



**HAL**  
open science

**Synthèse et études des relations structure/activité  
quantitatives (QSAR/2D) d'analyse  
benzo[c]phénanthridiniques**

Thi Ngoc Phuong Huynh

► **To cite this version:**

Thi Ngoc Phuong Huynh. Synthèse et études des relations structure/activité quantitatives (QSAR/2D) d'analyse benzo[c]phénanthridiniques. Sciences du Vivant [q-bio]. Université d'Angers, 2007. Français. NNT: . tel-00346332

**HAL Id: tel-00346332**

**<https://theses.hal.science/tel-00346332>**

Submitted on 13 Dec 2008

**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.

**SYNTHÈSE ET ÉTUDE DES RELATIONS  
STRUCTURE/ACTIVITÉ QUANTITATIVES (QSAR/2D) D'ANALOGUES  
BENZO[*c*]PHÉNANTHRIDINIQUES**

**THÈSE DE DOCTORAT**

**Spécialité : Chimie organique et thérapeutique  
ÉCOLE DOCTORALE D'ANGERS**

Présentée et soutenue publiquement

**le vendredi 29 juin 2007**

à la Faculté de Pharmacie d'Angers

par **HUYNH Thi Ngoc Phuong**

**Devant le jury ci-dessous :**

(Rapporteur) : **M. Alain GUEFFIER**, Professeur, Université de Tours

(Rapporteur) : **M. François TILLEQUIN**, Professeur, Université de Paris V

(Examineur) : **M. Jacques MORTIER**, Professeur, Université du Maine

(Examineur) : **M. Jean-Jacques HELESBEUX**, Maître de Conférences, Université d'Angers

**Directeur de Thèse : M. Olivier DUVAL**, Professeur, Université d'Angers

**Co-directeur : Mme MAI Phuong Mai**, Professeur, Université de Ho Chi Minh Ville

**Laboratoire SONAS, UPRES-EA921**

**UFR des Sciences Pharmaceutiques et d'Ingénierie de la Santé**

**16, Boulevard Daviers, 49100 ANGERS – France**



## TITRE en français

Synthèse et étude des Relations Structure/Activité Quantitatives (RSAQ/2D) d'analogues benzo[*c*]phénanthridiniques

## RESUME en français

Parmi les agents antitumoraux exprimant une activité sur les topoisomérases, les alcaloïdes de la famille des benzo[*c*]phénanthridines (BZP) sont bien connus. Dans ce travail, deux voies de synthèse originales ont conduit à l'isolement de huit nouveaux analogues de BZP. Trois appartiennent aux séries benzo[*c*][1,9]phénanthroline-6(5*H*)-one et pyridazino[4,5-*c*]phénanthroline-6(5*H*)-one, deux à la série benzo[*c*][1,9]phénanthroline et trois à la série benzo[*c*][1,9]phénanthroline et pyridazino[4,5-*c*]phénanthridine.

Une recherche de relation structure/activité quantitative (RSAQ/2D) a été menée. L'équation de RSAQ/2D a été construite à partir de 88 analogues de BZP possédant une activité antitopoisomérase en utilisant le logiciel MOE. Ces résultats sont exploités dans le cadre de la prédiction de cytotoxicité de nos nouvelles structures et pour orienter nos futurs travaux. Les valeurs prédictives montrent que l'activité biologique de ces composés dépend non seulement du groupement éthoxy en position 12 mais également de la présence de deux atomes d'azote dans le cycle A.

## Mots clés :

Benzo[*c*]phénanthridines, benzo[*c*][1,9]phénanthroline, pyridazino[4,5-*c*]phénanthridine, RSAQ/2D, synthèse organique.

## TITRE en anglais

Synthesis and 2D Quantitative Structure-Activity Relationships (2D/QSAR) of benzo[*c*]phenanthridine analogues.

## RESUME en anglais

Among the antitumour agents exhibiting a topoisomerase-targeting activity, the benzo[*c*]phenanthridines alkaloids family (BZP) is well-known. In this work, the synthesis of eight new BZP analogues is reported. Three derivatives belong to the benzo[*c*][1,9]phenanthroline-6(5*H*)-one and pyridazino[4,5-*c*]phenanthroline-6(5*H*)-one series, two derivatives to the benzo[*c*][1,9]phenanthroline series, three derivatives to the benzo[*c*][1,9]phenanthroline and pyridazino[4,5-*c*]phenanthridine series.

The 2D/QSAR equation is built on 88 analogues of BZP using the MOE software. The results of this study are in favor of a good cytotoxicity for the novel synthesized structures and could definitively orientate the synthesis of new derivatives.

The predictive values show that the bioactivity of these compounds depends not only on the 12-ethoxy group but on the presence of two nitrogen atoms in cycle A.

Key words:

Benzo[*c*]phénanthridines, benzo[*c*][1,9]phénanthroline, pyridazino[4,5-*c*]phénanthridine, 2D-QSAR, organic synthesis.

*A Monsieur **Alain GUEFFIER**,  
Professeur, Université de Tours*

*A Monsieur **François TILLEQUIN**,  
Professeur, Université de Paris V*

*A Monsieur **Jacques MORTIER**,  
Professeur, Université du Maine*

*A Monsieur **Jean-Jacques HELESBEUX**,  
Maître de Conférences, Université d'Angers*

*A Monsieur **Olivier DUVAL**,  
Professeur, Université d'Angers*

*A Madame **MAI Phuong Mai**,  
Professeur, Université de Ho Chi Minh Ville*

*qui me font l'honneur de jury ce travail,  
en témoignage de ma profonde gratitude.*

*La majeure partie de ce travail a été effectuée au laboratoire SONAS (UPRES-EA 921) des Substances d'Origine Naturelle et Analogues Structuraux de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques d'Angers, sous la direction de M. le Professeur **Olivier DUVAL** et de Mme le Professeur **MAI Phuong Mai**, Directeur en co-tutelle.*

*Les études de relation structure activité (QSAR) ont été réalisées au laboratoire de « Emerging Field Pharmacoinformatics », département de chimie médicinale, Université de Vienne (Autriche).*

*Je voudrais exprimer tous mes remerciements à M. le Professeur **Olivier DUVAL**, qui a bien voulu m'accueillir dans son laboratoire, qui m'a dirigé, qui m'a fourni de nombreux conseils avisés et le matériel nécessaire pour me permettre de finir à temps ce mémoire de thèse. Il est l'un des promoteurs de la collaboration franco-vietnamienne existant entre les facultés de pharmacie d'Angers et de Ho Chi Minh Ville.*

*Je remercie M. le Professeur **Pascal RICHOMME** qui m'a reçu dans son laboratoire du SONAS et qui m'a fourni le matériel nécessaire pour me permettre d'avoir des résultats liés aux spectres de RMN et de masse.*

*Mes remerciements vont grandement au Docteur **Jean-Jacques HELEBREUX** dont la compétence et les connaissances scientifiques m'ont permis et aidé à finir ma thèse au bout de 3 ans.*

*Je remercie M. le Professeur **Gerhard F. ECKER** (Université de Vienne) qui m'a donné le matériel nécessaire pour me permettre d'obtenir des résultats de QSAR.*

*Je tiens vivement à exprimer mes plus vifs remerciements au Doctorant **THAI Khac Minh** (Université de Vienne) pour les résultats de QSAR.*

*Je voudrais particulièrement remercier M. le Professeur **DO Thanh Xuan**, qui m'a psychologiquement aidée et soutenue pour me permettre de finir cette thèse. Le*

*premier, il a eu l'idée d'élaborer et de mettre en place une collaboration franco-vietnamienne entre les deux Facultés de pharmacie d'Angers et de Ho Chi Minh Ville.*

*Je voudrais exprimer ma reconnaissance à Mme le Professeur **MAI Phuong Mai** (Université de Ho Chi Minh Ville) qui m'a aidée à contourner tous les rouages administratifs afin de me permettre de terminer ma thèse en France.*

*Je remercie M. le Professeur **Denis SERAPHIN** pour sa jovialité et ses compétences en matière de chimie.*

*Je remercie mes amis **Nabila ALIOUANE, Samuel BERTRAND, Benoît PINEL, Francis CHEVREUIL, Enguerran VANQUELEF** ainsi que tous les membres du SONAS, pour m'avoir encouragé et partagé mes joies et mes peines tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Toute ma reconnaissance va vers mes collègues du Vietnam, surtout du Département de Chimie Thérapeutique pour avoir partagé mes charges d'enseignement, facilitant mon travail de thèse.*

*Mes pensées vont à mes camarades Français, Algériens, Marocains, Syriens de la cité Lakanal qui, d'une façon ou d'une autre, m'ont soutenue pendant toutes ces années.*

*Je remercie l'Ambassade de France au Vietnam, ainsi que le Consulat Général de France à Ho Chi Minh Ville pour m'avoir aidé financièrement, me permettant ainsi d'avoir les conditions matérielles et administratives nécessaires pour la réalisation de mon travail.*

*Enfin, je remercie le Comité Directeur de la Faculté de pharmacie d'Angers et celui de Ho Chi Minh Ville pour m'avoir donné les conditions nécessaires à la réalisation de ma thèse.*



# TABLE DES MATIERES

<b>TABLE DES MATIERES</b> .....	<b>4</b>
<b>LISTE DES PRINCIPALES ABBREVIATIONS</b> .....	<b>7</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>8</b>
<b>PARTIE A : BENZO[<i>c</i>]PHENANTHRIDINES ET LEURS ANALOGUES</b> .....	<b>11</b>
<b>* GENERALITES</b> .....	<b>12</b>
I. STRUCTURE - CLASSIFICATION DES BENZO[ <i>c</i> ]PHENANTHRIDINES .....	12
II. BIOGENESE DES BENZO[ <i>c</i> ]PHENANTHRIDINES (BZPs).....	14
III. METHODES DE SYNTHÈSE DES BZPs .....	19
III.1. Formation du cycle C en dernier .....	19
III.2. Formation du cycle B en dernier .....	30
III.3. Formation du cycle B et du cycle C en même temps .....	40
IV. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DES BZPs .....	43
IV.1 Introduction.....	43
IV.2 Activité antitumorale des benzo[ <i>c</i> ]phénanthridines.....	44
IV.3 Mécanisme d'action cytotoxique des dérivés benzo[ <i>c</i> ]phénanthridiniques.....	46
V. RELATION PROBABLE DE STRUCTURE – ACTIVITE .....	56
VI. LES ANALOGUES DE BENZO[ <i>c</i> ]PHENANTHRIDINES .....	59
VI.1 Dérivés de benzo[ <i>i</i> ]phénanthridine substitués .....	59
VI.2 Dérivés de la dibenzo[ <i>c,h</i> ]cinnoline substitués .....	60
VI.3 Dérivés de diaza-et triazachrysènes .....	60
VI.4 Dérivés de benzo[ <i>c</i> ][1,7] et [1,8]phénanthrolines.....	61
VI.5 Dérivés d'indénoisoquinoléine .....	62
VI.6 Dérivés de la 6H-dibenzo[ <i>c,h</i> ][2,6]naphthyridin-5-one.....	62

<b>* SYNTHÈSE DE NOUVEAUX ANALOGUES BZPs .....</b>	<b>64</b>
I. INTRODUCTION.....	64
II. SYNTHÈSE DE NOUVEAUX ANALOGUES BZPs : METHODE DE CYCLOADDITION INTERMOLECULAIRE .....	67
II. 1 Introduction .....	67
II.2 Synthèse du diène $\alpha$ -pyronique .....	70
II. 3 Accès au noyau BZP par la réaction de Diels-Alder .....	73
II. 4 Conclusion.....	74
III. SYNTHÈSE DE NOUVEAUX ANALOGUES BZPs <i>via</i> LA FORMATION DU CYCLE C EN DERNIER .....	75
III.1 Méthode de couplage biaryle intramoléculaire catalysée par le palladium .....	75
III.1.1 Introduction .....	75
III.1.2 Préparation des <i>N</i> -méthylbenzamides en série isoquinoléine et phtalazine.....	77
III.1.3 Accès au noyau 5-méthylbenzo[ <i>c</i> ][1,9]phénanthroline et au noyau 5- méthylpyridazino[4,5, <i>c</i> ]phénanthridinique .....	87
III.2 Méthode de cyclisation de type benzyne- (synthèse des dérivés de benzo[ <i>c</i> ] [1,9]phénanthroline et de pyridazino[4,5- <i>c</i> ]phénanthridine) .....	97
III.2.1 Introduction .....	97
III.2.2 Préparation des <i>N</i> -benzyl-isoquinoléin-8- et -phtalazin-5-amines.....	100
III.2.3 Cyclisation intramoléculaires des amines 30-32 .....	101
 <b>PARTIE B : RELATIONS STRUCTURE–ACTIVITE QUANTITATIVES (QSAR).....</b>	<b>104</b>
 <b>* GENERALITES.....</b>	<b>105</b>
I. INTRODUCTION.....	105
II. OUTILS ET TECHNIQUES DE QSAR .....	106
II.1 Paramètres biologiques.....	106

II.2 Propriétés moléculaires et leurs paramètres .....	106
II.3 Descripteurs moléculaires.....	107
II.4 Les techniques de QSAR.....	108
III. RELATION STRUCTURE ACTIVITE QUANTITATIVE .....	109
IV. 2D QSAR.....	110
V. 3D QSAR.....	111
VI. PRINCIPES D'UNE GENERATION DE MODELE QSAR.....	112
<b>* ETUDE DES RELATIONS STRUCTURE/ACTIVITE QUANTITATIVES (2D/QSAR) D'ANALOGUES BENZO[c]PHENANTHRIDINIQUES .....</b>	<b>116</b>
I. DONNEES EXPERIMENTALES.....	116
II. METHODES INFORMATIQUES.....	116
II.1. Descripteurs moléculaires.....	116
II.2. Sélection des descripteurs.....	117
II.3. Analyse de régression des moindres carrés partiels (PLS = Partial Least Squares) et construction d'équation de QSAR.....	119
III. PREVISION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE.....	130
IV. DISCUSSION.....	132
IV.1 Sur les descripteurs sélectionnés dans l'équation de QSAR.....	132
IV.2 Sur les relations structure-activité de nouvelles molécules .....	133
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>138</b>
<b>PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>144</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>183</b>
<b>ANNEXE.....</b>	<b>195</b>

## LISTE DES PRINCIPALES ABBREVIATIONS

APP : Acide polyphosphorique  
BZPs (bzps) : Benzo[*c*]phénanthridines  
CCM : Chromatographie sur Couche Mince  
CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : Dichlorométhane  
CDCl<sub>3</sub> : Chloroforme deutéré  
CH<sub>3</sub>OH : méthanol (MeOH)  
DBU : 1,8-diazacyclo-[5.4.0]-undec-7-ène  
DDQ : 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone  
DMF : N,N-diméthylformamide  
DMSO : diméthylsulfoxyde  
IC<sub>50</sub> : Concentration d'inhibition à 50%  
LDA : lithium diisopropylamide  
PCC : pyridinium chlorochromate  
ppm : partie par million  
QSAR : Relation Structure-Activité Quantitative  
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire  
SN<sup>1</sup> : Substitution Nucléophile d'ordre 1  
TA : Température Ambiante  
THF : tétrahydrofurane  
Topo I : Topoisomérase de type I  
Topo II: Topoisomérase de type II

# **INTRODUCTION**

Depuis longtemps, la chimiothérapie joue un rôle important dans le traitement du cancer, particulièrement pour les tumeurs inopérables, métastatiques et systémiques. Plusieurs agents utilisés en clinique, disponibles pour la chimiothérapie du cancer, se différencient par leurs mécanismes d'action. Ils peuvent :

- endommager le matériel nucléaire (ex : agents alkylants), les protéines (ex : poisons des topoisomérases), ou s'incorporer comme fausses bases (ex : analogues nucléosides),
- intervenir dans la synthèse des co-facteurs vitaux et des précurseurs protéiques/ARN/ADN (ex: antimétabolites, asparaginase),
- intervenir dans d'autres structures et procédés cellulaires (interactions avec la tubuline)
- inhiber les signaux de la croissance cellulaire (ex : inhibiteurs tyrosine kinase) [1].

L'apparition des populations de cellules cancéreuses résistantes à la chimiothérapie incite les scientifiques à chercher continuellement de nouvelles structures. Les enzymes de type topoisomérase sont, depuis plusieurs années, des cibles pleines de promesses [2] [3].

Parmi les agents exprimant une activité à visée antitopoisomérase, les alcaloïdes de la famille des benzo[*c*]phénanthridines sont bien connue [4]. De nombreuses études ont été réalisées afin de trouver des voies synthétiques des dérivés naturels (nitidine, fagaronine, chélérythrine, sanguinarine...), afin de disposer de quantité suffisante pour confirmer leur mécanisme moléculaire d'action. Parallèlement de nombreux analogues ou isomères du noyau benzo[*c*]phénanthridinique ont été synthétisés et évalués pour mesurer leur activité sur les topoisomérases et évaluer leur cytotoxicité. Parmi eux, NK109 et ARC-111 sont actuellement des candidats potentiels à la chimiothérapie des cancers.

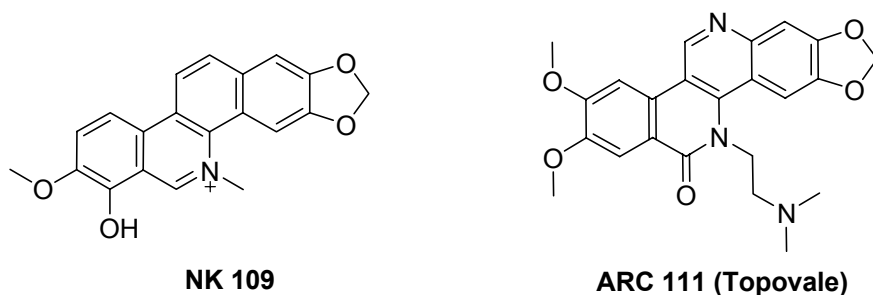


Figure 1 : Candidats potentiels à la chimiothérapie des cancers

Pour contribuer à la découverte de nouveaux médicaments anticancéreux, le laboratoire SONAS a travaillé sur plusieurs projets de synthèse de nouveaux alcaloïdes de la famille des benzo[*c*]phénanthridines et a en particulier développé la synthèse totale de nouveaux composés substitués en position 12. Une molécule « leader » (éthoxidine) a été sélectionnée et a démontré de remarquables activités au cours de tests biologiques *in vitro* de cytotoxicité sur plusieurs souches leucémiques humaines et de différenciation cellulaire appliqués à la souche leucémique K562 [5]. De plus, des tests biochimiques qui ont montré une affinité pour l'ADN et leur inhibition de la topoisomérase I et II [6] [7]. En vue d'améliorer l'affinité de nos structures pour leurs cibles, nous avons envisagé une démarche de pharmacomodulation du squelette carboné des BZPs en introduisant des atomes d'azote, source de nouveaux potentiels électro-négatifs au sein de nos structures. L'objectif de ce travail est donc de développer des voies d'accès à ces analogues de BZPs possédant 1 ou 2 atomes d'azote dans le cycle A avec ou sans groupement éthoxyle en position 12.

Suite à ces travaux de synthèse, des études biologiques seront entreprises.

Les études de relations structure activité (QSAR) seront menées à bien et leur résultats nous aidera à nous orienter vers les structures les plus prometteuses.

**PARTIE A**

**BENZO[*c*]PHENANTHRIDINES ET**

**LEURS ANALOGUES**



## GENERALITES

### I. STRUCTURE - CLASSIFICATION DES BZPs

Le noyau benzo[*c*]phénanthridine résulte de la fusion de trois cycles benzéniques et d'un cycle pyridinique (Figure 2).

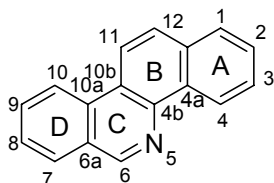


Figure 2 : Noyau benzo[*c*]phénanthridinique

Il y a plus de cent alcaloïdes d'origine naturelle dérivés du noyau benzo[*c*]phénanthridine qui sont présents dans cinq familles de plantes [8] :

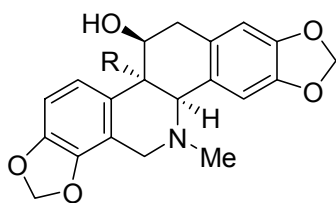
- les Fumariacées (espèce *Corydalis*, *Dicentra*, *Fumaria*),
- les Papavéracées (de nombreuses espèces),
- les Rutacées (espèce *Fagara*, *Zanthophyllum*, *Toddalia*),
- les Caprifoliacées (espèce *Symphoricarpos*),
- les Méliacées (espèce *Xylocarpus*).

Les dérivés benzo[*c*]phénanthridiniques se subdivisent en plusieurs groupes en fonction de leurs structures (Figure 2):

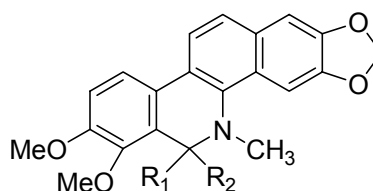
- B/C hexahydrobenzo[*c*]phénanthridines (chélidonine, corynoline),
- C dihydrobenzo[*c*]phénanthridines (dihydrochélérythrine, oxochélérythrine),
- N-déméthylbenzo[*c*]phénanthridines (norsanguinarine),
- Dihydrobenzo[*c*]phénanthridines dimériques (caymandimerine),
- Benzo[*c*]phénanthridines possédant un azote quaternaire et totalement aromatisés [9].

Les benzo[*c*]phénanthridines quaternaires ont été les plus étudiées. Ils sont divisés en trois catégories en fonction du nombre de fonctions oxygénées (Figure 3) [10] :

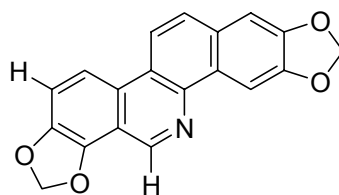
- Benzo[*c*]phénanthridines quaternaires tétraoxygenées apparentées à la nitidine ou la chélérythrine.
- Benzo[*c*]phénanthridines quaternaires penta-oxygenées apparentées à la chélirubine,
- Benzo[*c*]phénanthridines quaternaires hexaoxygenées apparentées à la macarpine.



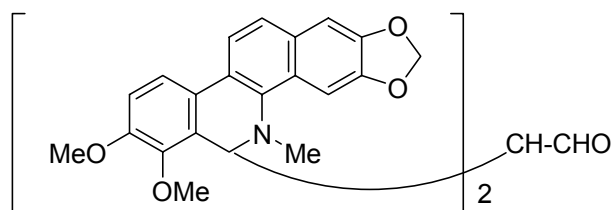
**1** Chelidonine R=H  
**2** Corynoline R=CH<sub>3</sub>



**3** Dihydrochelerythrine R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H  
**4** Oxochelerythrine R<sub>1</sub> + R<sub>2</sub> = O

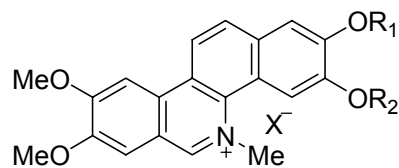


**5** Norsanguinarine

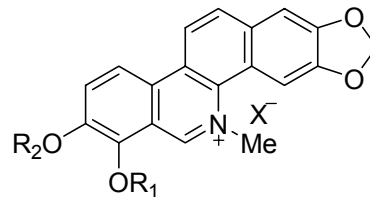


**6** Caymandimerine

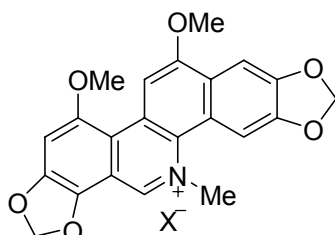
Figure 3 : Dérivés benzo[*c*]phénanthridiniques naturels



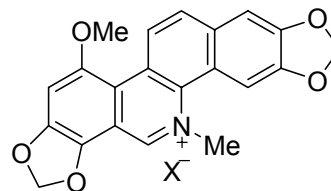
**7** Nitidine  $R_1 + R_2 = \text{CH}_2$   
**8** Fagaronine  $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Me}$



**9** Chelerythrine  $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Me}$   
**10** Sanguinarine  $R_1 + R_2 = \text{CH}_2$



**11** Macarpine



**12** Chelirubine

Figure 4 : Benzo[*c*]phénanthridines quaternaires naturelles

## II. BIOGENESE DES BENZO[*c*]PHENANTHRIDINES

Plusieurs études démontrent que les benzo[*c*]phénanthridines naturelles sont biosynthétisées à partir des molécules de protoberbérines qui ont comme origine la tyrosine [4]. Ceci est réalisé par réactions successives de condensation entre une amine et un aldéhyde, de O-méthylation probable des fonctions oxygénées et de cyclisation intramoléculaire.

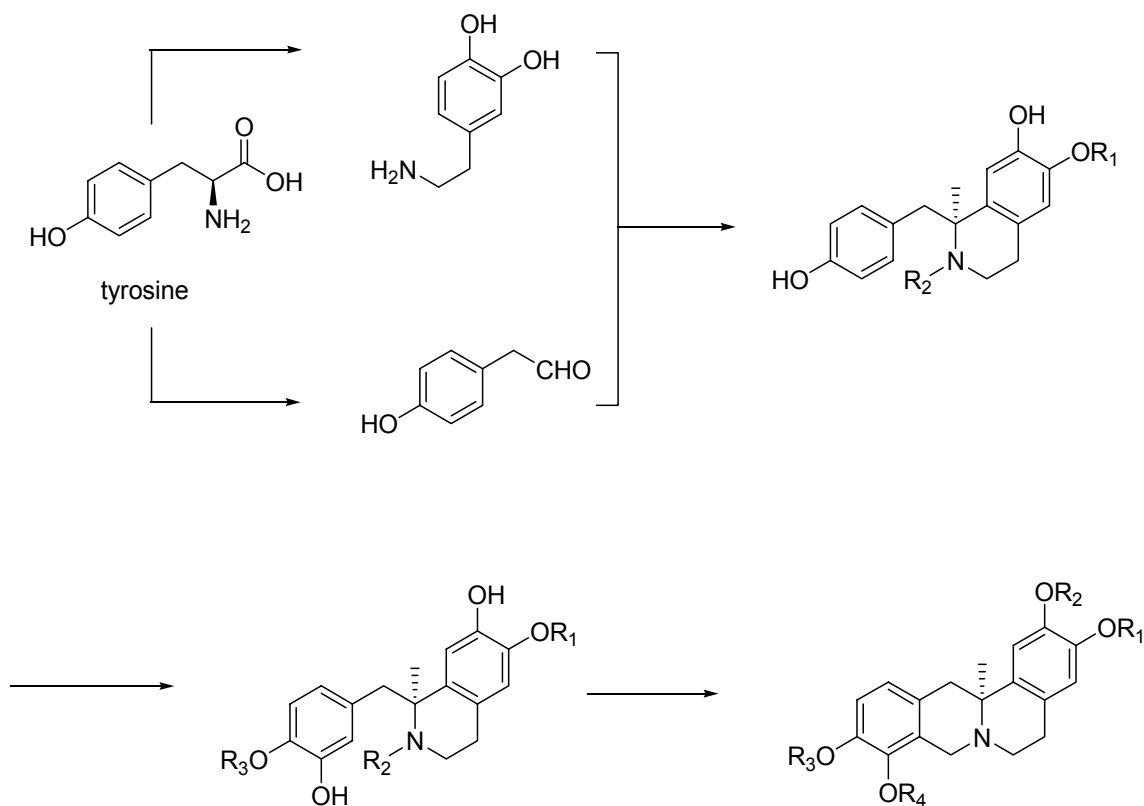
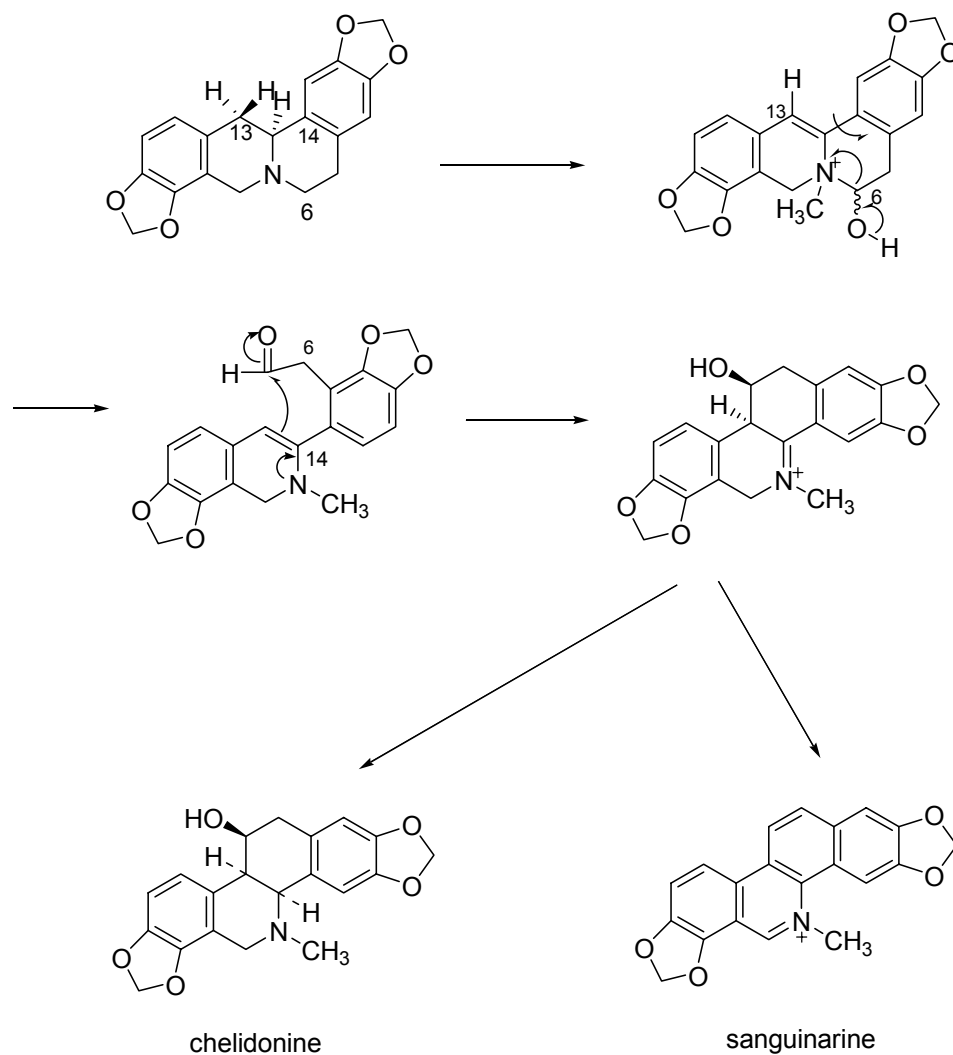


Schéma 1 : Formation de protoberbérine à partir de la tyrosine [4]

La biogénèse des benzo[c]phénanthridines dans *Chelidonium majus* a été proposée par Battersby et coll. [11]. Elle implique la rupture de la liaison N-C6 et la formation d'une nouvelle liaison entre le carbone C6 et le carbon C13 des protoberbéries (Schéma 2) [12]

Schéma 2 : Biogenèse des benzo[*c*]phénanthridines chez *Chelidonium majus* [11] [12]

Selon Yagi et coll. la biosynthèse de la corynoline est réalisée d'une manière similaire à partir de la [8,14-<sup>3</sup>H]stylopine dans *Coryadalis incisa* (Schéma 3) [13]. Il y a rupture de la liaison C6-N puis formation du noyau B de la corynoline *via* la formation d'une nouvelle liaison C-C.

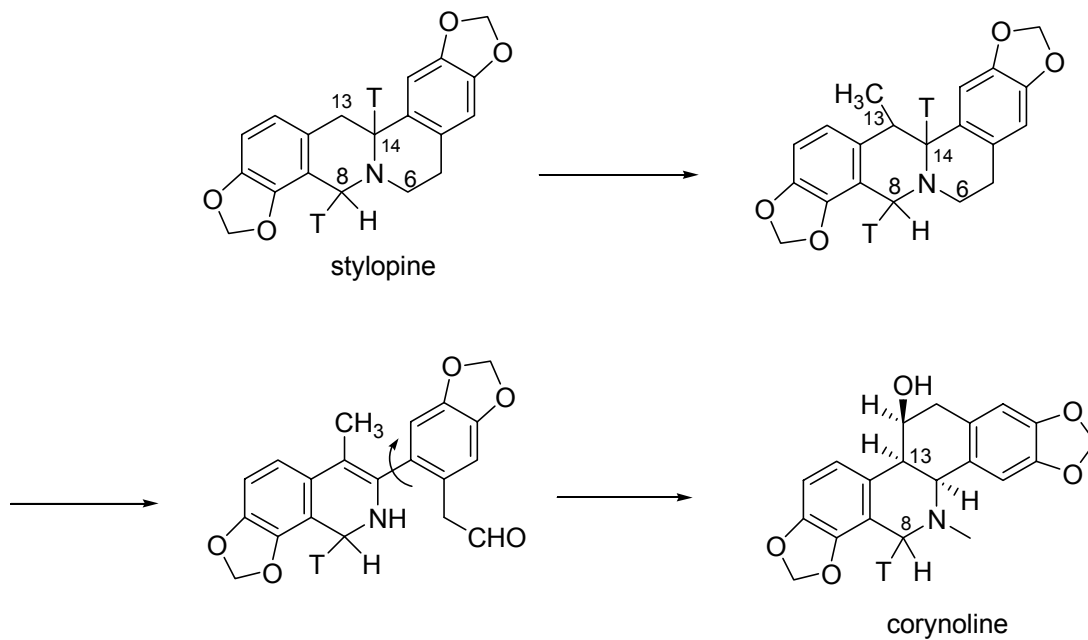


Schéma 3 : Biosynthèse de la corynoline [13]

La biosynthèse des alcaloïdes benzo[*c*]phénanthridiniques a également été étudiée par Takao et coll. dans la culture de *Macleaya cordata* [14] (Schéma 4).

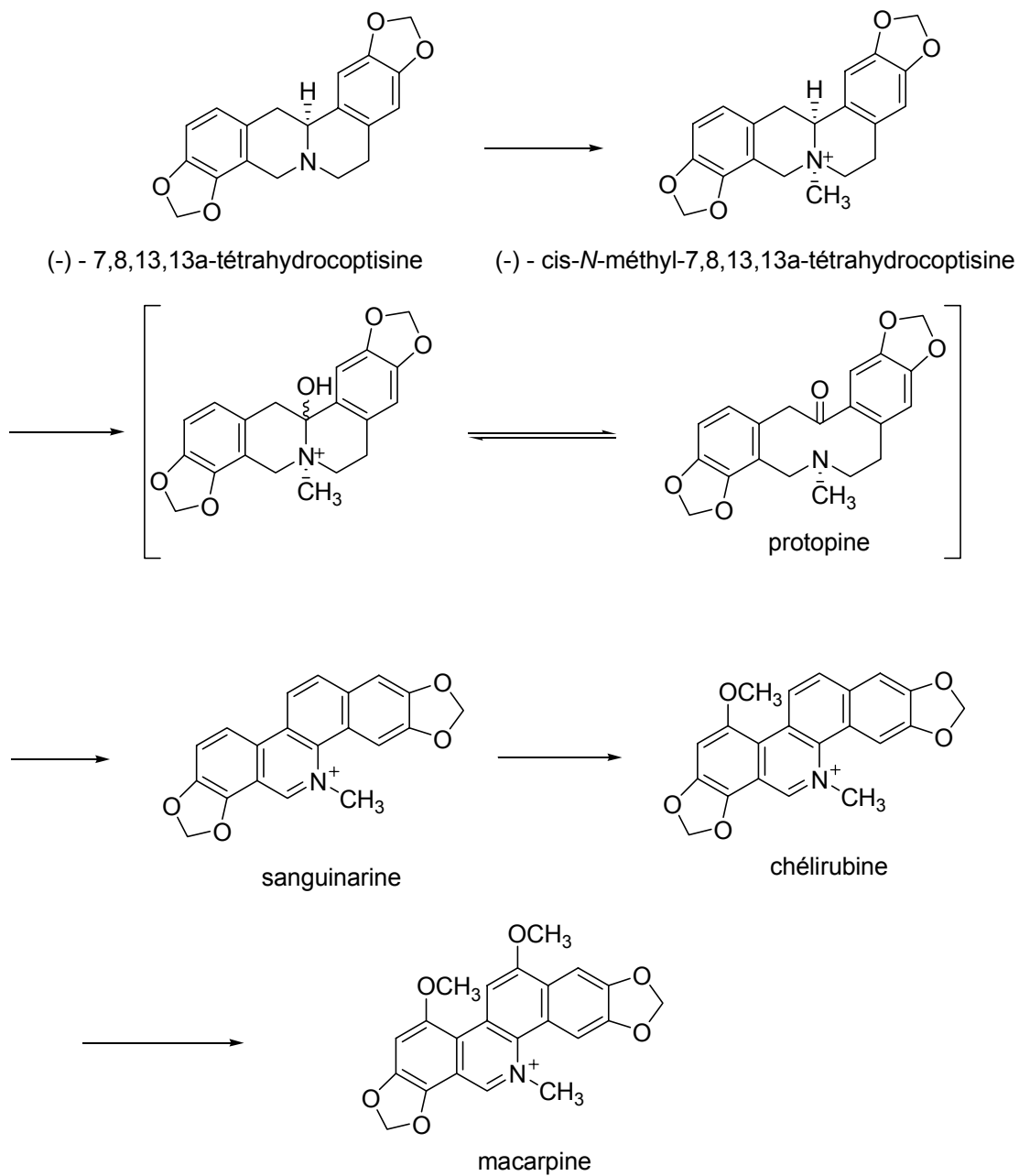


Schéma 4 : Biosynthèse de la macarpine selon Takao et coll [14]

### III. METHODES DE SYNTHÈSE DES BZPs

La plupart des méthodes de synthèse du noyau de type benzo[*c*]phénanthridine sont basées sur celles du noyau phénanthridinique. En général, les voies existantes impliquent la formation terminale soit du cycle B, soit du cycle C.

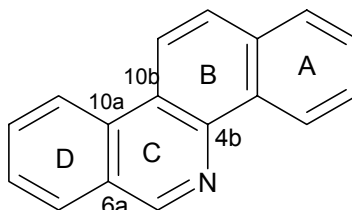


Figure 5 : Noyau benzo[*c*]phénanthridinique

#### III.1. Formation du cycle C en dernier

##### III.1.1. Formation de l'enchaînement 4b-6a

- La voie synthétique fondamentale pour hétérocycliser le système biphenylique est basée sur la méthode de Bischler-Napieralski. Il s'agit d'une cyclodéshydratation d'amides en présence d'oxychlorure de phosphore.

Afin de synthétiser des bases benzo[*c*]phénanthridiniques quaternaires complètement aromatisées (5) (Schéma 5), cette réaction peut être appliquée à des dérivés de type *N*-méthyl-naphthylformamide (4) [10] [15]. Ces derniers sont préparés à partir des 2-aryl-1-tétralones en trois étapes : amination réductrice, formylation de l'amine correspondante, aromatisation avec la DDQ. Une autre stratégie permettant d'accéder aux structures (5) à partir de 2-aryl-1-tétralones consiste à quaterniser l'atome d'azote lors d'une dernière réaction en présence de diméthylsulfate. La régiosélectivité de la synthèse permet la formation des benzo[*c*]phénanthridines substituées en 2,3,8,9 ou 2,3,7,8,10.



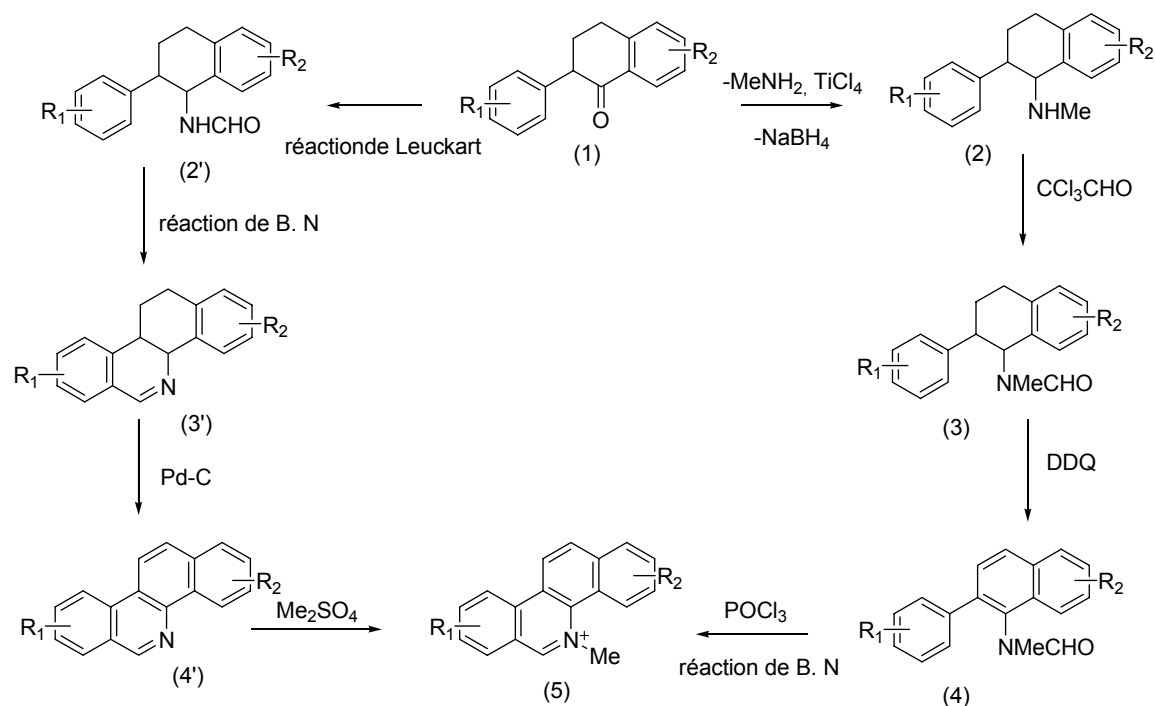


Schéma 5 : Voies d'accès aux benzo[*c*]phénanthridines *via* la formation de l'enchaînement 4b-6a [10] [15]

- Les naphtylformamides peuvent aussi être formées à partir des 2-bromo-1-naphtylamine qui sont couplées à des noyaux aromatiques substitués par le couplage de Suzuki. Par exemple dans le travail de G. R. Geen et coll. (Schéma 6), le couplage du 2-bromo-1-formidonaphthalène (1) avec l'acide 2,4,5-triméthoxyphénylboronique suivi de la N-méthylation du composé (2) donne le dérivé N-méthyl-naphtylformamide (3). La chelilutine est ensuite formée *via* cyclisation par la méthode de Bischler-Napieralski [16].

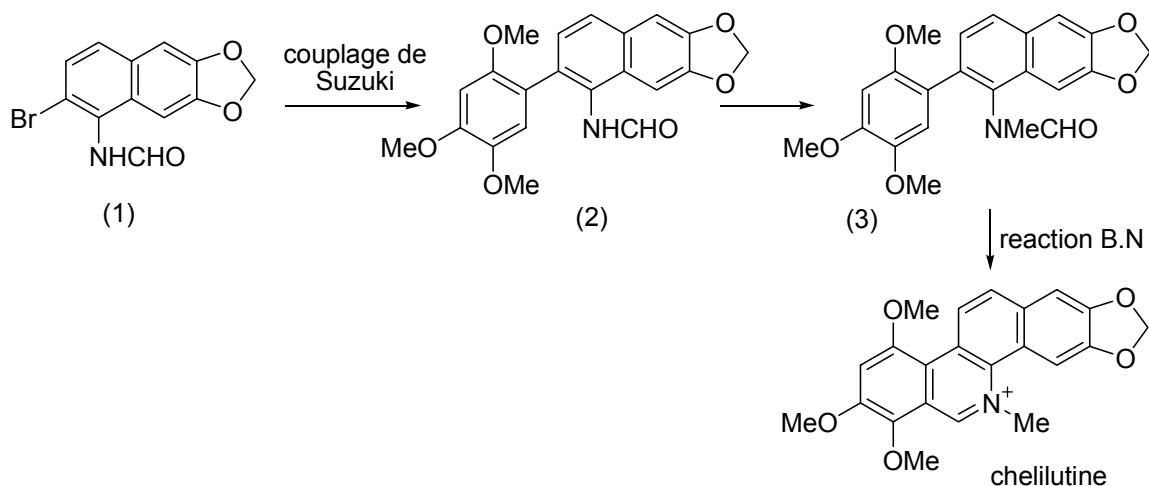


Schéma 6 : Synthèse de la chéllilutine selon G. R. Geen et coll. [16]

- Une oxime arylée peut être utilisée comme intermédiaire au lieu d'une tétralone arylée pour former un dérivé naphthylformamide. Dans un travail de Ishikawa et coll. (Schéma 7), le dérivé N-formylé (3) formé (rendement 70%) à partir de l'éther méthylique d'oxime (2) est cyclisé après N-méthylation par la méthode de Bischler-Napieralski pour donner la macarpine [17].

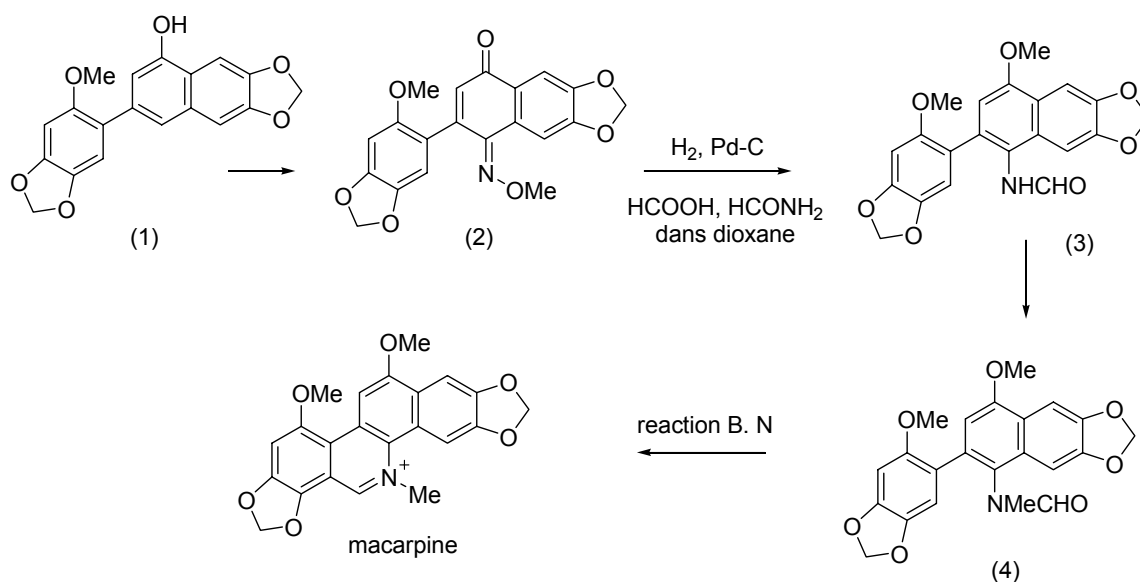


Schéma 7: Synthèse de la macarpine selon Ishikawa et coll. [17]

- Afin d'obtenir des analogues de benzo[*c*]phénanthridinone, la formation de l'enchaînement 4b-6a est entreprise *via* un intermédiaire de 2-aryl-naphthylamine (Schéma 8), obtenus à partir des oximes de la 2-aryl-1-tetralone (1) *via* la réaction de Semmler-Wolf. La cyclisation thermique de carbamates d'éthyle correspondants permet d'accéder aux benzo[*c*]phénanthridinones avec un rendement élevé. C'est la voie synthétique que Janin et Bisagni ont mis au point et utilisé pour préparer des analogues de nitidine solubles dans l'eau et porteurs d'une chaîne d'alkylamino en position C6 [18].

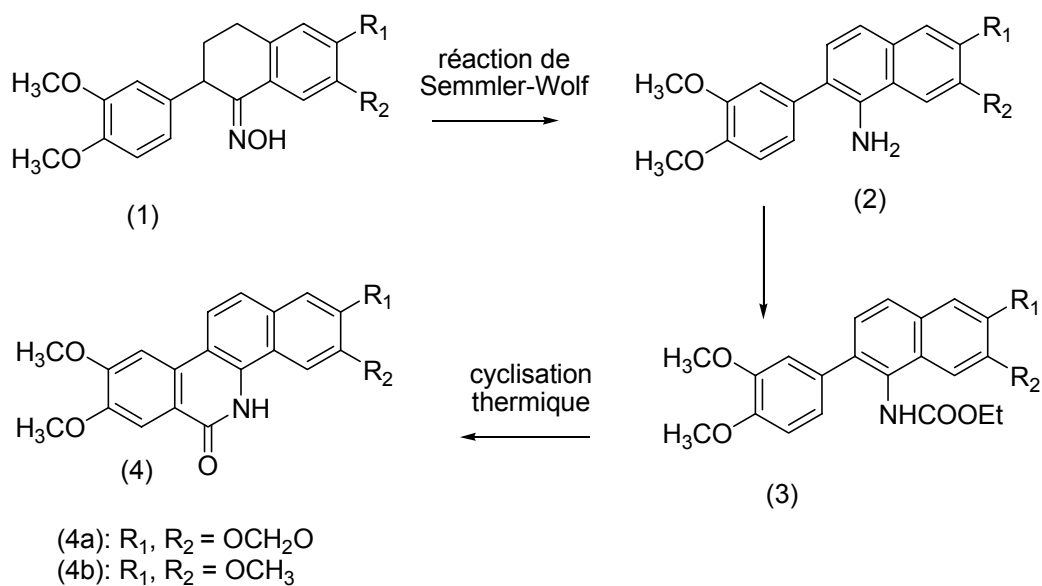
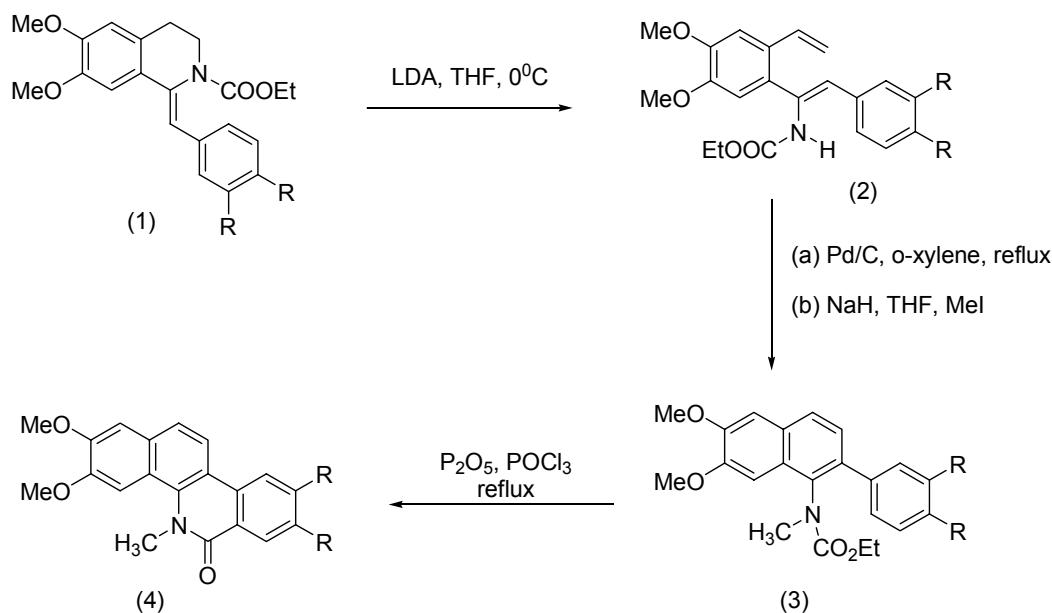
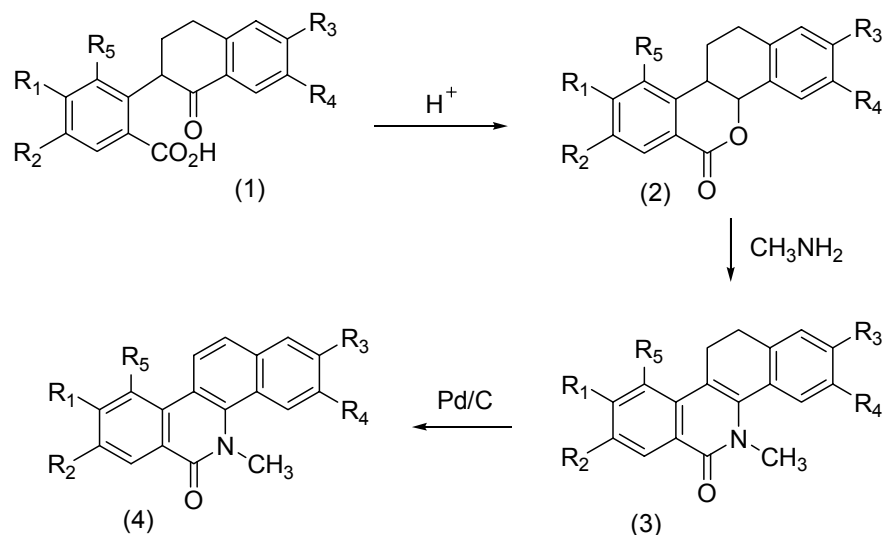


Schéma 8 : Synthèse de benzo[*c*]phénanthrin-6(5*H*)- ones  
selon Janin et Bisagni [18]

De même, dans le travail de Treus et coll. (Schéma 9), les dérivés méthylés de *N*-carbéthoxy-1-amino-2-phényl-naphtalènes (3) formés par l'électrocyclisation de (2) sont cyclisés par la méthode de Bichler-Napieralski pour donner les benzo[*c*]phénanthridin-6-ones souhaitées (4) [19].

Schéma 9 : Synthèse des 5-méthylbenzo[*c*]phénanthrin-6(5*H*)-ones selon Treus et coll.

- Beugelmans et coll. (Schéma 10) ont montré que des dérivés carboxyaryletétralone (1) (obtenus par réaction entre l'acide 2-iodobenzoïque et un énolate de tétralone) peuvent cycliser en milieu acide. Les lactones formées (2) vont être transformées en des benzo[*c*]phénanthridinones (4) par des réactions successives de *N*-méthylation et d'aromatisation [20].

Schéma 10 : Synthèse de benzo[*c*]phénanthridinones selon Beugelmans et coll. [20]

- Une synthèse originale des carboxy-7-benzo[*c*]phénanthridinones est décrite par O. Duval et L. Gomès (Schéma 11). Les (furyl-2)-2 tétralones (1) sont fonctionnalisées en anhydrides (4) par quatre réactions successives : cycloaddition avec l'acétylène dicarboxylate de méthyle, aromatisation, O-méthylation, saponification et déshydratation. La lactamisation des anhydrides (4) en présence d'acétate d'ammonium et en milieu acétique anhydre donne les carboxy-7-benzo[*c*]phénanthridinones (6) [21] [22].

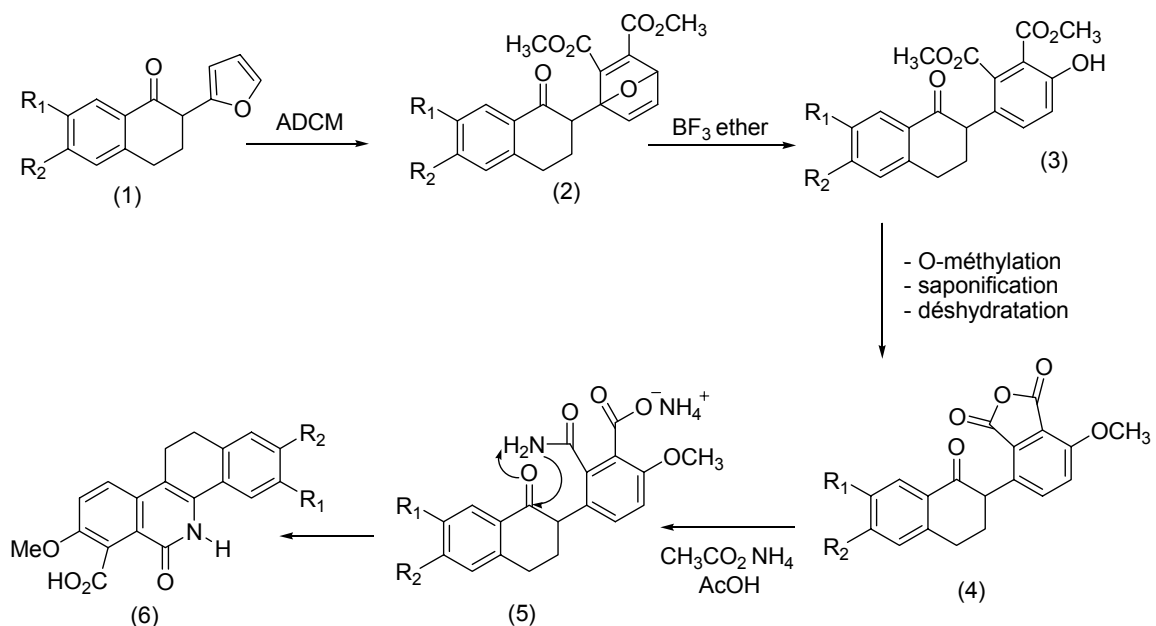
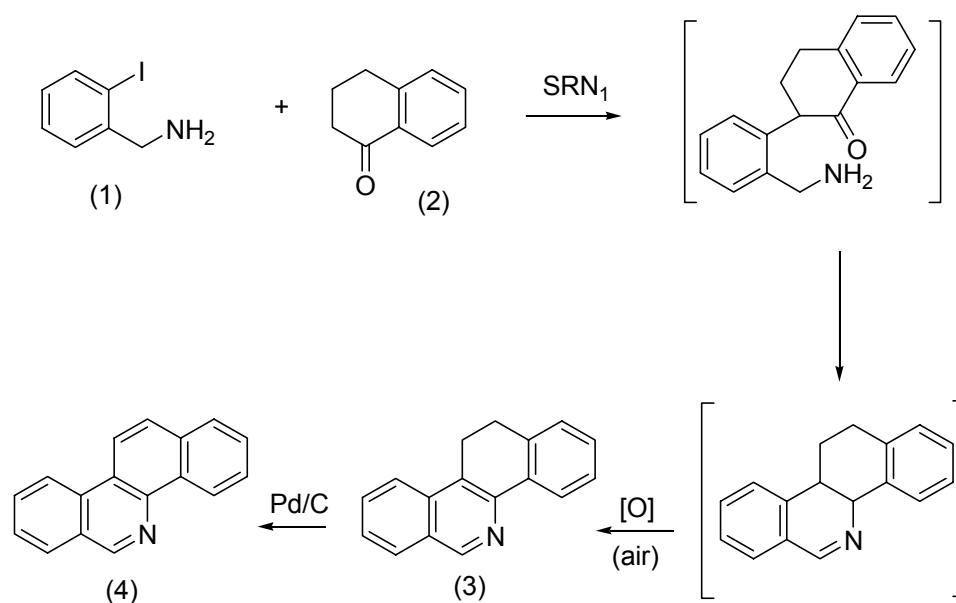


Schéma 11 : Synthèse des 7-carboxybenzo[*c*]phénanthridinones selon O. Duval et L. Mavoungou Gomès [21] [22]

### III.1.2. Formation directe d'une liaison entre deux cycles

Les synthèses directes des benzo[*c*]phénanthridines (4) (Schéma 12), utilisant les réactions de substitutions nucléophiles radicalaires d'ordre 1 (S<sub>RN</sub>1) entre des iodobenzylamines substitués (1) et des tétralones substitués (2), ont été décrites pour la première fois par Beugelmans [20].

Schéma 12 : Synthèse des benzo[*c*]phénanthridines par la réaction de  $S_{RN}1$  [20]

Une autre voie de synthèse possible fait intervenir un intermédiaire de type benzyne lors de l'étape de cyclisation. Kessar fut l'un des premiers à l'utiliser (Schéma 13). La base de Schiff (1) obtenue par la condensation d'une naphtylamine avec des *o*-bromobenzaldéhydes substitués est réduite en *N*-*o*-bromobenzyl naphtylamine (2) correspondante qui conduit directement au squelette attendu (3), soit en présence d'amidure de potassium dans l'ammoniac liquide, soit le LDA dans le tétrahydrofurane à  $-78^{\circ}\text{C}$  [23] [24].

Les *N*-*o*-bromobenzyl naphtylamine peuvent également être irradiées sous atmosphère d'azote [25], pour fournir les Bzps correspondantes.

Le couplage radicalaire de  $C_{\text{aryle}}-C_{\text{aryle}}$  en présence d'hydruure de *n*-tributylstannyl (TBTH) et d'un initiateur comme l'azobisisobutyronitrile (AIBN) [26]-[27]-[28], l'azobisméthylbutyronitrile (AMBN) [29] a été développé pour former des dérivés benzo[*c*]phénanthridiniques avec un bon rendement.

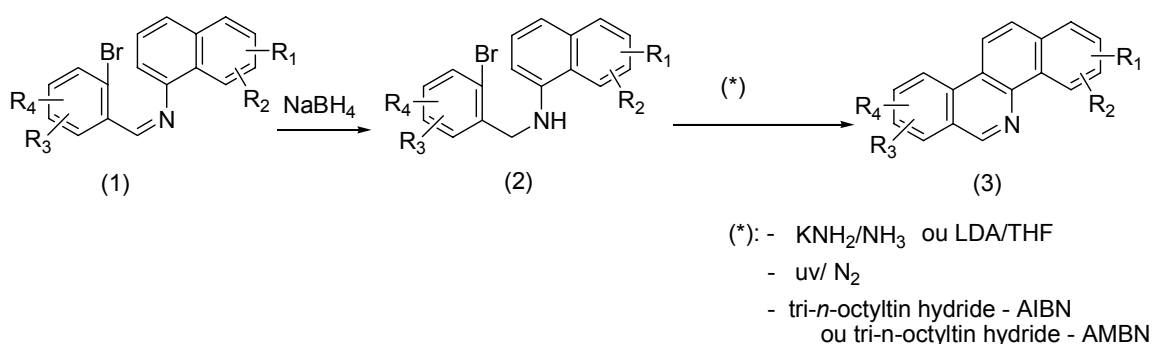


Schéma 13 : Voie de cyclisation par les intermédiaires benzyniques

La formation de la liaison C10a-C10b peut se faire *via* une réaction de couplage aryle – aryle intramoléculaire d'une haloamide à l'aide de l'acétate de palladium, un ligand de phosphine et une base [30] [31] [32] [33] (Schéma 14).

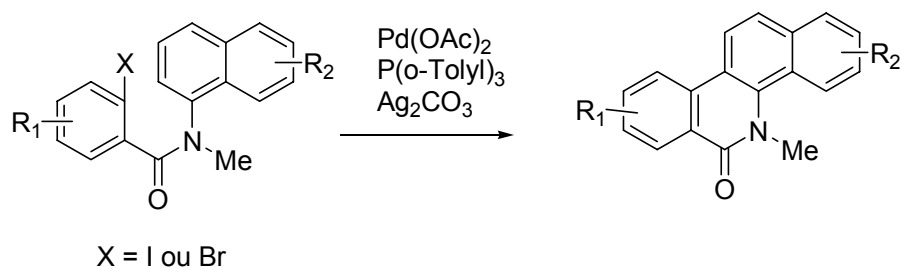


Schéma 14 : Couplage aryle-aryle intramoléculaire d'une haloamide

Le squelette benzo[*c*]phénanthridinone peut être préparé par formation de la liaison 10a-10b *via* un procédé de couplage biaryle oxydatif d'une naphtylbenzamide substituée grâce à l'action du phényliode(III)-bis(trifluoroacétate) (PIFA). La réaction a lieu sous des conditions douces *via* un cation radical intermédiaire, attaqué par un nucléophile de type aryle avec des rendements compris entre 40 et 42 % [34] (Schéma 15).

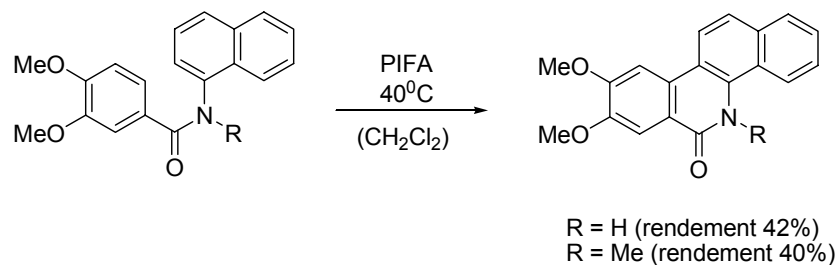
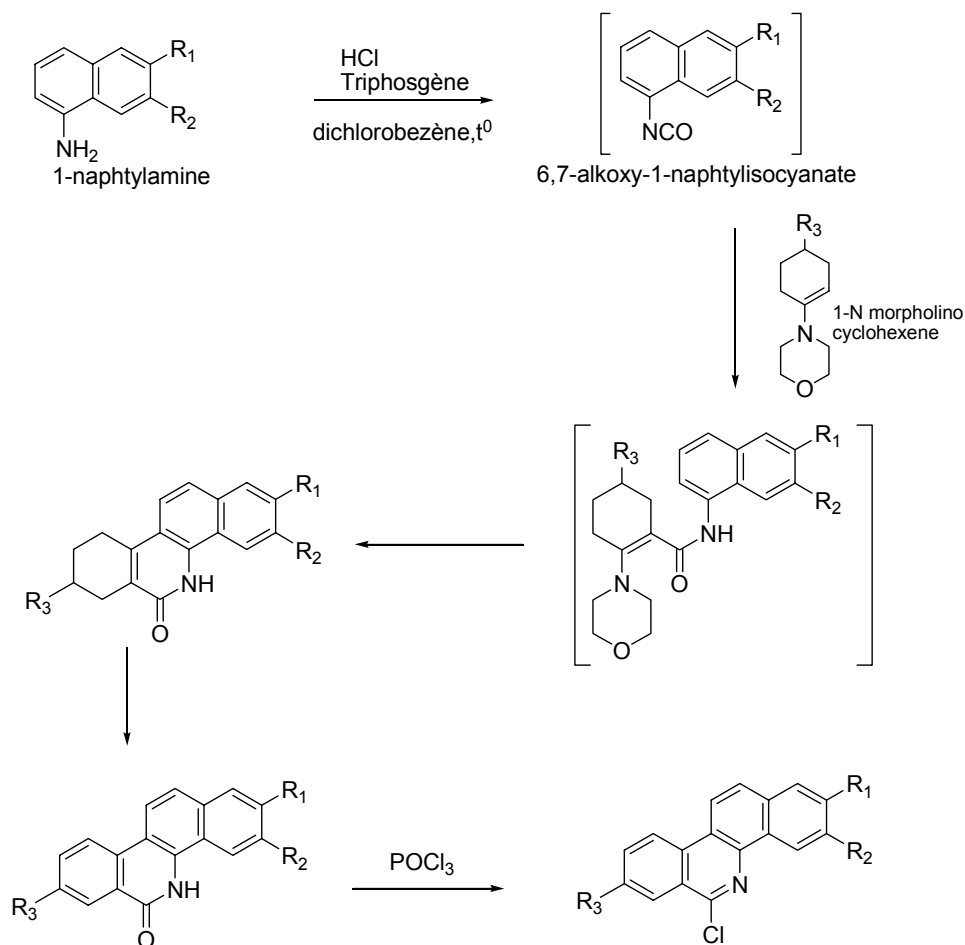


Schéma 15 : Couplage biaryle oxidatif de naphtylbenzamide en présence de PIFA [34]

L'amide intermédiaire formée à partir d'un isocyanate de 1-naphtylamine substituée et une ènamine (le 1-*N*-morpholino-1-cyclohexène) peut être cyclisée à chaud en présence du chlorure d'hydrogène. L'aromatisation du dérivé tétracyclique obtenu conduit au squelette benzo[*c*]phénanthridinone. Cette stratégie a été appliquée par Janin et coll. à la synthèse de nouvelles 6-aminobenzo[*c*]phénanthridines (Schéma 16) [35].

Schéma 16 : Synthèse de 6-aminobenzo[*c*]phénanthridines selon Janin et coll. [35]



Une nouvelle voie d'accès au squelette benzo[*c*]phénanthridinique a été introduite par Moore *via* un réarrangement de cyclobuténones dans lequel le cycle C et D sont formés presque simultanément (Schéma 17). La thermolyse, dans le chlorobenzène, des 4-hydroxy-4-(3-*N*-méthyl-*N*-arylpropynyl)-cyclobutanones (1) *via* un mécanisme d'ouverture électrocyclique de cyclobuténones permet d'accéder aux ènylnylkétènes correspondants. Ceux-ci évoluent vers un radical intermédiaire dont la cyclisation intramoléculaire fournit un nouveau biradical tétracyclique. L'aromatisation spontanée de ce dernier conduit au dihydroBzps correspondantes (2) [36] [37].

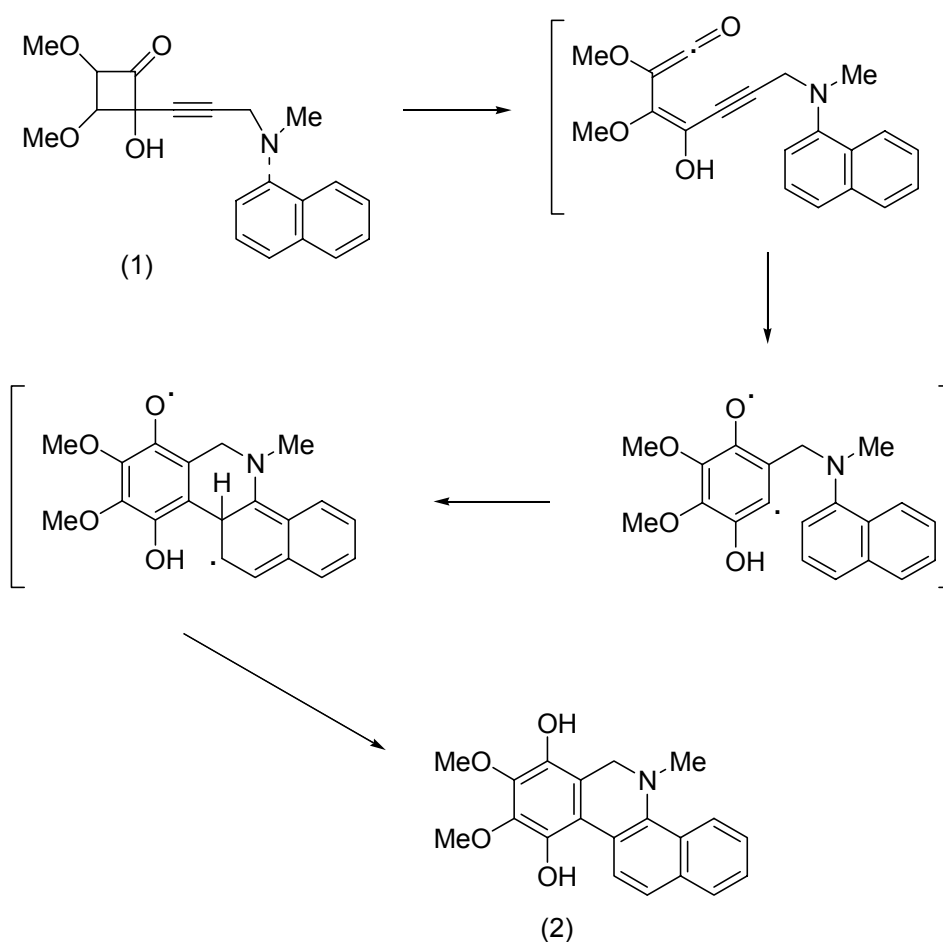


Schéma 17 : Synthèse de dihydrobenzo[*c*]phénanthridines par réarrangement de cyclobuténones [36] [37]

### III.1.3. Formation du cycle C par cycloaddition

J.H. Rigby et coll. ont synthétisés la nortidine par une réaction de cycloaddition mettant en jeu un isocyanate vinylique et un intermédiaire benzynique généré à partir d'un dérivé du benzotriazole (Schéma 18) [38].

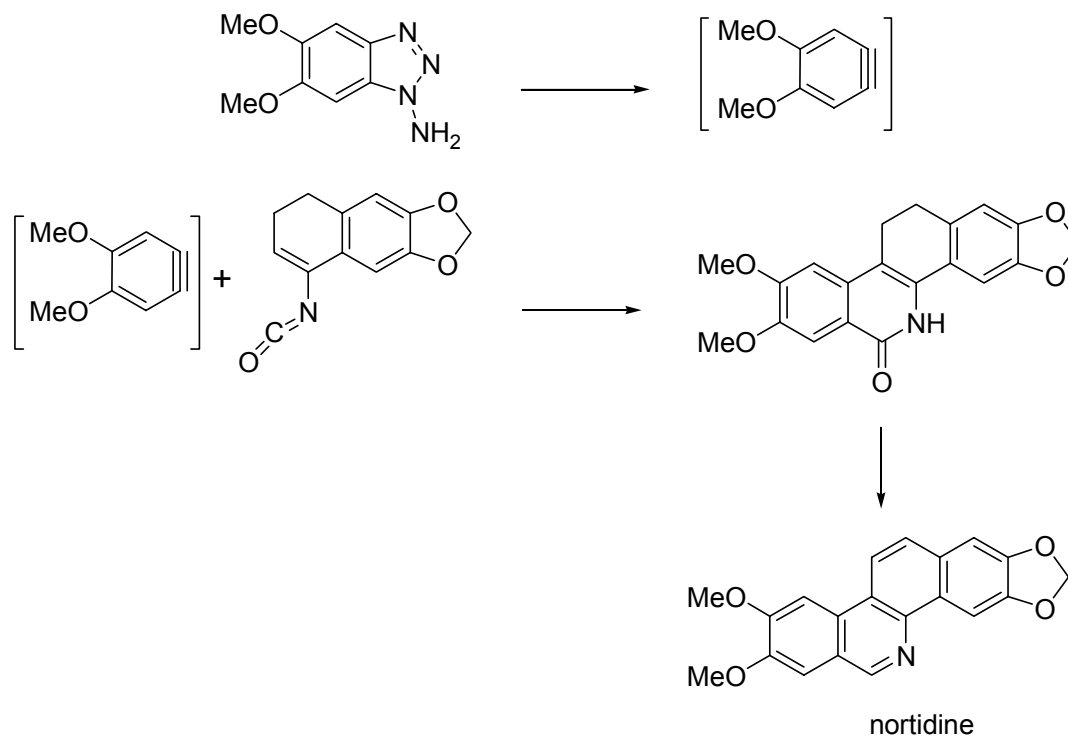


Schéma 18 : Synthèse de la nortidine selon James H. Rigby et coll. [38]

La réactivité de ces intermédiaires benzyniques en présence de dihydro-3,4-naphtopyrrolidinediones-2,3 a permis l'accès aux dihydrobenzo[*c*]phénanthridinones [39].

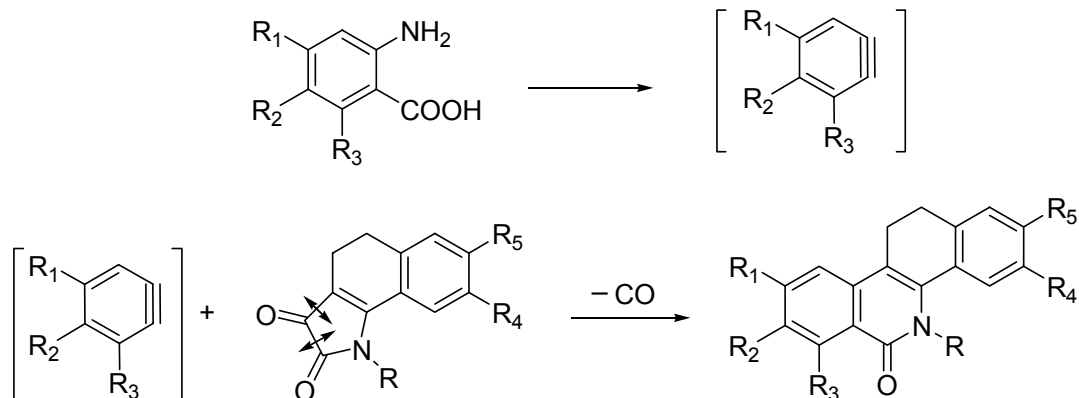


Schéma 19 : Cycloaddition mettant en jeu un intermédiaire benzyne et une 3,4-dihydropyridopyrrolidine-2,3-dione [39]

### III.2. Formation du cycle B en dernier

#### III.2.1 Par une cyclisation intramoléculaire

- La réaction de Pschorr à partir d'un acide styrénecarboxylique est bien connue pour la préparation de composés polycycliques aromatiques (Schéma 20).

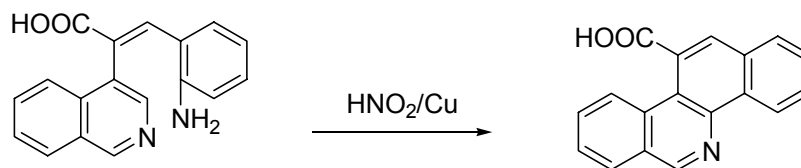


Schéma 20 : Réaction de Pschorr

Ishikawa a utilisé cette réaction dans la synthèse d'un isomère d'éthylisodécarine en construisant la liaison C4a-C4b (Schéma 21) [10].

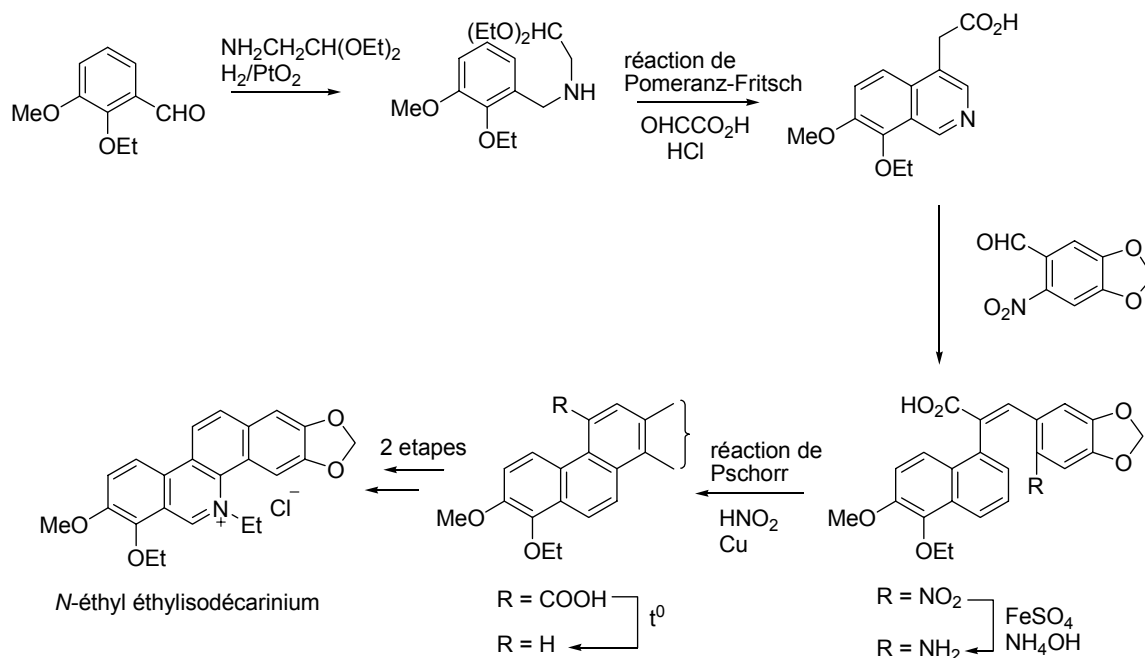


Schéma 21 : Synthèse de l'éthylisodécarine

- La fermeture du cycle B par formation de la liaison C10b-C11.

\* Une autre voie d'accès au squelette benzo[*c*]phénanthridinique, développée par Beugelmans et coll., met en jeu un intermédiaire de type 3-aryliisoquinoléine (3) (Schéma 22), obtenu via le couplage d'un *o*-iodobenzamide (1) et un acide 2-acétylhomovératrique (2) selon un mécanisme  $\text{S}_{\text{RN}}1$ . Après méthylation des fonctions amide et acide, la fonction ester du composé (4) est réduite pour donner l'intermédiaire clé (5). La fonction alcool primaire de ce dernier est alors oxydée en présence de PCC. La fonction aldéhydique ainsi obtenue subit une attaque intramoléculaire biomimétique pour conduire après aromatisation au squelette benzo[*c*]phénanthridin-6-one attendue (7) [40].

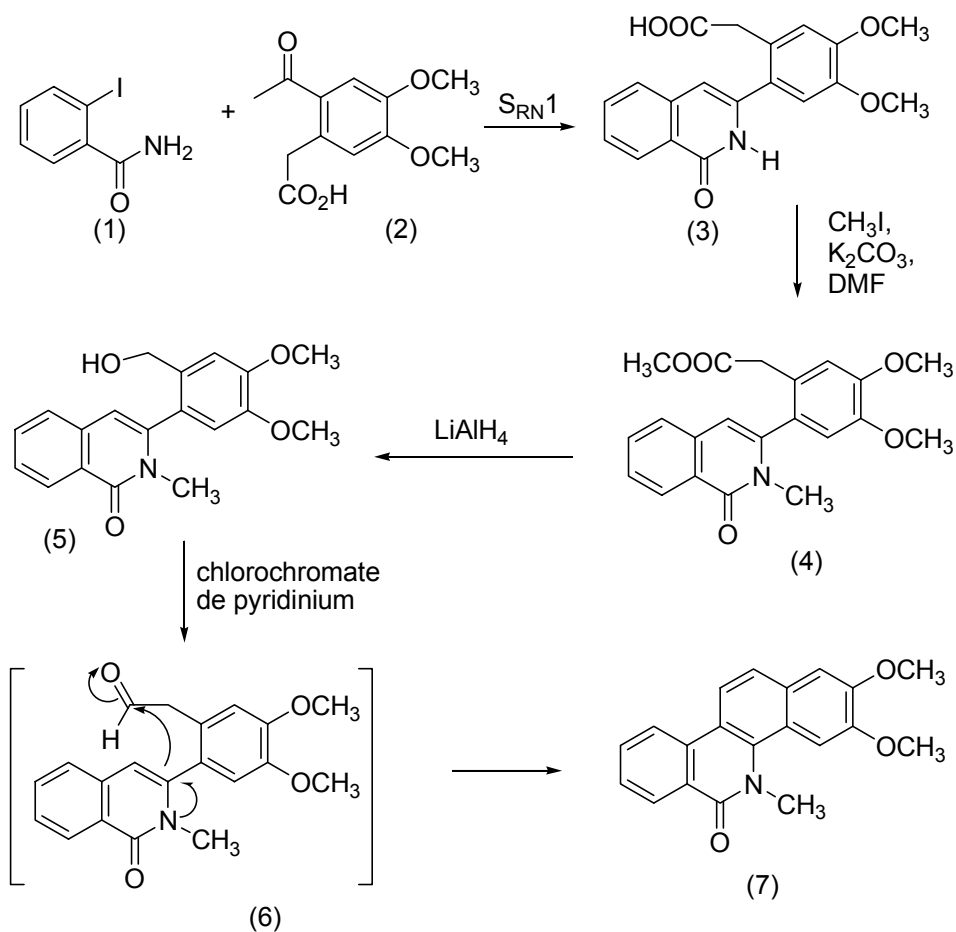


Schéma 22 : Méthode d'accès au squelette de benzo[*c*]phénanthridinone selon Beugelmans et coll. [40]

\* L'hydrolyse acide de l'éther d'énol (6) (Schéma 23), synthétisé par Le et coll., conduit de façon similaire à un intermédiaire aldéhydique (7) qui cyclise spontanément et conduit à la structure benzo[*c*]phénanthridin-6-one. Cette stratégie a été appliquée avec succès à la synthèse de l'oxynitidine et de l'oxosanguinarine [41].

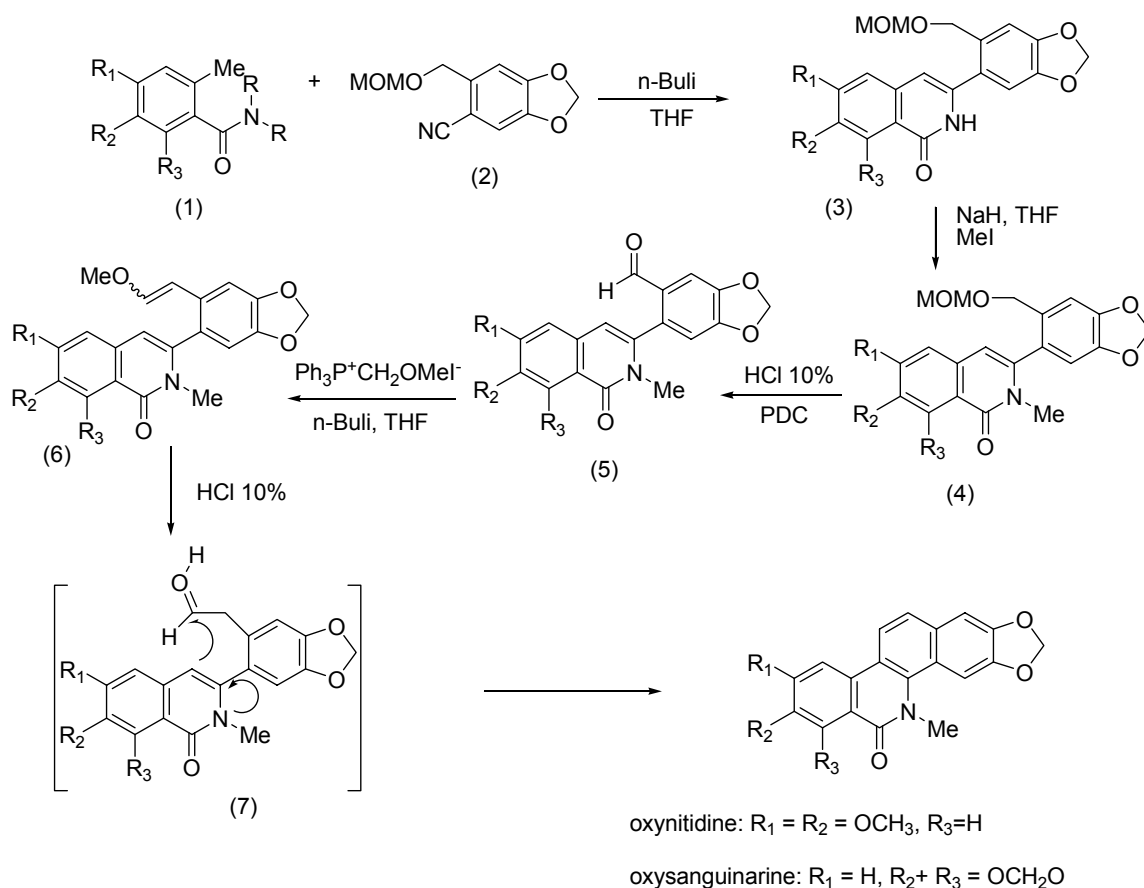


Schéma 23 : Synthèse de l'oxynitidine et l'oxysanguinarine selon Le et coll. [41]

\* Le dérivé acétalique (4) (Schéma 24), préparé en quatre étapes à partir du dérivé *N*-carbéthoxy-1-benzylidenoquinoléine (1), constitue un intermédiaire clé dans les travaux de Treus et coll. [42]. En effet, son hydrolyse en milieu acide libère également un groupement aldéhydique dont l'attaque spontanée permet d'accéder à la structure tétracyclique (5).

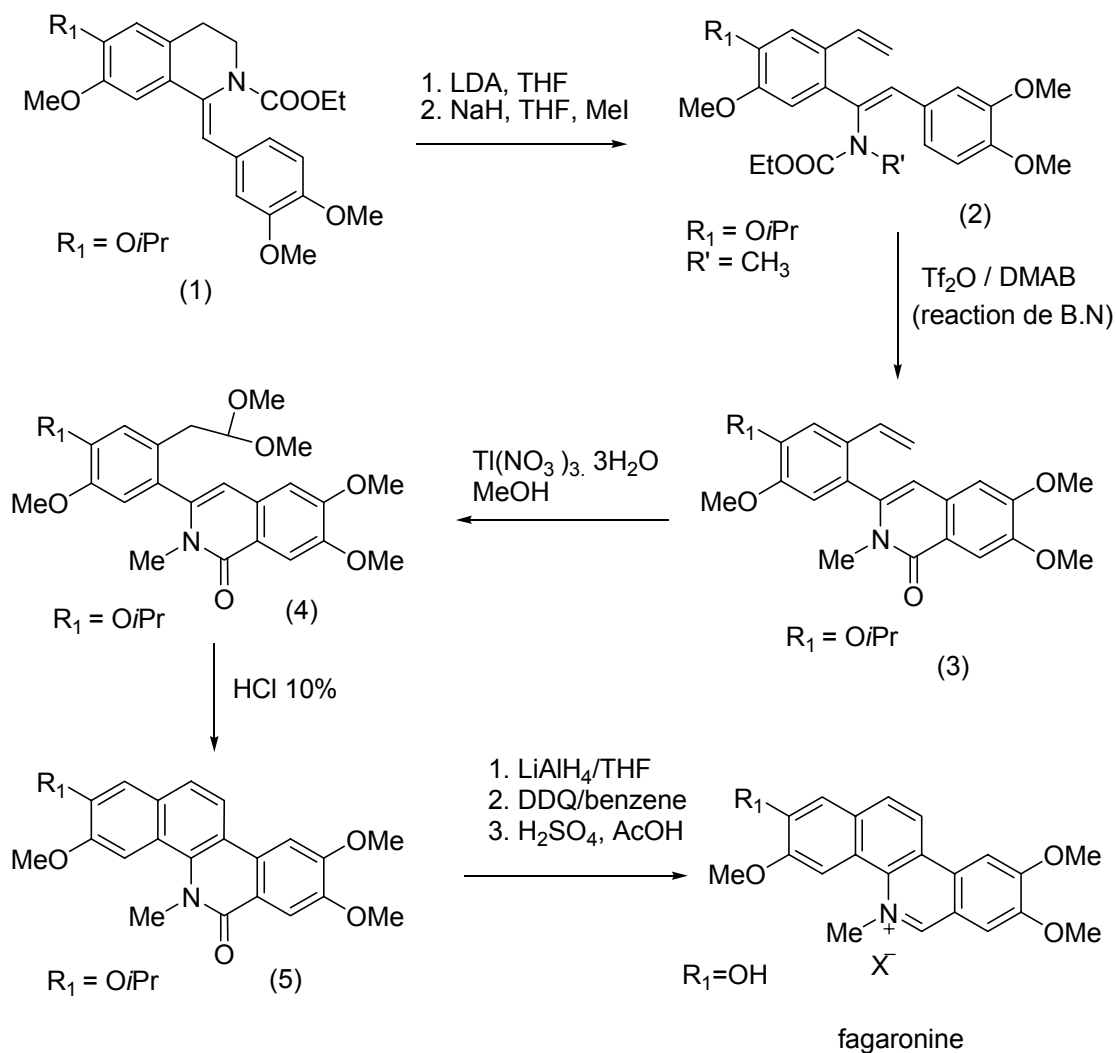


Schéma 24: Synthèse de la fagaronine selon M. Treus et coll. [42]

\* Le même type d'intermédiaire acétalique a été préparé en deux étapes par Minami et coll. à partir de l'isocoumarine (2) (Schéma 25) [43].

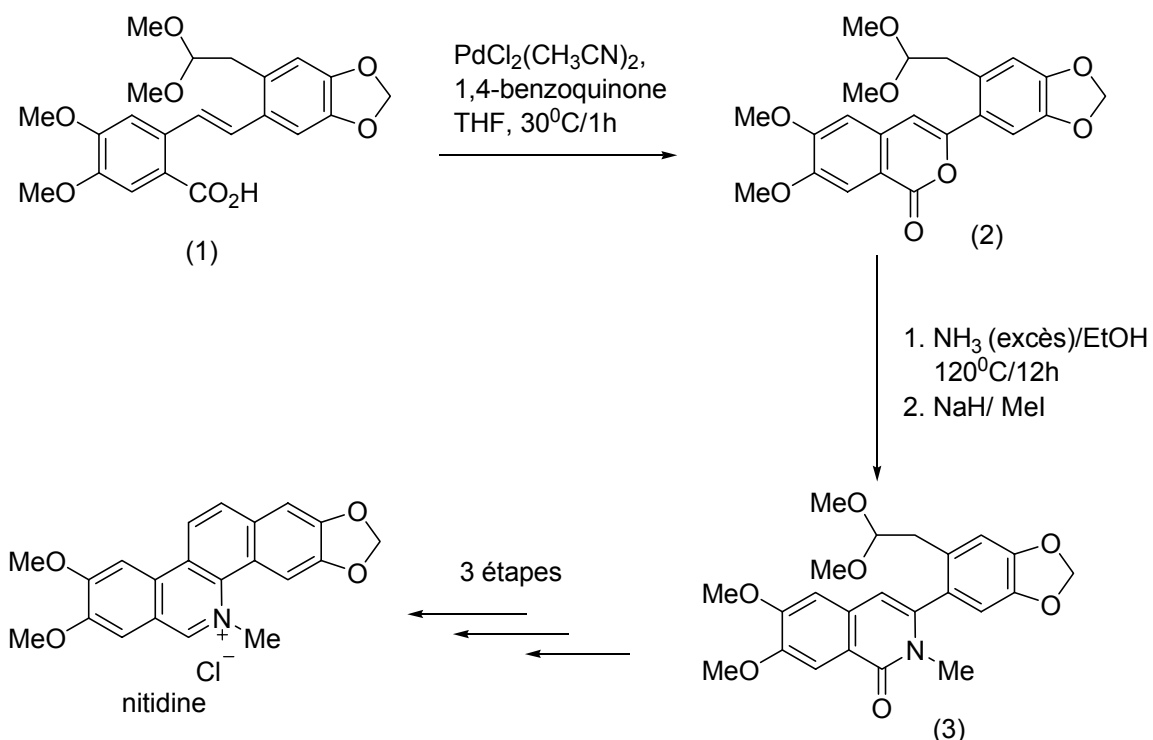


Schéma 25 : Synthèse de la nitidine selon T. Minami et coll. [43]

- Formation du cycle B par cyclisation selon Friedel et Crafts et construction de la liaison C12-12a.

Cette méthode introduite initialement par Shamma et coll. a été développée par Cushman (Schéma 26). Elle consiste à condenser au cours d'une première étape des anhydrides homophtaliques (1) avec des bases de Schiff aromatiques (2). L'homologation des cis-3,4-phényl-4-carboxy-3,4-dihydroisoquinolones (3) selon une séquence d'Arndt-Eistert, permet d'accéder au dérivé acide carboxylique (5). Ce cétolactame est ensuite facilement converti en 3 étapes en oxynitidine (7) [44] [45].



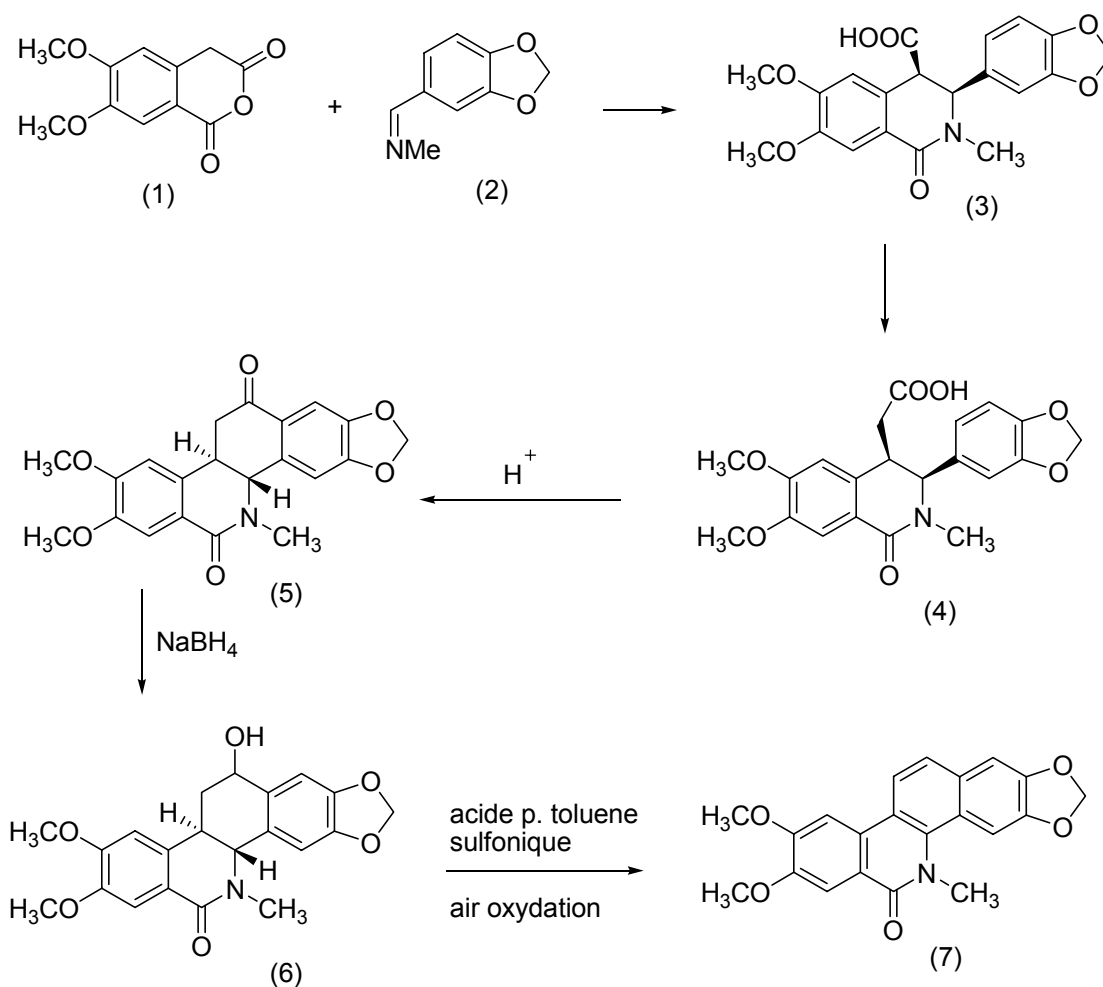
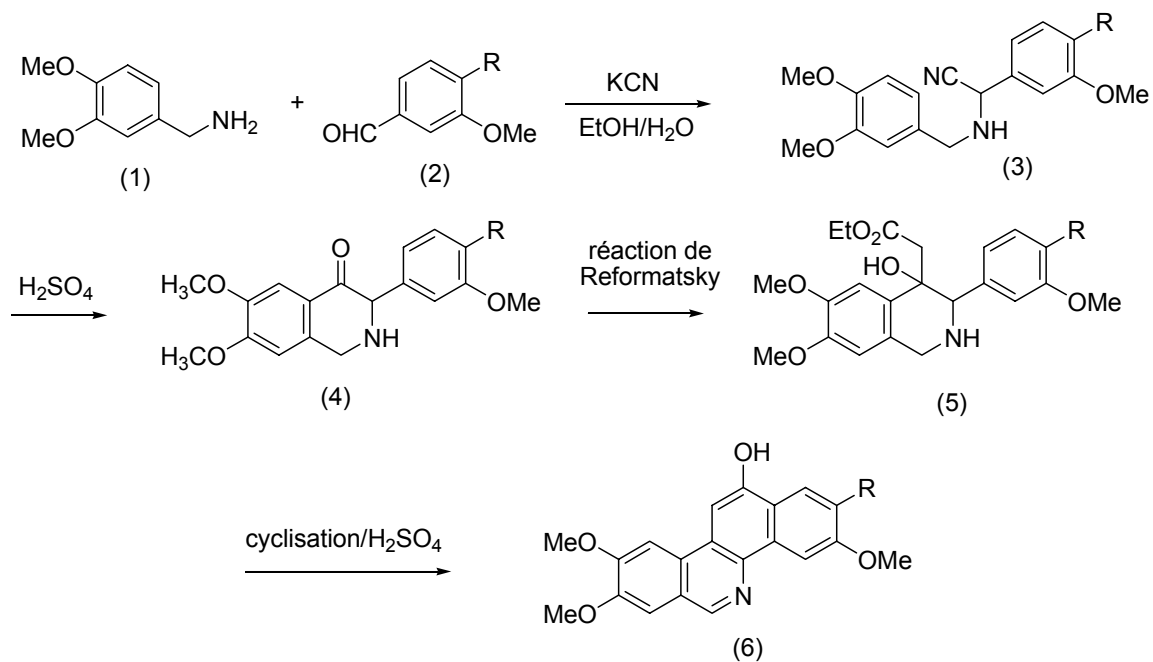
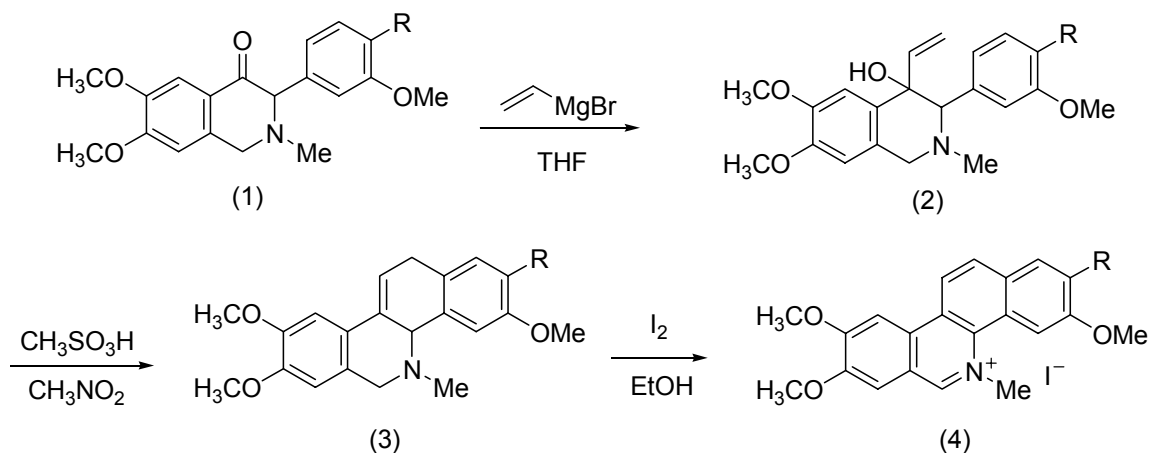


Schéma 26 : Formation du cycle B par cyclisation intramoléculaire type Friedel-Crafts [44] [45]

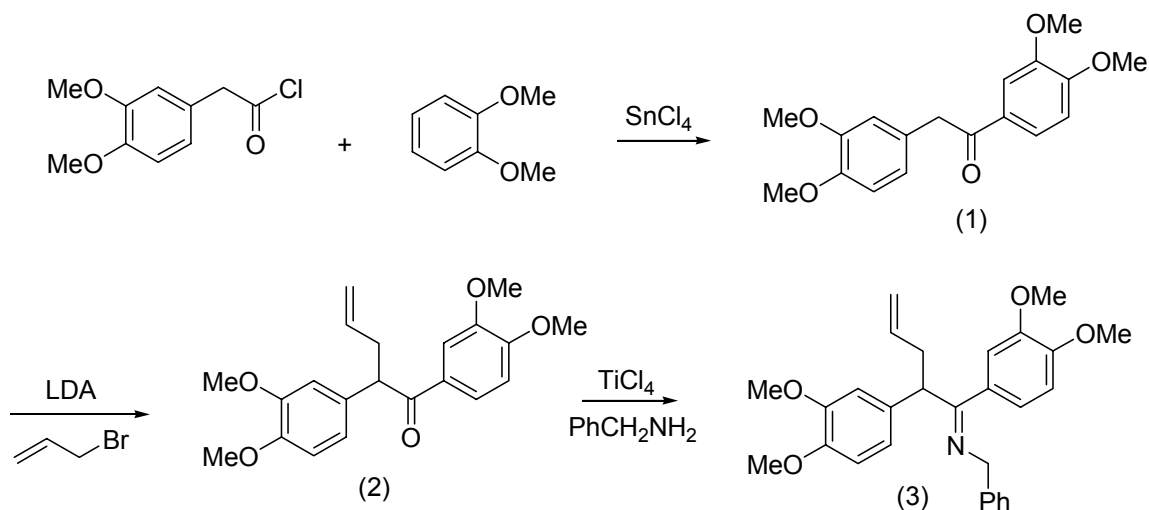
L'approche élaborée par Olugbade et coll. [46] et Lynch et coll. [47] implique également une acylation intramoléculaire de type Friedel et Craft, conduisant à la formation du cycle B. Cette étape réactionnelle est appliquée à des  $\beta$ -hydroxyesters (5) (Schéma 27) obtenus en trois étapes à partir de vératrylamines et d'aldéhydes substitués. Le traitement de ces intermédiaires (5) en milieu acide a permis l'introduction de substituants oxygénés en position 12 du noyau benzo[*c*]phénanthridinique.

Schéma 27 : Synthèse de benzo[*c*]phénanthridine selon Olugbade [46]

- Une modification de la méthode précédente consiste à réaliser une addition de bromure de vinyl magnésium sur des dérivés similaires de type *N*-méthylaminocétone (1) (Schéma 28) pour obtenir les alcools vinyliques correspondants (2). Ces derniers, sous des conditions acide (protique ou de Lewis) conduisent aux *N*-méthylhexahydrobenzo[*c*]phénanthridines (3). L'aromatisation de ces composés en présence d'iode a permis d'accéder à la synthèse de la fagaronine (R= OH) avec un rendement de 12% en 8 étapes [47]. Cette méthode conduit à des benzo[*c*]phénanthridines non substituées sur la position 12.

Schéma 28 : Synthèse de benzo[*c*]phénanthridines selon Séraphin et coll. [47]

- Sotomayor et coll. ont également mis au point une voie de synthèse conduisant à des Bzps substituées en position 12 par un groupement méthyle [48]. L'intermédiaire clés mis en jeu est un dérivé de type 4-allyl-3-arylisquinoléinium (5) (Schéma 29) qui en présence d'acide polyphosphorique donne lieu à une alkylation intramoléculaire permettant la formation du cycle B pour donner (6).



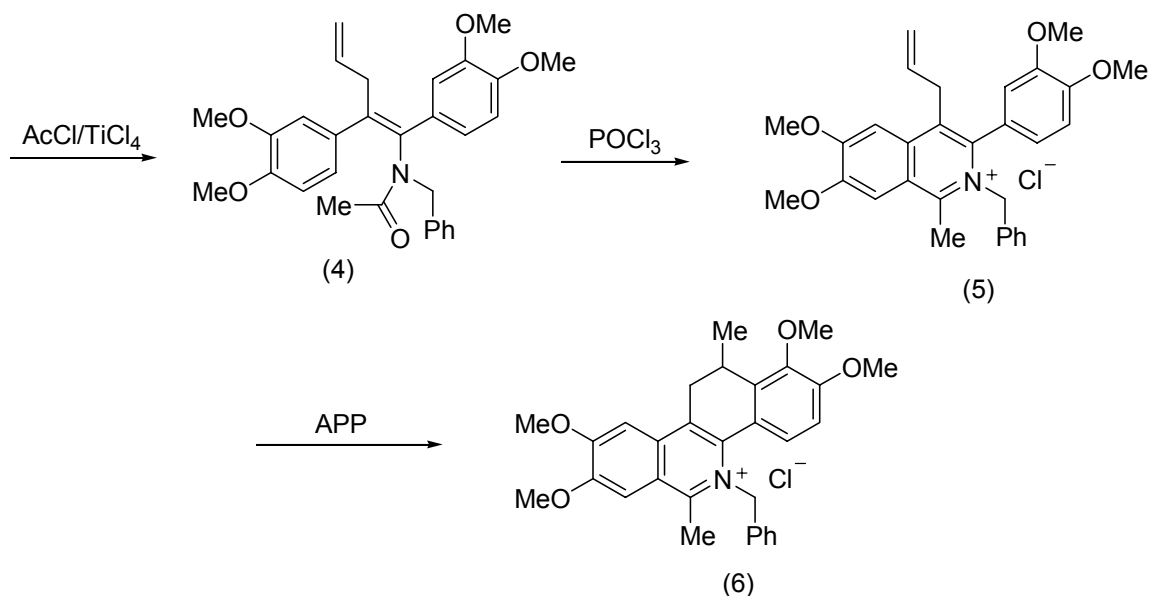


Schéma 29 : Synthèse de dérivés de 12-méthyl-11,12-dihydrobenzo[*c*]phénanthridine selon N. Sotomayor et coll. [48]

### III.2.2. Par réaction de cycloaddition

Les alcaloïdes de type benzo[*c*]phénanthridinique peuvent être synthétisés via une réaction de Diels-Alder de type [4+2] entre une  $\alpha$  pyrone (4) et un aryne (5) (Schéma 30). Cette méthode décrite par J. H. Rigby et coll. [39] [49] a été développée par Perez et coll. pour accéder à des structures benzo[*c*]phénanthridiniques à fort potentiel antitumoral en général [50].

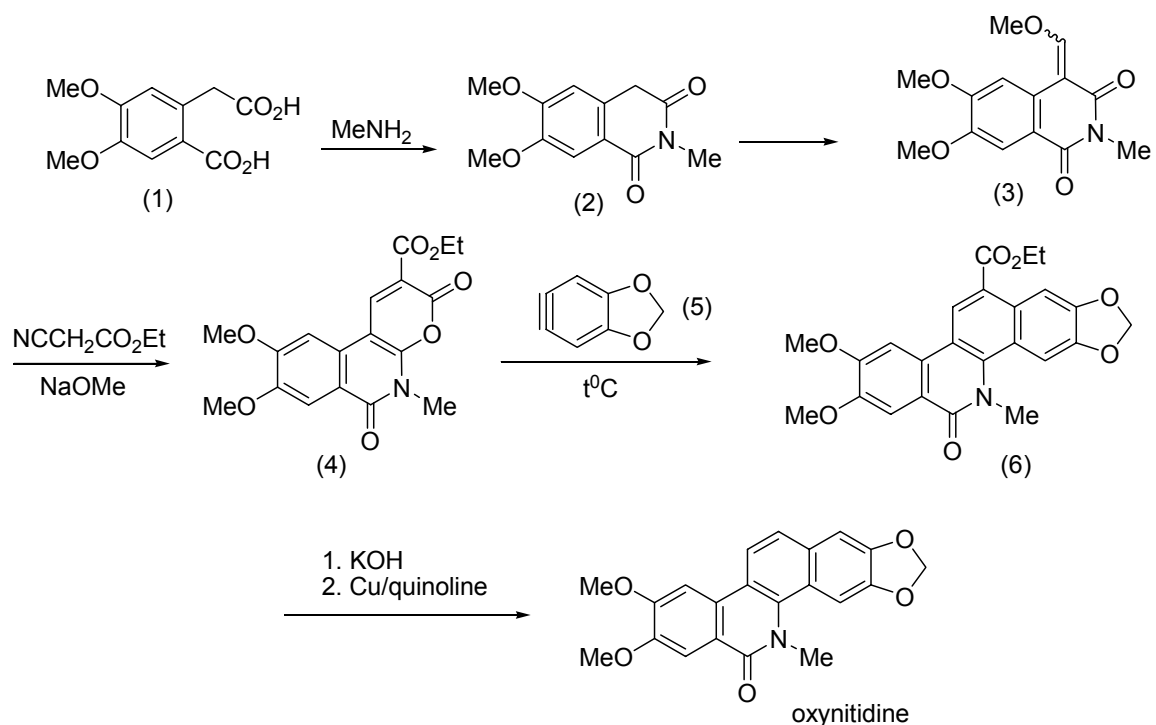


Schéma 30 : Synthèse de l'oxynitidine selon Perez et coll. [50]

### III.3. Formation du cycle B et du cycle C en même temps

Une dernière approche possible pour accéder au squelette bzps consiste à former les cycles B et C *via* une séquence en cascade mettant en jeu des intermédiaires réactionnels très réactifs.

\* L'intermédiaire clé de la synthèse proposée par A. Couture et coll. [51]. est un amide secondaire obtenu par acylation à basse température d'un N-méthylamide. Le dérivé (1) (Schéma 31) ainsi obtenu est traité en milieu basique (LDA) pour conduire à un carbanion qui évolue spontanément selon deux voies différentes (a) et (b) : soit l'attaque nucléophile intramoléculaire se produit directement sur le groupement carbonyle pour former les 3-phénylisoquinolones (3), soit elle se produit sur le méthylène de la chaîne styrène pour former un nouveau carbanion. Une seconde attaque sur un groupement carbonyle suivie d'une déshydratation conduit aux 11,12-dihydrobenzo[c]phénanthridinones (4) [51].

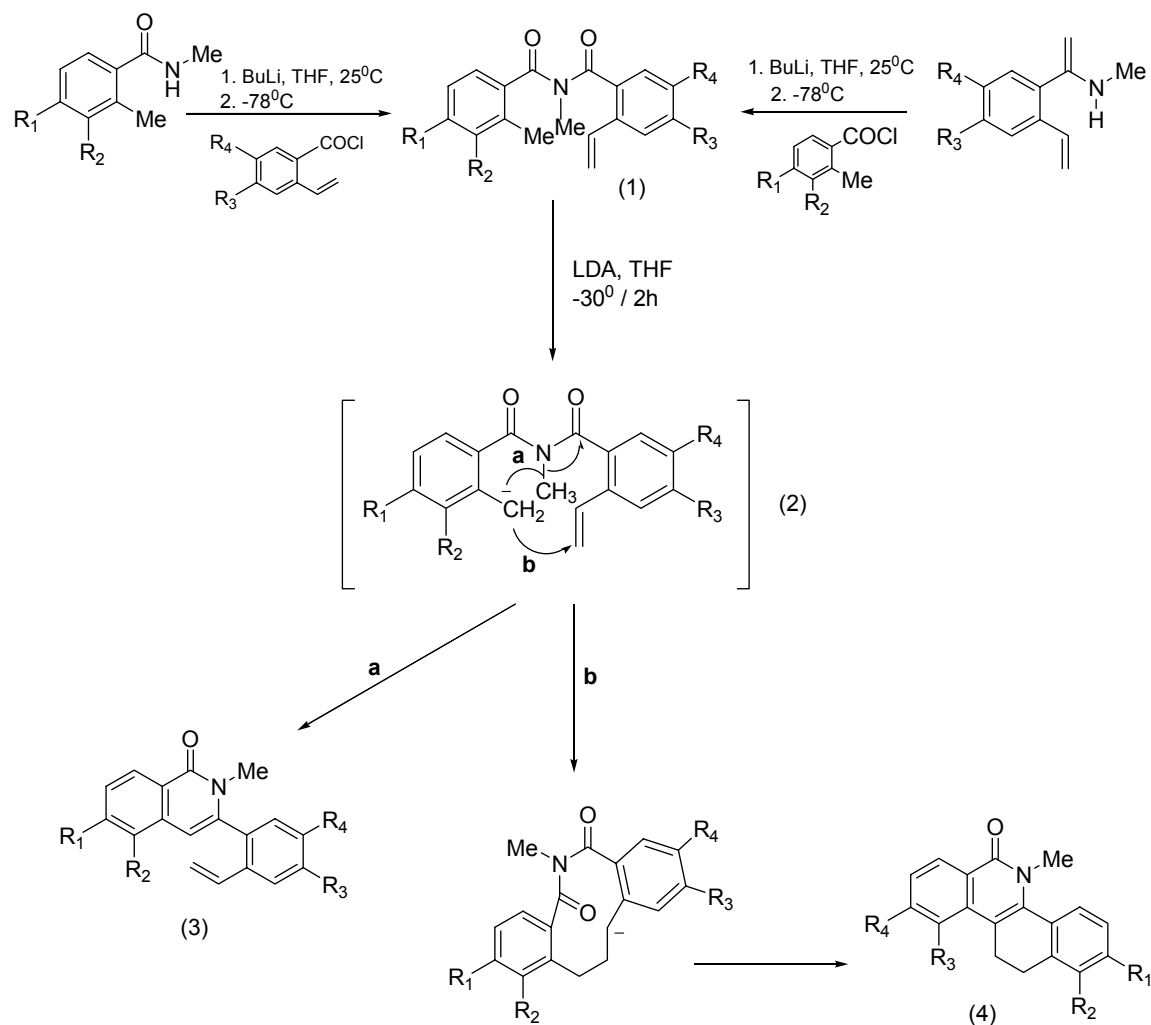
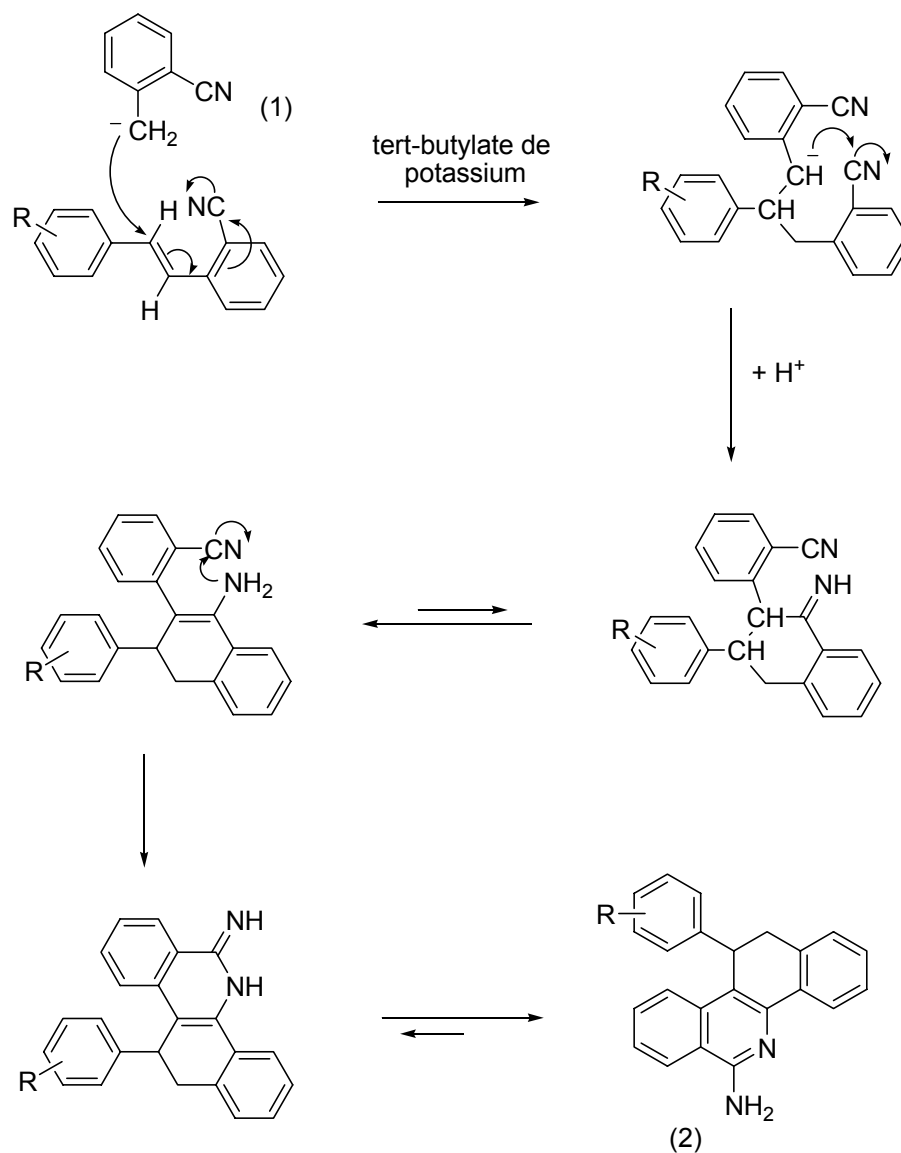


Schéma 31 : Synthèse des dihydrobenzo[*c*]phénanthridinones  
selon A. Couture et coll. [51]

\* Récemment, dans le travail de Kock et coll. (Schéma 32), la synthèse des dérivés 6-amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phénanthridines (2) est effectuée par une simple condensation de deux équivalents du 2-méthylbenzonnitrile (1) avec différents aldéhydes aromatiques en présence d'une base non-nucléophile (*tert*-butylate de potassium dans du 1,3-diméthyltétrahydropyrimidine-2-one (DPMU) comme solvant) [52] [53]. Selon le mécanisme réactionnel invoqué par les auteurs, les différentes espèces anioniques formées donnent lieu à des attaques nucléophiles intramoléculaires en cascade et *via* des déplacements d'équilibre conduisent aux structures (2).

Schéma 32 : Synthèse de dérivés 6-amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phénanthridines

[54] [55]

\* Une nouvelle stratégie basée sur une cycloaddition intramoléculaire de type [4+2] d'un dérivé *N*-méthylaminoisobenzofuranique a permis de synthétiser des composés type *N*-méthyl-5,6-dihydrobenzo[*c*]phénanthridine (Schéma 33) [54].

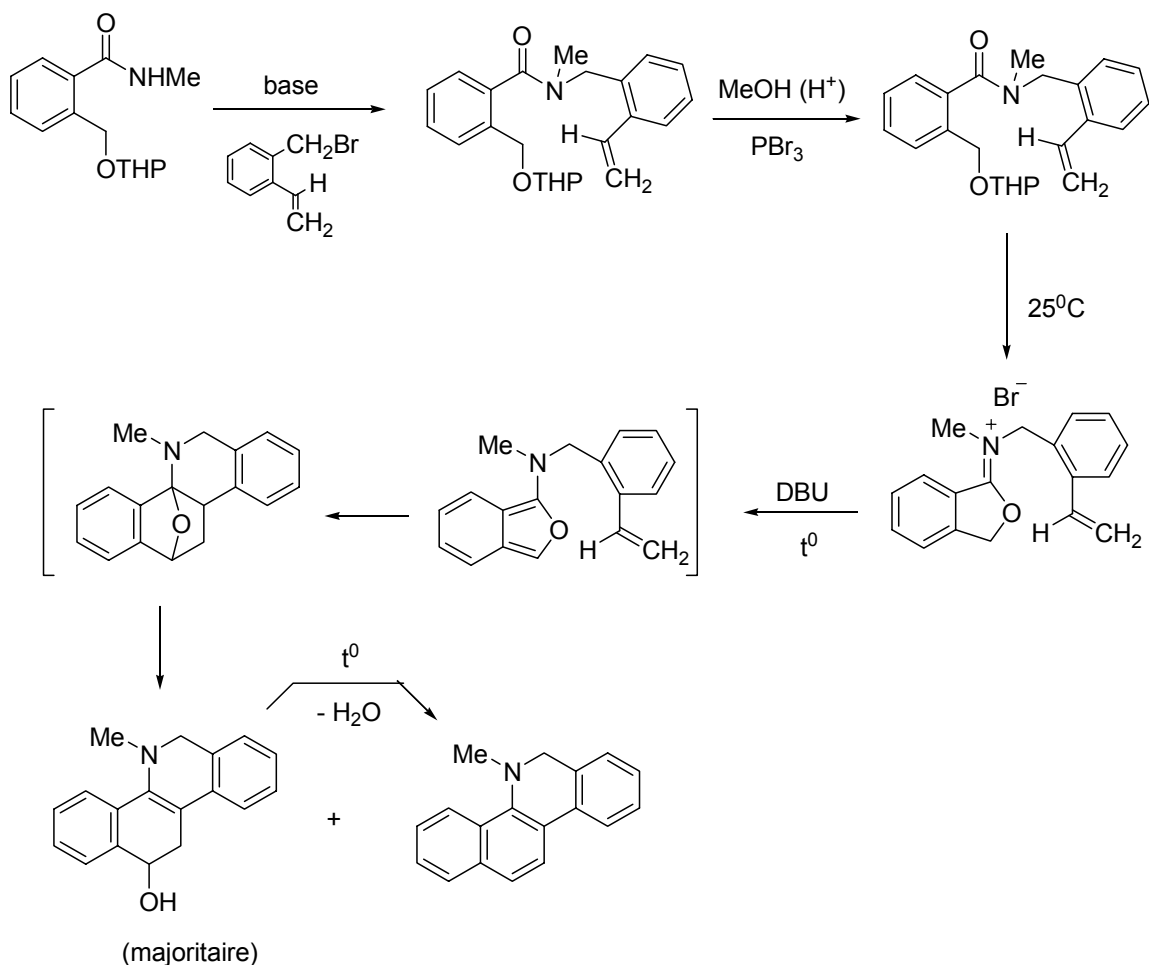


Schéma 33 : Cycloaddition [4+2] intramoléculaire d'un dérivé aminoisobenzofurane [54]

## IV. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DES BZPs

### IV.1 Introduction

Les premiers alcaloïdes de la famille des benzo[*c*]phénanthridines ont été identifiés à la fin des années cinquante. Ils interagissent avec de nombreuses cibles cellulaires (ex : inhibition de topoisomérases, inhibition sélective et puissante de la protéine kinase C, affinité pour les récepteurs à la vasopressin V1, inhibition de la polymérisation de la tubuline, inhibition des systèmes cholinestérases...) [55] et ils présentent un spectre d'action pharmacologique très large (ex : antitumoral, antifongique, nématocide,



antibactérien, antimalarique, antiinflammatoire, antalgique, antispasmodique...) [35] [56] [57] [58].

## IV.2 Activité antitumorale des benzo[c]phénanthridines

L'utilisation clinique d'extrait de *Chelidonium majus* (Papaveraceae) dans le traitement de carcinomes est connu depuis longtemps (1896) [8].

La nitidine, isolée de *Zanthoxylum nitidum* (Rutaceae), et la fagaronine, isolée de *Fagara zanthoxyloides* (Rutaceae), sont les deux molécules les plus représentatives de cette classe dans le cadre de l'activité antitumorale. Elles sont tétraalkoxylées sur les position 2, 3, 8, 9 et leur activité a été mesurée sur diverses lignées cellulaires, en particulier sur les lignées leucémiques (ex : P388, L1210...). Malheureusement elles n'ont pas montré une activité importante sur les tumeurs solides [8].

La macarpine, un autre alcaloïde naturel polysubstitué (2,3,7,8,10,12-alkoxybenzo[c]phenanthridine) a montré une activité importante sur les cellules tumorales HeLa S3 [17].

Dans une étude préclinique récente, Cabrespine et coll. ont montré que la chélérythrine présente des effets synergiques avec la mitoxantrone ou avec le paclitaxel dans l'étude de leur action sur des lignées cellulaires androgéno-indépendantes (DU145 et PC3). Les auteurs ont conclu que ces deux associations pourrait avoir une application en clinique dans le traitement de cancers prostatiques [59].

Parmi les molécules de cette famille, obtenues par synthèse totale et montrant une activité antitumorale, on peut retenir :

- Le NK 109 qui présente une activité plus puissante que la nitidine et la fagaronine contre les cellules leucémiques P388. Ce composé est efficace sur plusieurs lignées cellulaires tumorales résistantes [29] et a été évalué dans des tests *in vivo*.

- Le dérivé de NK 109, possédant un groupement *O*-hydroxyéthyle en position 8 **14**, est résistant au métabolisme (réduction de la fonction iminium) et conserve une cytotoxicité puissante contre des cellules HeLa S3 [60].

- L'éthoxidine a démontré une remarquable activité au cours des tests biologiques de toxicité *in vitro* sur plusieurs souches leucémiques humaines ainsi que sur des tests de différenciation cellulaire appliqués à la souche leucémique K562 [5]. Enfin, des tests biochimiques ont permis de montrer une affinité pour l'ADN et une inhibition de la topoisomérase de type I [6] [7].

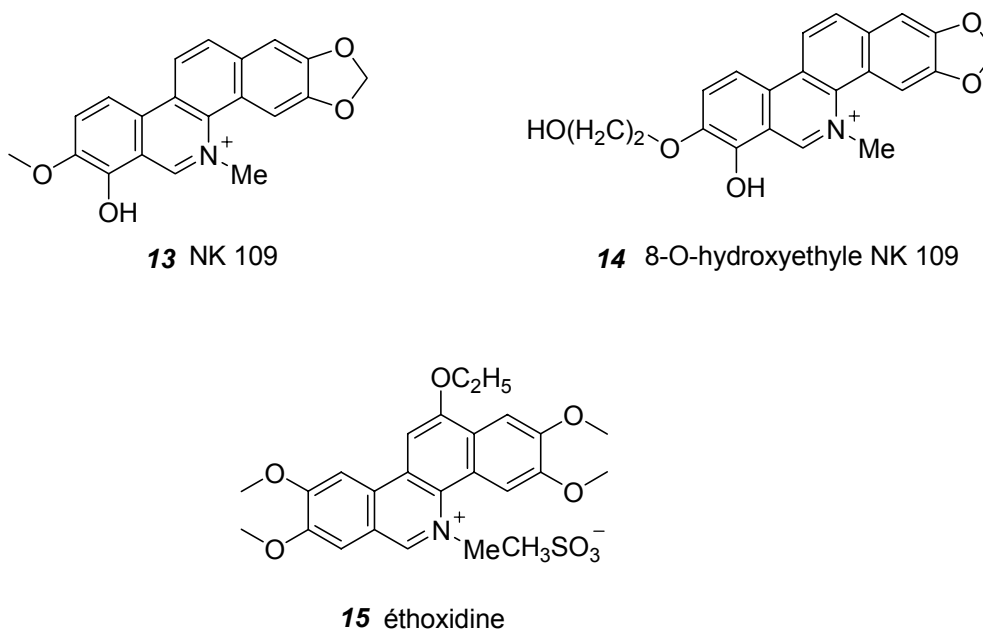
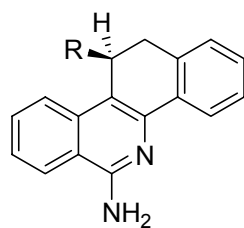


Figure 6 : Benzo[*c*]phénanthridines synthétiques remarquables par leurs propriétés cytotoxiques

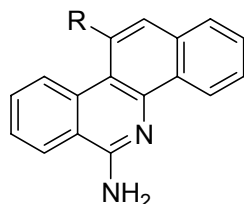
- Récemment les dérivés 6-aminobenzo[*c*]phénanthridine substitués en position en 11 et 11,12-dihydrogénés ou non (Figure 7 et 8) ont démontré une cytotoxicité considérable sur les lignées cellulaires tumorales du National Cancer Institute. Ces composés ont été sélectionnés pour des essais *in vivo* [52].



**16** R= 2,3,4-triméthoxyphényl

**17** R= 3,4,5-triméthoxyphényl

Figure 7 : Dérivés de 11-substitué 6-amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phénanthridine



**18** R= 3,4,5- triméthoxyphényl

**19** R= 2,3,4- triméthoxyphényl

Figure 8 : Dérivés de 11-substitué 6-amino-benzo[*c*]phénanthridine

### IV.3 Mécanisme d'action cytotoxique des dérivés benzo[*c*]phénanthridiniques

#### IV.3.1 Généralités

##### IV.3.1.1 Inhibition des Topoisomérases

Les topoisomérases sont des enzymes présentes dans les noyaux de cellules où elles catalysent le scission et la resoudure des brins ADN. Elles contrôlent l'état topologique de ADN lors des étapes de replication, de transcription, de réparation et de recombinaison [61] [62].



Figure 9 : Structure du complexe de Topo I/ADN

Au cours de la replication, le déroulement de l'ADN peut provoquer la formation de surenroulements. Le rôle principal des topoisomérases est d'empêcher l'accumulation de tensions internes dans les acides nucléiques.

Il y a 2 types de topoisomerase chez les mammifères. Les topoisomérases de type I et de type II classées suivant leur mécanisme de coupure de l'ADN. Ces deux enzymes se lient de façon covalente sur la double hélice d'ADN et permettent la rupture d'un seul brin (topoisomérase I) ou des deux brins (topoisomérase II) de la double hélice.

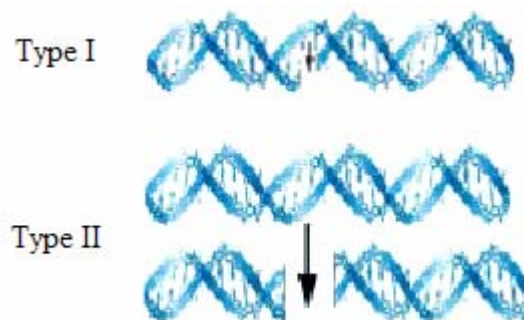


Figure 10 : Topoisomérase I et topoisomérase II

Le cycle catalytique de la topoisomérase I se compose : du clivage de l'ADN pour former un intermédiaire covalent enzyme-ADN, de la relaxation et enfin de la religation afin de restaurer la continuité de l'ADN [1] [63].

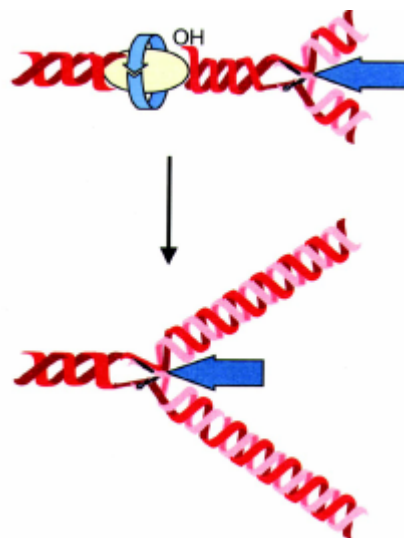


Figure 11 : Action de la topoisomérase I

La topoisomérase I agit par rupture d'une liaison phosphodiester d'un des deux brins d'ADN, puis se lie à l'extrémité 3'-phosphoryle afin de désenchevêtrer la double hélice d'ADN et permettre sa réplication (Figure 12) [64] [65]

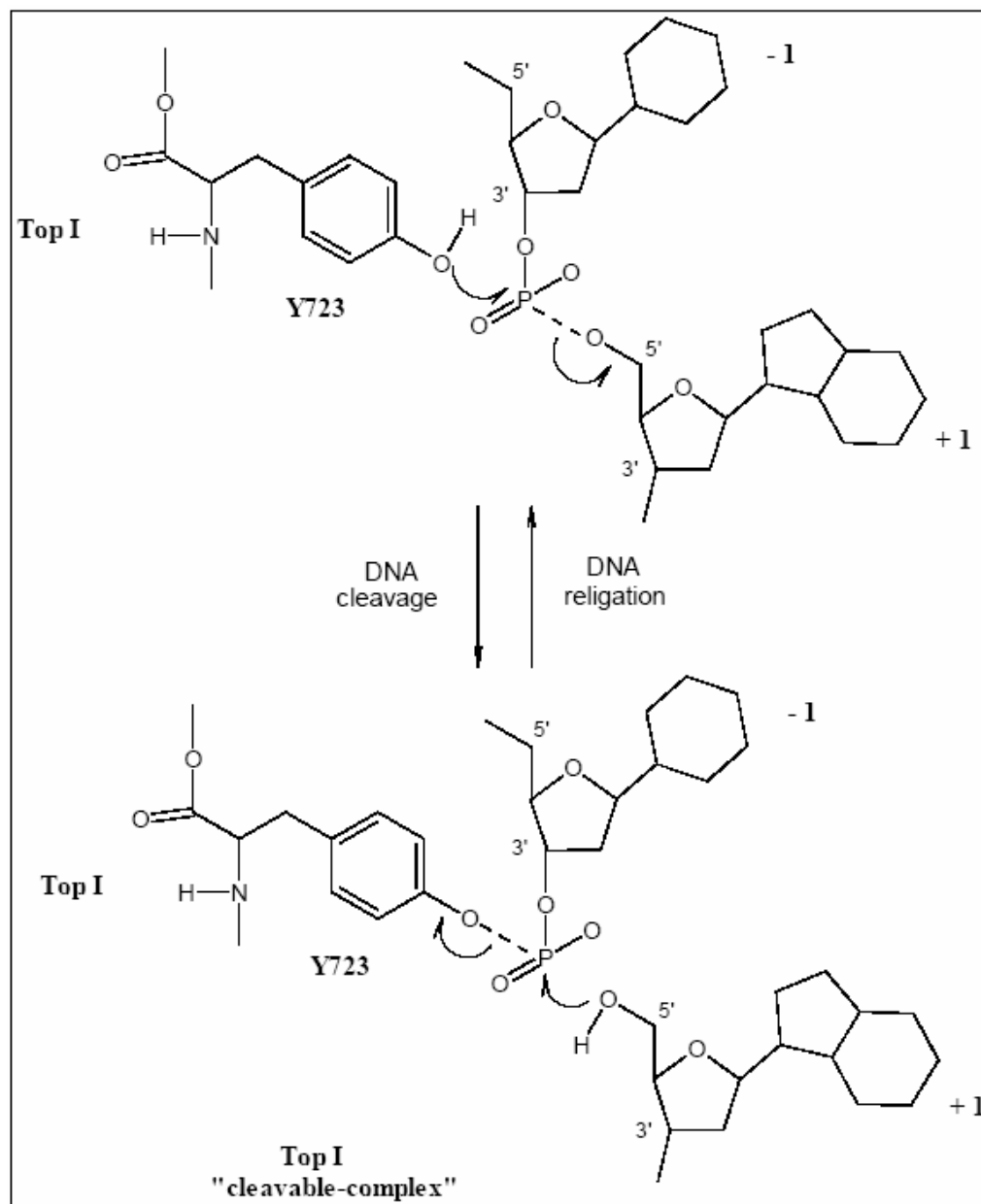


Figure 12 : Mécanisme d'action de la Topo I [66]

La topoisomérase II modifie la topologie de l'ADN par un mécanisme similaire, mais ce dernier prend en compte la coupure transitoire des deux brins d'ADN.

La concentration en topoisomérase dans les cellules cancéreuses est supérieure à celle des cellules saines [67] et est différente selon le type de cellule. Les niveaux en topo II sont rapportés être élevés dans plusieurs lignées de cellules cancéreuses du sein et de l'ovaire alors que ceux en topo I sont élevés dans des lignées cancéreuses du colon [67, 68] [69] [70].

Sans topoisomérases, il n'y a pas de replication normale d'ADN, ainsi les inhibiteurs des topoisomérases sont des cytotoxiques et sont utilisées comme agents anticancéreux pour arrêter la prolifération des cellules malignes. Cependant, ces inhibiteurs arrêtent aussi la division des cellules normales, ce qui va entraîner des effets secondaires importants (les cellules qui ont besoin de se diviser continuellement seront affectées (ex : cellules sanguins...)).

De nombreux médicaments anticancéreux d'origine naturelle [ex : adriamycine, actinomycine D, daunomycine, ellipticine, VP-16 (etoposide), VM-26 (teniposide)...] ou de synthèse se sont avérés être des inhibiteurs de topoisomérases II.

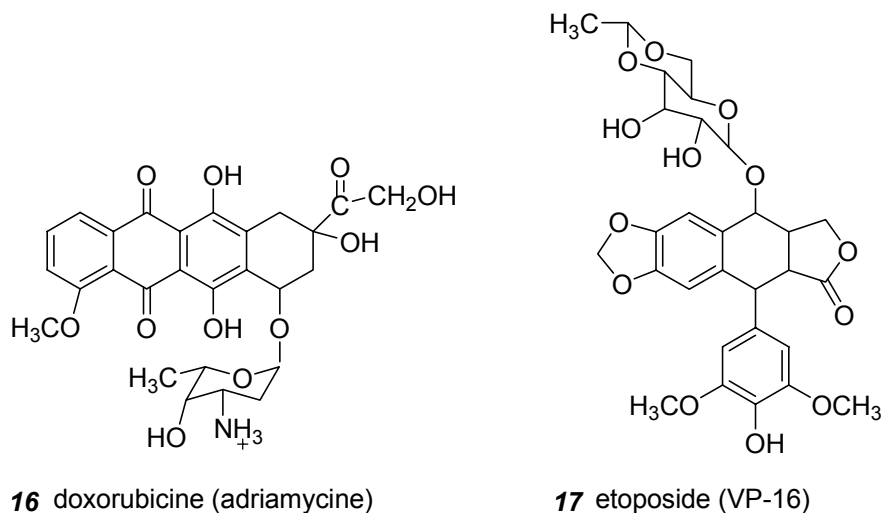
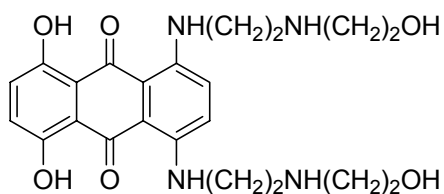


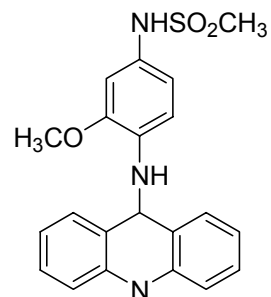
Figure 13 : Inhibiteurs topo II d'origine naturelle

Tableau 1: Inhibiteurs topoisomerase synthétiques utilisés dans la chimiothérapie anticancéreuse [68]

Nom générique	Classe chimique
<b>Inhibiteurs de topo II</b>	
- Amsacrine	9-anilinoacridine
- Asulacrine	9-anilinoacridine
- Mitoxantrone	anthracenedione
- BBR 2778	
- Loxoxantrone	
- Piroxantrone	
<b>Inhibiteurs duals de topo I/II</b>	
- DACA	acridine
- Intoplicine	pyridoindole
- TAS 103	indenoquinolone
- DMP 840	bis(naphthalimide)



**18** mitoxantrone



**19** amsacrine (m-AMSA)

Figure 14 : Inhibiteurs topo II d'origine synthétique

Un nombre limité d'agents ont été identifiés comme poisons de topoisomérase I, et sont arrivés plus tardivement sur le marché. Actuellement, les seuls inhibiteurs de topo I utilisés en clinique sont les dérivés de la camptothécine [2]. Récemment, les bis et terbenzimidazoles, les indolocarbazoles, quelques alcaloïdes benzo[*c*]phénanthridine et protoberberine et leur analogues synthétiques ont été identifiés comme des poisons de topoisomérase I [55] [71]. La topoisomérase I est une cible moléculaire importante dans la classe des agents anticancéreux [72].

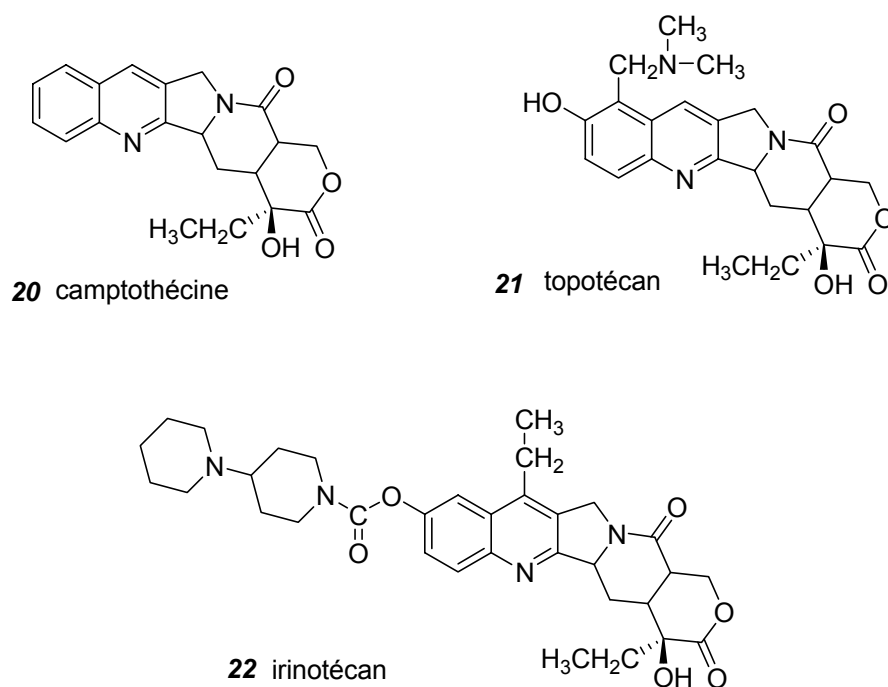


Figure 15 : Camptothécine et ses analogues apparentés structurellement

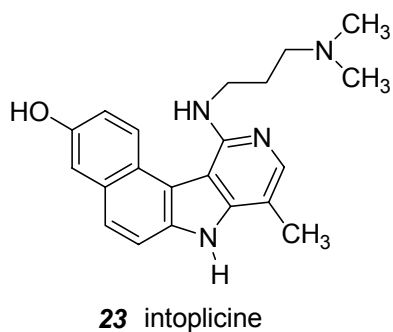


Figure 16 : Inhibiteur des topoisomérase I et II



Le développement de la résistance aux inhibiteurs de topo I est souvent accompagné par une élévation concomitante de la concentration de topo II et *vice versa* [68] [73]. C'est pourquoi un des intérêts récents d'inhibiteurs de topoisomérase est d'être des agents capables d'inhiber simultanément les deux enzymes [74].

#### IV.3.1.2 Interaction avec la tubuline

Les microtubules ont de multiples fonctions. Ils construisent de façon dynamique un squelette pour les cellules afin qu'elles puissent maintenir leur formes. Ils forment également un "rail", le long duquel les chromosomes se déplacent au cours de mitose. Ces microtubules sont construites par la polymérisation contrôlée de tubulines monomériques dont il y existe deux types,  $\alpha$  et  $\beta$ . Les alcaloïdes dimériques de *vinca* interviennent au cours de la polymérisation, empêchant ainsi la division cellulaire en inhibant la formation de nouveaux microtubules. Les dérivés terpéniques de l'if (*taxus baccata*), promeuvent la polymérisation en nouvelles microtubules mais les stabilisent et empêchent leur remodelage. Ceci empêche la croissance et la réparation cellulaire [75].

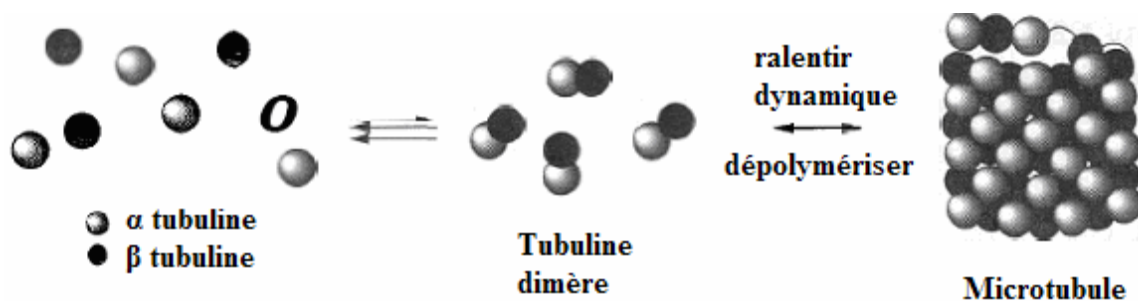


Figure 17 : Polymérisation de la tubuline en microtubule et dépolymérisation [75]

### IV.3.2 Cytotoxicité des alcaloïdes benzo[c]phénanthridiniques

#### IV. 3.2.1 Inhibition des topoisomérases

La nitidine est rapportée être un agent « poison » des deux types d'enzyme, bien que plus active sur la topoisomérase I [76]. C'est également le cas pour la fagaronine. Elles stabilisent fortement le complexe covalent comprenant la topoisomérase I et l'ADN. Ceci empêche la religation du brin coupé et le relargage de l'enzyme. Il se crée donc un complexe ternaire sur lequel la fourchette de réplication se heurte, entraînant la formation d'une coupure du double brin (ex : les camptothécines) [64]. Ces cellules ne sont plus viables si elles ne sont pas réparées.

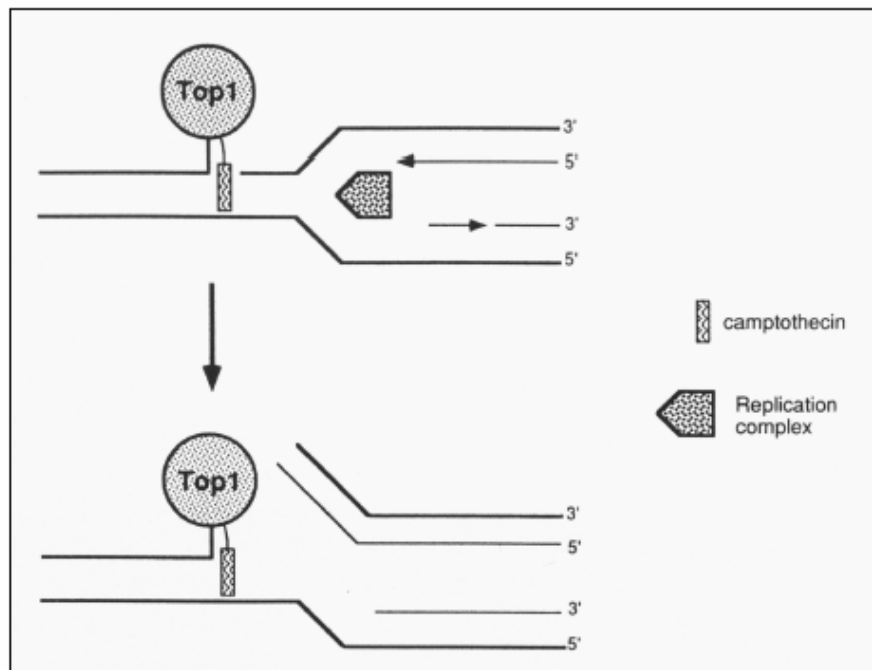


Figure 18 : Schéma de mode d'action moléculaire de camptothécine [66]

De la même manière, le NK 109 inhibe la topoisomérase II par la stabilisation du complexe entre ADN et topo II [60] [77] (ex : la doxorubicine).

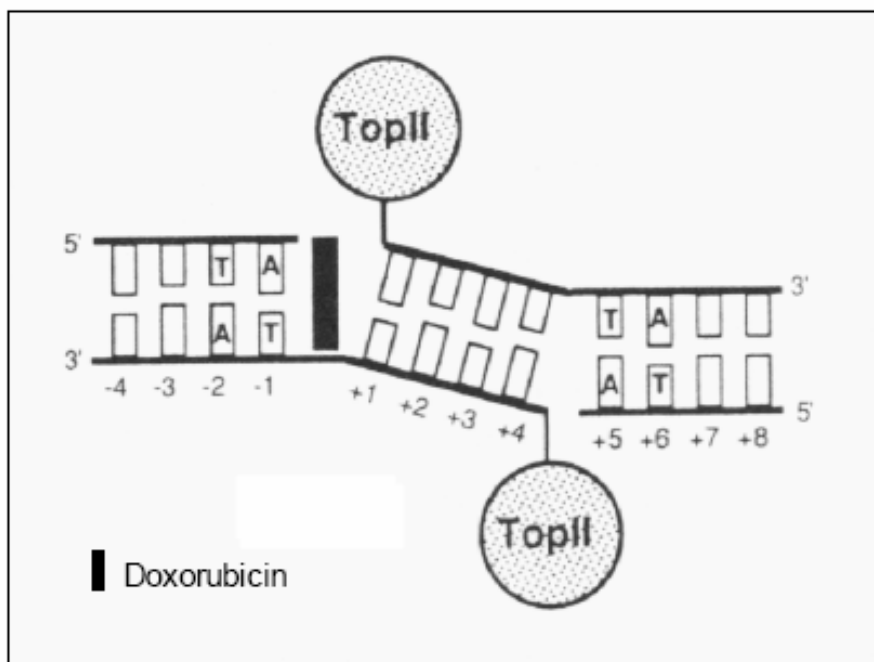


Figure 19 : Schéma de mode d'action moléculaire de doxorubicine [66]

#### IV. 3.2.2 Intercalation dans l'ADN

Des études de modélisation moléculaire, entreprises par Mackay et coll. sur l'éthoxidine, ont démontré que celle-ci s'insère dans le sillon majeur de la double hélice d'ADN. Le chromophore éthoxidine s'intercale préférentiellement dans les couples de base de type A-T; son groupement volumineux en position 12 (12-éthoxyle) est orienté en direction du petit sillon d'ADN et bloque l'accès de la topoisomérase I au niveau d'emplacements spécifiques de l'interaction topoisomérase I et ADN. La réplication de la cellule est alors empêchée [5] [6] [78]. Ce mécanisme d'action, inhibiteur de l'approche de l'enzyme en direction de l'ADN est appelé « supresseur ».

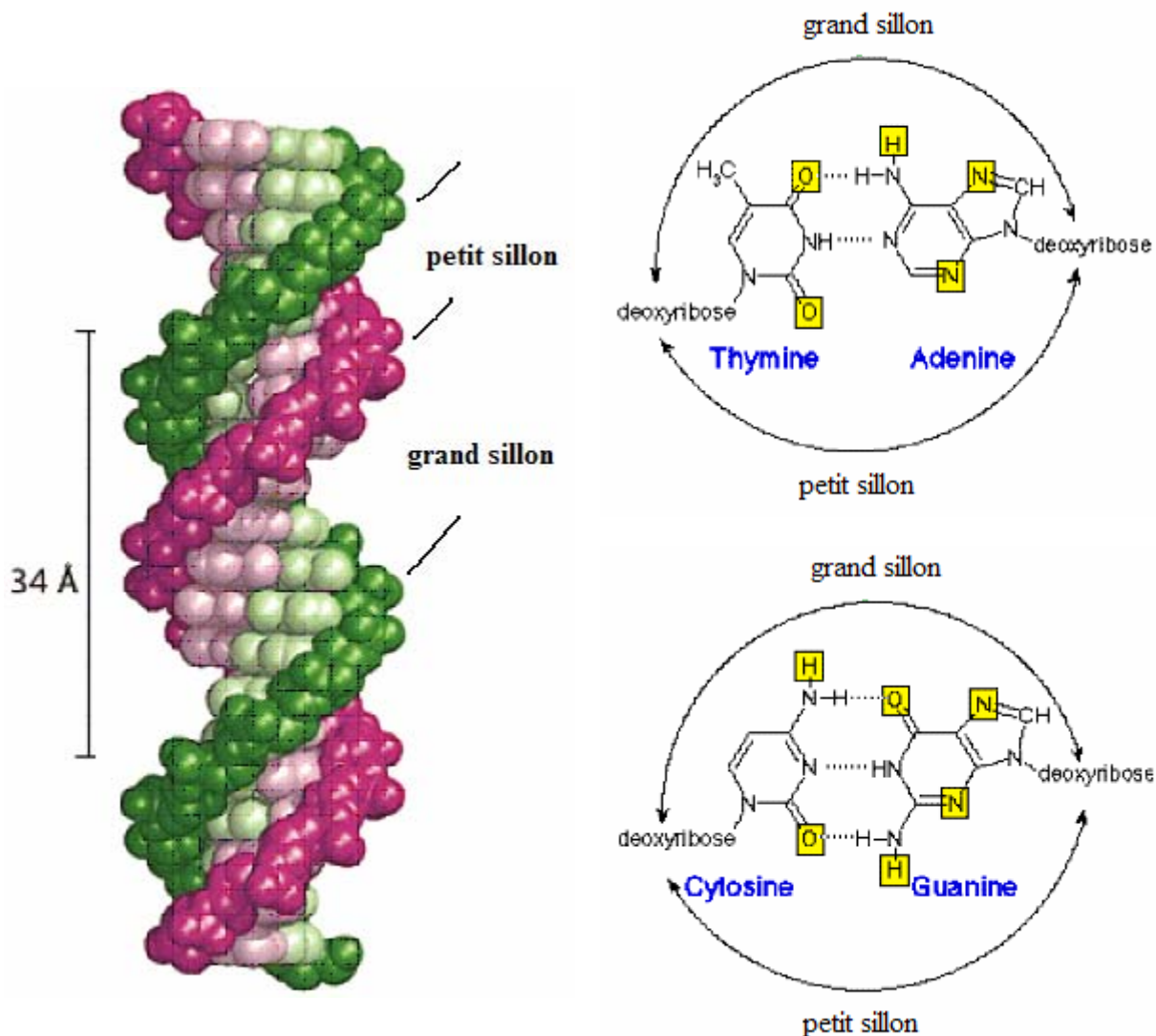


Figure 20 : Double hélice d'ADN de type B

Les alcaloïdes benzo[*c*]phénanthridiniques inhibent la relaxation de l'ADN par ces deux mécanismes d'action de type « poison » ou « supprimeur » de topoisomérase. Une cellule ne pouvant répliquer son ADN est condamnée à l'apoptose.

Les alcaloïdes benzo[*c*]phénanthridiniques possèdent d'autres types d'activité biologique y compris une inhibition puissante et sélective de protéine kinase C, l'inhibition de la polymérisation de type taxol de la tubuline...C'est pourquoi, leurs activités antitumorales

peuvent être la résultante de l'effet de d'inhibition des topoisomérases mais aussi de leur action sur les microtubules ou d'autres cibles [55] [79].

#### IV. 3.2.3 Action sur la mitose

Récemment Kock et coll. ont proposés un mécanisme d'action pour les dérivés substitués en 11 de type 6-amino-11,12-dihydrobenzo[c]phénanthridine (Figure 7) et 6-amino-benzo[c]phénanthridine (Figure 8). Ceux-ci présentent un effet important sur l'inhibition de la polymérisation de la tubuline. Leurs groupements triméthoxyphényles [comme avec les agents antimittotiques (colchicine et podophyllotoxine)] pourraient interagir avec une région spécifique de la tubuline [52].

### V. RELATION PROBABLE DE STRUCTURE – ACTIVITE

Le groupement iminium des dérivés benzo[c]phénanthridiniques quaternaires est considéré comme un groupement nécessaire à l'activité biologique [57, 80, 81]. Son attaque par les nucléophiles a été proposée comme base de leur activité antileucémique [8] [35][6, 82] [83] [84] [85]. Récemment L-P. Bai et coll. ont montré que la forme iminium de ces alcaloïdes joue un rôle important dans leur activité anticancéreuse et inhibitrice de topoisomérases [86] [87].

Les résultats de l'évaluation *in vitro* de ces molécules chargées ont montré une activité semblable à la camptothécine, molécule de référence en tant que poison de topoisomérase I ou semblable au VM-26 comme un poison topoisomérase II. Malheureusement, leur activité cytotoxique *in vivo* reste modeste. Cette absence de corrélation directe avec leur effet sur les topoisomérases est attribuée au fait que ces structures sont probablement mal absorbées dans les cellules par rapport à la camptothécine soit au VM-26 [61] [76].

A titre d'exemple, la nitidine n'est pas un agent antitumoral utilisable *in vivo*. Son utilisation en thérapeutique a montré qu'elle est peu puissante et est incompatible avec les

liquides biologiques, aboutissant à une activité antitumorale irrégulière [8] [82]. Les structures proches comme la fagaronine ou la chélérythrine possèdent un spectre anticancéreux étroit, une certaine toxicité et une instabilité dans l'eau ou les acides dilués. La présence du groupement iminium gêne probablement l'absorption cellulaire. Cette fonction est en équilibre avec une forme « pseudobase » qui, elle n'étant pas chargée, pourrait pénétrer plus facilement dans la cellule. Cet équilibre est influencé par la nature et la position des substituants ainsi que par le pH de la solution [83] [84].

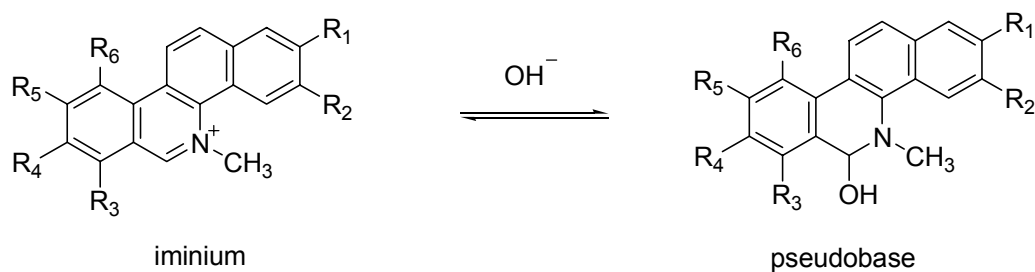


Schéma 34 : Forme « pseudobase » et benzo[*c*]phénanthridine

T. Nakanishi et M. Suzuki ont suggérés que le groupement 7-hydroxy de leur molécule leader, NK109, augmente l'activité antitumorale parce que cette molécule existe plutôt sous une autre forme appelée hybride de résonance (Schéma 35). Cette résonance hybride est représenté par deux entités coplanaires dont l'une est neutre et l'autre possède des propriétés cationiques. Cette résonance serait essentielle pour l'expression de l'activité antitumorale [88]. *In vivo*, le NK109 est le meilleur agent anticancéreux par comparaison aux autres benzo[*c*]phénanthridiniques (nitidine, fagaronine...) [89].

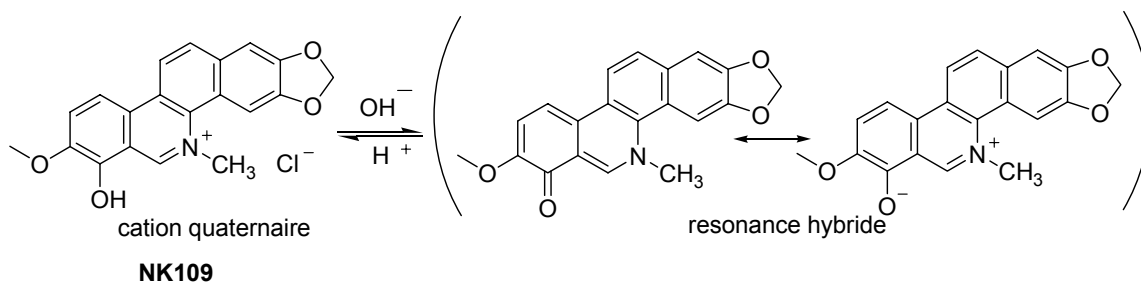


Schéma 35 : Résonance hybride de NK109

De plus, le même laboratoire a synthétisé plusieurs dérivés du NK109 afin d'obtenir des structures résistantes au métabolisme et concluait que un dérivé avec un substituant en position 8 abaisse le phénomène de réduction biologique. Par exemple, le dérivé de NK109 *O*-hydroxyéthyle en 8 **14** possède à la fois une résistance au métabolisme et une action cytotoxique puissante [60].

Récemment Kock et coll. ont synthétisé les dérivés 6-amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phenanthridine et 6-amino-benzo[*c*]phénanthridine substitués en position 11 (Figure 7 et 8). Ces molécules ne possèdent pas de fonction iminium mais portent une fonction amino en 6 et un groupement phényle en 11. Elles présentent des activités antitumorales remarquables *in vitro* et *in vivo*. L'étude des relations structure-activité montre que les substituants méthoxyphényle en position 11 conduisent aux dérivés les plus actifs [52].

Une étude d'activité antitumorale d'analogues de la fagaronine a montré que le perte des groupements méthoxyles ou leur transformation en éthoxyles fait perdre l'activité *in vitro* [8].

C.C.Cheng et coll. a démontré que les sels de nitidine **7** et d'analogue tétraméthoxy **7bis** possèdent une activité antileucémique contre les leucémies L1210 et P388 et que les groupements méthoxyles sont vraisemblablement très important pour l'activité des produits naturels [83] [84].

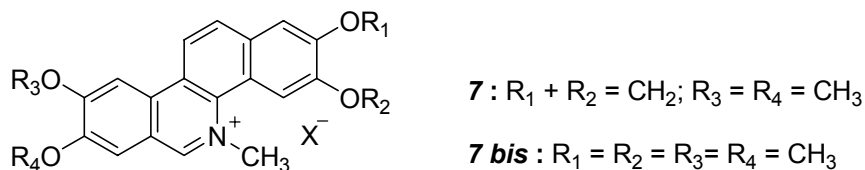


Figure 21: Nitidine et analogue tétraméthoxylés

La nature de la chaîne sur la position 12 est très importante pour l'activité antitopoisomérase. En effet, l'éthoxidine (12-éthoxy-2-méthylfagaronine) inhibe la relaxation de l'ADN à une concentration dix fois moindre que celle de la fagaronine (le

groupement 12-éthoxy s'oriente en direction du petit sillon de la double hélice d'ADN) [6, 7] [78].

## VI. LES ANALOGUES DE BENZO[*c*]PHENANTHRIDINES

### VI.1 Dérivés de benzo[*i*]phénanthridine substitués

Les benzo[*i*]phénanthridines ont été envisagés comme des bioisostères des benzo[*c*]phénanthridines. Le 2,3-diméthoxy-8,9-méthylènedioxybenzo[*i*]phénanthridine **24** montre une activité importante sur la topoisomérase I et une cytotoxicité plus puissante par rapport à **25**. D'après LaVoie et coll., dans la structure de **24** l'azote est adjacent au cycle qui contient le cycle méthylènedioxy. Cette hypothèse a été avancée pour justifier les activités biologiques puissantes [82] [90] [91]. Ce type d'observation a été également noté pour des dérivés proches de type 11,12-dihydrobenzo[*i*]phénanthridines **26**, **27**.

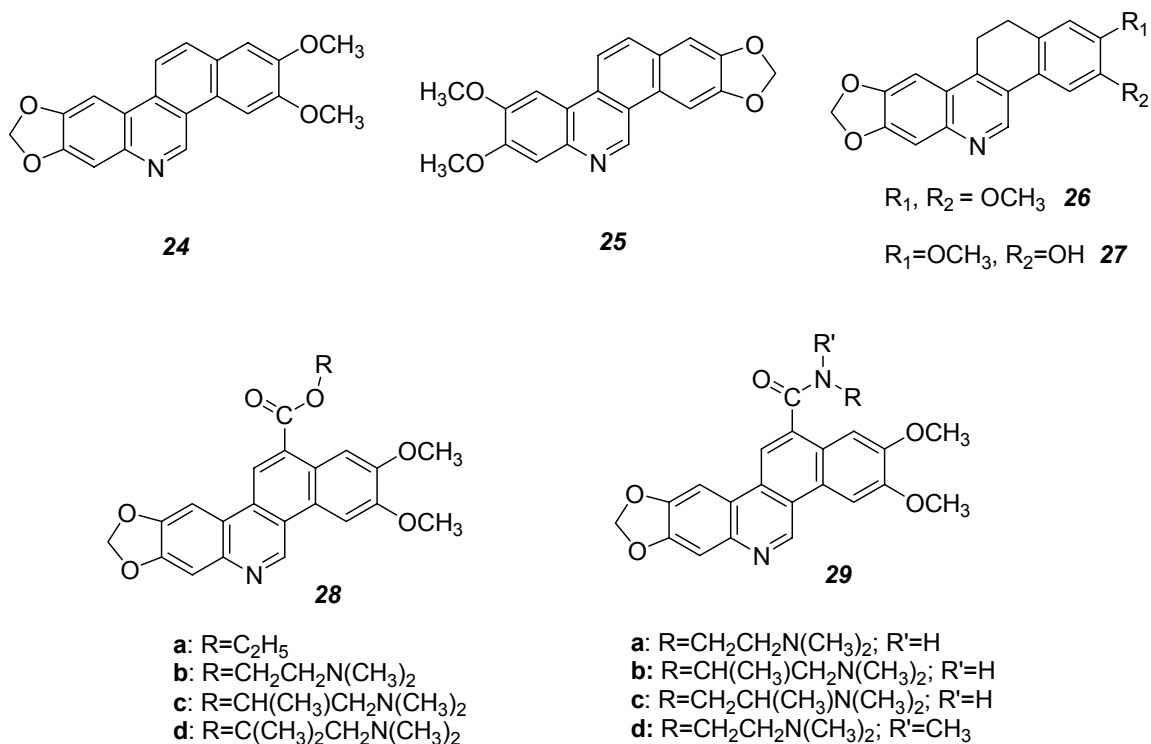


Figure 22 : Dérivés de benzo[*i*]phénanthridine substitués



Le même groupe a récemment développé la synthèse des esters et des amides du dérivé 2,3-diméthoxy-8,9-méthylènedioxybenzo[*i*]phénanthridine-12-carboxylique **28** et **29**. Parmi eux, le **28c** et le **29c** ont démontré la plus puissante activité sur la topoisomérase I. La substitution sur la position 12 est donc importante pour l'activité antitumorale et particulièrement avec des dérivés d'amides fonctionnalisés [92].

## VI.2 Dérivés de la dibenzo[*c,h*]cinnoline substitués

Les dérivés de la dibenzo[*c,h*]cinnoline substitués à visés topoisomérase I ont démontré une activité cytotoxique significative. En effet, par comparaison avec les analogues benzo[*i*]phénanthridiniques, la 2,3-diméthoxy-8,9-méthylènedioxydibenzo[*c,h*]cinnoline **30** montre une cytotoxicité sur la lignée cellulaire lymphoblastique humaine RPM18402 et une activité sur la topoisomérase I plus importante [93].

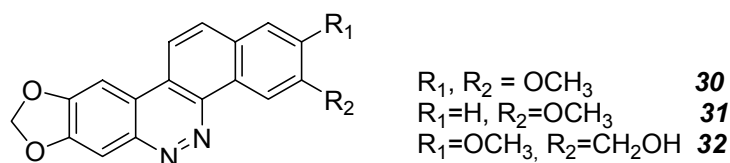


Figure 23 : Dérivés de dibenzo[*c,h*]cinnoline substitués

## VI.3 Dérivés de diaza-et triazachryènes

Plusieurs 5,12-diazachrysen-6-ones et 5,6,11-triazachrysen-12-ones ont été synthétisés avec des substituants en position 5 ou 11, respectivement. Les deux analogues **33** et **34** possèdent une activité à visée top I très puissante et démontrent une activité cytotoxique contre RPMI8402 avec les valeurs IC<sub>50</sub> de l'ordre du nanomolaire. Le composé **33** est actif *in vivo* par voie orale ou voie intraveineuse dans un modèle de souris nude xéno greffée avec des cellules tumorales humaines [94] [95]. La molécule **33** (Topoval) est en phase clinique avancée.

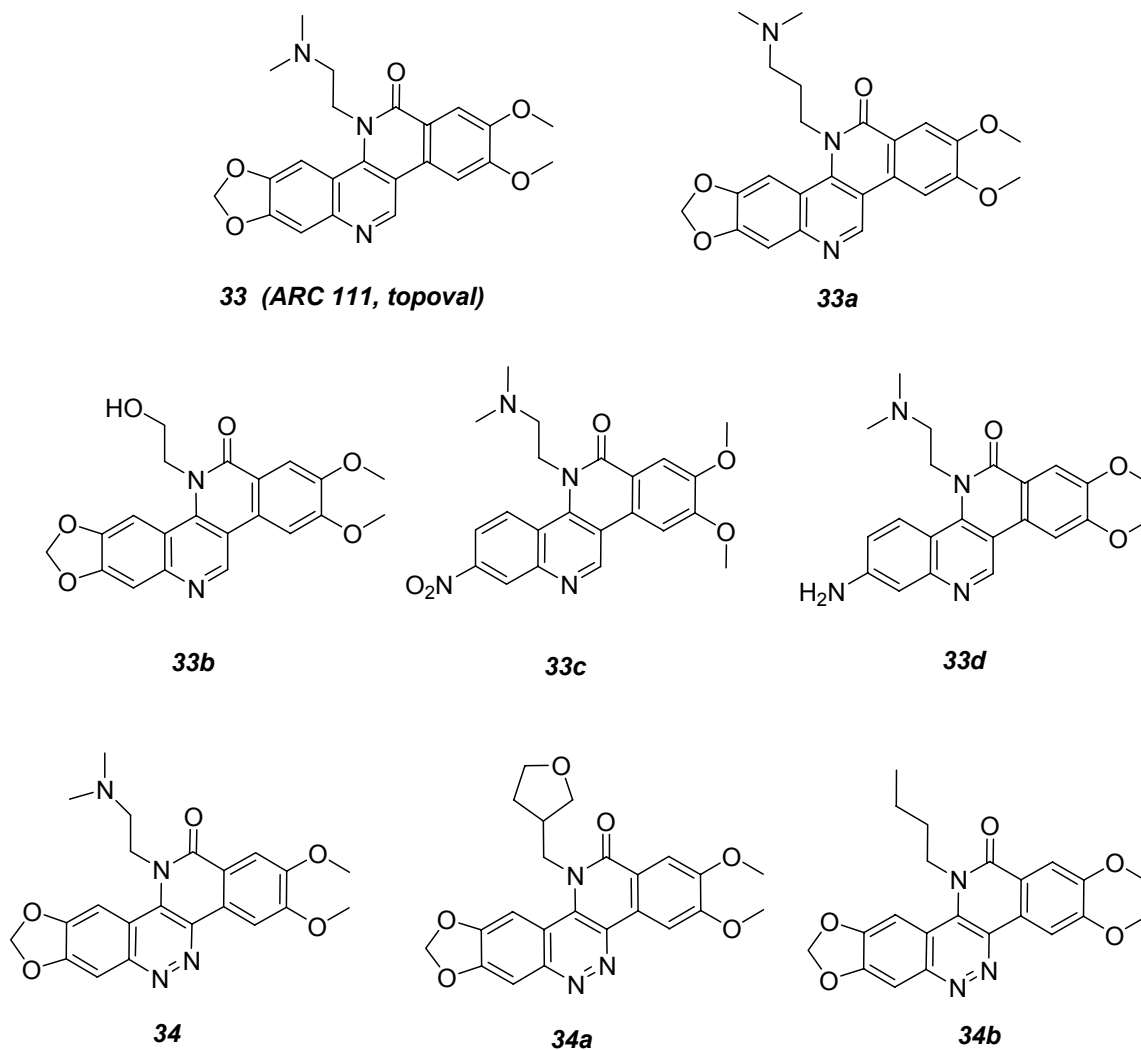


Figure 24 : Dérivés de diaza- et triazachrysenes

#### VI.4 Dérivés de benzo[*c*][1,7] et [1,8]phénanthrolines

Les nouveaux benzo[*c*][1,7] et [1,8]phénanthrolines synthétisés démontrent des activités cytotoxiques intéressantes qui résultent peut-être de leur capacité d'intercalation dans ADN. Le composé le plus efficace est le dérivé **38** [76].

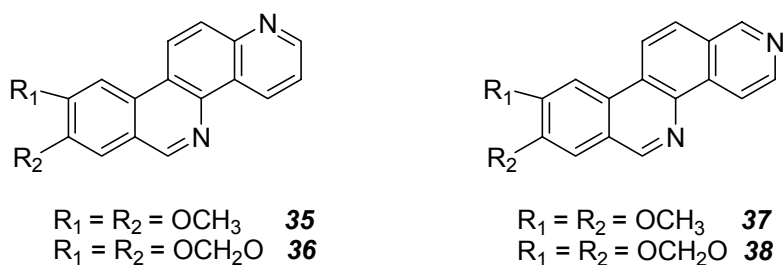


Figure 25 : Dérivés de benzo[*c*][1,7] et [1,8]phénanthrolines

### VI.5 Dérivés d'indénoisoquinoléine

Le dérivé de synthèse **39** de la série des indénoisoquinoléine a montré des propriétés antitumorales sur un large panel de cellules cancéreuses humaines. Cette cytotoxicité est comparable à celle de la camptothécine et de la saintopine (inhibiteurs top I) [96] [97] [98]. L'isoquinoléinone **39** a été exploité en tant que molécule de référence pour le développement de nouveaux inhibiteurs de topoisomérase I.

Cushman et coll. ont préparé un analogue d'indénoisoquinoléine de la nitidine **40**. Il possède une activité anticancéreuse significative contre les leucémies L1210, P388 et le melanocarcinoma B16 [99]. De la même manière, l'analogue d'indénoisoquinoléine de la fagaronine **41** a été préparé. Ce composé démontre une activité significative sur la leucémie lymphocytaire P388 [100].

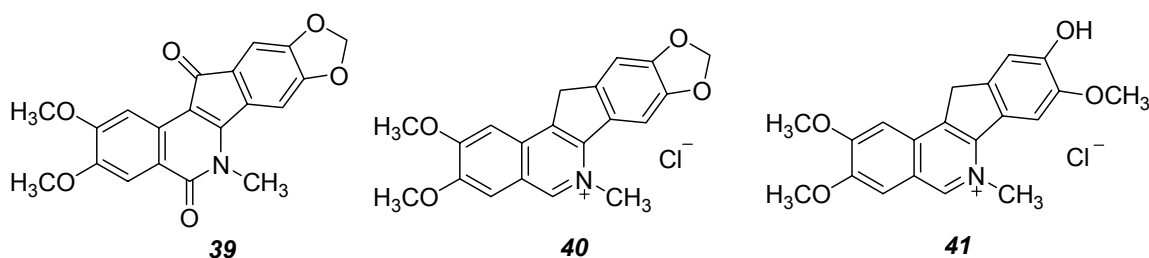


Figure 26 : Dérivés indénoisoquinoléiniques

### VI.6 Dérivés de la 6H-dibenzo[*c,h*][2,6]naphthyridin-5-one

Récemment, S. Zhu et coll ont synthétisés plusieurs dérivés de la 8,9-diméthoxy-2,3-méthylènedioxy-6H-dibenzo[*c,h*][2,6]naphthyridin-5-one substitués en 6. Ce sont des

analogues lactamiques inverses de l'ARC-111 qui présentent une cytotoxicité très importante avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> inférieures au nanomolaire (0,5-3,0 nM). Parmi eux, le **42** et le **43** sont les analogues les plus cytotoxiques [101].

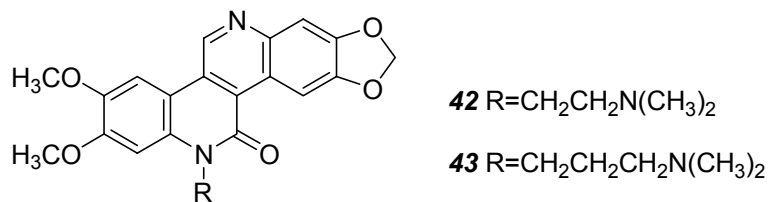


Figure 27 : Dérivés de 6H-dibenzo[*c,h*][2,6]naphthyridin-5-one

## SYNTHESE DE NOUVEAUX ANALOGUES BENZO[*c*]PHENANTHRIDINIQUES

### I. INTRODUCTION

La recherche des bioisostères de la fagaronine et de la nitidine implique, pour de nombreux chercheurs, l'introduction d'atome d'azote dans la structure benzo[*c*]phénanthridinique. Plusieurs isostères ont déjà été synthétisés, notamment par A.L.Ruchelman et coll. qui ont préparé des dérivés de type diaza et triazachrysènes où un ou deux atomes d'azote sont introduits dans le cycle B en position 11 ou/et 12 du squelette benzo[*c*]phénanthridine (Figure 24). Ces nouvelles molécules ont démontré une capacité d'inhibition puissante de la Topo I [94].

E. Bisagni et coll. ont synthétisé plusieurs dérivés de 11-azabeno[*c*]phénanthridines où un atome d'azote est inséré en position 11 du squelette benzo[*c*]phénanthridinique [102]. Récemment, A. Erve et coll. ont évalué ces dérivés type dibenzonaphthyridine et ont trouvé que, parmi tous les composés étudiés, le *N'*-(2,8-diméthoxy-12-méthylidibenzo[*c,h*][1,5]naphthyridin-6-yl)-*N,N*-diméthylpropane-1,3-diamine **44f** (BENA435) constitue le meilleur ligand de l'ADN *in vivo* [103].

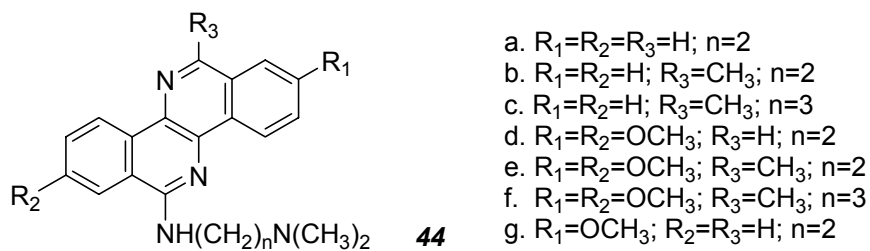


Figure 28 : Dérivés 11-azabeno[*c*]phénanthridines

Dans le travail de S. Prado et coll., des analogues non-chargés du noyau benzo[*c*]phénanthridinique avec le remplacement du noyau benzénique A par un noyau

pyridinique ont été synthétisés. Ces dérivés de benzo[*c*][1,7] et [1,8]phénanthrolines sont des inhibiteurs de topoisomérase I et présentent une cytotoxicité importante à l'égard de cellules murines leucémiques L1210. Ceci peut être expliqué par la capacité d'intercalation dans l'ADN de ces isostères benzo[*c*]phénanthridiniques [76]

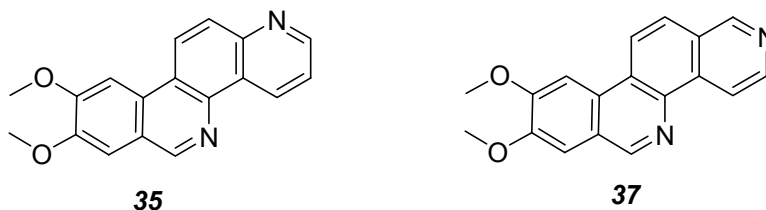


Figure 29 : Dérivés benzo[*c*][1,7] et [1,8]phénanthroliniques

L'introduction d'atome d'azote, apportant de nouveaux potentiels électronégatifs dans le noyau benzo[*c*]phénanthridinique, ainsi que celle d'un groupement éthoxyle en position 12 de ces structures constituent selon nous une pharmacomodulation intéressante de notre molécule leader, l'éthoxidine. De plus, dans la relation structure-activité, la comparaison entre la cytotoxicité de structures benzo[*c*]phénanthridiniques quaternaires (alcaloïde possédant une fonction iminium) et celle d'analogues benzo[*c*]phénanthridiniques non chargés constitue un de nos objectifs.

Notre but dans ce travail est d'introduire l'azote en position 2 et/ou 3 avec ou sans groupement éthoxyle en position 12 de la structure benzo[*c*]phénanthridine pour obtenir de nouveaux analogues benzo[*c*]phénanthridiniques quaternaires et ceux non chargés correspondants. Une telle stratégie pourrait nous conduire à de nouveaux composés ayant une activité anticancéreuse significative.

Les molécules que nous souhaitons synthétiser sont répertoriées dans les figures 30, 31, 32 suivantes :

**Série I** : Dérivés de benzo[*c*][1,9]phénanthrolin-6(5*H*)one et de pyridazino [4,5-*c*] phénanthridin-6(5*H*)one

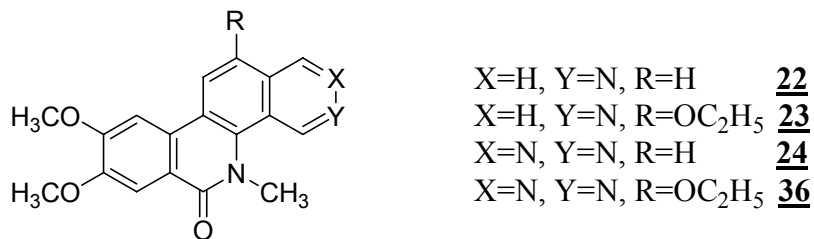


Figure 30 : Nouvelles molécules cibles dans la série I

**Série II** : Dérivés de benzo[*c*][1,9]phénanthroline et de pyridazino[4,5-*c*]phénanthridinium

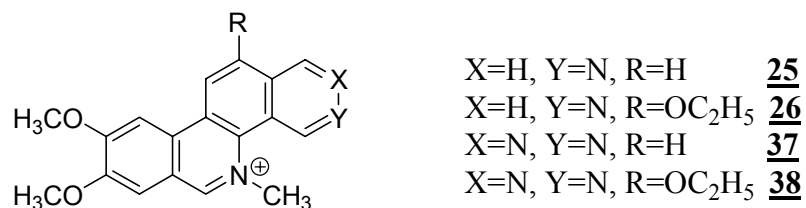


Figure 31: Nouvelles molécules cibles dans la série II

**Série III** : Dérivés de benzo[*c*][1,9]phénanthroline et de pyridazino[4,5-*c*]phénanthridine

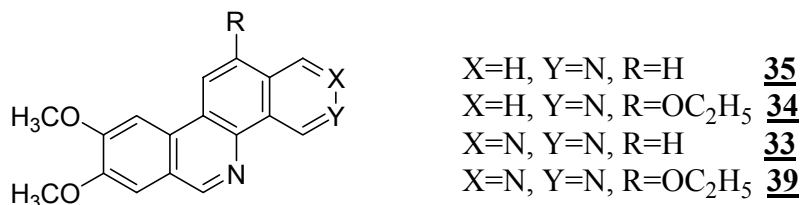
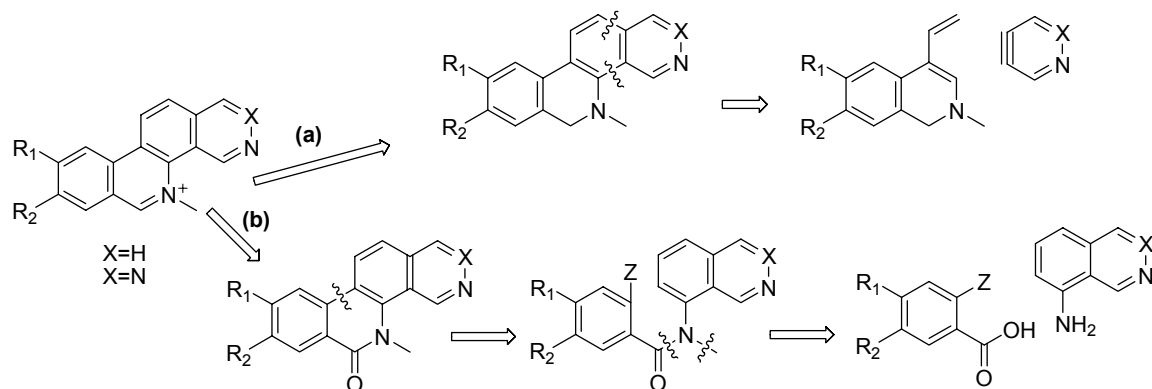


Figure 32 : Nouvelles molécules cibles dans la série III

A partir de l'examen des différentes méthodes de synthèse possibles des benzo[*c*]phénanthridines (partie généralité), nous avons envisagé les voies de synthèse ci-dessous pour accéder aux nouveaux analogues benzo[*c*]phénanthridiniques :

- la formation du cycle B en dernier *via* une cycloaddition intermoléculaire type Diels-Alder avec un intermédiaire benzyne en tant que diénophile **(a)**.
- la formation du cycle C en dernier *via* la synthèse de la liaison 10a-10b **(b)**:
  - \* catalysée par le palladium
  - \* par cyclisation intramoléculaire mettant en jeu un intermédiaire type benzyne.

Schéma 36 : Rétrosyntheses de noyau benzo[*c*]phénanthridinique

## II. SYNTHÈSE DE NOUVEAUX ANALOGUES BZPs : MÉTHODE DE CYCLOADDITION INTERMOLECULAIRE

### II. 1 Introduction

Comme nous l'avons vu précédemment, l'approche mettant en jeu une cycloaddition [4+2] entre un diène en série isoquinoléine et un intermédiaire benzyne a permis la préparation de plusieurs classes de composés [104, 105], notamment des alcaloïdes antitumoraux benzo[*c*]phénanthridiniques [39, 50]. Selon Castedo et coll., il s'agit d'une méthode convergente, régiosélective, fiable et flexible [39].

L'analyse rétrosynthétique des structures attendues met en jeu un dérivé diène de type *N*-méthyl-4-vinylisoquinoléine et un diénophile type benzyne. L'introduction d'un atome



d'azote au niveau du noyau A pourrait être faite en utilisant un benzyne en série pyridine dont la synthèse a déjà été rapportée [106-109].

L'introduction de deux atomes d'azote est envisagée en deux temps : d'abord cycloaddition [4+2] avec l'anhydride maléique puis hydrazinolyse du dérivé tétracyclique obtenu.

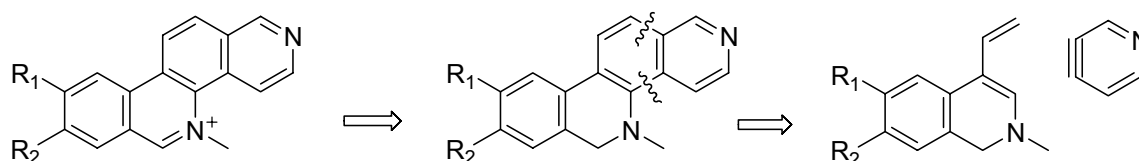


Schéma 37 : Retrosynthèse de noyau benzo[*c*]phénanthridinique

Afin de mettre en place la stratégie rétrosynthétique mentionnée ci-dessus le dérivé alcool allylique **46** a été préparé *via* l'addition de bromure de vinylmagnésium sur la *N*-méthylisoquinoléin-4-one **45**. L'accès au diène **47** par déshydratation de l'intermédiaire **46** n'a pu être mise au point. C'est pourquoi nous avons recherché une nouvelle structure type diène plus appropriée à la cycloaddition [4+2] envisagée.

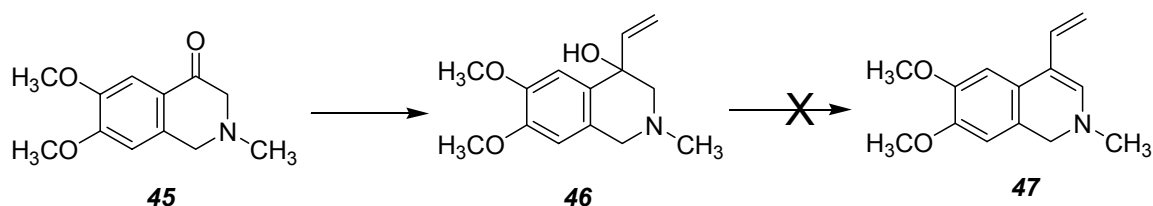


Schéma 38 : Synthèse de 1,2-dihydro-6,7-diméthoxy-2-méthyl-4-vinylisoquinoléine

Nous avons donc concentré notre attention sur des dérivés type  $\alpha$ -pyrone, déjà utilisés pour la synthèse de différentes classes de composés [110-112]. et notamment la nitidine en série benzo[*c*]phénanthridinique [50]. L'intermédiaire clé de cette approche, la pyrone **7**, pourra ensuite être placée en présence de diénophiles type benzyne ou anhydride maléique pour conduire à la formation du noyau B.

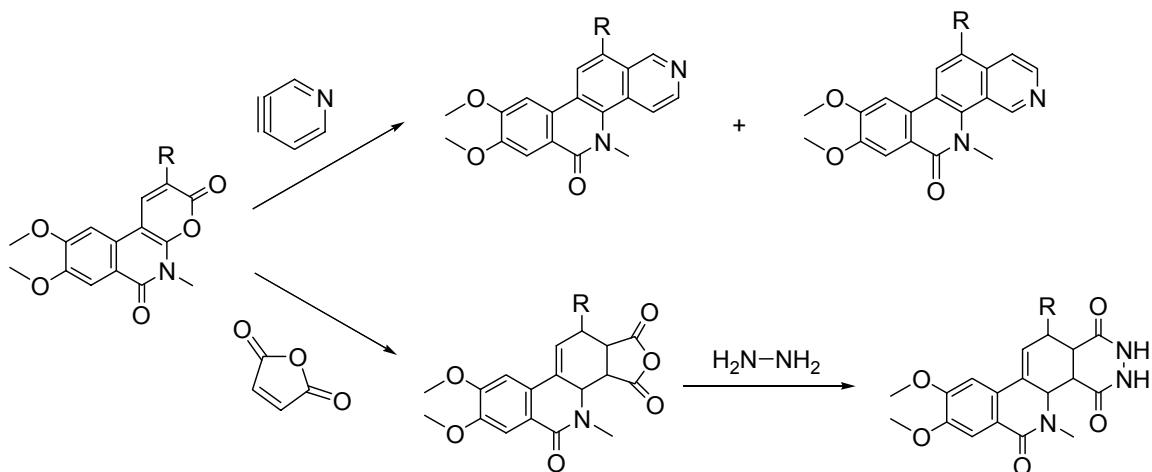
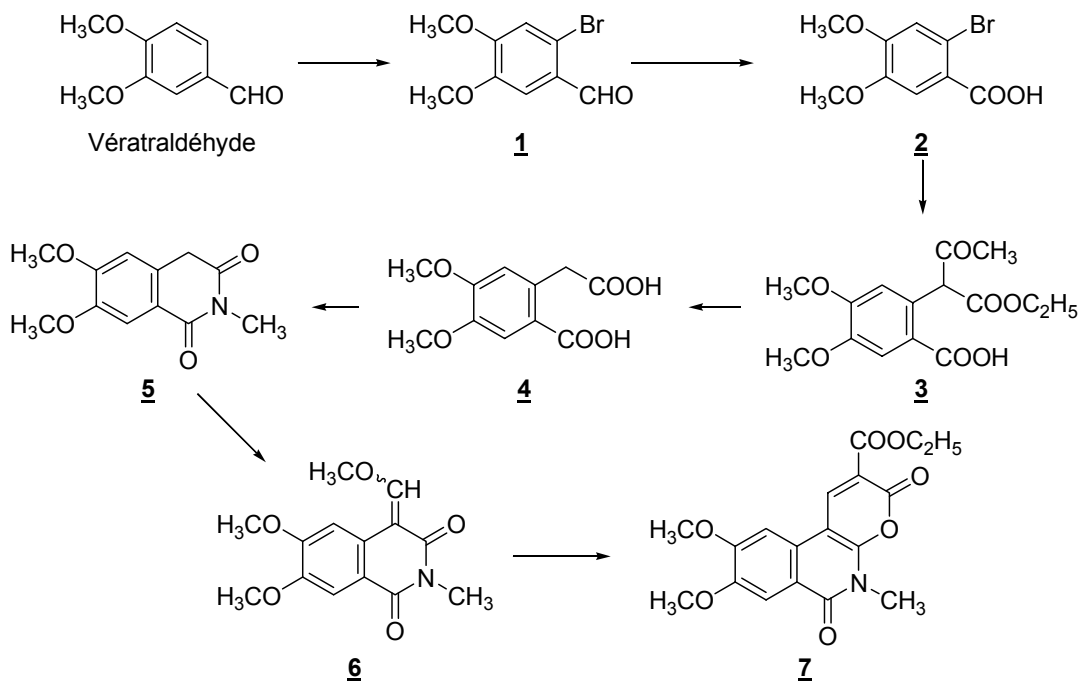


Schéma 39 : Voie envisagée pour accéder aux molécules cibles

Par conséquent notre stratégie de synthèse est composée de deux parties principales :

a- Synthèse du 5,6-dihydro-8,9-diméthoxy-5-méthyl-3,6-dioxo-3*H*-pyrano [2,3-*c*] isoquinoléine-2-carboxylate d'éthyle **7** à partir du vétralaldéhyde.

Schéma 40 : Synthèse de la pyrone **7** à partir du vétralaldéhyde

- b- Accès au noyau benzo[*c*]phénanthridinique par réaction de Diels-Alder avec les diénophiles appropriés.

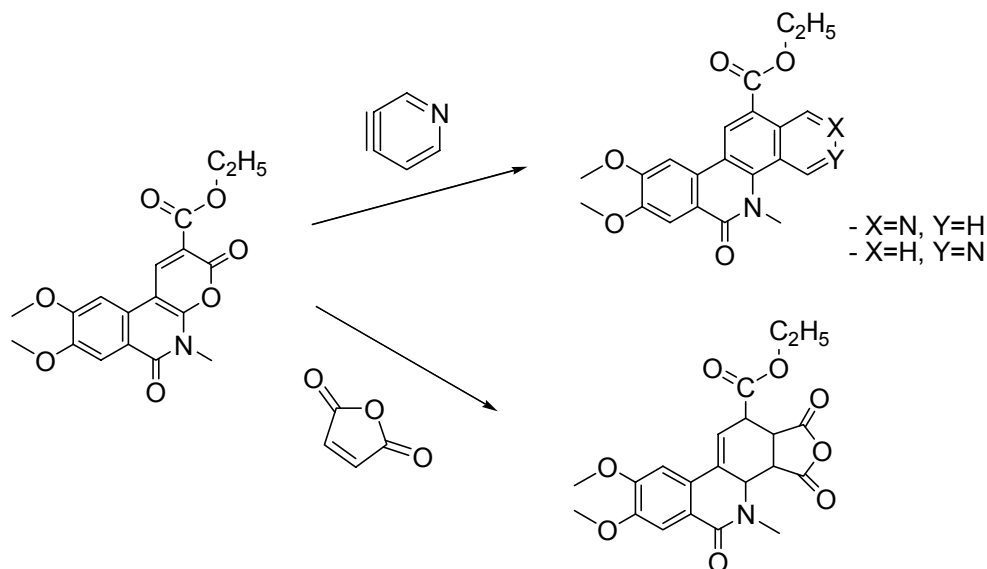


Schéma 41 : Accès au noyau benzo[*c*]phénanthridinique par la réaction de Diels-Alder

## II.2 Synthèse du diène $\alpha$ -pyronique

La synthèse de la pyrone **7** est décrite en 7 étapes à partir du véraldéhyde *via* l'homophtalimide **5**.

Dans un premier temps le véraldéhyde est bromé dans l'acide acétique selon le procédé décrit par Charlton et Alaouddin [113] pour donner le 2-bromovéraldéhyde **1** (rendement de 86%). Ensuite, l'oxydation de **1** en présence de  $\text{KMnO}_4$  dans l'acétone conduit à l'acide 2-bromovératrique **2** (rendement de 90%).

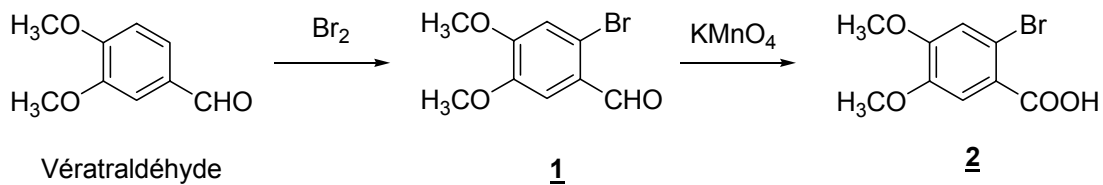


Schéma 42 : Synthèse de l'acide 2-bromovératrique

La condensation catalysée par Cu de l'acide 2-bromovératrique **2** avec un anion  $\beta$ -dicarbonylé conduit au composé **3**. Nous avons réalisé cette réaction selon le procédé décrit par A.Bruggink et A. McKillop [114]. L'anion  $\beta$ -dicarbonylé est obtenu par traitement de l'acétoacétate d'éthyle en présence de NaH. Le mécanisme proposé est détaillé ci-dessous [115]:

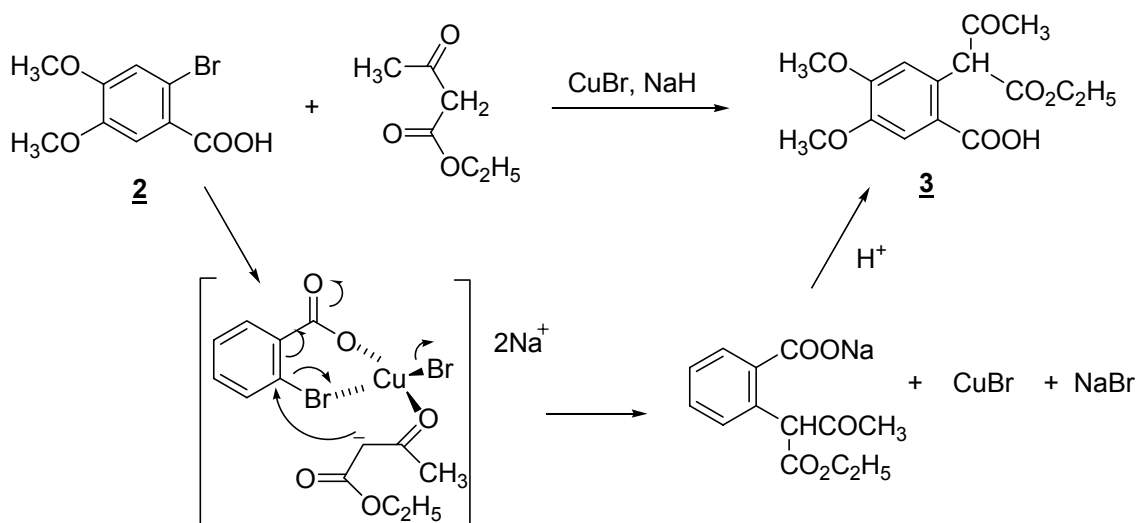
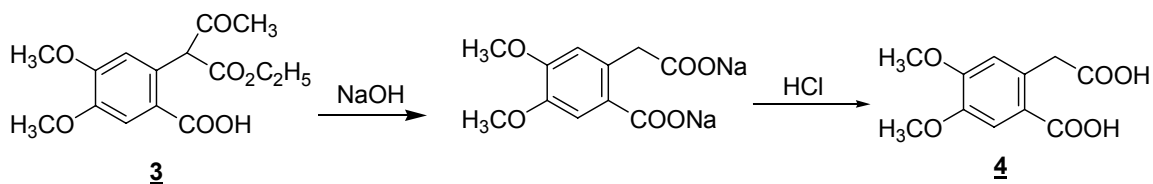


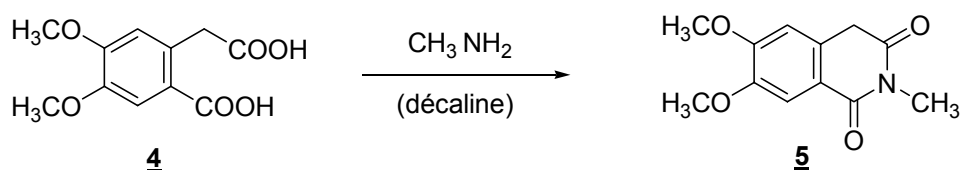
Schéma 43 : Condensation de l'acétoacétate d'éthyle avec l'acide 2-bromovératrique **2**

En appliquant strictement les conditions opératoires décrites dans la littérature, le rendement en produit **3** est faible (15-20%). Nous avons alors modifié la température de réaction (90-100°C au lieu de 80°C), procédé au lavage de NaH avec du toluène anhydre avant de l'ajouter au milieu réactionnel. Malgré ces changements, le rendement n'a pas dépassé 25% et une quantité importante d'acide de départ **2** n'est pas consommé lors de la réaction. De plus la purification du produit **3** est difficile et fastidieuse.

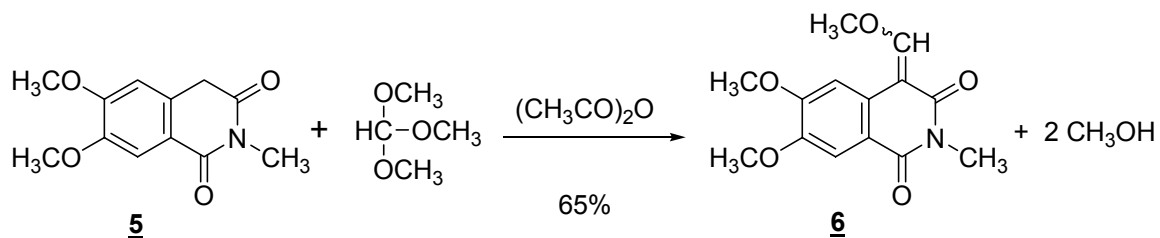
L'acide 2-[1-(éthoxycarbonyl)-2-oxopropyl]-4,5-diméthoxybenzoïque **3** est hydrolysé en présence de NaOH (2N) et l'acide 4,5-diméthoxyhomophtalique **4** est récupéré après l'acidification jusqu'à pH=1-2 (rendement de 77%).

Schéma 44 : Synthèse de l'acide 4,5-diméthoxyhomophthalique **4**

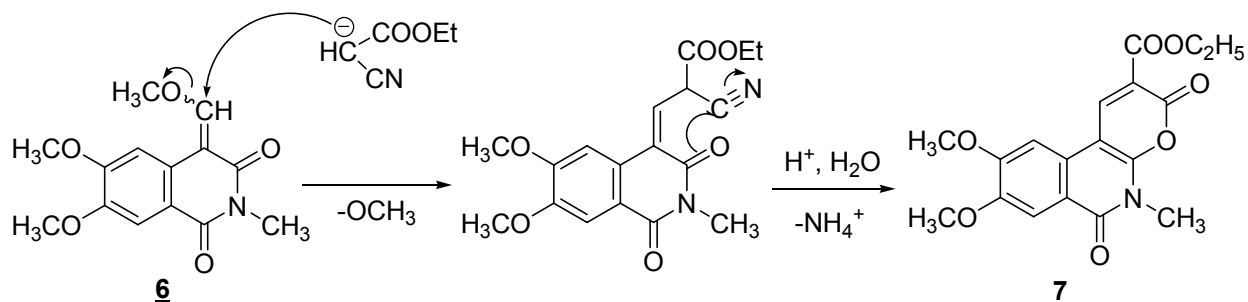
Ensuite le chauffage du diacide **4** en présence de méthylamine dans la décaline [116] permet d'accéder à l'homophthalimide **5** avec un rendement de 90%.

Schéma 45 : Synthèse de la N-méthyl-6,7-diméthoxyisoquinoléine-1,3-dione **5**

Le composé **5** est alors converti en éther d'énol **6** par condensation de Claisen en présence d'orthoformiate de triméthyle en milieu anhydride acétique [50] avec un rendement de 65%.

Schéma 46 : Synthèse de la N-méthyl-6,7-diméthoxy-4-(méthoxyméthylène)-2-méthyleisoquinoléine-1,3(2H,4H)-dione **6**

Enfin, le diène  $\alpha$ -pyronique **7** est obtenu en traitant l'éther d'énol **6** avec le cyanoacétate d'éthyle en milieu basique (tert-butylate de potassium) dans le DMF [50]. Le produit pur est obtenu sous forme de cristaux jaunes avec un rendement de 72%.

Schéma 47 : Mécanisme proposé pour la synthèse de 7

Les analyses structurales (IR, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  et SM) du composé 7 démontrent que la structure du produit obtenu est concordante avec celle souhaitée.

### II. 3 Accès au noyau BZP par la réaction de Diels-Alder

Par définition les réactions de Diels-Alder sont plus rapides si l'un des réactifs est enrichi en électrons et l'autre appauvri en électrons : par exemple une réaction entre un diène substitué avec des groupements électrodonneurs et un diénophile substitué par des groupements électroattracteurs. Nous avons réalisé la cycloaddition [4+2] entre le diène  $\alpha$ -pyronique 7 et l'anhydride maléique, diénophile appauvri en électrons. Plusieurs essais ont été entrepris en changeant différents paramètres (nature du solvant, température et temps de chauffage, mode de chauffage) (Tableau 2). Malheureusement, pour tous les essais réalisés, aucun produit nouveau n'a été observé, seul le produit de départ 7 est récupéré en fin de réaction.

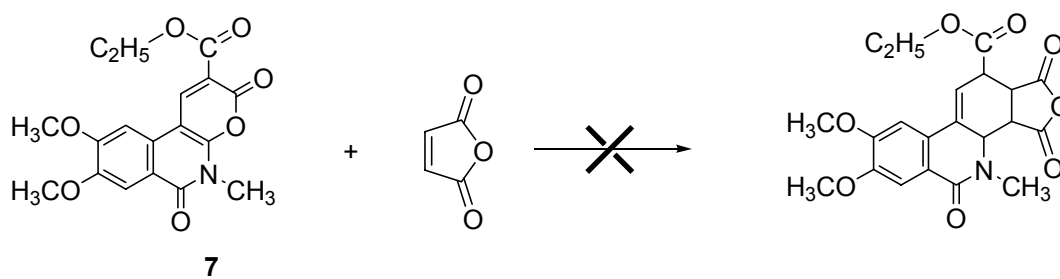
Schéma 48 : Cycloaddition [4+2] du diène  $\alpha$ -pyronique 7 avec l'anhydride maléique

Tableau 2 : Conditions réactionnelles de la réaction de Diels-Alder pour accéder au noyau benzo[*c*]phénanthridinique.

Dérivé <u>7</u> : MA (mmol : mmol)	Solvant	Condition réactionnelle	Commentaire
0,1 : 0,15	toluène	reflux 5h	Pas de réaction
0,1 : 0,15	xylène	reflux 5h, ensuite 180°C dans tube scellé 5h.	“
0,1 : 0,15	décaline	reflux 5h	“
0,1 : 0,15	nitrobenzene	reflux 7h	“
0,15 : 0,30	dichloromethane	micro ondes 12' et 14'	

## II. 4 Conclusion

Au cours de cette première partie, nous avons envisagé la construction du squelette tétracyclique, analogue du noyau benzo[*c*]phénanthridinique, par réaction de Diels-Alder entre un diène  $\alpha$ -pyronique 7 et un diénophile (anhydride maléique). Ainsi nous avons préparé ce diène selon la méthodologie décrite [50]. Nous avons éprouvé des difficultés à obtenir les mêmes rendements que ceux rapportés dans la littérature. Le problème majeur a été rencontré lors de la réaction de condensation entre l'acide 2-bromovératrique 2 et l'acétoacétate d'éthyle. En modifiant quelque peu les conditions opératoires, nous avons amélioré notre rendement jusqu'à 25%. Par la suite nous ne sommes pas parvenus à synthétiser l'adduit tétracyclique attendu par réaction de Diels-Alder entre 7 et l'anhydride maléique. Compte tenu de ces résultats, nous avons envisagé une nouvelle voie d'accès aux structures souhaitées.

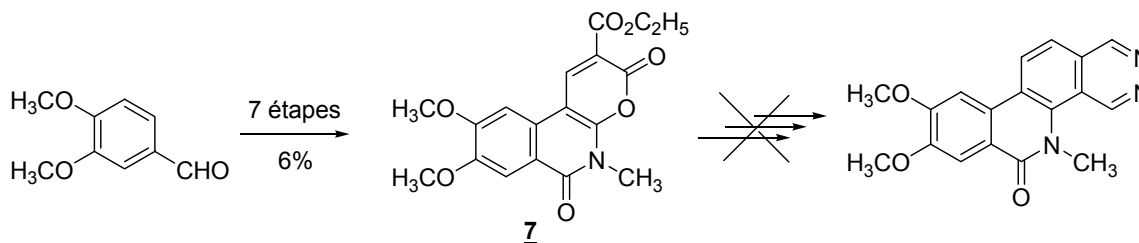


Schéma 49 : Voie d'accès abandonnée

### III. SYNTHÈSE DE NOUVEAUX ANALOGUES BZPs *via* LA FORMATION DU CYCLE C EN DERNIER

#### III.1 Méthode de couplage biaryle intramoléculaire catalysée par le palladium

##### III.1.1 Introduction

La réaction de couplage biaryle intramoléculaire catalysée par le palladium est utilisée pour synthétiser des systèmes polyaromatiques [31]. Dans cette réaction, un couplage aryle-aryle intramoléculaire entre un aryle triflate ou un halogénure aromatique et un arène est accompli en présence d'acétate de palladium, un ligand de type phosphine et d'une base. Elle est considérée comme une voie polyvalente de synthèse de lactames aromatiques pouvant ensuite conduire à des dérivés benzo[*c*]phénanthridiniques comme cela a déjà été rapporté pour la chélérythrine, la nitidine, la norchélythrine et la 12-méthoxydihydrochélythrine [117].



C'est pourquoi nous avons basé notre nouvelle approche rétrosynthétique d'analogues de benzo[*c*]phénanthridines sur ce type de stratégie (Schéma 50).

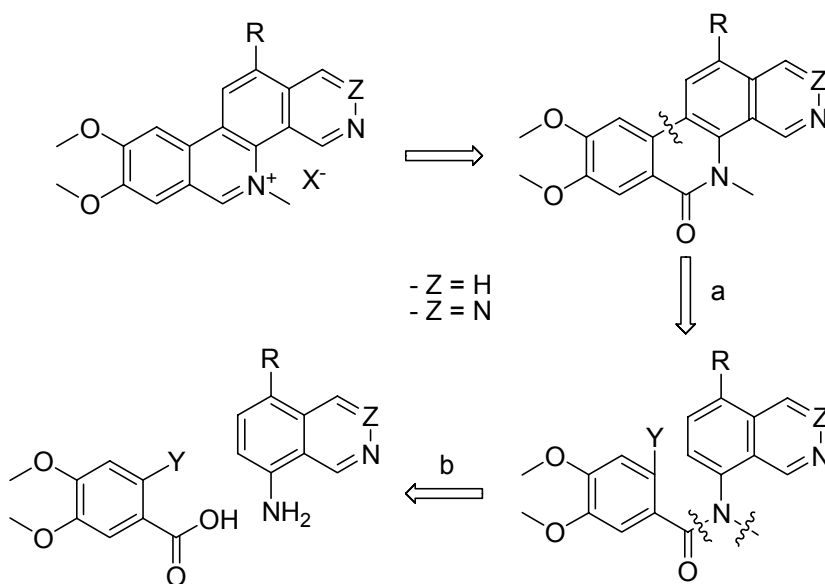


Schéma 50 : Rétrosynthèse de noyau benzo[*c*]phénanthridinique

A partir de l'approche rétrosynthétique en dessus, nous pouvons parvenir aux dérivés de la 5-méthyl benzo[*c*]phénanthrolinone et de 5-méthylphénanthridinone et ensuite à leur sels type iminium *via* deux réactions principales :

- formation de l'amide halogéné entre un chlorure d'acide halogéné et une amine aromatique correspondante (réaction b, schéma 50).
- cyclisation intramoléculaire catalysée par le palladium (réaction a, schéma 50).

Afin d'appliquer notre approche rétrosynthétique il nous a fallu dans un premier temps synthétiser les différentes amines aromatiques nécessaires en série isoquinoléine et phtalazine (Figure 33).

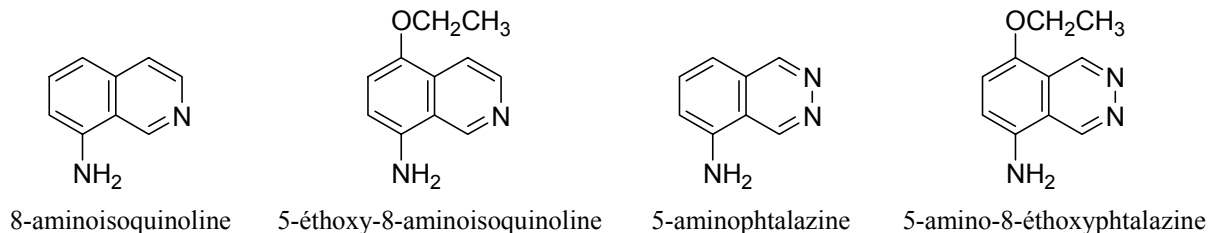


Figure 33 : Structures type amine aromatique nécessaires

### III.1.2 Préparation des *N*-méthylbenzamides en série isoquinoléine et phthalazine

#### III.1.2.1 Synthèse des dérivés nitrés

Dans un premier temps nous allons nous intéresser à la synthèse de la 8-aminoisoquinoléine. Pour y accéder, nous avons donc besoin de la 8-nitroisoquinoléine. L'introduction directe d'un groupement NO<sub>2</sub> sur le noyau isoquinoléine ne pourrait se faire de façon régiosélective en position 8 car la substitution en position 5 serait fortement compétitive.

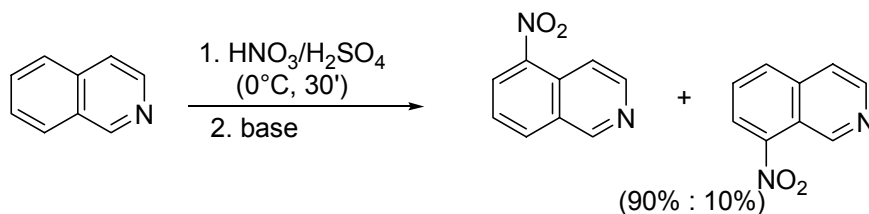


Schéma 51 : Nitration de l'isoquinoléine [118]

Récemment Brown et Gouliaev ont rapporté la bromation sélective en position 5 de l'isoquinoléine grâce à un contrôle précis de la température de réaction. Cette méthode présente deux avantages : utiliser un agent de bromation facilement manipulable, le *N*-bromosuccinimide (NBS) [119] [120] [121] et éviter au maximum la formation de 8-bromoisoquinoléine, difficilement séparable du régioisomère en position 5.

La présence de ce substituant halogéné permet ensuite d'orienter l'introduction du groupement nitro en position 8 du noyau isoquinoléine.

La nitration des composés aromatiques en phase liquide à basse température est réalisée selon un mécanisme de substitution électrophile  $S_E$ . Le réactif de nitration est un mélange d'acide nitrique-acide sulfurique. Pour obtenir une forte concentration en acide nitrique, le nitrate de potassium peut être utilisé en solution dans l'acide sulfurique.

La vitesse et le rendement de la réaction de nitration dépendent de la température. En général, la nitration des composés aromatiques est réalisée à basse température. Quand la température augmente, la vitesse de réaction va augmenter, mais diverses impuretés peuvent apparaître à cause d'un phénomène d'oxydation. Comme la nitration est une réaction fortement exothermique, le contrôle précis de la température appropriée est nécessaire pour obtenir de bons rendements.

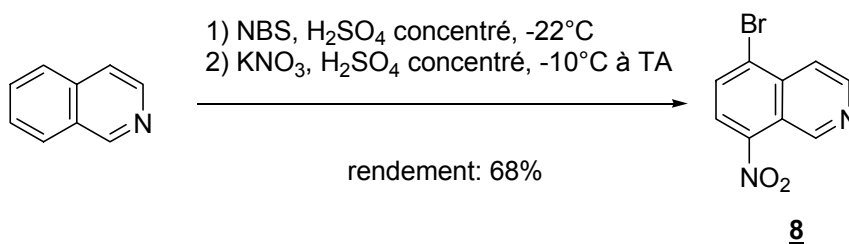


Schéma 52 : Synthèse de la 5-bromo-8-nitroisoquinoléine **8**

Cette méthodologie appliquée à l'isoquinoléine nous a conduit à la 5-bromo-8-nitroisoquinoléine **8** avec un meilleur rendement que celui rapporté par Brown et Gouliaev [122] (68% au lieu de 41%).

Nous avons ensuite transposé cette séquence bromation-nitration en série phtalazine avec pour objectif la synthèse de la 5-éthoxy-8-nitrophtalazine. Cette amine de départ est une 2,3-benzodiazine de basicité plus faible que celle de l'isoquinoléine (pKa de la phtalazine : 3,5 ; pKa de l'isoquinoléine : 5,14) à cause de l'influence du deuxième azote sur la délocalisation électronique dans le cycle [118].

Pour la réaction de substitution électrophile, la présence du deuxième hétéroatome implique une plus faible réactivité de la phtalazine par rapport à l'isoquinoléine.

Cependant comme pour l'isoquinoléine l'attaque électrophile peut avoir lieu en position 5 et 8.

Lors de la bromation à basse température ( $-22^{\circ}\text{C}$ ) de la phtalazine, aucune réaction n'a été observée. Nous avons alors modifié la température de réaction. Autant à température ambiante qu'à  $70^{\circ}\text{C}$ , la 5,8-dibromophtalazine est formée en quantité importante.

Etant donné la difficulté de séparation par chromatographie sur silice des deux produits bromés, nous avons réalisé la nitration de ce mélange (Schéma 53). Cette étape ne se produit qu'en travaillant à  $70^{\circ}\text{C}$  et permet la transformation complète de la 5-bromophtalazine en 5-bromo-8-nitrophtalazine **9**. A ce stade les produits **9** et **40** n'ont pu être séparés car ils possèdent exactement le même Rf dans les divers éluants employés. L'analyse RMN  $^1\text{H}$  confirme la présence de ces deux composés dans un ratio d'environ 1/1. Ce mélange sera à nouveau engagé dans la prochaine étape sans purification ou séparation préalable.

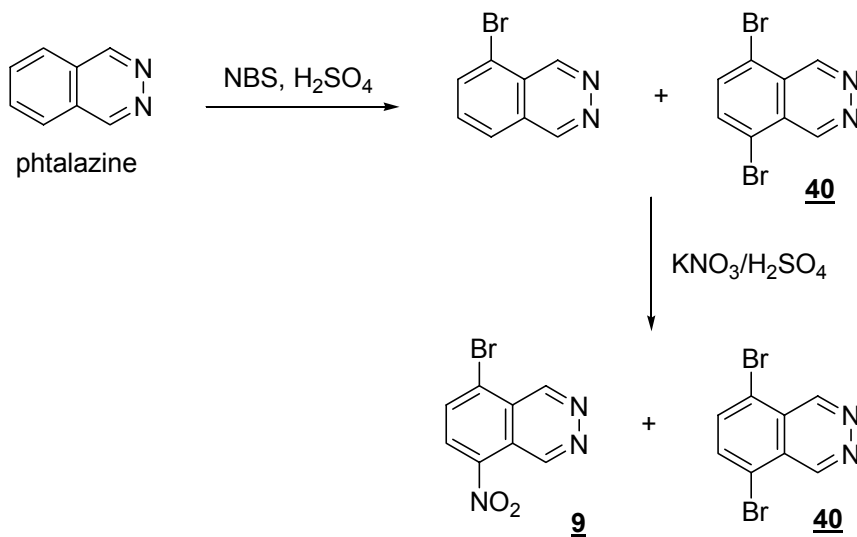


Schéma 53 : Bromation-nitration de la phtalazine

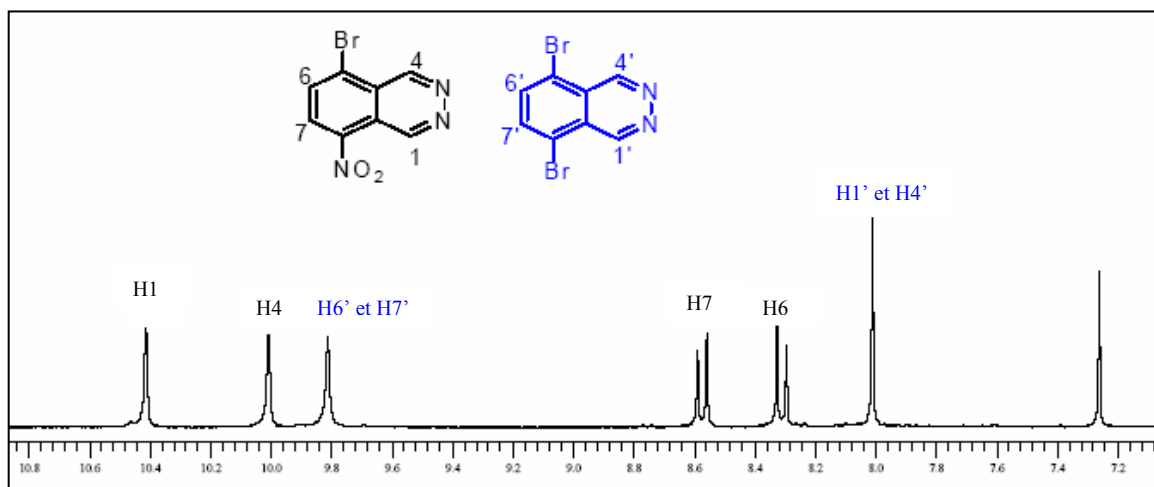


Figure 34 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (270 MHz) du mélange de **9** et **40**

Le composé nitré que nous avons ensuite synthétisé est la 5-nitroptalazine **10** obtenu avec 97% de rendement après 16h de chauffage à 70-80°C [123].

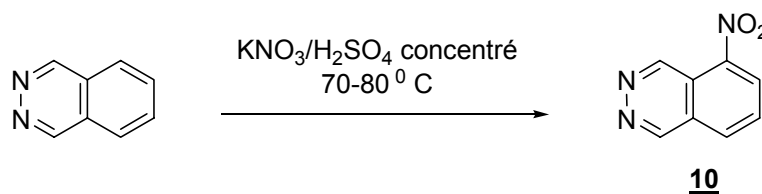


Schéma 54 : Nitration de la ptalazine

La réaction d'*O*-alkylation de la 5-bromo-8-nitroisoquinoléine se passe selon un mécanisme de substitution nucléophile d'halogénure d'aryle. Cette réaction est aussi appelée synthèse d'Ullmann, formation d'un éther à partir d'un halogénure d'aryle en présence d'éthylate de sodium et d'un catalyseur type sel de cuivre. Le DMF est utilisé comme solvant dipolaire aprotique afin d'accélérer la vitesse de la réaction.

Dans l'halogénure d'aryle, la liaison C-X est stable et il est très difficile de former un cation phényle. La réaction se produira facilement s'il y a un substituant électroattracteur (comme NO<sub>2</sub>, CN, CO<sub>2</sub>H, CHO...) en position *ortho* ou *para* de l'atome d'halogène. En

théorie la 5-éthoxy-8-nitroisoquinoléine **11** devrait être formée facilement à partir de la 5-bromo-8-nitroisoquinoléine **8**.

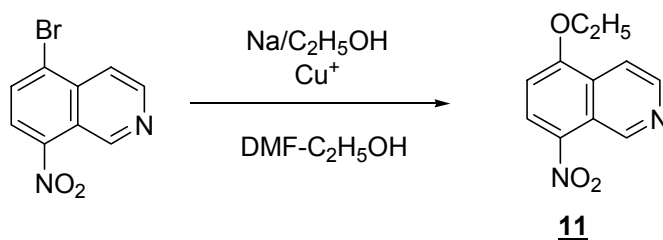


Schéma 55 : O-Ethylation de la 5-bromo-8-nitroisoquinoléine

En pratique plusieurs auteurs ont réussi cette *O*-alkylation avec le CuI comme catalyseur [124, 125]. Nous avons également tenté cette réaction avec l'éthylate de sodium fraîchement préparé, le mélange de DMF-éthanol anhydre comme solvant et le iodure de cuivre (I) comme catalyseur à température ambiante et à 70°C. Malheureusement dans ces conditions nous n'avons pas observé la formation de **11**. En changeant la nature du catalyseur et en utilisant du chlorure de cuivre I [126] le composé **11** est obtenu en 1h30 à température ambiante avec 95% de rendement. En fin de réaction il est important d'éliminer correctement toute trace de sels de cuivre qui pourrait expliquer la mauvaise résolution des signaux parfois observée en RMN <sup>1</sup>H (Figure 35).

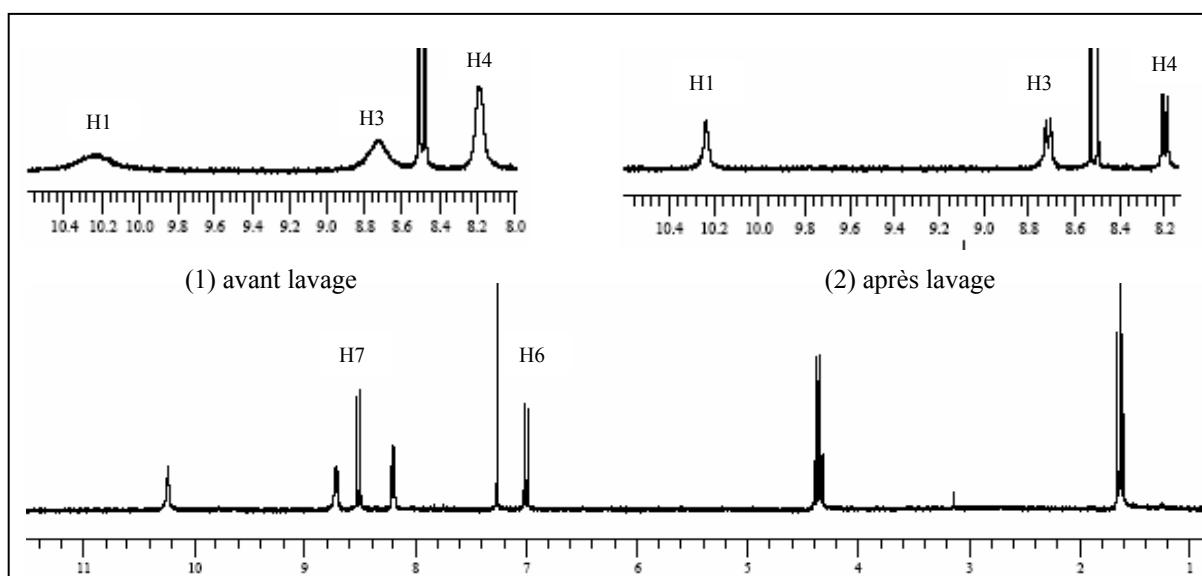
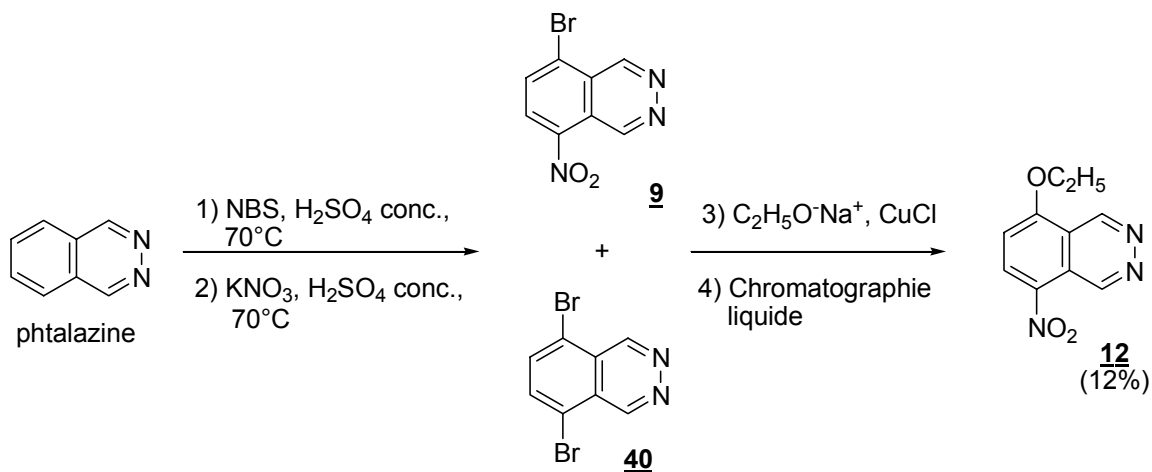


Figure 35 : Spectre RMN <sup>1</sup>H (270 MHz) de la 5-éthoxy-8-nitroisoquinoléine **11**

Tableau 3 : Conditions réactionnelles de la réaction d'*O*-éthylation

Catalyseur	Température	Résultat
CuI	TA	-
CuI	70°C	-
CuCl	TA	+++

Cette procédure d'*O*-éthylation est ensuite appliquée au mélange **9**+**40** obtenu après la séquence bromation-nitration de la phtalazine. Cependant la réaction est plus lente à température ambiante, c'est pourquoi nous avons dû chauffer le milieu réactionnel à 100°C. Nous avons alors observé la consommation totale du produit de départ, conduisant après purification sur colonne de silice à la 5-éthoxy-8-nitrophtalazine **12** avec un rendement global de 12% sur trois étapes (Schéma 56).

Schéma 56 : Bromation, nitration et *O*-éthylation de la phtalazine

**III.1.2.1 Réduction des dérivés type nitroisoquinoléine et nitroptalazine**

Pour réaliser la réduction de la 5-bromo-8-nitroisoquinoléine, plusieurs méthodes ont été décrites :

- en présence de Pd/C 10% dans le DMF et la triéthylamine à 60 psi d'H<sub>2</sub> pendant 1h (72% de rendement) [123].
- dans le méthanol en présence de Pd/CaCO<sub>3</sub> et d'acétate d'ammonium sous 10 bar d'H<sub>2</sub> (53% de rendement) [127].
- dans l'éthanol en présence de Pd/C 10% et d'hydrazine hydrate (47% de rendement) [128].

Cette dernière procédure a été appliquée avec succès à la réduction des composés **8** et **11** conduisant aux 8-aminoisoquinoléines **13** et **14** avec respectivement 87% et 84% de rendement. Récemment l'hydrogénation de la 5-nitroptalazine a été de nouveau réalisée dans l'éthanol en présence de Pd/C 10% sous 1 atm d'H<sub>2</sub> en 23h [121]. . Cependant nous avons appliqué avec succès la même procédure que pour les composés **8** et **11** et obtenu à partir du dérivé nitré **10** la 5-aminoptalazine **15** avec 89% de rendement.

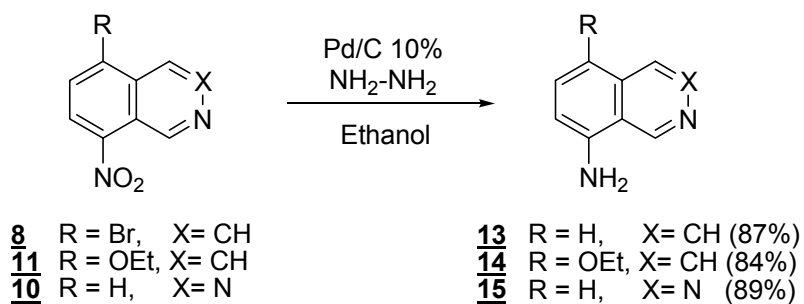


Schéma 57 : Réduction des dérivés nitrés **8**, **10** et **11**.



### III.1.2.3 Acylation des amines 13-15

Le traitement de chlorures d'acide par des amines primaires ou secondaires est une voie générale d'accès aux amides. Cette réaction est fortement exothermique et peut être facilement contrôlée par refroidissement ou par dilution. Une base est généralement ajoutée pour piéger l'acide chlorhydrique libéré au cours de la réaction. Dans quelques cas, lorsqu'une base aqueuse est additionnée, cette méthode est appelée procédure de Schotten-Baumann [129].

Dans leurs travaux, Ruchelmann et coll. ont utilisé la triéthylamine lors de la préparation de *N*-quinoléin-4-yl-2-iodo-4,5-diméthoxybenzamides substitués obtenus avec des rendements compris entre 36% et 87% [130]. La même base a été employée par Harayama et coll. pour la synthèse de dérivés type *N*-napht-1-ylbenzamide (rendements de 58% à 84%) [131].

Afin de synthétiser le benzamide 16 (Schéma 59), nous avons préparé le chlorure de 2-bromo-4,5-diméthoxybenzoyle à partir de l'acide 2 en présence de chlorure de thionyle.

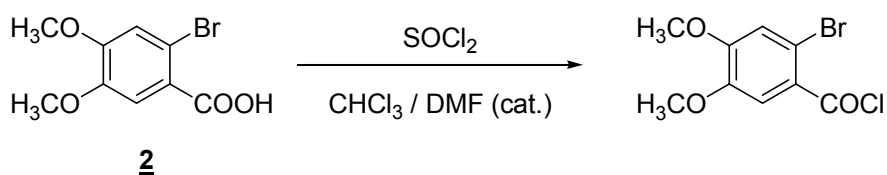


Schéma 58 : Synthèse du chlorure de l'acide 2

Cet intermédiaire est ensuite engagé dans l'acylation de la 8-aminoisoquinoléine 13 en présence d'une base. Nous avons utilisé trois amines tertiaires différentes : la triéthylamine, le DBU et la diisopropyléthylamine. C'est en présence de cette dernière que le produit 16 a été obtenu avec le meilleur rendement (Tableau 4). Nous avons également réalisé des essais d'acylation sans ajouter de diisopropyléthylamine et obtenu des rendements similaires en travaillant à température ambiante. Par la suite un rendement quasi-quantitatif a pu être obtenu en chauffant à reflux le milieu réactionnel.

Tableau 4 : Conditions réactionnelles pour préparer le 2-bromo-*N*-  
(isoquinoléin-8-yl)-4,5-diméthoxybenzamide

Base	Température de la réaction	Rendement (%)
triéthylamine	TA	25-27
DBU	TA	40-41
diisopropyléthylamine	TA	57-60
non	TA	60-63
non	chauffer à reflux	84-94

La purification du composé **16** sur colonne de silice étant peu efficace nous avons mis en place une procédure satisfaisante d'isolement de ce benzamide par lavage avec une solution aqueuse saturée de carbonate de sodium.

Les conditions opératoires d'acylation mises au point ci-dessus (réaction et isolement du produit) appliquées à l'amine aromatique **14** ont permis d'obtenir le benzamide **17** avec 90% de rendement.

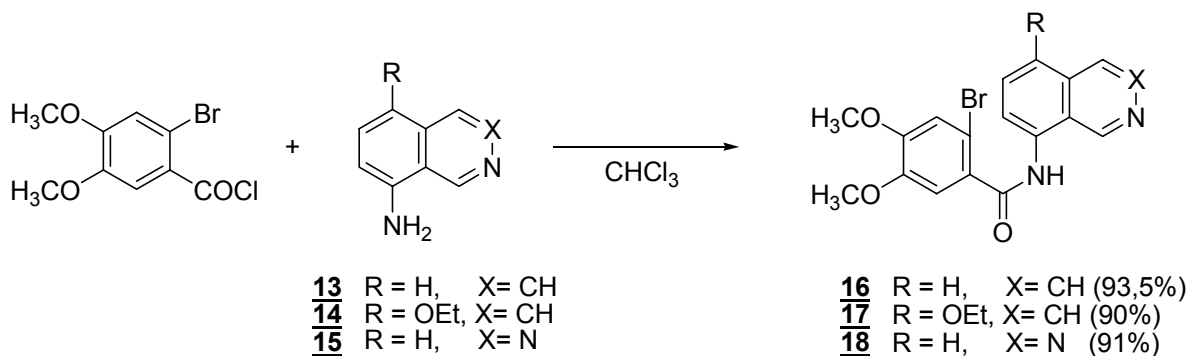


Schéma 59 : Synthèse des benzamides **16-18**

### III.1.2.4 N-Méthylation des dérivés benzamides 16-18

Les amides ne sont pas suffisamment nucléophiles pour pouvoir attaquer des halogénures d'alkyles. Par conséquent il est nécessaire de former d'abord leurs bases conjuguées pour ensuite alkyler l'atome d'azote [129].

La N-méthylation des amides peut ainsi être réalisée avec l'iodure de méthyle en présence de NaH ou de KH dans le THF ou le DMF comme solvant [41] [132] [133].

A cause de la solubilité faible du 2-bromo-N-(isoquinoléin-8-yl)-4,5-diméthoxybenzamide dans le THF, nous avons réalisé cette réaction dans le DMF en présence de NaH (2,5 équivalents) et de MeI (2,5 équivalents). Le produit d'arrivée et le produit de départ ont le même R<sub>f</sub> sur CCM avec les différents éluants utilisés. Cependant, le produit d'arrivée n'est pas fluorescent à 360 nm.

Cette méthodologie, appliquée aux benzamides 16-18, a permis d'obtenir les N-méthylbenzamides correspondants 19-21 avec des rendements respectifs de 93%, 84% et 85%.

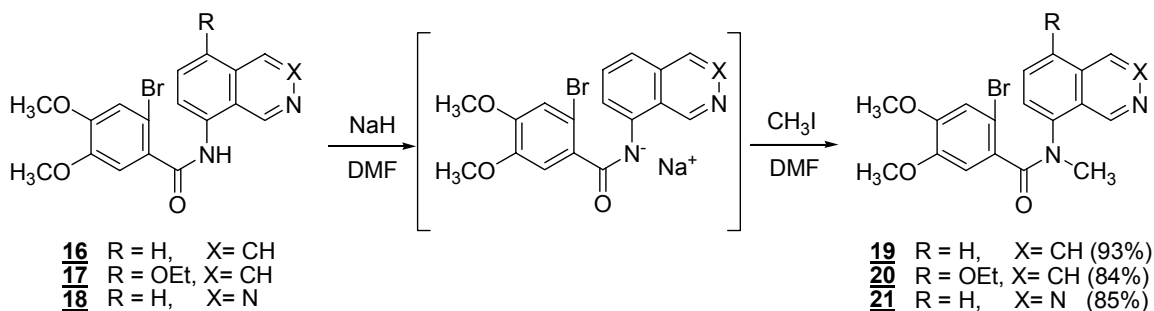


Schéma 60 : Synthèse des 2-bromo-N-méthylbenzamides 19-21

### III.1.3 Accès au noyau 5-méthylbenzo[c][1,9]phénanthroline et au noyau 5-méthylpyridazino[4,5,c]phénanthridine

#### III.1.3.1 Cyclisation intramoléculaire catalysée par le palladium

##### III.1.3.1.1 Introduction

La cyclisation intramoléculaire catalysée par le palladium est entreprise dans les conditions de la réaction de Heck. Le cycle catalytique de cette réaction peut être divisé en quatre étapes (Schéma 61) :

- Formation d'un complexe aryle-palladium (3) par addition oxydante d'un dérivé halogéné aromatique (2) sur un complexe  $\text{Pd}^0$  (1) ;
- Insertion de l'alcène (double liaison du motif naphthyle) au complexe (3) ;
- $\beta$ -élimination à partir du complexe (4) avec libération du produit cyclisé (5) ;
- Régénération du complexe  $\text{Pd}^0$  (1) par réaction avec une base ( $\text{Ag}_2\text{CO}_3$ ) [134].

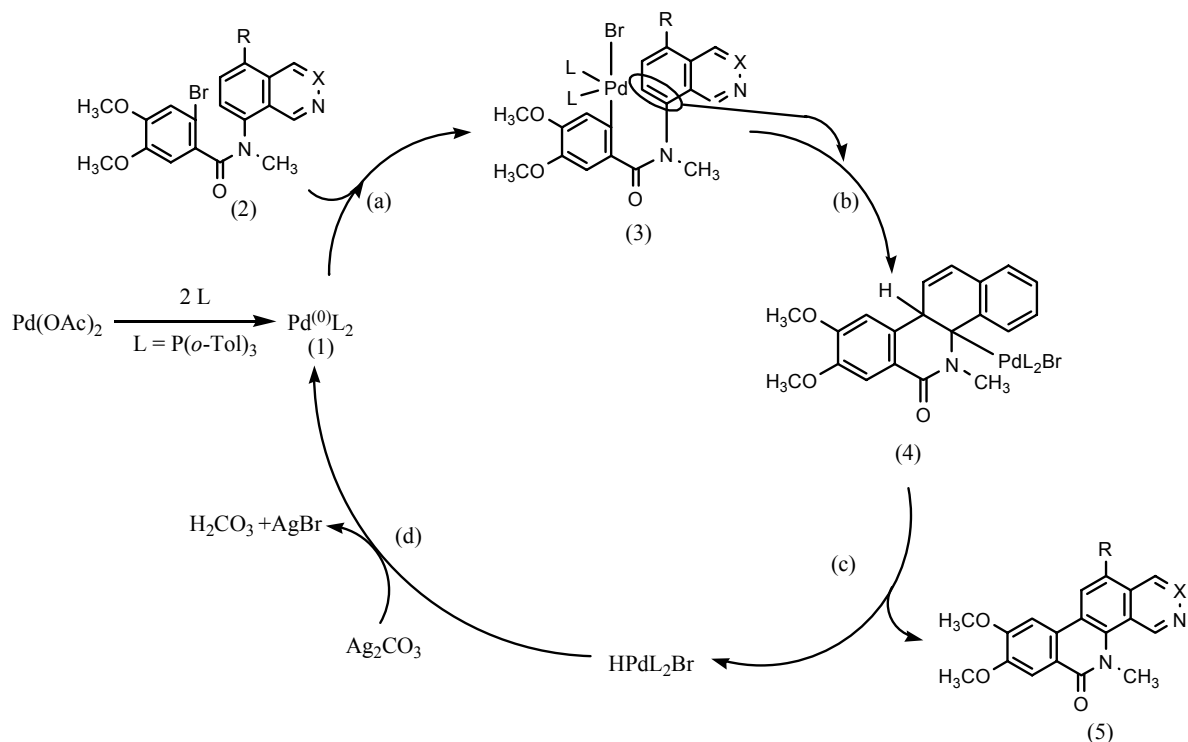


Schéma 61 : Cycle catalytique de cyclisation intramoléculaire catalysée par du palladium

Dans la littérature différents systèmes de réactifs à base d'acétate de palladium sont rapportés pour le couplage de triflate ou d'halogénure d'aryle avec des arènes :

- Pd(OAc)<sub>2</sub>/P(*o*-Tol)<sub>3</sub>/Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> [117].
- Pd(OAc)<sub>2</sub>/DPPP/Bu<sub>3</sub>P/Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> [31, 135].

Lors de ces couplages certains auteurs rapportent la formation minoritaire de naphthobenzazépinone [135].

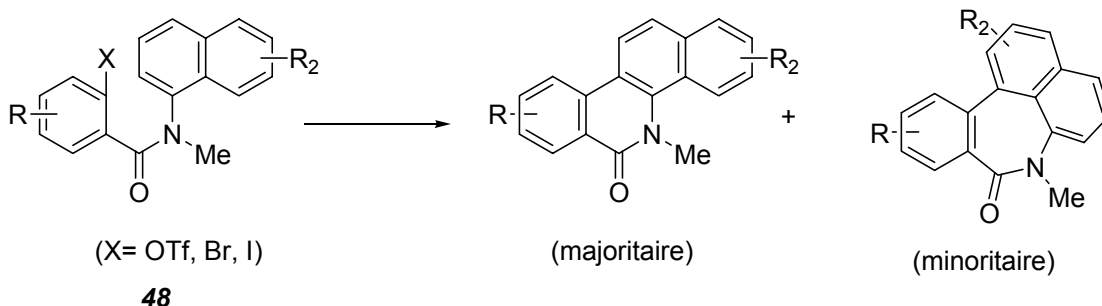


Schéma 62 : Couplage intramoléculaire de *N*-naphtylbenzamide

En utilisant le système Pd(OAc)<sub>2</sub>/P(*o*-Tol)<sub>3</sub>/Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Harayama et coll. ont réalisé une réaction de couplage intramoléculaire pour former la 5-méthylphénanthridinone **50** avec 99% de rendement. De la même manière, l'oxychélerithrine **4** a été synthétisée avec un rendement de 96% [117].

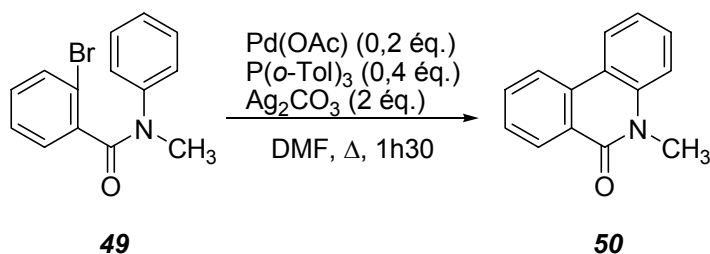


Schéma 63 : Couplage de 2-bromobenzamide pour former la phénanthridinone **50**

La cyclisation intramoléculaire de l'amide **51** conduit très majoritairement au produit souhaité **52** ainsi qu'à une faible quantité de naphthobenzazépinone **53**, entre 5% et 9% en fonction du ligand phosphine utilisé [117].

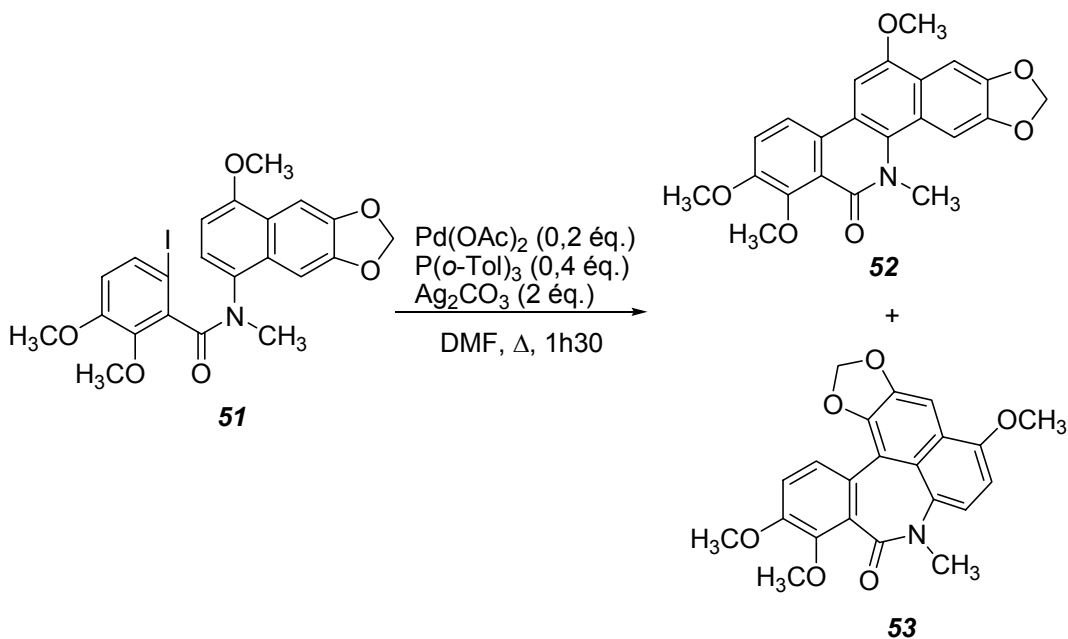


Schéma 64 : Synthèse de la 12-méthoxyoxychélythrine **52** à partir du 2-iodobenzamide **51**

Dans des conditions réactionnelles identiques, Singh et coll. sont parvenus à synthétiser des dérivés type 5-(2-diméthylaminoéthyl)2,3-méthylènedioxy-5*H*-dibenzo[*c,h*][1,6]naphthyridin-6-one **55a-c**. Parmi ces analogues de benzo[*c*]phénanthridines, obtenus avec des rendements compris entre 34% et 38%, **55c** présente une activité significative sur la topoisomérase 1 et une forte cytotoxicité sur la lignée cellulaire RPMI8402 [32].

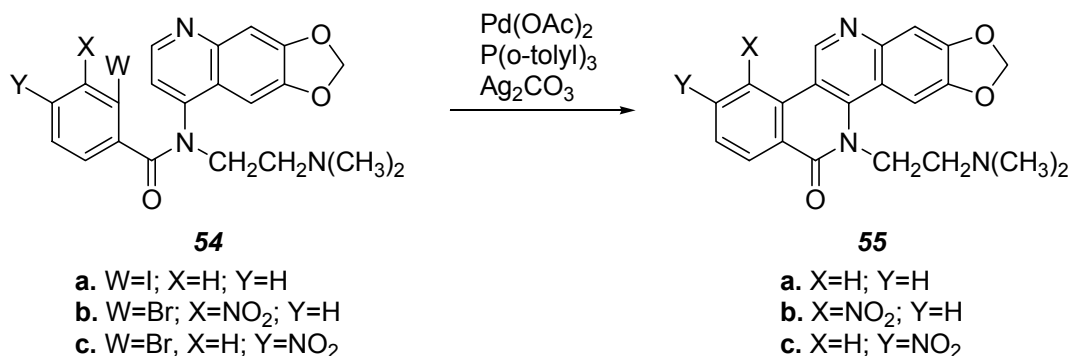
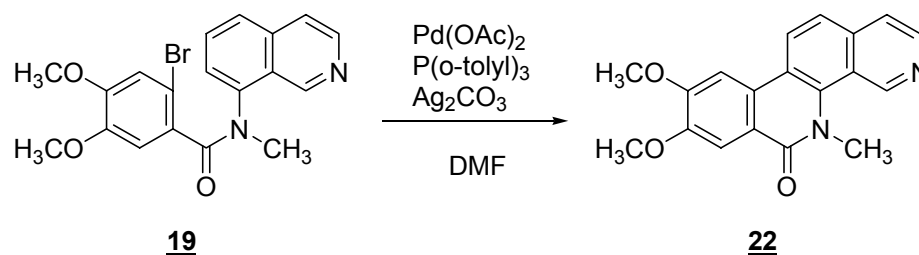


Schéma 65 : Synthèse des dibenzo[*c,h*][1,6]naphthyridin-6-ones [32]

## III.1.3.1.2 Résultats personnels

En travaillant dans les conditions suivantes, Pd(OAc)<sub>2</sub> : 0,2 éq ; P(*o*-Tol)<sub>3</sub> : 0,4 éq ; Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> : 2 éq à partir du 2-bromobenzamide **19**, nous n'avons isolé le produit cyclisé correspondant qu'avec un rendement de 17%.

Schéma 66 : Synthèse de la 8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[*c*][1,9]phénanthroline-6(5*H*)-one **22**

Malgré un temps de réaction plus long que ceux généralement décrits, le produit de départ n'était pas totalement consommé. Nous avons alors augmenté progressivement les quantités de Pd(OAc)<sub>2</sub> et de P(*o*-Tol)<sub>3</sub> et obtenu un meilleur rendement en travaillant avec respectivement 0,5 équivalent et 1 équivalent de ces réactifs (Tableau 5). Dans ces conditions et après plusieurs essais, nous n'avons jamais mis en évidence de produit secondaire type isoquinobenzazépinone. Parfois, du produit de départ a été récupéré.

Tableau 5 : Conditions réactionnelles de couplage de 2-bromo-*N*-(isoquinoléin-8-yl)-4,5-diméthoxy-*N*-méthylbenzamide **19**

Dérivé <i>N</i> -méthylbenzamide (eq)	Pd(OAc) <sub>2</sub> (eq)	P( <i>o</i> -tolyl) <sub>3</sub> (eq)	Ag <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (eq)	Rendement (%)
1	0,2	0,4	2	17
1	0,3	0,6	2	17,5
1	0,5	1	2	42

Les conditions opératoires développées ci-dessus et appliquées au benzamide **20** ont permis d'isoler le produit attendu **23** avec 13% de rendement ainsi que l'hydroxyisoquinobenzoazépinone **41** avec 7% de rendement. De plus une certaine quantité de produit de départ reste présente après 3h de chauffage.

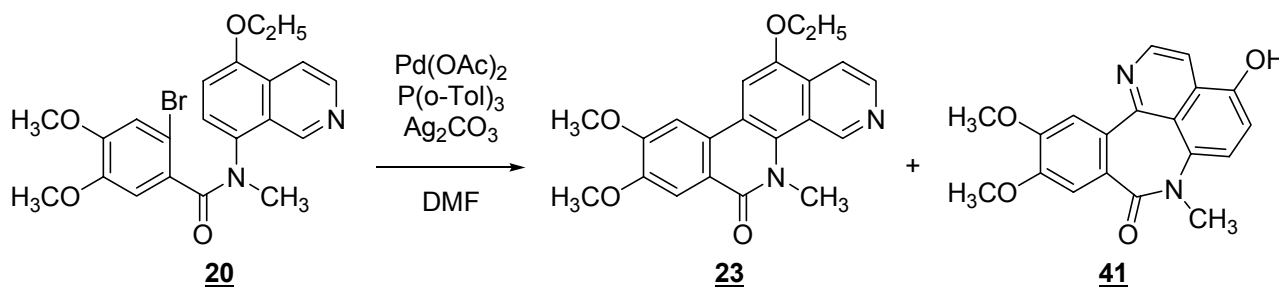


Schéma 67 : Synthèse de la 12-éthoxy-8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[*c*][1,9]phénanthroline-6(5*H*)-one **23**

La structure du produit secondaire a été déterminée sur la base de données spectrales RMN. Ainsi le singulet correspondant au proton H4 dans le dérivé **23** n'apparaît pas sur le spectre RMN <sup>1</sup>H du composé **41**. De plus les signaux caractéristiques du groupement éthoxyle (triplet et quadruplet) ont aussi disparu. Un nouveau singulet, à  $\delta = 6,38$  ppm, peut être attribué au proton phénolique. Les déplacements chimiques du signal correspondant aux protons du groupement N-CH<sub>3</sub> peuvent aider à l'élucidation structurale [135]. Dans notre cas, ce signal apparaît à  $\delta = 2,85$  ppm pour le dérivé **41**, à  $\delta = 4,16$  ppm pour le dérivé de 5-méthylbenzo[*c*]phénanthroline **23** et à  $\delta = 3,32$  ppm pour l'amide correspondant **20**. Sur les spectres de RMN-<sup>13</sup>C, nous avons aussi observé une différence de déplacement chimique pour le signal correspondant au groupement C=O des dérivés ci-dessus, respectivement à  $\delta = 182,6$  ppm, à  $\delta = 162,8$  ppm et à  $\delta = 169,5$  ppm.



Tableau 6 : Comparaison des données spectrales de **23** et de **41**

Dérivé	RMN <sup>1</sup> H(δ ppm) (N-CH <sub>3</sub> )	RMN <sup>13</sup> C(δ ppm) (C=O)
Isoquinobenzazépinone <b>41</b>	2,85	182,6
5-Méthylbenzo[ <i>c</i> ][1,9]phénanthroline-6 (5H)-one <b>23</b>	4,16	162,8
Isoquinoléin-8-yl- <i>N</i> -méthylbenzamide <b>20</b>	3,32	169,5

Afin d'augmenter le faible rendement de la réaction (13%), nous avons prolongé le temps de chauffage du mélange réactionnel jusqu'à 5h. Après traitement et séparation chromatographique, le produit pur **23** est isolé avec un rendement de 26%. Le produit secondaire de type isoquinobenzazépinone **41** est toujours obtenu (un rendement de 7%).

Compte tenu des analyses CCM et RMN <sup>1</sup>H du brut réactionnel, nous espérons un meilleur rendement. Nous avons alors remarqué que le produit d'arrivée **23** était plus soluble dans l'acétate d'éthyle que dans l'éther éthylique. C'est pourquoi après un nouvel essai, le produit brut est extrait à l'acétate d'éthyle. Ainsi après chromatographie sur colonne de silice nous avons isolé le composé **23** avec 41% de rendement.

Tableau 7 : Conditions réactionnelles dans la synthèse de **23**

Temps de chauffage (h)	Solvant d'extraction du produit brut	Rendement (%)
3	éther éthylique	13
5	éther éthylique	26
5	acétate d'éthyle	41

Les conditions expérimentales développées pour la cyclisation du composé **20** sont appliquées au benzamide **21**. Après disparition totale du produit de départ, le milieu réactionnel est traité et purifié, conduisant ainsi à la 5-méthylpyridazino[4,5-*c*]phénanthridin-6(5*H*)-one **24** avec 28% de rendement. Aucun produit secondaire n'a pu être isolé afin d'expliquer ce faible rendement.

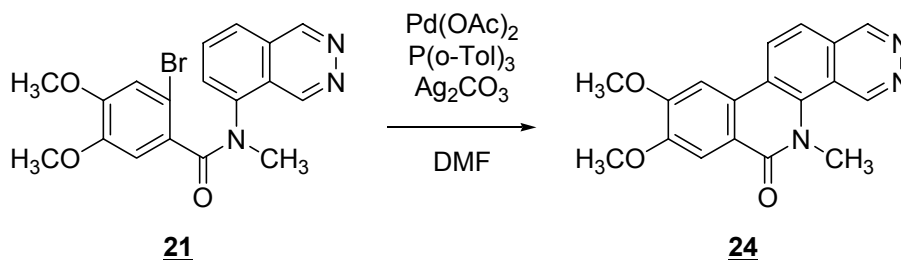


Schéma 68 : Synthèse de la 8,9-diméthoxy-5-méthylpyridazino  
[4,5-*c*]phénanthridin-6(5*H*)-one **24**

### III.1.3.2 Synthèse des dérivés iminiums correspondants

Différentes procédures de réduction de dérivés type benzo[*c*]phénanthridinone ou autres analogues ont déjà été rapportées :

- soit en présence de  $\text{LiAlH}_4$  dans du THF anhydre suivi d'un traitement par  $\text{NaBH}_4$  dans le méthanol [104] [136].
- soit en présence de  $\text{B}_2\text{H}_6$  [84] [100].
- soit par un seul traitement en présence de  $\text{LiAlH}_4$  dans le THF anhydre. Cette procédure est d'ailleurs celle la plus souvent employée [45] [99] [130] [137].

Une attention particulière lors du traitement de cette réaction doit être apportée à l'addition soigneuse et successive au goutte à goutte de  $n$  ml d'eau,  $n$  ml d'une solution aqueuse de NaOH 15%, puis de  $3n$  ml d'eau au mélange contenant  $n$  grammes de  $\text{LiAlH}_4$ . Ces conditions permettent une précipitation inorganique granulaire facile à filtrer [138].

Après réduction l'amine correspondante peut être aromatisée soit en présence de DDQ [136] ou de Pd/C soit par oxydation lente au contact de l'oxygène de l'air [20].

Nous avons réalisé la réduction du dérivé **22** par LiAlH<sub>4</sub> (7-10 équivalents) dans du THF anhydre [40ml THF/ 0,05 mmol de **22**] sous flux d'azote chauffé à reflux pendant 7 h ; ou par LiAlH<sub>4</sub> (17-20 équivalents) dans du THF anhydre [10ml THF/ 0,05 mmol de **22**] sous flux d'azote à température ambiante pendant 12h. Dans les deux cas, il ne reste pas le produit de départ sur CCM après avoir réduit.

Tableau 8 : Conditions réactionnelles de réduction conduisant au produit **42**

LiAlH <sub>4</sub>	THF anhydre (ml/0,05 mmol de produit de départ)	Température	Temps (h)
7-10 éq	40	reflux	7
17-20 éq	10	TA	12

L'analyse du spectre RMN <sup>1</sup>H du produit brut obtenu après traitement montre la présence d'un singulet à  $\delta = 4,20$  ppm correspondant au CH<sub>2</sub> benzylique et d'un singulet à  $\delta = 2,70$  ppm correspondant au CH<sub>3</sub> fixé à l'azote N5. Ces données confirment la réduction de l'amide **22** en 5,6-dihydro-8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[c][1,9]phénanthroline **42**.

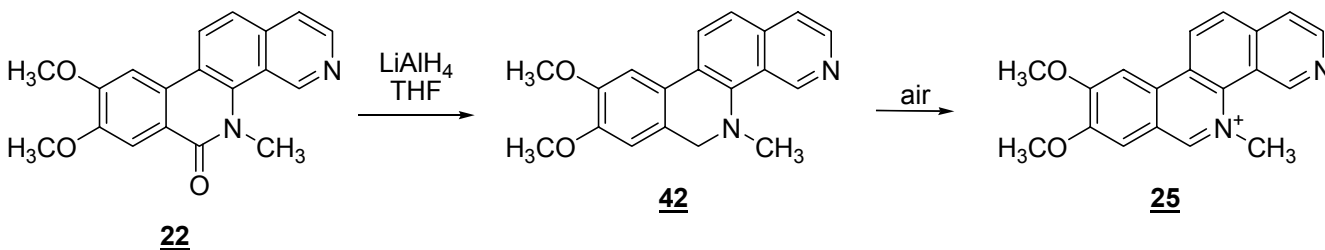


Schéma 69 : Synthèse du 8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[c][1,9]phénanthroline **25**

Après une semaine au contact de l'air, l'oxydation du produit **42** conduit au 8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[c][1,9]phénanthrolium **25**.

L'analyse du spectre RMN  $^1\text{H}$  de ce composé met en évidence :

- la disparition du signal correspondant au  $\text{CH}_2$  benzylique ;
- le changement de déplacement chimique du signal correspondant au  $\text{CH}_3$  fixé à l'azote N5 ;
- l'apparition d'un nouveau signal sous forme d'un sigulet correspondant au proton aromatique H6 à  $\delta = 10,32$  ppm.

La résonance de ce proton H6 déblindée de façon inhabituelle avec un déplacement chimique supérieur à 10 ppm peut être justifiée par une interaction dipolaire avec des protons du groupement  $\text{N}^+\text{CH}_3$  voisin et également avec le proton H7 [139] [140].

L'analyse du spectre RMN  $^{13}\text{C}$  révèle la présence d'un signal déblindé à  $\delta = 52,2$  ppm correspondant au carbone méthylique fixé à l'azote N5.

Toutes ces données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  correspondent à celles déjà publiées pour des benzo[c]phénanthridines quaternaires. Par ailleurs, l'analyse du produit **25** en spectrométrie de masse basse résolution a permis d'observer un ion moléculaire avec une valeur m/z correcte.

Tableau 9 : Comparaison des données spectrales de **25** et de **42**

Produit	RMN $^1\text{H}$ , 270MHz ( $\delta$ ppm )		
5,6-dihydro-8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[c][1,9]phénanthroline <b>42</b>	4,2 (s, 2H, -CH <sub>2</sub> -)	2,7 (s, 3H, N-CH <sub>3</sub> )	
8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[c][1,9]phénanthroline <b>25</b>		5,01 (s, 3H, N <sup>+</sup> -CH <sub>3</sub> )	10,32 (s, 1H, H6)

Nous avons ensuite appliqué cette procédure réduction par LiAlH<sub>4</sub>-oxydation à l'air au composé **23**. Dans ces conditions nous avons pu isoler l'iminium **26** avec un rendement de 61%.

L'analyse du spectre RMN  $^1\text{H}$  permet d'observer deux signaux caractéristiques : un singulet à  $\delta = 5,02$  ppm pour le groupement méthyle fixé à l'azote N5 et un singulet à  $\delta = 10,25$  ppm correspondant au proton H6. De plus l'analyse en spectrométrie de masse basse résolution a permis d'observer l'ion moléculaire correspondant au produit **26**.

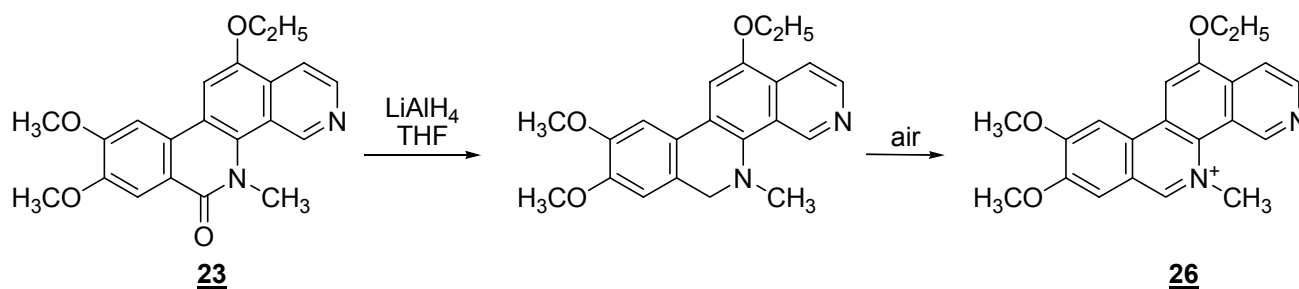
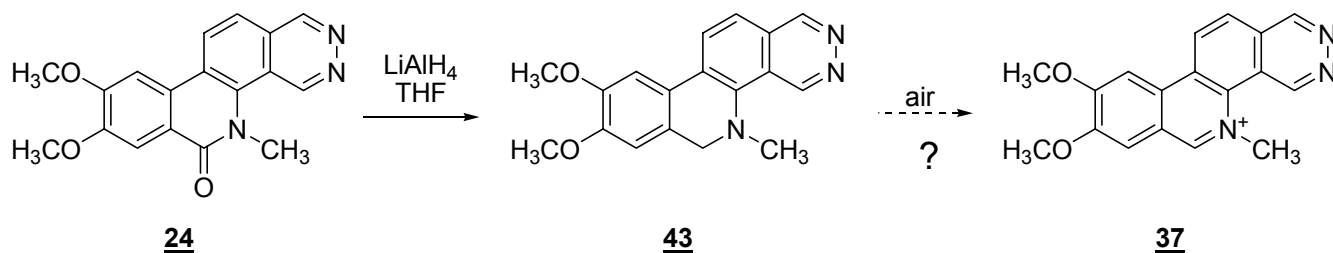


Schéma 70 : Synthèse du 12-éthoxy-8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[c][1,9]phénanthroline **26**

Tableau 10 : Quelques données spectrales de **25** et **26**

Composé	RMN <sup>1</sup> H (270 MHz; DMSO), (δ en ppm)		SMBR [M] <sup>+</sup>
<b>25</b>	5,01 (s, 3H, N <sup>+</sup> CH <sub>3</sub> )	10,32 (s, 1H, H6)	305,0 (théo. = 305,129 pour C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>+</sup> )
<b>26</b>	5,02 (s, 3H, N <sup>+</sup> CH <sub>3</sub> )	10,25 (s, 1H, H6)	349,1 (théo. = 349,155 pour C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>+</sup> )

Nous avons également entrepris la réduction du dérivé **24**. Cette réaction permet de consommer la totalité du produit de départ. Cependant après un contact prolongé à l'air, aucune trace du produit **37** n'a pu être détecté par analyse RMN <sup>1</sup>H. Il faudrait sans doute réaliser cette aromatisation en présence d'un agent oxydant tel que DDQ ou I<sub>2</sub>. A cause du temps limité dont nous disposons, nous n'avons pas encore réalisé cet essai.

Schéma 71 : Synthèse du 8,9-diméthoxy-5-méthylpyridazino[4,5-c]phénanthridinium **37**

### III.2 Méthode de cyclisation de type benzyne- (synthèse des dérivés de benzo[c] [1,9]phénanthroline et de pyridazino[4,5-c]phénanthridine)

#### III.2.1 Introduction

Au cours de notre travail nous avons également souhaité préparer des analogues non chargés de benzo[*c*]phénanthridines totalement aromatiques, c'est à dire avec un atome d'azote non quaternaire en position 5.

Une méthode connue pour ce type de synthèse est celle mise au point par Kessar et coll. [23]. L'étape clé consiste à traiter par une base forte une *o*-bromobenzyl-napht-8-ylamine afin d'accéder à la structure tétracyclique souhaitée. Au cours de cette cyclisation, un intermédiaire benzyne est formé et attaqué intramoléculairement par une insaturation du noyau aromatique voisin.

Cette approche a d'abord été mise au point pour la préparation de benzo[*c*]phénanthridines oxygénées en position 7 et 8. Dans ce cas la base utilisée était l'amidure de potassium (KNH<sub>2</sub>) en milieu ammoniac liquide. Cependant transposé à la synthèse de benzo[*c*]phénanthridines oxygénées en position 8 et 9, ce système ne donnait pas des rendements aussi satisfaisants. L'utilisation du système LDA/THF à -78°C a alors permis d'améliorer significativement les rendements lors de la synthèse de ces benzo[*c*]phénanthridines.

Kessar et coll. ont également montré que l'activation par l'azote négativement chargé était importante pour qu'il y ait attaque intramoléculaire des électrons π du noyau aromatique sur le benzyne [141]. En effet aucun produit de cyclisation n'a été obtenu à partir de l'amine tertiaire **56** où aucune charge ne peut être générée sur l'atome d'azote ni à partir de l'amide **57** où la charge négative est délocalisée sur l'atome d'oxygène voisin (équilibre amidate/iminoalcool).

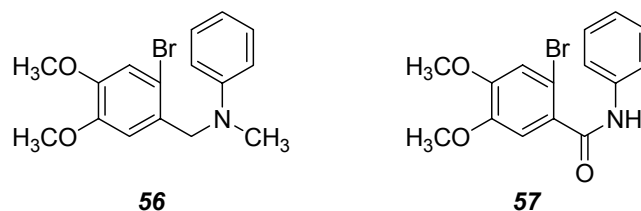


Figure 36 : Dérivés de N-méthyle **56** et d'amide **57**

Un mécanisme de cette réaction proposé par Kessar est représenté sur le schéma ci-dessous:

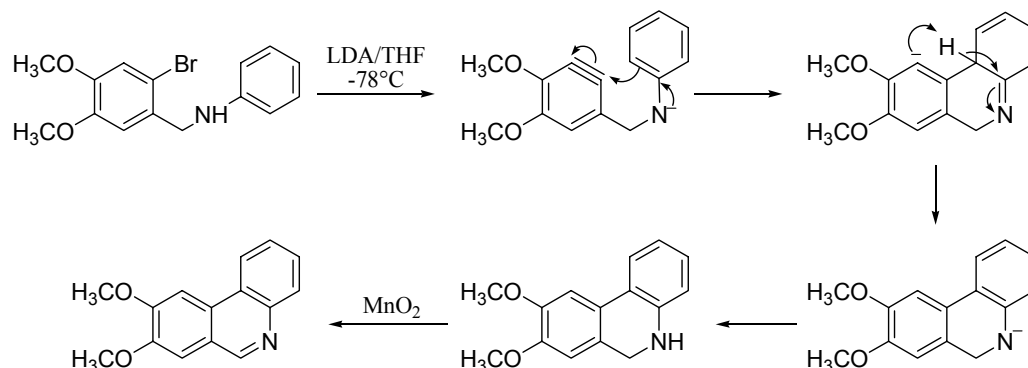


Schéma 72 : Hypothèse pour le mécanisme de cyclisation

L'application de cette méthodologie a ainsi conduit Prado et coll. à la synthèse de benzo[*c*][1,7] et [1,8] phénanthrolines [76] et Nakanishi à la préparation de benzo[*c*]phénanthridiniums 7,8,9-trioxygénés [88].

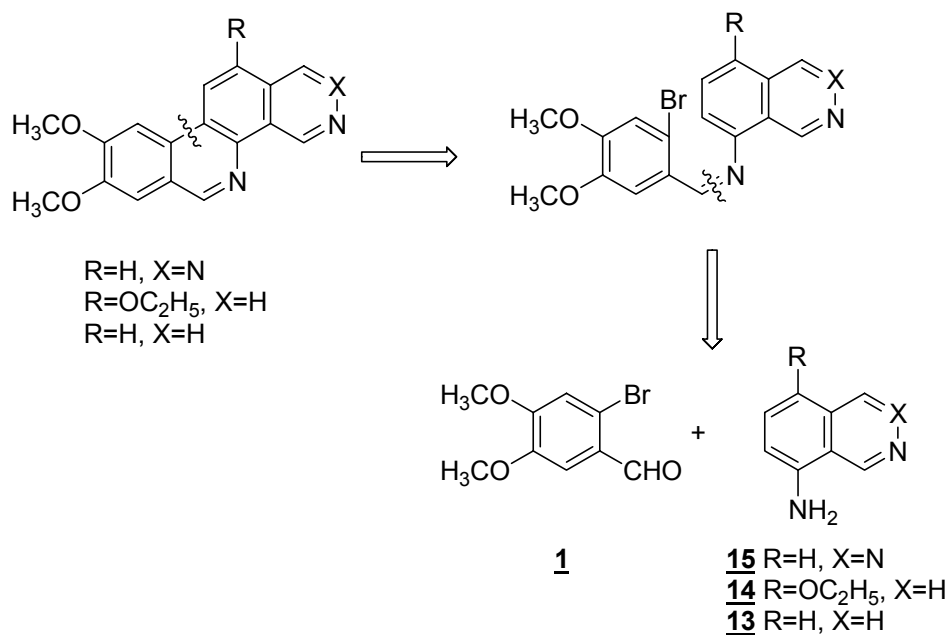


Schéma 73 : Rétrosynthétique des dérivés de type benzo[*c*][1,9]phénanthroline et pyridazino[4,5-*c*]phénanthridine



L'analyse rétrosynthétique des structures que nous souhaitons obtenir ici met en jeu des dérivés type aminoisoquinoléine et aminophthalazine **13-15** ainsi que le 2-bromovératraldéhyde **1** dont nous avons déjà décrit la synthèse.

Cette stratégie implique trois étapes réactionnelles:

- Synthèse des imines par condensation entre le 2-bromovératraldéhyde et des amines aromatiques primaires en série isoquinoléine et phtalazine.
- Obtention des amines correspondantes par réduction des dérivés type base de Schiff.
- Cyclisation par traitement en présence de LDA dans le THF à  $-78^{\circ}\text{C}$ .

### III.2.2 Préparation des *N*-benzyl-isoquinoléin-8- et -phtalazin-5-amines

#### II.2.2.1 Synthèse des imines

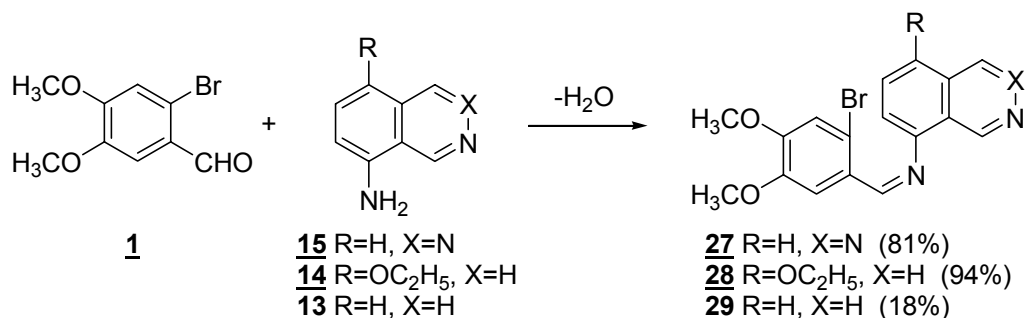


Schéma 74 : Synthèse des imines **27-29**

Les imines **27-29** sont synthétisées par chauffage au reflux d'une solution contenant l'amine **13-15** et l'aldéhyde **1** en solution dans le toluène. L'eau formée au cours de cette condensation est éliminée au fur et à mesure par distillation azéotropique à l'aide d'un Dean-Stark. Les dérivés **27-29** ont été obtenus avec des rendements respectifs de 81%, 94% et 18%. La 8-aminoisoquinoléine **13** est beaucoup moins réactive que la 5-éthoxy-8-aminoisoquinoléine **14** dans les mêmes conditions réactionnelles. Cela pourrait s'expliquer par la présence du groupement éthoxyle en para de la fonction amine qui

renforcerait le caractère nucléophile de cette fonction. La formation de l'imine correspondante serait alors facilitée.

Pour chacun des composés **27-29**, l'analyse du spectre RMN  $^1\text{H}$  met en évidence l'apparition d'un singulet correspondant au proton la fonction imine à  $\delta = 8,87$  ppm, 8,81 ppm et 8,85 ppm respectivement.

### III.2.2.2 Réduction des imines

La réduction de ces bases de Schiff en amines secondaires aromatiques correspondantes peut être réalisée en présence de  $\text{NaBH}_4$  dans le méthanol à  $0^\circ\text{C}$  [76]. De telles conditions opératoires nous ont permis d'accéder aux amines **30-32** avec des rendements respectifs de 98%, 77% et 53%. L'analyse RMN  $^1\text{H}$  des produits purifiés confirme la disparition du singulet correspondant au proton de la fonction imine et met en évidence l'apparition d'un singulet intégrant pour deux protons et correspondant aux protons benzyliques des amines **30-32** à  $\delta = 4,57$  ppm, 4,49 ppm et 4,54 ppm respectivement.

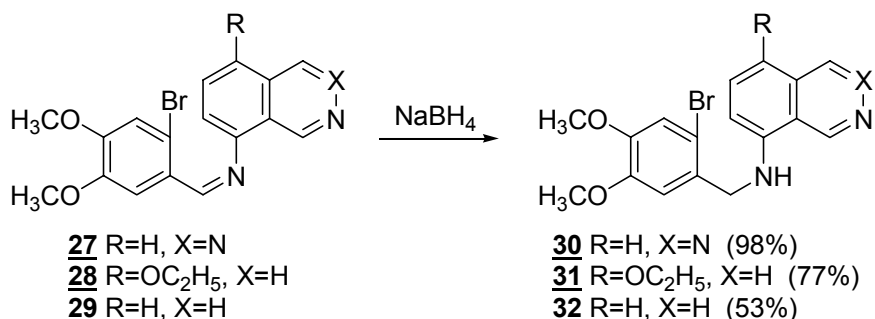


Schéma 75 : Réduction des imines **27-29**

### III.2.3 Cyclisation intramoléculaires des amines **30-32**

Selon Nakanishi et coll. [29], la cyclisation en présence de LDA se ferait en trois étapes :

- lithiation des amines à  $-78^\circ\text{C}$  ;
- formation de l'intermédiaire de type benzyne ;
- cyclisation intramoléculaire lors du retour à température ambiante.

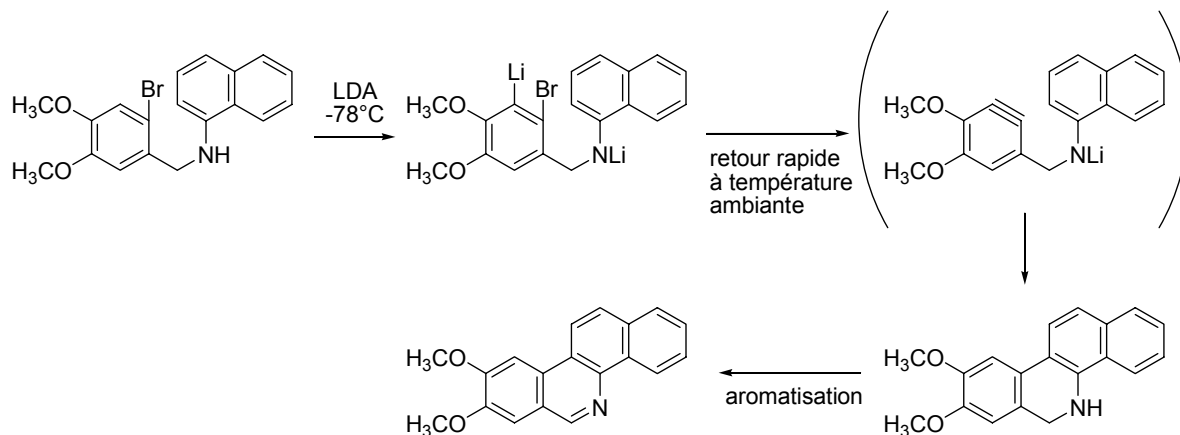


Schéma 76 : Cyclisation en présence de LDA

Les produits cyclisés sont ensuite aromatisés soit en présence de  $MnO_2$ , soit spontanément au contact de l'oxygène de l'air pour donner les benzo[c]phénanthridines correspondantes [23] [76].

Le LDA, fraîchement préparé à partir de diisopropylamine et de solution de n-butyllithium dans l'hexane à 0°C [142], est en général utilisé dans des proportions 3 équ/1 équ [23] ou 6 équ/1 équ [76] par rapport à l'amine de départ.

Dans un premier temps, nous avons traité l'amine **30** par 3 équivalents molaire de LDA et n'avons isolé aucun produit de cyclisation. Seul le produit de départ était retrouvé en fin de réaction. Nous avons alors progressivement augmenté les quantités de LDA (6 puis 9 équivalents). Le produit de cyclisation attendu a pu finalement être formé et isolé avec un rendement de 43% en utilisant 9 équivalents de LDA.

Nous avons suivi la même approche pour la cyclisation des composés **31** et **32**. Dans ces deux exemples, l'utilisation de 6 équivalents molaire de LDA ont suffi pour consommer la totalité du produit de départ. Ainsi les benzo[c]phénanthrolines **34** et **35** ont été obtenues avec respectivement 30% et 43% de rendement.

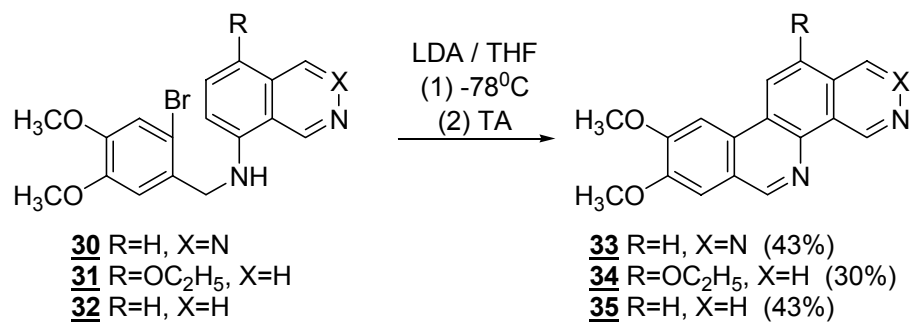


Schéma 77 : Synthèse de pyridazino[4,5-*c*]phénanthridine et de benzo[*c*][1,9]phénanthroline

**PARTIE B**

**RELATIONS STRUCTURE–ACTIVITE  
QUANTITATIVES (QSAR)**

## GENERALITES

### I. INTRODUCTION

Bien que l'étude des relations structure-activité ait commencé à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, ce n'est qu'au début des années 60 que les travaux de Corwin Hansch ont proposé un modèle mathématique pour corrélérer l'activité biologique et la structure chimique. Pendant ces quarante dernières années, ce domaine a largement été étudié et les données bibliographiques disponibles sur cette approche sont maintenant importantes [143].

La méthode QSAR inclut toutes les méthodes statistiques par lesquelles des activités biologiques (le plus souvent exprimées par des logarithmes des activités molaires équipotentielles) sont reliées avec les éléments structuraux (analyse de Free Wilson), les propriétés physico-chimiques (analyse de Hansch) ou différents paramètres liés à la notion de champ aidant à la description de la structure (3D QSAR).

Les informations extraites à partir des résultats d'étude de QSAR peuvent être utilisées pour obtenir une meilleure connaissance des structures moléculaires et probablement le mode d'action au niveau moléculaire. Ces informations peuvent alors être utilisées pour prévoir les propriétés physicochimiques et les activités biologiques de nouveaux composés ainsi que pour concevoir de nouvelles structures (Figure 37) [144].

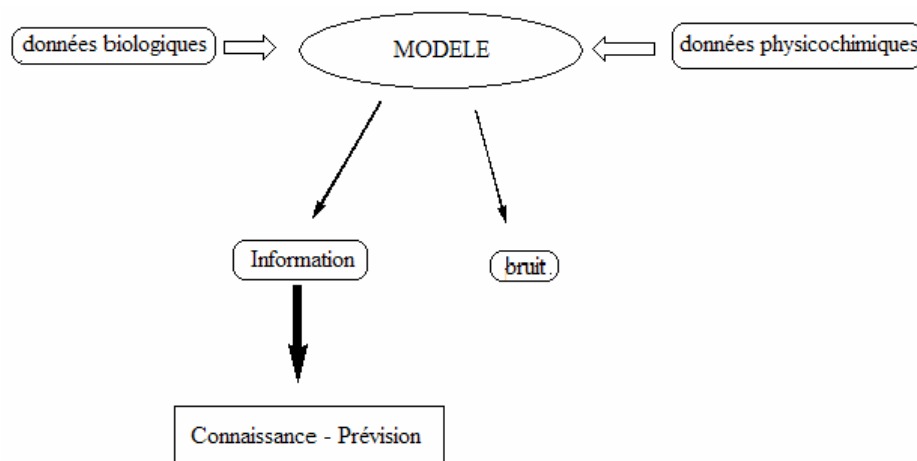


Figure 37 : Etude de QSAR et son application

## II. OUTILS ET TECHNIQUES DE QSAR

### II.1 Paramètres biologiques

Les données biologiques sont habituellement exprimées sur une échelle logarithmique en raison de la relation linéaire entre la réponse et le logarithme de dose dans la région centrale de la courbe de log dose-réponse. Les logarithmes inverses de l'activité ( $\log 1/C$ ) sont également utilisées pour obtenir des valeurs mathématiques plus élevées lorsque les structures sont biologiquement très efficaces. Des exemples de données biochimiques ou biologiques, utilisés dans l'analyse de QSAR, sont décrits dans le tableau 11 [145]

Tableau 11 : Types de données biologiques utilisées dans l'analyse QSAR

Source d'activité	Paramètres biologiques
<b>1. Récepteurs isolés</b>	
Constante de vitesse	$\text{Log } k$
Constante de Michaelis-Menten	$\text{Log } I/K_m$
Constante d'inhibition	$\text{Log } I/K_i$
<b>2. Systèmes cellulaires</b>	
Constante d'inhibition	$\text{Log } I/IC_{50}$
Résistance croisée	$\text{Log } CR$
Données biologiques <i>in vitro</i>	$\text{Log } I/C$
Mutation de gène	$\text{Log } TA_{98}$
<b>3. Systèmes <i>in vivo</i></b>	
Facteur de bioconcentration	$\text{Log } BCF$
Vitesses de la réaction <i>in vivo</i>	$\text{Log } I$ (induction)
Vitesses pharmacodynamiques	$\text{Log } T$ (clairance totale)

### II.2 Propriétés moléculaires et leurs paramètres

Quelques paramètres descriptifs de molécules sont énumérés dans le tableau 3.

Tableau 12 : Paramètres physico-chimiques et intrinsèques

Propriété moléculaire	Interaction correspondante	Paramètres
Lipophilie	interactions hydrophobes	Log P, $\chi$ , $\pi$ , f, $R_M$
Polarisabilité	interactions de van-der-Waals	MR, MV
Densité électronique	liaisons ioniques, hydrogène, interactions dipole-dipole, liaisons, transfert de charge.	$\sigma$ , R, F
Topologie	interaction stérique	$E_s$ , $r_v$ , distances, volumes.

Log P : coefficient de partition

$\pi$  : constant de Hansch (constant de substitut lipoïdique)

f : constante de fragment hydrophobe

MR : réfraction moléculaire

MV : volume moléculaire

$\sigma$  : constante de Hammett

F, R : paramètres de champ et de résonance

$E_s$  : constante de Taft (aspect stérique)

$r_v$  : rayon moyen (rayons de Van-der-Waals de substituants symétriques)

### II.3 Descripteurs moléculaires

Un descripteur moléculaire peut être considéré comme la conséquence d'un processus logique et mathématique, appliqué à l'information chimique codifiée à travers la représentation d'une molécule [146]



L'information codée d'un descripteur moléculaire dépend du type de représentation moléculaire employée et de l'algorithme défini pour son calcul. Il existe :

- des descripteurs moléculaires simples dérivés du nombre d'atome-type ou de fragments structuraux de la molécule,
- des algorithmes appliqués à une représentation topologique (graphique moléculaire) et habituellement appelés topologique ou descripteurs 2D,
- des descripteurs moléculaires dérivés d'une représentation géométrique, qui s'appellent géométriques ou descripteurs 3D.

Par exemple, le programme appelé DRAGON met en jeu différents groupes de descripteurs : autocorrélations 2D, descripteurs géométriques, descripteurs de RDF, descripteurs de 3D-MoRSE, Weighted Holistic Invariant Molecular (WHIM), GETAWAY (GEometry, Topology, and Atom-Weights Assembly) ... [147]

## II.4 Les techniques de QSAR

Certain projet de recherche mettent en jeu des données biologiques et physico-chimiques appropriées. Ces données peuvent être représentées et analysées de diverses manières.

Le groupement et la classification des composés, basés sur leurs propriétés, sont les éléments principaux lors d'études de similarité moléculaire. Les études de régression ou de corrélation entre les données biologiques et chimiques sont généralement utiles pour rationaliser les relations structure-activité. Deux types principaux d'études peuvent être définis:

- (1) par corrélation entre les données biologiques et physicochimiques en utilisant les techniques de régression,
- (2) par classification des composés ou méthodes d'identification de modèle.

Ces deux types d'études sont nommées analyse de données statistiques multivariées, ou étude de QSAR [144]

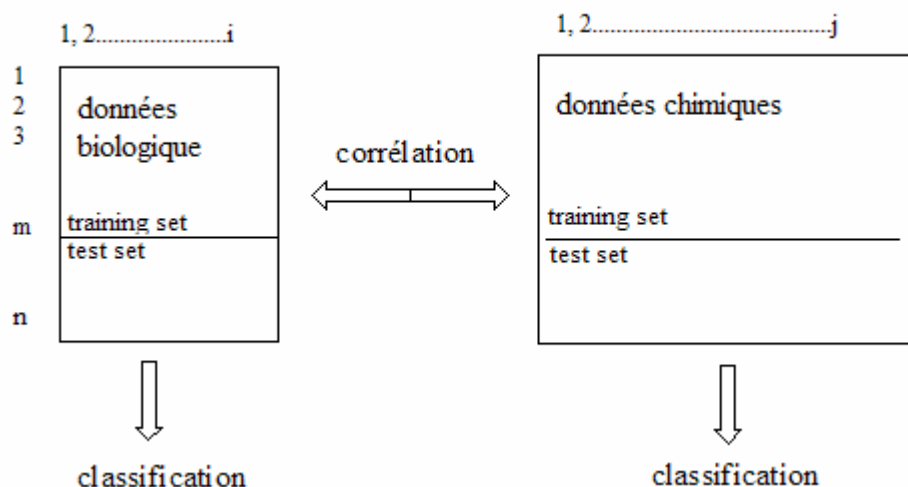


Figure 38 : L'analyse de données multivariées.

### III. Relation structure activité quantitative

Les équations QSAR prennent la forme générale suivante :

$$\text{Activité biologique} = \text{fonction} \{ \text{paramètre(s)} \}$$

Dans l'équation, l'activité biologique est normalement exprimée comme  $\log[1/(\text{symbole de concentration})]$ , où C est généralement la concentration minimum requise pour causer une réponse biologique définie [148].

La relation mathématique entre un paramètre ou plusieurs paramètres physico-chimiques et l'activité biologique d'un composé peut être exprimée à travers l'équation de Hansch :

$$\text{Log } 1/C = - K_1(\log P)^2 + K_2 \log P + K_3 \sigma + K_4 E_s + K_5$$

Cette équation est obtenue par analyse de régression. La valeur du coefficient  $r$  obtenue après cette analyse donne des informations sur la concordance des paramètres qui sont utilisés pour former l'équation de Hansch. Si le résultat obtenu pour  $r$  est  $\geq 0,9$ , cela signifie que les paramètres utilisés sont valides et que l'équation peut être exploitée pour le reste des composés dans un 'training set' (ou ensemble de molécules).

L'équation de Hansch est utilisée pour prévoir l'activité biologique de composés dont la structure est semblable à ceux utilisés pour former cette équation. Cependant, dans le cas où la valeur prévue est différente de celle déterminée par l'expérimentation, cela peut signifier que l'activité biologique réelle des composés n'est pas prise en compte par les paramètres mis en jeu dans le processus de construction de l'équation.

L'équation de Hansch peut être également utilisée pour montrer le degré d'importance de différents paramètres sur l'activité biologique [149].

#### **IV. 2D QSAR**

Les analyses de 2D QSAR classiques (analyses de Hansch et Free Wilson) considèrent uniquement les structures en deux dimensions (2D).

Les données utilisées pour former l'équation de QSAR sont représentées par un ensemble de matrice de chiffres dans lesquelles chaque ligne représente un composé et chaque colonne des propriétés physicochimiques (descripteurs). Dans le 2D-QSAR, il existe de nombreux descripteurs. Ceux qui sont le plus souvent utilisés sont des constantes  $\pi$ ,  $\sigma$ , MR,  $E_s$ ... . Un nombre important de valeur de constantes est collecté et un processus d'analyse statistique les exploitera pour trouver la relation entre les données biologiques et les descripteurs moléculaires [150].

Pour éviter que ces relations ne soient statistiquement non significative ou en cas d'erreur ponctuelle, il faut appliquer la démarche suivante :

- le rapport composés/descripteurs doit être supérieur à 5,

- les descripteurs ne doivent pas corrélérer entre eux. Le degré d'intercorrélacion est évalué par le coefficient de corrélation  $r$ . Si  $r \geq 0.97$ , les descripteurs sont considérés comme fortement corrélés [151] et en pratique, ils seront alors enlevés dans le procédé de sélection.

De plus, la méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS) peut être utilisée pour résoudre ces problèmes [144].

## V. 3D QSAR

Les relations structure activité quantitatives en trois dimensions (3D QSAR) sont des modèles qui établissent une relation entre une activité biologique et les paramètres structuraux (descripteurs moléculaires) calculés dans l'espace tridimensionnel pour un groupe de molécule.

Les modèles CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis) et CoMSIA (Comparative Molecular Similarity Indices Analysis) sont utilisés couramment pour étudier la relation quantitative de structure-activité au niveau tridimensionnel [152] [153].

Dans ces méthodes, les propriétés des molécules sont décrites par différents champs. Par exemple :

- la surface moléculaire, accessible au solvant, de Connolly ou surface de contact,
- le potentiel électrostatique (position des groupements chargés),
- participation à des liaisons hydrogènes,
- le potentiel de lipophilie moléculaire,
- les orbitales moléculaires,
- la forme de la molécule.

Les principes des modèles reposent sur l'utilisation de réseau maillé (figure 41).

## VI. PRINCIPES D'UNE GENERATION DE MODELE QSAR EN 2D ET QSAR EN 3D

Les étapes fondamentales dans modèle QSAR en 2D et 3D sont les suivantes [154] (Figure 42):

- Choisir au hasard un groupe de molécules type 'training set' (construction de l'équation) et 'test set' (validation de l'équation).
- Construire les structures 3D de toutes les molécules du 'data set' (= training + test). (3D/QSAR).

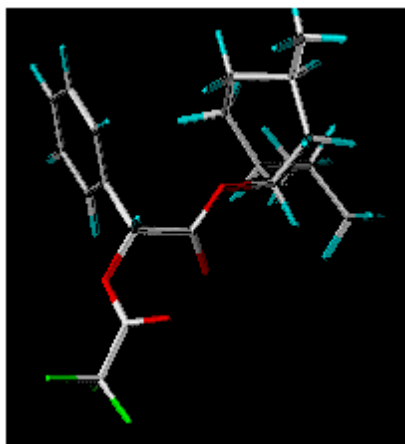


Figure 39 : Structure 3D

- Etablir les règles d'orientation pour la superposition des molécules (3D/QSAR).
- Aligner les molécules selon leur pharmacophore et leurs propriétés de surface, à l'aide de programme informatique (ex : programme SEAL) (3D/QSAR).

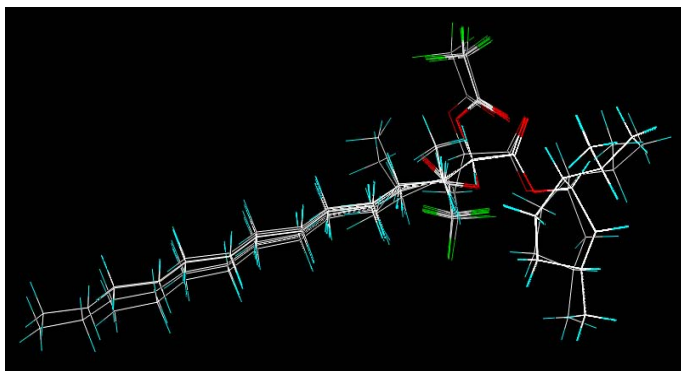


Figure 40 : Alignement de pharmacophores

- Insérer les molécules dans un système de référence en 3D (réseau maillé ou « box and grid»), comprenant un espace suffisamment large autour des molécules. (3D/QSAR).

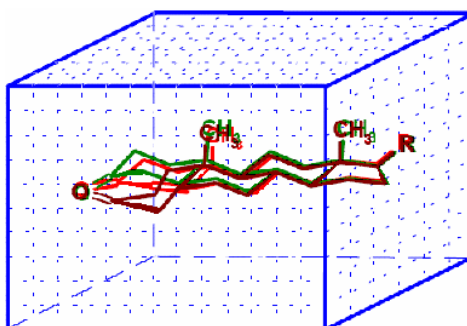


Figure 41 : Réseau maillé

- Calculer les champs de propriété pour chaque molécule, dans chaque point de grille, en utilisant l'atome de sonde ou les groupes de sonde. Les effets stériques et électrostatiques sont le plus souvent traités séparément (ex : CoMFA), de plus, les effets hydrophobes et les propriétés donneur ou accepteur de liaisons hydrogène peuvent être aussi considérées (ex : CoMSIA). (3D/QSAR).

- Exécuter l'analyse par la méthode de régression des moindres carrés partiels en utilisant un nombre optimum de variables latentes (vecteurs) pour corrélérer des activités biologiques.
- Vérifier la prédiction interne du modèle de PLS par une élimination par étapes des objets (crossvalidation) ; au besoin, répéter ces étapes.
- Prédire les activités biologiques des molécules du 'test set'

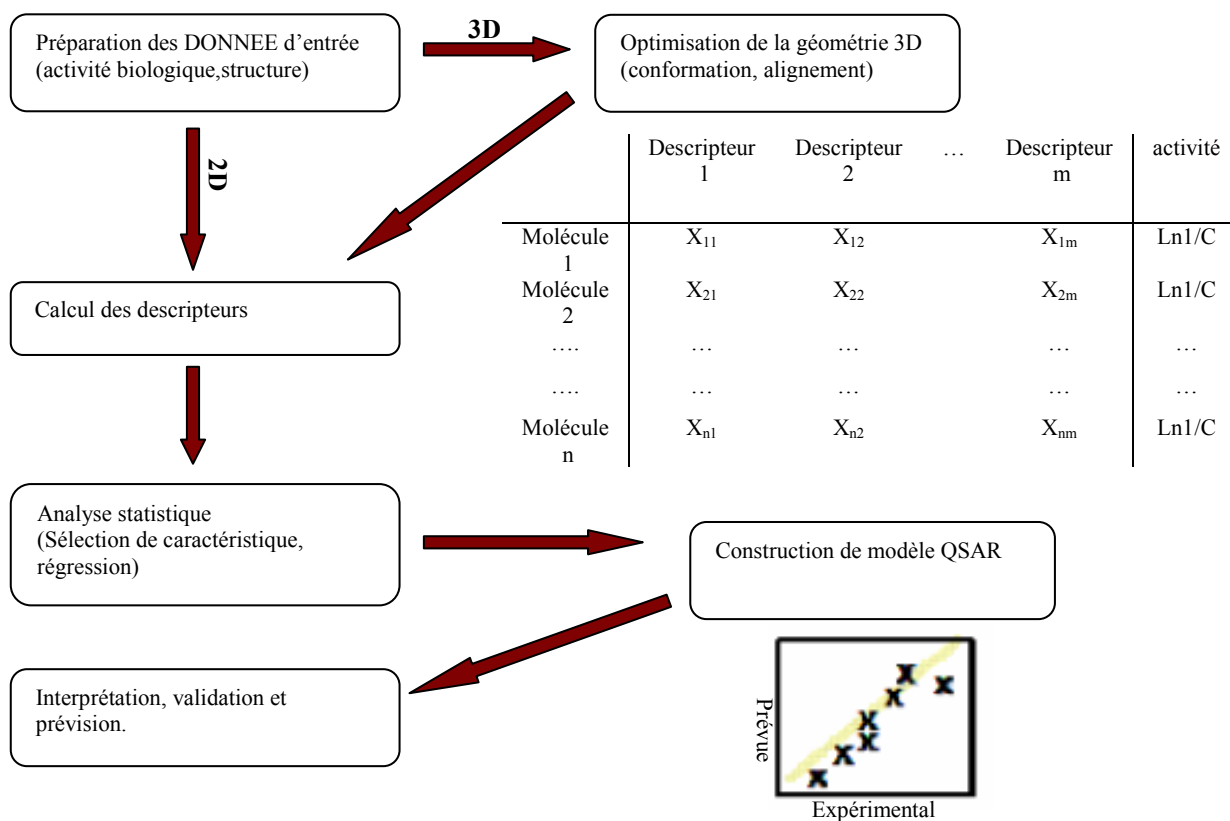


Figure 42 : Principes d'une génération de modèle QSAR en 2D et 3D

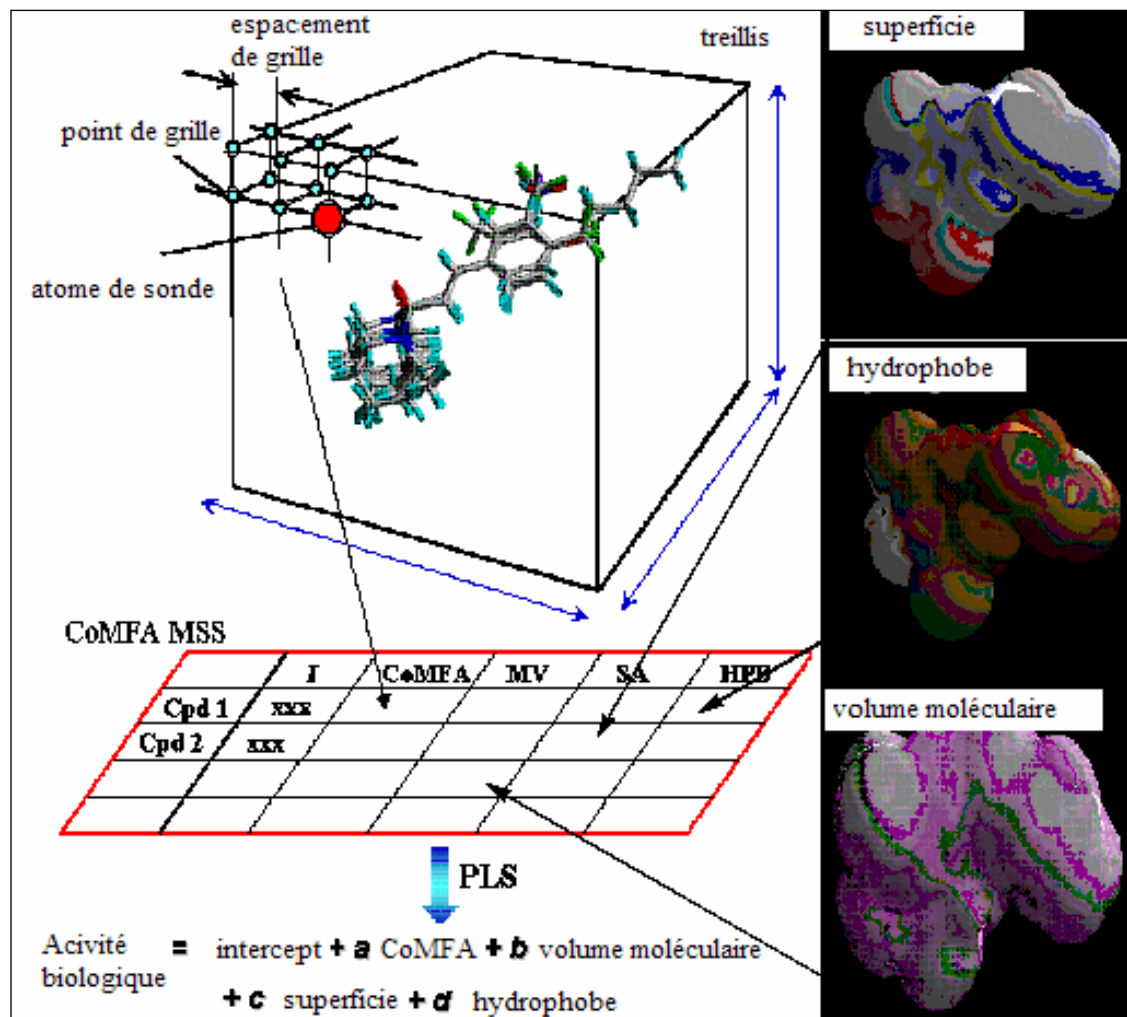


Figure 43 : 3D QSAR/CoMFA ou CoMSIA



## ETUDE DE 2D/QSAR EN SERIE ANALOGUES DE BZPs

### I. DONNEES EXPERIMENTALES

Les travaux de LaVoie et coll. ont permis de rassembler les données d'activité cytotoxique *in vitro* (IC<sub>50</sub>) de 88 analogues de benzo[*c*]phénanthridine en série 11,12-dihydrobenzo[*i*]phénanthridine, dibenzo[*c,h*]cinnoline, 12-diazachrysen-6-one et 5,6,11-triazachrysen-12-one et 6H-dibenzo[*c,h*][2,6]naphthyridin-5-one [34] [73] [82] [90-95] [101] [134] [156] [157].

L'évaluation biologique de la cytotoxicité de ces structures sur la lignée cellulaire humaine de lymphoblaste RPMI 8402, en utilisant la technique MTT (Microtiter plate Tetrazolium), a permis d'obtenir des valeurs de IC<sub>50</sub>.

Les résultats biologiques de ces 88 analogues benzo[*c*]phénanthridiniques sont exploités par la méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS = Partial Least Squares). Les composés sont alors répartis au hasard en deux séries appelées 'training set' (76 composés) et 'test set' (12 composés) dans le but d'établir l'équation de QSAR 2D et pour sa validation (tableaux 16 et 17).

### II. METHODES INFORMATIQUES

Le logiciel de MOE (Molecular Operating Environment, version 2007.06) est utilisé dans cette étude.

#### II.1. Descripteurs moléculaires

Les calculs sont d'abord réalisés sur un ensemble de 184 descripteurs 2D différents pour tous les composés (« training set »).

Les descripteurs moléculaires 2D sont définis comme étant des propriétés numériques qui peuvent être calculées à partir de la table de connexion de représentation d'une molécule comprenant :

- propriétés physiques (14 descripteurs),
- superficies de surface subdivisées (18 descripteurs),
- calcul du nombre d'atome et leurs liens (41 descripteurs),
- indices de connectivité de Kier&Hall et de forme de Kappa (16 descripteurs),
- descripteurs de matrice distants et adjacents (33 descripteurs),
- descripteurs de caractéristiques de pharmacophore (12 descripteurs),
- descripteurs de charge partielle (50 descripteurs).

Les informations sur les descripteurs moléculaires 2D peuvent être trouvées dans la partie annexe ou sur <http://www.chemcomp.com> [155].

## II.2. Sélection des descripteurs

L'application 'QSAR-Contingency' du programme MOE est mis en œuvre pour déterminer à partir des 184 descripteurs de départ, un nombre de descripteurs moindre mais bien corrélés avec l'activité biologique.

A partir de l'ensemble des matrices de corrélation obtenues, seuls les descripteurs qui possèdent une valeur  $r > 0,95$  entre eux, sont considérés comme trop intercorrélés et devront donc être éliminés.

Les tableaux 13 et 14 montrent les 10 descripteurs retenus pour construire le modèle de QSAR.

Tableau 13 : Descripteurs moléculaires 2D utilisés pour construire le modèle de QSAR

Propriété	Nom	Description
Descripteurs de matrice distants et adjacents	BCUT_SMR_0	Les descripteurs de BCUT en utilisant la contribution atomique à la réfringence molaire
Nombre d'atome et nombre de lien	a_count	Nombre d'atomes (hydrogènes implicites y compris).
	b_1rotR	La fraction des liens simples rotatifs
	a_nC	Nombre d'atomes de carbone
Descripteurs de charge partielle	PEOE_PC+	Charge partielle positive totale
	PEOE_RPC-Q_RPC-	Charge partielle négative relative
	Q_VSA_FPPOS	Superficie polaire positive fractionnaire de van der Waals.
	Q_VSA_PPOS	Superficie polaire positive totale de Van der Waals.
Descripteurs de caractéristique de pharmacophore	vsa_acc	Approximation à la somme de superficies de VDW des accepteurs purs de lien d'hydrogène.

Tableau 14 : Matrice de corrélation des 10 descripteurs moléculaires appropriés impliqués dans le modèle QSAR (valeurs de r)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1. LogIC <sub>50</sub>	100	70	-67	-57	-51	-77	-63	81	-65	-73	29
2. BCUT_SMR_0	70	100	-80	-62	-62	-78	-54	86	-62	-77	19
3. a_count	-67	-80	100	81	94	89	48	-88	58	84	-37
4. b_1rotR	-57	-62	81	100	69	73	46	-74	63	80	-30
5. a_nC	-51	-62	94	69	100	78	33	-74	34	65	-38
6. PEOE_PC+	-77	-78	89	73	78	100	57	-93	70	86	-47
7. vsa_acc	-63	-54	48	46	33	57	100	-60	54	58	-43
8. PEOE_RPC-	81	86	-88	-74	-74	-93	-60	100	-68	-84	35
9. Q_VSA_FPPOS	-65	-62	58	63	34	70	54	-68	100	92	-18
10. Q_VSA_PPOS	-73	-77	84	80	65	86	58	-84	92	100	-29
11. Q_RPC-	29	19	-37	-30	-38	-47	-43	35	-18	-29	100

### II.3. Analyse de régression des moindres carrés partiels (PLS = Partial Least Squares) et construction d'équation de QSAR

C'est la méthode d'analyse qui est utilisée généralement dans la technique de régression linéaire. La qualité des modèles est évaluée sur la base du coefficient de corrélation  $r^2$ , du coefficient de corrélation d'évaluation croisé  $q^2$  (LOO = LeaveOneOut), et de l'erreur de RMS (Root Mean Square).

L'analyse de PLS est identique pour les 'training set' et 'test set'. Les 76 composés du 'training set' et l'ensemble de 10 descripteurs 2D sélectionnés sont utilisés pour construire les modèles de PLS.

Pour simplifier l'analyse du training set, il est possible d'utiliser une méthode de simplification. Cette méthode est appelée Analyse en Composante Principale ou Principal Components Analysis (PCA). Elle consiste à réduire la dimensionnalité tout en conservant le plus d'information possible. Cette analyse est réalisée avec un seuil de PCA  $\leq 6$  et donne les résultats suivants :

- La valeur de  $r^2$  pour le 'training set' est de 0,78 et la valeur  $q^2$  de 0,68 pour la validation croisée (LOO).
- L'analyse montre une erreur de RMS de 0,51 log unité ( $\mu\text{M}$ ) et de 0,66 log unité ( $\mu\text{M}$ ) pour l'analyse non croisée évaluée et croisée (LOO).
- La valeur de  $r^2$  pour le 'test set' est de 0,76 avec une erreur de RMS de 0,55,
- Cette analyse permet de construire l'équation de QSAR\*, les 10 descripteurs ainsi que leurs coefficients sont présentés dans le tableau 15.
- Les valeurs expérimentales et prédictives de  $\log\text{IC}_{50}$  à partir du modèle QSAR des 'training set' et 'test set' sont indiquées dans les tableaux 16 et 17.
- Les tracés de  $\log\text{IC}_{50}$  calculé et observé sont indiqués dans la figure 44.

(\*) Equation de QSAR en 2 dimensions :

$$\begin{aligned} \text{LogIC}_{50} = & -1.780 \cdot \text{BCUT\_SMR\_0} - 0.220 \cdot \text{a\_count} + 4.997 \cdot \text{b\_1rotR} \\ & + 0.377 \cdot \text{a\_nC} - 0.043 \cdot \text{vsa\_acc} + 0.020 \cdot \text{Q\_VSA\_PPOS} \\ & + 4.854 \cdot \text{PEOE\_RPC} - 5.017 \cdot \text{Q\_VSA\_FPPOS} - 1.404 \cdot \text{PEOE\_PC} \\ & - 7.070 \cdot \text{Q\_RPC} + 0.987 \end{aligned}$$

avec  $n=76$ ,  $r^2 = 0.78$ ,  $\text{RMSe} = 0.51$ ,  $q^2(\text{LOO}) = 0.68$ ,  $\text{RMSe}(\text{LOO}) = 0.67$

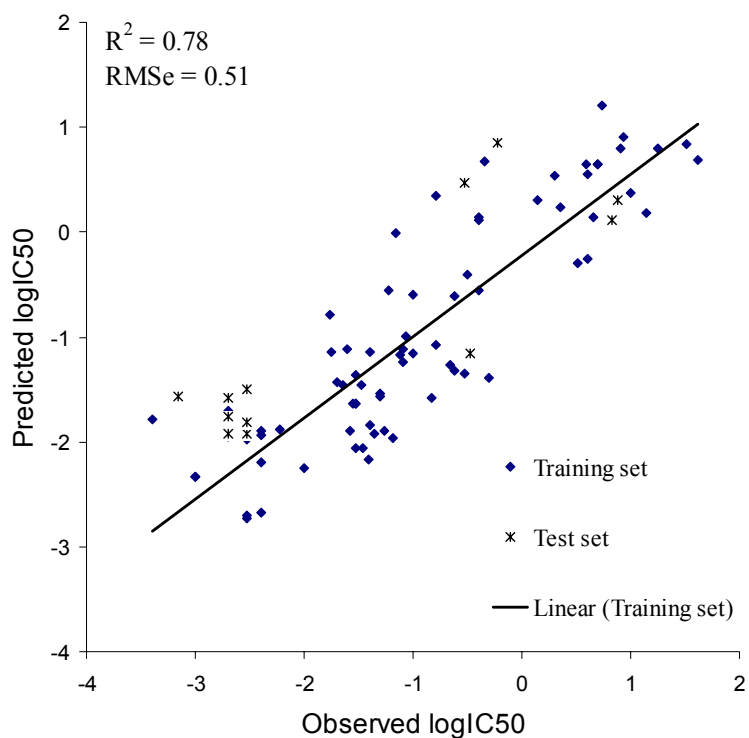


Figure 44 : Corrélation entre les  $\text{logIC}_{50}$  calculés et observés pour le modèle défini dans les tableaux 16 et 17

Tableau 15 : Descripteurs sélectionnés, leurs coefficients et valeurs moyennes

Description des descripteurs	Nom	Coefficient	Valeur moyenne
Contribution atomique à la réfringence molaire au lieu de la charge partielle	BCUT_SMR_0	- 1.780	- 2,2555
Nombre d'atomes	a_count	- 0.220	50,9342
Nombre de liaisons simples en rotation	b_1rotR	4.497	0,1237
Nombre d'atomes de carbone	a_Nc	0.377	22,75
Charge partielle positive totale	PEOE_PC+	- 1.404	2,2716
Charge partielle négative relative	PEOE_RPC-	4.854	- 2,2584
Charge partielle négative relative	Q_RPC-	- 7.070	0,1757
Surface polaire positive de van der Waals (VDW) fractionnaire	Q_VSA_FPPOS	- 5.017	0,3232
Superficie polaire positive de VDW totale	Q_VSA_PPOS	0.020	123,723
Approximation à la somme de Superficie de VDW des accepteurs purs de lien d'hydrogène	vsa_acc	- 0.043	26,4161
Linearité		0.987	

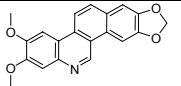
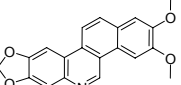
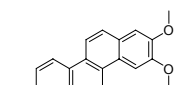
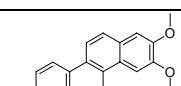
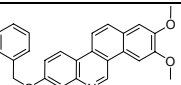
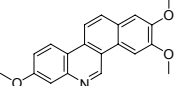
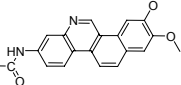
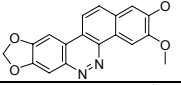
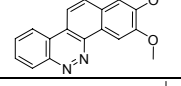
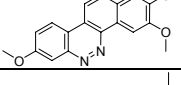
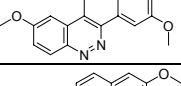
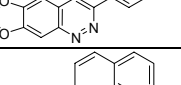
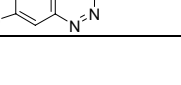
**Résultat du «training set»**

n= 76,  $r^2 = 0.78$ , RMSe = 0.51,  $q^2(\text{LOO}) = 0.68$ , RMSe (LOO) = 0.67

**Validation (« test set »)**

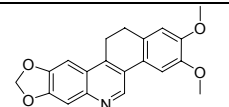
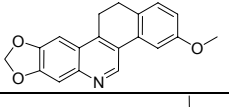
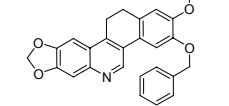
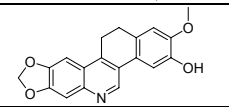
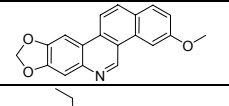
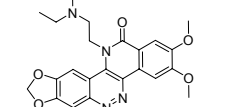
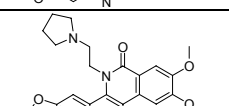
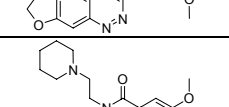
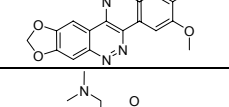
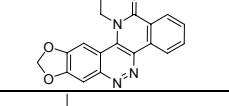
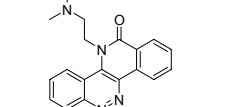
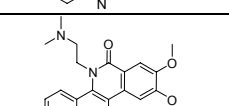
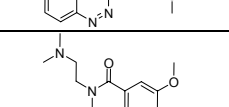
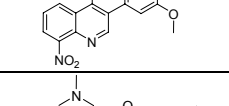
n= 12,  $r^2 = 0.76$ , RMSe = 0.55

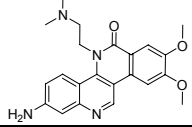
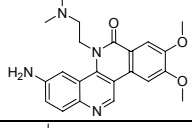
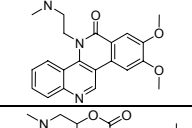
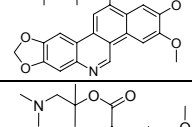
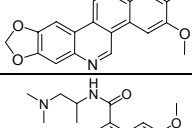
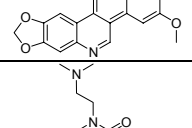
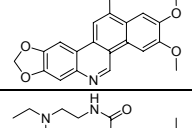
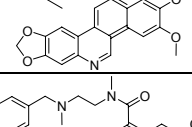
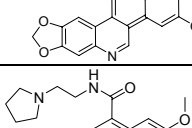
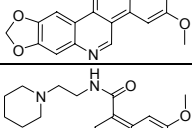
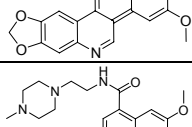
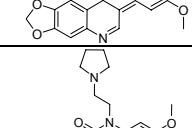
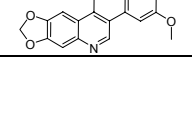
Tableau 16 : Ensemble de données des 76 composés du « training set » avec leurs valeurs de cytotoxicité IC<sub>50</sub> (μM) expérimentales, calculées et leur différence

No	Structure chimique	Nom	IC <sub>50</sub>	LogIC <sub>50</sub>	Cal. logIC <sub>50</sub>	Δ	Ref.
1		BMC_03_0521_02	4.5	0.653	0.142	0.511	[90]
2		BMC_03_0521_7a	0.4	-0.398	0.146	-0.544	[90]
3		BMC_03_0521_7b	2.3000	0.362	0.238	0.123	[90]
4		BMC_03_0521_7c	8.0000	0.903	0.797	0.106	[90]
5		BMC_03_0521_7e	8.5000	0.929	0.911	0.018	[90]
6		BMC_03_0521_7f	3.9000	0.591	0.649	-0.058	[90]
7		BMC_03_0521_7h	4.0	0.602	-0.257	0.859	[90]
8		BMC_03_1475_04	0.07	-1.155	-0.010	-1.145	[93]
9		BMC_03_1475_05	5.5	0.740	1.204	-0.464	[93]
10		BMC_03_1475_07	2.0	0.301	0.543	-0.242	[93]
11		BMC_03_1475_08	4.0	0.602	0.546	0.056	[93]
12		BMC_03_1475_11	41.0	1.613	0.682	0.931	[93]
13		BMC_03_1475_12	0.45	-0.347	0.676	-1.023	[93]



14		BMC_03_1475_14	10.0	1.000	0.377	0.623	[93]
15		BMC_03_1475_15 <b>32</b>	0.32	-0.495	-0.410	-0.085	[93]
16		BMC_03_1809_05a	14.0	1.146	0.179	0.967	[82]
17		BMC_03_1809_06	5.0	0.699	0.640	0.059	[82]
18		BMC_03_1809_07	5.0	0.699	0.640	0.059	[82]
19		BMC_03_2061_03c	0.003	-2.523	-1.977	-0.546	[134]
20		BMC_03_2061_03e <b>33a</b>	0.03	-1.523	-1.634	0.111	[134]
21		BMC_03_2061_03f	0.08	-1.097	-1.238	0.141	[134]
22		BMC_03_2061_03h <b>33b</b>	0.02	-1.699	-1.433	-0.266	[134]
23		BMC_03_2061_03i	0.026	-1.585	-1.900	0.315	[134]
24		BMC_03_2061_03k	0.044	-1.357	-1.917	0.560	[134]
25		BMC_03_2061_04a	0.017	-1.770	-0.794	-0.975	[134]
26		BMC_03_2061_04b	0.16	-0.796	-1.075	0.279	[134]
27		BMC_03_2061_09k	0.039	-1.409	-2.172	0.763	[134]

28		BMC_03_3795_10a	0.4	-0.398	0.114	-0.512	[91]
29		BMC_03_3795_10c	33.0	1.519	0.844	0.674	[91]
30		BMC_03_3795_10d	0.16	-0.796	0.352	-1.148	[91]
31		BMC_03_3795_10f	1.4	0.146	0.300	-0.154	[91]
32		BMC_03_3795_12c	18.0	1.255	0.803	0.453	[91]
33		BMC_04_0795_01b	0.004	-2.398	-2.675	0.277	[156]
34		BMC_04_0795_01f	0.003	-2.523	-2.723	0.2	[156]
35		BMC_04_0795_01g	0.003	-2.523	-2.702	0.179	[156]
36		BMC_04_0795_02	0.24	-0.620	-1.321	0.701	[150]
37		BMC_04_0795_03	3.3	0.519	-0.301	0.819	[156]
38		BMC_04_0795_04	0.3	-0.523	-1.355	0.832	[156]
39		BMC_04_3731_03a	0.22	-0.658	-1.260	0.602	[157]
40		BMC_04_3731_03b	0.075	-1.125	-1.170	0.045	[157]
41		BMC_04_3731_03c	0.018	-1.745	-1.145	-0.600	[157]

42		BMC_04_3731_04b <b>33d</b>	0.1	-1.000	-1.151	0.151	[157]
43		BMC_04_3731_04c	0.04	-1.398	-1.149	-0.249	[157]
44		BMC_04_3731_05	0.1	-1.000	-0.598	-0.402	[157]
45		BMC_05_6782_07c <b>28c</b>	0.03	-1.523	-1.634	0.111	[92]
46		BMC_05_6782_07d	0.04	-1.398	-1.839	0.441	[92]
47		BMC_05_6782_09b	0.0004	-3.398	-1.787	-1.611	[92]
48		BMC_05_6782_09d	0.5	-0.301	-1.394	1.093	[92]
49		BMC_05_6782_09e	0.006	-2.222	-1.888	-0.334	[92]
50		BMC_05_6782_09f	0.034	-1.469	-1.459	-0.010	[92]
51		BMC_05_6782_09h	0.003	-2.523	-1.915	-0.608	[92]
52		BMC_05_6782_09i	0.055	-1.260	-1.898	0.639	[92]
53		BMC_05_6782_09j	0.065	-1.187	-1.958	0.771	[92]
54		BMC_06_3131_10d	0.003	-2.523	-1.959	-0.564	[101]

55		BMC_06_3131_10f	0.004	-2.398	-2.196	-0.202	[101]
56		BMC_06_3131_10g	0.035	-1.456	-2.062	0.606	[101]
57		BMC_06_3131_10i	0.03	-1.523	-2.058	0.535	[101]
58		BMC_06_3131_10j	0.05	-1.301	-1.536	0.235	[101]
59		BMC_06_3131_10k	0.023	-1.638	-1.456	-0.182	[101]
60		BMC_06_3131_10m	0.002	-2.699	-1.708	-0.991	[101]
61		BMCL_02_3333_03c	0.15	-0.824	-1.576	0.752	[94]
62		BMCL_02_3333_04a	0.001	-3.000	-2.331	-0.669	[94]
63		BMCL_02_3333_04c	0.01	-2.000	-2.247	0.247	[94]
64		BMCL_02_3333_04d	0.004	-2.398	-1.896	-0.502	[94]
65		BMCL_04_5585_07	0.085	-1.071	-0.991	-0.080	[95]

66		BMCL_04_5585_09a	0.03	-1.523	-1.357	-0.166	[95]
67		BMCL_04_5585_10b	0.05	-1.301	-1.563	0.261	[95]
68		BMCL_04_5585_15d	0.002	-2.699	-1.944	-0.755	[95]
69		JMC_03_2254_02	0.001	-3.000	-2.331	-0.669	[34]
70		JMC_03_2254_03	0.06	-1.222	-0.556	-0.666	[34]
71		JMC_03_2254_05b	0.025	-1.602	-1.118	-0.484	[34]
72		JMC_03_2254_06b	0.08	-1.097	-1.121	0.024	[34]
73		JMC_03_2254_16a	0.24	-0.620	-0.616	-0.003	[34]
74		LDDD_04_198_01	0.004	-2.398	-1.943	-0.455	[73]
75		LDDD_04_198_03	0.028	-1.553	-1.634	0.081	[73]
76		Nitidine	0.4	-0.398	-0.549	0.151	[90]

Tableau 17 : Ensemble de données des 12 composés du « test set » avec leurs valeurs de cytotoxicité IC<sub>50</sub> (μM) expérimentales, calculées et leur différence

No	Structure chimique	Nom	IC <sub>50</sub>	LogIC <sub>50</sub>	Cal. logIC <sub>50</sub>	Δ	Ref.
1		BMC_03_0521_01	6.8000	0.833	0.121	-0.712	[90]
2		BMC_03_3795_10b	0.6000	-0.222	0.846	1.068	[91]
3		BMC_03_3795_10e	7.6000	0.881	0.300	-0.581	[91]
4		BMC_03_3795_12d	0.3000	-0.523	0.474	0.997	[91]
5		BMC_05_6782_09c	0.0020	-2.699	-1.765	0.934	[92]
6		BMC_06_3131_10b	0.0030	-2.523	-1.818	0.705	[101]
7		BMC_06_3131_10l	0.0020	-2.699	-1.922	0.777	[101]
8		BMCL_02_3333_03a	0.0020	-2.699	-1.581	1.118	[94]
9		BMCL_04_5585_10a	0.0030	-2.523	-1.500	1.023	[95]
10		BMCL_04_5585_15a	0.0007	-3.155	-1.562	1.593	[95]
11		BMCL_04_5585_15c	0.0030	-2.523	-1.919	0.604	[95]
12		JMC_03_2254_04b	0.3400	-0.469	-1.160	-0.691	[34]

### **III. PREVISION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE**

En considérant le nombre des données obtenues, la diversité structurale des composés et les valeurs de  $r^2$  des «training set» et «test set», la prévision d'activité sur la lignée cellulaire RPMI8402 d'autres analogues du noyau benzo[c]phénanthridinique peut être envisagée (Tableau 18). Dans ce tableau sont rassemblés les valeurs d'activité biologique calculées concernant la lignée RPMI8402, de 16 molécules issues de synthèse totale.

Le «training set» ne contient que des molécules basiques ou sous forme amidique. En raison de l'absence de composés de type benzo[c]phénanthridinium, on peut considérer que notre modèle de QSAR peut induire une incertitude plus importante pour la prévision concernant ces analogues.

Tableau 18 : Valeurs IC<sub>50</sub> calculées sur la lignée cellulaire RPMI8402 sur la base de l'équation de QSAR

No	Structure chimique	Nom	logIC <sub>50</sub> calculé sur RPMI8402	IC <sub>50</sub> calculé (μM)	Hela S3 (μM)	L1210 (μM)	A-549 (μM)
1		<b><u>22</u></b>	- 0,1390	0,7261			
2		<b><u>23</u></b>	- 0,8072	0,1599			
3		<b><u>24</u></b>	- 0,8298	0,1480			
4		<b><u>36</u></b>	- 1,5251	0,0298			
5		<b><u>25</u></b>	- 0,6988	0,2001			
6		<b><u>26</u></b>	- 1,2779	0,0527			
7		<b><u>37</u></b>	- 0,7407	0,1818			
8		<b><u>38</u></b>	- 1,3940	0,0404			
9		<b><u>35</u></b>	0,7944	6,2294			
10		<b><u>34</u></b>	0,2039	1,5993			
11		<b><u>33</u></b>	- 0,0363	0,9199			
12		<b><u>39</u></b>	- 0,6450	0,2265			
13		<b>35</b>	0,8507	7,0909		7,1 [76]	
14		<b>37</b>	0,8311	6,7780		6,6 [76]	
15		NK109	- 0,9597	0,1097	0,32 [60]		
16		Ethoxidine	- 1,2469	0,0566			0,08 [7]



## IV. DISCUSSION

### IV.1 Sur les descripteurs sélectionnés dans l'équation de QSAR

Les descripteurs les plus représentatifs sont relatifs à la charge partielle des composés (sélection des valeurs absolues les plus élevées).

Il y a 5 descripteurs liés à la charge partielle (PEOE\_PC+, PEOE\_RPC-, Q\_RPC-, Q\_VSA\_FPPOS, Q\_VSA\_PPOS) (Tableau 15).

Pour les molécules du « training set », lorsque l'on considère les valeurs des coefficients (moyenne des valeurs des 76 composés), les valeurs des descripteurs et la cytotoxicité *in vitro*, on peut noter que la charge partielle négative (PEOE\_RPC- = 4,854 et -2,258; Q\_RPC- = -7,07 et 0,1757) présente une corrélation très significative avec le logIC<sub>50</sub>, correspondant donc à une activité biologique importante de la molécule (Tableau 15).

Les descripteurs a\_count et a\_nC qui prennent en compte l'accroissement du nombre d'atomes « lourds » d'une molécule (C, O, S et N) sont en faveur d'une augmentation de l'effet biologique (a\_count = - 0,22 et 50,9342; a\_nC = 0,377 et 22,75) (Tableau 15).

Selon ces valeurs, c'est le descripteur correspondant à l'augmentation du nombre d'atome lourd qui est plus important (a\_count) par rapport à celui de l'augmentation du nombre de carbone (a\_nC) selon les critères d'obtention de l'IC<sub>50</sub> la plus faible.

Le nombre d'atomes d'azote pourrait contribuer à l'augmentation de la charge partielle négative des molécules ainsi que celle du nombre d'atome « lourds ». Cela pourrait signifier que l'introduction d'atomes d'azote dans les structures apporte un effet favorable à l'activité cytotoxique.

Cependant, l'introduction d'un atome d'azote dans une structure fait varier de façon importante la valeur de pKa et conduit à l'augmentation de la polarité de molécule qui peut influencer la pénétration cellulaire de la molécule.

Ceci devra donc pris en compte pour l'optimisation de l'activité antitumorale de nos structures.

#### IV.2 Sur les relations structure-activité de nouvelles molécules

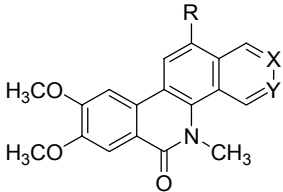
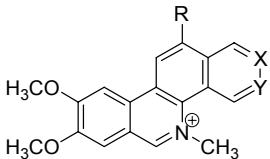
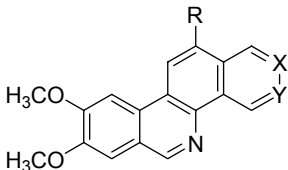
Sur la base de ces résultats (tableau 21), nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

- La plupart de nos composés « cible » possèdent des activités cytotoxiques intéressantes par comparaison aux molécules benzo[*i*]phénanthridine (ex : **28c**), dibenzo[*c,h*]cinnoline (ex : **32**), de diazachrysene (ex : **33a**, **33b**, **33c**, **33d**) et l'éthoxidine (**15**) ou le NK109(**13**) (Tableau 22).

- Globalement, pour les 3 séries structurales choisies dans notre travail (Tableau 21 : série I : lactame, série II : iminium, série III : base), les séries benzo[*c*][1,9]phénanthrolium et pyridazino[4,5-*c*]phénanthridinium (série II) possèdent de meilleures activités cytotoxiques calculée. Viennent ensuite, les séries benzo[*c*][1,9]phénanthrolin-6(*5H*)one et pyridazino[4,5-*c*]phénanthridin-6(*5H*)one (série I), et finalement celles des benzo[*c*][1,9]phénanthroline et pyridazino[4,5-*c*]phénanthridine (série III).

- Toutes les molécules possédant un groupement 12-éthoxy sont 4 à 5 fois plus puissantes que celles possédant un hydrogène sur cette position (série I : **22/23**, **24/36**; série II : **25/26**, **37/38**; série III : **35/34**, **33/39**).

Tableau 19 : IC<sub>50</sub> prévu (RPMI 8402) de nouveaux produits souhaités

Composé	Cycle A	Position 12	IC <sub>50</sub> prévu (μM) RPMI 8402
<b>Série I</b>			
			
X=H, Y=N, R=H <b><u>22</u></b>	N en position 3	H	0,7261
X=H, Y=N, R=OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <b><u>23</u></b>	N en position 3	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0,1559
X=N, Y=N, R=H <b><u>24</u></b>	N en position 2 et 3	H	0,1480
X=N, Y=N, R=OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <b><u>36</u></b>	N en position 2 et 3	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0,0298
<b>Série II</b>			
			
X=H, Y=N, R=H <b><u>25</u></b>	N en position 3	H	0,2001
X=H, Y=N, R=OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <b><u>26</u></b>	N en position 3	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0,0527
X=N, Y=N, R=H <b><u>37</u></b>	N en position 2 et 3	H	0,1818
X=N, Y=N, R=OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <b><u>38</u></b>	N en position 2 et 3	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0,0404
<b>Série III</b>			
			
X=H, Y=N, R=H <b><u>35</u></b>	N en position 3	H	6,2294
X=H, Y=N, R=OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <b><u>34</u></b>	N en position 3	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	1,5993
X=N, Y=N, R=H <b><u>33</u></b>	N en position 2 et 3	H	0,9199
X=N, Y=N, R=OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <b><u>39</u></b>	N en position 2 et 3	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0,2265

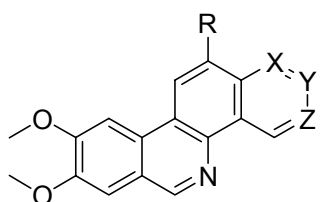
- L'introduction de deux atomes d'azote en position 2 et 3 dans le cycle A influence significativement la cytotoxicité des composés dans la série III (les valeurs calculées de IC<sub>50</sub> des dérivés **33** et **39** sont 6 à 7 fois plus basses que celles de dérivés **35** et **34**, respectivement), tandis que dans la série I, les valeurs calculées de IC<sub>50</sub> des dérivés **24** et **36** sont 5 fois plus basses que celles des dérivés **22** et **23**. De plus on peut noter qu'il n'y a peu d'influence sur les valeurs prévues des IC<sub>50</sub> des composés de type iminium de la série II (les valeurs prévues de IC<sub>50</sub> des dérivés **37** et **38** sont 1 à 1,5 fois plus basses que celles de dérivés **25** et **26**).

Tableau 20 : Comparaison de IC<sub>50</sub> prévu (μM) de nouvelles structures avec d'analogues étudiés

Composé	IC <sub>50</sub> prévu (μM) (RPMI 8402)	IC <sub>50</sub> <i>in vitro</i> (μM) (RPMI 8402)
<b>23</b>	0,1559	
<b>24</b>	0,1480	
<b>25</b>	0,2001	
<b>26</b>	0,0527	
<b>36</b>	0,0298	
<b>37</b>	0,1818	
<b>38</b>	0,0404	
<b>39</b>	0,2265	
<b>28c</b>	0,0232	0,03
<b>32</b>	0,3890	0,32
<b>33a</b>	0,0232	0,03
<b>33b</b>	0,0369	0,02
<b>33c</b>	0,0676	0,075
<b>33d</b>	0,0706	0,1
Ethoxidine	0,0566	
NK 109	0,1097	

D'autre part, nous avons utilisé l'équation QSAR pour obtenir les valeurs prédictives de  $IC_{50}$  (RPMI8402) des dérivés de benzo[c][1,7] et [1,8] phénanthrolines décrit par S. Prado et coll. (35, 37). Par comparaison avec les résultats obtenus de la série III, nous avons noté que les dérivés possédant un atome d'azote sur ces positions 1, 2, 3 dans le cycle A sont très semblables en ce qui concerne les valeurs d'activité cytotoxique et leur  $IC_{50}$  prédictif est plutôt haut.

Tableau 21 : Données de structure et  $IC_{50}$  prévu (RPMI 8402) de la série III et de 35, 37

Composé	Cycle A	Position 12	$IC_{50}$ prévu ( $\mu$ M) (RPMI 8410)
			
X=N, Y=Z=H, R=H <b>35</b>	N en position 1	H	7,0909
X=H, Y=N, Z=H, R=H <b>37</b>	N en position 2	H	6,7780
X=Y=H, Z=N, R=H <b>35</b>	N en position 3	H	6,2294
X=H Y=Z=N, R=H <b>33</b>	N en position 2 et 3	H	0,9199
X=Y=H, Z=N, R=OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <b>34</b>	N en position 3	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	1,5993
X=H, Y=Z=N, R=OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <b>39</b>	N en position 2 et 3	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0,2265

A partir des données du tableau 21, il apparaît que :

- L'introduction de deux atomes d'azote dans le cycle A diminue significativement l' $IC_{50}$  prévue.
- La modification de deux facteurs structuraux simultanément (introduction de deux atomes d'azote dans le cycle A et d'un groupement éthoxyle en position 12) est très intéressante en gain d'activité (dans la série III, elle est 27 fois plus

puissante (**39/35**) [dans la série I, 24 fois plus puissante (**36/22**) ; dans la série II, 5 fois plus puissante (**38/25**)].

Ainsi, l'analyse de 2D/QSAR des composés étudiés permet de tirer les conclusions suivantes :

- Les structures choisies pourraient posséder une activité cytotoxique importante qui dépendrait non seulement du groupement d'éthoxy en 12 mais également de la présence de deux atomes d'azote dans le cycle A.
- Les valeurs prédictives d'IC<sub>50</sub> des analogues du benzo[*c*]phénanthridine quaternaire (série II) sont les moins modifiées parmi les trois séries. L'hypothèse que le groupement iminium joue un rôle important dans l'activité biologique (contribution à l'affinité pour l'ADN) est confirmée par plusieurs laboratoires [85] [86]. Cependant, ce groupement étant chargé positivement (iminium), la pénétration intracellulaire peut être la raison de leur activité biologique *in vivo* moins importante.
- Parmi les nombreux analogues du noyau benzo[*c*]phénanthridinique rencontrés dans la littérature, les amides tétracycliques possèdent une bonne activité cytotoxique [34] [73] [92] [94] [95] [101] [134] [156] [157].
- Dans une étude récente de 3D-QSAR, prenant en compte 58 agents antitumoraux dérivés du noyau 3-arylisquinoléine, W.-J.Cho et coll. ont montré aussi que le groupement de carbonyle de l'amide d'isoquinoléin-1-one joue un rôle important dans la cytotoxicité [158] [159]. La fonction amide est également présente dans quelques inhibiteurs de topoisomérase I commerciaux comme le topotécan (Hycamtin<sup>®</sup>), l'irinotécan (Camptosar<sup>®</sup>) et dans l'ARC-111 (Topoval) [94].
- Nos résultats permettent d'avancer l'hypothèse que l'activité cytotoxique de la série I, en particulier l'IC<sub>50</sub> du 8,9-diméthoxy-12-éthoxy-5-méthylpyridazino[4,5-*c*]phénanthroline-6-(5*H*)-one **36**, pourrait faire que cette molécule devienne un nouvel objectif de synthèse.

# **CONCLUSION**

Afin de développer de nouveaux agents anticancéreux, nous avons souhaité synthétiser des analogues de l'éthoxidine et de la fagaronine en introduisant un ou deux atomes d'azote en position 2 et/ou 3 du squelette benzo[*c*]phénanthridine. Le groupement éthoxyle en position 12 pourra être soit conservé soit absent. Nous souhaitons également évaluer l'influence de la fonction iminium sur l'activité antitumorale de ces composés. C'est pourquoi nous avons envisagé la synthèse d'analogues non chargés de benzo[*c*]phénanthridines telles que l'éthoxidine et la fagaronine.

De nombreuses méthodologies ont été développées et décrites pour accéder à ces alcaloïdes tétracycliques. Dans un premier temps, afin d'introduire deux atomes d'azote en position 2 et 3, nous avons tenté d'appliquer la stratégie mise au point par Castedo et coll. [39]. Celle-ci consistait à réaliser une réaction de Diels-Alder entre le 5,6-dihydro-8,9-diméthoxy-5-méthyl-3,6-dioxo-3*H*-pyrano[2,3-*c*]isoquinoléin-2-ylcarboxylate d'éthyle **7** et l'anhydride maléique. Nous sommes parvenus à synthétiser le composé **7**, avec malgré tous nos efforts des rendements inférieurs à ceux rapportés. Par la suite, malgré nos efforts, les conditions opératoires pour effectuer la cycloaddition entre ce dérivé et l'anhydride maléique n'ont jamais pu être mises au point.

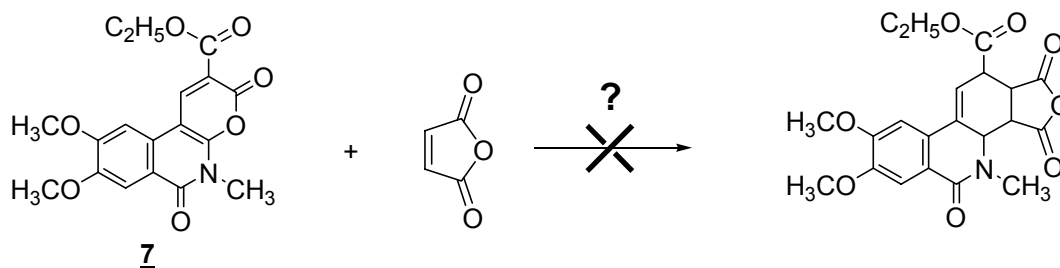


Schéma 78 : Réaction de Diels-Alder entre le diène  $\alpha$ -pyronique **7** et l'anhydride maléique

Afin d'atteindre nos objectifs de synthèse, nous avons envisagé une autre approche pour former ces nouveaux composés tétracycliques. L'étape clé résidait alors dans un couplage bi-aryle intramoléculaire réalisé dans les conditions de Heck en présence d'un complexe Pd<sup>0</sup>, d'un ligand de type phosphine et d'une base (Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). L'application de cette stratégie multiétapes en série isoquinoléine et phthalazine a ainsi permis la synthèse des



dérivés **22**, **23** et **24**, analogues de benzo[*c*]phénanthridin-6-ones. Les composés **22** et **23** ont également conduit aux analogues quaternaires de benzo[*c*]phénanthridines **25** et **26** après une séquence réduction-aromatisation avec un rendement global respectif de 11% et 8%.

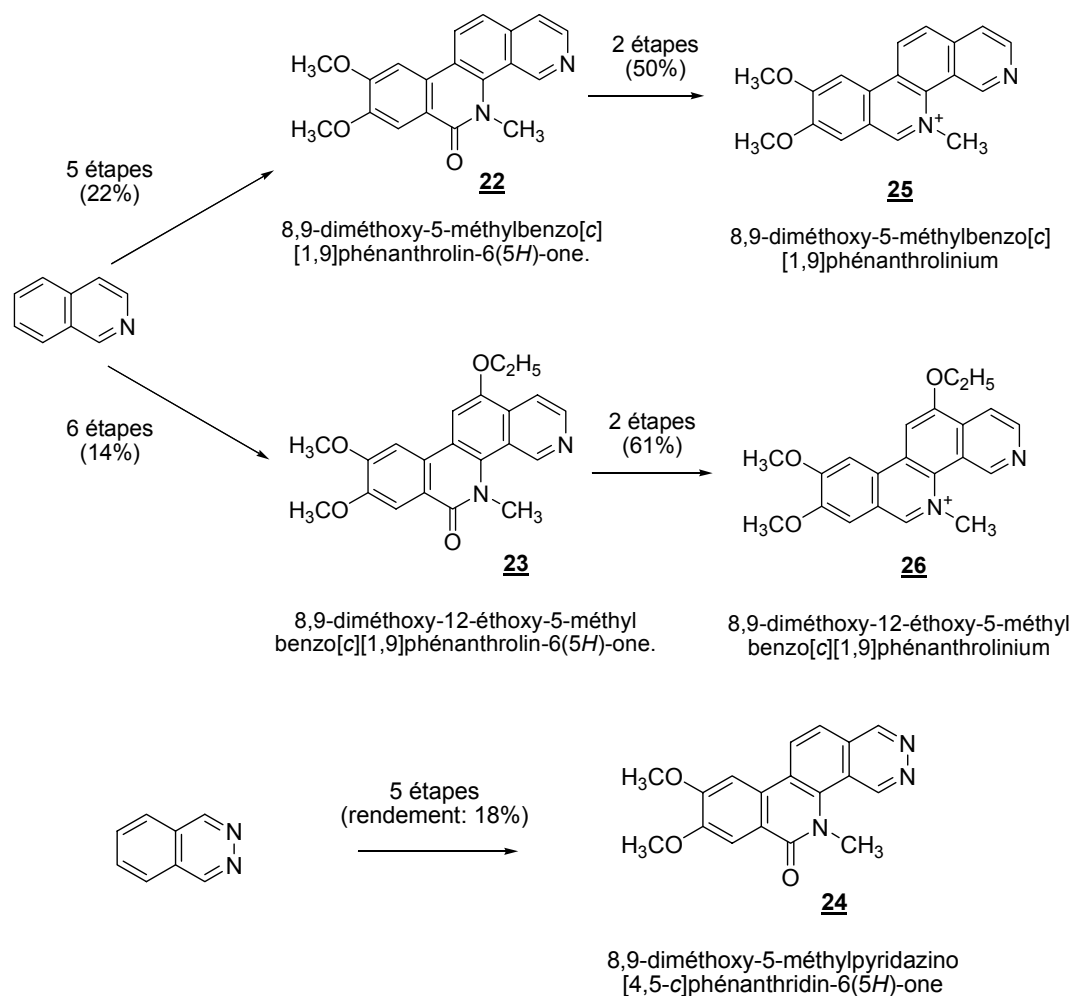


Schéma 79 : Nouveaux analogues du noyau benzo[*c*]phénanthridinique de types « lactame » ou « iminium »

La suite de notre travail a consisté à préparer des analogues non chargés de benzo[*c*]phénanthridine possédant un ou deux atomes d'azote en position 2 et/ou 3. Au milieu des années 1970, Kessar et coll. [23] [141] ont développé une stratégie efficace de

synthèse de ce squelette tétracyclique en trois étapes : condensation entre un benzaldéhyde et une amine aromatique substitués, réduction de l'imine correspondante et cyclisation en présence de LDA à  $-78^{\circ}\text{C}$  puis retour rapide à température ambiante accompagné de l'aromatisation du composé ainsi obtenu.

Nous avons appliqué cette stratégie en utilisant le 2-bromobenzaldéhyde et des 8-aminoisoquinoléines et la 5-aminophthalazine. Ceci nous a conduit aux composés **33**, **34** et **35**. Pour ce dernier, le rendement global faible s'explique par les problèmes rencontrés lors de la synthèse de l'imine intermédiaire. Afin d'améliorer ce résultat, nous envisageons de travailler à plus haute température dans le 1,2-dichlorobenzène, dans des conditions identiques à celles rapportées par Prado et coll. [76].

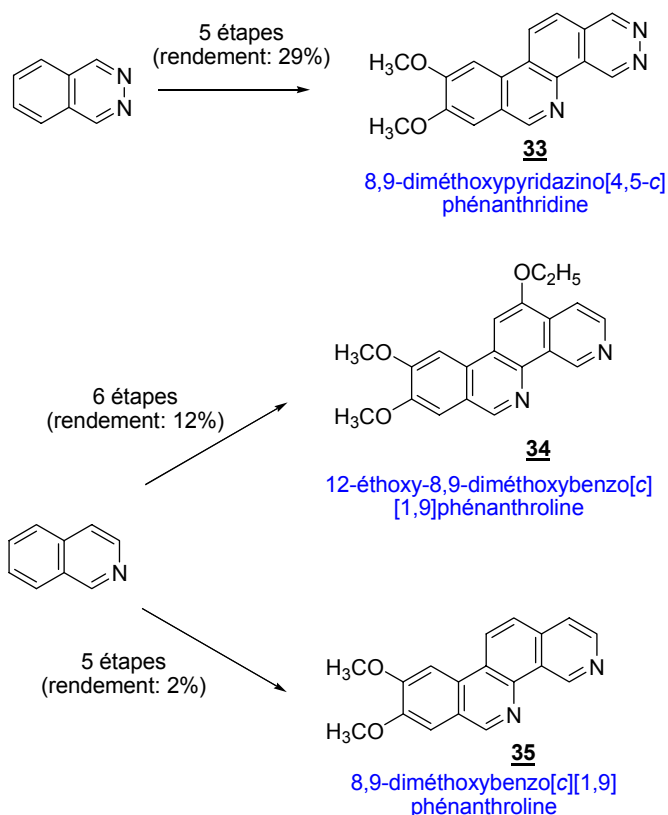


Schéma 80 : Nouveaux analogues du noyau benzo[*c*]phénanthridinique de type « base »

Du point de vue de la synthèse, il nous faut encore mettre au point un accès simplifié aux iminiums **33** à **37**. Pour ce dernier, l'aromatisation du produit formé après réduction de la

fonction amide devra être envisagée en présence d'un oxydant tel que I<sub>2</sub> ou DDQ. Afin d'atteindre les différents objectifs annoncés à l'origine de ce travail, il nous faudra mettre au point la synthèse d'un synthon : la 5-éthoxy-8-nitrophtalazine. Celui-ci est important en vue d'accéder à trois nouveaux composés en série pyridazinophénanthridin-6-one, pyridazinophénanthridinium et pyridazinophénanthridine.

Nous envisageons également de travailler avec de nouveaux synthons tels que la 8-aminoquinoléine, la 5-éthoxy-8-aminoquinoléine et la 3-méthoxy-5-aminoisoquinoléine (Figure 33). En appliquant toujours la même approche, nous espérons synthétiser de nouveaux analogues à fort potentiel antitumoraux.

Une analyse de relation structure-activité et de prédiction de l'activité cytotoxique de nos nouveaux composés a été menée à bien. Un modèle de 2D-QSAR a été construit sur la base des valeurs de IC<sub>50</sub> déterminées par l'essai cytotoxique de MTT (Microtiter plate Tetrazolinium) sur la lignée cellulaire humaine de lymphoblaste RPMI 8402 sur 88 structures analogues de benzo[*c*]phénanthridine (travaux de LaVoie et coll.).

Pour se faire, le logiciel MOE (Molecular Operating Environment, version 2007.06) a été utilisé et une analyse de régression des moindres carrés partiels (PLS = Partial Least Squares) a été mise en jeu sur 10 descripteurs appropriés, sélectionnés à partir de 184 descripteurs 2-D, et sur les données de 88 analogues benzo[*c*]phénanthridiniques pour former l'équation de QSAR finale. Ce modèle est acceptable pour la prévision de l'activité cytotoxique des analogues externes de type « lactame » ou « basique », mais devra être affiné pour la série « iminium ».

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> sur RPMI 8402 de nos nouveaux composés (8/12 composés sont synthétisés) et de quelques analogues connus du noyau benzo[*c*]phénanthridinique ont été calculées.

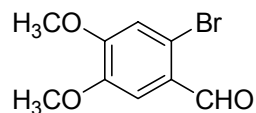
L'analyse de la relation structure-activité sur la base des valeurs prédictives montre que l'activité biologique de ces nouveaux composés dépend non seulement du groupement éthoxyle en 12 mais de la présence de deux atomes d'azote dans le cycle A.

Les tests biologiques seront entrepris pour tous ces nouveaux analogues. Leur activité cytotoxique *in vitro* pourra contribuer à l'évaluation de modèle de QSAR élaboré dans ce travail.

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

## **Matériels et méthodes**

- L'ensemble des réactifs et des solvants ont été fourni par Acros, Aldrich, Alfa Aesar, Avocado, Fischer Chemicals et VWR.
- L'ensemble des réactions ont été suivies par Chromatographie sur Couche Mince Merck SilicaGel 60F254 (0,25 mm) sur plaque aluminium.
- Les produits obtenus ont été purifiés par chromatographie sur colonne de gel de silice Chromagel 60ACC (40-63  $\mu\text{m}$ ) de chez Carlo Erba.
- Les spectres Infra- Rouge (IR) ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Bruker FT IR Vector 22 : - pour les huiles, à partir d'un film obtenu après évaporation du chloroforme et déposé entre deux plaques de KBr ; - pour les solides, à partir de pastilles de bromure de potassium.
- Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) ont été enregistrés sur un appareil Jeol GSX 270 WB [270 MHz ( $^1\text{H}$ ) et 67,5 MHz ( $^{13}\text{C}$ )] et sur un appareil Bruker Avance DRX 50 [500 MHz ( $^1\text{H}$ ) et 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ )]. Les valeurs des déplacements chimiques  $\delta$  sont exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS). Les notations suivantes sont utilisées : s (singulet), s *e* (singulet élargi), d (doublet), dd (doublet de doublet), t (triplet), m (multiplet), H<sub>arom</sub> (proton aromatique), CH<sub>arom</sub> (carbone aromatique), C<sub>q</sub> (carbone quaternaire) et C<sub>q/arom</sub> (carbone quaternaire aromatique).
- Les spectres de Masse Basse Résolution (SMBR) ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre Esquire 3000Plus Bruker Daltonics.
- Les spectres de Masse Haute Résolution (SMHR) ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre JEOL JMS 700.

**2-Bromovératraldéhyde 1****1**

A une solution de 10 g (0,06 mole) de vératraldéhyde dans 100 mL d'acide acétique sont additionnés pendant 15 minutes la solution de 20 g (2 éq., 0,12 mole) de brome dans 40 mL d'acide acétique. Le mélange réactionnel est agité pendant 5h à température ambiante. Ensuite sont introduits 140 mL d'eau. Le mélange est alors refroidi jusqu' à 4°C, un précipité se forme. Il est filtré et lavé avec de l'eau froide, ensuite séché à 30-40°C. On obtient 12,7 g de cristaux de couleur ivoire.

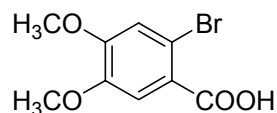
Rendement : 86%

IR (cm<sup>-1</sup>): 1669 – ν CO (aldéhyde)

1042 – ν C-Br

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 10,18 (s, 1H, CHO), 7,41 (s, 1H, H<sub>arom</sub>), 7,05 (s, 1H, H<sub>arom</sub>), 3,97 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,93 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 190,7 (CHO), 154,4 (C<sub>q/arom</sub>), 148,8 (C<sub>q/arom</sub>), 126,5 (C<sub>q/arom</sub>), 120,3 (C<sub>q/arom</sub>), 115,4 (CH<sub>arom</sub>), 110,4 (CH<sub>arom</sub>), 56,5 (OCH<sub>3</sub>), 56,2 (OCH<sub>3</sub>).

Acide 2-bromovératrique 22

A une solution de 7,7 g (0,03 mole) de 2-bromovératraldéhyde 1 dans 75 mL d'acétone chauffée à reflux sont additionnés goutte à goutte la solution de 8 g (1,7 éq., 0,05 mole) de permanganate de potassium dans 130 mL de l'eau. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 2h, puis évaporé sous vide pour éliminer l'acétone. Ensuite, il est refroidi et traité avec KOH 10% jusqu'à pH=10. Après filtration, le filtrat est acidifié jusqu'à pH=1 par addition d'acide chlorhydrique concentré, puis traité avec une solution aqueuse à 10% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> et refroidi. Les paillettes blanches sont récupérées, lavées avec de l'eau froide et séchées.

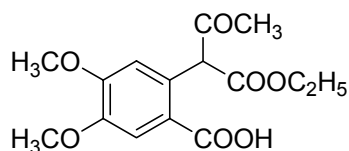
Rendement: 89%

IR (cm<sup>-1</sup>): 1693 - ν C=O (acide),  
1024 - ν C-Br

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 7,59 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,14 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 3,95 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,93 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 170,2 (COOH), 152,7 (C<sub>q/arom</sub>), 147,7 (C<sub>q/arom</sub>), 120,0 (C<sub>q/arom</sub>), 117,2 (C<sub>q/arom</sub>), 115,4 (CH<sub>arom</sub>), 114,6 (CH<sub>arom</sub>), 56,4 (OCH<sub>3</sub>), 56,1 (OCH<sub>3</sub>).



Acide 2-[1-(éthoxycarbonyl)-2-oxopropyl]-4,5-diméthoxybenzoïque **3****3**

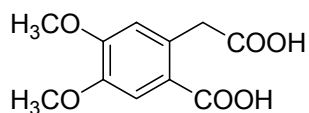
Sous flux d'azote, une suspension de 2 g (7,6 mmol) d'acide 2-bromovératrique **2** dans 6 mL d'acétoacétate d'éthyle est traitée par 62 mg (0,06 éq., 0,43 mmol) de CuBr. Ensuite sont additionnés lentement 800 mg (2,6 éq., 20 mmol) de NaH préalablement lavés dans du toluène anhydre. Le milieu réactionnel est alors chauffé à 90-100°C pendant 12 heures, puis refroidi et évaporé sous vide pour éliminer le toluène. Le résidu est lavé plusieurs fois avec du cyclohexane, puis placé en suspension dans 20 mL d'HCl 10% pendant 30 minutes. Le produit brut est extrait avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) et purifié par chromatographie sur colonne de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/acétone – 98,7/1,3).

Rendement : 25%

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1727 –ν C=O (ester)  
1698 –ν C=O (cétone, acide)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 7,58 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,29 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 4,44 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,96 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,95 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2,46 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,43 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 166,2 (CO), 161,3 (CO), 158,0 (COOH), 155,3 (C<sub>q/arom</sub>), 149,6 (C<sub>q/arom</sub>), 130,5 (C<sub>q/arom</sub>), 113,0 (C<sub>q/arom</sub>), 109,6 (CH<sub>arom</sub>), 105,7 (CH<sub>arom</sub>), 62,9 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 56,5 (2 x OCH<sub>3</sub>), 20,0 (COCH<sub>3</sub>), 14,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

Acide 4,5-diméthoxyhomophtalique **4****4**

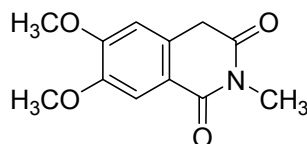
Une suspension de 750 mg (2,4 mmol) de l'acide 2-[1-(éthoxycarbonyl)-2-oxopropyl]-4,5-diméthoxybenzoïque **3** dans 50 mL de NaOH 2N est portée à 100°C. La solubilisation totale du produit de départ indique la fin de la réaction. Le milieu réactionnel est alors refroidi puis acidifié jusqu'à pH 1-2 par addition d'HCl concentré. Après avoir reposé une nuit à froid, les cristaux sont filtrés et lavés à l'eau froide. Après séchage à 100°C, 450 mg d'acide 4,5-diméthoxyhomophtalique **4** sont obtenus sous forme de cristaux blancs.

Rendement : 77%.

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1693 -ν C=O (COOH)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 12,34 (s, 2H, 2 x CO<sub>2</sub>H), 7,42 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,92 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 3,87 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 173,1 (CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H), 168,3 (CO<sub>2</sub>H), 151,9 (C<sub>q/arom</sub>), 147,4 (C<sub>q/arom</sub>), 131,6 (C<sub>q/arom</sub>), 122,6 (C<sub>q/arom</sub>), 116,1 (CH<sub>arom</sub>), 114,3 (CH<sub>arom</sub>), 56,2 (CH<sub>2</sub>), 55,4 (2 x OCH<sub>3</sub>).

**N-Méthyl-6,7-diméthoxyisoquinoline-1,3-dione 5****5**

450 g (1,87 mmol) d'acide 4,5-diméthoxyhomophtalique 4 sont agités à température ambiante pendant 30 minutes dans 4,5 mL d'une solution aqueuse 40% de MeNH<sub>2</sub>. Après élimination sous vide de l'excès de MeNH<sub>2</sub>, 3 mL de décaline sont ajoutés au milieu réactionnel. Celui-ci est ensuite chauffé lentement (30 minutes environ) jusqu'à 200°C.

Le milieu réactionnel est ensuite refroidi et 3 mL d'éther de pétrole sont ajoutés entraînant une précipitation. Le précipité est récupéré par filtration et lavé à l'éther de pétrole. Après séchage, 400 mg du N-méthyl-6,7-diméthoxyisoquinoline-1,3-dione 5 sont obtenus sous forme de paillettes orange.

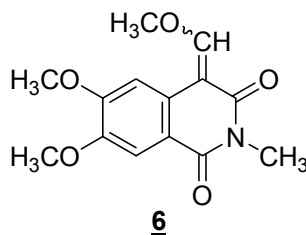
Rendement : 91%

IR (cm<sup>-1</sup>): 1707 – ν CO (amide)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 7,62 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,66 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 3,98 (s, 6H, 2 x OCH<sub>3</sub>), 3,96 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,37 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 171,0 (C-3), 165,0 (C-1), 154,3 (C<sub>q/arom</sub>), 149,2 (C<sub>q/arom</sub>), 128,7 (C<sub>q/arom</sub>), 118,4 (C<sub>q/arom</sub>), 110,6 (CH<sub>arom</sub>), 109,1 (CH<sub>arom</sub>), 56,8 (OCH<sub>3</sub>), 56,7 (OCH<sub>3</sub>), 36,6 (CH<sub>2</sub>), 27,3 (CH<sub>3</sub> de NCH<sub>3</sub>).

**1,2,3,4-Tétrahydro-6,7-diméthoxy-4-(méthoxyméthylène)-  
2-méthylisoquinoline-1,3-dione 6**



Une suspension de 0,4 g (1,7 mmol) de N-méthyl-6,7-diméthoxyisoquinoline-1,3-dione 5 dans 6 mL d'anhydride acétique est traitée par 0,6 g (1,3 éq., 2,2 mmol) d'orthoformiate de triméthyle. Le mélange est chauffé à reflux pendant 20 minutes. 2 mL de MeOH chaud sont ajoutés et cette solution est agitée pendant 15 minutes. Quand la température diminue, un précipité brun apparaît. Celui-ci est récupéré par filtration, lavé avec du MeOH froid puis séché. 390 mg de 1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-4-(méthoxyméthylène)-2-méthylisoquinoline-1,3-dione 6 sont obtenus.

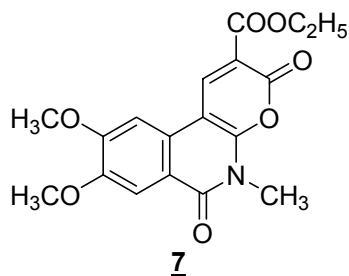
Rendement : 65%

IR (cm<sup>-1</sup>): 1690 – ν CO (amide)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 7,97 (s, 1H, CHOCH<sub>3</sub>), 7,77 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,70 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 4,20 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,99 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,97 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,41 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 166,32(CO), 164,32(CO), 163,35(CHOCH<sub>3</sub>), 153,33(C<sub>q/arom</sub>), 148,27(C<sub>q/arom</sub>), 126,55(C<sub>q/arom</sub>), 116,69(C<sub>q/arom</sub>), 109,86(CH<sub>arom</sub>), 107,94(CH<sub>arom</sub>), 105,35(C<sub>q/arom</sub>, C4), 63,92(CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 56,33(CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 55,98(CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 26,93(CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>).

**Ethanoate de 2-(8,9-diméthoxy-5-méthyl-3,6-dioxo-  
5,6-dihydro-3*H*-pyrano[2,3-*c*]isoquinoline) 7**



Sous flux d'azote, 55 mg (1,3 éq., 0,48 mmol) de cyanoacétate d'éthyle sont ajoutés à une suspension de 1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-4-(méthoxyméthylène)-2-méthylisoquinoline-1,3-dione **6** (0,36 mmol) dans 2 mL de DMF anhydre. Ensuite, sont additionnés 55 mg (1,35 éq., 0,49 mmol) de tert-butylate de potassium. Le mélange devient rouge foncé. Le milieu réactionnel est alors chauffé à 90°C pendant 60 minutes. Après refroidissement, 10 mL d'HCl aqueux 5% sont ajoutés. Cette solution est agitée vigoureusement pendant 90 minutes et devient épaisse. Celle-ci est filtrée et un précipité orange est récupéré.

Le précipité orange est solubilisé dans 30 mL environ de MeOH chaud, la solution est alors concentrée de moitié et abandonnée une nuit à température ambiante. Un précipité jaune apparaît. Celui-ci est récupéré par filtration, puis séché. 93 mg d'éthanoate de 2-(8,9-diméthoxy-5-méthyl-3,6-dioxo-5,6-dihydro-3*H*-pyrano[2,3-*c*]isoquinoline) **7** sont obtenus.

Rendement : 72%

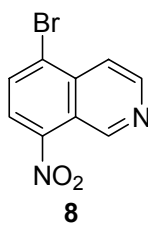
IR (cm<sup>-1</sup>): 1775 – ν C=O (lactone)  
1669 – ν C=O (lactame)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 8,99 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,77 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,22 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 4,47 (q, *J* = 7,5 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4,10 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,02 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,78 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1,45 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 164,6 ( $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 160,8 (CO, lactone), 155,5 (CO, lactame), 155,5 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 155,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 150,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 146,7 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 126,8 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 116,5 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 109,4 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 106,9 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 101,8 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 96,3 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ , C10b), 62,3 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 56,9 ( $\text{OCH}_3$ ), 56,8 ( $\text{OCH}_3$ ), 29,2 ( $\text{NCH}_3$ ), 14,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

SMHR : m/z (%): 359,0998 ( $\text{M}^+$ , 100). (théo. = 359,1 pour  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_7$ ).

### 5 Bromo-8-nitroisoquinoline **8**



Sous flux d'azote, à un ballon contenant 11 mL d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré refroidi à  $0^\circ\text{C}$  et agité vigoureusement sont ajoutés petit à petit 1,29 g (10 mmol) d'isoquinoline de telle façon que la température interne soit maintenue inférieure à  $30^\circ\text{C}$ . La solution ensuite est refroidie à  $-25^\circ\text{C}$  et sont additionnés 1,86 g (1,05 éq., 10,5 mmol) de N-bromosuccinimide par petites portions de telle façon que la température soit maintenue entre  $-22^\circ\text{C}$  et  $-26^\circ\text{C}$ . La suspension est agitée efficacement pendant 2h à  $-22^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  et puis pendant 3h à  $-18^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ .

Le nitrate de potassium (1,058 g, 1,05 éq., 10,5 mmol) est ajouté lentement de telle sorte que la température interne soit maintenue inférieure à  $-10^\circ\text{C}$  puis le mélange est agité à  $-10^\circ\text{C}$  pendant 1h. Le milieu réactionnel est ensuite agité une nuit à température ambiante. Le mélange réactionnel est alors versé sur environ 30 g de glace (le ballon est lavé avec de l'eau froide). En agitant et en maintenant la température interne inférieure à  $30^\circ\text{C}$ , la solution est neutralisée jusqu'à  $\text{pH}=8$  avec une solution d'hydroxyde d'ammonium 25%. Un précipité jaunâtre apparaît. La suspension est agitée vigoureusement pendant 2 heures pour solubiliser les impuretés. Le précipité formé est filtré, lavé avec de l'eau froide et séché à la température ambiante. 2,3 g de produit brut sont obtenus.

Le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : éther éthylique – 95:5). 1,7 g de cristaux beiges sont ainsi isolés.

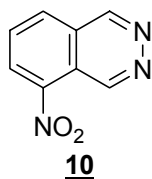
Rendement = 68%.

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1525 - ν N=O et 1351- ν C-N (NO<sub>2</sub> conjugué)  
1581 - ν C=C (noyau aromatique)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,96 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,80 (d, *J* = 6 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,11 (m, 3H, CH<sub>arom</sub>)

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 148,4 (CH<sub>arom</sub>N), 145,6 (C<sub>q/arom</sub>-NO<sub>2</sub>), 145,5 (CH<sub>arom</sub>N), 135,3 (C<sub>q/arom</sub>), 132,4 (CH<sub>arom</sub>), 128,9 (C<sub>q/arom</sub>), 124,9 (CH<sub>arom</sub>), 120,6 (C<sub>q/arom</sub>), 119,3 (CH<sub>arom</sub>).

### 5-Nitroptalazine 10



A une solution contenant 2 g (15,3 mmol) de ptalazine dans 16 mL d'acide sulfurique concentré sont additionnés 10 g (6,5 éq., 98,5 mmol) de KNO<sub>3</sub>. Le mélange réactionnel est agité à 70-80°C pendant 16h, puis refroidi et versé sur glace (le ballon est rincé par l'eau froide). Après avoir neutralisé avec une solution aqueuse concentrée de NH<sub>4</sub>OH, le précipité formé est extrait avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de sodium et le solvant est évaporé sous pression réduite conduisant à 2,62 g de 5-nitroptalazine 10 qui est utilisé sans purification supplémentaire.

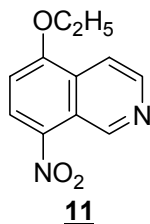
Rendement : 97%

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1525 - ν N=O et 1343 - ν C-N (NO<sub>2</sub> conjugué)

RMN  $^1\text{H}$  (270 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 10,44(s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 9,71(s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,75(d,  $J = 7,5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,37(d,  $J = 7,5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,11(t,  $J = 8,0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 150,0 ( $\text{CH}_{\text{arom}}\text{N}$ ), 146,2 ( $\text{CH}_{\text{arom}}\text{N}$ ), 143,7 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 133,4 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 131,7 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 129,8 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 126,8 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 118,8 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ).

### 5-Ethoxy-8-nitroisoquinoline 11



Sous flux d'azote, à une solution contenant 0,5 g (2 mmol) de 5-bromo-8-nitroisoquinoline 8 et 30 mg (0,15 éq., 0,3 mmol) de  $\text{CuCl}_2$  dans 7 mL de DMF et 10 mL d'éthanol anhydre est additionné 4 mL d'une solution d'éthylate de sodium fraîchement préparée à partir de 0,150 g (3,25 éq., 6,5 mmol) de sodium et 4 mL d'éthanol anhydre. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 90 minutes. La réaction est suivie par CCM pour confirmer que le produit de départ est consommé complètement. Ensuite, le mélange réactionnel est versé rapidement sous vive agitation au mélange composé d'acétate d'éthyle (3 mL), de chlorure d'ammonium (5 mL) et d'eau (15 mL). Le ballon est lavé plusieurs fois à l'éthanol et le mélange est agité durant la nuit. Après filtration sur célite (laver avec l'acétate d'éthyle), les phases sont séparées. La phase aqueuse est alors extraite par 2 fois 50 mL d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont regroupées, lavées avec une solution aqueuse d'hydroxyde d'ammonium 10% et filtrées à travers sur silice, puis concentrées sous vide pour donner 0,411 g de 5-éthoxy-8-nitroisoquinoline 11 pure.

Rendement : 95%.

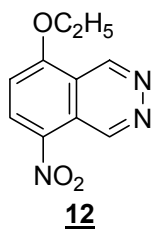


IR (cm<sup>-1</sup>) : 1508 - ν N=O (NO<sub>2</sub> conjugué)  
1024 - ν C-O (éther)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 10,23 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,71 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,51 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,19 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,00 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 4,35 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,63 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 158,5 (C<sub>q/arom</sub>), 147,5 (CH<sub>arom</sub>N), 143,3 (CH<sub>arom</sub>N), 137,3 (C<sub>q/arom</sub>), 128,1 (C<sub>q/arom</sub>), 127,6 (C<sub>q/arom</sub>), 121,0(CH<sub>arom</sub>), 114,3 (CH<sub>arom</sub>), 105,1 (CH<sub>arom</sub>), 64,8 (CH<sub>2</sub>), 13,9 (CH<sub>3</sub>).

### 5-Ethoxy-8-nitroptalazine 12



A une solution de 0,512 g (3,9 mmol) de phtalazine dans 10 mL d'acide sulfurique concentré sont additionnées petit à petit 0,717 g (1,03 éq., 4,0 mmol) de NBS. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 48h. Ensuite 1,6 g (4,05 éq., 15,8 mmol) de KNO<sub>3</sub> sont ajoutés. Le milieu réactionnel est chauffé à 70-80°C pendant 6h. Ensuite, le mélange réactionnel est versé sur de la glace (le ballon est lavé avec de l'eau froide). Après avoir neutralisé avec une solution aqueuse concentrée de NH<sub>4</sub>OH, le précipité formé est extrait avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de sodium et le solvant est évaporé sous pression réduite conduisant à 0,583 g de 5-bromo-8-nitroptalazine 9 brut [(un mélange de 9 et de 5,8-dibromoptalazine (1 :1)] qui est utilisé sans purification pour l'O-éthylation suivante.

Sous flux d'azote, à une solution contenant 0,583 g de 9 brut et 0,040 g (0,04 mmol) de CuCl<sub>2</sub> dans 6 mL DMF et 10 mL éthanol anhydre est additionné 4 mL de la solution d'éthylate de sodium fraîchement préparée à partir de 0,120 g (5,2 mmol) de sodium et 4

mL d'éthanol anhydre. Le mélange réactionnel est agité à 80°C pendant 12h. Le mélange réactionnel est refroidi et versé rapidement sous vive agitation sur un mélange composé d'acétate d'éthyle (30 mL), de chlorure d'ammonium (6 mL), et d'eau (12 mL). Le ballon est lavé plusieurs fois à l'éthanol et le mélange est agité pendant la nuit. Après filtration sur célite (laver avec l'acétate d'éthyle), les phases sont séparées. La phase aqueuse est extraite par 2 fois 50mL d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont regroupées, lavées avec une solution aqueuse à 10% d'hydroxyde d'ammonium et concentrées sous vide pour donner 0,239 g du mélange brut. Ce produit est ensuite purifié sur colonne de silice (éluant : dichlorométhane/méthanol 99/1) conduisant à 0,100 g de 5-éthoxy-8-nitro-phtalazine **12**.

Rendement : 12% (à partir de la phtalazine)

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1554 – ν N=O (NO<sub>2</sub>)

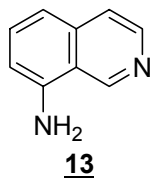
1027 - ν C-O (éther)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,92 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 9,80 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,01 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,18 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 4,30 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,60 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 155,2 (C<sub>q/arom</sub>-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>), 139,4 (CH<sub>arom</sub>N), 139,3 (CH<sub>arom</sub>N), 134,6 (C<sub>q/arom</sub>-NO<sub>2</sub>), 129,8 (CH<sub>arom</sub>), 114,1 (C<sub>q/arom</sub>), 111,0 (C<sub>q/arom</sub>), 102,4 (CH<sub>arom</sub>), 65,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 14,5 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**Procédure de réduction des dérivés nitrés**

Sous flux d'azote, sont versés dans un ballon bicol 1mmol de dérivé nitré de départ, 41 mg de Pd/C 10% et 5 mL d'éthanol. Le mélange réactionnel est agité et chauffé jusqu'à 50°C. Ensuite 0,63 mL d'hydrazine hydrate à 99% est additionné lentement en 30 minutes. Le mélange est chauffé à reflux pendant 90 minutes; puis filtré à chaud sur célite (le ballon est lavé avec de l'éthanol chaud). Le filtrat est évaporé sous vide (à 45°C). Le résidu est solubilisé dans 15 mL d'acide HCl 5%. La solution est lavée à deux reprises avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, puis traitée par une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 30% jusqu'à pH 10. Ensuite cette phase est extraite avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La phase organique est lavée, séchée sur sulfate de sodium anhydre et évaporée sous vide pour produire l'amine aromatique attendue.

**8-Aminoisoquinoline 13**

La procédure de réduction des dérivés nitrés appliquée à la 5-bromo-8-nitroisoquinoline **8** (800 mg, 3,2 mmol) conduit à 396 mg de 8-aminoisoquinoline **13**.

Rendement: 87%.

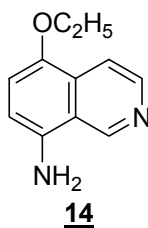
IR (cm<sup>-1</sup>) : 3343 et 3173 – ν NH (NH<sub>2</sub>)

1623 – ν C=N

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,44 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,44 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,58 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,49 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,20 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,82 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 3,97 (s, 2H, NH<sub>2</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 146,1 ( $\text{C}_{\text{q/arom-NH}_2}$ ), 143,9 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 141,7 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 136,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 131,9 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 121,0 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 118,6 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 116,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 110,8 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ).

### 8-Amino-5-éthoxyisoquinoline 14



La procédure de réduction des dérivés nitrés appliquée à la 5-éthoxy-8-nitroisoquinoline (390 mg, 1,77 mmol) conduit à 283 mg de 8-amino-5-éthoxy-isoquinoline 14.

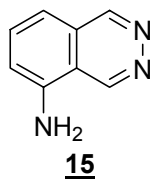
Rendement: 84%.

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3343 et 3211 –  $\nu$  NH ( $\text{NH}_2$ )

1622 –  $\nu$  C=N

RMN  $^1\text{H}$  (270 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 9,31 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,46 (d,  $J = 6,0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,94 (d,  $J = 6,0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 6,77 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 6,65 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 4,33 (s,  $\text{NH}_2$ ), 4,05 (q,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,45 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 146,7 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 146,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom-OC}_2\text{H}_5}$ ), 142,4 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 136,1 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 128,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 119,8 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 115,2 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 110,8 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 110,2 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 64,2 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 14,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

5-Aminophthalazine **15**

La procédure de réduction des dérivés nitrés appliquée à la 5-nitrophthalazine **10** (100 mg, 0,57 mmol) conduit à 74 mg de 5-aminophthalazine **15**.

Rendement: 89%.

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3341 et 3208 – ν NH (NH<sub>2</sub>)

1652 – ν C=N

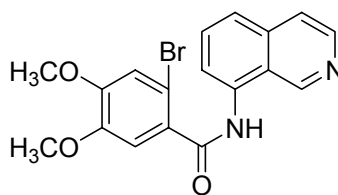
RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; DMSO): (δ en ppm) 9,74 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 9,39 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,65 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,15 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,04 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,56 (s, 2H, NH<sub>2</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; DMSO): (δ en ppm) 150,8 (CH<sub>arom</sub>N), 146,3 (CH<sub>arom</sub>N), 145,2 (C<sub>q/arom</sub>), 133,8 (CH<sub>arom</sub>), 129,3 (C<sub>q/arom</sub>), 126,8 (CH<sub>arom</sub>), 114,0 (C<sub>q/arom</sub>), 111,9 (CH<sub>arom</sub>).

**Procédure d'acylation des amines 13-15**

Sous flux d'azote, une solution contenant 1,05 mmol d'acide 2-bromovératrique 2 (1,05 éq.) et 0,53 mL de chlorure de thionyle dans 2,63 mL de chloroforme anhydre et une goutte de DMF anhydre comme catalyseur est chauffé au reflux pendant 1 heure et 30 minutes. Le solvant et l'excès de chlorure de thionyle sont évaporés sous pression réduite à 45°C. Le chlorure de 2-bromo-4,5-diméthoxybenzoyle obtenu est coévaporé avec du toluène sous pression réduite à plusieurs reprises et utilisé dans la réaction suivante sans purification supplémentaire.

Une solution de 1 mmol d'amine aromatique (1 éq.) dans 5 mL de chloroforme anhydre est ajoutée au chlorure d'acide fraîchement préparé. Ce mélange réactionnel est agité et chauffé à reflux pendant 16 heures. En fin de réaction, le mélange est évaporé sous pression réduite, le résidu est suspendu dans une solution saturée de carbonate de sodium; la suspension est agitée pendant 5 minutes. Le produit brut est extrait avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Cette phase organique est lavée 3 fois avec une solution de carbonate de sodium saturée et 3 fois avec de l'eau. La phase organique est alors séchée sur sulfate de sodium, filtrée et évaporée sous pression réduite.

**2-Bromo-*N*-(isoquinolin-8-yl)-4,5-diméthoxybenzamide 16****16**

La procédure d'acylation appliquée à la 8-aminoisoquinoline 13 (380 mg, 2,6 mmol) conduit à 954 mg de composé 16 sous forme d'un solide brun. Celui-ci est utilisé dans la réaction suivante sans purification supplémentaire.

Rendement : 93,5%

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1630 - ν C=N ou ν C=C

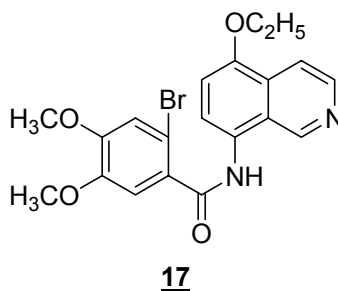
1666 - ν C=O (amide)

1245- ν C-N (amide)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,6 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,87 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,55 (s, 1H, NH), 8,26 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,71 (m, 3H, CH<sub>arom</sub>), 7,42 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,07 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 165,0 (CO), 151,1 (C<sub>q/arom</sub>), 148,3 (C<sub>q/arom</sub>), 145,9 (CHN), 142,3 (CHN), 136,2 (C<sub>q/arom</sub>), 133,0 (CH<sub>arom</sub>), 130,4 (C<sub>q/arom</sub>), 128,0 (C<sub>q/arom</sub>), 123,8 (CH<sub>arom</sub>), 121,4 (CH<sub>arom</sub>), 120,6 (C<sub>q/arom</sub>), 115,6 (CH<sub>arom</sub>), 115,5 (CH<sub>arom</sub>), 113,2 (C<sub>q/arom</sub>), 109,5 (CH<sub>arom</sub>), 56,0 (OCH<sub>3</sub>), 55,8 (OCH<sub>3</sub>).

### 2-Bromo-*N*-(5-éthoxyisoquinoline-8-yl)-4-5-diméthoxybenzamide 17



La procédure d'acylation appliquée à la 8-amino-5-éthoxyisoquinoline 14 (250 mg, 1,32 mmol) conduit à 518 mg de composé 17 sous forme d'un solide brun. Celui-ci est utilisé dans la réaction suivante sans purification supplémentaire.

Rendement : 90%.

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1656 - ν C=O (amide)

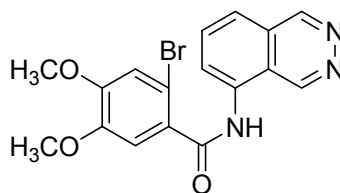
1248 - ν C-N (amide)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,48 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,84 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,45 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,04 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,84 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H,

$\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,31 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 6,99 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 6,95 (d,  $J=8,5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 4,2 (q,  $J=6,5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3,88 (s, 6H, 2 x  $\text{OCH}_3$ ), 1,55 (t,  $J=7,0$  Hz, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 166,0 (CO), 152,1 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 151,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 148,4 (CHN), 146,5 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 142,5 (CHN), 128,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 128,7 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 125,1 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 123,8 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 123,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 115,7 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 115,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 113,2 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 109,9 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 108,0 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 64,1 ( $\text{CH}_2$ ), 56,3 ( $\text{OCH}_3$ ), 56,1 ( $\text{OCH}_3$ ), 14,7 ( $\text{CH}_3$ ).

### 2-Bromo-4,5-diméthoxy-*N*-(phthalazin-8-yl)benzamide **18**



**18**

La procédure d'acylation appliquée à la 5-aminophthalazine **15** (77 mg, 0,53 mmol) conduit à un résidu brun. Ce mélange brut est ensuite purifié sur colonne de silice (éluant : chloroforme/méthanol 97/3) conduisant à 104 mg de 2-bromo-*N*-(isoquinolin-8-yl)-4,5-diméthoxybenzamide **18**.

Rendement : 91%.

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 1676 -  $\nu$  C=O (amide)

1264 -  $\nu$  C-N (amide)

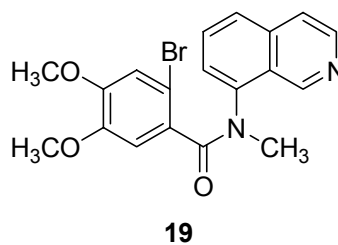
RMN  $^1\text{H}$  (270 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 10,16 (s, 1H), 9,81(s, 1H), 9,47(s,1H, NH), 8,67(d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 8,05(t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,84(d,  $J = 8,0$ , 1H), 7,38(s, 1H), 7,01(s,1H), 3,92(s,3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,89(s,3H,  $\text{OCH}_3$ ).



RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 166,0 (CO), 151,3 ( $\text{C}_{\text{q/ arom}}$ ), 148,3 ( $\text{CH}_{\text{ arom}}\text{N}$ ), 134,5 ( $\text{C}_{\text{q/ arom}}$ ), 134,5 ( $\text{CH}_{\text{ arom}}\text{N}$ ), 134,2 ( $\text{C}_{\text{q/ arom}}$ ), 134,1 ( $\text{C}_{\text{q/ arom}}$ ), 134,1 ( $\text{CH}_{\text{ arom}}$ ), 134,0 ( $\text{C}_{\text{q/ arom}}$ ), 128,0 ( $\text{C}_{\text{q/ arom}}$ ), 127,3 ( $\text{C}_{\text{q/ arom}}$ ), 127,3 ( $\text{CH}_{\text{ arom}}$ ), 123,2 ( $\text{CH}_{\text{ arom}}$ ), 113,2 ( $\text{CH}_{\text{ arom}}$ ), 110,4 ( $\text{CH}_{\text{ arom}}$ ), 56,3 ( $\text{OCH}_3$ ), 56,2 ( $\text{OCH}_3$ ).

**N-méthylation des dérivés benzamides 16-18**

Sous flux d'azote, à une suspension contenant 2,8 mmol (2,8 éq.) de NaH 60% dans 1,5 mL de DMF anhydre agitée à 0°C est additionné pendant 10 minutes une solution de 1 mmol de benzamide 16-18 dans 8 mL de DMF anhydre. Le mélange réactionnel est agité à 0°C pendant 20 minutes. 2,7 mmol (2,7 éq.) d'iodure de méthyle sont alors ajoutés et le milieu réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 16h. Celui-ci est ensuite dilué avec de l'eau et extrait avec 3 fois 75 mL d'acétate d'éthyle. La phase organique est ensuite lavée avec 10 fois 15 mL d'une solution aqueuse de chlorure de sodium. Elle est séchée sur sulfate de sodium anhydre, filtrée et évaporée sous pression réduite.

**2-Bromo-*N*-(isoquinolin-8-yl)-4,5-diméthoxy-*N*-méthylbenzamide 19**

La procédure de méthylation ci-dessus est appliqué à 300 mg (0,77 mmol) de benzamide 16. Le produit brut 19 ainsi obtenu (289 mg) est utilisé dans la réaction suivante sans purification supplémentaire.

Rendement : 93%.

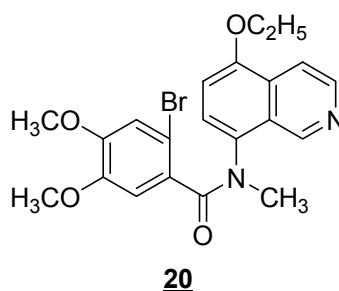
IR (cm<sup>-1</sup>) : 1650 – ν C=O (amide)  
 2853 – ν CH (N-CH<sub>3</sub>)  
 1384 – δ CH (CH<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,49 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,56 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,65 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,60 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,52 (m, 2H,

CH<sub>arom</sub>), 6,72 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,40 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 3,65 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,59 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,24 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 169,0 (CO), 149,1 (C<sub>q/arom</sub>) ; 147,7 (C<sub>q/arom</sub>); 147,0 (CH<sub>arom</sub>N), 143,5 (CH<sub>arom</sub>N), 140,0 (C<sub>q/arom</sub>), 136,5 (C<sub>q/arom</sub>), 130,9 (C<sub>q/arom</sub>) 128,5 (C<sub>q/arom</sub>), 127,0 (CH<sub>arom</sub>), 126,6 (C<sub>q/arom</sub>), 124,8 (CH<sub>arom</sub>), 120,5 (CH<sub>arom</sub>), 114,9 (CH<sub>arom</sub>), 110,2 (CH<sub>arom</sub>), 110,0 (CH<sub>arom</sub>), 55,7 (OCH<sub>3</sub>), 55,3 (OCH<sub>3</sub>), 37,7 (NCH<sub>3</sub>).

### **2-Bromo-N-(5-éthoxyisoquinoline-8-yl)-4-5-diméthoxy-N-méthylbenzamide 20**



La procédure de méthylation ci-dessus est appliquée à 408 mg (0,95 mmol) de benzamide 17. Le produit brut 20 ainsi obtenu (355 mg) est utilisé dans la réaction suivante sans purification supplémentaire.

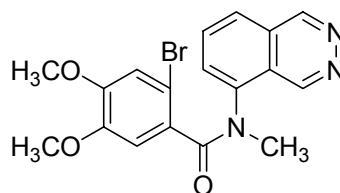
Rendement : 84%.

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1652 - ν C=O (amide)  
2853- ν CH (N-CH<sub>3</sub>)  
1379 – δ CH (CH<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,44 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,56 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,10 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,5 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,8 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,74 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,43 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 4,14 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,70 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,57 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,32 (3H, NCH<sub>3</sub>), 1,53 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 169,5 (CO), 153,5 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 149,4 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 147,2 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 147,1 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 143,0 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 131,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 130,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 129,7 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 129,1 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 128,1 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 127,0 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 114,9 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 110,1 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 109,9 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 107,4 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 55,8 ( $\text{OCH}_3$ ), 55,4 ( $\text{OCH}_3$ ), 37,7 ( $\text{NCH}_3$ ).

**2-Bromo-4,5-diméthoxy-N-méthyl-N-(phthalazin-8-yl)benzamide 21**



**21**

La procédure de méthylation ci-dessus est appliquée à 104 mg (0,27 mmol) de benzamide 18. Le produit brut 21 ainsi obtenu (91 mg) est utilisé dans la réaction suivante sans purification supplémentaire.

Rendement : 85%

IR( $\text{cm}^{-1}$ ) : 1652 -  $\nu$  C=O (amide)

2853-  $\nu$  CH (N- $\text{CH}_3$ )

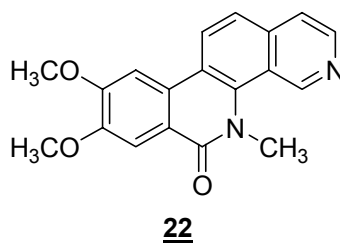
1386 -  $\delta$  CH ( $\text{CH}_3$ )

RMN  $^1\text{H}$  (270 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 9,77 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 9,47 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,80 (m, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 6,68 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 6,45 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 3,65 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,59 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,37 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 168,9 (CO), 150,3 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 149,5 (CHN), 149,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 147,4 (CHN), 139,2 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 132,6 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 131,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 129,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 126,5 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 115,2 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 115,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 110,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 110,2 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 109,3 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 55,9 ( $\text{OCH}_3$ ), 55,7 ( $\text{OCH}_3$ ), 38,0 ( $\text{NCH}_3$ ).

**Procédure de cyclisation intramoléculaire catalysée au palladium**

Sous flux d'azote, une solution contenant 1 mmol de *N*-méthylbenzamide **19-21**, 0,5 mmol (0,5 éq.) de Pd(OAc)<sub>2</sub>, 1 mmol (1 éq.) de P(o-Tol)<sub>3</sub>, 2 mmol (2 éq.) de carbonate d'argent dans 30 mL de DMF anhydre est chauffée à reflux jusqu'à disparition totale du produit de départ. Le mélange réactionnel est alors dilué avec de l'eau et extrait à trois reprises avec 100 mL d'éther éthylique. La phase organique est ensuite lavée avec 6 fois 50 mL d'eau. Elle est alors séchée sur sulfate de sodium anhydre, filtrée et évaporée sous pression réduite.

**8,9-Diméthoxy-5-méthylbenzo[*c*][1,9]phénanthroline-6(5*H*)-one **22****

La procédure de cyclisation catalysée au palladium est appliquée au *N*-méthylbenzamide **19** (46 mg, 0,11 mmol). Le résidu brut obtenu après évaporation est purifié sur plaque préparative de silice (éluant dichlorométhane/méthanol : 98/2). Cette purification permet d'obtenir 15 mg de la benzo[*c*]phénanthridinone **22**

Rendement : 42%.

IR (cm<sup>-1</sup>) : 2851 – ν CH (N-CH<sub>3</sub>)  
 1652 – ν C=O (lactame)  
 1605 – ν C=C aromatique  
 1375 – δ CH (CH<sub>3</sub>)

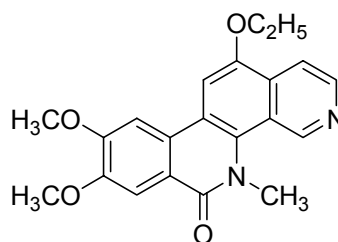
RMN <sup>1</sup>H (500 MHz; DMSO): (δ en ppm) 10,06 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 9,12 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,66 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,36 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,09 (d, *J* =

9,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,05 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,79 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 4,08 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,07 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,96 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz; DMSO): (δ en ppm) 161,98 (CO), 153,8 (C<sub>q/arom</sub>), 150,5 (C<sub>q/arom</sub>), 146,2 (CHN), 138,3 (CHN), 136,0 (C<sub>q/arom</sub>), 129,7 (C<sub>q/arom</sub>), 129,6 (CH<sub>arom</sub>), 127,4 (C<sub>q/arom</sub>), 123,3 (C<sub>q/arom</sub>), 121,6 (C<sub>q/arom</sub>), 118,9 (CH<sub>arom</sub>), 118,9 (C<sub>q/arom</sub>), 118,3 (CH<sub>arom</sub>), 107,8 (CH<sub>arom</sub>), 104,5 (CH<sub>arom</sub>), 56,3 (OCH<sub>3</sub>), 55,8 (OCH<sub>3</sub>), 40,2 (NCH<sub>3</sub>).

SMBR : [M+H]<sup>+</sup> = 321,1 (théo. = 321,12 pour C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)

### 12-Ethoxy-8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[*c*][1,9]phénanthroline-6(5*H*)-one 23



23

La procédure de cyclisation catalysée au palladium est appliquée au *N*-méthylbenzamide 20 (355 mg, 0,8 mmol). Le produit brut obtenu après évaporation est purifié par chromatographie sur colonne (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH : 98/2). Cette purification permet d'obtenir 119 mg de 12-éthoxy-8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[*c*][1,9]phénanthroline-6(5*H*)-one 23

Rendement : 41%.

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1646 - ν C=O (lactame)  
1609 - ν C=C aromatique

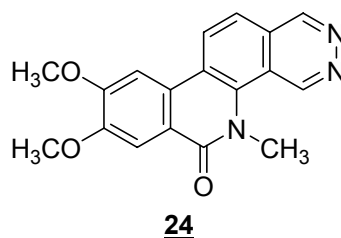
RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,90 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,68 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,43 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,00 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,95 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,54

(s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 4,48 (q,  $J = 7,0$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) , 4,16 (NCH<sub>3</sub>), 4,10 (OCH<sub>3</sub>), 4,09 (OCH<sub>3</sub>), 1,7 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 162,8 (CO), 153,5 (C<sub>q/arom</sub>), 150,4 (C<sub>q/arom</sub>), 147,5 (C<sub>q/arom</sub>), 147,0 (CH<sub>arom</sub>N), 140,1 (CH<sub>arom</sub>N), 130,1 (C<sub>q/arom</sub>), 129,5 (C<sub>q/arom</sub>), 127,7 (C<sub>q/arom</sub>), 120,0 (C<sub>q/arom</sub>), 118,1 (C<sub>q/arom</sub>), 116,0 (C<sub>q/arom</sub>), 108,8 (CH<sub>arom</sub>), 108,6 (CH<sub>arom</sub>), 103,3 (CH<sub>arom</sub>), 102,7 (CH<sub>arom</sub>), 64,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 56,3 (OCH<sub>3</sub>), 56,3 (OCH<sub>3</sub>), 41,1 (NCH<sub>3</sub>), 14,8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

SMBR : [M+H]<sup>+</sup> = 365,1 (théo. = 365,14 pour C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)

### 8,9-Diméthoxy-5-méthylpyridazino[4,5-*c*]phénanthridin-6(5*H*)-one 24



La procédure de cyclisation catalysée au palladium est appliquée au *N*-méthylbenzamide 21 (107 mg, 0,26 mmol). Pour ce produit, le mélange réactionnel est extrait à trois reprises avec 25 mL d'acétate d'éthyle et non pas d'éther éthylique. Le résidu brut obtenu après évaporation est purifié sur plaque préparative de silice (éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH : 96,5/3,5). Cette purification permet d'obtenir 23 mg de la benzo[*c*]phénanthridinone 24.

Rendement : 28%

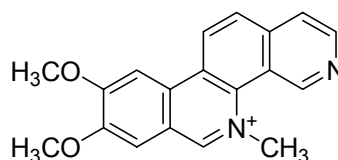
IR (cm<sup>-1</sup>) : 1653 - ν C=O (lactame)  
1607 - ν C=C aromatique

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 10,13 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 9,55 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,61 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,97 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,82 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,65 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 4,17 (3H, OCH<sub>3</sub>), 4,14 (3H, OCH<sub>3</sub>), 4,08 (3H, NCH<sub>3</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 162,8 (CO), 153,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 151,3 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 150,8 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 147,2 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 134,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 127,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 126,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 126,8 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 121,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 120,8 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 120,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 117,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 108,8 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 103,1 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 56,5 ( $\text{OCH}_3$ ), 56,3 ( $\text{OCH}_3$ ), 40,3 ( $\text{NCH}_3$ ).

SMBR :  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 322,1$  (théo. = 322,11 pour  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_3$ )

### 8,9-Diméthoxy-5-méthylbenzo[*c*][1,9]phénanthrolium 25



#### 25

A une solution de 22 mg (0,06 mmol) de 8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[*c*][1,9]phénanthroline-6(5*H*)-one 22 dans 13 mL de THF sec refroidie à 0°C sont additionnés par petites portions 40 mg (18 éq., 1,11 mmol) de  $\text{LiAlH}_4$ . Ensuite, le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 5h. Il est alors dilué avec 30mL de THF et refroidi. Ensuite 0,13 mL d'eau, 0,13 mL d'une solution aqueuse de NaOH à 10%, 0,15 mL d'eau sont ajoutés successivement. Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante pendant 20 minutes puis filtré sur célite. Le précipité est lavé avec du  $\text{CHCl}_3$ . Le filtrat est séché sur sulfate de sodium anhydre et évaporé sous pression réduite. Après 7 jours au contact à l'air, le résidu est lavé avec un volume minimum de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et ensuite avec de l'acétone. Les traces de solvant sont éliminées sous pression réduite pour conduire à 10 mg de 8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[*c*][1,9]phénanthrolium 25 (produit jaune).

Rendement : 50%

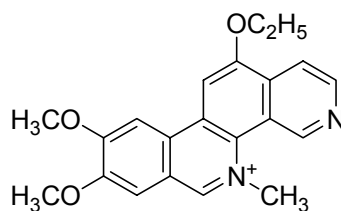
RMN  $^1\text{H}$  (270 MHz; DMSO): ( $\delta$  en ppm) 10,32 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 10,09 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 9,37 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,93 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,5 (m, 2H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,29 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,0 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 5,01 (s, 3H,  $\text{N}^+\text{CH}_3$ ), 4,27 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4,08 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ).



RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz; DMSO): ( $\delta$  en ppm) 158,6 ( $\text{CH}_{\text{arom}}\text{N}^+$ ), 152,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 151,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 149,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}\text{N}$ ), 145,7 ( $\text{CH}_{\text{arom}}\text{N}$ ), 137,7 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 135,4 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 132,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 131,7 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 129,1 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 125,7 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 125,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 120,4 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 108,9 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 104,1 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 103,6 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 57,5 ( $\text{OCH}_3$ ), 56,4 ( $\text{OCH}_3$ ), 52,2 ( $\text{N}^+\text{CH}_3$ ).

SMBR :  $[\text{M}]^+ = 305,0$  (théo. = 305,129 pour  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2^+$ )

### 12- Éthoxy-8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[*c*][1,9]phénanthrolium 26



**26**

Sous flux d'azote, à une solution de 19 mg (0,052 mmol) de 12-éthoxy-8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[*c*][1,9]phénanthroline-6(5*H*)-one 23 dans 35 mL de THF sec sont additionnées par petites portions 30 mg (0,83 mmol) de  $\text{LiAlH}_4$ . Ensuite, le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 5h. après retour à température ambiante, 0,13 mL d'eau, 0,13 mL d'une solution aqueuse de NaOH à 10%, 0,15 mL d'eau sont ajoutés alternativement. Ce mélange est agité à température ambiante pendant 20 minutes puis filtrer sur célite. Le précipité est lavé avec du  $\text{CHCl}_3$ . Le filtrat est séché sur sulfate de sodium anhydre et évaporé sous pression réduite. Après 7 jours au contact à l'air, le résidu est lavé avec un volume minimum du dichlorométhane pour fournir 11 mg de 12-éthoxy-8,9-diméthoxy-5-méthylbenzo[*c*][1,9]phénanthrolium 26 (produit jaune).

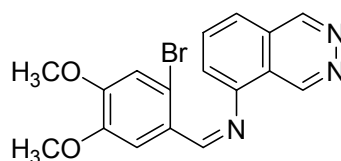
Rendement : 61%

RMN  $^1\text{H}$  (270 MHz; DMSO): ( $\delta$  en ppm) 10,25 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 9,87 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,95 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,34 (m, 2H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,26 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,77 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 5,02 (s, 3H,  $\text{N}^+\text{CH}_3$ ), 4,65 (q,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 3,96 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,90 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 1,62 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (67,5 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): ( $\delta$  en ppm) 10,17 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 9,64 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,89 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,47 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,28 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,21 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,85 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 5,05 (s, 3H,  $\text{N}^+\text{CH}_3$ ), 4,66 (q,  $J = 6,7$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 4,31 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4,13 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 1,70 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ).

SMBR :  $[\text{M}]^+ = 349,1$  (théo. = 349,155 pour  $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3^+$ )

***N*-(Phtalazin-5-yl)-2-bromo-4,5-diméthoxyphénylméthanimine 27**



**27**

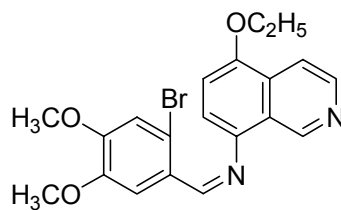
Une solution contenant 96 mg (0,66 mmol) de 5-aminophthalazine **15** et 161 mg (0,66 mmol) de 6-bromovératraldéhyde **1** dans 30 mL de toluène est chauffé à reflux dans un ballon surmonté d'un Dean-Stark pendant 24h. Le solvant est évaporé sous pression réduite. La cristallisation du résidu dans le toluène fournit 200 mg de *N*-(phthalazin-5-yl)-2-bromo-4,5-diméthoxyphénylméthanimine **27** (paillettes jaunâtres).

Rendement:81%

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 1595 –  $\nu$  C=N (imine)

RMN  $^1\text{H}$  (270 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 10,01 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 9,04 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,87 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,91 (m, 2H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,80 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,51 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,10 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 4,03 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,98 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 161,4 ( $\text{CHN}$  imine), 153,3 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 150,5 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 149,1 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 148,3 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 147,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 133,2 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 126,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 126,6 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 123,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 121,7 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 119,5 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 119,0 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 115,4 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 115,3 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 56,4 ( $\text{OCH}_3$ ), 56,3 ( $\text{OCH}_3$ ).

***N*-(5-Ethoxyisoquinolin-8-yl)-2-bromo-4,5-diméthoxyphénylméthanimine 28****28**

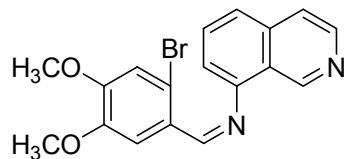
Une solution contenant 151 mg (0,8 mmol) de 5-éthoxy-8-aminoisoquinoline **14** et 197 mg (0,8 mmol) de 6-bromovératraldéhyde **1** dans 40 mL de toluène est chauffé à reflux dans un ballon surmonté d'un Dean-Stark pendant 18h. Le mélange réactionnel est ensuite concentré sous vide jusqu'à un volume d'environ 15 mL, puis est refroidi et filtré pour éliminer les impuretés. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris avec l'éther éthylique. Cette solution est alors filtrée et le filtrat est concentré sous vide pour fournir 313 mg de *N*-(5-éthoxyisoquinolin-8-yl)-2-bromo-4,5-diméthoxyphénylméthanimine **28**.

Rendement : 94%

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1594 – ν C=N (imine)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,78 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,84 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,58 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,03 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,91 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,14 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,05 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 4,22 (q, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,99 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,92 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1,57 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 157,8 (CHN imine), 152,1 (C<sub>q/arom</sub>), 148,7 (C<sub>q/arom</sub>), 148,6 (CH<sub>arom</sub>N), 142,8 (C<sub>q/arom</sub>), 141,7 (C<sub>q/arom</sub>), 128,8 (CH<sub>arom</sub>N), 128,7 (C<sub>q/arom</sub>), 128,6 (C<sub>q/arom</sub>), 127,5 (C<sub>q/arom</sub>), 117,9 (CH<sub>arom</sub>), 114,9 (CH<sub>arom</sub>), 114,7 (CH<sub>arom</sub>), 113,7 (C<sub>q/arom</sub>), 110,0 (CH<sub>arom</sub>), 108,5 (CH<sub>arom</sub>), 64,0 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 56,2 (OCH<sub>3</sub>), 56,1 (OCH<sub>3</sub>), 14,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**N-(Isoquinolin-8-yl)-2-bromo-4,5-diméthoxyphénylméthanimine 29****29**

Un mélange contenant 0,144 g (1 mmol) de 8-aminoisoquinoline **13** et 0,245 g (1 mmol) de 6-bromovératraldéhyde **1** dans 40mL de toluène est chauffé à reflux dans un ballon surmonté d'un Dean-Stark pendant 48h. Le mélange réactionnel est ensuite concentré sous vide jusqu'à un volume d'environ 15 mL, puis est refroidi et filtré pour éliminer les impuretés. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris avec l'éther éthylique. Cette solution est alors filtrée et le filtrat est concentré sous vide. Le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH : 98/2). Cette purification permet d'obtenir 68 mg de *N*-(isoquinolin-8-yl)-2-bromo-4,5-diméthoxyphénylméthanimine **29**.

Rendement : 18%

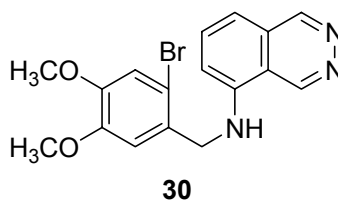
IR (cm<sup>-1</sup>) : 1594 – ν C=N (imine)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,76 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,85 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,57 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,92 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,69 (m, 3H, CH<sub>arom</sub>), 7,17 (dd, *J* = 8,5 Hz et 3,2 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,08 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 160,1 (CHN imine), 152,7 (C<sub>q/arom</sub>), 149,7 (C<sub>q/arom</sub>), 149,2 (CH<sub>arom</sub>N), 148,8 (C<sub>q/arom</sub>), 143,1 (CH<sub>arom</sub>N), 136,3 (C<sub>q/arom</sub>), 131,0 (CH<sub>arom</sub>), 126,8 (C<sub>q/arom</sub>), 124,1 (CH<sub>arom</sub>), 123,7 (CH<sub>arom</sub>), 120,1 (C<sub>q/arom</sub>), 118,5 (CH<sub>arom</sub>), 115,1 (CH<sub>arom</sub>), 114,3 (CH<sub>arom</sub>), 110,2 (C<sub>q/arom</sub>).

**Procédure de réduction des dérivés imines 27-29**

A une solution de 0,1 mmol de méthanimine 27-29 dans 20 mL de méthanol sont ajoutés 2 mmol (20 éq.) de borohydrure de sodium. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante jusqu'à totale disparition du produit de départ. Le solvant est alors évaporé sous pression réduite. Le résidu brut est repris par 10 mL d'eau et 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La phase organique est lavée avec de l'eau à deux reprises, séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre, filtrée et évaporée sous pression réduite.

***N*-(2-Bromo-4,5-diméthoxybenzyl)phtalazin-5-amine 30**

La procédure de réduction appliquée à l'imine 27 (90 mg, 0,24 mmol) conduit, après évaporation et recristallisation dans le toluène à 88 mg de *N*-(2-bromo-4,5-diméthoxybenzyl)phtalazin-5-amine 30 (cristaux jaunâtres).

Rendement : 98%

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3241 – ν NH (amine)

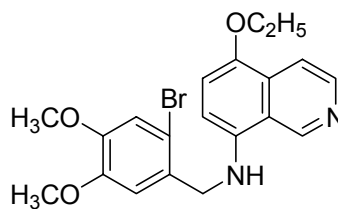
1589 – δ NH (amine)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,84 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 9,37 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,71 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,22 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,06 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,96 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,89 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 5,93 (s, 1H, NH), 4,57 (s, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 3,88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 151,6 (C<sub>q/arom</sub>), 148,6 (CH<sub>arom</sub>N), 148,7 (CH<sub>arom</sub>N), 145,2 (C<sub>q/arom</sub>), 144,3 (C<sub>q/arom</sub>), 135,2 (C<sub>q/arom</sub>), 128,3 (CH<sub>arom</sub>), 127,8 (C<sub>q/arom</sub>),

115,7 (C<sub>q/arom</sub>), 115,5 (C<sub>q/arom</sub>), 113,8 (CH<sub>arom</sub>), 113,2 (CH<sub>arom</sub>), 111,8 (CH<sub>arom</sub>), 111,7 (CH<sub>arom</sub>), 56,2 (OCH<sub>3</sub>), 56,1 (OCH<sub>3</sub>), 47,7 (CH<sub>2</sub>NH).

**N-(2-bromo-4,5-diméthoxybenzyl)-5-éthoxyisoquinolin-8-amine 31**



**31**

La procédure de réduction a été appliquée à 155 mg (0,37 mmol) de *N*-(5-éthoxyisoquinoly)-2-bromo-4,5-diméthoxyphénylméthanimine 28. Après évaporation, le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH : 98/2). Cette purification permet d'obtenir 119 mg de *N*-(2-bromo-4,5-diméthoxybenzyl)-5-éthoxyisoquinolin-8-amine 31 (amorphe, brunâtre).

Rendement : 77%

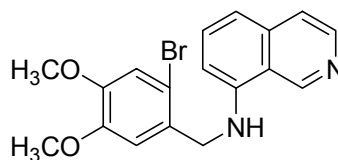
IR (cm<sup>-1</sup>) : 3283 – ν NH (amine)  
1577 – δ NH (amine)

RMN <sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,54 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,49 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,05 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,06 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,01 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,91 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,53 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 5,20 (s, 1H, NH), 4,49 (s, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 4,12 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1,51 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 148,7 (C<sub>q/arom</sub>), 148,5 (C<sub>q/arom</sub>), 145,9 (C<sub>q/arom</sub>), 145,0 (CH<sub>arom</sub>N), 141,7 (CH<sub>arom</sub>N), 137,7 (C<sub>q/arom</sub>), 129,5 (C<sub>q/arom</sub>), 129,3 (C<sub>q/arom</sub>), 115,6 (C<sub>q/arom</sub>), 115,5 (CH<sub>arom</sub>), 115,2 (CH<sub>arom</sub>), 113,1 (C<sub>q/arom</sub>), 112,0 (CH<sub>arom</sub>), 110,9 (CH<sub>arom</sub>),

106,7 (CH<sub>arom</sub>), 64,3 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 56,2 (OCH<sub>3</sub>), 56,0 (OCH<sub>3</sub>), 48,7 (CH<sub>2</sub>NH), 14,9 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

***N*-(2-Bromo-4,5-diméthoxybenzyl)-isoquinolin-8-amine 32**



**32**

La procédure de réduction a été appliquée à 80 mg (0,21 mmol) de *N*-(isoquinolyl)-2-bromo-4,5-diméthoxyphénylméthanimine 29. Après évaporation, le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH : 98/2). Cette purification permet d'obtenir 42 mg de *N*-(2-bromo-4,5-diméthoxybenzyl)-isoquinolin-8-amine 32 (amorphe, jaune foncé).

Rendement : 53%

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3290 – ν NH (amine)

1569 – δ NH (amine)

RMN<sup>1</sup>H (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 9,51 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 8,46 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,59 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,51 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,15 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 7,07 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,98 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>), 6,61 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>), 5,64 (s.e, 1H), 4,54 (s, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 3,89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (67,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): (δ en ppm) 148,8 (C<sub>q/arom</sub>), 148,6 (C<sub>q/arom</sub>), 145,1 (CH<sub>arom</sub>N), 144,4 (CH<sub>arom</sub>N), 141,7 (C<sub>q/arom</sub>), 132,2 (C<sub>q/arom</sub>), 129,0 (C<sub>q/arom</sub>), 128,7 (CH<sub>arom</sub>), 127,4 (CH<sub>arom</sub>), 121,2 (C<sub>q/arom</sub>), 115,6 (CH<sub>arom</sub>), 115,2 (C<sub>q/arom</sub>), 113,2 (CH<sub>arom</sub>), 112,0 (CH<sub>arom</sub>), 106,4 (CH<sub>arom</sub>), 56,2 (OCH<sub>3</sub>), 56,1 (OCH<sub>3</sub>), 40,1 (CH<sub>2</sub>NH).

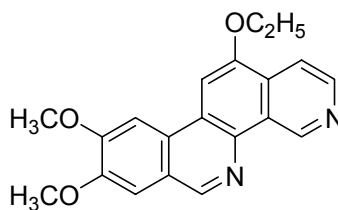




RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 153,7 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 152,2 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 151,2 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 150,1 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 148,1 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 138,5 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 128,5 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 127,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 127,1 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 126,0 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 125,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 123,6 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 123,4 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 107,6 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 101,6 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 56,4 ( $\text{OCH}_3$ ), 56,3 ( $\text{OCH}_3$ ).

SMBR :  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 292,0$  (théo. = 292,10 pour  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_2$ )

### 12-Ethoxy-8,9-diméthoxybenzo[*c*][1,9]phénanthroline **34**



**34**

La procédure de cyclisation ci-dessus est appliquée à 50 mg de *N*-(2-bromo-4,5-diméthoxybenzyl)-5-éthoxyisoquinolin-8-amine **31**. Après évaporation, le résidu brut est purifié sur plaque préparative de silice (éluant  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  : 93/7) fournissant 12 mg de 12-éthoxy-8,9-diméthoxybenzo[*c*][1,9]phénanthroline **34**.

Rendement : 30%

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 1617 et 1498 –  $\nu$  C=C aromatique

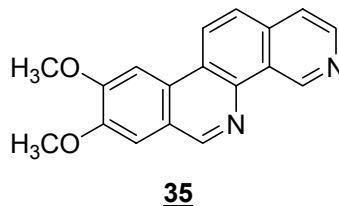
1144 –  $\nu$  C-O (éther)

RMN  $^1\text{H}$  (270 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 10,53 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 9,11 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,72 (s.e, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,13 (s.e, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,57 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,52 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,32 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 4,34 (q,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 4,16 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4,09 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 1,66 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 153,0 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 152,1 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 150,4 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 148,6 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 148,3 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 143,6 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 135,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 130,63 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 127,6 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 123,2 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 122,1 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 107,4 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 107,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 101,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 101,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 100,7 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 64,3 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 56,2 ( $\text{OCH}_3$ ), 56,1 ( $\text{OCH}_3$ ), 14,7 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ).

SMBR :  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 335,1$  (théo. = 335,13 pour  $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3$ )

### 8,9-Diméthoxybenzo[*c*][1,9]phénanthroline 35



La procédure de cyclisation ci-dessus est appliquée à 42 mg de N-(2-bromo-4,5-diméthoxybenzyl)-isoquinolin-8-amine 32. Après évaporation, le résidu brut est purifié sur plaque préparative de silice (éluant  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  : 93/7) fournissant 13 mg de 8,9-diméthoxybenzo[*c*][1,9]phénanthroline 35.

Rendement : 43%

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 1616 et 1499 –  $\nu$  C=C aromatique

1158 –  $\nu$  C-O (éther)

RMN  $^1\text{H}$  (270 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 10,61 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 9,28 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,75 (s.e, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 8,53(d,  $J = 9,0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,84 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,80 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,72 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7,37 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 4,17 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4,10 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (67,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$  en ppm) 153,3 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 151,1 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 150,4 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 149,3 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 144,7 ( $\text{CH}_{\text{aromN}}$ ), 140,5 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 135,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 128,3 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 125,2 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 124,7 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 122,9 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 121,2 ( $\text{C}_{\text{q/arom}}$ ), 120,1 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 107,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 101,3 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 56,2 ( $\text{OCH}_3$ ), 56,1 ( $\text{OCH}_3$ ).

SMBR :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 291,0 (théo. = 291,105 pour  $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2$ )

# **BIBLIOGRAPHIE**

1. L. P. Rivory, "Experimental and clinical pharmacology- New drugs for colorectal cancer-mechanisms of action." *Australian Prescriber*, 2002. **25**(5): 108-110.
2. H-K. Rhee, H. J. Park, S. K. Lee, C-O. Lee and H-Y. Park Choo, "Synthesis, cytotoxicity, and DNA topoisomerase II inhibitory activity of benzofuroquinolinediones." *Bioorg. Med. Chem.*, 2007. **15**: 1651-1658.
3. J. S. Kim, H-K. Rhee, H. J. Park, I-K. Lee, S. K. Lee, M-E. Suh, H. J. Lee, C-K. Ryu, H-Y. Park Choo, "Synthesis of 6-chloroisoquinoline-5,8-diones and pyrido[3,4-*b*]-phenazine-5,12-diones and evaluation of their cytotoxicity and DNA topoisomerase II inhibitory activity." *Bioorg. Med. Chem.*, 2007. **15**: 451-457.
4. T. Ishikawa, H. Ishii, "Recent advances on antitumor-active benzo[*c*]phenanthridine alkaloids." *Heterocycles*, 1999. **50**(1): 627-639.
5. S. P. Mackay, L. Comoe, B. Desoize, O. Duval, J-C. Jardillier, R. D. Waigh, "The effect of 12-alkoxy modification on the in vitro antileukaemic activity of N-methyl 2,3,8,9-tetramethoxybenzo[*c*]phenanthridinium salts." *Anticancer Drug Design*, 1998. **13**: 797-813.
6. F. Fleury, A. Shukhanova, A. Lanoul, J. Devy, I. Kudelina, O. Duval, J-P. Alix, J-C. Jardillier, I. Nabiev, "Molecular determinants of site-specific inhibition of human DNA topoisomerase I by fagaronine and ethoxidine." *J. Biol. Chem.*, 2000. **275**: 3501-3509.
7. M. A. Lynch, O. Duval, A. Sukhanova, J. Devy, S. P. Mackay, R. D. Waigh, I. Nabiev, "Synthesis, biological activity and comparative analysis of DNA binding affinities and human DNA topoisomerase I inhibitory activities of novel 12-alkoxy-benzo[*c*]phenanthridinium salts." *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2001. **11**: 2643-2646.
8. V. Simanek, "The alkaloids." Vol. 25. 1985. 186-188.
9. O. Duval, "Les (furyl-2)-2 cyclanones, intermédiaires de synthèse de systèmes hétérocycliques. Application à la formation du noyau phénanthridinique, in Sciences pharmaceutiques." 1984, Angers: 49-51.
10. T. Ishikawa, "Benzo[*c*]phenanthridine bases and their antituberculosis activity." *Med. Res. Rev.*, 2001. **21**: 61-72.
11. E. McDonald, "Biosynthesis of isoquinolines." *Chemistry of heterocyclic compounds*, 1981. **38** (1): 275-379.
12. A. R. Battersby, J. Staunton, M. C. Summers, R. Southgate, "Studies of enzyme mediated reactions. Part 9. Stereochemistry of an oxidative ring cleavage adjacent to nitrogen during the biosynthesis of chelidonine." *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1979. **1**: 45-52.
13. A. Yagi, G. Nonaka, S. Nakayama, I. Nishioka, "Biosynthetic relations between protoberberine, benzo[*c*]phenanthridine, and secoprotoberberine type alkaloides in *Corydalis incisa*." *Phytochem.*, 1977. **16** (8): 1197-1199.
14. N. Takao, M. Kamigauchi, M. Okada, "Biosynthesis of benzo[*c*]phenanthridine alkaloides sanguinarine, chelirubine and macarpine." *Helv. Chim. Acta*, 1983. **66** (2): 473-484.
15. N. Sotomayor, E. Dominguez, E. Lete, "Bischler-Napieralski cyclization- N/C-alkylation sequences for the construction of isoquinoline alkaloides. Synthesis of

- protoberberines and benzo[*c*]phenanthridines via C-2'-functionalized 3-arylisoquinolines." *J. Org. Chem.*, 1996. **61**: 4062-4072.
16. G. R. Geen, I. S. Mann, M. V. Mullane, "A versatile synthesis of fully aromatic benzo[*c*]phenanthridine alkaloids." *Tetrahedron*, 1998. **54**: 9875-9894.
  17. T. Ishikawa, T. Saito, H. Ishii, "Synthesis of macarpine and its cytotoxicity: Toward a synthetic route for 12-alkoxybenzo[*c*]phenanthridine alkaloids through aromatic nitrosation under basic condition." *Tetrahedron*, 1995. **51**: 8447-8458.
  18. Y. L. Janin, E. Bisagni, "A formal new access to the benzo[*c*]phenanthridine alkaloids, synthesis of nitidine and O-methyl fagaronine analogues." *Tetrahedron*, 1993. **49**: 10305-10316.
  19. M. Treus, J. C. Estevez, L. Castedo, R. J. Estevez, "A novel C-N cleavage in isoquinolines allowing the first direct transformation of 1-benzylisoquinolines into benzo[*c*]phenanthridines and a new route to 2-phenyl-1,4-naphthoquinones." *Tetrahedron Lett.*, 2000. **41**: 6351-6353.
  20. R. Beugelmans, J. Chastanet, H. Ginsburg, L. Quintero-Cortes, G. Roussi, "Direct synthesis of benzo[*c*]phenanthridines and benzo[*c*]phenanthridinones via  $S_{RN}1$  reaction." *J. Org. Chem.*, 1985. **50**: 4933-4938.
  21. O. Duval, L. M. Gomes, "A convenient synthesis of 2-(2-furyl)-cycloalkanones: an application to benzo[*c*]phenanthridone ring formation." *Tetrahedron Lett.*, 1988. **29**: 3243-3246.
  22. O. Duval, L. M. Gomes, "Synthese originale des carboxy-7-benzo[*c*]phenanthridones." *Tetrahedron*, 1990. **46**: 1253-1262.
  23. S. V. Kessar, Y. P. Gupta, P. Balakrishnan, K. K. Sawal, T. Mohammad, M. Dutt, "Benzyne cyclisation route to benzo[*c*]phenanthrine alkaloids. Synthesis of chelerythrine, decarine, and nitidine." *J. Org. Chem.*, 1988. **53**: 1708-1713.
  24. J. P. Gillespie, L. G. Amoros, F. R. Stermitz, "Synthesis of fagaronine. An anticancer benzophenanthridine alkaloid." *J. Org. Chem.*, 1974. **39**: 3239-3241.
  25. S. V. Kessar, Y. P. Gupta, K. Dhingra, G. S. Sharma, S. Narula, "Studies in synthetic photochemistry. Synthesis of chelilutine and sanguilutine." *Tetrahedron Lett.*, 1977. **17**: 1459-1462.
  26. A. M. Rosa, A. M. Lobo, P. S. Branco, S. Prabhakar, "The chemistry and reactivity of aryl radicals - The C-C bond formation from o-bromobenzylphenylethers with tin hydride and azobisisobutyronitrile." *Tetrahedron*, 1997. **53**: 285-298.
  27. A. M. Rosa, S. Prabhakar, A. M. Lobo, "Aryl-aryl coupling induced by n-tributylstannyl hydride, an efficient phenanthridine synthesis." *Tetrahedron Lett.*, 1990. **31**: 1881-1884.
  28. A. M. Rosa, A. M. Lobo, P. S. Branco, S. Prabhakar, A. M. D. L. Pereira, "Synthesis of phenanthridines by radical  $C_{aryl}C_{aryl}$  coupling." *Tetrahedron*, 1997. 1997: 269-284.
  29. T. Nakanishi, M. Suzuki, A. Mashiba, K. Ishikawa, T. Yokotsuka, "Synthesis of NK 109, an anticancer benzo[*c*]phenanthridine alkaloid." *J. Org. Chem.*, 1998. **63**: 4235-4239.
  30. T. Harayama, T. Akiyama, H. Akamatsu, K. Kawano, H. Abe, Y. Takeuchi, "Total synthesis of benzo[*c*]phenanthridine alkaloids, chelerythrine and 12-

- methoxydihydrochelerythrine, by a palladium-assisted internal biaryl coupling reaction." *Synthesis*, 2001(3): 444-450.
31. T. Harayama, T. Akiyama, Y. Nakano, H. Nishioka, H. Abe, Y. Takeuchi, "Aryl-aryl coupling reaction using a novel and highly active palladium reagent prepared from Pd(OAc)<sub>2</sub>, 1,3-bis[diphenylphosphino]propane (DPPP), and Bu<sub>3</sub>P." *Chem. Pharm. Bull.*, 2002. **50** (4): 519-522.
  32. S. K. Singh, A. L. Ruchelman, T-K. Li, A. Liu, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "Nitro and Amino Substitution in the D-Ring of 5-(2-Dimethylaminoethyl)-2,3-methylenedioxy-5*H*-dibenzo[*c,h*][1,6]naphthyridin-6-ones: Effect on Topoisomerase-I Targeting Activity and Cytotoxicity." *J. Med. Chem.*, 2003. **46**: 2254-2257.
  33. T. Harayama, T. Sato, A. Hori, H. Abe, Y. Takeuchi, "Novel synthesis of naphthobenzapines from N-Bromobenzyl-naphthylamines by regioselective C-H activation utilizing the intramolecular coordination of an amine to Pd." *Synlett*, 2003(8): 1141-1144.
  34. I. Moreno, I. Tellitu, J. Etayo, R. SanMartin, E. Dominguez, "Novel applications of hypervalent iodine: PIFA mediated synthesis of benzo[*c*]phenanthridines and benzo[*c*]phenanthridinones." *Tetrahedron*, 2001. **57**: 5403-5411.
  35. Y. L. Janin, A. Croisy, J-F. Riou, E. Bisagni, "Synthesis and evaluation of new 6-amino-substituted benzo[*c*]phenanthridine derivatives." *J. Med. Chem.*, 1993. **36**: 3686-3692.
  36. Y. Xiong, H. W. Moore, "Ring expansion of 4-alkynylcyclobutenones. Synthesis of piperidinoquinones, highly substituted dihydrophenanthridines, benzophenanthridines, and the naturally occurring pyrrolophenanthridine, assoanine." *J. Org. Chem.*, 1996. **61**: 9168-9177.
  37. A. R. Hergueta, H. W. Moore, "Rearrangements of cyclobutenones. Synthesis of N-methyl-7,8-dihydrobenzophenanthridine-9,12-diols and related compounds." *J. Org. Chem.*, 1999. **64**: 5979-5983.
  38. J. H. Rigby, D. D. Holsworth, "Total synthesis of N-nortidine." *Tetrahedron Lett.*, 1991. **32**: 5757-5760.
  39. G. Martin, E. Guitian, L. Castedo, "Intermolecular benzyne cycloaddition (IBC), a versatile approach to benzophenanthridine antitumor alkaloids. Formal synthesis of nitidine and chelerythrine." *J. Org. Chem.*, 1992. **57**: 5907-5911.
  40. R. Beugelmans, M. Bois-Choussy, "A common and general access to berberine and benzo[*c*]phenanthridine alkaloids." *Tetrahedron*, 1992. **48**: 8285-8294.
  41. T. N. Le, S. G. Gang, W-J. Cho, "A facile synthesis of benzo[*c*]phenanthridine alkaloids: oxynitidine and oxysanguinarine using lithiated toluamide-benzonitrile cycloaddition." *Tetrahedron Lett.*, 2004. **45**: 2763 - 2766.
  42. M. Treus, J. C. Estevez, L. Castedo, R. J. Estevez, "A new route to 3-(2-vinylphenyl)-2-methyl-2*H*-isoquinolin-1-ones and benzo[*c*]phenanthridines: total synthesis of fagaronine." *Tetrahedron Lett.*, 2002. **43**: 5323-5325.
  43. T. Minami, A. Nishimoto, M. Hanaoka, "Formal synthesis of nitidine through palladium-catalyzed isocoumarine synthesis." *Tetrahedron Lett.*, 1995. **36**: 9505-9508.
  44. M. Shamma, H. H. Tomlinson, "Synthesis of Oxysanguinarine." *J. Org. Chem.*, 1978. **43**: 2852-2855.

45. M. Cushman, L. Cheng, "Total synthesis of nitidine chloride." *J. Org. Chem.*, 1978. **43**: 286-288.
46. T. A. Olugbade, R. D. Waigh, S. P. Mackay, "A very short route to fully aromatic 2,3,8,9- and 2,3,8,9,12-oxygenated benzo[*c*]phenanthridines." *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1990: 2657-2660.
47. D. Seraphin, M. A. Lynch, O. Duval, "A simple and efficient synthetic route to benzo[*c*]phenanthridines." *Tetrahedron Lett.*, 1995. **36**: 5731-5734.
48. N. Sotomayor, T. Vicente, E. Dominguez, E. Lete, M-J. Villa, "An improved method for the generation of imines and enamides. Application to the synthesis of 3-arylisoquinoline derivatives." *Tetrahedron*, 1994. **50**: 2207-2218.
49. G. Martin, E. Guitian, L. Castedo, J. M. Saa, "Novel entry to benzo[*c*]phenanthridine skeleton through the intermolecular benzyne cycloaddition approach." *Tetrahedron Lett.*, 1987. **28**: 2407-2408.
50. D. Perez, E. Guitian, L. Castedo, "A new approach to the synthesis of antitumor benzophenanthridine alkaloids. Formal synthesis of nitidine." *J. Org. Chem.*, 1992. **57**: 5911-5917.
51. A. Couture, H. Cornet, P. Grandclaude, "A Convenient synthesis of *N*-methyl-3-(2-ethenylphenyl)-1(2*H*)-isoquinolones, key models for the elaboration of the benzo[*c*]phenanthridinone and phenanthridine skeletons." *Tetrahedron Lett.*, 1993. **34**: 8097-8100.
52. I. Kock, D. Heber, M. Weide, U. Wolschendorf, B. Clement, "Synthesis and biological evaluation of 11-substituted 6-aminobenzo[*c*]phenanthridine derivatives, a new class of antitumor agents." *J. Med. Chem.*, 2005. **48**: 2772-2777.
53. B. Clement, M. Weide, U. Wolschendorf, I. Kock, "A two-step synthesis of cytostatically active benzo[*c*]phenanthridine derivatives." *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 635-638, 2005. **44**: 635-638.
54. A. Padwa, C. K. Eidell, "Preparation and cycloaddition chemistry of 1-amino substituted isobenzofurans." *Arkivoc*, 2003. **xiv**: 62-76.
55. C. Bailly, "Topoisomerase I inhibitors and suppressors." *Curr. Med. Chem.*, 2000. **7**.
56. V. Simanek, "The alkaloids." 1986. **26**: 185.
57. A. Sedo, K. Vlasticova, P. Bartak, R. Vespalec, J. Vicar, V. Simanek, J. Ulrichova, "Quaternary benzo[*c*]phenanthridine alkaloids as inhibitors of aminopeptidase N and dipeptidyl peptidase IV." *Phytother. Res.*, 2002. **16**: 84-87.
58. J. M. Nyangulu, S. L. Hargreaves, S. L. Sharples, S. P. Mackay, R. D. Waigh, O. Duval, E. K. Mberu, W. M. Watkins, "Antimalarial benzo[*c*]phenanthridines." *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005. **15**: 2007-2010.
59. A. Caprespine, J.-O. Bay, C. Barthoneuf, H. Cure, P. Chollet, E. Debiton, "In vitro assessment of cytotoxic agent combinations for hormone-refractory prostate cancer treatment." *Anti-Cancer Drug*, 2005. **16**: 417.
60. T. Nakanishi, A. Masuda, M. Suwa, Y. Akiyama, N. H. Abe and M. Suzuki, "Synthesis of derivatives of NK109, 7-OH benzo[*c*]phenanthridine alkaloid, and evaluation of their cytotoxicities and reduction-resistant properties." *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2000. **10**: 2321-2323.



61. E. J. LaVoie, L. F. Liu, D. B. Makhey, "Substituted heterocycles as antitumor agents." 1999: *United States Patent- 5, 981, 54*: 1-2.
62. J. A. Holden, D. H. Rolfson, G. T. Wittwer, "Human DNA topoisomerase II: Evaluation of enzyme activity in normal and neoplastic tissues." *Biochemistry*, 1990. **29**: 2127-2134.
63. J. B. Leppard, J. J. Champoux, "Human DNA topoisomerase I: relaxation, roles, and damage control." *Chromosoma*, 2005. **114** (2): 75-85.
64. L. K. Wang, R. K. Johnson, S. M. Hecht, "Inhibition of topoisomerase I function by nitidine and fagaronin." *Chem. Res. Toxicol.*, 1993. **6**: 813-818.
65. S. D. Fang, L. K. Wang, S. M. Hecht, "Inhibitors of DNA topoisomerase I isolated from the roots of *zanthoxylum nitidum*." *J. Org. Chem.*, 1993. **58**: 5025-5027.
66. K. Schulte, "Synthese von Phenanthridin- und Benzo[c]phenanthridin-Derivaten und Untersuchungen auf ihre biologische Wirkung", *Doktor der Naturwissenschaften*. 2000, Universität Kaiserslautern: Kaiserslautern: 12, 18,19.
67. I. Husain, J. Mohler, H. F. Seigler, J. M. Besterman, "Elevation of topoisomerase I messenger RNA, protein, and catalytic activity in human tumors: demonstration of tumor type specificity and implications for cancer chemotherapy." *Cancer Res.*, 1994. **54** (2): 539-546.
68. W. A. Denny, "Chemotherapeutic Agents - Synthetic DNA-targeted chemotherapeutic agents and related tumor-activated prodrugs", in *Book "Chemotherapeutic Agents - Synthetic DNA-targeted chemotherapeutic agents and related tumor-activated prodrugs"*, D. J. Abraham, Editor. 2003, John Wiley & Sons, Inc.: Virginia. 72.
69. B. C. Giovanella, J. S. Stehlin, M. E. Wall, M. C. Wani, A. Nicholas, L. F. Liu, R. Silber, M. Potmesil, "DNA topoisomerase I-targeted chemotherapy of human colon cancer in xenografts." *Science*, 1989. **246**: 1046-1048.
70. A.G. Zee, H. Hollema, S. D. Jong, H. Boonstra, A. Gouw, P. H. Willemse, J. G. Zijlstra, E.G.D. Vries, "P-glycoprotein expression and DNA topoisomerase I and II activity in benign tumors of the ovary and in malignant tumors of the ovary, before and after platinum/cyclophosphamide chemotherapy." *Cancer Res.*, 1991. **51**: 5915-5920.
71. A. Y. T. Yoshinari, D. Uemura, K. Nomura, H. Arakawa, K. Kojiri, E. Yoshida, H. Suda, A. Okura, "Induction of topoisomerase I - mediated ADN cleavage by new indolocarbazole, ED-110". *Cancer research*, 1993. **53**(3): 490-494.
72. A. L. Ruchelman, S. K. Singh, A. Liu, N. Zhou, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "Cytotoxicity of 5H- dibenzo[c,h][1,6]naphthyridin-6-ones and 6H-indeno[1,2-c]isoquinolin-5,11-diones in tumor cells sensitive and resistant to camptothecin analogs." *Lett. Drug Des. Discov.*, 2004. **12**: 198-202.
73. C. M. Whitacre, E. Zborowska, N. H. Gordon, W. Mackay, N. A. Berger, "Topotecan increases topoisomerase II alpha levels and sensitivity to treatment with etoposide in schedule-dependent process." *Cancer Res.*, 1997. **57**(8): 1425-1428.
74. A. D. William, "Dual topoisomerase I/II poisons as anticancer drugs". *Expert opinion on investigational drugs*, 1997. **6**(12): 1845-1851.

75. L. A. Mitscher, A. Dutta, "Chemotherapeutic Agents- Antitumor natural products", in *Book "Chemotherapeutic Agents- Antitumor natural products"*, D. J. Abraham, Editor. 2003, John Wiley & Sons, Inc.: Virginia. 136.
76. S. Prado, S. Michel, F. Tillequin, M. Koch, B. Pfeiffer, A. Pierre, S. Leonce, P. Colson, B. Baldeyrou, A. Lansiaux, C. Bailly, "Synthesis and cytotoxic activity of benzo[*c*][1,7] and [1,8]phenanthrolines analogues of nitidine and fagaronine." *Bioorg. Med. Chem.*, 2004. **12**: 3943-3953.
77. K. Morohashi, A. Yoshino, A. Yoshimori, S. Saito, S. Tanuma, K. Sakaguchi, F. Sugawara, "Identification of a drug target motif: An anti-tumor drug NK 109 interacts with a PNxxxxP." *Biochem. Pharmacol.*, 2005. **70**: 37-46.
78. A. Ianoul, F. Fleury, O. Duval, R. Waigh, J-C. Jardillier, A. J. P. Alix, I. Nabiev, "DNA binding by fagaronine and ethoxidine, Inhibitors of human DNA topoisomerases I and II, probed by SERS and flow dichroism spectroscopy." *J. Phys. Chem. B*, 1999. **103**: 2008-2013.
79. J. Wolff, L. Knipling, "Antimicrotubule properties of benzophenanthridine alkaloids." *Biochemistry*, 1993. **32**: 13334-13339.
80. M. Arisawa, J. M. Pezzuto, C. Bevelle, G. A. Cordell, "Potential anticancer agents XXXI. N-Demethylation of fagaronine." *J. Nat. Prod.*, 1984. **47**(3): 453-458.
81. D. Walterova, J. Ulricova, V. Preininger, V. Simanek, "Inhibition of liver alanine aminotransferase activity by some benzophenanthridine alkaloids." *J. Med. Chem.*, 1981. **24**: 1100-1103.
82. D. Makhey, D. Li, B. Zhao, S-P. Sim, T-K. Li, A. Liu, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "Substitued benzo[*i*]phenanthridines as mammalian topoisomerase-targeting agents." *Bioorg. Med. Chem.*, 2003. **11**: 1809-1820.
83. K. Y. Robert, Z. Cheng, C. C. Cheng, "Preparation and antileukemic activity of some alkoxybenzo[*c*]phenanthridinium salts and corresponding dihydro derivatives." *J. Med. Chem.*, 1975. **18**: p. 66-71.
84. K. Y. Robert, Z. Cheng, S-J. Yan, C. C. Cheng, "Antileukemic activity of ungeremine and related compounds. Preparation of analogues of ungeremine by a practical photochemical reaction." *J. Med. Chem.*, 1978. **21**: 199-203.
85. F. R. Stermitz, K. A. Larson, D. K. Kim, "Some structural relationships among cytotoxic and antitumor benzophenanthridine alkaloid derivatives." *J. Med. Chem.*, 1973. **16**: 939-940.
86. L-P. Bai, Z-Z. Zhao, Z. Cai, Z-H Jiang, "DNA-binding affinities and sequence selectivity of quaternary benzo[*c*]phenanthridine alkaloids sanguinarine, chelerythrine, and nitidine." *Bioorg. Med. Chem.*, 2006. **14**: 5439-5445.
87. Y. Qin, J-Y. Pang, W-H. Chan, Z. Cai, Z-H. Jiang, "Synthesis, DNA-binding affinities, and binding mode of berberine dimers." *Bioorg. Med. Chem.*, 2006. **14**: 25-32.
88. T. Nakanishi, M. Suzuki, "Synthesis and cytotoxic activities of a new benzo[*c*]phenanthridine alkaloid, 7-hydroxynitidine, and some 9-oxygenated benzo[*c*]phenanthridine derivatives." *Organic Lett.*, 1999. **7**: 985-988.
89. T. Nakanishi, M. Suzuki, A. Saimoto, T. Kabasawa, "Structural considerations of NK109, an antitumor benzo[*c*]phenanthridine alkaloid." *J. Nat. Prod.*, 1999. **62**: 864-867.

90. D. Li, B. Zhao, S-P. Sim, T-K. Li, A. Liu, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "2,3-dimethoxybenzo[*i*]phenanthridines: Topoisomerase I- targeting anticancer agents." *Bioorg. Med. Chem.*, 2003. **11**: 521-528.
91. D. Li, B. Zhao, S-P. Sim, T-K. Li, A. Liu, L. F. Liu, A. Liu. E. J. LaVoie, "8,9-Methylenedioxybenzo[*i*]phenanthridines: Topoisomerase I- targeting activity and cytotoxicity." *Bioorg. Med. Chem.*, 2003. **11**: 3795-3805.
92. S. Zhu, A. L. Ruchelman, N. Zhou, A. A. Liu, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "Esters and amides of 2,3-dimethoxy-8,9-methyenedioxy-benzo[*i*]phenanthridine-12-carboxylic acid: potent cytotoxic and topoisomerase I-targeting agents." *Bioorg. Med. Chem.*, 2005. **13**: 6782-6794.
93. Y. Yu, S. K. Singh, A. Liu, T-K. Li, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "Substituted dibenzo[*c,h*]cinnolines: Topoisomerase I-targeting anticancer agents." *Bioorg. Med. Chem.*, 2003. **11**: 1475-1491.
94. A. L. Ruchelman, S. K. Singh, X. Wu, A. Ray, J-M. Yang, T-K. Li, A. Liu, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "Diaza- and Triazachrysenes: Potent topoisomerase-targeting agents with exceptional antitumor activity against the human tumor xenograft, MDA-MB-435." *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2002. **12**: 3333-3336.
95. A. L. Ruchelman, S. Zhu, Nai Zhou, A. Liu, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "Dimethoxybenzo[*i*]phenanthridine-12-carboxylic acid derivatives and 6*H*-dibenzo[*c,h*][2,6]naphthyridin-5-ones with potent topoisomerase I-targeting activity and cytotoxicity." *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004. **14**: 5585-5589.
96. M. Cushman, L. Cheng, "Stereoselective oxidation by thionylchloride leading to the indeno[1,2,*c*]isoquinoline system." *J. Org. Chem.*, 1978. **43**: 3781-3783.
97. G. Kohlhagen, K. Paull, M. Cushman, P. Nagafuji, Y. Pommier, "Protein-linked DNA strand breaks induced by NSC 314622, a novel noncamptothecin topoisomerase I poison." *Mol. Pharmacol.*, 1998. **54**: 50-58.
98. D. Strumberg, Y. Pommier, K. Paull, M. Jayaraman, P. Nagafuji, M. Cushman, "Synthesis of cytotoxic indenoisoquinoline topoisomerase I poisons." *J. Med. Chem.*, 1999. **42**: 446-457.
99. M. Cushman, P. Mohan, E. C. R. Smith, "Synthesis and biological activity of structural analogs of the anticancer benzophenanthridine alkaloid nitidine chloride." *J. Med. Chem.*, 1984. **27**: 544-547.
100. M. Cushman, P. Mohan, "Synthesis and antitumor activity of structural analogues of the anticancer benzophenanthridine alkaloid fagaronine chloride." *J. Med. Chem.*, 1985. **28**: 1031-1036.
101. S. Zhu, A. L. Ruchelman, N. Zhou, A. Liu, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "6-Substituted 6*H*-dibenzo[*c,h*][2,6]naphthyridin-5-ones: Reversed lactam analogues of ARC-111 with potent topoisomerase I-targeting activity and cytotoxicity." *Bioorg. Med. Chem.*, 2006. **14**: 3131-3143.
102. E. Bisagni, C. Landra, S. Thiro, C. Huel, "A convenient way to dibenzo[*c,h*]-1,5-naphthyridines (11-azabenzoc[*c*]phenanthridines)." *Tetrahedron*, 1996. **52**: 10427-10440.
103. Y. Saoudi. A. Erve, S. Thiro, C. Guetta-Landras, J-C. Florent, C-H. Nguyen, D. S. Grierson, A. V. Popov, "BENA435, a new cell-permeant photoactivated green fluorescent DNA probe". *Nucleic Acids Research*, 2006. **34**(5): e43.

104. Saa, E. Guitian, L. Castedo, "A regioselective entry to 13-substituted 8-oxoprotoberberines. Total synthesis of corydaline." *J. Org. Chem.*, 1986. **51**: 2781-2784.
105. N. Atanes, L. Castedo, E. Guitian, C. Saa, J. M. Saa, R. Suau, "Intermolecular benzyne cycloaddition approach to aporphinoids. Total syntheses of norcepharadione B, cepharadione B, dehydroanonaine, duguenaine, dehydronornuciferine, pontevedrine, o-methylatheroline, lysicamoine, and alkaloid PO-3." *J. Org. Chem.*, 1991. **56**: 2984-2988.
106. S. J. Connon, A. F. Hegarty, "Stabilised 2,3-Pyridyne Reactive Intermediates of Exceptional Dienophilicity". *Eur. J. Org. Chem.*, 2004: 3477-3483.
107. S. J. Connon, A. F. Hegarty, "Substituted 3,4-pyridynes: clean cycloadditions." *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 2000: 1245-1249.
108. M. Diaz, A. Cobas, E. Guitian, L. Castedo, "Polar control of the regioselectivity of hetaryne cycloadditions. Synthesis of ellipticine." *Synlett*, 1988: 157-158.
109. N. Mariet, M. Ibrahim-Ouali, M. Santelli, "First [2+2]-cycloaddition of a 3,4-didehydropyridine and a ketene dialkyl acetal". *Tetrahedron Letters*, 2002. **43**: 5789-5791.
110. T. Lauce, A. Plagens, "Named organic reactions. Diels-Alder reactions." 1995, B. G. Teubner: 85.
111. C. May, C. J. Moody, "A new precursor to 3,4-didehydropyridine, and its use in the synthesis of the antitumour alkaloid ellipticine." *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1988: 247-250.
112. D. Perez, G. Bures, E. Guitian, L. Castedo, "Synthesis of antitumor lycorines by intramolecular Diels-Alder reaction." *J. Org. Chem.*, 1996. **61**: 1650-1654.
113. J. L. Charlton, M. M. Alauddin, "Asymmetric lignan synthesis: isolaricirecinol dimethyl ether." *J. Org. Chem.*, 1986. **51**: 3490-3493.
114. A. Bruggink, S. J. Ray, A. McKillop, "Copper catalyzed arylation of beta-dicarbonyl compounds: 2-(1-acetyl-2-oxopropyl) benzoic acid." *Org. Synth.*, 1988. **Coll. Vol 6**: 36.
115. A. Bruggink, S. J. Ray, A. McKillop, "A study of the copper-catalysed direct arylation of beta-dicarbonyl compounds with 2-bromobenzoic acids." *Tetrahedron*, 1975. **31**: 2607-2619.
116. I. W. Elliott Jr, "Synthesis of laudanosine and a study of 1-benzyl-3-isoquinolone intermediates." *J. Heterocyclic Chem.*, 1972. **9**: p. 853-857.
117. T. Harayama, T. Akiyama, H. Akamatsu, K. Kawano, H. Abe, Y. Takeuchi, "Total synthesis of benzo[*c*]phenanthridine alkaloids, chelerythrine and 12-methoxydihydrochelerythrine, by a palladium-assisted internal biaryl coupling reaction." *Synthesis*, 2001. **3**: 444-450.
118. M. T. Nguyen, "Heterocyclic chemistry". 2001, Hanoi, Educational publisher: 144 -163.
119. M. C. Carrefio, J. L. Garcia Ruano, G. Sanz, M. A. Toledo, A. Urbano, "N-Bromosuccinimide in acetonitrile: A mild and regiospecific nuclear brominating reagent for methoxybenzenes and naphthalenes." *J. Org. Chem.*, 1995. **60**: 5328-5331.

120. R. H. Mitchell, Y-H. Lai, R. V. Williams, "N-Bromosuccinimide-dimethylformamide: A mild, selective nuclear monobromination reagent for reactive aromatic compounds." *J. Org. Chem.*, 1979. **44**(25): 4733-4735.
121. F. L. Lambert, W. D. Ellis, R. J. Parry, "Halogenation of aromatic compounds by N-bromo- and N-Chlorosuccinimide under ionic conditions." *J. Org. Chem.*, 1965. **30**: 304-306.
122. W. D. Brown, A. H. Gouliaev, "Synthesis of 5-bromoisoquinoline and 5-bromo-8-nitroisoquinoline." *Org. Synth.*, 2005. **81**: 98-104.
123. A. Gomtsyan, E. K. Bayburt, R. G. Schmidt, G. Z. Zheng, "Novel transient receptor potential vanilloid 1 receptor antagonists for the treatment of pain: Structure-activity relationships for ureas with quinoline, isoquinoline, quinazoline, phthalazine, quinoxaline, and cinnoline moieties." *J. Med. Chem.*, 2005. **48**: 744-752.
124. M. Hanaoka, W. J. Cho, S. Yoshida, T. Fueki, C. Mukai, "A new and convenient synthesis of macarpine and dihydromacarpine from oxychelirubine." *Heterocycles*, 1989. **29**(5): 857-860.
125. K. Shishido, K. Gotoc, S. Miyoshib, Y. Takaishia, M. Shibuyab, "Total synthesis of ( $\pm$ )-triptoquinone A." *Tetrahedron Lett.*, 1993. **34** (2): 339-340.
126. J. A. Ragan, B. P. Jones, M. J. Castaldi, P. D. Hill, T. W. Makowski, "Ullman methoxylation in the presence of a 2,5-dimethylpyrrole-blocked aniline: preparation of 2-fluoro-4-methoxyaniline." *Org. Synth.*, 2004. **10**: 418.
127. A. Graulich, J. Scuvee-Moreau, V. Seutin, J-F. Liegeois, "Synthesis and radioligand binding studies of C-5- and C-8-substituted 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-2,2-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoliniums as SK channel blockers related to N-methyl-laudanosine and N-methyl-noscapine." *J. Med. Chem.*, 2005. **48**: 4972-4982.
128. D. Farge, A. Jossin, G. Ponsinet, D. Reisdorf, "Thiazolo[3,4-*b*]isoquinolines." *United States Patent*, 4,363,909, 1982: 9.
129. M. B. Smith, J. March, "Advanced organic chemistry." Fifth edition, 2001, NewYork, Wiley - Interscience: 506-507.
130. A. L. Ruchelman, S. K. Singh, A. Ray, X. H. Wu, J-M. Yang, T-K. Li, A. Liu, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "5*H*-Dibenzo[*c,h*]1,6-naphthyridine-6-ones: Novel topoisomerase I-targeting anticancer agents with potent cytotoxic activity." *Bioorg. Med. Chem.*, 2003. **11**: 2061-2073.
131. T. Harayama, T. Akiyama, Y. Nakano, K. Shibaike, H. Akamatsu, A. Hori, H. Abe, Y. Takeuchi, "Synthesis of benzo[*c*]phenanthridine alkaloids, using a novel palladium-phosphine combination system- Pd(OAc)<sub>2</sub>, DPPP, and Bu<sub>3</sub>P." *Synthesis*, 2002 (2): 237-241.
132. W.-J. Cho, E.-K. Kim, I. Y. Park, E. Y. Jeong, T. S. Kim, T. N. Le, D.-D. Kim et E.-S. Lee, "Molecular modeling of 3-arylisoquinoline antitumor agents active against A-549. A comparative molecular field analysis study". *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2002. **10**: 2953-2961.
133. J. D. White, D. J. Wardrop et K. F. Sundermann, "(2*S*)-(-)-3-exo-(Dimethylamino)isoborneol [(2*S*)-(-)-DAIB]". *Organic Syntheses*, 2004. **10**: 305.
134. T. Lauce, A. Plagens, "Named organic reactions." 1995, B. G. Teubner: 144-145.

135. T. Harayama, T. Sato, A. Hori, H. Abe, Y. Takeuchi, "Novel synthesis of naphthobenzazepines from *N*-bromobenzylnaphtylamines by regioselective C-H activation utilizing the intramolecular coordination of an amine to Pd." *Synlett*, 2003. **8**: 1141-1144.
136. M. Hanaoka, W. J. Cho, S. Yoshida, T. Fueki, C. Mukai, "Chemical transformation of protoberberines. Regioselective introduction of an oxy functionality at the C<sub>12</sub>-position of the benzo[*c*]phenanthridine skeleton: A convenient synthesis of macarpine from oxychelirubine." *Chem. Pharm. Bull.*, 1990. **38** (12): 3335-3340.
137. M. Cushman, T-C. Choong, J. T. Valko, M. P. Koleček, "Total synthesis of chelidonine." *J. Org. Chem.*, 1980. **45**: 5067-5073.
138. S. D. Burke, R. L. Danheiser, "Handbook of reagents for organic synthesis. Oxidizing and reducing agents." 1999, Chichester, UK, John Wiley & Sons: 199-200.
139. R. Marek, J. Tousek, J. Dostal, J. Slavik, R. Dommissé, V. Skllénar, "<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR study of quaternary benzo[*c*]phenanthridine alkaloids." *Magn. Reson. Chem.*, 1999. **37**: 781-787.
140. P. Seckarova, R. Marek, J. Dostal, R. Dommissé, E. L. Esmans, "Structural studies of benzophenanthridine alkaloid free bases by NMR spectroscopy." *Magn. Reson. Chem.*, 2002. **40**: 147-152.
141. S. V. Kessar, R. Gopal, M. Singh, "New routes to condensed polynuclear compounds- VII. Synthesis of phenanthridines through a novel cyclisation reaction of haloanils." *Tetrahedron*, 1973. **29**:167-175.
142. B. S. Furniss, A. J. Hannaford, P. W. G. Smith, A. R. Tatchell, "Vogel's textbook of practical organic chemistry." 1989, London, Longman Scientific Technical: 603.
143. A. K. Debnath, "Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Paradigm- Hansch Era to New Millenium". *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2001. **I**: 187-195.
144. H. Waterbeemd, S. Rose, "Quantitative approaches to structure-activity relationships", in *Book "Quantitative approaches to structure-activity relationships"*. 2003, Elsevier. 351-367.
145. C. D. Selassie, "History of quantitative Structure-Activity relationships", in *Book "History of quantitative Structure-Activity relationships"*, D. J. Abraham, Editor. 2003, John Wiley & Sons, Inc.: California.
146. H. Gonzalez-Diaz, E. Olazabal, L. Santana, E. Uriarte, Y. Gonzalez-Diaz, N. Castanedo, "QSAR study of anticoccidial activity for diverse chemical compounds: Prediction and experimental assay of trans-2-(2-nitrovinyl)furan." *Bioorg. Med. Chem.*, 2007. **15**: 962-968.
147. M. T. Scotti, M. B. Fernandes, M. J. P. Ferreira, V. P. Emerenciano, "Quantitative structure-activity relationship of sesquiterpene lactones with cytotoxic activity." *Bioorg. Med. Chem.*, 2007. **15**: 2927-2934.
148. G. Thomas, "Fundamentals of Medicinal Chemistry". "The SAR and QSAR approaches to drug design". 2003: John Wiley & Sons, Ltd.
149. H-J. Bohm, G. Schneider, "Virtual Screening for Bioactive Molecules." 2000, Germany: Wiley-VCH.

150. R. B. Silverman, "The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action." 2<sup>nd</sup> ed. 2004, USA: Elsevier.
151. N. Trinajstić, S. Nikolić, S. C. Basak, I. Lukovits, "Distances indices and their hypercounterparts: Intercorrelation and use in the structure-property modeling." *SAR QSAR Environ. Res.*, 2001. **12**: 31-54.
152. R. D. Cramer, D. E. Patterson, J. D. Bunce, "Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins." *J. Am. Chem. Soc.*, 1988. **110**: 5959-5967.
153. C-B. Xue, L. Zhang, W-C. Luo, X-Y. Xie, L. Jiang, T. Xiao, "3D-QSAR and molecular docking studies of benzaldehyde thiosemicarbazone, benzaldehyde, benzoic acid, and their derivatives as phenoloxidase inhibitors." *Bioorg. Med. Chem.*, 2007. **15**: 2006-2015.
154. H. Kubinyi, G. Folkers, Y. C. Martin, "3D QSAR in Drug Design." Vol. II, III. 1998, Great-Britain: Kluwer Academic.
155. Chemical Computing Group Inc, "MOE", *H3A, 2R7*. 2006, <http://www.chemcomp.com>: Montreal, Canada.
156. A. L. Ruchelman, S. K. Singh, X. Wu, A. Ray, J-M. Yang, N. Zhou, A. Liu, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "11H-Isoquino[4,3-c]cinnolin-12-ones: novel anticancer agents with potent topoisomerase I-targeting activity and cytotoxicity." *Bioorg. Med. Chem.*, 2004. **12** (4): 795-806.
157. A. L. Ruchelman, J. E. Kerrigan, T-K. Li, N. Zhou, A. Liu, L. F. Liu, E. J. LaVoie, "Nitro and amino substitution within the A-ring of 5H-8,9-dimethoxy-5-(2-N,N-dimethylaminoethyl)dibenzo[*c,h*][1,6]-naphthyridin-6-ones: influence on topoisomerase I-targeting activity and cytotoxicity." *Bioorg. Med. Chem.*, 2004. **12** (13): 3731-3742.
158. W-J. Cho, E-K. Kim, I. Y. Park, E. Y. Jeong, T. S. Kim, T. Nguyen Le, D-D. Kim, E-S. Lee, "Molecular modeling of 3-arylisoquinoline antitumor agents active against A-549. A comparative molecular field analysis study". *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2002. **10**: 2953-2961.
159. W-J. Cho, S. Y. Min, T. Nguyen Le, T. S. Kim, "Synthesis of new 3-arylisoquinolinamines: effect on Topoisomerase I, inhibition and cytotoxicity." *Bioorg. Med. Chem.*, 2003. **13**: 4451-4454.

# **ANNEXE**



## Microtiter plate tetrazolinium cytotoxicity assay (MTA)

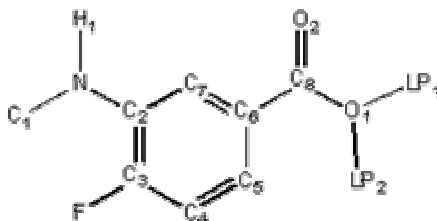
The IC<sub>50</sub> values determined using the MTT-microtiter plate tetrazolinium cytotoxicity assay (MTA) on human lymphoblast RPMI 8402 cell line. The cytotoxicity assay was performed using 96-well microtiter plates. Cells were grown in suspension at 37 °C in 5%CO<sub>2</sub> and maintained by regular passage in RPMI medium supplemented with 10% heat- inactivated fetal bovine serum, l-glutamine (2 mM), penicillin (100 U/mL), and streptomycin (0.1 mg/mL). Each well was plated with approximately 2000 RPMI8402 cells. For determination of IC<sub>50</sub>, cells were exposed continuously for 4 days to varying concentrations of drug, and MTT assays were performed at the end of the fourth day. Each assay was performed with a control that did not contain any drug. All assays were performed at least twice in six replicate wells.

## 2D Molecular Descriptors

2D molecular descriptors are defined to be numerical properties that can be calculated from the connection table representation of a molecule (*e.g.*, elements, formal charges and bonds, but not atomic coordinates). 2D descriptors are, therefore, not dependent on the conformation of a molecule and are most suitable for large database studies.

## Notation and Terminology

Many descriptors make use of several fundamental quantities that can be computed from a chemical structure. This section will define these fundamental quantities. For purposes of illustration, the following chemical structure will be used:



The fundamental quantities of a chemical structure depend solely on the structure *as drawn*, *i.e.*, no modifications to the structure are implied with the exception of the addition or subtraction of hydrogen atoms to full valence.

$Z$  denotes the *atomic number* of an atom; lone pair pseudo-atoms (LP) are given an atomic number of 0. *Heavy atoms* are atoms that have an atomic number strictly greater than 1 (not H nor LP). A *trivial atom* is an LP pseudo-atom or a hydrogen with exactly one heavy neighbor. In the reference structure, H<sub>1</sub>, LP<sub>1</sub> and LP<sub>2</sub> are trivial.

The *hydrogen count*,  $h$ , of an atom is the number of hydrogens to which it is (or should be) attached. This count includes all hydrogen atoms that are necessary to fill valence. In the reference structure, F has  $h = 0$ , N has  $h = 1$  and O<sub>1</sub> has  $h = 1$ .

The *heavy degree*,  $d$ , of an atom is the number of heavy atoms to which it is bonded. That is,  $d$  is the number of bonded neighbors of the atom in the hydrogen suppressed graph. In the reference structure, F has  $d = 1$ , C<sub>6</sub> has  $d = 3$  and N has  $d = 2$ .

## Physical Properties

The following physical properties can be calculated from the connection table (with no dependence on conformation) of a molecule:

Code	Description
AM1_dipole	The dipole moment calculated using the AM1 Hamiltonian [MOPAC].
AM1_E	The total energy (kcal/mol) calculated using the AM1 Hamiltonian [MOPAC].
AM1_Eele	The electronic energy (kcal/mol) calculated using the AM1 Hamiltonian [MOPAC].
AM1_HF	The heat of formation (kcal/mol) calculated using the AM1 Hamiltonian [MOPAC].
AM1_IP	The ionization potential (kcal/mol) calculated using the AM1 Hamiltonian [MOPAC].
AM1_LUMO	The energy (eV) of the Lowest Unoccupied Molecular Orbital calculated using the AM1 Hamiltonian [MOPAC].
AM1_HOMO	The energy (eV) of the Highest Occupied Molecular Orbital calculated using the AM1 Hamiltonian [MOPAC].
apol	Sum of the atomic polarizabilities (including implicit hydrogens) with polarizabilities taken from [CRC 1994].
bpol	Sum of the absolute value of the difference between atomic polarizabilities of all bonded atoms in the molecule (including implicit hydrogens) with polarizabilities taken from [CRC 1994].
density	Molecular mass density: <code>weight</code> divided by <code>vdw_vol</code> .
FCharge	Total charge of the molecule (sum of formal charges).
MNDO_dipole	The dipole moment calculated using the MNDO Hamiltonian [MOPAC].
MNDO_E	The total energy (kcal/mol) calculated using the MNDO Hamiltonian [MOPAC].
MNDO_Eele	The electronic energy (kcal/mol) calculated using the MNDO Hamiltonian [MOPAC].
MNDO_HF	The heat of formation (kcal/mol) calculated using the MNDO Hamiltonian [MOPAC].

MNDO_IP	The ionization potential (kcal/mol) calculated using the MNDO Hamiltonian [MOPAC].
MNDO_LUMO	The energy (eV) of the Lowest Unoccupied Molecular Orbital calculated using the MNDO Hamiltonian [MOPAC].
MNDO_HOMO	The energy (eV) of the Highest Occupied Molecular Orbital calculated using the MNDO Hamiltonian [MOPAC].
mr	Molecular refractivity (including implicit hydrogens). This property is calculated from an 11 descriptor linear model [MREF 1998] with $r^2 = 0.997$ , RMSE = 0.168 on 1,947 small molecules.
PM3_dipole	The dipole moment calculated using the PM3 Hamiltonian [MOPAC].
PM3_E	The total energy (kcal/mol) calculated using the PM3 Hamiltonian [MOPAC].
PM3_Eele	The electronic energy (kcal/mol) calculated using the PM3 Hamiltonian [MOPAC].
PM3_HF	The heat of formation (kcal/mol) calculated using the PM3 Hamiltonian [MOPAC].
PM3_IP	The ionization potential (kcal/mol) calculated using the PM3 Hamiltonian [MOPAC].
PM3_LUMO	The energy (eV) of the Lowest Unoccupied Molecular Orbital calculated using the PM3 Hamiltonian [MOPAC].
PM3_HOMO	The energy (eV) of the Highest Occupied Molecular Orbital calculated using the PM3 Hamiltonian [MOPAC].
SMR	Molecular refractivity (including implicit hydrogens). This property is an atomic contribution model [Crippen 1999] that assumes the correct protonation state (washed structures). The model was trained on ~7000 structures and results may vary from the mr descriptor.
Weight	Molecular weight (including implicit hydrogens) with atomic weights taken from [CRC 1994].
logP (o/w)	Log of the octanol/water partition coefficient (including implicit hydrogens). This property is calculated from a linear atom type model [LOGP 1998] with $r^2 = 0.931$ , RMSE=0.393 on 1,827 molecules.
logS	Log of the aqueous solubility This property is calculated from an atom contribution linear atom type model [Hou 2004] with $r^2 = 0.90$ , ~1,200 molecules.
reactive	Indicator of the presence of reactive groups. A non-zero value indicates that the molecule contains a reactive group. The table of reactive groups is based on the Oprea set [Oprea 2000] and includes metals, phospho-, N/O/S-N/O/S single bonds, thiols, acyl halides, Michael Acceptors, azides, esters, etc.

SlogP	Log of the octanol/water partition coefficient (including implicit hydrogens). This property is an atomic contribution model [Crippen 1999] that calculates logP from the given structure; i.e., the correct protonation state (washed structures). Results may vary from the $\log P_{(o/w)}$ descriptor. The training set for SlogP was ~7000 structures.
TPSA	Polar surface area calculated using group contributions to approximate the polar surface area from connection table information only. The parameterization is that of Ertl <i>et al.</i> [Ertl 2000].
vdw_vol	van der Waals volume calculated using a connection table approximation.
vdw_area	Area of van der Waals surface calculated using a connection table approximation.

### Subdivided Surface Areas

The Subdivided Surface Areas are descriptors based on an approximate accessible van der Waals surface area calculation for each atom,  $v_i$  along with some other atomic property,  $p_i$ . The  $v_i$  are calculated using a connection table approximation. Each descriptor in a series is defined to be the sum of the  $v_i$  over all atoms  $i$  such that  $p_i$  is in a specified range  $(a,b]$ .

In the descriptions to follow,  $L_i$  denotes the contribution to logP(o/w) for atom  $i$  as calculated in the SlogP descriptor [Crippen 1999].  $R_i$  denotes the contribution to Molar Refractivity for atom  $i$  as calculated in the SMR descriptor [Crippen 1999]. The ranges were determined by percentile subdivision over a large collection of compounds.

Code	Description
SlogP_VSA0	Sum of $v_i$ such that $L_i \leq -0.4$ .
SlogP_VSA1	Sum of $v_i$ such that $L_i$ is in $(-0.4,-0.2]$ .
SlogP_VSA2	Sum of $v_i$ such that $L_i$ is in $(-0.2,0]$ .
SlogP_VSA3	Sum of $v_i$ such that $L_i$ is in $(0,0.1]$ .
SlogP_VSA4	Sum of $v_i$ such that $L_i$ is in $(0.1,0.15]$ .
SlogP_VSA5	Sum of $v_i$ such that $L_i$ is in $(0.15,0.20]$ .
SlogP_VSA6	Sum of $v_i$ such that $L_i$ is in $(0.20,0.25]$ .
SlogP_VSA7	Sum of $v_i$ such that $L_i$ is in $(0.25,0.30]$ .
SlogP_VSA8	Sum of $v_i$ such that $L_i$ is in $(0.30,0.40]$ .
SlogP_VSA9	Sum of $v_i$ such that $L_i > 0.40$ .
SMR_VSA0	Sum of $v_i$ such that $R_i$ is in $[0,0.11]$ .
SMR_VSA1	Sum of $v_i$ such that $R_i$ is in $(0.11,0.26]$ .
SMR_VSA2	Sum of $v_i$ such that $R_i$ is in $(0.26,0.35]$ .
SMR_VSA3	Sum of $v_i$ such that $R_i$ is in $(0.35,0.39]$ .

SMR_VSA4	Sum of $v_i$ such that $R_i$ is in (0.39,0.44].
SMR_VSA5	Sum of $v_i$ such that $R_i$ is in (0.44,0.485].
SMR_VSA6	Sum of $v_i$ such that $R_i$ is in (0.485,0.56].
SMR_VSA7	Sum of $v_i$ such that $R_i > 0.56$ .

## Atom Counts and Bond Counts

The atom count and bond count descriptors are functions of the counts of atoms and bonds (subdivided according to various criteria).

Code	Description
a_aro	Number of aromatic atoms.
a_count	Number of atoms (including implicit hydrogens). This is calculated as the sum of $(1 + h_i)$ over all non-trivial atoms $i$ .
a_heavy	Number of heavy atoms $\#\{Z_i \mid Z_i > 1\}$ .
a_ICM	Atom information content (mean). This is the entropy of the element distribution in the molecule (including implicit hydrogens but not lone pair pseudo-atoms). Let $n_i$ be the number of occurrences of atomic number $i$ in the molecule. Let $p_i = n_i / n$ where $n$ is the sum of the $n_i$ . The value of a_ICM is the negative of the sum over all $i$ of $p_i \log p_i$ .
a_IC	Atom information content (total). This is calculated to be a_ICM times $n$ .
a_nH	Number of hydrogen atoms (including implicit hydrogens). This is calculated as the sum of $h_i$ over all non-trivial atoms $i$ plus the number of non-trivial hydrogen atoms.
a_nB	Number of boron atoms: $\#\{Z_i \mid Z_i = 5\}$ .
a_nC	Number of carbon atoms: $\#\{Z_i \mid Z_i = 6\}$ .
a_nN	Number of nitrogen atoms: $\#\{Z_i \mid Z_i = 7\}$ .
a_nO	Number of oxygen atoms: $\#\{Z_i \mid Z_i = 8\}$ .
a_nF	Number of fluorine atoms: $\#\{Z_i \mid Z_i = 9\}$ .
a_nP	Number of phosphorus atoms: $\#\{Z_i \mid Z_i = 15\}$ .
a_nS	Number of sulfur atoms: $\#\{Z_i \mid Z_i = 16\}$ .
a_nCl	Number of chlorine atoms: $\#\{Z_i \mid Z_i = 17\}$ .
a_nBr	Number of bromine atoms: $\#\{Z_i \mid Z_i = 35\}$ .
a_nI	Number of iodine atoms: $\#\{Z_i \mid Z_i = 53\}$ .
b_1rotN	Number of rotatable single bonds. Conjugated single bonds are not included (e.g., ester and peptide bonds).
b_1rotR	Fraction of rotatable single bonds: b_1rotN divided by b_heavy.
b_ar	Number of aromatic bonds.
b_count	Number of bonds (including implicit hydrogens). This is calculated as the sum of $(d_i/2 + h_i)$ over all non-trivial atoms $i$ .

b_double	Number of double bonds. Aromatic bonds are not considered to be double bonds.
b_heavy	Number of bonds between heavy atoms.
b_rotN	Number of rotatable bonds. A bond is rotatable if it has order 1, is not in a ring, and has at least two heavy neighbors.
b_rotR	Fraction of rotatable bonds: b_rotN divided by b_heavy.
b_single	Number of single bonds (including implicit hydrogens). Aromatic bonds are not considered to be single bonds.
b_triple	Number of triple bonds. Aromatic bonds are not considered to be triple bonds.
chiral	The number of chiral centers.
Chiral_u	The number of unconstrained chiral centers.
lip_acc	The number of O and N atoms.
lip_don	The number of OH and NH atoms.
lip_druglike	One if and only if lip_violation < 2 otherwise zero.
lip_violation	The number of violations of Lipinski's Rule of Five [Lipinski 1997].
nmol	The number of molecules (connected components).
opr_brigid	The number of rigid bonds from [Oprea 2000].
opr_leadlike	One if and only if opr_violation < 2 otherwise zero.
opr_nring	The number of rings from [Oprea 2000].
opr_nrot	The number of rotatable bonds from [Oprea 2000].
opr_violation	The number of violations of Oprea's lead-like test [Oprea 2000].
rings	The number of rings.
VAdjMa	Vertex adjacency information (magnitude): $1 + \log_2 m$ where $m$ is the number of heavy-heavy bonds. If $m$ is zero, then zero is returned.
VAdjEq	Vertex adjacency information (equality): $-(1-f)\log_2(1-f) - f\log_2 f$ where $f = (n^2 - m) / n^2$ , $n$ is the number of heavy atoms and $m$ is the number of heavy-heavy bonds. If $f$ is not in the open interval (0,1), then 0 is returned.

### Kier&Hall Connectivity and Kappa Shape Indices

For a heavy atom  $i$  let  $v_i = (p_i - h_i) / (Z_i - p_i - 1)$  where  $p_i$  is the number of s and p valence electrons of atom  $i$ . The Kier and Hall chi connectivity indices are calculated from the  $d_i$  and  $v_i$  values. The Kier and Hall kappa molecular shape indices [Hall 1991] compare the molecular graph with minimal and maximal molecular graphs, and are intended to capture different aspects of molecular shape. In the following description,  $n$  denotes the number of atoms in the hydrogen suppressed graph,  $m$  is the number of bonds in the hydrogen suppressed graph and  $a$  is the sum of  $(r_i/r_c - 1)$  where  $r_i$  is the covalent radius of

atom  $i$ , and  $r_c$  is the covalent radius of a carbon atom. Also, let  $p_2$  denote the number of paths of length 2 and  $p_3$  the number of paths of length 3.

Code	Description
chi0	Atomic connectivity index (order 0) from [Hall 1991] and [Hall 1977]. This is calculated as the sum of $1/\sqrt{d_i}$ over all heavy atoms $i$ with $d_i > 0$ .
chi0_C	Carbon connectivity index (order 0). This is calculated as the sum of $1/\sqrt{d_i}$ over all carbon atoms $i$ with $d_i > 0$ .
chi1	Atomic connectivity index (order 1) from [Hall 1991] and [Hall 1977]. This is calculated as the sum of $1/\sqrt{d_i d_j}$ over all bonds between heavy atoms $i$ and $j$ where $i < j$ .
chi1_C	Carbon connectivity index (order 1). This is calculated as the sum of $1/\sqrt{d_i d_j}$ over all bonds between carbon atoms $i$ and $j$ where $i < j$ .
chi0v	Atomic valence connectivity index (order 0) from [Hall 1991] and [Hall 1977]. This is calculated as the sum of $1/\sqrt{v_i}$ over all heavy atoms $i$ with $v_i > 0$ .
chi0v_C	Carbon valence connectivity index (order 0). This is calculated as the sum of $1/\sqrt{v_i}$ over all carbon atoms $i$ with $v_i > 0$ .
chi1v	Atomic valence connectivity index (order 1) from [Hall 1991] and [Hall 1977]. This is calculated as the sum of $1/\sqrt{v_i v_j}$ over all bonds between heavy atoms $i$ and $j$ where $i < j$ .
chi1v_C	Carbon valence connectivity index (order 1). This is calculated as the sum of $1/\sqrt{v_i v_j}$ over all bonds between carbon atoms $i$ and $j$ where $i < j$ .
Kier1	First kappa shape index: $(n-1)^2 / m^2$ [Hall 1991].
Kier2	Second kappa shape index: $(n-1)^2 / m^2$ [Hall 1991].
Kier3	Third kappa shape index: $(n-1)(n-3)^2 / p_3^2$ for odd $n$ , and $(n-3)(n-2)^2 / p_3^2$ for even $n$ [Hall 1991].
KierA1	First alpha modified shape index: $s(s-1)^2 / m^2$ where $s = n + a$ [Hall 1991].
KierA2	Second alpha modified shape index: $s(s-1)^2 / m^2$ where $s = n + a$ [Hall 1991].
KierA3	Third alpha modified shape index: $(n-1)(n-3)^2 / p_3^2$ for odd $n$ , and $(n-3)(n-2)^2 / p_3^2$ for even $n$ where $s = n + a$ [Hall 1991].
KierFlex	Kier molecular flexibility index: $(KierA1)(KierA2) / n$ [Hall 1991].
zagreb	Zagreb index: the sum of $d_i^2$ over all heavy atoms $i$ .

### Adjacency and Distance Matrix Descriptors

The *adjacency matrix*,  $M$ , of a chemical structure is defined by the elements  $[M_{ij}]$  where  $M_{ij}$  is 1 if atoms  $i$  and  $j$  are bonded and zero otherwise. The *distance matrix*,  $D$ , of a

chemical structure is defined by the elements  $[D_{ij}]$  where  $D_{ij}$  is the length of the shortest path from atoms  $i$  to  $j$ ; zero is used if atoms  $i$  and  $j$  are not part of the same connected component. The adjacency matrix of CH<sub>3</sub>CH=O is displayed on the left and its distance matrix is displayed on the right (below):

C1	0 1 1 1 1 0 0	0 1 1 1 1 2 2	
H2	1 0 0 0 0 0 0	1 0 2 2 2 3 3	
H3	1 0 0 0 0 0 0	1 2 0 2 2 3 3	
H4	1 0 0 0 0 0 0	1 2 2 0 2 3 3	
C5	1 0 0 0 0 1 1	1 2 2 2 0 1 1	
H6	0 0 0 0 1 0 0	2 3 3 3 1 0 2	
O7	0 0 0 0 1 0 0	2 3 3 3 1 2 0	

Petitjean [Petitjean 1992] defines the **eccentricity** of a vertex to be the longest path from that vertex to any other vertex in the graph. The graph **radius** is the smallest vertex eccentricity in the graph and the graph **diameter** as the largest vertex eccentricity. These values are calculated using the distance matrix and are used for several descriptors described below.

The following descriptors are calculated from the distance and adjacency matrices of the heavy atoms:

Code	Description
balabanJ	Balaban's connectivity topological index [Balaban 1982].
BCUT_PEOE_0 BCUT_PEOE_1 BCUT_PEOE_2 BCUT_PEOE_3	The BCUT descriptors [Pearlman&1998] are calculated from the eigenvalues of a modified adjacency matrix. Each $ij$ entry of the adjacency matrix takes the value $1/\sqrt{b_{ij}}$ where $b_{ij}$ is the formal bond order between bonded atoms $i$ and $j$ . The diagonal takes the value of the PEOE partial charges. The resulting eigenvalues are sorted and the smallest, 1/3-ile, 2/3-ile and largest eigenvalues are reported.
BCUT_SLOGP_0 BCUT_SLOGP_1 BCUT_SLOGP_2 BCUT_SLOGP_3	The BCUT descriptors using atomic contribution to logP (using the Wildman and Crippen SlogP method) instead of partial charge.
BCUT_SMR_0 BCUT_SMR_1 BCUT_SMR_2 BCUT_SMR_3	The BCUT descriptors using atomic contribution to molar refractivity (using the Wildman and Crippen SMR method) instead of partial charge.
diameter	Largest value in the distance matrix [Petitjean 1992].
petitjean	Value of $(\text{diameter} - \text{radius}) / \text{diameter}$ .
GCUT_PEOE_0 GCUT_PEOE_1 GCUT_PEOE_2 GCUT_PEOE_3	The GCUT descriptors are calculated from the eigenvalues of a modified graph distance adjacency matrix. Each $ij$ entry of the adjacency matrix takes the value $1/\sqrt{d_{ij}}$ where $d_{ij}$ is the (modified) graph distance between atoms $i$ and $j$ . The diagonal takes the value of the PEOE partial charges. The resulting eigenvalues are sorted and the smallest, 1/3-ile, 2/3-ile and largest eigenvalues are reported.
GCUT_SLOGP_0	The GCUT descriptors using atomic contribution to logP (using



GCUT_SLOGP_1 GCUT_SLOGP_2 GCUT_SLOGP_3	the Wildman and Crippen SlogP method) instead of partial charge.
GCUT_SMR_0 GCUT_SMR_1 GCUT_SMR_2 GCUT_SMR_3	The GCUT descriptors using atomic contribution to molar refractivity (using the Wildman and Crippen SMR method) instead of partial charge.
petitjeanSC	Petitjean graph Shape Coefficient as defined in [Petitjean 1992]: $(\text{diameter} - \text{radius}) / \text{radius}$ .
radius	If $r_i$ is the largest matrix entry in row $i$ of the distance matrix $D$ , then the radius is defined as the smallest of the $r_i$ [Petitjean 1992].
VDistEq	If $m$ is the sum of the distance matrix entries then $\text{VDistEq}$ is defined to be the sum of $\log_2 m - p_i \log_2 p_i / m$ where $p_i$ is the number of distance matrix entries equal to $i$ .
VDistMa	If $m$ is the sum of the distance matrix entries then $\text{VDistMa}$ is defined to be the sum of $\log_2 m - D_{ij} \log_2 D_{ij} / m$ over all $i$ and $j$ .
weinerPath	Wiener path number: half the sum of all the distance matrix entries as defined in [Balaban 1979] and [Wiener 1947].
weinerPol	Wiener polarity number: half the sum of all the distance matrix entries with a value of 3 as defined in [Balaban 1979].

### Pharmacophore Feature Descriptors

The Pharmacophore Atom Type descriptors consider only the heavy atoms of a molecule and assign a type to each atom. That is, hydrogens are suppressed during the calculation. The atom typing mechanism is located in the file `$MOE/lib/svl/ph4.svl/ph4type.svl` which is a rule-based system for assigning pharmacophore features to atoms. The feature set is Donor, Acceptor, Polar (both Donor and Acceptor), Positive (base), Negative (acid), Hydrophobe and Other. Assignments may take into account implied protonation, deprotonation, keto/enol considerations and tautomerism at a biologically relevant pH. For example, -COOH will be typed in its deprotonated form regardless of how the structure is stored.

Code	Description
a_acc	Number of hydrogen bond acceptor atoms (not counting acidic atoms but counting atoms that are both hydrogen bond donors and acceptors such as -OH).
a_acid	Number of acidic atoms.
a_base	Number of basic atoms.
a_don	Number of hydrogen bond donor atoms (not counting basic atoms but counting atoms that are both hydrogen bond donors and acceptors such as -OH).
a_hyd	Number of hydrophobic atoms.
vsa_acc	Approximation to the sum of VDW surface areas of pure hydrogen bond acceptors (not counting acidic atoms and atoms that are both

	hydrogen bond donors and acceptors such as -OH).
vsa_acid	Approximation to the sum of VDW surface areas of acidic atoms.
vsa_base	Approximation to the sum of VDW surface areas of basic atoms.
vsa_don	Approximation to the sum of VDW surface areas of pure hydrogen bond donors (not counting basic atoms and atoms that are both hydrogen bond donors and acceptors such as -OH).
vsa_hyd	Approximation to the sum of VDW surface areas of hydrophobic atoms.
vsa_other	Approximation to the sum of VDW surface areas of atoms typed as "other".
vsa_pol	Approximation to the sum of VDW surface areas of polar atoms (atoms that are both hydrogen bond donors and acceptors), such as -OH.

### Partial Charge Descriptors

Descriptors that depend on the partial charge of each atom of a chemical structure require calculation of those partial charges. An unfortunate complication is the fact that there are numerous methods of calculating partial charges. Rather than enforce a particular method, MOE provides several versions of most of the charge-dependent descriptors. The only difference between these variants is the source of the partial charges. The following variants are supported: PEOE, Q (described below).

**PEOE.** The Partial Equalization of Orbital Electronegativities (PEOE) method of calculating atomic partial charges [Gasteiger 1980] is a method in which charge is transferred between bonded atoms until equilibrium. To guarantee convergence, the amount of charge transferred at each iteration is damped with an exponentially decreasing scale factor. The amount of charge transferred,  $dq_{ij}$ , between atoms  $i$  and  $j$  when  $X_i > X_j$  is

$$dq_{ij} = (1/2^k) (X_i - X_j) / X_j^+$$

where  $X_j^+$  is the electronegativity of the positive ion of atom  $j$ ;  $X_i$  is the electronegativity of atom  $i$  (quadratically dependent on partial charge); and  $k$  is the iteration number of the algorithm. Electronegativity values are determined by parameterization found in the SVL source code file `$MOE/lib/svl/calc.svl/charge.svl`. The PEOE charges depend only on the connectivity of the input structures: elements, formal charges and bond orders. Descriptors using the PEOE charges are prefixed with `PEOE_`.

**Q.** Descriptors prefixed with `Q_` use the partial charges stored with each structure in the database. In other words, no partial charge calculation is made and it is assumed that some external program has been used to calculate the atomic partial charges. This dependence can be a subtle source of error if, for example, the wrong charges are stored when descriptors are recalculated (e.g., when evaluating QSAR models on novel structures).

Partial charges from forcefields can be used by a) energy minimizing the database structures (which will store the charges); b) using the  $q_{-}$  variant of the descriptors.

**Warning!** Most partial charge methods require that all hydrogens be explicit in the stored structures. This can be a source of error when recalculating descriptors on novel structures during QSAR model evaluation.

Let  $q_i$  denote the partial charge of atom  $i$  as defined above. Let  $v_i$  be the van der Waals surface area of atom  $i$  (as calculated by a connection table approximation). The following descriptors are calculated:

Code	Description
PC+	Total positive partial charge
PC-	Total negative partial charge
RPC+	Relative positive partial charge
RPC-	Relative negative partial charge
Q_PC+ PEOE_PC+	Total positive partial charge: the sum of the positive $q_i$ . Q_PC+ is identical to PC+ which has been retained for compatibility.
Q_PC- PEOE_PC-	Total negative partial charge: the sum of the negative $q_i$ . Q_PC- is identical to PC- which has been retained for compatibility.
Q_RPC+ PEOE_RPC+	Relative positive partial charge: the largest positive $q_i$ divided by the sum of the positive $q_i$ . Q_RPC+ is identical to RPC+ which has been retained for compatibility.
Q_RPC- PEOE_RPC-	Relative negative partial charge: the smallest negative $q_i$ divided by the sum of the negative $q_i$ . Q_RPC- is identical to RPC- which has been retained for compatibility.
Q_VSA_POS PEOE_VSA_POS	Total positive van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $q_i$ is non-negative. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.
Q_VSA_NEG PEOE_VSA_NEG	Total negative van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $q_i$ is negative. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.
Q_VSA_PPOS PEOE_VSA_PPOS	Total positive polar van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $q_i$ is greater than 0.2. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.
Q_VSA_PNEG PEOE_VSA_PNEG	Total negative polar van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $q_i$ is less than -0.2. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.
Q_VSA_HYD PEOE_VSA_HYD	Total hydrophobic van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $ q_i $ is less than or equal to 0.2. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.
Q_VSA_POL PEOE_VSA_POL	Total polar van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $ q_i $ is greater than 0.2. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.

Q_VSA_FPOS PEOE_VSA_FPOS	Fractional positive van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $q_i$ is non-negative divided by the total surface area. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.
Q_VSA_FNEG PEOE_VSA_FNEG	Fractional negative van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $q_i$ is negative divided by the total surface area. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.
Q_VSA_FPPOS PEOE_VSA_FPPOS	Fractional positive polar van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $q_i$ is greater than 0.2 divided by the total surface area. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.
Q_VSA_FPNEG PEOE_VSA_FPNEG	Fractional negative polar van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $q_i$ is less than -0.2 divided by the total surface area. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.
Q_VSA_FHYD PEOE_VSA_FHYD	Fractional hydrophobic van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $ q_i $ is less than or equal to 0.2 divided by the total surface area. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.
Q_VSA_FPOL PEOE_VSA_FPOL	Fractional polar van der Waals surface area. This is the sum of the $v_i$ such that $ q_i $ is greater than 0.2 divided by the total surface area. The $v_i$ are calculated using a connection table approximation.
PEOE_VSA+6	Sum of $v_i$ where $q_i$ is greater than 0.3.
PEOE_VSA+5	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [0.25,0.30).
PEOE_VSA+4	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [0.20,0.25).
PEOE_VSA+3	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [0.15,0.20).
PEOE_VSA+2	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [0.10,0.15).
PEOE_VSA+1	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [0.05,0.10).
PEOE_VSA+0	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [0.00,0.05).
PEOE_VSA-0	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [-0.05,0.00).
PEOE_VSA-1	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [-0.10,-0.05).
PEOE_VSA-2	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [-0.15,-0.10).
PEOE_VSA-3	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [-0.20,-0.15).
PEOE_VSA-4	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [-0.25,-0.20).
PEOE_VSA-5	Sum of $v_i$ where $q_i$ is in the range [-0.30,-0.25).
PEOE_VSA-6	Sum of $v_i$ where $q_i$ is less than -0.30.