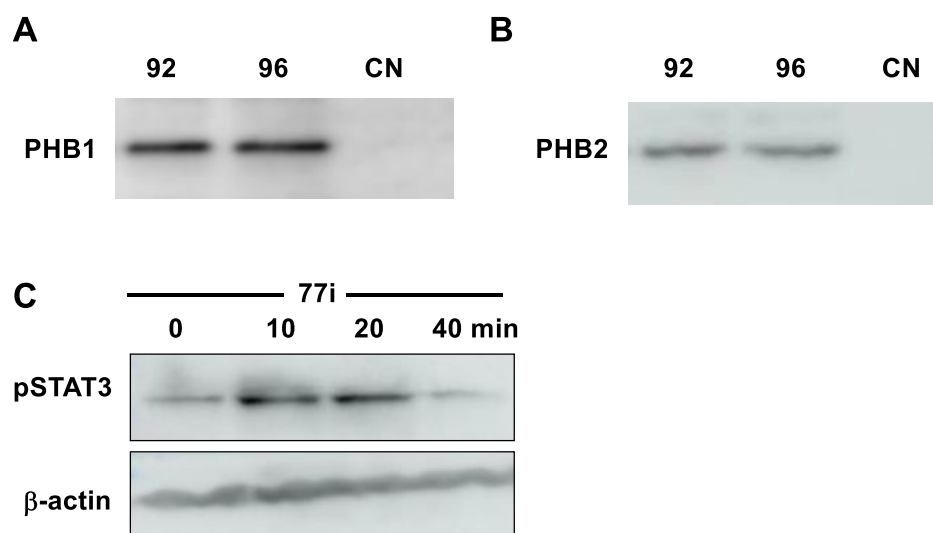
|    |             |   |                     |          |         |         |         |
|----|-------------|---|---------------------|----------|---------|---------|---------|
| 19 | <b>121b</b> | C | R <sup>2</sup> = Me | 1.9±0.1  | 2.9±0.6 | 3.2±0.1 | 2.1±1.8 |
| 20 | <b>122c</b> | C | R <sup>1</sup> = Cl | -0.4±0.1 | 1.1±1.4 | 0.0±0.1 | 2.0±1.7 |

<sup>a</sup>: seuls les substituants autres que des protons sont indiqués.

Le remplacement de la partie pyrrolidine par une 3-hydroxy-5-phenyl-pyrrolidin-2-one qui montre des caractéristiques structurales communes à celles des flavaglines et du spiro-oxindole **18a** a donné un résultat décevant: les composés **120a**, **121b** et **122c** montrent une activité cardioprotectrice inférieure à celle de **18a/b** ou de la flavagline FL3, suggérant que ces deux classes de ligands n'ont pas le même mode liaison aux PHBs.<sup>97</sup> Parmi ces trois composés, **120a** est celui qui conserve la meilleure cytoprotection, ce qui indique que d'une manière similaire à ce que nous avons observé avec **83a/b** et **75a/b** (IM103), l'introduction d'un halogène en C6 ou un méthyle en N1 est défavorable.

### 3.3.2. Liaison aux PHBs et activation de STAT3

Pour vérifier que les spiro-oxindoles se lient bien à la PHB2 et éventuellement à la PHB1, l'équipe de Canan Nebigil a effectué un "pull-down" avec les ligands **92** et **96** conjugués à de l'Affigel-10 en utilisant un lysat cellulaire cardiomyocytes H9c2 (Figure 27). L'analyse par Western blot n'a pas seulement confirmé que les spiro-oxindoles se lient à la



**Figure 27. Liaison aux PHBS et activation de STAT3.** (A) Pull-down montrant une interaction avec la PHB2. Analyse par Western blot des protéines se liant à l'Affigel conjugué aux spiro-oxindoles **92** et **96**. CN : contrôle négatif (Affigel non conjuguée). (B) Pull-down montrant une interaction avec la PHB1. (C) Activation de p-STAT3 dans les cardiomyocytes H9c2 traités par le spiro-oxindole **77i** (0, 10, 20 and 40 minutes) déterminée par Western blot.

## RESULTATS

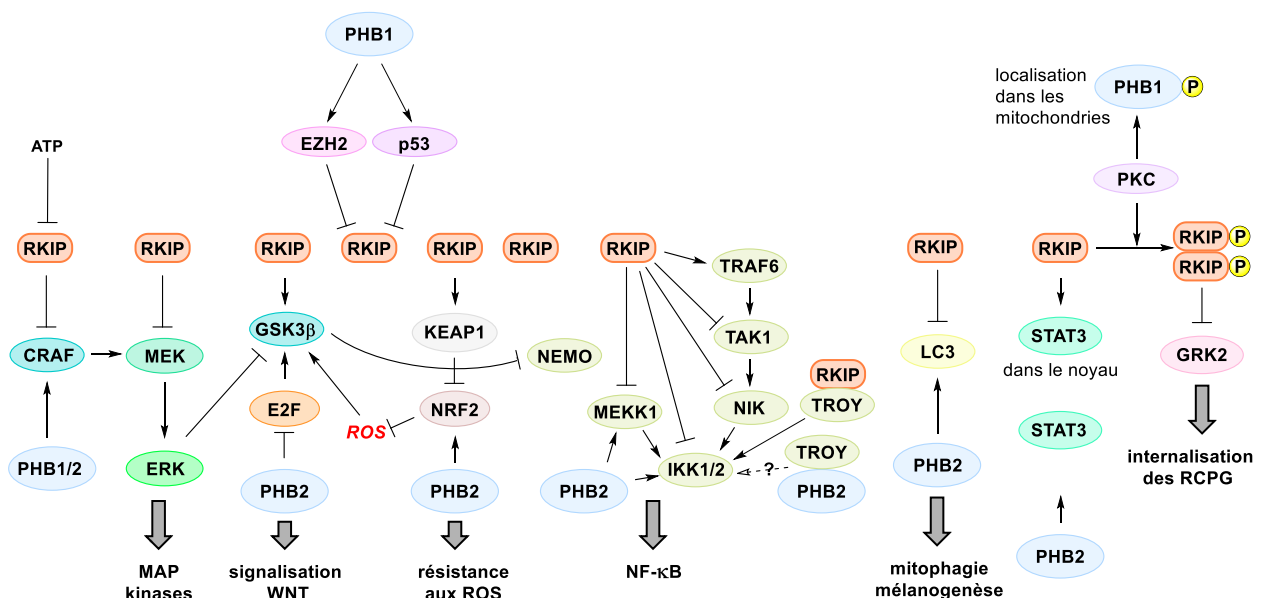
PHB2, mais a aussi montré pour la première fois que la PHB1 est aussi ciblée par ces composés. Aucune liaison n'a été observée avec l'Affigel-10 non conjuguée (contrôle négatif, CN). De manière surprenante, le ligand **96** conjugué à l'Affigel-10 via l'amide de l'oxindole était également capable de lier la PHB1 et la PHB2, alors que la méthylation de cette position diminuait grandement l'effet cardioprotecteur (composé **77a**, Table 4).

De manière similaire aux flavaglines<sup>98</sup> les spirooxindole **77i** induise la phosphorylation de STAT3 dans les cardiomyocytes, indiquant que leur effet cardioprotecteur passe effectivement par les PHBs (Figure 27 C).

Des études complémentaires visant à préciser ce mécanisme d'action et à démontrer l'efficacité de ces composés dans un modèle murin de toxicité aigüe à la doxorubicine sont en cours.

### 3.3.3. Effet sur la phosphorylation et localisation de RKIP

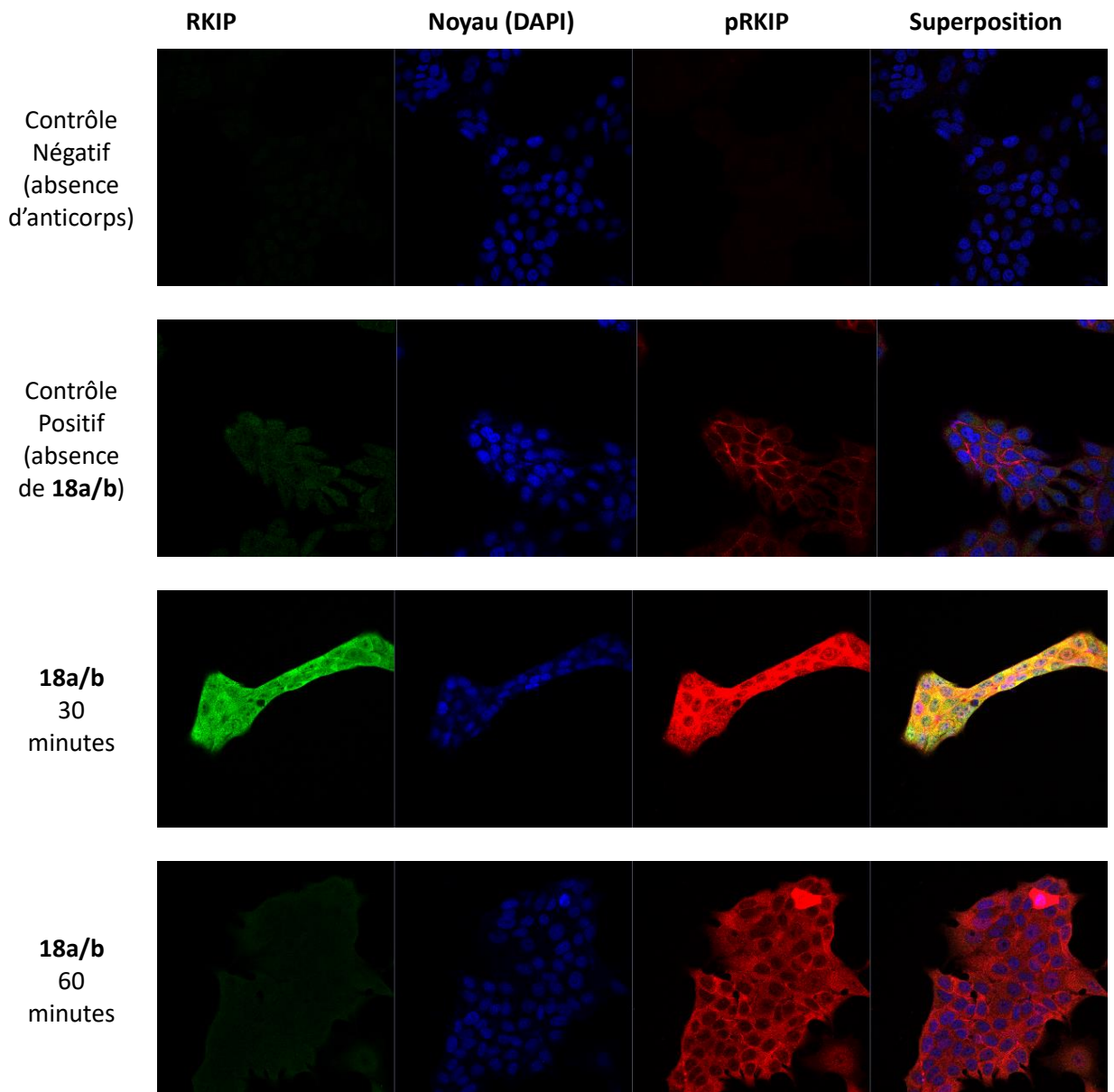
RKIP (Raf kinase inhibitor protein) est une protéine d'échafaudage qui module un ensemble de voies de signalisations de manière opposée à celle des prohibitines (Figure 28).<sup>99</sup> En effet RKIP inhibe les voies CRAF/MEK/ERK, NRF2, NF-κB et inhibe celle du LC3 dans l'autophagie (Figure 28).



**Figure 28:** Comparaison des effets des prohibitines et de RKIP sur la signalisation cellulaire.

## RESULTATS

L'équipe du professeur Fahd Al-Mulla au centre de Médecine Génomique à l'Université du Koweït a montré qu'une incubation de cellules de cancer du sein MCF7 augmente en seulement 30 minutes le taux total de RKIP et de phospho-RKIP comme en témoignent les données de western blot et d'immunohistochimie (Table 5, Figure 29).



**Figure 29** : Effet du spiro-oxindole **18a/b** sur la l'expression de RKIP et phospho-RKIP après 30 et 60 minutes d'incubation.

Après 60 minutes, le taux total de RKIP descend en dessous de son niveau basal et le taux de phospho-RKIP retourne presque à son niveau basal. Il s'agit là de la première évidence que les PHBs peuvent moduler la phosphorylation, le niveau et la localisation de

## RESULTATS

RKIP. Cette équipe est actuellement en train d'examiner l'effet des autres composés que nous avons synthétisés. Elle utilisera ensuite ces composés pour explorer comment les PHBs régulent RKIP.

**Tableau 5:** Augmentation relative de la quantité de RKIP et phospho-RKIP dans des cellules MCF7 après 30 et 60 minutes d'incubation par **18a/b** (20  $\mu$ M) quantifiées par Western blot.

| Temps d'incubation | RKIP | phospho-RKIP |
|--------------------|------|--------------|
| 0 minute           | 1.0  | 1.0          |
| 30 minutes         | 2.5  | 1.8          |
| 60 minutes         | 0.4  | 1.3          |

## CONCLUSION

## ***4. CONCLUSION***

---

## CONCLUSION



## CONCLUSION

L'émergence des PHBs comme cibles thérapeutiques et le potentiel pharmacologique des 3,3'-pyrrolidinyl-spirooxindoles sont à l'origine de ce travail de thèse. Notre objectif consistait à synthétiser des analogues du spiro-oxindole **18** récemment décrit comme ligand de la PHB2, pour identifier les requis structuraux pour ses activités pharmacologiques impliquant les prohibitines et développer des outils pharmacologiques pour examiner le rôle des prohibitines dans plusieurs conditions physiologiques et pathophysiologiques.

Après avoir trouvé que la synthèse de **18** n'était pas reproductible, nous avons développé deux synthèses robustes de ce composé et montré qu'il existe sous forme d'un mélange 71 :29 de diastéomères en équilibre. Nous avons aussi développé la première synthèse de spiro- $\gamma$ -hydroxylactames oxindoles (composés **20/21** et **22**). Cette approche repose sur une réaction monotope thiol-Michael/Mannich/lactamisation suivie d'une conversion en 3 étapes d'un thioéther en hydroxyle.

Nous avons synthétisé une vingtaine d'analogues et trouvé en collaboration avec l'équipe de Canan Nebigil que ces composés protègent *in vitro* les cardiomyocytes contre les effets cardiotoxiques de la doxorubicine de manière similaire à d'autres ligands des PHBs, comme les flavaglines. Au cours de ce travail, nous avons identifié en particulier deux spirooxindoles, **77h** et **77i**, qui présentent des activités cardioprotectrices supérieures à celles de **18**, ce qui a permis aussi d'établir la configuration relative des composés actifs.

Cette étude sera poursuivie au laboratoire dont un des objectifs affichés est de développer de nouveaux médicaments susceptibles de protéger le cœur contre les effets secondaires des traitements anticancéreux pour répondre à un problème urgent de santé publique.

Ces composés seront également examinés dans d'autres types de tests cellulaires impliquant la signalisation des PHBs. Déjà, les travaux préliminaires de l'équipe du Professeur Fahd Al-Mulla ont mis pour la première fois en évidence une régulation de la protéine RKIP par les PHBs grâce à nos composés. La suite de ces travaux devrait mettre en lumière un nouveau mode d'orchestration des voies de signalisation cellulaire impliquant les PHBs et RKIP.

## CONCLUSION

## ***5. PARTIE EXPERIMENTALE***

---

## PARTIE EXPERIMENTAL

## General methods

All commercial reagents were used without purification. The anhydrous solvents used are commercial. The oxygen-sensitive reactions were carried out under argon atmosphere. The reactions were monitored by thin-layer chromatography (Merck DC Platten Kieselgel 60 F254 TLC plate). The plates were exposed by ultraviolet irradiation at 254 or 365 nm, followed by immersion in a developer (KMnO<sub>4</sub>) or Ninhydrin if necessary.

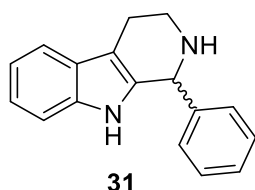
The chromatographic columns were made with Merck 60 fine silica gel; 0.040-0.065 mm (230-400 mesh). The <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra were recorded on Bruker spectrometers (400 MHz / 100 MHz) or (500 MHz / 125 MHz) or (300 MHz / 100 MHz) (temperature 25 ° C). The multiplicities are designated as follows: s, singlet, d, doublet, t, triplet, q, quadruplet, m, multiplet, dd, doublet of doublet, dt, doublet of triplet. The chemical shift (δ) is given in ppm.

The coupling constants (*J*) are in (Hz.) The residual peak of solvent serves as a reference, CDCl<sub>3</sub> (7.26 ppm, <sup>1</sup>H, 77.16 ppm for the central peak <sup>13</sup>C), (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO (2.50 ppm, <sup>1</sup>H, 39.52 ppm for the central peak <sup>13</sup>C), CD<sub>3</sub>OD (3.31 ppm, 1H, 49.00 ppm for the central peak <sup>13</sup>C).

Low- and high-resolution mass spectroscopy analyzes were carried out by the Common Analysis Service (SCA) of the Faculty of Pharmacy of the Faculty of Chemistry of the University of Strasbourg. The low-resolution mass spectra were made with an Agilent 1200SL (LC-MS: single quadrupole, multimode ES / APCI). The high-resolution mass spectra were made on a Bruker MicroTOF-Q (ESI Q-TOF) device. The melting points were recorded on an electrothermal melting point apparatus and are not corrected.

## Synthesis and characterization

### 5.1. Procedures for Chapter 3.1.



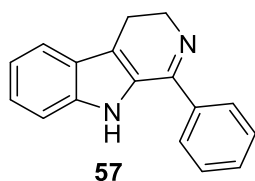
#### 1-Phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (31)

Tryptamine **30** (2.0 g, 10.16 mmol) was dissolved in glacial acetic acid (20 ml), followed by addition of SiO<sub>2</sub> (10 g) and benzaldehyde (1.08 g, 11.2 mmol). The mixture was stirred at 80°C for 1h, filtrated and the remaining silica gel rinsed with a mixture of CHCl<sub>3</sub>/MeOH 57:3. The combine filtrate was concentrated, neutralized with saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> and extracted whit AcOEt. The organic phase was concentrated under reduced pressure and recrystallized whit Et<sub>2</sub>O to provide 2.08 g (79%) of the desired compound.

## PARTIE EXPERIMENTALE

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.54 (d,  $J=7.4$  Hz, 1H), 7.5-7.42 (m, 1H- NH), 7.39-7.30 (m, 5H), 7.23 (d,  $J=8$  Hz, 1H), 7.19-7.09 (m, 2H), 5.23-5.13 (s, 1H), 3.45-3.34 (m, 1H), 3.22-3.09 (m, 1H), 3-2.88 (m, 1H), 2.88-2.76 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  141.89, 135.95, 134.52, 128.84, 128.58, 128.21, 127.42, 121.72, 119.39, 118.25, 110.89, 110.22, 58.13, 42.83, 22.58.

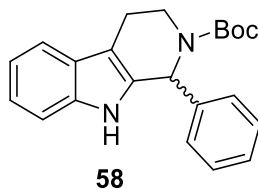


### 1-Phenyl-4,9-dihydro-3H-pyrido[3,4-b]indole (57)

Tryptamine **30** (0.20 g, 1.25 mmol) and benzaldehyde (0.133 g, 1.25 mmol) were dissolved in THF/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1, 20 ml). The mixture was stirred at  $0^\circ\text{C}$  and 2 drops of trifluoroacetic acid was added, followed by several portions of NBS (0.198 g, 1.37 mmol) for 60 minutes. The mixture was stirred for 6h at room temperature quenched with a saturated solution of  $\text{NaHCO}_3$ , extracted with AcOEt and dried over  $\text{MgSO}_4$ . The phase organic was concentrated and purified on silica gel to provide 0.15 g (48%) of the compound **57**.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.09 (br s, 1H), 7.7-7.71 (m, 3H), 7.66 (d,  $J=8\text{Hz}$ , 1H), 7.5-7.46 (m, 2H), 7.33 (d,  $J=8.2$  Hz, 1H), 7.13 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 7.18 (t,  $J=7.7$  Hz, 1H), 4.05 (t,  $J=8.5$  Hz, 2H), 3.00 (t,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H).

$^{13}\text{C NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  177.40, 159.54, 137.46, 136.69, 130.16, 128.97, 28.01, 125.67, 124.83, 120.58, 120.16, 118.20, 112.11, 48.76, 19.36.



### Tert-butyl 1-phenyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indole-2-carboxylate (58)

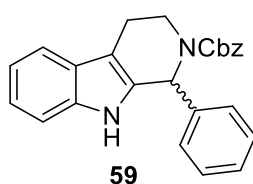
A suspension of tetrahydrocarboline **31** (1.117 g, 4.5 mmol), di-tert-butyl dicarbonate (1.08 g, 4.95 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (4.5 ml) was sonicated for 1h at room temperature. The reaction

## PARTIE EXPERIMENTALE

mixture was extracted with AcOEt. The organic phase was concentrated under reduced pressure and purified on silica gel eluting with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to provide 1.38 g (89%) of the desired compound.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.88 (brs, 1H), 7.57 (d, J= 7.4 Hz, 1H), 7.38-7.12 (m, 7H), 6.41 (brs, 1H), 4.30 (brs, 1H), 3.2-3.08 (m, 1H), 3-2.76 (m, 2H), 1.52 (s, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 140.58, 136.32, 131.89, 128.52, 128.46, 128.39, 128.04, 126.85, 122.08, 119.61, 118.31, 111.01, 110.72, 80.29, 28.59, 27.47, 21.47, 14.24.



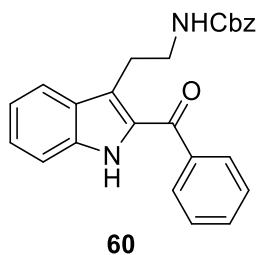
### Benzyl 1-phenyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indole-2-carboxylate (59)

Triethylamine (0.4 ml) and benzyl chloroformate (0.238 g, 1.4 mmol) were added to a solution of tetrahydrocarboline **31** (0.248 g, 1 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (12.4 ml). The mixture was stirred under argon at room temperature for 75 minutes, quenched with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub>, extracted with Et<sub>2</sub>O and dried over MgSO<sub>4</sub>. The phase organic was concentrated and purified on silica gel and Et<sub>2</sub>O to provide 0.37 g (97%) of the desired compound.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.77 (d, J=7.3 Hz, 1H), 7.58-7.49 (m, 2H), 7.38-7.35 (m, 4H), 7.32-7.28 (m, 4H), 7.22-7.1 (m, 2H), 4.28-4.13 (m, 2H), 3.3-3.08 (m, 2H), 3.02-3.77 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 155.64, 139.99, 136.61, 136.28, 131.44, 128.63, 128.59, 128.30, 128.15, 127.91, 126.72, 122.22, 119.70, 118.36, 11.04, 67.49, 54.56, 38.42, 21.65.

## PARTIE EXPERIMENTALE



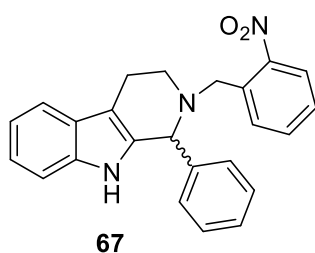
### Benzyl [2-(2-benzoyl-1H-indol-3-yl)ethyl]carbamate (60)

NBS (0.19 g, 1.08 mmol) was added in several portions to a solution of compound **59** (0.36 g, 1 mmol) in 23 ml of THF/H<sub>2</sub>O/AcOH (1:1:1). The reaction mixture was stirred at room temperature for 4h in the dark, quenched with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub>, extracted with AcOEt and dried over MgSO<sub>4</sub>. The phase organic was concentrated and purified by flash chromatography on silica gel with pentane/ Et<sub>2</sub>O (60:40) to provide the ketone **60** (0.155 g, 39%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz; DMSd<sup>6</sup>): δ 11.46 (s, 1H), 7.78-7.74 (m, 2H), 7.57 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.49-7.43 (m, 2H), 7.3-7.25 (m, 8H), 4.97 (s, 2H), 3.27-3.17 (m, 2H), 3.02 (t, *J*=6.8 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz; DMSd<sup>6</sup>): δ 188.99, 156.53, 139.4, 137.74, 137.22, 132.69, 131.95, 129.41, 129.06, 128.78, 128.15, 128.11, 125.73, 121.32, 121.15, 120.28, 113.26, 65.54, 41.92, 25.75.

BR-MS (ESI+): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>–399, 1709, found - 399.17164.



### 2-(2-Nitrobenzyl)-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (67)

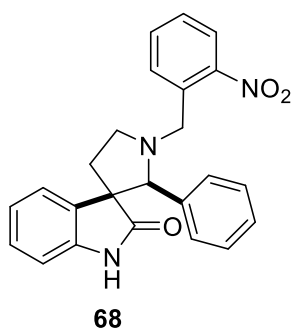
Tetrahydrocarboline **31** (0.248 g, 1 mmol), 2-nitrobenzyl chloride (0.172 g, 1 mmol), Et<sub>3</sub>N (0.1 g, 1 mmol) and NaI (0.029 g, 0.2 mmol) were stirred at 80°C under argon for 2h in acetonitrile (3 ml). The mixture was quenched with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> and extracted with AcOEt, the phase organic was concentrated and dried over MgSO<sub>4</sub> to provide 0.387 g (98 %) of the desired compound.



## PARTIE EXPERIMENTALE

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.77 (t,  $J=7\text{ Hz}$ , 1H), 7.5-7.37 (m, 3H), 7.32-7.27 (m, 1H), 7.25-6.92 (m, 8H), 4.62 (s, 1H), 3.95 (d,  $J=15.8\text{ Hz}$ , 1H), 3.77 (d,  $J=15.8\text{ Hz}$ , 1H), 3.01-2.92 (m, 1H), 2.89-2.79 (m, 1H), 2.76-2.67 (m, 1H), 2.66-2.51 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  149.58, 140.71, 136.33, 135.31, 134.56, 132.86, 130.46, 129.03, 128.77, 128.28, 127.58, 127.12, 124.35, 121.7, 119.49, 118.32, 110.89, 108.91, 64.94, 54.72, 48.85, 21.09.



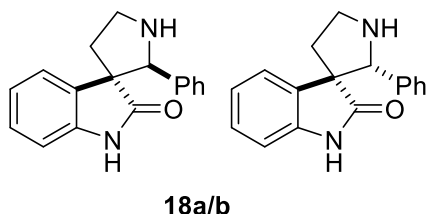
### 1'-(2-Nitrobenzyl)-2'-phenylspiro[indoline-3,3'-pyrrolidin]-2-one (**68**)

A solution of compound **67** (0.21 g, 0.55 mmol) in THF/AcOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (12.7 ml, 1:1:1 ml) was stirred in  $0^\circ\text{C}$ . After 30 min, NBS (0.146 g, 1.1 mmol) was added in several portions for 60 minutes. After completion (reaction monitored by TLC) the mixture was neutralized with  $\text{NaHCO}_3$ , extracted with AcOEt, dried over  $\text{MgSO}_4$ , concentrated under reduced pressure and purified by flash chromatography  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  to provide 157 mg (71%) of the expected spirooxindole **68**.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.97-7.92 (m, 2H), 7.68 (t,  $J=7.5\text{ Hz}$ , 1H), 7.58-7.48 (m, 1H), 7.47-7.36 (m, 2H), 7.14-6.99 (m, 6H), 6.58 (d,  $J=7.4\text{ Hz}$ , 1H), 4.24 (d,  $J=15.4\text{ Hz}$ , 1H), 4.16 (s, 1H), 3.61 (d,  $J=15.4\text{ Hz}$ , 1H), 3.45-3.32 (m, 1H), 2.72-2.51 (m, 1H), 2.19-2.07 (m, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  180.04, 149.39, 139.45, 135.76, 134.50, 132.83, 132.55, 130.44, 127.91, 127.76, 127.71, 127.64, 125.82, 124.38, 122.23, 108.97, 77.98, 59.44, 55.17, 52.68, 33.97.

## PARTIE EXPERIMENTALE



### 2'-Phenylspiro (indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (**18a** and **18b**)

A solution of protected spiro-oxindole **68** (0.05 g, 0.125 mmol) and hydrazine monohydrate (0.016 g, 0.5 mmol) in acetonitrile (10 ml) in a 250 ml Erlenmeyer was disposed at 10 cm away from a 360 nm lamp, irradiated and stirred under argon for 2h. The product was concentrated *in vacuo* and purified by silica gel chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 80:20) to provide 0.018 g (54%) of an inseparable mixture of **18a** and **18b** in a 53:47 ratio.

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO): major isomer (**18a**): δ 10.28 (s, 1H), 7.24 (d, *J*= 7.3 Hz, 1H), 7.16-6.69 (m, 5H), 6.96-6.9 (m, 1H), 6.80-6.74 (t, *J*=7.5Hz, 1H), 6.5 (d, *J*= 7.6Hz, 1H), 4.37 (s, 1H), 3.27-3.17 (m, 2H), 2.44-.34 (m,1H), 2.32-2.18 (m, 1H).

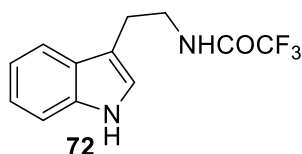
<sup>13</sup>C NMR (500 MHz; DMSO): δ 180.4, 142.6, 139.17, 132.68, 127.79, 127.51, 127.18, 126.79, 125.05, 122.03, 109.15, 71.56, 59.46, 45.15, 38.54.

HR-MS (ESI+): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O– 265.1341, found- 265.13239.

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO): minor isomer (**18b**): δ 7.48 (d, *J*=7.3Hz, 1H), 7.17-6.69 (m, 5H), 6.88-6.82 (m, 2H), 6.64 (d, *J*= 7.6 Hz, 1H), 4.29 (s, 1H), 3.46-3.37 (m, 2H), 2.32-2.18 (m, 1H), 1.98-1.92 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz; DMSO): δ 180.4, 141.4, 137.9, 133, 128.03, 127.97, 127.55, 126.57, 123.12, 121.4, 109.36, 73.63, 59.5, 46.42, 38.49.

HR-MS (ESI+): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O– 265.1341 found- 265.13239.



### *N*-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2,2,2-trifluoroacetamide (**72**)

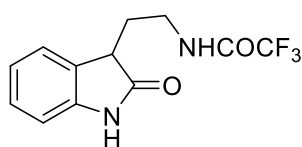
Ethyl trifluoroacetate (2.76 g, 19.46 mmol) was added on dropwise at 0°C to a solution of tryptamine **30** (3.0 g, 18.72 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (16.56 ml). The mixture was stirred at room

## PARTIE EXPERIMENTALE

temperature overnight under argon. The solvent was evaporated under reduced pressure to give 4.70 g (98%) of the desired compound as a white solid.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.16 (br s, 1H), 7.60 (d,  $J=7.9$  Hz, 1H), 7.40 (d,  $J=8$  Hz, 1H), 7.29-7.22 (m, 1H), 7.21-7.13 (m, 1H), 7.45 (d,  $J=2$  Hz, 1H), 3.76-3.64 (m, 2H), 3.07 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H).

$^{13}\text{CNMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  157.37, 157.0, 136.51, 126.97, 122.55, 122.23, 119.81, 118.47, 111.79, 111.44, 40.12, 24.74.



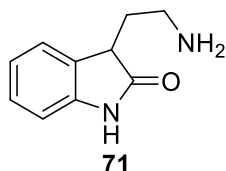
73

### 2,2,2-Trifluoro-N-[2-(2-oxindolin-3-yl)ethyl]acetamide (73)

A solution of indole **72** (1.1 g, 4.29 mmol), DMSO (0.91 ml, 12.87 mmol) and HCl (2.4 ml) was stirred at room temperature for 2h, 5 ml of  $\text{H}_2\text{O}$  was added and the mixture extracted with AcOEt and concentrated to provide 1.08 g (93%) of oxindole **73**.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.41 (brs, 1H), 8.2 (brs, 1H), 7.3-7.23 (m, 3H), 7.09 (t,  $J=7.4$  Hz, 1H), 6.91 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 3.83-3.72 (m, 1H), 3.58-3.45 (m, 2H), 2.43-2.33 (m, 1H), 2.08-1.96 (m, 2H).

$^{13}\text{CNMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  180.48, 157.58, 140.73, 128.65, 128.57, 124, 123.2, 110.07, 45.23, 38.50, 29.05.



71

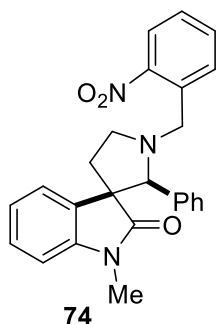
### 3-(2-Aminoethyl)indolin-2-one (71)

A solution of compound **73** (0.43 g, 1.58 mmol), hydrazine monohydrate (0.43 ml) and MeOH (2.5 ml) was stirred at reflux for 4h.  $\text{H}_2\text{O}$  (5 ml) was added and the mixture extracted with AcOEt and concentrated to provide 0.275 g (99%) of the desired compound.

## PARTIE EXPERIMENTALE

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.23 (d,  $J=7.4\text{Hz}$ , 1H), 7.16 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H), 6.95 (d,  $J=7.5\text{ Hz}$ , 1H), 6.83 (d,  $J=7.8\text{ Hz}$ , 1H).

$^{13}\text{C NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  179.78, 142.97, 130.49, 127.90, 124.50, 121.72, 109.65, 43.65, 34.50, 29.53.



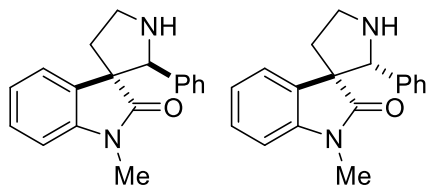
### 1-Methyl-1'-(2-nitrobenzyl)-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (74)

A mixture of compound **68** (0.2 g, 0.5 mmol), cesium carbonate (0.488 g, 1.5 mmol) and iodomethane (0.425 g, 3 mmol) in THF (1.6 ml) was stirred at  $0^\circ\text{C}$  for 10 minutes and at room temperature for 7h. The medium was concentrated *in vacuo* and purified by silica gel column chromatography using pentane/ $\text{Et}_2\text{O}$  (70:30) to provide 0.137 g of the *N*-methyl adduct **74** (66%).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.13-8.02 (m, 2H), 7.91-7.81 (m, 1H), 7.70-7.58 (m, 2H), 7.38-7.13 (m, 7H), 6.73 (d,  $J=7.7\text{ Hz}$ , 1H), 4.53 (d,  $J=15.4\text{ Hz}$ , 1H), 4.4 (s, 1H), 3.89-3.8 (m, 1H), 3.67-3.55 (m, 1H), 3.28 (d,  $J=10.3\text{ Hz}$ , 3H), 2.98-2.84 (m, 1H), 2.83-2.70 (m, 1H), 2.37-2.25 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  178.27, 149.45, 142.7, 135.89, 134.52, 132.76, 132.1, 130.47, 130.43, 127.82, 127.7, 127.59, 127.48, 125.26, 124.32, 122.13, 107.36, 77.94, 59.24, 55.17, 52.69, 33.52, 26.19.

## PARTIE EXPERIMENTALE



**75a/b**

### 1-Methyl-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (**75a/b**)

A solution of compound **74** (0.097 g, 0.234 mmol) and hydrazine monohydrate (0.032 g, 1 mmol) in acetonitrile (20 ml) in a 250 ml Erlenmeyer disposed at 10 cm away from a 360 nm lamp was irradiated and stirred under argon for 2 h. The product was concentrated *in vacuo* and purified by silica gel chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 70:30) to provide 0.024 g (89%) of an inseparable mixture of **75a** and **75b** in a 56:44 ratio.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): Major isomer **75a**:  $\delta$  7.3-7.21 (m, 2H), 7.2-6.97 (m, 5H), 6.94-6.85 (t,  $J=7.5$ , Hz, 1H), 6.79 (d,  $J=7.4$  Hz, 1H), 4.64 (s, 1H), 3.57-3.5 (t,  $J=7.4$  Hz, 2H), 2.67-2.52 (m, 1H), 2.22-2.12 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  178.85, 142.74, 138.23, 131.81, 127.44, 127.67, 126.51, 125.77, 121.99, 107.33, 71.24, 58.95, 45.06, 36.65, 26.22.

HR-MS (ESI+):  $m/z$  ( $M+H^+$ ) calcd for C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O– 279.1497, found- 279.1494.

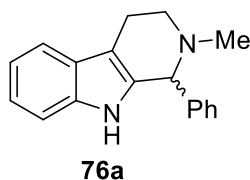
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): Minor isomer **75b**:  $\delta$  7.38 (d,  $J=7.5$  Hz 1H), 7.2-6.97 (m, 6H), 6.65 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 6.57 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 4.31 (s, 1H), 3.96-3.60 (m, 1H), 3.42-3.32 (m, 1H), 2.77 (s, 1H), 2.67-2.57 (m, 1H), 2.41-2.33 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  178.77, 144.04, 135.73, 131.23, 127.96, 127.51, 127.1, 124.68, 122.61, 107.85, 74.58, 59.84, 46.75, 37.23, 25.51, 3.96-3.60 (m, 1H), 3.42-3.32 (m, 1H), 2.77 (s, 1H), 2.67-2.57 (m, 1H), 2.41-2.33 (m, 1H).

HR-MS (ESI+):  $m/z$  ( $M+H^+$ ) calcd for C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O– 279.1497, found- 279.1494.

## PARTIE EXPERIMENTALE

**General Procedure for the synthesis of *N*-alkylated analogues of tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole:** A solution of tetrahydrocarboline **31** (1.2 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.5 eq) and alkyl halide (1.2 eq) in 10 mL of acetonitrile was stirred at reflux. After completion (reaction monitored by TLC) some ice was added and the precipitate filtered to provide the desired compound.

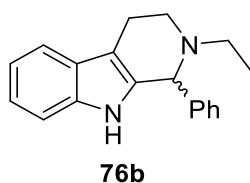


### 2-Methyl-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (76a):

This compound was prepared from the reaction of tetrahydrocarboline **31** (0.297 g, 1.2 mmol), with methyl iodide (0.204 g, 1.44 mmol) following the general procedure to provide 0.220 g (0.84 mmol, 70 %) of the title compound.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.15 (s, 1H), 7.43-7.39 (d, *J*=7.4 Hz, 1H), 7.38-7.28 (m, 5H), 7.19 (d, *J*=7.9 Hz, 1H), 7.01-6.91 (m, 2H), 4.38 (s, 1H), 3.14-3.06 (m, 1H), 2.94-2.84 (m, 1H), 2.94-2.85 (m, 1H), 2.8-2.71 (m, 1H), 2.68-2.6 (m, 1H), 2.22 (s, 3H)

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 140.88, 136.35, 134.96, 129.13, 128.73, 128.21, 127.16, 121.53, 119.39, 118.3, 110.81, 108.86, 67.44, 53.32, 43.59, 21.66.



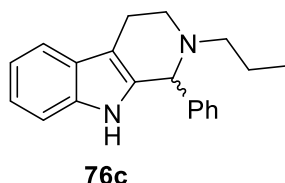
### 2-Ethyl-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (76b)

This compound was prepared from the reaction of tetrahydrocarboline **31** (0.297 g, 1.2 mmol), with ethyl iodide (0.224 g, 1.44 mmol) following the general procedure to provide 0.240 g (0.86 mmol, 72 %) of the title compound.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.56-7.50 (m, 1H), 7.39-7.28 (m, 5H), 7.20-7.04 (m, 3H), 4.61 (s, 1H), 3.36-3.27 (m, 1H), 3.05-2.65 (m, 4H), 2.50-2.37 (m, 1H), 1.09 (t, *J*=7.2 Hz, 3H).

## PARTIE EXPERIMENTALE

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  141.37, 136.28, 135.04, 129.09, 128.68, 128, 127.20, 121.45, 119.32, 118.30, 110.77, 109.02, 64.16, 47.91, 47.86, 21.29, 11.95.

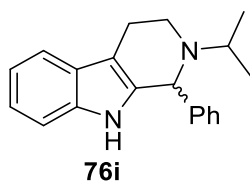


### 1-Phenyl-2-propyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (76c)

This compound was prepared from the reaction of tetrahydrocarboline **31** (0.297 g, 1.2 mmol), with 1-bromopropane (0.177 g, 1.44 mmol) following the general procedure to provide 0.315 g (1.08 mmol, 90 %) of the title compound.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.56-7.49 (m, 1H), 7.40-7.30(m, 5H), 7.20-7.06 (m, 3H), 4.58 (s,1H), 3.36-3.28 (m, 1H), 3.02-3.91 (m,1H), 2.90-2.80 (m, 1H), 2.75-2.65 (m,1H), 2.60-2.50 (m, 1H), 2.40-2.29 (m, 1H), 1.57-1.41(m, 1H), 0.87-0.78 (t,  $J=7.3$  Hz, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  141.6, 136.26, 135.15, 129.11, 128.62, 127.93, 127.22, 121.44, 119.31, 118.29, 110.77, 109.01, 64.67, 55.97, 48.37, 21.28, 20.22, 11.06.



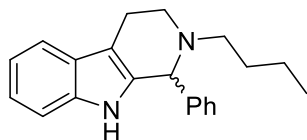
### 2-Isopropyl-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (76i)

This compound was prepared from the reaction of tetrahydrocarboline **31** (0.297 g, 1.2 mmol), with isopropyl iodide (0.244 g, 1.44 mmol) following the general procedure to provide 0.261 g (0.9 mmol, 75 %) of the title compound.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.54-7.49 (m, 1H), 7.42-7.28 (m, 4H), 7.20-7.04 (m, 3H), 4.84 (s, 1H), 3.28-3.21 (m, 1H), 2.98-2.68 (m, 3H), 1.12-0.98 (dd,  $J=6.7,6.5$ Hz, 6H).

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  142.24, 136.27, 135.94, 128.82, 128.74, 127.90, 127.29, 121.29, 119.25, 118.25, 110.72, 109.20, 77.06, 62.14, 48.14, 48.53, 41.68, 22.01, 21.88, 13.89.

## PARTIE EXPERIMENTALE



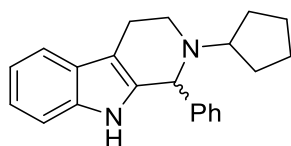
76d

### 2-Butyl-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (76d)

This compound was prepared from the reaction of tetrahydrocarboline **31** (0.297 g, 1.2 mmol), with 1-iodobutane (0.264 g, 1.44 mmol) following the general procedure to provide 0.330 g (1.08 mmol, 90 %) of the title compound.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.55-7.49 (m, 1H), 7.39-7.28 (m, 5H), 7.19-7.04 (m, 3H), 4.56 (s, 1H), 3.37-3.27 (m, 1H), 3.02-2.90 (m, 1H), 2.89-2.79 (m, 1H), 2.74-2.54 (m, 2H), 2.39-2.30 (m, 1H), 1.53-1.44 (m, 2H), 1.35-1.11 (m, 2H), 0.82 (t,  $J=7.3$  Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  141.62, 130.13, 129.10, 128.58, 127.90, 127.24, 123.24, 121.41, 119.30, 118.26, 110.74, 64.74, 53.74, 48.37, 29.28, 21.28, 20.47, 14.00.



76e

### 2-cyclopentyl-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (76e)

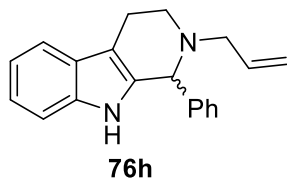
This compound was prepared from the reaction of tetrahydrocarboline **31** (0.297 g, 1.2 mmol), with cyclopentyl iodide (0.282 g, 1.44 mmol) following the general procedure to provide 0.227 g (0.72 mmol, 60 %) of the title compound.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.58-7.51 (m, 1H), 7.47-7.27 (m, 5H), 7.25-7.20 (m, 1H), 7.18-7.05 (m, 2H), 4.91 (s, 1H), 3.25-3.08 (m, 2H), 3.01-2.82 (m, 2H), 2.81-2.70 (m, 1H), 1.89-1.42 (m, 8H).

**<sup>13</sup>C NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  141.96, 136.14, 134.05, 128.98, 128.51, 127.65, 121.54, 119.34, 118.26, 110.78, 109.92, 61.82, 60.93, 42.09, 31.51, 27.72, 24.59, 24.05, 19.70.



## PARTIE EXPERIMENTALE

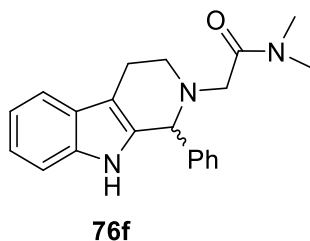


### 2-Allyl-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (76h)

This compound was prepared from the reaction of tetrahydrocarboline **31** (0.297 g, 1.2 mmol), with allyl bromide (0.174 g, 1.44 mmol) following the general procedure to provide 0.218 g (0.756 mmol, 63 %) of the title compound.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.9 (s, 1H), 7.6-7.52 (m, 1H), 7.37-7.27 (m, 5H), 7.23-7.08 (m, 3H), 5.8 (m, 1H), 4.9 (s, 1H), 4.82 (m, 2H), 3.03 (d, 2H), 2.65-2.6 (m, 2H), 2.57-2.54 (m, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  140.48, 136.28, 134.19, 129.55, 128.76, 128.59, 128.32, 121.62, 119.39, 111.28, 110.86, 109.23, 64.05, 56.94, 53, 21.02.



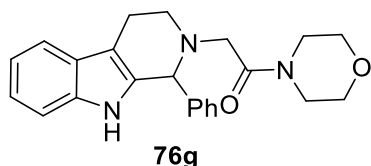
### *N,N*-Dimethyl-2-(1-phenyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol-2-yl)acetamide (76f)

This compound was prepared from the reaction of tetrahydrocarboline **31** (0.297 g, 1.2 mmol), with 2-chloro-*N,N*-dimethylacetamide (0.175 g, 1.44 mmol) following the general procedure to provide 0.260 g (0.78 mmol, 65 %) of the title compound.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.88 (s, 1H), 7.59-7.52 (m, 1H), 7.38-7.29 (m, 5H), 7.23-7.08 (m, 3H), 4.84 (s, 1H), 3.49 (d,  $J = 14.2$  Hz, 1H), 3.31-3.24 (m, 1H), 3.19 (d,  $J = 14.2$  Hz, 1H), 2.98-2.91 (m, 3H), 2.88 (s, 3H), 2.84 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.37, 140.48, 136.28, 134.19, 129.55, 128.76, 128.59, 128.32, 121.62, 119.39, 118.28, 110.86, 109.23, 64.05, 56.94, 49.03, 37.09, 35.66, 21.02.

## PARTIE EXPERIMENTALE

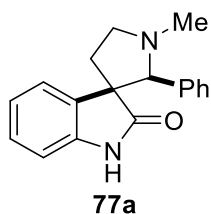


### 1-Morpholino-2-(1-phenyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol-2-yl)ethan-1-one (76g)

This compound was prepared from the reaction of tetrahydrocarboline **31** (0.297 g, 1.2 mmol), with 2-chloro-1-morpholinoethan-1-one (0.215 g, 1.44 mmol) following the general procedure to provide 0.330 g (0.96 mmol, 80 %) of the title compound.

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.57-7.52 (m, 1H), 7.42-7.38 (brs, 1H), 7.37-7.28 (m, 5H), 7.21-7.16 (m, 1H), 7.15-7.09 (m, 2H), 4.62 (s, 1H), 3.82-3.74 (m, 1H), 3.73-3.66 (m, 1H), 3.63-3.44 (m, 5H), 3.48 (d, *J*=13.3 Hz, 1H), 3.39-3.27 (m, 2H), 3.17-3.08 (m, 1H), 3.11 (d, *J*= 13.4 Hz, 1H), 3.04-2.84 (m, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 168.99, 140.03, 136.31, 133.96, 129.64, 128.66, 126.88, 121.78, 119.52, 118.30, 110.91, 109.33, 66.79, 64.81, 60.46, 57.48, 49.23, 45.99, 42.26, 21.30, 21.12, 14.25.



### 1'-Methyl-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (77a)

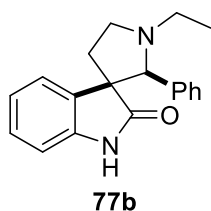
A solution of pyrrolidine **18a/b** (0.27 mmol), methyl iodide (1.5 eq), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.5 eq) in 2.7 mL of toluene was stirred at room temperature for 20h. The solvent was then evaporated, H<sub>2</sub>O (5 ml) was added, the mixture extracted with ethyl acetate, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure and purified by silica gel chromatography with AcOEt/DCM (20:80) to provide 0.034 g (46%) of the *N*-methyl adduct **77a**.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.88 (brs, 1H), 7.38 (d, *J*= 7.2 Hz, 1H), 7.14-7.04 (m, 5H), 6.99 (td, *J*= 0.9, 7.6 Hz, 1H), 6.90 (t, *J*= 7.3 Hz, 1H), 6.57 (d, *J*= 7.6 Hz, 1H), 3.81 (s, 1H), 3.60-3.49 (m, 1H), 2.79 (q, *J*= 9Hz, 1H), 2.6-2.51 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.21-2.10 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 180.98, 139.39, 136.53, 133.14, 127.86, 127.50, 127.43, 127.20, 125.84, 121.99, 108.81, 79.09, 59.98, 55.37, 40.54, 34.48.

HR-MS (ESI<sup>+</sup>): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O, 279.15 found- 279.1492.

## PARTIE EXPERIMENTALE



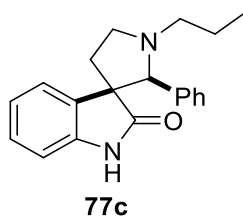
### 1'-Ethyl-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (**77b**)

A solution of compound **76b** (0.193 g, 0.7 mmol) in THF/AcOH/H<sub>2</sub>O (12.7 ml, 1:1:1) was stirred in 0°C. After 30min, NBS (0.103 g, 1.1 mmol) was added in several portions for 60 minutes. After 2h the mixture was neutralized with NaHCO<sub>3</sub>, extracted with AcOEt, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure and purified by flash chromatography CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to provide the desired spiro compound **77b** (0.46.2 mmol, 66%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.12 (s, 1H), 7.41 (d, *J*= 7.3 Hz, 1H), 7.12-7.06 (m, 2H), 7.05-7.96 (m, 4H), .90 (td, *J*=0.6, 7.5 Hz, 1H), 6.58 (d, *J*= 7.6 Hz, 1H), 3.99 (s, 1H), 3.68-3.60 (m, 1H), 2.81-2.70 (m, 2H), 2.60-2.51 (m, 1H), 2.22-2.07 (m, 2H), 1.16 (t, *J*= Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 181.24, 139.61, 137.07, 132.97, 127.84, 127.44, 127.39, 127.12, 125.85, 121.91, 108.99, 77.16, 59.79, 51.53, 47.81, 34.19, 13.76.

HR-MS (ESI+): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O- 293.1648 found- 293.17.



### 2'-Phenyl-1'-propylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (**77c**)

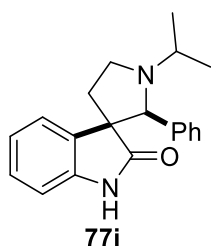
A solution of compound **76c** (0.145 g, 0.5 mmol) in THF/AcOH/H<sub>2</sub>O (12.7 ml, 1:1:1) was stirred in 0°C. After 30min, NBS (0.073 g, 0.55 mmol) was added in several portions for 60 minutes. After 2h (reaction monitored by TLC) the mixture was neutralized with NaHCO<sub>3</sub>, extracted with AcOEt, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure and purified by flash chromatography CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to provide the desired spiro compound **77c** (0.4 mmol, 80%).

## PARTIE EXPERIMENTALE

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.71 (brs, 1H), 7.41 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.14-6.86 (m, 6H), 6.91 (td, *J* = 7.6, 1.1 Hz, 1H), 6.56 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 3.98 (s, 1H), 3.68-3.58 (m, 1H), 2.77-2.51 (m, 3H), 2.19-2.01 (m, 2H), 1.62-1.52 (m, 2H), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 181.46, 139.78, 137.06, 133, 127.95, 127.42, 127.13, 125.79, 121.91, 109.16, 77.35, 59.94, 55.68, 51.75, 34.15, 21.91, 11.95.

**HR-MS** (ESI+): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O– 307.18 found- 307.1805.



### 1'-Isopropyl-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (**77i**)

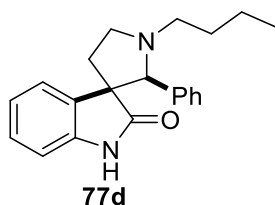
A solution of compound **76i** (0.145 g, 0.5 mmol) in THF/AcOH/H<sub>2</sub>O (12.7 ml 1:1:1) was stirred in 0°C. After 30 min, NBS (0.073 g, 0.55 mmol) was added in several portions for 60 minutes. After 2 h the mixture was neutralized with NaHCO<sub>3</sub>, extracted with AcOEt, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure and purified by flash chromatography CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to provide the desired spiro compound **77i** (0.35 mmol, 70%).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.83 (s, 1H), 7.38 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.13-6.96 (m, 6H), 6.91 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.58 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 4.31 (s, 1H), 3.38-3.30 (m, 1H), 3.21-3.14 (m, 1H), 3.04-2.96 (m, 1H), 2.53-2.43 (m, 1H), 2.10-2.01 (m, 1H), 1.2 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.94 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 180.56, 139.49, 137.26, 132.56, 128.04, 127.37, 127.15, 125.94, 121.87, 108.85, 72.93, 59.68, 46.92, 42.62, 34.13, 22.66, 12.49.

**HR-MS** (ESI+): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O– 307.18 found- 307.1805.

## PARTIE EXPERIMENTALE



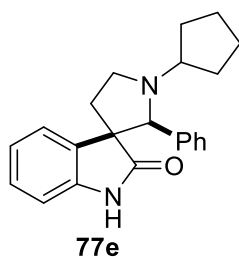
### 1'-Butyl-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (**77d**)

A solution of compound **76d** (0.21 g, 0.4 mmol) in THF/AcOH/H<sub>2</sub>O (12.7 ml, 1:1:1) was stirred in 0°C. After 30min, NBS (0.005 g, 0.044 mmol) was added in several portions for 60 minutes. After 2h (reaction monitored by TLC) the mixture was neutralized with NaHCO<sub>3</sub>, extracted with AcOEt, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to provide the desired spiro compound **77d** (0.26 mmol, 65%).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.11 (br s, 1H), 7.40 (d, *J*=7.3Hz, 1H), 7.12-7.06 (m, 2H), 7.03-6.96 (m, 4H), 6.91 (t, *J*=7.5 Hz, 1H), 6.58 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 3.97 (s, 1H), 3.67-3.56 (m, 1H), 2.76-2.64 (m, 2H), 2.61-2.50 (m, 1H), 2.17-2.06 (m, 1H), 1.66-1.24 (m, 4H), 0.92 (t, *J*=6.9 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 180.75, 139.58, 137.28, 132.57, 128.03, 127.37, 127.15, 125.92, 121.86, 108.92, 72.91, 59.72, 46.93, 42.63, 34.14, 22.67, 12.50.

**HR-MS** (ESI+): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O– 321.20 found- 321.1961.



### 1'-Cyclopentyl-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (**77e**)

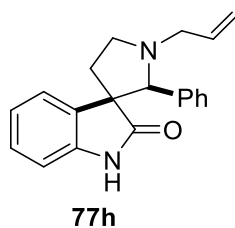
A solution of compound **76e** (0.088 g, 0.28 mmol) in THF/AcOH/H<sub>2</sub>O (6 ml, 1:1:1) was stirred at 0°C. After 30 min, NBS (0.04 g, 0.308 mmol) was added in several portions for 60 minutes. After 2.5 h the mixture was neutralized with NaHCO<sub>3</sub>, extracted with AcOEt, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure and purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) to provide the desired spiro compound **77e** (0.182 mmol, 65%).

## PARTIE EXPERIMENTALE

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.76 (brs, 1H), 7.22 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.16-7.09 (m, 2H), 7.05-6.96 (m, 4H), 6.87 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.59 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.23 (s, 1H), 3.49-4.0 (m, 1H), 3.23-3.12 (m, 2H), 2.53-2.43 (m, 1H), 2.13-2.02 (m, 1H), 1.73-1.45 (m, 7H), 1.43-1.34 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 180.66, 139.48, 138.29, 132.22, 128.06, 127.38, 127.30, 127.08, 125.96, 121.87, 108.79, 74.79, 61.34, 59.76, 46.11, 34.63, 31.37, 24.76, 24.29, 24.20.

**HR-MS** (ESI+): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O, 333.20 – 329.07 found- 333.1961.



### 1'-Allyl-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (77h)

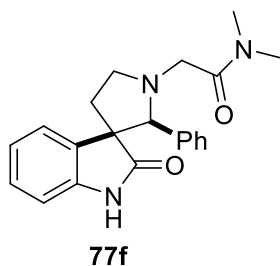
A solution of compound **18a/b** (0.05 g, 0.189 mmol), allyl bromide (0.034 g, 0.283 mmol) and DIPEA (1.5 eq) in 2 mL of acetonitrile was stirred at room temperature for 9h. After completion the solvent was evaporated. H<sub>2</sub>O (5 ml) was added, the mixture extracted with ethyl acetate and dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure and purified by silica gel chromatography (AcOEt/DCM, 10:90) to provide 0.037 g (61%) of the desired compound.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.05 (brs, 1H), 7.41 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.14-7.07 (m, 2H), 7.04-6.96 (m, 4H), 6.91 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.58 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.02-5.90 (m, 1H), 5.25 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.14 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 4.05 (s, 1H), 3.63-3.55 (m, 1H), 3.59 (ddd, *J* = 9, 4.4 Hz, 1H), 3.46-3.38 (m, 1H), 2.81-2.70 (m, 1H), 2.60-2.50 (m, 1H), 2.16-2.06 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 180.97, 139.56, 136.67, 135.83, 132.84, 127.82, 127.54, 127.46, 127.27, 125.83, 121.97, 116.52, 108.99, 76.67, 59.63, 56.34, 51.93, 34.24.

**HR-MS** (ESI+): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O– 305.17 found- 305.1648.

## PARTIE EXPERIMENTALE



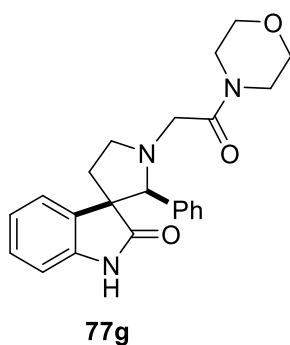
### **N,N-Dimethyl-2-[2-oxo-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-1'-yl]acetamide (77f)**

A solution of compound **76f** (0.11 g, 0.3 mmol) in THF/AcOH/H<sub>2</sub>O (6 ml, 1:1:1) was stirred in 0°C. After 30min, NBS (0.04 g, 0.33 mmol) was added in several portions for 60 minutes. After 2 h, the mixture was neutralized with NaHCO<sub>3</sub>, extracted with AcOEt, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure and purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) to provide the desired spiro compound **77f** (0.24 mmol, 80 %).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.78 (brs, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.14-7.08 (m, 2H), 7.06-7.98 (m, 4H), 6.92 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.57 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 4.18 (s, 1H), 3.89-3.80 (m, 1H), 3.57 (d, *J* = 15 Hz, 1H), 3.03 (d, *J* = 15 Hz, 1H), 2.95 (s, 3H), 2.93 (s, 3H), 2.91-2.83 (m, 1H), 2.66-2.57 (m, 1H), 2.18-2.09 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 180.19, 169.92, 139.49, 136.18, 132.34, 128.01, 127.57, 126.13, 122.15, 108.94, 59.44, 55.43, 52.30, 36.67, 35.55, 34.34.

**HR-MS** (ESI<sup>+</sup>): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>– 349,18 found– 349,18.



### **1'-(2-Morpholino-2-oxoethyl)-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (77g)**

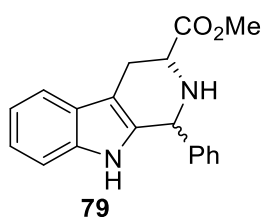
A solution of compound **76g** (0.191 g, 0.55 mmol) in THF/AcOH/H<sub>2</sub>O (12.7 ml, 1:1:1) was stirred in 0°C. After 30min, NBS (0.08 g, 0.605 mmol) was added in several portions for 60 minutes. After 2.5 h the mixture was neutralized with NaHCO<sub>3</sub>, extracted with AcOEt, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure and purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) to provide the desired spiro compound **77g** (0.43 mmol, 79%).

## PARTIE EXPERIMENTALE

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.91 (brs, 1H), 7.46 (d,  $J=7.3$  Hz, 1H), 7.11-6.97 (m, 6H), 6.93 (t,  $J=7.5$  Hz, 1H), 6.59 (d,  $J=7.6$  Hz, 1H), 4.14 (s, 1H), 3.86-3.77 (m, 1H), 3.74-3.31 (m, 8H), 3.56 (d,  $J=14.5$  Hz, 1H), 3.04 (d,  $J=14.7$  Hz, 1H), 2.96-2.87 (m, 1H), 2.67-2.56 (m, 1H), 2.20-2.06 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  180, 168.59, 139.52, 135.95, 132.19, 128.01, 127.78, 127.71, 125.92, 122.16, 109.04, 66.97, 66.66, 59.36, 55.51, 52.33, 45.55, 41.98, 34.25, 30.35.

**HR-MS** (ESI+):  $m/z$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_3$ – 391,20 found– 391,20.



### Methyl (*R,S*)-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (79)

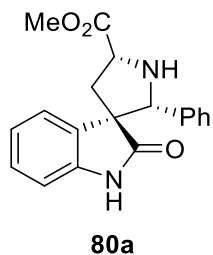
*D*-Tryptophan methyl ester hydrochloride (2.00 g, 7.85 mmol) was dissolved in glacial acetic acid (20 ml), followed by addition of  $\text{SiO}_2$  (10 g) and benzaldehyde (0.87 g, 11.2 mmol). The mixture was stirred at 80°C for 1h30, filtrated and the remaining silica gel rinsed with a mixture of  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  57:3. The combine filtrate was concentrated, neutralized with saturated solution of  $\text{NaHCO}_3$  and extracted with  $\text{AcOEt}$ . The organic phase was concentrated under reduced pressure, dried over  $\text{MgSO}_4$ , purified by silica column to give 2.37 g (98%) of the desired compound.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.63-7.09 (m, 18H), 5.40 (s, 1H), 5.24 (s, 1H), 4.01-3.96 (m, 2H), 3.18 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.32-2.97 (m, 4H).

$^{13}\text{C NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.19, 173.24, 142.03, 140.74, 136.19, 136.16, 134.72, 133.26, 129.02, 128.80, 128.66, 128.45, 127.13, 127.01, 122, 121.99, 119.08, 119.55, 118.29, 118.26, 110.97, 110.94, 108.96, 108.84, 58.74, 56.94, 54.99, 52.60, 52.32, 52.18, 25.75, 24.69.



## PARTIE EXPERIMENTALE



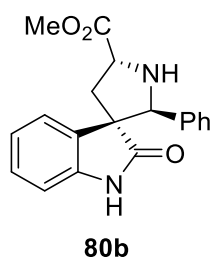
### Methyl (2'R,3R,5'R)-2-oxo-2'-phenylspiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-5'-carboxylate (**80a**)

A solution of compound **79** (0.704 g, 2.3 mmol) in THF/AcOH/H<sub>2</sub>O (67 ml, 1:1:1) was stirred in 0°C. After 30min, NBS (0.421 g, 2.5 mmol) was added in several portions for 60 minutes. After 3h the mixture was neutralized with NaHCO<sub>3</sub>, extracted with AcOEt, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) to provide the spiro compounds **80a** (43%), **80b** (13%), **80c** (15%), **80d** (28%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.34 (s, 1H), 7.41 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.22-7.16 (m, 2H), 7.08-7 (m, 4H), 6.94 (td, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.64 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.36 (td, *J* = 7.6 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 2.79-2.71 (m, 1H), 2.56-2.48 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 179.50, 175.59, 137.43, 131.07, 127.91, 127.59, 127.46, 126.73, 125.36, 122.23, 109.46, 69.35, 59.64, 57.43, 52.56, 39.85.

HR-MS (ESI<sup>+</sup>): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>– 323,14 found- 323,139.



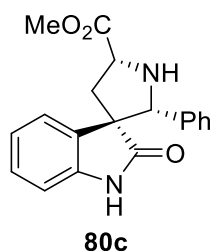
### Methyl (2'S,3S,5'R)-2-oxo-2'-phenylspiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-5'-carboxylate (**80b**)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.02 (br s, 1H), 7.28 (t, *J* = 3.7 Hz, 1H), 7.18-7.13 (m, 2H), 7.10-7.05 (m, 3H), 7.02 (td, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.9 (td, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.61 (d, *J* = 7.6 Hz, H), 4.69 (s, 1H), 4.4-4.33 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3-2.91 (m, 1H), 2.43-2.37 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 180.17, 174.06, 171.25, 139.62, 136.61, 131.55, 127.92, 127.74, 127.67, 127.58, 126.58, 125.40, 122.33, 109.20, 71.57, 60.46, 59.01, 57.75, 52.42, 40.26, 14.24.

HR-MS (ESI<sup>+</sup>): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>– 323,14 found- 323,139.

## PARTIE EXPERIMENTALE

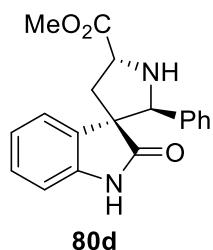


### Methyl (2'R,3S,5'R)-2-oxo-2'-phenylspiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-5'-carboxylate (80c)

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.41-4.33 (m, 2H), 7.2 (td,  $J=1.3, 7.6$  Hz, 1H), 7.15-7.04 (m, 4H), 6.96-6.90 (m, 2H), 6.67 (d,  $J=7.2$  Hz, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.55-4.47 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 2.84-2.73 (m, 1H), 3.64-2.52 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  179.80, 175.42, 140.91, 135.62, 130.06, 128.38, 127.92, 127.89, 126.16, 122.95, 122.76, 109.59, 72.14, 60, 58.82, 52.50, 39.81.

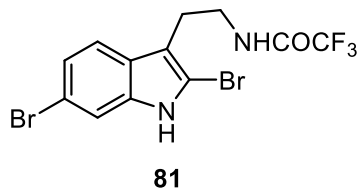
**HR-MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  ( $M+H^+$ ) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3$ – 323,14 found– 323,139.



### Methyl (2'S,3R,5'R)-2-oxo-2'-phenylspiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-5'-carboxylate (80d)

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.75 (brs, 1H), 7.36 (d,  $J=8.1$  Hz, 1H), 7.21-7.16 (m, 1H), 7.14-7.03 (m, 4H), 6.91 (t,  $J=6.7$  Hz, 2H), 6.68 (d,  $J=7.2$  Hz, 1H), 4.46 (s, 1H), 4.32-4.26 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 2.8-2.55 (m, 3H).

## PARTIE EXPERIMENTALE

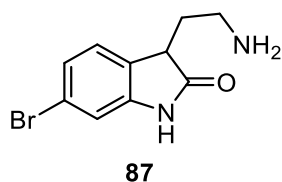


### ***N*-[2-(2,6-Dibromo-1H-indol-3-yl)ethyl]-2,2,2-trifluoroacetamide (81)**

NBS (1.4 g, 8 mmol) was added at 0°C to suspension of protected tryptamine **72** (1.025 g, 4 mmol) and SiO<sub>2</sub> (2 g) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml). The mixture was stirred at room temperature in the dark for 2h, concentrated and the product was purified by silica chromatography to give 1.08 g (65%) of the desired compound.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.3 (brs, 1H), 7.46 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.26-7.22 (m, 1H), 6.43 (brs, 1H), 3.7-3.56 (m, 2H), 3.07 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 157.95, 157.58, 136.88, 126.23, 123.58, 118.8, 116.06, 113.82, 111.43, 109.76, 39.93, 24.15.



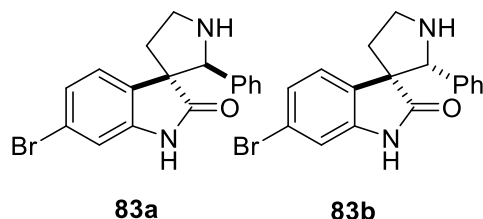
### ***N*-[2-(6-Bromo-2-oxoindolin-3-yl)ethyl]-2,2,2-trifluoroacetamide (87)**

A solution of compound **81** (0.5 g, 1.2 mmol) in 1 ml THF and 6 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% was stirred in 130°C for 1 day. The reaction mixture was evaporated and neutralized with NaHCO<sub>3</sub> followed by addition of AcOEt. The mixture was filtered on celite and concentrated to provide 78% of the desired compound.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO): δ 7.21-7.17 (m, 1H), 7.14-7.10 (m, 1H), 7.25 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 3.53 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 2.98-2.85 (m, 2H), 2.03-1.97 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 178.69, 144.68, 128.58, 126.36, 124.51, 120.96, 112.88, 42.87, 36.89, 28.09.

## PARTIE EXPERIMENTALE



### 6-Bromo-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (**83a/b**)

A solution of oxindole **87** (0.75 g, 2.939 mmol), benzaldehyde (0.311 g, 3.94 mmol) and Et<sub>3</sub>N (4 ml) in DMF 15 ml was stirred at room temperature for 2h. The reaction mixture was extracted with AcOEt 30 ml and the organic layer was washed with H<sub>2</sub>O (4× 50 ml), dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated and purified on silica gel to give 40 mg (4%) of an inseparable mixture of **83a** and **83b** in a 66:33 ratio.

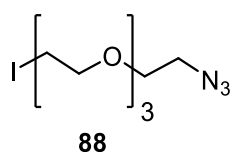
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ major isomer **83a**: δ 8.39 (brs, 1H), 7.25-7.20 (m, 2H), 7.17-7.03 (m, 4H), 6.98 (d, *J*=1 Hz, 1H), 6.89-6.85 (m, 2H), 4.31 (s, 1H), 3.62-3.52 (m, 1H), 3.37-3.27 (m, 1H), 2.52-2.42 (m, 1H), 2.36-2.26 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 180.97, 142.53, 135.42, 130.7, 128.06, 127.79, 126.60, 125.92, 125.48, 123.75, 121.37, 113.11, 73.92, 59.60, 46.24, 37.73.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ minor isomer **83b**: δ 7.17-7.03 (m, 6H), 6.84-6.81 (m, 2H), 6.77-6.74 (m, 1H), 4.6 (s, 1H), 3.51-3.44 (m, 2H), 2.78 (br s, 2H- NH), 2.61-2.51 (m, 1H), 2.18-2.01 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 181.2, 141.27, 135.42, 131.24, 129.58, 127.86, 126.7, 126.42, 125.97, 124.84, 120.92, 112.64, 70.84, 58.98, 46.67, 37.06.

HR-MS (ESI<sup>+</sup>): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>BrN<sub>2</sub>O -343.0446, found - 343.0445.



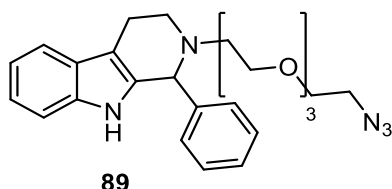
### 1-Azido-2-[2-[2-(2-iodoethoxy)ethoxy]ethoxy]ethane(**88**)

A solution of 1-iodo-2-[2-[2-(2-iodoethoxy)ethoxy]ethoxy]ethane (2.93 g, 7.09mmol), sodium azide (0.46 g, 7.08 mmol) and tetra-*n*-butylammonium bromide (0.13 g, 0.35 mmol) in DMF (50 ml) was stirred at room temperature overnight. The mixture was quenched with H<sub>2</sub>O and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The organic phase washed 5 times with H<sub>2</sub>O and concentrated under reduced pressure to provide 1.86 g of azide **88** (80%) as a colorless oil.

## PARTIE EXPERIMENTALE

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.74 (td,  $J=1.7, 7.2$  Hz, 2H), 3.68-3.64 (m, 10H), 3.40-3.36 (m, 2H), 3.25 (td,  $J=1.4, 6.9$  Hz, 2H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  40.69, 40.48, 40.28, 40.07, 39.86, 39.65, 39.44.

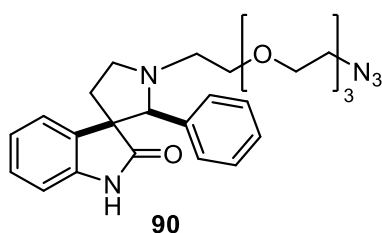


### 2-[2-(2-Azidoethoxy)ethyl]-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**89**)

A solution of tetrahydrocarboline **31** (1.18 g, 4.7 mmol), iodide **88** (1.6 g, 4.7 mmol) and  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.5 ml) in acetonitrile (14 ml) was stirred in  $80^\circ\text{C}$  for 16h evaporated under reduced pressure and purified by silica gel chromatography ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ , 90:10) to provide 580 mg (28%) of the desired compound as white solid.

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.56-7.51 (m, 1H); 7.47 (br s, 1H), 7.35-7.32 (m, 4H), 7.20-7.15 (m, 1H), 7.12-7.08 (m, 2H), 4.81 (s, 1H), 3.7-3.53 (m, 12H), 3.38-3.27 (m, 3H), 3-2.8 (m, 4H), 2.7-2.6 (m, 1H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  136.29, 129.18, 128.59, 127.94, 127.21, 121.46, 119.27, 118.23, 110.79, 108.82, 71.96, 70.76, 70.73, 70.64, 70.25, 70.15, 69.98, 53.0, 50.64, 49.07, 20.98.



### 1'-[2-(2-Azidoethoxy)ethyl]-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (**90**)

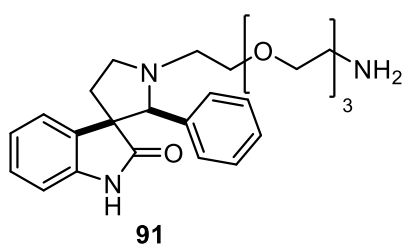
A solution of compound **89** (0.5 g, 1.1 mmol) in 30 ml of  $\text{THF}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1:1) was stirred in  $0^\circ\text{C}$ . After 30 min NBS (0.146 g, 1.1 mmol) was added in portions during 60 minutes. After 3h the mixture was neutralized with  $\text{NaHCO}_3$ , extracted with  $\text{AcOEt}$ , dried over  $\text{MgSO}_4$ , concentrated under reduced pressure and purified by  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  (60:40) to provide 209 mg (39%) of the desired compound.

## PARTIE EXPERIMENTALE

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.9 (br s, 1H), 7.38 (d,  $J=7.4\text{ Hz}$ , 1H), 7.12-7.07 (m, 2H), 7.04-6.96 (m, 4H), 6.92-6.86 (m, 1H), 6.27 (d,  $J=7.7\text{ Hz}$ , 1H), 4.06 (s, 1H), 3.72-3.62 (m, 12 H), 3.37 (t,  $J=4.9\text{ Hz}$ , 2H), 2.79-2.81 (m, 3H), 2.61-2.52 (m, 1H), 2.45-2.37 (m, 1H), 2.16-2.06 (m, 1H).

$^{13}\text{CNMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  180.84, 139.64, 136.85, 132.75, 127.92, 127.48, 127.43, 127.23, 125.82, 121.88, 108.96, 77.28, 70.81, 70.77, 70.76, 70.45, 70.42, 59.39, 53.01, 52.73, 50.71, 34.56.

**HR-MS** (ESI+):  $m/z$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) calcd for  $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_4$  -466.2449, found - 466.2466.



### 1'-[2-[2-[2-(2-Aminoethoxy)ethoxy]ethoxy]ethyl]-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (91)

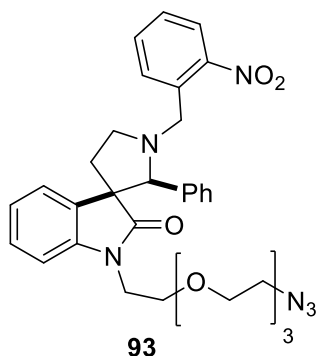
A solution of azide **90** (0.08 g, 0.171 mmol), 1,3-propanedithiol (0.092 g, 0.855 mmol),  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.7 ml) was stirred at room temperature for 48h under argon in anhydrous methanol (1 ml). The mixture was concentrated under reduced pressure, purified by silica gel chromatography eluting with a 95/5 solution of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  and ammonia saturated MeOH to provide 45 mg (56%) of the desired compound as a colorless oil.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.38-7.30 (m, 1H), 7.12-7.04 (m, 2H), 7.02-6.93 (m, 4H), 6.91-6.84 (m, 1H), 6.52 (d,  $J=7.3\text{ Hz}$ , 1H), 4.05 (s, 1H), 3.74-3.56 (m, 11H), 3.50 (t,  $J=5.3\text{ Hz}$ , 2H), 2.97-2.77 (m, 4H), 2.6-2.5 (m, 1H), 2.45-2.35(m, 1H), 2.15-2.05 (m, 1H), 2.04-1.78 (brs, 2H).

$^{13}\text{CNMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  180.88, 139.72, 136.89, 132.73, 127.91, 127.47, 127.41, 127.21, 125.78, 121.83, 108.96, 77.2, 73.1, 70.73, 70.68, 70.41, 70.35, 59.38, 52.94, 52.69, 34.58.

**HR-MS** (ESI+):  $m/z$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) calcd for  $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_4$  -440.2544, found- 440.2549.

## PARTIE EXPERIMENTALE

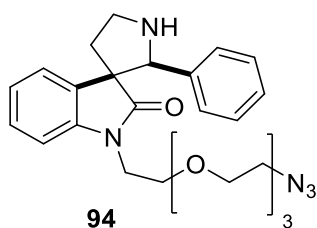


### 1-[2-[2-[2-(2-Azidoethoxy)ethoxy]ethoxy]ethyl]-1'-(2-nitrobenzyl)-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (93)

A solution of compound **68** (0.159 g, 0.4 mmol), iodide **88** (1.1 eq) and  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (3.75 eq) in (2 ml) of DMF was stirred at room temperature for 3h. Then  $\text{H}_2\text{O}$  (5 ml) was added, the mixture extracted with ethyl acetate and dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered, and concentrated under reduced pressure and purified by silica gel chromatography and  $\text{Et}_2\text{O}$  to provide 0.195 g (81%) of the desired compound.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.9-7.8 (m, 2H), 7.68-7.59 (m, 1H), 7.47-7.38 (m, 2H), 7.10-6.98 (m, 8H), 6.7-6.64 (m, 1H), 4.23 (d,  $J$ = 15.4 Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 3.95-3.80 (m, 2H), 3.68-3.32 (m, 21H), 2.71-2.50 (m, 3H), 2.13-2.06 (m, 1H).

$^{13}\text{CNMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  180.25, 149.38, 139.57, 135.79, 134.52, 132.85, 132.56, 130.44, 127.90, 127.76, 127.71, 127.64, 125.78, 124.38, 122.20, 109.07, 77.95, 70.74, 70.07, 59.48, 55.17, 52.66, 50.71, 33.98.



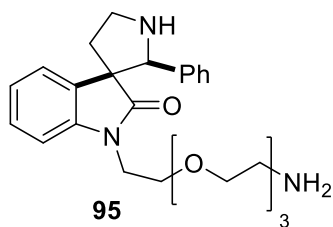
### 1-[2-[2-[2-(2-Azidoethoxy)ethoxy]ethoxy]ethyl]-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one(94)

A solution of compound **93** (0.155 g, 0.258 mmol) and hydrazine monohydrate (0.033 g, 1.032 mmol) in acetonitrile (22 ml) in a 250 ml Erlenmeyer disposed at 10 cm away from a 360 nm lamp was irradiated and stirred under argon for 2h. The product was concentrated *in vacuo* and purified by silica gel chromatography ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ : 80:20) to provide 0.073 g (61%) of the desired compound.

## PARTIE EXPERIMENTALE

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.4-7.33 (m, 1H), 7.24-7 (m, 8H), 6.91-6.9 (m, 5H), 4.63- (s, 1H), 4.35 (s, 1H), 3.74-3.22 (m, 29H), 3.05-3.98 (m, 1H), 2.88-2.8 (m, 1H), 2.67-2.55 (m, 2H), 2.51-2.33 (m, 2H).

$^{13}\text{CNMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  178.76, 178.25, 143.66, 142.90, 142.31, 135.41, 133.17, 131.63, 130.90, 130.76, 127.94, 127.81, 127.62, 127.49, 126.69, 126.15, 126, 125.11, 124.71, 122.73, 122.62, 122.06, 115.06, 110.86, 109.03, 108.34, 74.79, 74.28, 70.73, 70.71, 70.68, 70.59, 70.54, 70.43, 70.08, 68.13, 59.51, 58.68, 50.70, 46.74, 46.59, 44.97, 40.01, 39.32, 37.14, 36.73.



### 1-[2-[2-[2-(2-Aminoethoxy)ethoxy]ethoxy]ethyl]-2'-phenylspiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-2-one (95)

A solution of azide **94** (0.043 g, 0.073 mmol), 1,3-propanedithiol (0.093 g, 0.365 mmol),  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.06 ml) was stirred at room temperature for 48h under argon in anhydrous methanol (1 ml). The mixture was concentrated under reduced pressure, purified by silica gel chromatography eluting with a 95/5 solution of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  and ammonia saturated MeOH to provide 0.015 g (47%) of the desired compound as a colorless oil.

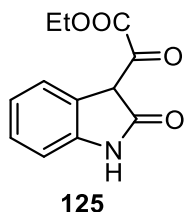
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.53 (d,  $J=7.3$  Hz, 1H), 7.38 (d,  $J=6.7$  Hz, 1H), 7.31-7.27 (m, 1H), 7.21-7.06 (m, 8H), 6.92 (t,  $J=7.5$  Hz, 1H), 6.73 (d,  $J=7.8$  Hz, 1H), 6.67 (d,  $J=7.9$  Hz, 1H), 4.97 (s, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.15-3.08 (m, 33H), 2.68-2.33 (m, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  177.14, 175.01, 143.59, 142.59, 132.07, 129.55, 129.43, 129.27, 128.76, 128.58, 128.45, 128.37, 126.80, 126.73, 125.62, 124.50, 123.15, 123.04, 122.51, 109.70, 109.34, 70.09, 69.96, 69.76, 68.50, 67.58, 66.43, 57.24, 43.11, 39.87, 39.60, 39.36, 39.28, 33.26.

**HR-MS** (ESI+):  $m/z$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) calcd for  $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_4$ - 440.25, found- 440.2551.



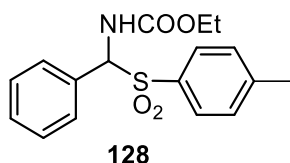
## 5.2. Procedures for Chapter 3.2.

**Ethyl 2-oxo-2-(2-oxoindolin-3-yl)acetate (125)**

Diethyl oxalate (1.6 g, 11 mmol) was added to a solution of oxindole **123** (1.33 g, 10 mmol) and NaH (0.64 g, 27 mmol) in THF 40 ml. The mixture was stirred at room temperature for 3h, quenched with KHSO<sub>4</sub> and H<sub>2</sub>O, extracted with AcOEt, and concentrated to provide 1.15 g (49%) of the desired compound.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.46 (br s, 1H), 8.22 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.25 (t, *J*=8.9 Hz, 1H), 7.10 (t, *J*=7.7 Hz, 1H), 6.98 (d, *J*=7.5 Hz, 1H), 4.50 (q, *J*=7 Hz, 2H), 1.46 (t, *J*=7 Hz, 3H).

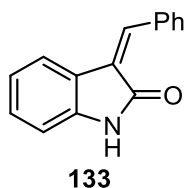
<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 174.12, 162.42, 155.89, 137.48, 128.25, 125.04, 123.06, 120.21, 110.28, 107.51, 62.59, 14.14.

**Ethyl [phenyl(tosyl)methyl]carbamate (128)**

A solution of ethyl carbamate (4.45 g, 50 mmol), sodium tosylate (8.9 g, 50 mmol), benzaldehyde (5.73 g, 54 mmol) and formic acid 12 ml in THF 20 ml and H<sub>2</sub>O 50 ml was stirred at room temperature overnight. The white precipitate was filtered and rinsed with H<sub>2</sub>O and pentane to provide 6.87 g (41%) of **128** as a white powder.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.73 (d, *J*=8.3 Hz, 2H), 7.46-7.36 (m, 5H), 7.31 (d, *J*=8 Hz, 2H), 5.9-4 (m, 2H), 4.05-3.88 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 1.11 (t, *J*=6.4 Hz, 3H).

## PARTIE EXPERIMENTALE

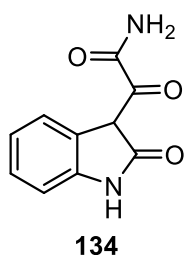


### (Z)-3-Benzylideneindolin-2-one (133)

A solution of ester (**125**) (0.069 g, 0.3 mmol), carbamate (**128**) (0.1 g, 0.3 mmol) and  $K_2CO_3$  (1 ml) in acetonitrile (1 ml) was stirred at room temperature for 3h.  $H_2O$  (2 ml) was added. The medium was extracted with AcOEt, purified by silica gel chromatography ( $CH_2Cl_2/MeOH$  90:10) to provide 0.02 g (30%) of compound **133**.

$^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.34 (br s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.7-7.61 (m, 3H), 7.52-7.4 (m, 3H), 7.25-7.19 (t, d,  $J=7.8$  Hz, 0.8 Hz, 1H), 6.94-6.84 (m, 2H).

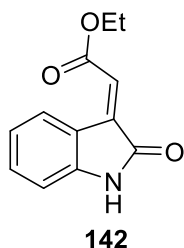
$^{13}C$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  169.54, 169.53, 141.15, 137.36, 134.66, 129.68, 129.46, 129.09, 128.47, 127.18, 122.92, 121.68, 109.79.



### 2-Oxo-2-(2-oxoindolin-3-yl)acetamide (134)

A solution of ethyl 2-oxo-2-(2-oxoindolin-3-yl) acetate (0.2 g, 0.857 mmol) was stirred at  $60^\circ C$  for 1h in ammonia saturated MeOH (4.28 ml) in a tube closed by a stopper. The product was filtered and the solvent removed under reduced pressure to provide 119 g (68%) of the desired compound.

$^1H$  NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  10.36 (s, 1H), 7.18 (d, d,  $J=7.8$  Hz, 17.9, 2H), 6.94 (t,  $J=7.3$  Hz, 1H), 6.82 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 3.38 (brs, 1H).

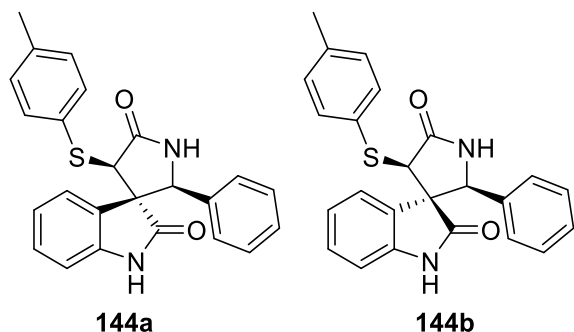


### Ethyl (Z)-2-(2-oxoindolin-3-ylidene) acetate (**142**)

Isatine (1.62 g, 11 mmol) was added to a solution of ethyl 2-(triphenyl-*l*-5-phosphanylidene) acetate **140** (4.26 g, 12.23 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 mL) at 0 °C. After stirring for 8 h at 0 °C, the mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified on silica gel to provide 2.03 g (85%) of the desired compound as a red solid.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.55 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.12 (brs, 1H), 7.33 (ddd, *J* = 1.3, 1.1, 1.3 Hz, 1H), 7.04 (ddd, *J* = 0.9, 1, 1 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.85 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.35 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.37 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 169.03, 165.6, 143.24, 138.01, 132.55, 129.1, 122.91, 122.69, 120.47, 110.04, 61.25, 14.21.



### 2'-Phenyl-4'-(*p*-tolylthio)spiro(indoline-3,3'-pyrrolidine)-2,5'-dione (**144a/b**)

A solution of oxindole **142** (4.12 g, 19 mmol), *p*-toluenethiol (2.35 g, 19 mmol) and piperidine (0.94 ml, 9.5 mmol) in MeOH (90 ml) was stirred at 25 °C for 2 h. A solution of benzaldehyde (1.93 ml, 19 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (1.75 g, 22.8 mmol), and piperidine (0.94 ml, 9.5 mmol) in EtOH (100 ml) was added and the medium was stirred at room temperature for 24 h. The concentrated mixture was purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/pentane 90:10) give **144a** (1.60 g, 21%) and **144b** (0.57 g, 5%) as yellow solids.

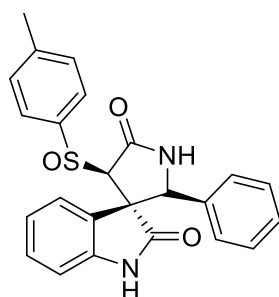
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMS *d*<sup>6</sup>) major isomer **144a**: δ 10.54 (s, 1H), 8.9 (s, 1H), 7.22-7.18 (m, 2H), 7.14-7 (m, 9H), 6.83 (td, *J* = 0.9, 7.7 Hz, 1H), 6.57 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 5.1 (s, 1H), 4.56 (s, 1H), 2.26 (s, 3H).

## PARTIE EXPERIMENTALE

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz, DMS  $d^6$ ):  $\delta$  176.32, 173.05, 142.46, 136.97, 135.93, 131.66, 131.08, 129.94, 129.23, 128.26, 128.18, 126.39, 126.1, 125.59, 121.3, 110.01, 62.89, 62.43, 57.69, 21.07.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMS  $d^6$ ) minor isomer **144b**:  $\delta$  10.04 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 7.73 (d,  $J=7.3$  Hz, 1H), 7.22-6.96 (m, 9H), 6.9-6.86 (m, 2H), 6.61 (d,  $J=7.5$  Hz, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 2.21 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz, DMS  $d^6$ ):  $\delta$  175.07, 172.62, 143.35, 136.63, 136.05, 132.56, 130.89, 129.8, 129.38, 128.42, 128.18, 127.87, 126.86, 124.48, 122.1, 109.55, 63.27, 62.73, 57.35, 20.96.



**146**

### 2'-Phenyl-4'-(p-tolylsulfinyl)spiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-2,5'-dione (**146**)

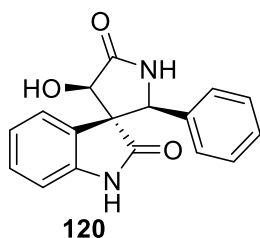
A solution of *m*-CPBA (0.759 g, 4.4 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) was added dropwise with syringe over 10 min to a solution of spiro-oxindole **144a** (1.5 g, 3.745 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (55 ml) stirred at  $-35$  °C under stirring. The reaction mixture was stirred at  $-35$  °C for 2h and quenched with a saturated solution of  $\text{NaHCO}_3$ . After extraction with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , the organic layer was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated. The crude mixture was purified on silica column eluting with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  to give 0.421 g (27%) of the desired compound.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMS  $d^6$ ):  $\delta$  10.43 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 7.55 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H), 7.35 (d,  $J=7.9$  Hz, 3H), 7.12-6.95 (m, 6H), 6.86 (td,  $J=7.7, 1$  Hz, 1H), 6.49 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 4.97 (s, 1H), 4.67 (s, 1H), 2.38 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz, DMS  $d^6$ ):  $\delta$  175.73, 169.39, 142.96, 142.03, 140.63, 134.55, 129.86, 129.27, 128.33, 128.10, 126.67, 126.27, 125.97, 124.91, 120.80, 109.90, 72.01, 64.00, 60.81, 55.37, 21.48.

HR-MS (ESI+):  $m/z$  ( $M+H^+$ ) calcd for  $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$  – 417.1273, found - 417.1262.

## PARTIE EXPERIMENTALE



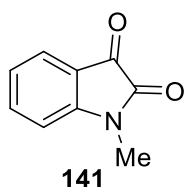
### 4'-Hydroxy-2'-phenylspiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-2,5'-dione (120)

A solution of sulfoxide **146** (0.4 g, 0.96 mmol), trifluoroacetic anhydride (0.27ml, 1.92 mmol) and Et<sub>3</sub>N (0.19 ml, 1.92 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml) was stirred at room temperature for 4h. After evaporation of the CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOH (4 ml) and NaBH<sub>4</sub> (0.094g, 2.6 eq) were added at 0 °C. The mixture was stirred overnight and quenched with H<sub>2</sub>O (10ml), extracted with AcOEt, concentrated and purified by silica column chromatography eluting with a solution of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (95:5 ) to provide 55 mg (20%) of the desired compound.

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, MeOD): δ 7.17-7.08 (m, 6H), 7.06- 7.01 (td, *J*=7.8, 1.3 Hz, 1H), 6.85 (td, *J*=7.5, 1 Hz, 1H), 6.68-6.85 (m, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.91-s, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, MeOD): δ 179.52, 177.5, 143.22, 136.72, 129.64, 129.12, 129.09, 127.4, 127.33, 126.13, 122.66, 110.89, 76.2, 65.83, 62.1.

HR-MS (ESI+): *m/z* (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – 295.1083, found - 295.1078.



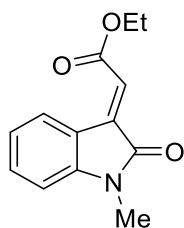
### 1-Methylisatine (141)

NaH (0.95 g, 39.66 mmol) was added at 0°C to a solution of isatine (5 g, 34 mmol) in DMF (40 ml), and stirred for 5 min. Methyl iodide (5.6 g, 39.66 mmol) was added and the mixture was stirred for 40 min at 0°C, quenched with NH<sub>4</sub>Cl and extracted with AcOEt, concentrated to provide 5.4 g (98%) of the desired compound.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.62-7.55 (m, 2H), 7.13-7.08 (m, 1H), 6.90 (d, *J*=7.9 Hz, 1H), 3.23 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 183, 158.27, 151.47, 138.46, 125.23, 123.85, 109.99, 26.23

## PARTIE EXPERIMENTALE



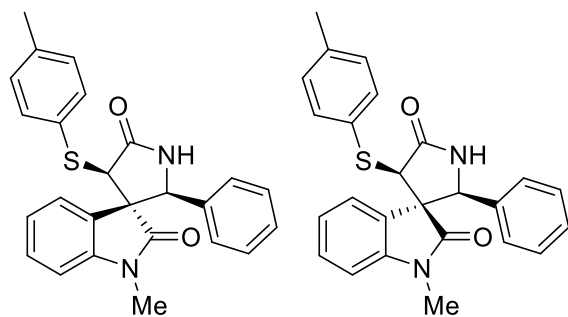
**143**

### Ethyl (Z)-2-(1-methyl-2-oxoindolin-3-ylidene)acetate (**143**)

A solution of *N*-methylisatine **141** (2.5 g, 11.5 mmol) and ethyl 2-(triphenyl-*l*-5-phosphanylidene) acetate (4.4 g, 12.65 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (60 ml) was stirred at 0°C for 12 h. The mixture was concentrated and purified by silica gel chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/pentane 60:40) to provide 1.70 g (64%) of the desired compound.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.58-8.54 (m, 1H), 7.37 (ddd, *J*= 1.3, 7.8, 7.8 Hz, 1H), 7.06 (ddd, *J*= 1, 7.7, 7.7 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.81-6.78 (m, 1H), 4.36-4.29 (q, *J*= 7.2 Hz, 2H), 3.23 (s, 1H), 1.4-1.34 (t, *J*=7.2 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 167.58, 165.69, 146.01, 137.88, 132.41, 128.76, 122.83, 122.49, 119.91, 108.11, 61.18, 26.25, 14.21.



**145a**

**145b**

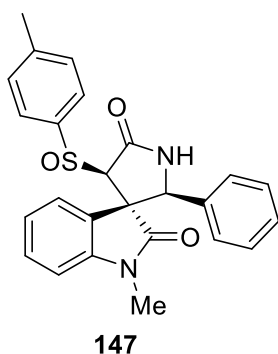
### 1-Methyl-2'-phenyl-4'-(*p*-tolylthio)spiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-2,5'-dione (**145**)

A solution of oxindole **143** (5.08 g, 22 mmol), *p*-toluenethiol (2.73g, 22 mmol) and Et<sub>3</sub>N (1.55 g, 15 mmol) in toluene (60 ml) was stirred in room temperature for 2h. A solution of benzaldehyde (2.33 g, 22 mmol), ammonium acetate (3.73 g, 48.4 mmol) and piperidine (1.31 g, 15.4 mmol) in EtOH (90 ml) was added. The mixture was stirred for 48h at room temperature. The concentrated mixture was purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/pentane 90:10) give **145a** (4.118 g, 46%) and **145b** (2.50 g, 28%).

## PARTIE EXPERIMENTALE

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.32-7.27 (m, 2H), 7.19-7.03 (m, 11H), 7.02-6.99 (m, 2H), 6.97-6.9 (m, 6H), 6.89-6.82 (m, 3H), 6.63-6.6 (m, 1H), 6.5-6.47 (m, 1H), 5.23 (s, 1H), 4.99 (s, 1H), 4.8 (s, 1H), 4.34 (s, 1H), 2.9 (s, 3H), 2.76 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.2 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.55, 173.81, 172.83, 172.64, 144.78, 143.46, 137.82, 137.8, 134.55, 134.13, 133.23, 133.08, 130.98, 129.44, 129.32, 129.06, 128.98, 128.57, 128.2, 128.14, 126.26, 126.22, 126.16, 125.73, 124.85, 122.76, 122.6, 121.88, 108.1, 107.92, 63.96, 63.51, 62.91, 62.51, 58.5, 57.46, 26.21, 25.57, 21.06, 21.01.



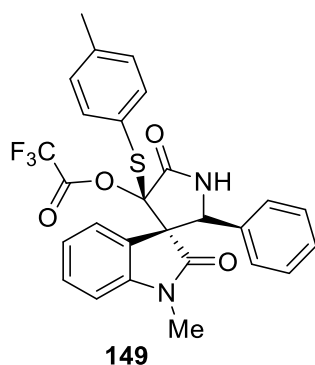
### 1-Methyl-2'-phenyl-4'-(p-tolylsulfinyl)spiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-2,5'-dione (**147**)

A solution of *m*-CPBA (0.83 g, 4.9 mmol) in 15 mL of dichloromethane was added dropwise with a syringe to a solution of spirooxindol **145a** (2 g, 4.8 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (80 ml) at  $0^\circ\text{C}$  over 10 min.. The reaction mixture was stirred at  $0^\circ\text{C}$  for 2h and quenched with a saturated solution of  $\text{NaHCO}_3$  and extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , the organic layer was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated. The crude mixture was purified on silica gel (DCM 100%) to give 0.66 g (32%) of the desired compound.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.6-7.53 (m, 3H), 7.18-7.11 (m, 2H), 7.1-7.05 (m, 3H), 7-6.96 (m, 2H), 6.54-6.51 (d,  $J=7.8$ , 1H), 6.11 (s, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.67 (s, 1H), 3.07 (s, 3H), 2.39 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.05, 169.39, 143.94, 142.12, 139.1, 133.1, 129.56, 129.52, 128.55, 128.17, 128.13, 125.88, 125.82, 123.4, 121.67, 108.3, 71.56, 63.95, 60.35, 26.57, 21.51.

HR-MS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) calcd for  $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$  – 431.14, found - 431.1462.

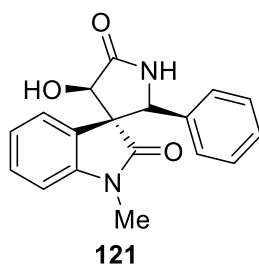


**1-Methyl-2,5'-dioxo-2'-phenyl-4'-(p-tolylthio)spiro(indoline-3,3'-pyrrolidin)-4'-yl 2,2,2-trifluoroacetate (149)**

A solution of sulfoxide **147** (0.05g, 0.116 mmol) and anhydrous trifluoroacetic acid (0.05g, 0.238 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 ml) was stirred at room temperature overnight. The mixture was concentrated and purified by silica gel chromatography (DCM/AcOEt 90:10) to give 10 mg (16%) of the desired compound.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.09 (dd,  $J = 7.5, 0.8$  Hz, 1H), 7.44-7.37 (m, 3H), 7.21-7.06 (m, 6H), 6.90 (d,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 6.67 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 5.35 (s, 1H), 2.66 (s, 3H), 2.36 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169.57, 166.6, 143.87, 141.42, 136.87, 132.33, 130.22, 129.92, 129.82, 129.81, 129.1, 128.17, 126.79, 125.71, 124.63, 122.77, 122.61, 108.49, 92.94, 65.84, 63.2, 25.61, 21.4.



**4'-Hydroxy-1-methyl-2'-phenylspiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-2,5'-dione (121)**

A solution of compound **149** (0.03 g, 0.057 mmol) and  $\text{NaBH}_4$  (0.0047 g, 0.125 mmol) in EtOH (1 ml) was stirred at 0 °C overnight. The mixture was quenched with 10 ml of  $\text{H}_2\text{O}$  and extracted with AcOEt, concentrated and purified by silica gel chromatography ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  97:3) to give 10 mg (57%) of the desired compound as white solid.

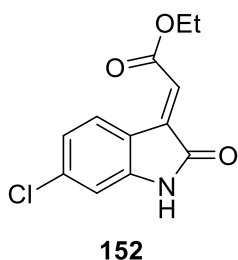
$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, MeOD):  $\delta$  7.19 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.14-7.08 (m, 4H), 7.06-7.03 (m, 2H), 6.92 (td,  $J = 7.6, 0.9$  Hz, 1H), 6.75 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.93 (s, 1H), 3.19 (s, 3H).



## PARTIE EXPERIMENTALE

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, MeOD):  $\delta$  175.94, 175.86, 143.54, 135.04, 128.32, 128.11, 127.63, 127.03, 125.66, 125.61, 123.96, 121.74, 108.05, 74, 59, 63.93, 60.62, 25.31.

HR-MS (ESI+):  $m/z$  ( $M+H^+$ ) calcd for  $C_{18}H_{17}N_2O_3$  – 309.1239, found - 309.1225.



### Ethyl (*E*)-2-(6-chloro-2-oxoindolin-3-ylidene) acetate (152)

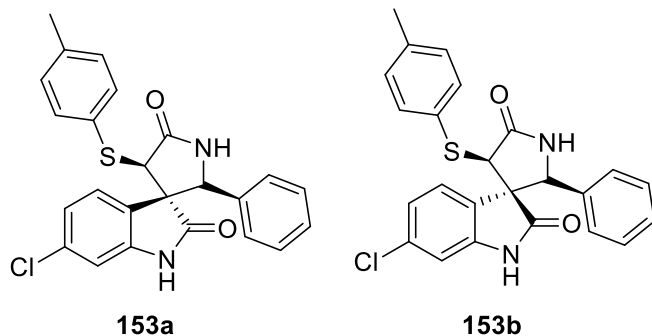
6-Chloroisatine (7.98 g, 44 mmol) was added at 0 °C to a solution of phosphonium salt (16.849 g, 48.4 mmol) in  $CH_2Cl_2$  (65 ml). After stirring for 8 h at 0 °C, the mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel column chromatography ( $CH_2Cl_2$ /pentane 60:40).

to provide 11 g (99%) of the desired compound as a red solid.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.53 (d,  $J=8.3$  Hz, 1H), 7.02 (dd,  $J=1.8$  Hz, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.86 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H), 4.33 (q,  $J=7$  Hz, 2H), 1.37 (t,  $J=7.2$  Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  168.56, 165.54, 144.03, 138.39, 136.90, 130.29, 123.09, 123.06, 118.96, 110.55, 61.42, 14.20.

## PARTIE EXPERIMENTALE

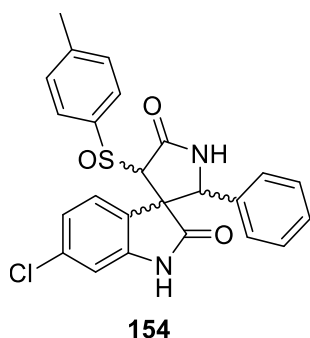


### 6-Chloro-2'-phenyl-4'-(p-tolylthio)spiro(indoline-3,3'-pyrrolidine)-2,5'-dione (**153a/b**)

A solution of benzaldehyde (2.04 ml, 20 mmol), ammonium acetate (1.85 g, 24 mmol) and piperidine (0.99 ml, 10 mmol) in EtOH (100 ml) was added to a solution of oxindole **152** (5.03 g, 20 mmol), p-toluenethiol (2.484 g, 20 mmol) and piperidine (0.99 ml, 10 mmol) in MeOH (100 ml). The mixture was stirred for 48h at room temperature, concentrated and purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/pentane 90:10) to give a mixture of diastereoisomers **153a/b** (2.464 g, 28%) with a 77:23 ratio as a yellow solid.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.16-7.08 (m, 10H), 7.08-7.82 (m, 9H), 6.73 (d, *J*=1.9 Hz, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.3 (s, 1H), 2.25 (s, 3H), 4.23 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 175.73, 174.73, 174.67, 173.74, 172.30, 172.24, 142.88, 141.87, 138.47, 138.32, 135.14, 133.65, 133.55, 132.92, 132.83, 130.12, 129.82, 129.72, 129.66, 129.03, 128.94, 128.62, 128.57, 126.62, 126.35, 126.23, 125.02, 123.97, 122.70, 122.64, 110.79, 110.70, 64.52, 63.63, 62.96, 59.56, 58.99, 55.05, 53.47, 21.08, 21.08.



### 6-Chloro-2'-phenyl-4'-(p-tolylsulfinyl)spiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-2,5'-dione (**154**)

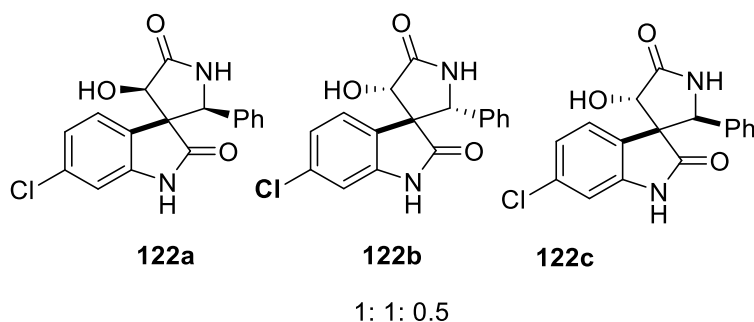
A solution of *m*-CPBA (0.537 g, 3.11 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 10 ml was added dropwise with a syringe to a solution of spirooxindol **153a/b** (1.13 g, 2.598 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 ml). The reaction mixture was stirred at -15 °C for 2h, quenched with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub>, extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated and purified by chromatography

## PARTIE EXPERIMENTALE

(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/pentane 70:30) to give 616 mg (55%) of **154** as a mixture of diastereoisomers with a 62:37ratio.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.39 (d, J= 8.1 Hz, 1H), 7.22-6.97 (m, 12H), 6.93-6.85 (m, 4H), 6.64 (d, J= 1.8 Hz, 1H), 6.26 (s, 1H), 6.21 (d, J=1.6 Hz, 1H), 5.09 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.44 (s, 1H), 4.24 (s, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.22 (s, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, MeOD): 175.31, 174.38, 171.87, 171.45, 144.18, 144.14, 143.57, 142.67, 135.45, 135.01, 134.81, 134.01, 133.26, 133.06, 129.40, 128.58, 128.53, 128.19, 127.70, 127.65, 127.04, 126.93, 126.81, 126.31, 126.03, 125.14, 125.04, 121.89, 120.88, 110.12, 109.89, 71.19, 70.65, 60.19, 60.12, 59.50, 59.42, 20.23, 20.08.



### 6-Chloro-4'-hydroxy-2'-phenylspiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-2,5'-dione (**122a/b/c**)

A solution of sulfoxide **154** (0.3 g, 0.665 mmol), anhydrous trifluoroacetic acid (0.186 ml, 1.33 mmol) and Et<sub>3</sub>N (0.18 ml, 1.33mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml) was stirred at room temperature for 4h and concentrated in vacuo. EtOH (4 ml) and NaBH<sub>4</sub> (0.076g, 1.995 mmol) were added at 0 °C, and the mixture was stirred overnight, quenched with H<sub>2</sub>O (10ml), extracted with AcOEt, concentrated and the purified by chromatograph (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5) to give 105 mg (48%) of an inseparable mixture of **122a/b/c** in a 1: 1: 0.5 ratio.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.66 (d, J= 7.9 Hz, 1H), 7.36-7.33 (m, 1H), 7.24-7.04 (m, 13H), 6.87 (d, J= 1.9 Hz, 1H), 6.83 (d, J= 2 Hz, 1H), 6.75 (d, J= 1.8 Hz, 1H), 6.66 (d, J= 1.9 Hz, 1H), 5.10 (s, 1H), 5.09 (s, 1H), 4.96 (s, 1H), 4.90 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.70 (s, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 178.08, 175.39, 175.25, 175.10, 144.38, 144.15, 137.94, 134.83, 134.39, 134.11, 128.23, 128.01, 127.79, 127.72, 126.98, 126.23, 126.05, 125.85, 125.74, 125.37, 124.43, 109.77, 109.66, 109.60, 75.44, 74.64, 74.01, 64.02, 63.51, 60.48, 60.44, 59.83.

HR-MS (ESI+): m/z (M+H<sup>+</sup>) calcd for C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>– 329.07 found- 329.069

## PARTIE EXPERIMENTALE

## ***6. REFERENCES***

---

## PARTIE EXPERIMENTALE

## REFERENCES

1. Chowdhury, D.; Kumar, D.; Sarma, P.; Tangutur, A. D.; Bhadra, M. P., PHB in Cardiovascular and Other Diseases: Present Knowledge and Implications. *Curr Drug Targets* **2017**, *18* (16), 1836-1851.
2. Koushyar, S.; Jiang, W. G.; Dart, D. A., Unveiling the potential of prohibitin in cancer. *Cancer Letters* **2015**, *369* (2), 316-322.
3. Guan, X.; Liu, Z.; Wang, L.; Johnson, D. G.; Wei, Q., Identification of prohibitin and prohibiton as novel factors binding to the p53 induced gene 3 (PIG3) promoter (TGYCC)(15) motif. *Biochemical and biophysical research communications* **2014**, *443* (4), 1239-1244.
4. Zhang, Y.; Wang, L.-N.; Lin, Y.-N.; Xing, Y.-X.; Shi, Y.; Zhao, J.; Chen, W.-W.; Han, B., The novel long noncoding RNA LOC283070 is involved in the transition of LNCaP cells into androgen-independent cells via its interaction with PHB2. *Asian journal of andrology* **2018**, *20* (5), 511-517.
5. Gomez, L.; Paillard, M.; Price, M.; Chen, Q.; Teixeira, G.; Spiegel, S.; Lesnefsky, E. J., A novel role for mitochondrial sphingosine-1-phosphate produced by sphingosine kinase-2 in PTP-mediated cell survival during cardioprotection. *Basic research in cardiology* **2011**, *106* (6), 1341-1353.
6. Lu King, M.; Chiang, C.-C.; Ling, H.-C.; Fujita, E.; Ochiai, M.; McPhail, A. T., X-Ray crystal structure of rocaglamide, a novel antileulemic 1H-cyclopenta[b]benzofuran from *Aglaia elliptifolia*. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1982**, (20), 1150-1151.
7. Zhao, Q.; Abou-Hamdan, H.; Désaubry, L., Recent Advances in the Synthesis of Flavaglines, a Family of Potent Bioactive Natural Compounds Originating from Traditional Chinese Medicine. *European Journal of Organic Chemistry* **2016**, *2016* (36), 5908-5916.
8. Truitt, Morgan L.; Conn, Crystal S.; Shi, Z.; Pang, X.; Tokuyasu, T.; Coady, Alison M.; Seo, Y.; Barna, M.; Ruggero, D., Differential Requirements for eIF4E Dose in Normal Development and Cancer. *Cell* **2015**, *162* (1), 59-71.
9. Polier, G.; Neumann, J.; Thuaud, F.; Ribeiro, N.; Gelhaus, C.; Schmidt, H.; Giaisi, M.; Köhler, R.; Müller, Wolfgang W.; Proksch, P.; Leippe, M.; Janssen, O.; Désaubry, L.; Krammer, Peter H.; Li-Weber, M., The Natural Anticancer Compounds Rocaglamides Inhibit the Raf-MEK-ERK Pathway by Targeting Prohibitin 1 and 2. *Chemistry & Biology* **2012**, *19* (9), 1093-1104.
10. Yurugi, H.; Marini, F.; Weber, C.; David, K.; Zhao, Q.; Binder, H.; Desaubry, L.; Rajalingam, K., Targeting prohibitins with chemical ligands inhibits KRAS-mediated lung tumours. *Oncogene* **2017**, *36* (33), 4778-4789.
11. Doudican, N. A.; Orlow, S. J., Inhibition of the CRAF/prohibitin interaction reverses CRAF-dependent resistance to vemurafenib. *Oncogene* **2016**, *36*, 423.
12. Yuan, G.; Chen, X.; Liu, Z.; Wei, W.; Shu, Q.; Abou-Hamdan, H.; Jiang, L.; Li, X.; Chen, R.; Désaubry, L.; Zhou, F.; Xie, D., Flavagline analog FL3 induces cell cycle arrest in urothelial carcinoma cell of the bladder by inhibiting the Akt/PHB interaction to activate the GADD45 $\alpha$  pathway. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* **2018**, *37* (1), 21.
13. Liu, S.; Wang, W.; Brown, L. E.; Qiu, C.; Lajkiewicz, N.; Zhao, T.; Zhou, J.; Porco, J. A., Jr.; Wang, T. T., A Novel Class of Small Molecule Compounds that Inhibit Hepatitis C Virus Infection by Targeting the Prohibitin-CRaf Pathway. *EBioMedicine* **2015**, *2* (11), 1600-1606.
14. Wintachai, P.; Thuaud, F.; Basmadjian, C.; Roytrakul, S.; Ubol, S.; Désaubry, L.; Smith, D. R., Assessment of flavaglines as potential chikungunya virus entry inhibitors. *Microbiology and Immunology* **2015**, *59* (3), 129-141.
15. Too, I. H. K.; Bonne, I.; Tan, E. L.; Chu, J. J. H.; Alonso, S., Prohibitin plays a critical role in Enterovirus 71 neuropathogenesis. *PLOS Pathogens* **2018**, *14* (1), e1006778.
16. Nebigil, C. G.; Desaubry, L., Emergence of cardio-oncology. *Annales pharmaceutiques françaises* **2018**, *76* (6), 504-506.
17. Bernard, Y.; Ribeiro, N.; Thuaud, F.; Türkeri, G.; Dirr, R.; Boulberdaa, M.; Nebigil, C. G.; Désaubry, L., Flavaglines alleviate doxorubicin cardiotoxicity: implication of Hsp27. *PloS one* **2011**, *6* (10), e25302-e25302.

## REFERENCES

18. Qureshi, R.; Yildirim, O.; Gasser, A.; Basmadjian, C.; Zhao, Q.; Wilmet, J.-P.; Désaubry, L.; Nebigil, C. G., FL3, a Synthetic Flavagline and Ligand of Prohibitins, Protects Cardiomyocytes via STAT3 from Doxorubicin Toxicity. *PLoS one* **2015**, *10* (11), e0141826-e0141826.
19. Ribeiro, N.; Thuaud, F.; Bernard, Y.; Gaidon, C.; Cresteil, T.; Hild, A.; Hirsch, E. C.; Michel, P. P.; Nebigil, C. G.; Désaubry, L., Flavaglines as Potent Anticancer and Cytoprotective Agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *55* (22), 10064-10073.
20. Pérez-Perarnau, A.; Preciado, S.; Palmeri, C. M.; Moncunill-Massaguer, C.; Iglesias-Serret, D.; González-Gironès, D. M.; Miguel, M.; Karasawa, S.; Sakamoto, S.; Cosialls, A. M.; Rubio-Patiño, C.; Saura-Esteller, J.; Ramón, R.; Caja, L.; Fabregat, I.; Pons, G.; Handa, H.; Albericio, F.; Gil, J.; Lavilla, R., A Trifluorinated Thiazoline Scaffold Leading to Pro-apoptotic Agents Targeting Prohibitins. *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53* (38), 10150-10154.
21. Cosialls, A. M.; Pomares, H.; Iglesias-Serret, D.; Saura-Esteller, J.; Núñez-Vázquez, S.; González-Gironès, D. M.; de la Banda, E.; Preciado, S.; Albericio, F.; Lavilla, R.; Pons, G.; González-Barca, E. M.; Gil, J., The prohibitin-binding compound fluorizoline induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells through the upregulation of NOXA and synergizes with ibrutinib, 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside or venetoclax. *Haematologica* **2017**, *102* (9), 1587-1593.
22. Moncunill-Massaguer, C.; Saura-Esteller, J.; Pérez-Perarnau, A.; Palmeri, C. M.; Núñez-Vázquez, S.; Cosialls, A. M.; González-Gironès, D. M.; Pomares, H.; Korwitz, A.; Preciado, S.; Albericio, F.; Lavilla, R.; Pons, G.; Langer, T.; Iglesias-Serret, D.; Gil, J., A novel prohibitin-binding compound induces the mitochondrial apoptotic pathway through NOXA and BIM upregulation. *Oncotarget* **2015**, *6* (39), 41750-41765.
23. Wierz, M.; Pierson, S.; Chouha, N.; Désaubry, L.; François, J.-H.; Berchem, G.; Paggetti, J.; Moussay, E., The prohibitin-binding compound fluorizoline induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells ex vivo but fails to prevent leukemia development in a murine model. *Haematologica* **2018**, *103* (4), e154-e157.
24. Snyder, J. R.; Hall, A.; Ni-Komatsu, L.; Khersonsky, S. M.; Chang, Y.-T.; Orlow, S. J., Dissection of Melanogenesis with Small Molecules Identifies Prohibitin as a Regulator. *Chemistry & Biology* **2005**, *12* (4), 477-484.
25. Djehal, A.; Krayem, M.; Najem, A.; Hammoud, H.; Cresteil, T.; Nebigil, C. G.; Wang, D.; Yu, P.; Bentouhami, E.; Ghanem, G. E.; Désaubry, L., Targeting prohibitin with small molecules to promote melanogenesis and apoptosis in melanoma cells. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, *155*, 880-888.
26. Yoshimaru, T.; Komatsu, M.; Tashiro, E.; Imoto, M.; Osada, H.; Miyoshi, Y.; Honda, J.; Sasa, M.; Katagiri, T., Xanthohumol suppresses oestrogen-signalling in breast cancer through the inhibition of BIG3-PHB2 interactions. *Scientific reports* **2014**, *4*, 7355-7355.
27. Kuramori, C.; Azuma, M.; Kume, K.; Kaneko, Y.; Inoue, A.; Yamaguchi, Y.; Kabe, Y.; Hosoya, T.; Kizaki, M.; Suematsu, M.; Handa, H., Capsaicin binds to prohibitin 2 and displaces it from the mitochondria to the nucleus. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2009**, *379* (2), 519-525.
28. Lee, M. Y.; Kim, M. H.; Kim, J.; Kim, S. H.; Kim, B. T.; Jeong, I. H.; Chang, S.; Kim, S. H.; Chang, S.-Y., Synthesis and SAR of sulfonyl- and phosphoryl amidine compounds as anti-resorptive agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20* (2), 541-545.
29. Chang, S.-Y.; Bae, S. J.; Lee, M. Y.; Baek, S.-h.; Chang, S.; Kim, S. H., Chemical affinity matrix-based identification of prohibitin as a binding protein to anti-resorptive sulfonyl amidine compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *21* (2), 727-729.
30. Lee, C. H.; Choi, S.-W.; Kim, J.-Y.; Kim, S. H.; Yoon, K.-H.; Oh, J.; Lee, M. S., Overexpression of prohibitin-1 inhibits RANKL-induced activation of p38-Elk-1-SRE signaling axis blocking MKK6 activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2015**, *463* (4), 1028-1033.



## REFERENCES

31. Kim, M. H.; Park, M.; Song, J. S.; Park, S.-J.; Kim, S. H., Anti-resorptive activity and pharmacokinetic study of N1,N1-diisopropyl-N2-(diphenylphosphoryl)-2-(4-nitrophenyl)acetamide. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *21* (14), 4263-4266.
32. Kolonin, M. G.; Saha, P. K.; Chan, L.; Pasqualini, R.; Arap, W., Reversal of obesity by targeted ablation of adipose tissue. *Nature Medicine* **2004**, *10*, 625.
33. Barnhart, K. F.; Christianson, D. R.; Hanley, P. W.; Driessen, W. H. P.; Bernacky, B. J.; Baze, W. B.; Wen, S.; Tian, M.; Ma, J.; Kolonin, M. G.; Saha, P. K.; Do, K.-A.; Hulvat, J. F.; Gelovani, J. G.; Chan, L.; Arap, W.; Pasqualini, R., A peptidomimetic targeting white fat causes weight loss and improved insulin resistance in obese monkeys. *Science translational medicine* **2011**, *3* (108), 108ra112-108ra112.
34. Bettayeb, K.; Oumata, N.; Zhang, Y.; Luo, W.; Bustos, V.; Galons, H.; Greengard, P.; Meijer, L.; Flajolet, M., Small-molecule inducers of Abeta-42 peptide production share a common mechanism of action. *FASEB J* **2012**, *26* (12), 5115-23.
35. Hochard, A.; Oumata, N.; Bettayeb, K.; Gloulou, O.; Fant, X.; Durieu, E.; Buron, N.; Porceddu, M.; Borgne-Sanchez, A.; Galons, H.; Flajolet, M.; Meijer, L., Aftins Increase Amyloid-beta(42), Lower Amyloid-beta(38), and Do Not Alter Amyloid-beta(40) Extracellular Production in vitro: Toward a Chemical Model of Alzheimer's Disease? *J. Alzheimers Dis.* **2013**, *35* (1), 107-120.
36. Hati, S.; Tripathy, S.; Dutta, P. K.; Agarwal, R.; Srinivasan, R.; Singh, A.; Singh, S.; Sen, S., Spiro[pyrrolidine-3, 3'-oxindole] as potent anti-breast cancer compounds: Their design, synthesis, biological evaluation and cellular target identification. *Scientific Reports* **2016**, *6*, 32213.
37. Rios, R., Enantioselective methodologies for the synthesis of spiro compounds. *Chemical Society Reviews* **2012**, *41* (3), 1060-1074.
38. Ball-Jones, N. R.; Badillo, J. J.; Franz, A. K., Strategies for the enantioselective synthesis of spirooxindoles. *Organic & biomolecular chemistry* **2012**, *10* (27), 5165-81.
39. Galliford, C. V.; Scheidt, K. A., Pyrrolidinyl-Spirooxindole Natural Products as Inspirations for the Development of Potential Therapeutic Agents. *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, *46* (46), 8748-8758.
40. Hong, L.; Wang, R., Recent Advances in Asymmetric Organocatalytic Construction of 3,3'-Spirocyclic Oxindoles. **2013**, *355* (6), 1023-1052.
41. Rottmann, M.; McNamara, C.; Yeung, B. K. S.; Lee, M. C. S.; Zou, B.; Russell, B.; Seitz, P.; Plouffe, D. M.; Dharia, N. V.; Tan, J.; Cohen, S. B.; Spencer, K. R.; González-Páez, G. E.; Lakshminarayana, S. B.; Goh, A.; Suwanarusk, R.; Jegla, T.; Schmitt, E. K.; Beck, H.-P.; Brun, R.; Nosten, F.; Renia, L.; Dartois, V.; Keller, T. H.; Fidock, D. A.; Winzeler, E. A.; Diagana, T. T., Spiroindolones, a Potent Compound Class for the Treatment of Malaria. *Science* **2010**, *329* (5996), 1175.
42. Bacher, N.; Tiefenthaler, M.; Sturm, S.; Stuppner, H.; Ausserlechner, M. J.; Kofler, R.; Konwalinka, G., Oxindole alkaloids from *Uncaria tomentosa* induce apoptosis in proliferating, G0/G1-arrested and bcl-2-expressing acute lymphoblastic leukaemia cells. *British Journal of Haematology* **2006**, *132* (5), 615-622.
43. García Giménez, D.; García Prado, E.; Sáenz Rodríguez, T.; Fernández Arche, A.; De la Puerta, R., Cytotoxic Effect of the Pentacyclic Oxindole Alkaloid Mitrephylline Isolated from *Uncaria tomentosa* Bark on Human Ewing's Sarcoma and Breast Cancer Cell Lines. *Planta Med* **2010**, *76* (02), 133-136.
44. Zhao, Y.; Yu, S.; Sun, W.; Liu, L.; Lu, J.; McEachern, D.; Shargary, S.; Bernard, D.; Li, X.; Zhao, T.; Zou, P.; Sun, D.; Wang, S., A Potent Small-Molecule Inhibitor of the MDM2-p53 Interaction (MI-888) Achieved Complete and Durable Tumor Regression in Mice. *Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *56* (13), 5553-5561.
45. Sosin, A. M.; Burger, A. M.; Siddiqi, A.; Abrams, J.; Mohammad, R. M.; Al-Katib, A. M., HDM2 antagonist MI-219 (spiro-oxindole), but not Nutlin-3 (cis-imidazoline), regulates p53 through enhanced HDM2 autoubiquitination and degradation in human malignant B-cell lymphomas. *Journal of Hematology & Oncology* **2012**, *5* (1), 57.

## REFERENCES

46. Edmondson, S.; Danishefsky, S. J.; Sepp-Lorenzino, L.; Rosen, N., Total Synthesis of Spirotryprostatin A, Leading to the Discovery of Some Biologically Promising Analogues. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, *121* (10), 2147-2155.
47. Williams, R. M.; Cox, R. J., Paraherquamides, Brevianamides, and Asperparalines: Laboratory Synthesis and Biosynthesis. An Interim Report. *Accounts of Chemical Research* **2003**, *36* (2), 127-139.
48. Shangary, S.; Qin, D.; McEachern, D.; Liu, M.; Miller, R. S.; Qiu, S.; Nikolovska-Coleska, Z.; Ding, K.; Wang, G.; Chen, J.; Bernard, D.; Zhang, J.; Lu, Y.; Gu, Q.; Shah, R. B.; Pienta, K. J.; Ling, X.; Kang, S.; Guo, M.; Sun, Y.; Yang, D.; Wang, S., Temporal activation of p53 by a specific MDM2 inhibitor is selectively toxic to tumors and leads to complete tumor growth inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2008**, *105* (10), 3933-3938.
49. Christoffers, J.; Baro, A., Construction of Quaternary Stereocenters: New Perspectives through Enantioselective Michael Reactions. *Angewandte Chemie International Edition* **2003**, *42* (15), 1688-1690.
50. Miyake, F. Y.; Yakushijin, K.; Horne, D. A., A Concise Synthesis of Spirotryprostatin A. *Organic Letters* **2004**, *6* (23), 4249-4251.
51. Bindra, J. S., Chapter 2 Oxindole Alkaloids. In *The Alkaloids: Chemistry and Physiology*, Manske, R. H. F., Ed. Academic Press: 1973; Vol. 14, pp 83-121.
52. Lipson, V.; Zamigajlo, L.; Petrova, O., Development of 11 $\beta$ -HSD1 inhibitors for the treatment of metabolic syndrome. *Ukrainica Bioorganica Acta* **2011**, *2*, 3-13.
53. Hong, L.; Wang, R., Recent Advances in Asymmetric Organocatalytic Construction of 3,3'-Spirocyclic Oxindoles. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2013**, *355* (6), 1023-1052.
54. Xia, M.; Ma, R.-Z., Recent Progress on Routes to Spirooxindole Systems Derived from Isatin. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2014**, *51* (3), 539-554.
55. White, J. D.; Li, Y.; Ihle, D. C., Tandem Intramolecular Photocycloaddition-Retro-Mannich Fragmentation as a Route to Spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles]. Total Synthesis of ( $\pm$ )-Coerulescine, ( $\pm$ )-Horsfiline, ( $\pm$ )-Elacomine, and ( $\pm$ )-6-Deoxyelacomine. *The Journal of Organic Chemistry* **2010**, *75* (11), 3569-3577.
56. Chen, L.; Xie, J.; Song, H.; Liu, Y.; Gu, Y.; Wang, L.; Wang, Q., Design, Synthesis, and Biological Activities of Spirooxindoles Containing Acylhydrazone Fragment Derivatives Based on the Biosynthesis of Alkaloids Derived from Tryptophan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2016**, *64* (34), 6508-6516.
57. Szabó-Pusztay, K.; Szabó, L., A Simple General Method for the Oxidation of Indoles to Oxindoles. *Synthesis* **1979**, *1979* (04), 276-277.
58. Incze, M.; Dörnyei, G.; Kajtár-Peredy, M.; Szántay, C., Intramolecular Mannich Reaction of 2-Oxotryptamines with Acetone Yielding Spiro [indole-3, 3'-pyrrolidin]-2-ones. *Collection of Czechoslovak chemical communications* **1999**, *64* (2), 408-416.
59. Alper, P. B.; Meyers, C.; Lerchner, A.; Siegel, D. R.; Carreira, E. M., Facile, Novel Methodology for the Synthesis of Spiro[pyrrolidin-3,3'-oxindoles]: Catalyzed Ring Expansion Reactions of Cyclopropanes by Aldimines. *Angewandte Chemie International Edition* **1999**, *38* (21), 3186-3189.
60. Miyake, F. Y.; Yakushijin, K.; Horne, D. A., Preparation and Synthetic Applications of 2-Halotryptamines: Synthesis of Elacomine and Isoelacomine. *Organic Letters* **2004**, *6* (5), 711-713.
61. De, S.; Das, M. K.; Bhunia, S.; Bisai, A., Unified Approach to the Spiro(pyrrolidinyl-oxindole) and Hexahydropyrrolo[2,3-b]indole Alkaloids: Total Syntheses of Pseudophrynamines 270 and 272A. *Organic Letters* **2015**, *17* (23), 5922-5925.
62. Van, T. N.; Claes, P.; De Kimpe, N., Synthesis of Functionalized Diketopiperazines as Cyclotryprostatin and Tryprostatin Analogues. *Synlett* **2013**, *24* (08), 1006-1010.

## REFERENCES

63. Wang, H.; Ganesan, A., A biomimetic total synthesis of (–)-spirotryprostatin B and related studies. *The Journal of organic chemistry* **2000**, *65* (15), 4685-4693.
64. Hadjaz, F.; Yous, S.; Lebegue, N.; Berthelot, P.; Carato, P., A mild and efficient route to 2-benzyl tryptamine derivatives via ring-opening of  $\beta$ -carboline. *Tetrahedron* **2008**, *64* (42), 10004-10008.
65. Gellis, A.; Dumètre, A.; Lanzada, G.; Hutter, S.; Ollivier, E.; Vanelle, P.; Azas, N., Preparation and antiprotozoal evaluation of promising  $\beta$ -carboline alkaloids. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2012**, *66* (5), 339-347.
66. Sambri, L.; Bartoli, G.; Bosco, M.; Locatelli, M.; Marcantoni, E.; Massaccesi, M.; Melchiorre, P., A Lewis Acid-Mediated Protocol for the Protection of Aryl Amines as their Boc-Derivatives. *Synlett* **2004**, (10), 1794-1798.
67. White, J. D.; Li, Y.; Ihle, D. C., Tandem intramolecular photocycloaddition-retro-Mannich fragmentation as a route to spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles]. Total synthesis of (+/-)-coerulescine, (+/-)-horsfiline, (+/-)-elacomine, and (+/-)-6-deoxyelacomine. *The Journal of organic chemistry* **2010**, *75* (11), 3569-77.
68. Wendell, C. I.; Boyd, M. J., Reevaluation of the 2-nitrobenzyl protecting group for nitrogen containing compounds: an application of flow photochemistry. *Tetrahedron Letters* **2015**, *56* (7), 897-899.
69. Wanner, M. J.; Ingemann, S.; van Maarseveen, J. H.; Hiemstra, H., Total Synthesis of the Spirocyclic Oxindole Alkaloids Corynoxine, Corynoxine B, Corynoxine, and Rhynchophylline. *European Journal of Organic Chemistry* **2013**, *2013* (6), 1100-1106.
70. Nakagawa, M.; Kato, S.; Fukazawa, H.; Hasegawa, Y.; Miyazawa, J.; Hino, T., Oxidative transformation of tryptophan to 3-(2-aminophenyl)-2-pyrrolidone and kynurenine. *Tetrahedron letters* **1985**, *26* (48), 5871-5874.
71. Xu, Z.; Johannes, C. W.; Salman, S. S.; Hoveyda, A. H., Enantioselective total synthesis of antifungal agent Sch 38516. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118* (44), 10926-10927.
72. von Nussbaum, F.; Danishefsky, S. J., A Rapid Total Synthesis of Spirotryprostatin B: Proof of Its Relative and Absolute Stereochemistry. *Angewandte Chemie International Edition* **2000**, *39* (12), 2175-2178.
73. Zheng, J.; Lin, L.; Dai, L.; Tang, Q.; Liu, X.; Feng, X., Nickel-Catalyzed Conjugate Addition of Silyl Ketene Imines to In Situ Generated Indol-2-ones: Highly Enantioselective Construction of Vicinal All-Carbon Quaternary Stereocenters. *Angewandte Chemie International Edition* **2017**, *56* (42), 13107-13111.
74. Hadjaz, F.; Besret, S.; Martin-Nizard, F.; Yous, S.; Dilly, S.; Lebegue, N.; Chavatte, P.; Duriez, P.; Berthelot, P.; Carato, P., Antioxydant activity of  $\beta$ -carboline derivatives in the LDL oxidation model. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46* (6), 2575-2585.
75. Shao, H.; Huang, X.-W.; Song, L.; Zhou, W.-T.; Tang, G.-P.; Ye, L., Stereoselective synthesis of spiro [pyrrolidin-3, 3'-oxindoles] via organocatalyzed asymmetric Mannich-type reaction. *Tetrahedron Letters* **2018**, *59* (32), 3088-3093.
76. Suarez-Castillo, O. R.; Sanchez-Zavala, M.; Melendez-Rodriguez, M., First total synthesis of ( $\pm$ )-flustraminol B. *Heterocycles* **2007**, *71* (7), 1539-1551.
77. Abramova, T. V.; Morozova, O. B.; Silnikov, V. N.; Yurkovskaya, A. V., Synthesis of nucleotide–amino acid conjugates designed for photo-CIDNP experiments by a phosphotriester approach. *Beilstein journal of organic chemistry* **2013**, *9* (1), 2898-2909.
78. Hinman, R. L.; Bauman, C. P., Reactions of N-Bromosuccinimide and Indoles. A Simple Synthesis of 3-Bromooxindoles<sup>1</sup>. *The Journal of Organic Chemistry* **1964**, *29* (5), 1206-1215.
79. Shao, H.; Huang, X.-W.; Song, L.; Zhou, W.-T.; Tang, G.-P.; Ye, L., Stereoselective synthesis of spiro[pyrrolidin-3,3'-oxindoles] via organocatalyzed asymmetric Mannich-type reaction. *Tetrahedron Letters* **2018**, *59* (32), 3088-3093.

## REFERENCES

80. Qiu, X. L.; Li, G. D.; Wu, G. K.; Zhu, J. W.; Zhou, L. E.; Chen, P. L.; Chamberlin, A. R.; Lee, W. H., Synthesis and Biological Evaluation of a Series of Novel Inhibitor of Nek2/Hec1 Analogues. *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *52* (6), 1757-1767.
81. Bertozzi, C. R.; Bednarski, M. D., THE SYNTHESIS OF HETEROBIFUNCTIONAL LINKERS FOR THE CONJUGATION OF LIGANDS TO MOLECULAR PROBES. *J. Org. Chem.* **1991**, *56* (13), 4326-4329.
82. Basmadjian, C.; Thuaud, F.; Ribeiro, N.; Désaubry, L., Flavaglines: potent anticancer drugs that target prohibitins and the helicase eIF4A. *Future medicinal chemistry* **2013**, *5* (18), 2185-2197.
83. Gawley, R. E., The Beckmann reactions: rearrangements, elimination-additions, fragmentations, and rearrangement-cyclizations. *Org. React. (Hoboken, NJ, U. S.)* **1988**, *35*, No pp. given.
84. Johner, M.; Rihs, G.; Guetler, S.; Otto, H.-H., Monocarboxylates of 3-methylidene- $\beta$ -lactams: synthesis and unusual oxidative rearrangement into a spiro[azetidine-3,3'-pyrrolidine] derivative. *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77* (8), 2147-52.
85. Bosch, J.; Moral, M.; Rubiralta, M., Beckmann fragmentation in the Wolff-Kishner reduction of 6-aryl-3-hydroxyimino-4-piperidones. *Heterocycles* **1983**, *20* (3), 509-10.
86. Lewer, P., Preparation of 7-hydroxy-2-oxoindolin-3-ylacetic acid and its [13 C 2],[5-n-3 H], and [5-n-3 H]-7-O-glucosyl analogues for use in the study of indol-3-yl-acetic acid catabolism. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1987**, 753-757.
87. Matsuzaki, K.; Furukawa, T.; Tokunaga, E.; Matsumoto, T.; Shiro, M.; Shibata, N., Highly Enantioselective Monofluoromethylation of C2-Arylindoles Using FBSM under Chiral Phase-Transfer Catalysis. *Organic Letters* **2013**, *15* (13), 3282-3285.
88. Šilhánková, A.; Hulvová, J.; Trška, P.; Ferles, M., Condensation reactions of 2, 4-and 2, 6-dimethylpyridines and their 1-oxides. *Collection of Czechoslovak chemical communications* **1989**, *54* (6), 1687-1704.
89. Huang, X.; Liu, M.; Pham, K.; Zhang, X.; Yi, W.-B.; Jasinski, J. P.; Zhang, W., Organocatalytic one-pot asymmetric synthesis of thiolated spiro- $\gamma$ -lactam oxindoles bearing three stereocenters. *The Journal of organic chemistry* **2016**, *81* (13), 5362-5369.
90. Shelke, A. M.; Suryavanshi, G., An efficient one pot regioselective synthesis of a 3, 3'-spiro-phosphonylpyrazole-oxindole framework via base mediated [1, 3]-dipolar cycloaddition reaction of the Bestmann–Ohira reagent with methyleneindolinones. *Organic & biomolecular chemistry* **2015**, *13* (32), 8669-8675.
91. Mangaonkar, S. R.; Singh, F. V., Selective oxidation of organosulphides using m-CPBA as oxidant. *Pharma Chem.* **2016**, *8* (18), 419-423.
92. Guessous, A. R.; Maignan, C., Application of the Pummerer reaction to chiral sulfoxide esters leading to chiral  $\beta$ -keto esters: methyl (+)-(1S,2S,4R)- and (-)-(1R,2R,4S)-3-oxobicyclo[2.2.1]hept-5-ene-2-carboxylates. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1988**, (4), 727-30.
93. Hiroshi, K.; Yasuyuki, W.; Hisashi, U., Lewis Acid-Mediated Carbon–Carbon Bond Forming Reaction Using the Pummerer Rearrangement Products from Chiral  $\beta$ -Hydroxy Sulfoxides. *Chemistry Letters* **1989**, *18* (10), 1865-1868.
94. Rustembekova, G. K.; Zhuzbaev, B. T.; Fazylov, S. D.; Zhurynov, M. Z.; Moldakhmetov, Z. M., Synthesis of cyclopentane derivatives via Pummerer reaction. *Izv. Nats. Akad. Nauk Resp. Kaz., Ser. Khim.* **2007**, (1), 33-36.
95. Bernard, Y.; Ribeiro, N.; Thuaud, F.; Turkeri, G.; Dirr, R.; Boulberdaa, M.; Nebigil, C. G.; Desaubry, L., Flavaglines alleviate doxorubicin cardiotoxicity: implication of Hsp27. *PLoS One* **2011**, *6* (10), e25302.
96. Qureshi, R.; Yildirim, O.; Gasser, A.; Basmadjian, C.; Zhao, Q.; Wilmet, J.-P.; Desaubry, L.; Nebigil, C. G., FL3, a synthetic flavagline and ligand of prohibitins, protects cardiomyocytes via STAT3 from doxorubicin toxicity. *PLoS One* **2015**, *10* (11), e0141826/1-e0141826/16.
97. Kramer, C.; Fuchs, J. E.; Liedl, K. R., Strong Nonadditivity as a Key Structure-Activity Relationship Feature: Distinguishing Structural Changes from Assay Artifacts. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2015**, *55* (3), 483-494.

## REFERENCES

98. Qureshi, R.; Yildirim, O.; Gasser, A.; Basmadjian, C.; Zhao, Q.; Wilmet, J.-P.; Désaubry, L.; Nebigil, C. G., FL3, a synthetic flavagline and ligand of prohibitins, protects cardiomyocytes via STAT3 from doxorubicin toxicity. *PloS one* **2015**, *10* (11), e0141826.
99. Al-Mulla, F.; Bitar, M. S.; Taqi, Z.; Yeung, K. C., RKIP: much more than Raf kinase inhibitory protein. *Journal of cellular physiology* **2013**, *228* (8), 1688-702.