



HAL
open science

Synthèse de nouveaux carbazoles inhibiteurs de la Chk1. Etude de leurs propriétés biologiques

Elisabeth Conchon

► **To cite this version:**

Elisabeth Conchon. Synthèse de nouveaux carbazoles inhibiteurs de la Chk1. Etude de leurs propriétés biologiques. Chimie organique. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2006. Français. NNT : 2006CLF21711 . tel-00717338

HAL Id: tel-00717338

<https://theses.hal.science/tel-00717338>

Submitted on 12 Jul 2012

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

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

N° d'Ordre : D.U. 1711

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

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES
N° 511

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE
(Spécialité : CHIMIE ORGANIQUE BIOLOGIQUE)

PAR

Elisabeth CONCHON
(Diplômé d'Etudes Approfondies de Chimie)
(Ingénieur ENSCCF)

**Synthèse de nouveaux carbazoles inhibiteurs de la Chk1.
Etude de leurs propriétés biologiques.**

Soutenue publiquement le 08 décembre 2006 devant la commission d'examen :

Rapporteurs : J.-D. BRION, Pr., Faculté de Pharmacie-Université Paris-Sud
Y. Le MERRER, Pr., Université René Descartes, Paris V

Examineurs : Y. TROIN, Pr., Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand
R. GOLSTEYN, Dr., Institut de Recherches Servier, Croissy-sur-Seine
B. PFEIFFER, Dr., Institut de Recherches Servier, Croissy-sur-Seine
M. PRUDHOMME, Pr., Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand

*A mes parents,
A ma grand-mère,
A Najih*

Remerciements

Je tiens à remercier Mr Jean Bolte, Directeur du laboratoire SEESIB de m'avoir accueillie et permis d'effectuer mes travaux de thèse au sein de son unité de recherche.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Michelle Prudhomme, Professeur, ma directrice de thèse, de m'avoir proposée ce contrat et de m'avoir fait confiance et encouragée durant ces trois années.

Je tiens également à remercier Messieurs les rapporteurs Jean-Daniel Brion et Yves Le Merrer ainsi que Messieurs Roy Golsteyn, Bruno Pfeiffer et Yves Troin d'avoir accepté de juger mon travail.

Je remercie les Laboratoires Servier pour leur soutien financier.

Je remercie fortement Pascale Moreau, Professeur, et Fabrice Anizon, Maître de conférences, pour leur disponibilité et leur sympathie.

Je remercie Bettina Aboab, Maître de conférences, pour toutes les études de modélisation moléculaire.

Je sais gré à Bertrand Légeret pour toutes les expériences spectrométrie de masse réalisées sur mes composés, qui sont loin d'avoir été faciles ! Jean-Gabriel Gourcy de m'avoir fourni en solvant, et Régis Egrot pour tous les spectres RMN (surtout mes 128 scans...).

Je remercie de tout mon cœur toute « L'Amicale du café » pour sa bonne humeur de 10h00, tout particulièrement Martine (Miss vendange), Anne-Marie (Miss printemps), Anne-Sophie (Miss Catherinette, avec son rire inimitable), Bruno (Mister décembre, m'sieur Père Noël), Pierre (Mister décembre 2, Le p'tit renne au nez rouge).

Je ne saurais oublier mes collègues de paillasse, qui sont devenus des amis au cours du temps, ils m'ont toujours soutenue, encouragée dans les moments les plus difficiles, il y en a eu pas mal durant ces trois ans, j'ai adoré chaque moment passé avec vous, toutes les petites pauses 12-13 et 16, où on a bien rigolé.

Merci :

➤ A mon grand frère de paillasse, Samir, l'homme le plus susceptible que je connaisse (et pas sisciptible...). Merci d'avoir toujours été à l'écoute, et plein d'encouragements : chaque jour quand rien ne marchait. Merci d'avoir toujours su me conseiller, et surtout de m'avoir supportée durant mes derniers mois de thèse et de stress intense....de toujours avoir répondu présent (et au téléphone !!) même quand tu savais qu'une heure de lamentations t'attendait...

- A Blonde I, ma super et superbe collègue de paillasse, qui m'a abandonnée pour ma dernière année de thèse (je sais, j'étais obligée de partir, mais quand même...), les concerts de « M » m'ont beaucoup manqué, ce n'était plus pareil toute seule...
- Merci à Mathieu, toujours à l'écoute ; les « conconche un café ? » m'ont aussi énormément manqué quand tu es parti...
- A la futur doc gougoub, Marlène la fille qui sait tout, et qui sait tout faire, surtout s'il y a du chocolat à la clé...Le fait est que si vous avez besoin d'elle ou d'un conseil, qu'importe le sujet, elle est toujours là !!!!!
- A la futur doc Stéphanie, attention à celle-ci, je ne conseille à personne de monter en voiture avec elle, elle risque de vous abandonner au coin d'une rue...
- A ma doudou, doudoudinette, il paraît que l'on se ressemble, on a les mêmes mimiques : elle est brune (quelque gêne de blonde ceci dit) je suis blonde, elle est marocaine, je suis française, je suis fière de lui ressembler. Juste le superbe sourire qui nous différencie et qui lui vaut le surnom de la Joconde...
- A Charlène dont les mots préférés sont « oxygène » et « il est innocent !!! ». J'ai eu la chance de la connaître durant mes derniers mois de thèse : elle est extra !!!
- Enfin merci à la dernière louloute du groupe : Nico, mon copain des « Hors Forfait ». Le pauvre, perdu au milieu de toutes ces blondes, il a toujours été là pour son p'tit Harem !!! Toujours à l'écoute et de bons conseils. Merci de m'avoir « supporté », surtout en écoutant toutes mes lamentations des derniers jours...

Un ENORME merci à ma famille du sud, ma bouffée d'oxygène du week-end : ma petite Sellougette, Abd-Samad, Magid et Hafida, merci pour tout leur soutien moral et leur bonne humeur communicative.

Merci à ma superbe famille : mes parents, ma grand-mère Stephy, j'ai eu de la chance de passer toutes ces années d'étude à vos côtés, merci pour tous vos encouragements, merci d'avoir toujours été à l'écoute, merci pour votre confiance, votre patience et votre affection. Tout cela n'aurait pas été possible sans vous.

Enfin, je ne saurais jamais assez remercier Najih, qui m'a toujours soutenu. On a traversé pas mal de choses durant ces trois années, pas mal de choses nous attendent encore, mais malgré tout on est resté uni. Merci pour toute ta patience et tes encouragements

Abréviations

AcOH : acide acétique

AcOEt : acétate d'éthyle

Boc : *t*-butylcarbonate

BOM : benzyloxyméthyle

CDK : kinase cycline dependant

ChK : checkpoint kinase

CDCl₃ : chloroforme deutéré

Cys : cystéine

DDQ : 2,3-dichloro-5,6-dicyanoquinone

DiBALH : hydrure de diisobutylaluminium

DMF : diméthylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde

EtOH : éthanol

Glu : acide glutamique

h : heure

HMBC : heteronuclear multiple bond correlation

HSQC : heteronuclear multiple quantum correlation

min : minute

Leu : leucine

MeI : iodométhane

MeMgBr : bromure de méthyle magnésium

MeOH : méthanol

Ni Raney : nickel de Raney

Pd/C : palladium sur charbon

Pd(OAc)₂ : diacétate de palladium

Pd(PPh₃)₄ : tétrakis(triphénylphosphine)palladium

PPh₃ : triphénylphosphine

ppm : partie par million

RMN : résonance magnétique nucléaire

RX : rayon X

SEM : 2-(triméthyl-silanyl)-éthoxyméthyle

ta : température ambiante

TBAF : fluorure de tétrabutylammonium

TFA : acide trifluoroacétique

THF : tétrahydrofurane

SOMMAIRE

INTRODUCTION ~~~~~	10
INTRODUCTION :-----	4
Première partie ~~~~~	9
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE ~~~~~	9
I. Le cycle cellulaire :-----	10
II. La régulation du cycle cellulaire par les kinases cyclines-dépendantes (CDKs) :-----	12
1) Définition :-----	12
2) Mode d'action des complexes Cdk-cyclines:-----	13
3) Régulation des CDKs :-----	14
III. La régulation du cycle cellulaire par les points de contrôle du cycle cellulaire : les checkpoints :-----	15
1) Définition et intérêt des points de contrôle :-----	15
2) Détection et activation du système de surveillance :-----	16
3) Le point de surveillance G1/S :-----	17
a) Voie de la phosphatase Cdc25A :-----	17
b) Voie de la protéine p53 :-----	18
4) Le point de surveillance G2/M :-----	18
a) La voie de la phosphatase Cdc25C :-----	18
b) La voie de la protéine p53 :-----	19
5) Le cancer : différences entre cellules saines et cellules tumorales:-----	19
IV. La cible : la protéine kinase Chk1 :-----	21
1) Quel est le rôle de la Chk1 ?-----	21
2) Quelle est sa structure ?-----	22
V. Inhibiteurs de la Chk1 :-----	23
1) Les inhibiteurs les plus connus :-----	24
a) La Staurosporine, l'UCN-01, et les analogues SB218078, Gö6976, ICP-1 et CEP-3891 :-----	24
b) L'hyménialdisine et la débromohyménialdisine (DBH):-----	28
c) La granulatimide et l'isogranulatimide :-----	29
2) Les nouveaux inhibiteurs de la Chk1 :-----	32
a) La famille des pyrazoles :-----	32
b) La famille des indazoles :-----	34
c) La famille des benzimidazoles :-----	34
d) La famille des urées :-----	36
e) Inhibiteurs hétéroaromatiques :-----	39
f) Inhibiteurs peptidiques et peptidomimétiques :-----	43
g) Les inhibiteurs analogues de la granulatimide et isogranulatimide synthétisés au laboratoire :--	44
VI. Conclusion :-----	53
Deuxième partie ~~~~~	54
Résultats et discussion ~~~~~	54
Synthèse d'analogues de la granulatimide ~~~~~	54
I. Introduction :-----	55
II. Modification de l'hétérocycle supérieur :-----	58
1) Introduction :-----	58

2)	Structures mixtes imide/lactame : -----	59
3)	Structures mixtes imide/pyrazolinone : -----	71
a)	Première stratégie de synthèse : -----	71
b)	Deuxième stratégie de synthèse : -----	80
4)	Structures mixtes imide/pyridazine : -----	91
a)	Première stratégie de synthèse : -----	91
b)	Deuxième stratégie : -----	93
5)	Conclusion : -----	95
III.	Modification de l'hétérocycle inférieur : -----	96
1)	Introduction : -----	96
2)	Introduction d'une cyclopentanone, d'une cyclohexanone et d'une cyclopentanedione : -----	97
a)	Introduction d'une cyclopentanone et d'une cyclohexanone : -----	98
b)	Introduction d'une cyclopentanedione : -----	105
3)	Structures mixtes benzoquinone ou hydroquinone/imide : -----	111
a)	Synthèse de structure imide/benzoquinone : -----	112
b)	Introduction d'un sucre : -----	113
c)	Synthèse de structure imide/hydroquinone : -----	115
d)	Synthèse d'une structure mixte lactame/hydroquinone : -----	115
e)	Synthèse de sulfates et de pivalates : -----	122
4)	Structure mixte uracile/imide : -----	125
5)	Influence de l'hétérocycle inférieur : -----	130
IV.	Conclusion : -----	131
Troisième partie -----		132
Tests d'activité biologique -----		132
I.	Introduction : -----	133
II.	Principes des différents tests effectués : -----	133
1)	Activités antiprolifératives : -----	133
2)	Inhibition de la Chk1 : -----	133
3)	Inhibition de la kinase Src : -----	134
III.	Résultats : -----	134
1)	Activités des composés de référence : -----	134
2)	Activités des structures mixtes imide/lactame : -----	135
3)	Activités des pyrazolinones et des pyridazines : -----	137
4)	Activités des tétracycles différemment substitués: -----	140
5)	Activités des structures mixtes imide et lactame /cyclopentanone, cyclohexanone et cyclopentanedione : -----	142
6)	Activités des structures mixtes imide et lactame/benzoquinone et hydroquinone: -----	144
IV.	Conclusion : -----	147
Conclusion et perspectives -----		149
Quatrième partie -----		155
Partie expérimentale -----		155
I.	Partie Chimie -----	155
II.	Tests biologiques -----	254
Références bibliographiques -----		256

INTRODUCTION

INTRODUCTION :

Tous les organismes sont constitués de cellules qui se multiplient par division cellulaire. Un adulte humain a environ 100 000 milliards de cellules organisées en 200 tissus différents originaires d'une même cellule : l'ovule fécondé.

Continuellement, un certain nombre de cellules disparaissent et sont remplacées par de nouvelles cellules. Ainsi, chaque jour, un milliard de cellules sont renouvelées (en particulier les cellules de la peau et du tube digestif) et chaque année un homme synthétise 200 à 300 Kg de cellules sanguines.

La prolifération des cellules se fait de façon harmonieuse et suivant une succession de réactions enzymatiques très précises et strictement régulées. Leur multiplication survient essentiellement quand l'organisme présente des pertes tissulaires et les réparations cellulaires interviennent en cas d'incident faisant suite à une maladie ou au vieillissement.

On constate dans les cancers, une prolifération anarchique, incontrôlée et incessante des cellules. A l'origine du cancer, une modification du code génétique de la cellule apparaît sous l'action d'agents inducteurs comme les produits chimiques (tabac, goudron,...), radiations, virus,.....

Le traitement du cancer va dépendre de l'organe atteint. Il fait appel à la radiothérapie, à la chimiothérapie, à l'utilisation de certains médicaments : agents endommageant l'ADN, antimétabolites, à l'utilisation des hormones (hormonothérapie), à la chirurgie.

Cependant, certains de ces traitements (radiothérapie, chimiothérapie) s'avèrent être toxiques puisqu'ils touchent aussi bien les cellules saines que les cellules tumorales. Une autre limitation des agents endommageant l'ADN est que les cellules tumorales, essentiellement celles dans lesquelles le gène *p53* est muté, sont très résistantes.

Les recherches se sont donc portées sur une génération de médicaments capables d'être efficaces et sélectifs des cellules tumorales.

Dans ce but ultime, on comprend l'importance des recherches portant sur les mécanismes moléculaires qui régulent le cycle de division cellulaire.

L'approche prometteuse de ces nouveaux traitements réside dans la prise en compte des différences biologiques entre cellules saines et cellules tumorales au niveau du cycle cellulaire.

Le cycle cellulaire, décrit par toutes les cellules eucaryotes qui se divisent, est constitué de 4 phases (**Figure 1**) : G1, S, G2 et M dont l'enchaînement est strictement régulé

par l'activation ordonnée de kinases appelées kinases cyclines-dépendantes. Lorsque les cellules ne se divisent pas, elles sont en phase G₀. Le cycle cellulaire est soumis à un système de surveillance qui veille à l'intégrité de la transmission de l'ADN de la cellule mère vers les cellules filles. A l'origine de ce système de surveillance, deux principaux points de contrôle :

- ✓ Le premier intervient entre les phases G₁ et S, il autorise ou non le passage en phase S. En cas d'anomalies de l'ADN, il y aura soit réparation de l'ADN, soit mort programmée de la cellule ou apoptose. Le régulateur majeur de ce point de contrôle est la protéine p53.
- ✓ Le deuxième point de contrôle intervient entre les phases G₂ et M. Il autorise ou non la division cellulaire. L'un de ses principaux régulateurs est la kinase Checkpoint 1 (Chk1).

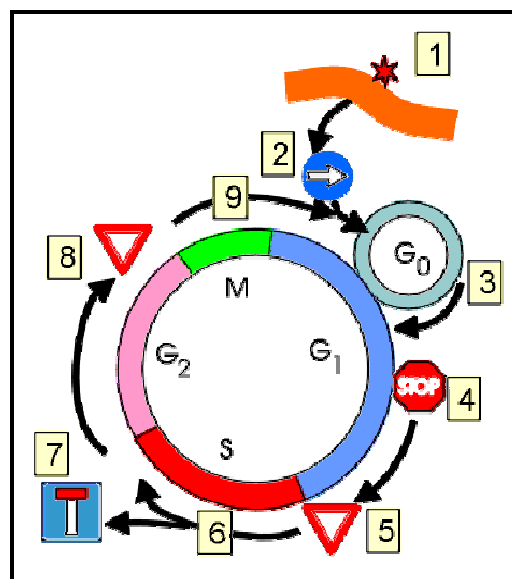


Figure 1: Le contrôle du cycle cellulaire

En [1], sous l'influence de facteurs de croissance, la cellule reçoit le signal de se diviser. En [2], transmission du signal.

En [3], les cellules sortent de G₀ et progressent au-delà d'un point de restriction [4] si elles reçoivent un stimulus constant.

En [5], il existe un point de contrôle ne laissant se diviser que l'ADN normal.

En [6], la cellule double sa quantité d'ADN. En cas d'anomalie non réparable de l'ADN, elle évolue vers la mort [7] (apoptose).

En [8], il existe un nouveau point de contrôle avant la séparation du matériel génétique vers deux cellules filles.

En [9], la mitose s'accomplit. Les cellules filles se séparent et retournent en G₀, sauf si un stimulus entretient le processus de division.

A la différence des cellules saines, la plupart des cellules tumorales sont incapables d'activer leur point de contrôle en G₁ en raison d'une mutation du gène *p53*. Cette différence

entre cellules saines et cellules cancéreuses permet d'envisager et de choisir comme cible le point de contrôle en G2 afin d'élaborer de nouveaux agents antitumoraux. En effet, l'association d'un agent endommageant l'ADN avec un inhibiteur du point de contrôle en G2 devrait conduire sélectivement les cellules tumorales vers une mitose précoce et létale due à une accumulation de lésions de l'ADN.

Notre recherche est ciblée sur des inhibiteurs de l'enzyme Chk1 qui participe à la régulation du point de contrôle en G2.

Des indolocarbazoles (**Figure 2**) comme la staurosporine et l'UCN-01 sont des inhibiteurs puissants de la Chk1.

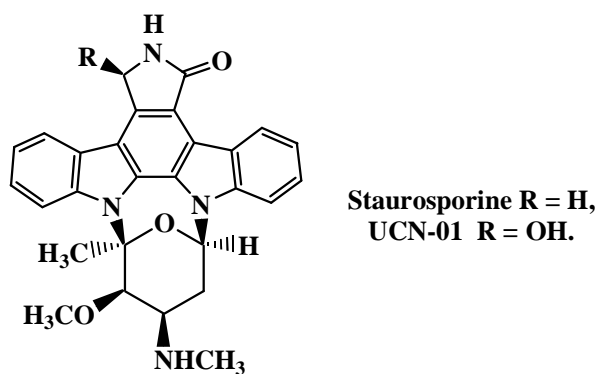


Figure 2: Indolocarbazoles inhibiteurs de la Chk1

D'autres inhibiteurs tels que la granulitimide et l'isogranulitimide (**Figure 3**), molécules naturelles isolées d'une ascidie *Didemnum granulatum*, présentent des activités intéressantes avec des concentrations d'inhibition de la Chk1 (IC_{50}) de 0,25 μ M pour la granulitimide et de 0,1 μ M pour l'isogranulitimide.

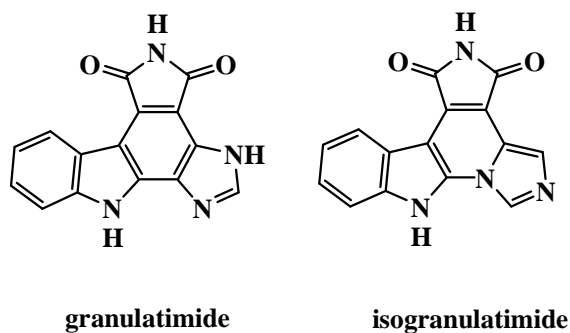


Figure 3: Structures de la granulitimide et de l'isogranulitimide

Différents analogues de ces composés naturels (**Figure 4**) ont été synthétisés au laboratoire par Bernadette Hugon, Samir Messaoudi et Hélène Hénon au cours de leur thèse. En voici quelques structures :

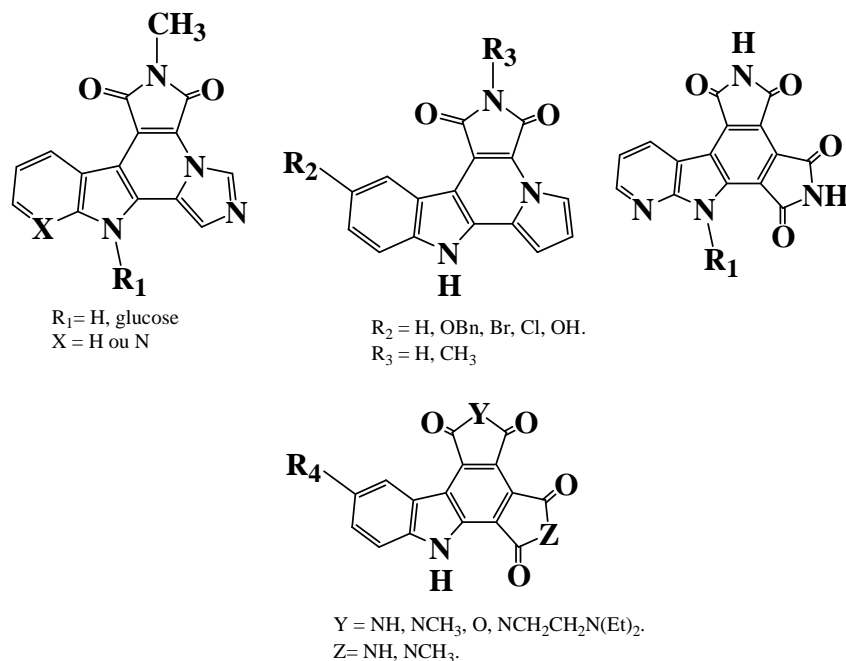


Figure 4: Analogues déjà synthétisés au laboratoire

Dans certains des composés, l'hétérocycle indole a été remplacé par un 7-azaindole et l'imidazole par un pyrrole ou un maléimide. Diverses modifications structurales ont été réalisées par Hélène Hénon (**Figure 5**) pour pallier le problème de solubilité des composés bis-imide : avec l'introduction de groupements solubilisants de type acide aminé et de type osidique sur l'azote indolique et de divers substituants sur l'indole.

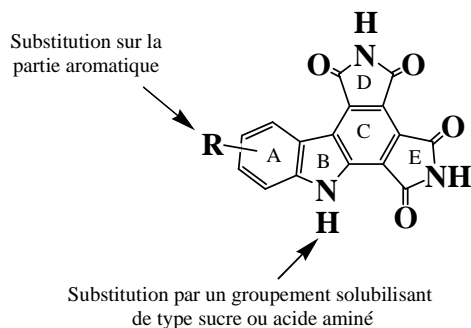


Figure 5: Modifications structurales sur le composé bis-imide

Malgré de bonnes propriétés inhibitrices de la Chk1, les composés bis-imides présentent une faible cytotoxicité qui pourrait s'expliquer par une dégradation de ces derniers dans le milieu de culture employé pour les tests biologiques. Cette dégradation serait due à la réactivité des imides en présence de nucléophiles.

Les travaux effectués au cours de ce travail ont porté sur la modification des hétérocycles D et/ou E du composé bis-imide en substituant l'imide (supérieur ou inférieur) par un lactame, une pyrazine, une pyrazolinone ou par des cycles à 5 ou 6 chaînons fonctionnalisés.

Ce mémoire se divisera en quatre parties :

- ✓ Une première partie sera consacrée à une étude bibliographique où seront présentées les kinases du cycle cellulaire et plus particulièrement la kinase Checkpoint 1 ainsi que ses inhibiteurs décrits dans la littérature.
- ✓ Dans une deuxième partie nous développerons les synthèses réalisées.
- ✓ Dans une troisième partie, les propriétés biologiques des produits obtenus seront présentées.
- ✓ La partie expérimentale constituera la quatrième partie.

Première partie

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le cycle cellulaire :

Chez un adulte, on trouve une quantité énorme de cellules en division continue remplaçant celles qui disparaissent. Avant qu'une cellule puisse se diviser, il faut qu'elle grandisse jusqu'à une certaine taille, qu'elle duplique ses chromosomes, qu'elle sépare ses chromosomes avec une distribution exacte entre les 2 cellules filles. Tous ces processus sont coordonnés durant le cycle cellulaire.

Répétitif, le cycle cellulaire se déroule en deux temps : l'interphase et la mitose (Figure 6).¹

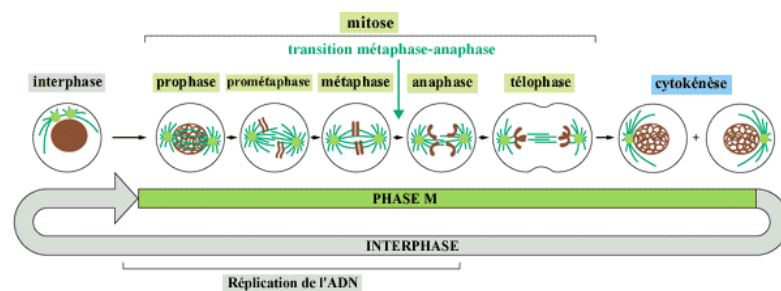


Figure 6: Vue générale du cycle cellulaire.

Pendant l'**interphase** a lieu la réplification semi-conservative de l'ADN. Elle est constituée de trois phases, les trois premières du cycle cellulaire (Figure 7)² : **G₁**, **S** et **G₂**. Durant la première phase (phase G₁), la cellule croit et devient plus large. La synthèse des protéines s'effectue. Lorsqu'elle atteint une certaine taille, elle entre dans la deuxième phase (phase S), au cours de laquelle la synthèse de l'ADN est réalisée. La cellule duplique son matériel héréditaire (réplication de l'ADN) et une copie de chacun de ses chromosomes est effectuée. Durant la phase suivante (phase G₂), la cellule contrôle que la réplification de l'ADN a été réalisée correctement et prépare la division cellulaire³.

¹ http://virologie.free.fr/11-Cycle_cellulaire/Cycle_cellulaire.htm.

² <http://snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/>

³ Meijer L. *Oncologie*, 2003, 5, 311-326.

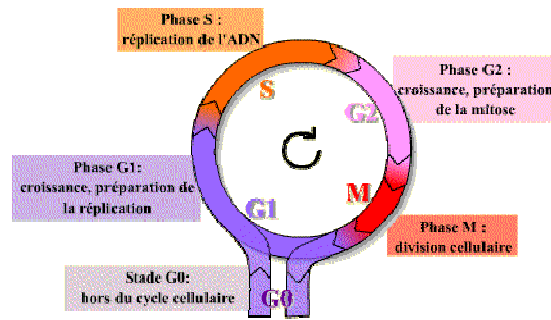


Figure 7: Les quatre phases du cycle cellulaire et le stade G0.

Durant la **mitose** (phase **M**) a lieu la division cellulaire : les chromosomes sont séparés et la cellule se divise en deux cellules filles. A travers ce mécanisme, les deux cellules filles sont dotées des mêmes chromosomes que ceux de la cellule mère. La mitose est elle-même divisée en cinq périodes (**Figure 6**):

- La prophase : fin de condensation des chromosomes et rupture de l'enveloppe nucléaire ;
- La prométaphase : formation du fuseau mitotique et début de l'alignement des chromosomes ;
- La métaphase : les chromosomes sont alignés au centre de la cellule ;
- L'anaphase : disjonction des chromosomes ;
- La télophase : mouvement chromosomique vers les pôles, disparition du fuseau mitotique, condensation des chromosomes.

La cytotélophase est l'événement qui caractérise la fin de la mitose.

Après la mitose, les cellules peuvent soit passer en G1, soit entrer en **G0**, stade quiescent de non division³.

Dans le cycle, les quatre phases G1, S, G2 et M se succèdent dans **un ordre immuable**.

Le cycle cellulaire est un grand sujet d'études en biologie cellulaire et présente un grand intérêt pour l'élaboration de nouvelles drogues à potentialités antitumorales.

³ Meijer L. *Oncologie*, 2003, 5, 311-326.

Pour assurer, d'une part, l'ordre immuable de la succession des quatre phases du cycle (régulation du cycle), et d'autre part, l'obtention de deux cellules filles rigoureusement identiques (surveillance de l'ADN), la cellule dispose de systèmes de **régulation** hautement perfectionnés.

Dans le premier cas, (régulation du cycle), ce sont essentiellement des **kinases cycline-dépendantes**, les **Cdks**, qui interviennent. Dans le second cas, d'autres molécules interviennent dans différents **mécanismes de surveillance du cycle** pour inhiber les Cdks de la régulation du cycle et arrêter le cycle, si l'étape précédente n'est pas terminée, ou si une "réparation" est nécessaire.

II. La régulation du cycle cellulaire par les kinases cyclines-dépendantes (CDKs) :

1) Définition :

Pour les organismes eucaryotes vivants, il est important que la succession des différentes phases du cycle cellulaire soit parfaitement coordonnée c'est-à-dire qu'une phase ne peut commencer que lorsque la précédente est terminée. Depuis les années 80, les découvertes fondamentales sur la compréhension de la régulation du cycle cellulaire ont été réalisées par les lauréats du Prix Nobel de Physiologie et de Médecine de 2001 : Tim Hunt, Paul Nurse et Leyland Hartwell³. Ils ont notamment découvert le gène responsable de la transition G2/M chez l'homme. Ce gène code pour la protéine CDK1 qui est membre de la famille des CDKs.

Les CDKs sont des sérine-thréonines kinases, enzymes qui catalysent la phosphorylation de protéines cibles jouant un rôle dans les événements du cycle cellulaire (réplication de l'ADN, fragmentation de l'enveloppe nucléaire,...) ou dans l'avancement du cycle cellulaire.

Tim Hunt découvre au début des années 80 les premières cyclines.¹ Les cyclines sont des protéines qui ne sont pas présentes pendant tout le cycle, elles apparaissent et disparaissent à des moments précis du cycle et de façon périodique.

³ Meijer L. *Oncologie*, 2003, 5, 311-326.

¹http://virologie.free.fr/11-Cycle_cellulaire/Cycle_cellulaire.htm.

Les cyclines n'ont pas d'activité enzymatique mais elles forment un complexe avec les CDKs qui deviennent alors fonctionnelles. Les cyclines sont donc des protéines régulatrices nécessaires aux CDKs.^{3,4}

Aujourd'hui, grâce au séquençage humain, on dénombre 13 CDKs et 25 cyclines. Toutes les combinaisons CDK/cyclines n'ont pas encore été identifiées à ce jour.³

2) Mode d'action des complexes Cdk-cyclines:

Le cycle cellulaire est contrôlé par au moins 6 complexes CDK/cycline différents qui interviennent à des moments précis du cycle (**Figure 8**).²

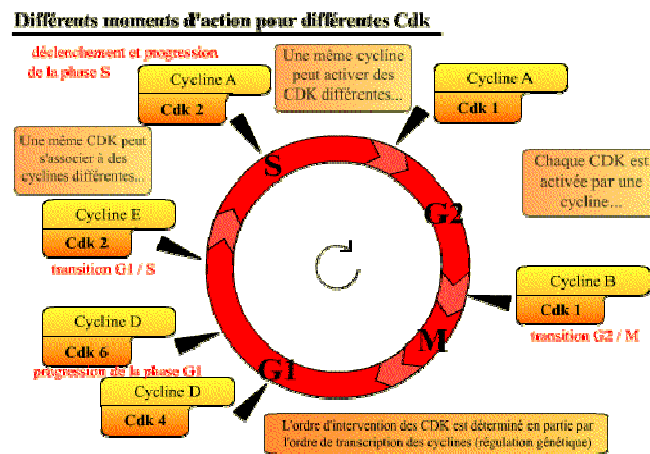


Figure 8: Complexes Cycline/CDK et le cycle cellulaire

Les complexes cycline/CDK assurent le bon déroulement du cycle cellulaire permettant le passage d'une phase à l'autre du cycle. Ainsi la progression en phase G1 est régulée par CDK4 et CDK6 associées à des cyclines de type D. Le complexe CDK2/cycline E est quant à lui responsable de la transition G1/S suivi du complexe CDK2/cycline A qui assure la progression de la phase S. CDK1/cycline A intervient en G2 et CDK1/cycline B dirige la transition G2/M et assure l'entrée en mitose.^{3,4}

³ Meijer L. *Oncologie*, 2003, 5, 311-326.

⁴ Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, 2003, 19, 173-186.

² <http://snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/>

3) Régulation des CDKs :

L'activité des CDKs n'est pas constante au cours du temps, les CDKs sont en effet régulées par des mécanismes d'activation et d'inhibition. Les CDKs sont présentes avant leur « utilisation » et leurs activités apparaissent et disparaissent suivant trois niveaux de régulation^{3,4} :

- Premièrement, les cyclines ont une durée de vie limitée durant le cycle cellulaire. Comme nous l'avons vu précédemment, elles se lient aux CDKs ce qui les rend actives. L'activité de ces dernières est donc régulée par le cycle de synthèse/dégradation de leur cycline associée tout au long du cycle.

- Deuxièmement, l'activité des CDKs est régulée de façon post-transcriptionnelle par leur liaison aux cyclines. En effet, la liaison CDK/cycline génère un changement de conformation des CDKs permettant l'accès au site catalytique et rendant possible les phosphorylations et déphosphorylations activatrices et inhibitrices. L'activité des CDKs peut être inhibée par la phosphorylation des résidus adjacents (thréonine-14 et tyrosine-15 pour la CDK1) par la kinase **Wee-1**. Au contraire, les **phosphatases Cdc-25 A, B et C** les déphosphorylent et activent ainsi les complexes. La phosphorylation d'un autre acide aminé sur la boucle T (la thréonine 161 pour la CDK1) par la cycline H/CDK7 est nécessaire à l'activation des complexes.

Pour pouvoir agir, les CDKs doivent présenter une conformation où les deux poches, poche ATP et poche protéine cible, sont accessibles. Les activateurs (cyclines, Cdc25, CAK) et les inhibiteurs (kinase Wee 1), qui induisent des changements de conformation des sites de fixation du substrat et de l'ATP, jouent donc un rôle essentiel dans la régulation des CDKs (**Figure 9**).²

³ Meijer L. *Oncologie*, **2003**, 5, 311-326.

⁴ Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.

² <http://snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/>

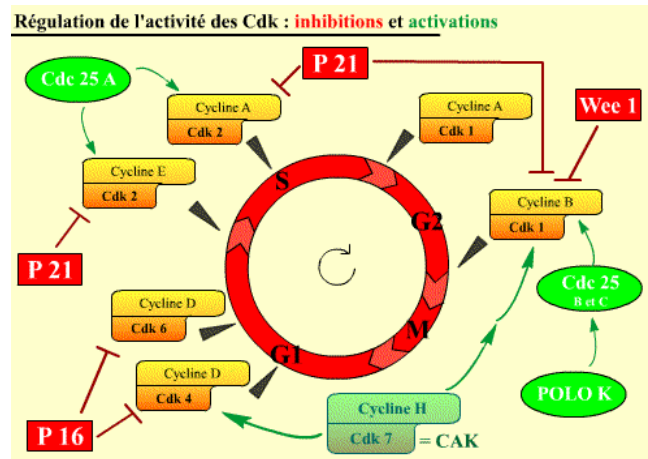


Figure 9: Activations et inhibitions des CDKs par diverses protéines:
 les phosphatases (Cdc 25) [déphosphorylations activatrices] et des kinases (Cycline H/Cdk, et Polo K) [phosphorylations activatrices] ; des protéines inhibitrices, les CKI (p16 et p 21) et des kinases (Wee 1) [phosphorylations inhibitrices]

o Troisièmement, les protéines inhibitrices des CDKs, les **CKI** (Cycline-dependent Kinase Inhibitors), peuvent s'associer avec les CDKs ou les complexes CDK/cycline bloquant ainsi le déroulement du cycle cellulaire. Parmi ces protéines, la p21 se lie à la cycline, elle bloque la poche de l'ATP ; la p16 se lie à la CDK et empêche la fixation de la cycline² (**Figure 9**).

III. La régulation du cycle cellulaire par les points de contrôle du cycle cellulaire : les checkpoints :

1) Définition et intérêt des points de contrôle :

Comme nous venons de le voir, il existe des kinases CDKs capables d'assurer l'enchaînement des phases du cycle. En plus de ces CDKs, il existe des protéines capables de surveiller des processus très importants du cycle, de détecter des anomalies (lésions de l'ADN, anomalies de réplication de l'ADN) et d'imposer l'arrêt du cycle si des anomalies sont constatées. Les mécanismes mis en jeu sont très élaborés et assurent le « contrôle qualité » du cycle cellulaire. En effet, ce système de surveillance assure le maintien de l'intégrité de l'ADN et la qualité de sa réplication. Si l'ADN présente des lésions ou si la réplication ne s'effectue pas correctement, le cycle est arrêté pour donner le temps à la cellule de réparer et de terminer correctement sa réplication. Dans le cas où les lésions sont trop

² <http://snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/>

importantes ou si les mécanismes de réparation échouent, un programme de mort cellulaire se met en route.

L'identification de ces points de surveillance (cell cycle checkpoints) est une autre découverte de Hartwell, Nurse et Hunt.⁴

Dans ces mécanismes de surveillance, entrent en jeu de nouvelles molécules différentes des CDKs et des molécules qui interviennent directement dans les événements du cycle. Parmi ces molécules, on trouve des kinases qui se lient à l'ADN, kinase ATM (Ataxia-Telangiectasia Mutated), kinase ATR (Ataxia-Telangiectasia Related)², ainsi que les sérine-thréonine kinases Chk1 et Chk2 (Checkpoint protein kinase).

2) Détection et activation du système de surveillance :

A l'origine de toute activation du système de surveillance générant l'arrêt du cycle, se trouvent les kinases ATM et ATR. La kinase ATM est activée en réponse aux radiations ionisantes, l'ATR est quant à elle activée par irradiation UV et par des anomalies de la fourche de réplication.³ Le rôle central des kinases ATM et ATR dans les points de surveillance du cycle cellulaire consiste en leur activité régulatrice sur des protéines clés de la surveillance cellulaire : les kinases Chk1 et Chk2, p53, Cdc25.

Les kinases Chk1 et Chk2 sont activées par ATM et ATR. Chk1 est principalement activée par ATR, alors que Chk2 le sera par ATM⁴ (**Figure 10**).

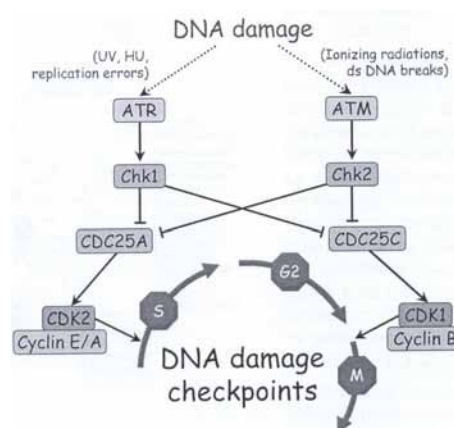


Figure 10³ : Contrôle de l'intégrité de l'ADN

⁴ Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, 2003, 19, 173-186.

² <http://snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/>

³ Meijer L. *Oncologie*, 2003, 5, 311-326.

Dans le cycle cellulaire, plusieurs niveaux d'arrêts sont possibles : d'une part le point de contrôle G1/S qui bloque le passage en phase S jusqu'à réparation de l'ADN endommagé, et d'autre part, le point de contrôle G2/S qui bloque l'entrée en phase M.

3) Le point de surveillance G1/S :

L'entrée en phase S est autorisée via l'activation des complexes cyclines A et E/CDK2. En cas d'anomalies, le système de surveillance G1/S se met en route et bloque le cycle cellulaire en G1. Pour cela, deux mécanismes peuvent entrer en action : l'un est rapide et implique la phosphatase Cdc25A, et l'autre, plus lent, implique la participation de la protéine p53.⁴

a) Voie de la phosphatase Cdc25A :

La fonction de Cdc25A dans le déroulement normal du cycle est de déphosphoryler CDK4 puis CDK2 afin de les activer. Après détection de l'anomalie, les activations en cascade de ATM/ATR-Chk2 conduisent à la dégradation c'est-à-dire à l'inactivation de Cdc25A. La conséquence est alors l'arrêt du cycle par la suppression de l'activation des complexes cycline D/CDK4-6 et cycline E-A/CDK2³ (**Figure 11**).²

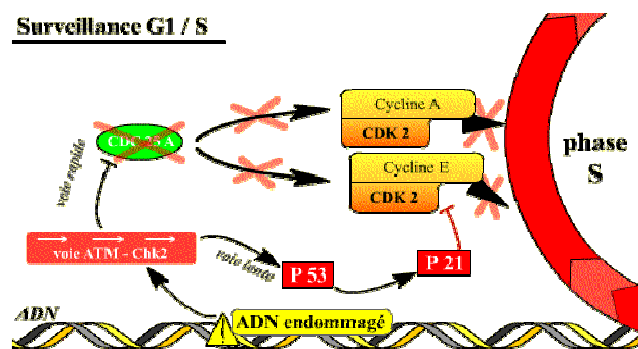


Figure 11: Si l'ADN est lésé, l'activation de deux voies inhibitrices des complexes cycline/CDK de la phase S permet d'arrêter le déroulement de la phase S.

⁴ Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, 2003, 19, 173-186.

³ Meijer L. *Oncologie*, 2003, 5, 311-326.

² <http://snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/>

b) Voie de la protéine p53 :

Cette deuxième voie est plus lente que la précédente et implique la protéine p53. Dans des conditions normales, p53 a une durée de vie très courte. Diverses lésions de l'ADN augmentent les niveaux cellulaires de p53. Si l'ADN est endommagé, la Chk2 activée par l'ATM phosphoryle p53 ce qui réduit sa dégradation et induit l'expression de p21. Ainsi, la synthèse accrue de la p21 inhibe les complexes CDK1/cycline B et CDK2/cycline E et A, ce qui arrête le cycle (**Figure 11**).

Il est important de noter que si p53 est hyperphosphorylée, elle peut aussi induire l'expression de gènes impliqués dans l'apoptose, ce qui conduit la cellule à la mort. P53 peut aussi stimuler la transcription de gènes de réparation de l'ADN.

Si p53 est déficiente, les cellules entrent en phase S malgré les anomalies de l'ADN et ne sont pas éliminées par apoptose. Ces processus peuvent aboutir à un cancer.

4) Le point de surveillance G2/M :

L'entrée en mitose est permise par l'activation du complexe cycline B/CDK1. En cas d'anomalies détectées (cassures de brins d'ADN, arrêt de la progression des fourches de réplication lors de la synthèse de l'ADN,...), le système de surveillance s'active et génère l'arrêt du cycle en G2. Comme dans le cas du point de surveillance G1/S, deux voies d'activation sont possibles pour bloquer le processus d'activation de la CDK1.

a) La voie de la phosphatase Cdc25C⁴ :

Le rôle de la Cdc25C est de déphosphoryler la CDK1 rendant le complexe CDK1/cycline B actif.

Lorsque la réplication de l'ADN est inachevée ou qu'une lésion de l'ADN est détectée (**Figure 12**)², les kinases Chk1 et Chk2 sont activées et phosphorylent la Cdc25C sur la sérine-216. Cette phosphorylation génère la séquestration de la Cdc25C dans le cytoplasme loin de son substrat nucléaire la CDK1. Les lésions de l'ADN peuvent aussi inactiver la Cdc25C en inhibant l'action de la kinase Plk1 (Polo-like kinase 1).

⁴ Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.

² <http://snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/>

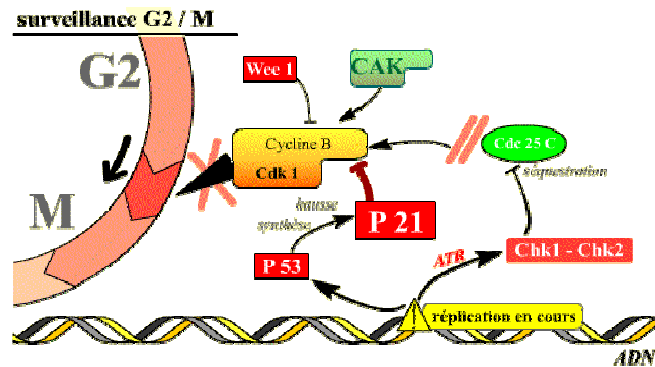


Figure 12: si l'ADN est lésé ou si la réplication n'est pas achevée, l'activation de plusieurs voies inhibitrices du complexe CDK1/cycline B empêche le passage en mitose

b) La voie de la protéine p53⁴ :

La protéine p53 n'est pas nécessaire pour la décision d'arrêt en G2 mais pour sa persistance. Lors de ce processus, on observe une stimulation de la synthèse d'un inhibiteur du cycle, la p21, qui bloque le complexe cycline B/CDK1, générant ainsi le maintien de l'arrêt en G2 (**Figure 12**).² La protéine p21 peut soit inhiber la CDK1, soit bloquer la CAK qui active normalement la CDK1.

5) Le cancer : différences entre cellules saines et cellules tumorales:

Comme nous l'avons vu, la régulation du cycle cellulaire se déroule avec une très grande précision et permet un taux d'erreurs relativement faible dans le déroulement du cycle.

Cependant, l'apparition de cellules transformées dont la prolifération incontrôlée aboutit à un cancer peut s'observer. En effet, la régulation du cycle cellulaire et les différents processus de surveillance du cycle font intervenir de très nombreuses protéines qui peuvent présenter des mutations.^{3,4}

Parmi les protéines régulatrices du cycle, on peut constater, dans les cellules cancéreuses, d'une part des surexpressions de protéines stimulatrices de la prolifération : les cyclines (par exemple la cycline D1 est surexprimée dans 70 % de certains lymphomes) ou les CDKs (CDK2/4 majoritairement⁴) ; d'autre part on note des pertes d'expression ou des inactivations de protéines qui normalement sont des freins du cycle (CKI, pRb).²

⁴ Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, 2003, 19, 173-186.

² <http://snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/>.

³ Meijer L. *Oncologie*, 2003, 5, 311-326.

Les molécules intervenant aux points de surveillance du cycle sont aussi touchées par des mutations: l'inactivation par délétion ou mutation du gène de la p53 est fréquente dans de très nombreux cancers humains (environ 50 % des cancers). L'ATM peut être mutée (chez les malades atteints d'Ataxia-Telangiectasia) ainsi que l'ATR.³ Dans les deux cas, malgré la présence de coupures dans l'ADN, les cellules ne s'arrêtent pas en G1, S ou G2 pour réparer l'ADN et continuent à proliférer d'où le risque accru de développer un cancer.

Ces différences génétiques entre cellules saines et cellules cancéreuses ont permis d'envisager différents types d'inhibiteurs qui sont capables d'agir sur le cycle cellulaire afin de stopper la prolifération des cellules cancéreuses ou générer leur mort par apoptose.

On peut tout d'abord agir au niveau du déroulement du cycle cellulaire avec des inhibiteurs de CDKs. Les inhibiteurs chimiques de CDKs sont souvent compétitifs de l'ATP et agissent en se fixant sur le site de fixation de l'ATP. Ces inhibiteurs bloquent la prolifération cellulaire et sont donc des antitumoraux potentiels.

Nous pouvons aussi envisager des drogues agissant au niveau des points de surveillance. Il s'agit ici de bloquer **sélectivement** l'un des points de surveillance afin de sensibiliser les cellules tumorales aux agents endommageant l'ADN.

Beaucoup de traitements antitumoraux ne sont pas sélectifs et touchent aussi bien les cellules tumorales que les cellules saines provoquant de graves effets secondaires chez les patients.³ Les recherches pharmacologiques se sont donc tournées vers une thérapie plus sélective. De nombreux travaux ont été réalisés, les oncologistes ont trouvé que la majorité des cellules cancéreuses étaient déficientes en leur point de contrôle en G1/S (en raison des mutations de p53 et de Rb) et que seul leur point de contrôle en G2 était capable d'être activé. Ce dernier, apparaît donc être une cible de choix pour l'élaboration de nouvelles drogues à potentialités antitumorales. D'après la littérature, Chk1 et Chk2^{5,6} sont les kinases clés dans la régulation du point de contrôle en G2 après lésions de l'ADN. Des études plus importantes ont été effectuées pour mieux comprendre leur rôle dans la réponse cellulaire face aux agents endommageant l'ADN. Les études ont été réalisées sur des cellules dans lesquelles p53 et p21 sont inactivées. Elles montrent que l'inhibition de Chk1 et non de Chk2 permet

³ Meijer L. *Oncologie*, **2003**, 5, 311-326.

⁵ Kawabe T. *Mol. Cancer Ther.*, **2004**, 3, 513-519.

⁶ Carrassa L. ; Brogini M. ; Erba E. ; Damia G. *Cell Cycle*, **2004**, 3, 1177-1181.

d'inactiver le point de contrôle en G2/M malgré les lésions de l'ADN générées par radiation ionisante.⁶

La protéine kinase Chk1 apparaît dès lors comme une cible privilégiée pour l'élaboration de nouveaux agents antitumoraux. Des inhibiteurs de la Chk1, en association avec des agents endommageant l'ADN devraient conduire **sélectivement les cellules cancéreuses** vers une mitose précoce et létale.

IV. La cible : la protéine kinase Chk1 :

1) Quel est le rôle de la Chk1 ?

La checkpoint kinase 1 (Chk1) est une sérine thréonine kinase isolée pour la première fois de cultures de *Schizosaccharomyces pombe*. Elle se présente comme un régulateur important des points de surveillance.⁷

La kinase ATM activée par les lésions de l'ADN va phosphoryler la Chk1. L'activation de la Chk1 génère ainsi l'inactivation de la Cdc25C par phosphorylation de la sérine-216. La phosphatase Cdc25c inhibée ne peut activer la CDK1 ce qui stoppe le cycle cellulaire jusqu'à réparation des dommages de l'ADN.

Comme nous l'avons souligné au paragraphe précédent, l'association d'un inhibiteur de la Chk1 avec un agent endommageant l'ADN est une voie particulièrement intéressante pour l'élaboration de nouvelles thérapies sélectives des cellules cancéreuses.

Les travaux menés par Luo *et al.*⁷ montrent l'importance de la Chk1 lors de la prolifération cellulaire et lors des réponses à des lésions de l'ADN. Pour ce faire, ces auteurs ont bloqué l'expression de la Chk1 avec des oligonucléotides antisens ou des ribosymes. Plusieurs faits sont observés : une diminution du taux de Chk1 prédispose la cellule à l'apoptose ; après endommagement de l'ADN le point de contrôle en G2 ne fonctionne pas et les cellules sont plus sensibles aux agents endommageant l'ADN. Les mêmes expériences ont été réalisées avec deux inhibiteurs de Chk1 : l'UCN-01 et la staurosporine en présence

⁶ Carrassa L. ; Brogini M. ; Erba E. ; Damia G. *Cell Cycle*, **2004**, 3, 1177-1181.

⁷ Luo Y. ; Rockow-Magnone S. K. ; Kroeger P. E. ; Frost L. ; Chen Z. ; Han E. K.-H. ; Ng S.-C. ; Simmer R. L. ; Giranda V. L. *Neoplasia.*, **2001**, 3, 411-419.

d'adriamycine (agent endommageant l'ADN) sur des cellules de cancer du poumon H1299. L'expérience a montré une plus grande sensibilité des cellules cancéreuses à l'adriamycine ce qui confirme que l'inhibition de la Chk1 est une approche spécifique pour le traitement du cancer.

2) Quelle est sa structure ?

La Chk1 humaine est une protéine nucléaire constituée de 476 acides aminés. Son gène est localisé sur le chromosome 11q24 et est adjacent au gène 11q23 codant pour l'ATM.⁸ L'expression de Chk1 est restreinte aux phases S et G2/M du cycle cellulaire.

Elle contient un domaine kinase *N*-terminal (résidus 1-265) qui est riche en feuillets β , un lien flexible (résidus 266/289) et un domaine kinase *C*-terminal moins bien conservé et qui contient de nombreuses hélices α . Le site catalytique constitue la jonction entre les deux domaines kinase *C*-terminal et *N*-terminal.⁹

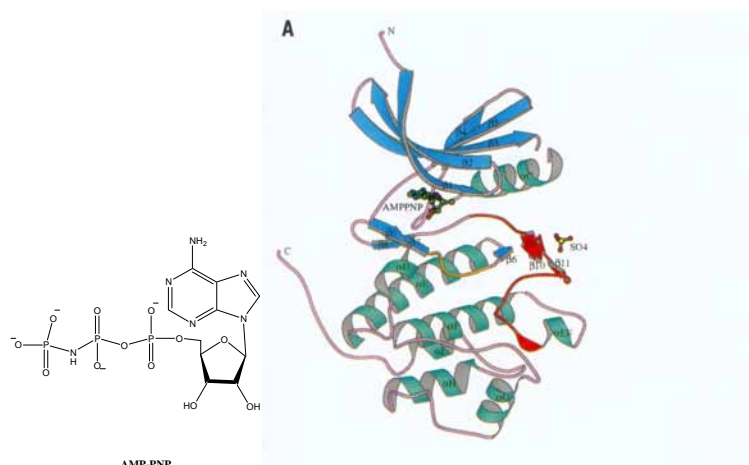


Figure 13⁹

Structure cristalline de la Chk1KD en complexe avec un analogue de l'ATP : l'AMP-PNP.

Les hélices α sont représentées en vert, les feuillets β en bleu, la boucle d'activation en rouge et la boucle catalytique en orange.

La structure cristalline de l'apoenzyme Chk1KD et celle de son complexe binaire avec un analogue de l'ATP, l'AMP-PNP, ont été déterminées avec une résolution de 1,7 Å (**Figure 13**). Aucun changement de conformation n'est observé entre les structures du complexe binaire AMP-PNP et de l'apoenzyme seule. Dans les deux structures, le site de fixation de l'ATP, les résidus catalytiques et la boucle d'activation sont bien ordonnés.

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.

⁹ Chen P. ; Luo C. ; Deng Y. ; Ryan K. ; Register J. ; Margosiak K. ; Tempczyk-Russell A. ; Nguyen B. ; Myers P. ; Lundgren K. ; Kan C. C. ; O'Connor P. *Cell.*, **2000**, 100, 681-692.

D'habitude, la phosphorylation de la boucle d'activation est le passage obligé pour l'activation des kinases. En ce qui concerne la Chk1KD, la structure secondaire et les interactions des chaînes latérales stabilisent la boucle d'activation et permettent l'activation de la kinase sans phosphorylation du site catalytique. L'activation de la Chk1 n'est donc pas régulée par phosphorylation de son domaine kinase. La Chk1 est phosphorylée après endommagement de l'ADN et cette phosphorylation est corrélée avec l'arrêt du cycle cellulaire.

La connaissance de la structure cristalline de la Chk1 est aussi très importante pour la compréhension de l'inhibition sélective de la Chk1 en complexe avec ses inhibiteurs, c'est ce que nous verrons dans la partie suivante.

V. Inhibiteurs de la Chk1:

Avant 1998, seuls quelques inhibiteurs de points de contrôle étaient connus : la caféine qui est le premier composé décrit en tant qu'inhibiteur du point de contrôle en G2, la staurosporine et ses dérivés, l'UCN-01, la 2-aminopurine,...^{8,10,11}

A l'époque les mécanismes d'action de ces inhibiteurs n'étaient pas bien connus. Depuis, des recherches concernant de nouvelles drogues spécifiques du point de contrôle en G2 ont été réalisées, et leur rôle dans le mécanisme du point de contrôle a été étudié.

Nous verrons dans ce chapitre quelques structures cristallines décrites dans la littérature des complexes inhibiteurs/site actif de l'enzyme qui permettent d'expliquer le mode d'action des inhibiteurs.

Nous décrirons uniquement les inhibiteurs de Chk1 des plus connus aux plus récents, en mettant l'accent sur ceux qui présentent une sélectivité d'inhibition de la Chk1 vis-à-vis des autres kinases.

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.

¹⁰ Hugon B. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **2002**, D.U. 1373.

¹¹ Hénon H. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **2005**, D.U. 1610.

1) Les inhibiteurs les plus connus :

a) La Staurosporine, l'UCN-01, et les analogues SB218078, Gö6976, ICP-1 et CEP-3891 :

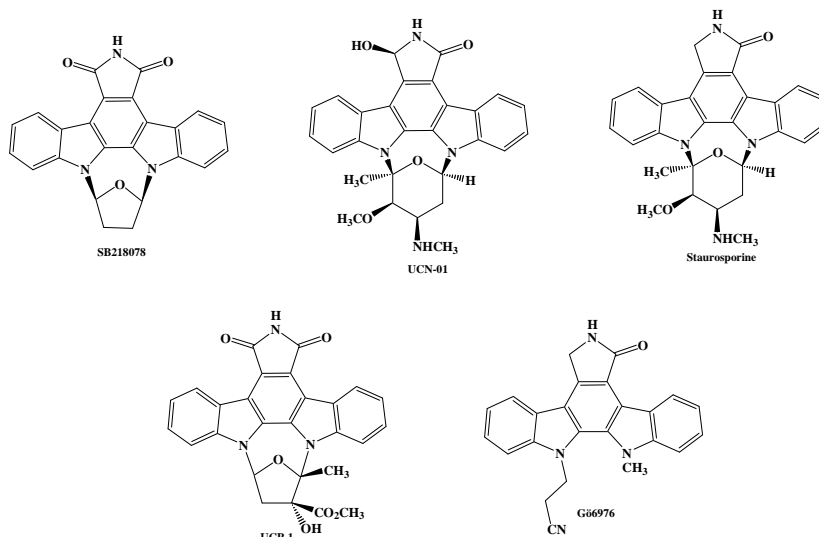


Figure 14: Formules des composés.

Les activités :

La **staurosporine**, un métabolite bactérien, a été tout d'abord identifiée comme un inhibiteur nanomolaire de la protéine kinase C (PKC). Il a été montré plus tard que cette molécule était un inhibiteur non sélectif de kinases. Elle inhibe la Chk1 avec une IC_{50} de 8 nM.¹² Néanmoins, en raison de sa faible sélectivité et de sa forte toxicité, la staurosporine n'a pas fait l'objet d'études cliniques.

Son analogue, la 7-hydroxystaurosporine (l'**UCN-01**) est isolé de cultures de *Streptomyces* et a été aussi identifié initialement en tant qu'inhibiteur de la protéine kinase C.^{4,13} Suivant la concentration utilisée, l'UCN-01 pourra soit abroger les points de surveillance du cycle, soit arrêter la progression du cycle cellulaire, soit induire l'apoptose.² A une plus faible concentration ($< 0,3 \mu\text{M}$), l'UCN-01 a une activité antiproliférative modeste

¹² Zhao B. ; Bower M. J. ; McDewitt P. J. ; Zhao H. ; Davis S. T. ; Johanson K. O. ; Green S. M. ; Concha N. O. ; Zhou B.-B. S. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 46609-46615.

⁴ Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.

¹³ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research*, **2003**, 5, 423-430.

mais il renforce de façon notable l'activité des chimiothérapies classiques qui génèrent les lésions de l'ADN (la mytomycine C, le témolozomide, le cisplatine ou la camptothécine).⁸

Récemment, il a été montré que l'UCN-01 était un inhibiteur efficace de la Chk1 avec une IC₅₀ de 7 nM¹²; il est actuellement testé en phase clinique (I/II).¹⁴

De nombreux indolocarbazoles inhibiteurs de la Chk1 analogues de l'UCN-01 ont été identifiés : Gö6976, SB218078, ICP-1 et CEP-3891 (la structure de ce dernier n'est pas décrite dans la littérature).

Tout d'abord, le **SB218078** est un inhibiteur efficace de Chk1 avec une IC₅₀ de 15 nM.⁷ A une faible concentration, SB218078 inhibe l'arrêt du cycle en G2 induit par le topotecan ou par des radiations ionisantes. Par contre, à des concentrations plus élevées (10 µM) le SB218078 est un inhibiteur de la CDK1 et cause alors l'arrêt du cycle en G2.¹⁴

Le **CEP-3891** est un inhibiteur puissant de la Chk1 avec une IC₅₀ de 4 nM.¹⁴ A la suite de radiations ionisantes, il inhibe le point de contrôle en G2¹⁵ et permet l'augmentation de la mort cellulaire.

Le **Gö6976** est aussi décrit comme un inhibiteur efficace de la Chk1.¹⁶ Il renforce la cytotoxicité du SN38, inhibiteur de la topoisomérase I uniquement sur les cellules déficientes en p53. De plus, à la différence de l'UCN-01 qui est massivement séquestré dans le sérum humain, le Gö6976 est toujours aussi efficace pour abroger le point de contrôle G2 en présence de sérum humain et présente une toxicité moindre. Le Gö6976 apparaît donc aussi intéressant que l'UCN-01 pour une étude clinique pour sensibiliser les cellules tumorales aux agents endommageant l'ADN.

L'**ICP-1** abroge l'arrêt du cycle en G2 et S et renforce la cytotoxicité induite par le cisplatine uniquement sur les cellules déficientes en p53.¹⁴ L'ICP-1 est moins toxique mais moins efficace que l'UCN-01.

⁸Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.

¹² Zhao B. ; Bower M. J. ; McDewitt P. J. ; Zhao H. ; Davis S. T. ; Johanson K. O. ; Green S. M. ; Concha N. O. ; Zhou B.-B. S. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 46609-46615.

¹⁴ Prudhomme M. *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **2004**, 4, 435-438.

⁷ Luo Y. ; Rockow-Magnone S. K. ; Kroeger P. E. ; Frost L. ; Chen Z. ; Han E. K.-H. ; Ng S.-C. ; Simmer R. L. ; Giranda V. L. *Neoplasia.*, **2001**, 3, 411-419.

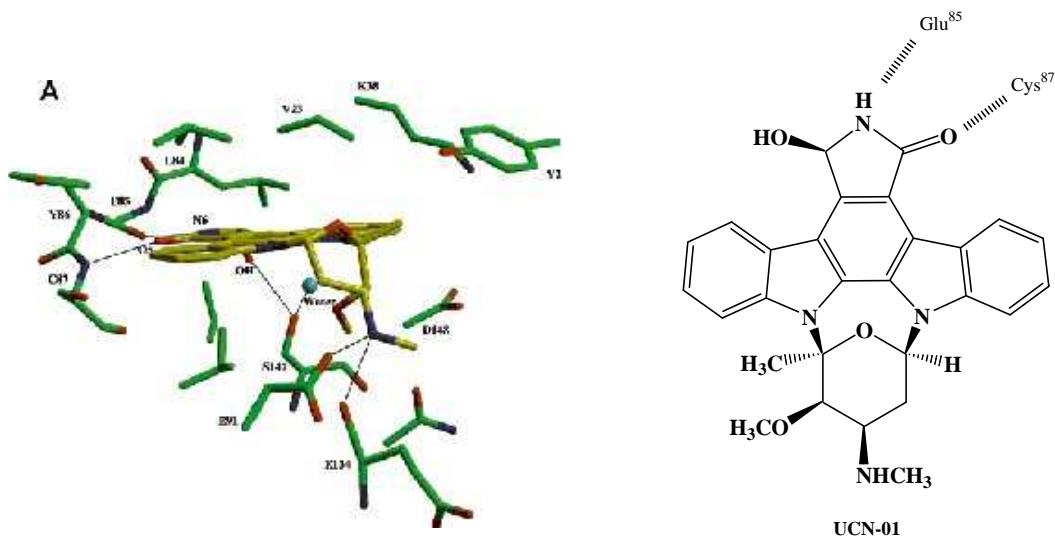
¹⁵ Syljuasen R.G. ; Sorensen C. S. ; Nylansted J. ; Lukas C. ; Lukas J. ; Bartek J. *Cancer Res.*, **2004**, 64, 9035-9040.

¹⁶ Kohn E. A. ; Yoo C. J. ; Eastman A. *Cancer Res.*, **2003**, 63, 31-35.

Les structures des complexes de la Chk1 avec la Staurosporine, l'UCN-01 et le SB218078 :

Afin de comprendre les bases structurales de l'inhibition de la Chk1 par ses inhibiteurs, Zhao *et al.*¹² ont déterminé la structure cristalline de la Chk1 en complexe avec l'UCN-01, la staurosporine et le SB218078 (**Figure 15**).

Les trois composés sont liés à la poche de fixation de l'ATP générant un léger changement de conformation, alors que la fixation de l'AMP-PNP n'induit aucune modification. Ils établissent les deux liaisons hydrogène essentielles, que l'on retrouve chez la plupart des inhibiteurs de kinases, entre la kinase et la partie des inhibiteurs qui mime l'adénine de l'ATP : une liaison hydrogène avec le NH (6) de l'hétérocycle supérieur (imide ou lactame) et l'oxygène du carbonyle de Glu⁸⁵. L'autre s'établit entre l'oxygène (O5) du carbonyle de l'hétérocycle supérieur (imide ou lactame) et le NH du résidu Cys⁸⁷.



¹² Zhao B. ; Bower M. J. ; McDewitt P. J. ; Zhao H. ; Davis S. T. ; Johanson K. O. ; Green S. M. ; Concha N. O. ; Zhou B.-B. *S. J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 46609-46615.

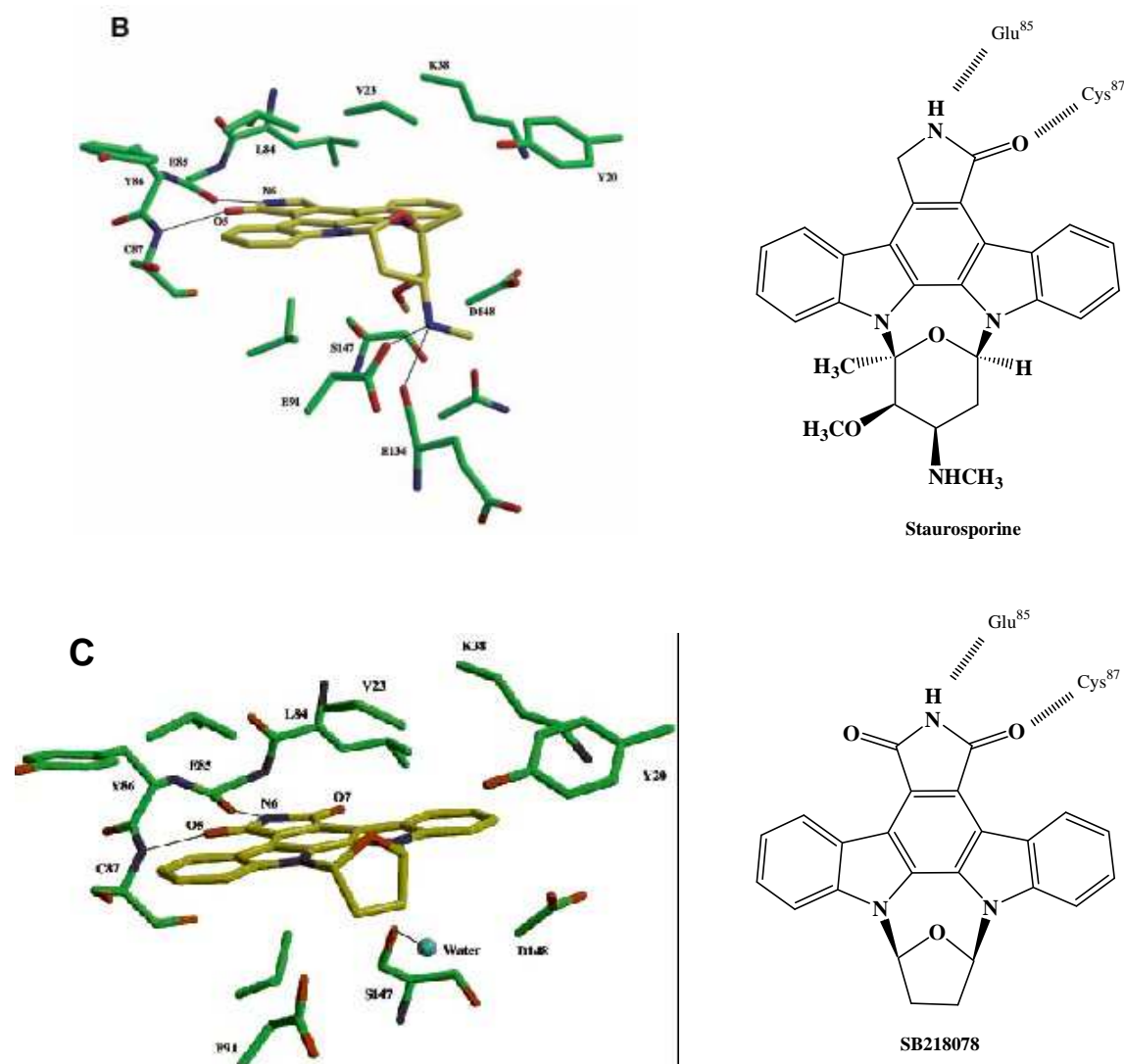


Figure 15 : Site actif de la Chk1KD en complexe avec l'UCN-01 (A) , la staurosporine (B) et le SB218078 (C) (d'après Zhao¹²).

Lors de cette étude, Zhao *et al.*¹² ont aussi décrit la sélectivité de l'UCN-01 envers la Chk1 vis-à-vis d'autres kinases (**Tableau 1**).

Composés	IC ₅₀ (μM)		
	Chk1	CDK1	PKC
SB218078	0,015	0,25	1
Staurosporine	0,008	0,06	0,005
UCN-01	0,007	0,1	0,004

Tableau 1: Valeurs d'IC₅₀ en μM sur différentes kinases.

¹² Zhao B. ; Bower M. J. ; McDewitt P. J. ; Zhao H. ; Davis S. T. ; Johanson K. O. ; Green S. M. ; Concha N. O. ; Zhou B.-B. S. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 46609-46615.

On notera, une meilleure sélectivité de l'UCN-01 par rapport à la staurosporine qui ne possède qu'un lactame. La présence du groupement hydroxyle sur la partie du lactame de l'UCN-01 en est la cause. En effet, le groupement hydroxyle de l'UCN-01 participe à une liaison hydrogène avec Ser¹⁴⁷ de la Chk1, cette dernière est remplacée par Ala dans les CDK1, CDK2 et CDK4. **C'est donc la présence du groupe hydroxyle qui est à l'origine de la haute complémentarité et sélectivité entre la Chk1 et l'UCN-01 contrairement à la staurosporine.**

b) *L'hyménialdisine et la débromohyménialdisine (DBH):*

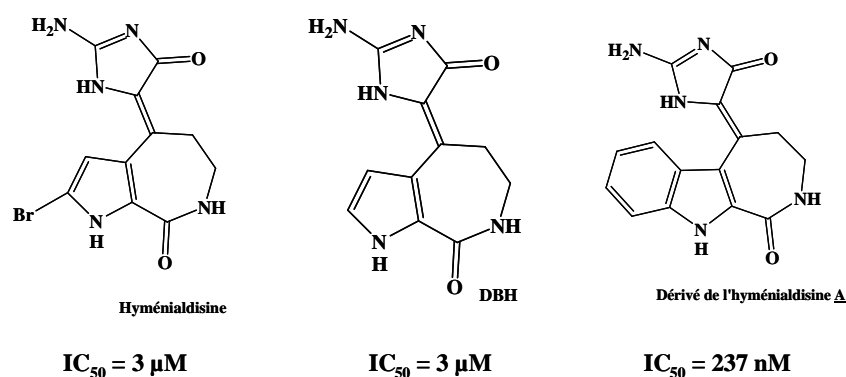


Figure 16: Structures des composés et IC_{50} (Chk1).

L'hyménialdisine et la DBH^{8,13,17} (**Figure 16**), isolés d'une éponge marine, inhibent le point de contrôle en G2 avec des IC_{50} de 6 μM et 8 μM respectivement et les kinases Chk1 et Chk2 avec des IC_{50} de 3 μM . Ces inhibiteurs sont loin d'être sélectifs puisqu'ils sont aussi des inhibiteurs puissants (nM) d'autres kinases comme MEK-1, GSK-3 β , CDK1 et CK1. Un dérivé de l'hyménialdisine A¹⁷ de la famille des indolazépines, présente des activités inhibitrices puissantes sur plusieurs kinases dont la Chk1 ($IC_{50} = 237 \text{ nM}$). Mais ce composé est plus sélectif de la Chk2 avec une IC_{50} de 8 nM.

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.

¹³ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L.; Jézéquel A.; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.

¹⁷ Sharma V. ; Tepe J. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, 4319-4321.

c) *La granulaticide et l'isogranulaticide :*

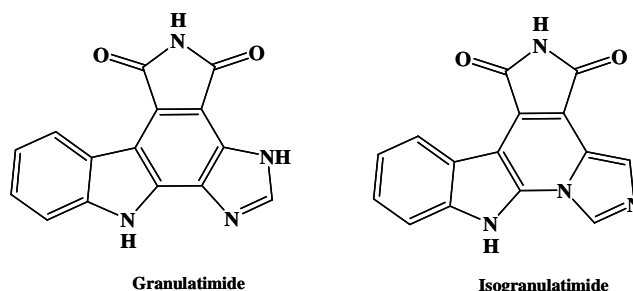


Figure 17: Structures de la granulaticide et de l'isogranulaticide.

La granulaticide et l'isogranulaticide (**Figure 17**) sont des alcaloïdes isolés d'une ascidie brésilienne *Didemnum granulatum*. Ils contiennent un squelette hétérocyclique carbazole/maléimide/imidazole.

Les deux composés inhibent le point de contrôle en G2 avec une IC_{50} de $6 \mu M^{13}$ et la prolifération cellulaire avec une IC_{50} huit fois plus importante.

Les travaux réalisés par Jiang *et al.*¹⁸ mettent en avant l'importance du NH imidique ainsi que les azotes basiques de l'imidazole en ce qui concerne l'inhibition des points de contrôle. En effet, ces auteurs ont réalisé une étude de comparaison entre des analogues synthétiques et naturels de l'isogranulaticide.

Etude de l'inhibition de la Chk1 par l'isogranulaticide et ses analogues :

La ressemblance structurale de l'isogranulaticide avec l'aglycone de l'UCN-01 laisse penser que l'isogranulaticide est un inhibiteur efficace de la Chk1. Jiang *et al.*¹⁸ ont déterminé les IC_{50} sur la Chk1 de l'isogranulaticide et de trois de ses analogues afin de comparer leur activité avec celle de l'UCN-01 (**Figure 18 et Tableau 2**).

¹³ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L.; Jézéquel A.; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.

¹⁸ Jiang X. ; Zhao B. ; Britton R. ; Lim L. Y. ; Leong D. ; Sanghera J. S. ; Zhou B.-B. S. ; Piers E. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Mol. Cancer Ther.*, **2004**, 3, 1221-1227.

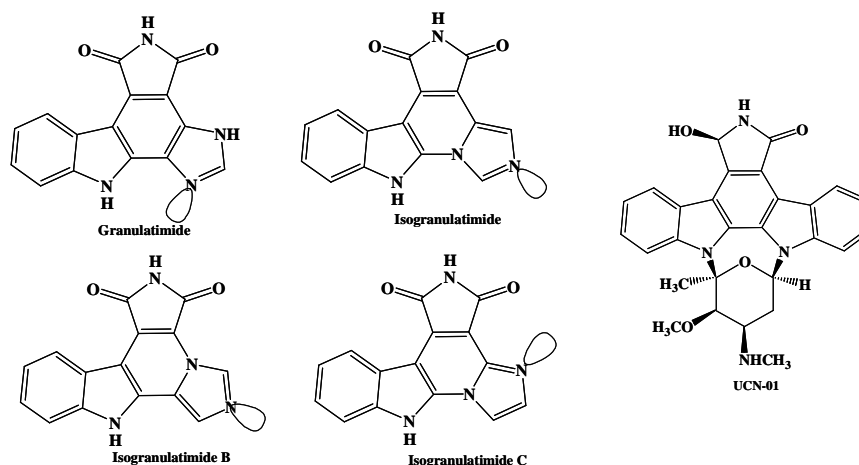


Figure 18: Structures de l'UCN-01, de la granulatinimide, de l'isogranulatimide et de deux analogues.

IC ₅₀ (μM) de Chk1				
UCN-01	Isogranulatimide	Granulatimide	IsogranulatimideC	IsogranulatimideB
0,007	0,1	0,25	0,65	2,3

Tableau 2 : Inhibition *in vitro* de la Chk1 par l'isogranulatimide et analogues.

Les résultats des tests montrent que l'isogranulatimide, la granulatinimide et l'isogranulatimide C sont des inhibiteurs efficaces de la Chk1 mais ils sont **moins puissants** que l'UCN-01. Par contre l'isogranulatimide B est quant à lui un mauvais inhibiteur de la Chk1.

Sélectivité de l'isogranulatimide et de ses analogues pour la Chk1 :

L'équipe de Jiang a également étudié la sélectivité de ces inhibiteurs en réalisant un screening sur 14 kinases différentes (Chk1, CDK1, SRC, Protein Kinase A, Protein kinase Cβ...). Les études révèlent que l'isogranulatimide et ses analogues sont **plus sélectifs** de la Chk1 que l'UCN-01.

En résumé, l'isogranulatimide est un inhibiteur moins puissant de la Chk1 mais plus sélectif que l'UCN-01. Nous venons de noter une différence d'activité de ces deux inhibiteurs de Chk1, nous allons voir comment s'explique cette différence via leur fixation sur le site actif de l'enzyme.

Structures cristallines du complexe isogranulatimide-Chk1 :

Afin de déterminer les bases structurales de l'inhibition de la Chk1 par l'isogranulatimide, la structure cristalline du complexe entre l'apoenzyme de la Chk1 et l'isogranulatimide a été déterminée par cristallographie aux rayons X et comparée à celle du complexe Chk1/UCN-01 (**Figure 19**).

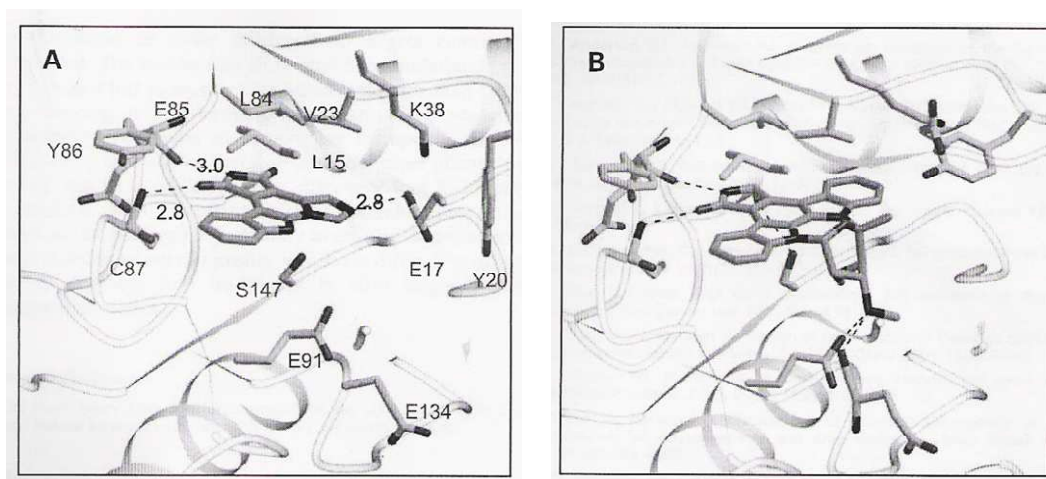


Figure 19: Structures cristallines des complexes entre l'isogranulatimide (A); l'UCN-01 (B) et la Chk1KD.

L'isogranulatimide, comme l'UCN-01, se fixe dans la poche de fixation de l'ATP. L'isogranulatimide établit les deux liaisons hydrogène essentielles dont nous avons discuté précédemment. L'une de ces liaisons hydrogène se forme entre le NH du maléimide et l'oxygène du carbonyle du résidu Glu⁸⁵ et l'autre s'établit entre l'oxygène du carbonyle du maléimide et le NH du résidu Cys⁸⁷. L'un des azotes du cycle imidazole interagit avec l'acide carboxylique de la chaîne latérale de Glu¹⁷ ce qui explique l'orientation de la molécule dans le site actif. De plus, de nombreuses liaisons de Van der Waals ont lieu entre la partie hydrophobe de l'isogranulatimide et les chaînes latérales des résidus du domaine *N*-terminal de l'enzyme, en particulier avec Leu¹⁵, Val²³, Ala³⁶, Lys³⁸, Leu⁸⁴ et Tyr⁸⁶.

Maintenant, si l'on compare les deux structures cristallines A et B des complexes isogranulatimide/Chk1 et UCN-01/Chk1, il apparaît que les deux liaisons hydrogènes essentielles sont présentes dans les deux cas. A la différence de l'isogranulatimide, l'UCN-01 interagit également avec Ser¹⁴⁷ via son groupement hydroxyle et Glu⁹¹ ainsi que Glu¹³⁴ via sa partie sucre. Ces différences au niveau des interactions avec le site ATP de l'enzyme peuvent expliquer la différence d'activité entre les deux inhibiteurs.

La connaissance des différentes interactions entre ces inhibiteurs et la poche de fixation de l'ATP est intéressante pour la conception de nouveaux composés susceptibles d'inhiber la Chk1.

2) Les nouveaux inhibiteurs de la Chk1 :

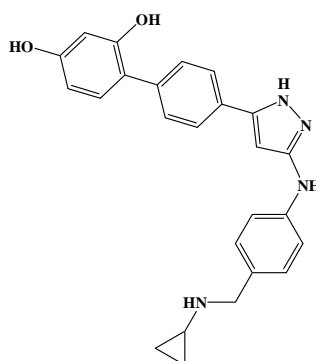
Ces dernières années de nombreux composés décrits en tant qu'inhibiteurs de la Chk1 ont fait l'objet de brevets et de publications. Nous verrons que ces composés pourront être classés en plusieurs familles : analogues de la granulatimide, pyrazoles, thiazoles, thiophènes, indoles, indazoles, urées. La plupart de ces composés ont été décrits par Hélène Hénon dans sa thèse.¹¹

Parmi ces composés, certains ont été testés sur la Chk1. D'autres sont seulement décrits en tant qu'inhibiteurs potentiels de la Chk1. Nous ne décrivons que les inhibiteurs parus depuis novembre 2005.

a) La famille des pyrazoles :

o Les aminopyrazoles :

L'entreprise Pfizer s'est intéressée aux aminopyrazoles en tant qu'inhibiteurs de la Chk1 avec un brevet déposé en 2005.⁸ Le composé représentatif **B** (Figure 20) inhibe la Chk1 avec une concentration subnanomolaire et possède une EC₅₀ de 60 nM dans un test d'inhibition de la Chk1 sur cellules. De plus, les tests réalisés sur d'autres kinases (Chk2, PKC, Src, CDK2,...) montrent que l'aminopyrazole est un inhibiteur au moins vingt fois plus sélectif de la Chk1 que des autres kinases.



B (EC₅₀ Chk1 = 60 nM)

Figure 20: Structure d'un aminopyrazole représentatif décrit par Pfizer.

¹¹ Hénon H. Thèse de l'Université Blaise Pascal, 2005, D.U. 1610.

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* 2006, 6, 377-388.

○ *Dérivés pyrazoliques :*

Des pyrazoloquinolines (par exemple **C1**) sont aussi décrits par Boyle *et al.*^{8,19} et Brnardic *et al.*²⁰ (par exemple **C2**) comme des inhibiteurs efficaces de la Chk1 mais sans donner de précisions sur les données biologiques (**Figure 21**).

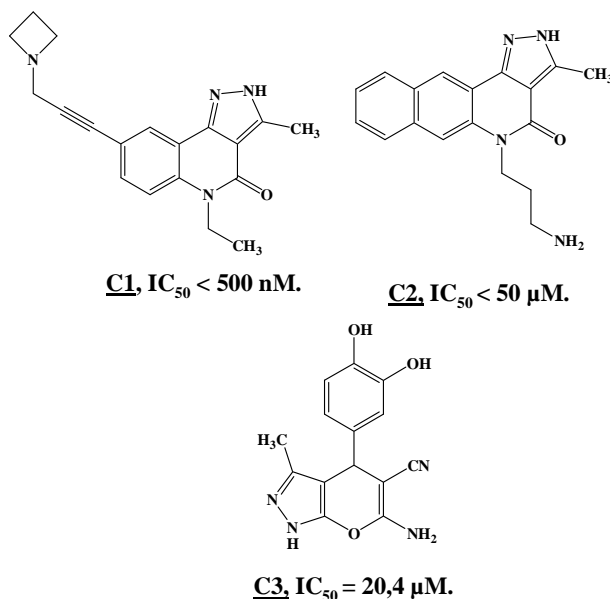


Figure 21: Structures d'inhibiteurs de Chk1.

Dernièrement, Folope *et al.*²¹ ont réalisé un screening récepteur-base virtuelle qui leur a permis d'identifier dix nouvelles petites molécules, de familles différentes, inhibitrices de la Chk1. Parmi elles, le composé **C3** (**Figure 21**) possède une IC_{50} de 20,4 μ M. Une modélisation moléculaire du complexe **C3**/poche de fixation de l'ATP montre que les deux liaisons essentielles, dont nous avons parlé précédemment, sont présentes. Elles auraient lieu entre le NH du pyrazole et le carbonyle de Glu⁸⁵ et l'O de l'hétérocycle et le NH de Cys⁸⁷ (**Figure 22**).

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.

¹⁹ Boyle R. G. ; Imogai H. J. ; Cherry M. ; Humphries A. J. ; Navarro E. F. ; Owen D. R. ; Dales N. A. ; LaMarche M. J. ; Cullis C. ; Gould A. E. ; Greenspan P. D. US 0035920 (**2006**).

²⁰ Brnardic E. J. ; Fraley M.E.; Garbaccio, R.M. WO074207 (**2006**).

²¹ Folope N. ; Fisher L. M. ; Howes R. ; Potter A. ; Robertson A. G. ; Surgenor A. E. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 4792-4802.

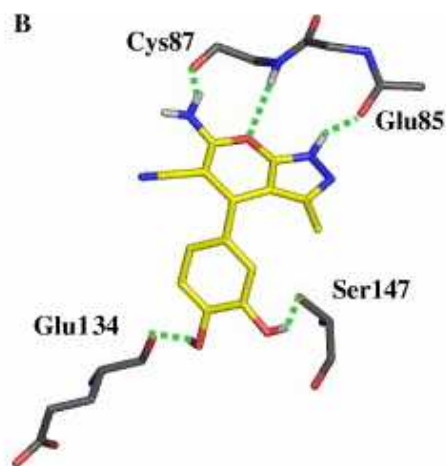


Figure 22: Modélisation moléculaire du complexe C3/site de fixation de l'ATP de la Chk1.

b) La famille des indazoles :

Tao⁸ dans sa revue donne un exemple de pyrimidinylindazolyamines décrit par Biofocus Discovery Ltd. Un des composés représentatifs **D** (Figure 23) présente une IC₅₀ inférieure au micromolaire et est cinquante fois plus sélectif de la Chk1 que de la CDK1.

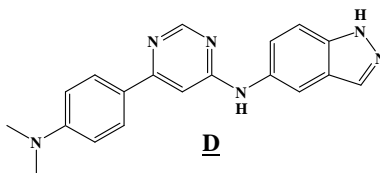


Figure 23: Exemple de pyrimidinylindazolyamines.

c) La famille des benzimidazoles :

Des scientifiques du groupe Chiron⁸ révèlent dans leur brevet deux benzimidazole quinolinones (Figure 24) qui sont des inhibiteurs puissants de la Chk1 avec une IC₅₀ de 0,3 nM pour **CHR 124** et de 0,6 nM pour **CHR 600**, et qui présentent une sélectivité pour la Chk1 vis-à-vis des autres kinases telles que Chk2, CDKs, Flt-3. Plus récemment, le même laboratoire a décrit d'autres benzimidazole quinolinones dont le composé **E** (Figure 24) qui présente de très bonnes activités antiprolifératives (comme par exemple une IC₅₀ = 25 nM sur cellules microvasculaires endothéliales HMVEC ; EC₅₀ = 9 nM, sur cellules du cancer du colon KM12L4a). Ce composé, inhibiteur de plusieurs récepteurs de facteurs de croissance à

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.

activité tyrosine kinase, montre une grande efficacité à intensifier l'effet des agents endommageant l'ADN tels que l'irinotecan et 5-FU et une bonne biodisponibilité orale. Cependant, aucun résultat des tests sur la Chk1 n'est révélé.

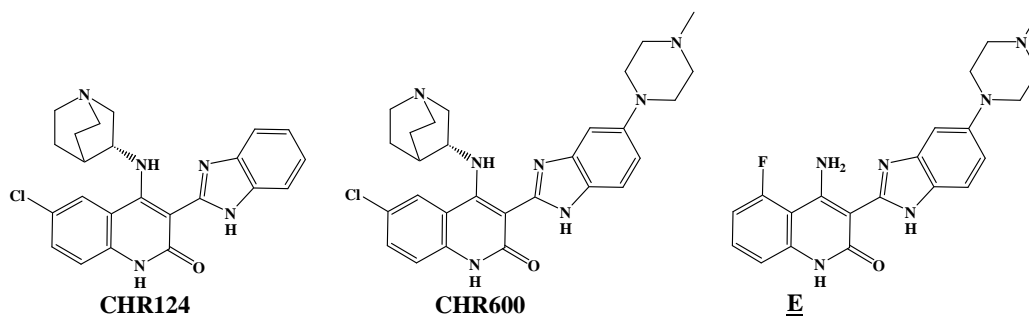


Figure 24: Structures de benzimidazole quinolinones.

Gesner et *coll.*²² décrivent des composés de la même famille (**Figure 25**), inhibiteurs efficaces de la Chk1, ayant un effet synergique avec les agents endommageant l'ADN (camptothecine, irinotecan,...) mais sans donner des valeurs précises pour l'inhibition de la Chk1.

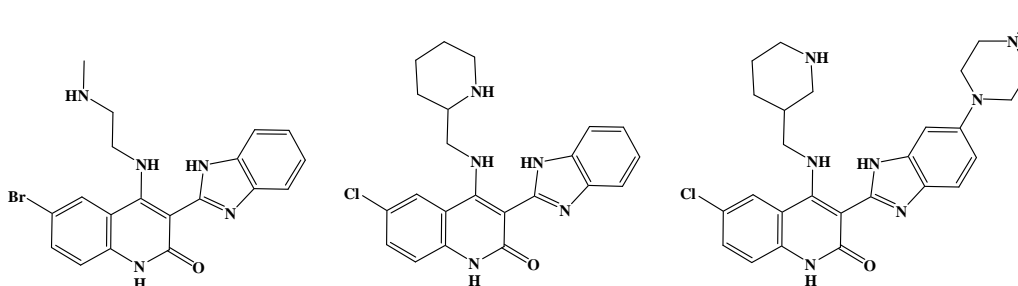


Figure 25: Exemples de benzimidazole quinolinones décrits par Gesner et *coll.*

L'entreprise Merck s'est aussi intéressée à cette famille de composés. Elle présente, dans un récent brevet²³, différents inhibiteurs de la Chk1 possédant des IC₅₀ de la Chk1 de 1 nM à 10 μM. Quelques uns de ces composés sont représentés **Figure 26**.

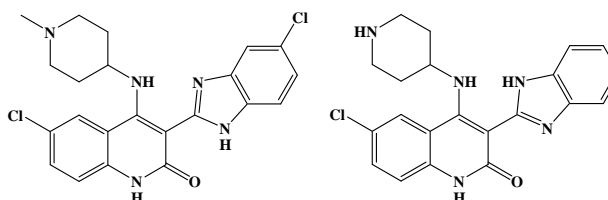


Figure 26: Exemples de benzimidazole quinolinones décrits par Merck.

²² Gesner T. G. ; Barsanti P. A. ; Harrison S. D. ; Ni Z.-J. ; Brammeier N. M. ; Zhou Y. ; Le V. P. US0256157 (2005).

²³ Brnardic E. J. ; Fraley M.E. WO074281 (2006).

Le groupe pharmaceutique Agouron²⁴ s'est intéressé à une famille de benzimidazole contenant un groupement carbamate. Les études réalisées sur ces carbamates montrent qu'ils sont des inhibiteurs efficaces de la Chk1 et qu'ils sont cinquante fois plus sélectifs de la Chk1 par rapport aux autres kinases. Nous ne donnerons que quelques exemples de ces composés avec une valeur approximative de leur constante d'inhibition Ki (**Figure 27**).

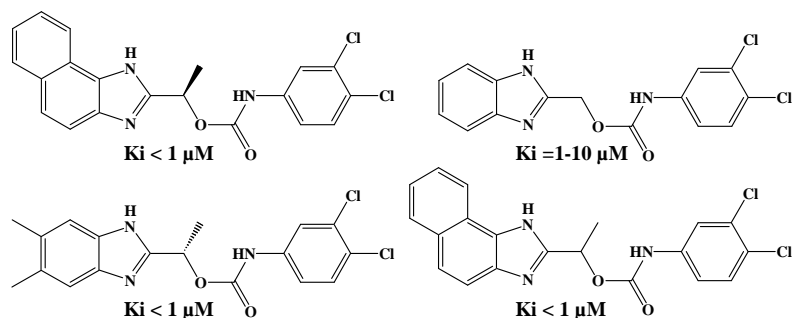


Figure 27: Exemples de benzimidazole carbamates décrits par Rui et coll.

d) La famille des urées :

De nombreux groupes pharmaceutiques décrivent dans leurs brevets des composés de structure diaryle urée en tant qu'inhibiteurs de la Chk1.⁸

Deux exemples de ces composés sont les **A-690002** et **A-641397**, inhibiteurs efficaces et sélectifs de la Chk1 avec des IC_{50} de 6,5 nM et 8,3 nM, respectivement, sur cette enzyme (**Figure 28**). Leur sélectivité est relativement élevée puisqu'ils sont de 125 à > 5000 fois plus sélectifs de la Chk1 par rapport à un panel de sérines/thréonines kinases. Les études menées sur ces composés ont montré qu'ils sont relativement sensibles aux cellules déficientes en p53. Ils inhibent les points de surveillance du cycle tout en augmentant la cytotoxicité des inhibiteurs de topoisomérase et des radiations γ sur les cellules cancéreuses. Les études de relations structure-activité mettent en évidence la préférence pour un hétérocycle pyrazine en tant qu'un des groupes aryles et des substituants en position C2 et C4 du cycle phényle ainsi qu'en C6' pour le cycle pyrazine.

²⁴ Rui E. Y. ; Johnson JR T. O. ; Kellum J. H. US0148643 (2005).

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* 2006, 6, 377-388.

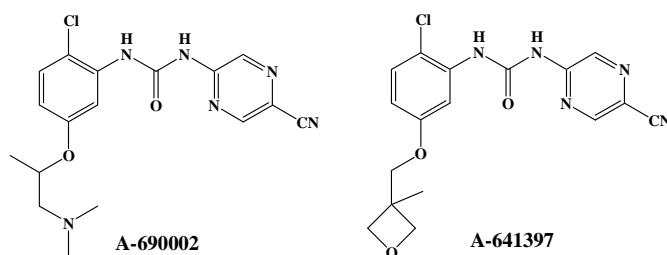


Figure 28: Structures des A-690002 et A-641397.

Keegan *et al.*²⁵ ont décrit des inhibiteurs qui sont efficaces (IC_{50} de 1 à 100 μ M), sélectifs (jusqu'à 5 fois par rapport à d'autres kinases) et qui renforcent l'activité des agents endommageant l'ADN (IR, 5-FU). **G1** et **G2** (Figure 29) ont par exemple la capacité d'augmenter la mort cellulaire des cellules HeLa par irradiation de deux à trois fois et par 5-FU de deux à dix fois.

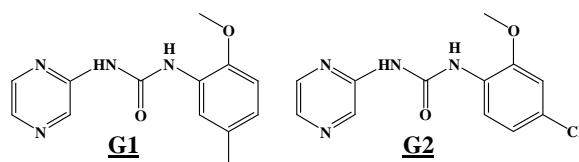


Figure 29: Exemples de structures des composés décrits par Keegan *et coll.*

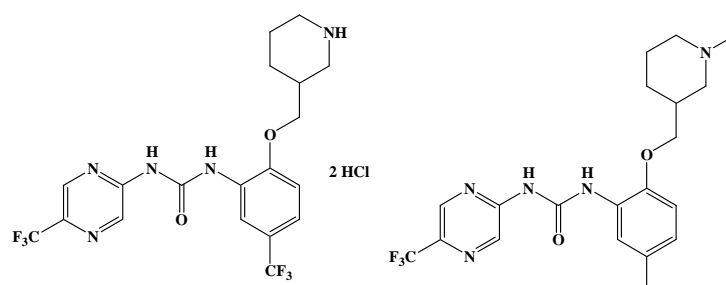
Farouz²⁶, Gaudino²⁷ et Birault²⁸ présentent des inhibiteurs de la Chk1 ayant le même type de structures. Les propriétés de ces composés sont présentées sur la figure ci-dessous (Figure 30).

²⁵ Keegan K. S. ; Kesicki E. A. ; Gaudino J. J. ; Cook A. W. ; Cowen, S.D. ; Burgess L. E. US0245525 (2005).

²⁶ Farouz F. S. ; Holcomb R. ; Thorsett E. ; Gaudino J. J. WO021002 (2006).

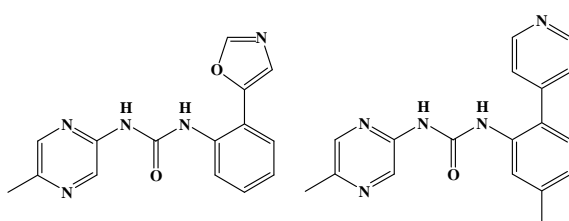
²⁷ Gaudino J. J. ; Cook A. W. WO014359 (2006).

²⁸ Burgess L. E. ; Cook A. W. ; Fischer K. L. ; Gaudino J. J. ; Schlachter S. T. WO012308 (2006).

Inhibiteurs décrits par Farouz et coll.

0,1 nM <math>IC_{50}</math> <math>< 5 \mu M</math>

Composés 100 fois plus sélectifs de la Chk1 par rapport aux autres enzymes

Inhibiteurs décrits par Gaudino et coll.

Composés au moins 20 fois plus sélectifs de la Chk1
par rapport aux autres enzymes

Inhibiteurs décrits par Burgess et coll.

8 nM IC_{50} <math>< 500 \text{ nM}</math>

Composés au moins 100 fois plus sélectifs de la Chk1
par rapport aux autres enzymes

Figure 30: Structures et activités des urées décrites par Farouz et coll., Gaudino et coll., Burgess et coll.

Li *et al.*²⁹ décrivent des *N*-aryle-*N'*-pyrazinethiourées dont la structure est décrite ci-dessous (**Figure 31**) comme inhibiteurs de la Chk1. Divers substituants du groupement phényle ont été étudiés. Une activité enzymatique inférieure à 20 nM est observée pour 15 des 41 composés décrits. Parmi eux, **H** (**Figure 31**) présente les meilleurs résultats dans les tests cellulaires en abrogeant l'arrêt du cycle cellulaire induit par la doxorubicine ($IC_{50} = 1,7 \mu M$) et renforçant la cytotoxicité de la doxorubicine ($IC_{50} = 0,44 \mu M$).

²⁹ Li G. ; Lisa A. H. ; Tao Z.-F. ; Wang G. T. ; Gwaltney S. L. ; Patel J. ; Kovar P. ; Credo R. B. ; Chen Z. ; Zhang H. ; Park C. ; Sham H. L. ; Sowin T. ; Rosenberg S. H. ; Lin N.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 2293-2298.

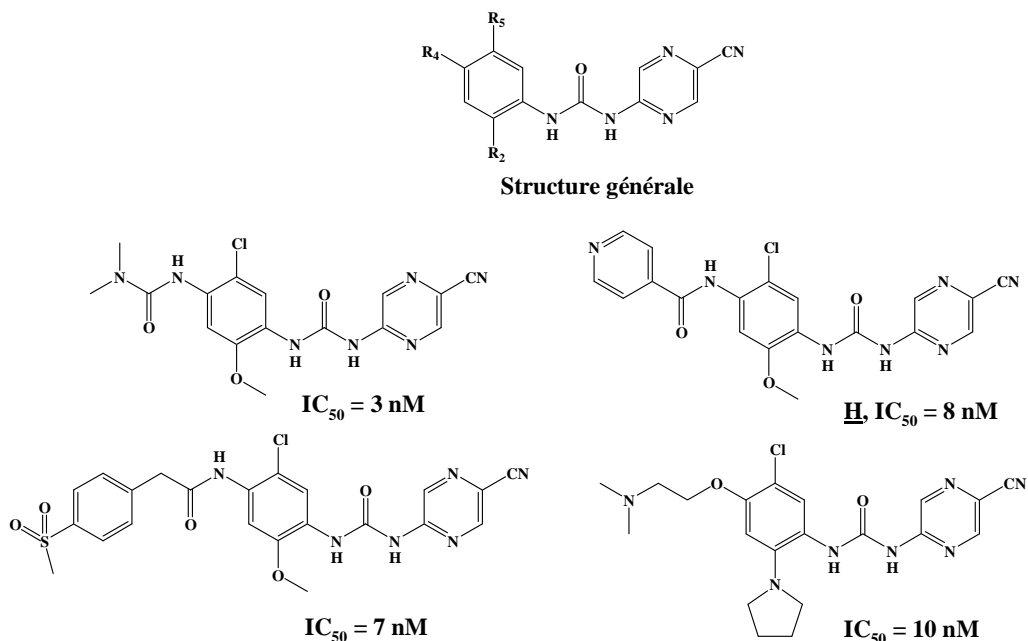


Figure 31: Structure générale et exemples des inhibiteurs de Chk1 décrits par Li *et al.*

Des macrocycles urées ont été décrits comme des inhibiteurs efficaces de la Chk1 par Tao *et al.*⁸ Le composé **I** (Figure 32) en est un exemple type.

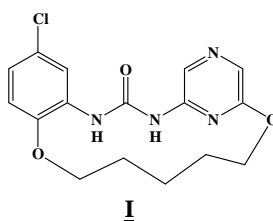


Figure 32: Exemple de macrocycle urée.

e) *Inhibiteurs hétéroaromatiques :*

o *Les pyrroloindoles :*

Booth *et al.*³⁰ décrivent plusieurs composés de type pyrrolocarbazoles (Figure 33) pouvant inhiber Chk1 et/ou Wee1. Aucune autre précision en ce qui concerne leurs activités n'a été révélée dans les brevets.

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.

³⁰ Booth R. J. ; Lee H. H. ; Kraker A. ; Ortwine D. F. ; Palmer B. D. ; Sheehan D. J. ; Toogood P. L. US0250836 (2005).

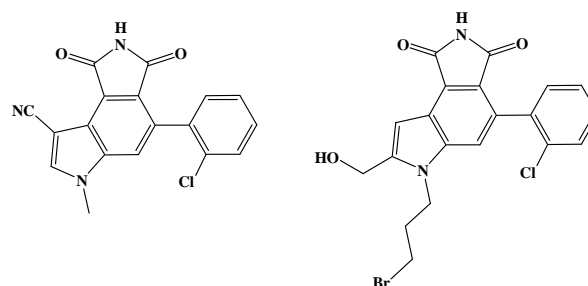


Figure 33: Exemples de pyrroloindoles décrits par Booth.

○ *Les oxindoles :*

Les laboratoires Abbott^{8,31} se sont intéressés aux structures de type oxindole pour l'élaboration d'inhibiteurs de Chk1. D'après leurs travaux, le composé **J1** (Figure 34) apparaît comme le composé le plus prometteur avec une IC₅₀ de 4 nM sur la Chk1. Son analogue **J2**, qui possède un pyrrole comme substituant à la place de l'indole, présente une IC₅₀ de 7 nM. Ces deux composés ont une grande sélectivité pour la Chk1. **J2** n'a d'ailleurs aucune activité sur les autres enzymes testées et **J1** est 91 fois plus sélectif de la Chk1 par rapport à la CDC2.

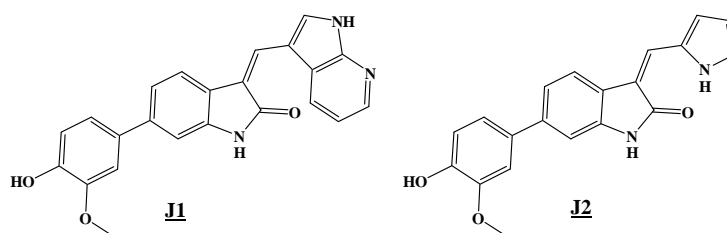


Figure 34: Structures des oxindoles **J1** et **J2**.

Pour comprendre comment ces inhibiteurs interagissent avec l'enzyme, une étude cristallographique du complexe Chk1/**J2** par RX a été réalisée (Figure 35).

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.

³¹ Lin N. H. ; Xia P. ; Kovar P. ; Park C. ; Chen Z. ; Zhang H. ; Rosenberg S. H. ; Sham H. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 421-426.

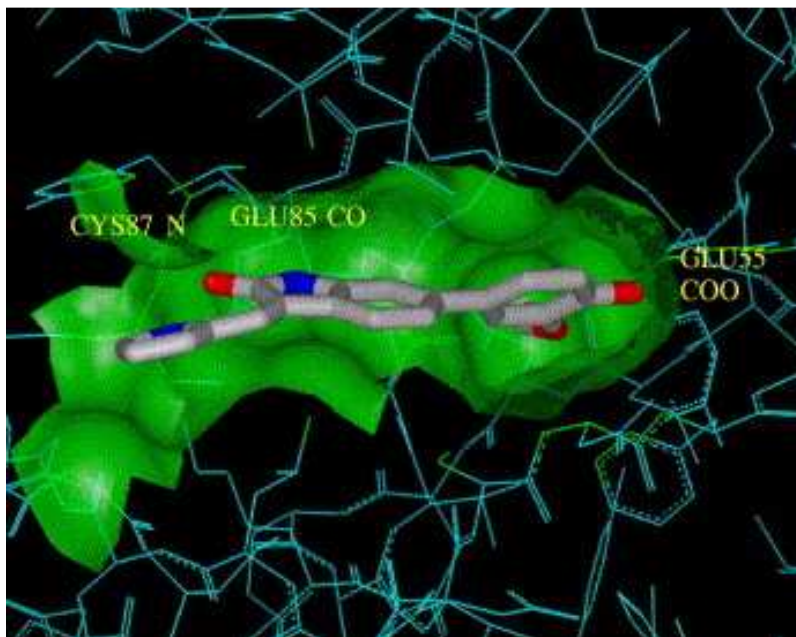
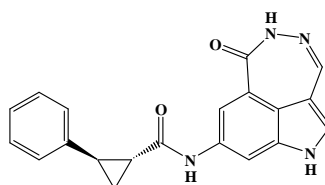


Figure 35: Structure aux RX du co-cristal J2/Chk1.

Les RX du co-cristal montrent que le groupe OMe établit une liaison hydrogène avec Lys³⁸, et le groupe OH avec Glu⁵⁵. De plus, on retrouve la formation des deux liaisons hydrogène essentielles entre le NH de l'indole et le carbonyle de Glu⁸⁵, et le carbonyle de l'oxindole et le NH de Cys⁸⁷.

○ *Les diazépinoindoles :*

Le groupe Pfizer⁸ décrit des structures de diazépinoindoles en tant qu'inhibiteurs efficaces de la Chk1. Le composé **PF-00394691** (Figure 36) est l'un de ces inhibiteurs. Il abroge les deux arrêts en S et G2 induits par des agents endommageant l'ADN. Il a été montré que **PF-00394691** renforce la cytotoxicité de l'irinotecan, de la gemcitabine et du cisplatine dans les cellules tumorales dont le gène *p53* est muté.



PF-00394691

Figure 36: Structure du PF-00394691.

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.

Benedict *et al*³². avec le groupe pharmaceutique Agouron se sont aussi intéressés aux diazépinoindoles.

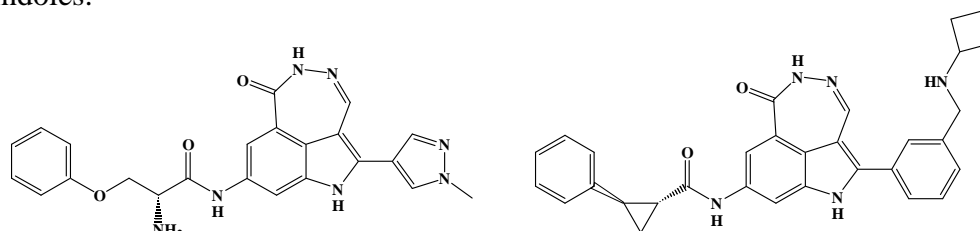
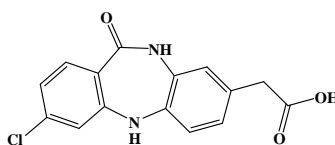


Figure 37: Exemples de diazépinoindoles décrits par Benedict *et coll.*

Les constantes d'inhibitions décrites sont extrêmement faibles mais aucune donnée n'est associée à une structure. Deux exemples de ces composés sont décrits dans la **Figure 37**.

○ *Dérivés diazépines :*

Des structures du type dibenzodiazépinoindole ont fait l'objet d'un brevet de Hasvold *et al.*⁸ Les composés testés possèdent des IC_{50} entre 0,2 nM et 280 μ M. Le composé **K** en est un exemple (**Figure 38**).



K

Figure 38: Exemple de diazépinoindole décrit par Hasvold *et coll.*

○ *Pyridazine, quinoline :*

Foloppe *et al.*²¹ décrivent deux structures de type quinoline (composé **L**) et de type pyridazine (composé **M**) qui possèdent des IC_{50} sur la Chk1 de 27,3 μ M et 15,6 μ M respectivement. Leurs structures aux RX en complexe avec la Chk1 ont été réalisées (**Figure 39 et 40**).

³² Benedict S. ; Bennett M. ; Ninkovic S. ; Teng M. ; Rui E. ; Wang F. ; Wang Y. ; Zhu Z. US0004052 (2006).

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.

²¹ Foloppe N. ; Fisher L. M. ; Howes R. ; Potter A. ; Robertson A. G. ; Surgenor A. E. *Bioorg. Med. Chem.* ; **2006**, 14, 4792-4802.

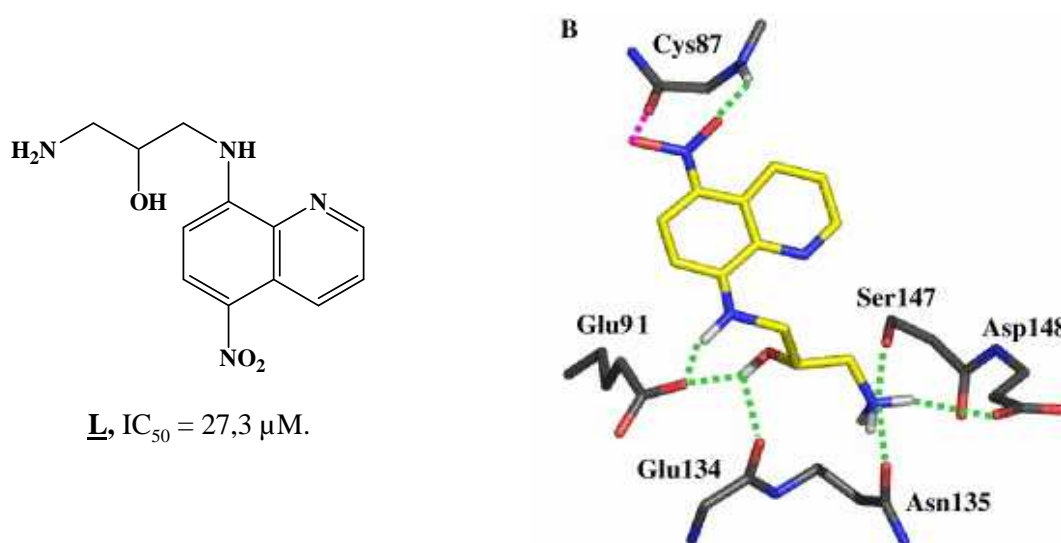


Figure 39: Structure cristallographique de L/site ATP de la Chk1.

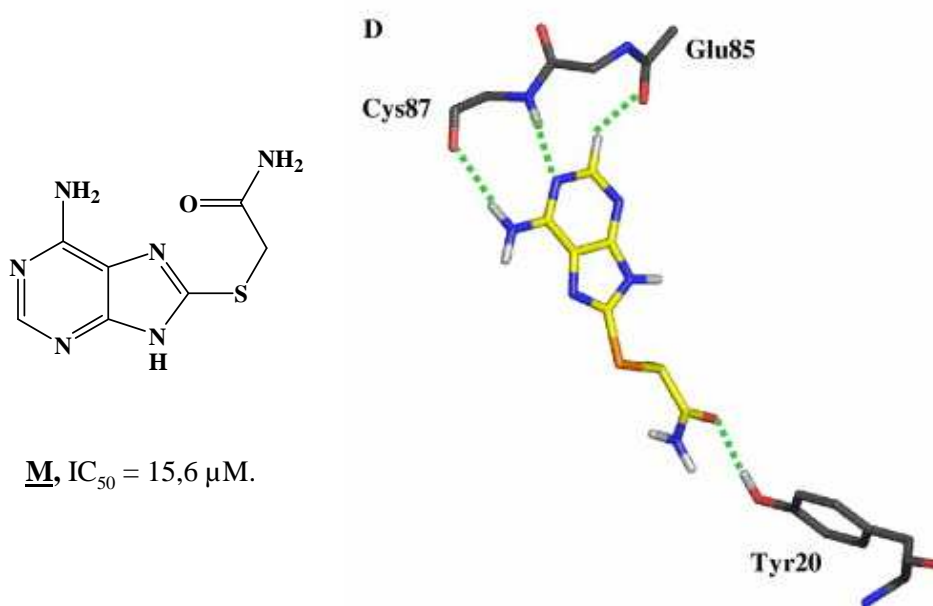


Figure 40: Structure cristalline de M/site ATP de la Chk1.

f) Inhibiteurs peptidiques et peptidomimétiques :

Les scientifiques des laboratoires Canbas Research ont décrit des peptides et des peptidomimétiques inhibiteurs du point de contrôle en G2.⁸ Le CBP501 abroge l'arrêt du cycle en G2 induit par des agents endommageant l'ADN à des concentrations inférieures au micromolaire. Les études *in vivo* montrent que le CBP501 augmente l'efficacité des

⁸ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.

anticancéreux comme le cisplatine alors que l'utilisation seule du CBP501 génère l'arrêt de la croissance des cellules pancréatiques cancéreuses. Cependant, le CBP501 n'inhibe que faiblement la Chk1 *in vitro* ($IC_{50} = 7,9 \mu\text{M}$).

g) Les inhibiteurs analogues de la granulatinide et isogranulatinide synthétisés au laboratoire :

Depuis quelques années, notre laboratoire s'intéresse à la conception d'inhibiteurs de la Chk1, analogues des composés naturels la granulatinide et l'isogranulatinide (**Figure 41**). Ces travaux ont tout d'abord été développés par B. Hugon¹⁰ au cours de sa thèse (thèse soutenue en octobre 2002). Puis, la suite des travaux a été effectuée au cours des thèses de Samir Messaoudi³³ (thèse soutenue en Novembre 2004) et Hélène Hénon¹¹ (thèse soutenue en Novembre 2005).

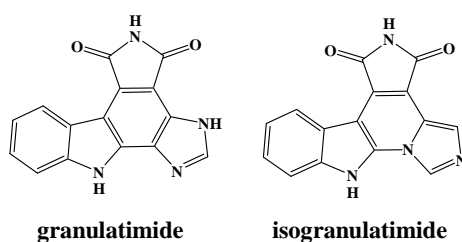


Figure 41: La granulatinide et l'isogranulatinide.

Tout d'abord, B. Hugon a élaboré une voie de synthèse qui a conduit à des composés nouveaux de type bis-imide.

La synthèse du composé bis-imide **N** s'effectue en 4 étapes par addition de Michael de l'indole sur le maléimide en milieu acide, suivie d'une oxydation au DDQ, d'une réaction de Diels-Alder et d'une oxydation finale par du DDQ (**Figure 42**).

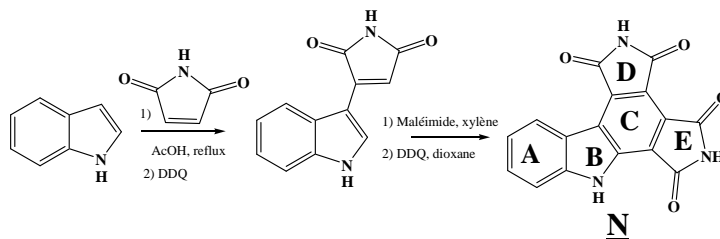


Figure 42: Synthèse du bis-imide **N**.

¹⁰ Hugon B. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **2002**, D.U. 1373.

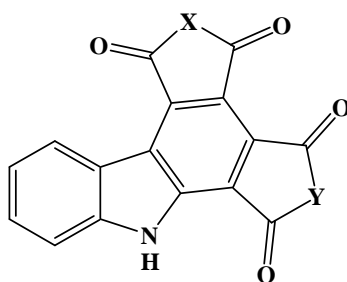
³³ Messaoudi S. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **2004**, D.U. 1537.

¹¹ Hénon H. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **2005**, D.U. 1610.

Selon cette voie de synthèse et dans le cadre d'une étude de relations structure-activité, H. Hénon a réalisé des modifications des cycles *A*, *B*, *D* et *E*.

☉ Modifications des cycles *D* et *E* :

Ces différents composés ont été préparés par Bernadette Hugon et Hélène Hénon.



Composés		% d'inhibition de la Chk1 à 10 μ M	IC ₅₀ de la Chk1 (μ M)
Granulatimide		93,9	0,081
isogranulatimide		89,7	0,44
X	Y		
NH	NH	94,4	0,02
NCH ₃	NCH ₃	22,2	
NCH ₃	NH	30,7	
O	NCH ₃	39,6	
N(CH ₂) ₂ NEt ₂ .HCl	NCH ₃	11,9	
NH	O	46,7	
NCH ₃	O	24,3	
NH	NCH ₃	75,7	5,0
NCH ₃	N(CH ₂) ₂ NEt ₂ .HCl	13,9	

Tableau 3: Activités inhibitrices de la Chk1, IC₅₀ en μ M.

Le **Tableau 3** présente les activités inhibitrices de la Chk1. Parmi toutes les modifications apportées sur les hétérocycles *D* et *E*, le composé bis-imide **N** est l'inhibiteur le plus puissant de la Chk1. Les résultats biologiques sur ce composé nous ont incités à envisager la synthèse d'analogues en réalisant des substitutions sur le cycle A.

☉ Substitutions du cycle A :

La synthèse de ces composés a été effectuée suivant la voie de synthèse décrite précédemment à partir d'indoles commerciaux.

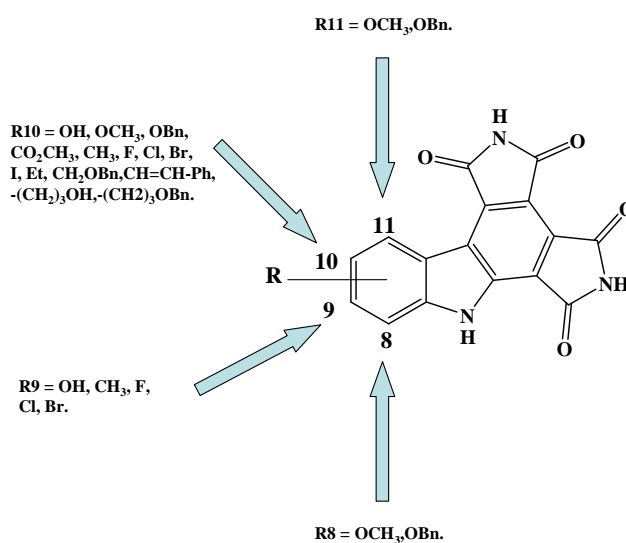


Figure 43: Structure des analogues.

Produit				% d'inhibition de la Chk1 à 10 μ M	IC ₅₀ de la Chk1 (μ M)
Granulatimide				93,9	0,081
Isogranulatimide				89,7	0,44
R8	R9	R10	R11		
H	H	H	H	94,4	0,02
H	H	H	OCH ₃	23,1	
H	H	OH	H	97,1	0,002
H	H	OBn	H	53,9	5,0
H	H	CH ₃	H	91,1	0,009
H	H	CH ₂ CH ₃	H	75,8	5,0
H	H	CH=CHPh	H	38,3	
CH ₃	H	H	H	44,2	
H	H	(CH ₂) ₃ OBn	H	77,2	1,45
H	H	Br	H	90,2	0,03
H	OH	H	H	94,4	0,14
H	CH ₃	H	H	74,9	0,04
H	F	H	H	87,0	0,07
H	Cl	H	H	91,1	0,04
H	H	OCH ₃	H	62,9	0,09
H	H	(CH ₂) ₃ OH	H	88,8	0,14
H	Br	H	H	80,6	0,01

Tableau 4 : Activités inhibitrices de la Chk1, IC₅₀ en μ M.

Nous avons présenté dans le **Tableau 4**, les résultats des tests biologiques réalisés sur la Chk1. Certains produits qui ne sont pas mentionnés dans le tableau n'ont pu être testés en raison de leur insolubilité.

Parmi les composés testés, deux, substitués en 10 par OH et CH₃, présentent d'excellentes activités inhibitrices avec des IC₅₀ de 2 nM et 9 nM respectivement. Ce sont de

meilleurs inhibiteurs que la granulatinide, l'isogranulatinide et du bis-imide non substitué **N** de référence.

☉ Substitution de cycle *B* :

Dans le but d'augmenter la solubilité de ces composés et/ou d'améliorer les interactions avec le site actif de l'ATP, H. Hénon a introduit une partie osidique sur le cycle *B*.

Le composé glycosylé a été obtenu suivant une autre voie de synthèse (**Figure 44**) via une réaction de Grignard suivie d'une réaction de Mitsunobu. La suite de la synthèse ressemble à celle décrite précédemment.

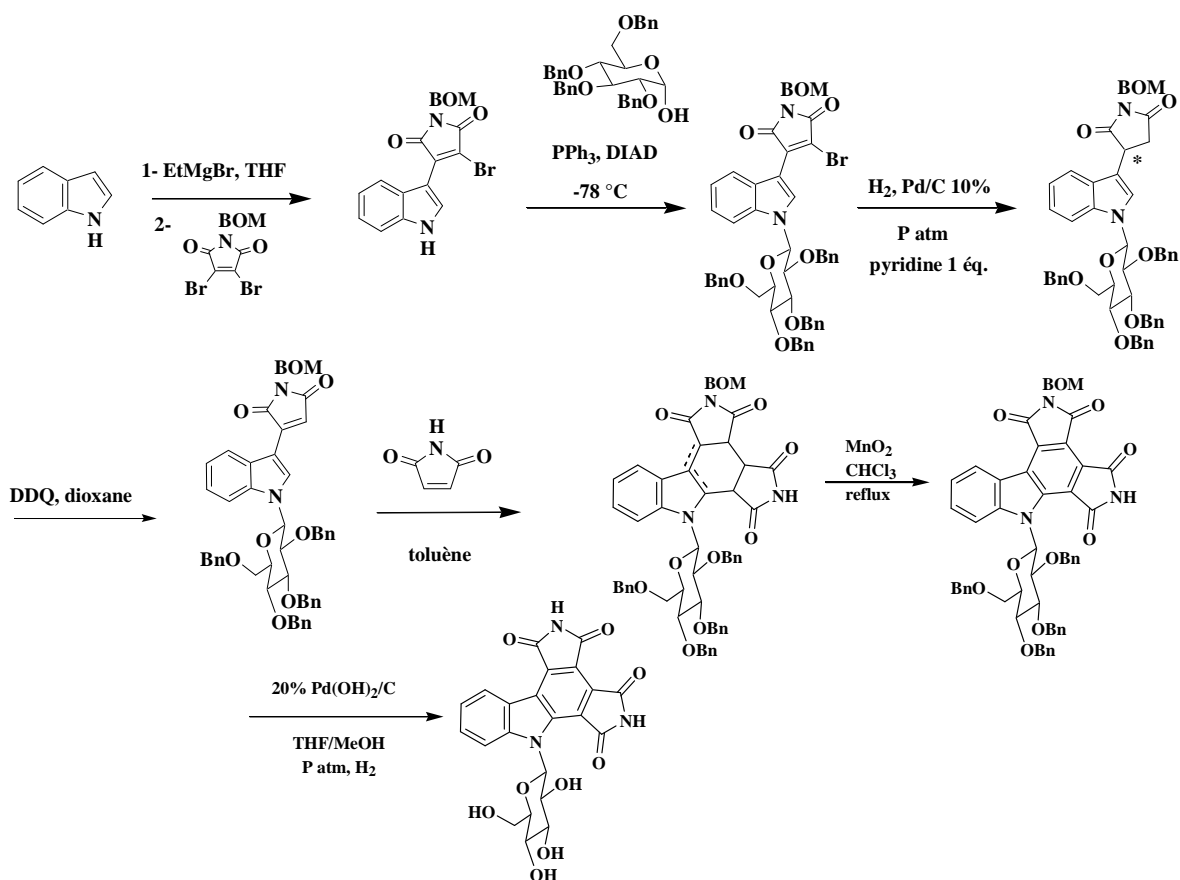


Figure 44: Synthèse d'un analogue glycosylé.

Le composé β -glycosylé a aussi subi des modifications sur la partie sucre afin de permettre éventuellement une meilleure pénétration cellulaire.

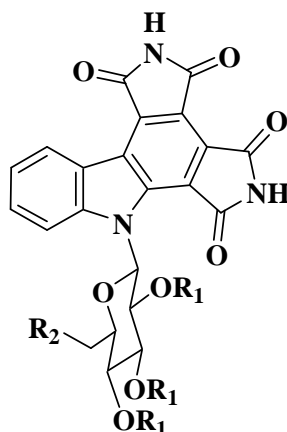


Figure 45 : Structures des analogues glycosylés du bis imide.

Composés		% d'inhibition de la Chk1 à 10 μ M	IC ₅₀ de la Chk1 (μ M)
Granulatimide		93,9	0,081
isogranulatimide		89,7	0,44
Bis imide <u>N</u>		94,4	0,02
R ₁	R ₂		
H	OH	83,2	0,15
Ac	OAc	36,8	
H	Cl	76,5	0,39
H	N ₃	74,4	2,15
H	NH ₂ , HCl	56,8	1,44

Tableau 5: Activités inhibitrices de la Chk1, IC₅₀ en μ M.

Même si l'introduction d'un sucre augmente la solubilité des composés bis-imide, les résultats des tests biologiques (**Tableau 5**) montrent que leur inhibition n'est pas aussi efficace que celle observée avec le bis-imide de référence N.

Les aza-bis-imides^{11, 33}:

Des analogues bis-imides ont aussi été préparés en remplaçant l'indole par un 7-azaindole. Cette modification devrait modifier l'affinité des composés pour le site actif de l'enzyme, en raison du doublet libre de l'azote qui pourrait générer une nouvelle liaison hydrogène.

L'élaboration de ces nouveaux composés est effectuée suivant une voie de synthèse qui nécessite une réaction de Grignard entre le 7-azaindole et le *N*-méthyl-dibromomaléimide ou le *N*-BOM-dibromomaléimide. Les dernières étapes sont similaires à celles de la première voie de synthèse décrite (**Figure 46**).

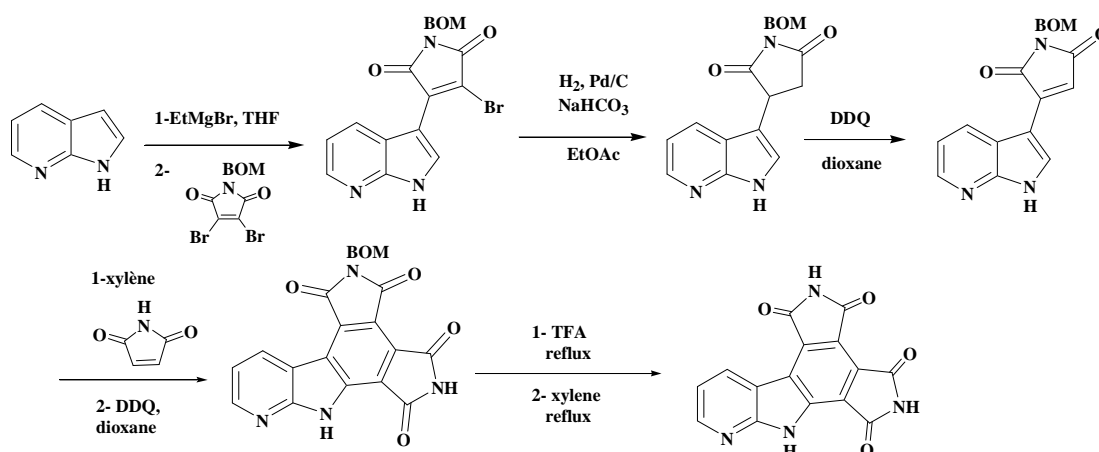


Figure 46: Synthèse d'un analogue aza-bis-imide.

Des dérivés aza-bis-imides glycosylés ont également été préparés par Samir Messaoudi. La voie d'accès à ces composés est comparable à celle décrite pour l'indole bis-imide glycosylé (**Figure 47**).

¹¹ Hénon H. Thèse de l'Université Blaise Pascal, 2005, D.U. 1610.

³³ Messaoudi S. Thèse de l'Université Blaise Pascal, 2004, D.U. 1537.

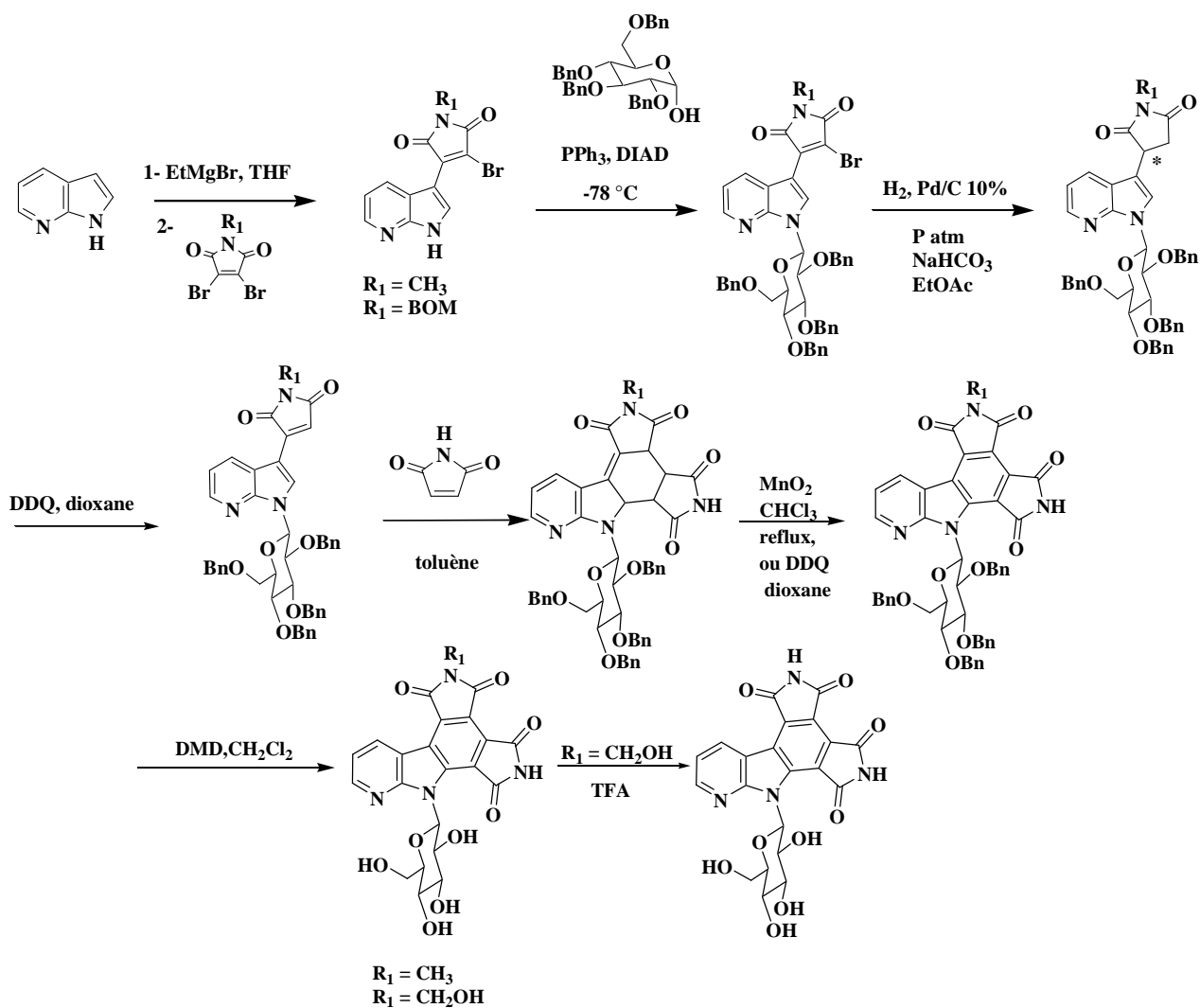


Figure 47: Synthèse des aza- bis-imides glycosylés.

Les tests biologiques de ces différents composés aza-indoliques sont résumés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 6**).

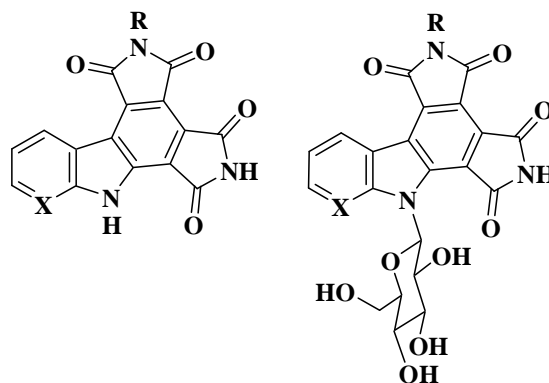


Figure 48: Analogues aza-indoliques synthétisés au laboratoire.

Composés		% d'inhibition de la Chk1 à 10 μ M	IC ₅₀ de la Chk1 (μ M)
Granulatimide		93,9	0,081
isogranulatimide		89,7	0,44
Bis imide		94,4	0,02
R	X		
Composés non glycosylés.			
CH ₃	CH	30,7	
CH ₃	N	-17,5	
H	N	67,6	5,0
Composés glycosylés			
H	CH	83,2	0,15
CH ₃	N	14,9	
H	N	14,4	

Tableau 6: Activités inhibitrices de la Chk1, IC₅₀ en μ M.

Dans les deux cas, composés glycosylés et non glycosylés, les analogues azaindoles du bis-imide de référence n'améliorent en aucun cas l'inhibition de la Chk1 (**Tableau 6**).

📌 Conclusion :

Dans le cadre d'une étude de relations structure-activité de nombreux composés de type bis-imide ont été préparés pour la conception de nouveaux inhibiteurs de la Chk1.

Parmi eux, ni l'introduction d'un sucre, ni la conception de composés azaindoles n'ont permis d'améliorer de façon significative l'inhibition de la Chk1.

Néanmoins, l'introduction de substituants en position 10 de l'indole a permis de découvrir deux inhibiteurs puissants de la Chk1 avec des IC₅₀ de 2 nM et 9 nM (pour R₁₀ = OH et R₁₀ = CH₃, respectivement).

VI. Conclusion :

Les progrès réalisés au cours de ces dernières années ont permis de comprendre que de nombreux cancers étaient liés à des anomalies du cycle cellulaire et de ses points de contrôle : activation des kinases cyclines-dépendantes (amplification des cyclines, des CDKs, diminution des CKI,...), déficiences des points de surveillance du cycle cellulaire (mutation de p53, des kinases ATM ou Chk2,...). La possibilité de mesurer ces paramètres dans les tumeurs permet d'envisager l'élaboration de nouvelles drogues anticancéreuses plus ciblées. Le but ultime dans la compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans le cycle cellulaire est le contrôle du fonctionnement des voies de signalisation et des points de contrôle de chaque tumeur. C'est dans ce contexte que de nombreux chercheurs s'intéressent aux régulateurs du cycle cellulaire et notamment de la Chk1 comme cibles privilégiées pour la conception de nouveaux agents antitumoraux. Ces dernières années de nombreux inhibiteurs puissants de la Chk1 de différentes structures chimiques ont été découverts.

Deuxième partie

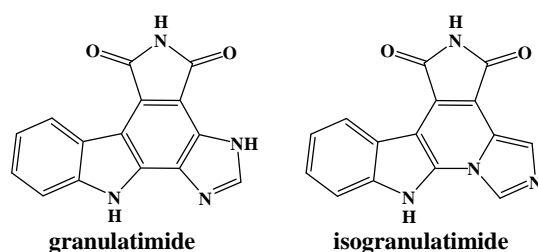
Résultats et discussion

*Synthèse d'analogues de la
granulatimide*

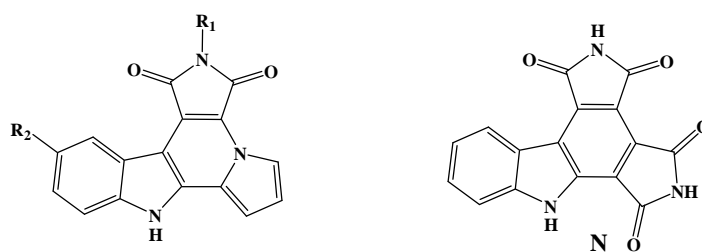
I. Introduction :

Comme nous l'avons rapporté précédemment, la granulaticide et l'isogranulaticide sont des inhibiteurs efficaces de la Chk1. Au cours de leur thèse Bernadette Hugon¹⁰, Hélène Hénon¹¹ et Samir Messaoudi³³ ont réalisé une étude de relations structure-activité sur de nouveaux analogues de la granulaticide.

Des composés dont le motif imidazole est remplacé par un pyrrole³⁴ ou un maléimide ont été synthétisés.³⁵ Des substituants ont été introduits sur la partie imidique^{35,36}, sur la partie aromatique^{36,37,38} ainsi que sur l'azote indolique^{37,39} par couplage avec un glucose. D'autres composés dont le motif indolique est remplacé par un azaindole ont été synthétisés (**Figure 49 et 50**).⁴⁰



Analogues de la granulaticide synthétisés au laboratoire



Motif imidazole remplacé par un pyrrole.³⁴ Composé bis-imide synthétisé par B. Hugon³⁵.

R₁ = H, OBn, Cl, Br, OH;
R₂ = H, CH₃.

Figure 49: Structures de la granulaticide, de l'isogranulaticide et des analogues de la granulaticide.

¹⁰ Hugon B. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **2002**, D.U. 1373.

¹¹ Hénon H. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **2005**, D.U. 1610.

³³ Messaoudi S. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **2004**, D.U. 1537.

³⁴ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. de *Tetrahedron Letters*, **2003**, *44*, 3927-3930.

³⁵ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Letters*, **2003**, *44*, 3935-3937.

³⁶ Hénon H. ; Messaoudi S. ; Hugon B. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 5599-5614.

³⁷ Hénon H. ; Anizon F. ; Golsteyn R. M. ; Léonce S. ; Hofmann R. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 3825-3834.

³⁸ a) Hénon H. ; Anizon F. ; Kucharczyk N. ; Loynel A. ; Casara P. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Synthesis.*, **2006**, *4*, 711-715. b) Hénon H. ; Anizon F. ; Golsteyn R. M. ; Léonce S. ; Hofmann R. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 3825-3834.

³⁹ Hénon H. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 1116-1123.

⁴⁰ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 4607-4611.

Analogues du bis-imide N synthétisés au laboratoire

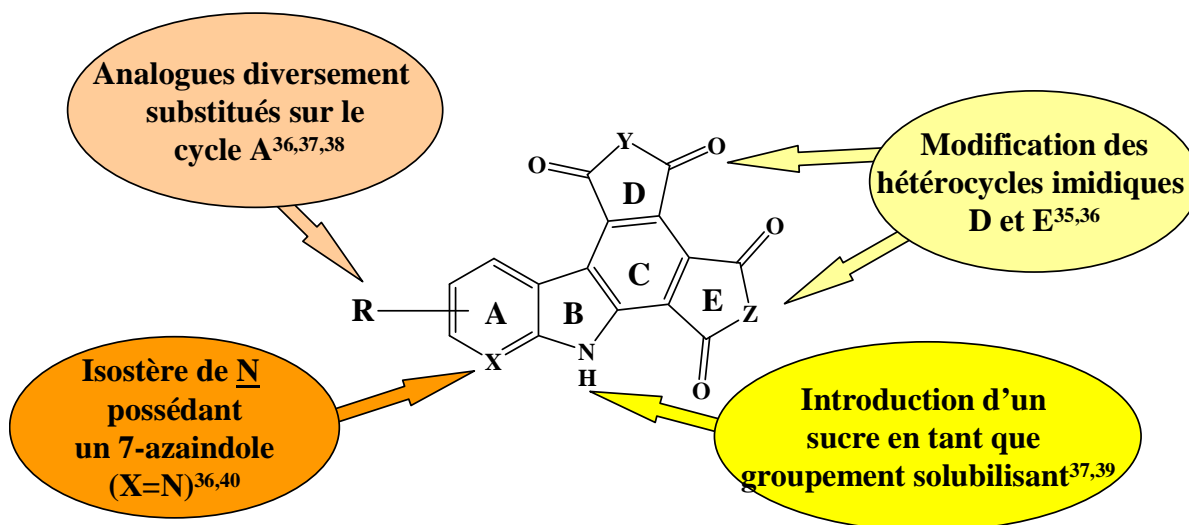


Figure 50: Analogues du bis-imide N.

Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, certains de ces composés sont de puissants inhibiteurs de la Chk1 avec des IC_{50} d'ordre nanomolaire. Malheureusement, beaucoup de ces composés se sont révélés très insolubles dans l'eau et les solvants organiques ce qui pose des problèmes de biodisponibilité et de réactivité chimique. De plus, les composés de la famille des bis-imides (**Figure 50**)^{35,36,37,38,39} sont instables dans les milieux de culture utilisés lors des tests, vraisemblablement en raison de l'instabilité des imides face aux nucléophiles.

Une étude HPLC a été réalisée par Nathalie Kucharczyk des laboratoires SERVIER sur le composé bis-imide N de référence (**Figure 51**). Cette étude a mis en évidence la dégradation rapide du bis-imide dans le milieu biologique utilisé pour les tests (milieu RPMI). Au bout d'une heure, un produit de dégradation apparaît et au bout de sept heures, ce nouveau composé est majoritaire et d'autres produits de dégradation se forment.

³⁵ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Letters*, **2003**, *44*, 3935-3937.

³⁶ Hénon H. ; Messaoudi S. ; Hugon B. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 5599-5614.

³⁷ Hénon H. ; Anizon F. ; Golsteyn R. M. ; Léonce S. ; Hofmann R. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 3825-3834.

³⁸ Hénon H. ; Anizon F. ; Kucharczyk N. ; Loynel A. ; Casara P. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Synthesis.*, **2006**, *4*, 711-715.

³⁹ Hénon H. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 1116-1123.

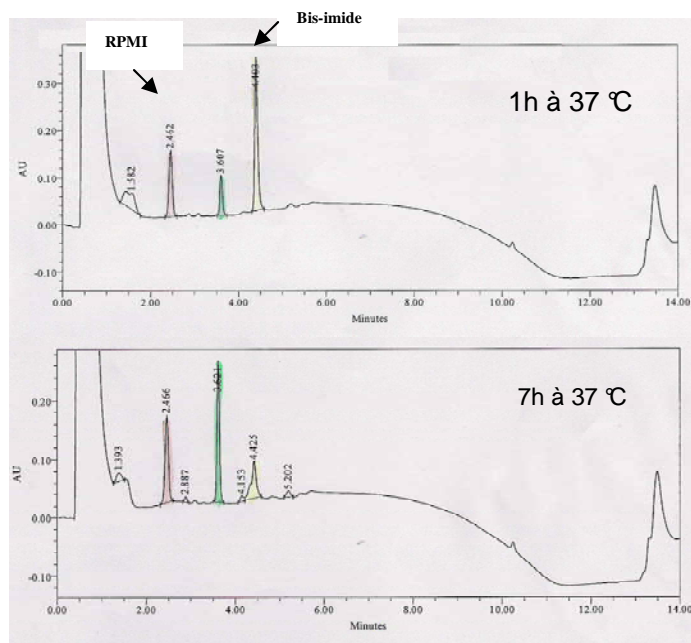


Figure 51: Etude de la dégradation du composé bis-imide de référence dans le milieu RPMI.

La masse du premier produit de dégradation laisse supposer qu'il correspond à l'ouverture par hydrolyse d'un des hétérocycles imide. La dégradation de ces composés pourrait être à l'origine de leur faible cytotoxicité et pourrait nuire à leur pouvoir inhibiteur de la Chk1 *in vivo*.

Afin d'approfondir l'étude des relations structure-activité, de déterminer les éléments clés pour l'activité biologique, d'accéder à des composés plus solubles et plus stables, nous avons effectué la synthèse de nouveaux analogues du composé **N**.

Les travaux effectués au cours de ce travail ont porté sur la modification des hétérocycles *D* et/ou *E* du bis-imide **N** en substituant l'imide (supérieur ou inférieur) par un lactame, une pyrazine, une pyrazolinone ou par des carbocycles à 5 ou 6 chaînons fonctionnalisés.

II. Modification de l'hétérocycle supérieur :

1) Introduction :

La synthèse qui permet d'accéder au bis-imide **N** a été réalisée en quatre étapes par Bernadette Hugon.³⁵ Les deux premières étapes ont été inspirées des travaux de Bergman *et al.*⁴¹ et consistent tout d'abord en une réaction de Michaël en présence d'un mélange équimolaire de maléimide et d'indole chauffé à reflux dans l'acide acétique, suivie d'une oxydation au DDQ de l'adduit de Michaël qui a lieu dans du dioxane à température ambiante (Figure 52).

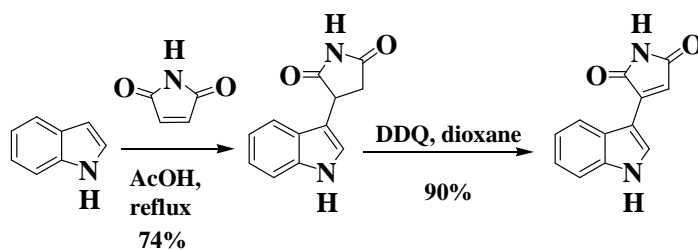


Figure 52: Préparation du diène.

L'étape suivante est une cycloaddition de Diels-Alder entre le diène précédemment obtenu et le maléimide pour conduire à deux isomères : indole et indoline. L'isomère indole est obtenu après purification sur gel de silice et l'indoline après filtration sur un verre fritté (Figure 53).

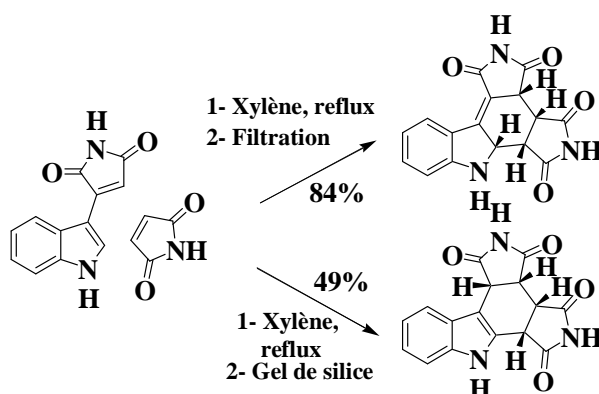


Figure 53: Réaction de Diels-Alder.

³⁵ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Letters*, **2003**, 44, 3935-3937.

⁴¹ a) Bergman J. ; Desarbre E. ; Koch E. *Tetrahedron*, **1999**, 55, 2363-2370. b) Bergman J. ; Janosik T. ; Koch E. ; Pelcman B. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.*, **2000**, 2615-2621.

Une double oxydation au DDQ de l'isomère indole dans du dioxane à reflux conduit au composé **N** avec un rendement de 60% (**Figure 54**). L'oxydation de l'indoline dans le dioxane en présence de TFA conduit au composé **N** avec un rendement de 93%.

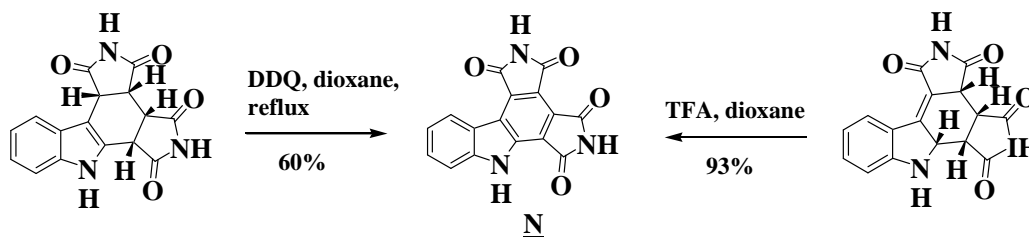


Figure 54: Oxydation des produits de Diels-Alder.

Nous allons développer dans cette partie la synthèse de différents analogues du composé **N**, en modifiant l'hétérocycle supérieur, afin d'élaborer de nouvelles structures : structures mixtes imide/lactame, imide/pyrazolinone et imide/pyrazine.

2) Structures mixtes imide/lactame⁴²

Nous nous sommes tout d'abord intéressés à la synthèse de deux régioisomères (**Figure 55**) qui possèdent, comme la staurosporine, un lactame en tant qu'hétérocycle supérieur, alors que la granulatinone, l'isogranulatinone et le composé **N** possèdent un maléimide.

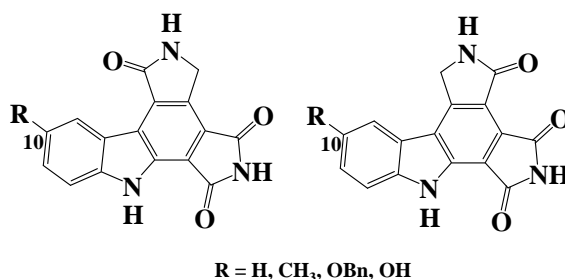


Figure 55: Structures des régioisomères.

Un schéma synthétique semblable à celui décrit précédemment, pour l'obtention du composé **N**, a été appliqué pour la synthèse de ces régioisomères. Des substituants hydroxyle et méthyle ont été introduits en position 10, en raison de la bonne activité inhibitrice de la Chk1 qu'ils apportent dans la série des bis-imides.

La première étape d'addition de Michaël de l'indole sur le lactame pyrroline-2-one ne peut être envisagée dans notre cas. En effet, les travaux réalisés par Wille *et al.*⁴³ montrent

⁴² Conchon E. ; Anizon F. ; Golsteyn R. M. ; Léonce S. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, sous presse.

qu'en milieu acide, l'addition de l'indole s'effectue en position 5 de la pyrroline-2-one et non en 4 pour conduire au composé **Q** (Figure 56).

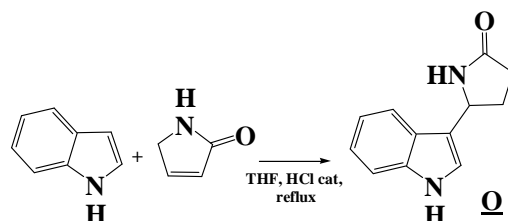
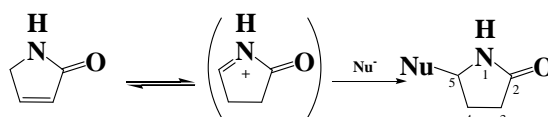


Figure 56: Addition de l'indole sur la pyrroline-2-one en milieu acide.

Ce dernier serait obtenu via un ion *N*-acyliminium⁴⁴ qui, en présence d'un nucléophile (ici l'indole), conduirait à la formation de la 2-pyrroline-2-one substituée en position 5 (Figure 57).



Ion *N*-acyliminium

Figure 57: Formation de la 2-pyrroline-2-one substituée en position 5.

Afin d'obtenir rapidement et dans une même étape les diènes **1** et **2**, nous avons décidé d'effectuer la réduction des 3-(indol-3-yl)-maléimides **Pa-d** (Figure 58). Ces composés ont été décrits par Bernadette Hugon³⁵ et Hélène Hénon.³⁶ Ils sont obtenus en deux étapes à partir des indoles substitués, suivant la méthode décrite précédemment.

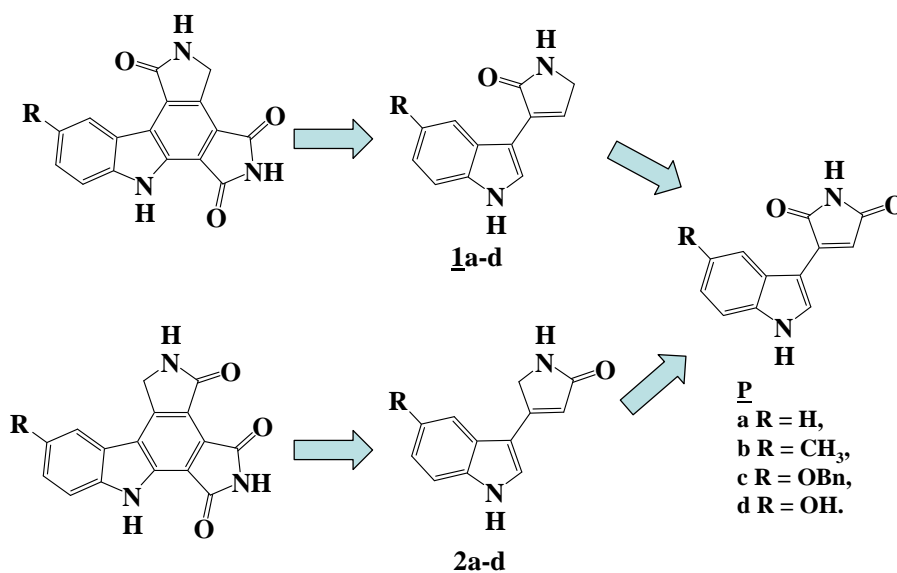


Figure 58: Schéma de rétrosynthèse.

⁴³ Wille G. ; Steglich W. *Synthesis*, **2001**, 759-762.

⁴⁴ Nagasaka T. ; Abe M. ; Ozawa N. ; Kosugi Y. ; Hamaguchi F. *Heterocycles*, **1983**, *20*, 985-989.

³⁵ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Letters*, **2003**, *44*, 3935-3937.

³⁶ Hénon H. ; Messaoudi S. ; Hugon B. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 5599-5614.

La réduction des composés **Pa-d** nous a permis d'isoler les lactames **1a-d**, **2a-d** et les hydroxylactames **3a-d**, **4a-d** correspondants (**Figure 59**). Les composés **5a,b** ont également été obtenus.

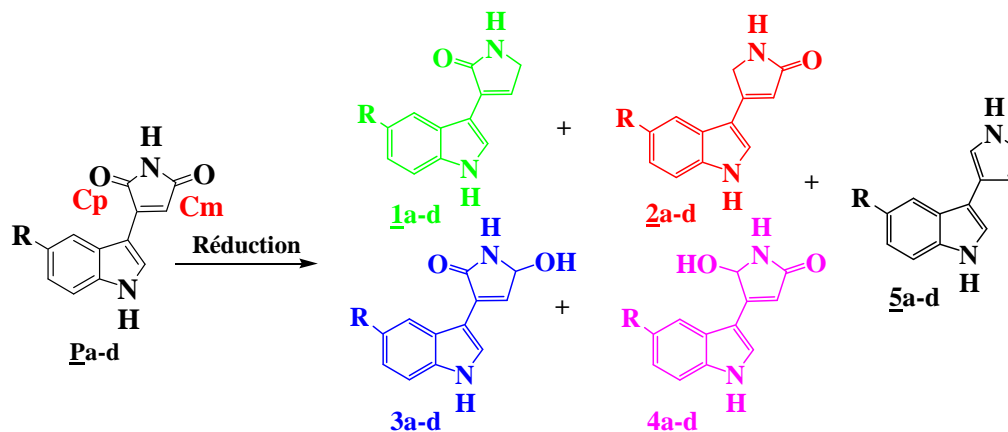


Figure 59: Réduction des 3-(indol-3-yl)-maléimides **P**.

Les composés **1a-d** et **3a-d** sont issus de la réduction du carbonyle le moins encombré (Cm) alors que **2a-d** et **4a-d** proviennent de la réduction du carbonyle le plus encombré (Cp). La double réduction des carbonyles conduit aux composés **5a,b**.

Lors de ces réductions, nous avons observé d'importantes variations de rendements des composés **1-5** suivant l'agent réducteur utilisé (LiAlH_4 , NaBH_4 , DIBAL-H), et suivant les substituants portés par l'indole (**Tableau 7**).

Produit de départ	Réducteur	Composés (%)					Rapport de réduction Cm/Cp (%)	
		1	2	3	4	5		
<u>Pa</u>	LiAlH_4	11	19	6	23	9	29	71
	NaBH_4	0	0	11	60	0	16	84
	DIBAL-H	33	0	17	15	0	77	23
<u>Pb</u>	LiAlH_4	11	21	0	17	1	22	78
	DIBAL-H	11	0	54	19	0	78	22
<u>Pc</u>	LiAlH_4	6	40	0	24	0	8	92
	DIBAL-H	13	0	42	13	0	81	19
<u>Pd</u>	LiAlH_4	12	0	0	33	0	27	73
	DIBAL-H	28	0	0	15	0	65	35

Tableau 7: Pourcentages des composés 1, 2, 3, 4, et 5 obtenus par réduction des composés **Pa-d** en utilisant LiAlH_4 , NaBH_4 , DIBAL-H. Les rapports de réduction Cm/Cp sont indiqués (Cm: carbone le moins encombré sur fond jaune clair, Cp: carbone le plus encombré sur fond bleu clair).

On peut noter une inversion de régiosélectivité de la réduction entre l'utilisation de LiAlH_4 , NaBH_4 et celle de DIBAL-H (**Tableau 7**).

Si on prend comme exemple la réduction de **Pa**, les rapports Cm/Cp sont de 29/71 et 16/84 pour LiAlH_4 et NaBH_4 respectivement, alors que le rapport est inversé pour DIBAL-H avec un Cm/Cp de 77/23. Plusieurs facteurs entrent en jeu pour expliquer ce phénomène.

Tout d'abord, la régiosélectivité de la réduction s'explique par les différences stériques sur les deux groupements carbonyles Cm et Cp. Mase *et al.*^{45, 46} ont réalisé une étude de la réduction sur des maléimides monosubstitués en utilisant comme agent réducteur : NaBH_4 , $\text{NaBH}_4/\text{CeCl}_3$ et DIBAL-H et ont également observé ce phénomène d'inversion de régiosélectivité (**Figure 60 et Tableau 8**).

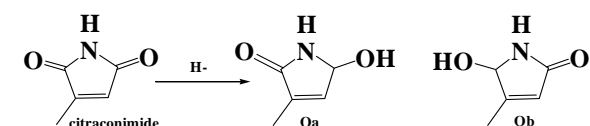


Figure 60: Réduction régiosélective décrite par Mase *et al.*

Agents réducteurs	Solvant	Rdt (%)	Qa/Qb
NaBH_4	MeOH	96	<1/>99
$\text{NaBH}_4/\text{CeCl}_3$	MeOH	52	82/18
DIBAL-H	THF	95	>99/<1

Tableau 8: Pourcentages des composés Qa et Qb obtenus par réduction de la citraconimide.

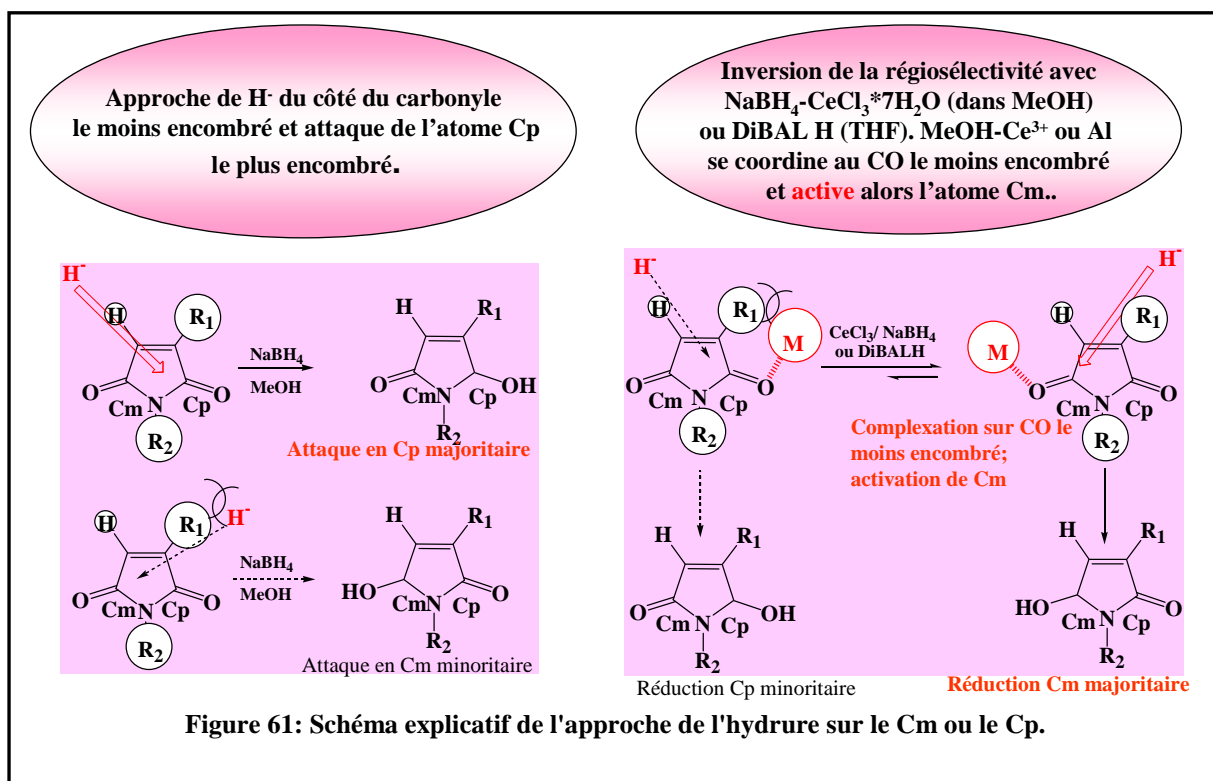
Ces auteurs expliquent, en s'appuyant sur les travaux de Wijnberg *et al.*⁴⁷, que dans le cas de NaBH_4 , la régiosélectivité s'explique par une approche de l'hydrure via le carbonyle le moins encombré, suivie d'une addition nucléophile de l'hydrure sur le carbonyle le plus encombré. L'utilisation de $\text{NaBH}_4/\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (dans MeOH) ou de DIBAL-H génère une inversion de régiosélectivité. En effet, dans ces conditions un complexe MeOH-Ce^{3+} ou

⁴⁵ Mase N. ; Nishi T. ; Hiyoshi M. ; Ichihara K. ; Bessho J. ; Yoda H. ; Takabe K. *J. Chem. Soc. Trans. 1*, **2002**, 707-709.

⁴⁶ Mase N. ; Nishi T. ; Takamori Y. ; Yoda H. ; Takabe K. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, 10, 4469-4471.

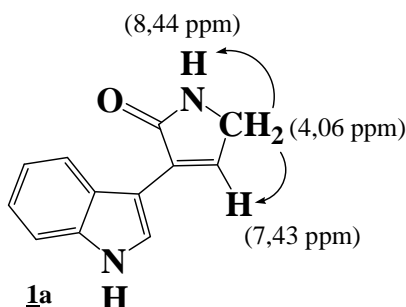
⁴⁷ Wijnberg, J. B. P. A. ; Schoemaker H. E. ; Speckamp W. N. *Tetrahedron*, **1978**, 34, 179-187.

l'atome d'Al se coordine au carbonyle le moins encombré permettant ainsi son activation. Le carbonyle le moins encombré est alors réduit préférentiellement (**Figure 61**).



D'autre part, l'inversion de régiosélectivité entre l'utilisation de LiAlH₄ et DIBAL-H pourrait s'expliquer par leur différence d'encombrement. En effet, l'utilisation d'un réducteur moins encombré, tel que LiAlH₄, génère une complexation des deux groupements carbonyles avec l'atome d'aluminium contrairement à DIBAL-H. L'approche de l'hydrure via le carbonyle le moins encombré se ferait donc plus rapidement ce qui expliquerait le phénomène.

La structure du composé **1a** a été établie par des analyses RMN (NOESY). Elle a été déterminée d'après les corrélations des protons méthylène du lactame avec le NH du lactame et le proton éthylénique (**Figure 62**). Dans le cas du composé **2a**, aucune corrélation n'est observée entre les protons méthyléniques et le proton éthylénique.



Une grande différence du déplacement chimique est également observée entre les protons éthyléniques des composés **1a** et **2a** avec des déplacements chimiques de 7,43 ppm et 6,26 ppm respectivement. C'est en se basant sur ces données RMN que nous avons attribué les structures de **3a** et **4a** qui possèdent des déplacements chimiques de leur proton éthylénique de 7,14 ppm et 6,17 ppm. Par analogie avec les composés non substitués **1a-4a**, les structures des analogues substitués sur l'indole ont pu être attribuées.

Les étapes suivantes consistent en une cycloaddition de Diels-Alder entre les diènes intermédiaires **1-4** et le maléimide, suivie d'une oxydation.

En raison de la différence de réactivité des régioisomères **1**, **2** et **3**, **4**, nous allons discuter séparément la synthèse des produits finaux correspondants.

🔴 Préparation des triones issues de **1** :

La réaction de Diels-Alder :

Comme nous l'avons vu en introduction de cette partie, la cycloaddition de Diels-Alder entre les 3-indolyl-maléimides **Pa-d** et le maléimide peut conduire, suivant le traitement (filtration ou colonne de silice flash), à des isomères indole ou indoline.

Dans notre cas, les réactions de Diels-Alder effectuées dans du xylène à reflux en présence de 5 équivalents de maléimide conduisent à des mélanges d'isomères pour les diènes **1a** et **1c** avec des rendements de 97% et 100%, à l'isomère indole pour le composé **1b** avec un rendement de 100% et à l'indoline pour le composé **1d** avec un rendement de 86% (**Figure 63**).

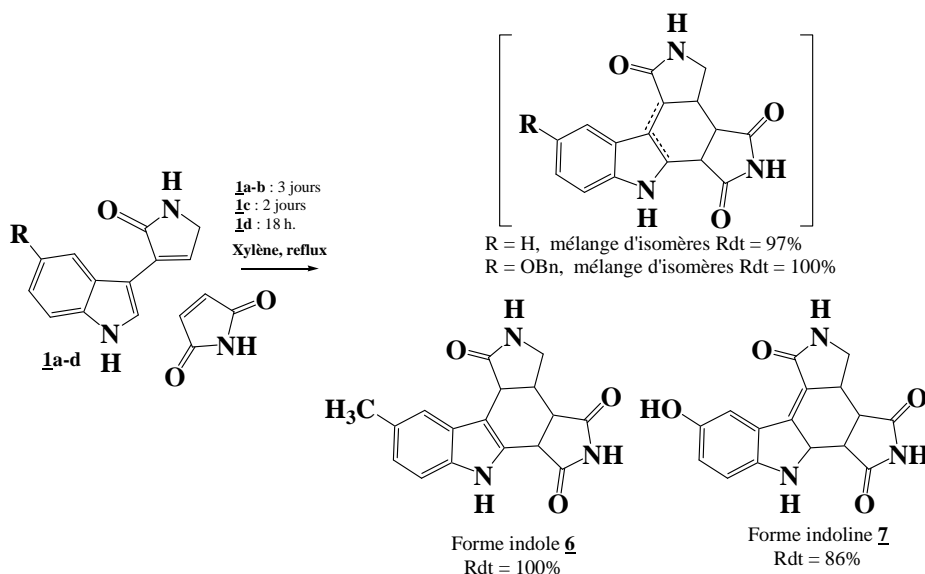


Figure 63: Cycloaddition de Diels-Alder des composés **1a-d** sur le maléimide.

Les structures des composés **6** et **7** ont été déterminées par RMN ^1H . En effet, les protons échangeables NH de l'indole et du maléimide ont généralement des déplacements chimiques de 11-12 ppm alors que ceux de l'indoline et du lactame ont des déplacements de 7-9 ppm. Le composé **6**, isomère indole, possède deux protons échangeables à 11,12 ppm et 11,52 ppm alors que le composé **7**, isomère indoline, présente un seul proton échangeable à 10,94 ppm et deux autres à 8,67 ppm et 7,83 ppm.

Oxydation finale :

L'oxydation finale a été réalisée dans du dioxane à reflux ou à 80 °C, en présence de 10 équivalents de TFA. Les composés **8a-d** sont isolés avec des rendements compris entre 27% et 78% (**Figure 64** et **Tableau 9**).

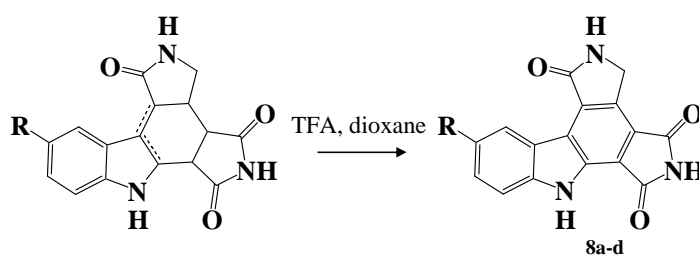


Figure 64: Oxydation finale, aromatisation des produits issus de la cycloaddition.

Composés	R	Temps de réaction	T (°C)	Rdt (%)
8a	H	36 h	reflux	27%
8b	CH ₃	48 h	80 °C	78%
8c	OBn	48 h	80 °C	65%
8d	OH	48 h	80 °C	66%

Tableau 9: Résultats obtenus lors de la double oxydation finale.

🌀 Préparation des triones issues de **2** :

La réaction de Diels-Alder :

La réactivité du composé **2a** s'est révélée être totalement différente de celle de son régioisomère **1a**. En effet, les essais réalisés, en faisant varier le solvant de la réaction (benzène, toluène, xylène, dioxane, eau) et le nombre d'équivalents de maléimide (1,2 à 5

équivalents), ont conduit soit au produit de départ, soit à des composés issus d'une double addition de maléimide (composés **9'a** et **9'b**), mais le produit désiré de simple cycloaddition de Diels-Alder n'a jamais pu être isolé (**Figure 65** et **Tableau 10**).

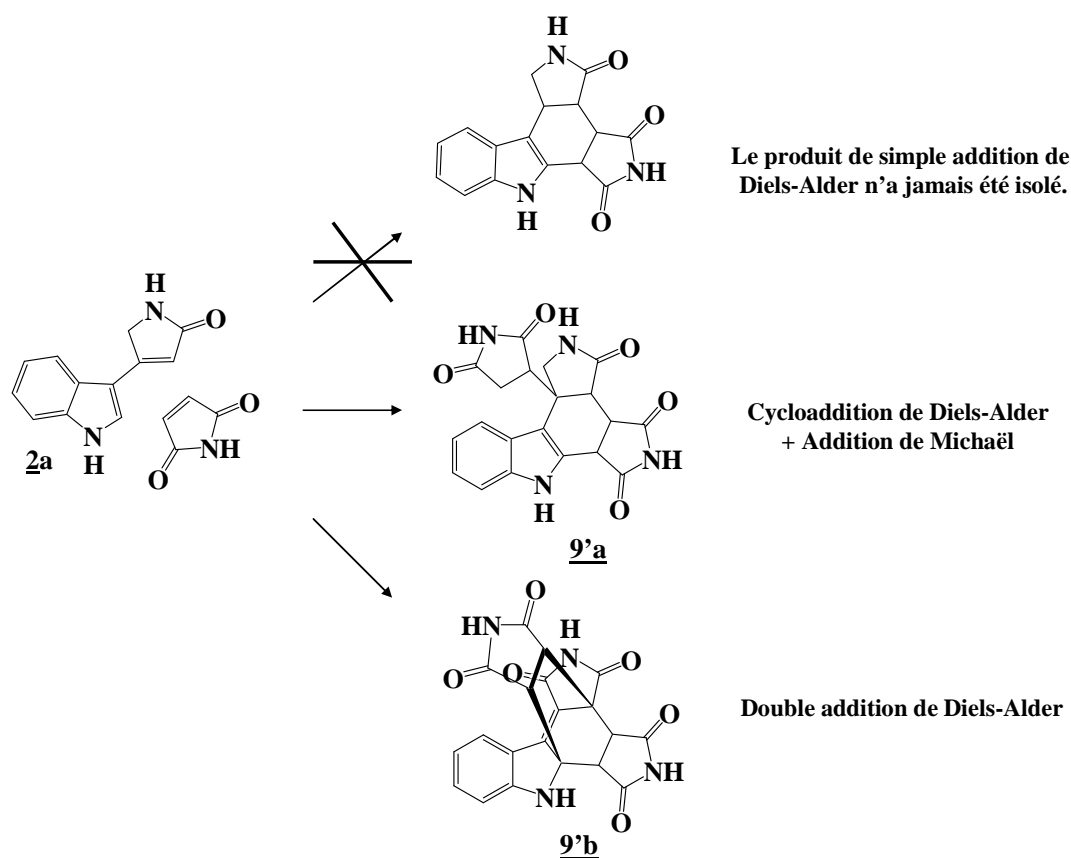


Figure 65: Formation des composés issus d'une double addition de maléimide.

Solvant	Nombre d'équivalents de maléimide	Durée de réaction	Produit obtenu
Benzène	5	3 j	9'a
Toluène	5	2 j	9'a
Toluène	1,2	1 j	Départ + 9'a
Xylène	5	3 j	Mélange non exploitable
Xylène	1,2	4 j	Départ
Dioxane	5	1 j	9'b
Eau	1,2	3 j	Aucune réaction

Tableau 10: Essais et résultats des cycloadditions de **2a** avec le maléimide.

Lorsque la réaction est réalisée avec du benzène ou du toluène en présence de 5 ou 1,2 équivalents de maléimide, on observe la formation d'un seul composé **9'a**, issu d'une réaction de Diels-Alder suivie d'une réaction de Michaël.

Le produit de simple addition de Diels-Alder n'ayant jamais été isolé, on peut supposer qu'il n'est présent que sous forme d'intermédiaire réactionnel et qu'il est immédiatement engagé dans la réaction suivante. Une ène-addition s'effectuerait entre l'intermédiaire réactionnel et le maléimide, puis ce dernier se re-protonerait à l'aide du proton angulaire ce qui permet à l'indole de retrouver son aromaticité (**Figure 66**).

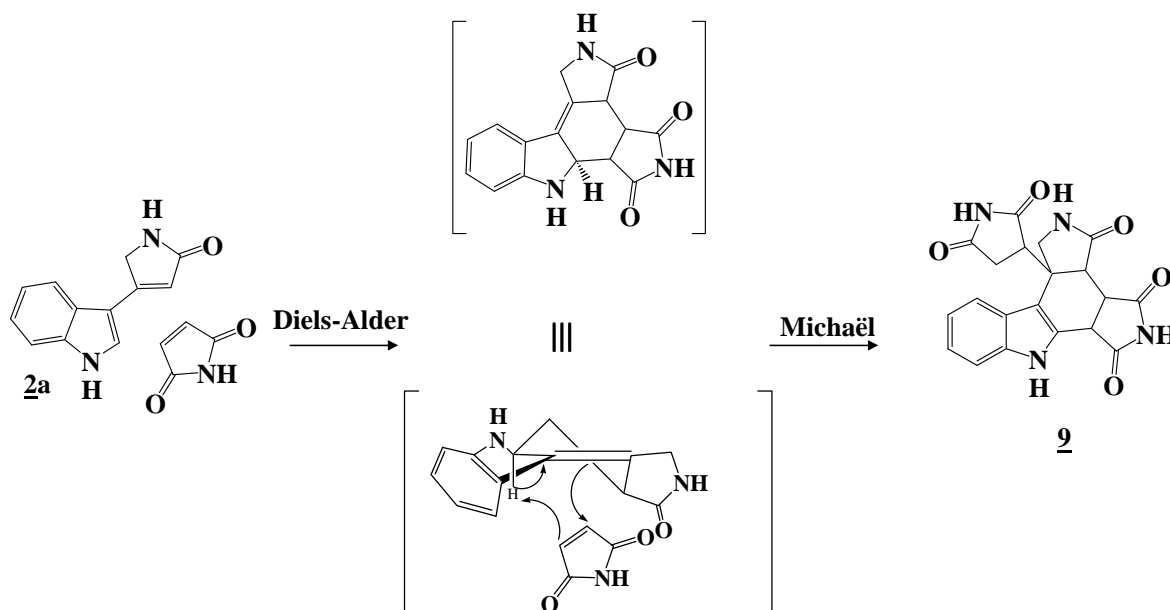


Figure 66: Mécanisme réactionnel de la formation du composé **9'a**.

Le Strat *et al.*⁴⁸ ont effectué une réaction similaire impliquant un benzofurane non-aromatique avec le *N*-phényl-maléimide dans du toluène à reflux (**Figure 67**). Ces auteurs expliquent le phénomène de la même manière.

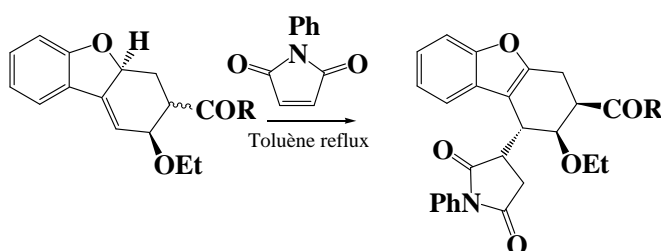


Figure 67: Addition de Michaël sur un benzofurane non aromatique.

La structure du composé **9'a** a été déterminée par RMN à l'aide des expériences COSY ^1H - ^1H , HSQC et HMBC. On note un couplage ^2J entre le CH_2 du lactame et le carbone quaternaire à 47,2 ppm ; un couplage ^3J entre le CH à 3,60 ppm (du maléimide issu de

⁴⁸ Le Strat F. ; Vallette H. ; Toupet L. ; Maddaluno J. *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 5296-5305.

l'addition de Michael) et le carbone quaternaire à 106,3 ppm. Le proton à 3,40 ppm établit deux couplages avec le carbonyle du lactame à 173,6 ppm (2J) et avec l'un des carbonyles de l'imide inférieur (**Figure 68**). On ne note aucun couplage 1H - 1H entre le CH_2 du lactame et un autre proton, ce qui prouve que le maléimide est bien greffé en α du CH_2 .

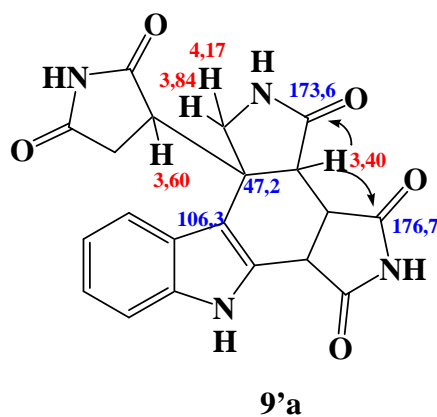


Figure 68: Détermination de la structure du composé **9'a**.

En revanche si l'on utilise du dioxane en présence de 5 équivalents de maléimide, on observe la formation du composé **9'b** issu d'une double réaction de Diels-Alder et d'une réaction d'oxydation du méthylène du lactame. Cette oxydation est confirmée par la présence de six carbonyles en RMN ^{13}C . La structure du composé **9'b** est déterminée par RMN à l'aide des expériences COSY 1H - 1H , HSQC et HMBC. La position de la double liaison est confirmée par deux couplages longues distances de type 3J entre le NH à 11,36 ppm du maléimide supérieur et le carbone quaternaire à 111,4 ppm, ainsi que le NH de l'indoline à 8,15 ppm et le carbone quaternaire à 146,2 ppm. Les 4 CH des maléimides greffés présentent eux aussi des 2J ou 3J avec les mêmes carbonyles quaternaires, ce qui confirme leur position (**Figure 69**).

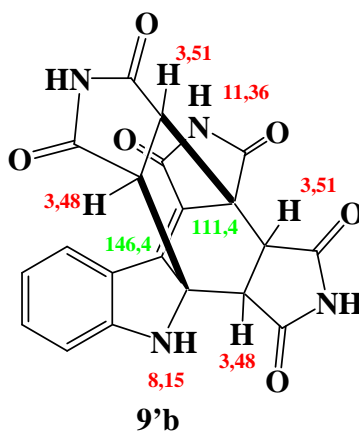


Figure 69: Détermination de la structure du composé **9'b**.

Les cycloadditions de Diels-Alder à partir des hydroxy-lactames **4a-d** n'ont pas donné les composés attendus. La réaction de Diels-Alder, réalisée en présence de maléimide (1,2 équivalents) dans du xylène à reflux, est accompagnée de la perte d'une molécule d'eau. Les produits **9**, **10** et **11** sont issus des hydroxy-lactames **4a**, **4c** et **4d**, le composé **4b** conduit quant à lui à un mélange d'isomères (**Figure 70**). Il est à noter qu'en raison de la grande insolubilité de ce composé aucune séparation de ces isomères ne peut être envisagée.

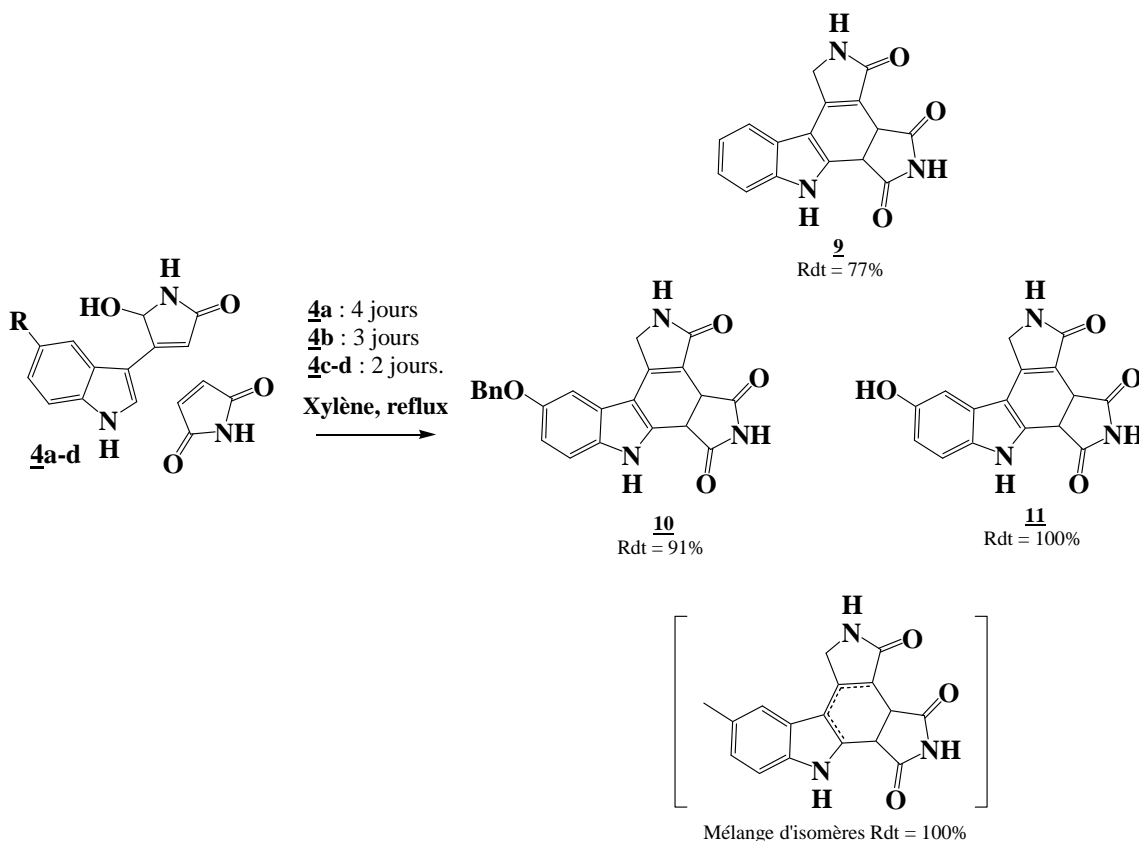


Figure 70: Cycloadditions de Diels-Alder de **4a-d** avec du maléimide.

La position des doubles liaisons du composé **9** a été déterminée d'après les spectres de RMN. Tout d'abord, il s'agit d'un indole et non d'une indoline puisque dans le spectre de RMN ^1H du composé **9** seul l'échangeable NH du lactame se situe vers 8 ppm. La position de la deuxième double liaison a été déterminée par RMN à l'aide des expériences COSY ^1H - ^1H , HSQC et HMBC. On note deux couplages longue distance de type ^3J entre le NH du maléimide à 11,75 ppm et les carbones CH de la liaison saturée à 42,4 ppm et 40,1 ppm. De plus, le NH du lactame à 7,96 ppm est couplé avec deux carbones quaternaires à 116,3 et 148,2 ppm. Par analogie avec le composé **9** non substitué, les structures des analogues substitués **10** et **11** sur l'indole ont pu être attribuées.

Oxydation finale :

L'oxydation des produits de cycloaddition est effectuée dans du dioxane en présence de TFA ou de DDQ et conduit aux produits finaux **12a-c** (Figure 71 et Tableau 11).

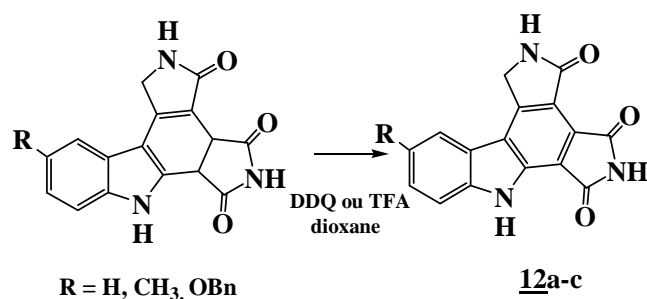
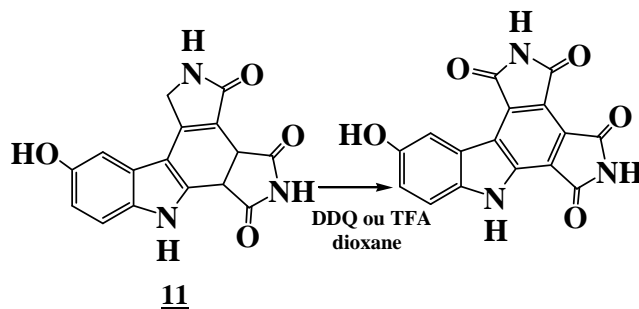


Figure 71: Oxydation finale.

R	Agent oxydant	T°C de réaction	Temps de réaction	Rdt (%)
H	TFA	reflux	21 jours	54
CH ₃	TFA	reflux	2 jours	46
OBn	DDQ	ta	1 nuit	40

Tableau 11: Résultats de l'oxydation finale.

Malgré de nombreuses tentatives (dans le dioxane en présence de TFA de 6 à 20 équivalents, de 60 °C à 80 °C, ou avec 1 équivalent de DDQ à température ambiante), l'oxydation du composé **11** n'a pu conduire au composé désiré, seul le composé bis-imide correspondant à une oxydation totale (aromatisation et oxydation du lactame en maléimide) a été observé (Figure 72).

Figure 72: L'oxydation du composé **11** ne conduit qu'au bis-imide correspondant.

Les hydroxy-lactames **3a-d** ne semblent pas présenter la même réactivité que leurs régioisomères **4a-d**. Les cycloadditions de Diels-Alder à partir des composés **3a-d** ont conduit à un mélange de produits non séparables

3) Structures mixtes imide/pyrazolinone ⁴⁹

Afin de réaliser une étude de relations structure-activité, nous avons envisagé de réaliser la synthèse d'analogues, de structure mixte imide/pyrazolinone, possédant une pyrazolinone en tant qu'hétérocycle supérieur (**Figure 73**).

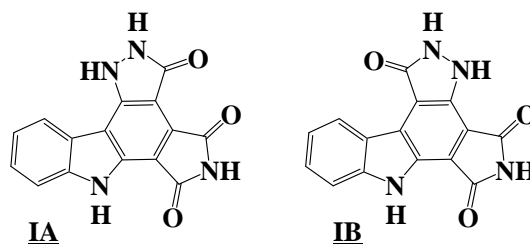


Figure 73: Structures mixtes imide/pyrazolinone.

Dans cette partie, nous allons discuter des stratégies de synthèse qui ont été envisagées pour l'obtention des deux régioisomères représentés sur la figure ci-dessus. Nous parlerons aussi des problèmes rencontrés en raison, d'une part, de la tautomérie des pyrazolinones et, d'autre part, de la réactivité du maléimide qui ne facilite pas la synthèse de ces composés.

a) Première stratégie de synthèse :

📍 Schéma de rétrosynthèse :

L'accès à ces nouveaux composés a tout d'abord été envisagé en utilisant la même stratégie que celle décrite précédemment. L'introduction du maléimide devrait avoir lieu via une cycloaddition de Diels-Alder avec les diènes indolylpyrazolinones (**Figure 74**) et une double oxydation finale devrait conduire aux composés désirés.

⁴⁹ Conchon E. ; Aboab B. ; Golsteyn R. M.; Léonce S. ; Cruzalegui F. ; Edmonds T. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Eur. J. Med. Chem.*, sous presse.

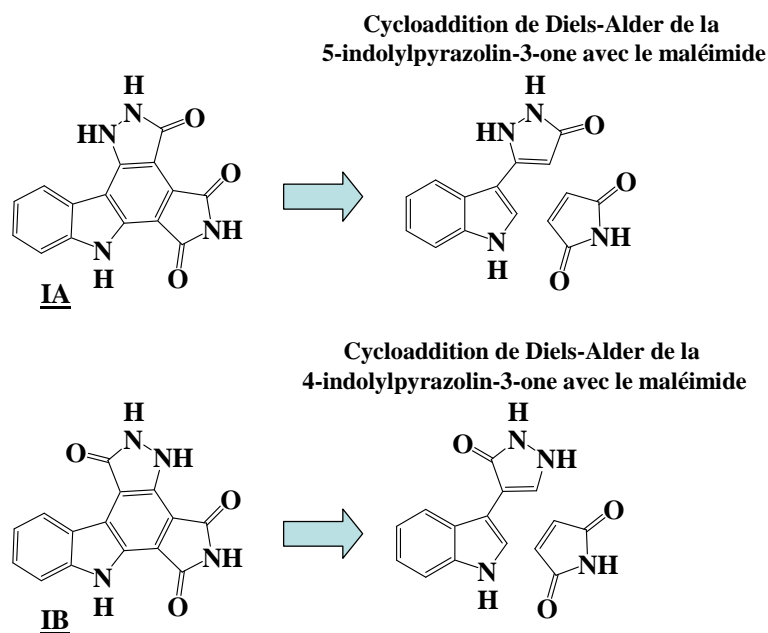


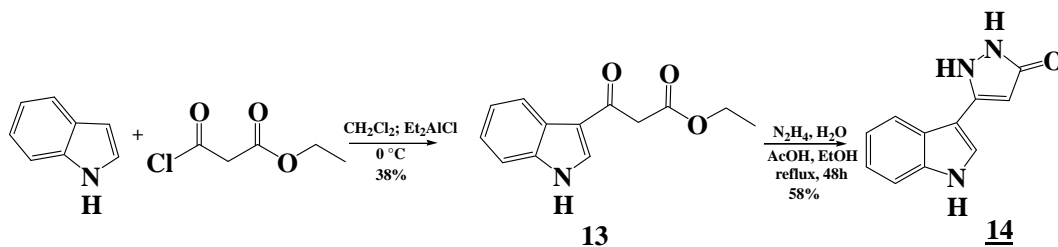
Figure 74: Schéma rétrosynthétique.

Le premier objectif a été la synthèse des deux régioisomères : la 5-indolylpyrazolin-3-one et la 4-indolylpyrazolin-3-one, décrits sur la **Figure 74**. La synthèse de ces composés est basée sur une stratégie d'addition puis d'addition-élimination de l'hydrazine sur un β -céto ester ou β -aldo-ester approprié.

🌀 *Synthèse des diènes intermédiaires :*

Synthèse de 5-indolylpyrazolin-3-one :

La synthèse de la 5-indolylpyrazolin-3-one est effectuée en deux étapes à partir de l'indole (**Figure 75**)

Figure 75: Synthèse du diène **14**.

Okauchi *et al.*⁵⁰ ont réalisé diverses acylations en position 3 de l'indole avec de bons rendements, en présence de chlorure de diéthylaluminium ou de chlorure de diméthylaluminium. Cette méthode ne nécessite pas de protection du NH de l'indole et la synthèse s'effectue dans des conditions relativement douces (2h à 0 °C dans du dichlorométhane).

En nous inspirant des travaux d'Okauchi, nous avons réalisé le couplage de l'indole avec le chloromalonate d'éthyle en présence de chlorure de diéthylaluminium. Le composé **13** est obtenu avec un rendement de 38%. Ce faible rendement peut s'expliquer par la formation de produits secondaires. Ces derniers n'ayant pas pu être isolés, on peut supposer qu'il s'agit d'une oligomérisation de l'indole en présence d'acide de Lewis.

En nous inspirant d'une méthode décrite pour la préparation de pyrazolinones polysubstituées⁵¹, nous avons effectué l'addition de l'hydrate d'hydrazine sur le composé **13** dans de l'éthanol à reflux. Le composé **14** est isolé après filtration avec un rendement de 46%.

Synthèse de la 4-indolylpyrazolin-3-one :

La synthèse de la 4-indolylpyrazolin-3-one est effectuée en deux étapes à partir du 3-indolyl-acétate de méthyle (**Figure 76**).

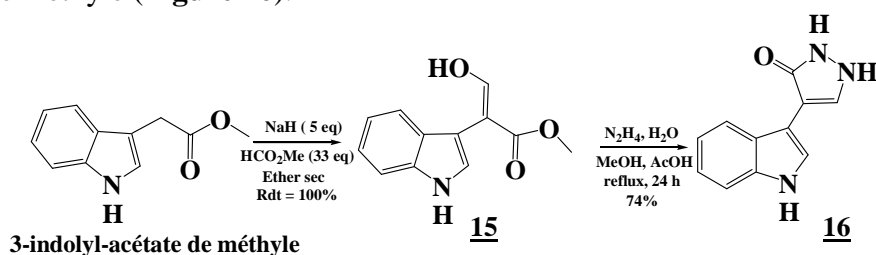


Figure 76: Synthèse du diène 16.

La première étape consiste en une formylation du 3-indolyl-acétate de méthyle avec du formiate de méthyle après déprotonation en α du CO avec de l'hydrure de sodium. La méthode a été inspirée des travaux de Huang *et al.*⁵² qui ont réalisé la formylation du phénylacétate d'éthyle avec du formiate d'éthyle en présence de NaH.

Le composé **15** a été isolé avec un rendement de 100% sous sa forme énol. Comme précédemment, il est ensuite engagé dans une réaction avec de l'hydrate d'hydrazine dans un

⁵⁰ Okauchi T. ; Itonaga M. ; Minami T. ; Owa T. ; Kitoh K. ; Yoshino H. *Org. Lett.*, **2000**, 2, 1485-1487.

⁵¹ Zimmermann D. ; Krogsgaard-Larsen P. ; Ehrhardt J.-D. ; Madsen U. ; Janin Y. L. *Tetrahedron*, **1998**, 54, 9393-9400.

⁵² Huang L.-J. ; Hsieh M.-C. ; Teng C.-M. ; Lee K.-H. ; Kuo S.-C. *Bioorg. Med. Chem.*, **1998**, 6, 1657-1662.

mélange MeOH/AcOH à reflux durant 24 h. La pyrazolinone **16** est finalement isolée avec un rendement de 74%.

Le composé **16** a également été décrit par Jakse *et al.*⁵³ Il est obtenu en deux étapes à partir du 3-indolyl-acétate d'éthyle via le composé intermédiaire **Q** (Figure 77).

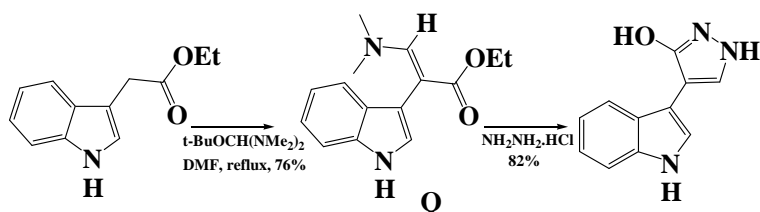


Figure 77: Voie de synthèse décrite par Jakse *et al.*

On peut noter que dans leurs conditions réactionnelles, ces auteurs ont isolé une forme tautomère du composé **16**. De même que les pyrazolin-3-ones sans substituants sur les azotes, les composés **14** et **16** peuvent présenter différentes formes tautomères, néanmoins, leurs spectres de RMN ^1H ne permettent pas de confirmer la présence de ces formes tautomères.

🔴 Cycloadditions de Diels-Alder :

Essais de cycloaddition entre la 4-indolylpyrazolin-3-one **16** et le maléimide:

De nombreux essais ont été réalisés et sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau 12, Figure 78). Malheureusement, le produit de cycloaddition n'a jamais été isolé. Soit la pyrazolinone **16** ne réagit pas, soit un mélange de divers composés a été isolé, inexploitable en RMN et non purifiable en raison de la grande insolubilité et polarité de ces composés.

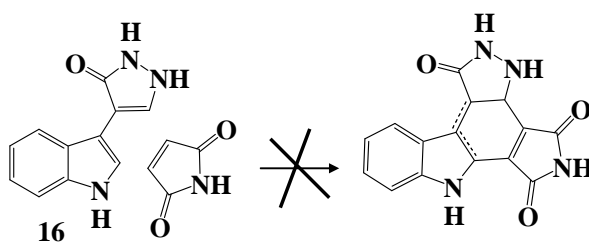


Figure 78: Essai de cycloaddition de **16** avec le maléimide.

⁵³ Jakse R. ; Svete J. ; Stanovnik B. ; Golobic A. *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 4601-4608.

Solvant	Nombre d'équivalents de maléimide	Temps de réaction	Résultats
Benzène	1,2	2 j	Pas de réaction
Toluène	1,2	2 j	Pas de réaction
Xylène	1,2	1 j	Pas de réaction
Xylène	1,2	5 j	Pas de réaction
Xylène	5	3 j	Plus de départ, RMN non exploitable
Eau	1,2	3 j	Pas de réaction

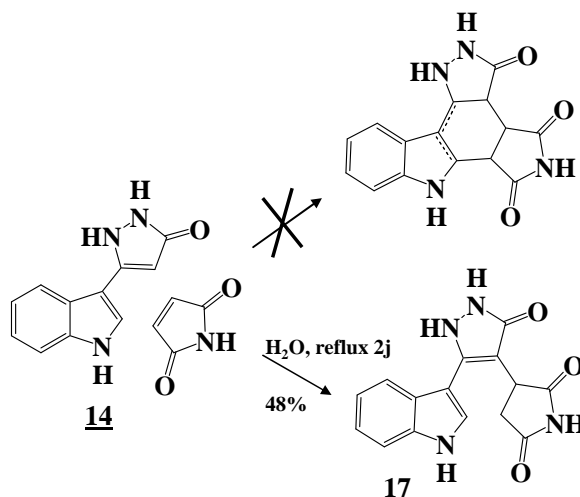
Tableau 12: Résultats des essais de cycloaddition.

Essais de cycloaddition entre la 5-indolylpyrazolin-3-one **14** et le maléimide:

Egalement dans ce cas, de nombreux essais ont été effectués (Tableau 13). Le produit de cycloaddition n'a pu être obtenu. On note cependant que le composé **14** semble plus réactif que le composé **16**, puisque dans chaque essai on peut observer sa disparition totale. Lorsque le solvant utilisé est du benzène, du toluène ou du xylène seul un mélange de composés, non séparables en raison de leur grande insolubilité, est obtenu. Néanmoins, lorsque la réaction est réalisée dans de l'eau à reflux durant 2 jours, le composé **17**, issu d'une réaction de Michaël, a pu être isolé avec un rendement de 48% (Figure 79).

Solvant	Nombre d'équivalents de maléimide	Temps de réaction	Résultats
Benzène	5	3 j	Mélange produits (multitude NH en RMN) non séparables
Toluène	5	2 j	Même profil
Xylène	5	4 j	Même profil
Xylène	1,2	4 j	Même profil
Eau	1,2	2 j	Addition de Michaël : 17 isolé.

Tableau 13: Résultats des essais de cycloaddition.

Figure 79: Essai de cycloaddition et formation du composé **17**.

L'obtention du composé **17** nous a permis d'envisager une autre voie d'accès au produit final, en réalisant une oxydation du succinimide suivie d'une cyclisation oxydante (**Figure 80**).

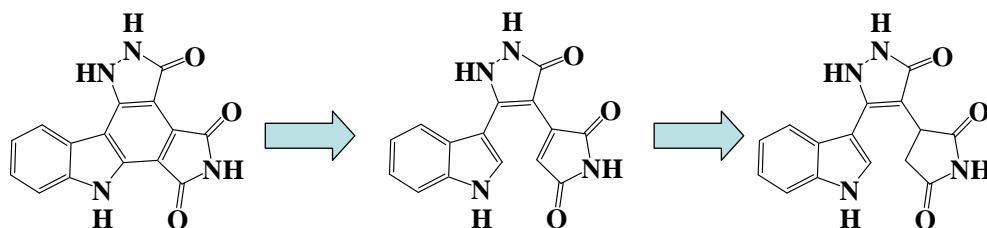


Figure 80: Schéma rétrosynthétique.

Nous avons tout d'abord essayé une oxydation à l'aide du DDQ. Malheureusement, les essais effectués (avec un équivalent de DDQ, dans du dioxane ou du THF, sous argon, à température ambiante ou à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$) ont conduit rapidement à une dégradation de **17**.

Nous avons envisagé par la suite de réaliser la cyclisation à l'aide de Pd black dans du nitrobenzène à reflux, suivant une méthode que Bernadette Hugon avait utilisée au cours sa thèse (**Figure 81**). Lors de cette réaction, l'oxygène de l'air est l'oxydant, le nitrobenzène est un bon accepteur d'hydrogène et le palladium est l'agent de transfert de l'hydrogène.

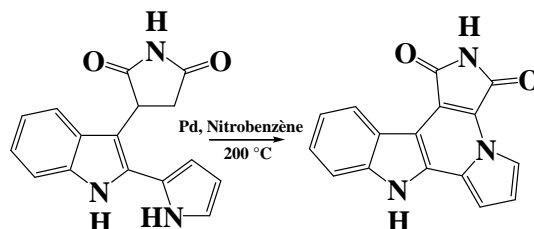


Figure 81: Préparation d'un composé cyclisé décrite par Bernadette Hugon.

L'essai réalisé avec **17** en utilisant les mêmes conditions réactionnelles n'a pas été concluant et nous a conduit à de la dégradation du produit de départ.

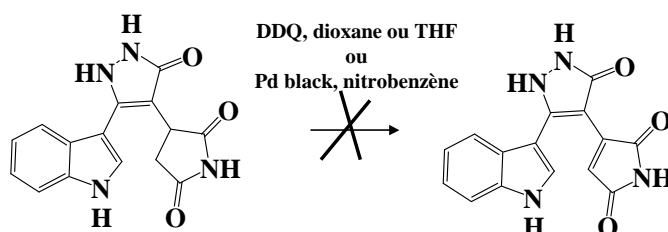


Figure 82: Les essais d'oxydation réalisés avec DDQ et Pd black n'ont pas abouti.

Hypothèses émises sur l'impossibilité de réaliser la cycloaddition de Diels-Alder avec les pyrazolinones **14** et **16**:

L'une des principales raisons de cette absence de réactivité lors des essais de cycloaddition de Diels-Alder, pourrait être l'existence des différentes formes tautomères des composés **14** et **16** qui diminueraient leur caractère de diène par délocalisation des électrons π (Figure 83).

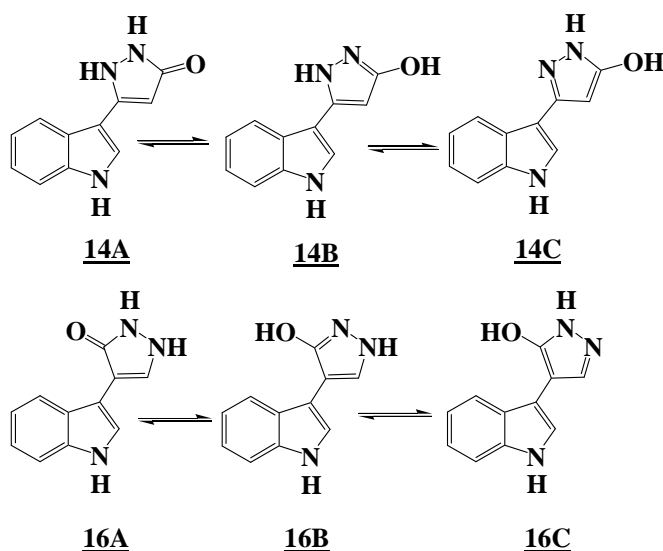


Figure 83: Existence de 3 formes tautomères pour les composés **14** et **16**.

De plus, divers travaux⁵⁴ soulèvent plusieurs points sur les formes tautomères des pyrazolin-3-ones :

- La forme tautomère de type **A** serait la forme prédominante en phase solide alors qu'en solution, la forme **B** serait privilégiée ;
- Les formes tautomères dépendent de la nature du solvant (polaire ou apolaire). En effet dans un solvant apolaire comme du toluène, la pyrazolin-3-one existerait sous la forme d'un dimère (Figure 84), en revanche dans un solvant polaire le dimère de la pyrazolinone est dissocié.

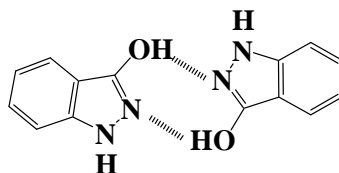


Figure 84: Dimère décrit par Aran *et al.* dans du toluène.

⁵⁴ a) Aran V. J. ; Diez-Barra E. ; de la Hoz A. ; Sanchez-Verdu P. *Heterocycles*, **1997**, *45*, 129-136. b) Sabaté-Alduy C. ; Bastide J. *Can. J. Chem.*, **1976**, *54*, 1752-1756. c) Deschamps J. ; Arriau J. ; Parmentier P. *Tetrahedron*, **1971**, *27*, 5779-5793. d) Arriau J. ; Deschamps J., Parmentier P. *Tetrahedron*, **1971**, *27*, 5795-5806. e) Katritzky A. R. ; Maine F. W. Golding S. *Tetrahedron*, **1965**, *21*, 1693-1699.

On peut supposer que les mêmes faits pourraient être observés pour nos composés **14** et **16**. Ceci pourrait expliquer la formation du composé **17** dans un solvant polaire tel que l'eau.

Afin d'éviter la présence de ces formes tautomères dans le milieu réactionnel, nous avons envisagé de réaliser une mono ou diprotection des pyrazolinones. Dans la littérature, rares sont les exemples de protection et par suite de DEPROTECTION des pyrazolinones. Nous avons réalisé seulement quelques essais de benzylation via les méthodes décrites par Aran *et al.*^{58a}, qui ont effectué des monobenzylation d'indazolin-3-ones en utilisant du bromure de benzyle en milieu neutre, et de Bratusek *et al.*⁵⁵, qui ont utilisé de l'hydrazine monobenzylée commerciale pour l'accès direct à des pyrazolinones monobenzylées.

Les tentatives de benzylation menées dans du toluène ou du DMF à 100 °C, en présence de bromure de benzyle n'ont conduit qu'à un mélange de composés benzylés non séparables (**Figure 85**).

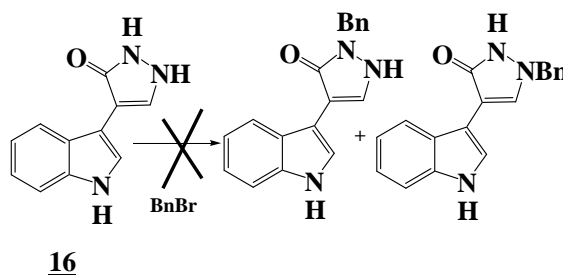


Figure 85: Essai de protection à l'aide de BnBr.

L'utilisation de la benzyldiazine sur le composé **15** n'a pas été plus concluante et a conduit, suivant les conditions utilisées, soit à des produits de dégradation, soit au produit désiré mais sous sa forme ouverte **16'** et avec un rendement très faible (Rdt < 10 %) (**Tableau 14** et **Figure 86**).

^{58a} Aran V. J. ; Diez-Barra E. ; de la Hoz A. ; Sanchez-Verdu P. *Heterocycles*, **1997**, 45, 129-136.

⁵⁵ Bratusek U. ; Hvala A. ; Stanovnik B. *J. Heterocyclic Chem.*, **1998**, 35, 1281-1284.

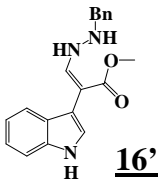
Conditions opératoires	Durée de réaction	Résultats
MeOH ; AcOH ; benzylhydrazine ; reflux	2h	Dégradation
MeOH ; NEt ₃ ; benzylhydrazine ; reflux	1h30	Dégradation
MeOH ; benzylhydrazine ; reflux	24 h	Dégradation + forme ouverte 

Tableau 14: Essais réalisés avec la benzylhydrazine.

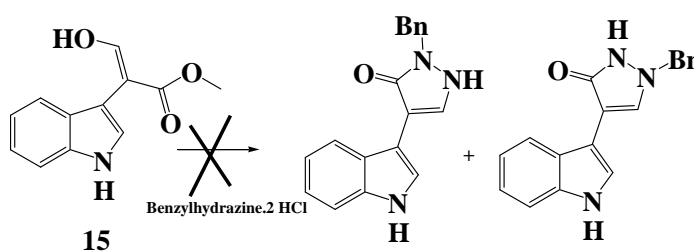


Figure 86: Essai de protection via la benzylhydrazine.

📌 Conclusion :

Nous venons de décrire la synthèse de deux pyrazolinones régioisomères **14** et **16** en deux étapes, à partir de l'indole et du 3-indolyl-acétate de méthyle respectivement. Malheureusement, les cycloadditions de Diels-Alder, qui auraient dû nous conduire aux structures mixtes pyrazolinone/imide, ne se sont pas effectuées. Vraisemblablement, les formes tautomères des composés **14** et **16** qui « désactivent » le diène, en seraient la cause. Une bonne alternative aurait été la protection des NH des pyrazolinones, mais cette tâche ne s'est pas avérée réalisable dans les conditions expérimentales utilisées.

Nous nous sommes alors tournés vers une autre stratégie de synthèse qui consiste à construire le cycle pyrazolinone en fin de synthèse, afin de pallier les problèmes dûs aux formes tautomères.

Nous discuterons, dans la partie suivante, deux voies de synthèse envisagées pour chaque régioisomère, ainsi que des problèmes rencontrés, cette fois en raison de la réactivité de l'imide.

b) Deuxième stratégie de synthèse :

☉ Schéma de rétrosynthèse :

Les voies d'accès aux composés **IA** et **IB** ont été envisagées à partir du composé **13** et de l'indole 3-glyoxylate d'éthyle respectivement (**Figure 87 et 88**).

La stratégie envisagée pour l'obtention du composé **IA**, repose sur la synthèse d'un tétracycle intermédiaire possédant un maléimide en tant qu'hétérocycle E, ainsi qu'un enchaînement β -céto-ester (**Figure 87**). Le β -céto-ester est nécessaire à la construction du cycle pyrazolinone, via une addition de l'hydrazine comme nous l'avons vu précédemment pour la synthèse de **14**. Il est issu du composé de départ **13**, qui sera engagé dans une réaction de substitution nucléophile avec le *N*-BOM-dibromomaléimide en vue d'introduire le maléimide. La création de la dernière liaison C-C devrait pouvoir se réaliser via un couplage au Pd et conduire ainsi au tétracycle intermédiaire.

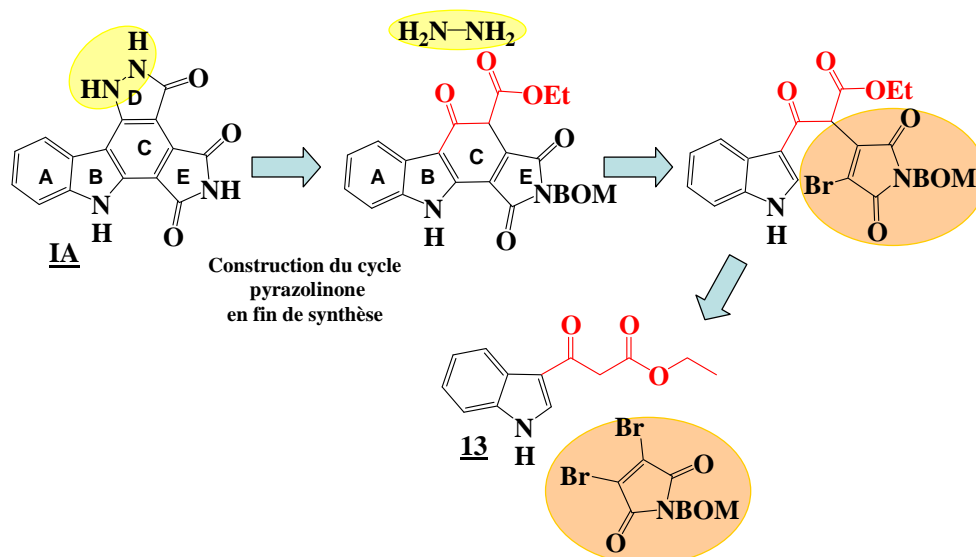


Figure 87: Voie de synthèse envisagée pour le composé **IA**.

La synthèse du composé **IB** est envisagée à partir de l'indole 3-glyoxylate d'éthyle qui sera le précurseur du diène engagé dans une réaction de Diels-Alder avec le maléimide. Après oxydation, le tétracycle formé sera engagé dans une réaction avec de l'hydrazine, en milieu basique, pour conduire au composé **IB** (**Figure 88**).

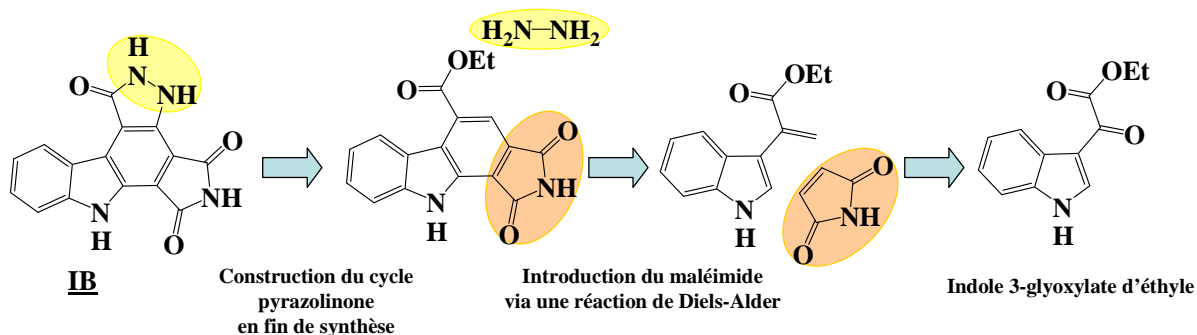


Figure 88: Voie de synthèse envisagée pour le composé **IB**.

Ⓢ Synthèse du composé **IA** :

Le *N*-BOM-dibromomaléimide est préparé suivant une méthode mise au point au laboratoire, à partir du dibromomaléimide commercial, en présence de carbonate de potassium et de chlorure de benzyloxyméthyle. Le *N*-BOM-dibromomaléimide est isolé avec un rendement de 72% (**Figure 89**).

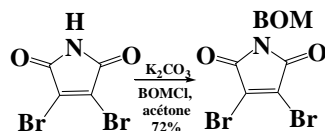


Figure 89: Protection du dibromomaléimide.

La substitution nucléophile de **13** sur le *N*-BOM-dibromomaléimide est effectuée en présence de 2 équivalents de NaH, dans du THF sec à 0 °C. Contrairement à ce que l'on attendait, la réaction a directement conduit au tétracycle **18**. Le composé **18** est obtenu sous sa forme énol, thermodynamiquement plus stable de par son aromaticité, avec un rendement de 30%. Le produit monobromé ouvert s'est également formé (**Figure 90**) mais nous n'avons pas pu l'isoler. Nous avons observé sa présence dans le spectre de masse du mélange des produits obtenus. Malgré de nombreuses colonnes, ce composé n'a pas pu être séparé des produits secondaires. On pourrait penser qu'en laissant un temps de réaction plus long on améliorerait le rendement en tétracycle **18** en permettant une cyclisation totale du composé ouvert. Cependant, dans ces conditions, on note l'apparition de produits de dégradation.

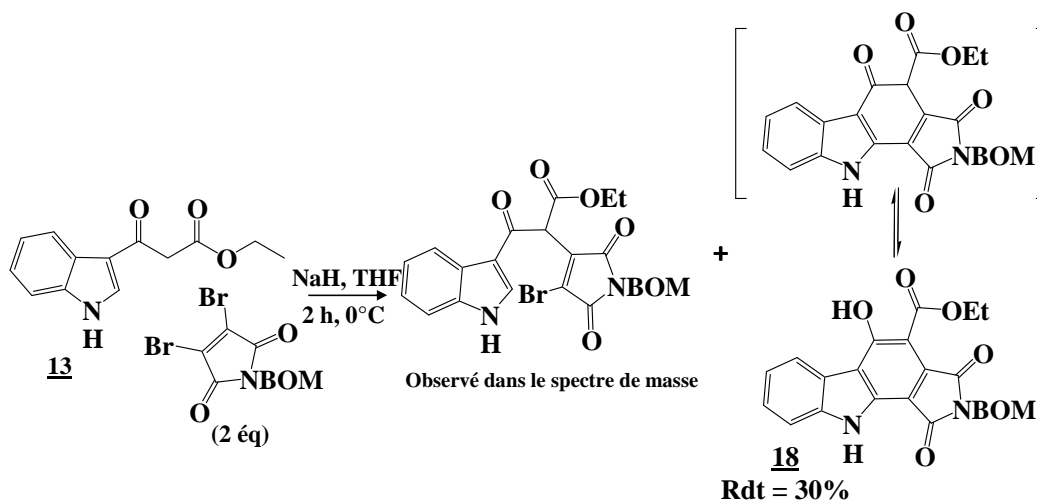


Figure 90: Obtention du tétracycle **18** intermédiaire.

La suite de la synthèse consistait en l'élaboration de l'hétérocycle pyrazolinone via l'action de l'hydrazine sur le β -céto-ester **18**. Pour ce faire, nous avons réalisé la réaction dans des conditions réactionnelles similaires à celles mises en œuvre pour la préparation du composé **14**.

Après de 3 h de réaction, dans l'éthanol et à température ambiante, on observe une disparition totale du produit de départ et la formation d'un précipité orange. Après filtration et de nombreux lavages à l'eau et à l'acétate d'éthyle, le composé **19** est isolé avec un rendement de 64%.

La première preuve de la réaction d'addition-élimination de l'hydrazine sur l'ester est la disparition de signaux du groupement éthyle en RMN ^1H . De plus, la présence de la forme ouverte **19** est justifiée, d'une part, par les protons NH_2 qui présentent un signal sous forme d'un singulet à 5,00 ppm en RMN ^1H et, d'autre part, par les deux singulets à 10,43 et 12,14 ppm qui correspondent au NH indolique et au OH. Enfin, la masse, réalisée en ESI+, confirme la présence du composé sous sa forme ouverte **19**.

Pour effectuer la déshydratation du composé **19** nous avons envisagé de chauffer le composé en milieu acide, en espérant créer un équilibre entre l'énol et sa forme cétone qui aiderait à l'addition-élimination finale de l'hydrazide.

Afin de favoriser la cyclisation, nous avons donc chauffé à reflux le composé **19** en suspension dans un mélange acide acétique/éthanol (**Figure 91**).

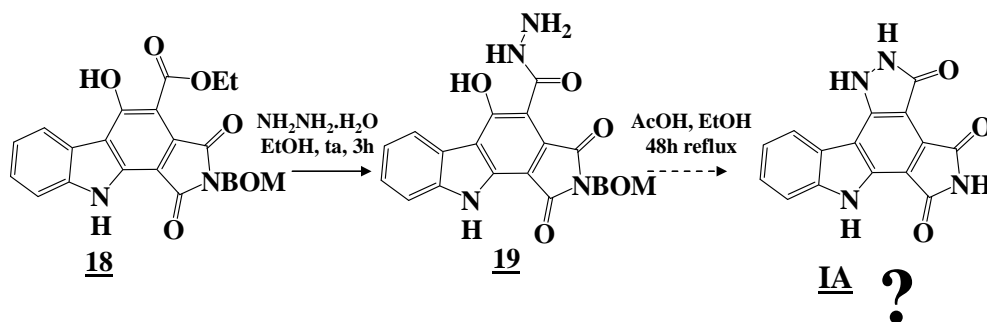


Figure 91: Synthèse du composé **IA** ?

Après 48 h de reflux, la suspension orange est devenue jaune. Le précipité est filtré et lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle.

Nous ne pouvons pas affirmer que le composé isolé soit **IA** en raison des difficultés rencontrées pour l'analyse de sa structure.

Lorsque l'on analyse les spectres de RMN ^1H de ce composé, on note la présence de deux triplets (à 7,34 ppm et 7,51 ppm) ainsi que de deux doublets (à 7,87 ppm et 8,26 ppm) qui correspondent aux protons aromatiques de la partie indole. De plus, on remarque la disparition des protons $\text{CH}_2\text{-O}$ du BOM (situés normalement aux environs de 5 ppm) et de ses protons aromatiques, ce qui laisse supposer que cette réaction s'accompagne d'une élimination du BOM. Enfin, le signal des protons NH_2 de l'hydrazide situés vers 5 ppm a également disparu.

Un des points troubles du spectre réside dans le profil des échangeables. En effet, ils apparaissent sous forme de 5 signaux élargis, aucun n'intégrant pour 1 proton.

Plusieurs questions se posent :

- Peut-on considérer les formes tautomères responsables du profil des échangeables qui apparaissent sous forme de 5 signaux élargis ?
- Les protons très déblindés à 14,13 ppm correspondraient-ils à des échangeables de pyrazolinone ?

Aucune donnée de la littérature ne fait part de faits similaires.

La possibilité de la formation d'un autre composé est à envisager, surtout avec la présence relativement proche d'un site électrophile comme l'imide. Il s'agirait d'une addition-élimination de l'hydrazide sur le carbonyle du maléimide générant la formation d'un cycle à six maillons de type pyrazine et d'un amide (**Figure 92**).

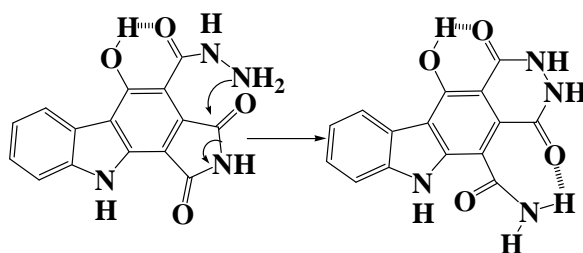


Figure 92: Autre structure possible.

La structure de l'amide expliquerait la présence de 5 signaux en RMN ^1H correspondant aux protons échangeables (le signal à 14,13 ppm intègre pour 1,6 protons). Le signal à 14,13 ppm pourrait correspondre aux NH_2 de l'amide qui établissent des liaisons hydrogène avec le carbonyle de la pyrazine.

Il est aussi important de noter la grande insolubilité du produit isolé. Afin de réaliser l'analyse RMN, nous avons seulement pu solubiliser 0,2 mg de produit dans 500 μL de $\text{DMSO-}d_6$. Dans ces conditions, le spectre de RMN ^{13}C n'a pu être réalisé.

Malheureusement, la spectrométrie de masse (ESI+, ESI-, impact électronique) ne nous a pas donné de résultats concluants. En effet, la grande insolubilité de ce composé, et vraisemblablement, une certaine inaptitude à l'ionisation expliqueraient les difficultés à réaliser le spectre de masse de ce composé.

Enfin, la grande insolubilité de ce composé ne nous permet pas d'envisager de purification sur colonne de silice ou par cristallisation, ce qui ne nous permet pas de réaliser une microanalyse ou une détermination de la structure aux RX.

Pour le moment, nous ne pouvons donc pas conclure sur la structure de ce composé.

Au vu de ces résultats, nous avons envisagé d'autres approches pour favoriser la cyclisation du composé **18**: une réaction de Bucherer décrite par Seeboth⁵⁶ et une substitution de l'hydroxyle par un chlore.

Réaction de Bucherer :⁵⁶

La réaction de Bucherer est une méthode simple de conversion d'amines aromatiques en phénols correspondants, ou de phénols en amines aromatiques primaires, secondaires ou tertiaires. La réaction s'effectue en phase aqueuse en présence d'acide sulfurique ou d'un sel ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ou NaHSO_3 par exemple). Un exemple d'addition de phénylhydrazine sur l'adduit de NaHSO_3 du naphthol est donné (**Figure 93**).

⁵⁶ Seeboth H. *Angew. Chem. Internat. Edit.*, **1967**, 6, 307-317.

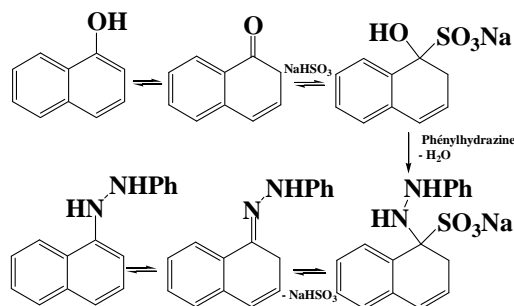


Figure 93: Réaction de Bucherer en présence de la phénylhydrazine.

Nous avons soumis le composé **19** aux conditions de la réaction de Bucherer (chauffé dans une bombe à 150 °C en présence d'une solution de Na₂S₂O₄), au bout de 24 h, aucune réaction n'est observée.

Substitution de l'hydroxyle par un chlore :

Nous avons envisagé la substitution de l'hydroxyle par un chlore afin de faciliter la double attaque de l'hydrazine.

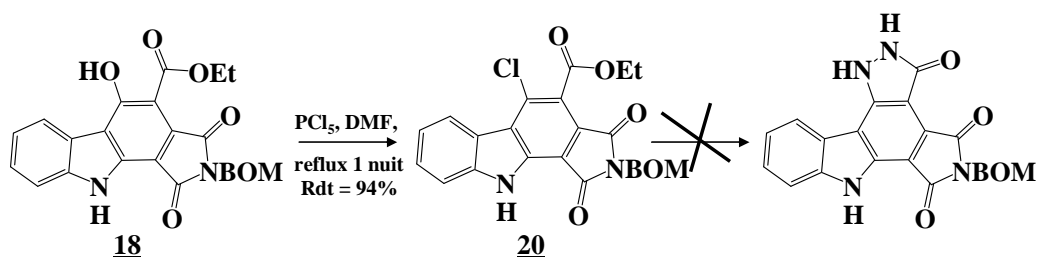


Figure 94: Synthèse du composé chloré et essai de cyclisation finale.

Le composé **18** en solution dans du DMF sec est chauffé à reflux une nuit en présence de PCI₅ (1 équivalent). Le composé **20** est isolé avec un rendement de 94%.

Il est important de noter la sensibilité de cette réaction à l'humidité (atmosphère humide). En effet, dans de telles conditions, nous avons seulement isolé le composé **21** (Figure 95) avec un rendement de 96%. Le produit **21** serait issu d'une décarboxylation de type Krapcho.

La réaction de Krapcho⁵⁷ (s'applique aux α-cyano-esters, aux α-sulfonyl-esters et aux β-céto-esters et s'effectue dans des solvants polaires aprotiques (DMSO, DMF, HMPT), à

⁵⁷ Knölker H. J. ; Hitzemann R. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 2157-2160.

haute température et en présence d'eau et/ou de sels (LiCl, NaCl, NaCN, KCN,...). Cette hypothèse a été vérifiée en plaçant le composé **18** dans les conditions d'une décarboxylation de Krapcho. Le composé **18** mis en présence de LiCl dans du DMF à reflux, conduit aussi à la formation de **21** avec un rendement de 96% (**Figure 95**).

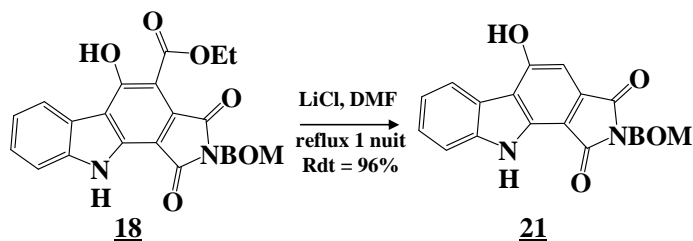


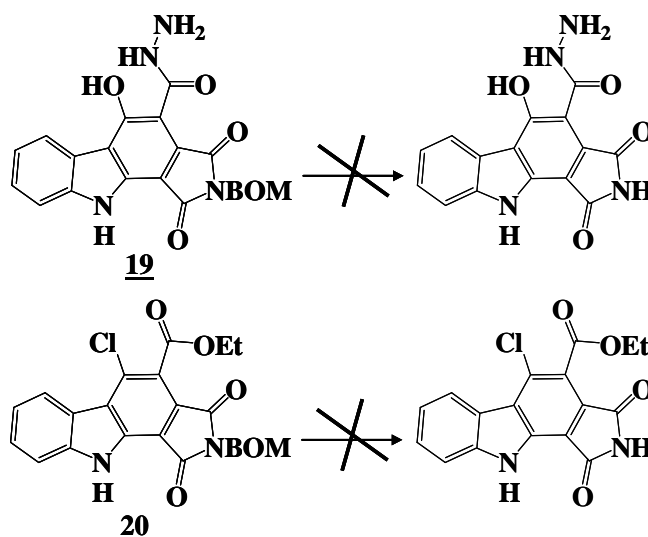
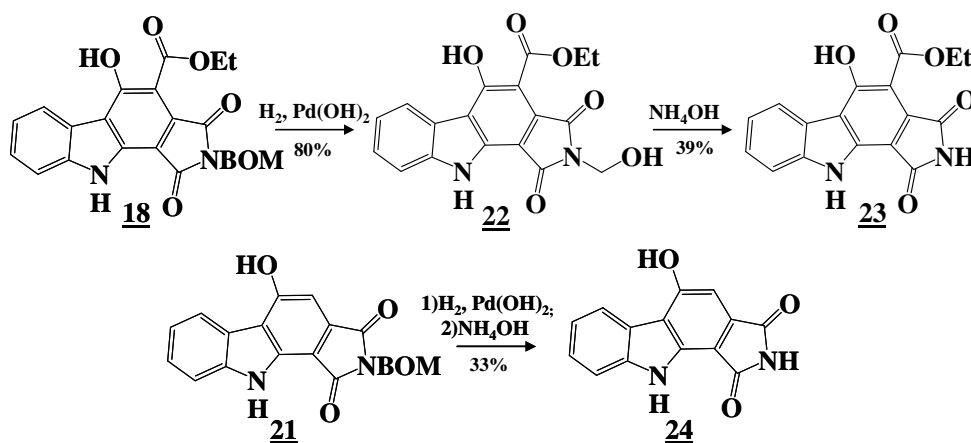
Figure 95: Le composé **18** est soumis aux conditions de la réaction de Krapcho.

Malheureusement, la réaction de l'hydrazine sur le composé **20** ne nous a pas permis d'isoler le produit cyclisé correspondant. Cette réaction a conduit à un mélange de composés non séparables.

Afin de valoriser la synthèse des composés **18**, **19**, **20** et **21**, il convient d'accéder aux produits finaux complètement déprotégés. Ces composés pourront ainsi participer à l'étude de relations structure-activité.

Déprotections des composés 18, 19, 20 et 21 :

Les déprotections de **18**, **19**, **20**, **21** ont été effectuées par hydrogénolyse à l'aide de Pd(OH)₂, suivie d'une aminolyse. L'hydrogénolyse des composés **19** et **20** (**Figure 96**) a généré une dégradation des composés, alors que celle de **18** a permis d'isoler l'intermédiaire **22** avec un rendement de 80%. Le produit final **23** a été obtenu par aminolyse avec un rendement de 39%. L'hydrogénolyse suivie d'une aminolyse du composé **21** conduit au composé déprotégé **24** avec un rendement de 33% (**Figure 97**).

Figure 96: Essai d'hydrogénolyse des composés **19** et **20**.Figure 97: Déprotection des composés **18** et **21**.

☉ Synthèse du composé **1B** (Figure 88) :

Le composé **R**⁵⁰ (Figure 98) est obtenu par acylation de l'indole en présence de chlorure de diéthylaluminium et de chlorure d'oxalate d'éthyle avec un rendement de 72%. Dans un premier temps, l'accès au composé **26** avait été envisagé via une réaction de Wittig sur le composé **R**, mais les essais réalisés n'ont pas été concluants.

Nous avons alors choisi de préparer le diène **26** en deux étapes, via une addition nucléophile du bromure de méthyle magnésium suivie d'une déshydratation.

⁵⁰ Okauchi T. ; Itonaga M. ; Minami T. ; Owa T. ; Kitoh K. ; Yoshino H. *Org. Lett.*, **2000**, 2, 1485-1487.

Auparavant, nous avons protégé la fonction NH⁵⁸ indolique à l'aide de NaH et de chlorure de benzyle sulfonyle. Le composé **S** est isolé avec un rendement de 70%. Le composé **25** est obtenu après réaction du magnésien sur la fonction carbonyle du composé **S**, dans du THF à -78 °C avec un rendement de 77%. La déshydratation de **25** s'effectue avec un rendement de 95%, dans du toluène à reflux et en présence d'une quantité catalytique d'APTS.

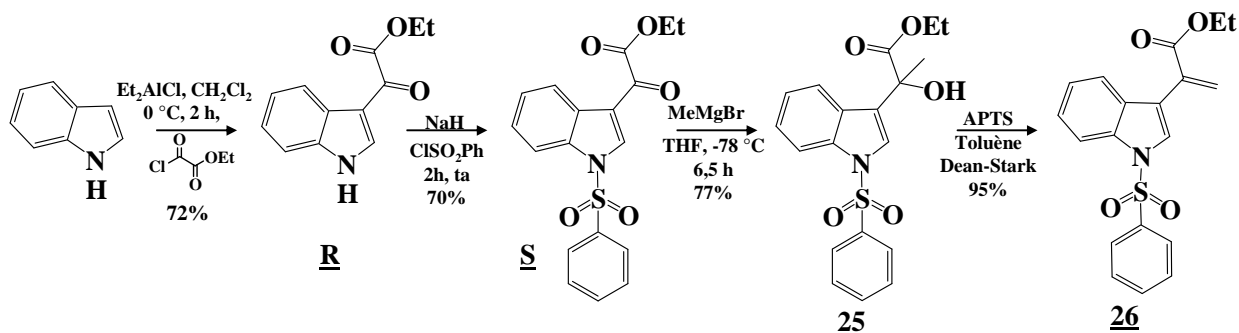


Figure 98: Synthèse du diène **26**.

Le diène **26** est isolé sous forme de deux conformères. Le rapport des conformères est déterminé par RMN du ¹H sur les signaux du CH₂ éthylénique à 6,02 et 6,45 ppm pour le conformère majoritaire et à 6,14 et 6,26 ppm pour le conformère minoritaire (4:1 dans le DMSO et 6:1 dans CDCl₃). Le composé **26** est ensuite engagé dans une réaction de Diels-Alder avec du maléimide. Le composé **27** est isolé avec un faible rendement de 33% après deux jours de réaction à reflux dans du toluène et avec un rendement de 44% dans le xylène. L'oxydation, qui a lieu en présence de DDQ dans du dioxane à reflux, conduit au produit **28** avec un rendement de 20% et un taux de conversion de 36%.

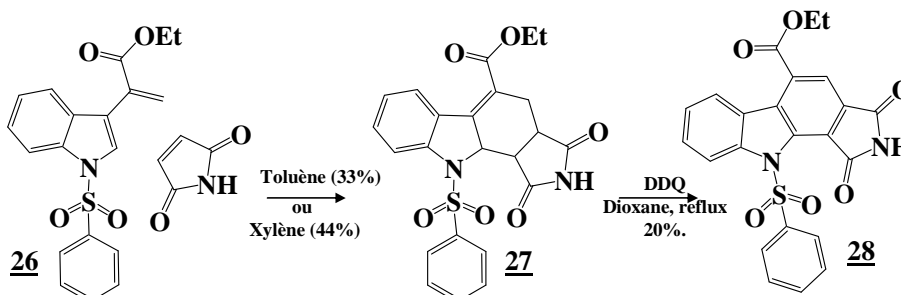


Figure 99: Réaction de Diels-Alder et oxydation.

⁵⁸ Wenkert E. ; Moeller P. D. R. ; Piettre S. R. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 7188-7194.

Le rendement de cette dernière oxydation n'étant pas élevé et n'ayant pas pu être amélioré, même en changeant d'oxydant (O_2 dans le TFA), nous avons décidé de déprotéger l'indole avant l'oxydation (**Tableau 15**). La déprotection est tout d'abord réalisée en présence de TBAF (3,3 équivalents) dans du THF à température ambiante. La réaction n'est pas totale (taux de conversion de 50%), néanmoins, le produit **29** déprotégé et oxydé (**Figure 100**) est isolé avec un rendement de 50% (en tenant compte du taux de conversion). Le rendement devient de 83% lorsque la réaction est menée avec 15 équivalents de TBAF, à reflux du THF.

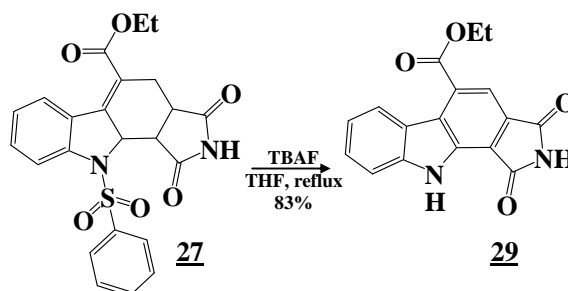


Figure 100: Déprotection et oxydation de **27** à l'aide de TBAF.

Essai	Nombre d'équivalents de TBAF	Température (°C)	Durée de réaction (jours)	Tx de conversion (%)	Rdt (%)
1	3,3	Ta	5	50	50
2	15	reflux	2	100	83

Tableau 15: Essais de déprotection du composé **27**.

Les étapes suivantes envisagées sont décrites sur le schéma rétrosynthétique ci-dessous (**Figure 101A**). Il s'agit de réaliser une protection du composé **29** sur l'azote de l'imide, suivie de l'addition-élimination de l'hydrazine sur l'ester, d'une cyclisation en milieu basique⁵⁸ (**Figure 101B**) et d'une déprotection finale.

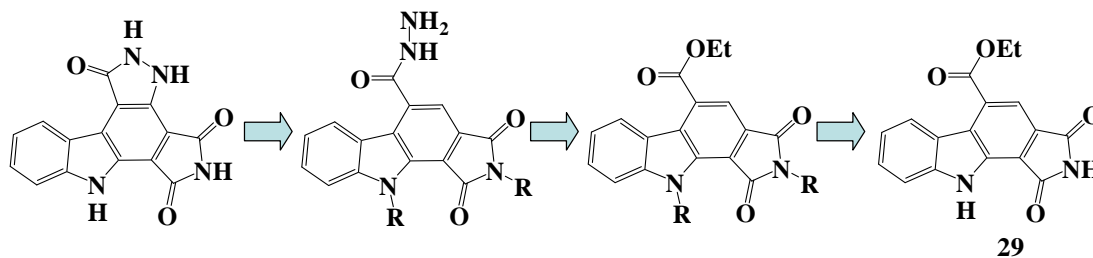


Figure 101A: Schéma rétrosynthétique.

⁵⁸ Barton D. H. R. ; Lukacs G. ; Wagle D. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1982**, 8, 450-452.

La stratégie de la synthèse repose sur les travaux de Barton *et al.*⁵⁸. Les auteurs ont décrit la synthèse de différentes pyrazolinones aromatiques avec de bons rendements à partir des hydrazides correspondants en présence de trois équivalents de *n*-butyl-lithium.

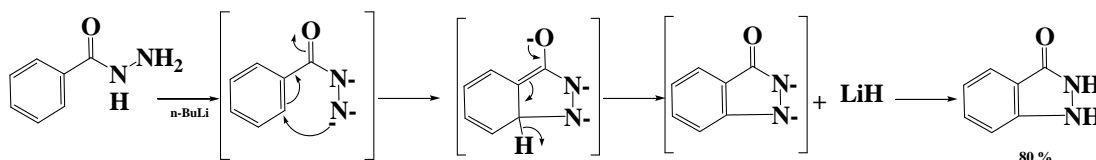


Figure 101B: Formation d'une pyrazolinone aromatique à partir d'un hydrazide aromatique.
Mécanisme décrit par Barton *et al.*

Le composé **29**, en présence d'hydrazine n'a conduit qu'à des mélanges de composés que l'on ne peut séparer en raison de la grande polarité et insolubilité du mélange. Afin de faciliter les traitements, les suivis de réaction ainsi que d'éventuelles purifications, nous avons décidé de protéger le composé **29** à l'aide d'un groupement protecteur solubilisant tel que le SEM. Le composé diprotégé correspondant est immédiatement engagé dans une réaction avec de l'hydrazine. Rapidement on observe une réaction totale, mais malheureusement, c'est le composé **30**, correspondant à une attaque sur l'imide, qui est isolé avec un rendement de 29% sur les deux étapes. Les autres produits secondaires n'ont pas pu être isolés.

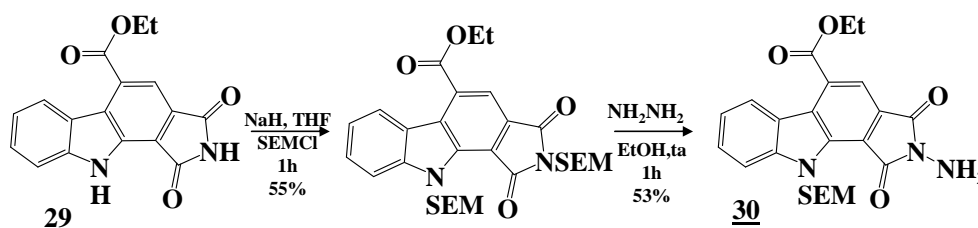


Figure 102: Protection de **29** et réaction avec l'hydrazine.

Afin d'éviter l'attaque sur l'imide, le maléimide pourrait être protégé par un BOM en vue d'obtenir un analogue du composé **18** qui, en présence d'hydrazine, avait conduit à la formation du produit d'addition **19** sans toucher au maléimide protégé.

📌 Conclusion :

La deuxième stratégie de synthèse que nous venons de décrire ne nous a pas permis d'aboutir aux pyrazolinones finales **Ia** et **Ib**.

Il est néanmoins intéressant, dans le cadre de notre étude de relations structure-activité d'avoir isolé les intermédiaires **22**, **23**, **24** et **29**.

⁵⁸ Barton D. H. R. ; Lukacs G. ; Wagle D. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1982**, 8, 450-452.

4) Structures mixtes imide/pyridazine :

La synthèse du composé **II**, possédant une pyridazine en tant qu'hétérocycle supérieur a aussi été envisagée (**Figure 103**).

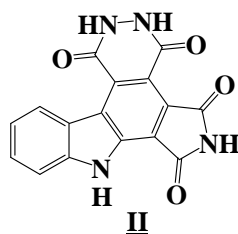


Figure 103: Structure mixte imide/pyridazine.

a) Première stratégie de synthèse :

Comme précédemment, la première stratégie envisagée était fondée sur une réaction de Diels-Alder d'un diène intermédiaire, ici le composé **31** dont la synthèse sera décrite, et le diénophile maléimide (**Figure 104**).

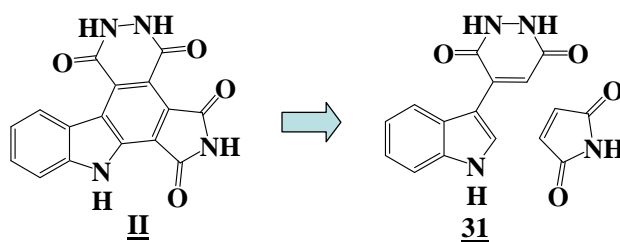


Figure 104: Schéma rétrosynthétique.

La première méthode envisagée pour la synthèse du composé **31** était de réaliser une réaction du Grignard de l'indole sur la 4-bromo-1,2-dihydro-pyridazin-3,6-dione **S**.⁵⁹ Cette réaction aurait permis d'accéder au composé **31** en une seule étape. Malheureusement, aucune réaction n'est observée lors des essais effectués, vraisemblablement en raison de la faible solubilité de **S** (**Figure 105**).

⁵⁹ Kasnar B. ; Wise D. S. ; Kucera L. S. ; Drach J. C. ; Townsend L. B. *Nucleosides Nucleotides*, **1994**, *13*, 459-480.

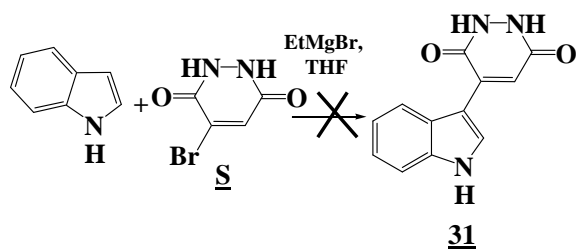


Figure 105: Essai d'une réaction de Grignard.

Dans la littérature^{59,60} la formation de ce type d'hétérocycle est souvent décrite via l'anhydride maléique correspondant.

L'anhydride **U** (Figure 106), décrit par Bernadette Hugon³⁵, est obtenu en trois étapes à partir de l'indole. L'addition de Michaël de l'indole sur le *N*-méthyl-maléimide dans l'acide acétique à reflux, suivie d'une oxydation au DDQ dans du dioxane à température ambiante conduit au composé **T** avec un rendement de 38% sur les deux étapes. L'anhydride **U** est isolé avec un rendement de 66% par action de la soude aqueuse à reflux sur **T**, suivie d'un traitement acide.

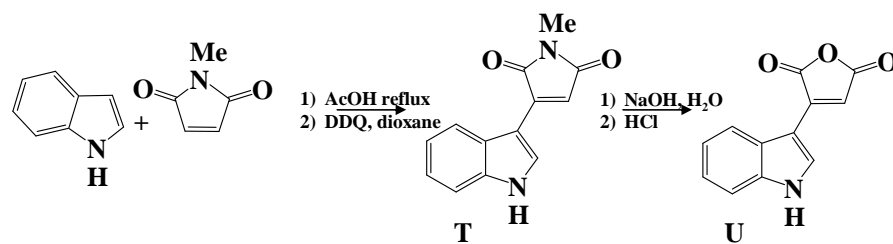
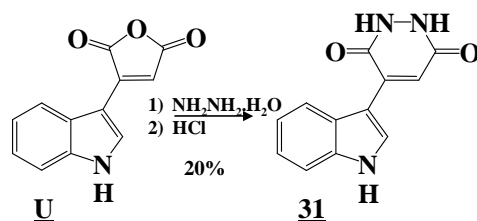


Figure 106: Synthèse de l'anhydride.

Le composé **U** est chauffé à reflux dans du THF en présence d'hydrate d'hydrazine. Après traitement en milieu acide, la pyridazine **31** est isolée avec un rendement relativement faible de 20%. Ce faible rendement peut s'expliquer par la formation de produits d'ouverture qui ne se sont pas re-cyclisés.

Figure 107: Synthèse du diène **31**.

⁵⁹ Kasnar B. ; Wise D. S. ; Kucera L. S. ; Drach J. C. ; Townsend L. B. *Nucleosides Nucleotides*, **1994**, *13*, 459-480.

⁶⁰ a) Edelmann M. J. ; Raimundo J.-M. ; Utesch N. F. ; Diederich F. ; Boudon C. ; Gisselbrecht J.-P. ; Gross M. ; *Helv. Chim. Acta.*, **2002**, *85*, 2195-2213. b) Stefanye H. *J. Org. Chem.*, **1954**, *19*, 115-117.

³⁵ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Letters*, **2003**, *44*, 3935-3937.

Les essais de cycloaddition de Diels-Alder dans le toluène ou xylène à reflux n'ont pas conduit au produit désiré, aucune réaction n'ayant eu lieu.

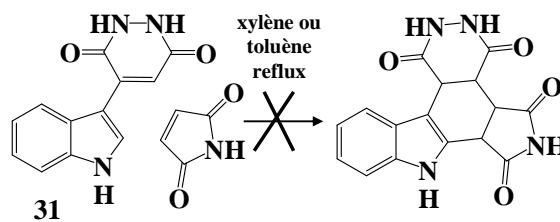


Figure 108: Essais de cycloaddition de Diels-Alder.

b) Deuxième stratégie :

Nous avons alors décidé de réaliser la synthèse du composé mixte anhydride/imide et de construire l'hétérocycle pyridazine en fin de synthèse.

La cycloaddition de **U** avec du maléimide, 5 jours à reflux dans du xylène, conduit au composé **32** avec un rendement de 90%. La double oxydation au DDQ a lieu dans du dioxane à reflux pendant 3 jours. Le produit **33** est isolé avec un rendement de 86% (Figure 109).

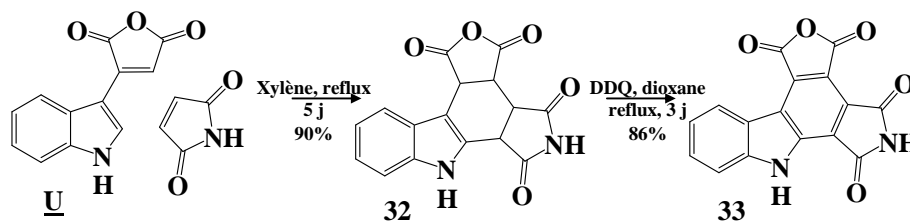


Figure 109: Préparation de l'anhydride **33**.

La réaction de **33** avec de l'hydrate d'hydrazine suivie d'un traitement acide conduit aux composés **34** et **35** avec des rendements de 3% et 37% respectivement (Figure 110). On observe une double réactivité du composé **33**: celle de l'anhydride et celle du maléimide.

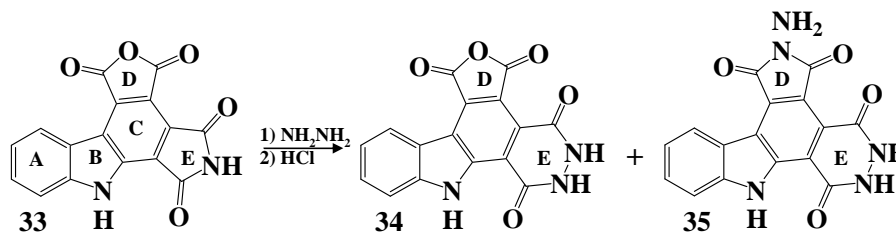


Figure 110: Réaction du composé **33** avec l'hydrazine.

Il est vrai que dans les séries de la rebeccamycine et des indolocarbazoles (**Figure 111**), la conversion de l'anhydride maléique ou du maléimide en *N*-amino-maléimide ou pyridazinedione a été observée.⁶¹ Néanmoins, dans notre cas, nous comptons sur une plus grande réactivité de l'anhydride. La double réactivité a conduit à deux types de structures : anhydride/pyridazine **34** et *N*-amino-maléimide/pyridazine **35**.

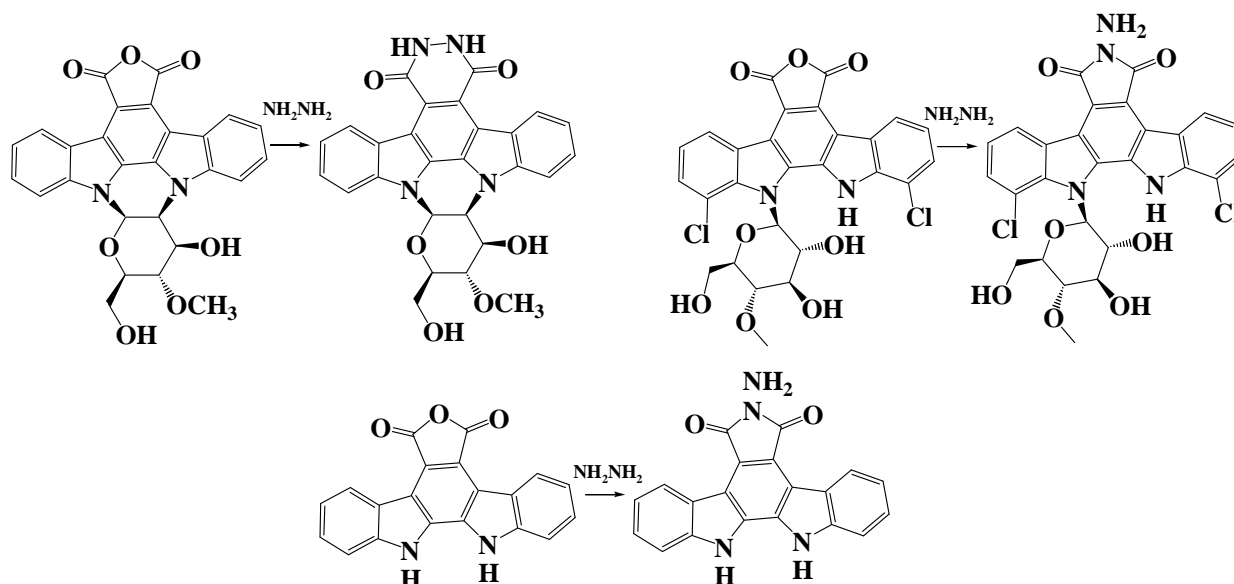


Figure 111: Exemples de conversion d'anhydride maléique en *N*-amino-maléimide ou en pyridazine.

En ce qui concerne le composé **34**, en RMN ¹H les signaux correspondant aux protons échangeables se trouvent à 12,29 ppm sous la forme d'un signal élargi intégrant pour 3 protons ce qui est en accord avec la présence d'un cycle pyridazine.

En ce qui concerne le composé **35**, en RMN ¹H nous observons la présence de deux échangeables qui apparaissent sous forme d'un singulet à 5,30 ppm, caractéristique de *N*-NH₂. Trois autres échangeables sont visibles à des déplacements chimiques supérieurs à 12 ppm, ils correspondent au NH indolique et aux NH-NH de l'hydrazide. Malheureusement, aucune autre expérience de RMN ne pouvait nous donner les informations nécessaires pour déterminer la nature exacte des hétérocycles D et E du composé **35**.

Ce qui nous permet de confirmer la structure du composé **35**, est la formation de l'anhydride/pyridazine **34**. Celui-ci nous incite à penser que le maléimide réagit plus rapidement que l'anhydride maléique, et conduit à une pyridazine en tant qu'hétérocycle E.

⁶¹ a) Rodrigues Pereira E. ; Fabre S. ; Sancelme M. ; Prudhomme M. ; Rapp, M. *J. Antibiot.*, **1995**, *48*, 863-868. b) Rodrigues Pereira E. ; Belin L. ; Sancelme M. ; Prudhomme M. ; Ollier M. ; Rapp M. ; Sévère D. ; Riou J.-F. ; Fabbro R. ; Meyer T. *J. Med. Chem.*, **1996**, *39*, 4471-4477. c) Anizon F. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **1999**, D.U. 1162.

Le composé **34** serait un intermédiaire réactionnel, il réagirait avec une deuxième molécule d'hydrazine pour conduire au composé **35** avec un *N*-amino-maléimide pour hétérocycle D.

5) Conclusion :

Nous venons de décrire la synthèse d'analogues du bis-imide **N** de structures imide/lactame et différemment substitués sur la partie indolique.

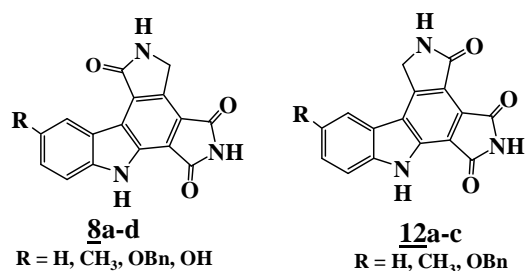


Figure 112: Structures mixtes imide/lactame.

Les synthèses des structures mixtes imide/pyrazolinone et imide/pyridazine se sont avérées beaucoup plus difficiles à réaliser. En effet, le premier problème rencontré lors de ces synthèses a été l'existence de différentes formes tautomères des diènes intermédiaires (**14** et **16**) qui ne nous a pas permis de réaliser de cycloaddition de Diels-Alder. Ensuite, nous avons été confrontés à un problème de réactivité de l'imide et à la formation de produits d'ouverture lors de la création des hétérocycles pyrazolinone et pyridazine en fin de synthèse.

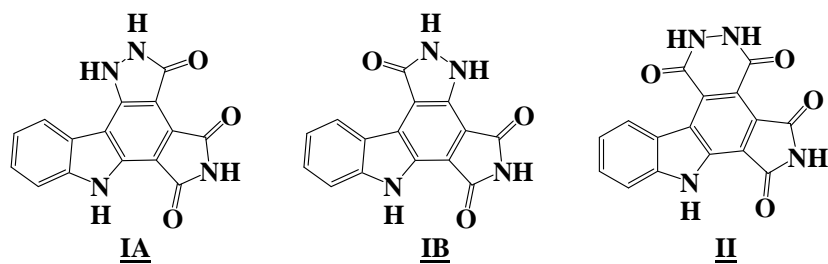


Figure 113: Structures mixtes imide/ pyrazolinone et imide/pyridazine.

Même si nous touchions au but (notamment pour la synthèse du composé **IA**), nous avons été obligés d'abandonner ces voies de synthèse. Il serait aussi envisageable de changer d'hétérocycle inférieur en raison des problèmes d'ouverture de celui-ci dans les milieux de cultures utilisés lors des tests biologiques.

Néanmoins, ces voies de synthèse nous ont permis d'isoler des tétracycles différemment substitués **22**, **23**, **24**, **29**, une structure anhydride/imide **33** et une structure *N*-amino-maléimide/pyridazine **35** qui viennent compléter notre chimiothèque dans le cadre de nos études de relations structure-activité.

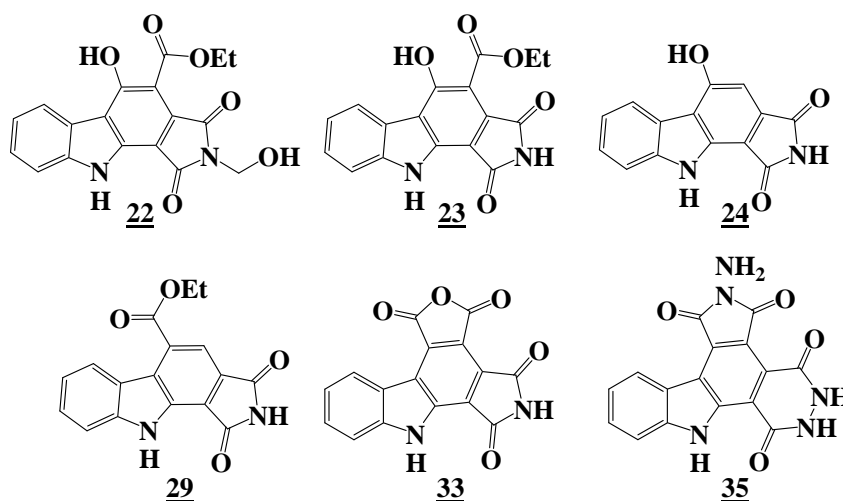


Figure 114: Structures des composés **22**, **23**, **24**, **29**, **33**, **35**.

La suite des travaux a consisté à réaliser d'autres analogues du bis-imide de référence **N**, mais cette fois-ci, en modifiant l'hétérocycle inférieur.

III. Modification de l'hétérocycle inférieur :

1) Introduction :

Afin de poursuivre notre étude, nous avons réalisé la synthèse de nouveaux analogues du bis-imide **N** possédant des cycles à cinq ou six chaînons comme hétérocycle inférieur, tels qu'une cyclopentanone, une cyclohexanone, une benzoquinone, une hydroquinone ou un uracile. Des groupements solubilisants seront introduits pour certains de ces composés afin de pallier les problèmes de solubilité.

Un groupement de type osidique sera introduit dans la famille des benzoquinones et cyclopentanediones ; des sulfates et pivalates seront préparés dans la série des hydroquinones.

Dans la mesure où des hétérocycles supérieurs de type lactame (molécules présentées précédemment) sont apparus compatibles avec une inhibition puissante de la Chk1, nous avons réalisé la synthèse de certains composés (benzoquinone et hydroquinone notamment) avec comme hétérocycle supérieur un lactame et avec des indoles substitués par les groupements apportant une amélioration significative de l'activité inhibitrice de la Chk1 en série bis-imide.

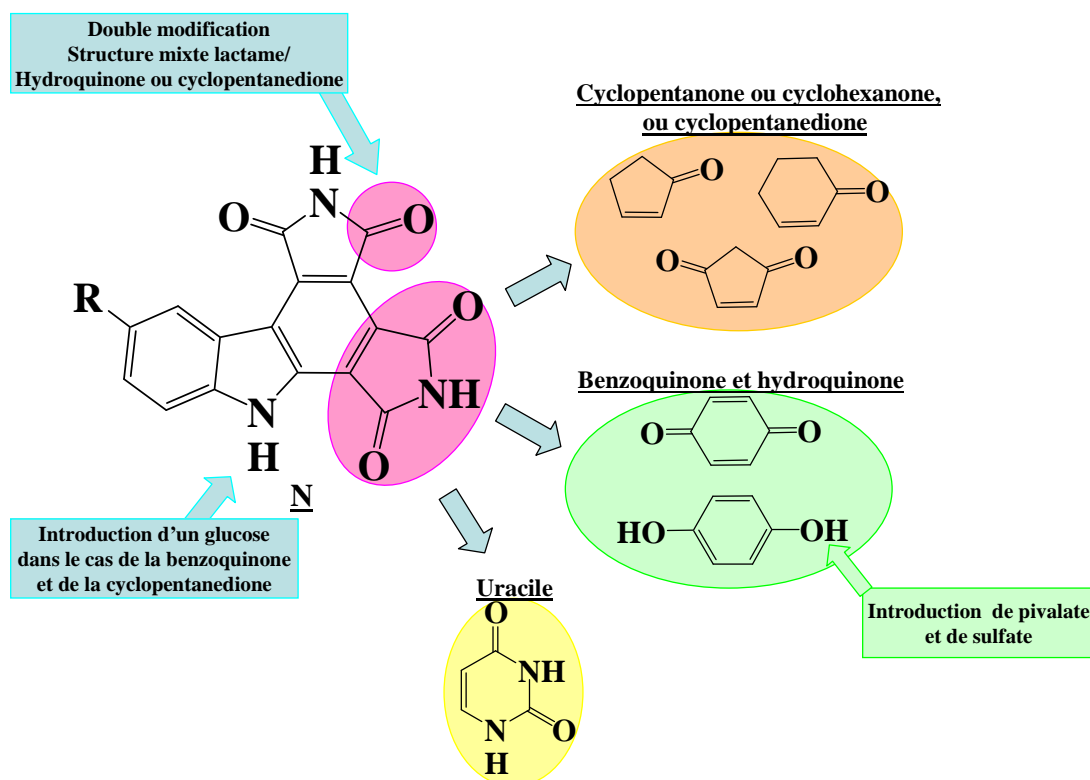


Figure 115: Schéma des modifications de l'hétérocycle E du bis-imide N.

2) Introduction d'une cyclopentanone, d'une cyclohexanone et d'une cyclopentanedione :

Afin d'identifier les paramètres structuraux du cycle E compatibles avec une inhibition efficace de la Chk1, nous avons remplacé le maléimide par une cyclopentanone, une cyclohexanone ou une cyclopentanedione.

a) Introduction d'une cyclopentanone et d'une cyclohexanone :

Nous avons envisagé de réaliser la synthèse des deux régioisomères des structures mixtes imide/cyclohexanone et cyclopentanone représentés sur la figure ci-dessous (**Figure 116**).

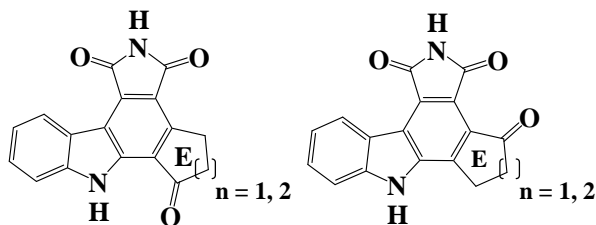


Figure 116: Structures mixtes imide/cyclopentanone et cyclohexanone.

La synthèse de ces composés nous permettra d'étudier l'orientation du carbonyle compatible avec une bonne inhibition de la Chk1, ainsi que l'importance de la taille du cycle et du NH dans l'hétérocycle E.

Dans cette partie, nous décrirons les deux voies de synthèse utilisées pour l'élaboration des deux régioisomères présentés sur la **Figure 116**. Pour l'un des régioisomères, l'étape clé qui déterminera l'orientation du carbonyle sera la cycloaddition de Diels-Alder, et pour l'autre c'est un couplage de Suzuki qui nous aidera à orienter le carbonyle.

🔴 Via une réaction de Diels-Alder :

Les cycloadditions du composé **P** avec la cyclopenténone et la cyclohexénone sont effectuées dans un tube hermétiquement fermé dans du toluène à 120 °C. Vingt équivalents de cyclohexénone et cyclopenténone sont nécessaires, la réaction doit également avoir lieu sous pression en raison de leur faible caractère diénophile. Après cinq jours de réaction, les composés **36a** et **36b** (**Figure 117**) sont isolés avec des rendements respectifs de 31% et 40%. Il est à noter que la réaction n'est pas totale, ce qui explique ces faibles rendements. Aucune trace de formations des régioisomères n'est observée.

La double oxydation finale, réalisée dans du dioxane en présence de DDQ à température ambiante, conduit aux composés **37a** et **37b** (**Figure 117**) avec des rendements respectifs de 80% et 72%.

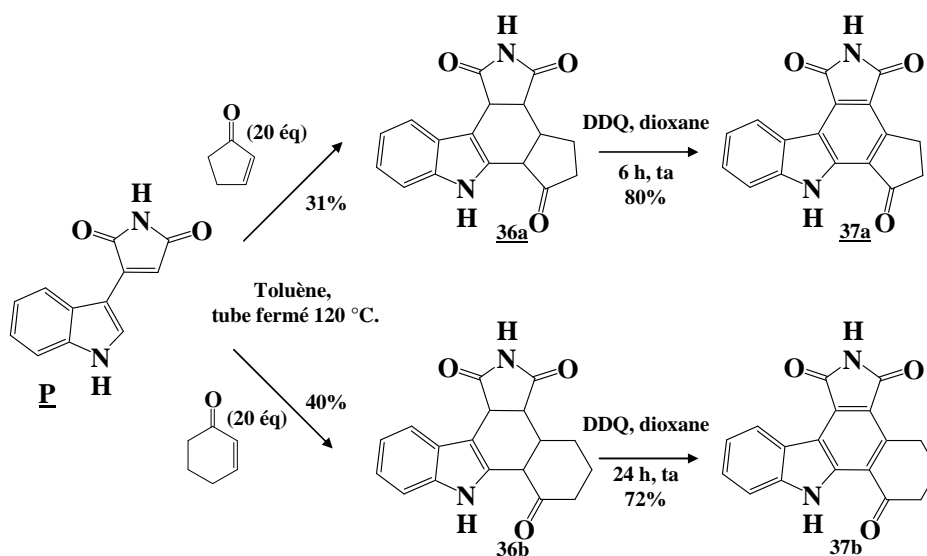


Figure 117: Réaction de Diels-Alder et double oxydation au DDQ. Synthèse des produits finaux **37a** et **37b**.

La position de la double liaison des cycloadduits **36a** et **36b** (indoles et non indolines) a été attribuée d'après les déplacements chimiques des protons NH à 11,35 ppm et 10,96 ppm respectivement (dans les indolines, ces protons auraient des déplacements chimiques de l'ordre de 8 ppm). L'orientation des carbonyles des composés **36a** et **36b** a été déterminée par COSY ^1H - ^1H (Figure 118).

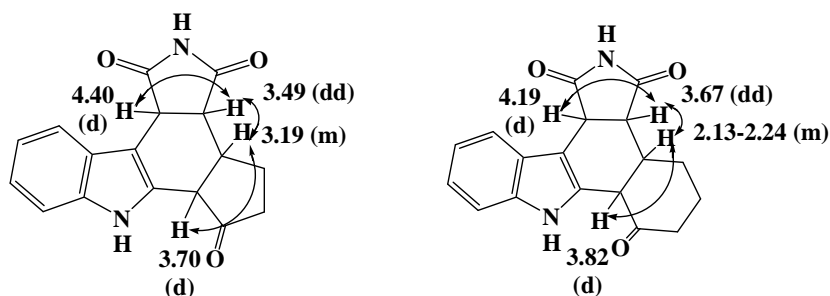


Figure 118: Attribution de la structure de **36a** et **36b** par COSY ^1H - ^1H .

En ce qui concerne le composé **36a**, on note un couplage du proton à 4,40 ppm (sous forme de doublet) avec un doublet dédoublé à 3,49 ppm. Ce dernier est couplé avec un multiplet à 3,19 ppm lui-même couplé avec le doublet à 3,70 ppm. Cet enchaînement ne peut correspondre qu'à la structure possédant la cétone vers le bas.

Le même raisonnement est appliqué au composé **36b**.

Lors de la réaction de Diels-Alder, nous pensions pouvoir isoler les différents régioisomères. Seuls les composés **36a** et **36b** possédant une orientation du carbonyle vers la

partie inférieure ont été isolés. Une deuxième voie de synthèse a donc été développée en vue d'accéder aux composés possédant la fonction carbonyle orientée vers la partie supérieure.

🌀 *Via un couplage de Suzuki :*

Stratégie de synthèse :

La stratégie repose sur un couplage des cétones α - β insaturées, la 3-bromo-cyclopent-2-èn-1-one **Va** et 3-bromo-cyclohex-2-èn-1-one **Vb**, en position 2 de l'indole. C'est ce couplage qui nous permettra d'orienter le carbonyle, il sera suivi d'une réaction de Diels-Alder avec le maléimide et d'une double oxydation (**Figure 119**).

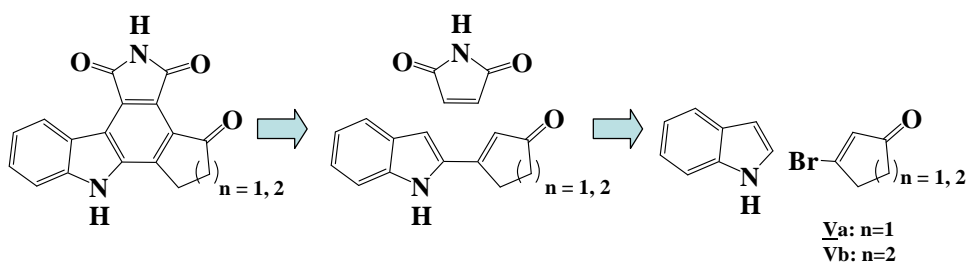


Figure 119: Schéma rétrosynthétique:

Couplage en position 2 de l'indole :

Différentes méthodes de couplage en position 2 de l'indole sont décrites dans la littérature : elles impliquent l'utilisation de 2-indolylstannane, de 2-indolylzinc ou de 2-indolylborane en présence d'un catalyseur au palladium.

Méthode de couplage avec un 2-indolylzinc :

Les 2-indolylzincs sont préparés par métallation de l'indole *N*-protégé (par un SEM, ou SO₂Ph par exemple) suivie d'un traitement avec ZnCl₂ anhydre.^{62,63} Le chlorure de zinc obtenu est immédiatement engagé dans une réaction de couplage. Danieli⁶², Liu *et al.*⁶⁴ ont réalisé différents couplages à l'aide de cette méthode (**Figure 120**).

⁶² Danieli B. ; Lesma G. ; Martinelli M. ; Passarella D. ; Peretto I. ; Silvani A. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 14081-14088.

⁶³ Amat M. ; Hadida S. ; Pshenichnyi G. ; Bosch J. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 3158-3175.

⁶⁴ Liu S.-F. ; Wu Q. ; Schmider H. L. ; Aziz H. ; Hu N.-X. ; Popovic Z. ; Wang S. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 3671-3678.

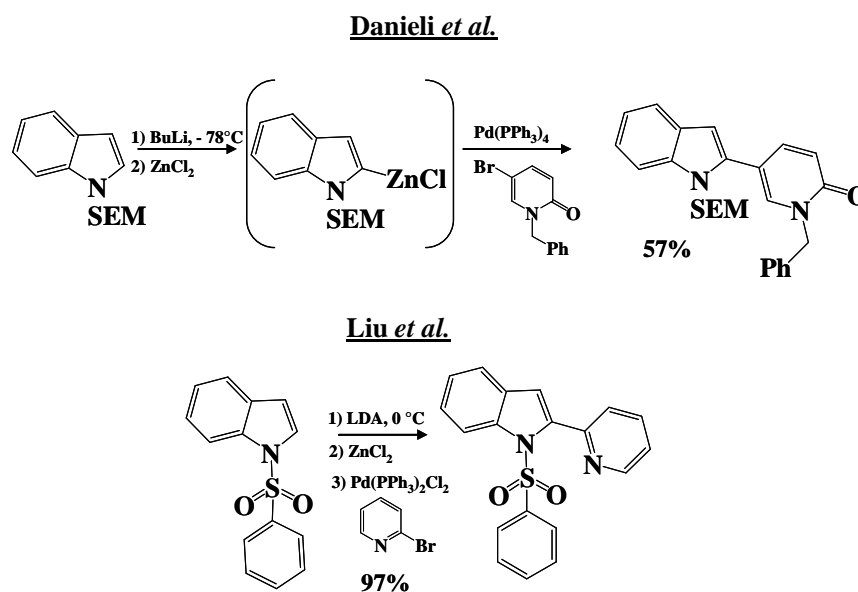


Figure 120: Exemples de couplage en position 2 de l'indole via un 2-indolyl-zinc.

Méthode de couplage avec un 2-indolylstannane :

Les 2-indolylstannanes sont préparés par métallation de l'indole protégé (SEM, Boc par exemple) à l'aide de BuLi. L'anion résultant est traité avec du chlorure de tributylétain.^{62,63,65} Labadie *et al.*⁶⁵ ont réalisé une étude de couplage des 2-indolylstannanes avec différents types d'électrophiles : aryle, vinyloxy, halogénure d'allyle, ou encore triflate de vinyloxy. Les couplages s'effectuent avec des rendements compris entre 50% et 94%. Quelques exemples sont donnés **Figure 121**.

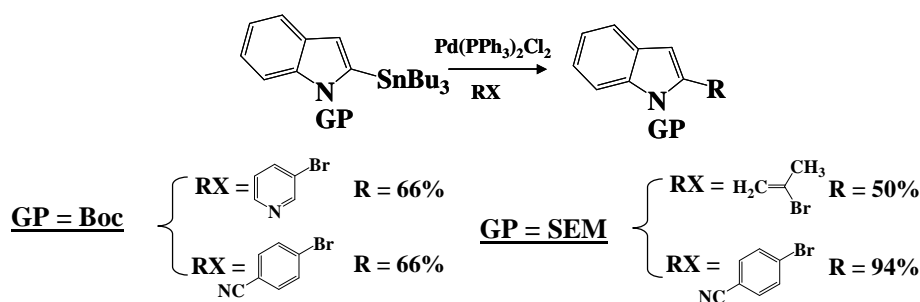


Figure 121: Exemples de couplages de Stille.

⁶² Danieli B. ; Lesma G. ; Martinelli M. ; Paasarella D. ; Peretto I. ; Silvani A. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 14081-14088.

⁶³ Amat M. ; Hadida S. ; Pshenichnyi G. ; Bosch J. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 3158-3175.

⁶⁵ Labadie S. S. ; Teng E. *J. Org. Chem.*, **1994**, *59*, 4250-4254.

Hudkins *et al.*⁶⁶ réalisent quant à eux des couplages à l'aide de 1-carboxy-2-tributylstannyl-indole et d'halogénures d'aryle ou de vinyle. L'avantage de cette méthode est la perte du groupement protecteur lors du couplage, contrairement au Boc et au SEM qui nécessitent une étape supplémentaire de déprotection afin d'accéder aux produits finaux.

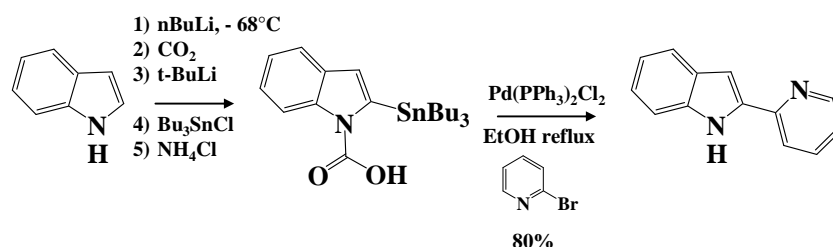


Figure 122: Couplage de Stille en position 2 de l'indole protégé par un carboxyle.

Méthode de couplage avec un 2-indolylborane :

L'acide 2-indolyl-borique est obtenu par métallation du *N*-Boc indole, suivie d'un traitement avec un trialkoxyborate. Sutherland⁶⁷, Koning⁶⁸, et d'Alessio *et al.*⁶⁹ ont préparé différents indoles substitués en position 2 par cette méthode de couplage de Suzuki. Quelques exemples sont représentés **Figure 123**.

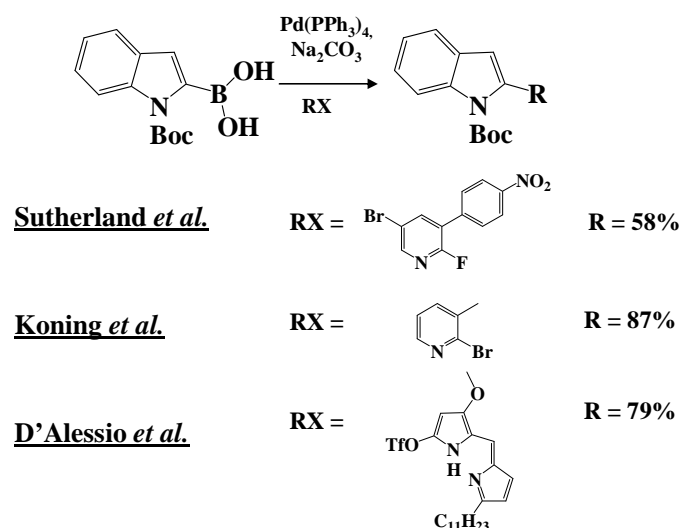


Figure 123: Exemples de couplages de Suzuki en position 2 de l'indole.

⁶⁶ Hudkins R. L. ; Diebold J. L. ; Marsh F. D. *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 6218-6220.

⁶⁷ Sutherland A. ; Gallagher T. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 3352-3355.

⁶⁸ de Koning B. C. ; Michael J. P. ; Rousseau A. L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2000**, 1705-1713.

⁶⁹ D'Alessio R. ; Bargiotti A. ; Carlini O. ; Colotta F. ; Ferrari M. ; Gnocchi P. ; Isetta A. ; Mongelli N. ; Motta P. ; Rossi A. ; Rossi M. ; Tibolla M. ; Vanotti E. *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 2557-2565.

Pour des raisons de facilité de mise en œuvre et de toxicité des stannanes, nous avons choisi de réaliser nos couplages à l'aide d'acide *N*-Boc-2-indolyl-borique.

Réalisation du couplage de Suzuki :

Nous avons tout d'abord synthétisé l'acide *N*-Boc-2-indolyl-borique à partir du *N*-Boc-indole, par traitement avec du LDA, puis par du triisopropylborate, suivant la méthode décrite par Vazquez *et al.*⁷⁰. L'acide borique **W** est isolé après traitement acide avec un rendement de 96%.

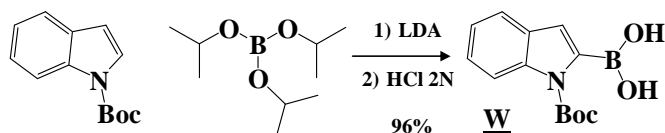


Figure 124: Préparation de l'acide borique **W**.

Les composés bromés **Va**⁷¹ et **Vb**⁷² ont préalablement été préparés à partir de la cyclopentane-1,3-dione et de la cyclohexane-1,3-dione respectivement. Les synthèses ont lieu en présence de triéthylamine fraîchement distillée et de dibromo-triphénylphosphorane dans du benzène. Cette réaction étant relativement sensible à l'humidité, il est nécessaire de préparer *in situ* le dibromo-triphénylphosphorane, à l'aide de triphénylphosphine et de brome. Les composés **Va** et **Vb** sont préparés avec des rendements respectifs de 96% et 90%.

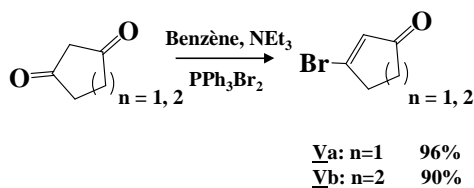


Figure 125: Préparation des composés bromés **Va** et **Vb**.

⁷⁰ Vazquez E. ; Davies I. W. ; Payack J. F. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 7551-7552.

⁷¹ Marson C. M. ; Farrand L. D. ; Brettle R. ; Dunmur D. A. *Tetrahedron*, **2003**, 59, 4377-4381.

⁷² Shih C. ; Swenton J. S. *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2825-2832.

En nous basant sur les conditions opératoires utilisées par Marson *et al.*⁷¹ lors de couplages de Suzuki d'acides arylboriques avec la 3-bromo-cyclopent-2-èn-1-one ou la 3-bromo-cyclohex-2-èn-1-one, nous avons réalisé la synthèse des composés **38** et **39**.

Le couplage de Suzuki est effectué dans un mélange benzène/EtOH chauffé à reflux, en présence d'une solution aqueuse de Na₂CO₃ et de 0,06 équivalents de tetrakis (triphénylphosphine) palladium. Les composés **38** et **39** sont isolés avec des rendements respectifs de 80% et 69%.

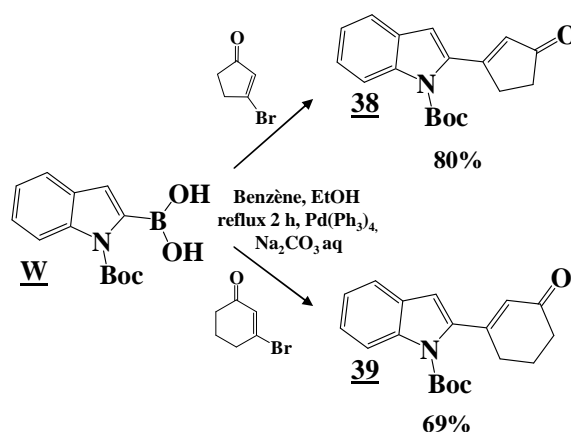


Figure 126: Couplage de Suzuki.

Les réactions de Diels-Alder avec **38** et **39** sont réalisées avec cinq équivalents de maléimide, dans du toluène, dans un tube fermé à 140 °C durant trois jours. Le cycloadduit **40** est isolé avec un rendement de 67%. Les doubles oxydations finales, effectuées dans du dioxane en présence de DDQ, conduisent aux produits finaux **41** et **42** avec des rendements de 98 % pour le composé **41** et de 53% sur les deux étapes (Diels-Alder et double oxydation) pour le composé **42**.

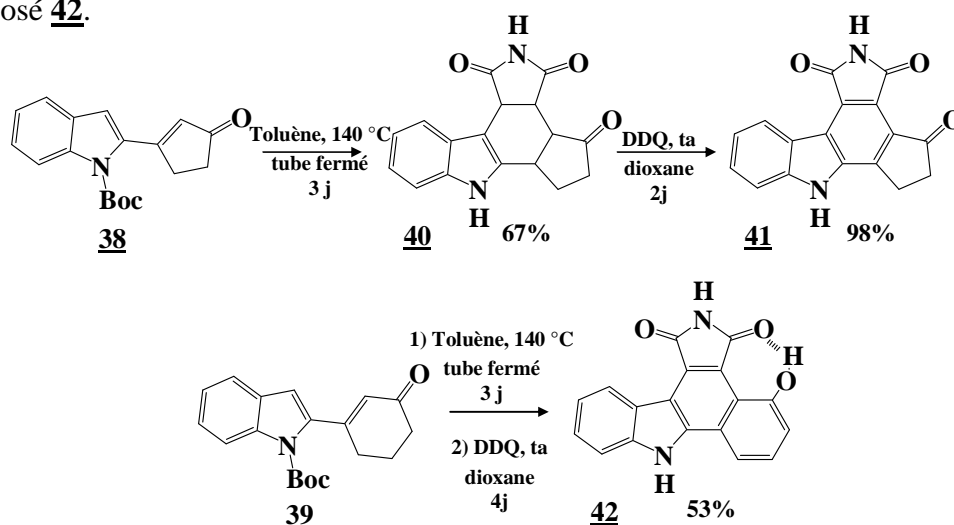


Figure 127: Réaction de Diels-Alder et double oxydation.

⁷¹ Marson C. M. ; Farrand L. D. ; Brettle R. ; Dunmur D. A. *Tetrahedron*, **2003**, 59, 4377-4381.

Deux points sont à noter ici. Premièrement, nous observons une déprotection de l'indole lors de la réaction de Diels-Alder. Deuxièmement, le produit oxydé **42** est isolé sous la forme d'un phénol et non sous sa forme cétone. On peut supposer que la forme énolique de ce composé est favorisée en raison de l'établissement d'une liaison hydrogène avec l'un des carbonyles de l'imide supérieur, l'oxydation conduit à une aromatisation totale de la molécule.

b) Introduction d'une cyclopentanedione :

Nous avons envisagé ensuite de réaliser la synthèse de structures mixtes imide/cyclopentanedione représentées sur la figure ci-dessous (**Figure 128**). L'introduction d'un sucre nous permettra d'augmenter la solubilité de ces composés.

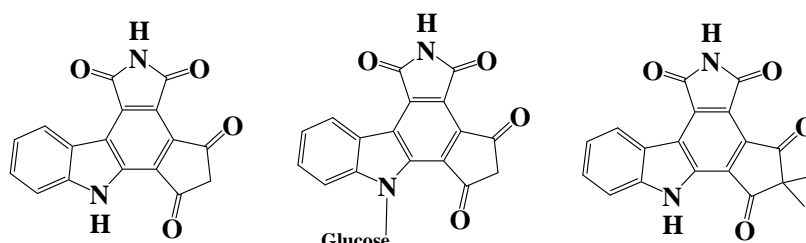



Figure 128: Structures mixtes imide/cyclopentanedione.

La synthèse de ces composés permet de s'affranchir de l'orientation préférentielle du carbonyle et d'évaluer exclusivement l'importance du NH de l'hétérocycle imide E du bis-imide **N**, vis-à-vis de l'inhibition de la Chk1.

 *Utilisation de la cyclopentènedione :*

La cycloaddition de Diels-Alder entre le composé **P** et la cyclopentènedione est effectuée dans du toluène à reflux. Au bout de 3 jours, le composé **P** est entièrement consommé. Le produit isolé est relativement peu soluble et son spectre de RMN ^1H est inexploitable. Néanmoins, le spectre de masse indique la présence d'un produit de cycloaddition.

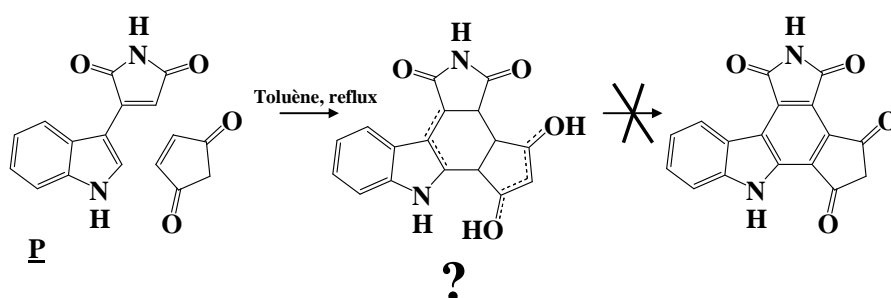


Figure 129: Essai de réaction de Diels-Alder de **P** avec la cyclopentènedione.

Dans la littérature⁷³, de nombreuses réactions de Diels-Alder sont décrites avec la cyclopentènedione qui est présentée comme étant un excellent dièneophile. Ces réactions de Diels-Alder conduisent souvent à des cycloadduits sous leur forme énolique.

Nos problèmes de RMN pourraient être dus à la présence de tautomères céto-énoliques de la cyclopentanedione introduite. Nous avons alors envisagé d'oxyder directement le produit issu de la cycloaddition. Malgré divers essais d'oxydation (au DDQ à température ambiante ou au reflux du dioxane ou du toluène, en présence de TFA ou de MnO₂) aucun produit n'a pu être isolé.

Les principales raisons des échecs rencontrés lors de cette réaction de Diels-Alder sont vraisemblablement dues à un problème de mélanges d'isomères indoles-indolines et de formes tautomères ainsi qu'à un problème de solubilité du produit formé qui empêche toute purification.

Afin d'éviter ce problème de formes céto-énoliques, nous avons envisagé d'effectuer la réaction de Diels-Alder à l'aide d'un mono-acétal de la cyclopentènedione.

Yu *et al.*⁷⁴ ont réalisé la synthèse de ce composé par oxydation de l'acétal d' α,β -énone à l'aide du catalyseur de Pearlman (Pd(OH)₂/C) et de *t*-BuOOH.

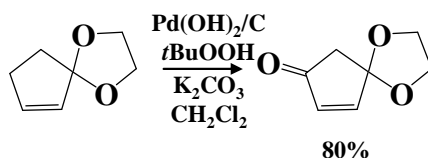


Figure 130: Synthèse de la cyclopentènedione monoprotégée.

Malheureusement, les essais de réactions de Diels-Alder menés en présence de cet acétal n'ont pas conduit au produit désiré. Aucune réaction n'est observée.

⁷³ a) DePuy C. H. ; Zaweski E. F. *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 4920-4924. b) Ramesh N. G. ; Bakkeren F. J. A. D. ; de Groot D. ; Passamonti U. ; Klunder A. J. H. ; Zwanenburg B. *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 9877-9887. c) House H. O. ; Rasmusson G. H. *J. Org. Chem.*, **1963**, *28*, 27-30. d) Paquette L. A. ; Vanucci C. ; Rogers R. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 5792-5800.

⁷⁴ Yu J.-Q. ; Corey E. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 3232-3233.

Nous allons voir que l'introduction d'un sucre sur l'indole va changer la réactivité de ce type de composé lors de la réaction de Diels-Alder.

🌀 *Introduction d'un sucre :*

Le diène **X** est synthétisé en quatre étapes suivant une méthode décrite par Hélène Hénon au cours de sa thèse. Le composé **X'**, synthétisé au laboratoire par Christelle Marminon, est obtenu par réaction de Grignard entre le bromure d'indolyl-magnésium et le *N*-BOM-dibromomaléimide. L'introduction du sucre, réalisée par Hélène Hénon, a été effectuée par une réaction de Mitsunobu en présence de 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranose commercial, de triphénylphosphine et de DIAD. **X''** est par la suite hydrogéné, puis oxydé pour conduire au diène **X** avec rendement global de 37%.

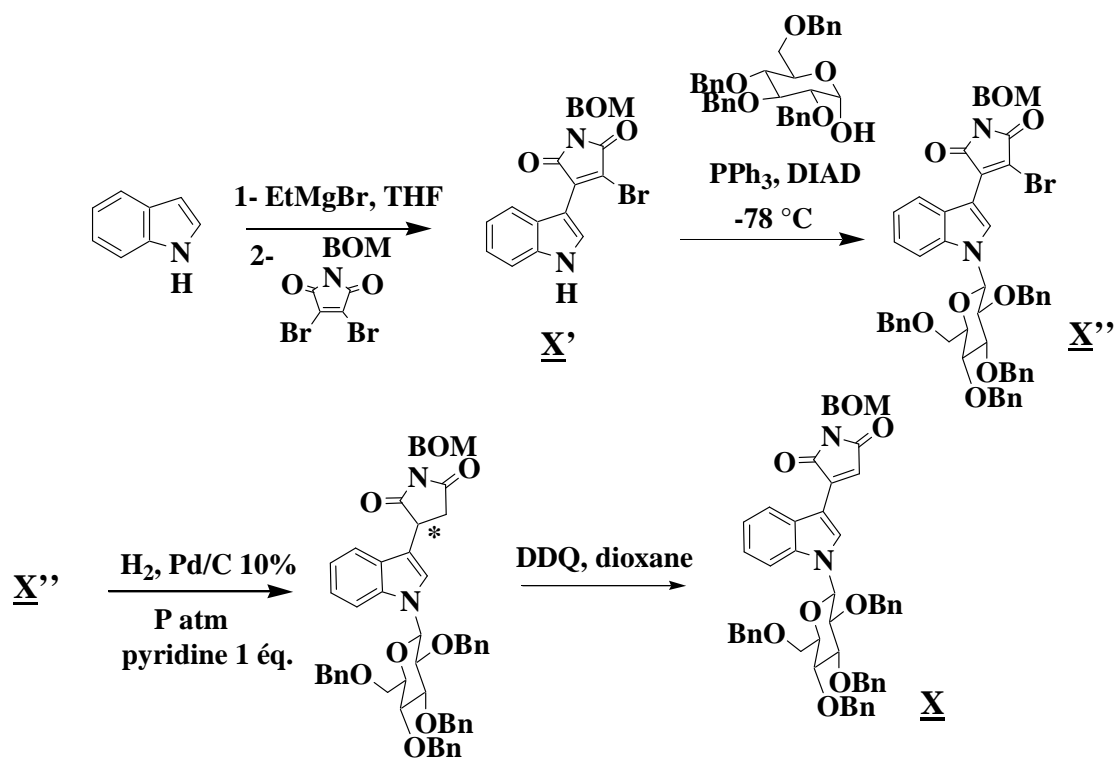
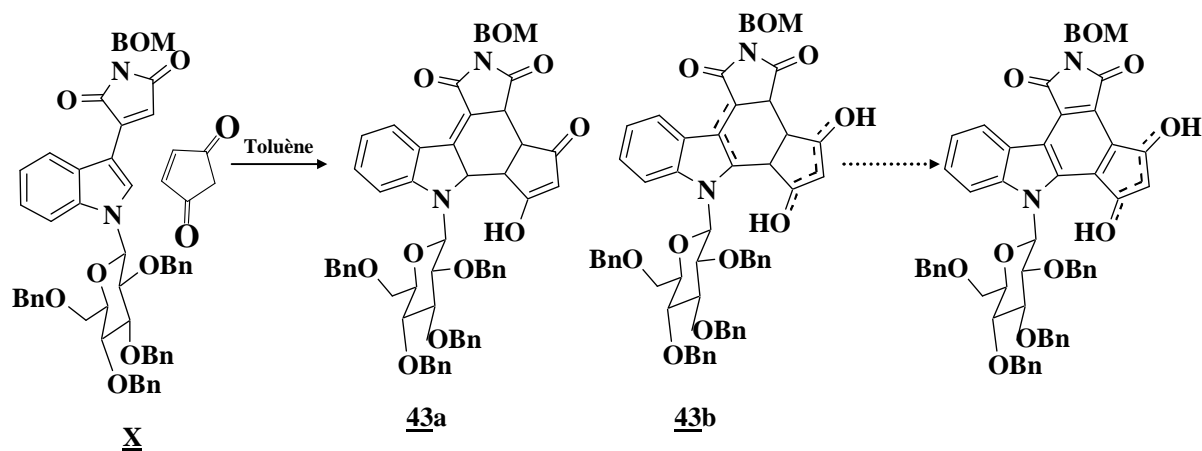


Figure 131: Synthèse du diène **X**.

La cycloaddition de **X** avec la cyclopentènedione, dans du toluène à reflux, conduit à un mélange d'isomères **43a** et **43b** avec des rendements de 31% et 35% et un taux de conversion de 77%. Les produits **43a** et **43b** ont été isolés après purification sur colonne de silice, leurs spectres de masse sont en accord avec les structures indiquées sur la **Figure 132**. Différents essais d'oxydation ont été effectués : MnO₂ (20 équivalents) dans du chloroforme

ou du dioxane à reflux ; DDQ dans du dioxane ou dans du toluène, mais, soit aucune réaction n'est observée, soit le produit de départ se dégrade.



Détermination de la structure du composé 43a :

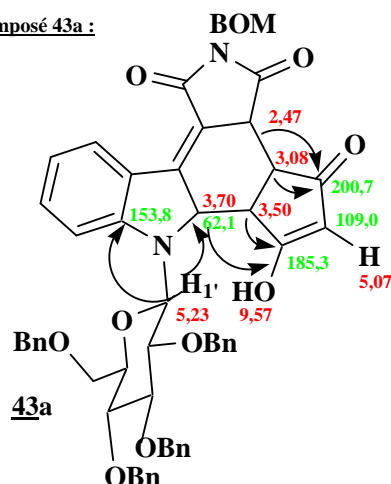


Figure 132: Réaction de Diels-Alder et essais d'oxydation. Détermination de la structure du composé **43a**.

La structure du composé **43a** a été déterminée à l'aide des expériences de RMN : ^1H , ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, HSQC et HMBC.

La forme indoline du composé **43a** est démontrée d'après les couplages ^1H - ^{13}C longue distance (^3J) qui existent entre le proton $\text{H}_{1'}$ du sucre et deux carbones de l'indoline : un carbone quaternaire à 153,8 ppm et un carbone tertiaire C_{6b} à 62,1 ppm, la forme indole nous aurait conduit à deux couplages ^3J avec deux carbones quaternaires, ce qui indique que nous sommes bien en présence d'une indoline.

La forme énol du composé **43a** peut tout d'abord être observée par RMN ^1H par la présence d'un échangeable à 9,57 ppm qui correspond à l'hydroxyle. Le carbone tertiaire de l'énol est attribué à l'aide de la HSQC qui montre un couplage entre le proton à 5,07 ppm et le $\text{CH}=\text{C}$ à 109,0 ppm.

La position de la double liaison de la forme énol est enfin déterminée par les couplages longue distance ^1H - ^{13}C qui ont lieu entre la cétone à 200,7 ppm et les protons à 2,47 ppm (^3J), 3,50 ppm (^3J) et 3,08 ppm (^2J) ainsi qu'entre le carbone quaternaire à 185,3 ppm et les protons à 3,7 ppm (^3J) et 3,50 ppm (^2J) (**Figure 132**).

La structure du composé **43b** n'est pas à ce jour résolue en raison de problèmes de purification du composé.

🌀 *Utilisation de la 2,2-diméthyl-cyclopentènedione :*

Afin de pallier les problèmes des formes céto-énoliques, nous avons réalisé la synthèse avec la 2,2-diméthyl-cyclopentènedione.

La méthylation de la 2-méthylcyclopentane-1,3-dione par l'iodure de méthyle selon la méthode décrite par Agosta et Smith^{75a}, conduit à la formation de la 2,2-diméthyl-cyclopentènedione avec un rendement très modeste de 30% (3 éq. KOH, 3 éq. MeI, dioxane/ H_2O (75/25), reflux 12 h). Ce problème est lié à la difficulté d'alkyler les β -dicétones et en particulier les β -dicétones cycliques⁷⁵ en raison de la compétition entre les O- et C-alkylations. L'irradiation de la 2,2-diméthyl-cyclopentane-dione en présence de *N*-bromosuccinimide conduit à la cyclopentènedione désirée avec un rendement de 50% et de son analogue mono-bromé avec un rendement de 39% (**Figure 133**).

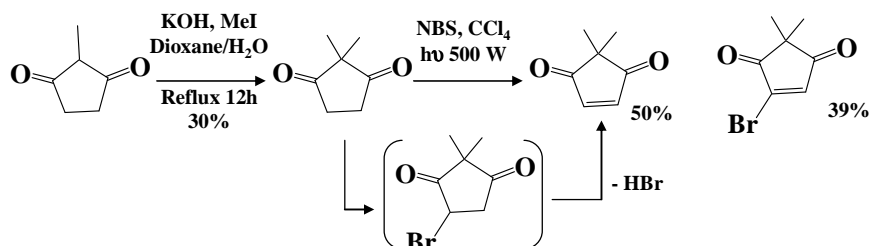


Figure 133: Synthèse de la 2,2-diméthyl-cyclopentènedione et de son analogue bromé.

Nous allons utiliser ces deux produits afin d'élaborer deux voies de synthèse : celle de la réaction de Diels-Alder sur le diène **P** et celle du couplage de Suzuki (**Figure 134**) via l'acide borique **W**.

⁷⁵ a) Agosta W. C. ; Smith A. B. *J. Org. Chem.*, **1970**, 35, 3856-3860. b) Subramanyam R. ; Bartlett P. D. ; Moltrasio Iglesias G. Y. ; Watson W. H. ; Galloy J. *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 4491-4498.

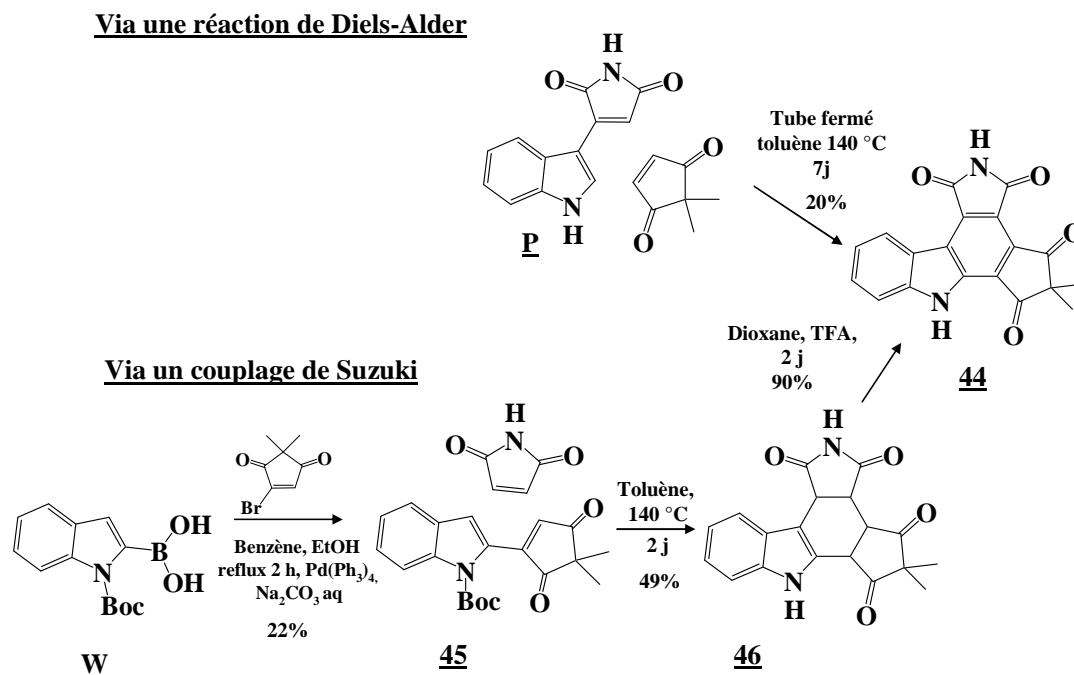


Figure 134: Deux voies de synthèse sont possibles pour préparer le composé **44**.

Le composé **P**, engagé dans une réaction de Diels-Alder avec la 2,2-diméthyl-cyclopentènedione (**Figure 134**), dans du toluène, chauffé à 140 °C dans un tube fermé, conduit directement au composé oxydé **44** avec un rendement de 20%. La réaction n'est pas totale (au bout de sept jours de réaction, il reste énormément de produit de départ) en raison du médiocre caractère diéophile de la 2,2-diméthyl-cyclopentènedione⁷⁵.

Le composé **44** peut aussi être préparé par un couplage de Suzuki de l'acide borique **W** avec la 2,2-diméthyl-cyclopentènedione mono-bromée (**Figure 134**). Le produit **45**, issu du couplage, est isolé avec un faible rendement de 22%. Il est engagé dans une réaction de Diels-Alder avec le maléimide pour conduire au composé **46** avec un rendement de 49%. La double oxydation de **46** en présence de TFA conduit au composé **44** avec un rendement de 90%. Le rendement global de cette deuxième voie de synthèse est de 9% en trois étapes.

Une double modification du bis-imide **N** a été envisagée en réalisant une structure mixte lactame/2,2-diméthyl-cyclopentanedione.

Le composé **47** est obtenu avec un rendement de 63% à la suite d'une cycloaddition du lactame **1a** avec la 2,2-diméthyl-cyclopentènedione. Le composé **47** est relativement sensible

⁷⁵ a) Agosta W. C. ; Smith A. B. *J. Org. Chem.*, **1970**, 35, 3856-3860. b) Subramanyam R. ; Bartlett P. D. ; Moltrasio Iglesias G. Y. ; Watson W. H. ; Galloy J. *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 4491-4498.

à l'oxydation en présence de TFA et peut conduire à une aromatisation accompagnée d'une oxydation du méthylène du lactame. Dans ces conditions, le composé **44** est alors isolé. Pour pallier ce problème, il est nécessaire de réaliser l'oxydation en deux temps. Le composé mono-oxydé **48** est tout d'abord obtenu avec un rendement de 91% dans du dioxane en présence de TFA. La position de la double liaison issue de la première oxydation est déterminée par RMN ^1H grâce à un couplage des protons méthylènes du lactame avec le proton vicinal. La deuxième oxydation permet d'obtenir le composé **49** avec un rendement de 89% (**Figure 135**). Il est à noter qu'une double oxydation « one pot » en 3 jours dans du dioxane en présence de TFA conduit uniquement à l'imide correspondant **44**. Le fait de devoir procéder en 2 étapes pour obtenir le lactame souhaité reste inexplicé.

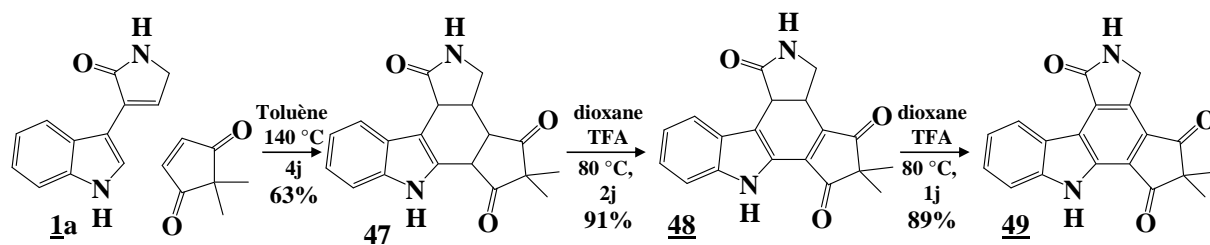


Figure 135: Synthèse d'une structure mixte lactame/cyclopentanedione.

3) Structures mixtes benzoquinone ou hydroquinone/imide :

Dans cette partie, nous allons discuter de la synthèse de composés possédant un cycle à six chaînons contenant deux fonctions carbonyles. Un sucre sera introduit en vue d'augmenter la solubilité de ce type de composé. Un pivalate et des sulfates seront aussi préparés afin d'améliorer la solubilité et la biodisponibilité des composés. Des doubles modifications du bis-imide **N** seront effectuées pour l'élaboration de composés ne possédant plus d'imide et qui seraient donc potentiellement plus stables et moins sensibles aux milieux de cultures utilisés lors des tests biologiques.

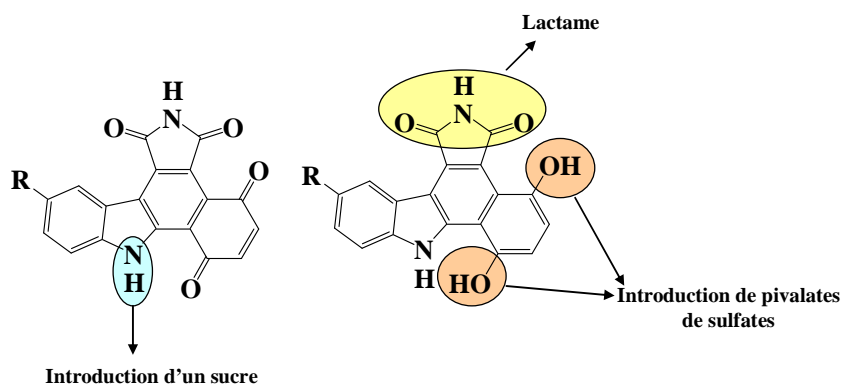


Figure 136: Modifications structurales envisagées.

a) Synthèse de structure imide/benzoquinone :

La cycloaddition de Diels-Alder des composés **Pa,b,d** avec la benzoquinone est menée dans du toluène, à 140 °C dans un tube fermé. Il est intéressant de noter que trois composés différents (**50**, **51**, **52**) peuvent être isolés suivant la quantité de benzoquinone utilisée (**Tableau 16** et **Figure 137**) lors de cette réaction.

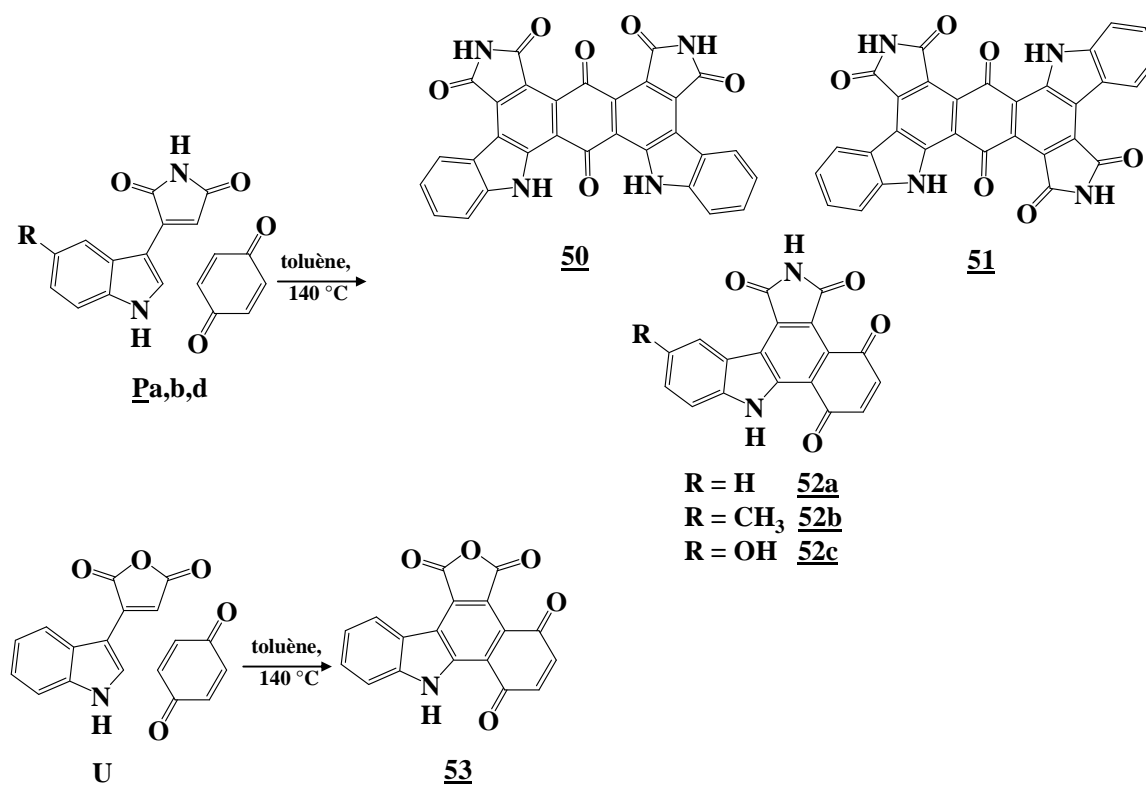


Figure 137 : Réaction de Diels-Alder avec comme dièneophile la benzoquinone.

Substrat	R	Equivalents de benzoquinone	Produits	Rdt (%)
Pa	H	6	50 + 51	73
		20	50 + 51 + 52a	
		40	52a	63
Pb	CH ₃	40	52b	82
Pd	OH	40	52c	71
U		40	53	23

Tableau 16: Résultats des réactions de Diels-Alder avec la benzoquinone en tant que dièneophile.

Avec 6 équivalents de benzoquinone, un mélange d'isomères (**50** et **51**) issu d'une double réaction de Diels-Alder est isolé, alors qu'avec 40 équivalents le composé désiré **52a** est obtenu avec un rendement de 63%. Avec un nombre d'équivalents intermédiaire de benzoquinone (20 équivalents) c'est un mélange des trois composés **50**, **51** et **52a** qui est obtenu. De plus, il est à noter que la réaction d'oxydation s'effectue en même temps que la réaction de Diels-Alder, la benzoquinone servant à la fois de diénophile et d'agent oxydant.

Les produits **52b**, **52c** et **53**, issus des composés **Pb**, **Pd** et **U**, sont respectivement obtenus avec des rendements de 82%, 71% et 23% en utilisant 40 équivalents de benzoquinone.

b) Introduction d'un sucre :

Le diène **X** est engagé dans une réaction de Diels-Alder avec de la benzoquinone (40 éq. dans du toluène à reflux). Contre toute attente, c'est le composé de structure spirannique **54** qui est isolé avec un rendement de 33%. La réaction a ensuite été réalisée avec 6 équivalents de benzoquinone, le même composé a été isolé avec un rendement de 54%. La débenzylation, effectuée par hydrogénolyse en présence de Pd(OH)₂ suivie d'une aminolyse, permet d'obtenir la composé final **55** avec un rendement de 84%.

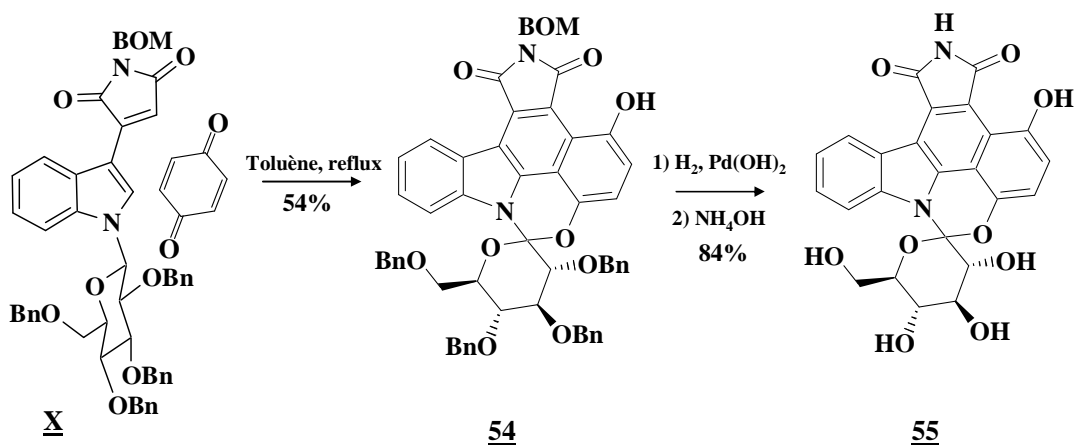
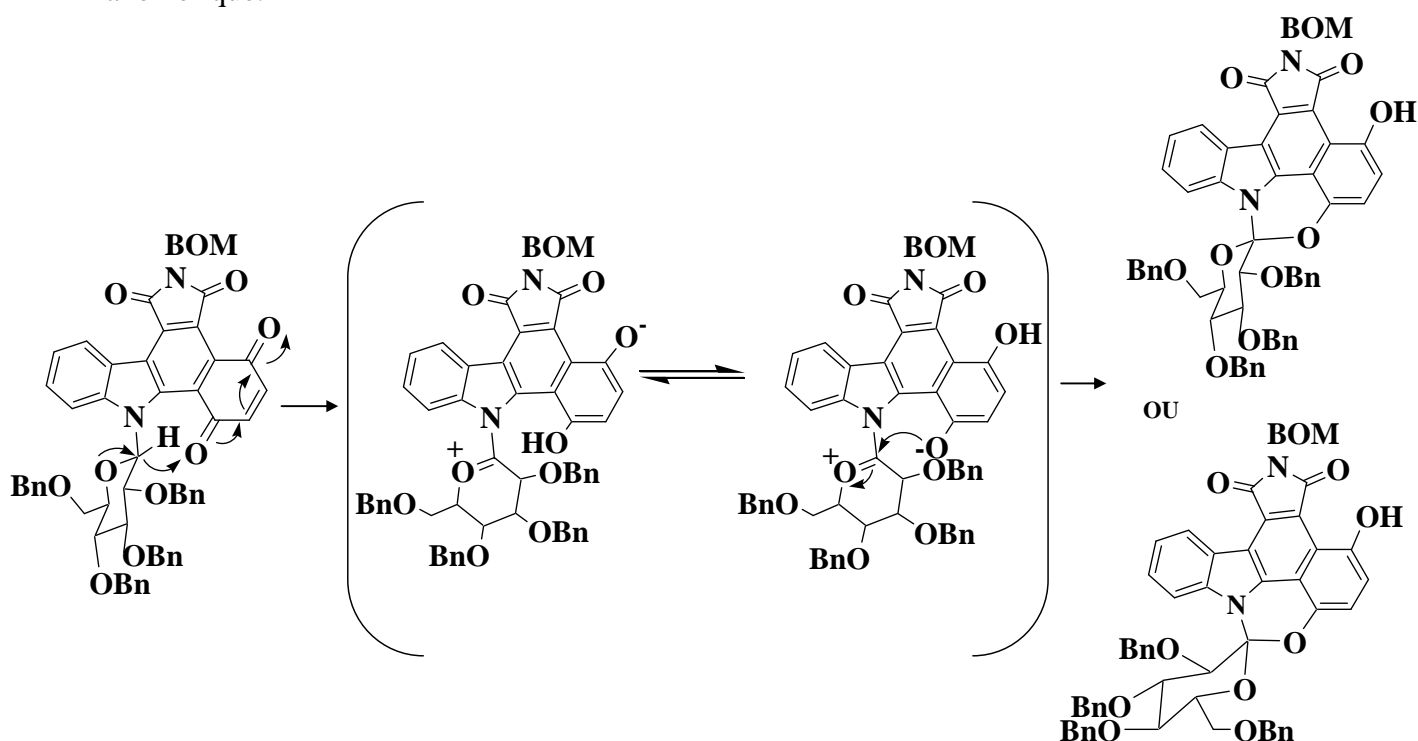


Figure 138: Formation du produit spirannique **55**.

La structure du composé **55** est déterminée par RMN : COSY ¹H-¹H, HMBC et HSQC. Le premier fait marquant était l'absence du CH anomérique qui est généralement présent aux alentours de 7,5 ppm sous forme de doublet. La présence de deux échangeables à 11,28 ppm et 11,93 ppm et de 11 carbones quaternaires vont dans le sens d'une structure spirannique. Les expériences COSY ¹H-¹H, HMBC et HSQC nous permettent de vérifier la

présence de tous les protons ainsi que leurs couplages et des carbones de la partie sucre, hydroquinone et indole.

Un mécanisme peut être proposé pour expliquer ce phénomène, il impliquerait une réaction d'oxydo-réduction intramoléculaire entre la benzoquinone introduite et le CH anomérique. Après un transfert d'hydrure entre le sucre et la quinone⁷⁶, il y aurait formation d'un intermédiaire oxonium qui serait susceptible de subir une attaque de l'ion phénolate situé à proximité. Il est à noter qu'une inversion possible de la configuration du carbone anomérique est à envisager en raison du passage par un ion oxonium. Seule la cristallographie aux rayons X nous permettrait de déterminer de façon précise la configuration du carbone anomérique.



54

Figure 139: Hypothèse d'un mécanisme conduisant à la formation de 54.

⁷⁶ a) Trost B. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 1847-1851. b) Stoos F. ; Rocek J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 2719-2723.

c) *Synthèse de structure imide/hydroquinone :*

Les hydroquinones **56a**, **56b** et **56c** sont issues de la réduction des composés **52a**, **52b** et **52c** en présence de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, suivant une méthode décrite par Clive *et al.*⁷⁷ Elles sont isolées avec des rendements respectifs de 80, 100 et 44% (**Figure 140**).

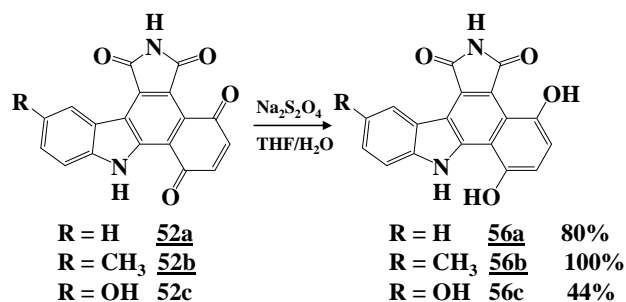


Figure 140: Réduction des benzoquinones.

La réduction des benzoquinones nous a permis d'augmenter fortement la solubilité ainsi que de diminuer leur polarité. Les hydroquinones vont nous permettre d'envisager la synthèse de nouveaux composés tels que des sulfates ou des pivalates.

d) *Synthèse d'une structure mixte lactame/hydroquinone :*

Il est à noter que dans le DMSO, une oxydation en quinone des hydroquinones **56a**, **56b** et **56c** est observée. Afin de pallier ce problème et afin de limiter le risque d'ouverture de l'imide supérieur, nous avons envisagé la synthèse de composés de type lactame/hydroquinone diméthylée ou dibenzylée.

Deux voies de synthèse ont été envisagées pour accéder aux dérivés lactames. L'une consiste en un couplage de Suzuki en position 2 de l'indole, selon la méthode décrite précédemment, suivie d'une réaction Diels-Alder avec le *cis*- β -cyanoacrylate d'éthyle. Une réduction finale devrait conduire aux structures lactame/hydroquinone. L'autre voie consiste en une réduction directe de l'hydroquinone **56a**.

⁷⁷ Clive D. L. J. ; Fletcher S. P. ; Liu D. J. *Org. Chem.*, **2004**, 69, 3282-3293.

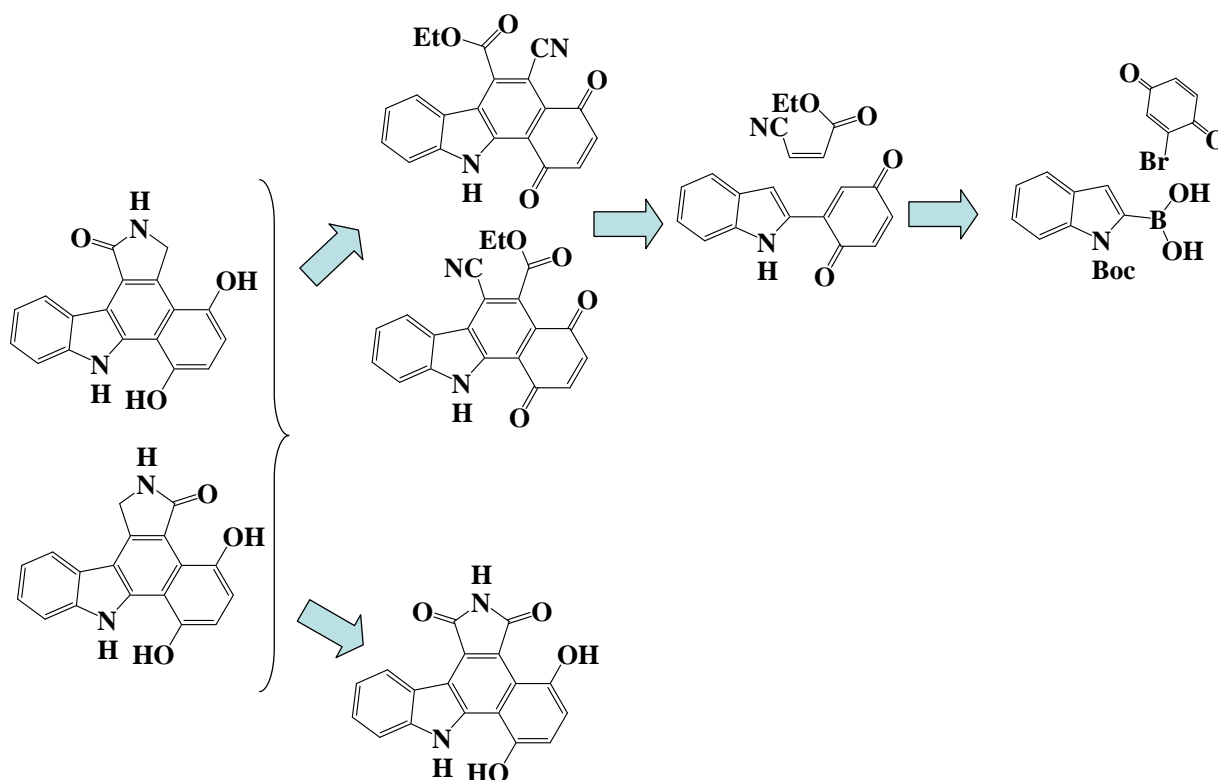


Figure 141: Schéma rétrosynthétique.

🌀 Première stratégie :

Le couplage de Suzuki de l'acide borique **W** avec la 2-bromo-benzoquinone, mené en présence de tetrakis (triphénylphosphine) palladium et de Na_2CO_3 , ne s'effectue pas. Cette absence de réactivité est vraisemblablement due à une oxydation du catalyseur en présence de la benzoquinone. En effet, dès que le composé bromé a été additionné dans le milieu réactionnel, la couleur jaune de $\text{Pd}(\text{Ph}_3)_4$ vire au noir.

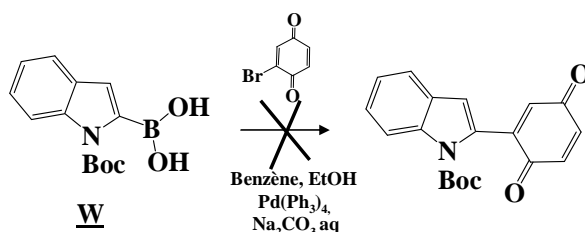


Figure 142: Essai de couplage de Suzuki avec la 2-bromo-benzoquinone.

Le couplage de Suzuki a finalement été effectué avec le 2-bromo-1,4-diméthoxybenzène. La purification réalisée sur colonne de silice flash ne nous permet pas d'obtenir le produit de couplage propre, il reste toujours en mélange avec le 2-bromo-1,4-diméthoxy-

benzène de départ. Ce mélange est engagé dans une réaction de déprotection dans du dichlorométhane en présence de TFA et conduit au composé **57** avec un rendement global de 35%.

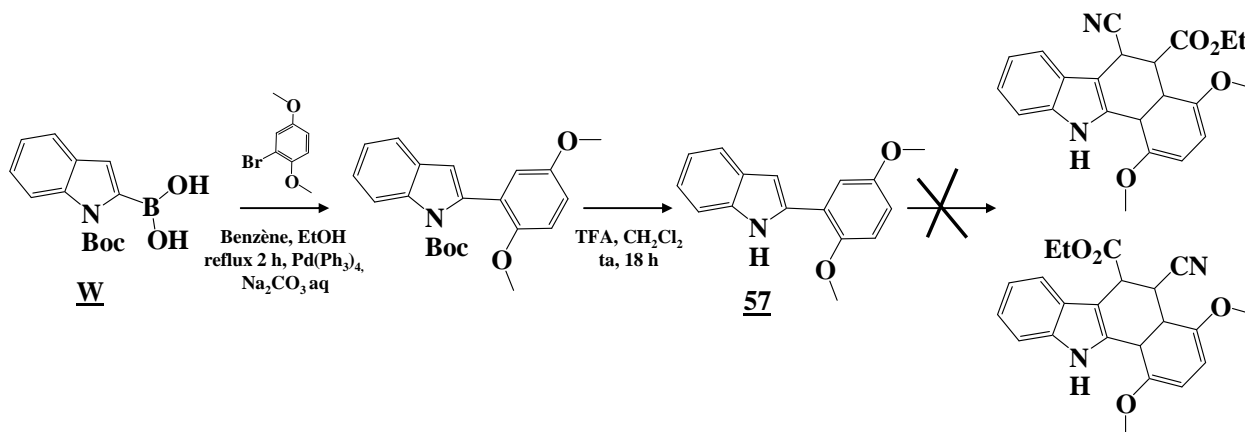


Figure 143: Couplage de Suzuki, déprotection et essai de cycloaddition de Diels-Alder.

Les tentatives de cycloaddition de Diels-Alder avec le *cis*- β -cyanoacrylate d'éthyle (24 éq., dans une bombe, à 140 °C) n'ayant pas abouti, nous avons choisi réaliser une déméthylation oxydante du composé **57** afin de régénérer la benzoquinone. Le nouveau diène obtenu pourra à son tour être mis dans les conditions d'une cycloaddition.

Plusieurs méthodes de déméthylation sont décrites dans la littérature, plusieurs d'entre elles nécessitent l'utilisation du nitrate de cérium et d'ammonium $\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{NO}_3)_6$ (CAN)^{78a,b}, une autre s'effectue en deux étapes à l'aide de BBr_3 puis de DDQ.^{78c}

L'utilisation du CAN semble avoir seulement dégradé le produit de départ. En revanche, la déprotection en présence de BBr_3 suivie de l'oxydation au DDQ, conduit à la formation d'un composé qui n'est pas la quinone attendue. En effet le spectre de RMN ^1H de ce composé ne comporte que le signal du NH et ceux de 6 protons aromatiques. Il pourrait s'agir du produit **58** issu d'une cycloaddition de Diels-Alder avec le DDQ. En effet, ce type de cycloaddition avec le DDQ a déjà été observé par Samir Messaoudi au cours de sa thèse (résultats non publiés). Effectivement le spectre infra-rouge du composé **58** présente une bande d'absorption intense à 2228 cm^{-1} correspondant aux liaisons $\text{C}\equiv\text{N}$. Le spectre de masse

⁷⁸ a) Jacob P. ; Callery P. S. ; Shulgin A. T. ; Castagnoli N. *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 3627-3629. b) Vyvyan J. R. ; Loitz C. ; Looper R. E. ; Mattingly C. S. ; Peterson E. A. ; Staben S. T. *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 2461-2468. c) Capitosti G. J. ; Guerrero C. D. ; Binkley D. E. ; Rajesh C. S. ; Modarelli D. A. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 247-261.

et le spectre de RMN ^{13}C n'ayant pas pu être effectués en raison de l'insolubilité de ce composé, nous avons décidé de le réduire en hydroquinone à l'aide de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ en vue d'augmenter la solubilité et de confirmer sa structure. Le composé réduit **59** est isolé (Figure 144).

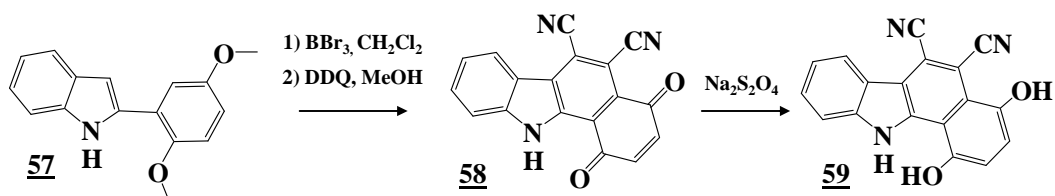


Figure 144: Déprotection et oxydation de **59**.

Le mécanisme réactionnel qui conduit au composé **58** est décrit Figure 145.

Après déprotection et oxydation du composé **57**, une deuxième molécule de DDQ est engagée dans une réaction de Diels-Alder et conduit à l'intermédiaire **58a**. Ce dernier subit un rétro-Diels-Alder pour conduire au composé **58b** qui, après oxydation génère le composé **58**.

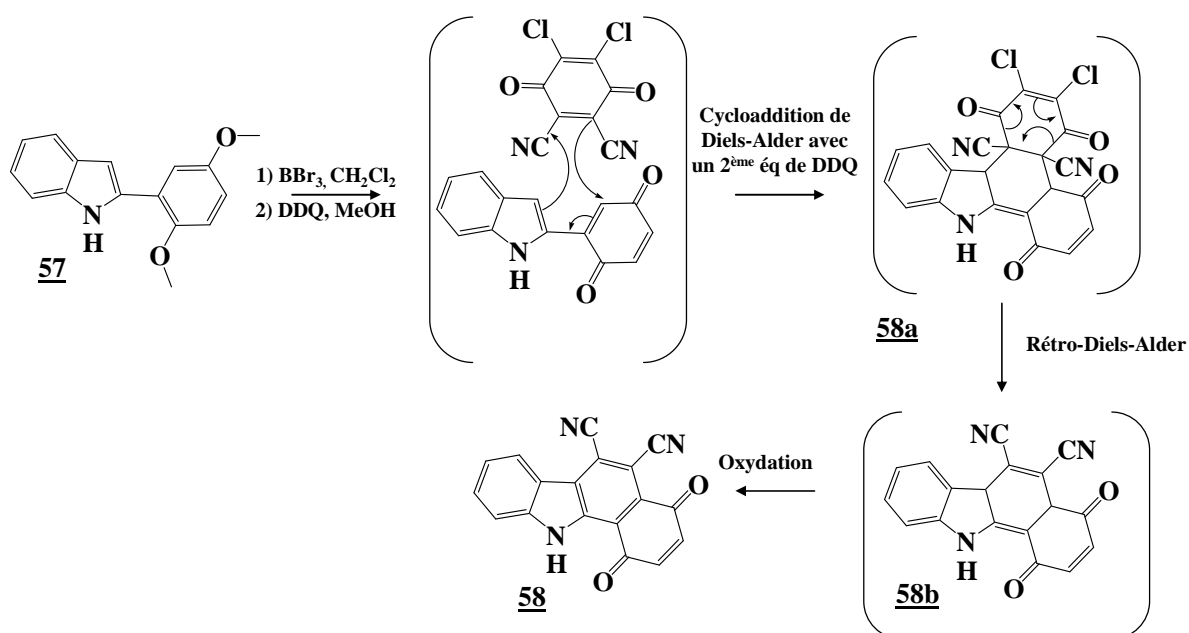


Figure 145: Mécanisme réactionnel qui pourrait expliquer la formation de **58**.

② *Deuxième stratégie :*

Nous avons tout d'abord essayé de réduire directement le composé **56a**. Malgré les nombreux essais, aucun ne nous a permis d'isoler de composés issus d'une réduction. Les conditions de réduction que nous avons testées sont les suivantes :

- Zn/Hg dans de l'éthanol en présence de HCl (6 N), à reflux ;
- NaBH₄, THF à température ambiante ;
- LiAlH₄, THF à température ambiante ;
- DIBAL-H, THF à température ambiante.

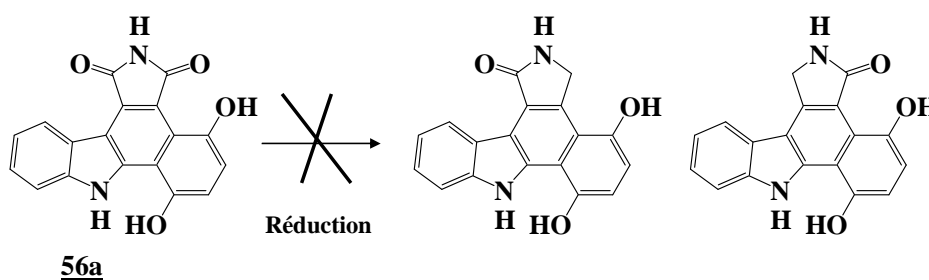


Figure 146: Essais de réduction de **56a**.

Au cours de ces expériences, nous avons observé des changements de couleur du milieu réactionnel qui est passé du rouge au bleu (cas du DIBAL-H et de LiAlH₄), ou du rouge au jaune (cas de Zn/Hg) mais aucune réaction n'a eu lieu. Cette absence de réactivité pourrait être due à la complexation des oxygènes de **56a** avec les agents réducteurs que nous avons utilisés.

Afin de pallier ce problème, nous avons décidé de protéger **56a** par méthylation et par benzoylation avant d'entreprendre la réduction.

Le produit dibenzylé **60** est obtenu avec un rendement de 80% dans de l'acétone à reflux, en présence de K₂CO₃ et de bromure de benzyle. Contrairement à ce que nous attendions, la réaction de protection n'a pas conduit au composé issu d'une benzoylation des deux fonctions phénol mais au composé **60** dont l'azote imidique porte un groupement benzyle. En raison de la faible solubilité du composé **60**, sa structure n'a pu être déterminée qu'à partir des composés **61** et **62** obtenus après réduction de l'imide. Il est à noter qu'aucune protection du phénol supérieur n'est observée. Une explication pourrait être la présence d'une liaison hydrogène entre le OH phénolique et le carbonyle de droite de l'imide. La réduction réalisée en présence de LiAlH₄ conduit à l'hydroxylactame **61** avec un rendement de 100%

alors qu'en présence de NaBH_4 , les deux régioisomères hydroxylactames **61** et **62** sont isolés avec des rendements respectifs de 60% et 28%.

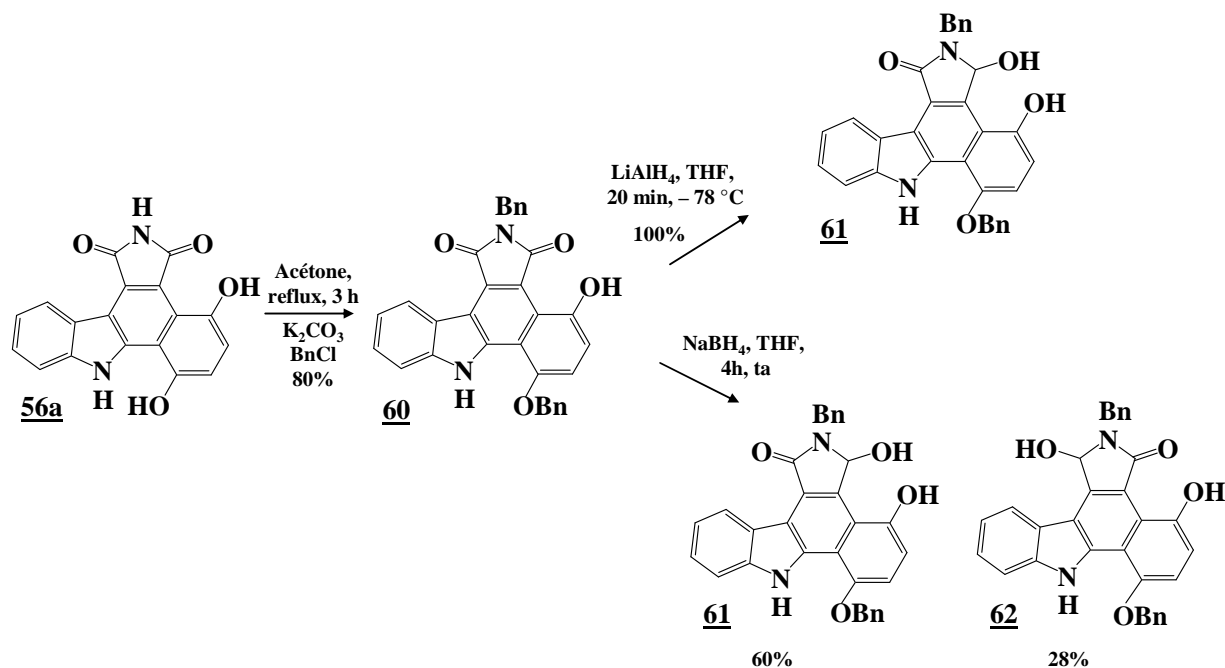


Figure 147A: Protection de l'hydroquinone et réduction de l'imide.

Les structures des composés **61** et **62** ont été déterminées à l'aide des expériences de RMN ^1H - ^1H COSY, HSQC, HMBC et NOESY (Figure 147B).

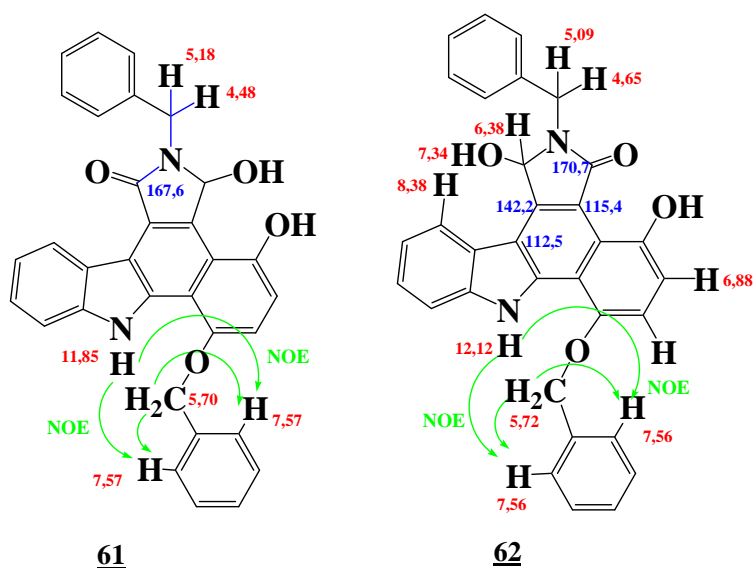


Figure 147B: Détermination des structures des composés **61** et **62**.

Tout d'abord, l'orientation du groupement benzyle porté par l'une des fonctions phénol a été déterminée par des expériences NOESY. En effet, des effets NOE sont observés entre les protons indoliques à 12,12 ppm pour le composé **62** et 11,85 ppm pour le composé **61** et les protons aromatiques ortho du groupement benzyle à 7,56 ppm pour le composé **62** et 7,57 ppm pour le composé **61**. Des effets NOE, entre les mêmes protons aromatiques et les protons des méthylènes benzyliques à 5,72 ppm et 5,70 ppm des composés **62** et **61** respectivement, sont aussi observés.

Les expériences HMBC ^1H - ^{13}C prouvent premièrement que le deuxième groupement benzyle est porté par l'azote de l'hydroxylactame. En effet, on note un couplage des protons des méthylènes benzyliques (à 4,48 ppm et à 5,18 ppm pour le composé **61** et à 4,65 ppm et à 5,09 ppm pour le composé **62**) avec le carbonyle de l'hydroxylactame à 167,6 et 170,7 ppm des composés **61** et **62** respectivement.

Deuxièmement, les expériences HMBC ^1H - ^{13}C réalisées sur le composé **62** nous ont permis de déterminer l'orientation de l'hydroxyle de l'hydroxylactame. En effet, nous avons pu observer différents couplages:

- Des couplages de type ^3J du proton CH de l'hydroxylactame à 6,38 ppm et du proton aromatique de l'indole à 8,38 ppm avec le même carbone quaternaire à 112,5 ppm,
- Le carbone quaternaire à 142,2 ppm a pu être attribué grâce à ses couplages de type ^3J avec le proton de l'hydroxyle à 7,34 ppm, de type ^2J avec le proton de l'hydroxylactame à 6,38 ppm et de type ^4J (faible) avec le proton du NH indolique à 12,12 ppm. Il est à noter que si nous avons été en présence du régioisomère du composé **62** le couplage du proton indolique avec ce carbone quaternaire aurait été de type ^5J , ce qui est improbable.
- Deux couplages sont aussi notés entre le carbone quaternaire à 115,4 ppm, l'un de type ^3J avec le proton à 6,38 ppm de l'hydroxylactame et l'autre de type ^4J (assez faible) avec le proton aromatique de la partie phénolique à 6,88 ppm. Il est à noter que si nous avons été en présence de son régioisomère le couplage avec le proton à 6,88 ppm aurait été de type ^5J , ce qui improbable.

Aucune trace de formation de lactame n'est observée lors des réductions même en augmentant le nombre d'équivalents de l'agent réducteur ou en prolongeant le temps de réaction.

En parallèle, une diméthylation a été effectuée sur le composé **56a**. Le composé diméthylé **63** est obtenu avec un rendement de 89%, dans de l'acétone en présence de K_2CO_3 et d'iodure de méthyle. Sa réduction avec $LiAlH_4$ conduit, de la même manière que **60**, à l'hydroxylactame **64** avec un rendement de 100%. La réduction avec $NaBH_4$ ne conduit pas au régioisomère comme dans le cas de la réduction du composé **60**, seul le composé **64** est isolé. Les structures des composés **63** et **64** ont été attribuées par analogie avec les composés **60**, **61** et **62**.

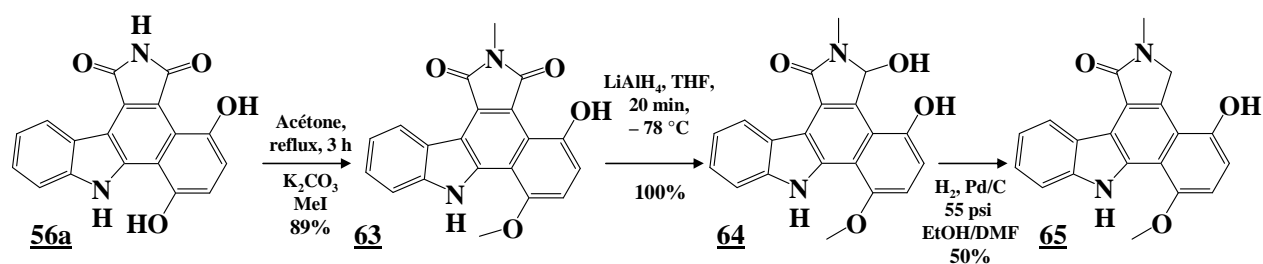


Figure 148: Méthylation, réduction de l'imide et de l'hydroxylactame.

Nous avons ensuite effectué une hydrogénation catalytique en présence de Pd/C sous 55 psi de l'hydroxylactame **64**. Le lactame **65** est isolé avec un rendement de 50%.

L'objectif que nous nous étions fixé, obtention d'une structure mixte lactame/hydroquinone, n'est pas atteint puisque les composés **61**, **62**, **64** et **65** ont leur azote imidique substitué. Il faudra envisager une hydrogénolyse sur les composés **61** et **62** pour débenzyler l'hydroxyquinone et réduire l'hydroxylactame en lactame. La dernière étape consistera en la déprotection de l'azote du lactame, envisageable par traitement avec du TFA.⁷⁹

e) *Synthèse de sulfates et de pivalates :*

Afin de renforcer la solubilité des hydroquinones, nous avons choisi d'effectuer la synthèse de pivalates et de sulfates.

⁷⁹ a) Tetsuya, I. ; Kozo, H. ; Keiichi, N. ; Eiichi, Y. *Heterocycles* **1994**, 38, 1839-1884. b) Bryans, J.S. ; Chessum, N.E.A. ; Huther, N. ; Parsons, A. F. ; Ghelfi, F. *Tetrahedron* **2003**, 59, 6221-6232.

Après traitement de **56a** avec du carbonate de potassium et du chlorure de pivaloyl⁸⁰, le pivalate **66** est obtenu avec un rendement de 94%. Les sulfates **67a** et **67b** ont été préparés à partir des composés **56a** et **56b** par réaction avec le complexe SO₃/pyridine et sont isolés avec des rendements respectifs de 37% et 49%.⁸¹

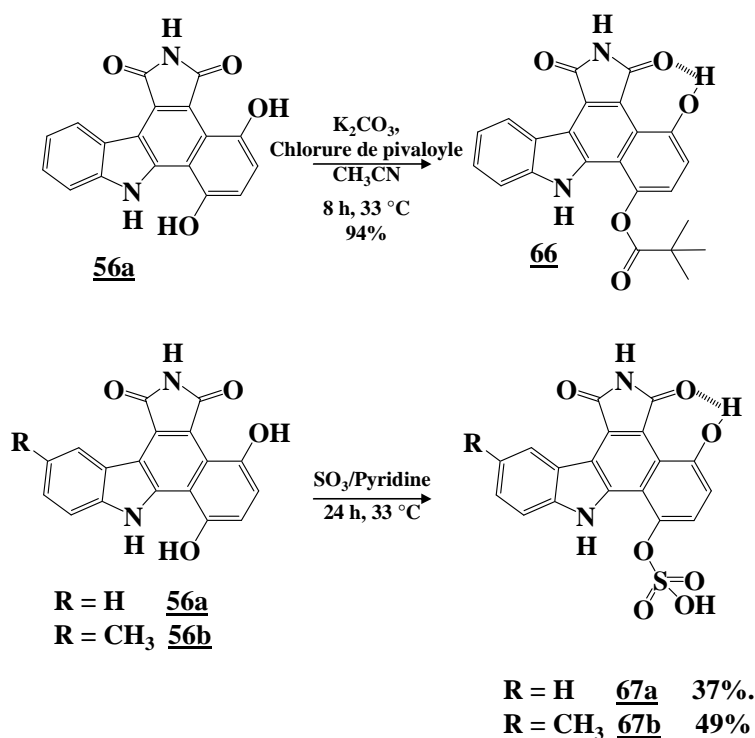


Figure 149: Synthèse de pivalate et de sulfates.

La position du pivalate et du sulfate sur la partie phénolique dans les composés **66**, **67a** et **67b** a été attribuée par analogie avec les composés **60** et **63**. La position du sulfate ou du pivalate sur l'azote imidique est exclue d'après l'analyse des déplacements chimiques des protons échangeables. En effet, le déplacement chimique du NH imidique dans le DMSO est toujours supérieur à 11,5 ppm. Dans les composés **56a** et **56b**, les OH phénoliques inférieurs ont un déplacement chimique de 10,84 et 10,75 ppm, respectivement. Dans les sulfates **67a** et **67b**, les échangeables ont tous des déplacements chimiques supérieurs à 11,5 ppm, ce qui confirme que le OH phénolique inférieur est bien substitué.

La modélisation moléculaire réalisée par Bettina Aboab sur le composé **67a** confirme l'orientation de la substitution. En effet, une différence notable de 5,96 KJ/mol est observée

⁸⁰ Amari G. ; Armani E. ; Ghirardi S. ; Delcanale M. ; Civelli M. ; Caruso P. L. ; Galbiati E. ; Lipreri M. ; Rivara S. ; Lodola A. ; Mor M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, *12*, 3763-3782.

⁸¹ Brown R. J. ; Annis G. ; Casalnuovo A. ; Chan D. ; Shapiro R. ; Marshall W. J. *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 4361-4375.

entre le composé **67a** et son régioisomère. Dans le composé **67a**, la présence d'une liaison hydrogène supplémentaire entre le carbonyle de droite et l'hydroxyle supérieur de l'hydroquinone serait à l'origine de cette différence d'énergie (**Figure 150**).

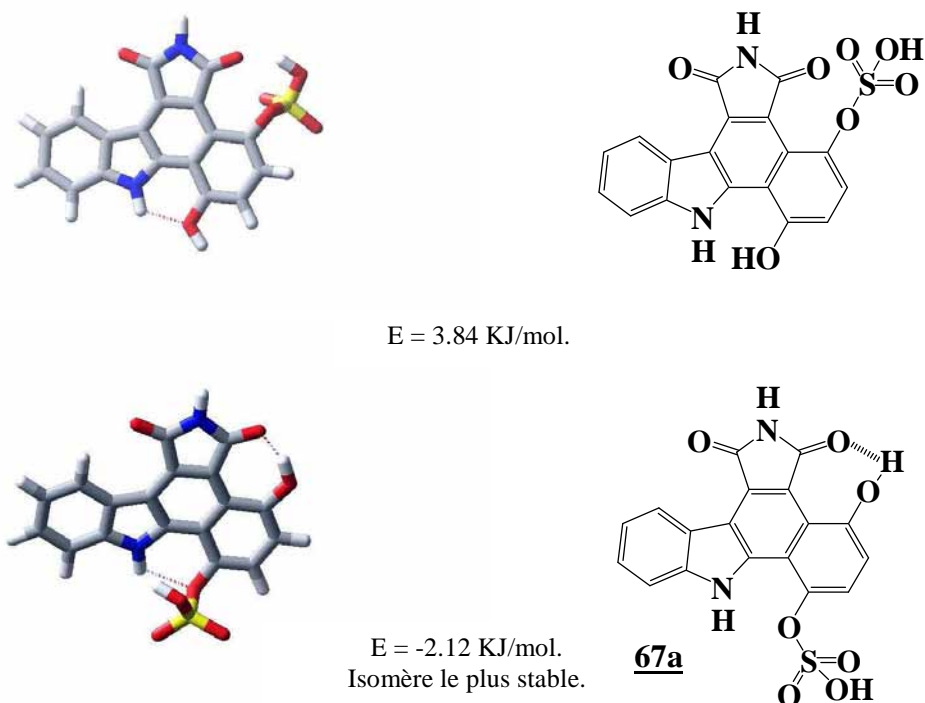


Figure 150: Modélisation moléculaire du composé **67a** et de son régioisomère.

Lors de ces réactions, seuls les produits monosulfates et monopivalate sont obtenus. La liaison hydrogène entre un carbonyle de l'imide et le OH supérieur de l'hydroquinone pourrait diminuer la réactivité de cet hydroxyle. Afin de synthétiser les disulfates et les dipivalates, nous avons décidé de reproduire les mêmes manipulations mais en ajoutant un apport thermique afin de « casser » la liaison hydrogène. Cependant, en ce qui concerne le pivalate, aucun changement n'a été observé, le monopivalate reste inchangé. Dans le cas des sulfates, une disparition du monosulfate du milieu réactionnel est observée, un produit extrêmement polaire se forme qui précipite dans l'eau. Malgré de nombreux lavages à l'eau et avec des solvants organiques, les spectres de RMN de ce produit n'ont pas permis de l'identifier et aucun spectre de masse correct n'a pu être obtenu.

4) Structure mixte uracile/imide :

La synthèse du composé **III** a été envisagée suivant différentes voies de synthèse dont nous allons discuter dans cette partie. La première voie envisagée nécessite un couplage de Suzuki entre l'acide borique **W** et le 6-bromo-uracile ; dans la deuxième voie il est nécessaire de réaliser un couplage entre l'acide borique de l'uracile protégé **Y** et le composé bromé **X'**, la dernière étape est une cyclisation oxydante (**Figure 151**).

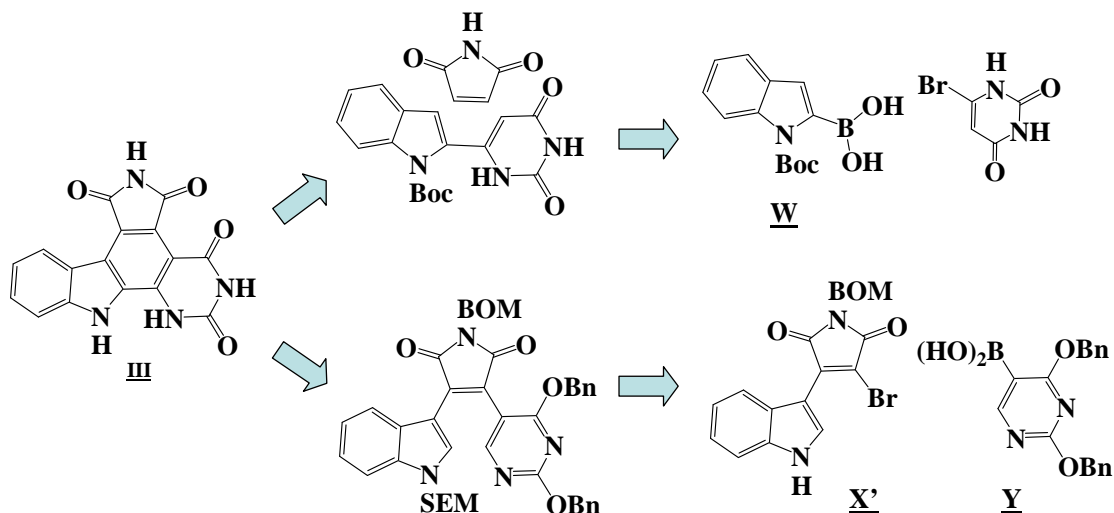


Figure 151: Schéma rétrosynthétique.

⊗ Première stratégie :

Le couplage tenté avec le 6-bromo-uracile n'ayant pas donné de résultats concluants, nous l'avons réalisé à l'aide d'un uracile protégé : la 2,4-diméthoxy-6-bromopyrimidine **Z**.

Le composé **Z** est synthétisé en deux étapes à partir de l'acide barbiturique suivant la méthode décrite par White *et al.*⁸²

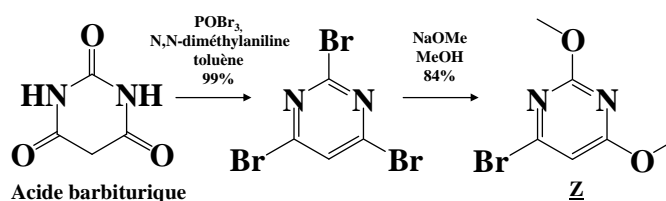


Figure 152: Synthèse du composé **Z**.

Le composé **Z** est engagé dans un couplage de Suzuki avec l'acide borique **W** pour conduire au produit de couplage **68** avec un rendement de 80%. La déprotection de l'indole

⁸² White J. D. ; Hansen J. D. *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 1963-1977.

est réalisée dans du dichlorométhane en présence de TFA, le composé **69** est isolé avec un rendement de 98%. Enfin, la déprotection de l'uracile est effectuée avec un rendement de 95% dans de l'acide acétique glacial en présence de HBr (33%) suivant les méthodes décrites dans la littérature.⁸³

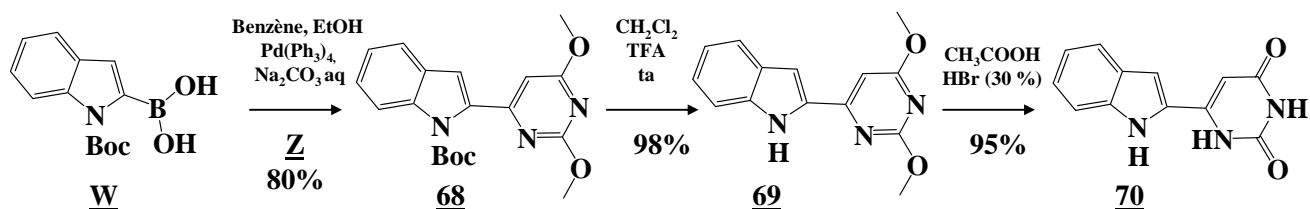


Figure 153: Couplage de Suzuki, introduction de l'uracile en position 2 de l'indole.

Les trois composés **68**, **69** et **70** sont engagés dans une cycloaddition de Diels-Alder avec le maléimide. De nombreux essais ont été réalisés, ils sont résumés dans le **Tableau 17**.

Substrat	Conditions opératoires					Produit isolé
	Solvant	T (°C)	Durée (j)	éq maléimide	Conditions particulières	
68	toluène	140	4	7	bombe	69
69	xylène	reflux	5	20		69
	toluène	140	3	20	bombe	69
	dioxane/eau	reflux	7	10		69 + 70
	toluène	reflux	5	5	SnCl ₂	69 + 71
70	xylène	reflux	4	10		70
	dioxane/eau	reflux	7	10		70
	toluène	reflux	4	5	SnCl ₂	70

Tableau 17: Essais de cycloaddition de Diels-Alder.

Parmi ces essais, seule la réaction réalisée à partir du composé **69** en présence de SnCl₂ nous a permis d'isoler un nouveau produit. Malheureusement, celui-ci n'est pas issu d'une réaction de Diels-Alder mais d'une addition de Michaël (**Figure 154**). Le composé **71** est isolé avec un rendement de 12%. La réaction n'est pas totale, malgré nos tentatives pour améliorer le rendement (mêmes conditions opératoires avec AlCl₃ ou APTS, mêmes

⁸³ a) Gomez I. ; Alonso E. ; Ramon D. J. ; Yus M. *Tetrahedron.*, **2000**, 56, 4043-4052. b) Horwitz J. P. ; Tomson A. J. *J. Org. Chem.*, **1961**, 26, 3392-3395.

conditions opératoires avec 20 équivalents de maléimide), aucun essai ne s'est avéré concluant.

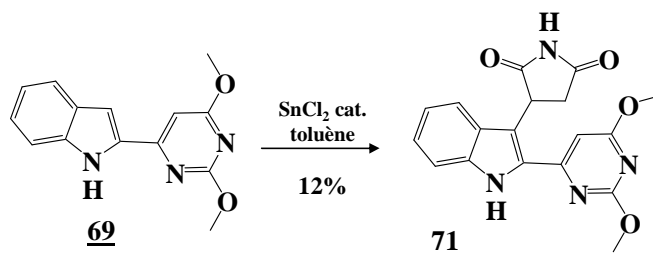


Figure 154: Réaction de Michaël.

Un essai d'oxydation de **71** dans du dioxane en présence de DDQ ne nous a pas permis d'isoler le produit oxydé désiré. D'autres essais devront être envisagés en vue de poursuivre cette voie de synthèse.

Afin de valoriser cette voie de synthèse nous avons voulu réaliser un couplage en position 3 de l'indole à l'aide d'un dibromomaléimide *N*-protégé. Une cyclisation oxydante finale nous permettrait d'accéder au produit souhaité (Figure 155).

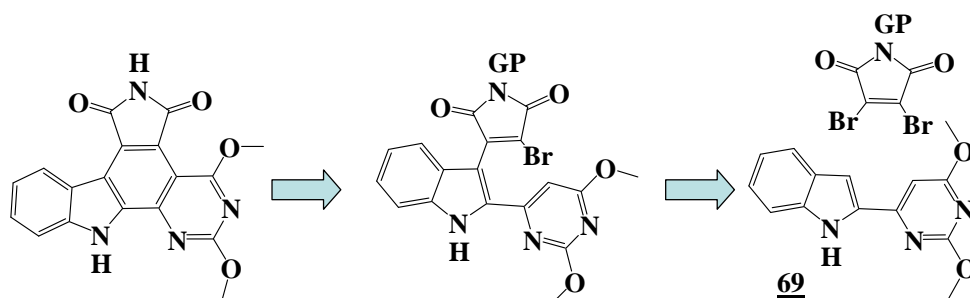


Figure 155: Schéma rétrosynthétique. Couplage en position 3 de l'indole.

Dans la littérature, Bregman *et al.*⁸⁴ ont décrit le couplage d'un indole, substitué en position 2 par une pyridine, avec le *N*-TBS-dibromomaléimide via lithiation de l'indole par LiHMDS (Figure 156).

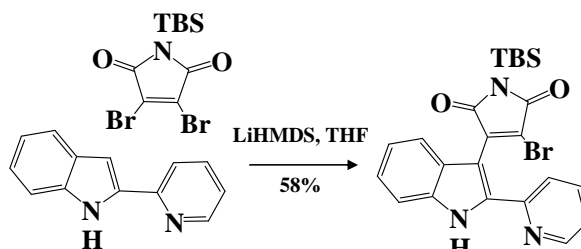


Figure 156: Couplage en position 3 de l'indole selon Bregman.

⁸⁴ Bregman H. ; Douglas S. W. ; Meggers E. *Synthesis*, **2005**, 1521-1527.

Nous avons placé le composé **70** dans les mêmes conditions opératoires que celles décrites par Bregman *et al.* Malheureusement, aucune réaction n'a été observée.

☉ *Deuxième stratégie :*

L'acide borique **Y** a été décrit par Seley *et al.*⁸⁵, il est obtenu en deux étapes à partir de la 5-bromo-2,4-dichloropyrimidine avec un rendement global de 86% (**Figure 157**).

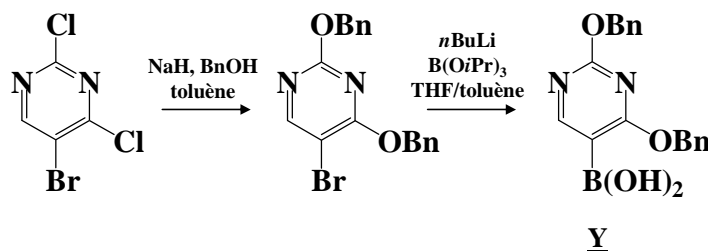


Figure 157: Synthèse de l'acide borique **Y**.

Dans la littérature, il a été montré que les couplages de Suzuki sur des composés bromés tels que **X'** (**Figure 158**) s'effectuent avec de meilleurs rendements lorsque le NH indolique est protégé.⁸⁶ Nous avons donc réalisé une protection de l'indole par le groupement SEM avant couplage.

Le produit protégé **72**, est engagé dans un couplage de Suzuki en présence de 5 équivalents d'acide borique **Y**, de 0,1 équivalent de Pd(OAc)₂, de K₂CO₃, dans un mélange dioxane/eau. Le produit de couplage **73** est obtenu avec un faible rendement de 27%. La réaction n'est pas totale, mais on constate une dégradation de l'acide borique au bout de 3h de réaction. Cette réaction reste encore à être optimisée, il faudra faire varier le solvant de la réaction (DME par exemple), le catalyseur (Pd(Ph₃)₄) ainsi que réaliser des ajouts progressifs d'acide borique.

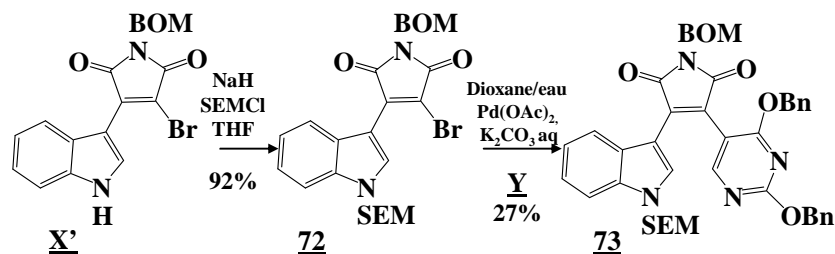


Figure 158: Couplage de Suzuki avec l'acide borique **Y**.

⁸⁵ Seley K. L. ; Salim S. ; Zhang L. ; O'Daniel P. I. *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 1612-1619.

⁸⁶ Routier S. ; Mérour J.-Y. ; Dias N. ; Lansiaux A. ; Bailly C. ; Lozach O. ; Meijer L. *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 789-799.

De nombreuses cyclisations oxydantes sont décrites dans la littérature en ce qui concerne de type de composés. Les différentes méthodes sont les suivantes :

- hv avec ou sans présence de I₂⁸⁷;
- DDQ avec ou sans APTS⁸⁸;
- Pd(OAc)₂⁸⁹;
- PdCl₂;
- Pd(O₂CCF₃)₂.⁹⁰

Nous n'avons essayé que deux méthodes de cyclisation oxydante. Le premier essai a été réalisé à l'aide de DDQ, en présence d'APTS dans du toluène, mais aucune cyclisation n'a été observée. Le deuxième a été effectué à l'aide de trifluoroacétate de palladium, 24 h à 90 °C dans du DMF. La réaction n'est pas totale mais nous avons observé la formation d'un produit. Malheureusement, c'est l'uracile déprotégé **74** qui est isolé avec un rendement de 23% (**Figure 159**).

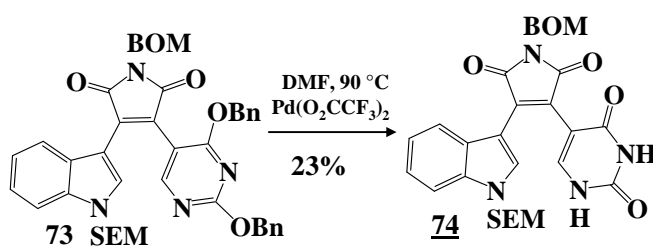


Figure 159: Essai de cyclisation oxydante.

D'autres essais devront être effectués selon d'autres méthodes décrites dans la littérature avant d'abandonner cette voie de synthèse.

⁸⁷ a) Sanchez-Martinez C. ; Faul M. M. ; Shih C. ; Sullivan K. A. ; Grutsch J. L. ; Cooper J. T. ; Kolis S. P. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 8008-8014. b) Engler T. A. ; Furness K. ; Malhotra S. ; Sanchez-Martinez C. ; Shih C. ; Xie W. ; Zhu G. ; Zhou X. ; Conner S. ; Faul M. M. ; Sullivan K. A. ; Kolis S. P. ; Brooks H. B. ; Patel B. ; Schultz R. M. ; DeHahn T. B. ; Kirmani K. ; Spencer C. D. ; Watkins S. A. ; Considine E. L. ; Dempsey J.A. ; Ogg C. ; Stamm N.B. ; Anderson B.D. ; Campbell R. M. ; Vasudevan V. ; Lytle M. L. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, *13*, 2261-2267.

⁸⁸ a) Kleinschroth J. ; Hartenstein J. ; Rudolph C. ; Schachtele C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, *5*, 55-60. b) Ohkubo M. ; Nishimura T. ; Jona H. ; Honma T. ; Morishima H. *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 8099-8112. c) Joyce R. P. ; Gainor J. A. ; Weinreb S. M. *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*, 1177-1185. d) Zhu G. ; Conner S. ; Zhou X. ; Shih C. ; Brooks H. B. ; Considine E. ; Dempsey J. A. ; Ogg C. ; Patel B. ; Schultz R. M. ; Spencer C. D. ; Teicher B. ; Watkins S. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 1231-1235.

⁸⁹ Harris W. ; Hill C. H. ; Keech E. ; Malsher P. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 8361-8364.

⁹⁰ Ohkubo M. ; Kawamoto H. ; Ohno T. ; Nakano M. ; Morishima H. *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 585-592.

5) Influence de l'hétérocycle inférieur :

Afin d'évaluer l'influence de l'hétérocycle inférieur, nous avons effectué la synthèse du composé **76** dans lequel l'hétérocycle inférieur est absent mais qui conserve un des groupements carbonyles sur le carbazole (**Figure 160**). La synthèse de ce composé nous permettra aussi de comparer les propriétés inhibitrices de la Chk1 avec celle de son isomère **29** décrit dans la première partie.

Lors de la cycloaddition de Diels-Alder entre le diène **Pa** et l'acrylate d'éthyle, nous avons observé la formation d'un seul régioisomère avec une orientation du carbonyle vers la partie inférieure. Le mélange d'isomères (indole, indoline) **75**, est obtenu avec un rendement de 70%. Son oxydation au DDQ conduit au composé **76** avec un rendement de 64% (**Figure 160**). Sa structure a été déterminée par RMN COSY ^1H - ^1H , HSQC et HMBC. Le proton en β de l'ester présente deux couplages longue distance (^3J) : l'un avec le carbonyle de l'ester et l'autre avec l'un des carbonyles de l'imide.

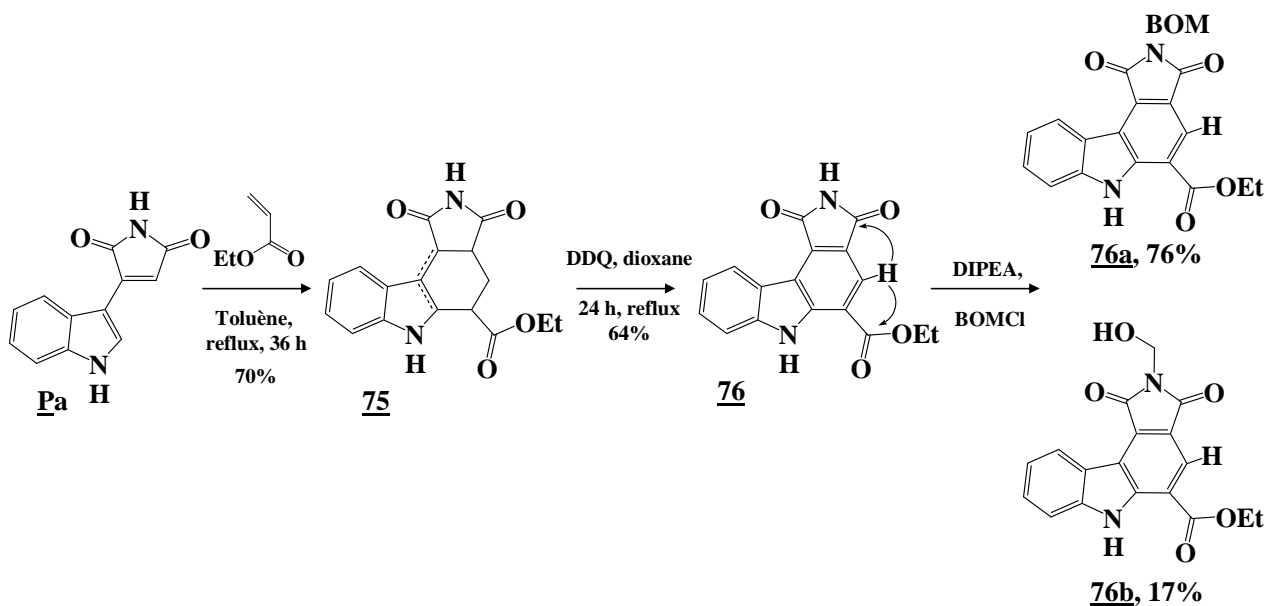


Figure 160: Réaction de Diels-Alder de **Pa** avec l'acrylate d'éthyle.

Ce composé pourra être ajouté à notre chimiothèque dans le cadre de notre étude de relations structure-activité.

L'azote imidique du composé **76** a été protégé par un groupement BOM, le but initial de cette protection était d'accéder à un cycle E de type pyrazolinone. Les composés **76a** et **76b** sont obtenus. Bien que la suite de la synthèse pouvant conduire à la pyrazolinone ait

échoué, le composé **76b**, dont l'azote imidique porte un groupement hydroxyméthyle, s'est avéré être, comme nous allons le voir plus loin, un bon inhibiteur de la Chk1. Ce composé pourrait être un nouveau chef de file pour une nouvelle famille d'inhibiteurs de la Chk1.

IV. Conclusion :

Au cours de ce travail, nous avons effectué la synthèse de différents analogues du bis-imide **N**, en vue de réaliser une étude plus poussée de relations structure-activité concernant l'inhibition de la Chk1.

Dans la première partie, nous avons décrit la synthèse d'analogues dont l'hétérocycle supérieur a été modifié. Des structures mixtes imide-lactame ont ainsi été synthétisées. Les structures mixtes imide/pyrazolinone et imide/pyridazine se sont, quant à elles, avérées beaucoup plus difficiles à réaliser.

Dans la deuxième partie, les modifications structurales ont été apportées sur l'hétérocycle inférieur. Différentes structures mixtes ont été réalisées : imide/cyclopentanone, cyclohexanone ou cyclopentanedione, imide/benzoquinone, imide/hydroquinone. Des groupements solubilisants (sulfate, pivalate, sucre) ont pu être introduits. En ce qui concerne les structures lactame/hydroquinone, les dernières étapes doivent être mises au point. Une dernière famille de structure imide/uracile nécessite encore quelques essais de cyclisation oxydante afin d'achever sa synthèse.

Lors de ce travail, nous avons été confrontés à de nombreuses difficultés lors de l'introduction d'un nouveau cycle E. Nous avons dû mettre au point une nouvelle stratégie, qui passe par un couplage de Suzuki en position 2 de l'indole, afin d'introduire de nouveaux cycles E qui nous étaient inaccessibles suivant la voie classique (réaction de Diels-Alder sur l'intermédiaire **P**).

Les activités biologiques des différents composés seront présentées dans le chapitre suivant.

Troisième partie

Tests d'activité biologique

I. Introduction :

La granulamide, l'isogranulamide, le bis-imide **N** sont de bons inhibiteurs de la Chk1.

Dans le chapitre précédent, nous avons décrit la synthèse de différents analogues de la granulamide qui sont des inhibiteurs potentiels de la Chk1.

Au cours de ce troisième chapitre, nous allons exposer et commenter les résultats des différents tests biologiques effectués sur les composés synthétisés.

II. Principes des différents tests effectués :

Les tests biologiques effectués sur les analogues synthétisés sont les suivants :

- Tests d'activité antiproliférative sur différentes lignées cancéreuses murines et humaines,
- Tests d'inhibition de la Chk1.
- Certains composés ont été testés sur la tyrosine kinase Src pour avoir une première indication sur leur sélectivité vis-à-vis des kinases.

1) Activités antiprolifératives :

Les activités antiprolifératives ont été évaluées *in vitro* sur quatre lignées de cellules tumorales : une leucémie murine L1210, et trois tumeurs humaines : HT29 et HCT116 (carcinomes humains du côlon), A549 (carcinome pulmonaire non à petites cellules).

Les résultats sont exprimés en IC₅₀ (en μM), concentration de drogue inhibant de 50% la prolifération des cellules.

2) Inhibition de la Chk1 :

Les activités inhibitrices de la Chk1 sont évaluées sur une Chk1 humaine. Les pourcentages d'inhibition de la Chk1 sont donnés pour une concentration de drogue de 10 μM , les IC₅₀ sont données en μM pour les composés les plus actifs.

3) Inhibition de la kinase Src :

Pour certains composés, les pourcentages d'inhibition sur la tyrosine kinase Src ont été évalués pour une concentration de drogue de 1 μM .

III. Résultats :

Les résultats seront présentés par famille de composés synthésisés. Nous présenterons dans un premier temps les activités biologiques des composés de référence : la granulaticimide, l'isogranulaticimide et le bis-imide N.

1) Activités des composés de référence :

Les activités inhibitrices de la Chk1 et antiprolifératives de la granulaticimide, l'isogranulaticimide et du bis-imide N (Figure 161) sont présentées Tableau 18.

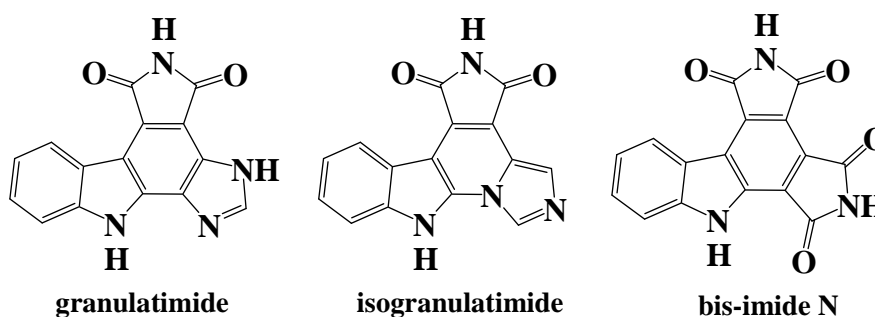


Figure 161: Structures des composés de référence.

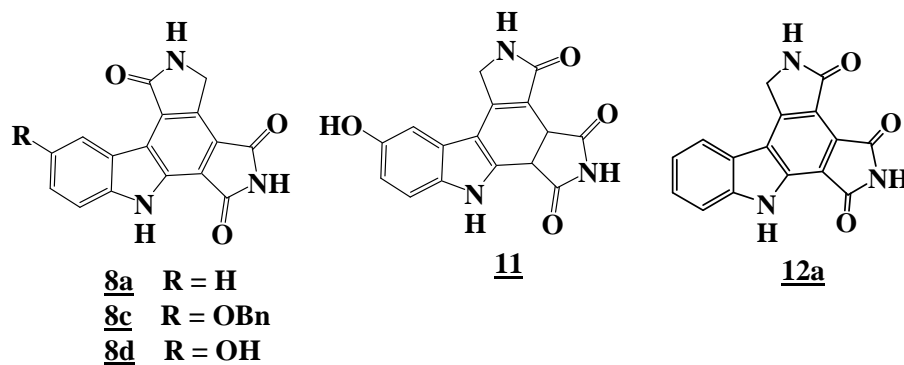
Composés	% d'inhibition de la Chk1 à 10 μM	IC ₅₀ de la Chk1 (μM)	% d'inhibition de la Src à 1 μM	Activités antiprolifératives (μM)		
				L1210	HCT116	HT29
Granulaticimide	93,9	0,081	35,99	2,8	6,1	5,7
Isogranulaticimide	89,7	0,44	-20,99	10	13	13,7
<u>N</u>	94,4	0,020	-11,94	32,7	nd	9,7

Tableau 18: Activités biologiques des composés de référence.

2) Activités des structures mixtes imide/lactame :

Seules les activités inhibitrices de Chk1 des composés **8a**, **8c**, **8d**, **11**, et **12a** ont pu être comparées à celles de la granulamide, isogranulamide et bis-imide **N** (Figure 162). En raison de l'insolubilité des composés **8b**, **13b**, et **13c**, leur activité inhibitrice de Chk1 n'a pu être évaluée. Les résultats des tests biologiques sont présentés **Tableau 19**.

Composés testés



Composés non testés en raison de leur insolubilité

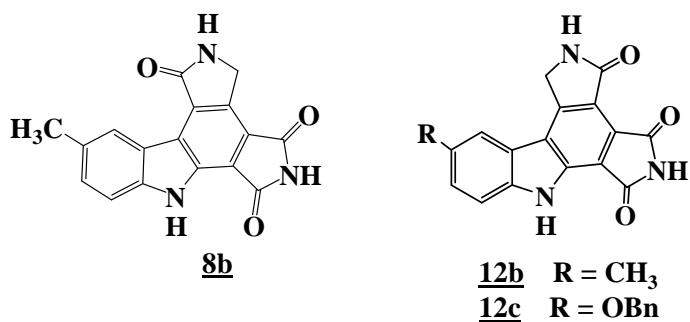


Figure 162: Structures mixtes imide/lactame.

Composés	% d'inhibition de la Chk1 à 10 μ M	IC ₅₀ de la Chk1 (μ M)	% d'inhibition de la Src à 1 μ M	Activités antiprolifératives (μ M)		
				L1210	HCT116	HT29
Granulatimide	93,9	0,081	35,99	2,8	6,1	5,7
Isogranulatimide	89,7	0,44	-20,99	10	13	13,7
<u>N</u>	94,4	0,020	-11,94	32,7	nd	9,7
<u>8a</u>	85,4	0,051	nd	nd	nd	nd
<u>8c</u>	69,8	1,0	nd	25,9	28,3	36,4
<u>8d</u>	95,7	0,015	nd	54,5	63,5	41,8
<u>11</u>	78,6	2,83	nd	>50	43,7	49,7
<u>12a</u>	71,7	0,374	nd	47,0	58,9	>100

Tableau 19: Résultats biologiques des structures mixtes imide/lactame.

Dans un premier temps, on remarque que les composés **8a** (non substitué en position 10) et **8d** (portant un hydroxyle en 10) sont des meilleurs inhibiteurs de Chk1 que la granulatimide et l'isogranulatimide. Il est intéressant de noter que, lorsque le carbonyle du lactame est orienté vers la partie indolique, les composés semblent être des inhibiteurs de Chk1 plus efficaces que ceux dont le carbonyle est orienté vers la partie imidique (comparer les composés **8a** et **12a**).

Ces résultats ne sont pas vraiment surprenants dans la mesure où, dans les structures cristallines de la staurosporine et de l'isogranulatimide en complexe avec la Chk1, le carbonyle de l'hétérocycle supérieur, dirigé vers l'indole, accepte une liaison hydrogène du NH de Cys⁸⁷, alors qu'aucune liaison hydrogène n'a lieu avec le carbonyle de droite.

Néanmoins, la forte activité inhibitrice de Chk1 du composé **12a** peut être due à une position différente de la molécule dans le site ATP, conduisant à la formation des deux liaisons hydrogènes fondamentales avec Glu⁸⁵ et Cys⁸⁷. Dans cette orientation, l'hétérocycle imide serait positionné à gauche et la partie indole à droite.

Aucune différence significative n'est à noter entre **8a** et le bis-imide **N**. En revanche, si l'on compare **8a** et **8d**, on remarque que **8d**, substitué par un hydroxyle en position 10, est un inhibiteur plus puissant de la Chk1 que le composé non substitué **8a**.

En ce qui concerne les cytotoxicités, elles ont été évaluées sur trois lignées cellulaires tumorales (H1210, HT29 et HCT116). Si nous comparons les cytotoxicités des lactames avec celles de la granulamide et l'isogranulamide, les lactames s'avèrent être beaucoup moins cytotoxiques et leur cytotoxicité est inférieure à celle du bis-imide **N**. Même si les inhibiteurs de Chk1 ne sont pas obligatoirement cytotoxiques, nous pensons que cette faible cytotoxicité serait due à une possible instabilité de nos molécules dans le milieu biologique. L'étude de stabilité du lactame **8d** par HPLC dans le milieu RPMI utilisé pour les tests sur cellules a montré la disparition progressive du pic correspondant au composé **8d** (solution 1mM du composé dans le DMSO dans 1mL de milieu RPMI). Cependant, au bout de 2 heures, aucun pic nouveau n'est observé sur le chromatogramme. Soit le produit formé est très polaire et son pic est masqué par celui du DMSO, soit le composé de départ ou les produits de dégradation insolubles dans le milieu précipitent.

3) Activités des pyrazolinones et des pyridazines :

Même si nous ne sommes pas arrivés au bout de la synthèse des structures mixtes imide /pyrazolinone et imide/pyridazine, il était intéressant de tester les intermédiaires **14**, **16** et **31** (Figure 163). Les résultats des tests biologiques sont présentés **Tableau 20**.

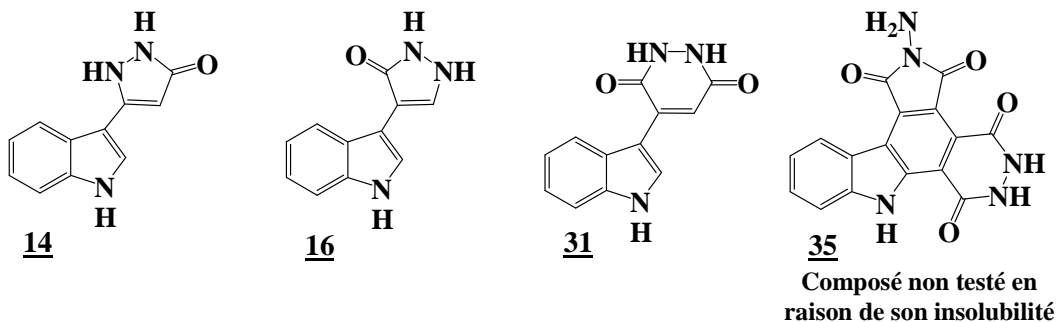


Figure 163: Structures des composés pyrazolinones et pyridazines.

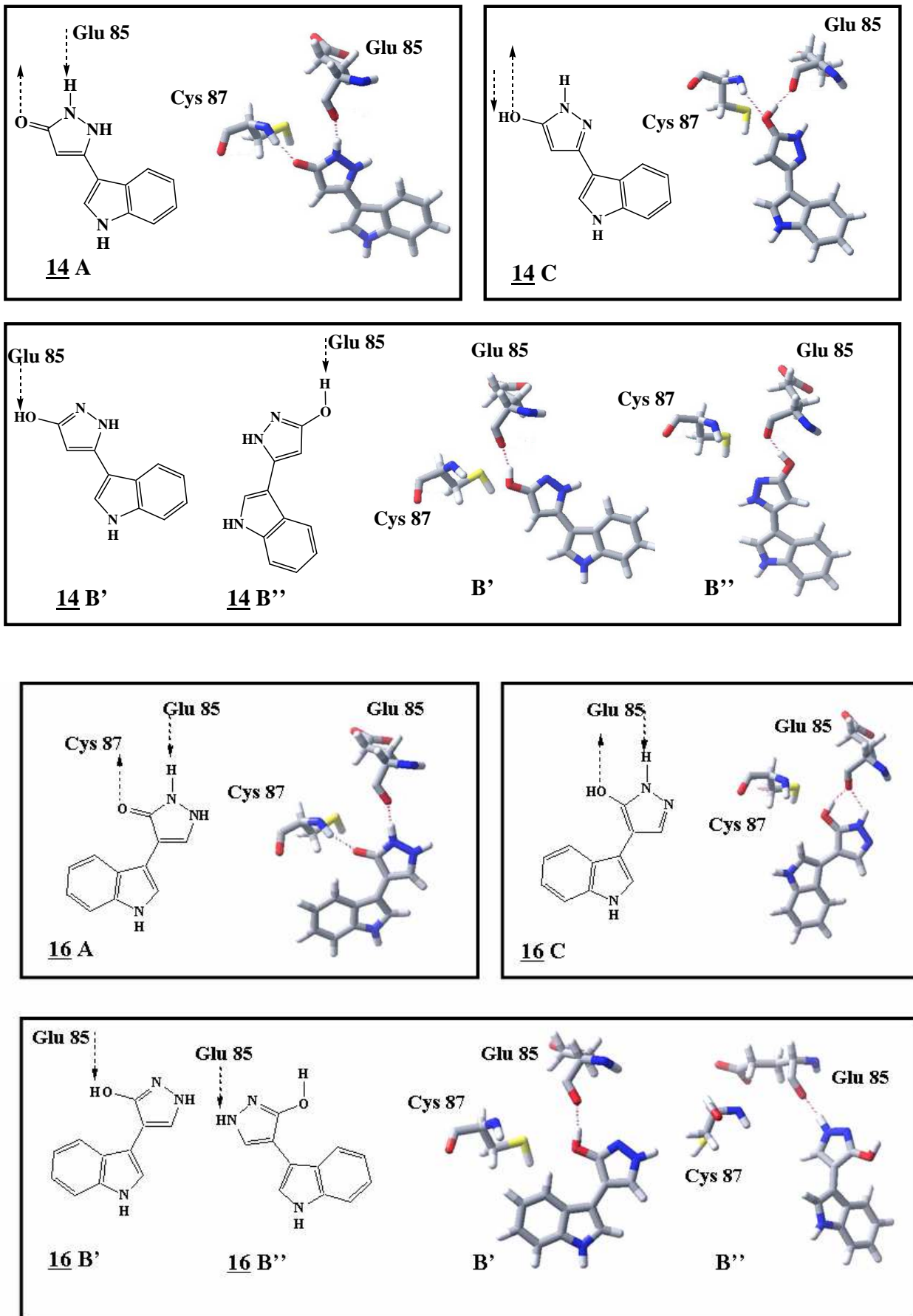
Composés	% d'inhibition de la Chk1 à 10 μ M	IC ₅₀ de la Chk1 (μ M)	% d'inhibition de la Src à 1 μ M	Activités antiprolifératives (μ M)		
				L1210	HCT116	HT29
Granulatimide	93,9	0,081	35,99	2,8	6,1	5,7
Isogranulatimide	89,7	0,44	-20,99	10	13	13,7
<u>N</u>	94,4	0,020	-11,94	32,7	nd	9,7
<u>14</u>	7,8	5	nd	49,1	49,2	84,0
<u>16</u>	20,4	5	nd	8,2	2,2	18,4
<u>31</u>	3,4	nd	nd	74,3	60,1	84,3

Tableau 20: Activités biologiques des intermédiaires pyrazolinones et pyridazine.

Les IC₅₀ des composés **14** et **16** sont identiques (5 μ M) alors que la pyridazine **31** est quasiment inactive. Ces résultats biologiques ont été complétés par une modélisation moléculaire réalisée au laboratoire par Bettina Aboab. La modélisation a été effectuée en utilisant les données de la Protein Data Bank du complexe de la Chk1/Staurosporine.

Les différentes formes tautomères des composés **14** (A, B, C) et **16** (A, B, C) ainsi que leur modélisation moléculaire sont représentées **Figure 164**. On note que pour les composés **14A** et **16A**, les deux liaisons hydrogènes essentielles sont présentes. Dans le cas des conformères **14B'**, **14B''**, **16B'**, **16B''**, il n'existe qu'une seule liaison hydrogène entre le groupement hydroxyle et le carbonyle de Glu⁸⁵. En ce qui concerne les composés **14C** et **16C**, deux liaisons hydrogènes sont observées mais elles ont lieu soit avec le même groupement hydroxyle (**14C**), soit uniquement avec Glu⁸⁵ (**16C**).

Au vu de ces résultats, on peut supposer que l'activité des composés **14** et **16**, quoique très modeste, est due à la présence des deux liaisons hydrogènes essentielles, et que ces composés sont sous la forme tautomère **A** dans le milieu biologique utilisé lors des tests.

Figure 164: Modélisation moléculaire sur les composés **14** et **16**.

Le composé **31** n'établit quant à lui qu'une liaison hydrogène avec le site actif de l'ATP (**Figure 165**) ce qui peut expliquer son absence d'activité.

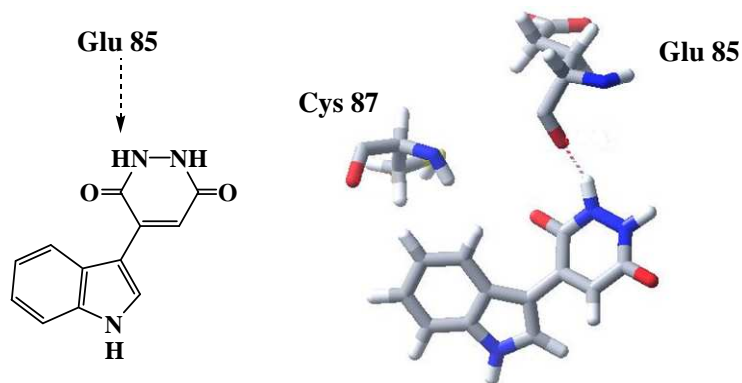


Figure 165: Modélisation moléculaire sur le composé **31**. Une seule des liaisons hydrogènes essentielles est présente.

En ce qui concerne les activités antiprolifératives, le composé **16** est plus cytotoxique que son régioisomère **14** vis-à-vis des trois lignées cellulaires. L'inhibition d'autres kinases que la Chk1 pourrait expliquer la cytotoxicité du composé **16**.

4) Activités des tétracycles différemment substitués:

Des tétracycles différemment substitués ont été obtenus lors de nos synthèses. Il était intéressant de les tester afin d'évaluer l'influence des hétérocycles D et E.

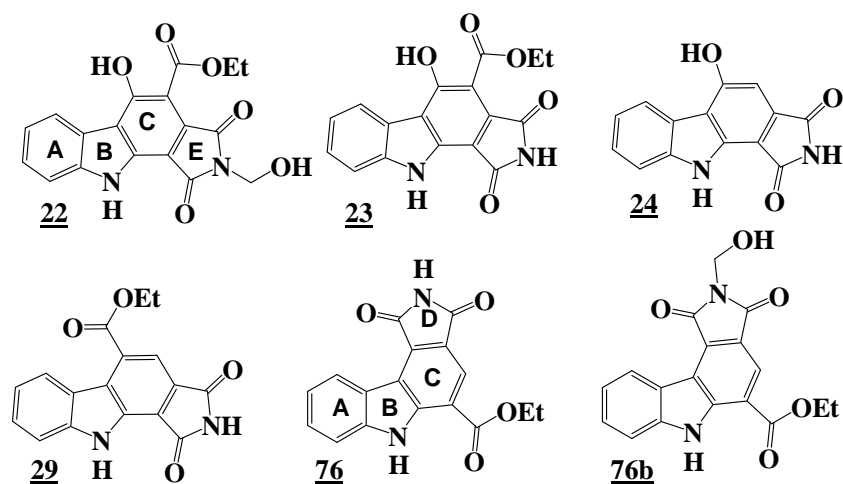


Figure 166: Structures des tétracycles.

Composés	% d'inhibition de la Chk1 à 10 μ M	IC ₅₀ de la Chk1 (μ M)	% d'inhibition de la Src à 1 μ M	Activités antiprolifératives (μ M)		
				L1210	HCT116	HT29
Granulatimide	93,9	0,081	35,99	2,8	6,1	5,7
Isogranulatimide	89,7	0,44	-20,99	10	13	13,7
<u>N</u>	94,4	0,020	-11,94	32,7	nd	9,7
<u>22</u>	-83	nd	-12,5	10,6	11,5	31,7
<u>23</u>	-36	nd	nd	57,5	33,6	84,9
<u>24</u>	11	nd	nd	54,4	34,4	46,7
<u>29</u>	45,3	nd	-15	4,9	3,8	6,4
<u>76</u>	71,7	>5	nd	5,8	2,3	4,0
<u>76b</u>	72,4	0,217	-17,5	5,5	2,9	3,9

Tableau 21: Activités biologiques des structures ouvertes.

Parmi ces composés, seuls les composés **76** et **76b** possédant le maléimide en tant qu'hétérocycle supérieur, sont capables d'inhiber la Chk1 de façon significative. La faible inhibition de la Chk1 par les composés **24** et **29** ou l'absence de pouvoir inhibiteur des composés **22** et **23**, peut s'expliquer par l'absence des deux liaisons hydrogènes essentielles qui devraient avoir lieu avec Glu⁸⁵ et Cys⁸⁷. Le composé **76b**, possédant un groupement hydroxyméthyle sur l'azote imidique, est un inhibiteur de la Chk1 plus puissant que le composé **76** dans lequel l'azote imidique est non substitué. A priori, ce résultat paraissait surprenant puisqu'un substituant sur l'azote imidique devrait éliminer l'une des liaisons hydrogène fondamentales avec l'enzyme à savoir celle avec Glu⁸⁵. Afin de mieux comprendre ce résultat, une modélisation moléculaire a été effectuée par Bettina Aboab des composés **76** et **76b** dans le site de fixation de l'ATP de la Chk1 en utilisant la structure du complexe Chk1/staurosporine disponible dans la « Protein Data Bank » (**Figure 167**). Dans les deux cas, les liaisons hydrogène fondamentales avec les résidus Glu⁸⁵ et Cys⁸⁷ sont présentes. A la différence du composé **76**, dans lequel liaison hydrogène avec Glu⁸⁵ s'établit entre le carbonyle de Glu⁸⁵ et le NH imidique, dans le composé **76b**, la liaison hydrogène avec Glu⁸⁵ s'établit entre le carbonyle de Glu⁸⁵ et l'hydrogène de l'hydroxyle. Une liaison hydrogène intramoléculaire est observée dans les deux cas entre le carbonyle de l'ester et le NH indolique. La superposition des deux modèles permet de visualiser la différence d'orientation

des composés **76** et **76b** dans le site actif de l'enzyme ainsi que le léger déplacement du résidu Glu⁸⁵ qui permet à l'hydroxyle de **76b** d'établir une liaison hydrogène avec ce résidu.

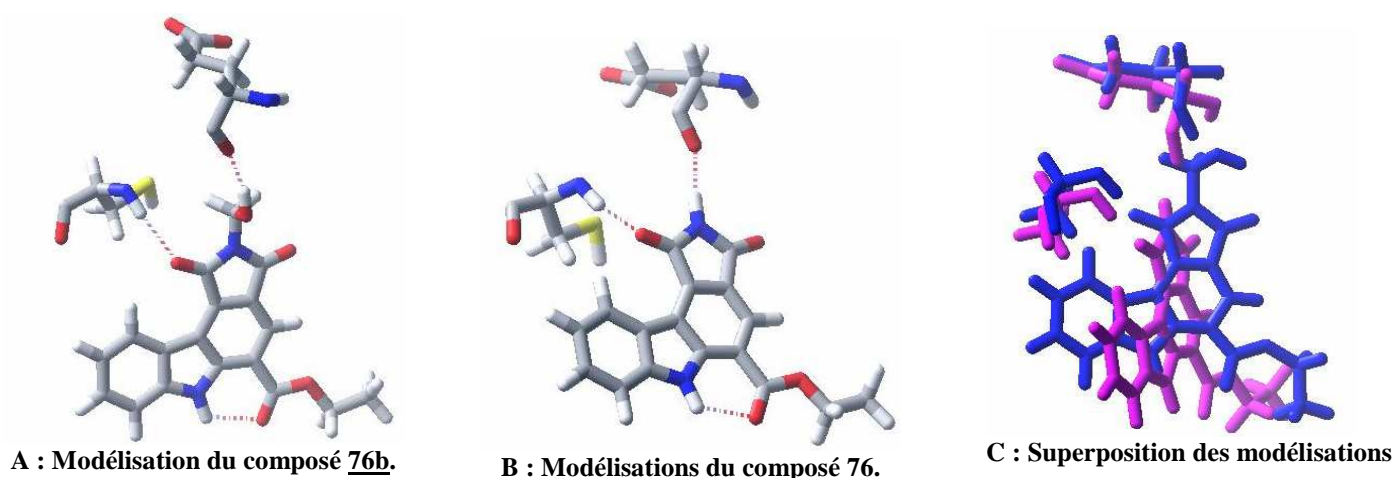


Figure 167: Modélisations moléculaires réalisées sur les composés **76** et **76b**.

5) Activités des structures mixtes imide et lactame /cyclopentanone, cyclohexanone et cyclopentanedione :

Différentes molécules possédant un carbocycle E à 5 ou 6 chaînons fonctionnalisés ont été synthétisées (**Figure 167**). Leurs activités antiprolifératives et inhibitrices de la Chk1 ont été évaluées et comparées à celles des composés de référence (**Tableau 22**).

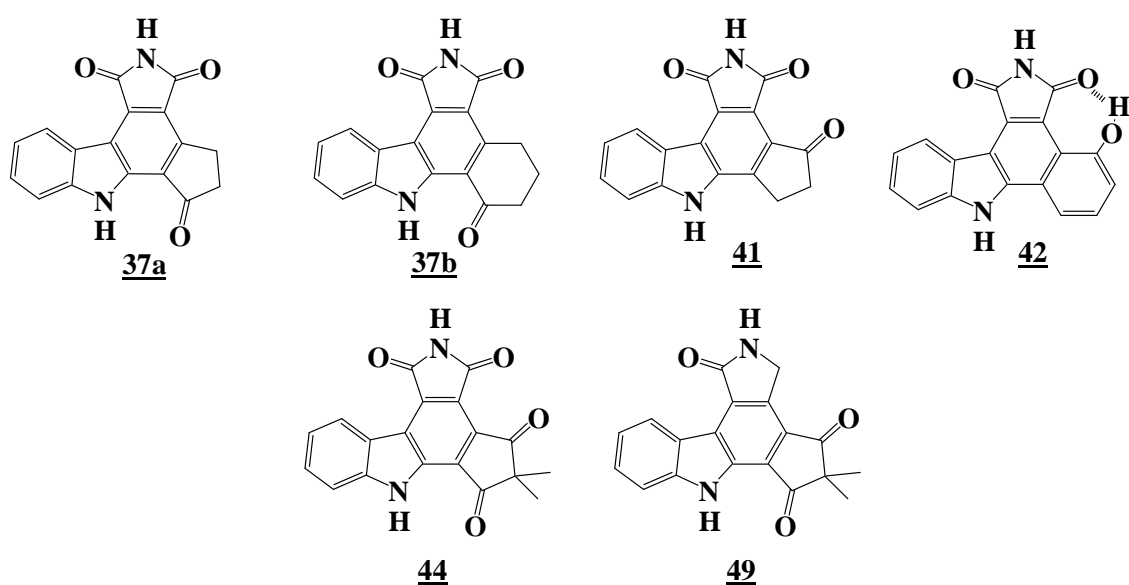


Figure 168: Structures mixtes imide et lactame/cyclopentanone, cyclohexanone, cyclopentanedione.

Composés	% d'inhibition de la Chk1 à 10 μ M	IC ₅₀ sur la Chk1 (μ M)	% d'inhibition de la Src à 1 μ M	Activités antiprolifératives (μ M)		
				L1210	HCT116	HT29
Granulatimide	93,9	0,081	35,99	2,8	6,1	5,7
Isogranulatimide	89,7	0,44	-20,99	10	13	13,7
<u>N</u>	94,4	0,020	-11,94	32,7	nd	9,7
<u>37a</u>	Insoluble : ne peut être testé					
<u>37b</u>	15,3	nd	-10,5	3,7	1,1	15,5
<u>41</u>	72	nd	-7,5	58,4	9,7	16,1
<u>42</u>	93	0,90	19	19,2	17,5	46,4
<u>44</u>	63	14,5	nd	33	32,7	38,5
<u>49</u>	20	nd	19	2,2	1,7	2,5

Tableau 22: Résultats biologiques des structures mixtes imide et lactame/ cyclopentanone, cyclohexanone et cyclopentanedione.

Le composé **37b** possédant un cycle à six chaînons et un carbonyle orienté vers le bas n'est pas un inhibiteur efficace de Chk1. Son régioisomère **42** (isolé sous sa forme oxydée et émol) est en revanche un inhibiteur efficace de la Chk1. L'orientation du groupement carbonyle dans ce cas est importante pour une bonne inhibition de la Chk1. Le composé **41**, possédant un cycle à cinq chaînons, est un inhibiteur modéré de la Chk1. Malheureusement, son régioisomère **37a** n'a pu être testé en raison de son insolubilité.

Les composés diméthylés **44** et **49** n'inhibent pas la Chk1 de manière significative. La présence des méthyles pourraient nuire à la complexation des composés dans le site actif de l'ATP. Il est à noter que les composés **37b** et **49** présentent des cytotoxicités intéressantes sur les lignées cellulaires testées. Il se pourrait que ces composés inhibent d'autres kinases que celles testées. Il semblerait que la modification du cycle E, engendre, pour ces 2 composés, une meilleure stabilité vis-à-vis des nucléophiles.

Le composé **42** étant l'inhibiteur le plus puissant de la Chk1 dans cette série, nous avons voulu tester sa stabilité dans le milieu RPMI utilisé pour les tests sur cellules. A 100 μ L d'une solution 1 mM du composé **42** dans le DMSO est ajouté 900 μ L d'eau ultrapure contenant 0,1% de TFA. Cette solution est injectée dans une colonne HPLC (HPLC analytique HP1090. La longueur d'onde de détection est de 210 nm. On réalise un gradient

d'éluion d'acétonitrile (0.1% TFA)/eau (0.1% TFA) de 5:95 à 95:5 sur 15 min. Colonne Waters XTerra MS C18, 2.5 μ M, 3.0x50mm). Dans le DMSO seul, un pic unique est observé pour un temps de rétention de 8,4 min.

A 100 μ L d'une solution 1 mM du composé **42** dans le DMSO est ajouté 900 μ L du milieu RPMI. Dans ces conditions, on observe un léger épaulement du pic de temps de rétention 8,4 min qui n'évolue pas au cours du temps (analyses réalisées immédiatement après la préparation de la solution, au bout de 2h, 4h ou 2 jours). Une analyse LC-MS va être réalisée qui nous permettra de conclure sur la nature de cet épaulement.

6) Activités des structures mixtes imide et lactame/benzoquinone et hydroquinone:

Les différentes structures mixte imide /benzoquinone, imide et lactame/hydroquinone et de quelques dérivés que nous avons synthétisés sont présentées **Figure 169**.

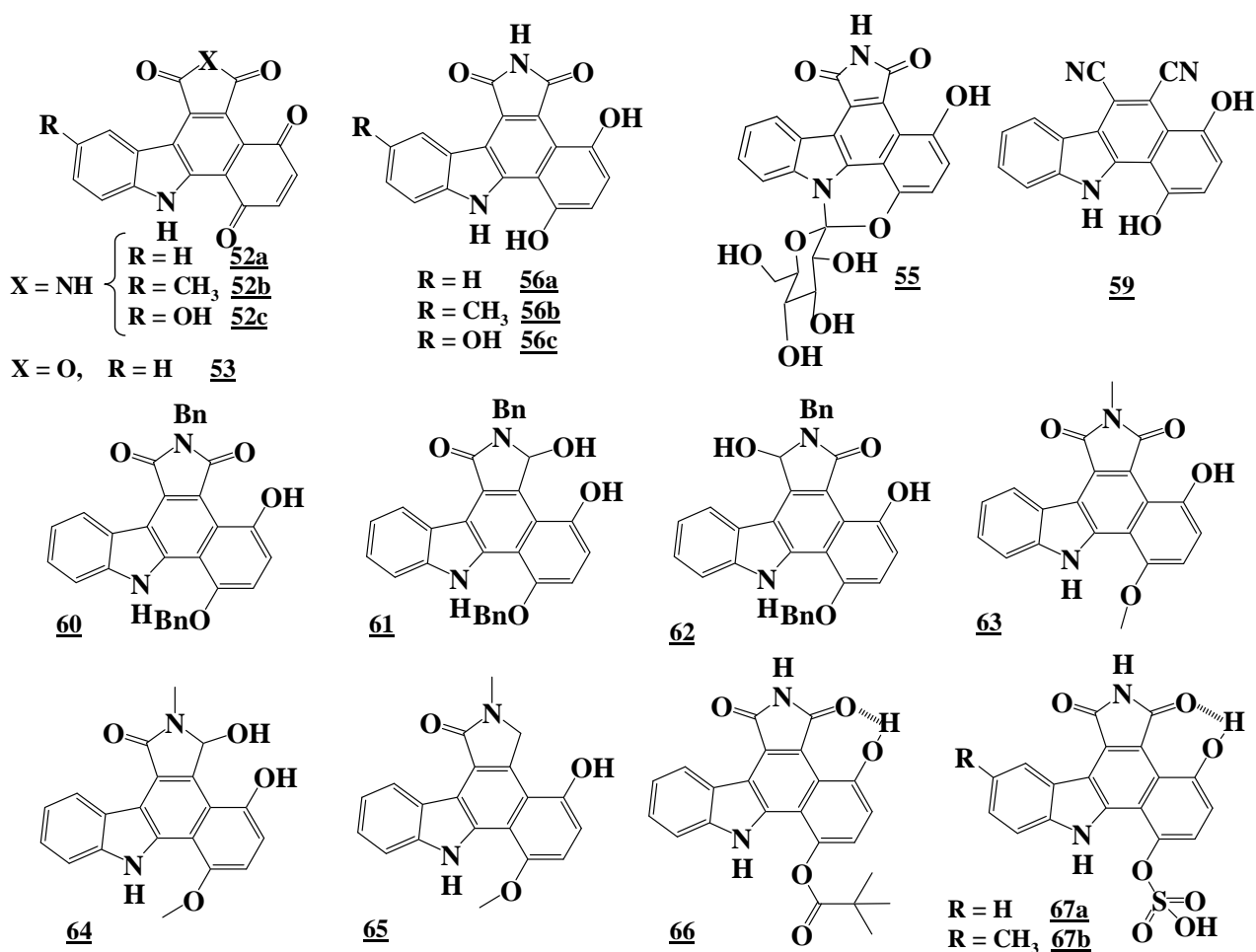


Figure 169: Structures des structures imide et lactame/ benzoquinone et hydroquinone.

Tous ces composés ont été testés sur trois lignées cellulaires tumorales et leur activité inhibitrice de la Chk1 a été évaluée (**Tableau 23**).

Composés	% d'inhibition de la Chk1 à 10 μ M	IC ₅₀ de la Chk1 (μ M)	% d'inhibition de la Src à 1 μ M	Activités antiprolifératives (μ M)		
				L1210	HCT116	HT29
Granulatimide	93,9	0,081	35,99	2,8	6,1	5,7
Isogranulatimide	89,7	0,44	-20,99	10	13	13,7
<u>N</u>	94,4	0,020	-11,94	32,7	nd	9,7
<u>52a</u>	86	0,269	nd	6,8	5,3	17,4
<u>52b</u>	86	0,107	4,5	0,75	0,7	20,6
<u>52c</u>	95	0,026	1	8,4	15,4	50,6
<u>53</u>	-67	nd	-47	23,9	4	56,3
<u>55</u>	73	1,92	9	21,2	46,4	57,8
<u>56a</u>	96	0,311	19	1,1	3,1	5,6
<u>56b</u>	99	0,161	nd	0,6	1,6	3,8
<u>56c</u>	94	0,023	58	1,4	2,7	26,4
<u>59</u>	-34	nd	nd	2,7	0,9	6,2
<u>60</u>	45	nd	nd	3,9	1,1	1,2
<u>61</u>	53	nd	nd	0,9	0,9	18,2
<u>62</u>	44	nd	nd	10,0	15,4	4,9
<u>63</u>	45	nd	nd	>50	23,3	41,2
<u>64</u>	61	8,77	nd	7,9	44,4	>50
<u>65</u>	8	nd	nd	1,9	8,8	7,3
<u>66</u>	66	3,69	nd	1,7	3,7	16,5
<u>67a</u>	62	1,79	nd	27,5	>50	<46
<u>67b</u>	70	0,89	nd	25,6	>40	50

Tableau 23: Résultats biologiques des composés hydroquinones et benzoquinones.

Les quinones **52a**, **52b**, **52c** et leurs hydroquinones correspondantes **56a**, **56b**, **56c** sont des inhibiteurs efficaces de Chk1. Il est à noter que quinones et hydroquinones correspondantes inhibent la Chk1 avec des valeurs d'IC₅₀ très similaires. Les inhibiteurs les

plus puissants sont ceux possédant un groupe hydroxyle sur l'indole (composés **52c** et **56c**). Ils présentent des IC₅₀ supérieures à celles de la granulatinide et l'isogranulatinide et du même ordre de grandeur que celle du bis-imide **N**.

Des tests de stabilité ont été effectués sur la quinone **52a** dans les mêmes conditions que celles décrites pour le composé **42**. Dans le DMSO, un seul pic est observé avec un temps de rétention de 9,9 min. Dans le milieu RPMI, un seul pic est observé au temps de rétention de 9,9 min. On note cependant une diminution de son intensité au cours du temps sans apparition de produits de dégradation. On pourrait penser que le produit précipite dans l'échantillon, mais ce n'est pas le cas car l'échantillon est resté limpide.

La réalisation des tests de stabilité des composés **56(a-c)**, a révélé une instabilité des hydroquinones qui seraient vraisemblablement dues à leur oxydation en quinones. Effectivement des études par HPLC réalisées avec les composés **56(a-c)** en solution dans le DMSO ont montré une oxydation partielle de l'hydroquinone en quinone.

Afin de pallier ce problème, nous avons effectué différentes protections sur les composés **56** pour empêcher l'oxydation, accroître la solubilité et éventuellement créer de nouvelles liaisons hydrogène dans le site de fixation de l'ATP de la Chk1. Les modifications apportées à l'hydroquinone **56a** (introduction d'un sulfate, d'un pivalate, ...) n'ont malheureusement pas permis d'augmenter le pouvoir inhibiteur sur la Chk1, bien au contraire (l'inhibition de la Chk1 du pivalate **57** est divisée par dix par rapport à l'hydroquinone **56a**, celle du sulfate est quant à elle divisée par six).

Le composé **59** qui ne possède pas l'hétérocycle supérieur est plutôt un activateur de la Chk1. Les composés **60** à **65** dans lesquels l'azote imidique est substitué par un méthyle ou un benzyle sont de très faibles inhibiteurs de la Chk1, ce qui peut s'expliquer par l'impossibilité d'établir une liaison hydrogène avec le résidu Glu⁸⁵.

Néanmoins, les cytotoxicités de la plupart de ces composés sont très supérieures à celle du bis-imide **N**, ce qui semble montrer que les modifications apportées sur le cycle E ont entraîné une plus grande stabilité de ces composés.

IV. Conclusion :

En conclusion, de nouvelles séries d'inhibiteurs puissants de la Chk1 ont été synthétisés au cours de ce travail. Le composé lactame/imide **8d** est un inhibiteur de la Chk1 plus puissant que l'imide **N** de référence. Le lactame/imide **8d** possède toujours l'hétérocycle E de type imide et, de ce fait, pourrait conserver une sensibilité importante aux nucléophiles, ce qui pourrait expliquer les faibles cytotoxicités de ce composé.

Les imide/quinone **52c** et imide/hydroquinone **56c** présentent un pouvoir inhibiteur voisin de celui du bis-imide **N**. Certes, l'hydroquinone peut s'oxyder en quinone, et la quinone se réduire en hydroquinone. Cependant, ces deux composés présentent des IC₅₀ sur la Chk1 très proches et le cycle E, contrairement à un hétérocycle imide devraient être beaucoup plus stables.

Le composé **76b** dans lequel l'hétérocycle E est absent et dont l'azote imidique du cycle D est substitué par un hydroxyméthyle présente un pouvoir inhibiteur significatif de la Chk1. Les résultats de la modélisation moléculaire dans le site de fixation de l'ATP de l'enzyme ont montré que le site actif pouvait s'adapter à cette substitution. Il est intéressant de constater que le composé **76b** est un meilleur inhibiteur de la Chk1 que son analogue **76** dont l'azote imidique est libre. Ce composé pourrait constituer un chef de file pour de nouvelles séries d'inhibiteurs de la Chk1.

Conclusion et perspectives

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de composés à potentialités antitumorales.

Dans le cadre de ce travail, nous avons réalisé la synthèse d'analogues de la granulitimide et de l'isogranulitimide, composés naturels extraits de l'ascidie *Didemnum granulatum*, qui sont des inhibiteurs efficaces de la Chk1.

L'objectif de ce travail était de réaliser la synthèse d'analogues du composé bis-imide N, qui est un inhibiteur puissant de la Chk1 ($IC_{50} = 0,020 \mu M$), en modifiant les hétérocycles E et/ou D dont la sensibilité aux nucléophiles semble être à l'origine de l'inefficacité des composés de type bis-imides sur cellules.

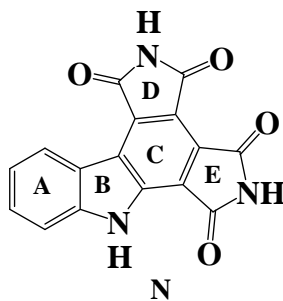


Figure 170: Structure du composé bis-imide N.

Des modifications structurales sur les hétérocycles D et E ont donc été apportées en vue de réaliser une étude de relations structure-activité.

➤ Tout d'abord, les synthèses de sept composés de structure mixte imide/lactame ont été effectuées.

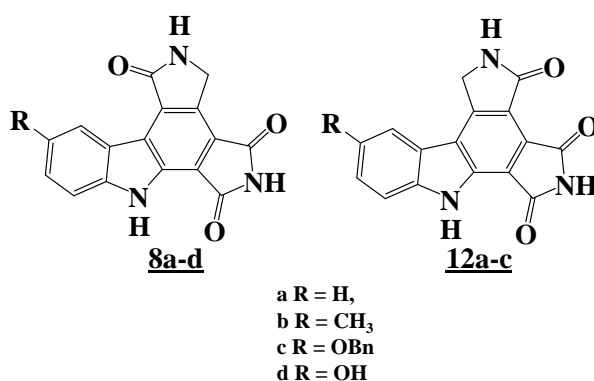


Figure 171: Structures mixtes imide/lactame.

Les tests biologiques ont mis en évidence à la fois l'importance de l'orientation du groupement carbonyle du lactame ainsi que de celle du substituant porté par le cycle A. Dans

cette famille de composés imide/lactame, le composé **8d**, possédant le groupement carbonyle du côté de la partie indolique et un groupement hydroxyle sur le cycle A, est un inhibiteur plus puissant que le composé **N** de référence avec une IC_{50} de 0,015 μ M.

✚ Nous souhaitons aussi apporter des modifications des hétérocycles D et E en effectuant la synthèse de composés de structures mixtes imide/pyrazolinone et imide/pyridazine, mais leurs synthèses se sont avérées plus difficiles à réaliser. Malgré les différentes voies envisagées, nous n'avons pas pu atteindre complètement notre objectif, en raison, d'une part, des problèmes de formes tautomères des diènes intermédiaires **14** et **16** et, d'autre part de la réactivité de l'hétérocycle imide E en présence d'hydrazine. La structure du composé **IA** reste à confirmer par spectrométrie de masse.

Néanmoins, au cours de ces synthèses, nous avons pu isoler plusieurs tétracycles différemment substitués **22**, **23**, **24**, **29**, **76** et **76b**, dans lesquels l'un ou l'autre des hétérocycles D ou E est absent, ainsi qu'une structure imide/anhydride **33** qui viennent compléter notre chimiothèque dans le cadre de notre étude de relation structure-activité.

Malheureusement, le composé *N*-amino-maléimide/pyridazine **35** n'a pas pu être testé en raison de son insolubilité.

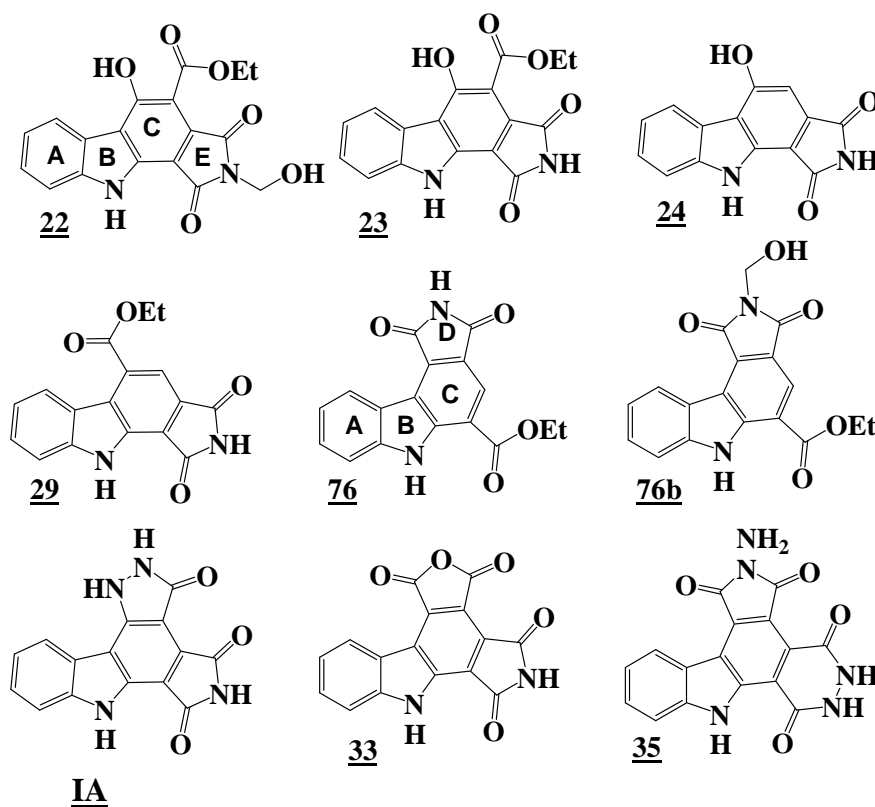


Figure 172: Structures des composés **22**, **23**, **24**, **29**, **76**, **76b**, **33** et **35**.

Parmi tous ces composés, le composé **76b**, dans lequel l'hétérocycle E est absent et dont l'azote imidique du cycle D est substitué par un hydroxyméthyle, présente un pouvoir inhibiteur intéressant sur la Chk1. Son pouvoir inhibiteur sur la Chk1 est très supérieur à celui de son analogue **76** dont l'azote imidique est libre.

La liaison hydrogène qui s'établit généralement entre le groupement carbonyle du résidu Glu⁸⁵ du site actif de la Chk1 et le NH de l'hétérocycle imide D s'établit pour le composé **76b** avec l'hydrogène de l'hydroxyle.

Ce résultat nous conduit à envisager de nouvelles familles d'inhibiteurs de la Chk1 dans lesquelles l'hétérocycle imide D porterait un groupement hydroxyméthyle.

Il est aussi à noter qu'il serait intéressant d'effectuer la synthèse de composés de type pyrazolinone aromatique afin de valoriser la synthèse des diènes **14** et **16**. On pourrait envisager une bromation de ces composés, suivie d'un couplage de Suzuki et d'une cyclisation oxydante.

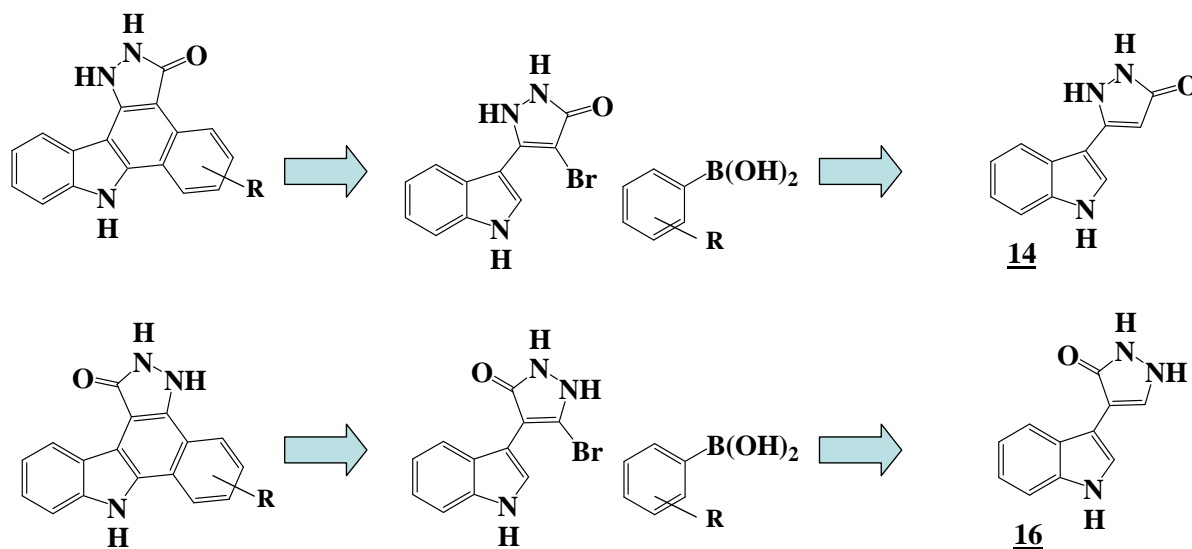


Figure 173: Synthèses à envisager afin de valoriser les composés **14** et **16**.

✚ La deuxième partie de ce travail a porté sur la modification de l'hétérocycle E. En effet, les études de stabilité des bis-imides dans le milieu de culture des cellules (milieu RPMI) par HPLC ont montré une ouverture de l'un des hétérocycles imide. On peut penser que l'imide le plus sensible est l'imide E. En effet, la rébeccamycine et ses dérivés qui possèdent un hétérocycle supérieur de type imide est stable dans ce milieu. Différentes structures mixtes ont été réalisées : imide/cyclopentanone, cyclohexanone ou

cyclopentanedione, imide/benzoquinone et imide/hydroquinone (pour laquelle des groupements solubilisants ont été introduits).

Les régioisomères imide/cyclopentanone et cyclohexanone **37a**, **37b**, **41** et **42** ont nécessité deux voies de synthèse différentes. La première est la voie classique de réaction de Diels-Alder suivie d'une oxydation à partir de l'indolyl-maléimide **Pa** pour accéder aux composés **37a** et **37b**. La deuxième qui conduit aux composés **41** et **42** passe par un couplage de Suzuki sur le carbone C2 de l'indole suivi d'une réaction de Diels-Alder et d'une oxydation. Le composé **44** peut quant à lui être obtenu via les deux voies de synthèse précédentes.

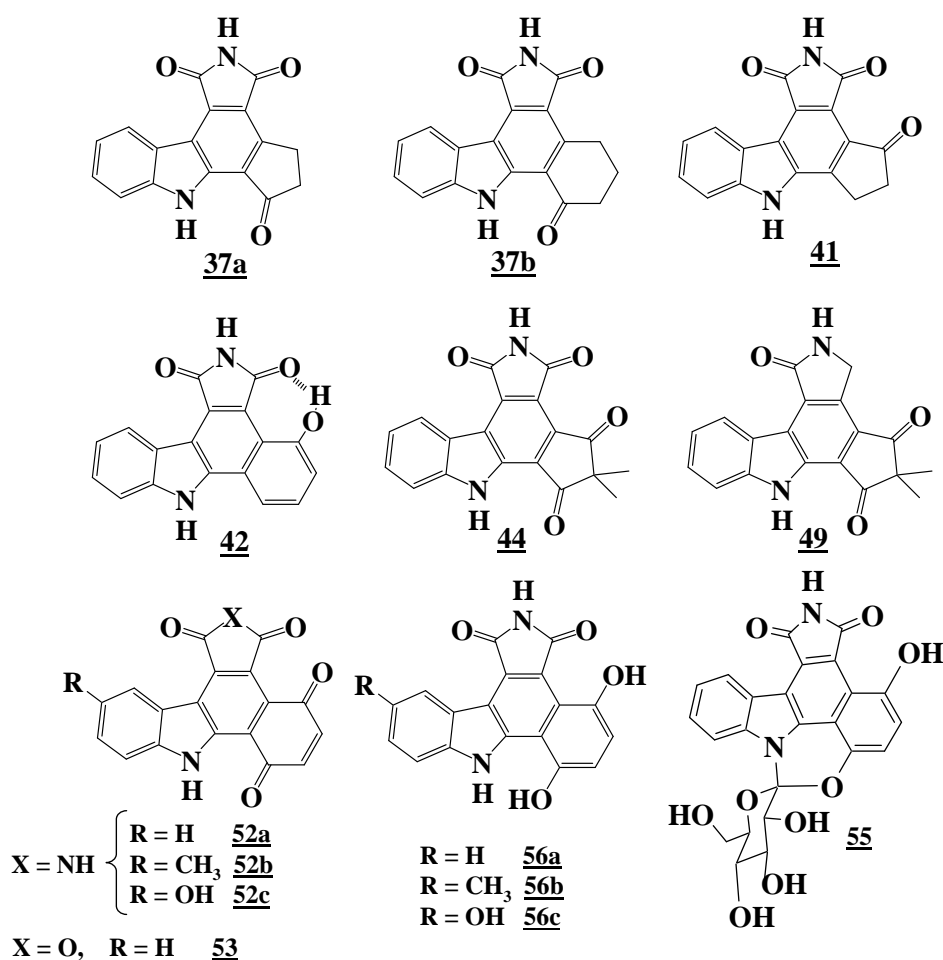


Figure 174: Modifications de l'hétérocycle E.

D'après les tests biologiques qui ont pu être effectués, il semblerait que l'orientation du carbonyle du cycle E vers l'azote indolique entraîne une inhibition de la Chk1 très inférieure à celle observée lorsque le carbonyle du cycle E est orienté vers l'imide (**41** : 72% d'inhibition de la Chk1 à 10 μM , **37b** : 15,3%, **42** : 93%). Malheureusement, le composé **37a**

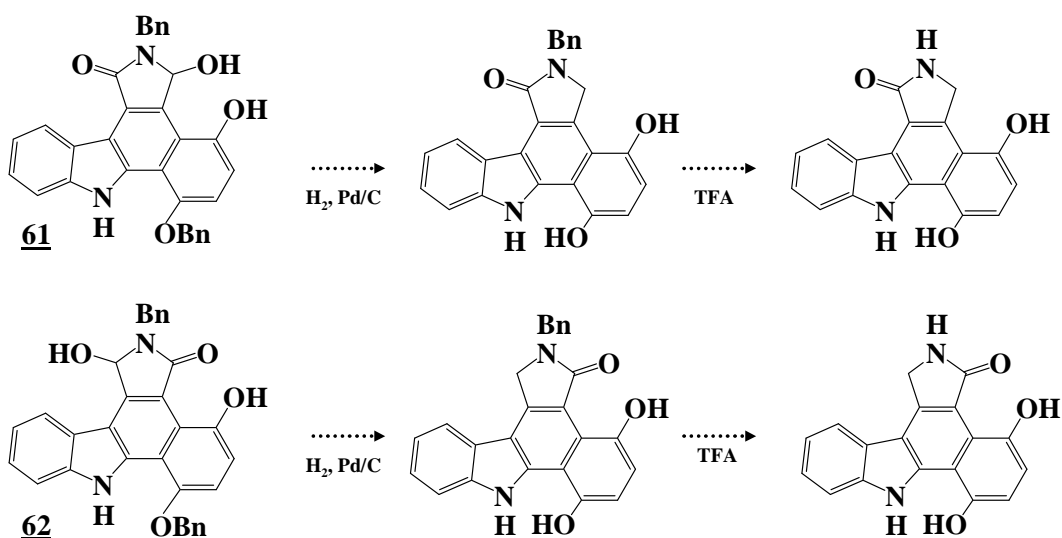
n'a pas pu être testé en raison de son insolubilité et le composé **42** n'est pas tout à fait comparable au composé **37b** puisque le cycle E est un aromatique.

Dans ces différentes familles, les composés de structures imides/quinone et imide/hydroquinone **52c** et **56c** (possédant un groupement hydroxyle sur le cycle A) présentent les meilleures inhibitions de la Chk1 avec des IC_{50} de 0,026 μ M et 0,023 μ M. Ces deux composés, possédant des IC_{50} très proches et voisines de celle du bis-imide **N**, devraient être plus stables que le composé bis-imide **N** qui s'ouvre facilement dans le milieu de culture employé lors des tests biologiques. Dans le milieu de culture et dans le DMSO, on note simplement une oxydation de l'hydroquinone en quinone, ce qui peut expliquer les valeurs très proches des IC_{50} sur la Chk1.

Les composés de structures lactame/hydroquinone et imide/uracile nécessitent encore quelques étapes afin d'accéder aux produits finaux.

- Une étape d'hydrogénolyse et de déprotection de l'hétérocycle lactame D en ce qui concerne les structures mixtes lactame/hydroquinone.
- Une cyclisation oxydante et une déprotection (hydrogénolyse puis aminolyse) pour la structure imide/uracile.

Structure mixte lactame/hydroquinone:



Structure mixte imide/uracile:

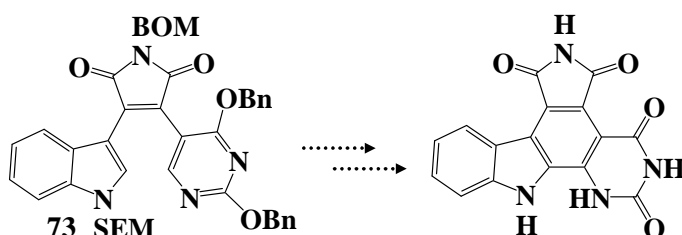


Figure 175: Dernières étapes pour l'accès aux structures lactame/hydroquinone et imide/uracile.

Quatrième partie

Partie expérimentale

I. Partie Chimie

Méthodes d'analyses

Les points de fusion sont mesurés sur un microscope Reichert.

Les spectres infra-rouge (IR) sont enregistrés sur un appareil Perkin-Elmer 881 ; les spectres sont réalisés à partir de pastilles de KBr pour les solides, et en films (NaCl) pour les huiles.

Les nombres d'onde des bandes principales sont exprimés en cm^{-1} .

Les spectres de masses à basse résolution (Impact Electronique, Ionisation chimique et Electrospray) ont été réalisés au service de spectrométrie de masse (Aubière) sur un spectromètre de type MS Hewlett Packard :

ESI : Electrospray Ionization

APCI : Atmospher Pressure Chemical Ionization

IE: Impact Electronique

Les masses exactes ont été déterminées sur le même appareil en mode ESI+ ou ESI-.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton sont enregistrés sur des spectromètres Brüker AC 400 et Avance 400 (400 MHz en ^1H et 100 MHz en ^{13}C), et Avance 500 MHz pour certaines expériences 2D de type HMBC, HSQC, COSY et NOESY. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm). Les constantes de couplage (J) sont exprimées en hertz (Hz). Les abréviations utilisées pour l'interprétation des spectres sont les suivantes :

s : singulet,

se : singulet élargi

d : doublet,

pd: pseudo doublet

t : triplet,

pt : pseudo triplet

q : quadruplet,

dd : doublet dédoublé,

td : triplet dédoublé

ddd: doublet de doublets dédoublé

m : multiplet.

Les différentes synthèses sont suivies par chromatographie sur couche mince (CCM). Celles-ci sont effectuées sur des plaques de silice MERCK 60 F - 254.

Les purifications par chromatographie sur gel de silice ont été effectuées sur silice KIESELGEL 60 (Merck) 0,063-0,200 mm ou sur silice flash GEDURAN SI 60 (Merck) 0,040-0,063 mm.

Procédure typique de la réduction des indolyl-maléimides Pa-d avec LiAlH₄ :

Le 3-(indol-3-yl)-maléimide **Pa** (200 mg ; 0,94 mmol) est mis en solution dans du THF anhydre (40 mL). Une solution de LiAlH₄ 1M dans l'éther (6 mL) est ajoutée goutte à goutte à température ambiante. Après 3 jours d'agitation, la solution est refroidie à 0 °C et 14 mL d'eau sont ajoutés. Le milieu est ensuite acidifié à pH 2 à l'aide d'une solution aqueuse de HCl 2 N (2 mL).

Le mélange est extrait 3 fois à l'acétate d'éthyle et lavé avec une solution saturée de NaHCO₃. Les phases organiques sont réunies et séchées sur MgSO₄ et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant: de AcOEt/cyclohexane 1 :1 à AcOEt/MeOH 9:1).

Procédure typique de la réduction des indolyl-maléimides Pa-d avec NaBH₄ :

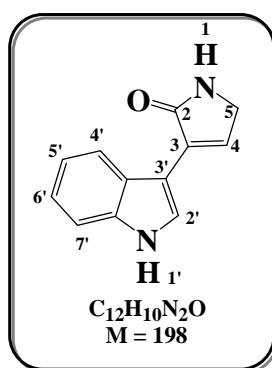
Le 3-(indol-3-yl)-maléimide **Pa** (500 mg ; 2,4 mmol) est mis en solution dans du THF anhydre (50 mL). Le borohydure de sodium (90 mg ; 2,4 mmol) est additionné par portions.

Le milieu réactionnel est agité 24h à température ambiante. Après refroidissement à 0 °C de l'eau est additionnée et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont réunies et séchées sur MgSO₄ et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur une colonne de silice flash (éluant : de cyclohexane/AcOEt 1:1 à AcOEt/MeOH 9 :1).

Procédure typique de la réduction des indolyl-maléimides Pa-d avec DIBAL-H :

Le 3-(indol-3-yl)-maléimide **Pa** (200 mg ; 0,94 mmol) est mis en solution dans du THF anhydre (70 mL). Après refroidissement à - 78 °C, une solution d'hydruure de diisobutylaluminium 1M dans du toluène (2,3 mL) est additionnée goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 1h30 à - 78 °C et une solution de DIBAL-H 1M dans du toluène (2,3 mL) est de nouveau ajoutée. Le milieu réactionnel est agité 6 h à - 78 °C et une solution saturée de NaHCO₃ est ajoutée goutte à goutte à 0 °C.

Le mélange est extrait 3 fois à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies et séchées sur MgSO₄ et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant : de AcOEt/cyclohexane 1:1 à AcOEt/ MeOH 9:1).

3-(1*H*-Indol-3-yl)-1*H*-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (1a)**1a**

Solide orange-marron

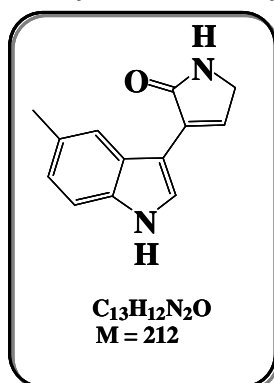
F = 205-207 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1628 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1678 cm^{-1} , ν_{NH} 3284 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour C₁₂H₁₁N₂O 199,0871, trouvée 199,0880.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 4,06 (2H, s, CH₂) ; 7,15 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, H_{5'}) ; 7,24 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, H_{6'}) ; 7,43 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H₄) ; 7,49 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H_{7'}) ; 7,93 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H_{4'}) ; 8,28 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, H_{2'}) ; 8,44 (1H, s, NH_I) ; 11,36 (1H, s, NH_{indole}).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 46,0 (CH₂) ; 106,8 ; 125,5 ; 130,6 ; 136,0 (C quat) ; 111,8 ; 119,3 ; 119,6 ; 121,5 ; 125,5 ; 131,8 (C tert) ; 173,1 (C=O).

3-(5-Methyl-1*H*-indol-3-yl)-1*H*-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (1b)**1b**

Solide ocre.

F > 300 °C.

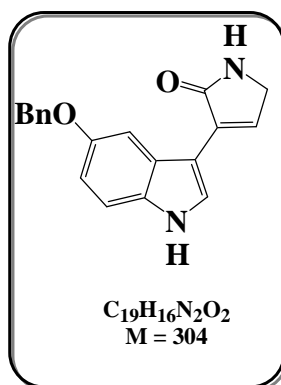
IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1606 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1649 cm^{-1} , ν_{NH} 3100-3300 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{13}H_{12}N_2O$ Na 235,0847, trouvée 235,0853.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,47 (3H, s) ; 4,05 (2H, s) ; 7,02 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,36 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,41 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H_4) ; 7,71 (1H, se) ; 8,22 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 8,40 (1H, s, NH) ; 11,21 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 21,3 (CH_3) ; 45,9 (CH_2N) ; 106,3 ; 125,7 ; 128,3 ; 130,8 ; 134,4 (C quat) ; 111,5 ; 119,3 ; 123,1 ; 125,5 ; 131,5 (C tert) ; 173,2 (C=O).

3-(5-Benzyloxy-1H-indol-3-yl)-1H-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (1c)



1c

Solide marron

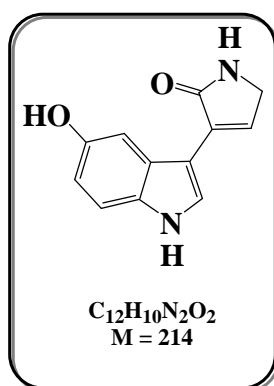
F = 185 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1620 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1680 cm^{-1} , ν_{NH} 3100-3500 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+K]^+$ 343 ; $[M+Na]^+$ 327.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,05 (2H, s) ; 5,20 (2H, s) ; 6,92 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 7,33-7,47 (6H, m) ; 7,54 (2H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 8,23 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 8,41 (1H, s, NH) ; 11,22 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 46,0 (CH_2N) ; 69,9 (CH_2OBn) ; 103,4 ; 112,0 ; 112,4 ; 126,1 ; 127,6 ; 127,7 ; 128,3 (3C) ; 131,3 (C tert) ; 106,7 ; 125,8 ; 130,6 ; 131,2 ; 137,8 ; 153,0 (C quat) ; 173,1 (C=O).

3-(5-Hydroxy-1H-indol-3-yl)-1H-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (1d)**1d**

Solide marron.

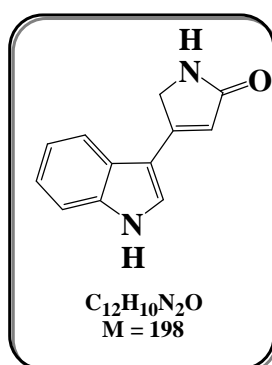
F = 180 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1618 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1672 cm^{-1} , ν_{NH} 3100-3550 cm^{-1} .

Masse (APCI+) [M+H]⁺ 215.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 4,04 (2H, s) ; 6,72 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 7,20 (1H, s) ; 7,21 (1H, s) ; 7,27 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 8,18 (1H, s) ; 8,39 (1H, s) ; 8,84 (1H, se) ; 11,08 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 45,9 (CH₂) ; 103,9 ; 111,6 ; 112,1 ; 125,8 ; 130,5 (C tert) ; 106,0 ; 126,3 ; 130,4 ; 131,0 ; 151,4 (C quat) ; 173,2 (C=O).

4-(1H-Indol-3-yl)-1H-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (2a)**2a**

Solide marron.

F = 255 °C.

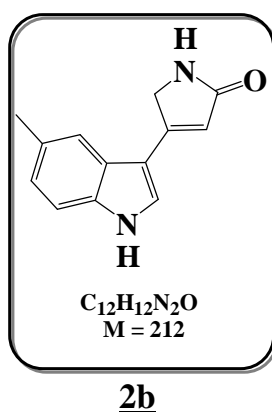
IR (KBr) $\nu_{C=C} = 1610 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{C=O} = 1649 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{N-H} = 3255 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI-) $[M-H]^-$ calculée pour $C_{12}H_9N_2O$ 197,0715, trouvée 197,0722.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,42 (2 H, s, CH_2) ; 6,26 (1H, d, $J = 1,0 \text{ Hz}$, H_3) ; 7,15 (1H, td, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$, H_5) ; 7,19 (1H, td, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$, H_6) ; 7,46 (1 H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$, H_7) ; 7,84 (3 H, m, H_2 , H_4 , NH_1) ; 11,69 (1H, d, $J = 1,0 \text{ Hz}$, NH_{indole}).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 48,3 (CH_2) ; 109,0 ; 124,8 ; 136,9 ; 152,7 (C quat) ; 112,1 ; 114,4 ; 119,9 ; 120,6 ; 122,1 ; 126,7 (C tert) ; 175,0 (C=O).

4-(5-Methyl-1H-indol-3-yl)-1H-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (**2b**)



Solide beige.

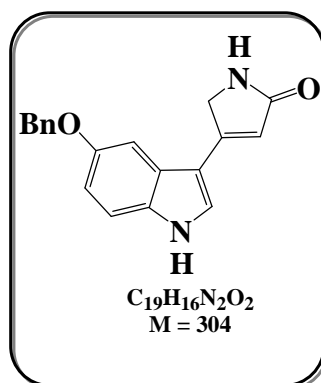
F = 140 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C} 1605 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{C=O} 1649 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{NH} 3035-3430 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{13}H_{13}N_2O$ 213,1028, trouvée 213,1027.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,46 (3H, s) ; 4,43 (2H, s) ; 6,28 (1H, d, $J = 1,0 \text{ Hz}$) ; 7,05 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$) ; 7,37 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,69 (1H, s) ; 7,81 (1H, s) ; 7,82 (1H, s, NH) ; 11,58 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 21,2 (CH_3) ; 48,3 (CH_2N) ; 108,6 ; 125,1 ; 129,4 ; 135,1 ; 152,8 (C quat) ; 111,8 ; 114,1 ; 119,6 ; 123,6 ; 126,7 (C tert) ; 175,1 (C=O).

4-(5-Benzyloxy-1H-indol-3-yl)-1H-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (2c)**2c**

Solide beige.

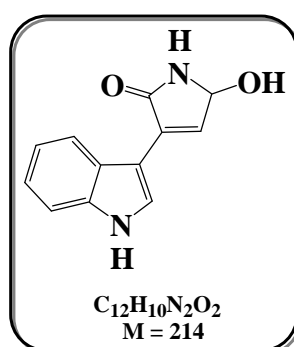
F = 235-237 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1606 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1651 cm^{-1} , ν_{NH} 3200-3430 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{19}H_{17}N_2O_2$ 305,1290, trouvée 305,1297.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,41 (2H, s) ; 5,23 (2H, s) ; 6,29 (1H, s, H₃) ; 6,94 (1H, d, J = 9,0 Hz) ; 7,34-7,46 (5H, m) ; 7,54 (2H, d, J = 7,5 Hz) ; 7,82 (2H, s) ; 11,59 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 48,3 ; 69,7 (CH₂) ; 103,2 ; 103,5 ; 112,9 ; 114,0 ; 127,2 ; 127,6 (2C) ; 128,3 (2C) ; 129,0 (C tert) ; 108,9 ; 125,3 ; 132,0 ; 137,7 ; 152,7 ; 153,6 (C quat) ; 175,2 (CO).

3-(1H-Indol-3-yl)-1H-5-hydroxy-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (3a)**3a**

Solide orange-marron.

F > 300 °C.

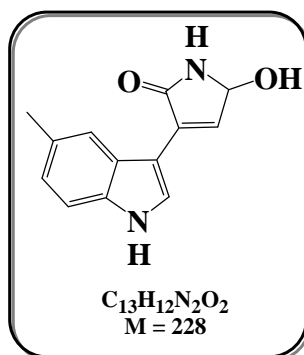
IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1632 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1705 cm^{-1} , ν_{NH-OH} 3200-3500 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ = 237.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,59 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H_5) ; 5,99 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, OH) ; 7,14 (1H, s, H_4) ; 7,18 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,21 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,51 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,94 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,28 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 8,65 (1H, s) ; 11,46 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 78,2 (CHOH) ; 106,0 ; 125,5 ; 130,6 ; 136,1 (C quat) ; 112,0 ; 119,7 ; 119,9 ; 121,7 ; 126,5 ; 133,8 (C tert) ; 171,7 (C=O).

3-(5-Methyl-1H-indol-3-yl)-1H-5-hydroxy-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (3b)



3b

Solide beige.

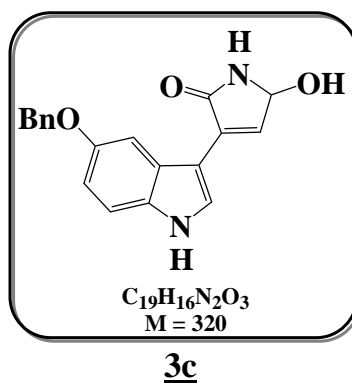
F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1633 cm^{-1} , $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1697 cm^{-1} , $\nu_{\text{NH,OH}}$ 3200-3500 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ calculée pour $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}$ 211,0871, trouvée 211,0871.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,48 (3H, s) ; 5,59 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 5,99 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, OH) ; 7,04 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,14 (1H, s, H_4) ; 7,38 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,73 (1H, s) ; 8,25 (1H, d, $J = 3,0$ Hz) ; 8,65 (1H, s, NH) ; 11,32 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 21,3 (CH_3) ; 78,3 (CHOH) ; 105,6 ; 125,8 ; 128,7 ; 130,8 ; 134,5 (C quat) ; 111,6 ; 119,5 ; 123,3 ; 126,5 , 133,5 (C tert) ; 171,8 (C=O).

3-(5-Benzyloxy-1*H*-indol-3-yl)-1*H*-5-hydroxy-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (3c)

Solide beige.

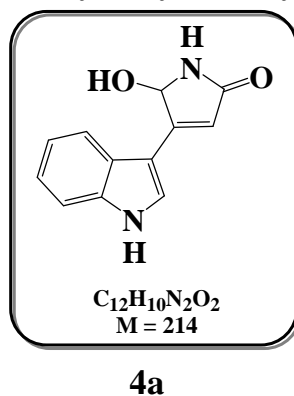
F > 200 °C décomposition.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1631 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1706 cm^{-1} , $\nu_{\text{NH,OH}}$ 3100-3500 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculée pour $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3$ 321,1239, trouvée 321,1256.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 5,22 (2H, s) ; 5,58 (1H, td, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, H_5) ; 5,98 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, OH) ; 6,94 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 7,12 (1H, t, $J = 1,5$ Hz) ; 7,36-7,46 (5H, m) ; 7,55 (2H, d, $J = 7,0$ Hz) ; 8,25 (1H, d, $J = 3,0$ Hz) ; 8,63 (1H, s, NH) ; 11,33 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 69,9 (CH_2O) ; 78,3 (CHOH) ; 103,4 ; 112,3 ; 112,6 ; 127,1 ; 127,6 (3C) ; 128,3 (2C) ; 133,5 (C tert) ; 105,9 ; 125,9 ; 130,6 ; 131,3 ; 137,8 ; 153,2 (C quat) ; 171,8 (C=O).

4-(1*H*-Indol-3-yl)-1*H*-5-hydroxy-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (4a)

Solide orange-marron.

F = 207 °C.

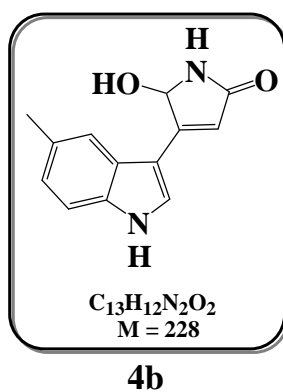
IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1608 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1662 cm^{-1} , ν_{NH} 3271 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI-) $[M-H]^-$ calculée pour $C_{12}H_9N_2O_2$ 213,0664, trouvée 213,0667.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,80 (1H, dd, $J_1 = 9,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, H_5) ; 6,17 (1H, d, $J = 1,0$ Hz, H_3) ; 6,22 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, OH) ; 7,17 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,19 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,47 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,84 (1H, d, $J = 3,0$ Hz) ; 7,85 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,16 (1H, s, NH) ; 11,69 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 80,5 (CHOH) ; 108,0 ; 125,3 ; 136,6 ; 154,4 (C quat) ; 112,1 ; 113,2 ; 120,1 ; 120,6 ; 122,1 ; 128,5 (C tert) ; 172,8 (C=O).

4-(5-Methyl-1H-indol-3-yl)-1H-5-hydroxy-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (4b)



Solide beige.

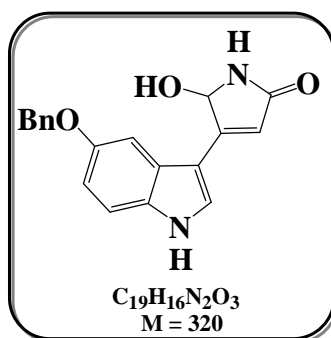
F = 104 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1615 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1682 cm^{-1} , ν_{NH} 3274, 3398 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{13}H_{12}N_2O_2 Na$ 251,0796, trouvée 251,0805.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,47 (3H, s) ; 5,83 (1H, dd, $J_1 = 9,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 6,21 (1H, d, $J = 1,0$ Hz, H_3) ; 6,23 (1H, d, $J = 9,5$ Hz) ; 7,05 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,39 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,70 (1H, se) ; 7,82 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 8,16 (1H, s, NH) ; 11,59 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 21,2 (CH_3) ; 80,5 (CHOH) ; 107,6 ; 125,6 ; 129,4 ; 134,9 ; 154,5 (C quat) ; 111,7 ; 113,0 ; 119,8 ; 123,6 ; 128,4 (C tert) ; 172,9 (C=O).

4-(5-Benzyloxy-1H-indol-3-yl)-1H-5-hydroxy-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (4c)**4c**

Solide beige.

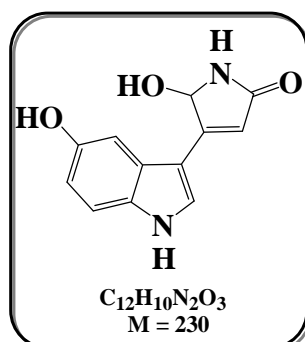
F = 215-216 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1613 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1681 cm^{-1} , $\nu_{NH,OH}$ 3040-3663 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{19}H_{17}N_2O_3$ 321,1239, trouvée 321,1242.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,23 (2H, s) ; 5,81 (1H, d, $J = 9,5$ Hz) ; 6,22 (1H, s) ; 6,23 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 6,95 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 7,34-7,46 (5H, m) ; 7,54 (2H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 7,83 (1H, s) ; 8,17 (1H, s) ; 11,61 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 69,7 (CH₂OBn) ; 80,5 (CHOH) ; 103,5 ; 111,4 ; 111,9 ; 112,8 ; 127,6 (3C) ; 128,3 (2C) ; 129,0 (C tert) ; 107,9 ; 125,8 ; 131,7 ; 137,7 ; 153,6 ; 154,3 (C quat) ; 173,0 (C=O).

4-(5-Hydroxy-1H-indol-3-yl)-1H-5-hydroxy-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (4d)**4d**

Solide marron.

F = 102-104 °C.

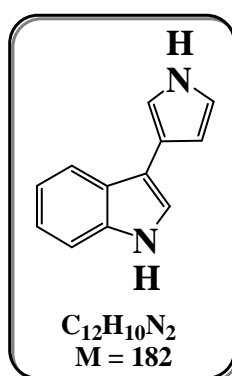
IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1614 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1678 cm^{-1} , $\nu_{NH,OH}$ 2981-3599 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{12}H_{10}N_2O_3 Na$ 253,0589, trouvée 253,0595.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,81 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) ; 5,93 (1H, s) ; 6,23 (1H, d, $J = 10,0$ Hz, OH) ; 6,75 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 7,14 (1H, s) ; 7,31 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,78 (1H, s) ; 8,16 (1H, s) ; 8,97 (1H, s) ; 11,49 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 80,5 (CHOH) ; 104,2 ; 111,9 ; 112,0 ; 112,6 ; 128,8 (C tert) ; 107,2 ; 126,3 ; 130,9 ; 152,1 ; 154,9 (C quat) ; 172,8 (C=O).

3-(1H-Indol-3-yl)-1H-pyrrole (5a)



5a

Solide jaune.

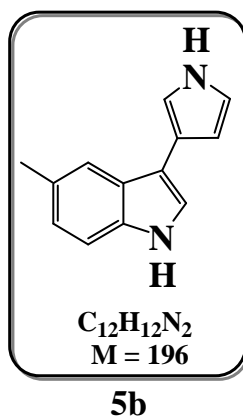
F = 65 °C.

IR (KBr) ν_{NH} 2924 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{12}H_{11}N_2$ 183,0922, trouvée 183,0926.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,38 (1H, s) ; 6,79 (1H, s) ; 7,04 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,09-7,10 (2H, m) ; 7,37 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,40 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 7,77 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 10,73 (1H, se, NH) ; 10,91 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 106,1 ; 111,4 ; 113,4 ; 117,8 ; 118,5 ; 119,5 ; 120,6 ; 120,8 (C tert) ; 111,6 ; 117,4 ; 125,4 ; 136,5 (C quat).

3-(5-Methyl-1H-indol-3-yl)-1H-pyrrole (5b)

Solide vert.

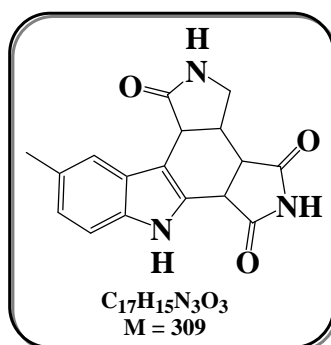
F = 110 °C.

IR (KBr) ν_{NH} 3423 cm⁻¹.

Masse exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour C₁₃H₁₃N₂ 197,1079, trouvée 197,1084.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,44 (3H, s) ; 6,39 (1H, pq, *J* = 2,0 Hz) ; 6,82 (1H, pq, *J* = 2,0 Hz) ; 6,94 (1H, dd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz) ; 7,11 (1H, pq, *J* = 2,0 Hz) ; 7,28 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,37 (1H, d, *J* = 2,5 Hz) ; 10,80 (1H, s, NH) ; 10,74 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 21,3 (CH₃) ; 106,1 ; 111,0 ; 113,3 ; 117,7 ; 119,1 ; 120,7 ; 122,3 (C tert) ; 111,1 ; 117,6 ; 125,7 ; 126,9 ; 134,9 (C quat).

10-Methyl-2*H*,5*H*,7*H*-1,3,3*a*,3*b*,4,6,6*a*,11*c*-octahydro-dipyrrolo**[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,4,6-trione (**6**)****6**

Un mélange de maléimide (179 mg ; 1,84 mmol) et du composé **1b** (78 mg ; 0,37 mmol) dans du xylène (10 mL) est porté 3 jours à reflux. Après refroidissement, le précipité beige est filtré et lavé 3 fois au xylène et séché. Le composé est isolé sous forme d'un solide beige (116 mg ; 0,37 mmol, Rdt = 100%).

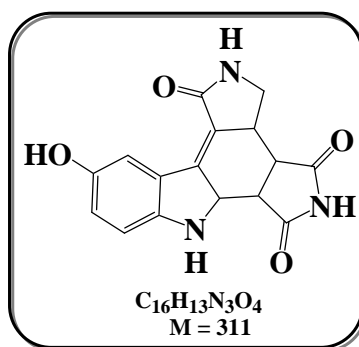
F > 295 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1715, 1777 cm^{-1} , ν_{NH} 3061-3684 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{17}H_{16}N_3O_3$ 310,1192, trouvée 310,1178.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,37 (3H, s) ; 2,82 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 3,11 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 3,25 (1H, m) ; 3,51 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 3,56 (1H, d, $J = 7,0$ Hz) ; 4,38 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 6,92 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,28 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,58 (1H, s, NH) ; 7,75 (1H, s) ; 11,12 (1H, s, NH) ; 11,52 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 21,3 (CH_3) ; 41,3 (CH_2N) ; 35,6 ; 38,6 ; 40,3 ; 40,7 ; 110,7 ; 120,2 ; 122,8 (C tert) ; 102,2 ; 125,9 ; 126,3 ; 126,7 ; 135,3 (C quat) ; 175,1 ; 177,0 ; 178,5 (C=O).

10-Hydroxy-2*H*,5*H*,7*H*-1,3,3*a*,3*b*,4,6,6*a*,11*c*-octahydro-dipyrrolo**[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,4,6-trione (**7**)****7**

Un mélange de maléimide (40 mg ; 0,48 mmol) et du composé **1d** (92 mg ; 0,43 mmol) dans du xylène (5 mL) est porté 24 h à reflux. Après refroidissement, le précipité orange foncé est filtré et lavé au dichlorométhane et séché. Le composé est isolé sous forme d'un solide orange foncé (40 mg ; 0,13 mmol, Rdt = 30%).

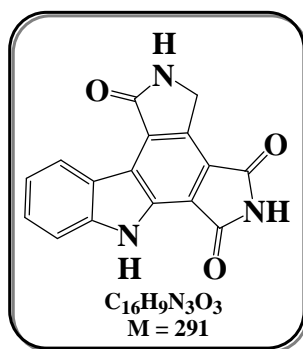
F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1691, 1763 cm^{-1} , $\nu_{NH,OH}$ 3300-3550 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 312.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,94 (1H, m) ; 3,27 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 3,47 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 3,61 (1H, t, $J = 10,0$ Hz) ; 4,23-4,29 (2H, m) ; 6,28 (1H, s) ; 6,59 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 6,63 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,83 (1H, s) ; 8,06 (1H, s) ; 8,67 (1H, s) , 10,94 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 41,1 (CH $_2$ N) ; 36,2 ; 42,7 ; 60,5 ; 70,0 ; 110,4 ; 113,2 ; 119,8 (C tert) ; 119,5 ; 122,8 ; 143,1 ; 148,8 ; 149,8 (C quat) ; 168,4 ; 175,7 ; 178,4 (C=O).

2H,5H,7H-1,3,4,6-Tetrahydro-dipyrrolo[3,4-a:3,4-c]carbazole-1,4,6-trione (8a)**8a**

Un mélange de maléimide (244 mg ; 2,51 mmol) et du composé **1a** (100 mg ; 0,505 mmol) dans du xylène (14 mL) est porté 3 jours à reflux. Après refroidissement, le précipité jaune est filtré et lavé 3 fois au xylène et séché. Le précipité jaune (144 mg, 0,491 mmol, Rdt = 97%) correspond à un mélange d'isomères.

Le mélange d'isomères (84 mg ; 0,286 mmol) est porté 36 h à reflux dans le dioxane (22 mL) en présence d'acide trifluoroacétique (293 μ L). Après évaporation, le résidu est repris avec de l'AcOEt, le mélange est filtré et le résidu solide est lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃, de l'eau et de l'AcOEt. Le produit est isolé sous forme d'une poudre marron-jaune (22 mg ; 0,075 mmol ; Rdt = 27%).

F > 310 °C.

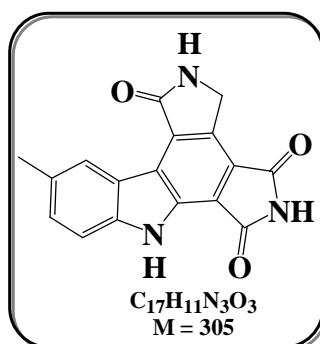
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ = 1690, 1700, 1720 cm^{-1} , ν_{NH} = 3387 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour C₁₆H₁₀N₃O₃ 292,0722 ; trouvée 292,0745.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 4,77 (2 H, s) ; 7,34 (1 H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,61 (1H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 7,73 (1H, d, *J* = 7,5 Hz) ; 9,08 (1H, s) ; 9,25 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 11,40 (1H, s) ; 12,37 (1H, s).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ¹³C n'a pas pu être effectué.

**10-Methyl-2*H*,5*H*,7*H*-1,3,4,6-tetrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]
carbazole-1,4,6-trione (**8b**)**



8b

Une solution de **6** (104 mg ; 0,34 mmol) dans le dioxane (11 mL) est chauffée 2 jours à 80 °C en présence d'acide trifluoroacétique (3,4 mmol ; 266 μ L). Après évaporation, le résidu est repris avec de l'eau, le mélange est filtré, puis le résidu solide est lavé à l'eau et avec un minimum d'AcOEt. Le produit est isolé sous forme d'une poudre orange (80 mg ; 0,263 mmol ; Rdt = 78%).

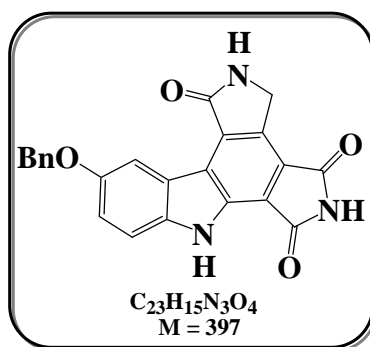
F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1716, 1758 cm^{-1} ; ν_{NH} 3208-3664 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{17}H_{12}N_3O_3$ 306,0879 ; trouvée 306,0894.

RMN 1H , (400 MHz ; DMSO- d_6) : 2,50 (3H, s) ; 4,75 (2H, s) ; 7,43 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,61 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,05 (2H, s) ; 11,36 (1H, s) ; 12,23 (1H, s).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

10-Benzyloxyl-2*H*,5*H*,7*H*-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo**[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,4,6-trione (**8c**)****8c**

Un mélange de maléimide (122 mg ; 1,25 mmol) et du composé **1c** (74 mg ; 0,25 mmol) dans du xylène (6 mL) est porté 18 h à reflux. Après refroidissement, le précipité orange est filtré et le résidu solide est lavé au dichlorométhane et séché. Le précipité orange (97 mg, 0,25 mmol, Rdt = 100%) correspond à un mélange d'isomères.

Le mélange d'isomères (90 mg ; 0,23 mmol) est chauffé 2 jours à 80 °C dans le dioxane (6 mL) en présence d'acide trifluoroacétique (2,2 mmol ; 172 µL). Après évaporation, le résidu est repris avec de l'eau, le mélange est filtré et le résidu solide est lavé à l'eau et avec un minimum d'AcOEt. Le produit **8c** est isolé sous forme d'une poudre rouge foncé (61 mg ; 0,15 mmol ; Rdt = 65%).

F > 300 °C.

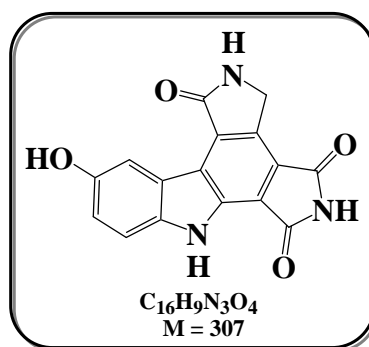
IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1617 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1722, 1774 cm^{-1} , ν_{NH} 3100-3550 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 398 ; $[M+Na]^+$ 420.

Masse exacte (ESI+) $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{23}H_{15}N_3O_4Na$ 420.0960, trouvée 420.0974.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,76 (2H, s) ; 5,21 (2H, s) ; 7,33-7,65 (7 H, m) ; 8,95 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 9,07 (1H, s) ; 11,37 (1H, s, NH) ; 12,21 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

10-Hydroxy-2*H*,5*H*,7*H*-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo**[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,4,6-trione (**8d**)****8d**

Une solution de **7** (80 mg ; 0,257 mmol) dans le dioxane (8 mL) est chauffée 2 jours à 80 °C en présence d'acide trifluoroacétique (2,56 mmol ; 200 μ L). Après évaporation, le résidu est repris avec de l'eau, le mélange est filtré, puis le résidu solide est lavé à l'eau et avec un minimum d'AcOEt. Le produit **8d** est isolé sous forme d'une poudre rouge brique (52 mg ; 0,169 mmol ; Rdt = 66%).

F > 300 °C.

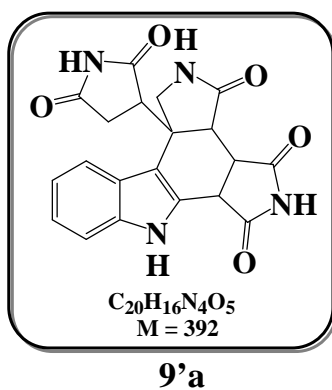
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1711 cm^{-1} ; $\nu_{NH,OH}$ 3200-3672 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{16}H_{10}N_3O_4$ 308,0671, trouvée 308,0672.

RMN 1H (400 MHz ; DMSO- d_6) : 4,75 (2H, s) ; 7,11 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 7,54 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 8,66 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 9,02 (1H, s) ; 9,27 (1H, s) ; 11,33 (1H, s) ; 12,06 (1H, s).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

11c-(4-Succinimidyl)-2*H*,5*H*,7*H*,1,3,3a,3b,4,6,6a,11c-octahydro-
dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-3,4,6-trione (9'a**)**



Une suspension de **2a** (30 mg ; 0,15 mmol) dans le benzène (4 mL) est portée 3 jours à reflux en présence de maléimide (74 mg ; 0,76 mmol). Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré et le résidu solide est lavé à l'eau. Le composé **9'a** est isolé sous forme d'un solide marron (47 mg ; 0,12 mmol ; Rdt = 80%).

F > 280 °C

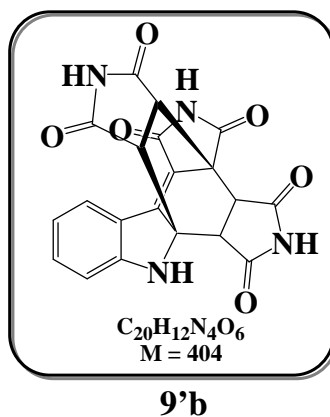
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1709, 1769 cm^{-1} ; $\nu_{\text{NH,OH}}$ 3300-3600 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_5\text{Na}$ 415.1018, trouvée 415.0999.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 2,14 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz, $J_2 = 5$ Hz) ; 2,88 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz, $J_2 = 9,0$ Hz) ; 3,40 (2H, m) ; 3,60 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 5,0$ Hz) ; 3,84 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) ; 4,17 (1H, dd, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 4,45-4,49 (1H, m) ; 6,96 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,09 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,48 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,56 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,57 (1H, s, $\text{NH}_{\text{lactame}}$) ; 11,15 (1H, s, NH) ; 11,31 (1H, s, NH) ; 11,36 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 33,0 ; 48,2 (CH_2) ; 47,2 ; 106,3 ; 123,9 ; 131,3 ; 137,0 (C quat) ; 38,1 ; 38,3 ; 47,7 ; 49,2 ; 112,0 ; 118,9 ; 119,3 ; 121,1 (C tert) ; 173,6 ; 176,7 ; 177,6 ; 178,5 ; 180,4 (C=O).

2H,5H,7H,1'H-1,3,3a,3b,4,6,6a,6b-Octahydro-3a,6b-(2,5-dioxo-pyrrolidin-3,4-diyl)-dipyrrolo[3,4-a:3,4-c]carbazole-3,4,6-trione (9'b)



Une suspension de **2a** (25 mg ; 0,13 mmol) dans du dioxane (3 mL) est portée 24 h à reflux en présence de maléimide (61 mg ; 0,63 mmol). Après retour à température ambiante, le solvant est évaporé et le résidu est repris à l'eau, filtré et lavé. Le composé **9'b** est isolé sous forme d'un solide jaune (27 mg ; 0,067 mmol ; Rdt = 52%).

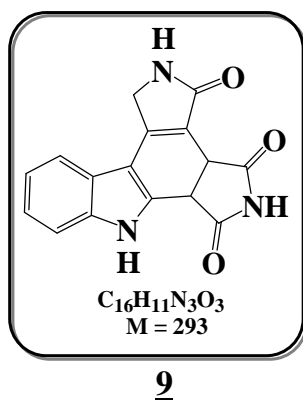
F > 280 °C

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1710, 1720 cm^{-1} ; $\nu_{NH,OH}$ 3300-3600 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ 427.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,48 (2H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 3,51 (2H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 6,69 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 0,5$ Hz) ; 6,89 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,33 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 7,92 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,17 (1H, s, NH) ; 11,20 (2H, s, NH) ; 11,38 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 42,4 (2CH) ; 46,6 (2CH) ; 110,3 ; 117,0 ; 126,5 ; 134,7 (C tert) ; 48,5 ; 68,9 ; 111,4 ; 117,9 ; 146,2 ; 157,6 (C quat) ; 165,7 ; 173,5 (2C) ; 174,0 ; 175,2 (2C) (C=O).

2H,5H,7H-1,3,3b,4,6,6a-Hexahydro-dipyrrolo**[3,4-a:3,4-c]carbazole-3,4,6-trione (9)**

Une solution du composé **4a** (241 mg ; 1,126 mmol) dans le xylène (20 ml) est portée 4 jours à reflux en présence de maléimide (131 mg ; 1,35 mmol). Le milieu réactionnel est ensuite filtré et le résidu solide est lavé plusieurs fois à l'eau.

Le composé **9** est obtenu sous forme d'un solide marron (254 mg ; 0,86 mmol ; Rdt = 77%).

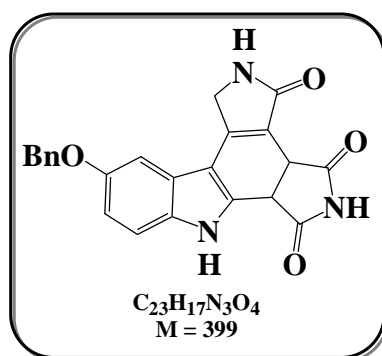
F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1653, 1719, 1777 cm^{-1} ; ν_{NH} 3358 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 294 ; $[M+Na]^+$ 316 ; $[M+K]^+$ 332.

RMN ^1H , (400 MHz ; DMSO) : 4,39 (1H, d, $J = 18,0$ Hz, H_1) ; 4,40 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,63 (1H, d, $J = 20,0$ Hz, H_1) ; 4,64 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) ; 7,13 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, H_9) ; 7,18 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, H_{10}) ; 7,50 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H_8) ; 7,57 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H_{11}) ; 7,96 (1H, s, $\text{NH}_{\text{lactame}}$) ; 11,75 (1H, s, NH_{imide}) ; 11,85 (1H, s, $\text{NH}_{\text{indole}}$).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 40,1 ; 42,4 (CH) ; 46,8 (CH_2) ; 105,3 (C_{11b}) ; 116,3 ; 122,7 (C_{6b}) ; 132,6 ; 137,0 ; 148,2 (C quat) ; 112,4 ; 118,8 ; 120,6 ; 122,0 (C tert) ; 172,3 ; 177,3 ; 177,5 (C=O).

10-Benzoyloxy-2*H*,5*H*,7*H*-1,3,3*b*,4,6,6*a*-hexahydro-dipyrrolo**[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-3,4,6-trione (10)****10**

Une solution du composé **4c** (90 mg ; 0,28 mmol) dans le xylène (7 mL) est portée 2 jours à reflux en présence de maléimide (34 mg ; 0,35 mmol). Le milieu réactionnel est ensuite filtré et le résidu solide est lavé plusieurs fois à l'eau.

Le produit **10** est obtenu sous forme d'un solide marron-orange (102 mg ; 0,26 mmol ; Rdt = 91%).

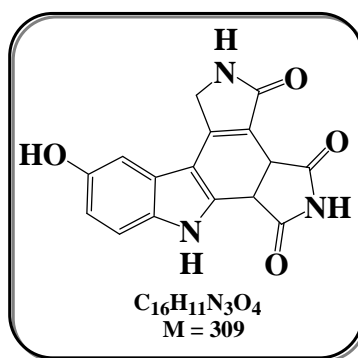
F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1719, 1778 cm^{-1} , ν_{NH} 3100-3550 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 400.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,35 (1H, d, $J = 18,0$ Hz) ; 4,38 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) ; 4,59 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,64 (1H, d, $J = 18,0$ Hz) ; 5,16 (2H, s) ; 6,89 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 7,13 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 7,36-7,52 (6H, m) ; 7,97 (1H, s, $NH_{lactame}$) ; 11,72 (1H, s, NH) ; 11,73 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 45,2 ; 69,6 (CH_2) ; 42,3 ; 46,7 ; 102,4 ; 111,2 ; 113,1 ; 127,6 (2C) 127,7 ; 128,3 (2C) (C tert) ; 105,2 ; 115,7 ; 123,1 ; 132,1 ; 133,0 ; 137,4 ; 148,3 ; 153,4 (C quart) ; 172,3 ; 177,3 ; 177,5 (CO).

10-Hydroxy-2*H*,5*H*,7*H*-1,3,3*b*,4,6,6*a*-hexahydro-dipyrrolo**[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-3,4,6-trione (11)****11**

Une solution du composé **4d** (120 mg ; 0,52 mmol) dans le xylène (14 mL) est portée 2 jours à reflux en présence de maléimide (61 mg ; 0,62 mmol). Le milieu réactionnel est ensuite filtré et le résidu solide est lavé plusieurs fois à l'eau.

Le produit **11** est obtenu sous forme d'un solide beige (129 mg ; 0,42 mmol ; Rdt = 81%).

F > 300 °C.

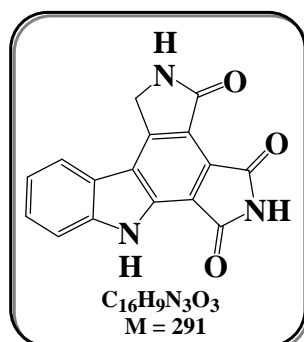
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1708, 1778 cm^{-1} , $\nu_{NH,OH}$ 3200-3550 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ 332, $[M+H]^+$ 310.

Masse exacte (ESI+) $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{16}H_{11}N_3O_4Na$ 332,0647 ; trouvée 332,0664.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,32 (1H, d, $J = 18,0$ Hz) ; 4,36 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,54 (1H, d, $J = 19,0$ Hz) ; 4,57 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 6,69 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 6,84 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 7,29 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 7,88 (1H, s, NH) ; 8,96 (1H, s) ; 11,57 (1H, s) ; 11,71 (1H, s).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

2H,5H,7H-1,3,4,6-Tétrahydro-dipyrrolo**[3,4-a:3,4-c]carbazole-3,4,6-trione (12a)****12a**

Une solution du composé **9** (60 mg; 0,205 mmol) dans le dioxane (7 mL) est portée 21 jours à reflux en présence d'acide trifluoroacétique (900 μ L). Après évaporation, le résidu est repris avec de l'AcOEt, le mélange est filtré, puis le résidu solide est lavé avec une solution aqueuse saturée de $NaHCO_3$, de l'eau et de l'AcOEt. Le produit **12a** est isolé sous forme d'une poudre marron (32 mg ; 0,11 mmol ; Rdt = 54%).

F > 300 °C.

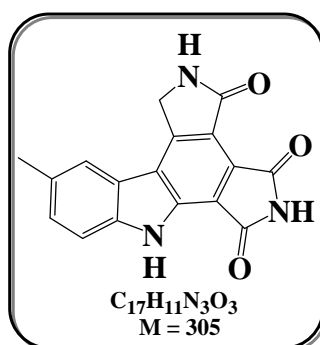
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1710, 1720, 1780 cm^{-1} ; ν_{N-H} 3000-3500 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 292.

Masse exacte $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{16}H_9N_3O_3Na$ 314.0542, trouvée 314.0556.

RMN 1H , (400 MHz ; DMSO) : 5,03 (2H, s) ; 7,41 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,63 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,78 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,12 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,76 (1H, s, NH) ; 11,21 (1H, s, NH) ; 12,46 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

10-Méthyl-2*H*,5*H*,7*H*-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo**[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-3,4,6-trione (12b)****12b**

Une solution du composé **4b** (120 mg ; 0,53 mmol) dans le xylène (5 mL) est portée 3 jours à reflux en présence de maléimide (61 mg ; 0,62 mmol). Le milieu réactionnel est ensuite filtré et le résidu solide est lavé plusieurs fois à l'eau. Le solide marron isolé (161 mg ; 0,52 mmol ; Rdt = 100%) correspond à un mélange de régioisomères.

Une solution du mélange d'isomères (150 mg ; 0,49 mmol) dans le dioxane (16 mL) est portée à reflux 48 h en présence d'acide trifluoroacétique (2,2 mL). Après évaporation, le résidu est repris avec de l'AcOEt. Le produit **12b** est isolé sous forme d'une poudre marron (75 mg ; 0,24 mmol ; Rdt = 46%).

F > 300 °C.

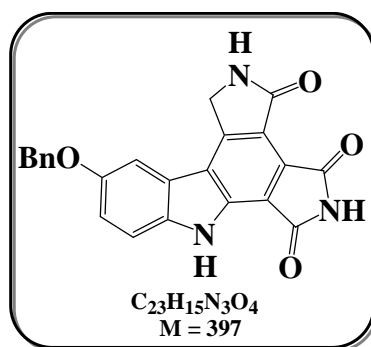
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1719, 1770 cm^{-1} , ν_{NH} 3100-3550 cm^{-1} .

Masse exacte $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{17}H_{11}N_3O_3Na$ 328.0698, trouvée 328.0681.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,01 (2H, s) ; 7,45 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,66 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,92 (1H, s) ; 8,76 (1H, s, NH) ; 11,18 (1H, s, NH) ; 12,34 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

**10-Benzyloxy-2*H*,5*H*,7*H*-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]
carbazole-3,4,6-trione (**12c**)**



12c

Une solution du composé **10** (50 mg ; 0,12 mmol) en solution dans le dioxane (5 mL) est agitée une nuit en présence de DDQ (28 mg ; 0,12 mmol). Le dioxane est évaporé et le résidu est filtré et lavé à l'eau, à l'AcOEt et avec un minimum de THF. Le produit **12c** est isolé sous forme d'une poudre marron (19 mg ; 0,05 mmol ; Rdt = 40%).

F > 300 °C.

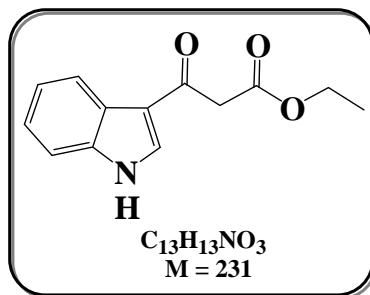
IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1617 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1722, 1774 cm^{-1} , ν_{NH} 3100-3500 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 398.

Masse exacte (ESI+) $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{23}H_{15}N_3O_4Na$ 420.0960, trouvée 420.0955.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,03 (2H, s) ; 5,29 (2H, s) ; 7,36-7,70 (8H, m) ; 8,79 (1H, s, NH) ; 11,19 (1H, s, NH) ; 12,33 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

3-Oxo-3-(1*H*-indol-3-yl)-propionate d'éthyle (13)**13**

A une solution d'indole (500 mg ; 4,27 mmol) dans CH_2Cl_2 (20 mL) à 0 °C est ajouté $AlClEt_2$ (820 μ L ; 964 mg ; 6,40 mmol). Le milieu réactionnel est laissé sous agitation 30 min à 0 °C. Une solution 1M de 1-chloro-malonate d'éthyle dans l'hexane (6,50 mL) est additionnée goutte à goutte à 0 °C. Après 2 h d'agitation à 0 °C, la réaction est stoppée par addition d'eau (20 mL). Le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur $MgSO_4$ et le solvant est évaporé.

Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant AcOEt/cyclohexane de 1:9 à 4:6).

Le composé **13** est isolé sous forme d'un solide blanc (370 mg ; 1,60 mmol ; Rdt = 38%).

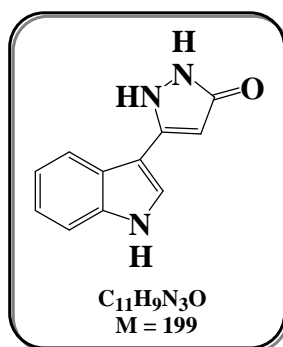
F = 37-39 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1625 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1740 cm^{-1} , ν_{NH} 3220 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ 254.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : 1,13 (3 H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 3,77 (2 H, s) ; 4,08 (2H, q, $J = 7,0$ Hz) ; 7,15 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 7,18 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 7,33 (1H, dd, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 7,75 (1H, d, $J = 3,5$ Hz) ; 8,27 (1H, dd, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 9,96 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : 14,1 (CH_3) ; 47,1 ; 61,5 (CH_2) ; 111,9 ; 122,1 ; 122,9 123,9 ; 133,3 (C tert) ; 117,1 ; 124,7 ; 136,6 (C quat) ; 168,4 ; 187,4 (C=O).

5-(Indol-3-yl)-1,2-dihydro-1H,2H-pyrazol-3-one (14)

Une solution d'hydrate d'hydrazine (223 μL ; 4,68 mmol) dans l'éthanol (1 mL) est portée à reflux. Le composé **13** (50 mg ; 0,216 mmol) en solution dans l'éthanol (2,5 mL) est ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité à reflux 24 h, puis évaporé.

De l'eau est ajoutée et le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO_4 et le solvant est évaporé.

Le résidu solide jaunâtre est repris dans CH_2Cl_2 , filtré et lavé 3 fois avec CH_2Cl_2 .

Le produit **14** est isolé sous forme d'un solide blanc (20 mg ; 0,100 mmol ; Rdt = 46%).

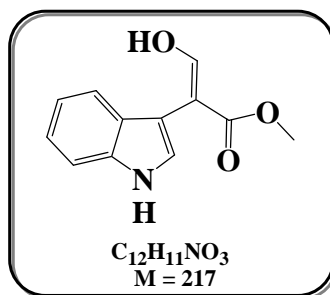
F = 148-149 °C.

IR (KBr) $\nu_{\text{C=O}}$ 1670 cm^{-1} , ν_{NH} 3100-3600 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculée pour $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}$ 200.0824, trouvée 200.0832.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 5,82 (1 H, s) ; 7,14 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,17 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,46 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,71 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 7,83 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,90 (1H, se, NH) ; 11,34 (1H, s) ; 11,53 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 86,5 ; 111,8 ; 119,3 ; 119,6 ; 121,6 ; 122,9 (C tert) ; 106,2 ; 124,4 ; 136,2 ; 138,9 (C quat) ; 161,3 (C=O).

3-Hydroxy-2-(1H-indol-3-yl)-acrylate de méthyle (15)**15**

Une solution de 3-indolyl-acétate de méthyle (100 mg ; 0,53 mmol) dans du formiate de méthyle (1,08 mL ; 17,5 mmol) est ajoutée à une suspension d'hydruure de sodium (60% en dispersion dans l'huile, 103 mg ; 2,65 mmol) dans l'éther sec (2 mL). Le milieu réactionnel est agité 24 h à température ambiante.

L'excès de NaH est décomposé par addition de MeOH (1 mL). Après addition d'acide acétique à 50% dans l'eau (2 mL), le mélange est extrait deux fois à l'AcOEt. Les phases organiques sont lavées avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ et séchées sur MgSO₄. Le produit **15** est isolé sous forme de solide orange (114 mg ; 0,53 mmol ; Rdt = 100 %).

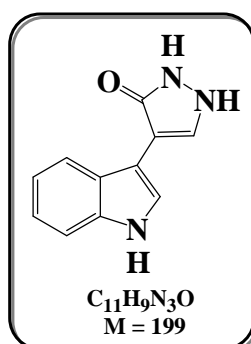
F = 70 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1652 cm⁻¹, ν_{CH} 2855-2924 cm⁻¹, ν_{NH} 3401 cm⁻¹.

Masse (ESI+) [M]⁺ 218, [M+Na]⁺ 240, [M+K]⁺ 256.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,59 (3H, s) ; 6,92 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,03 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,23 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 7,27 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,34 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,89 (1H, s) ; 10,62 (1H, se, OH) ; 11,01 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 50,8 (CH₃) ; 102,7 ; 106,6 ; 125,2 ; 135,7 (C quat) ; 111,2 ; 118,2 ; 120,3 ; 120,5 ; 124,3 ; 155,1 (C tert) ; 168,6 (C=O).

2H,3H-4-(1H-Indol-3-yl)-pyrazolin-3-one (16)**16**

Une solution d'hydrate d'hydrazine (4 mL) dans un mélange acide acétique/MeOH (10 ml ; 1 :1 v/v) est portée à reflux. Le composé **15** (570 mg ; 2,62 mmol) en solution dans l'acide acétique (5 mL) est ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est porté à reflux 24h. Après évaporation, le solide est repris dans l'eau, filtré et lavé à l'AcOEt.

Le produit **16** est obtenu sous forme d'un solide blanc (386 mg ; 1,94 mmol ; Rdt = 74%).

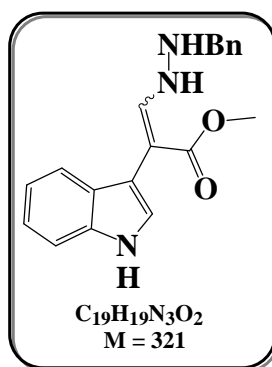
F = 240 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1670 cm^{-1} , ν_{NH} 3395 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{11}H_{10}N_3O$ 200.0824, trouvée 200.0838.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,06 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,13 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,41 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,56 (1H, s) ; 7,82 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,92 (1H, s) ; 10,00 ; 10,98 ; 11,36 (3H, 3 se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 99,5 ; 106,9 ; 125,3 ; 135,9 (C quat) ; 111,3 ; 118,6 ; 119,7 ; 120,9 ; 121,5 ; 135,9 (C tert) ; 158,3 (C=O).

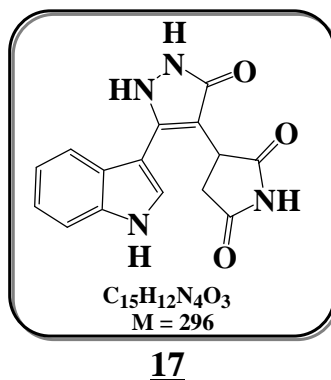
3-(2-Benzyl-hydrazinyl)-2-(1*H*-indol-3-yl)-acrylate de méthyle (16')

Une solution du composé **15** (100 mg ; 0,46 mmol) dans MeOH (4 mL) est chauffée 24 h à reflux en présence de dihydrochlorure de benzylhydrazine (100 mg ; 0,52 mmol). Après retour à température ambiante, le solvant est évaporé et le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant AcOEt/cyclohexane 2:8).

Le composé **16'** est isolé sous forme d'un solide blanc (17 mg ; 0,05 mmol ; Rdt = 12%).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,67 (3H, s) ; 5,27 (2H, s) ; 7,08 (1H, t, *J* = 7,0 Hz) ; 7,16 (1H, td, *J*₁ = 7,0 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz) ; 7,28-7,48 (7H, m) ; 7,69 (1H, s) ; 7,70 (1H, *J* = 8,0 Hz) ; 11,23 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 50,4 (CH₂) ; 60,8 (CH₃) ; 100,3 ; 105,5 ; 126,0 ; 136,0 ; 137,6 (C quat) ; 111,6 ; 119,1 ; 121,2 ; 122,2 ; 127,2 (3C) ; 127,6 (2C) ; 137,3 (C tert) ; 150,0 (C=O).

5-(1*H*-Indol-3-yl)-4-(4-succinimidyl)-1,2-dihydro-1*H*,2*H*-pyrazol-3-one (17)

Une suspension du composé **14** (100 mg ; 0,50 mmol) dans de l'eau (16 mL) est portée 2 jours à reflux en présence de maléimide (58 mg ; 1,00 mmol). Le milieu réactionnel est extrait 3 fois à l'AcOEt. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ et évaporées sous pression réduite. Le composé **17** est isolé sous forme d'un solide blanc (71 mg ; 0,24 mmol ; Rdt = 48%).

F = 145 °C.

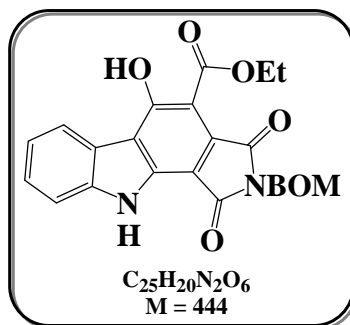
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1709, 1777 cm⁻¹ ; ν_{NH} 3200-3500 cm⁻¹.

Masse (APCI+) [M+H]⁺ 297.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,70 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz, $J_2 = 5,0$ Hz) ; 2,98 (1H, dd, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,0$ Hz) ; 3,92 (1H, dd, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 5,0$ Hz) ; 7,11 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,20 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,49 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,56 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 7,74 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 10,32 (0,5H, se) ; 11,21 (1H, s) ; 11,51 (1H, s), 11,60 (0,5H, se).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 36,4 (CH₂) ; 36,6 (CH) ; 111,7 ; 119,4 ; 119,6 ; 121,7 ; 124,6 (C tert) ; 97,7 ; 104,7 ; 125,4 ; 136,1 ; 137,1 (C quat) ; 159,5 ; 178,2 ; 180,4 (C=O).

2-Benzyloxyméthyl-4-éthoxycarbonyl-5-hydroxy-10H-pyrrolo[3,4-a]carbazole-1,3-dione (18)



18

A une solution du composé 13 (250 mg ; 1,08 mmol) dans du THF sec (15 ml) est ajouté NaH 60% (85 mg ; 2,16 mmol) à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité 30 mn à 0°C, la solution devenue orange est additionnée goutte à goutte au *N*-BOM-dibromomaléimide (490 mg ; 1,31 mmol) en solution dans du THF sec (10 mL). Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0 °C. Du MeOH est ajouté pour éliminer l'excès de NaH jusqu'à fin du dégagement gazeux, le mélange est extrait 2 fois à l'AcOEt. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ et évaporées.

Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant : AcOEt/cyclohexane de 1:9 à 3:7). Le produit 18 est isolé sous forme d'un solide jaune (144 mg ; 0,32 mmol ; Rdt = 30%).

F = 193 °C.

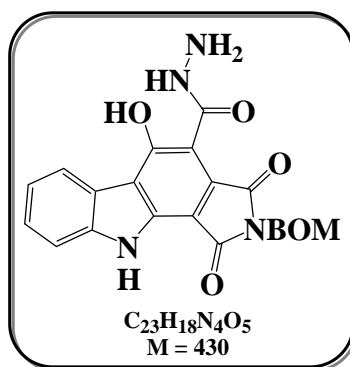
IR (KBr) $\nu_{C=O} = 1697, 1725, 1760 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH,OH} = 3100-3600 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) $[M+K]^+ 483$; $[M+Na]^+ 467$.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,40 (3H, t, *J* = 7,0 Hz) ; 4,45 (2H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 4,65 (2H, s) ; 5,10 (2H, s) ; 7,26-7,41 (6H, m) ; 7,55 (1H, t, *J* = 7,0 Hz) ; 7,70 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,35 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 11,55 (1H, s) ; 12,36 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 13,7 (CH₃) ; 61,5 ; 66,6 ; 70,3 (CH₂) ; 105,5 ; 108,6 ; 116,7 ; 121,0 ; 127,9 ; 135,2 ; 137,7 ; 141,3 ; 155,9 (C quat) ; 112,1 ; 120,8 ; 122,8 ; 127,0 ; 127,5 (3C) ; 128,2 (2C) (C tert) ; 165,5 ; 166,6 ; 166,7 (C=O).

4-(N-amino)-amido-2-Benzyloxyméthyl-5-hydroxy-10H-
pyrrolo[3,4-a]carbazole-1,3-dione (19)



19

A une solution d'ester **18** (50 mg ; 0,11 mmol) dans l'éthanol (2,4 mL) est additionnée de l'hydrate d'hydrazine (2,2 mL).

Le milieu réactionnel est agité 3 h à température ambiante, un précipité orange apparaît. L'éthanol est évaporé et le résidu orange est repris dans l'acétate d'éthyle puis filtré, et le résidu solide est lavé à l'AcOEt et à l'eau.

Le composé **19** est obtenu sous forme d'une poudre orange (30 mg ; 0,07 mmol ; 64%).

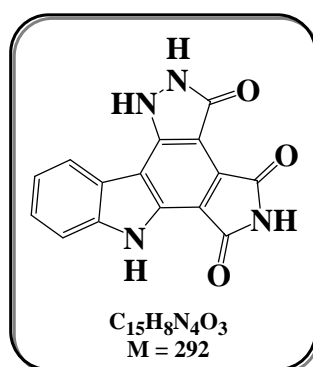
F = 259-260 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1674, 1717 cm^{-1} , $\nu_{NH,OH}$ 3160-3570 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+K]^+$ 469 ; $[M+Na]^+$ 453 ; $[M+H]^+$ 431.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,74 (2H, s) ; 5,00 (2H, s) ; 5,02 (2H, s) ; 7,28-7,52 (8H, m) ; 7,76 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,31 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 10,43 (1H, s, NH) ; 12,14 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 69,1 ; 69,4 (CH₂O) ; 101,4 ; 104,8 ; 119,6 ; 123,7 , 128,6 , 138,1 , 138,4 , 143,7 (C quat) ; 111,5 ; 119,3 ; 121,6 ; 123,6 ; 127,3 (2C) ; 127,5 (2C) ; 128,2 (C tert) ; 166,4 ; 166,9 ; 167,6 ; 169,8 (CO).

5H,6H,11H-Pyrazolo[4,5-c]pyrrolo[3,4-a]**carbazole-1,3,4-trione (IA)****IA**

?

Une solution du phénol **19** (48 mg ; 0,11 mmol) dans de l'éthanol (2 mL) et de l'acide acétique (0,5 mL) est portée à reflux 2 jours. Le précipité jaune est filtré, le résidu est lavé à l'eau et à l'AcOEt.

Le produit est isolé sous forme d'une poudre jaune (14 mg ; 0,035 mmol ; Rdt = 32%).

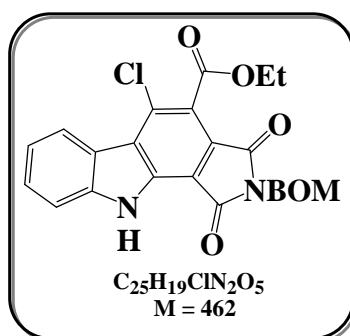
F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1656 cm^{-1} , ν_{NH} 3200-3650 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,34 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,51 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,87 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 8,26 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 9,88 (0,2 H, se) ; 11,16 (0,03 H, se) ; 11,67 (0,23 H, se) ; 12,21 (0,87 H, se) ; 14,13 (1,6H, s).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

2-Benzoyloxyméthyl-4-éthoxycarbonyl-5-chloro-10H-
pyrrolo[3,4-a]carbazole-1,3-dione (20)



20

A une solution de **18** (40 mg, 0,090 mmol) dans du DMF sec (3mL) est additionné PCl_5 (19 mg, 0,09 mmol). Le milieu réactionnel est chauffé à reflux 18h. De l'eau est ajoutée, le précipité formé est filtré et lavé plusieurs fois à l'eau. Le composé **20** est isolé sous la forme d'un solide orange (39 mg ; 0,084 mmol ; Rdt = 94%).

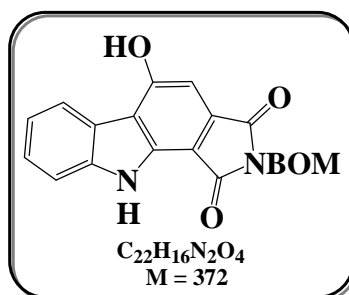
F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$: 1710, 1774 cm^{-1} ; $\nu_{NH,OH}$: 3380 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ 485.

RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$) : 1,43 (3H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 4,52 (2H, q, $J = 7,0$ Hz) ; 4,67 (2H, s) ; 5,15 (2H, s) ; 7,26-7,40 (5H, m) ; 7,46 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,72 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,81 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,61 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 12,82 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

2-Benzoyloxyméthyl-5-hydroxy-10H-pyrrolo**[3,4-*a*]carbazole-1,3-dione (21)****21**

A une solution du composé **18** (20 mg ; 0,045 mmol) dans du DMF sec (1,5 mL) est additionné LiCl (10 mg ; 0,22 mmol). Le milieu réactionnel est chauffé à reflux 18h. De l'eau est ajoutée, le mélange est extrait à l'AcOEt et les phases organiques sont séchées sur MgSO₄. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant: AcOEt/cyclohexane de 1:9 à 5:5). Le composé **21** est isolé sous la forme d'un solide jaune (16 mg ; 0,043 mmol ; Rdt = 96%).

F > 250°C décomposition.

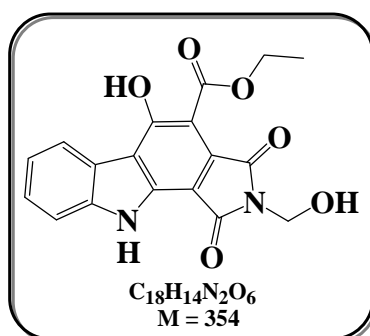
IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1610 cm⁻¹, $\nu_{C=O}$ 1689, 1756 cm⁻¹, $\nu_{NH,OH}$ 3200-3650 cm⁻¹.

Masse (ESI+) [M +Na]⁺ 395.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 4,65 (2H, s) ; 5,12 (2H, s) ; 7,09 (1H, s) ; 7,27-7,42 (6H, m) ; 7,51 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,66 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,28 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 11,76 (1H, s) ; 12,16 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 66,4 ; 70,2 (CH₂O) ; 100,1 ; 111,8 ; 120,4 ; 122,6 ; 126,4 ; 127,5 (3C) ; 128,2 (2C) (C tert) ; 104,0 ; 115,8 ; 121,0 ; 131,4 ; 135,6 ; 137,8 ; 141,0 ; 159,4 (C quat) ; 167,3 ; 168,5 (C=O).

**10H-4-Ethylloxycarbonyl-2-hydroxyméthyl-5-hydroxy-10H-
pyrrolo[3,4-a]carbazole-1,3-dione (22)**



22

Le composé **18** (60 mg ; 0,14 mmol) en solution dans un mélange THF/MeOH (4,0/1,0 mL) est hydrogéné sous pression atmosphérique en présence de Pd(OH)₂ (66 mg) pendant 5 h à température ambiante. Le milieu réactionnel est filtré sur Célite et les solvants sont évaporés.

Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (AcOEt/cyclohexane 1:1) et le produit **22** est isolé sous forme d'un solide jaune (39 mg ; 0,11 mmol ; Rdt = 80%).

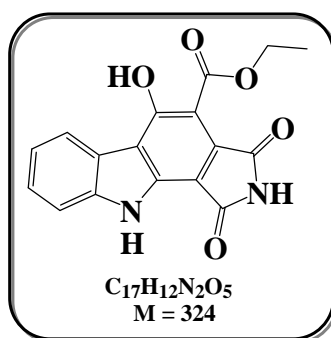
F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1619, 1644 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1706, 1720, 1750 cm^{-1} , $\nu_{NH,OH}$ 3300-3650 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour C₁₈ H₁₅ N₂ O₆ 355,0930 ; trouvée 355,0939.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,40 (3H, t, *J* = 7,0 Hz) ; 4,44 (2H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 5,00 (2H, s) ; 6,36 (1H, se, OH) ; 7,34 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,54 (1H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 7,70 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,35 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 11,58 (1H, se) ; 12,30 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 13,8 (CH₃) ; 59,9 ; 61,4 (CH₂) ; 105,4 ; 108,7 ; 116,6 ; 121,1 ; 128,2 ; 135,2 ; 141,3 ; 156,1 (C quat) ; 112,1 ; 120,7 ; 122,8 ; 126,9 (C tert) ; 165,6 ; 166,5 ; 166,6 (C=O).

2H,10H-4-Ethylloxycarbonyl-5-hydroxy-pyrrolo**[3,4-*a*]carbazol-1,3-dione (23)****23**

A une solution de 22 (28 mg ; 0,079 mmol) dans du THF (8 mL), une solution aqueuse de NH_4OH à 28% (17 mL) est additionnée. Le milieu réactionnel est agité 24 h à température ambiante. Le solvant est évaporé et le résidu est repris à l'eau, filtré et lavé plusieurs fois à l'eau.

Le produit attendu 23 est isolé sous forme d'un solide jaune (10 mg ; 0,03 mmol ; Rdt = 39%).

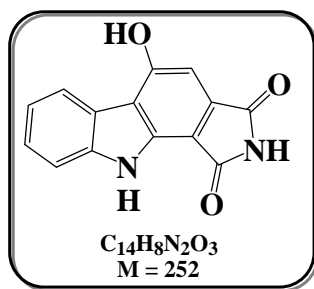
F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1619,1645 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1662, 1700, 1725 cm^{-1} , $\nu_{NH,OH}$ 3300-3600 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{17}H_{12}N_2O_5Na$ 347,0644 ; trouvée 347,0661.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,38 (3H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 4,42 (2H, q, $J = 7,0$ Hz) ; 7,33 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,53 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,68 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,32 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,05 (1H, s, NH) ; 11,39 (1H, s, NH) ; 12,24 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 13,2 (CH_3) ; 60,8 (CH_2) ; 106,2 ; 107,6 ; 115,8 ; 120,5 ; 128,7 ; 134,5 ; 140,7 ; 155,2 (C quat) ; 111,5 ; 120,0 ; 122,2 ; 126,2 (C tert) ; 165,2 ; 167,8 ; 167,9 (C=O).

2H,10H-5-Hydroxy-pyrrolo[3,4-a]carbazole-1,3-dione (24)**24**

Le composé **21** (40 mg ; 0,107 mmol) en solution dans un mélange THF/MeOH (4,0/1,0 mL) est hydrogéné sous pression atmosphérique en présence de Pd(OH)₂/C (20% de Pd(OH)₂ ; 206 mg) durant 3 h à température ambiante. Le milieu réactionnel est filtré sur Célite et les solvants sont évaporés. Le résidu est mis en solution dans THF/NH₄OH (11/23 mL). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 24 h et les solvants sont évaporés.

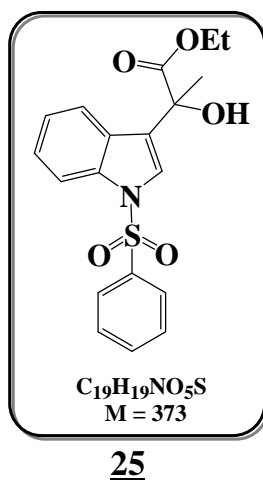
Le résidu est repris dans de l'AcOEt, puis filtré. Le résidu solide est lavé à l'AcOEt. Le composé **24** est isolé sous forme d'un solide jaune (9 mg ; 0,036 mmol ; Rdt = 33%).

F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1617,1636 cm⁻¹, $\nu_{C=O}$ 1704, 1746 cm⁻¹, $\nu_{NH,OH}$ 3416, 3479 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 6,99 (1H, s) ; 7,28 (1H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 7,47 (1H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 7,62 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,26 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 10,88 (1H, s) ; 11,56 (1H, s) ; 12,01 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 99,5 ; 111,7 ; 120,1 ; 122,5 ; 126,1 (C tert) ; 105,2 ; 115,4 ; 121,1 ; 132,8 ; 135,3 ; 140,9 ; 159,0 (C quat) ; 169,2 ; 170,1 (C=O).

2-Hydroxy-2-(*N*-phénylsulfonyl-indol-3-yl)-propanoate d'éthyle (25)

A une solution du composé **S** (110 mg ; 0,31 mmol) dans du THF sec (4 mL) est additionnée goutte à goutte une solution de bromure de méthylmagnésium 3M dans l'éther (0,68 mmol ; 249 μ L). Le mélange réactionnel est agité 6h30 à -78 °C.

Après retour à température ambiante, de l'eau est additionnée et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont séchées sur $MgSO_4$ et le solvant est évaporé.

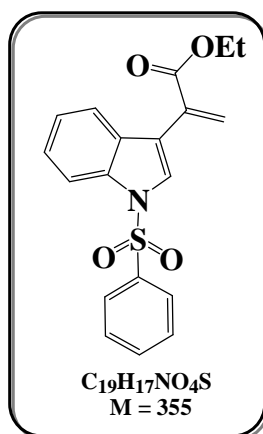
Le résidu est purifié sur une colonne de silice flash (éluant : cyclohexane/AcOEt 7:3). Le composé attendu **25** est isolé sous forme d'une huile jaunâtre (90 mg ; 0,24 mmol ; Rdt = 77%).

IR (NaCl) $\nu_{C=O}$ 1725 cm^{-1} , ν_{NH} 3502 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ 396 ; $[M+K]^+$ 412.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,07 (3H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 1,78 (3H, s) ; 4,08 (1H, q, $J = 7,0$ Hz) ; 6,14 (1H, s, OH) ; 7,27 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,37 (1H, td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,63 (2H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,71-7,74 (2H, m) ; 7,75 (1H, s) ; 7,96 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,03 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 8,03 (1H, d, $J = 7,0$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 13,8 ; 26,1 (CH_3) ; 60,8 (CH_2) ; 113,1 ; 121,8 ; 123,2 (2C) ; 124,7 ; 126,7 (2C) ; 129,8 (2C) ; 134,6 (C tert) ; 72,1 ; 126,1 ; 128,2 ; 136,1 (C quat) ; 173,5 (C=O).

2-(*N*-Phénylsulfonyl-indol-3-yl)-prop-2-énoate d'éthyle (26**)**

Une solution de l'alcool **25** (100 mg ; 0,27 mmol) dans le toluène (4 mL) est portée à reflux 1h30 dans un ballon équipé d'un Dean Stark en présence d'une quantité catalytique d'acide para-toluènesulfonique (5 mg ; 0,03 mmol). Après retour à température ambiante, le mélange est extrait à l'AcOEt. La phase organique est lavée à l'eau et séchée sur MgSO₄, et le solvant est évaporé.

Le produit **26**, une huile marron, est isolé sous forme de 2 conformères (91 mg ; 0,26 mmol ; Rdt = 95%). Le rapport des conformères mesuré sur les signaux des 2 protons du CH₂ éthylénique dans le DMSO est de 4:1 et de 6:1 dans CDCl₃.

IR (NaCl) $\nu_{C=O}$ 1723 cm⁻¹.

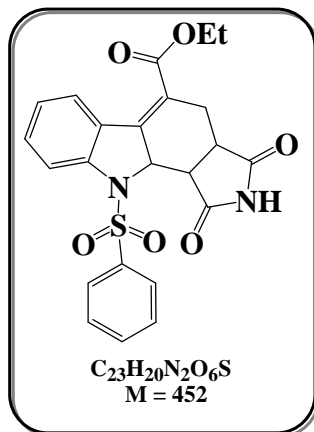
Masse (APCI+) [M+H]⁺ 356.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) du conformère majoritaire : 1,24 (3H, t, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 4,21 (2H, q, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 6,02 (1H, s) ; 6,45 (1H, s) ; 7,15 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,23 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,31 (2H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,39 (1H, dd, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 7,50 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,81 (2H, d, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,83 (1H, s) ; 7,93 (1H, d, $J = 8,0$ Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) du conformère majoritaire : 14,2 (CH₃) ; 61,3 ; 126,7 (CH₂) ; 78,6 ; 117,9 ; 120,2 ; 132,7 ; 138,1 (C quat) ; 113,7 ; 120,4 ; 123,6 ; 124,8 ; 126,9 ; 127,0 (2C) ; 129,3 (2C) ; 133,9 (C tert).

Le carbone de carbonyle n'est pas observé.

5-Ethoxycarbonyl-10-phénylsulfonyl-2H-10b,3,4,5-tétrahydro-pyrrolo[3,4-a]carbazole-1,3-dione (27)



27

Le diène **26** (50 mg ; 0,14 mmol) est porté à reflux dans du toluène (4 mL) en présence de maléimide (16 mg ; 0,16 mmol) pendant 48h.

Le toluène est évaporé et le produit est purifié sur une colonne de silice flash (éluant : cyclohexane/AcOEt de 7:3 à 5:5).

Le composé **27** est isolé sous forme d'une huile jaune pâle (21 mg ; 0,046 mmol ; Rdt = 33%).

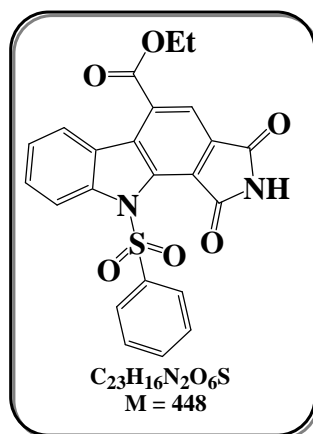
IR (NaCl) $\nu_{C=O}$ 1724, 1782 cm^{-1} , ν_{OH} 3441 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ 475.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : 1,24 (3H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 2,11 (1H, m) ; 3,19 (1H, ddd, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 3,57 (1H, dd, $J_1 = 16,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 4,07 (1H, d, $J = 7,0$ Hz) ; 4,17 (2H, m) ; 4,42 (1H, dd, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,00 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,33 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,38 (2H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,50 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,71 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,79 (2H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,02 (1H, s, NH) ; 8,45 (1H, d, $J = 8,0$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : 14,1 (CH_3) ; 27,4 ; 61,3 (CH_2) ; 37,5 ; 43,5 ; 63,5 (CH) ; 118,4 ; 124,6 ; 136,7 ; 144,6 ; 147,2 (C quat) ; 115,0 ; 124,2 ; 127,2 (2C) ; 128,4 (2C) ; 129,4 ; 132,8 ; 133,9 (C tert) ; 165,2 ; 173,5 ; 177,5 (CO).

**5-Ethoxycarbonyl-10-phénylsulfonyl-2H-1,3-dihydro-
pyrrolo[3,4-c]carbazole-1,3-dione (28)**



28

Une solution du composé 27 (90 mg ; 0,20 mmol) dans du dioxane (6 mL) est portée à reflux 3 jours en présence de DDQ (100 mg ; 0,40 mmol). Le dioxane est évaporé et le résidu est purifié sur une colonne de silice flash (éluant : cyclohexane/AcOEt 7:3).

Le produit 28 est isolé sous forme d'un solide jaune (18 mg ; 0,04 mmol ; Rdt = 20%).

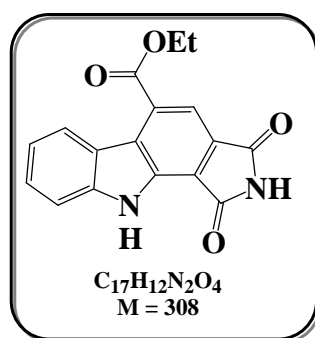
F = 260-261 °C.

IR (KBr) ν_{SO_2Ph} 1296, 1380, $\nu_{C=O}$ 1704, 1724 cm^{-1} , ν_{NH} 3329-3614 cm^{-1} .

Masse (APCI+) $[M+K]^+$ 487 ; $[M+Na]^+$ 471.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,43 (3H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 4,51 (2H, q, $J = 7,0$ Hz) ; 7,40 (2H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,44 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,52 (2H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,59 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,64 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 8,01 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,23 (1H, s) ; 8,34 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,63 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 13,9 (CH₃) ; 62,2 (CH₂) ; 117,4 ; 120,8 ; 124,9 ; 125,7 ; 126,8 (2C) ; 129,1 (2C) ; 130,0 ; 134,4 (C tert) ; 124,7 ; 124,8 ; 130,4 ; 132,1 ; 132,8 ; 134,7 ; 135,8 ; 141,9 (C quat) ; 165,3 ; 165,8 ; 167,8 (C=O).

5-Ethoxycarbonyl-2H-1,3-dihydro-pyrrolo**[3,4-*a*]carbazole-1,3-dione (29)****29**

A une solution de 27 (40 mg ; 0,09 mmol) dans du THF sec (4 mL) est additionnée goutte à goutte une solution de TBAF (1M dans le THF ; 1,40 mL). Le mélange est chauffé 2 jours à reflux. Après retour à température ambiante, le solvant est évaporé, le résidu est repris à l'eau et le précipité jaune formé est filtré et lavé à l'eau.

Le composé 29 est isolé sous la forme d'une poudre jaune (23 mg ; 0,075 mmol ; Rdt = 83%)

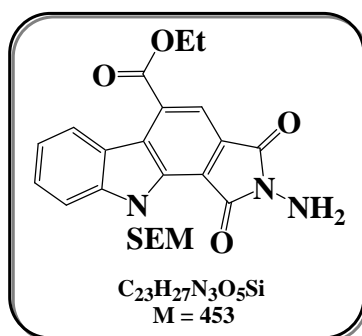
F > 220 °C dégradation.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1704, 1767 cm^{-1} , ν_{NH} 3355 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{17}H_{13}N_2O_4$ 309.0875 ; trouvée 309.0888.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,44 (3H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 4,52 (2H, q, $J = 7,0$ Hz) ; 7,29 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,59 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,72 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,97 (1H, s) ; 8,64 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,42 (1H, s, NH) ; 12,48 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 14,0 (CH₃) ; 61,7 (CH₂) ; 112,4 ; 114,1 ; 120,3 ; 124,9 ; 128,4 (C tert) ; 116,2 ; 119,7 ; 127,2 ; 128,7 ; 129,0 ; 133,9 ; 143,3 (C quat) ; 166,3 ; 168,9 ; 169,3 (C=O).

2-Amino-5-éthoxycarbonyl-1,3-dihydro-pyrrolo**[3,4-*a*]carbazole-1,3-dione (30)****30**

A une suspension du composé **29** (30 mg ; 0,10 mmol) dans du THF sec (2,0 mL) à 0 °C est additionné NaH (60% dans l'huile ; 10 mg ; 0,30 mmol). Le milieu réactionnel est agité 10 min à 0 °C. A l'anion rouge ainsi formé est additionné SEMCl (0,24 mmol ; 43 µL).

La solution est agitée à température ambiante durant une heure et le milieu réactionnel est hydrolysé à l'aide d'une solution de HCl 0,2 N. Le mélange est extrait à l'AcOEt, les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ et le solvant est évaporé.

Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant cyclohexane/AcOEt 9:1). Le produit protégé est obtenu sous forme d'un solide jaune (25 mg ; 0,055 mmol ; Rdt = 55%).

Au composé protégé (25 mg ; 0,05 mmol) en solution dans 200 µL d'éthanol est additionnée goutte à goutte de l'hydrate d'hydrazine (71 µL ; 1,47 mmol). Le mélange est agité une heure à température ambiante. Les solvants sont évaporés et le résidu est extrait avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ et le solvant est évaporé.

Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant cyclohexane/AcOEt de 9:1 à 6:4). Le composé **30** est isolé sous forme d'un solide jaune (12 mg ; 0,026 mmol ; Rdt = 53%).

F = 78 °C.

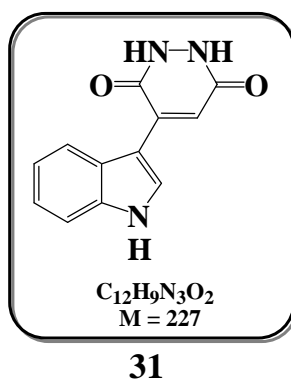
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1722, 1772 cm⁻¹; ν_{NH} 3300-3600 cm⁻¹.

Masse exacte (ESI+) [M+Na]⁺ calculée pour C₂₃H₂₇N₃O₅SiNa 476,1618 ; trouvée 476,1603.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : -0,00 (9H, s) ; 0,97 (2H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 1,64 (3H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 3,67 (2H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 4,32 (2H, s, NH_2) ; 4,69 (2H, q, $J = 7,0$ Hz) ; 6,52 (2H, s) ; 7,47 (1H, t, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 7,72 (2H, m) ; 8,25 (1H, s) ; 8,79 (1H, d, $J = 8,0$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : -1,4 ; 14,4 (CH_3) ; 18,0 ; 62,2 ; 65,7 ; 75,0 (CH_2) ; 110,9 ; 116,4 ; 121,9 ; 125,7 ; 129,5 (C tert) ; 113,1 ; 121,3 ; 127,6 ; 131,1 ; 137,0 ; 143,4 (C quat) ; 166,2 ; 166,3 ; 166,6 (C=O).

4-(1H-Indol-3-yl)-1H,2H-3,6-dihydro-pyridazin-3,6-dione (31)



La 3-(indol-3-yl)-furane-2,5-dione (100 mg ; 0,46 mmol) est mise en solution dans l'hydrazine (25 mL) et la solution est chauffée à 60 °C pendant 17h.

De l'eau est ajoutée (10 mL), puis HCl concentré (6 mL) est additionné goutte à goutte. La solution est laissée 30 min sous agitation. Le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle, les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 et le solvant est évaporé.

Le résidu est purifié par chromatographie sur silice flash (éluant : de AcOEt 100% à AcOEt/MeOH 9:10). Le produit **31** est isolé sous forme d'un solide jaune (21 mg ; 0,09 mmol ; Rdt = 20%).

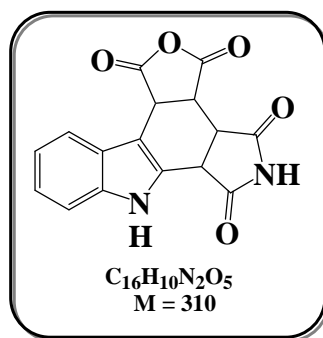
F = 45 °C.

IR (KBr) $\nu_{\text{C=O}}$ 1651 cm^{-1} ; ν_{NH} 3000-3396 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_2$ 228.0773 ; trouvée 228.0786.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 7,19 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,21 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,23 (1H, s) ; 7,51 (1H, d, $J = 7,0$ Hz) ; 7,92 (1H, d, $J = 7,0$ Hz) ; 8,64 (1H, s) ; 10,58 (1H, s, NH) ; 11,74 (1H, s, NH) ; 12,00 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (200 MHz ; $\text{DMSO}-d_6$) : 112,4 ; 116,0 ; 119,6 ; 120,7 ; 122,0 ; 130,8 (C tert) ; 124,9 ; 136,4 ; 136,5 (C quat) ; 153,6 ; 158,6 (C=O).

5*H*,7*H*-1,3,3*a*,3*b*,4,6,6*a*,11*c*-Octahydro-furo[3,4-*c*]**pyrrolo[3,4-*a*]carbazol-1,3,4,6-tétraone (32)****32**

Une solution de 3-(indol-3-yl)-furane-2,5-dione (150 mg ; 0,70 mmol) dans le xylène (15 mL) est portée 5 jours à reflux en présence de maléimide (82 mg ; 0,84 mmol). Le milieu réactionnel est filtré et le résidu solide est lavé plusieurs fois à l'eau.

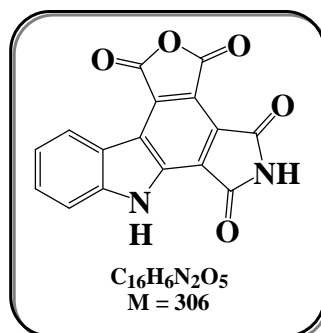
Le produit **32** est obtenu sous forme d'un solide orange (195 mg ; 0,63 mmol ; Rdt = 90%).

F = 220-222 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1719, 1782 cm^{-1} , ν_{NH} 3411 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,03 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 4,21 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 4,34 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 4,78 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,06 (1H, m) ; 7,15 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,42 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,64 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,44 (1H, s, NH) ; 11,54 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 39,3 ; 40,2 ; 40,5 (2C) (CH) ; 100,7 ; 125,2 ; 128,2 ; 137,0 (C quat) ; 111,7 ; 119,2 ; 119,5 ; 122,2 (C tert) ; 170,4 ; 171,2 ; 175,6 ; 177,2 (C=O).

5*H*,7*H*-1,3,4,6-Tétrahydro-furo[3,4-*c*]pyrrolo**[3,4-*a*]carbazol-1,3,4,6-tétraone (33)****33**

Une solution de l'anhydride **32** (196 mg ; 0,63 mmol) dans le dioxane (10 mL) est portée 3 jours à reflux en présence de DDQ (575 mg ; 1,386 mmol). Après évaporation du solvant, le solide est repris dans l'eau, filtré et lavé plusieurs fois à l'eau et à l'AcOEt.

Le produit **33** est isolé sous forme d'un solide jaune (166 mg ; 0,54 mmol ; Rdt = 86%).

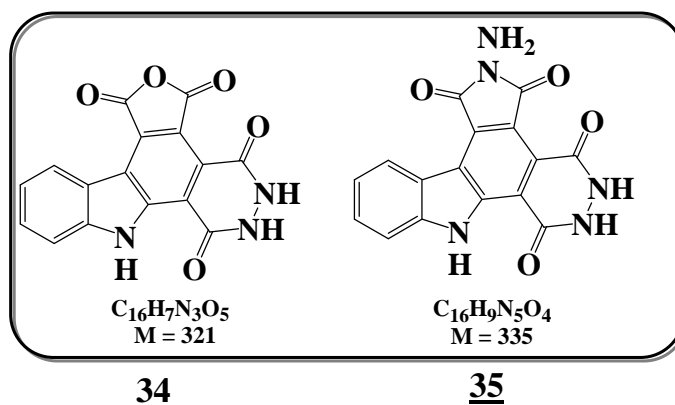
F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1701, 1776, 1847 cm^{-1} , ν_{NH} 3247, 3368 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{16}H_7N_2O_5$ 307.0355 ; trouvée 307.0360.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,51 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,75 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,82 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 8,83 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 11,78 (1H, s, NH) ; 13,09 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

1,3,4,7-Tétrahydro-5*H*,6*H*,8*H*-furano[3,4-*c*]pyridazino**[3,4-*a*]carbazole-1,3,4,7-tétraone (34) et****2-Amino-1,3,4,7-tétrahydro-2*H*,5*H*,6*H*,8*H*-pyridazino[3,4-*a*]****pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3,4,7-tétraone (35)**

L'anhydride **33** (150 mg ; 0,49 mmol) en solution dans de l'hydrate d'hydrazine (5 mL) est chauffé 24h à 60 °C. De l'eau (150 mL) est ajoutée puis HCl 12 N (20 mL) est ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 30 mn à 0 °C, le précipité est ensuite filtré et le résidu est lavé à l'eau et à l'AcOEt.

Le produit **35** est isolé sous forme d'un solide orange (60 mg ; 0,18 mmol ; Rdt = 37%). Le filtrat est évaporé et le composé **34** est isolé sous forme d'un solide jaune (5 mg ; 0,016 mmol ; Rdt = 3%).

Composé 34

F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1720, 1782 cm^{-1} , ν_{NH} 3411 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 322.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,35 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,61 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,99 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,16 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,90-12,60 (3H, s, NH).

Composé 35

F > 300 °C.

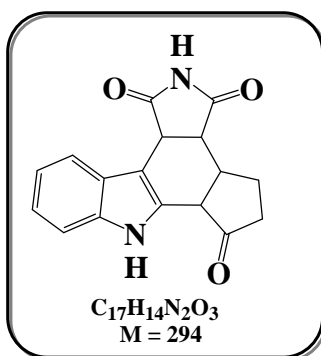
IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1588 cm^{-1} , $\nu_{C=O}$ 1736 cm^{-1} , ν_{NH} 3445 cm^{-1} .

Masse (APCI-) $[M-H]^-$ 334.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,30 (2H, s, NH₂) ; 7,52 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,73 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 8,07 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,99 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 12,36 (1H, s, NH) ; 12,46 (1H, s, NH) ; 12,90 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 113, 2 ; 115,1 ; 118,8 ; 119,1 ; 119,2 ; 128,4 ; 141,4 ; 142,4 (C quat) ; 113,7 ; 121,9 ; 124,6 ; 129,3 (C tert) ; 148,5 ; 158,1 ; 166,5 ; 171,5 (C=O).

2H,7H-Cyclopenta[1,2-a]pyrrolo[3,4-c]-1,3,3a,3b,6a,11c-hexahydrocarbazole-1,3,6-trione (36a)



36a

A une suspension de 3-(indol-3-yl)-maléimide (50 mg ; 0,23 mmol) dans du toluène (6 mL) est additionné la cyclopenténone (4,8 mmol ; 400 μ L). Le milieu réactionnel est chauffé à 120 °C dans une bombe durant 5 jours.

Le solvant est évaporé et le produit brut est purifié sur colonne de silice flash (éluant : cyclohexane/AcOEt de 7:3 à 5:5).

Le composé **36a** est isolé sous forme d'un solide jaune (21 mg ; 0,07 mmol ; Rdt = 31%).

F > 220°C décomposition.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1710, 1767 cm^{-1} , ν_{NH} 3359 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 295.

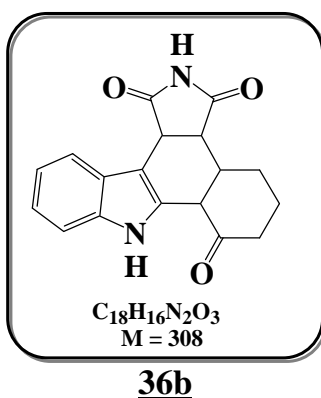
RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,53-1,65 (1H, m) ; 1,86-1,94 (1H, m) ; 2,33 (1H, dd, $J_1 = 19,0$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz) ; 2,45 (1H, m) ; 3,19 (1H, m) ; 3,49 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz) ; 3,70 (1H, d, $J = 7,0$ Hz) ; 4,40 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,02 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,09 (1H, t, $J =$

8,0 Hz) ; 7,39 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,75 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 10,83 (1H, s, NH) ; 11,35 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 23,1 ; 37,1 (CH_2) ; 36,4 ; 38,7 ; 41,8 ; 46,4 (CH) ; 101,4 ; 118,7 ; 120,0 ; 121,3 (C tert) ; 102,9 ; 126,7 ; 127,0 ; 137,0 (C quat) ; 178,6 ; 179,2 ; 214,0 (C=O).

2H,8H-1,3,3a,3b,7a,12c-Hexahydro-cyclohexa[1,2-a]

pyrrolo[3,4-c]carbazole-1,3,6-trione (36b)



A une suspension de 3-(indol-3-yl)-maléimide (50 mg ; 0,23 mmol) dans du toluène (6 mL) est additionnée la cyclohexénone (4,8 mmol ; 460 μL). Le milieu réactionnel est chauffé à 140 °C dans une bombe durant 5 jours.

Le solvant est évaporé et le produit brut est purifié sur colonne de silice flash (éluant : cyclohexane/AcOEt de 7:3 à 5:5).

Le composé **36b** est isolé sous forme d'un solide jaune (28 mg ; 0,09 mmol ; Rdt = 40%).

F = 152 °C.

IR (KBr) $\nu_{\text{C=O}}$ 1660, 1717, 1770 cm^{-1} , ν_{NH} 3113-3628 cm^{-1} .

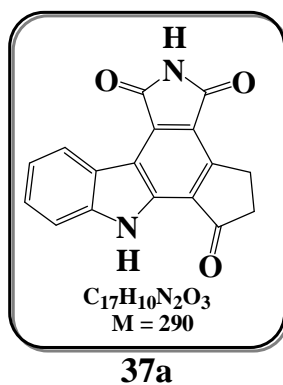
Masse (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 309.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,66 (1H, m) ; 1,98 (1H, d, $J = 13,0$ Hz) ; 2,13-2,24 (2H, m) ; 2,37 (1H, d, $J = 13,0$ Hz) ; 2,68-2,85 (2H, m) ; 3,67 (1H, dd, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 4,0$ Hz) ; 3,82 (1H, d, $J = 13,0$ Hz) ; 4,19 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,01 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,09 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,49 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,79 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 10,86 (1H, s, NH) ; 10,96 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 26,1 ; 28,1 ; 41,2 (CH₂) ; 40,8 ; 42,0 ; 45,0 ; 46,6 (CH) ; 111,6 ; 118,5 ; 119,7 ; 121,0 (C tert) ; 104,2 ; 125,3 ; 131,3 ; 136,2 (C quat) ; 177,7 ; 179,0 ; 207,8 (C=O).

2H,7H-1,3-Dihydro-cyclopenta[1,2-a]pyrrolo

[3,4-c]carbazole-1,3,6-trione (37a)



Une solution de **36a** (31 mg ; 0,10 mmol) dans du dioxane (2,5 mL) est agitée 6h à température ambiante en présence de DDQ (100 mg ; 0,44 mmol).

Le précipité jaune pâle de DDQ-OH et de produit oxydé est filtré et lavé plusieurs fois à l'eau.

Le composé **37a** est isolé sous forme d'un solide jaune (22 mg ; 0,08 mmol ; Rdt = 80%).

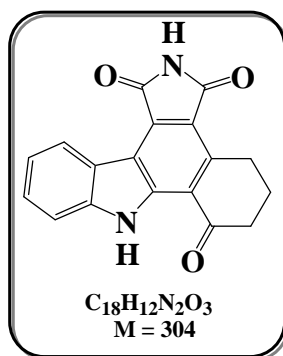
F > 300 °C

IR (KBr) $\nu_{\text{C=O}}$ 1690, 1715, 1758 cm^{-1} , ν_{NH} 3216, 3333 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculée pour C₁₇H₁₀N₂O₃Na 313,0589 ; trouvée 313,0602.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,89 (2H, m) ; 3,52 (2H, m) ; 7,42 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,62 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,79 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,88 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,45 (1H, s, NH) ; 12,62 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

2H, 8H-1,3-Dihydro-cyclohexa[1,2-a]pyrrolo**[3,4-c]carbazole-1,3,6-trione (37b)****37b**

Une solution de **36b** (50 mg ; 0,16 mmol) dans du dioxane (2,5 mL) est agitée 24h à température ambiante en présence de DDQ (145 mg ; 0,64 mmol).

Le précipité jaune pâle de DDQ-OH et de produit oxydé est filtré et lavé plusieurs fois à l'eau.

Le composé **37b** est isolé sous forme d'un solide jaune (35 mg ; 0,11 mmol ; Rdt = 72%).

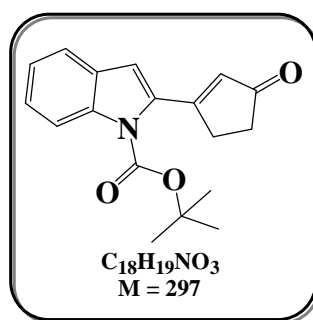
F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1657, 1706 cm^{-1} , ν_{NH} 3200-3450 cm^{-1} .

Masse (IE) 304.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,17-2,24 (2H, m) ; 2,79-2,84 (2H, m) ; 3,55-3,60 (2H, m) ; 7,35 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,63 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,88 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,86 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,44 (1H, s, NH) ; 12,40 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

3-(2-*N*-Boc-indolyl)-cyclopent-2-èn-1-one (38)**38**

A une solution de 3-bromo-cyclopenténone (50 mg ; 0,31 mmol) et de $Pd(PPh_3)_4$ (29 mg ; 0,021 mmol) dans du benzène (6 mL) est additionné l'acide 2-*N*-Boc-indole-borique (100 mg ; 0,38 mmol) en solution dans de l'EtOH absolu (3 mL). Une solution de Na_2CO_3 (181 mg ; 1,71 mmol) dans l'eau (7 mL) est additionnée à son tour et le milieu réactionnel est chauffé 2h à reflux jusqu'à réaction totale.

Après refroidissement, de l'eau est additionnée et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont séchées sur $MgSO_4$ et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane/AcOEt 8:2).

Le produit de couplage **38** est obtenu sous forme d'un solide jaune pâle (74 mg ; 0,25 mmol ; Rdt = 80%).

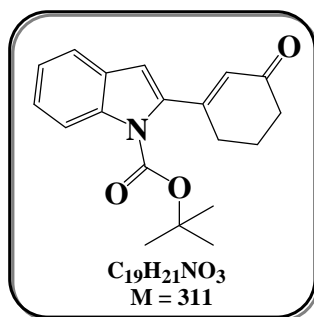
F = 102-104 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1680, 1744 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ 320.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,52 (9H, s) ; 2,52-2,56 (2H, m) ; 3,06-3,08 (2H, m) ; 6,32 (1H, s) ; 7,23 (1H, s) ; 7,34 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,48 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,73 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,08 (1H, d, $J = 8,0$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 27,4 (CH_3) ; 30,2 ; 34,5 (CH_2) ; 84,8 ; 128,2 ; 135,2 ; 137,9 ; 149,3 (C quat) ; 112,9 ; 114,6 ; 121,8 ; 123,4 ; 126,2 ; 129,9 (C tert) ; 166,0 ; 207,8 (CO).

3-(2-*N*-Boc-indolyl)-cyclohex-2-èn-1-one (39)**39**

A une solution de 3-bromo-cyclohexénone (101 mg ; 0,57 mmol) et de $Pd(PPh_3)_4$ (56 mg ; 0,021 mmol) dans du benzène (11 mL) est additionné l'acide 2-*N*-Boc-indole-borique (180 mg ; 0,69 mmol) en solution dans de l'EtOH absolu (5 mL). Une solution de Na_2CO_3 (345 mg ; 3,26 mmol) dans l'eau (13 mL) est additionnée à son tour et le milieu réactionnel est chauffé 1h30 à reflux.

Après refroidissement, de l'eau est additionnée et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont séchées sur $MgSO_4$ et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane/AcOEt 8:2).

Le produit de couplage **39** est obtenu sous forme d'un solide jaune-marron (148 mg ; 0,48 mmol ; Rdt = 69%).

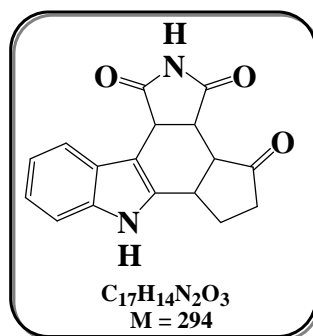
F = 67-68 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1661, 1732 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ 334.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,54 (9H, s) ; 2,06 (2H, quint, $J = 6,0$ Hz) ; 2,40 (2H, t, $J = 6,5$ Hz) ; 2,52 (2H, t, $J = 6,0$ Hz) ; 6,09 (1H, d, $J = 1,0$ Hz) ; 6,52 (1H, s) ; 7,13 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,23 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,43 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,93 (1H, d, $J = 8,0$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 23,0 ; 30,1 ; 37,6 (CH_2) ; 28,1 (CH_3) ; 84,7 ; 128,9 ; 137,7 ; 139,7 ; 149,9 (C quat) ; 111,0 ; 115,4 ; 121,3 ; 123,3 ; 125,4 ; 126,8 (C tert) ; 155,2 ; 199,3 (C=O).

2H,7H-1,3,3a,3b,6a,11c-Hexahydro-cyclopenta[1,2-a]**pyrrolo[3,4-c]carbazole-1,3,4-trione (40)****40**

Une solution du composé **38** (300 mg ; 1,01 mmol) dans du toluène (4 mL) est chauffé 3 jours à 140 °C dans une bombe en présence de maléimide (686 mg ; 7,07 mmol).

Après refroidissement du milieu réactionnel, le milieu est filtré et le résidu solide est lavé plusieurs fois au dichlorométhane.

Le produit de Diels-Alder **40** est obtenu sous sa forme indole et sous forme d'un solide blanc (200 mg ; 0,68 mmol ; Rdt = 67%).

F > 280 °C.

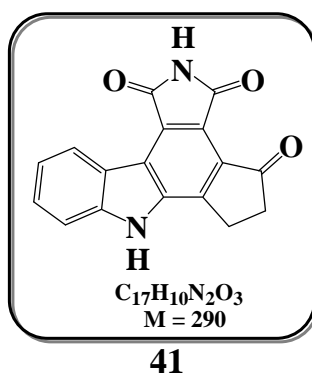
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1714, 1768 cm^{-1} , ν_{NH} 3307, 3390 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 295 ; $[M+Na]^+$ 317.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,00 (1H, m) ; 2,22-2,36 (3H, m) ; 3,13 (1H, t, $J = 6,5$ Hz) ; 3,62-3,66 (2H, m) ; 4,22 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,02 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,11 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,34 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,86 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,15 (1H, s, NH) ; 11,22 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 25,8 ; 35,6 (CH₂) ; 34,1 ; 40,3 ; 41,1 ; 47,7 (CH) ; 104,1 ; 126,4 ; 135,1 ; 136,5 (C quat) ; 110,8 ; 118,6 ; 120,5 ; 121,3 (C tert) ; 178,1 ; 179,2 ; 214,0 (CO).

**2H,7H-1,3-Dihydro-cyclopenta[1,2-a]pyrrolo
[3,4-c]carbazole-1,3,4-trione (41)**



Une suspension de **40** (180 mg ; 0,61 mmol) dans du dioxane (12 mL) est agitée 2 jours à température ambiante en présence de DDQ (552 mg ; 2,44 mmol). Le milieu réactionnel est filtré et le résidu solide est lavé plusieurs fois à l'eau et à l'AcOEt.

Le composé oxydé **41** est isolé sous forme d'une poudre jaune pâle (176 mg ; 0,60 mmol ; Rdt = 98%).

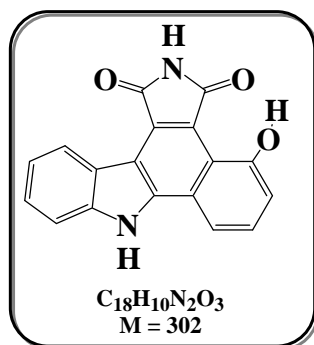
F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1715, 1753 cm^{-1} , ν_{NH} 3488, 3548 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{17}H_{10}N_2O_3Na$ 313,0589 ; trouvée 313,0602.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,85 (2H, m) ; 3,46 (2H, m) ; 7,40 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,65 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,73 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,99 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,14 (1H, s, NH) ; 12,67 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

2*H*,8*H*-1,3-Dihydro-benzo[1,2-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]**carbazole-4-hydroxy-3,4-trione (42)****42**

Une solution du composé **39** (150 mg ; 0,48 mmol) dans du toluène (3 mL) est chauffée 3 jours à 140 °C dans une bombe en présence de maléimide (470 mg ; 4,19 mmol).

Après refroidissement, le milieu réactionnel est filtré et le résidu solide est lavé plusieurs fois au dichlorométhane. Le cycloadduit de Diels-Alder est obtenu sous forme d'un mélange d'isomères (128 mg ; 0,42 mmol ; Rdt = 86%).

Une suspension d'isomères (40 mg, 0,13 mmol) dans du dioxane (3 mL) est agitée 4 jours à température ambiante en présence de DDQ (118 mg ; 0,52 mmol). Le milieu réactionnel est filtré et le résidu solide est lavé plusieurs fois à l'eau. Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant : cyclohexane/AcOEt 5:5).

Le composé oxydé **42** est isolé sous forme d'un solide rouge (25 mg ; 0,08 mmol ; Rdt = 64%).

F > 300 °C.

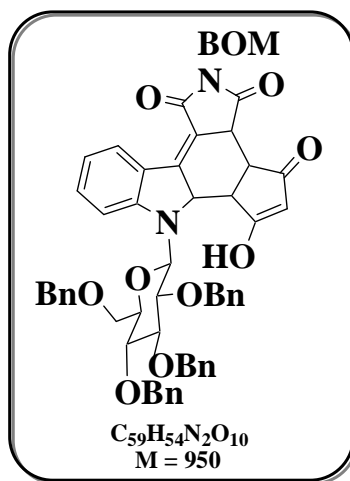
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1739 cm^{-1} , ν_{NH} 3229 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{18}H_{11}N_2O_3$ 303,0770 ; trouvée 303,0777.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,17 (1 H, dd, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 0,5$ Hz) ; 7,43 (1H, td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 0,5$ Hz) ; 7,61 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,76 (1H, d, $J = 8$ Hz) ; 7,77 (1H, d, $J = 8$ Hz) ; 8,18 (1H, d, $J = 7,5$ Hz), 8,94 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,90 (1H, se) ; 12,35 (1H, s) ; 12,94 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 111,7 ; 117,2 ; 118,8 ; 121,1 ; 124,5 ; 127,9 ; 140,1 ; 141,5 ; 154,3 (C quat) ; 111,8 ; 113,4 (2C) ; 120,9 ; 124,1 ; 126,7 ; 129,7 (C tert) ; 170,2 ; 175,9 (C=O).

2-Benzyloxyméthyl-7-(1-déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-Benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-1,3,3a,3b,6a,11c-hexahydro-cyclopenta[3,4-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-1,3,4,6-tétraone (43a)



Une solution de 3-(1-benzyloxyméthyl-2,5-dihydro-2,5-dioxy-pyrrol-3-yl)-1-(1-déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-indole (400 mg ; 0,47 mmol) dans du toluène (12 mL) est chauffée 5 jours à reflux en présence de cyclopentendiénone (230 mg ; 2,4 mmol).

Après retour à température ambiante le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant : de cyclohexane/AcOEt 7:3 à AcOEt/MeOH 95:05).

Deux composés jaunes sont isolés : **43a** (156 mg ; 0,16 mmol ; Rdt = 35%) ; **43b** (138 mg ; 0,14 mmol ; Rdt = 31%).

Composé 43a

F = 67 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1657, 1703, 1763 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{59}H_{55}N_2O_{10}$ 951,3857 ; trouvée 951,3896.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : 2,47 (1H, d, $J = 5,0$ Hz) ; 3,08 (1H, t, $J = 6,0$ Hz) ; 3,50 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 3,65-3,68 (2H, s) ; 3,69-3,82 (6H, m) ; 4,30-4,38 (3H, m) ; 4,51 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,58 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,69 (2H, pq, $J = 12,0$ Hz) ; 4,82 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,84 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,93 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 5,06 (1H, s) ; 5,11 (2H, dd, $J_1 = 26,0$ Hz, $J_2 = 11,0$ Hz) ; 5,23 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 6,57-6,61 (2H, m) ; 6,77 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 6,89 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 6,96-7,00 (3H, m) ; 7,14-7,32 (19 H, m) ; 7,37 (2H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,64 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,57 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : 42,1 ; 43,4 ; 43,8 ; 62,1 ; 75,5 ; 76,7 ; 76,8 ; 85,6 ; 86,2 (CH) ; 67,5 ; 67,8 ; 71,6 ; 73,8 ; 74,0 ; 75,4 ; 75,8 (CH₂) ; 109,0 ; 109,2 ; 120,4 ; 127,5-129,0 ; 133,9

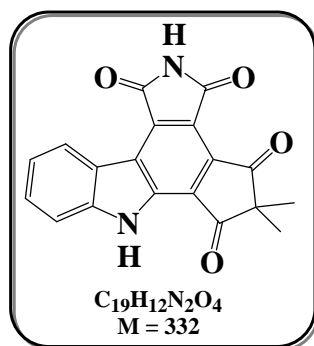
(C tert arom) ; 113,4 ; 121,8 ; 136,6 ; 137,0 ; 137,4 ; 137,8 ; 137,9 ; 144,5 ; 153,8 (C quat arom) ; 166,3 ; 174,3 ; 185,3 ; 200,8 (C=O).

Composé 43b

Masse (ESI+) [M+Na]⁺ 973, [M+K]⁺ 989.

2*H*-7*H*-1,3-Dihydro-5,5-diméthyl-cyclopenta[4,5-*a*]

pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (44)



44

Le 3-(indol-3-yl)-maléimide (100 mg ; 0,47 mmol) en suspension dans du toluène (12 mL) est chauffé dans une bombe 7j à 140 °C en présence de 2,2-diméthylcyclopentènedione (350 mg ; 2,83 mmol).

Après refroidissement, le milieu réactionnel est filtré et le résidu est lavé au dichlorométhane et à l'AcOEt.

Le produit isolé 44 est un solide orange (30 mg ; 0,09 mmol ; Rdt = 20%).

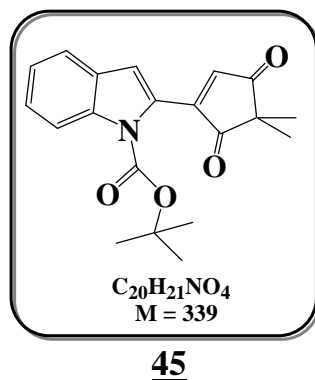
F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1700, 1726, 1742, 1767 cm^{-1} , ν_{NH} 3257, 3340 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour $C_{19}H_{13}N_2O_4$ 333,0875 ; trouvée 333,0890.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,35 (6H, s) ; 7,52 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,75 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,91 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 9,06 (1H, d, *J* = 8,0 Hz), 11,68 (1H, s, NH) ; 13,07 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ¹³C n'a pas pu être effectué.

2,2-Diméthyl-4-(2-*N*-Boc-indolyl)-cyclopent-4-èn-1,3-dione (45)

A une solution de 2,2-diméthyl-5-bromo-cyclopentanedione (437 mg ; 2,15 mmol) et de Pd(PPh₃)₄ (208 mg ; 0,078 mmol) dans du benzène (36 mL) est additionné l'acide 2-*N*-Boc-indole-borique (670 mg ; 2,57 mmol) en solution dans de l'EtOH absolu (18 mL). Une solution de Na₂CO₃ (1,32 g) dans l'eau (49 mL) est additionnée à son tour et le milieu réactionnel est chauffé 1h30 à reflux.

Après refroidissement, de l'eau est ajoutée et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane/AcOEt de 95:05 à 80:20).

Le produit de couplage **45** est obtenu sous forme d'un solide jaune (157 mg ; 0,46 mmol ; Rdt = 22%).

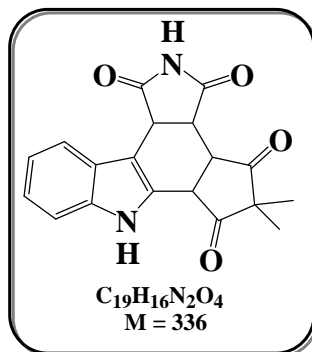
F = 77 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1705, 1730 cm⁻¹.

Masse (ESI+) [M-Boc+H]⁺ 240 ; [M-Boc+Na]⁺ 262 ; [M+Na]⁺ 362.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,30 (6H, s) ; 1,67 (9H, s) ; 7,02 (1H, s) ; 7,09 (1H, s) ; 7,27 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,41 (1H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 7,61 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,03 (1H, d, *J* = 8,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 19,9 ; 28,1 (CH₃) ; 47,6 ; 85,2 ; 128,7 ; 129,1 ; 137,6 ; 150,0 (C quat) ; 114,7 ; 115,2 ; 121,8 ; 123,3 ; 126,4 ; 138,0 (C tert) ; 151,7 ; 204,7 ; 206,1 (C=O).

5,5-Diméthyl-2*H*,7*H*-1,3,3a,3b,6a,11c-tétrahydro-cyclopenta[4,5-*a*]**pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (46)****46**

Une solution de 45 (157 mg ; 0,46 mmol) dans du toluène (3 mL) est chauffé 2 jours dans un tube scellé à 140°C en présence de maléimide (223 mg ; 2,3 mmol).

Après évaporation du solvant, le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: AcOEt/cyclohexane de 3:7 à 7:3).

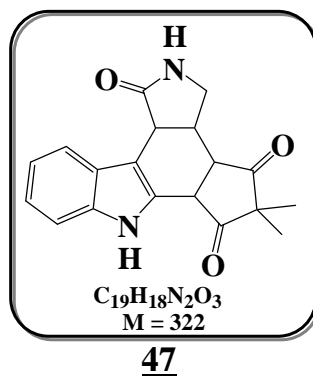
Le produit 46 est isolé sous forme d'un solide jaune (75 mg ; 0,22 mmol ; Rdt = 48%).

F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1704, 1720, 1768 cm^{-1} , ν_{NH} 3400-3600 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,09 (6H, s) ; 3,46 (2H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 3,86 (2H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,03 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 7,13 (1H, td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,30 (1H, td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,79 (1H, d, $J = 7,0$ Hz), 11,21 (1H, s, NH) ; 11,69 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 22,2 (3 CH_3) ; 46,2 (2 CH) ; 46,3 (2 CH) ; 111,3 ; 121,9 ; 125,8 ; 128,4 (C tert) ; 53,7 ; 94,0 ; 128,7 ; 146,2 ; 152,0 (C quat) ; 174,2 ; 176,3 ; 195,6 ; 214,0 (C=O).

2*H*,7*H*-5,5-Diméthyl-1,3,3a,3b,6a,11c-hexahydro-cyclopenta[4,5-*a*]**pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,4,6-trione (47)**

Une suspension de 3-(1*H*-indol-3-yl)-1*H*-2,5-dihydro-pyrrol-2-one (219 mg ; 1,11 mmol) dans du toluène (4 mL) est chauffé à 140 °C dans un tube scellé en présence de 2,2-diméthylcyclopentanedione (789 mg ; 6,36 mmol). Après 4 jours de réaction, le milieu réactionnel est filtré et le résidu est lavé plusieurs fois au dichlorométhane.

Le produit **47** est isolé sous forme d'un solide jaune pâle (226 mg ; 0,70 mmol ; Rdt = 63%).

F > 280 °C.

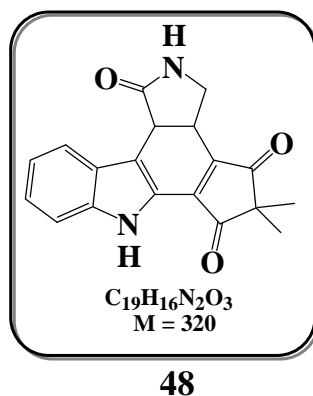
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1689, 1723, 1763 cm^{-1} , ν_{NH} 3346, 3376 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ 345 ; $[M+H]^+$ 323.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 0,70 (3H, s) ; 1,19 (3H, s) ; 3,19 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 3,35-3,49 (3H, m) ; 3,79 (1H, m) ; 4,48 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 6,96 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,08 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,35 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,64 (1H, s, NH) ; 7,86 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 11,00 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,9 ; 21,6 (CH₃) ; 32,2 ; 38,2 ; 44,8 ; 46,6 (CH) ; 43,5 (CH₂) ; 50,6 ; 105,3 ; 126,2 , 126,3 ; 137,0 (C quat) ; 111,2 ; 118,5 ; 120,9 ; 121,6 (C tert) ; 175,1 ; 212,6 ; 215,9 (C=O).

**5,5-Diméthyl-2*H*,7*H*-1,3,3a,11c-tétrahydro-cyclopenta[4,5-*a*]
pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,4,6-trione (**48**)**



Une solution du composé **47** (30 mg ; 0,093 mmol) dans du dioxane (3 mL) est chauffée 2 jours à 80 °C en présence de TFA (72 µL).

Après évaporation, le résidu est repris avec de l'eau et le produit partiellement oxydé **48** est isolé sous forme d'un solide orange (27 mg ; 0,084 mmol ; Rdt =91%).

F > 280 °C.

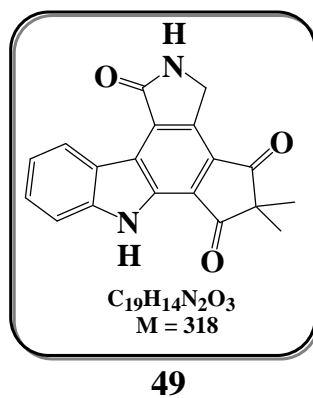
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1690, 1723, 1763 cm^{-1} , ν_{NH} 3370-3565 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ 343 ; $[M+H]^+$ 321.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,16 (3H, s) ; 1,17 (3H, s) ; 3,30 (1H, pt, $J = 8,0$ Hz) ; 3,75 (1H, pt, $J = 9,0$ Hz) ; 4,06 (1H, m) ; 4,21 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 7,09 (1 H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,25 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,56 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,07 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 8,11 (1H, s, NH) ; 11,64 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 19,9 ; 20,0 (CH_3) ; 31,8 ; 41,2 (CH) ; 45,4 (CH_2) ; 47,2 ; 114,1 ; 123,8 ; 125,7 ; 139,8 ; 140,7 ; 147,1 (C quat) ; 112,7 ; 120,0 ; 122,2 ; 124,4 (C tert) ; 175,4 ; 203,6 ; 203,8 (CO).

**5,5-Diméthyl-2*H*,7*H*-1,3-dihydro-cyclopenta[4,5-*a*]
pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,4,6-trione (**49**)**



Une solution du composé **48** (37 mg ; 0,116 mmol) dans du dioxane (4 mL) est chauffée 24h à 80 °C en présence de TFA (50 μ L).

Après évaporation, le résidu est repris dans l'eau et filtré.

Le produit **49** est obtenu sous forme d'un solide jaune (33 mg ; 0,10 mmol ; Rdt = 89%).

F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1694, 1722 cm^{-1} , ν_{NH} 3400-3565 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{19}H_{15}N_2O_3$ 319,1083 ; trouvée 319,1084.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,38 (6H, s) ; 5,10 (2H, s) ; 7,43 (1 H, td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 0,5$ Hz) ; 7,70 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,86 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,03 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,37 (1H, s, NH) ; 12,83 (1H, s, NH).

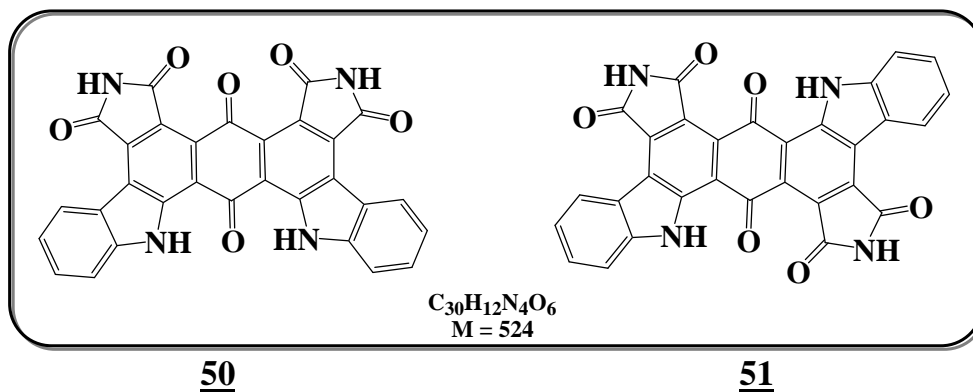
RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,3 (CH $_3$) ; 45,7 (CH $_2$) ; 49,9 ; 119,6 ; 125,2 ; 126,3 ; 130,0 ; 130,6 ; 130,7 ; 133,2 ; 143,5 (C quat) ; 112,9 ; 121,1 ; 125,5 ; 129,4 (C tert) ; 168,2 ; 203,2 ; 203,6 (CO).

2H,6H,12H,14H-Di-(1,3-dihydro-pyrrolo[3,4-c]carbazolo[2,3-a:3,2-d])

cyclohexa-1,3,4,5,7,13-hexaone (50)

2H,5H,11H,14H-Di-(1,3-dihydropyrrolo[3,4-c]carbazole[2,3-a:2,3-d])

cyclohexa-1,3,4,5,7,13-hexaone (51)



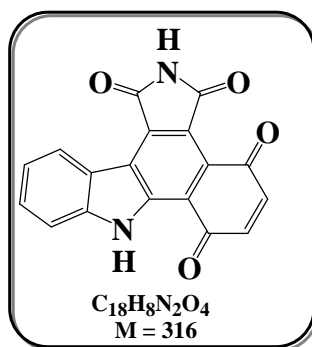
A une suspension de 3-(indol-3-yl)-maléimide (50 mg ; 0,23 mmol) dans du toluène (7 mL) est additionnée de la benzoquinone (149 mg ; 1,38 mmol). Le milieu réactionnel est chauffé à 140 °C dans une bombe durant 5 jours. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré. La poudre obtenue est lavée plusieurs fois à l'eau et à l'AcOEt.

Le produit, un solide rouge brique, est isolé sous forme d'un mélange d'isomères (43 mg ; 0,08 mmol ; Rdt = 73%). Les proportions des isomères **50** et **51** sont calculées sur les intégrales des signaux à 7,96 et 8,04 ppm dans le spectre de RMN du proton et sont respectivement de 1:1.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1722, 1770 cm^{-1} , ν_{NH} 3300, 3366 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,45 (2H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,69 (2H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,96 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,04 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,00 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,08 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,65 (2H, s, NH) ; 12,49 (1H, s, NH) ; 12,82 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

1,3-Dihydro-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]**carbazole-1,3,4,7-tétraone (52a)****52a**

A une suspension de 3-(indol-3-yl)-maléimide (30 mg ; 0,14 mmol) dans du toluène (7 mL) est additionnée de la benzoquinone (611 mg ; 5,66 mmol). Le milieu réactionnel est chauffé à 140 °C dans une bombe durant une nuit. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré. La poudre obtenue est lavée plusieurs fois à l'eau et à l'AcOEt.

Le produit **52a** est isolé sous forme d'un solide marron (28 mg ; 0,09 mmol ; Rdt = 63%).

F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1721, 1766 cm^{-1} , ν_{NH} 3314 cm^{-1} .

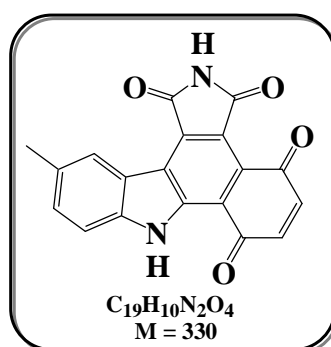
Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 317.

Masse Exacte (ESI+) $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{18}H_8N_2O_4Na$ 339,0382 ; trouvée 339,0385.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,13 (1H, d, $J = 10$ Hz) ; 7,18 (1H, d, $J = 10$ Hz) ; 7,43 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,68 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,93 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,03 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,57 (1H, s, NH) ; 12,64 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

**2*H*,8*H*-1,3-Dihydro-11-méthyl-benzo[1,2-*a*]
pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3,4,7-tétraone (**52b**)**



52b

A une suspension de 3-(5-méthyl-indol-3-yl)-maléimide (70 mg ; 0,31 mmol) dans du toluène (11 mL) est additionnée de la benzoquinone (1,3 g ; 12,39 mmol). Le milieu réactionnel est chauffé à 140 °C dans une bombe durant une nuit. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré. La poudre obtenue est lavée plusieurs fois à l'eau et à l'AcOEt.

Le produit **52b** est isolé sous forme d'un solide marron (84 mg ; 0,25 mmol ; Rdt = 82%).

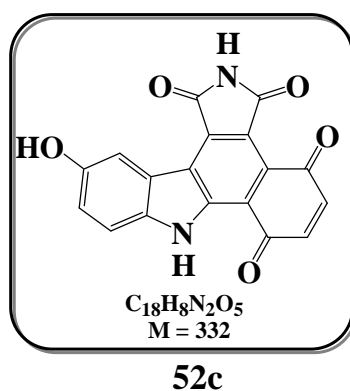
F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1716, 1768 cm^{-1} , ν_{NH} 3293 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{19}H_{11}N_2O_4$ 331,0719, trouvée 331,0710.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,57 (3H, s) ; 7,13 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) ; 7,17 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) ; 7,51 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,82 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,84 (1H, s) ; 11,56 (1H, s, NH) ; 12,57 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

2*H*,8*H*-1,3-Dihydro-11-hydroxy-benzo[1,2-*a*]pyrrolo**[3,4-*c*]carbazole-1,3,4,7-tétraone (52c)**

A une suspension de 3-(5-hydroxy-indol-3-yl)-maléimide (70 mg ; 0,30 mmol) dans du toluène (10 mL) est additionnée de la benzoquinone (1,3 g ; 12,39 mmol). Le milieu réactionnel est chauffé à 140 °C dans une bombe durant une nuit. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré. La poudre obtenue est lavée plusieurs fois à l'eau et à l'AcOEt.

Le produit **52c** est isolé sous forme d'un solide marron (71 mg ; 0,21 mmol ; Rdt = 71%).

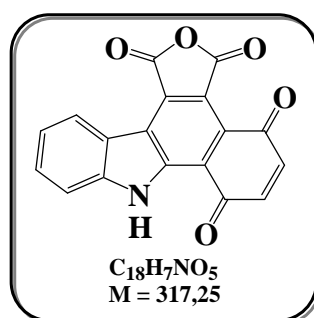
F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{\text{C=O}}$ 1717, 1765 cm^{-1} , $\nu_{\text{NH,OH}}$ 3255, 3419 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculée pour $\text{C}_{18}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_5$ 333,0511, trouvée 333,0527.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 7,11 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) ; 7,15 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) ; 7,18 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz,) ; 7,76 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 8,48 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 9,52 (1H, s, OH) ; 11,53 (1H, s, NH) ; 12,46 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

8*H*-1,3-Dihydro-benzo[1,2-*a*]furo[3,4-*c*]**carbazole-1,3,4,7-tétraone (53)****53**

A une suspension de 3-(indol-3-yl)-furane-2,5-dione (30 mg ; 0,14 mmol) dans du toluène (7 mL) est additionnée de la benzoquinone (611 mg ; 5,66 mmol). Le milieu réactionnel est chauffé à 140 °C dans une bombe durant 2 jours. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré. La poudre obtenue est lavée plusieurs fois à l'eau et à l'AcOEt.

Le produit **53** est isolé sous forme d'un solide marron (10 mg ; 0,031 mmol ; Rdt = 23%).

F > 300 °C.

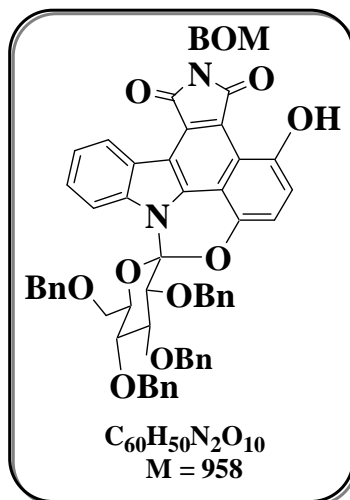
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1715, 1771, 1820, 1846 cm^{-1} , ν_{NH} 3398 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[M+Na]^+$ calculée pour $C_{18}H_7NO_5Na$ 340,0222, trouvée 340,0237.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,22 (2H, s) ; 7,50 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,75 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,99 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,89 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 12,93 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

1,3-Dihydro-2-benzyloxyméthyl-7,8-(1,1-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranosyl))-4-hydroxy-benzo[1,2-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3-dione (54**)**



54

Une solution de 3-(1-benzyloxyméthyl-2,5-dihydro-2,5-dioxy-pyrrol-3-yl)-1-(1-déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-indole (450 mg ; 0,53 mmol) dans du toluène (30 mL) est portée à reflux une nuit en présence de *p*-benzoquinone (1,73 g ; 16,0 mmol). Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de silice flash (cyclohexane/AcOEt/toluène 10:4:2).

Le produit **54** est isolé sous forme d'un solide rouge (170 mg ; 0,177 mmol ; Rdt = 33%).

F = 55 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1685, 1758 cm^{-1} .

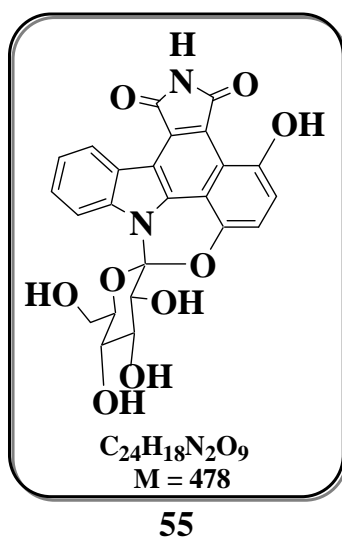
Masse (ESI+) $[M+Na]^+$ 981.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : 2,96 (1H, d, $J = 11,5$ Hz) ; 3,92 (1H, dd, $J_1 = 11,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz,) ; 4,02 (1H, dd, $J_1 = 11,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz,) ; 4,06 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,11 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 4,19-4,29 (2H, m) ; 4,53 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) ; 4,57 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,67 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,73-4,77 (4H, m) ; 4,85 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,97 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 5,25 (2H, d, $J = 1,5$ Hz) ; 5,91 (2H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 6,71 (2H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 6,86 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,07 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,10 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,16-7,45 (22 H, m) ; 7,85 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,76 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 10,80 (1H, s, échangeable).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : 66,9 ; 67,9 ; 71,7 ; 73,5 ; 74,5 ; 75,5 ; 75,8 (CH_2) ; 74,1 ; 76,9 ; 82,0 ; 82,8 ; 112,8 ; 113,1 ; 114,6 ; 122,9 ; 125,1 ; 126,0 ; 126,9 ; 127,3 ; 127,4 ; 127,6 ; 127,7

; 127,8 ; 128,0 ; 128,4 ; 128,5 ; 128,6 (C tert) ; 107,2 ; 109,5 ; 111,4 ; 115,3 ; 118,8 ; 123,0 ; 136,1 ; 137,3 ; 137,9 ; 138,0 ; 138,1 ; 138,4 ; 142,2 ; 148,2 (C quat) ; 168,3 ; 173,4 (C=O).

**2*H*-1,3-Dihydro-7,8-(1,1-D-glucopyranosyl)-4-hydroxy-benzo[1,2-*a*]
pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3-dione (**55**)**



Une solution du composé **54** (43 mg ; 0,045 mmol) dans un mélange THF/MeOH (2,0/0,5 mL) est hydrogénée sous pression atmosphérique en présence de Pd(OH)₂ (22 mg) pendant 12 h à température ambiante. Le mélange est filtré sur Célite et les solvants sont évaporés. Le résidu est mis en solution dans THF/NH₄OH (4,5/9,0 mL). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 4h30 et les solvants sont évaporés.

Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (AcOEt 100%) et le produit **55** est isolé sous forme d'un solide rouge (18 mg ; 0,038 mmol ; Rdt = 84%).

F = 240-242 °C.

IR (KBr) $\nu_{\text{C=O}}$ 1687, 1757 cm⁻¹, $\nu_{\text{NH,OH}}$ 3300-3600 cm⁻¹.

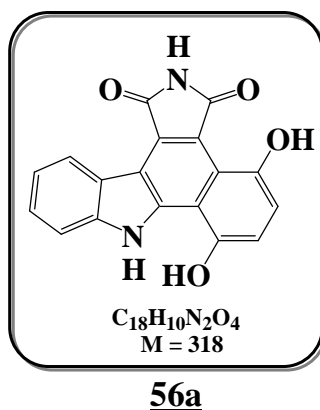
Masse Exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour C₂₄H₁₉N₂O₉ 479,1091 ; trouvée 479,1103.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,61-3,78 (3H, m) ; 3,88-3,91 (1H, m) ; 4,09-4,16 (2H, m) ; 4,79 (1H, t, *J* = 5,5 Hz, OH) ; 5,30 (1H, d, *J* = 5,5 Hz, OH) ; 5,41 (1H, d, *J* = 5,5 Hz, OH) ; 5,52 (1H, d, *J* = 5,5 Hz, OH) ; 7,10 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,27 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,55 (1H, td, *J*₁ = 7,0 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz) ; 7,67 (1H, td, *J*₁ = 7,0 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz) ; 7,98 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,80 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 11,28 (1H, s) ; 11,93 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, acétone- d_6) : 61,1 (CH₂) ; 70,0 ; 74,1 ; 74,6 ; 76,8 ; 112,8 ; 113,6 ; 114,2 ; 122,4 ; 124,6 ; 127,0 (C tert) ; 106,9 ; 108,3 ; 109,0 ; 111,6 ; 120,1 ; 123,2 ; 128,6 ; 138,4 ; 138,5 ; 141,7 ; 148,4 (C quat) ; 169,4 ; 175,1 (C=O).

2H, 8H-1,3-Dihydro-4,7-dihydroxy-benzo[1,2-a]

pyrrolo[3,4-c]carbazole-1,3-dione (56a)



A une suspension de 52a (55 mg ; 0,17 mmol) dans du THF (2,8 mL) est additionnée une solution aqueuse de Na₂S₂O₄ (89 mg ; 0,51 mmol dans 600 μL d'eau). Le milieu réactionnel est agité 2 h à température ambiante.

Après évaporation du solvant, le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane/AcOEt 7:3).

Le composé 56a est isolé sous forme d'un solide violet (43 mg ; 0,14 mmol ; Rdt = 80%).

F > 300 °C.

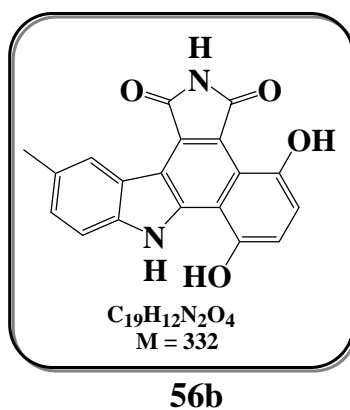
IR (KBr) $\nu_{\text{C=O}}$ 1672, 1738 cm^{-1} , $\nu_{\text{NH, OH}}$ 3053, 3211, 3412 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculée pour C₁₈H₁₁N₂O₄ 319,0719 ; trouvée 319,0720.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,03 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,20 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,40 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,56 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 8,01 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,00 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 10,84 (1H, se) ; 11,78 (2H, s) ; 12,27 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 111,4 ; 114,1 ; 117,8 ; 117,9 ; 120,0 ; 128,6 ; 139,7 ; 140,8 ; 146,2 ; 146,8 (C quat) ; 112,9 ; 113,1 ; 113,8 ; 120,8 ; 123,6 ; 126,1 (C tert) ; 170,2 ; 175,9 (C=O).

**2*H*,8*H*-1,3-Dihydro-4,7-dihydroxy-11-méthyl-benzo[1,2-*a*]
pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3-dione (**56b**)**



A une suspension du composé **52b** (30 mg ; 0,09 mmol) dans du THF (1,5 mL) est additionnée une solution aqueuse de Na₂S₂O₄ (47 mg ; 0,27 mmol dans 300 µL d'eau). Le milieu réactionnel est agité 3 h à température ambiante.

Après évaporation du solvant, le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane/AcOEt 7:3).

Le composé **56b** est isolé sous forme d'un solide violet (30 mg ; 0,09 mmol ; Rdt = 100%).

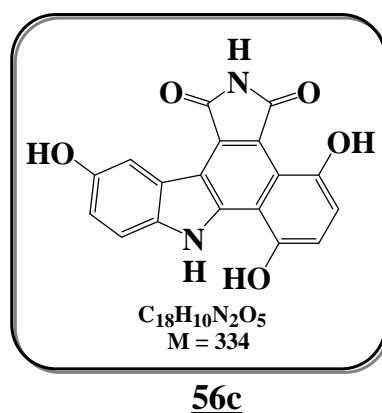
F > 300 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1678, 1740 cm⁻¹, $\nu_{NH,OH}$ 3300-3600 cm⁻¹.

Masse Exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour C₁₉H₁₃N₂O₄ 333,0875 ; trouvée 333,0862.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,57 (3H, s) ; 7,01 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,18 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,38 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,88 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,79 (1H, s) ; 10,75 (1H, s) ; 11,78 (2H, s) ; 12,18 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 21,5 (CH₃) ; 111,2 ; 114,1 ; 117,5 ; 117,7 ; 120,2 ; 128,7 ; 129,5 ; 138,0 ; 140,9 ; 146,2 ; 146,8 (C quat) ; 112,6 ; 113,0 ; 113,7 ; 123,3 ; 127,6 (C tert) ; 170,2 ; 175,9 (C=O).

2*H*,8*H*-1,3-Dihydro-4,7,11-trihydroxy-benzo[1,2-*a*]**pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3-dione (56c)**

A une suspension du composé 52c (90 mg ; 0,27 mmol) dans du THF (4 mL) est additionnée une solution aqueuse de Na₂S₂O₄ (142 mg ; 0,81 mmol dans 960 µL d'eau). Le milieu réactionnel est agité 3 h à température ambiante.

Après évaporation du solvant, le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: AcOEt/cyclohexane 8:2).

Le composé 56c est isolé sous forme d'un solide violet (40 mg ; 0,12 mmol ; Rdt = 44%).

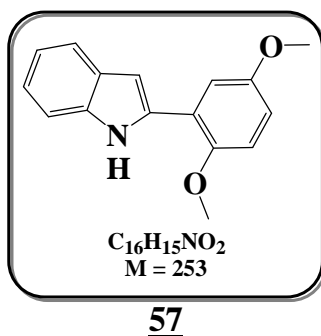
F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1661, 1743 cm⁻¹, $\nu_{NH, OH}$ 3286, 3415 cm⁻¹.

Masse Exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour C₁₈H₁₁N₂O₅ 335,0668 ; trouvée 335,0668.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 6,97 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,02 (1H, dd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 2,0 Hz) ; 7,13 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,77 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,38 (1H, d, *J* = 2,0 Hz) ; 9,28 (1H, s) ; 10,71 (1H, s) ; 11,75 (1H, s) ; 11,78 (1H, s) ; 12,06 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 108,1 ; 112,9 ; 113,4 ; 113,6 ; 116,1 (C tert) ; 111,3 ; 114,1 ; 116,8 ; 117,7 ; 120,8 ; 129,0 ; 133,8 ; 141,1 ; 146,2 ; 146,8 ; 152,1 (C quat) ; 170,3 ; 175,9 (C=O).

2-(1,4-Diméthoxyphényl-2-yl)-1H-indole (57)

A une solution de 2-bromo-1,4-diméthoxybenzène (1,00 g ; 4,62 mmol) et de Pd(PPh₃)₄ (432 mg ; 0,16 mmol) dans du toluène (27 mL) est additionné l'acide 2-*N*-Boc-indole-borique (2,35 g ; 9,24 mmol) en solution dans de l'EtOH absolu (13 mL). Une solution de Na₂CO₃ (3,61 g) dans l'eau (6,7 mL) est additionnée à son tour et le milieu réactionnel est chauffé 3h00 à reflux.

Après refroidissement, de l'eau est ajoutée et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées puis séchées sur MgSO₄. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane à cyclohexane/AcOEt 9:1).

Le produit de couplage obtenu en mélange avec le composé bromé (850 mg) est dissous dans du dichlorométhane (9 mL) et agité 18h à température ambiante en présence de TFA (8 mL). De l'eau est ajoutée et le mélange est extrait au dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées puis séchées sur MgSO₄. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant : cyclohexane/AcOEt 9:1).

Le produit de couplage déprotégé **57** est obtenu sous forme d'un solide beige (407 mg ; 1,61 mmol ; Rdt = 35%).

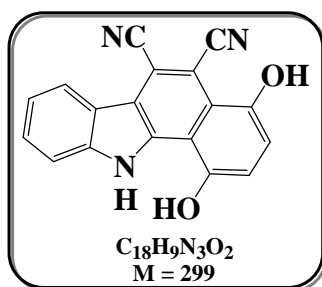
F = 85 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1617, 1638 cm⁻¹ ; $\nu_{NH,OH}$ 3300-3600 cm⁻¹ ..

Masse exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour C₁₆H₁₆NO₂ 254,1181 ; trouvée 254,1190.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 3,86 (3H, s) ; 3,98 (3H, s) ; 6,85 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 3,0$ Hz) ; 6,91 (1H, dd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 0,5$ Hz) ; 6,97 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 7,12 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,20 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,40 (1H, d, $J = 3,0$ Hz) ; 7,43 (1H, dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 0,5$ Hz) ; 7,65 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,75 (1H, se, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 55,8 ; 56,6 (CH₃) ; 99,9 ; 111,0 ; 113,3 ; 113,4 ; 113,7 ; 119,8 ; 120,3 ; 122,0 (C tert) ; 121,4 ; 128,0 ; 135,8 ; 136,2 (C quat) ; 150,3 ; 154,2 (C-O).

1,2-Dicyano-3,6-dihydroxy-7H-benzo[1,2-a]carbazole (59)**59**

Une solution de BBr_3 (1M dans CH_2Cl_2 ; 800 μ L) est ajoutée goutte à goutte à une solution du composé 57 (50 mg ; 0,20 mmol) à -78 °C dans du CH_2Cl_2 (5 mL). Le milieu réactionnel est agité une nuit à température ambiante. De l'eau est additionnée à 0°C et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont séchées sur $MgSO_4$.

Après évaporation des solvants, le résidu est dissous dans du MeOH (5 mL) et porté 30 min à reflux en présence de DDQ (816 mg ; 3,6 mmol). Après évaporation du MeOH, le résidu est repris dans de l'AcOEt, filtré et le résidu solide est lavé à l'AcOEt.

A une solution de la dicétone obtenue dans du THF (2 mL) est additionnée une solution aqueuse de $Na_2S_2O_4$ (70 mg ; 0,40 mmol dans 500 μ L d'eau). Le milieu réactionnel est agité 4 h à température ambiante.

Après évaporation du solvant, le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: AcOEt/cyclohexane 7:3).

Le composé 59 est isolé sous forme d'un solide beige (31 mg ; 0,10 mmol ; Rdt = 52%).

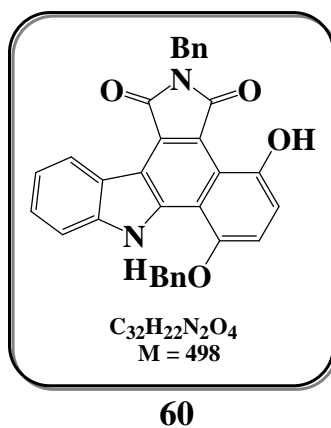
F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$, $\nu_{C=O}$ 1619, 1645, 1793 cm^{-1} ; $\nu_{NH,OH}$ 3300-3600 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$) : 7,08 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,20 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,46 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,61 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 8,03 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,47 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 10,49 (1H, s) ; 10,84 (1H, s) ; 12,31 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, $DMSO-d_6$) : 101,3 ; 110,2 ; 113,5 ; 114,6 ; 116,7 ; 118,2 ; 119,4 ; 120,4 ; 136,9 ; 139,4 ; 145,6 ; 146,6 (C quat) ; 112,5 ; 113,4 ; 113,5 ; 119,0 ; 121,1 ; 126,4 (C tert).

**2-Benzyl-7-benzyloxy-4-hydroxy- 8H-1,3-dihydro-benzo[1,2-a]
pyrrolo[3,4-c]carbazol-1,3-dione (60)**



A une solution de diphenol **56a** (70 mg ; 0,22 mmol) dans de l'acétone sec (1,5 mL) sont additionnés K_2CO_3 (181 mg ; 1,32 mmol) et le bromure de benzyle (124 μ L ; 1,06 mmol). Le milieu réactionnel est chauffé 3h à reflux.

Après refroidissement, une solution aqueuse de HCl 1N jusqu'à pH acide est additionnée et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées et séchées sur $MgSO_4$. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane/AcOEt de 9:1 à 7:3). Le composé **60** est isolé sous forme d'un solide rouge (88 mg ; 0,18 mmol ; Rdt = 80%).

F > 280 °C.

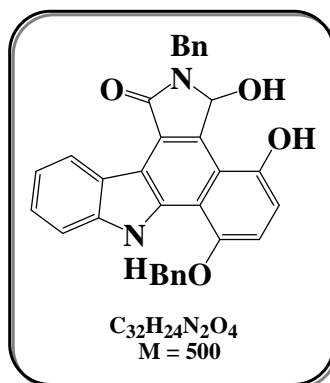
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1668, 1752 cm^{-1} ; $\nu_{NH,OH}$ 3300-3600 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{32}H_{23}N_2O_4$ 499,1658 ; trouvée 499,1635.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,95 (2H, s) ; 5,73 (2H, s) ; 6,98-7,63 (14H, m) ; 7,97 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,03 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,70 (1H, se, NH) ; 12,33 (1H, s, NH).

En raison de l'insolubilité du composé, son spectre de RMN du ^{13}C n'a pas pu être effectué.

**2-Benzyl-7-benzyloxy-3,4-dihydroxy- 8H-1,3-dihydro-
benzo[1,2-a]pyrrolo[3,4-c]carbazol-1-one (61)**



A une solution du composé **60** (100 mg ; 0,20 mmol) dans du THF anhydre (9 mL) à –78 °C est additionnée une solution de LiAlH₄ (2M dans du THF, 500 µL). Le milieu réactionnel est agité 3h à –78 °C et une solution aqueuse de HCl 1N est additionnée jusqu'à pH acide.

Le mélange est extrait à l'AcOEt, les phases organiques sont lavées avec une solution aqueuse de NaCl saturée et séchées sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le composé **61** est isolé sous forme d'un solide beige (100 mg ; 0,20 mmol ; Rdt = 100%).

F > 280 °C.

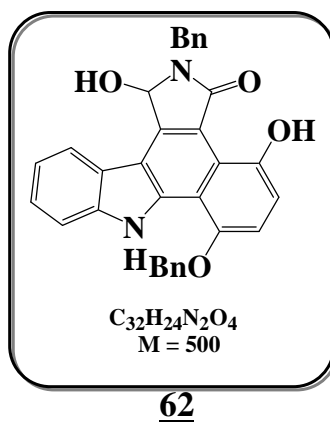
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1670 cm⁻¹ ; $\nu_{NH,OH}$ 3400-3600 cm⁻¹.

Masse Exacte (ESI+) [M+H-H₂O]⁺ calculée pour C₃₂H₂₃N₂O₃ 483,1709 ; trouvée 483,1703.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 4,48 (1H, d, *J* = 15,5 Hz) ; 5,18 (1H, d, *J* = 15,5 Hz) ; 5,70 (2H, s) ; 6,36 (1H, d, *J* = 7,0 Hz, CHOH) ; 6,40 (1H, d, *J* = 7,0 Hz, CHOH) ; 6,88 (2H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,07 (1H, t, *J* = 8,5 Hz) ; 7,29-7,45 (9H, m) ; 7,49 (1H, td, *J*₁ = 7,0 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz) ; 7,57 (2H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 7,88 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 9,29 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 9,98 (1H, s, NH) ; 11,85 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 42,2 ; 69,1 (CH₂) ; 81,6 ; 109,7 ; 110,1 ; 111,8 ; 119,3 ; 124,7 ; 125,0 ; 127,1 ; 127,2 (2C) ; 127,6 (3C) ; 128,4 (2C) ; 128,5 (2C) (C tert) ; 112,2 ; 115,6 ; 118,6 ; 120,9 ; 124,9 ; 133,8 ; 135,4 ; 137,5 ; 138,2 ; 138,8 ; 146,8 ; 147,8 (C quat) ; 167,6 (C=O).

**2-Benzyl-7-benzyloxy-1-hydroxy-8H-1,3-dihydro-benzo[1,2-a]
pyrrolo[3,4-c]carbazol-3-one (62)**



A une solution du composé **60** (50 mg ; 0,10 mmol) dans du THF anhydre (2 mL) à 0 °C est additionnée NaBH₄ (4 mg ; 0,10 mmol). Le milieu réactionnel est agité 4h à température ambiante et une solution aqueuse de HCl 1N est additionnée.

Le mélange est extrait à l'AcOEt, la phase organique est lavée avec une solution aqueuse de NaCl saturée et séchée sur MgSO₄. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane/AcOEt de 9:1 à 1:1). Les deux régioisomères sont isolés : le composé attendu **62** est isolé sous forme d'un solide beige (14 mg ; 0,028 mmol ; Rdt = 28%) et son régioisomère **61** est obtenu sous forme d'un solide beige (30 mg ; 0,060 mmol ; Rdt = 60%).

F > 280 °C.

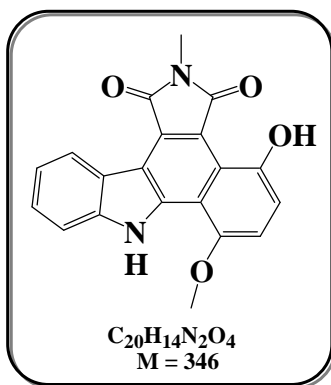
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1670 cm⁻¹ ; $\nu_{NH,OH}$ 3300-3600 cm⁻¹.

Masse Exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour C₃₂H₂₅N₂O₄ 501,1814 ; trouvée 501,1805.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 4,65 (1H, d, *J* = 15,5 Hz) ; 5,09 (1H, d, *J* = 15,5 Hz) ; 5,72 (2H, s) ; 6,38 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, CHOH) ; 6,88 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,15 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,28-7,43 (8H, m) ; 7,47 (2H, d, *J* = 7,5 Hz) ; 7,53-7,57 (3H, m) ; 7,93 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,38 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 12,12 (1H, s, NH) ; 13,22 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 43,0 ; 69,2 (CH₂) ; 81,1 ; 109,9 ; 112,2 ; 112,4 ; 120,3 ; 122,5 ; 125,3 ; 127,1 (2C) ; 127,3 ; 127,6 ; 127,7 (2C) ; 128,5 (2C) ; 128,6 (2C) (C tert) ; 112,5 ; 114,4 ; 115,4 ; 118,5 ; 120,3 ; 137,3 ; 137,5 ; 137,9 ; 139,0 ; 142,2 ; 146,5 ; 148,8 (C quat) ; 170,7 (C=O).

**4-Hydroxy-2-méthyl-7-méthoxy-8H-1,3-dihydro-benzo[1,2-*a*]
pyrrolo[3,4-*c*]carbazol-1,3-dione (**63**)**



63

A une solution de diphénol **56a** (200 mg ; 0,63 mmol) dans de l'acétone sec (6 mL) sont additionnés K_2CO_3 (348 mg ; 2,52 mmol) et l'iodure de méthyle (150 μ L ; 2,52 mmol). Le milieu réactionnel est chauffé 3h à reflux.

Après refroidissement, une solution aqueuse de HCl 1N est additionnée jusqu'à pH acide et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont séchées sur $MgSO_4$. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane/AcOEt de 8:2 à 1:1). Le composé **63** est isolé sous forme d'un solide rouge (193 mg ; 0,56 mmol ; Rdt = 89%).

F > 280 °C.

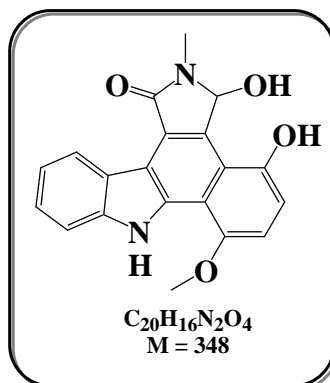
IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1610 cm^{-1} ; $\nu_{C=O}$ 1669, 1751 cm^{-1} ; $\nu_{NH,OH}$ 3300-3600 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) $[M+H]^+$ calculée pour $C_{20}H_{15}N_2O_4$ 347,1032 ; trouvée 347,1031.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,08 (3H, s) ; 4,07 (3H, s) ; 6,93 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,10 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,37 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,57 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,89 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,88 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,58 (1H, s, NH) ; 11,93 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 24,0 ; 55,9 (CH_3) ; 108,7 ; 112,5 ; 112,9 ; 120,7 ; 123,7 ; 126,4 (C tert) ; 112,0 ; 114,2 ; 116,4 ; 117,7 ; 119,7 ; 127,2 ; 139,6 ; 139,7 ; 146,9 ; 148,6 (C quat) ; 168,3 ; 173,7 (C=O).

**3-Hydroxy-2-méthyl-7-méthoxy-8H-1,3-dihydro-
benzo[1,2-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazol-1-one (**64**)**



64

A une solution du composé **63** (70 mg ; 0,20 mmol) dans du THF anhydre (9 mL) à -78 °C est additionnée une solution de $LiAlH_4$ (2M dans du THF ; 500 μ L). Le milieu réactionnel est agité 20 min à -78 °C et une solution aqueuse de HCl 1N est additionnée jusqu'à pH acide.

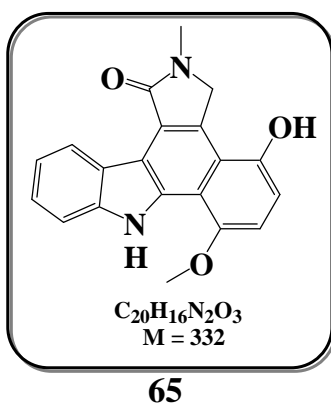
Le mélange est extrait à l'AcOEt, la phase organique est lavée avec une solution aqueuse de NaCl saturée puis séchée sur $MgSO_4$. Après évaporation du solvant, le composé **64** est isolé sous forme d'un solide beige (70 mg ; 0,20 mmol ; Rdt = 100%).

F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$, $\nu_{C=O}$ 1619, 1637, 1679, 1697 cm^{-1} ; $\nu_{NH,OH}$ 3300-3600 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) $[M+H-H_2O]^+$ calculée pour $C_{20}H_{15}N_2O_3$ 331,1083 ; trouvée 331,1089.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,14 (3H, s) ; 4,16 (3H, s) ; 6,43 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 6,48 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 7,05 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,16 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,28 (1H, td, $J_1 = 6,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,47 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,87 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,25 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 10,06 (1H, s, NH) ; 11,74 (1H, s, NH).

4-Hydroxy-2-méthyl-7-méthoxy-8H-1,3-dihydro-benzo**[1,2-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazol-1-one (65)**

Une solution de l'hydroxylactame **64** (63 mg ; 0,18 mmol) dans un mélange EtOH/DMF (50/5 mL) est hydrogénée 24 h sous 55 psi en présence de Pd/C (10 % de Pd, 19 mg) à l'aide d'un appareil de Parr.

Le milieu réactionnel est filtré sur Célite et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1). Le composé **65** est isolé sous forme d'un solide marron (30 mg ; 0,09 mmol ; Rdt = 50%).

F > 280 °C.

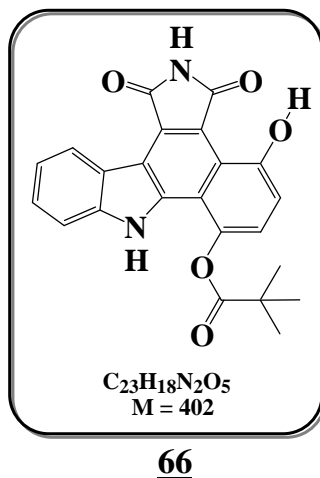
IR (KBr) $\nu_{C=C}$, $\nu_{C=O}$ 1619, 1640, 1697 cm^{-1} ; $\nu_{\text{NH,OH}}$ 3300-3600 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3$ 333,1233 ; trouvée 333,1233.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,39 (3H, s) ; 4,15 (3H, s) ; 5,09 (2H, s) ; 7,01 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,13 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,26 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,44 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,85 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,32 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 10,07 (1H, s, NH) ; 11,65 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 29,0 ; 55,8 (CH₃) ; 54,9 (CH₂) ; 107,1 ; 109,0 ; 111,7 ; 118,9 ; 124,5 ; 124,8 (C tert) ; 112,6 ; 114,7 ; 118,4 ; 121,1 ; 125,6 ; 131,5 ; 134,0 ; 138,5 ; 148,5 ; 148,7 (C quat) ; 168,5 (C=O).

**2*H*,8*H*-1,3-Dihydro-4-hydroxy-7-*O*-pivaloyl-benzo[1,2-*a*]
pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3-dione (**66**)**



A une solution de diphénol **56a** (50 mg ; 0,16 mmol) dans de l'acétonitrile sec (1,5 mL) est additionné K₂CO₃ (66 mg ; 1,48 mmol). Après 20 min d'agitation à température ambiante le chlorure de pivaloyle (120 µL ; 0,96 mmol) est additionné goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 8h à 33 °C. De l'eau est ajoutée et le précipité orange obtenu est filtré et lavé plusieurs fois à l'eau.

Le composé **66** est isolé sous forme d'un solide rouge-orangé (60 mg ; 0,15 mmol ; Rdt = 94%).

F > 280 °C.

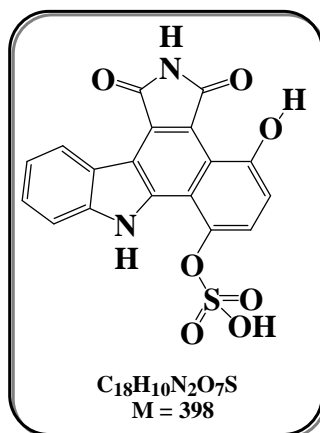
IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1636, 1684, 1759 cm⁻¹ ; $\nu_{NH,OH}$ 3000-3700 cm⁻¹.

Masse Exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour C₂₃H₁₉N₂O₅ 403,1294 ; trouvée 403,1283.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 1,58 (9H, s) ; 7,10 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,20 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,34-7,39 (2H, m) ; 7,50 (1H, t, *J* = 7,0 Hz) ; 7,68 (1H, se) ; 8,86 (1H, d, *J* = 7,5 Hz) ; 9,76 (1H, se) ; 11,98 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 26,7 (CH₃) ; 112,6 ; 113,2 ; 121,5 ; 123,2 ; 124,1 ; 127,0 (C tert) ; 113,2 ; 117,6 ; 117,8 ; 119,4 ; 120,2 ; 128,3 ; 138,5 ; 138,9 ; 139,8 ; 151,9 (C quat) ; 169,7 ; 175,7 ; 177,2 (C=O).

**2*H*,8*H*-1,3-Dihydro-4-hydroxy-7-*O*-sulfo-benzo[1,2-*a*]
pyrrolo[3,4-*c*]carbazol-1,3-dione (**67a**)**



67a

A une solution de diphénol **56a** (137 mg ; 0,43 mmol) dans de la pyridine anhydre (1,5 mL) est additionné le complexe trioxyde de sulfure/pyridine (205 mg ; 1,29 mmol). Le milieu réactionnel est agité 24h à 33 °C. De l'eau est additionnée et les solvants sont évaporés. Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: MeOH/AcOEt 2:8).

Le composé **67a** est isolé sous forme d'un solide rouge (63 mg ; 0,16 mmol ; Rdt = 37%) et 32 mg du composé de départ **56a** ont été récupérés.

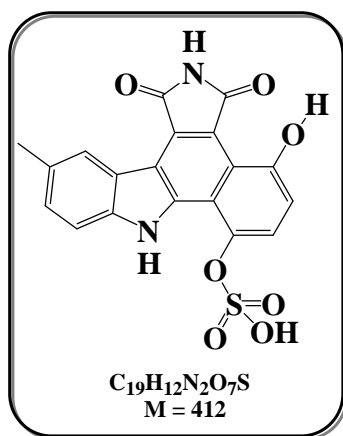
F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1619, 1635 cm^{-1} ; $\nu_{C=O}$ 1681, 1752 cm^{-1} ; $\nu_{NH,OH}$ 3300-3600 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI-) $[M-H]^-$ calculée pour $C_{18}H_9N_2O_7S_1$ 397,0130 ; trouvée 397,0148.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,13 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,45 (1H, td, , $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,62 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,64 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,81 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,03 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,63 (1H, s) ; 11,95 (1H, s) ; 12,26 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 112,0 ; 113,2 ; 121,1 ; 121,8 ; 124,0 ; 126,9 (C tert) ; 112,3 ; 117,7 ; 118,2 ; 118,9 ; 120,0 ; 128,3 ; 139,1 ; 139,4 ; 141,7 ; 150,4 (C quat) ; 170,1 ; 175,9 (CO).

2*H*,8*H*-1,3-Dihydro-4-hydroxy-11-méthyl-7-*O*-sulfo-benzo[1,2-*a*]**pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3-dione (67b)****67b**

A une solution de diphénol **56b** (100 mg ; 0,30 mmol) dans de la pyridine anhydre (1,5 mL) est additionné le complexe trioxyde de sulfure/pyridine (305 mg ; 2,61 mmol). Le milieu réactionnel est agité 24h à 33 °C. De l'eau est additionnée et les solvants sont évaporés. Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: MeOH/AcOEt 2:8).

Le composé **67b** est isolé sous forme d'un solide rouge (60 mg ; 0,146 mmol ; Rdt = 49%).

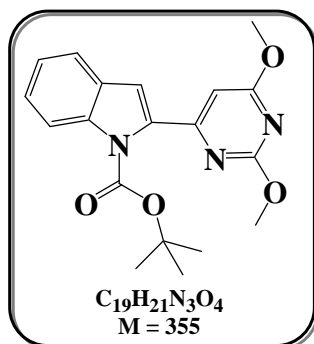
F > 280 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$, $\nu_{C=O}$ 1619, 1638, 1680, 1749 cm^{-1} ; $\nu_{NH,OH}$ 3300-3600 cm^{-1} .

Masse Exacte (ESI-) $[M-H]^-$ calculée pour $C_{19}H_{11}N_2O_7S_1$ 411,0287 ; trouvée 411,0282.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,59 (3H, s) ; 7,11 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,45 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,62 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,69 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 8,83 (1H, s) ; 11,53 (1H, s) ; 11,93 (1H, s) ; 12,26 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 21,4 (CH₃) ; 111,7 ; 113,1 ; 121,7 ; 123,6 ; 128,4 (C tert) ; 112,1 ; 117,6 ; 118,2 ; 118,5 ; 120,2 ; 128,3 ; 129,9 ; 137,4 ; 139,6 ; 141,6 ; 150,4 (C quat) ; 170,1 ; 175,9 (C=O).

2,4-Diméthoxy-6-(*N*-Boc-indol-2-yl)-pyrimidine (68**)****68**

A une solution de 2,4-diméthoxy-6-bromo-pyrimidine (408 mg ; 1,86 mmol) et de $Pd(PPh_3)_4$ (174 mg ; 0,065 mmol) dans du benzène (36 mL) est additionné l'acide 2-*N*-Boc-indole-borique (600 mg ; 2,31 mmol) en solution dans de l'EtOH absolu (18 mL). Une solution de Na_2CO_3 (1,09 g ; 10,26 mmol) dans l'eau (42 mL) est additionnée à son tour et le milieu réactionnel est chauffé 2h à reflux.

Après refroidissement, de l'eau est ajoutée et le mélange est extrait à l'AcOEt. Les phases organiques sont séchées sur $MgSO_4$ et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane/AcOEt 8:2).

Le produit de couplage **68** est obtenu sous forme d'un solide beige (531 mg ; 1,50 mmol ; Rdt = 80%).

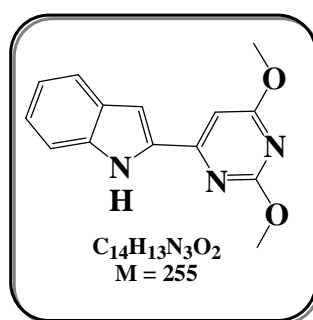
F = 86 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1731 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M-Boc+H]^+$ 256 ; $[M+Na]^+$ 378.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : 1,44 (9H, s) ; 4,00 (6H, s) ; 6,57 (1H, s) ; 6,84 (1H, s) ; 7,23 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,35 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,56 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 8,14 (1H, d, $J = 8,0$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : 27,7 ; 54,0 ; 54,8 (CH_3) ; 83,9 ; 128,5 ; 137,4 ; 138,0 ; 149,7 ; 161,9 ; 164,8 (C quat) ; 100,4 ; 112,4 ; 115,0 ; 121,4 ; 123,1 ; 125,6 (C tert) ; 171,9 (C=O).

2,4-Diméthoxy-6-(indol-2-yl)-pyrimidine (69)**69**

A une solution du composé **68** (331 mg ; 0,93 mmol) dans du dichlorométhane (5 mL) est additionné du TFA (3,7 mL). Le milieu réactionnel est agité 4h température ambiante puis de l'eau est ajoutée. Le mélange est extrait au dichlorométhane et la phase organique est séchée sur $MgSO_4$. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane/AcOEt 8:2).

Le produit **69** est obtenu sous forme d'un solide blanc (233 mg ; 0,91 mmol ; Rdt = 98%).

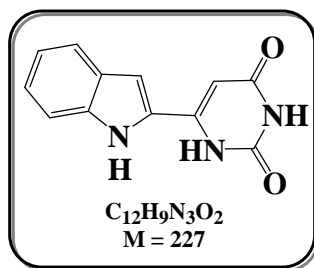
F = 116°C.

IR (KBr) ν_{NH} 3400 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 256.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : 3,90 (3H, s) ; 3,97 (1H, s) ; 6,67 (1H, s) ; 6,98 (1H, dd, $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,03 (1H, td, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,16 (1H, t, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,30 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,55 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 9,34 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : 54,0 ; 54,8 (CH_3) ; 95,8 ; 103,1 ; 111,6 ; 120,5 ; 121,6 ; 124,1 (C tert) ; 128,6 ; 134,3 ; 136,4 ; 158,8 (C quat) ; 165,4 ; 172,2 (C=O).

6-(Indol-2-yl)-pyrimidine-2,4-dione (70)**70**

Une solution du composé **69** (100 mg ; 0,28 mmol) dans de l'acide acétique glacial (840 μ L) et une solution aqueuse de HBr (33% ; 1,14 mL) est portée 5h à reflux. Après refroidissement, de l'eau est additionnée. Le précipité obtenu est filtré et lavé plusieurs fois à l'eau.

Le produit déprotégé **70** est obtenu sous forme d'une poudre beige (60 mg ; 0,27 mmol ; Rdt = 95%).

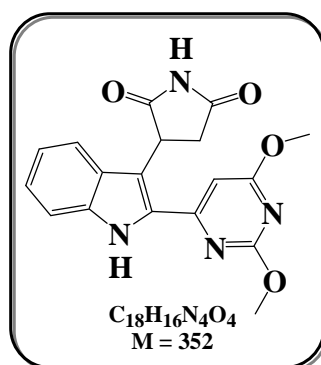
F > 250 °C décomposition.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1670, 1706 cm^{-1} ; ν_{NH} 3302, 3416 cm^{-1} .

Masse (ESI+) $[M+H]^+$ 228.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,16 (1H, s) ; 7,10 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,28 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,46 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,48 (1H, s) ; 7,65 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,14 (1H, se, NH) ; 11,16 (1H, se, NH) ; 11,76 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 95,1 ; 104,9 ; 111,8 ; 120,2 ; 121,4 ; 124,3 (C tert) ; 127,3 ; 128,6 ; 137,8 ; 144,2 (C quat) ; 151,7 ; 164,1 (C=O).

2-[6-(2,4-Diméthoxy-pyrimidinyl)]-3-succinimidyl-indole (**71**)

Un mélange du composé **69** (40 mg ; 0,16 mmol), de maléimide (30 mg ; 0,31 mmol) et une quantité catalytique de SnCl₂ dans 5 mL de toluène sec, est porté à reflux pendant 48 h. Après évaporation du toluène, le résidu est purifié par chromatographie sur silice flash (éluant : cyclohexane/AcOEt 1:1).

L'adduit de Michael **71** est isolé sous forme d'un solide beige (7 mg ; 0,02 mmol ; Rdt = 12 %).

F = 135 °C.

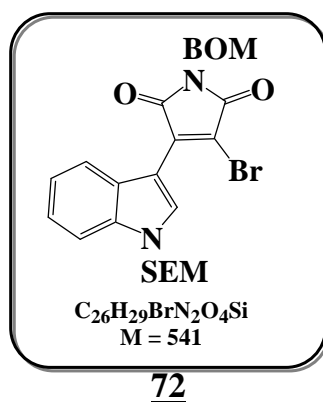
IR (KBr) $\nu_{C=O}$: 1670, 1706 cm⁻¹ ; ν_{NH} : 3302 ; 3416 cm⁻¹.

Masse exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour C₁₈H₁₇N₄O₄ 353,1250 ; trouvée 353,1247.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,81 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz, $J_2 = 6,0$ Hz) ; 3,21 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz, $J_2 = 10,0$ Hz) ; 4,00 (6H, s) ; 5,45 (1H, m) ; 7,07 (1H, s) ; 7,10 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,28 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,44 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,51 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,40 (1H, s, NH) ; 11,79 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 37,9 (CH₂) ; 38,7 (CH) ; 54,0 ; 54,6 (CH₃) ; 96,7 ; 112,1 ; 119,1 ; 119,8 ; 123,9 (C tert) ; 113,7 ; 126,9 ; 131,1 ; 136,4 ; 159,7 (C quat) ; 164,9 ; 171,9 ; 177,9 ; 179,9 (C=O et =C-O).

**1-(Benzyloxyméthyl)-3-bromo-2,5-dihydro-4-(*N*-triméthylsilyléthyloxyméthyl-
indol-3-yl)-pyrrole-2,5-dione (72)**



A une solution de 1-[(benzyloxy)méthyl]-3-bromo-4-(1*H*-indol-3-yl)-1*H*-pyrrole-2,5-dione (100 mg ; 0,24 mmol) dans du THF (5 mL) à 0 °C, est additionné du NaH (60% dans l'huile, 12 mg ; 0,29 mmol). Le milieu réactionnel est agité 30 min et SEMCl (54 µL ; 0,29 mmol) est additionné goutte à goutte.

Après 30 min d'agitation à température ambiante, le milieu est hydrolysé avec une solution aqueuse de HCl 0,2 N jusqu'à pH acide. Le mélange est extrait à l'AcOEt et les phases organiques sont séchées sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié sur colonne de silice flash (éluant: cyclohexane/AcOEt 6:4). Le composé 72 est isolé sous forme d'un solide orange (120 mg ; 0,22 mmol ; Rdt = 92%).

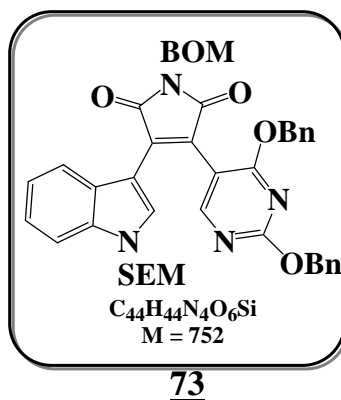
F = 62°C.

Masse exacte (ESI+) [M+Na]⁺ calculée pour C₂₆H₂₉N₂O₄NaBrSi 563,0978, trouvée 563,0970.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 0,00 (9H, s) ; 0,96 (2H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 3,56 (2H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 4,71 (2H, s) ; 5,20 (2H, s) ; 5,60 (2H, s) ; 7,24-7,39 (7H, m) ; 7,58 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,98 (1H, s) ; 8,04 (1H, d, *J* = 8,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : -1,4 (CH₃) ; 17,7 ; 66,5 ; 67,6 ; 71,8 ; 76,4 (CH₂) ; 104,8 ; 115,5 ; 125,8 ; 136,8 ; 137,4 ; 137,5 (C quat) ; 110,9 ; 121,9 ; 123,3 ; 123,6 ; 127,7 (2C) ; 127,8 (2C) ; 128,4 ; 133,4 (C tert) ; 166,2 ; 168,9 (C=O).

1-(Benzyloxyméthyl)-3-[5-(2,4-dibenzyloxy)-pyrimidinyl] -2,5-dihydro-4-(*N*-triméthylsilyléthyloxyméthyl-indol-3-yl)-pyrrole-2,5-dione (73**)**



Une solution d'acide borique **Y** (220 mg ; 0,66 mmol) dans un mélange dioxane/H₂O (1,0 mL/250 µL) en présence du composé bromé **72** (100 mg, 0,18 mmol) et K₂CO₃ (102 mg, 0,74 mmol) est dégazée 20 min sous argon. Le catalyseur Pd(OAc)₂ (6 mg) est additionné en une fois et le milieu réactionnel est agité dans un bain préchauffé à 100 °C durant 3 h.. Après refroidissement, de l'eau est ajoutée et le mélange est extrait à l'AcOEt. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié par chromatographie de silice flash (éluant : cyclohexane/AcOEt/toluène : 100:9:0,6).

Le produit **73** est isolé sous forme d'une pâte jaune (36 mg ; 0,045 mmol ; Rdt = 27%).

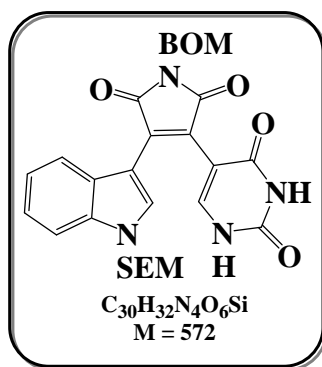
IR (NaCl) $\nu_{C=O}$: 1681, 1705 cm⁻¹.

Masse (ESI+) [M+H]⁺ 753.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 0,00 (9H, s) ; 0,96 (2H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 3,56 (2H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 4,57 (2H, s) ; 4,96 (2H, s) ; 5,45 (2H, s) ; 5,46 (2H, s) ; 5,57 (2H, s) ; 7,18-7,59 (18H, m) ; 8,09 (1H, s) ; 8,10 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,21 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : -1,3 (CH₃) ; 17,8 ; 29,8 ; 66,4 ; 66,6 ; 69,1 ; 69,8 ; 71,5 (CH₂) ; 104,3 ; 116,4 ; 126,9 ; 134,3 ; 135,4 ; 136,5 ; 136,7 ; 137,5 ; 143,1 (C quat) ; 110,7 ; 121,8 ; 122,6 ; 123,5 ; 127,8 ; 127,9 ; 128,2 ; 128,3 ; 128,4 ; 128,5 ; 128,6 ; 132,0 ; 147,4 (C tert) ; 160,7 ; 161,7 ; 165,3 ; 169,2 (C=O, =C-O).

1-(Benzyloxyméthyl)-3-[5-(2,4-dioxo)-pyrimidinyl]-2,5-dihydro-4-(N-triméthylsilyléthoxy-méthyl-indol-3-yl)-pyrrole-2,5-dione (74)



74

Une solution du composé **73** (100 mg ; 0,13 mmol) dans du DMF sec (4 mL) est chauffée 24 h à 90 °C en présence de trifluoroacétate de palladium (128 mg, 0,39 mmol). Le mélange est dilué avec de l'acétate d'éthyle, hydrolysé avec une solution aqueuse de HCl (0,5 N) et extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄.

Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : cyclohexane/AcOEt de 8:2 à 3:7).

Le composé déprotégé **74** est isolé sous forme d'un solide jaune (17 mg ; 0,029 mmol ; Rdt = 23 %).

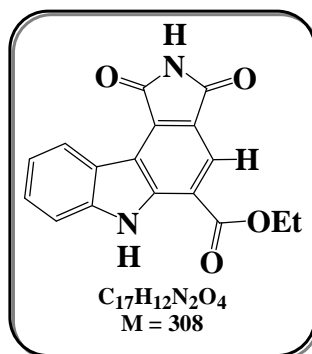
F = 195 °C.

IR (KBr) $\nu_{C=C}$ 1616, 1633 cm⁻¹; $\nu_{C=O}$ 1709, 1767 cm⁻¹; ν_{N-H} 3300-3600 cm⁻¹.

Masse (ESI+) [M+H]⁺ 595.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : -0,22 (9H, s) ; 0,74 (2H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 3,37 (2H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 4,49 (2H, s) ; 4,97 (2H, s) ; 5,34 (2H, s) ; 6,96 (1H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 7,04-7,21 (7H, m) ; 7,31 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,48 (1H, d, *J* = 6,0 Hz) ; 7,88 (1H, s) ; 9,18 (1H, s, NH) ; 9,96 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : -1,3 (CH₃) ; 17,8 ; 29,8 ; 66,5 ; 67,3 ; 71,7 (CH₂) ; 105,8 ; 107,2 ; 120,4 ; 127,4 ; 135,0 ; 136,5 ; 137,5 (C quat) ; 111,5 ; 120,5 ; 122,0 ; 123,3 ; 128,0 (2C) ; 128,5 (2C) ; 134,5 ; 142,6 (C tert) ; 151,5 ; 160,8 ; 170,7 ; 171,0 (C=O).

5-Ethoxycarbonyl-2*H*,6*H*-pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3-dione (76**)**

Le 3-(indol-3-yl)-maléimide (250 mg ; 1,18 mmol) en solution dans du toluène (25 mL) est porté à reflux 36 h en présence d'acrylate d'éthyle (16,6 mmol ; 1,75 mL).

Le solvant est évaporé et le produit est purifié sur colonne de silice flash (éluant : AcOEt/cyclohexane 6:4). Le composé **75**, isolé sous forme de solide orange, est un mélange d'isomères (258 mg ; 0,83 mmol ; Rdt = 70%).

Le mélange d'isomères (140 mg ; 0,45 mmol) est porté 24h à reflux dans du dioxane (15 mL) en présence de DDQ (224 mg ; 0,90 mmol). Le milieu réactionnel est filtré, le filtrat est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1). Le composé **76** est isolé sous forme d'un solide jaune (88 mg ; 0,28 mmol ; 64%).

F > 300 °C.

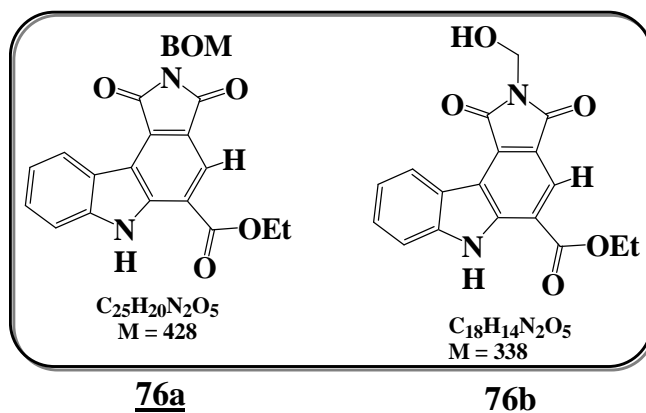
Masse (ESI+) [M+H]⁺ 309.

Masse Exacte (ESI+) [M+H]⁺ calculée pour C₁₇H₁₃N₂O₄ 309,0875 ; trouvée 309,8888.

IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1686, 1716, 1765 cm⁻¹; ν_{N-H} 3236, 3398 cm⁻¹.

RMN ¹H, (400 MHz ; DMSO) : 1,48 (3H, t, *J* = 7,0 Hz) ; 4,52 (2H, q, *J* = 7,0 Hz) ; 7,39 (1H, td, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 0,5 Hz) ; 7,63 (1H, td, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,0 Hz) ; 7,85 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,23 (1H, s) ; 8,85 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 11,45 (1H, s, NH) ; 12,05 (1H, s, NH).

RMN ¹³C, (100 MHz ; DMSO) : 14,2 (CH₃) ; 61,3 (CH₂) ; 112,8 ; 120,2 ; 121,0 ; 124,6 ; 128,7 (C tert) ; 114,7 ; 119,4 ; 120,6 ; 122,7 ; 129,7 ; 142,1 ; 143,0 (C quat) ; 164,4 ; 169,3 ; 169,4 (C=O).

2-Benzyloxyméthyl-5-éthoxycarbonyl-6H-pyrrolo[3,4-c]carbazole-1,3-dione (76a)**2-Hydroxyméthyl-5-éthoxycarbonyl-6H-pyrrolo[3,4-c]carbazole-1,3-dione (76b)**

A une suspension du composé **76** (50 mg ; 0,16 mmol) dans de l'acétone anhydre (1 mL) est ajoutée de la diisopropyléthylamine (70 μ L ; 0,40 mmol). Le mélange est agité 15 min, puis le chlorure de benzyloxyméthyléther est additionné goutte à goutte (45 μ L ; 0,32 mmol).

Après 1 h d'agitation à température ambiante, le mélange est hydrolysé puis extrait à AcOEt. La phase organique est séchée sur MgSO_4 et le solvant est évaporé.

Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant: AcOEt/cyclohexane de 3:7 à 1:0). Deux composés sont isolés : **76a** (solide jaune ; 52 mg ; 0,12 mmol ; Rdt = 76%) ; **76b** (solide jaune ; 9 mg ; 0,028 mmol ; Rdt = 17%).

Composé 76a:

F = 153 °C.

IR (KBr) $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1607 cm^{-1} , $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1698, 1708, 1761 cm^{-1} , ν_{NH} 3355 cm^{-1} .

Masse $[\text{M}+\text{K}]^+$ 467 ; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 451.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 1,50 (3H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 4,56 (2H, q, $J = 7,0$ Hz) ; 4,69 (2H, s) ; 5,21 (2H, s) ; 7,24-7,40 (5H, m) ; 7,45 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,68 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,91 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,36 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 8,91 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 12,21 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 14,2 (CH_3) ; 61,5 ; 66,9 ; 70,5 (CH_2O) ; 113,0 ; 120,7 ; 121,2 ; 124,6 ; 127,5 (2C) ; 128,2 (2C) ; 129,1 (C tert) ; 115,2 ; 119,3 ; 121,0 ; 121,4 ; 128,4 ; 137,7 ; 142,3 ; 143,2 (C quat) ; 164,8 ; 167,8 , 167,9 (C=O).

Composé 76b:

F > 230 °C décomposition.

IR (KBr) $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1608 cm^{-1} , $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1687, 1708, 1763 cm^{-1} , $\nu_{\text{NH, OH}}$ 3362, 3439 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculée pour $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ 361,0800 ; trouvée 361,0805.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 1,49 (3H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 4,53 (2H, q, $J = 7,0$ Hz) ; 5,03 (2H, d, $J = 7,0$ Hz) ; 6,45 (1H, t, $J = 7,0$ Hz, OH) ; 7,40 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,64 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,86 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,23 (1H, s) ; 8,82 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 12,09 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 14,1 (CH_3) ; 60,1 ; 61,4 (CH_2O) ; 112,9 ; 120,4 ; 121,1 ; 124,4 ; 128,9 (C tert) ; 115,0 ; 119,2 ; 120,8 ; 121,3 ; 128,3 ; 124,2 ; 143,1 (C quat) ; 164,7 ; 167,3 ; 167,4 (C=O).

II. Tests biologiques

Activité antiproliférative:

Les activités antiprolifératives ont été testées *in vitro* sur différentes lignées de cellules tumorales humaines, HT29 (carcinome humain du côlon), A549 (carcinome pulmonaire à petites cellules), DU145 (carcinome de la prostate), et une lignée murine (leucémie L1210). Les résultats sont exprimés en IC₅₀ (μM), concentration de la drogue inhibant de 50% la prolifération des cellules.

Les cellules tumorales proviennent d'une collection de culture type Américaine (Frederik, MD, USA). Elles sont cultivées dans un milieu RPMI 1640 (Gibco) agrémenté de 10 % d'un sérum de fœtus de veau, 2mM de L-glutamine, 100 unités/mL de pénicilline, 100 μg/mL de streptomycine, et 10 mM de tampon HEPES (pH = 7,4). La cytotoxicité est mesurée par essai de microculture tétrazolium. Les cellules sont exposées en continu à des gradients de concentration des composés, puis 15 μL de solution à 5 mg/mL de bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium sont ajoutés à chacune d'elles et le milieu incubé 4 heures à 37 °C. Le milieu est ensuite aspiré et le formazan solubilisé par 100 μL de DMSO. Les résultats sont exprimés en IC₅₀.

Effet sur le cycle cellulaire :

Pour l'analyse du cycle cellulaire, les cellules L1210 (2,5 x 10⁵ cellules/mL) sont incubées pendant 21 heures à des concentrations variées des composés, puis fixées par 70% d'éthanol (v/v), lavées et incubées dans du PBS contenant 100 μg/mL de ARNase et 25 μg/mL d'iodure de propidium pendant 30 minutes à 20 °C. Pour chaque échantillon, 10⁴ cellules sont analysées sur un cymomètre en flux XL/MLC (Beckman Coulter). La fluorescence de l'iodure de propidium est collectée à travers un filtre long-passage à 615 nm.

Inhibition de la tyrosine kinase Src

Les inhibiteurs sont dilués avec un robot Tecan Evo150. Les essais d'inhibition sont réalisés avec 4 μL de l'inhibiteur (à 10% dans le DMSO), 10 μL de tampon (80 mM MgCl₂, 200 mM d'acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-piperazineéthanesulfonique (HEPES), 0.4 mM d'acide éthylènediamine-tetraacétique (EDTA), 2 mM de DL-dithiothreitol (DTT)), 10 μL de peptide substrat (KVEKIGEGYYGVVYK, 370 nM) et 6 μL de kinase Src (stock purifié GTP dilué à 200 nM avec le tampon). 10 μL du co-substrat (40 μM ATP avec 0.2 μCi P³³-γ-ATP) est

ajouté avec un robot Precision 2000 (Biotek Robotic). Le mélange est incubé 20 minutes à 30 °C puis 200 µL d'une solution à 0.85% d'acide orthophosphorique sont ajoutés. Le mélange est transféré sur un filtre Whatman - P81. Le filtre est lavé 3 fois avec 200 µL d'une solution à 0.85% d'acide orthophosphorique et séché avec 200 µL d'acétone. L'activité résultante est mesurée sur Topcount avec 25 µL de solution de scintillation (Packard UltimaGold).

Références bibliographiques

1. http://virologie.free.fr/11-Cycle_cellulaire/Cycle_cellulaire.htm.
2. <http://snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/>
3. Meijer L. *Oncologie*, **2003**, 5, 311-326.
4. Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.
5. Kawabe T. *Mol. Cancer Ther.*, **2004**,3, 513-519.
6. Carrassa L. ; Brogginini M. ; Erba E. ; Damia G. *Cell Cycle*, **2004**, 3, 1177-1181.
7. Luo Y. ; Rockow-Magnone S. K. ; Kroeger P. E. ; Frost L. ; Chen Z. ; Han E. K.-H. ; Ng S.-C. ; Simmer R. L. ; Giranda V. L. *Neoplasia.*, **2001**, 3, 411-419.
8. Tao Z.-F. ; Lin N.-H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2006**, 6, 377-388.
9. Chen P. ; Luo C. ; Deng Y. ; Ryan K. ; Register J. ; Margosiak K. ; Tempczyk-Russell A. ; Nguyen B. ; Myers P. ; Lundgren K. ; Kan C. C. ; O'Connor P. *Cell.*, **2000**, 100, 681-692.
10. Hugon B. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **2002**, D.U. 1373.
11. Hénon H. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **2005**, D.U. 1610.
12. Zhao B. ; Bower M. J. ; McDewitt P. J. ; Zhao H. ; Davis S. T. ; Johanson K. O. ; Green S. M. ; Concha N. O. ; Zhou B.-B. S. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 46609-46615.
13. Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L.; Jézéquel A.; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.
14. Prudhomme M. *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **2004**, 4, 435-438.
15. Syljuasen R.G. ; Sorensen C. S. ; Nylansted J. ; Lukas C. ; Lukas J. ; Bartek J. *Cancer Res.*, **2004**, 64, 9035-9040.
16. Kohn E. A. ; Yoo C. J. ; Eastman A. *Cancer Res.*, **2003**, 63, 31-35.
17. Sharma V. ; Tepe J. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, 4319-4321.
18. Jiang X. ; Zhao B. ; Britton R. ; Lim L. Y. ; Leong D. ; Sanghera J. S. ; Zhou B.-B. S. ; Piers E. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Mol. Cancer Ther.*, **2004**, 3, 1221-1227.
19. Boyle R. G. ; Imogai H. J. ; Cherry M. ; Humphries A. J. ; Navarro E. F. ; Owen D. R. ; Dales N. A. ; LaMarche M. J. ; Cullis C. ; Gould A. E. ; Greenspan P. D. US 0035920 (**2006**).
20. Brnardic E. J. ; Fraley M.E.; Garbaccio R. M. WO074207 (**2006**).
21. Foloppe N. ; Fisher L. M. ; Howes R. ; Potter A. ; Robertson A. G. ; Surgenor A. E. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 4792-4802.
22. Gesner T. G. ; Barsanti P. A. ; Harrison S. D. ; Ni Z.-J. ; Brammeier N. M. ; Zhou Y. ; Le V. P. US0256157 (**2005**).

23. Brnardic E. J. ; Fraley M.E. WO074281 (2006).
24. Rui E. Y. ; Johnson JR T. O. ; Kellum J. H. US0148643 (2005).
25. Keegan K. S. ; Kesicki E. A. ; Gaudino J. J. ; Cook A. W. ; Cowen S. D. ; Burgess L. E. US0245525 (2005).
26. Farouz F. S. ; Holcomb R. ; Thorsett E. ; Gaudino J. J. WO021002 (2006).
27. Gaudino J. J. ; Cook A. W. WO014359 (2006).
28. Burgess L. E. ; Cook A. W. ; Fischer K. L. ; Gaudino J. J. ; Schlachter S. T. WO012308 (2006).
29. Li G. ; Lisa A. H. ; Tao Z.-F. ; Wang G. T. ; Gwaltney S. L. ; Patel J. ; Kovar P. ; Credo R. B. ; Chen Z. ; Zhang H. ; Park C. ; Sham H. L. ; Sowin T. ; Rosenberg S. H. ; Lin N.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 2293-2298.
30. Booth R. J. ; Lee H. H. ; Kraker A. ; Ortwine D. F. ; Palmer B. D. ; Sheehan D. J. ; Toogood P. L. US0250836 (2005).
31. Lin N. H. ; Xia P. ; Kovar P. ; Park C. ; Chen Z. ; Zhang H. ; Rosenberg S. H. ; Sham H. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 421-426.
32. Benedict S. ; Bennett M. ; Ninkovic S. ; Teng M. ; Rui E. ; Wang F. ; Wang Y. ; Zhu Z. US0004052 (2006).
33. Messaoudi S. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **2004**, D.U. 1537.
34. Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Letters*, **2003**, *44*, 3927-3930.
35. Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Letters*, **2003**, *44*, 3935-3937.
36. Hénon H. ; Messaoudi S. ; Hugon B. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 5599-5614.
37. Hénon H. ; Anizon F. ; Golsteyn R. M. ; Léonce S. ; Hofmann R. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 3825-3834.
38. Hénon H. ; Anizon F. ; Kucharczyk N. ; Loynel A. ; Casara P. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Synthesis.*, **2006**, *4*, 711-715.
39. Hénon H. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 1116-1123.
40. Hénon H. ; Anizon F. ; Golsteyn R. M. ; Léonce S. ; Hofmann R. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 3825-3834.
41. a) Bergman J. ; Desarbre E. ; Koch E. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 2363-2370.

- b) Bergman J. ; Jonosik T. ; Koch E. ; Pelcman B. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **2000**, 2615-2621.
42. Conchon E. ; Anizon F. ; Golsteyn R. M. ; Léonce S.; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, sous presse.
43. Wille G. ; Steglich W. *Synthesis*, **2001**, 759-762.
44. Nagasaka T. ; Abe M. ; Ozawa N. ; Kosugi Y. ; Hamaguchi F. *Heterocycles*, **1983**, *20*, 985-989.
45. Mase N. ; Nishi T. ; Hiyoshi M. ; Ichihara K. ; Bessho J. ; Yoda H. ; Takabe K. *J. Chem. Soc. Trans. I*, **2002**, 707-709.
46. Mase N. ; Nishi T. ; Takamori Y. ; Yoda H. ; Takabe K. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, *10*, 4469-4471.
47. Wijnberg, J. B. P. A. ; Schoemaker H. E. ; Speckamp W. N. *Tetrahedron*, **1978**, *34*, 179-187.
48. Le Strat F. ; Vallette H. ; Toupet L. ; Maddaluno J. *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 5296-5305.
49. Conchon E. ; Aboab B. ; Golsteyn R. ; Léonce S. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Eur. J. Med. Chem.*, sous presse.
50. Okauchi T. ; Itonaga M. ; Minami T. ; Owa T. ; Kitoh K. ; Yoshino H. *Org. Lett.*, **2000**, *2*, 1485-1487.
51. Zimmermann D. ; Krogsgaard-Larsen P. ; Ehrhardt J.-D. ; Madsen U. ; Janin Y. L. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 9393-9400.
52. Huang L.-J. ; Hsieh M.-C. ; Teng C.-M. ; Lee K.-H. ; Kuo S.-C. *Bioorg. Med. Chem.*, **1998**, *6*, 1657-1662.
53. Jakse R. ; Svete J. ; Stanovnik B. ; Golobic A. *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 4601-4608.
54. a) Aran V. J. ; Diez-Barra E. ; de la Hoz A. ; Sanchez-Verdu P. *Heterocycles*, **1997**, *45*, 129-136.
- b) Sabaté-Alduy C. ; Bastide J. *Can. J. Chem.*, **1976**, *54*, 1752-1756.
- c) Deschamps J. ; Arriau J. ; Parmentier P. *Tetrahedron*, **1971**, *27*, 5779-5793.
- d) Arriau J. ; Deschamps J. ; Parmentier P. ; *Tetrahedron*, **1971**, *27*, 5795-5806.
- e) Katritzky A. R. ; Maine F. W. Golding S. *Tetrahedron*, **1965**, *21*, 1693-1699.
55. Bratusek U. ; Hvala A. ; Stanovnik B. *J. Heterocyclic Chem.*, **1998**, *35*, 1281-1284.
56. Seeboth H. *Angew. Chem. Internat. Edit.*, **1967**, *6*, 307-317.
57. Knölker H. J. ; Hitzemann R. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 2157-2160.

58. Wenkert E. ; Moeller P. D. R. ; Piettre S. R. *J. Amer. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 7188-7194.
- 58'. Barton D. H. R. ; Lukacs G. ; Wagle D. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1982**, *8*, 450-452.
59. Kasnar B. ; Wise D. S. ; Kucera L. S. ; Drach J. C. ; Townsend L. B. *Nucleosides Nucleotides*, **1994**, *13*, 459-480.
60. a) Edelman M. J. ; Raimundo J.-M. ; Utesch N. F. ; Diederich F. ; Boudon C. ; Gisselbrecht J.-P. ; Gross M. ; *Helv. Chim. Acta.*, **2002**, *85*, 2195-2213.
b) Stefanye H. *J. Org. Chem.*, **1954**, *19*, 115-117.
61. a) Rodrigues Pereira E. ; Fabre S. ; Sancelme M. ; Prudhomme M. ; Rapp, M. *J. Antibiot.*, **1995**, *48*, 863-868.
b) Rodrigues Pereira E. ; Belin L. ; Sancelme M. ; Prudhomme M. ; Ollier M. *J. Med. Chem.*, **1996**, *39*, 4471-4477.
c) Anizon F. Thèse de l'Université Blaise Pascal, **1999**, D.U. 1162.
62. Danieli B. ; Lesma G. ; Martinelli M. ; Passarella D. ; Peretto I. ; Silvani A. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 14081-14088.
63. Amat M. ; Hadida S. ; Pshenichnyi G. ; Bosch J. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 3158-3175.
64. Liu S.-F. ; Wu Q. ; Schmider H. L. ; Aziz H. ; Hu N.-X. ; Popovic Z. ; Wang S. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 3671-3678.
65. Labadie S. S. ; Teng E. *J. Org. Chem.*, **1994**, *59*, 4250-4254.
66. Hudkins R. L. ; Diebold J. L. ; Marsh F. D. *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 6218-6220.
67. Sutherland A. ; Gallagher T. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 3352-3355.
68. de Koning B. C. ; Michael J. P. ; Rousseau A. L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2000**, 1705-1713.
69. D'Alessio R. ; Bargiotti A. ; Carlini O. ; Colotta F. ; Ferrari M. ; Gnocchi P. ; Isetta A. ; Mongelli N. ; Motta P. ; Rossi M. ; Tibolla M. ; Vanotti E. *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 2557-2565.
70. Vazquez E. ; Davies I. W. ; Payack J. F. *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 7551-7552.
71. Marson C. M. ; Farrand L. D. ; Brettle R. ; Dunmur D. A. *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 4377-4381.
72. Shih C. ; Swenton J. S. *J. Org. Chem.*, **1982**, *47*, 2825-2832.
73. a) DePuy C. H. ; Zaweski E. F. *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 4920-4924.
b) Ramesh N. G. ; Bakkeren F. J. A. D. ; de Groot D. ; Passamonti U. ; Klunder A. J. H. ; Zwanenburg B. *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 9877-9887.

- c) House H. O. ; Rasmusson G. H. *J. Org. Chem.*, **1963**, 28, 27-30.
- d) Paquette L. A. ; Vanucci C. ; Rogers R. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 5792-5800.
74. Yu J.-Q. ; Corey E. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 3232-3233.
75. a) Agosta W. C. ; Smith A. B. *J. Org. Chem.*, **1970**, 35, 3856-3860.
b) Subramanyam R. ; Bartlett P. D. ; Moltrasio Iglesias G. Y. ; Watson W. H. ; Galloy J. *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 4491-4498.
76. a) Trost B. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 1847-1851.
b) Stoos F. ; Rocek J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 2719-2723.
77. Clive D. L. J. ; Fletcher S. P. ; Liu D. *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 3282-3293.
78. a) Jacob P. ; Callery P. S. ; Shulgin A. T. ; Castagnoli N. *J. Org. Chem.*, **1976**, 41, 3627-3629.
b) Vyvyan J. R. ; Loitz C. ; Looper R. E. ; Mattingly C. S. ; Peterson E. A. ; Staben S. T. *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 2461-2468.
c) Capitosti G. J. ; Guerrero C. D. ; Binkley D. E. ; Rajesh C. ; Modarelli D. A. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 247-261.
79. a) Tetsuya, I. ; Kozo, H. ; Keiichi, N. ; Eiichi, Y. *Heterocycles* **1994**, 38, 1839-1884.
b) Bryans, J.S. ; Chessum, N.E.A. ; Huther, N. ; Parsons, A. F. ; Ghelfi, F. *Tetrahedron* **2003**, 59, 6221-6232.
80. Amari G. ; Armani E. ; Ghirardi S. ; Delcanale M. ; Civelli M. ; Caruso P. L. ; Galbiati E. ; Lipreri M. ; Rivara S. ; Lodola A. ; Mor M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 12, 3763-3782.
81. Brown R. J. ; Annis G. ; Casanuovo A. ; Chan D. ; Shapiro R. ; Marshall W. J. *Tetrahedron*, **2004**, 60, 4361-4375.
82. White J. D. ; Hansen J. D. *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 1963-1977.
83. a) Gomez I. ; Alonso E. ; Ramon D. J. ; Yus M. *Tetrahedron.*, **2000**, 56, 4043-4052.
b) Horwitz J. P. ; Tomson A. J. *J. Org. Chem.*, **1961**, 26, 3392-3395.
84. Bregman H. ; Douglas S. W. ; Meggers E. *Synthesis*, **2005**, 1521-1527.
85. Seley K. L. ; Salim S. ; Zhang L. ; O'Daniel P. I. *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 1612-1619.
86. Routier S. ; Mérour J.-Y. ; Dias N. ; Lansiaux A. ; Bailly C. ; Lozach O. ; Meijer L. *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 789-799.
87. a) Sanchez-Martinez C. ; Faul M. M. ; Shih C. ; Sullivan K. A. ; Grutsch J. L. ; Cooper J. T. ; Kolis S. P. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 8008-8014.

- b) Engler T. A. ; Furness K. ; Malhotra S. ; Sanchez-Martinez C. ; Shih C. ; Xie W. ; Zhu G. ; Zhou X. ; Conner S. ; Faul M. M. ; Sullivan K. A. ; Kolis S. P. ; Brooks H. B. ; Patel B. ; Schultz R. M. ; DeHahn T. B. ; Kirmani K. ; Spencer C. D. ; Watkins S. A. ; Considine E. L. ; Campbell R. M. ; Vasudevan V. ; Lytle M. L. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, *13*, 2261-2267.
88. a) Kleinschroth J. ; Hartenstein J. ; Rudolph C. ; Schachtele C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, *5*, 55-60.
- b) Ohkubo M. ; Nishimura T. ; Jona H. ; Honma T. ; Morishima H. *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 8099-8112.
- c) Joyce R. P. ; Gainor J. A. ; Weinreb S. M. *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*, 1177-1185.
- d) Zhu G. ; Conner S. ; Zhou X. ; Shis C. ; Brooks H. B. ; Considine E. ; Dempsey J. A. ; Ogg C. ; Patel B. ; Schultz R. M. ; Spencer C. D. ; Teicher B. ; Watkins S. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 1231-1235.
89. Harris W. ; Hill C. H. ; Keech E. ; Malsher P. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 8361-8364.
90. Ohkubo M. ; Kawamoto H. ; Ohno T. ; Nakano M. ; Morishima H. *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 585-592.