

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LILLE I

Discipline : Chimie Organique & Macromoléculaire
Spécialité : Pharmacochimie

présentée et soutenue publiquement

par

Aurore POTTIER ép. PERZYNA

Le 30 juin 2003

**CONCEPTION, SYNTHÈSE ET
ÉVALUATION PHARMACOLOGIQUE DE
PYRROLO[3,4-*b*]QUINOLEINES CONDENSÉES,
LIGANDS POTENTIELS DE L'ADN**

Directeur de Thèse : Pr. J.-P. Hénichart.

Président :	Pr. D. Barbry
Rapporteurs :	Pr. S. Giorgi-Renault Dr. S. Goldstein
Examineurs :	Pr. J.-P. Hénichart Dr. R. Houssin Dr. C. Bailly

Je tiens à remercier tout particulièrement

Ma mère,

Merci de m'avoir légué ton optimisme, ton sens de l'organisation, ton envie d'apprendre et de se dépasser. Merci de m'avoir écoutée et soutenue au cours de ces longues années d'études.

Mon père,

Merci de m'avoir transmis ton sens des exigences, ton amour du travail bien fait et cet esprit de dépassement. Merci d'avoir mis en moi un objectif aussi élevé et de m'avoir permis de réaliser les études que je souhaitais.

Jérôme,

Merci pour ton amour, ton soutien, ta gentillesse, ton apaisement, ta patience et tout le bonheur que tu m'apportes. Malgré la distance, tu sais être présent quotidiennement et me rappeler ton amour par des attentions particulières. Merci de m'avoir permis de réaliser ce projet professionnel.

Mon frère, Gabriel,

Merci pour ta présence et tes encouragements.

Mes grands-parents,

Pour leur simplicité et leur amour.

Mes beaux-parents,

Pascal, Muriel, Geoffrey et Jérémy,

Merci pour tous les bons moments que je passe à vos côtés et de m'avoir si chaleureusement acceptée dans votre famille.

J'adresse mes plus vifs remerciements

Monsieur le Professeur Jean-Pierre Hénichart,
Professeur à l'Université de Lille 2,
Directeur de l'Institut de Chimie Pharmaceutique Albert
Lespagnol,

Je vous remercie de m'avoir fait confiance pendant ces 4 années et de m'avoir proposé un sujet si intéressant et si enrichissant. En effet, j'ai pu développer mes connaissances en chimie médicinale et mettre à l'épreuve ma volonté. Aujourd'hui, grâce à vos nombreux conseils et à nos échanges scientifiques, je sors plus forte de cette expérience.

Monsieur le Professeur Didier Barbry,
Professeur à l'Université de Lille1,

Je vous remercie vivement de participer à cette thèse et de m'avoir accueillie dans votre laboratoire pour réaliser les expériences au four à micro-ondes.

Madame le Professeur Sylviane Giorgi-Renault,

Professeur à l'Université René Descartes de Paris V,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail et d'en être rapporteur. De par votre expérience et de la connaissance approfondie de ce sujet, je vous remercie du regard avisé que vous porterez à ce travail.

Monsieur le Docteur Solo Goldstein,

Directeur du Département Recherche aux laboratoires
Servier

C'est un très grand plaisir de vous compter parmi les membres de ce jury. Vous avez accepté de juger ce travail et d'en être rapporteur. Je voudrais vous remercier de nous faire partager vos connaissances et d'apporter à ce travail un regard critique.

Monsieur le Docteur Raymond Houssin,

Maître de Conférences à l'Université de Lille 2,

Je tiens à vous remercier pour tout ce que j'ai appris à vos côtés. Au cours de ces 4 années, j'ai eu de plus en plus de plaisir à venir vous raconter l'avancée de mon travail. Je vous remercie pour ces échanges constructifs qui m'ont soutenue dans les moments difficiles et qui ont été des joies partagées dans les périodes de succès. Merci pour vos conseils et votre disponibilité.

Monsieur le Docteur Christian Bailly,

Directeur de Recherche, Unité INSERM U524,

Je suis très sensible à votre présence au sein de ce jury de thèse. Je vous remercie d'avoir réalisé une partie des tests pharmacologiques décrits dans ce mémoire et pour toutes les explications que vous m'avez données .

Enfin, je tiens à remercier toutes celles et tous ceux qui m'ont accompagnée dans ce travail

Madame Nicole Pommery et Monsieur Jean-François Goossens d'avoir réalisé les tests pharmacologiques décrits dans ce mémoire. Je vous remercie pour tous les échanges enrichissants que nous avons eus.

Mesdames Nathalie Duhal, Brigitte Lacroix et Monsieur Mostafa Kouach pour avoir enregistré les spectres de masse.

Mademoiselle Amélie Lemoine, pour avoir réalisé une partie des tests cellulaires décrits dans ce mémoire.

Madame Sarah Catoen, qui a partagé quotidiennement mon année de DEA et mes deux premières années de thèse. Merci pour tes conseils, ton soutien, nos rigolades et notre amitié.

Mademoiselle Frédérique Klupsch, merci d'avoir contribué à ce travail et pour tous les bons moments que nous avons partagés.

Mademoiselle Véronique Leclerc pour tous ses conseils avisés, pour sa gentillesse et son écoute.

Mademoiselle Anne Bourry, qui a toujours été présente depuis mes premiers pas en chimie organique. Merci pour ton écoute et ton soutien, et pour toutes les discussions de chimie que nous avons eues. Merci d'avoir croisé ma route et de la partager depuis 6 ans. A notre amitié...

Tout le personnel de l'ICPAL qui a travaillé quotidiennement avec moi.

Tous mes amis, merci pour votre soutien et les moments de bonheur que nous avons partagés.

Mesdames Michèle Deharvengt, Brigitte Erny et Monsieur Benoît Rigo, professeurs de chimie, qui m'ont donné le goût pour cette science et qui m'ont montré cette voie.

Partie introductive

Introduction	12
<u>Objectifs de ce travail</u>	
Cibles des agents anti-cancéreux	16
I. L'ADN : une cible biologique de choix dans le traitement du cancer.....	17
1. Les composés alkylants	
2. Les intercalants	
3. Les agents dégradant l'ADN	
4. Les ligands du petit sillon	
II. Les composés interagissant indirectement avec l'ADN.....	20
1. Action en amont de la synthèse DNAsique	
a. Les antimétabolites	
b. Les inhibiteurs enzymatiques des topoisomérases	
2. Action en aval de la synthèse DNAsique	
III. Voies de recherche.....	25
1. Présentation	
2. L'inhibition des télomérases	
3. Quelques relations structure-activité	
Un modèle d'origine naturelle : la camptothécine	27
I. Généralités.....	28
II. La cible biologique de la camptothécine : la topoisomérase I.....	29
Cycle catalytique de l'enzyme	
III. Mécanisme d'action.....	31
1. Collision entre le complexe ternaire et les fourches de réplication	
2. Collision entre le complexe ternaire et la machine transcriptionnelle	
IV. Relations structure-activité.....	33
1. Etude des cycles A-B	
2. Etude des cycles C-D	
3. Etude du cycle E	
a. Stabilité de la lactone en fonction du pH	
b. Stabilité de la lactone en présence de sérum albumine	
c. Modification de la fonction α -hydroxylactone	
4. Schéma des principales relations structure-activité	
5. Quelques relations générales	
V. Structure du complexe ternaire.....	38
1. Interaction de TPT avec l'ADN	
2. Interaction de TPT avec l'enzyme	
3. Comparaison avec les relations structure-activité établies	
VI. Quelques dérivés de la camptothécine et études cliniques.....	41
1. La camptothécine	
2. L'irinotécan	
3. Le topotécan	
4. La 9-aminocamptothécine	
5. Les silatécans	
6. CPT hexacycliques	
7. Les homocamptothécines	
8. Prodrug	
Conclusion	47

Conception

Conception de pyrrolo[3,4-<i>b</i>]quinoléines	48
A. Le choix du squelette	49
B. Conception des indolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléines	51
I. L'insertion d'une chaîne latérale sur le cycle A	
II. Le choix des fonctions portées sur le cycle pyridone	
1. Fonction portée en position 8	
2. Fonction portée en position 7	
C. Conception des quinopyrrolonaphthyridines	55
D. Conception des benzo[5,6]pyrrolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléines	56
I. Le choix de la chaîne latérale portée par la quinoléine	
II. Choix des <i>o</i> -aminoacétophénones	
III. Choix des fonctions introduites en position 7	
IV. Choix des fonctions en position 9	

Stratégie de synthèse

Synthèse des indolizino[1,2-<i>b</i>]quinoléines	61
I. Stratégie de synthèse	62
1. Analyse rétrosynthétique	62
2. Mécanisme de la réaction de Friedländer	62
3. Première voie de synthèse envisagée	63
4. Deuxième voie de synthèse envisagée	64
5. Troisième voie de synthèse envisagée	64
a. Synthèse des indolizines	
b. Synthèse de l' <i>o</i> -aminobenzaldéhyde	
c. Synthèse du 2-amino-4-(2-(1-pipéridino)éthoxy)benzaldéhyde	
d. Synthèse du 2-amino-5-[2-(1-pipéridino)éthoxy]benzaldéhyde	
e. Réaction de Friedländer	
II. DISCUSSION	67
1. Synthèse des indolizines	67
a. Synthèse de l'indolizine 5	
b. Synthèse de l'indolizine 19	
c. Synthèse de l'indolizine 20	
d. Synthèse de l'indolizine 6	
e. Oxydation en aldéhyde du méthyle porté par la pyridone	
f. Bromation du méthyle porté par la pyridone	
g. Réduction du groupement nitrile en amine primaire	
h. Substitution nucléophile de l'amide primaire	
i. Synthèse des pyrrolo[1,2- <i>b</i>][2,7]naphthyridines	
j. Substitution nucléophile de l'amine 13	
2. Synthèse des <i>o</i> -aminobenzaldéhydes	84
a. Synthèse de l' <i>o</i> -aminobenzaldéhyde	
b. Synthèse du 2-amino-4-[2-(1-pipéridino)éthoxy]benzaldéhyde	
c. Synthèse du 2-amino-5-[2-(1-pipéridino)éthoxy]benzaldéhyde	

3. Réaction de Friedländer.....	91
a. Synthèse de l'intermédiaire 54	
b. Synthèse de l'intermédiaire 55	
c. Réaction de Friedländer par voie thermique	
d. Optimisation de la réaction de Friedländer par l'utilisation des micro-ondes	
e. Synthèse des quino[2',3':3,4]pyrrolo[1,2- <i>b</i>][2,7]naphthyridines par la réaction de Friedländer	
4. Modulations chimiques réalisées sur les tétracycles.....	95
a. Déprotection de la fonction amine	
b. Hydrolyse de la fonction nitrile en acide carboxylique	
Synthèse des benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-<i>b</i>]quinoléines	97
I. Stratégie de synthèse.....	98
1. Analyse rétrosynthétique.....	98
2. Réaction de Friedländer.....	98
II. DISCUSSION.....	100
1. Synthèse des indoles.....	100
2. Synthèse des 2-aminoacétophénonnes.....	106
3. Synthèse de la β -diméthylaminopropiophénone.....	107
4. Synthèse de la 2-amino-5-[2-(1-pipéridino)éthoxy]propiophénone.....	110
5. Réaction de Friedländer.....	113

Résultats pharmacologiques

<u>Structure des molécules testées</u>	116
<u>I. Interaction avec l'ADN</u>	117
1. Spectroscopie UV.....	117
2. Test de dénaturation thermique.....	119
3. Mesure de la constante d'affinité pour l'ADN.....	122
Conclusion.....	124
<u>II. Etude du mode de fixation à l'ADN</u>	125
1. Etude par dichroïsme linéaire électrique.....	125
2. Test de détorsion de l'ADN.....	127
3. Etude par dichroïsme circulaire.....	128
<u>III. Sélectivité de séquence</u>	130
<u>IV. Cross-link</u>	133
<u>V. Tests cellulaires: mesure du pouvoir anti-prolifératif</u>	135
<u>VI. Inhibition de la topoisomérase I</u>	139

Conclusion et perspectives	141
-----------------------------------------	-----

Partie expérimentale

Appareillages et techniques	150
Liste des abréviations	151
Modes opératoires	152
Acétopyrivate d'éthyle 1	152
2-Ethoxy-4-oxopent-2-énoate d'éthyle 2	153
3-Cyano-6-éthoxycarbonyl-4-méthylpyridin-2-one 3	154
6-Cyano-2-méthoxycarbonyl-7-méthyl-1,5-dioxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizine 4	155
6-Cyano-2-méthoxycarbonyl-7-méthyl-1,5-dioxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizine 4	156
6-Cyano-7-méthyl-1,5-dioxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizine 5	157
Acide 7-méthyl-1,5-dioxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizine-6-carboxylique 6	158
6-Cyano-7-méthyl-5-oxo-1-(1,3-dioxolanyl)-1,2,3,5-tétrahydroindolizine 7	159
6-Acétamidométhyl-7-méthyl-5-oxo-1-(1,3-dioxolanyl)-1,2,3,5-tétrahydroindolizine 8	160
6-Aminocarbonyl-7-méthyl-5-oxo-1-(1,3-dioxolanyl)-1,2,3,5-tétrahydroindolizine 9	161
2-(6-Cyano-5-oxo-1-(1,3-dioxolanyl)-1,2,3,5-tétrahydroindolizin-7-yl)acétate d'éthyle 10	162
6-(1,3-Dioxolanyl)-1,4,7,8-tétrahydro-2 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>b</i>][2,7]naphthyridine-3,10-dione 12	163
6-(1,3-Dioxolanyl)-1,2,3,4,7,8-hexahydropyrrolo[1,2- <i>b</i>][2,7]naphthyridin-10-one 13	164
6-(Aminométhyl)-7-méthyl-5-oxo-1-(1,3-dioxolanyl)-1,2,3,5-tétrahydroindolizine 14	165
7-Méthyl-1,5-dioxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizines 19,20	166
1,4,7,8-Tétrahydropyrrolo[1,2- <i>b</i>][2,7]naphthyridin-3,6,10-trione 21	167
1,2,3,4,6,7,8,10-Octahydropyrrolo[1,2- <i>b</i>][2,7]naphthyridine-6,10-dione, trifluoroacétate 22	168
<i>N</i> - <i>o</i> -Nitrobenzylidène- <i>p</i> -toluidine 25	169
<i>N</i> - <i>o</i> -Aminobenzylidène- <i>p</i> -toluidine 26	170
<i>o</i> -Aminobenzaldéhyde 27	171
4-Acétoxy-2-nitrotoluène 28	172
1-Acétoxy-4-bromométhyl-3-nitrobenzène 29	173
1-Acétoxy-4-dibromométhyl-3-nitrobenzène 30	174
4-Hydroxy-2-nitrobenzaldéhyde 31	175
4-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-3-nitrotoluène 32	176
(2-(1-Pipéridino)éthoxy)-2-nitrobenzaldéhydes 33,34	177
2-Amino-[2-(1-pipéridino)éthoxy]benzaldéhydes 35,36	179
1-(3-Ethoxy-3-oxopropyl)-5-méthoxy-1 <i>H</i> -indole-2-carboxylate d'éthyle 37	181
7-Méthoxy-1-oxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>a</i>]indole-2-carboxylate d'éthyle 38	182
7-Méthoxy-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>a</i>]indol-1-one 39	183
7-Hydroxy-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>a</i>]indol-1-one 40	184
7-Méthoxy-1-oxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>a</i>]indole-9-carbaldéhyde 41	185
7-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>a</i>]indol-1-one 42	187
9-(Hydroxyméthyl)-7-méthoxy-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>a</i>]indol-1-one 43	188
9-Méthyl-7-méthoxy-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>a</i>]indol-1-one 44	189
5-Hydroxy-2-nitroacétophénone 45	190
2-Amino-5-hydroxyacétophénone 86	191
5-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-2-nitroacétophénone 46	192
2-Amino-5-[2-(1-pipéridino)éthoxy]acétophénone 47	193
5-Benzyloxy-2-nitroacétophénone 48	194
β -Diméthylamino-5-benzyloxy-2-nitroacétophénone, chlorhydrate 49	195
β -Diméthylamino-2-amino-5-hydroxyacétophénone, chlorhydrate 85	196
3-(1-Hydroxypropyl)phénol 50	197
3-Hydroxypropionphénone 51	198
5-Hydroxy-2-nitropropionphénone 52	199
5-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-2-nitropropionphénone 53	200

2-Amino-5-[2-(1-pipéridino)éthoxy]propiophénone 87	201
7-Méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléine-8-carbonitrile 54	202
x-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo- 9,11-dihydroindolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléine-8-carbonitriles, chlorhydrates 55,56	203
8-Acétamidométhyl-x-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo- 9,11-dihydroindolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléines, chlorhydrates 57-59	205
8-Aminométhyl-x-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo- 9,11-dihydroindolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléines, chlorhydrates 60-62	207
8-Aminocarbonyl-x-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo- 9,11-dihydroindolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléines, chlorhydrates 63-65	210
Acides x-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo- 9,11-dihydroindolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléine-8-carboxyliques, sulfates 66-68	213
x-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-3,14-dioxo-1,2,3,4,12,14-hexahydroquino[2',3':3,4] pyrrolo[1,2- <i>b</i>][2,7]naphthyridines, chlorhydrates 69,70	216
2-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-13-méthyl-12 <i>H</i> - benzo[5,6]pyrrolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléines, chlorhydrates 71-73	218
2-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-13-ethyl-12 <i>H</i> -benzo[5,6]pyrrolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléines, chlorhydrates 74,75	221
2-Hydroxy-13-méthyl-12 <i>H</i> -benzo[5,6]pyrrolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléines, chlorhydrates 88,89	223
2,3,8-Triméthoxy-13-méthyl-12 <i>H</i> -benzo[5,6]pyrrolizino[1,2- <i>b</i>]quinoléine 80	225
2-(6,7-Diméthoxy-4-méthyl-2-quinolyl)-4,5-diméthoxyaniline 81	225
Références bibliographiques	227

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au sein de l'Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol sous la direction scientifique de Monsieur le Professeur Jean-Pierre Hénichart.

INTRODUCTION

Les cancers sont devenus la première cause de mortalité chez l'homme et la deuxième chez la femme. Des efforts considérables sont donc engagés pour les combattre. On désigne par cancer plus d'une centaine de maladies, la quasi-totalité des tissus de l'organisme pouvant être atteints (pour certains, plusieurs types de cancers sont observés). Il s'agit d'une maladie génique acquise due à la prolifération anarchique, au sein d'un tissu, de cellules ignorant les signaux de mort cellulaire et n'obéissant qu'à leur programme de réplication. En outre, ces cellules sont capables d'envahir et de détruire le tissu normal avoisinant puis de migrer, par voie lymphatique ou sanguine, vers des organes cibles vascularisés pour développer des métastases.

Chaque cancer présente des caractéristiques qui lui sont propres mais les mécanismes qui engendrent ces tumeurs sont communs.

Dans les pays industrialisés, les cancers de la prostate, du sein, du poumon et du côlon touchent une grande partie de la population : ces affections causent 60000 décès en France chaque année.

Un arsenal thérapeutique a été développé afin de traiter les cancers et aujourd'hui, même si ces maladies restent un problème majeur de santé publique, de gros progrès ont été accomplis, notamment sur la maladie de Hodgkin et certains lymphomes...

Les principaux moyens de traiter un cancer consistent en:

- la chirurgie : elle permet l'ablation d'une tumeur ou des tissus lésés. C'est le principal mode de traitement des tumeurs solides, localisées.

- la chimiothérapie : il s'agit de l'utilisation de substances pharmacologiques pour tuer les cellules tumorales. On utilise généralement plusieurs principes actifs afin d'éviter des phénomènes de résistance. L'inconvénient principal des composés utilisés est le manque de sélectivité qui entraîne de nombreux effets secondaires.

- la radiothérapie : la tumeur est irradiée par des rayons X ou γ afin de détruire les cellules tumorales. Elle est souvent utilisée en association avec d'autres thérapies.

- les traitements biologiques : ils utilisent des substances endogènes. Par exemple, l'immunothérapie renforce les défenses immunitaires contre les cellules tumorales.

- les traitements hormonaux : ils agissent sur la vitesse à laquelle les cellules tumorales grossissent, se multiplient ou meurent. C'est une forme particulière de chimiothérapie qui agit sur le système endocrinien et qui est utilisée pour le traitement de cancers hormono-dépendants.

- les greffes de moëlle osseuse : il ne s'agit pas d'un traitement direct mais elles sont parfois utilisées pour renforcer le système de production des cellules sanguines.

La diversité des agents utilisés en chimiothérapie anticancéreuse a permis d'augmenter le nombre de rémission et également leur durée mais les traitements restent lourds, difficiles à supporter et présentent de nombreux effets secondaires. C'est pourquoi il est urgent de trouver de nouvelles molécules plus sélectives et non résistantes sur certains types de cancers.

Ces dernières années, l'évolution des connaissances a permis de comprendre de manière plus approfondie le mécanisme d'action de médicaments déjà utilisés et ainsi, d'envisager de nouvelles perspectives thérapeutiques.

Les ligands de l'ADN constituent une classe très importante de la chimiothérapie anticancéreuse qui a retenu notre intérêt. Nous étudierons les principaux mécanismes d'action de ces composés dans la première partie. Nous avons conçu et synthétisé plusieurs pyrrolo [3,4-*b*]quinoléines, analogues de la camptothécine, que nous détaillerons dans la deuxième partie, potentiellement actifs dans le traitement du cancer de la prostate.

Le cancer de la prostate est la deuxième cause de mortalité par cancer chez l'homme. Dans les premiers stades de la maladie, l'ablation de la prostate ou un traitement limitant l'action de la testostérone sont fréquemment employés. Cependant, lorsque le cancer évolue, qu'il devient invasif et que des métastases sont apparues dans l'organisme, aucun traitement n'est à disposition. Il est donc primordial aujourd'hui de développer de nouvelles molécules actives sur ce type de cancer.

Objectif de ce travail.

L'objectif de ce travail est de proposer de nouveaux intercalants de l'ADN possédant, en plus de ce pouvoir de stacking, des propriétés supplémentaires (pouvant conférer une cytosélectivité) dans la tradition de ce qui s'est fait au laboratoire. On peut ainsi citer les hybrides :

- intercalants / ligands du petit sillon, Bailly et al., 1989 ; Plouvier et al., 1991 ; Bailly et Hénichart, 1991 ; Mrani et al., 1992 ; Plouvier et al., 1992 ; Bailly et Hénichart, 1994 ; Bourdouxhe et al., 1995.

- intercalants / agents dégradant l'ADN, Hénichart et al., 1982 ; Houssin et al., 1984 ; Hénichart et al., 1985^a ; Kenani et al., 1987 ; Kenani et al., 1989 ; Bailly et al., 1990.

- intercalants / chélateurs de métaux, Hénichart et al., 1985^b ; Bernier et al., 1986 ; Bailly et al., 1987 ; Kenani et al., 1987 ; Giorgi-Renault et al., 1989 ; Kenani et al., 1989 ; Morier-Teissier et al., 1989 ; Bailly et al., 1992 ; Haddou et al., 1992 ; Morier-Teissier et al., 1993.

- intercalants / inhibiteurs de topoisomérase II, Fossé et al., 1994 ; Catrycke et al., 1999 ; Dudouit et al., 2000.

- intercalants possédant des fonctions catéchols, Chackal et al., 2002 ; Chackal et al., 2003^a ; Chackal et al., 2003^b ; Malecki et al., 2003.

Nous proposons de concevoir de nouveaux intercalants ayant pour structure le squelette simplifié de la camptothécine et une potentielle activité inhibitrice de la topoisomérase I ou de la télomérase, d'une part, et, d'autre part, des intercalants formés d'un hétérocycle de structure originale et de chaînes latérales cationiques conférant potentiellement un caractère inhibiteur de télomérase ou induisant un autre mode de liaison à l'ADN.

**CIBLES DES
AGENTS ANTI-CANCEREUX**

Le but de la chimiothérapie anti-cancéreuse est d'inhiber la croissance tumorale au moyen de médicaments interférant dans la synthèse protéique, bloquant la division cellulaire, inhibant la néovascularisation des tumeurs, induisant ou restaurant l'apoptose ou enfin, stimulant la réponse immunitaire.

Les substances ayant une activité anti-cancéreuse peuvent être classées suivant leur mécanisme d'action. On distingue les composés qui interagissent de manière directe avec l'ADN de ceux qui interagissent indirectement par action en amont ou en aval de la synthèse d'ADN.

I. L'ADN : une cible biologique de choix dans le traitement du cancer.

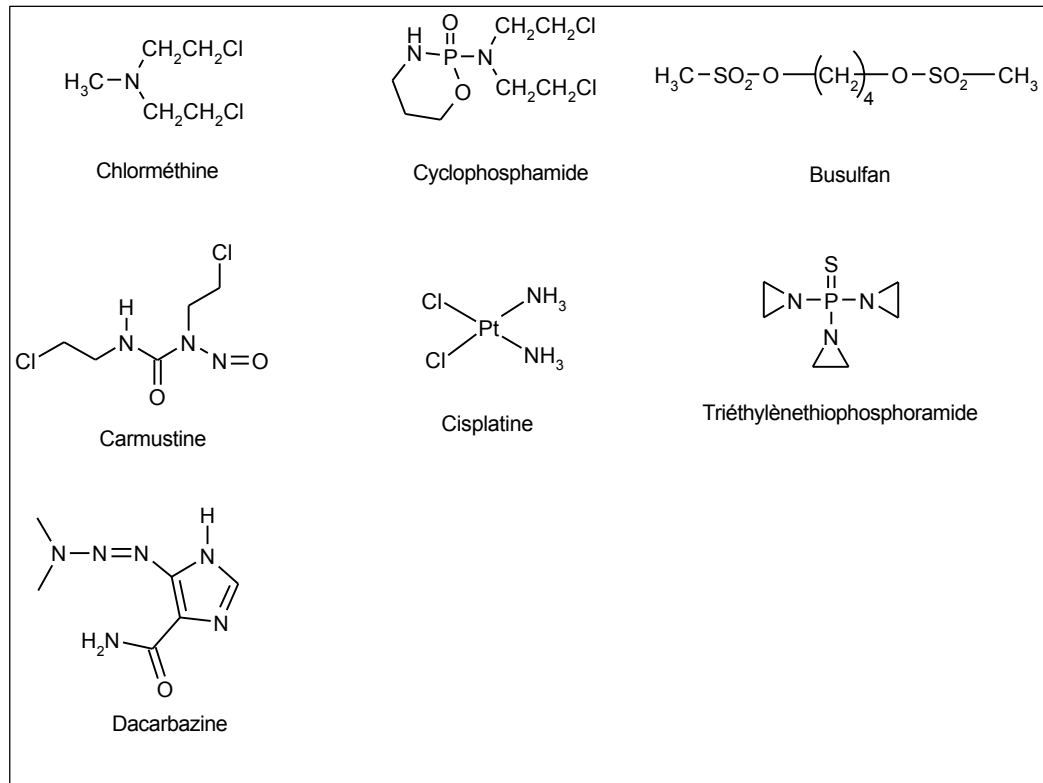
Nous aborderons dans cette partie les substances interagissant de manière directe avec l'ADN, sachant que se pose d'emblée le problème de la cytosélectivité avec ce type de molécules. En effet, il faut qu'elles agissent sélectivement sur l'ADN des cellules cancéreuses tout en maintenant l'intégrité des cellules saines. Ces composés sont classés selon le type de modification qu'ils induisent dans la structure de la double hélice.

1. Les composés alkylants.

Ils interagissent avec l'ADN par réaction chimique. Ce sont généralement des composés électrophiles qui peuvent être attaqués par les bases de l'ADN selon une réaction de substitution nucléophile. Ces réactions entraînent des dommages sur la structure de la double hélice. On observe alors des délétions, des modifications chimiques dans la structure des bases, des ponts inter/intrabins, des ruptures dans la liaison aux phosphates (Nieto et Jones, 2001). Ces modifications de structure, plus ou moins graves pour la cellule, entraînent parfois des cassures ou des dégradations de l'hélice d'ADN responsables de la mort cellulaire.

Plusieurs familles chimiques sont connues comme étant des alkylants. On peut citer :

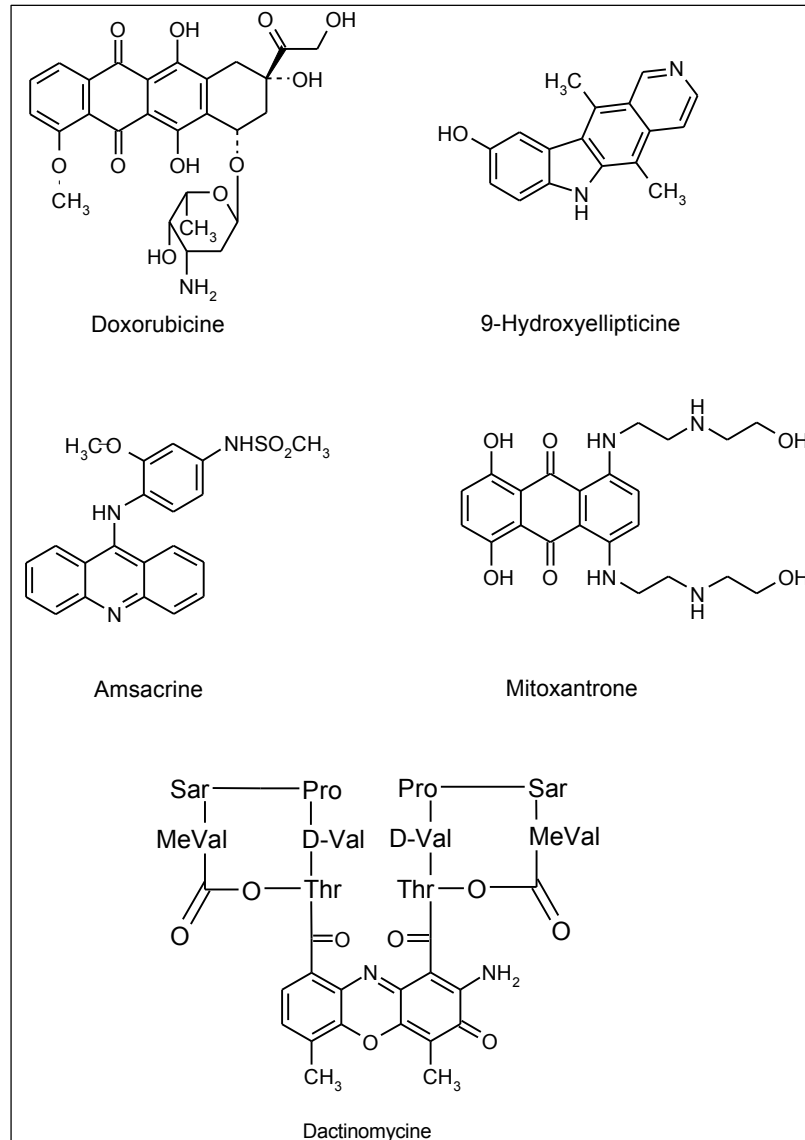
- les alkylants de type moutarde à l'azote : la chlorméthine (Caryolysine®).
 - de type oxazophorine : le cyclophosphamide (Endoxan®).
 - de type alkylsulfonate : le busulfan (Misulban®).
- les nitrosourées : la carmustine (Bicnu®).
- les dérivés du platine : le cisplatine (Cisplatyl®)
- les éthylèneimines : le triéthylèthiophosphoramide (Thiotepa®).
- les triazènes : la dacarbazine (Déticène®).



2. Les intercalants.

Ces composés induisent une modification de la structure de l'ADN par intercalation entre deux plateaux de bases adjacents, ce qui entraîne une détorsion de la double hélice et une perturbation dans la réplication et la transcription (Brana et al., 2001). En effet, les ARN et ADN polymérases ne peuvent plus progresser le long de la double hélice. Les intercalants regroupent cinq familles de molécules :

- les anthracyclines, substances naturelles issues de *Streptomyces peucetius* : la doxorubicine.
- les ellipticines : la 9-hydroxyellipticine, produit de déméthylation d'une substance naturelle extraite de *Ochrosia elliptica* (plante de la famille des *Apocyanaceae*).
- les actinomycines : la dactinomycine, produit naturel issu de *Streptomyces antibioticus*.
- les acridines : l'amsacrine (Amsidine®), produit synthétique.
- les aminoanthraquinones : la mitoxantrone (Novantrone®), substance synthétique.

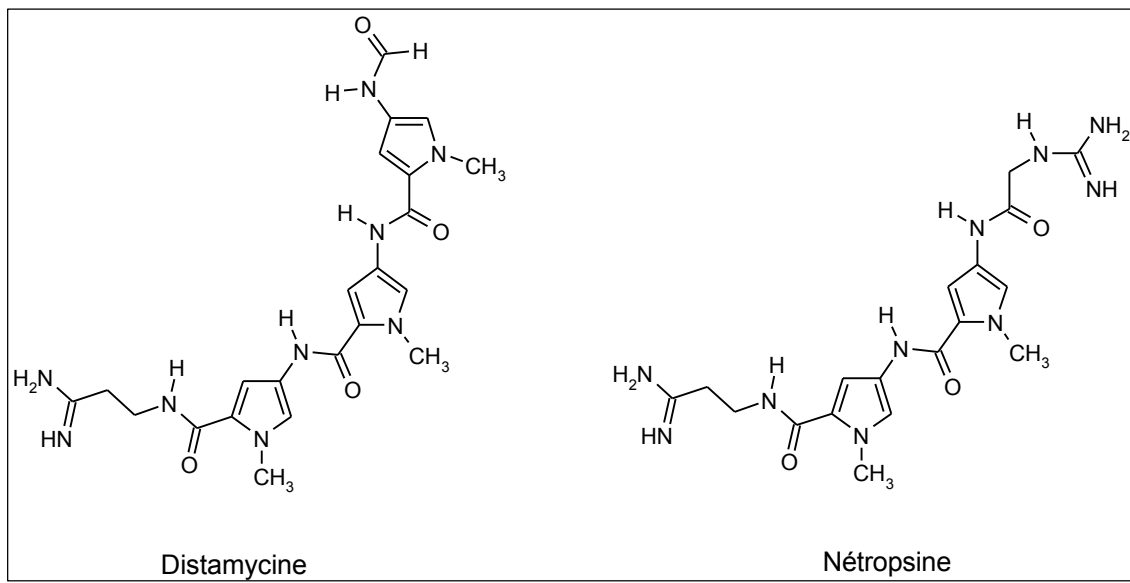


3. Les agents dégradant l'ADN.

Certains agents induisent une fragmentation de l'ADN. On peut citer le cas des bléomycines, substances naturelles issues de *Streptomyces verticillus*. Ces composés sont responsables de coupures dans la séquence nucléotidique et d'une accumulation des cellules en phase G2 du cycle cellulaire (Hénichart et al., 1982 ; Bailly et al., 1990).

4. Les ligands du petit sillon.

Les ligands du petit sillon correspondent à une famille d'agents anti-cancéreux qui ont pour chef de file deux antibiotiques : la nétropsine et la distamycine. Grâce à leur structure, ils interagissent avec la double hélice en venant se positionner dans le petit sillon. Ils reconnaissent préférentiellement les enchaînements riches en bases AT, ce qui a pour conséquence d'inhiber les enzymes qui se fixent sur ces sites, comme les topoisomérases (Pindur et Lemster, 1998).



II. Les composés interagissant indirectement avec l'ADN.

1. Action en amont de la synthèse DNAsique.

Certains composés sont capables d'inhiber la synthèse d'ADN.

a. Les antimétabolites.

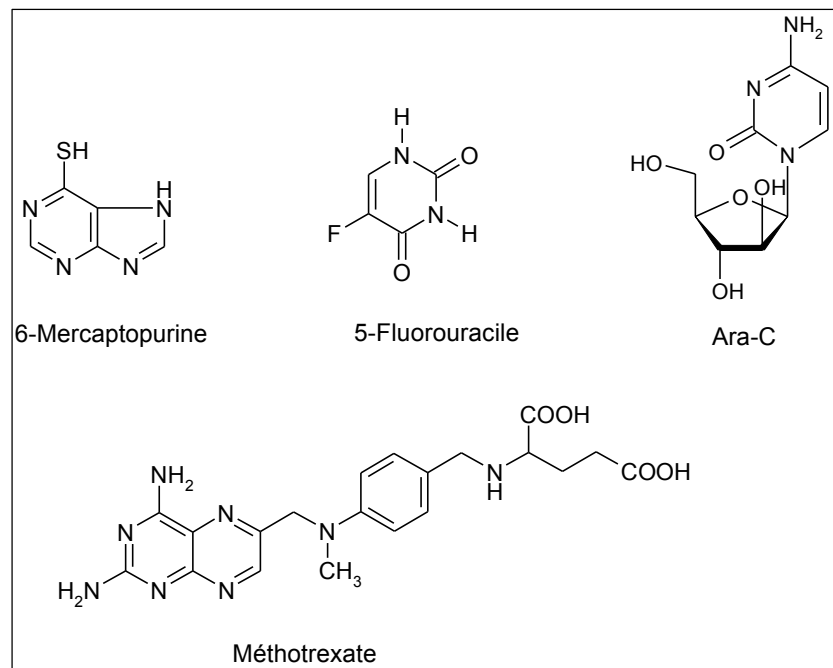
Ces molécules présentent une analogie structurale plus ou moins étroite avec la structure des substances endogènes nécessaires à la synthèse des acides nucléiques. Elles agissent en tant qu'inhibiteurs compétitifs et inhibent la synthèse des nucléosides endogènes par incorporation dans l'ADN et l'ARN de nucléosides modifiés, entraînant ainsi l'interruption de la synthèse d'ADN et d'ARN (Costi et Ferrari, 2001).

➤ les antipurines : un représentant de cette série est la 6-mercaptopurine (Purinéthol®). Ce composé pénètre dans la cellule grâce au transporteur des bases puriques naturelles. Après

activation en ribonucléotides et phosphorylation, il peut être incorporé dans l'ADN à la place des bases puriques naturelles.

➤ les antipyrимидines : ils inhibent la synthèse des bases pyrimidiques. Un représentant de cette série est le 5-fluorouracile (5-FU, Fluorouracil®) qui inhibe l'incorporation de la thymidine dans les acides nucléiques (Frewin et Johnson, 2001). Le 5-FU est une prodrug transformée en son métabolite actif, la fluorodéoxyuridine, après ribosylation ou phosphorylation. Ce métabolite peut inhiber la thymidilate-synthétase, enzyme clé de la voie endogène des pyrimidines ou être intégrée directement par l'ADN et ainsi modifier l'appariement des bases et la transcription en ARN. D'autre part, la cytarabine (Ara-C, Aracytine®) est un nucléoside analogue de cytosine. Après pénétration cellulaire, elle est convertie par phosphorylation en cytarabine monophosphate puis triphosphate (Ara-CTP) par la cytosine kinase. Il y a alors compétition entre Ara-CTP et le triphosphate de cytosine pour l'incorporation dans l'ADN. Ara-CTP inhibe l'ADN-polymérase entraînant ainsi un arrêt de l'élongation et un blocage en phase S du cycle cellulaire.

➤ les inhibiteurs de dihydrofolate réductase : ces molécules sont également appelées les antagonistes de l'acide folique et représentées par le méthotrexate (Ledertrexate®) (Longo-Sorbello et Bertino, 2001). L'acide folique est une vitamine indispensable à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques. Il est tout d'abord réduit en acide tétrahydrofolique, puis transformé en acide N-5 formyltétrahydrofolique, qui intervient dans la formation des acides nucléiques. Les antifoliques agissent en empêchant la formation de l'acide tétrahydrofolique catalysée par la dihydrofolate réductase.



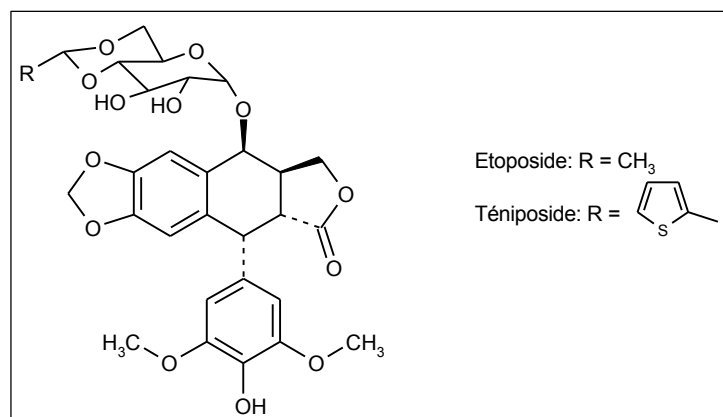
b. Les inhibiteurs enzymatiques des topoisomérases.

Les topoisomérases sont des enzymes ubiquitaires qui régulent la topologie de l'ADN et qui sont essentielles pour garantir l'intégrité de l'ADN pendant les processus de transcription, réplication et recombinaison (Gatto et al., 1999).

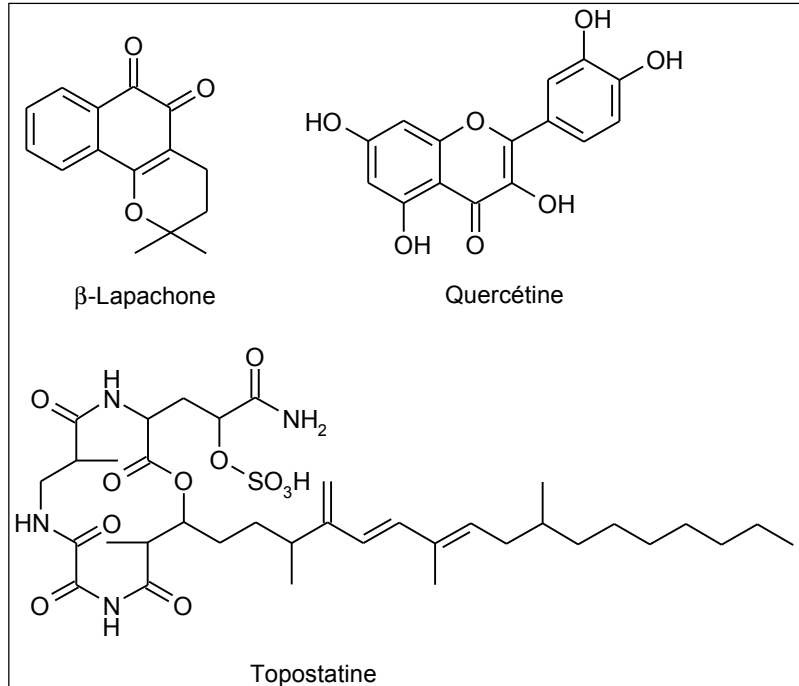
Il existe deux types de topoisomérases. D'une part, les topoisomérases de type I, protéines monomériques, permettent la coupure d'un brin de la double hélice et effectuent la détorsion de l'ADN en passant le second brin d'ADN dans la brèche. Elles restaurent l'intégrité de l'ADN en fin de cycle catalytique. D'autre part, les topoisomérases de type II, enzymes dimériques, dépendantes de l'ATP, induisent une coupure transitoire d'un double brin d'ADN pour permettre le passage d'un autre segment d'ADN à travers la coupure (Champoux, 2001). La topoisomérase I joue un rôle important pendant tout le cycle cellulaire alors que l'activité de la topoisomérase II est variable. Par ailleurs, le taux intracellulaire de topoisomérases I et/ou II est plus élevé dans bon nombre de tumeurs que dans les tissus sains correspondants (Kim et Lee, 2002).

Les composés qui inhibent ces enzymes sont classés selon qu'ils empêchent la formation du complexe ADN-enzyme en se liant à l'ADN ou à l'enzyme. On parle alors de suppresseur de l'activité topoisomérase. On distingue de ces composés les agents capables de piéger et de stabiliser le complexe ADN-enzyme, qui sont appelés poisons de la topoisomérase. En ce qui concerne les suppresseurs d'activité, on retrouve des composés intercalants (ellipticine) ou ligands du petit sillon (nétoprosine) qui inhibent la topoisomérase II.

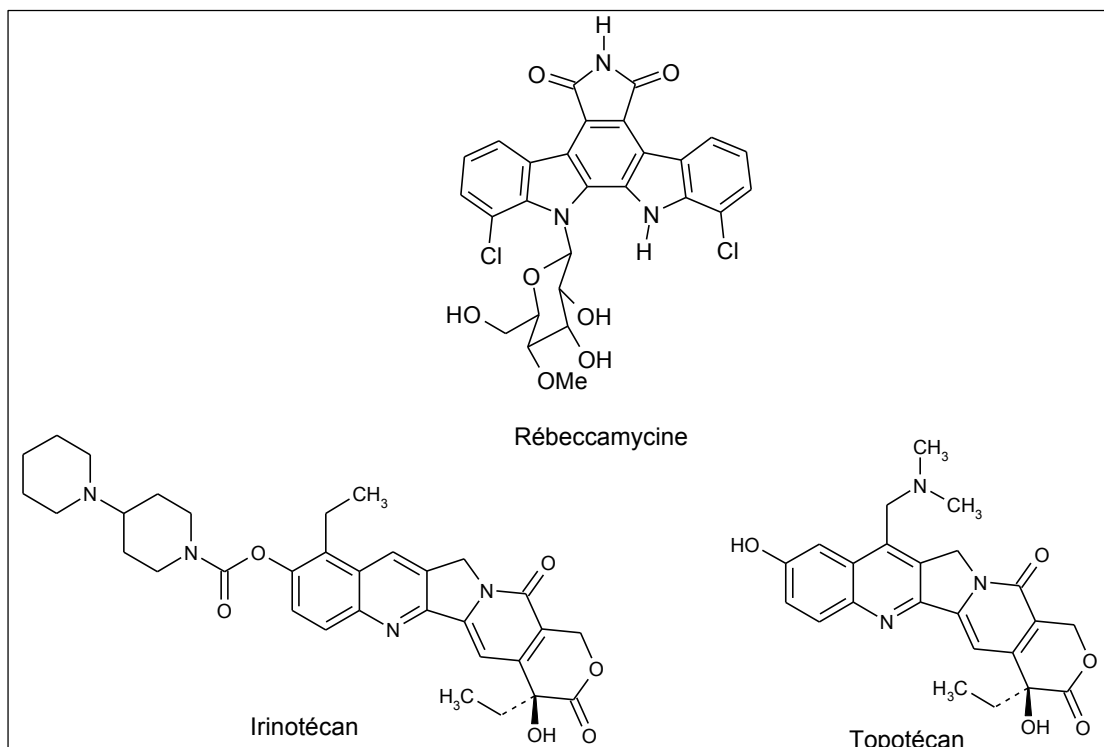
Les principaux poisons de la topoisomérase II sont représentés par des dérivés hémisynthétiques de la podophyllotoxine, le téniposide (Vumon®) et l'étoposide (Vepesid®) (Imbert, 1998) et par certains composés intercalants cités précédemment.



Les supprimeurs de l'activité topoisomérase I sont représentés par des composés dont la structure est très variable. On peut citer la β -lapachone, extraite d'un arbre sud-américain, des composés issus de la famille des flavonoïdes, comme la quercétine, ou encore des dérivés lipidiques comme la topostatine.



Deux grandes familles chimiques constituent les poisons de la topoisomérase I. Il s'agit des indolocarbazoles de type rébeccamycine et des dérivés de la camptothécine (irinotécan, Campto® et topotécan, Hycamtin®) (Pourquier et Pommier, 1998).

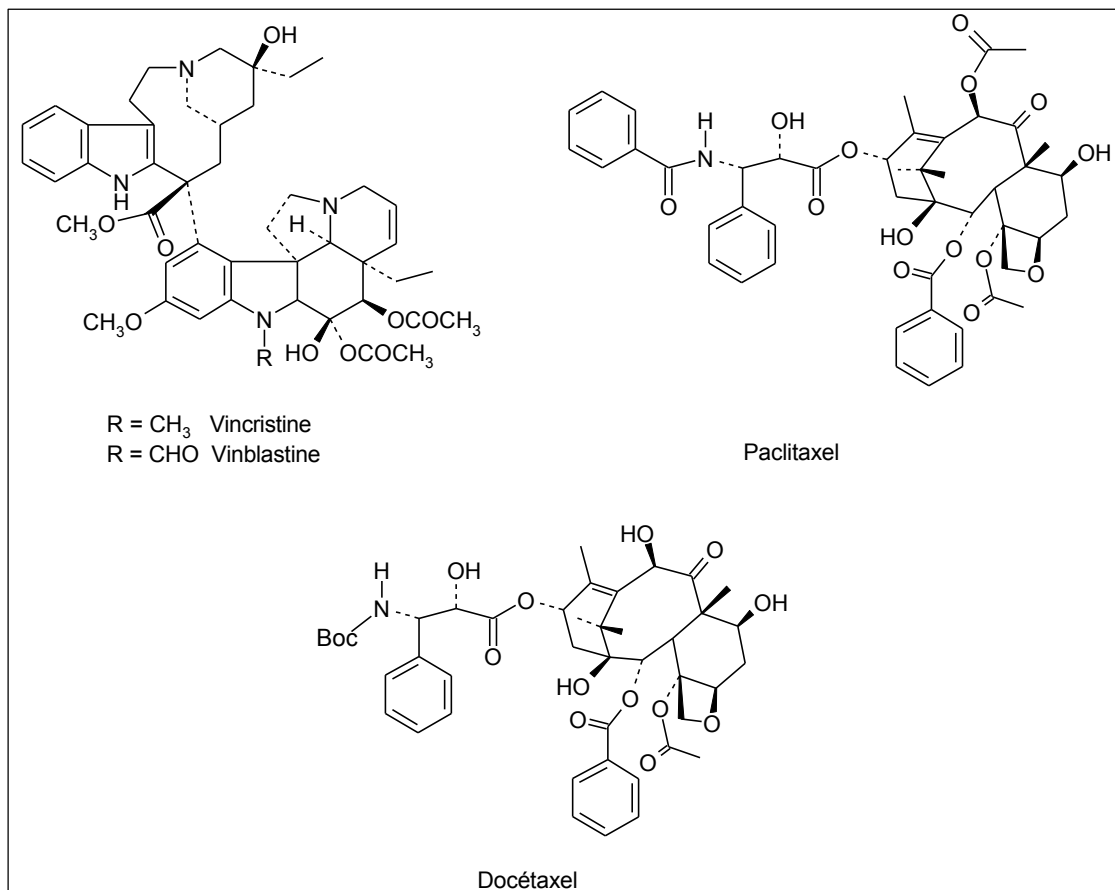


2. Action en aval de la synthèse DNAsique.

➤ les antimitotiques :

Ces composés sont communément appelés poisons du fuseau ou antimitotiques. Les alcaloïdes de la pervenche de type vincristine (Oncovin®), vinblastine (Velbe®), empêchent la formation du fuseau mitotique par inhibition de la polymérisation de la tubuline, ce qui provoque la dissolution des microtubules (Correira et Lobert, 2001).

Les taxanes, paclitaxel (Taxol®), extrait de l'if, et docétaxel (Taxotère®), composé hémisynthétique, stimulent l'assemblage des dimères de tubuline en microtubules et stabilisent les microtubules, empêchant ainsi leur dépolymérisation (Pienta, 2001).



III. Voies de recherche.

1. Présentation.

Plusieurs voies de recherche sont actuellement à l'étude, au laboratoire en particulier, afin de découvrir des composés possédant une activité anti-tumorale et un mode d'action nouveau. On peut citer l'inhibition de la protéine Ras-farnésyle transférase (Domarkas et al., 2001) ; l'inhibition de l'activité protéine tyrosine kinase (Bencteux, 1997) ; l'inhibition des kinases dépendantes des cyclines (Laconde, 2002) ; l'inhibition de métalloprotéases matricielles (Cornet, 1999).

Une des voies de recherche concernant la découverte de nouveaux agents anti-tumoraux, l'inhibition de la télomérase, a retenu notre attention. Un projet de recherche (Chackal, 2002) a d'ailleurs été initié à l'Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol dans cette direction. La découverte que les cellules tumorales, contrairement aux cellules somatiques saines, sont capables de maintenir la longueur des extrémités télomériques constantes, est à l'origine de cet intérêt considérable.

2. L'inhibition des télomérases.

Les télomères sont les extrémités chromosomiques des molécules d'ADN. Ce sont des enchaînements nucléotidiques monobrin, riches en guanine, d'une longueur comprise entre 5 et 15 kb chez l'homme. Il semble qu'ils jouent un rôle protecteur sur les chromosomes en empêchant les phénomènes de recombinaison ou de fusion chromosomique, ou l'action de certaines nucléases qui pourraient causer des dommages à l'ADN et faire évoluer la cellule vers une cellule anormale. Les télomères des cellules saines subissent des raccourcissements de 50 à 200 bp à chaque réplication (raccourcissement dû à l'incapacité des ADN polymérases à répliquer entièrement l'extrémité DNAsique). Après environ 50 cycles, le télomère atteint une longueur critique, signal qui conduit la cellule vers la mort. La télomérase est une enzyme inactive chez les cellules saines qui se trouve réactivée dans un bon nombre de cellules tumorales. Il s'agit d'une transcriptase inverse qui permet de synthétiser des séquences télomériques afin de stabiliser la longueur des télomères. Cette réactivation rend la cellule tumorale immortelle et sujette à la tumorigénèse (Kelleher et al., 2002).

Ainsi, il a été mis en évidence un taux élevé de télomérase dans 85 à 95 % des cancers humains et également une corrélation entre le taux de télomérase et la progression de la maladie. Elles constituent donc des cibles thérapeutiques importantes car leur inhibition permet d'intervenir au stade de la tumorigénèse. D'autre part, des inhibiteurs de cette enzyme devraient permettre une action sélective sur les cellules tumorales, puisqu'elles seules possèdent une enzyme active. Il a été montré par des études de transfection avec des télomérases inactives que l'inhibition de cette

enzyme conduisait à une réduction de la longueur du télomère et enfin à la senescence et l'apoptose (Cuesta et al., 2003).

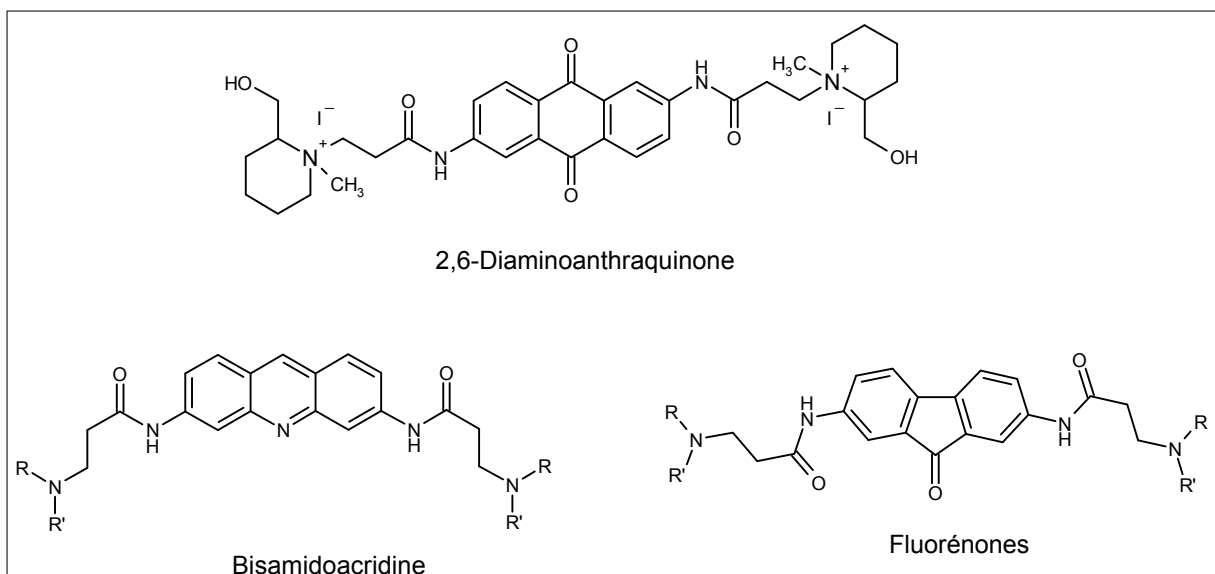
L'inhibition des télomérases peut se faire (i) par action au niveau de son site catalytique, (ii) sur le motif ARN qui lui permet de synthétiser l'ADN télomérique, par une approche antisens, (iii) par action sur le substrat télomérique (White et al., 2001).

Nous nous sommes intéressés à la possibilité d'agir sur le complexe binaire télomère/télomérase par le biais du télomère. En effet, des expériences *in vitro* montrent que les extrémités télomériques, riches en guanine, ont tendance à adopter une structure tridimensionnelle en quadruplex en présence d'ions sodium ou potassium. Ce motif, qui met en jeu 4 guanines, est appelé G-quartet (G4). La formation de cette structure permet d'inhiber la télomérase qui ne reconnaît que des segments d'ADN monobrin (Perry et Jenkins, 2001). La non-reconstitution de l'extrémité télomérique par l'enzyme devrait rendre la cellule tumorale mortelle après un certain nombre de cycles réplicatifs.

Ainsi, des molécules capables d'induire et de stabiliser des G4 seraient des inhibiteurs potentiels de télomérase et devraient permettre de contenir la croissance tumorale en rendant la cellule anormale mortelle.

3. Quelques relations structure-activité.

Les molécules, dont une activité anti-télomérasique a été démontrée *in vitro*, possèdent un squelette aromatique plan de type anthraquinone, fluorénone ou acridine. Deux chaînes latérales cationiques sont nécessaires pour l'activité. Ces chaînes sont idéalement espacées du cœur aromatique par une liaison amide et 2 groupes méthylène. Les amines les plus favorables sont la pipéridine et la pyrrolidine. Voici quelques molécules dont l'activité anti-télomérasique a été démontrée (Cuesta et al., 2003).

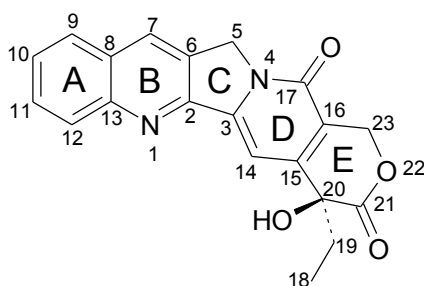


UN MODELE D'ORIGINE NATURELLE :
LA CAMPTOTHECINE

Les inhibiteurs de télomérase rapportés dans la littérature partagent un squelette hétérocyclique plan et des substituants aliphatiques chargés. Nous avons choisi le motif pyrroloquinoléinique de la camptothécine afin de concevoir des molécules intercalantes et/ou inhibitrices de télomérase. Nous allons donc étudier cette molécule d'origine naturelle qui nous a servi de modèle chimique.

I. Généralités.

La camptothécine (CPT) est un alcaloïde pentacyclique isolé à partir d'un arbre chinois *Camptotheca acuminata*. Elle a été identifiée pour la première fois en 1966 par Wall et Wani au Research Triangle Institute (Wall et al., 1966).



A cause d'effets toxiques sévères et imprévisibles apparus très tôt lors des études cliniques, incluant des myélosuppressions, des diarrhées sévères et des cystites hémorragiques, le développement clinique de la camptothécine a été interrompu dans les années 70 (Kehrer et al., 2001).

Au début des années 80, plusieurs événements importants ont conféré un intérêt nouveau à cette molécule. La cible moléculaire a été identifiée : la camptothécine agit comme inhibiteur de la topoisomérase I. La liaison de la camptothécine au complexe ADN-topoI et l'interférence produite pendant l'étape de religation sont reconnues comme étant son premier mécanisme d'action. La stabilisation du complexe de clivage conduit ensuite à des coupures d'ADN double brin et enfin à la mort cellulaire.

En même temps, il a été montré que les problèmes rencontrés en clinique étaient dus, au moins partiellement, à la faible hydrosolubilité de la molécule qui nécessitait alors une formulation alcaline (sous forme de sel de sodium) pour l'administration par voie intra-veineuse. Cette formulation a non seulement conduit à des modifications chimiques de la structure originelle mais également à une profonde altération du comportement toxicologique du composé.

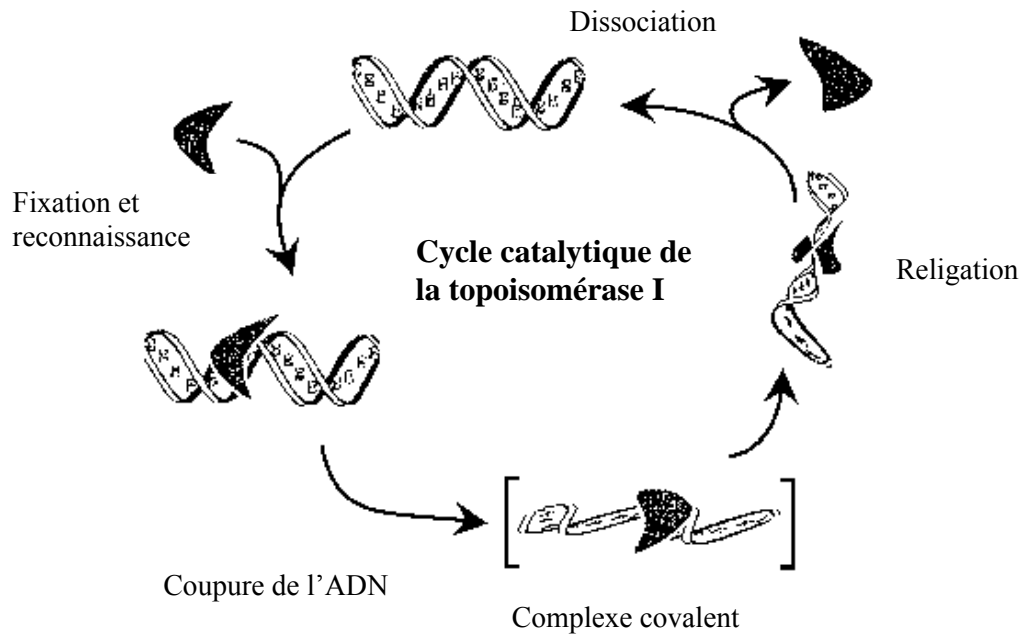
Ces deux découvertes ont exacerbé les efforts de recherche afin de développer de nouveaux analogues synthétiques ou semi-synthétiques dont l'hydrosolubilité serait augmentée et qui auraient

le mécanisme d'action de la camptothécine. Certains de ces agents sont aujourd'hui en développement clinique. L'irinotécan et le topotécan sont enregistrés et utilisés dans le traitement du cancer colorectal, pour le premier, de l'ovaire et du poumon, pour le second.

II. La cible biologique de la camptothécine : la topoisomérase I.

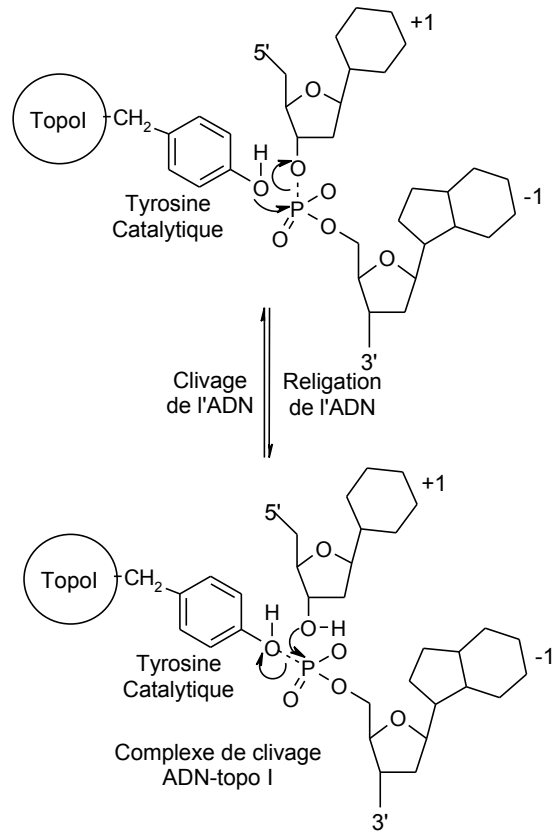
Cycle catalytique de l'enzyme (Pourquier et Pommier, 2001):

Le cycle catalytique de la topoisomérase IB peut être divisé en quatre phases (Pourquier et Pommier, 1998).



- *liaison de l'enzyme à l'ADN* : la topoisomérase I eucaryote se lie uniquement à l'ADN double brin et nécessite une région d'au moins vingt paires de bases.

- *le clivage de l'ADN* : il s'agit d'une réaction réversible qui conduit à un intermédiaire covalent appelé complexe de clivage. D'un point de vue chimique, il s'agit d'une réaction de transestérification réversible conduisant à un intermédiaire covalent entre la tyrosine (site actif de l'enzyme) et l'extrémité 3'. La tyrosine réagit par son groupement hydroxyle avec la liaison phosphodiester de l'ADN.



- *le passage d'un simple brin à travers la coupure* : le modèle de rotation contrôlée semble être le plus proche de la réalité. Il s'appuie sur la structure de la topoisomérase I humaine tronquée pour sa partie amino-terminale et un oligonucléotide de 22 paires de bases.

- *la religation de l'ADN* : c'est également une réaction de transestérification dans laquelle l'extrémité du brin coupé peut attaquer de nouveau la liaison phosphotyrosine, ce qui restaure la continuité de l'ADN.

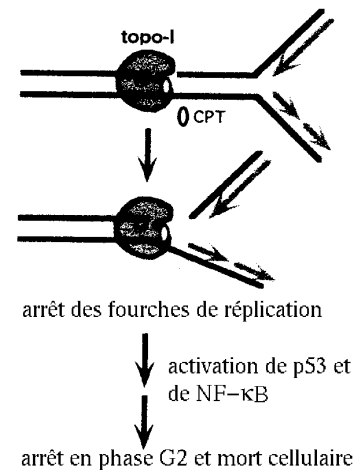
III. Mécanisme d'action (Liu et al., 2000).

La première lésion induite à l'ADN par la camptothécine est la formation d'un complexe ternaire réversible. Des études biochimiques ont suggéré que la camptothécine se liait à l'interface du complexe ADN-topoI et inhibait spécifiquement l'étape de religation. Le mécanisme moléculaire de l'inhibition apparaît comme non-compétitif car la camptothécine ne se lie ni à l'ADN seul ni à l'enzyme libre.

Si le complexe de clivage ADN-topoI est stable pendant un certain temps, les ligases sont incapables de restaurer l'intégrité de l'ADN et les endonucléases peuvent dégrader l'ADN et entraîner la cellule vers la mort programmée (apoptose).

1) Collision entre le complexe ternaire et les fourches de réplication:

Le premier mécanisme par lequel CPT conduit la cellule vers la mort cellulaire est une cytotoxicité spécifique en phase S. Ce mécanisme a été longuement étudié et le modèle de collision avec les fourches de réplication a été établi.



Le complexe réversible ADN-topoI-CPT n'est pas létal par lui-même. Mais après la collision avec les fourches de réplication qui progressent, la mort cellulaire est provoquée.

Trois événements biochimiques consécutifs à la collision ont été mis en évidence *in vitro*:

- la formation d'une coupure double brin
- l'arrêt irréversible des fourches de réplication
- la formation d'une coupure d'ADN localisée sur le site de la collision.

Des études sur les levures ont montré l'importance de la coupure double brin pour la cytotoxicité. La collision potentiellement létale est dépendante de l'orientation du complexe de clivage par rapport aux fourches de réplication.

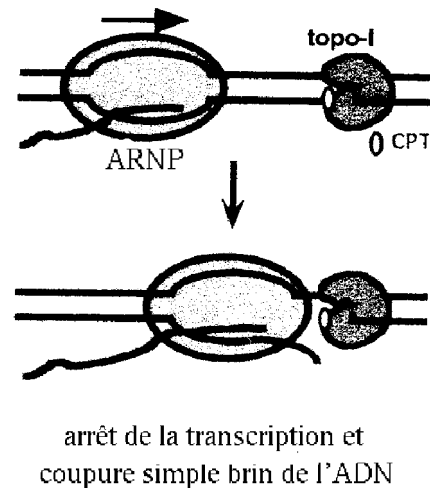
2) Collision entre le complexe ternaire et la machine transcriptionnelle:

Un des effets cellulaires prédominants de la camptothécine est l'arrêt de la synthèse d'ARN. Cet arrêt intervient lors de l'élongation, ce qui conduit à une accumulation de complexes d'élongation avec l'ARN polymérase à l'extrémité 5' du brin transcrit.

L'effet inhibiteur du complexe ternaire sur l'élongation de la transcription a été étudié *in vitro*. En utilisant des ARN polymérases T7, les complexes clivés ont montré un arrêt en transcription causant une terminaison prématurée. Comme dans le cas des fourches de réplication, l'arrêt de la transcription dépend de l'orientation du complexe clivable vis-à-vis de l'ARN polymérase: il intervient seulement si le complexe clivable est formé sur le brin d'ADN codant.

En plus de l'arrêt de la transcription en ARN, le complexe clivable peut également produire des coupures monobrin irréversibles sur le brin codant.

A partir de ces résultats, un modèle de collision de l'ARN polymérase a été proposé. La collision entre le complexe ARN polymérase et le complexe clivable sur le brin codant arrête la transcription en ARN et concomitamment fait évoluer le complexe clivable réversible vers une coupure irréversible.



IV. Relations structure-activité.

La plupart des analogues connus de la camptothécine partagent une structure pentacyclique plane et en croissant avec un centre chiral sur le carbone 20. Les études de relations structure-activité montrent une corrélation entre la capacité à inhiber la topoisomérase I et le pouvoir cytotoxique de CPT. Plusieurs éléments de sa structure sont nécessaires pour l'activité :

- l'activité inhibitrice sur la topoisomérase I de l'isomère S est beaucoup plus importante que celle de l'énantiomère R
- la planéité de la partie quinoléinique permet d'établir un stacking avec le complexe ADN-enzyme. La partie concave de la molécule fait alors face au grand sillon de l'ADN
- la fonction lactone permet d'établir des liaisons hydrogène avec l'enzyme
- la partie indolizinique qui contient le groupement 4-céto est capable de former des liaisons hydrogène avec les bases de l'ADN.

1) Etude des cycles A-B (Dallavalle et al., 2000 ; Dallavalle et al., 2001^a ; Dallavalle et al., 2001^b):

En général, la substitution des atomes de carbone 7, 9 et 10 tend à augmenter l'inhibition de la topoisomérase I et parfois augmente l'hydrosolubilité, alors que les substitutions en position 11 et 12 la diminuent. La tolérance stérique en position 11 est plus importante qu'en position 12.

La présence de cycles additionnels peut augmenter l'activité (par exemple, cyclisation entre les positions 7 et 9 ou 10 et 11). Il est apparu récemment des analogues avec un cycle additionnel entre les atomes de carbone 9 et 10 (Kim et al., 2001).

Dans les modèles d'interaction ADN-topoI-CPT proposés, il existe un espace large pour une substitution en position 7, tout en évitant une perturbation stérique conséquente. Des résultats récents montrent l'importance d'un groupe lipophile en cette position pour l'activité cytotoxique. Les positions 9 et 10 sont préférentiellement occupées par des groupements polaires.

Les analogues où l'atome de carbone 11 est remplacé par un atome d'azote ont été préparés et testés. Cet atome d'azote est salifiable ou quaternarisé pour donner des produits ayant généralement une bonne hydrosolubilité. Le composé 11-azaCPT possède une activité accrue dans les essais enzymatiques (Lavergne et Bigg, 1998).

2) Etude des cycles C-D (Crow et Crothers, 1992 ; Nicholas et al., 1990 ; Subrahmanyam et al., 1999):

La plupart des modifications structurales ont concerné les cycles A et B où de larges possibilités de variation existent mais l'activité de composés substitués sur le cycle C ou D peut être conservée. Elle dépend de la taille et du type de substituant.

La position 14 requiert des substituants avec un encombrement stérique minimum.

La position 5 peut être substituée par des groupements polaires.

La fonction lactame est nécessaire pour l'activité. Un analogue de la camptothécine, dans lequel le cycle D est un noyau benzénique, a été synthétisé et ne montre pas d'activité.

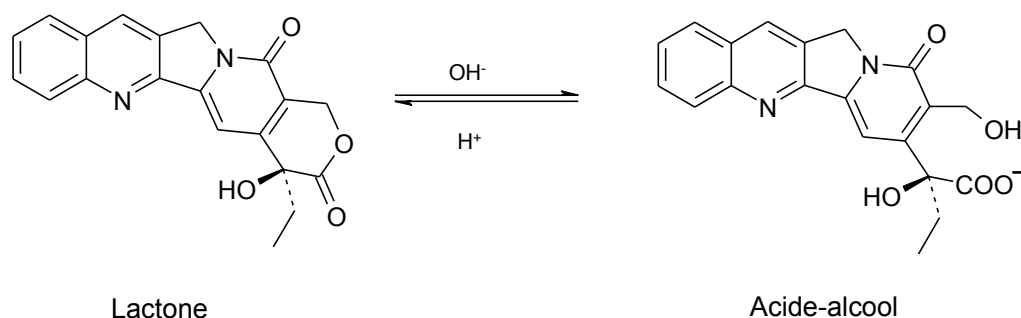
3) Etude du cycle E:

En se basant sur la réactivité du cycle lactonique avec les nucléophiles, la camptothécine montre une activité d'agent alkylant : elle peut former une liaison covalente labile entre sa partie lactonique et l'enzyme (Kim et Lee, 2002). Cette proposition a été remise en question récemment avec l'activité importante démontrée par l'homocamptothécine (hCPT). Une étude plus approfondie a permis de rationaliser l'activité de hCPT et d'accepter l'hypothèse d'une interaction covalente entre CPT et l'enzyme. La liaison hydrogène intramoléculaire qui peut s'établir dans le cas de CPT entre le carbonyle de la lactone et le groupement hydroxyle permet d'augmenter la réactivité de la fonction lactonique mais diminue également l'interaction de CPT avec l'enzyme par liaison hydrogène entre l'hydroxyle et l'enzyme. Dans le cas de hCPT, l'hydroxyle est libre de toute interaction intramoléculaire et peut interagir exclusivement avec l'enzyme. De plus, la réactivité de la lactone (non activée par l'hydroxyle en α) est facilitée dans le complexe ternaire. D'autre part, la réactivité plus faible dans le cas de hCPT retarde autant la formation de la liaison covalente entre l'enzyme et CPT que sa rupture. Enfin, le fait que ce complexe ternaire ait une durée de vie plus longue augmente d'autant plus son pouvoir cytotoxique (Kim et Lee, 2002 ; Kohn et Pommier, 2000).

a) Stabilité de la lactone en fonction du pH (Kehrer et al., 2001):

Une des principales caractéristiques chimiques de la camptothécine est la présence d'une α -hydroxylactone dans le cycle E. Cependant, elle confère à cet agent un haut degré d'instabilité dans les solutions aqueuses. En effet, la camptothécine et ses analogues peuvent subir une interconversion pH-dépendante réversible entre la forme lactone et la forme acide-alcool (forme

ouverte). Il n'est pas aisé de s'affranchir de cette réactivité intrinsèque car la lactone joue un rôle crucial.



Seule la forme lactone est capable de diffuser à travers les membranes cellulaires et exerce une activité inhibitrice sur la topoisomérase I. A pH neutre ou physiologique, l'équilibre entre ces 2 espèces favorise la forme acide-alcool.

Cette réaction d'hydrolyse permet d'expliquer plusieurs observations faites dans les premiers développements de cette molécule. La camptothécine était administrée sous forme de sel de sodium hydrosoluble: les patients étaient donc exposés à des doses relativement fortes de l'espèce carboxylate inactive. Une grande partie du médicament est alors éliminée dans les urines, où le pH acide favorise la refermeture en lactone. Le composé est alors insoluble en milieu aqueux et précipite ce qui provoque des cystites hémorragiques.

b) Stabilité de la lactone en présence de sérum albumine (Kehrer et al., 2001):

L'équilibre entre la forme lactone et la forme carboxylate n'est pas seulement dépendant du pH mais aussi de la présence de protéines spécifiques dans la matrice, et plus particulièrement de la sérum albumine.

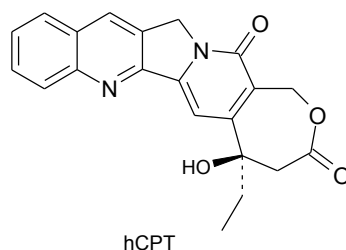
Le problème d'hydrolyse de la camptothécine et de la plupart de ses analogues est exacerbé chez l'homme par le fait que l'albumine se lie préférentiellement à la forme acide-alcool, ce qui déplace l'équilibre vers cette forme inactive.

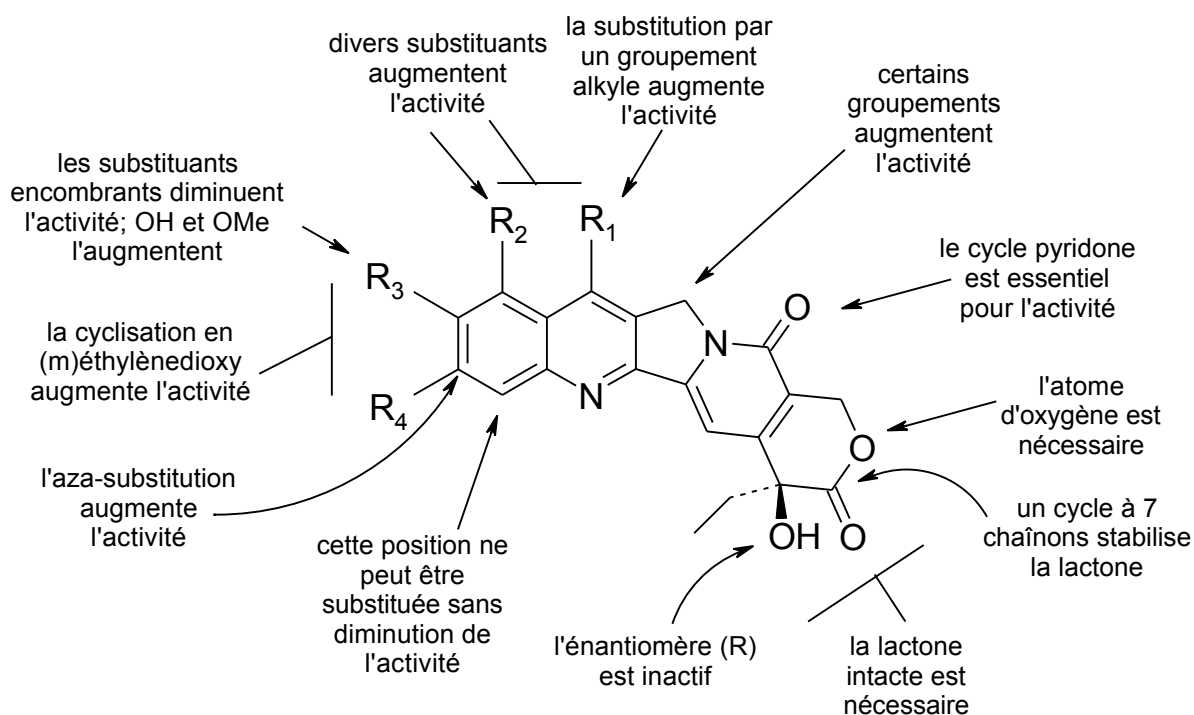
Des relations structure-activité montrent qu'une disubstitution 9,10, comme dans le cas du topotécan, diminue l'affinité pour la sérum albumine, et qu'une disubstitution 7,10 (où 10 est substitué par un groupement hydroxyle) empêche la liaison de la forme acide-alcool avec cette protéine.

c) Modification de la fonction α -hydroxylactone (Nicholas et al., 1990 ; Bailly et al., 1999):

Plusieurs dérivés non hydrolysables de la camptothécine ont été synthétisés, incluant le dérivé lactame (21-lactame-20-S-CPT). Ce dérivé est moins actif que CPT. La réduction du cycle lactone dans des conditions douces, afin d'obtenir le dérivé lactol ou le dérivé 20-déoxy, se traduit par une perte totale de l'activité. Cependant, il a été montré récemment que le remplacement du groupement 20-hydroxy par un chlore ou un brome, ou par un groupe aminé, diminuait la cytotoxicité mais n'empêchait pas la liaison de la molécule au complexe binaire.

A ce jour, la seule modulation sur ce cycle permettant de conserver l'activité antitumorale de la molécule, tout en offrant une meilleure stabilité à pH physiologique, est l'homologation du cycle E pour obtenir hCPT (Lavergne et al., 1998). hCPT montre une forte activité inhibitrice sur la topoisomérase I en dépit de la réactivité réduite de son cycle lactonique (Lesueur-Ginot et al., 1999; Urasaki et al., 2000). En effet, elle possède des capacités d'inhibition de la topoisomérase I supérieures à celle de CPT. De plus, l'homologation du cycle lactonique modifie la spécificité de séquence de la coupure d'ADN par la topoisomérase I et renforce la stabilité du complexe covalent.



4) Schéma des principales relations structure-activité:5) Quelques relations générales (Lavergne et Bigg, 1998):

L'obtention d'analogues hydrosolubles a été perçue comme une nécessité, non seulement pour faciliter les formulations parentérales, mais également pour tenter d'éviter les cystites hémorragiques, attribuées à la précipitation du principe actif dans le tractus urinaire. La solubilité est généralement conférée par des substituants aminés.

L'ajout d'un substituant hydrosolubilisant au squelette de la camptothécine provoque fréquemment une diminution de l'activité; il est alors nécessaire d'utiliser des substituants activants. Ainsi, certains dérivés hydrosolubles portent, conjointement à une fonction solubilisante, les substituants 7-éthyle, 10,11-méthylènedioxy, 10,11-éthylènedioxy. Les substituants activants connus de longue date sont retrouvés dans la 9-AC, la 9-NC, la 10,11-méthylènedioxycamptothécine ou les camptothécines fluorées. Des travaux récents ont révélé de nouvelles substitutions capables d'augmenter l'activité de la camptothécine : l'oxazolocamptothécine, les 7-silylcamptothécines montrent une activation importante aussi bien dans les tests enzymatiques que dans les essais de prolifération cellulaire.

V. Structure du complexe ternaire.

En l'absence de cristal du complexe ADN-topoisoméraseI-CPT, plusieurs modèles établis par docking ont proposé une structure du complexe ternaire : tout d'abord, le modèle de Redinbo et al., 1998 puis celui de Fan et al., également proposé en 1998 et enfin, celui de Laco et al., soumis au début de l'année 2002.

Récemment, Staker et al., 2002, ont proposé une étude par diffraction de rayons X du complexe ternaire ADN-topoisomérase I-topotécan (TPT). Il s'agit de la première résolution d'une structure cristalline avec un analogue de camptothécine. Cet article, publié en novembre 2002, remet en question beaucoup d'hypothèses de travail dans la série des camptothécines. Deux structures cristallines ont été étudiées : une avec TPT possédant sa structure lactonique et avec TPT dans sa forme ouverte.

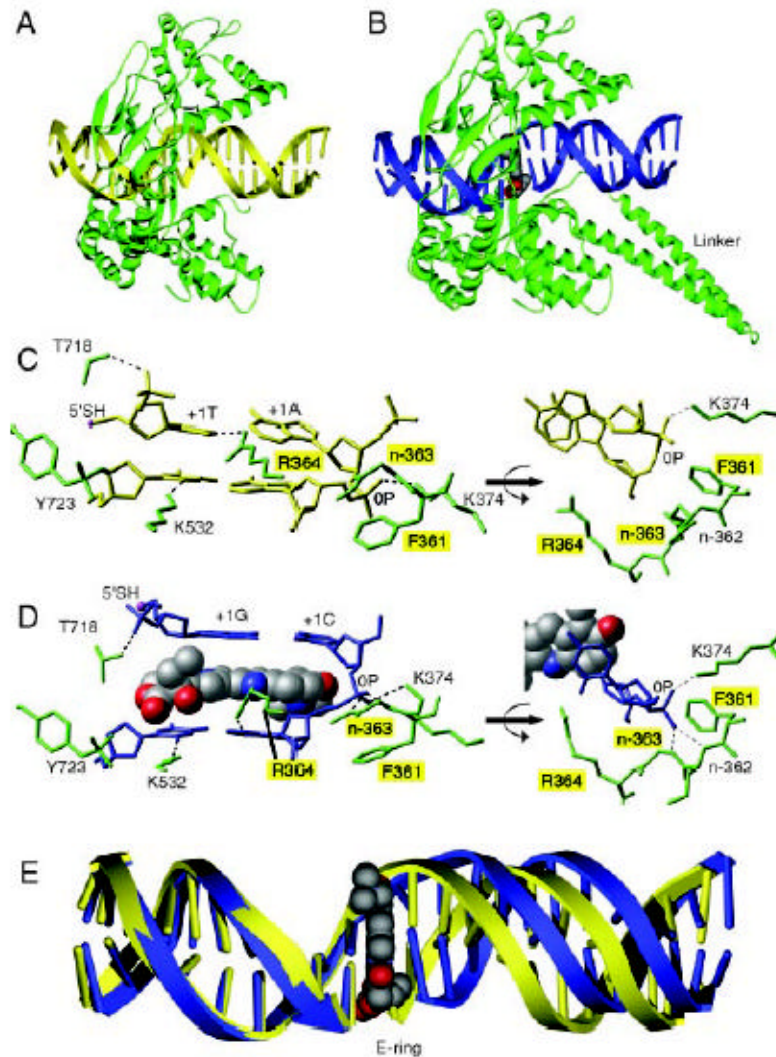
1) Interaction de TPT avec l'ADN:

D'après la structure cristalline, TPT s'intercale sur le site de clivage de l'ADN et peut interagir par stacking avec les bases -1 et +1. Ce système pentacyclique plan mime une base d'ADN et vient s'intercaler dans la double hélice en prenant la place de la base +1 (position dans le complexe ADN-topoI). L'intercalation du composé s'accompagne d'une détorsion entre les bases -1 et +1. L'axe du topotécan est alors parallèle aux plans des bases d'ADN.

Dans le complexe ternaire, la liaison phosphodiester, établie entre l'ADN et l'enzyme, est stabilisée par des liaisons hydrogène entre Arg362 et Gly363. D'autres interactions entre l'ADN et la protéine à proximité du site de clivage ont été remarquées.

La poche d'intercalation du topotécan est créée par rotation de la liaison phosphodiester. La formation de cette poche après la réaction de transestérification explique pourquoi les analogues de camptothécine n'interagissent ni avec l'ADN seul ni avec l'enzyme libre.

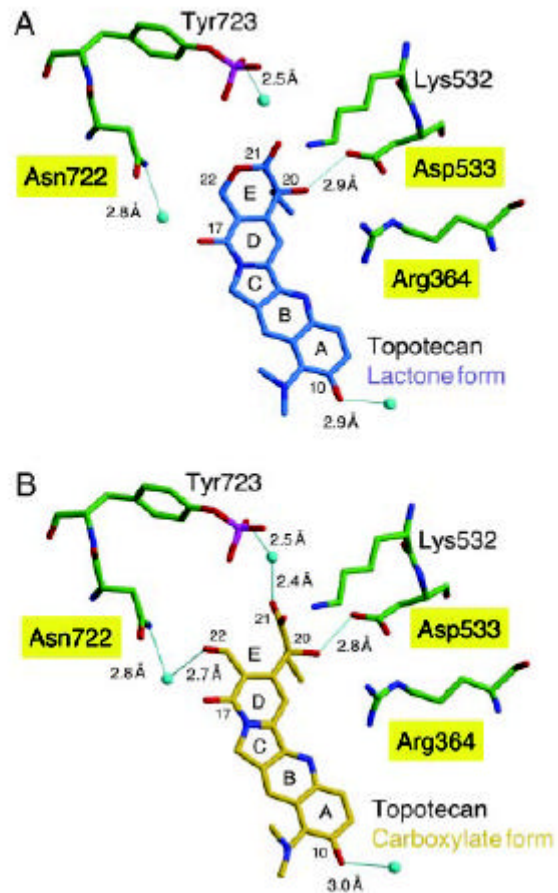
Les figures A et B représentent le complexe ADN-topoI non-lié et lié à TPT. L'enzyme est représentée en vert et l'ADN en jaune. Le diagramme moléculaire C représente les interactions entre l'ADN et la topoisomérase I quand TPT n'est pas lié. Le diagramme D montre les interactions entre l'ADN et l'enzyme, d'une part, et entre l'ADN et TPT dans le complexe ternaire, d'autre part. Les résidus de l'enzyme, dont une mutation conduit à une résistance aux CPT, sont surlignés en jaune. Enfin, le schéma E représente le duplex d'ADN en absence de TPT (en jaune) et en présence de TPT (en bleu) (Staker et al., 2002).



2) Interaction de TPT avec l'enzyme:

L'étude par diffraction de rayons X n'a mis en évidence qu'une seule liaison hydrogène entre TPT et la protéine : Asp533 interagit par liaison hydrogène avec l'hydroxyle en position 20 dans le cas de la forme lactone et de la forme ouverte. Dans la forme ouverte, deux liaisons hydrogène sont formées avec Asn722 et Tyr723 par l'intermédiaire de molécules d'eau.

TPT dans sa forme lactonique est représentée en bleu alors que la forme ouverte est représentée en jaune. Les liaisons hydrogène proposées sont représentées en cyan. Les résidus de l'enzyme, dont une mutation conduit à une résistance aux CPT, sont surlignés en jaune. Les atomes d'oxygène des molécules d'eau impliquées dans les liaisons hydrogène sont représentés en cyan (Staker et al., 2002).



3) Comparaison avec les relations structure-activité établies:

Le modèle montre que les positions 7, 9 et 10 font face au grand sillon de l'ADN et que des modifications qui améliorent la solubilité ou l'activité n'interfèrent pas de manière stérique avec l'ADN.

L'étude de la structure cristalline révèle que l'hydroxyle en position 20 de l'énantiomère R, réputé inactif n'est, dans ce cas, plus capable d'établir la liaison hydrogène avec Asp533 et que d'autre part, le groupement éthyle crée une incompatibilité stérique avec Asp533 et Lys532.

Le remplacement de l'hydroxyle en position 20 par un chlore ou un brome conserve en partie l'activité car cette modulation permet l'ouverture du cycle E et ainsi la formation des liaisons hydrogène médiées par l'eau.

L'inactivité *in vitro* du composé comportant une fonction lactame dans le cycle E est expliquée par le fait que l'ouverture du cycle E est essentielle pour l'activité et que le remplacement de l'oxygène 22 par un groupement NH inhibe cette réactivité.

L'étude du complexe ternaire formé avec hCPT révèle que la poche d'intercalation du composé est suffisamment grande pour permettre l'insertion de ce composé et que la liaison

hydrogène entre l'hydroxyle et Asp533 est maintenue. D'autre part, bien que l'hydrolyse du cycle lactonique soit plus lente pour hCPT, on observe à l'équilibre un ratio plus important en faveur de la forme carboxylate que dans le cas des CPT.

VI. Quelques dérivés de la camptothécine et études cliniques (Uluka et Swaan, 2002 ; Kim et Lee, 2002 ; Kehrer et al., 2001; Lavergne et Bigg, 1998).

Certaines études ont montré que le niveau d'expression de la topoisomérase I et son activité catalytique étaient plus marqués dans les cancers colorectaux, de la prostate et dans les neuroblastomes immatures que dans les tissus sains correspondants (Kim et Lee, 2002). Ceci conduit à une chimiothérapie rationnelle pour ces types de tumeurs par des composés à action dirigée sur la topoisomérase I (Adams et al., 2000).

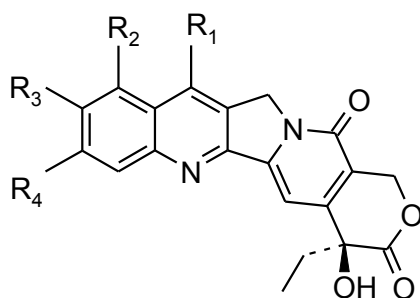
La plupart des nouveaux analogues de la camptothécine ont été développés pour optimiser l'interaction avec l'ADN ou avec la topoisomérase I ou avec les deux afin d'obtenir des composés plus stables et qui produisent des dommages persistants à l'ADN.

Plusieurs stratégies sont utilisées pour moduler la biodisponibilité de cette classe d'agents, essentiellement pour augmenter l'activité antitumorale et/ou pour réduire les effets secondaires. Trois principales approches sont abordées :

- modulation pharmaceutique du vecteur de formulation, altération structurale et recherche de prodrugs plus hydrosolubles
- modulation des voies d'administration et des durées de perfusion
- biomodulation pharmacodynamique et pharmacocinétique.

1) La camptothécine:

Une étude clinique de phase I a été menée récemment sur la camptothécine (dans sa forme fermée). L'administration de la camptothécine se fait soit seule, soit en association avec l'étoposide de manière intramusculaire ou per os. L'étude a alors montré une régression des tumeurs solides du sein, du colon et de l'estomac (Platzer et al., 2000).



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Topotécan	H	-CH ₂ -N(CH ₃) ₂	OH	H
Irinotécan	-CH ₂ -CH ₃	H		H
SN-38	-CH ₂ -CH ₃	H	OH	H
CMMDC	CH ₂ Cl	H	-O-CH ₂ -CH ₂ -O-	H
MDC	H	H	-O-CH ₂ -CH ₂ -O-	H
BNP1350 ou Karénitécine		H	H	H
9-NC ou Rubitécan	H	NO ₂	H	H
9-AC	H	NH ₂	H	H
LRT ou GG211	-CH ₂ -	H	-O-CH ₂ -CH ₂ -O-	H
DX-8951f ou Mésylate d'exatécan		H	CH ₃	F

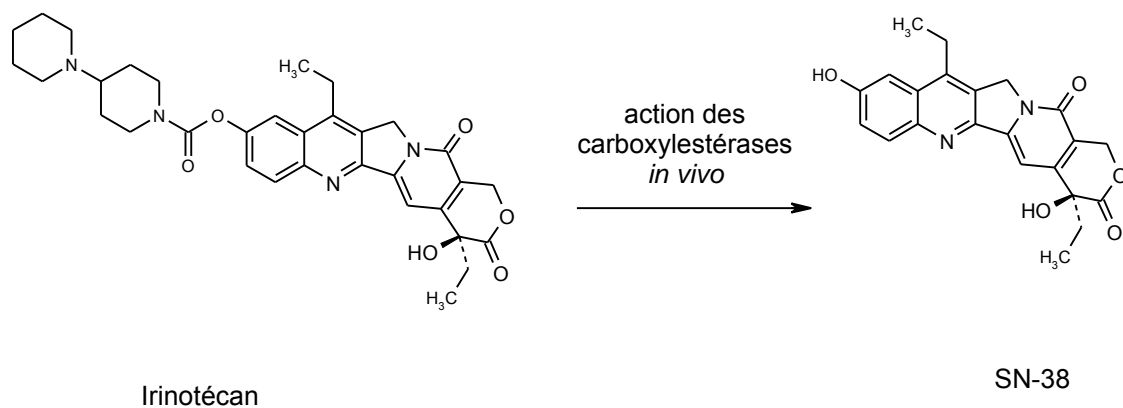
2) L'irinotécan (Kuminoto et al., 1987; Santos et al., 2000):

L'irinotécan (CPT-11) est un dérivé héli-synthétique de la camptothécine soluble dans l'eau. A la différence de la plupart des autres analogues de CPT, CPT-11 est une prodrug avec une très faible activité antitumorale. Pour former le métabolite actif SN-38 qui est 100 à 1000 fois plus actif, CPT-11 doit être hydrolysé par une carboxylestérase. SN-38 peut à son tour être métabolisé par l'UDP-glucuronyltransférase pour former un dérivé β -glucuronidé inactif.

CPT-11 est commercialisé sous le nom de Campto®. Il est utilisé dans le traitement de deuxième intention du cancer colorectal réfractaire au 5-fluorouracile (Rougier et Bugat, 1996). Il est désormais utilisé en première intention pour le traitement de carcinomes colorectaux avancés. L'irinotécan est également en étude clinique pour le traitement du cancer de la prostate (Reese et al., 1998).

CPT-11 a montré une forte activité antitumorale pour un large spectre de tumeurs solides humaines xéno greffées sur des souris, incluant des tumeurs de l'enfant. CPT-11 est également actif dans le traitement des cancers du côlon et du poumon.

Sa toxicité dose-limitante est la myélosuppression et des diarrhées sévères qui surviennent quel que soit le mode d'administration. La diarrhée provoquée par l'irinotécan est principalement due à son action cholinergique. Il semble que le groupement 10-(pipéridino-(1-pipéridino)) soit à l'origine de l'inhibition de l'acétylcholinestérase. Cet effet secondaire est d'autant plus défavorable qu'il est résistant aux traitements conventionnels des troubles gastro-intestinaux.



3) Le topotécan (Slichenmeyer et Von Hoff, 1990):

Le topotécan (TPT) est un dérivé hydrosoluble de la camptothécine. Il est commercialisé sous le nom d'Hycamtin®. Il est utilisé dans le traitement du cancer de l'ovaire. Sa toxicité dose-limitante est la myélosuppression qui commence par une neutropénie. Dans le cas d'exposition continue, la thrombocytopenie est très prononcée. Le topotécan en association avec le paclitaxel, l'étoposide, le cisplatine, ou la cytarabine est actuellement en développement clinique (Uluka et Swaan, 2002).

4) La 9-aminocamptothécine (9-AC) (Supko et Malspeis, 1993):

9-AC (encore appelée IDEC-132) est un dérivé semi-synthétique de la camptothécine qui a montré une activité préclinique remarquable pour un large spectre de tumeurs, incluant les tumeurs du sein, du côlon, du poumon, de la prostate et les mélanomes.

La toxicité dose-limitante est la neutropénie. De nombreuses études de phase II ont eu lieu et il semble que 9-AC ne présente qu'une faible activité lorsqu'elle est administrée seule. Il a été suggéré que le manque d'activité clinique pouvait être dû à un mauvais ratio lactone/acide-alcool chez les patients.

5) Silatécans:

Une nouvelle série de camptothécines, les 7-silylcamptothécines ou silatécans, a été synthétisée et a montré une inhibition puissante de la topoisomérase I, une stabilité sanguine considérablement accrue et une lipophilie suffisante pour franchir la barrière hématoencéphalique. Des premières études sur des souris montrent que les silatécans peuvent être prometteurs dans le traitement des gliomes (Bom et al., 2000).

BNP1350 ou (7-[(2-triméthylsilyl)éthyl]-20S-camptothécine, aussi nommé karénitécine, (Van Hattum et al., 2000) montre une bonne hydrosolubilité et une toxicité diminuée sans affecter l'activité antitumorale. Il montre une forte biodisponibilité orale. Son profil d'efficacité sur des tumeurs humaines expérimentales est large. Ce composé est actuellement en étude clinique (phase II). Sa toxicité dose-limitante est la neutropénie et la thrombocytopenie.

6) CPT hexacycliques (Sugimori et al., 1994):

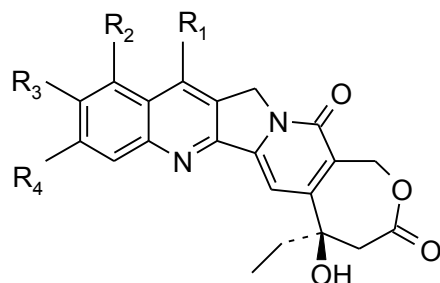
Deux analogues hexacycliques de camptothécine sont en cours de test.

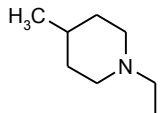
Le premier, le lurtotécan (ou GI47211 ou GG211) est un dérivé hydrosoluble, obtenu par synthèse totale. Cet agent a été étudié en phase clinique I et II. La toxicité dose-limitante est la myélosuppression (Emerson et al., 1995). Le lurtotécan a montré une activité faible à modérée dans les essais cliniques. A cause de sa faible biodisponibilité orale (<10%), des méthodes d'administration alternatives sont envisagées avec une formulation liposomale.

Le deuxième, le DX-8951f ou mésylate d'exatécan, est un nouvel analogue hydrosoluble. DX-8951f montre une activité antitumorale supérieure et élargie par rapport aux autres analogues testés de la camptothécine. Sa cytotoxicité s'exerce également sur des lignées tumorales résistantes au SN-38. La neutropénie est la toxicité la plus fréquente. Il est actuellement en essais de phase II dans un grand nombre de maladies telles que le cancer pulmonaire non à petites cellules, le cancer pancréatique, le cancer de l'ovaire et les cancers colorectaux.

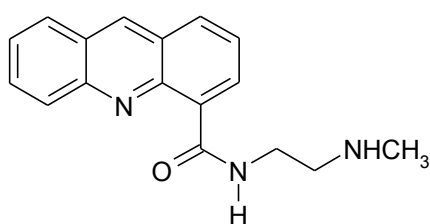
7) Les homocamptothécines :

BN 80915 est l'un des analogues les plus prometteurs; il est récemment entré en phase I clinique par voie orale et par voie parentérale sous le nom de diflomotécan (Larsen et al., 2001).

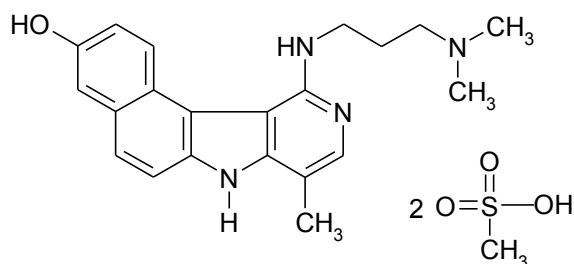


	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
hCPT	H	H	H	H
BN80915	H	H	F	F
BN80927		H	CH ₃	Cl

BN 80927 est un nouveau dérivé de hCPT qui inhibe la topoisomérase I et la topoisomérase II. Cette double activité déjà observée pour le DACA ou l'intoplicine est complètement inattendue pour un dérivé de la camptothécine (Lavergne et al., 1999). Son efficacité a été démontrée sur des tumeurs humaines xénogreffées. Certaines tumeurs résistantes aux analogues de CPT n'ont pas montré de résistance croisée, ce qui peut être expliqué par la dualité de son mécanisme d'action. Ces premiers tests cliniques se sont révélés très encourageants pour le développement de ce composé.



DACA



Intoplicine

8) Prodrug:

Un des agents les plus étudiés de cette classe est la 9-nitrocamptothécine (9-NC) ou rubitécane qui agit comme une prodrug partielle de la 9-AC mais est fortement insoluble dans l'eau. Toutes les cellules humaines sont capables de convertir 9-NC en 9-AC. Des premiers essais cliniques de phase II, par voie orale, ont montré un potentiel intéressant pour 9-NC sur les tumeurs pancréatiques et il est récemment entré en phase III pour cette indication (Kim et Lee, 2002). Il est également testé en clinique sur le cancer de l'ovaire, du sein, du poumon, le cancer colorectal et sur les mélanomes. Une formulation liposomale est à l'étude. Sa toxicité limitante est la myélosuppression (Pantazi et al., 1993).

Les CPT estérifiées sur l'hydroxyle en position 20 sont des composés inactifs qui doivent être convertis en leur métabolite actif CPT. Divers esters tels que acétate, propionate, butyrate ont été synthétisés mais ils sont moins actifs que CPT (Han et al., 1999). Les esters de CPT s'hydrolysent lentement. Ceci permet de les administrer à plus forte dose et moins souvent. La cinétique limitante de l'hydrolyse permet de prévenir l'accumulation de la forme acide-alcool et libère CPT de manière lente.

D'autres essais tels que la liaison à un polymère ont été réalisés. Ces prodrugs de haut poids moléculaire peuvent conduire à une réduction de la toxicité systémique et augmenter le temps de rétention avec une amélioration de l'efficacité thérapeutique potentielle. Deux molécules MAG-CPT et PEG-CPT ont été testées en clinique (phase I) (Zhao et al., 2000; Kehrer et al., 2001).

MAG-CPT est formée par une liaison covalente entre CPT et un polymère soluble [N-(2-hydroxypropyl)méthacrylamide (HMPA)] avec un bras espaceur glycylo-aminohexanoyle-glycyle.

La seconde est formée d'une macromolécule dérivée de la conjugaison de polyéthylène glycol, modifié chimiquement, avec la camptothécine. Un bon nombre d'études précliniques ont montré une stabilisation de MAG-CPT et PEG-CPT. Le relargage de CPT est lent et constant, ce qui prolonge la rétention du médicament dans les tumeurs expérimentales. Récemment, les premiers résultats de phase I ont montré des temps d'existence prolongée du principe actif en comparaison avec l'administration des substances libres.

Les synthèses totales des dérivés décrits dans ce chapitre ont rarement moins de 10 étapes, ce qui pose le problème de leur compétitivité économique face aux composés obtenus par hémisynthèse. En revanche, elles ont l'avantage de permettre l'accès à des dérivés présentant une grande diversité structurale. Les travaux récents concernent surtout de nouveaux substituants destinés à améliorer l'hydrosolubilité et/ou l'activité, mais d'autres concepts sont apparus, tendant

à rendre irréversible la stabilisation du complexe clivé, ou à améliorer la durée de vie plasmatique du principe actif sous sa forme lactonique.

Conclusion :

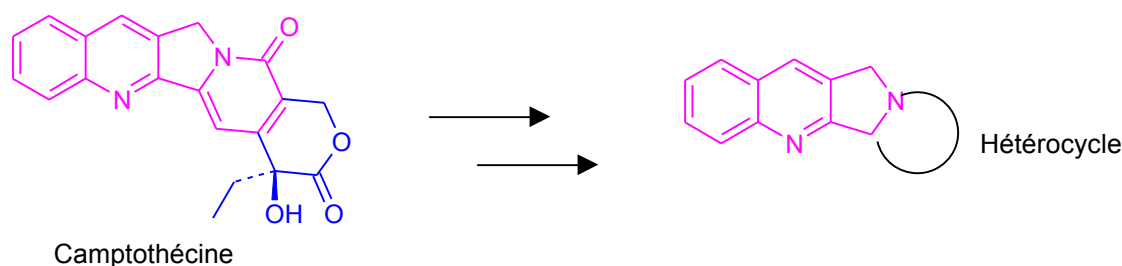
Les camptothécines sont les composés anticancéreux les plus prometteurs qui ont été développés ces dernières années. TPT et CPT-11 sont maintenant enregistrés pour le traitement des cancers de l'ovaire et du côlon, respectivement. Le mécanisme d'action ayant pour unique cible la topoisomérase I et leur efficacité sur un large spectre de tumeurs sont des atouts pour leur développement clinique. Avec la connaissance grandissante de la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de ces analogues, de la faible hydrosolubilité et l'interconversion pH-dépendante de la forme lactone ainsi que des relations structure-activité, de nombreuses molécules avec une activité antitumorale accrue et une toxicité réduite devraient voir le jour. L'optimisation des dosages, des voies d'administration et des combinaisons thérapeutiques conduiront à de nombreuses études dans les différents types tumoraux.

**CONCEPTION DE
PYRROLO[3,4-*b*]QUINOLEINES**

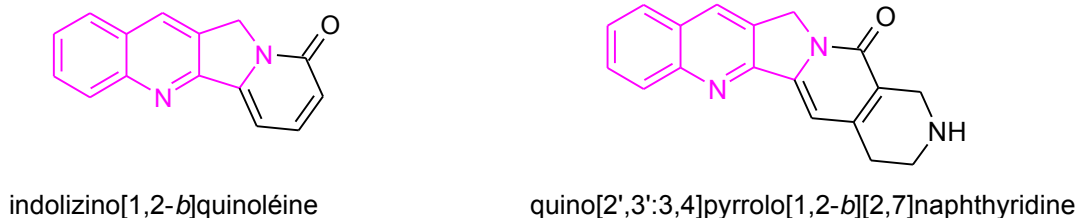
A. Le choix du squelette.

La plupart des études de drug design dans la série des camptothécines se sont orientées vers la conception et la synthèse d'inhibiteurs plus puissants de la topoisomérase I. Nous avons eu une approche différente qui a consisté à supprimer le cycle lactonique, qui interagit essentiellement si ce n'est exclusivement avec l'enzyme, quitte à perdre l'activité anti-topoisomérase I, et à moduler le squelette de CPT afin d'améliorer l'interaction avec l'ADN.

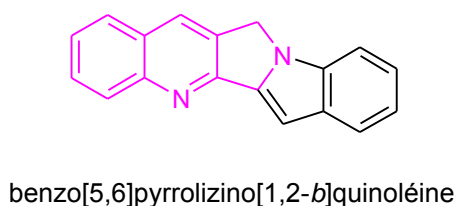
Pour ce faire, nous avons conservé le motif pyrrolo[3,4-*b*]quinoléinique quasi plan et nous avons modifié la partie droite de la molécule par l'ajout de divers hétérocycles afin de déterminer la structure la plus affine pour l'ADN.



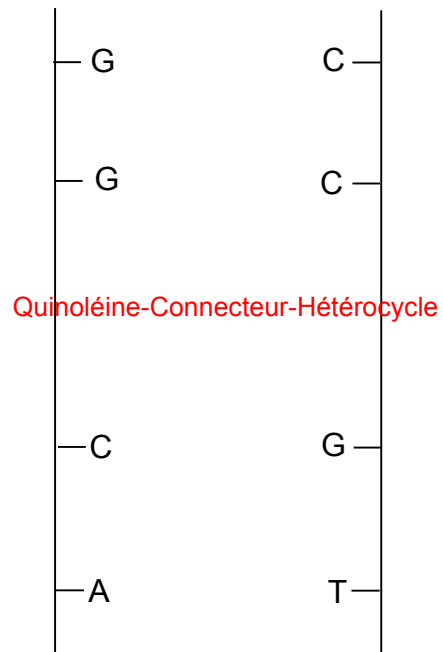
Dans un premier temps, nous avons choisi de travailler sur des indolizino[1,2-*b*]quinoléines, tétracycle constitutif de la camptothécine. Puis nous avons adjoint à cette structure hétérocyclique un cycle supplémentaire pour créer des quino[2',3':3,4]pyrrolo[1,2-*b*][2,7]naphthyridines. Ces deux types de structure possèdent une forme générale en croissant comme CPT.



Les molécules intercalantes de l'ADN ayant généralement une structure polycyclique linéaire, nous avons envisagé la synthèse de benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-*b*]quinoléines. La juxtaposition de deux cycles à 5 chaînons permet de rendre la structure plus linéaire.

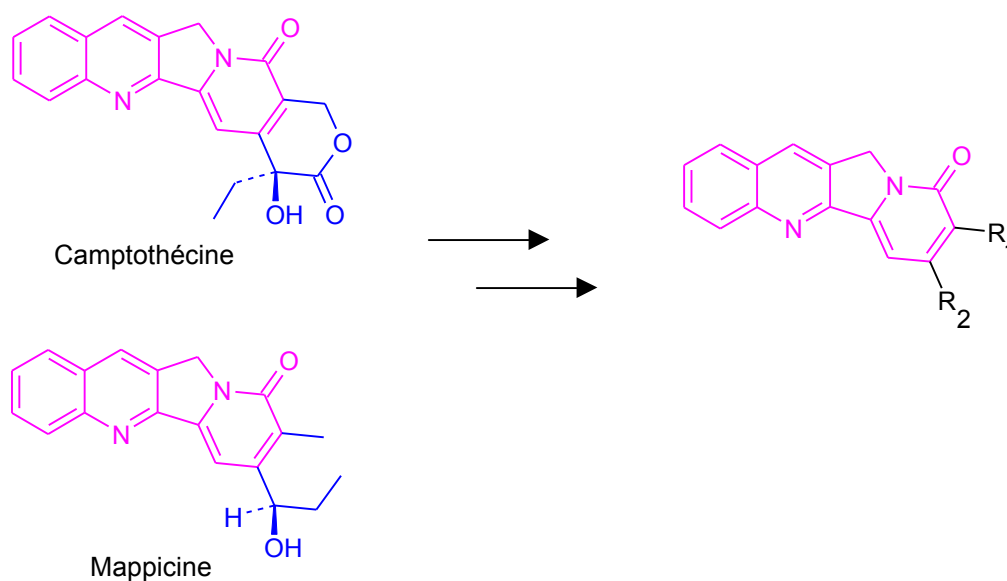


L'ensemble de ces structures condensées peut être schématisé de la façon suivante : un système bicyclique plan et aromatique (la quinoléine) qui peut interagir par stacking avec une base de l'ADN, un connecteur à 5 sommets (le cycle pyrrolidine) et enfin un autre hétérocycle qui peut interagir avec la base complémentaire.



B. Conception des indolizino[1,2-*b*]quinoléines.

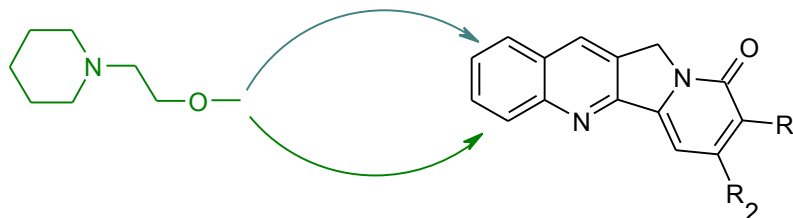
Le tétracycle indolizino[1,2-*b*]quinoléinique est quasi plan et aromatique, caractéristiques nécessaires pour s'intercaler entre les bases de l'ADN. D'autre part, cet hétérocycle est peu fréquent : il est présent dans la série des camptothécines et dans les analogues de mappicine, molécule d'origine naturelle issue de *Mapia foetida* Miers, connue pour ses propriétés anti-virales sur HSV-1 et HSV-2, virus de l'herpès et sur les souches humaines de cytomégalovirus (Comins et Saha, 1996 ; Govindachari et al., 1974).



Ce squelette permet également de conserver le cycle pyridone mis en jeu dans l'interaction entre CPT et l'ADN ainsi que la quinoléine qui interagit par stacking avec les bases de l'ADN.

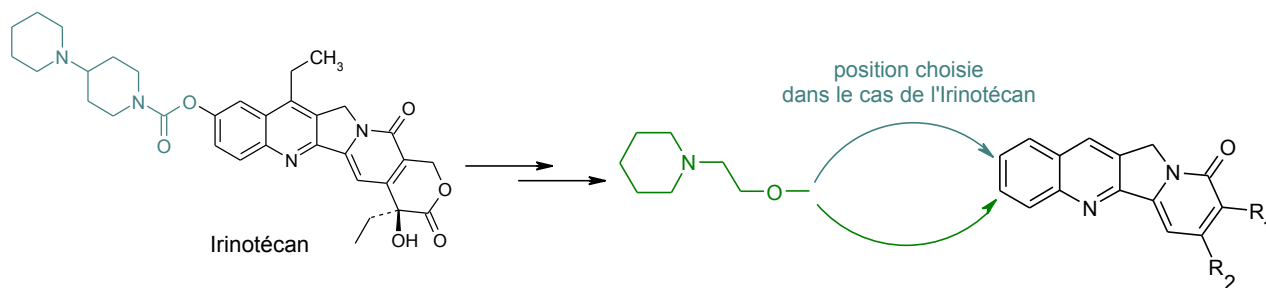
I. L'insertion d'une chaîne latérale sur le cycle A.

Cette structure polycyclique aromatique est peu soluble dans les milieux aqueux. Nous avons donc décidé d'introduire une chaîne portant un atome d'azote salifiable.



Cet atome d'azote, capable de se protoner, peut également permettre une interaction par liaison ionique avec les phosphates de l'ADN.

Cette chaîne est introduite en position 2, choisie dans le cas de l'irinotécan, ou en position 3, position généralement moins favorable mais où la tolérance stérique n'est pas limitée.



Elle est introduite par une liaison étheroxyde qui présente l'avantage d'être peu fragile d'un point de vue chimique et qui n'est pas dégradée par les principaux systèmes enzymatiques.

La pipéridine a également été choisie en fonction de travaux antérieurs du laboratoire (Malecki, 2001) qui avaient montré les bons résultats obtenus avec cette amine et par le fait que l'amine choisie dans le cas de l'irinotécan est une bis-pipéridine.

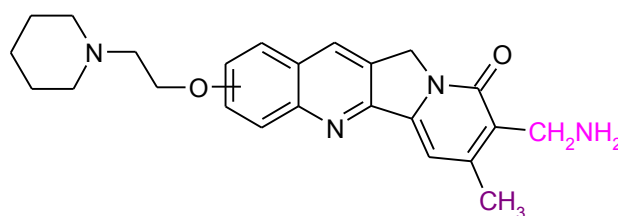
Enfin, nous avons conservé un squelette dénué de chaîne afin de vérifier qu'elle n'est pas défavorable à l'activité.

II. Le choix des fonctions portées sur le cycle pyridone.

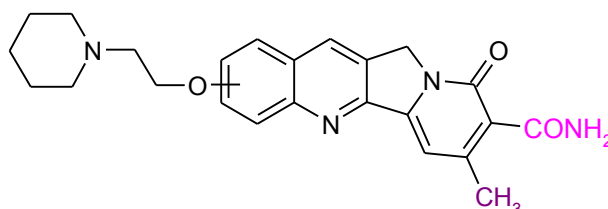
1. Fonction portée en position 8.

Afin d'améliorer l'interaction avec l'ADN et éventuellement de restituer une partie de l'activité inhibitrice sur la topoisomérase I, nous avons envisagé l'introduction de diverses fonctions sur le cycle pyridone. Le groupement méthyle porté en position 7 sera évoqué par la suite.

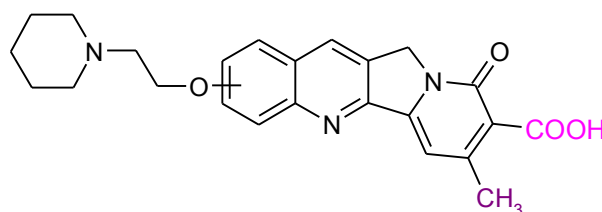
Nous avons tout d'abord choisi une fonction amine primaire qui permet d'interagir par liaison hydrogène avec les bases de l'ADN ou par liaison électrostatique avec les phosphates de l'ADN. Cette fonction permet également de faire des études de cross-link (le principe de cette méthode est expliqué dans la partie Résultats Pharmacologiques) avec le formaldéhyde afin de mettre en évidence la nature de l'interaction de ces composés avec l'ADN.



Puis nous avons introduit une fonction amide capable d'interagir par liaison hydrogène avec les bases de l'ADN.

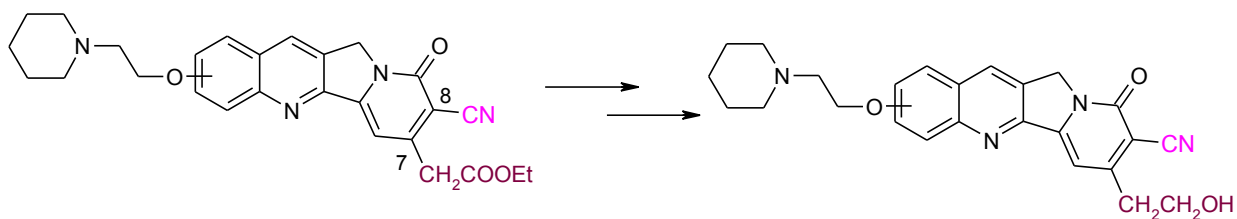


Nous avons également synthétisé des molécules possédant une fonction acide carboxylique, groupement donneur et accepteur de liaison hydrogène et qui peut également interagir de manière électrostatique avec les bases de l'ADN.



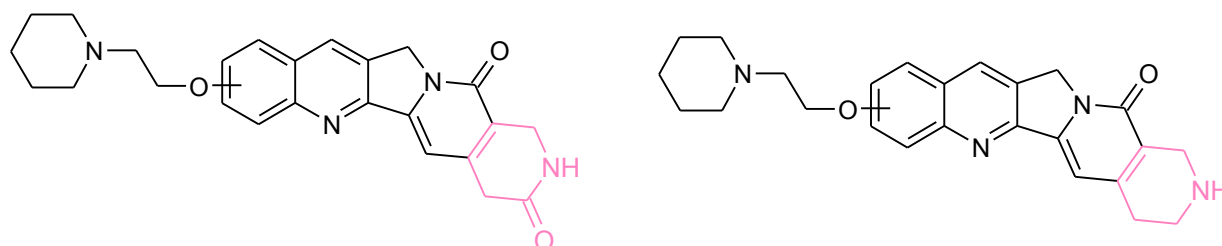
2. Fonction portée en position 7.

Le groupement méthyle porté en position 7 rend possible l'insertion d'une fonction ester qui pourra permettre une cyclisation sur la position 8 ou être réduite en alcool. L'insertion de cette fonction alcool devrait permettre de mimer l'hydroxyle porté en position 20 par la camptothécine.



C. Conception des quinopyrrolonaphthyridines.

La cyclisation entre les positions 7 et 8 étudiées précédemment permet d'obtenir un squelette pentacyclique de type quino[2',3':3,4]pyrro[1,2-*b*][2,7]naphthyridine. Cet hétérocycle forme un croissant comme CPT. Nous avons imaginé l'ajout d'un cycle supplémentaire possédant une fonction lactame d'une part, et d'autre part, une fonction amine cyclique.

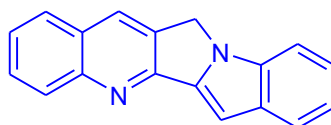


L'hétérocycle comportant une fonction lactame possède un 5^{ème} cycle condensé assez proche de celui de CPT, même si le remplacement de la fonction α -hydrocylactone de la camptothécine par une fonction α -hydrocylactame entraîne une perte d'activité anti-topoisomérase I. Nous avons montré dans la partie introductive que de faibles modifications de la structure α -hydrocylactone entraînaient une perte d'activité sur l'enzyme. Cependant, la fonctionnalité lactame reste assez proche de celle d'une lactone. Ce cycle permet également de former des liaisons hydrogène avec l'ADN.

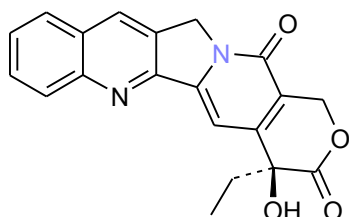
Nous avons également envisagé une cyclisation à 6 chaînons avec une fonction amine secondaire. Ce composé est un analogue contraint du composé possédant une fonction amine primaire et un groupement méthyle (page 53). La fonction amine devrait permettre une interaction ionique ou par liaison hydrogène avec l'ADN.

D. Conception des benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-*b*]quinoléines.

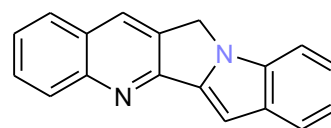
Nous avons ensuite imaginé la synthèse de composés, ligands potentiels de l'ADN, possédant un squelette original. Nous avons choisi de travailler sur des benzopyrrolizinoquinoléines. Cet hétérocycle est quasi plan et aromatique, caractéristiques nécessaires pour s'intercaler entre les bases de l'ADN. D'autre part, ce squelette pentacyclique n'a jamais été décrit, ce qui laisse supposer une chimie novatrice. Enfin, si les tests biologiques montrent une bonne affinité de ce squelette pour l'ADN, nous pouvons espérer, grâce à diverses pharmacomodulations, synthétiser un bon ligand de l'ADN.



Ce squelette possède un cœur quinoléinique condensé avec une pyrrolidine dont l'atome d'azote est placé dans la même position que pour la camptothécine.



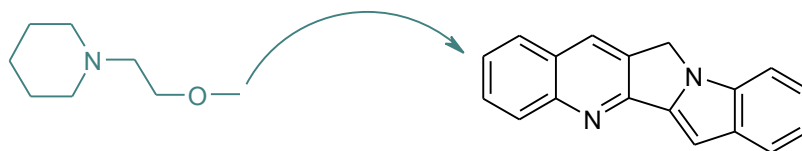
CPT



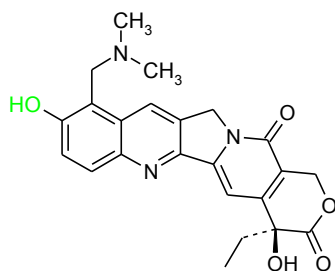
La différence entre les deux séries de composés synthétisés est le remplacement du noyau indolizinique par un noyau indolique. Ce squelette est plus linéaire que le précédent, qui est en croissant, ce qui laisse supposer une meilleure intercalation entre les bases d'ADN.

I. Le choix de la chaîne latérale portée par la quinoléine.

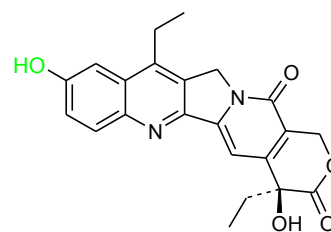
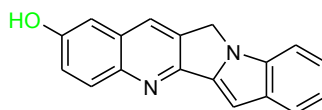
Pour les mêmes raisons que celles invoquées dans la série précédente, nous avons inséré une chaîne hydrosolubilisante sur le cycle quinoléinique en position 2.



Nous avons également travaillé sur des analogues possédant une fonction phénol sur le cycle quinoléinique. Nous rappelons que cette fonction a été choisie dans le cas de l'irinotécan (métabolisé en SN-38) et du topotécan afin d'améliorer l'activité.



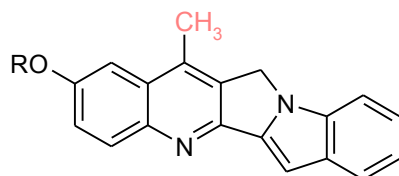
Topotécan



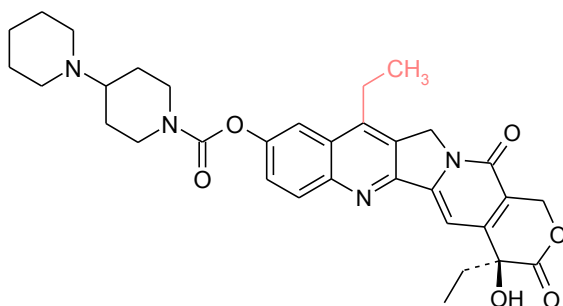
SN-38

II. Choix des substituants en position 13.

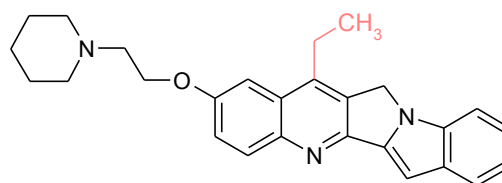
Afin de renforcer l'activité des molécules synthétisées, nous avons envisagé l'introduction d'un groupement méthyle ou éthyle sur le cycle quinoléinique. Le groupement méthyle présente un encombrement stérique minimum alors que le groupement éthyle est le substituant activant de l'irinotécan.



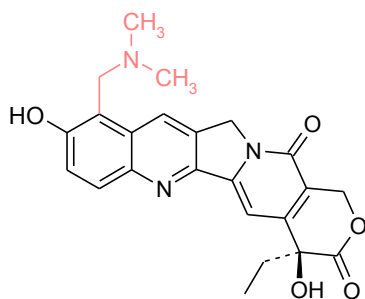
R = H ou
(CH₂)₂-pipéridine



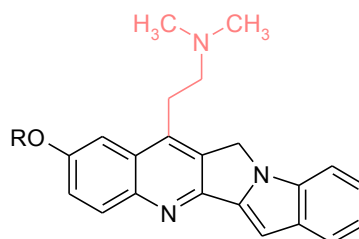
Irinotécan



Enfin, nous avons imaginé l'insertion d'un groupement diméthylamino. Ce groupement est le groupement hydrosolubilisant utilisé dans le cas du topotécan. Il devrait conférer à nos composés une hydrosolubilité accrue. Afin de pouvoir étudier les relations structure-activité avec les composés proposés précédemment, nous avons choisi d'introduire ce groupement en position 12 plutôt qu'en position 1. Ce groupement pourra également interagir par liaison hydrogène ou ionique avec l'ADN.



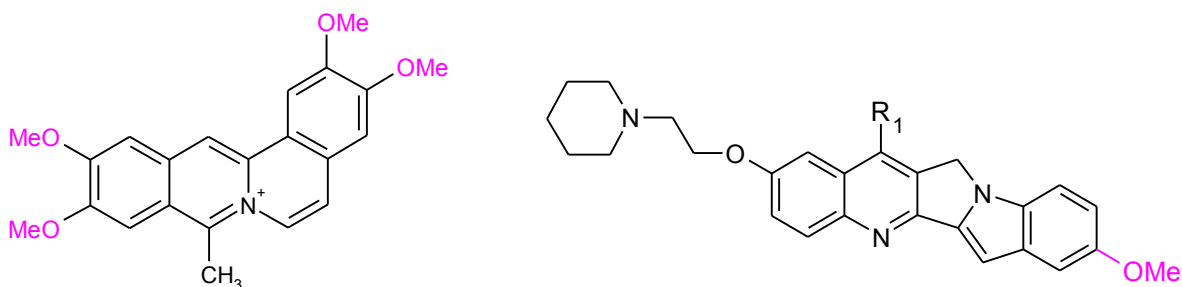
Topotécan



R = H ou
(CH₂)₂-pipéridine

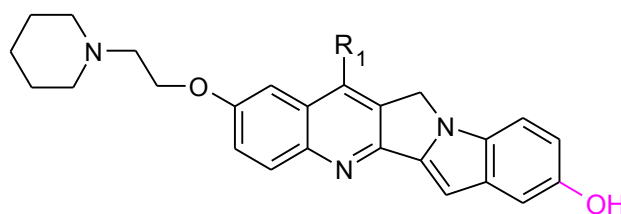
III. Choix des fonctions introduites en position 7.

Diverses fonctions seront introduites en position 7. Nous avons tout d'abord choisi un groupement éther méthylique, groupement présent dans de nombreuses substances anti-tumorales. En effet, des groupements *o*-diméthoxy sont retrouvés fréquemment, notamment dans le cas des protoberbérines (par exemple la coralyne, inhibiteur de topoisomérase I).

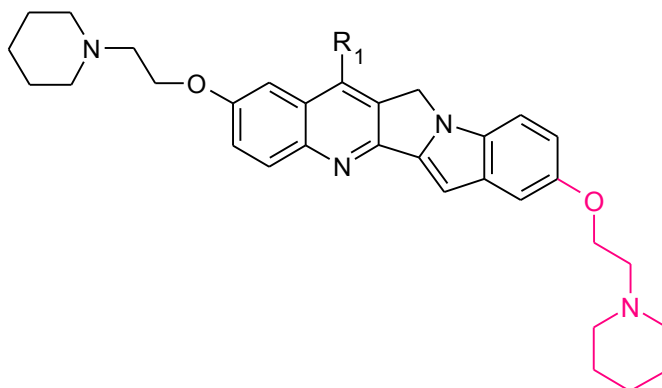


Coralyne

Nous avons ensuite imaginé l'insertion d'un groupement hydroxyle, groupement donneur et accepteur de liaison hydrogène.

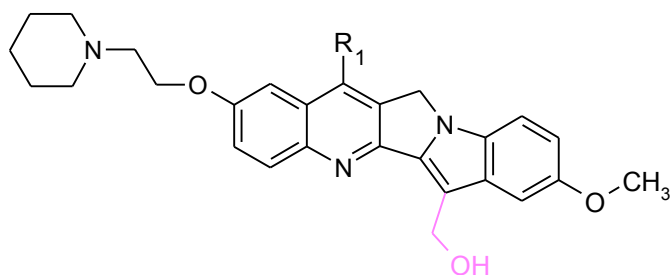


Puis nous avons introduit sur la molécule un deuxième groupement pipéridinoéthoxy, groupement salifiable pour augmenter l'hydrosolubilité de ces composés. Une interaction ionique avec l'ADN est alors possible. En effet, on peut imaginer cette structure comme un noyau plan venant se loger dans la double hélice et les deux bras aminés pourront se refermer sur l'hélice, interagir avec les groupements phosphate et ainsi stabiliser la molécule dans l'ADN. On peut aussi supposer que les deux chaînes pipéridiniques confèrent à cette structure un caractère inhibiteur de télomérase.

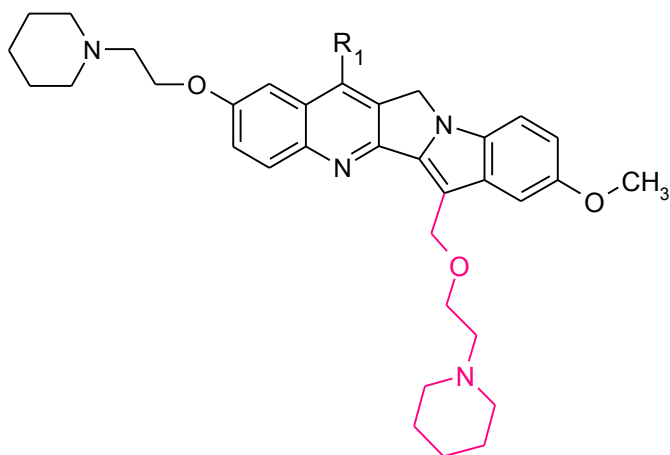


IV. Choix des fonctions en position 9.

Nous avons tout d'abord envisagé l'insertion d'une fonction alcool primaire qui pourra interagir avec l'ADN par liaison hydrogène. D'autre part, cette fonction alcool pourra mimer l'hydroxyle porté sur le carbone 20 de la camptothécine.



Enfin, nous avons introduit sur la molécule un deuxième groupement pipéridinoéthoxy, groupement salifiable qui augmentera l'hydrosolubilité de ces composés et qui pourra positionner la molécule de manière différente par rapport aux plateaux de bases. Une interaction ionique avec l'ADN sera possible. On peut aussi imaginer que les deux chaînes amine confèrent à cette structure un caractère inhibiteur de télomérase.

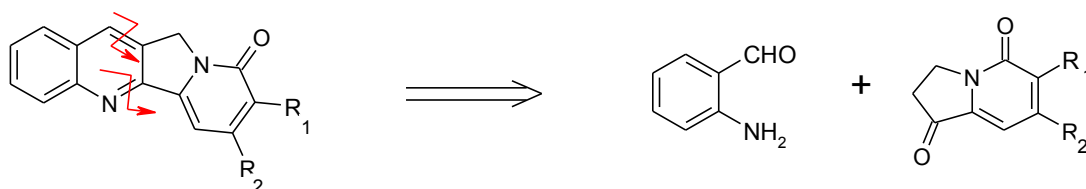


**SYNTHESE DES
INDOLIZINO[1,2-*b*]QUINOLEINES**

I. Stratégie de synthèse.

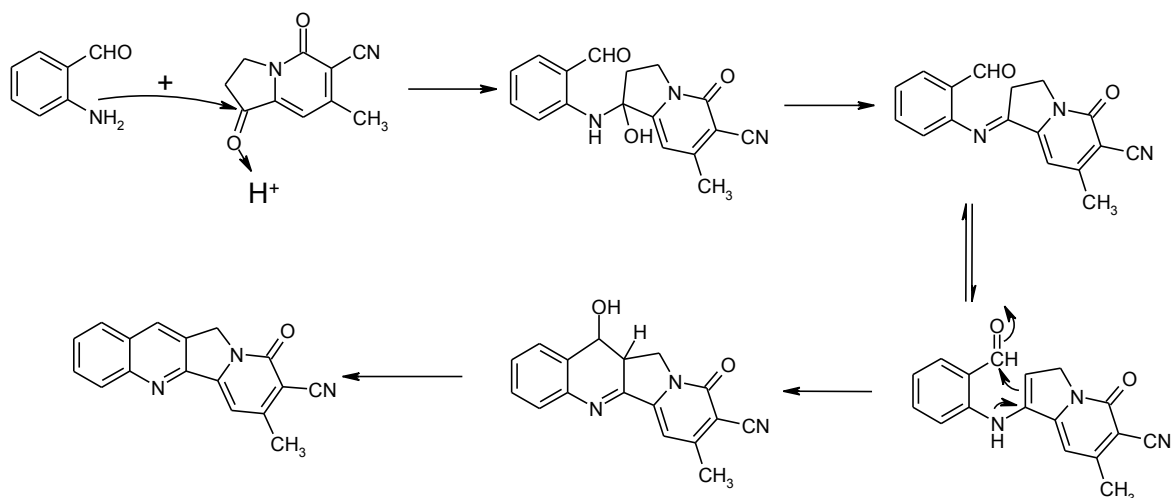
1. Analyse rétrosynthétique:

Nous avons choisi de synthétiser des molécules comportant un squelette indolizino[1,2-*b*]quinoléinique. Pour cela, nous avons mené une analyse rétrosynthétique :



Nous avons envisagé une double déconnexion au niveau de l'hétérocycle de la quinoléine. La voie d'accès choisie pour former le cœur quinoléinique est la réaction de Friedländer. L'*o*-aminobenzaldéhyde et l'indolizine formeront ainsi les tétracycles désirés.

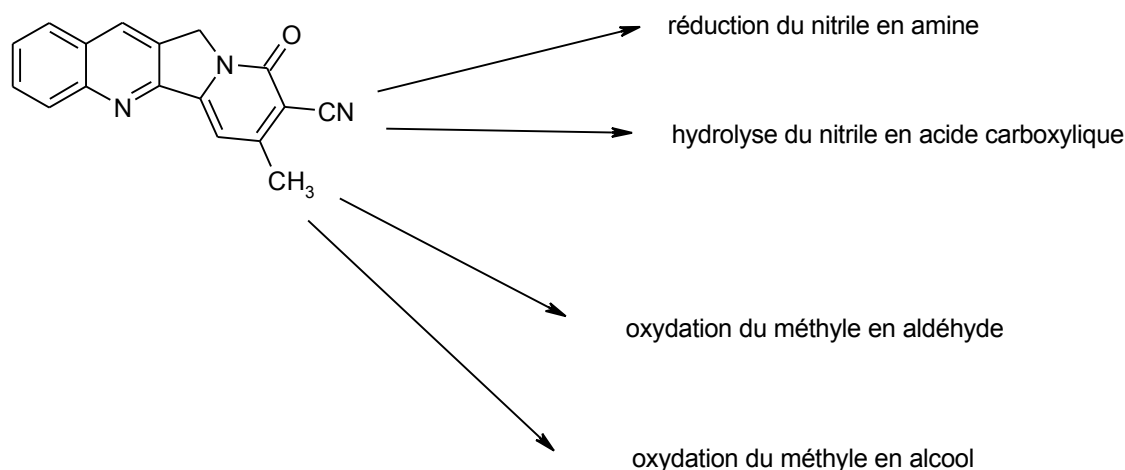
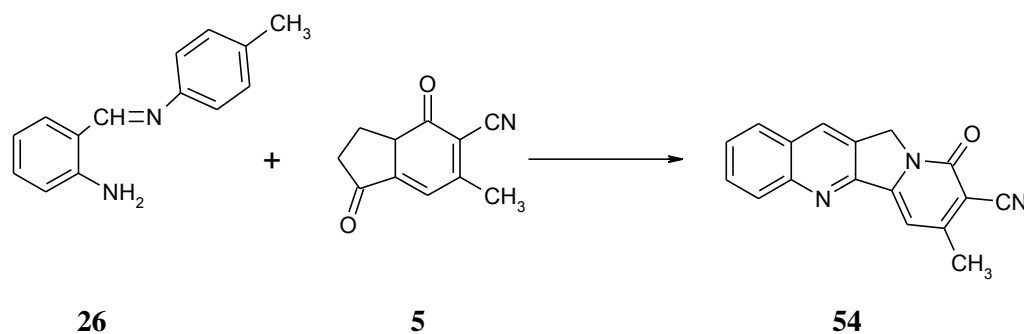
2. Mécanisme de la réaction de Friedländer:



Cette réaction peut être catalysée par les acides ou les bases selon le cas. Des essais en catalyse basique ne nous ont pas permis d'obtenir les tétracycles désirés. Nous avons donc choisi la catalyse acide.

3. Première voie de synthèse envisagée:

Il paraissait judicieux d'établir un schéma de synthèse comportant un grand nombre d'étapes communes. Nous avons donc prévu d'effectuer la réaction de Friedländer utilisant un synthon commun (l'indolizine **5**) pour envisager ensuite la modification chimique des groupements fonctionnels présents sur les tétracycles.



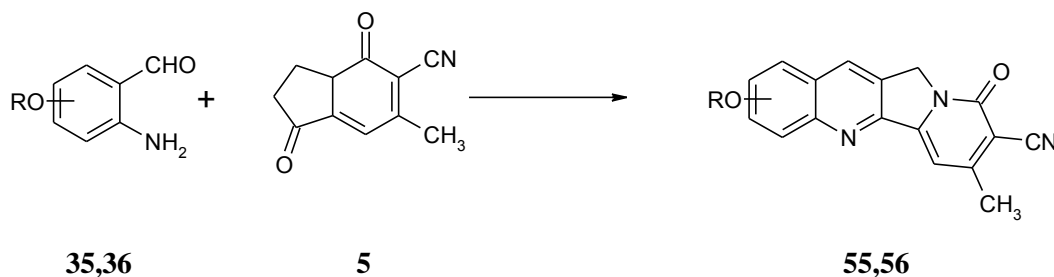
Cependant, les tentatives de modulation effectuées n'ont pas été fructueuses. Le tétracycle obtenu après la réaction de Friedländer est très peu soluble dans la plupart des solvants organiques. Ceci a pour conséquence de limiter les types de réaction envisageables. Par exemple, nous voulions réaliser une bromation radicalaire sur le méthyle porté par la pyridone mais l'insolubilité du tétracycle dans le tétrachlorure de carbone ou dans le dichlorobenzène nous a conduit à abandonner cette voie.

Par ailleurs, la réduction du nitrile en amine, réalisée dans des conditions acylantes (mélange acide acétique/anhydride acétique), n'a pas abouti : nous avons récupéré la totalité du nitrile mis en jeu, malgré la solubilité du produit dans ce mélange et les conditions dures utilisées (100 °C, 48 heures, 60 bars d'hydrogène, nickel de Raney).

Nous avons donc décidé d'augmenter la solubilité du tétracycle en introduisant une chaîne comportant un atome d'azote salifiable sur le cycle quinoléinique afin de pouvoir réaliser d'autres essais dans des solvants usuels.

4. Deuxième voie de synthèse envisagée:

Pour introduire cette chaîne, nous avons étudié la synthèse d'*o*-aminobenzaldéhydes substitués en position 4 ou 5 par une fonction étheroxyde avant de réaliser la réaction de Friedländer.



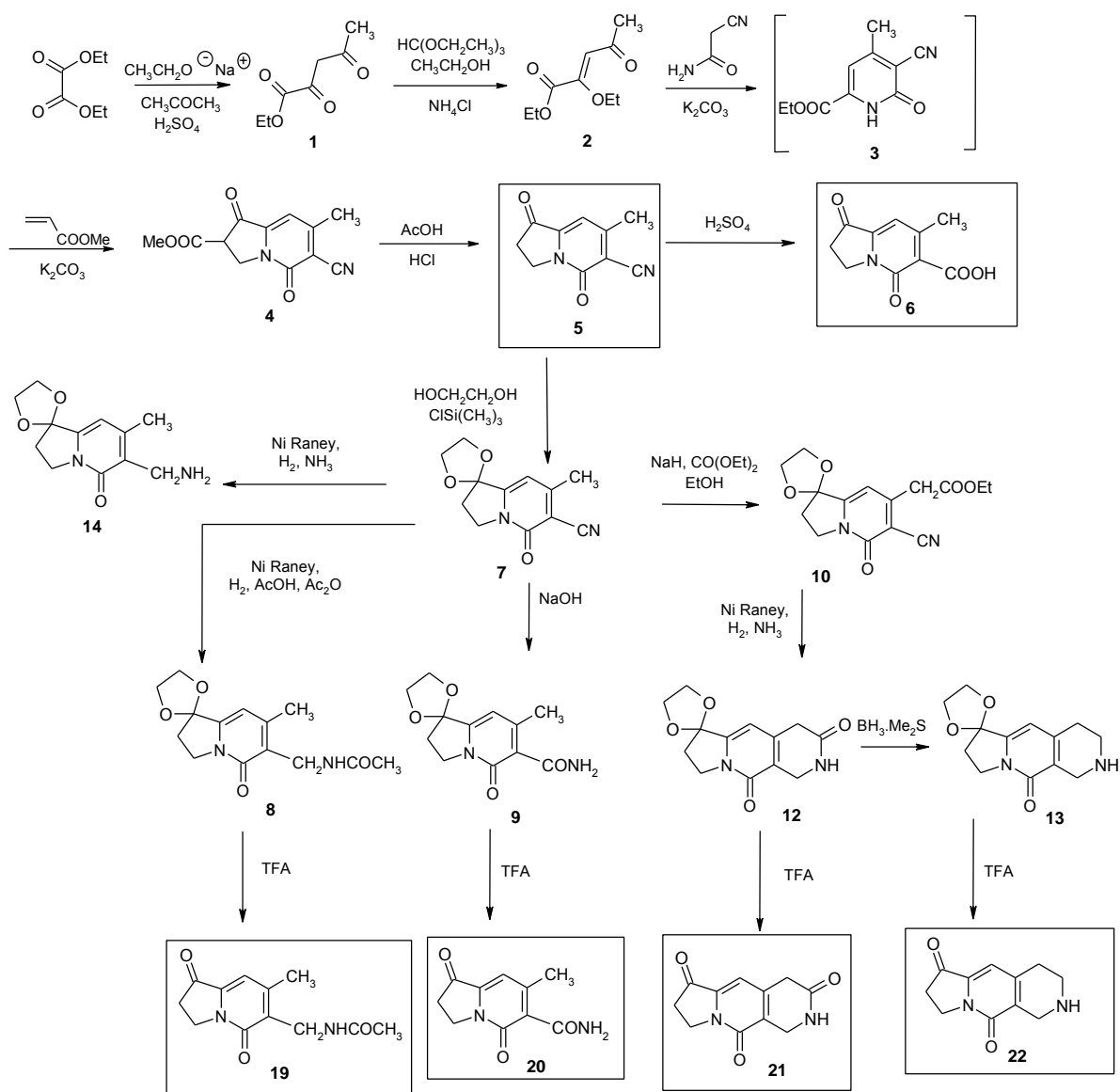
Malgré l'ajout de cette chaîne et une solubilité accrue dans l'eau et dans les alcools, les tentatives de modulation n'ont pas abouti.

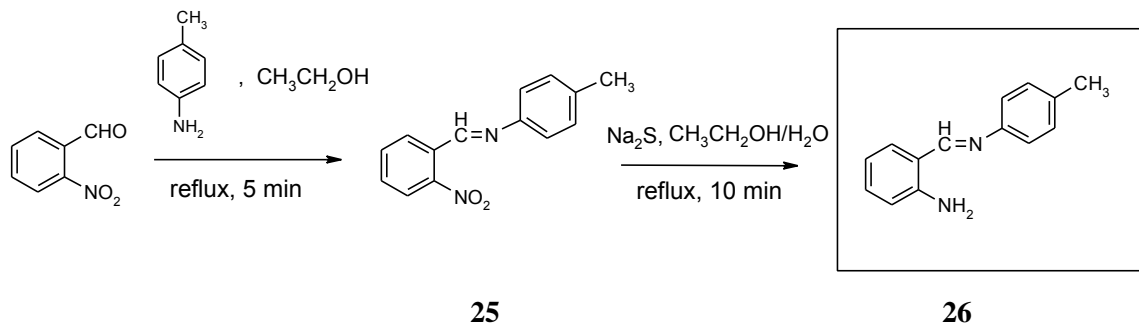
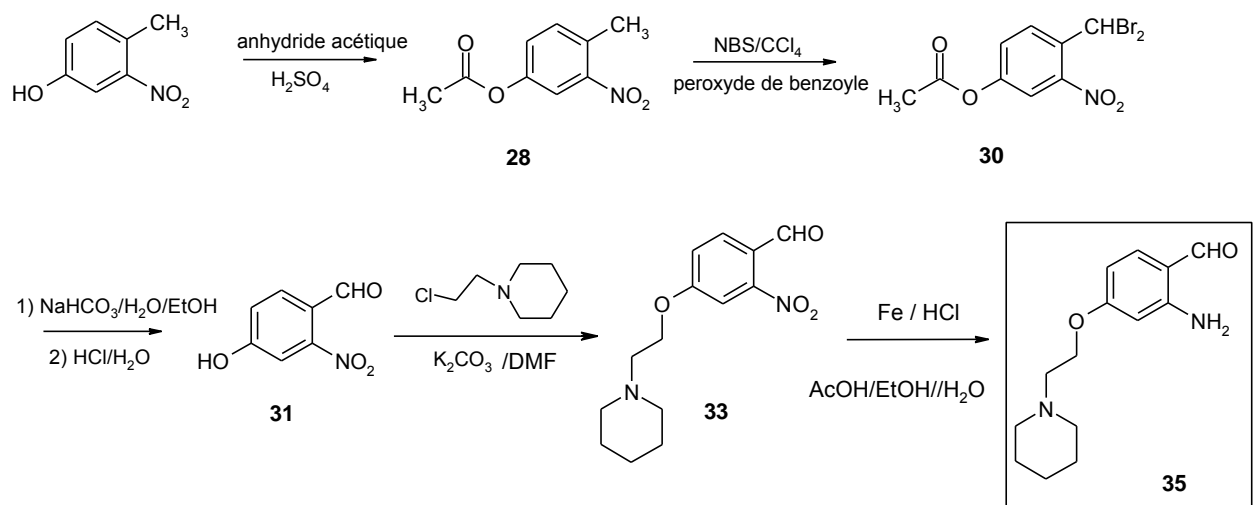
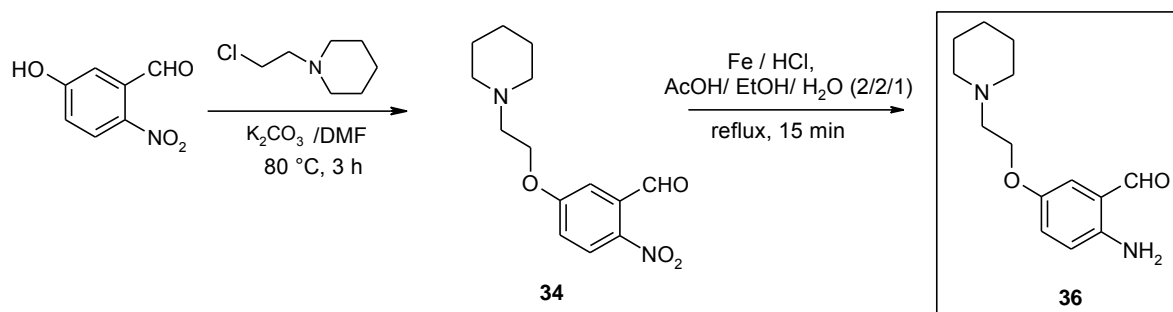
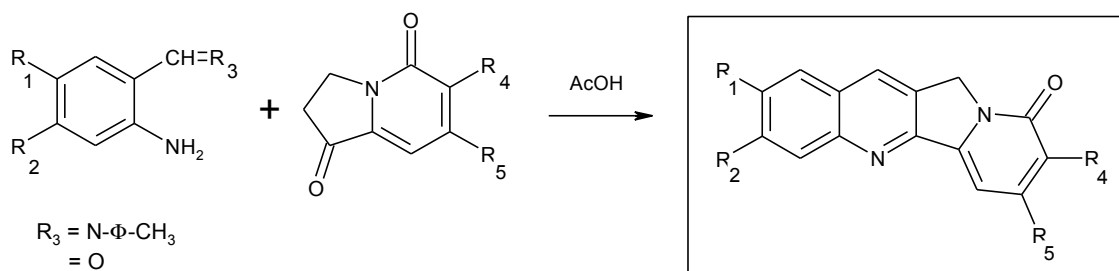
Il nous a alors paru préférable d'envisager les modulations avant la réaction de Friedländer. Ceci a eu pour conséquence de mettre en jeu très rapidement des synthèses divergentes.

5. Troisième voie de synthèse envisagée:

Nous nous sommes intéressés à la synthèse des diverses cétones énolisables fonctionnalisées, puis nous avons préparé les *o*-aminobenzaldéhydes correctement substitués afin de réaliser les réactions de Friedländer.

a. Synthèse des indolizines.

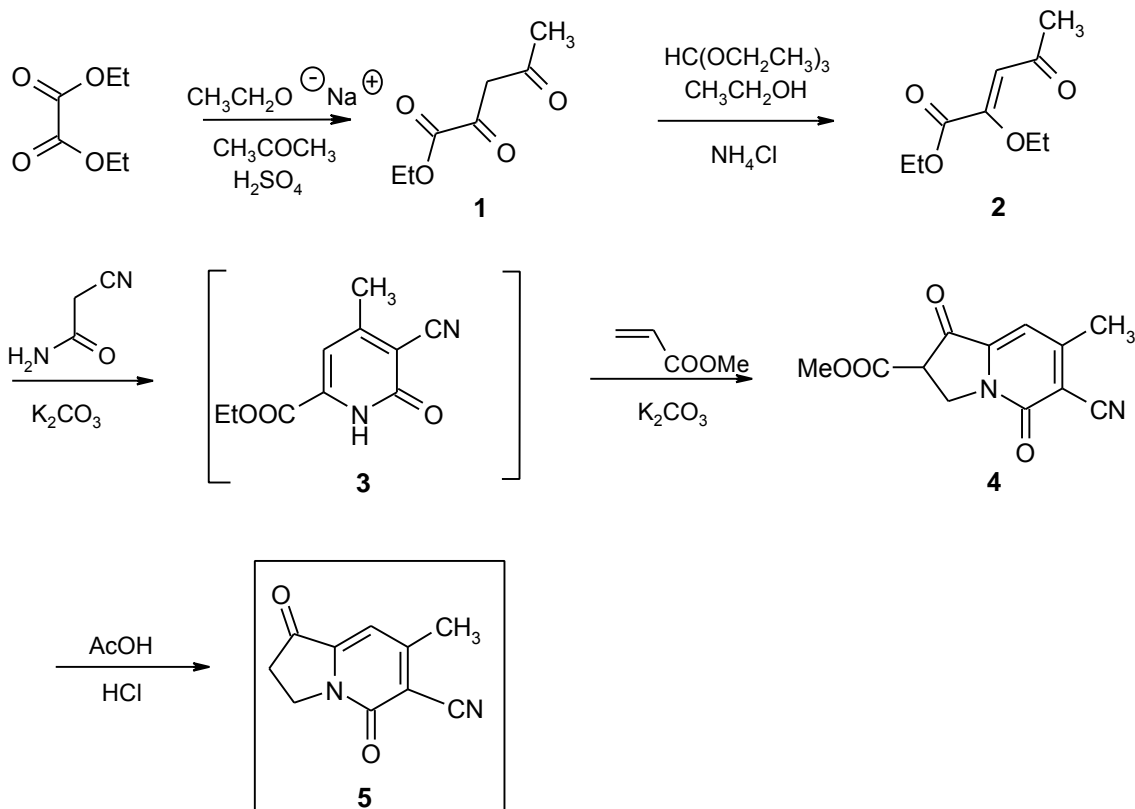


b. Synthèse de l'*o*-aminobenzaldéhyde 26.**c. Synthèse du 2-amino-4-[2-(1-pipéridino)éthoxy]benzaldéhyde 35.****d. Synthèse du 2-amino-5-[2-(1-pipéridino)éthoxy]benzaldéhyde 36.****e. Réaction de Friedländer.**

II. DISCUSSION.

1. Synthèse des indolizinones.

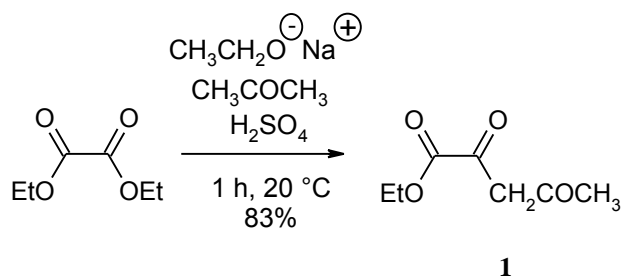
a. Synthèse de l'indolizine 5.



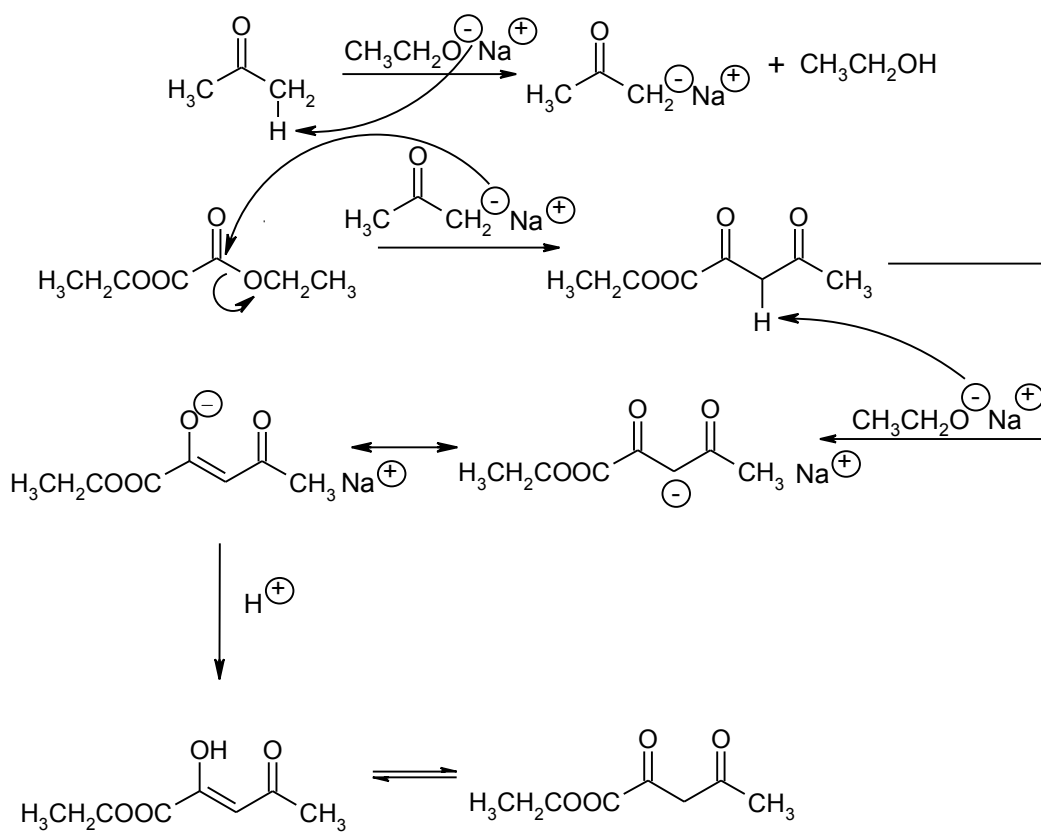
➤ Réaction de Claisen:

L'acétopyruvate d'éthyle **1** est préparé par une réaction de Claisen. Nous avons été amenés à envisager sa synthèse au laboratoire bien que ce produit soit commercial. En effet, l'instabilité de cette molécule rend son stockage difficile et le produit commercial présentait une pureté telle qu'il fallait le distiller. Nous avons donc décidé de le préparer en petite quantité utilisée rapidement. De plus, cette synthèse est rapide, peu onéreuse en comparaison du coût du produit commercial et l'acétopyruvate d'éthyle est obtenu avec un rendement de 83%.

L'acétone réagit avec l'éthanolate de sodium pour former le carbanion. Le nucléophile formé vient ensuite attaquer le carbonyle de l'oxalate d'éthyle.



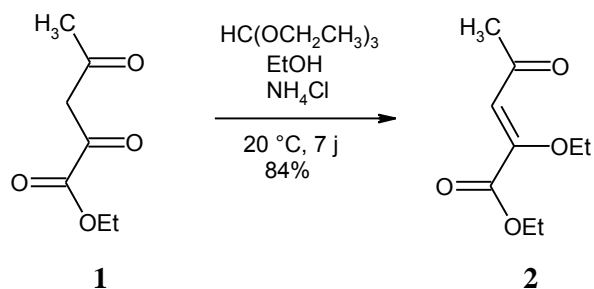
Le mécanisme de la réaction est le suivant:



L'hydrogène du composé β -dicarbonylé très labile va être arraché par l'éthanolate de sodium et conduire à un énol qui se tautomérise en milieu acide.

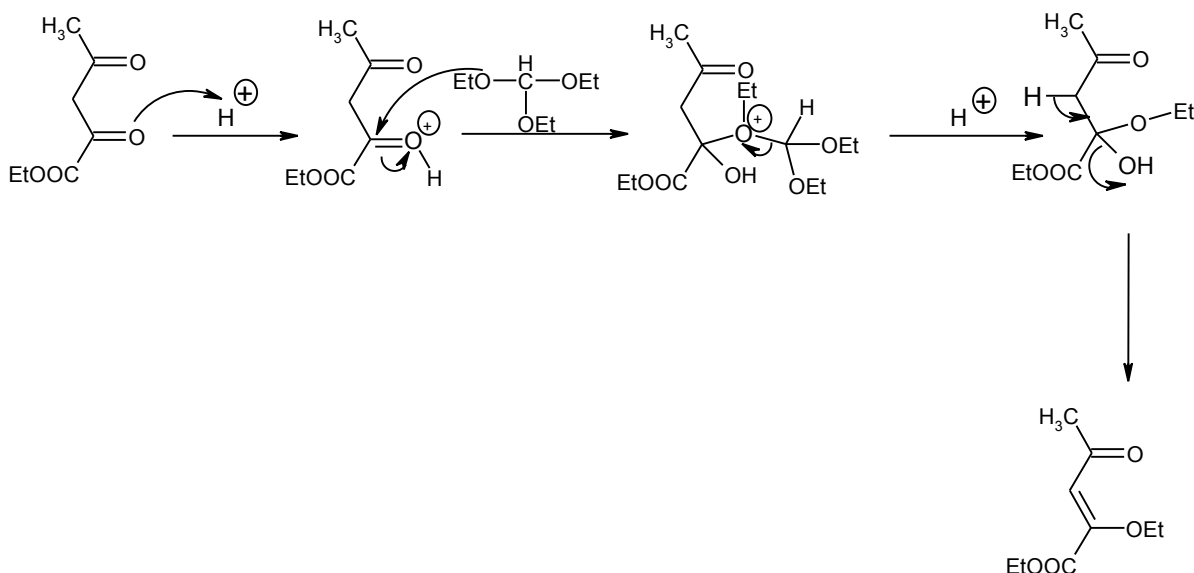
➤ Protection sous forme d'éther d'énol (Claisen, 1907):

Cette réaction est permise grâce au caractère labile des atomes d'hydrogène situés en α des fonctions carbonyle. Elle s'effectue sous atmosphère d'azote, en milieu acide, avec le chlorure d'ammonium comme catalyseur. L'éther d'énol **2** est obtenu avec un rendement de 84%. Nous avons envisagé de réduire le temps de réaction par un chauffage modéré à 50 °C. La réaction durait alors 4 jours mais le rendement n'était que de 60% et la pureté de l'éther d'énol médiocre. Il fallait alors distiller le composé **2** avant d'envisager la réaction suivante, ce qui n'est pas nécessaire lorsqu'on travaille à température ambiante.

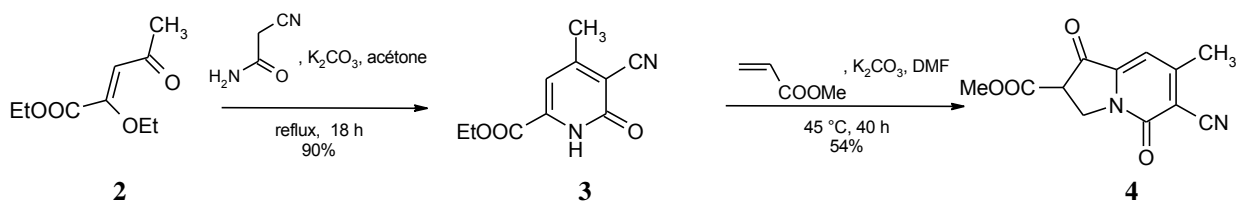


La formation de l'éther d'énol rend le site électrophile du carbonyle en α de la fonction ester moins réactif que le carbonyle en γ vis-à-vis des réactions de substitution nucléophile.

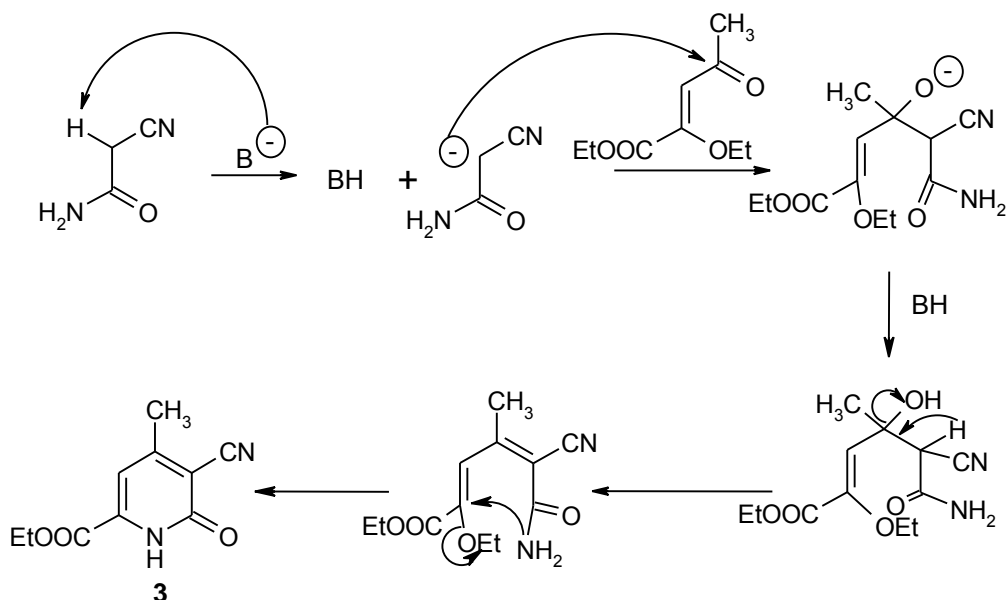
Le mécanisme de la réaction est le suivant :



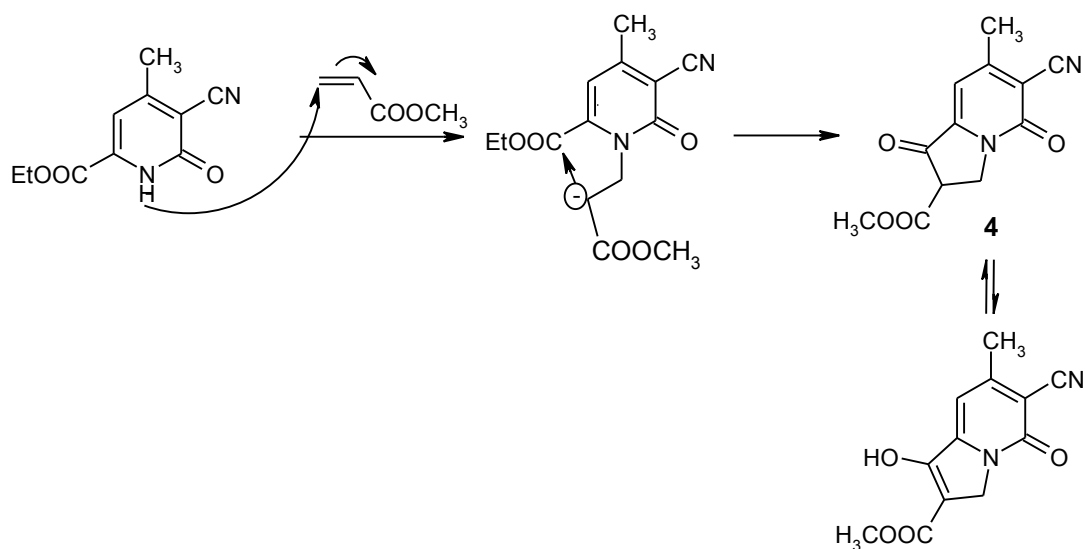
➤ Cyclisation en indolizine (Henecka, 1949 ; Wall et Wani, 1991):



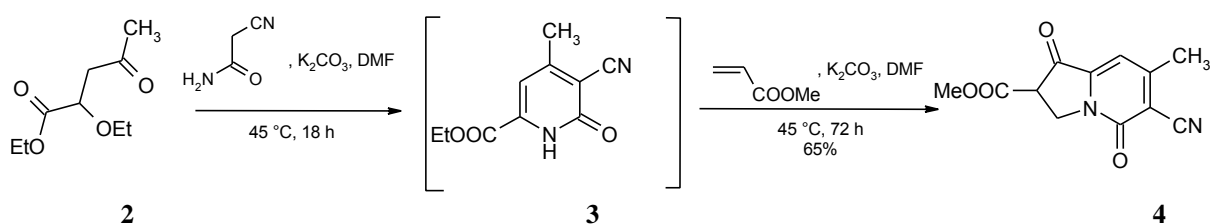
La cyclisation en pyridone se fait en deux temps. Tout d'abord un hydrogène labile du 2-cyanoacétamide est arraché par le carbonate de potassium, puis le nucléophile formé vient attaquer le groupement carbonyle de l'éther d'énol **2**.



La cyclisation en pyridone implique une attaque nucléophile de l'atome d'azote sur l'atome carbone de l'éther d'énol. La pyridone **3** réagit avec l'acrylate de méthyle en milieu basique pour donner l'indolizine **4** selon une addition de Michael suivie d'une cyclisation de Dieckman.



Parallèlement, nous avons utilisé une synthèse « one-pot » décrite par Wall et Wani, 1991, dans laquelle la pyridone **3** intermédiaire n'est pas isolée.

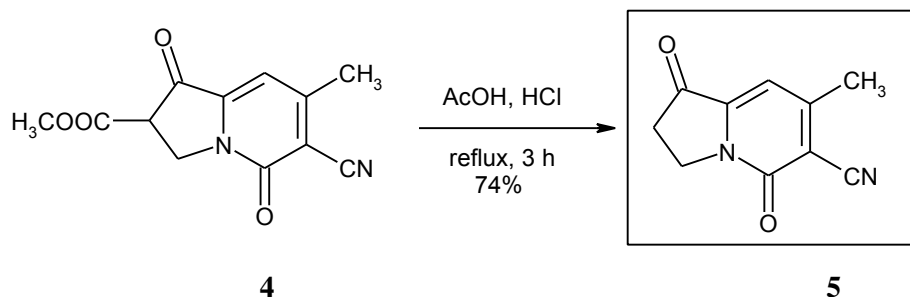


De la même façon, l'hydrogène labile du 2-cyanoacétamide est arraché par le carbonate de potassium. Le nucléophile formé peut alors attaquer la fonction carbonyle du composé **2** selon une réaction de Thorpe et Guareshi. Puis il y a cyclisation par attaque nucléophile du doublet de l'azote sur le carbone en α de la fonction ester. La pyridone réagit alors sur l'acrylate de méthyle en milieu basique par une addition de type Michael. Une cyclisation de Dieckman permet d'obtenir l'indolizone **4**.

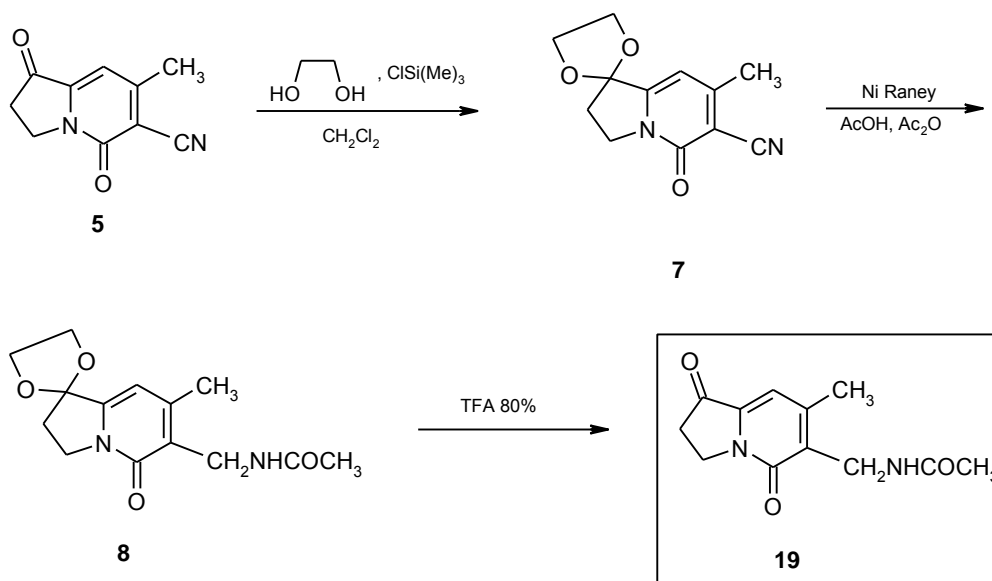
La méthode « one-pot » permet une augmentation des rendements (rendement de 48% pour la première méthode et 65% pour la méthode one-pot). Le temps de réaction est augmenté pour la méthode « one-pot » mais le temps de traitement est diminué puisqu'on n'isole qu'un seul produit.

➤ Hydrolyse-décarboxylation (Wani et al., 1980):

L'hydrolyse-décarboxylation de cet ester β -cétonique nécessite un mélange d'acide acétique et d'acide chlorhydrique concentré, à reflux. La fonction nitrile n'est pas hydrolysée dans ces conditions pourtant drastiques. Le composé **5** est instable en solution. Il doit être rapidement isolé et conservé sous forme solide à l'abri de la lumière.

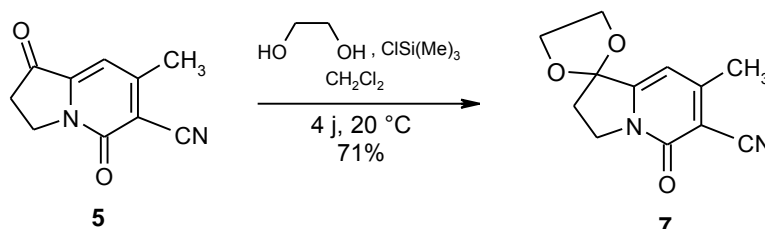


b. Synthèse de l'indolizine 19.



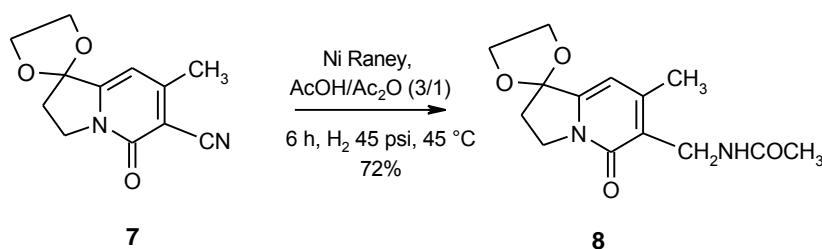
➤ Protection de la fonction cétone (Ejima et al., 1992):

Afin de réduire sélectivement la fonction nitrile, nous avons été amenés à protéger la cétone sous forme d'acétal. La pureté du composé **5** est critique pour la réussite de cette réaction. Le rendement peut chuter de 71% à 35% si la cétone **5** n'a pas été correctement purifiée.



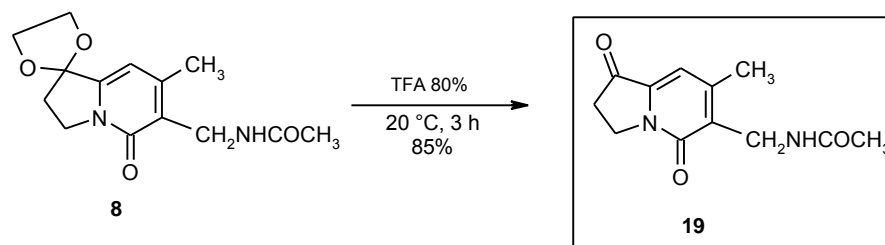
➤ Réduction acylante de la fonction nitrile:

Nous avons choisi de réduire la fonction nitrile en amine qui sera protégée en prévision de la réaction de Friedländer. La protection de la fonction amine doit résister aux conditions réactionnelles de la déprotection de la fonction cétone et de la réaction de Friedländer. D'autre part, elle doit pouvoir être clivée en dernière étape afin de libérer l'amine primaire. Nous avons donc choisi de protéger l'amine par un groupement acétyle qui peut être introduit directement pendant la réduction en choisissant un solvant acylant comme l'acide acétique et/ou l'anhydride acétique. La réduction est menée sous pression d'hydrogène avec le nickel de Raney. Le composé **8** est obtenu avec un bon rendement.

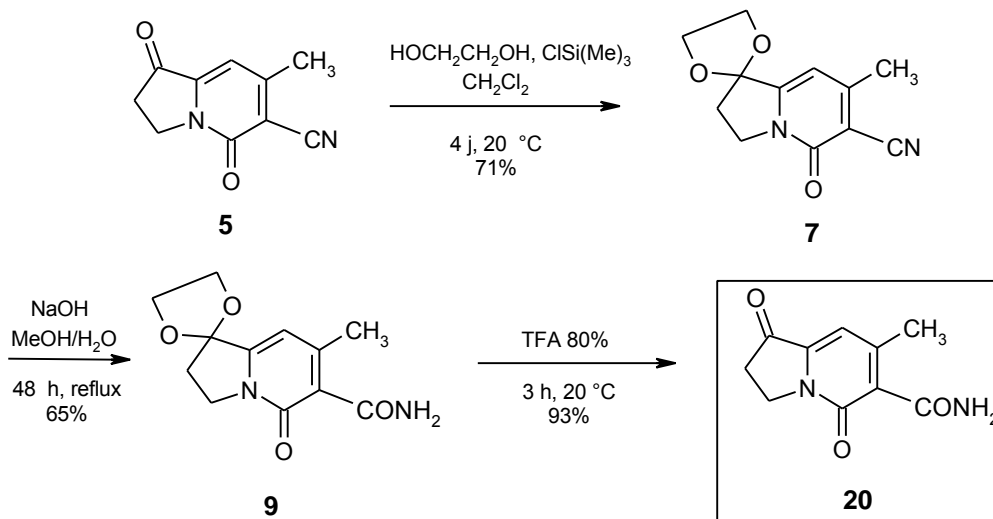


➤ Déprotection de la fonction cétone:

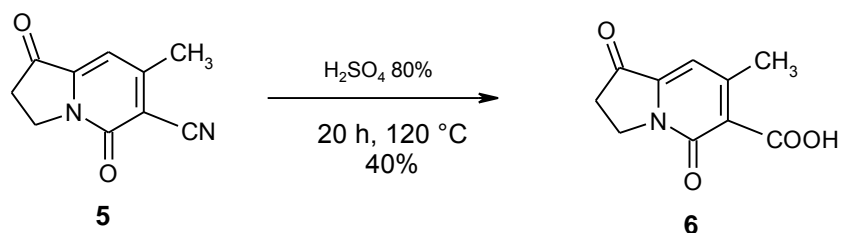
La déprotection de la fonction cétone s'effectue en milieu acide. L'utilisation de l'acide trifluoroacétique permet de ne pas cliver le groupement acétyle porté par la fonction amine.



c. Synthèse de l'indolizine 20.



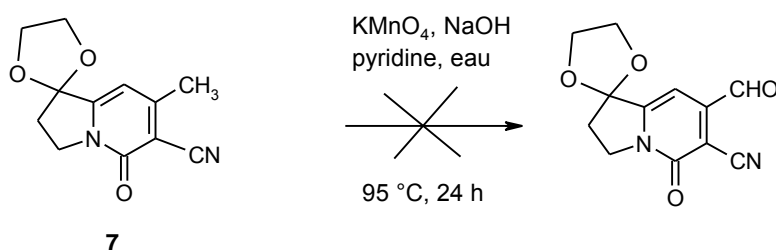
L'hydrolyse basique du nitrile permet d'obtenir l'amide primaire. Le temps réactionnel de cette réaction est fortement dépendant des quantités de nitrile mises en jeu. Nous avons également essayé, sans succès, de durcir les conditions afin d'obtenir l'acide carboxylique. Les conditions de déprotection reprennent celles de l'indolizine 8.

d. Synthèse de l'indolizine 6.

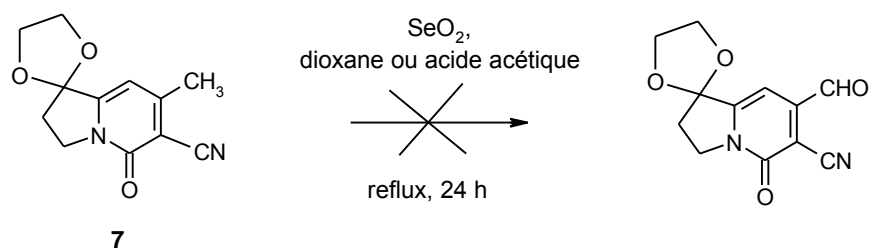
Les conditions basiques ne nous ayant pas permis d'obtenir le dérivé possédant une fonction acide carboxylique, nous avons envisagé l'hydrolyse du nitrile dans des conditions acides. Les conditions usuelles telles qu'un mélange d'acide acétique et d'acide chlorhydrique ou l'acide chlorhydrique seul ne nous ont pas permis d'obtenir l'indolizine **6**. Nous avons donc utilisé des conditions plus dures à savoir l'acide sulfurique à 80% pendant 20 heures à 120 °C. Ces conditions nous ont permis d'obtenir le produit désiré avec un rendement de 40%.

e. Oxydation en aldéhyde du méthyle porté par la pyridone.

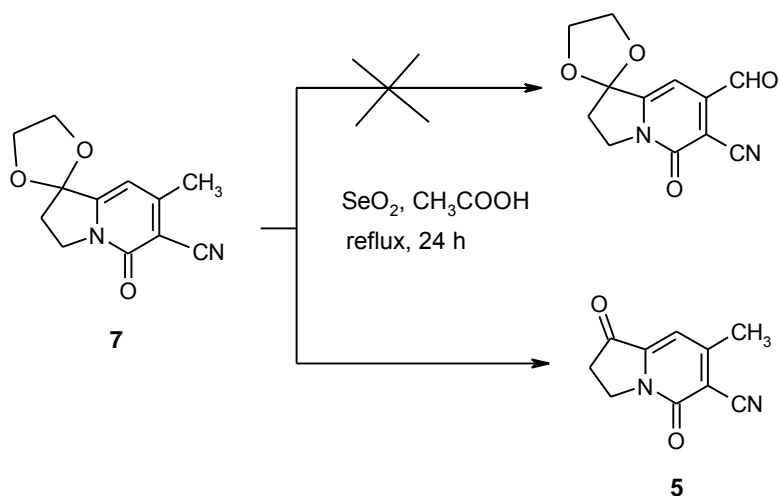
Nous avons essayé à plusieurs reprises d'oxyder le méthyle porté par la pyridone en aldéhyde mais tous les essais se sont révélés infructueux. Nous avons tout d'abord réalisé un essai avec le permanganate de potassium comme agent oxydant en présence de soude. Nous avons récupéré la totalité du composé **7**.



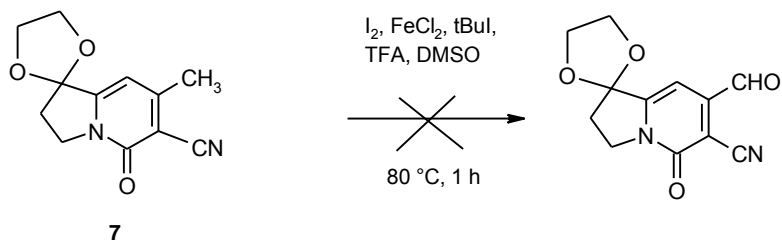
Nous avons ensuite utilisé des conditions décrites par Henze et Knowles, 1954 ; Baumgarten et Krieger, 1955 ; Imperiali et al., 1993 qui auraient dû permettre cette oxydation : nous avons utilisé du dioxyde de sélénium comme agent oxydant et le dioxane ou l'acide acétique glacial comme solvant.



Après 24 heures à reflux de l'acide acétique, la fonction cétone a été déprotégée mais le groupement méthyle n'a pas été oxydé. Nous avons restitué le composé **5**.



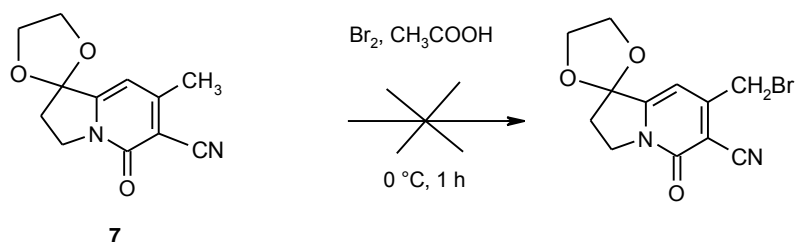
Nous avons ensuite essayé des conditions moins classiques (Vismara et al., 1987) mais nous n'avons pas obtenu le produit désiré. Nous avons utilisé comme agent oxydant l'iode et le diméthylsulfoxyde comme solvant. Le composé **7** a été dégradé dans ces conditions. Aucun produit majoritaire n'a été formé et nous n'avons donc rien isolé.



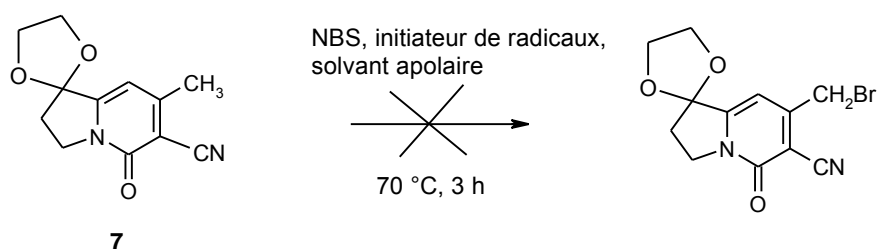
f. Bromation du méthyle porté par la pyridone.

Nous avons réalisé plusieurs essais d'halogénéation afin de bromer le groupement méthyle de la pyridone.

Nous avons tout d'abord utilisé le brome comme agent bromant et l'acide acétique comme solvant. L'introduction du brome se fait à 0 °C, puis on laisse remonter la température jusque 20 °C. Nous avons visualisé par CCM la formation de 3 produits. Aucune tache ne semblait majoritaire et compte-tenu des différentes migrations, il semblait difficile d'espérer une séparation par chromatographie sur colonne. Nous n'avons donc pas poursuivi dans cette voie.



Nous avons donc décidé de réaliser une bromation radicalaire. Nous avons utilisé le N-bromosuccinimide comme agent bromant. Pour l'initiateur de radicaux, nous avons utilisé le peroxyde de benzoyle ou AIBN. Comme solvant, nous avons choisi le tétrachlorure de carbone ou le dichlorobenzène. Enfin, nous avons chauffé soit de manière thermique, soit par une lampe halogène de puissance 500 W.



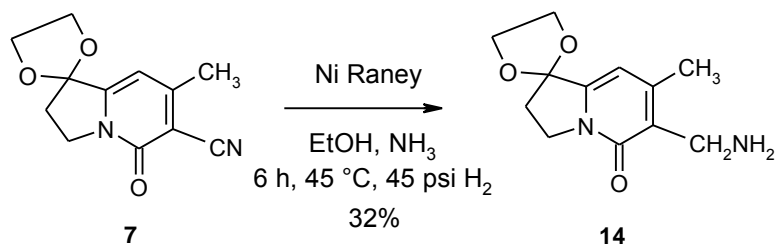
- L'utilisation de l'AIBN a conduit à des milieux réactionnels plus sales qu'avec le peroxyde de benzoyle.
- La lampe halogène permet une durée de réaction moins longue que le chauffage thermique. Les produits formés sont identiques.
- Le choix du solvant n'a pas influé sur l'issue de la réaction.

Dans tous les cas, la réaction n'était pas totale : il restait de la matière première même lors de l'ajout de N-bromosuccinimide et il s'est formé plusieurs produits.

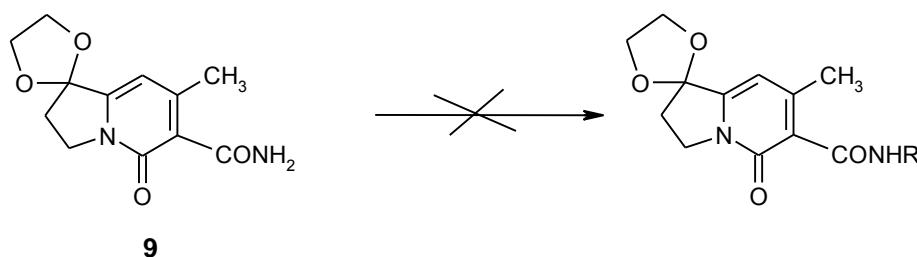
Il faut préciser qu'au début de la réaction, le milieu réactionnel était de couleur claire ; il a ensuite évolué vers le rouge, comme une bromation classique, mais il a viré rapidement au vert foncé. Nous avons donc essayé de traiter la réaction après ce changement de coloration, mais également lorsque le milieu réactionnel était encore rouge. Nous avons essayé d'isoler le produit bromé formé mais les tentatives de purification se sont révélées infructueuses.

Nous avons donc envisagé de réaliser l'étape d'hydrolyse directement après la bromation. En effet, l'hydrolyse basique du composé monobromé devait fournir l'alcool et celle du dibromé l'aldéhyde. Cette étape n'a pas été concluante : le milieu réactionnel était composé de nombreux produits.

En conclusion, il semble qu'il ne soit pas aisé de bromer le groupement méthyle dans ces conditions. Nous pensons que l'évolution du milieu réactionnel vers le vert correspond à une dégradation de la structure.

g. Réduction du groupement nitrile en amine primaire.

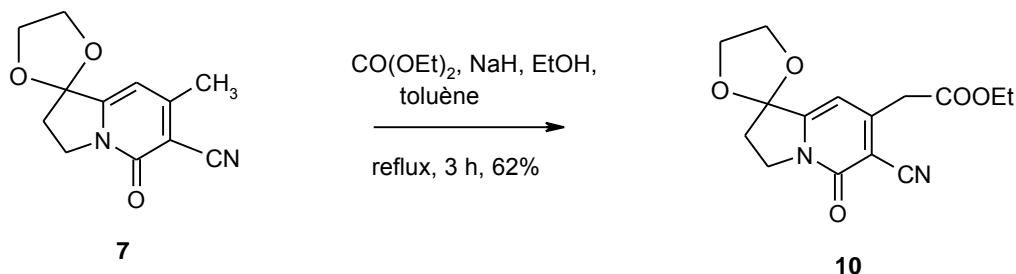
La fonction nitrile a été réduite, après protection de la fonction cétone, en amine primaire par hydrogénation catalytique en présence de nickel de Raney et d'ammoniac. Le rendement de cette réaction (32%) est plus faible que lorsque la réduction est effectuée dans des conditions acylantes. Nous pensons que cette diminution est due à une faible stabilité de la structure aminée.

h. Substitution nucléophile de l'amide primaire.

Nous avons essayé à plusieurs reprises d'alkyler l'amide primaire sans succès. Nous avons choisi comme substituant la N,N-diméthyl-2-chloroéthylamine. Nous avons réalisé un essai dans le *t*-butanol, en présence d'hydroxyde potassium et d'iodure de potassium. Après un chauffage à reflux pendant 24 heures, il ne s'est rien passé. Nous avons alors effectué un deuxième essai dans le diméthylformamide en présence d'hydruure de sodium et d'iodure de potassium. Le milieu réactionnel a été agité pendant 12 heures à température ambiante puis chauffé, sans succès.

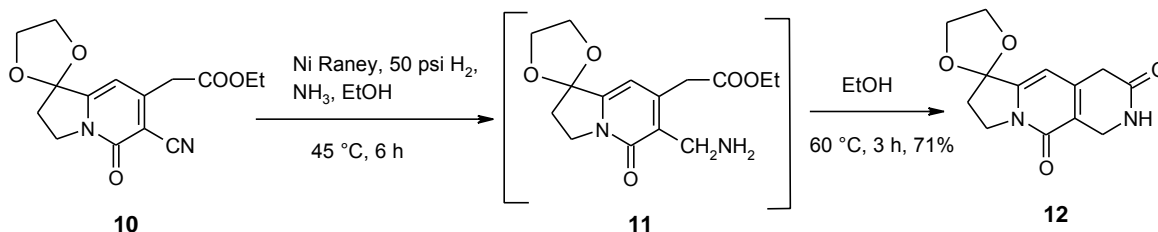
i. Synthèse des pyrrolo[1,2-*b*][2,7]naphthyridines.

➤ Substitution nucléophile du méthyle (Wani et al., 1980):

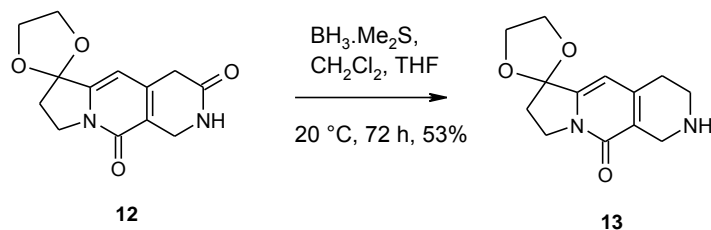


Cette réaction est réalisée en condition anhydre, sous atmosphère d'azote. Elle a été réalisée par Wani et al., 1980, en utilisant de l'hydruire de potassium comme base forte. L'utilisation d'hydruire de sodium à 60% en suspension dans l'huile minérale n'a pas entraîné de changement pour le déroulement de la réaction. La pureté du composé **7** est critique : le rendement chute considérablement (de 62% à 30%) si le composé **7** est impur. L'éthanol joue un rôle de catalyseur.

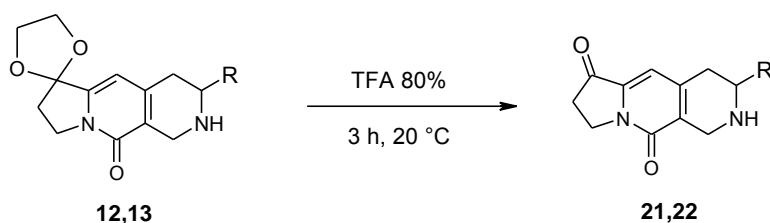
➤ Réduction du nitrile et cyclisation:



La fonction nitrile est réduite en amine primaire par l'utilisation de nickel de Raney sous pression d'hydrogène dans de l'éthanol saturé en ammoniac. Après 6 heures à l'autoclave, on obtient un mélange de composés **11** et **12**. Le groupement nitrile a été totalement réduit mais la cyclisation n'est pas complète. Après filtration du catalyseur, un chauffage additionnel dans l'éthanol permet d'obtenir le lactame **12** avec un rendement de 71%.

➤ Réduction sélective du lactame vis-à-vis de la pyridone:

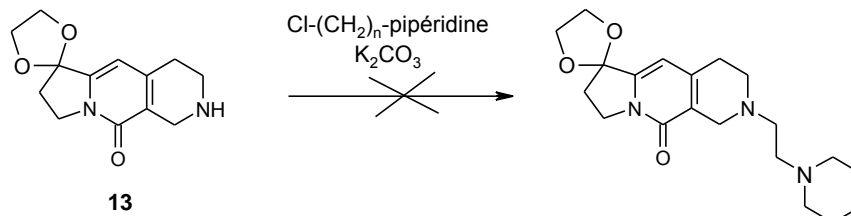
La fonction lactame a été réduite sélectivement de la fonction pyridone par le complexe borane-diméthylsulfure. Un essai a été réalisé dans le borane non complexé mais le composé **12** n'a pas été réduit dans ces conditions. Cette réaction est réalisée à température ambiante sous atmosphère d'azote. Un large excès de borane (10 équivalents) est nécessaire pour obtenir la réduction de la fonction lactame. Le composé **13** est le seul composé à être formé : la fonction pyridone n'est pas touchée par ces conditions.

➤ Déprotection des naphthyridines:

Cette réaction a été réalisée dans les conditions décrites précédemment avec de bons rendements (90% pour **21** et 76% pour **22**).

j. Substitution nucléophile de l'amine 13.

➤ Substitution nucléophile de la fonction amine:



Nous avons envisagé une réaction de substitution nucléophile sur l'atome d'azote avec des dérivés de type chloroéthylpipéridine ou chloropropylpipéridine. La base utilisée est le carbonate de potassium et le solvant, le diméthylformamide ou l'acétonitrile. Ces essais ont été réalisés à reflux d'acétonitrile ou à 80 °C dans le DMF. Après 12 heures et l'ajout de 3 équivalents de dérivé chloré, il ne reste plus de matière première. Les milieux réactionnels ont été traités par extraction puis purifiés sur colonne chromatographique. Un produit a été isolé dans les 2 cas avec un rendement de 10%. Il s'agit d'une huile jaune qui a été analysée en RMN et qui semblait être le produit de substitution attendu. Compte-tenu de la complexité du spectre proton (31 protons dont 30 aliphatiques), nous avons décidé d'analyser ce produit par spectrométrie de masse. Le spectre du composé ne nous a pas permis d'observer un pic à 373 (masse moléculaire de la structure attendue) mais à 499, masse qui semble correspondre à la formation d'un ammonium portant deux chaînes alkylpipéridine. Cette hypothèse semble confirmée par la fragmentation :

$M = 415$ équivalent à $M - \text{pipéridine}$

$M = 387$ équivalent à $M - \text{pipéridine} - 2 \text{ CH}_2$

$M = 289$ équivalent à $M - \text{propylpipéridine} - \text{pipéridine}$

$M = 247$ équivalent à $M - 2 \text{ propylpipéridines}$

Compte-tenu du faible rendement de la réaction, de la faible stabilité du produit obtenu et de l'incertitude quant à la structure du produit formé, nous n'avons pas poursuivi cette voie. Il faut noter que si le sel s'est formé, le faible rendement peut être expliqué par une grande solubilité du produit en phase aqueuse.

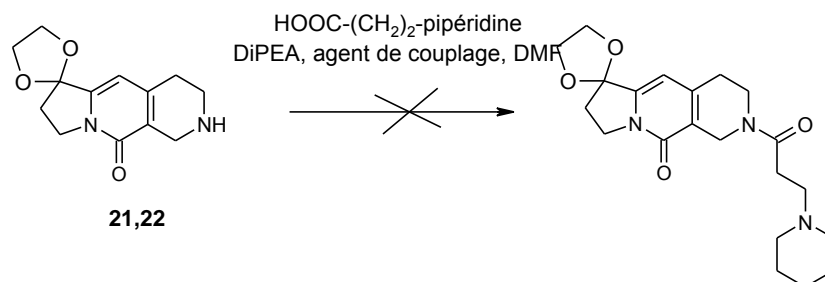
➤ Acylation de la fonction amine:

- avec un acide carboxylique par une réaction de type couplage peptidique.

Afin d'acyler la fonction amine, nous avons tout d'abord envisagé une réaction de type couplage peptidique avec un acide carboxylique. Nous avons utilisé l'acide 3-(1-pipéridino)propionique et nous avons tout d'abord réalisé un essai avec HOBt et HBTU comme

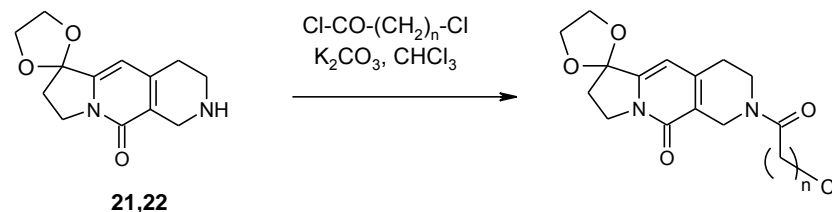
agent de couplage. La réaction a été menée pendant une nuit à température ambiante. Nous n'avons pas obtenu le produit attendu et nous avons retrouvé la totalité du produit de départ.

Nous avons alors effectué un essai dans les mêmes conditions mais en utilisant PyBroP comme agent de couplage. La réaction n'a pas eu lieu et nous avons retrouvé la totalité de l'amine mise en jeu.



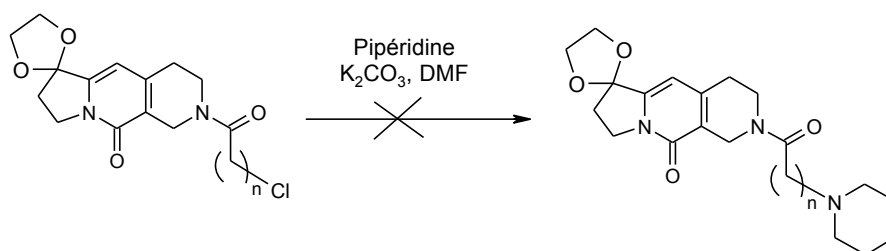
- avec un chlorure d'acide.

Compte-tenu du manque de réactivité de la fonction amine dans une réaction de couplage peptidique, nous avons entrepris l'acylation par un chlorure d'acide. Nous avons réalisé la réaction d'acylation avec le chlorure de chloroacétyle et le chlorure de chloropropionyle dans le chloroforme en présence de carbonate de potassium.



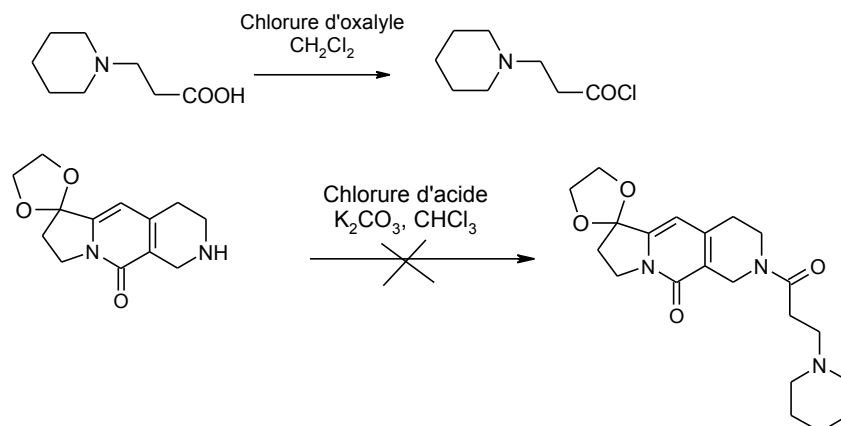
Ces réactions ont été suivies par CCM et après 3 heures, à température ambiante, nous avons observé la disparition complète du produit de départ au profit de la formation d'un unique composé.

Cette réaction a alors été traitée par extraction liquide-liquide, ce qui nous a permis d'isoler le produit majoritaire formé. Les dérivés chlorés ont été isolés après évaporation sous pression réduite sous forme d'une poudre blanche qui s'est rapidement dégradée (après environ 10 minutes). Nous avons alors re-préparé ces dérivés afin de les mettre en réaction aussitôt après évaporation du milieu réactionnel. Nous avons alors introduit la pipéridine dans le DMF en présence de carbonate de potassium.



Dès l'introduction de l'amine, le milieu réactionnel a évolué vers le noir. L'analyse par CCM nous a confirmé une complète dégradation de la molécule.

Nous avons alors décidé de préparer le chlorure d'acide désiré à partir de l'acide pipéridinopropionique et du chlorure d'oxalyle. Nous avons ensuite réalisé la réaction d'acylation dans le chloroforme, à température ambiante en présence de carbonate de potassium. Comme précédemment, une dégradation complète de la molécule a été observée.



Après ces divers essais et également la réaction de Friedländer décrite page 94, il nous semble que ces structures, possédant un cycle azoté à 6 chaînons, montrent une forte instabilité due à la fonction amine cyclique. Nous avons alors préféré mettre de côté les synthèses de ces produits qui semblaient difficiles d'accès et qui étaient nécessaires en quantité conséquente afin de réaliser la réaction de Friedländer.

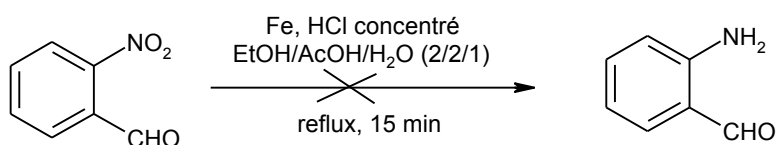
2. Synthèse des *o*-aminobenzaldéhydes.

a. Synthèse de l'*o*-aminobenzaldéhyde.

Plusieurs voies de synthèse ont été envisagées.

➤ Réduction par le fer en milieu acide chlorhydrique concentré:

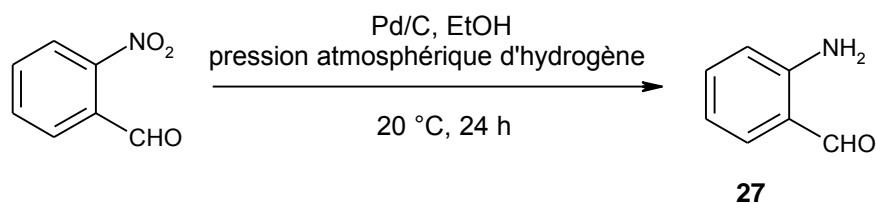
Nous avons tenté, sans résultat, de réduire l'*o*-nitrobenzaldéhyde en *o*-aminobenzaldéhyde par le fer en milieu acide chlorhydrique concentré, à reflux.



Il semble que l'*o*-aminobenzaldéhyde se dégrade à cette température par des réactions d'auto-condensation.

➤ Réduction catalysée par le palladium sur charbon à pression atmosphérique d'hydrogène:

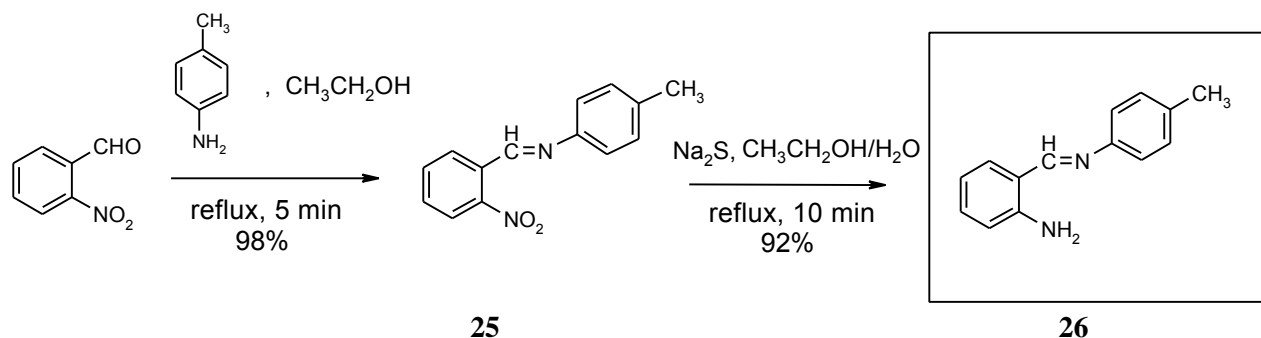
L'*o*-aminobenzaldéhyde a été obtenu par réduction de l'*o*-nitrobenzaldéhyde en présence de charbon palladié sous pression atmosphérique d'hydrogène à température ambiante.



L'*o*-aminobenzaldéhyde s'auto-condense rapidement. Cependant, nous avons mis en évidence la formation d'une amine par CCM, qui est révélée par la ninhydrine. Le spectre infrarouge du milieu réactionnel confirme la disparition de la fonction nitro, la formation d'une amine et la présence de la fonction aldéhyde.

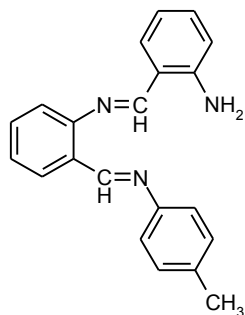
L'instabilité de l'*o*-aminobenzaldéhyde (sous forme base ou sous forme chlorhydrate) nous a conduit à imaginer une voie de synthèse dans laquelle l'une des deux fonctions est protégée afin d'empêcher l'auto-condensation.

➤ Protection de l'aldéhyde puis réduction de la fonction nitrée (Jonhston et al., 1987 ; Borsche et al., 1943) :



La protection de la fonction aldéhyde en imine a été réalisée avec la *p*-toluidine, en milieu éthanolique. Le sulfure de sodium permet ensuite de réduire chimiquement et sélectivement la fonction nitro en amine primaire. Il faut noter que la protection de la fonction aldéhyde confère au composé **26** une bonne stabilité dans le temps. Ceci s'est révélé d'autant plus nécessaire que les indolizines sont peu stables. En effet, gérer la synthèse de 2 intermédiaires instables de manière simultanée n'est pas chose facile.

Un co-produit peut être obtenu lors de cette étape : si le mélange réactionnel n'est pas traité rapidement, la fonction imine s'hydrolyse; il se forme l'*o*-aminobenzaldéhyde puis la di-imine ci-dessous :



Aspect : solide jaune.

Chromatographie sur couche mince : Eluant : Acétate d'éthyle/Cyclohexane (2/8).
Rf : 0,3.

Spectroscopie infrarouge :
 ν NH₂ 3248 et 3399 cm⁻¹

Spectroscopie de RMN du proton (CDCl₃) :

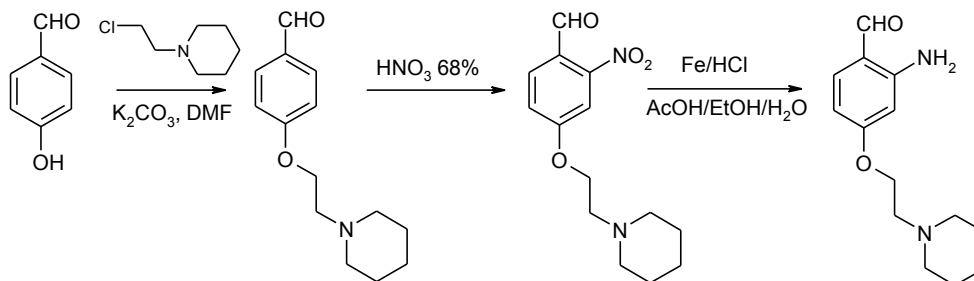
2,18 ppm	s	3H	CH ₃
4,62 ppm	s	2H	NH ₂ (échangeables dans D ₂ O)
5,61 ppm	s	2H	CH imine
6,52 à 7,13 ppm	M	12H	H aromatiques

Spectrométrie de masse par ionisation chimique :

314	MH ⁺
342	M-CH ₂ -CH ₃ ⁺
297	M-NH ₂ ⁺
194	Φ-CH=N-Φ-CH ₃ ⁺
91	Φ-CH ₃ ⁺

b. Synthèse du 2-amino-4-[2-(1-pipéridino)éthoxy]benzaldéhyde 35.

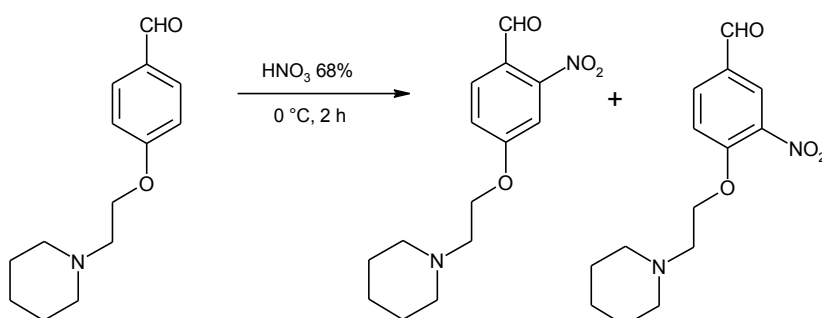
➤ Synthèse à partir du *p*-hydroxybenzaldéhyde:



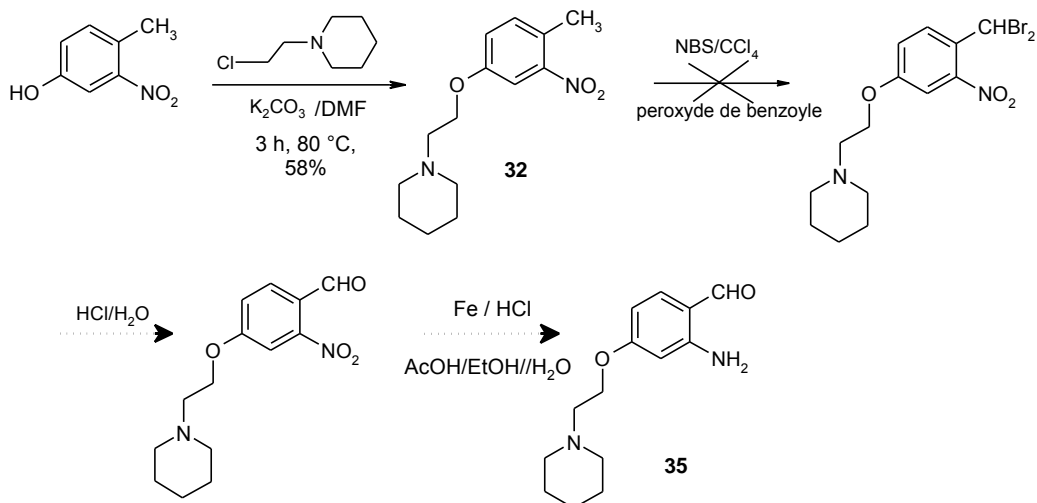
35

Nous avons tout d'abord introduit la chaîne solubilisante sur la fonction phénol. Cette substitution nucléophile a été réalisée dans le diméthylformamide en présence de carbonate de potassium. Nous avons obtenu le benzaldéhyde substitué avec un rendement de 85%. Le caractère électroattracteur de la fonction aldéhyde augmente l'acidité de la fonction phénol et facilite la réaction.

Nous avons ensuite essayé de nitrer l'aldéhyde en *ortho* de la fonction carbonyle afin d'obtenir l'*o*-nitrobenzaldéhyde correspondant. La nitration a été réalisée avec de l'acide nitrique 68%, qui joue le rôle d'agent nitrant et de solvant. Nous n'avons pas réussi à nitrer ce benzaldéhyde dans ces conditions. Une étude bibliographique a montré que la nitration n'était pas sélective. De plus, le produit nitré en *mé*ta est majoritaire par rapport au produit nitré en *ortho*. Nous avons donc abandonné cette voie.

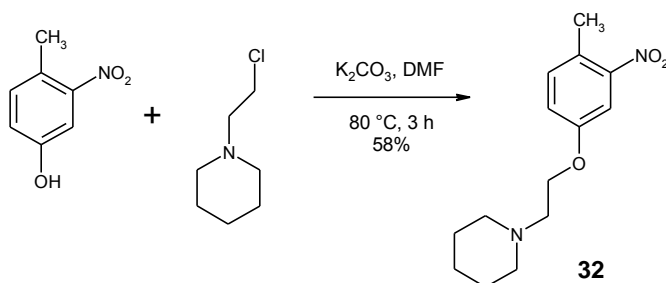


➤ Synthèse à partir du 4-méthyl-3-nitrophénol:

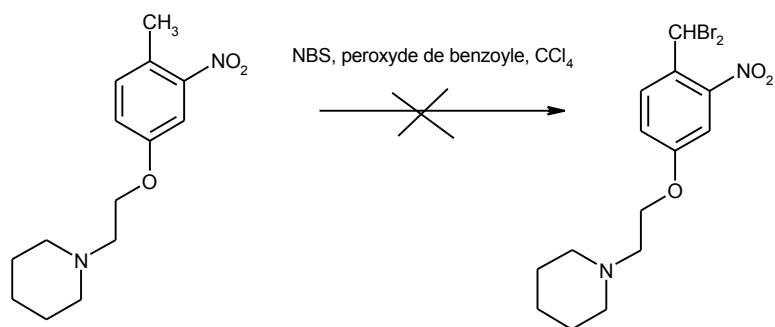


Le groupement méthyle permet de créer la fonction aldéhyde par oxydation. La dibromation du méthyle suivie d'une hydrolyse basique devrait conduire à l'aldéhyde.

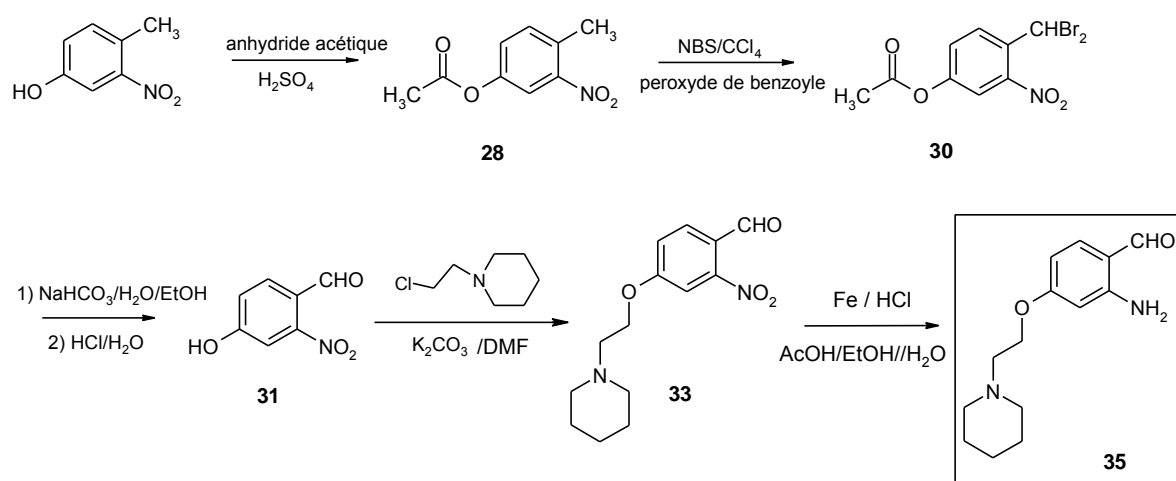
La fonction phénol est sensible aux conditions de bromation et a dû être protégée. Nous avons utilisé la chaîne N-éthylpipéridine comme « groupement protecteur ». Nous avons donc commencé par substituer la fonction phénol par la 1-(2-chloroéthyl)pipéridine. La substitution nucléophile a été réalisée dans le diméthylformamide en présence de carbonate de potassium. Nous avons obtenu le dérivé nitré avec un rendement de 58%.



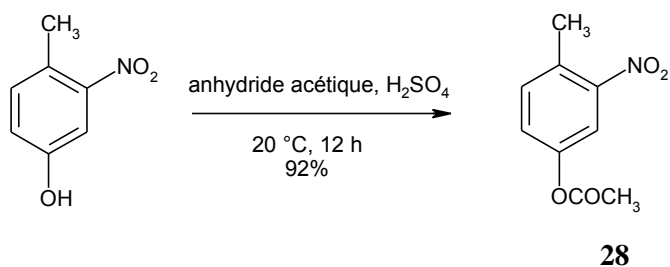
Nous avons ensuite essayé de dibromer le méthyle par le N-bromosuccinimide en présence de peroxyde de benzoyle. Le dérivé nitré se dégrade dans les conditions de la dibromation et nous n'avons pas obtenu l'intermédiaire halogéné.



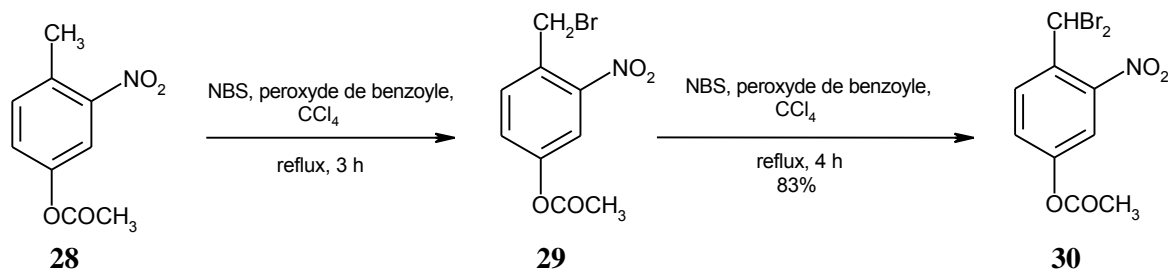
➤ Synthèse à partir du 4-acétoxy-2-nitrotoluène:



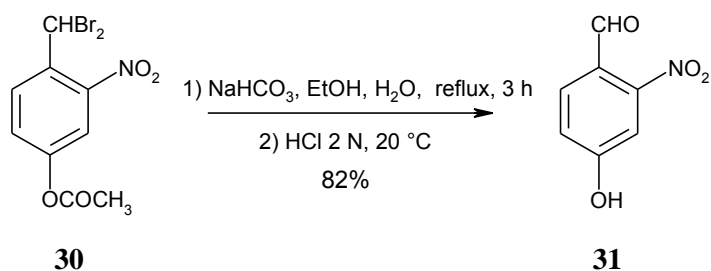
La protection du phénol par un éther n'ayant pas permis d'obtenir le dérivé dibromé, nous avons décidé de protéger la fonction phénol par un groupement acétyle (Suvorov et al., 1962). La protection sous forme d'ester est réalisée par l'anhydride acétique en présence d'acide sulfurique en quantité catalytique.



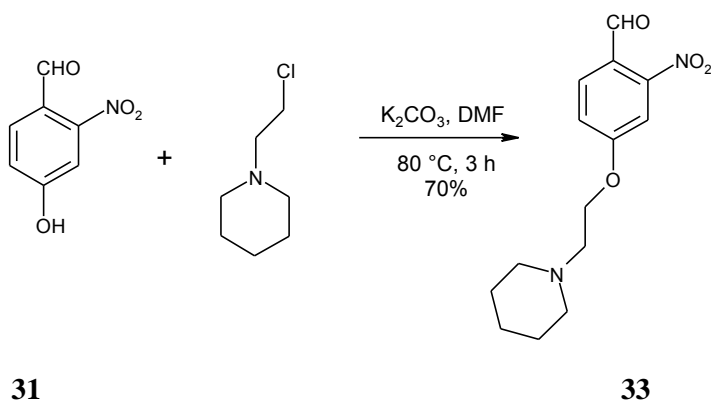
Le méthyle est ensuite disubstitué par une bromation radicalaire. La dibromation est réalisée par le N-bromosuccinimide en présence de peroxyde de benzoyle. Le mélange est chauffé pendant 7 heures à l'aide d'une lampe halogène (500 W). Après 3 heures de réaction, le composé obtenu majoritairement est le dérivé monobromé. La réaction peut se poursuivre afin d'obtenir le dérivé dibromé, grâce au caractère électroattracteur du groupement nitro qui rend les hydrogènes plus mobiles.



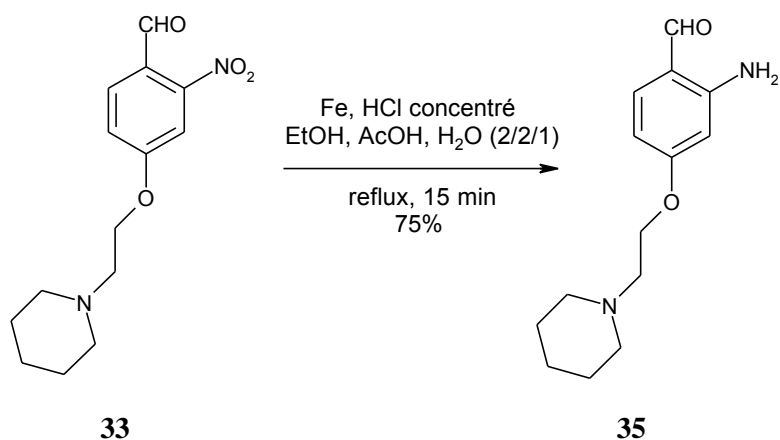
Une hydrolyse basique permet de déprotéger la fonction phénol et d'hydrolyser le groupement dihalogéné en aldéhyde.



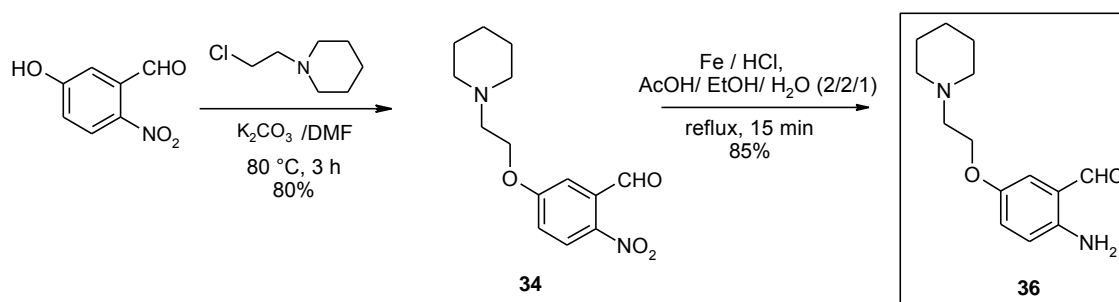
Une substitution nucléophile de l'hydroxyle phénolique permet d'introduire la chaîne solubilisante en *para* de la fonction aldéhyde.



Enfin, la fonction nitro est réduite par le fer en présence d'acide chlorhydrique concentré. L'aminobenzaldéhyde **35** obtenu est stable, contrairement à l'*o*-aminobenzaldéhyde non substitué.



c. Synthèse du 2-amino-5-[2-(1-pipéridino)éthoxy]benzaldéhyde **36**.



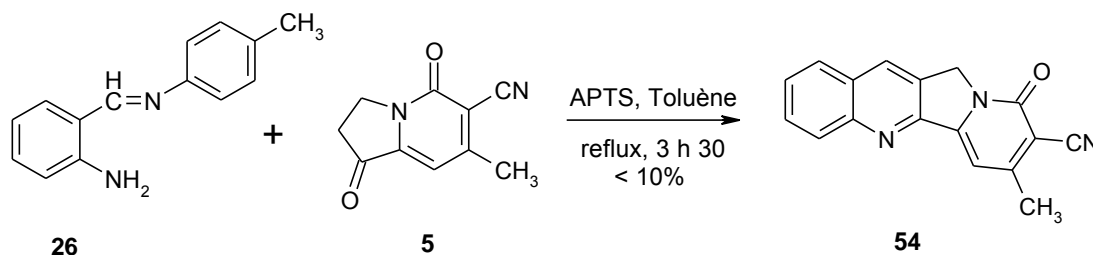
Dans un premier temps, la fonction phénol est activée en phénolate par le carbonate de potassium et substituée par la 1-(2-chloroéthyl)pipéridine. La fonction nitro est ensuite réduite en amine par le fer en présence d'acide chlorhydrique.

3. Réaction de Friedländer.

a. Synthèse de l'intermédiaire **54**.

➤ Catalyse acide avec le toluène comme solvant (Wani et al., 1980):

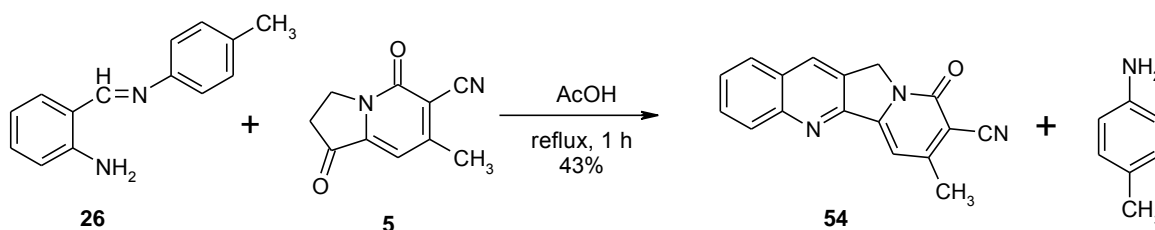
La cétone **5** et l'imine **26** sont dissous dans le toluène à reflux. Le milieu est placé sous atmosphère inerte et un entraînement azéotropique avec un appareil de Dean-Stark permet de déplacer l'équilibre de la réaction. Après 30 minutes, on ajoute l'acide p-toluènesulfonique comme catalyseur. La réaction s'effectue en 3 heures 30.



Le produit **54** est obtenu avec un rendement inférieur à 10%, ce qui nous a conduit à utiliser d'autres conditions opératoires.

➤ Réaction en présence d'acide acétique (Sugimori et al., 1998):

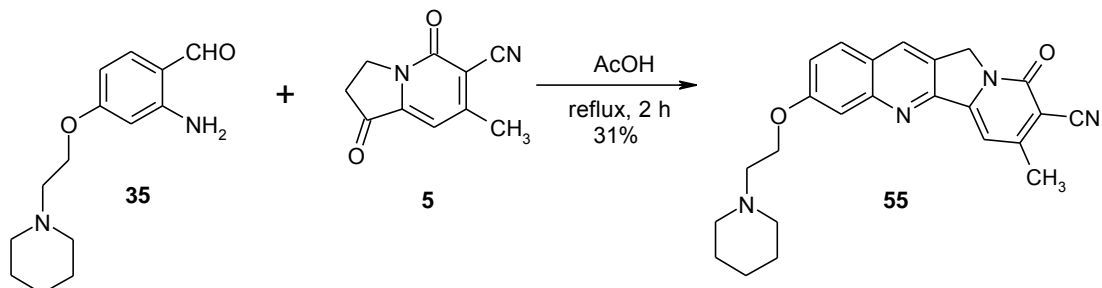
L'acide acétique joue à la fois le rôle de solvant et de catalyseur acide. Le clivage de l'imine en aldéhyde dans le milieu réactionnel est immédiat. La *p*-toluidine formée au cours de la réaction est éliminée par chromatographie sur colonne de silice ou par extraction liquide-liquide.



Le rendement est nettement amélioré (43%). Le composé **54** est insoluble dans de nombreux solvants, ce qui rend la suite de la synthèse très difficile. En effet, pour cette raison, la plupart des tentatives de modulation sur les groupements méthyle et nitrile n'ont pas abouti. Nous avons donc décidé d'introduire une chaîne solubilisante sur l'homocycle de la quinoléine afin de pallier ce problème.

b. Synthèse de l'intermédiaire 55.

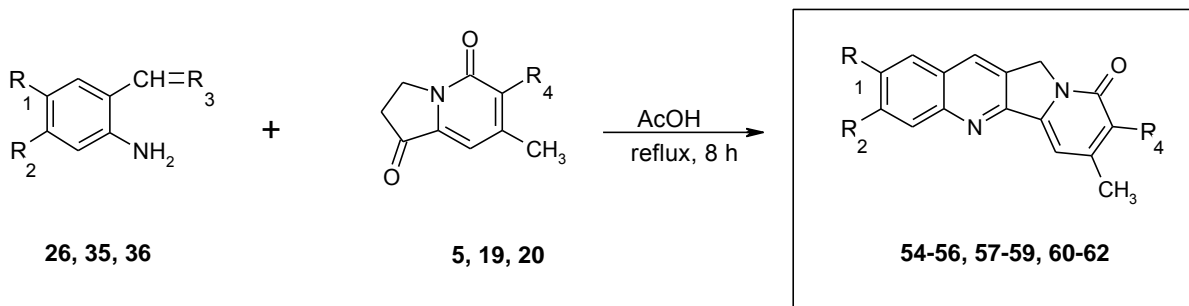
La réaction mise au point précédemment a été appliquée à l'*o*-aminobenzaldéhyde **35**. Le tétracycle **55** montre une solubilité améliorée et permet d'envisager diverses pharmacomodulations utilisant la réactivité du nitrile et du méthyle.



Bien que la solubilité ait été améliorée par l'introduction de la chaîne pipéridinoéthoxy, nous n'avons pas réussi à transformer chimiquement le nitrile. Nous avons donc décidé d'effectuer les modulations avant la réaction de Friedländer.

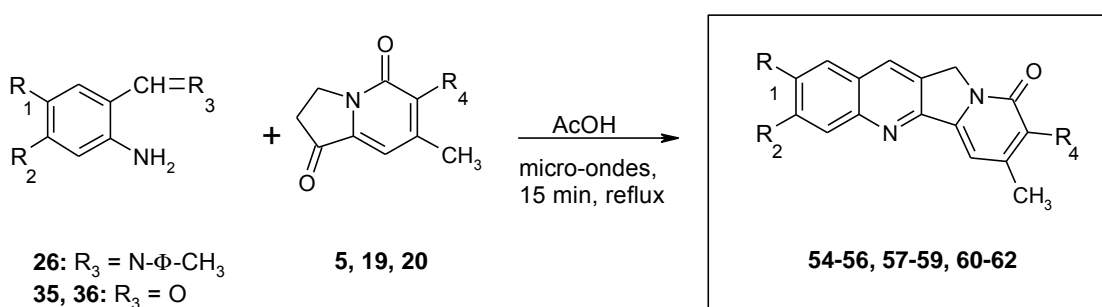
c. Réaction de Friedländer par voie thermique.

Nous avons utilisé les conditions opératoires déterminées précédemment pour la réaction de Friedländer. Le temps de réaction a cependant dû être augmenté.



d. Optimisation de la réaction de Friedländer par l'utilisation des micro-ondes.

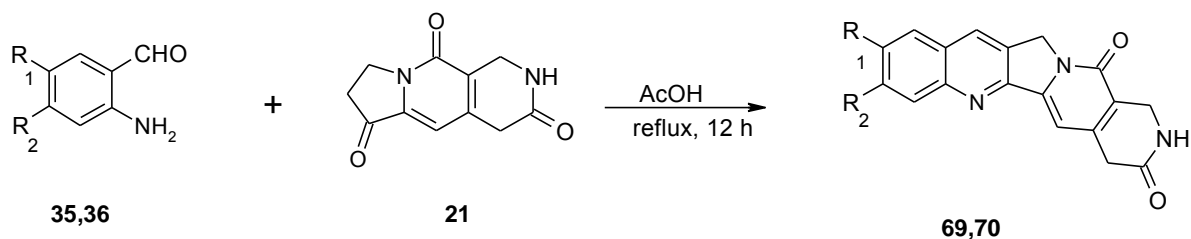
Les rendements de la réaction thermique sont moyens (40%). Ils peuvent être expliqués par le fait que le temps de réaction est relativement long et que les réactants sont peu stables. Nous avons donc envisagé de réaliser cette réaction par l'assistance des micro-ondes. Le temps de réaction a alors été fortement diminué (15 min) et les rendements considérablement augmentés (>80%) (Perzyna et al., 2002^a).



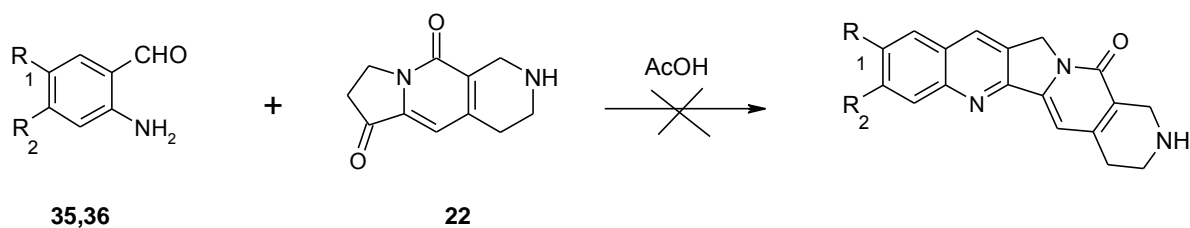
	R ₁	R ₂	R ₄	Rendement (thermique)	Rendement (micro-ondes)
57	H	-O-(CH ₂) ₂ -pipéridine	CH ₂ NHCOCH ₃	44%	74%
58	-O-(CH ₂) ₂ -pipéridine	H	CH ₂ NHCOCH ₃	45%	60%
59	H	H	CH ₂ NHCOCH ₃	48%	91%
60	H	-O-(CH ₂) ₂ -pipéridine	CONH ₂	51%	61%
61	-O-(CH ₂) ₂ -pipéridine	H	CONH ₂	46%	72%
62	H	H	CONH ₂	42%	86%
55	H	-O-(CH ₂) ₂ -pipéridine	CN	31%	59%
56	-O-(CH ₂) ₂ -pipéridine	H	CN	38%	71%
54	H	H	CN	43%	57%

e. Synthèse des quino[2',3':3,4]pyrrolo[1,2-*b*][2,7]naphthyridines par la réaction de Friedländer.

Ces composés sont obtenus par une réaction de Friedländer mettant en jeu les *o*-aminobenzaldéhydes décrits précédemment et la pyrrolonaphthyridine **21**. Ces réactions ont été réalisées de manière thermique ce qui peut expliquer les rendements modérés que nous avons observés.



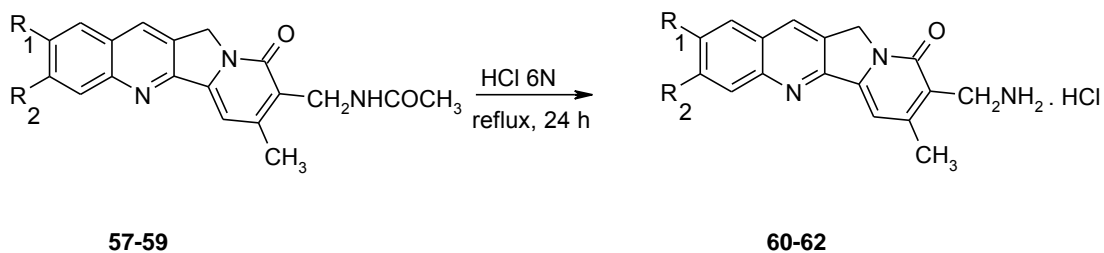
Nous avons également envisagé la synthèse des composés, ne possédant plus le cycle lactame, par une réaction de Friedländer entre les *o*-aminobenzaldéhydes précédemment cités et la pyrrolonaphthyridine **22**. La réaction de Friedländer s'est déroulée de manière classique et les milieux réactionnels ont été purifiés sur colonne chromatographique de silice. Dans chaque cas, un produit majoritaire a été isolé mais il s'est dégradé très rapidement et nous n'avons pas pu effectuer d'analyses afin de déterminer la structure. Néanmoins, d'après les CCM du milieu réactionnel et des fractions de la colonne chromatographique, on peut penser que le produit attendu a bien été formé au cours de la réaction. Malheureusement, l'instabilité de cette structure possédant une fonction amine nous a contraint à abandonner la synthèse de ces composés.



4. Modulations chimiques réalisées sur les tétracycles.

a. Déprotection de la fonction amine.

Nous avons clivé le groupement acétyle en milieu acide afin d'obtenir les composés désirés comportant une fonction amine primaire.



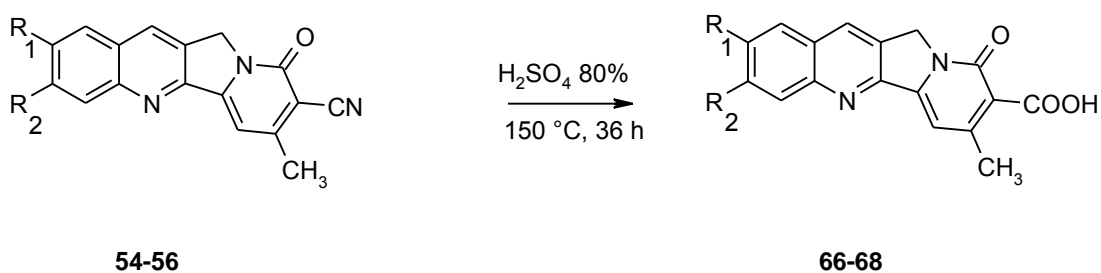
	R ₁	R ₂	Rendement
57, 60	H	-O-(CH ₂) ₂ -pipéridine	76%
58, 61	-O-(CH ₂) ₂ -pipéridine	H	70%
59, 62	H	H	58%

b. Hydrolyse de la fonction nitrile en acide carboxylique.

Il nous a paru préférable d'envisager l'hydrolyse acide de la fonction nitrile après la réaction de Friedländer. En effet, nous pensons que la présence d'une fonction acide carboxylique peut entraîner des réactions parasites lors de la cyclisation.

La difficulté de cette réaction a consisté en la purification de ces 3 composés qui possèdent une fonction acide carboxylique et 2 atomes d'azote protonables.

Après plusieurs tentatives d'extraction dans divers solvants et à divers pH, il nous a paru préférable d'essorer le précipité formé à pH 5-6 par ajout de soude. Ce précipité est, dans ce cas, contaminé par du sulfate de sodium. La majeure partie des sels sont éliminés par plusieurs lavages avec de l'éthanol bouillant. Le filtrat alcoolique est ensuite concentré et le produit est purifié sur colonne chromatographique de silice.



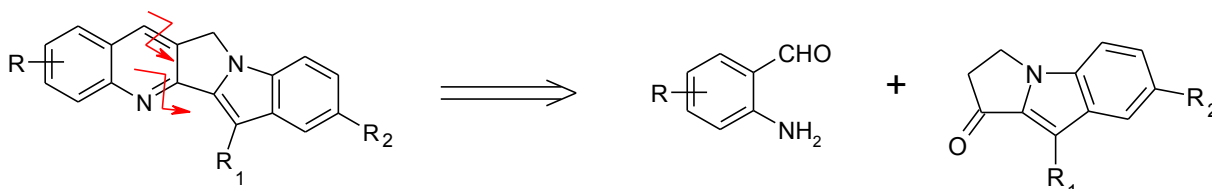
	R ₁	R ₂	Rendement
55, 66	H	-O-(CH ₂) ₂ -pipéridine	25%
56, 67	-O-(CH ₂) ₂ -pipéridine	H	30%
54, 68	H	H	50%

**SYNTHESE DES
BENZO[5,6]PYRROLIZINO
[1,2-*b*]QUINOLEINES**

I. Stratégie de synthèse.

1. Analyse rétrosynthétique.

Nous avons effectué la même analyse rétrosynthétique que précédemment à savoir une double déconnexion dans l'hétérocycle de la quinoléine.



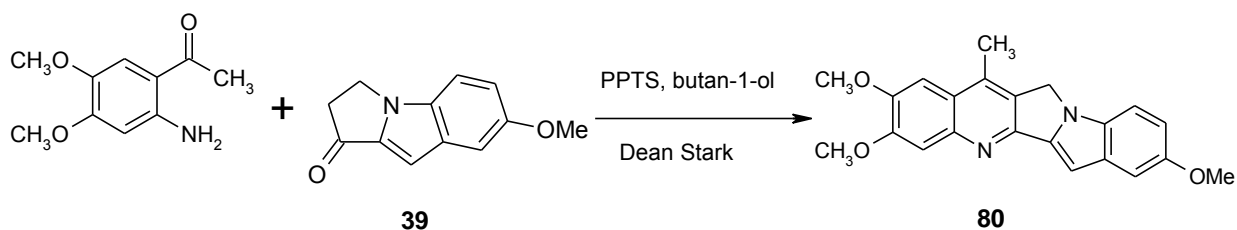
Les pyrroloindoles sont synthétisés à partir du 2-éthoxycarbonyl-5-méthoxyindole.

2. Réaction de Friedländer.

Nous avons essayé à plusieurs reprises de réaliser la réaction de Friedländer entre les *o*-aminobenzaldéhydes **35** et **36** et le pyrroloindole **39**. Nous avons tout d'abord fait un essai par assistance des micro-ondes en utilisant les conditions mises au point précédemment. Nous n'avons pas obtenu le produit désiré et le milieu réactionnel montrait clairement la formation de plusieurs produits. Afin de visualiser la disparition complète du pyrroloindole, il a été nécessaire d'ajouter 4 équivalents d'aminobenzaldéhyde.

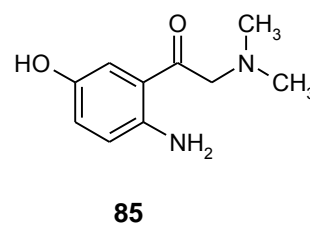
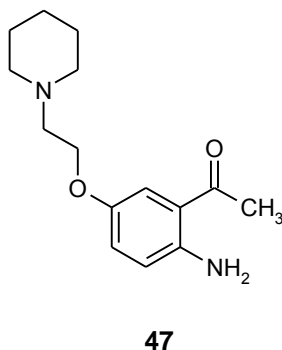
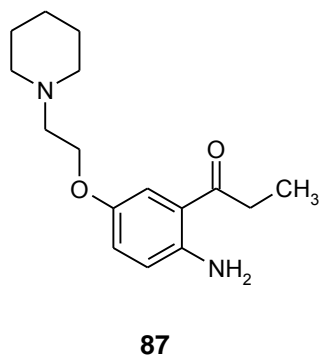
Nous avons alors fait un essai par distillation azéotropique à l'aide d'un appareil de Dean-Stark. Une nouvelle fois, nous avons observé un milieu réactionnel ne comportant pas de produit majoritaire et qui correspondait plutôt à la dégradation des réactants. Il a également été nécessaire d'introduire plusieurs équivalents d'aminobenzaldéhyde afin de consommer toute la cétone énolisable.

Compte-tenu des difficultés rencontrées, nous avons envisagé de faire un essai avec une *o*-aminoacétophénone afin de savoir qui, de l'aminobenzaldéhyde ou du pyrroloindole, était responsable de cet échec. Nous avons choisi la 2-amino-4,5-diméthoxyacétophénone commerciale. Nous avons utilisé un entraînement azéotropique à l'aide d'un appareil de Dean-Stark. Après deux heures à reflux, la réaction était terminée et nous avons facilement isolé le produit désiré.



Après cet essai, il semblait donc clair qu'il était possible d'effectuer la réaction de Friedländer avec ces pyrroloindoles et que le problème venait de l'aminobenzaldéhyde. Nous pensons que l'aminobenzaldéhyde, du fait de sa grande instabilité, se dégrade plus vite qu'il ne réagit avec la cétone énolisable. Il semble que cette réaction ait été possible avec les indolizines du fait de la forte réactivité de la fonction cétone puisque cette fonction devait constamment être protégée, et déprotégée juste avant d'effectuer la réaction de Friedländer sous peine de voir se dégrader la molécule.

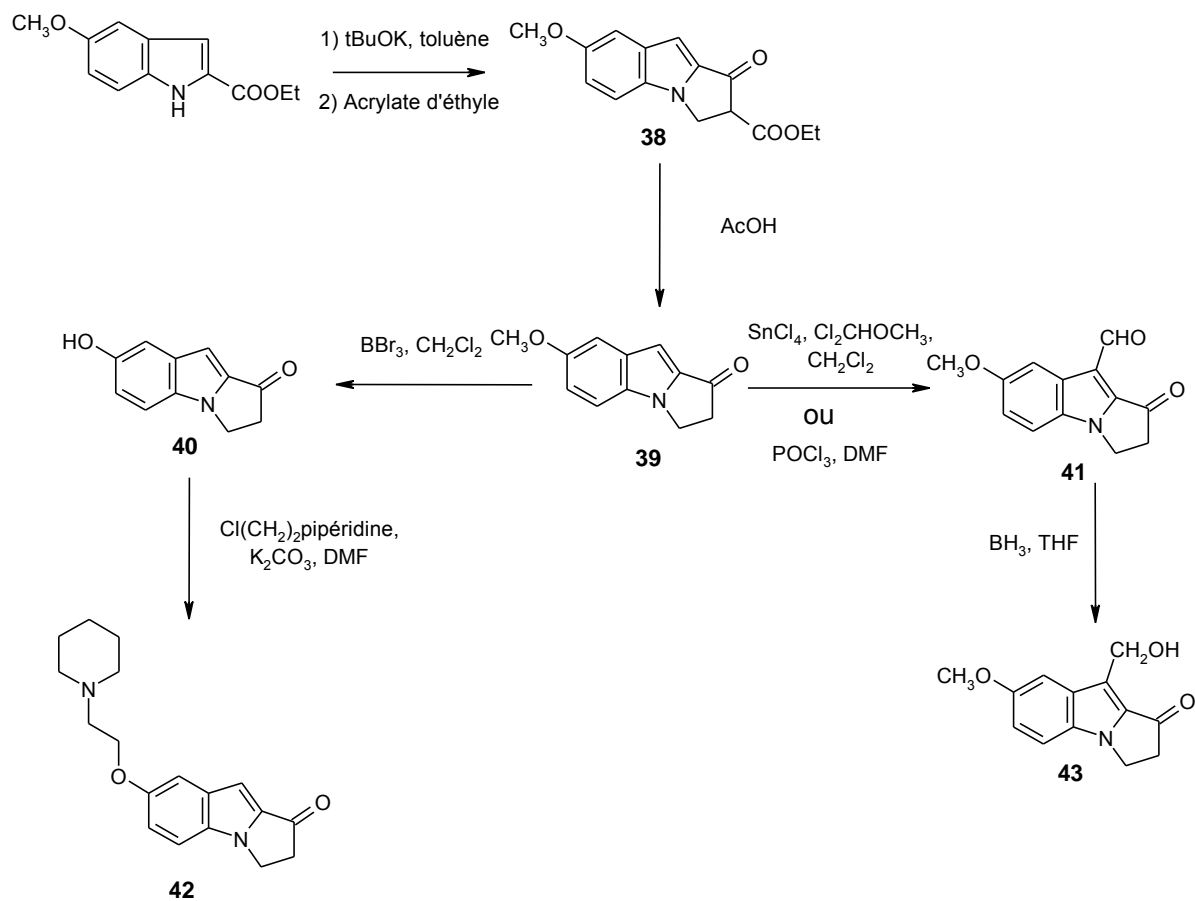
Nous avons donc décidé de travailler avec des aminoacétophénone et des aminopropiophénone comportant la chaîne solubilisante choisie précédemment. Dans le cas de l'aminocétone **85**, la chaîne portant un atome d'azote salifiable sera introduite après la réaction de Friedländer.



II. DISCUSSION.

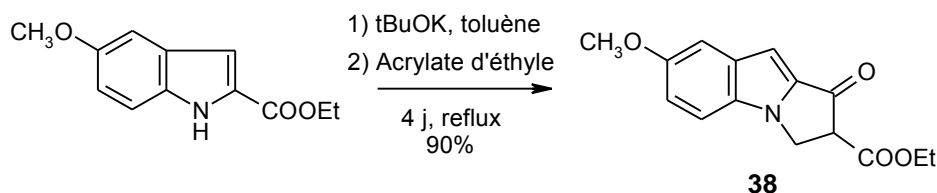
1. Synthèse des indoles.

➤ Schéma de synthèse général:



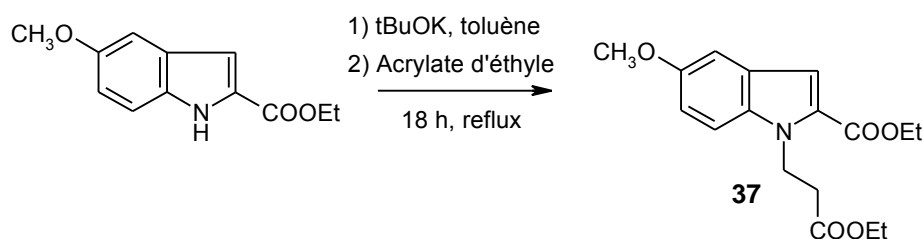
➤ Cyclisation en pyrrolo[1,2-*a*]indole (Remers et Weiss, 1965):

La première étape est une addition de Michael : le proton de l'azote indolique est arraché par le t-butylate de potassium et le nucléophile formé vient attaquer l'acrylate d'éthyle. Une cyclisation de Dieckman permet d'obtenir le pyrroloindole **38**.



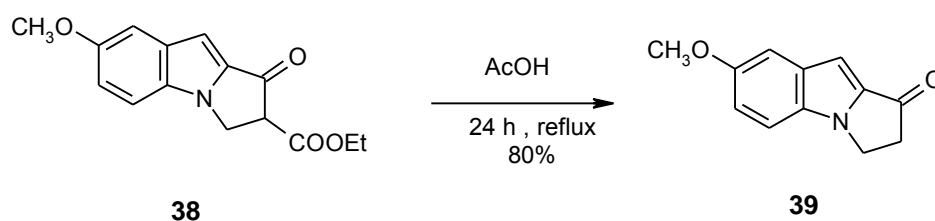
Il est nécessaire d'attendre 2 heures que le proton de l'azote soit arraché avant d'introduire l'acrylate. En effet, s'il reste de la base dans le milieu, l'acrylate est dégradé et ne réagit alors plus avec l'indole. D'autre part, il faut noter que la substitution nucléophile dure environ 18 heures alors que la cyclisation est très lente et s'effectue en 72 heures à reflux du toluène.

Le produit de substitution avec l'acrylate a été isolé avant que la cyclisation n'ait eu lieu.



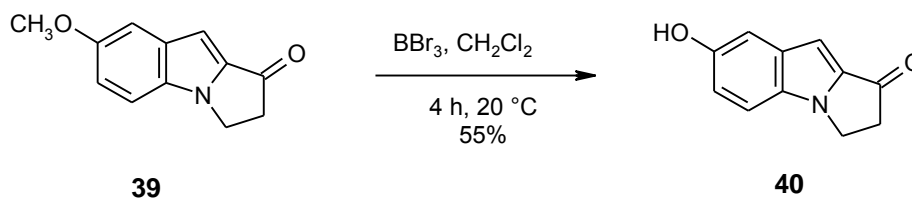
➤ Hydrolyse-décarboxylation de l'ester β -cétonique (Remers et Weiss, 1965):

L'ester β -cétonique obtenu est hydrolysé puis décarboxylé dans des conditions acides. Cette réaction s'effectue dans l'acide acétique à reflux pendant 22 heures.



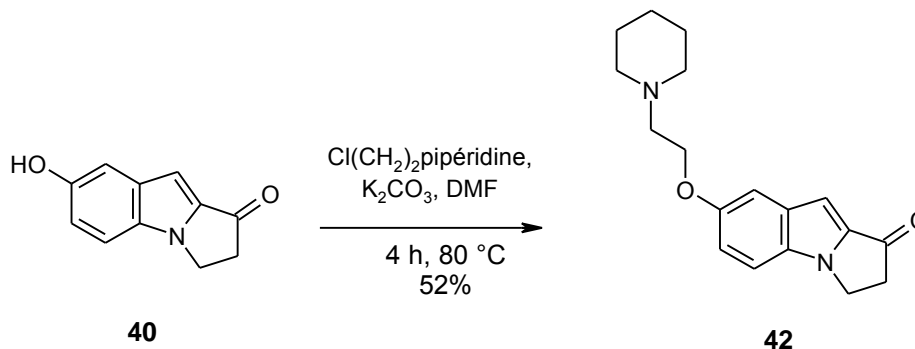
➤ Déméthylation du groupement méthoxy:

Le groupement méthoxy est déméthylé afin de démasquer la fonction phénol. Cette réaction est réalisée avec le tribromure de bore dans le dichlorométhane. Il est nécessaire d'utiliser 3 équivalents d'agent déméthylant pour obtenir une réaction totale. Nous n'avons pas observé la formation de produit secondaire lors de cette réaction en dépit d'un rendement moyen de 55%.



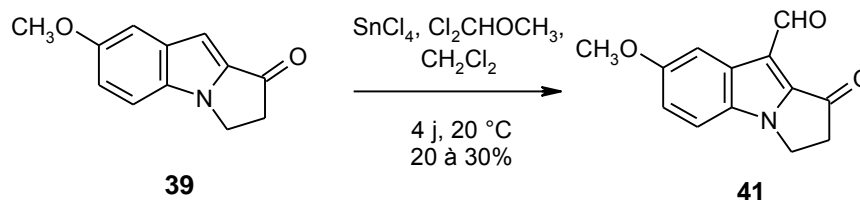
➤ Substitution nucléophile de la fonction phénol:

La fonction phénol est substituée par la 2-chloroéthylpipéridine dans le diméthylformamide. Le carbonate de potassium est utilisé comme base. Des lavages acido-basiques permettent d'éliminer le phénol de départ qui n'a pas réagi.



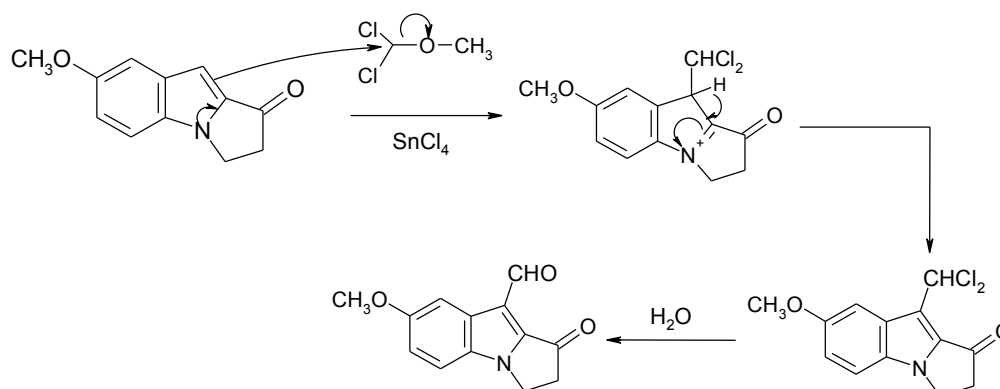
➤ Formylation en position 9:

La formylation du carbone β indolique a tout d'abord été réalisée par le dichlorométhylméthyléther et le chlorure stannique dans le dichlorométhane en suivant le protocole concernant la formylation du pyrroloindole non substitué (Zhang et al., 1996).

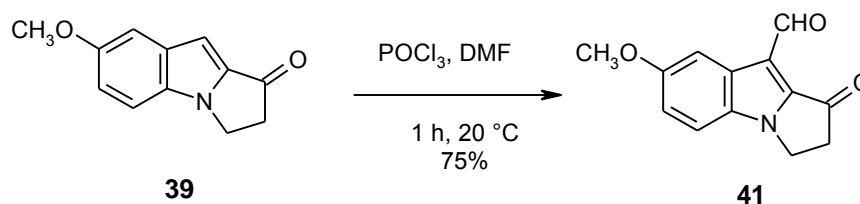


Les rendements de cette réaction sont très variables. Il faut travailler en milieu parfaitement anhydre. L'introduction du pyrroloindole **39** doit être réalisée à 0 °C, assez lentement afin que l'exothermicité de la réaction ne dégrade pas le produit, mais suffisamment rapidement afin que les vapeurs de chlorure stannique ne dégradent pas la molécule. La présence du groupement formyle est déterminée par RMN du proton qui montre clairement la disparition du proton 9. Le chlorure stannique joue le rôle de catalyseur.

Le mécanisme de la réaction est le suivant :

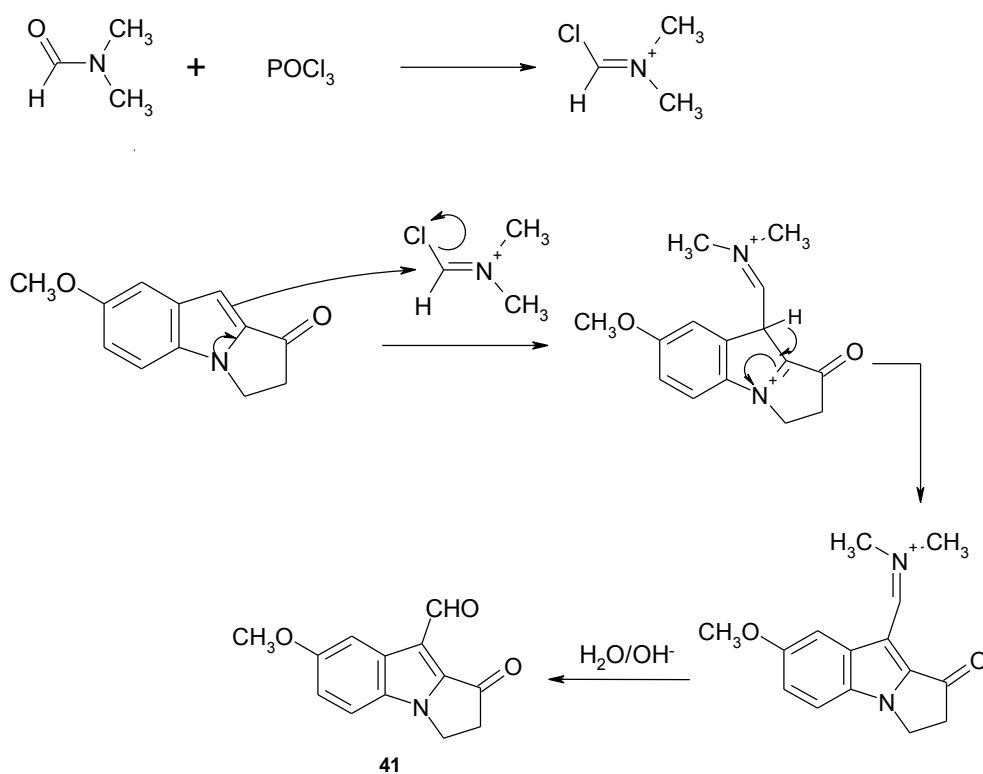


D'une part, les rendements obtenus par cette méthode sont assez faibles et varient de 20 à 30%. D'autre part, le temps de synthèse relativement long nous a conduit à envisager la réaction de formylation dans des conditions plus classiques, à savoir une réaction de Vilsmeier-Haack (Bell et al., 1991).



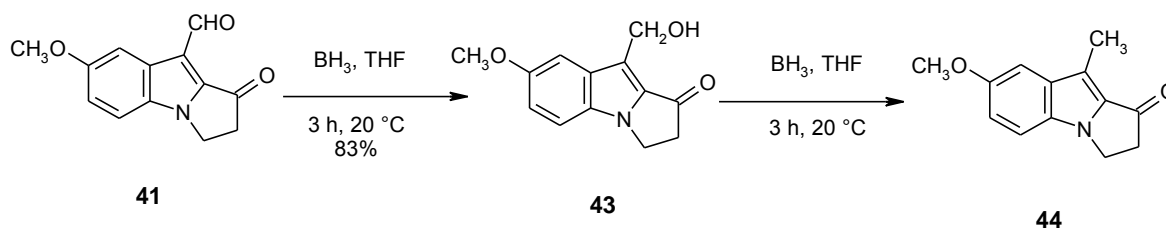
Cette réaction s'est déroulée de manière beaucoup plus aisée que la précédente : le temps de réaction a été considérablement diminué (1 heure au lieu de 4 jours), le traitement de la réaction est simplifié (le milieu réactionnel est beaucoup moins contaminé et il n'y a pas la présence des sels d'étain qui rendent les extractions difficiles) et surtout une amélioration considérable du rendement (75% au lieu de 30%) est constatée. Nous notons que la fonction cétone n'est pas touchée dans ces conditions et que le seul produit formé est le produit attendu.

Le mécanisme de la réaction est le suivant :

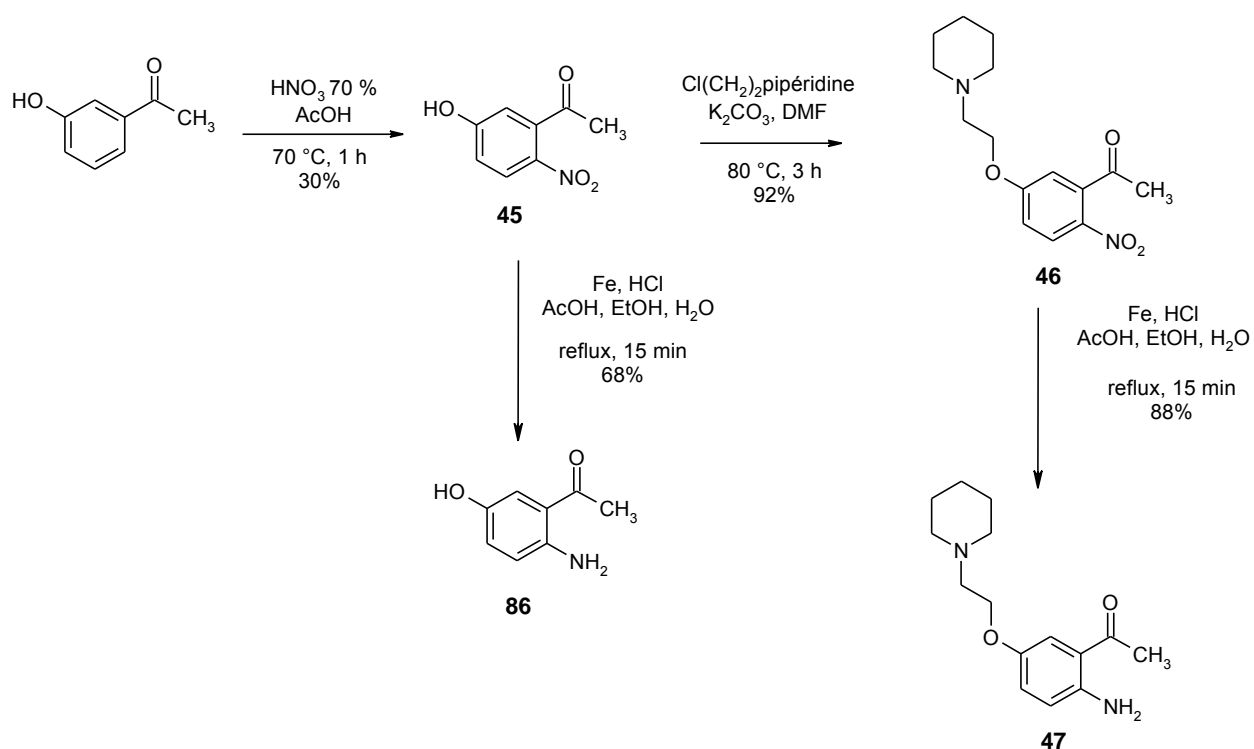


➤ Réduction de l'aldéhyde en alcool (Zhang et al., 1996):

La réduction de l'aldéhyde en alcool est réalisée par le borane (1 M dans le THF). Un contrôle précis du nombre d'équivalents (1 équivalent) permet de ne pas réduire la fonction alcool formée en groupement méthyle. Cette réaction doit également être réalisée en conditions anhydres. Une hydrolyse douce du complexe borane-molécule permet de ne pas dégrader la molécule.



2. Synthèse des 2-aminoacétophénones **86** et **47**.



Nous avons tout d'abord réalisé la nitration de la 3-hydroxyacétophénone (Klinke et Gibian, 1961). Cette réaction est réalisée grâce à de l'acide nitrique 70 % de densité 1,40 dans

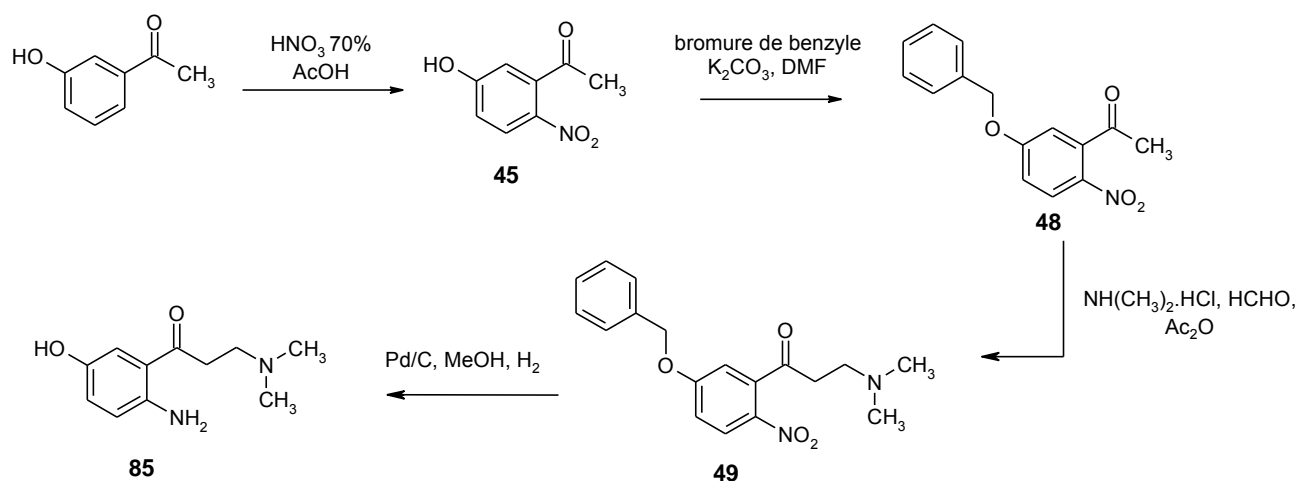
l'acide acétique. Trois régioisomères sont obtenus : les 2-nitro-, 4-nitro-, 6-nitro-3-hydroxyacétophénonnes. Le rendement global de la nitration est d'environ 60%. L'isomère majoritaire (rendement de 30%) est le produit désiré. Ces trois isomères sont séparés par recristallisation dans différents solvants : le dérivé nitré en 6 recristallise seul dans le benzène. Le filtrat contient les dérivés nitrés en 2 ou 4. D'après la littérature, l'isomère substitué en 2 recristallise dans le tétrachlorure de carbone alors que le dérivé nitré en 4 recristallise dans l'éther diisopropylique.

L'isomère désiré peut également être obtenu par séparation sur colonne chromatographique de silice.

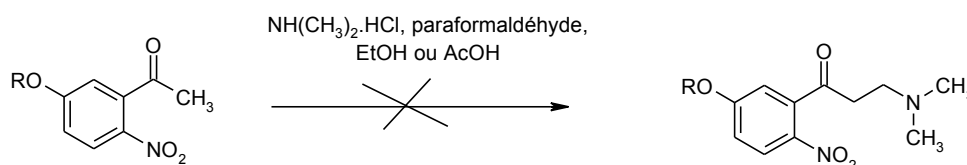
La fonction phénol est ensuite substituée dans des conditions classiques par la 2-chloroéthylpipéridine avec un rendement supérieur à 90%. Enfin, la fonction nitro est réduite selon Béchamp.

Afin d'obtenir les benzopyrrolizinoquinoléines substituées par un fonction phénol sur le cycle quinoléinique, la fonction nitro du composé **45** est réduite selon Béchamp.

3. Synthèse de la β -diméthylaminopropiophénone **85**.



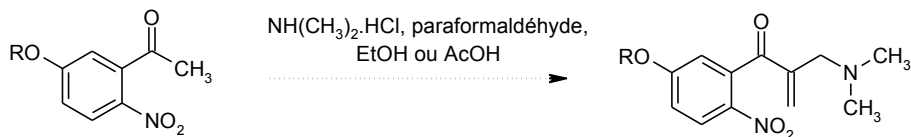
➤ Réaction de Mannich avec le paraformaldéhyde.



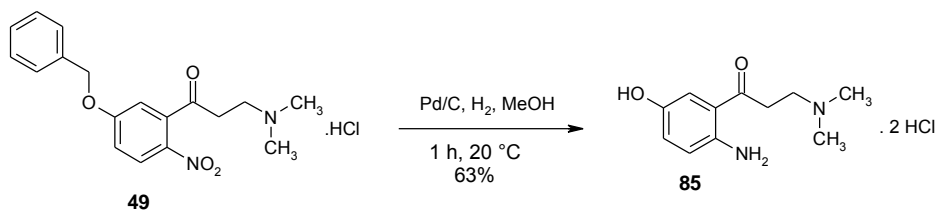
R = H ou (CH₂)₂-pipéridine

Nous avons essayé à plusieurs reprises de réaliser la réaction de Mannich sur la 5-hydroxy-2-nitroacétophénone ou sur la 2-nitro-5-(2-[1-pipéridino]éthoxy)acétophénone avec le

paraformaldéhyde et le chlorhydrate de diméthylamine. Nous avons réalisé plusieurs essais dans l'éthanol mais nous avons récupéré l'intégralité de l'acétophénone mise en jeu. Nous avons ensuite essayé de travailler dans l'acide acétique. Nous avons observé la formation d'un produit mais la réaction n'était pas totale. D'autre part, une étude bibliographique (Back, 1970) nous a révélé que dans ces conditions, nous aurions obtenu une acrylophénone à la place du produit désiré. Nous n'avons donc pas poursuivi dans cette voie.

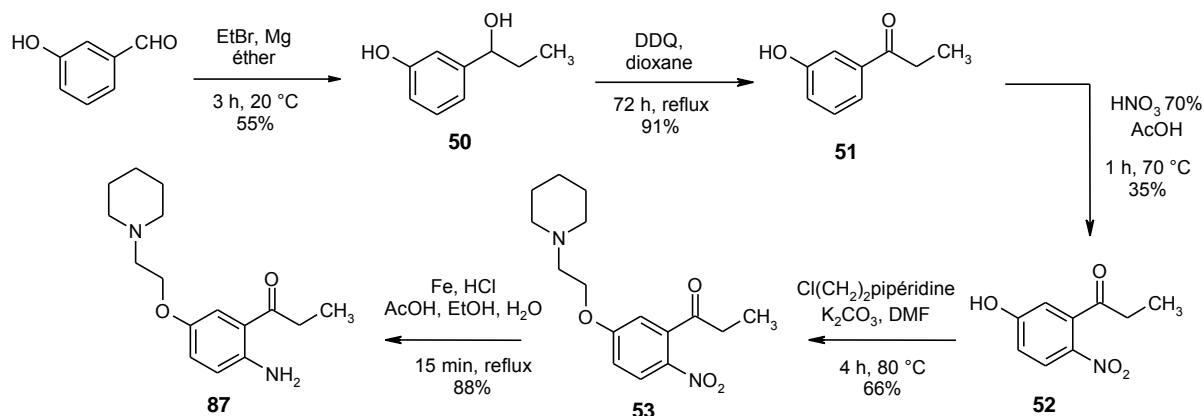


R = H ou (CH₂)₂-pipéridine

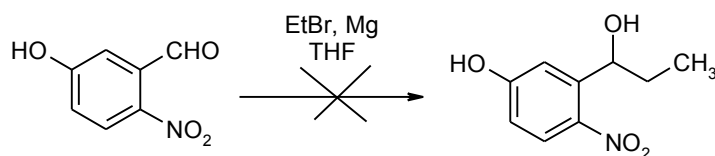
➤ Débenzylation et réduction de la fonction nitro.

L'hydrogénation sous pression atmosphérique en présence de palladium sur charbon permet de déprotéger la fonction phénol et de réduire la fonction nitro. Cette réaction est réalisée avec un bon rendement de 63%.

4. Synthèse de la 2-amino-5-[2-(1-pipéridino)éthoxy]propiophénone.

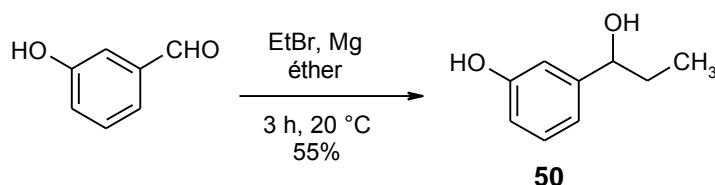


➤ Réaction de Grignard sur le 5-hydroxy-2-nitrobenzaldéhyde:



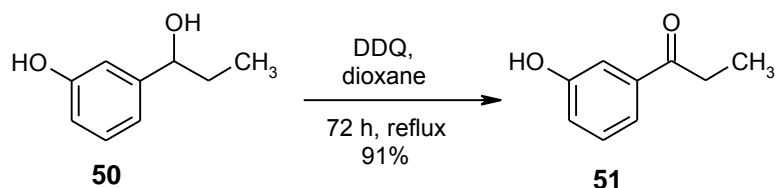
Nous avons essayé de réaliser un Grignard sur le 5-hydroxy-2-nitrobenzaldéhyde. Bien que nous nous soyons placés dans des conditions anhydres et qu'un excès d'organomagnésien ait été utilisé (2 ou 5 équivalents), nous avons récupéré intégralement l'aldéhyde. Il semble que ce manque de réactivité soit dû à la fonction nitro. Nous avons donc envisagé de réaliser le Grignard sur le 3-hydroxybenzaldéhyde et d'effectuer la nitration ensuite.

➤ Réaction de Grignard sur le 3-hydroxybenzaldéhyde (Bird et al., 1991):



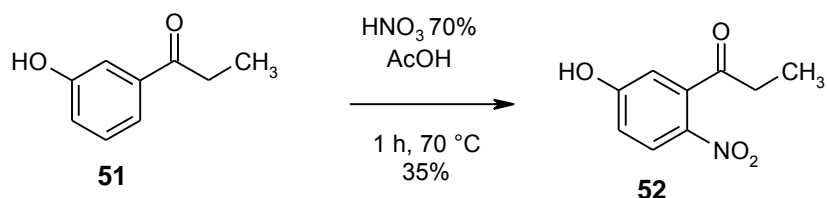
Cette réaction a été utilisée en utilisant le même protocole que précédemment. Cet aldéhyde étant plus soluble, nous avons remplacé le THF par de l'éther sec. Bien qu'il n'y ait pas eu formation de co-produit, le rendement de 55% est expliqué par le fait que la réaction n'est pas totale et qu'il reste une quantité assez importante d'aldéhyde qui n'a pas réagi.

➤ Oxydation de l'alcool en cétone:



L'oxydation de l'alcool en cétone est réalisée par la DDQ dans le dioxane. Cette réaction est réalisée selon le procédé décrit par Bird et al., 1991. Les rendements obtenus sont très satisfaisants (91%).

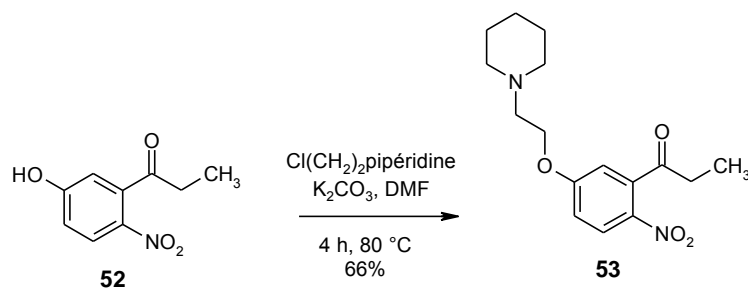
➤ Nitration de la 3-hydroxypropiophénone:



Nous avons repris le protocole utilisé dans le cas de la 3-hydroxyacétophénone. Nous n'avons pas observé la formation du composé nitré en 2, ce qui peut être expliqué par l'encombrement stérique supérieur qui empêche l'approche de l'électrophile. Les 2 régioisomères formés (le 4- et le 6-nitro) sont séparés par chromatographie sur colonne de silice.

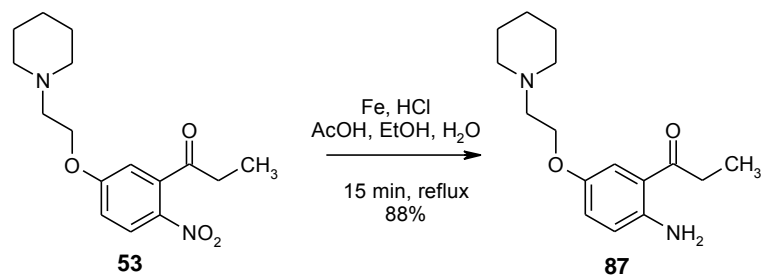
➤ Substitution nucléophile de la fonction phénol:

La fonction phénol est ensuite substituée dans des conditions classiques par la 2-chloroéthylpipéridine avec un rendement de 66%.



➤ Réduction de la fonction nitro:

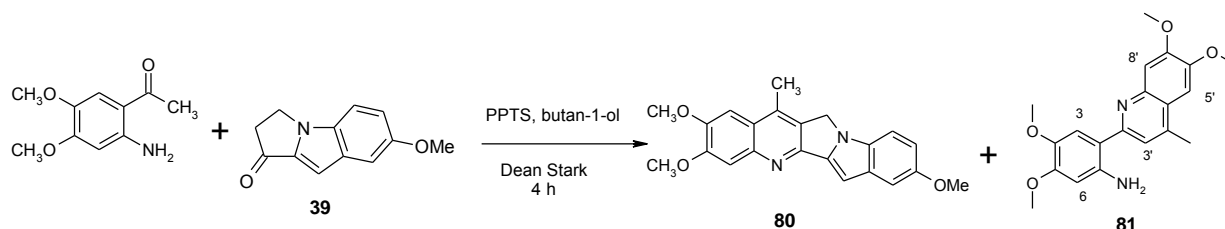
Enfin, la fonction nitro est réduite selon Béchamp avec un rendement de 88%.



5. Réaction de Friedländer.

➤ Avec la 2-amino-4,5-diméthoxyacétophénone:

Nous avons tout d'abord réalisé un essai avec une aminoacétophénone commerciale et le méthoxypyrroloindole.



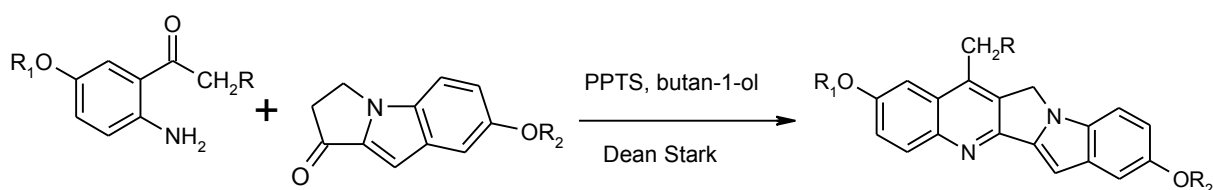
Cet essai nous a permis de mettre au point les conditions réactionnelles. La réaction est réalisée à reflux en 4 heures. Un appareillage de Dean-Stark permet une distillation azeotropique de l'eau formée pendant la réaction. Le para-toluène sulfonate de pyridinium est utilisé en tant que catalyseur acide.

Le milieu réactionnel est très propre et le produit attendu a été obtenu avec un rendement correct (environ 50%).

Un co-produit de structure arylquinoléinique a également été identifié. Il est probable que la formation de ce composé soit due à l'excès d'acétophénone utilisée (3 équivalents). Une étude concernant la formation de ce composé est en cours afin de déterminer si cette réaction revêt un caractère original ou si elle est commune à un grand nombre d'acétophénones.

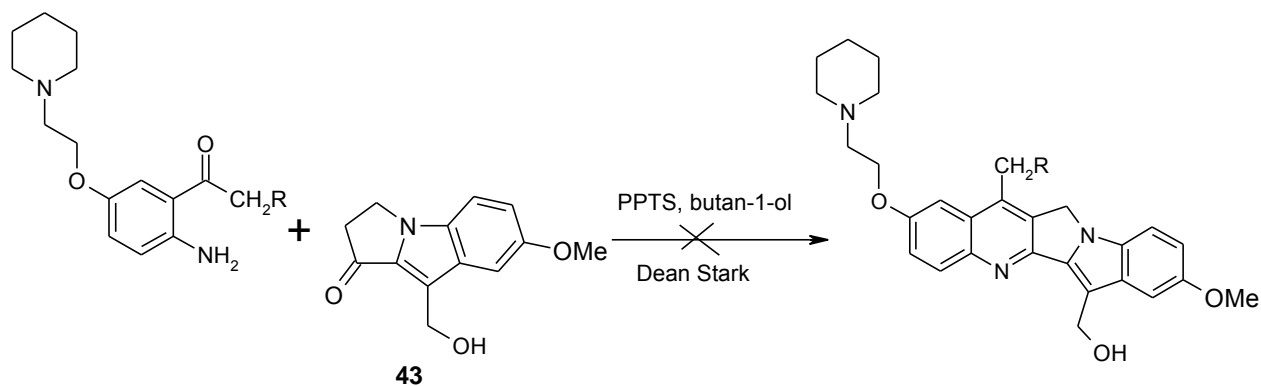
➤ Avec les aminoacétophénones préalablement synthétisées:

Ces réactions ont été réalisées par distillation azeotropique dans le butanol en présence de p-toluènesulfonate de pyridinium comme catalyseur (Chackal et al., 2002). Les temps de réaction sont relativement courts et varient de 2 heures à 5 heures. Le milieu réactionnel montre la formation du produit attendu comme produit majoritaire. Les produits attendus sont obtenus avec des rendements corrects de l'ordre de 50%. Nous n'avons pas observé la formation d'arylquinoléines avec les aminoacétophénones utilisées.



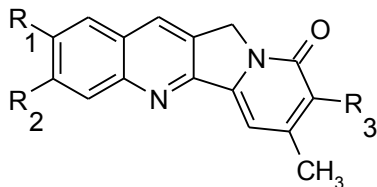
	R	R₁	R₂	Rdt
71	H	-(CH ₂) ₂ -pipéridine	H	38%
72	H	-(CH ₂) ₂ -pipéridine	CH ₃	40%
73	H	-(CH ₂) ₂ -pipéridine	-(CH ₂) ₂ -pipéridine	57%
74	CH ₃	-(CH ₂) ₂ -pipéridine	H	41%
75	CH ₃	-(CH ₂) ₂ -pipéridine	CH ₃	44%
88	H	H	H	38%
89	H	H	-(CH ₂) ₂ -pipéridine	46%

➤ Avec le pyrroloindole **43**.



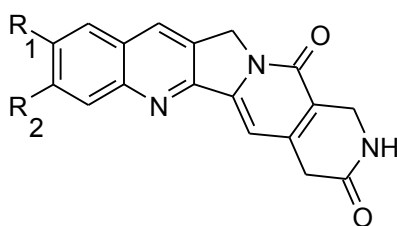
Nous n'avons pas obtenu les benzopyrrolizinoquinoléines attendues avec la cétone **43**. La CCM du milieu réactionnel indique la formation de plusieurs produits. Nous pensons qu'une réaction d'hémiacétalisation entre la fonction alcool primaire et la fonction cétone de l'aminocétone a eu lieu. Pour pallier ce problème, nous comptons protéger la fonction alcool par un groupement acétyle qui sera ensuite éliminé après la réaction de Friedländer.

RESULTATS
PHARMACOLOGIQUES

Structure des molécules testées:


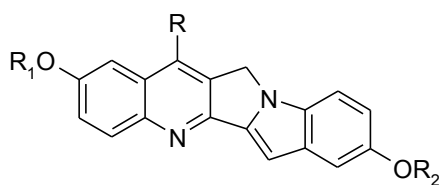
indolizinoquinoléine

	R ₁	R ₂	R ₃
60	H	O-CH ₂ CH ₂ -pipéridine	CH ₂ NH ₂
61	O-CH ₂ CH ₂ -pipéridine	H	CH ₂ NH ₂
62	H	H	CH ₂ NH ₂
63	H	O-CH ₂ CH ₂ -pipéridine	CONH ₂
64	O-CH ₂ CH ₂ -pipéridine	H	CONH ₂
65	H	H	CONH ₂
66	H	O-CH ₂ CH ₂ -pipéridine	COOH
67	O-CH ₂ CH ₂ -pipéridine	H	COOH
68	H	H	COOH



quinopyrrolonaphthyridine

	R ₁	R ₂
69	H	O-CH ₂ CH ₂ -pipéridine
70	O-CH ₂ CH ₂ -pipéridine	H



benzopyrrolizinoquinoléine

	R ₁	R	R ₂
71	CH ₂ CH ₂ -pipéridine	CH ₃	H
72	CH ₂ CH ₂ -pipéridine	CH ₃	CH ₃
73	CH ₂ CH ₂ -pipéridine	CH ₃	CH ₂ CH ₂ -pipéridine
74	CH ₂ CH ₂ -pipéridine	CH ₂ CH ₃	H
75	CH ₂ CH ₂ -pipéridine	CH ₂ CH ₃	CH ₃
88	H	CH ₃	H
89	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ -pipéridine

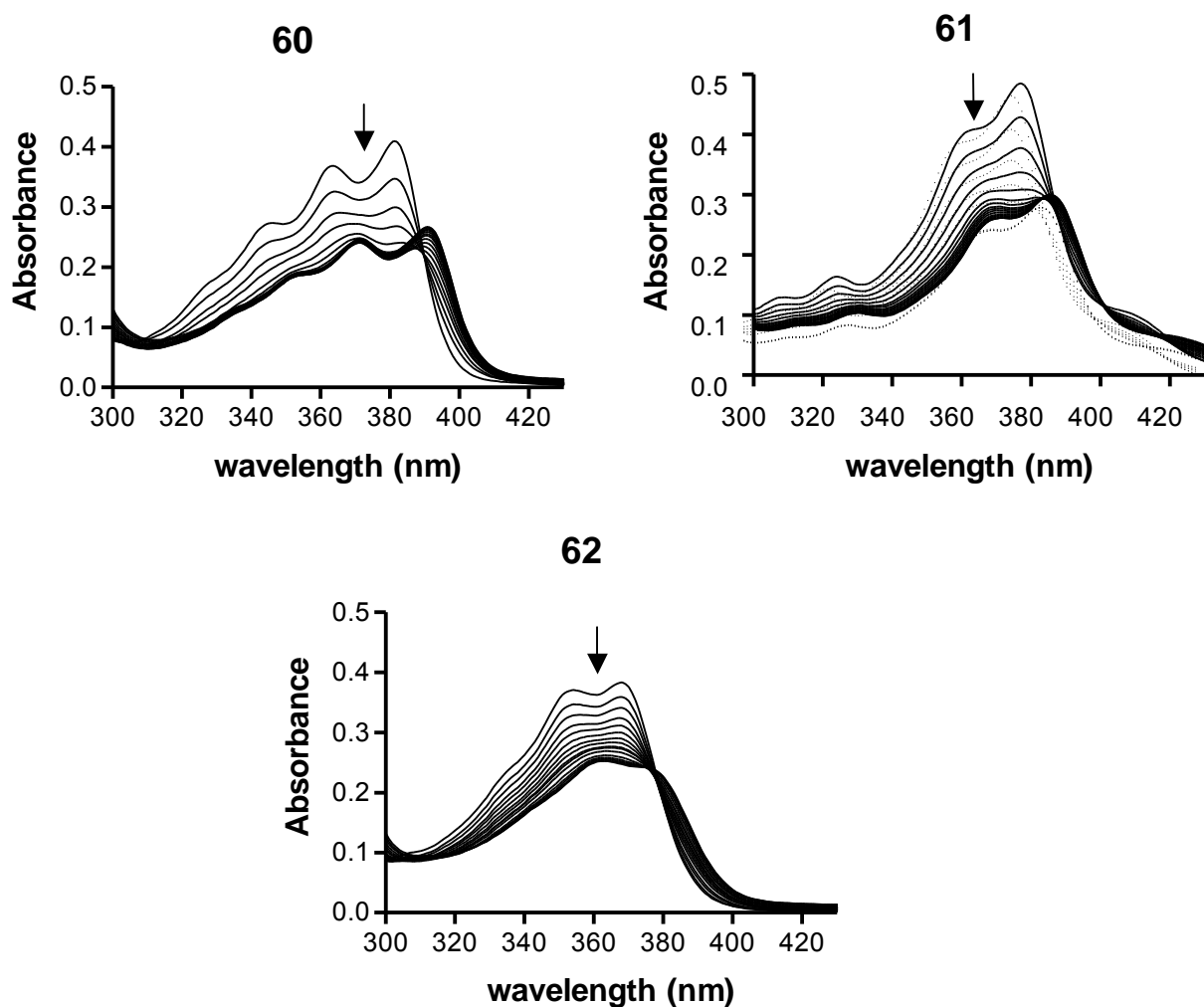
I. Interaction avec l'ADN.

Ces tests ont été effectués par l'équipe du Docteur Christian Bailly (INSERM U524, Lille) et par le Docteur Jean-François Goossens (EA 2692).

1) Spectroscopie UV:

L'interaction des pyrroloquinoléines avec l'ADN a été mise en évidence par spectroscopie UV. Pour cela, on mesure les variations de l'absorbance du composé (20 μ M) dans une solution tampon phosphate-EDTA (BPE) en présence de concentrations croissantes d'ADN. Lorsqu'il y a interaction de la molécule testée avec l'ADN, on observe des modifications du spectre d'absorption. L'hypochromicité (diminution de l'absorbance pour une longueur d'onde donnée) et l'effet bathochrome (déplacement du maximum d'absorbance vers des longueurs d'onde supérieures) traduisent l'interaction du composé avec l'ADN.

Voici les courbes correspondant aux indolizino[1,2-*b*]quinoléines portant une fonction amine primaire **60-62**.



L'interaction des pyrroloquinoléines **60-68** avec l'ADN a été mise en évidence par spectroscopie d'absorption. Pour chaque composé, nous avons observé des effets hypochrome et bathochrome importants. Par ailleurs, chaque composé montre un comportement isobestique, caractéristique d'une interaction homogène avec l'ADN.

C'est avec les composés **60-62**, portant une fonction amine primaire, que nous avons observé les plus grandes différences d'absorbance; c'est pourquoi nous avons choisi de détailler l'étude de ces composés qui sont significatifs de la série étudiée. Les 3 composés montrent une interaction avec l'ADN.

Les composés **60** et **61** semblent avoir un effet hypochrome ($\Delta A = 0,20$) plus important que celui présenté par **62** ($\Delta A = 0,15$). L'effet bathochrome observé est également plus marqué : $\Delta \lambda = 15$ nm pour les composés **60** et **61** alors que cette variation est de 10 nm pour le composé **62**. Ceci laisse supposer une interaction avec l'ADN plus forte pour les composés **60** et **61** que pour **62**. L'introduction d'une chaîne solubilisante semble donc bénéfique pour l'interaction avec l'ADN.

Nous pouvons donc supposer que, dans la série des indolizinoquinoléines, la fonction amine primaire renforce l'affinité pour l'ADN et que l'introduction d'une chaîne salifiable sur le cycle quinoléinique est bénéfique.

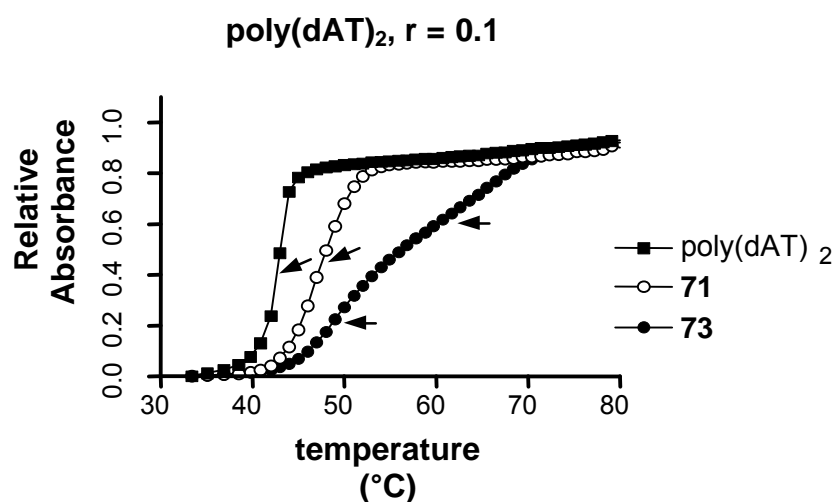
2) Test de dénaturation thermique:

La double hélice d'ADN possède une absorption propre (centrée sur 260 nm) qui est inférieure à la somme des absorptions des deux brins séparés. Lorsque la température augmente, la double hélice se désapparie progressivement et on observe une augmentation de l'absorbance. L'étude de l'absorbance de la molécule d'ADN en fonction de la température permet de tracer une courbe dont la progression est sigmoïde. Le point d'inflexion de cette courbe appelé température de dénaturation ou T_m correspond à la température pour laquelle l'ADN est présent à 50% sous la forme double hélice et à 50% sous la forme de deux brins séparés. Nous pouvons observer sur le graphique ci-dessous que cette valeur est voisine de 42 °C, pour le polymère poly(dAT)₂ dans les conditions expérimentales fixées (BPE).

L'interaction d'un ligand avec l'ADN entraîne généralement une stabilisation de la double hélice, ce qui se traduit par une augmentation de la température de dénaturation. Sur le graphique ci-dessous, on voit que la température de dénaturation de l'ADN lié au composé **71** est fortement augmentée. La détermination du point d'inflexion, par la courbe de dérivé première, indique un gain de T_m de 4 °C (évolution de 42 à 46 °C).

La différence entre la température de dénaturation de l'ADN seul et celle de l'ADN lié au ligand, notée ΔT_m , caractérise le pouvoir stabilisant du ligand étudié. Cette mesure est proportionnelle à l'affinité du ligand pour l'ADN, ce qui permet de comparer les affinités relatives dans une même série chimique.

Le graphique ci-dessous montre également la courbe obtenue avec le composé **73** : on observe deux points d'inflexion. Il s'agit d'une courbe dite biphasique.



Conditions de l'expérience:

 ADN utilisés: ADN poly (dAT)₂

ADN de thymus de veau (42% de paires de base GC)

Solution à 20 μM d'ADN

1 molécule de ligand pour 2 nucléotides (r = 0,5).

Résultats :

	DT_m		DT_m	
	ADN poly (dAT) ₂	ADN de thymus de veau	ADN poly (dAT) ₂	ADN de thymus de veau
60	28,6 °C	19,4 °C	71	9,0 °C
61	19,8 °C	13,6 °C	72	11,0 °C
62	3,0 °C	1,9 °C	73	ΔT _{m1} = 36,2 °C ΔT _{m2} = 47,2 °C
63	12,8 °C	4,6 °C	74	7,0 °C
64	5,8 °C	1,2 °C	75	9,0 °C
65	0 °C	0 °C		
66	3,0 °C	ND		
67	0 °C	ND		
68	0 °C	ND		
69	2,0 °C	ND		
70	1,0 °C	ND		

La double hélice d'ADN est stabilisée par les liaisons hydrogène formées entre les bases. L'ADN de thymus de veau qui possède des plateaux GC est plus stable que le polymère poly d(AT)₂ qui ne possède que des plateaux AT. En effet, un plateau GC est stabilisé par 3 liaisons hydrogène et un plateau AT par 2 liaisons. La température de désappariement est donc plus élevée pour l'ADN de thymus de veau dans les mêmes conditions expérimentales.

Discussion :

Dans la série des indolizinoquinoléines (composés **60-68**), on observe une stabilisation de la double hélice de l'ADN, mise en évidence par ΔT_m , pour les composés possédant une chaîne latérale pipéridinoéthoxy (composés **60, 61, 63, 64**).

En ce qui concerne la fonction portée par le cycle pyridone, l'introduction d'une fonction acide carboxylique (**66-68**) ne permet pas de stabiliser l'ADN : le ΔT_m est très faible voire nul. Par contre, la substitution du motif hétérocyclique par une fonction amine primaire stabilise fortement la double hélice : les ΔT_m sont très marqués et atteignent la valeur de 28,6 °C. Nous pouvons également constater que la fonction amine primaire (**60-62**) (ΔT_m moyen = 17 °C) stabilise davantage l'ADN que la fonction amide (**63-65**) (ΔT_m moyen = 6 °C).

L'introduction d'un cycle supplémentaire (quinopyrrolonaphthyridines **69 et 70**) montre un ΔT_m très faible, ce qui sous-entend une faible interaction avec l'ADN. L'introduction de ce cycle semble donc plutôt défavorable.

Dans la série des benzopyrrolizinoquinoélines, tous les composés entraînent une stabilisation de la double hélice. Le groupement méthyle ou éthyle porté par le cycle quinoléinique n'induit pas de modification en ce qui concerne l'interaction avec l'ADN. On peut remarquer que l'insertion d'un groupement hydroxyle ou méthoxy (**71, 72, 74, 75**) entraîne un ΔT_m de l'ordre de 8 °C, ce qui laisse supposer une interaction correcte avec l'ADN. L'introduction d'un deuxième groupement pipéridinoéthoxy (**73**) entraîne l'apparition d'un deuxième point d'inflexion dans la mesure de l'absorbance en fonction de la température (courbe biphasique). Ceci peut être expliqué par le fait que cette molécule interagit par deux modes d'interaction distincts avec l'ADN (deux mécanismes d'interaction différents ou deux types de sites d'interaction). Le ΔT_m observé avec ce composé est très marqué (48,7 °C) ce qui laisse supposer que ce deuxième mode d'interaction stabilise fortement la double hélice. Le composé **73** est clairement un excellent ligand de l'ADN, tout au moins en terme d'affinité.

3) Mesure de la constante d'affinité pour l'ADN:

Les études de fluorescence permettent de quantifier l'interaction des composés pour l'ADN.

Méthode:

La méthode consiste à mesurer la fluorescence d'un agent intercalant de référence, le bromure d'éthidium (BET) (1,26 μM) en présence d'ADN (1 μM) et de concentrations variables en ligand étudié.

Le principe de cette méthode repose sur le « quenching » de fluorescence du BET provoqué par l'oxygène dissous dans la solution aqueuse. En présence d'ADN, l'intercalation du BET entre les plateaux de paires de bases conduit à une « protection » du fluorophore vis-à-vis du milieu extérieur alors qu'en solution, l'émission de fluorescence du BET dans le domaine du visible ($\lambda_{\text{ex}} = 546 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 595 \text{ nm}$, rouge) est atténuée

L'addition dans le milieu d'une molécule affine pour l'ADN provoque une compétition entre le BET et le composé, ce qui se traduit par un « quenching » de fluorescence et une émission à 595 nm diminuée, dans nos conditions, d'un facteur 7. La variation de concentration en ligand testé provoque un déplacement du BET de l'ADN vers le milieu aqueux expérimental. Une diminution de fluorescence est enregistrée, pour chaque concentration étudiée, à partir de la courbe exprimant la variation d'émission de fluorescence en fonction de la concentration en ligand testé. La constante d'affinité apparente du ligand se calcule alors par l'équation :

$$K_{\text{app}} = (1,26/\text{IC}_{50}) \times K_{\text{BET}}$$

où $K_{\text{BET}} = 10^7 \text{ M}^{-1}$ (Morgan et al, 1979) et IC_{50} représente la concentration en ligand qui chasse 50% du BET.

Résultats:

	$K_{\text{app}} (\text{M}^{-1})$		$K_{\text{app}} (\text{M}^{-1})$
60	$8,4 \cdot 10^6$	69	$0,3 \cdot 10^3$
61	$2,5 \cdot 10^6$	70	$0,4 \cdot 10^3$
62	$6,2 \cdot 10^4$	71	$4,2 \cdot 10^6$
63	$2,0 \cdot 10^5$	72	$2,8 \cdot 10^6$
64	$2,9 \cdot 10^5$	73	$8,6 \cdot 10^6$
65	$< 10^3$	74	$1,8 \cdot 10^6$
66	$3,0 \cdot 10^4$	75	$3,5 \cdot 10^6$
67	$1,2 \cdot 10^4$		
68	$< 10^3$		

L'ensemble des composés, excepté les composés **65** et **68**, montrent une affinité raisonnable pour l'ADN.

Le squelette quinopyrrolonaphthyridine semble le moins affiné des trois squelettes étudiés ($K_{app} = 0,3 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$). L'interaction des indolizinoquinoléines avec l'ADN dépend fortement des fonctions portées sur l'hétérocycle. Par contre, le squelette benzopyrrolizinoquinoléine montre une forte affinité pour l'ADN quelles que soient les modulations envisagées et nous pouvons donc conclure qu'un squelette linéaire semble plus favorable qu'un squelette en croissant pour l'interaction avec l'ADN.

Dans la série des indolizinoquinoléines, l'introduction d'une chaîne pipéridinoéthoxy sur le cycle quinoléinique augmente fortement l'affinité. En effet, les résultats montrent une affinité multipliée par 100 lorsque la chaîne est présente. L'introduction de cette chaîne en position 2 ou en position 3 ne semble pas modifier considérablement la force de l'interaction. Toutefois, l'interaction est plus forte lorsque la chaîne est introduite en position 3. En ce qui concerne la fonction portée par le cycle pyridone, la fonction amine primaire confère la meilleure affinité pour l'ADN devant la fonction amide et la fonction acide carboxylique. Ces trois fonctions sont donneurs et/ou accepteurs de liaisons hydrogène; ce type de liaison ne semble donc pas déterminant dans l'interaction avec l'ADN. La fonction amine diffère par le fait qu'elle est capable de former des liaisons électrostatiques, probablement avec les phosphates de l'ADN, ce qui semble augmenter considérablement l'affinité.

Dans la série des quinopyrrolonaphthyridines, le cycle supplémentaire possédant une fonction lactame ne permet pas d'établir une bonne interaction avec l'ADN.

Dans la série des benzopyrrolizinoquinoléines, l'introduction d'un groupement hydroxyle ou méthoxy en position 8 influe peu sur la constante d'affinité pour l'ADN. Par contre, l'insertion d'une deuxième chaîne pipéridinoéthoxy augmente considérablement l'affinité pour l'ADN. Le remplacement du groupement méthyle porté par la quinoléine par un groupe éthyle ne semble pas influencer sur l'interaction avec l'ADN.

Conclusion :

En ce qui concerne l'interaction avec l'ADN, le squelette benzopyrrolizinoquinoléine montre la meilleure affinité. Comme nous l'avions supposé dans la partie conception, un squelette plus rectiligne est préférable à un motif en croissant pour l'affinité à l'ADN.

L'introduction d'une ou plusieurs chaînes pipéridinoéthoxy est très favorable.

Dans la série des benzopyrrolizinoquinoléines, le composé **73** possédant deux chaînes pipéridinoéthoxy semble très prometteur puisqu'il est très affiné pour l'ADN ($K_{app} = 8,6.10^6 M^{-1}$) et qu'il stabilise fortement la double hélice. De plus, les premiers tests suggèrent qu'il possède deux modes d'interaction avec l'ADN.

L'introduction d'un groupement méthyle ou éthyle sur la quinoléine semble peu influent. La substitution de la position 8 par un groupement hydroxyle est légèrement plus favorable que par un groupe méthoxy.

Dans la série des indolizinoquinoléines, l'introduction d'une chaîne solubilisante est essentielle : l'affinité est alors multipliée par 100. Les composés possédant une fonction amine primaire se démarquent : ils sont 10 fois plus affins que ceux possédant une fonction amide et 100 fois plus que ceux ayant une fonction acide. Dans cette série, le squelette n'empêche pas l'interaction avec l'ADN mais il est insuffisant pour que cette interaction soit forte. Les deux éléments importants de l'interaction sont donc la fonction amine primaire et la chaîne salifiable.

II. Etude du mode de fixation à l'ADN.

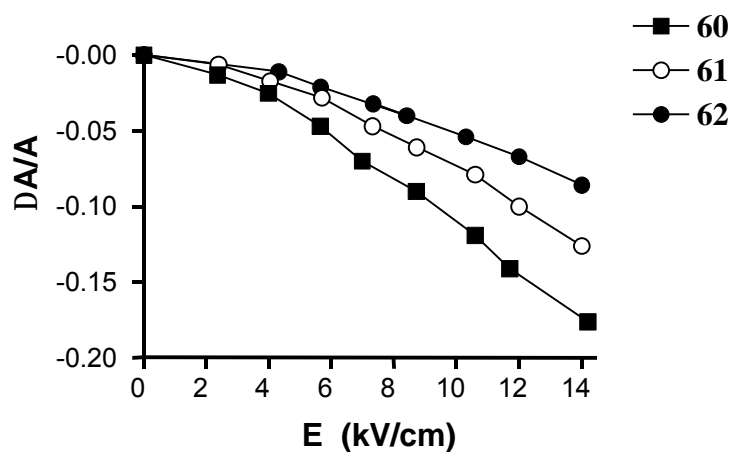
1. Etude par dichroïsme linéaire électrique:

Méthode :

Le dichroïsme linéaire électrique permet de savoir si la molécule s'intercale entre les plans de bases de l'ADN ou se loge dans le petit sillon de l'ADN. Cette méthode repose sur la différence d'absorption observée dans un milieu rendu anisotrope par l'application d'un champ électrique et traversé par un faisceau de lumière polarisée. Les molécules d'ADN s'orientent alors de façon parallèle au champ et les plateaux de paires de bases sont perpendiculaires à celui-ci. Il en résulte une orientation privilégiée des moments électriques de transition μ_e . La solution est traversée par un faisceau de lumière polarisée incident. Les faisceaux résultants parallèle ($A_{//}$) et perpendiculaire (A_{\perp}) au champ sont mesurés. On se place alors à la longueur d'onde maximale du chromophore et le dichroïsme réduit ($\Delta A/A$) est calculé par l'expression:

$$\Delta A/A = (A_{//} - A_{\perp})/A$$

- $\Delta A/A < 0$ le moment de transition est parallèle à celui des plateaux de paires de bases et perpendiculaire à l'axe d'orientation de l'ADN, c'est le cas des agents intercalants.
- $\Delta A/A = 0$ valeur obtenue pour une orientation de $54^{\circ}45'$ ou pour une orientation aléatoire des ligands.
- $\Delta A/A > 0$ le moment de transition est plus ou moins perpendiculaire à celui des plateaux de paires de bases et parallèle à l'axe d'orientation de l'ADN, c'est le cas des ligands du petit sillon.



Seuls les composés de structure indolizino[1,2-*b*]quinoléinique portant une fonction amine primaire ont été testés par cette méthode. L'étude de la variation du dichroïsme réduit en fonction de l'intensité du champ électrique montre que ces 3 composés présentent un dichroïsme réduit négatif, caractéristique d'un intercalant. Le composé **60** induit un dichroïsme plus marqué que les composés **61** et **62**. L'insertion de la chaîne solubilisante en 3 semble plus favorable pour l'intercalation de la molécule dans l'hélice d'ADN.

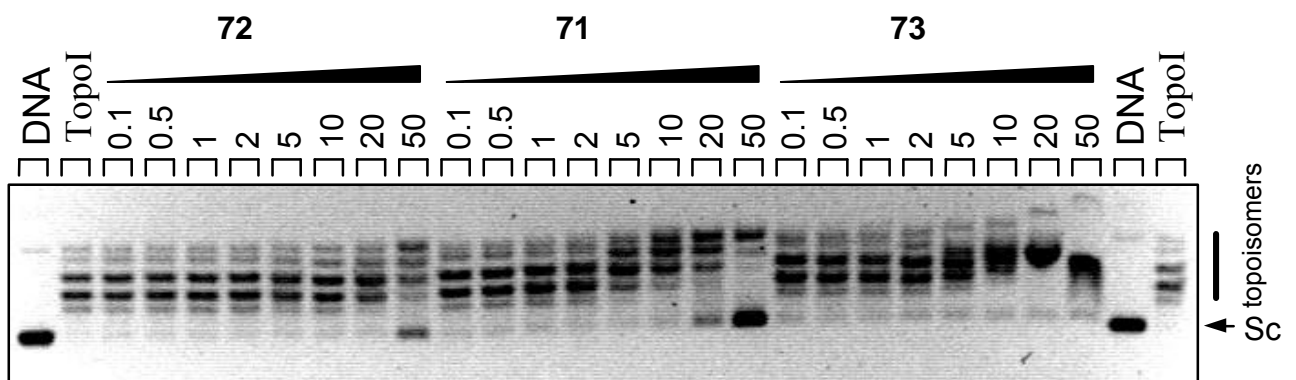
2. Test de détorsion de l'ADN.

Méthode:

Ce test permet d'évaluer la capacité des ligands étudiés à réenrouler l'ADN, préalablement relaxé par la topoisomérase I. Il permet une approche qualitative du mode d'interaction du ligand avec l'ADN : si le ligand étudié a la capacité de réenrouler l'ADN, c'est qu'il a pu s'intercaler entre les plateaux de bases.

Dans cette technique, on utilise de l'ADN circulaire superenroulé négativement extrait d'un plasmide bactérien. Cet ADN est relaxé par la topoisomérase I humaine en absence ou en présence du composé étudié. Les échantillons sont ensuite séparés par électrophorèse sur gel d'agarose horizontal. Après la migration, la révélation du gel est réalisée par le bromure d'éthidium.

Résultats:



Nous avons réalisé ce test sur 3 benzopyrrolizinoquinoléines substituées par un groupement méthyle. Les composés substitués par un groupe éthyle étant moins solubles et présentant le même profil que les précédentes, il n'a pas semblé nécessaire de les tester par cette méthode. Ce test sera réalisé ultérieurement sur les composés **88** et **89**.

La colonne 1 du gel représente l'ADN seul, dans sa forme superenroulée (Sc). La colonne 2 représente la migration de l'ADN en présence de topoisomérase I. Plusieurs fragments qui correspondent à différents états de relaxation sont observés.

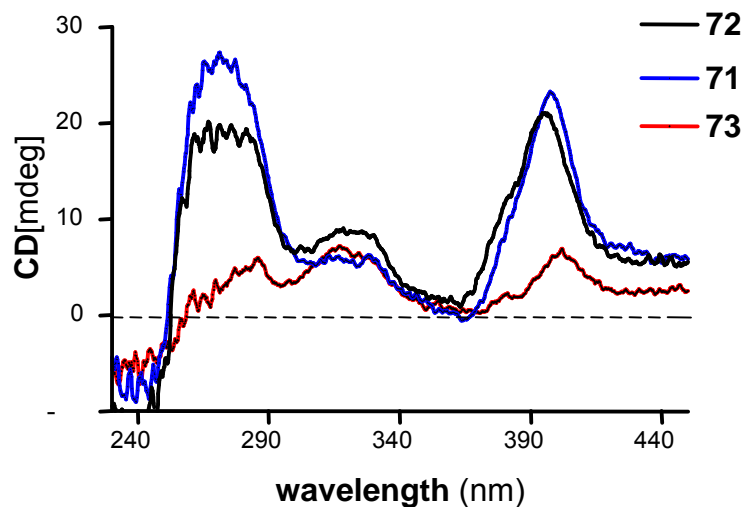
Nous avons ensuite étudié la détorsion de l'ADN en présence de concentrations croissantes (de 0,1 à 50 μM) de 3 benzopyrrolizinoquinoléines **71-73**. Pour le composé **72**, l'hélice d'ADN est réenroulée partiellement pour une concentration égale à 50 μM . Pour le composé **71**, la molécule d'ADN est réenroulée à partir de 20 μM . Ces deux composés n'ont donc pas une forte capacité à réenrouler l'ADN et on peut supposer que leur caractère intercalant est faible. Il semble donc qu'ils interagissent avec l'ADN par un autre mode d'action. Le composé **73**, pour lequel nous avons visualisé deux modes d'interaction distincts dans le test de température de dénaturation, réenroule

l'ADN à partir de 5 μM . Il manifeste donc un caractère intercalant plus marqué que les 2 composés précédents. Nous pouvons émettre l'hypothèse que ce composé interagit avec l'ADN, d'une part, par le mode de fixation, propre à cette série, qui reste à déterminer et, d'autre part, par intercalation. Ces conclusions sont des hypothèses qui doivent être validées par d'autres techniques telles que le dichroïsme circulaire ou le dichroïsme linéaire électrique.

3. Etude par dichroïsme circulaire:

Méthode :

Le dichroïsme circulaire résulte de l'activité optique d'une solution traversée par une lumière polarisée circulairement gauche puis droite. Il est défini par la différence d'absorbance entre deux faisceaux : $\Delta A = A_g - A_d$ où A_g représente l'absorbance en lumière polarisée circulairement gauche et A_d l'absorbance en lumière polarisée circulairement droite. Dans le cas présent, la méthode est basée sur la différence d'absorption observée pour l'ADN seul (qui possède son propre CD dû aux interactions entre des bases voisines) et pour l'ADN en présence du ligand étudié. La fixation du ligand perturbe la structure de la double hélice et crée des effets d'écran entre les bases, ce qui modifie les absorbances résultantes. Le dichroïsme circulaire (CD) est mesuré en fonction de la longueur d'onde. En règle générale, la fixation d'une molécule dans le petit sillon de l'ADN se traduit par l'apparition d'un signal dichroïque positif ($\Delta A > 0$) alors que les agents intercalants donnent lieu un signal dichroïque de signe négatif et d'amplitude faible, voire aucun signal dans la plus part des cas ($\Delta A < 0$ ou $= 0$). Cependant, il s'agit là d'un comportement général, relativement empirique. La théorie du CD est fort complexe et le moindre mouvement du ligand à l'intérieur d'un site de fixation, par exemple pour une molécule plus ou moins insérée entre les paires de bases de l'ADN, peut induire des variations importantes du signal CD (Lyng et al., 1991 ; Lyng et al., 1992). C'est pourquoi il est nécessaire de confronter les résultats des analyses de dichroïsme circulaire par d'autres méthodes biochimiques ou spectroscopiques (dichroïsme linéaire électrique notamment).

Résultats:

Pour les trois composés, on observe un signal de dichroïsme circulaire positif entre 320 et 400 nm. Ceci est caractéristique du comportement d'un ligand du petit sillon. On remarque également que les composés **71** et **72** montrent un signal marqué dans cette zone de longueur d'onde alors que le composé **73** entraîne un signal plus faible. Or, le composé **73** est celui qui possède la meilleure affinité pour l'ADN. Ce résultat semble donc corrélé avec le changement du mode de fixation observé lors du test de température de dénaturation.

Cette technique suggère donc que les composés **71** et **72** interagissent avec l'ADN en se positionnant dans le petit sillon alors que le composé **73** est un moins bon ligand du petit sillon mais probablement un meilleur agent intercalant. Ces conclusions doivent être confirmées par d'autres techniques. Des études par la technique de dichroïsme linéaire électrique sont en cours de réalisation.

III. Sélectivité de séquence.

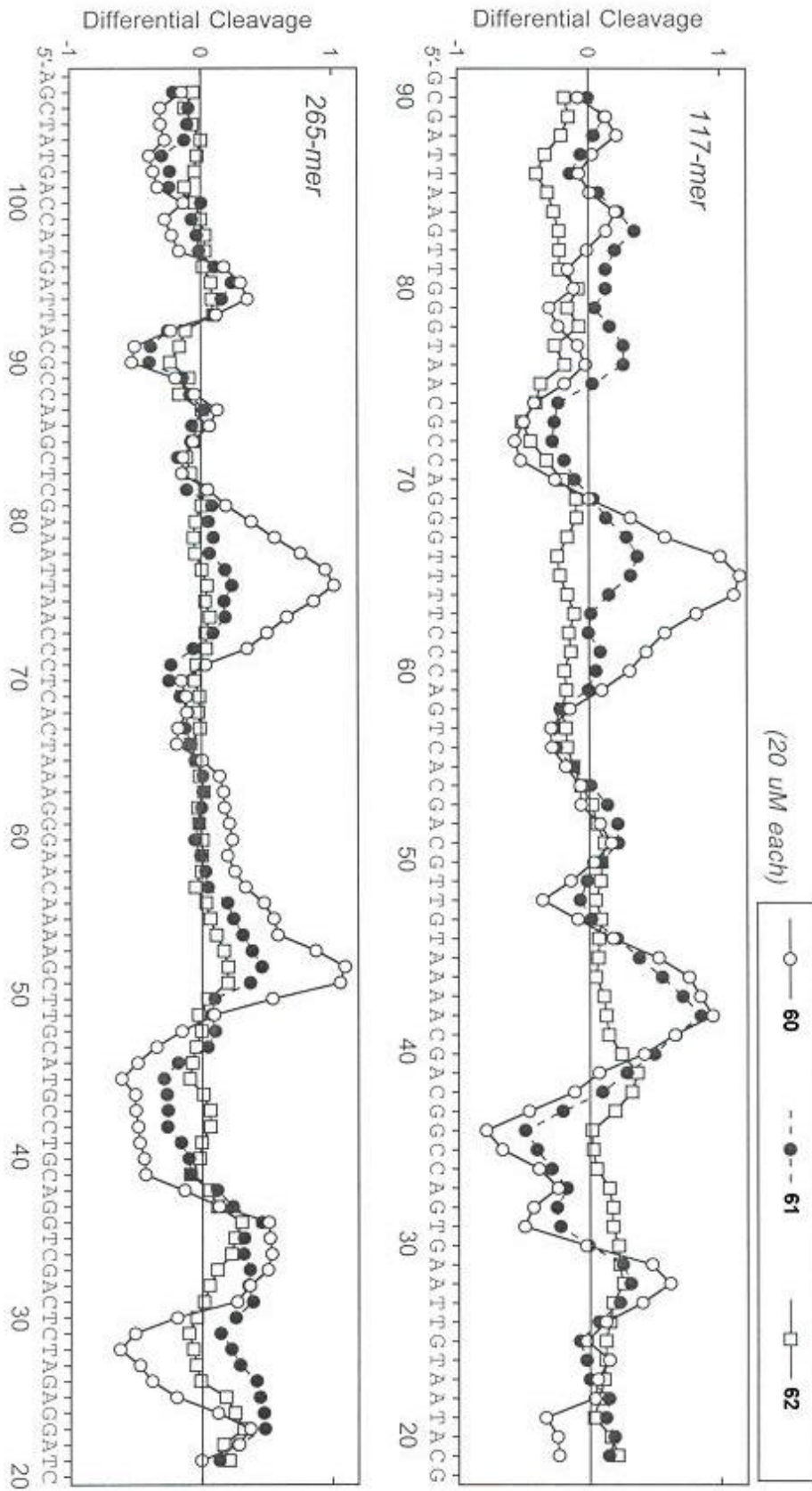
Méthode :

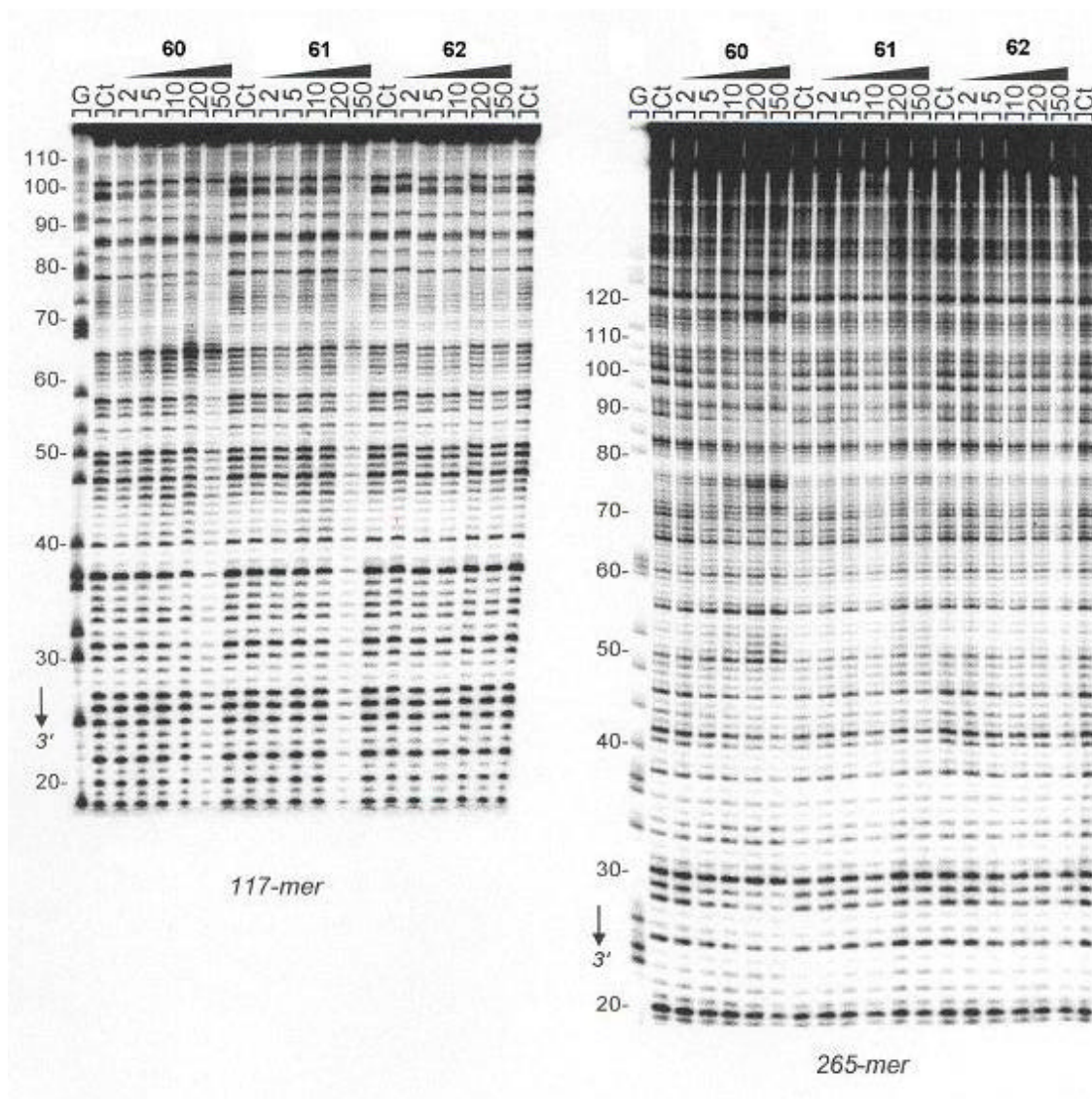
Cette méthode permet de déterminer si la fixation à l'ADN est dépendante de la séquence nucléotidique. La technique de footprinting ou d'empreinte à la DNase I (endonucléase) consiste à digérer partiellement l'ADN seul ou complexé à la molécule par la nucléase. Une incubation de l'ADN en présence ou non de la molécule à tester, à température ambiante, permet de réaliser l'équilibre de liaison ADN-ligand. La réaction est initiée par l'ajout de la DNase I à température ambiante. La digestion est stoppée après 3 minutes par congélation à - 80 °C. Après dénaturation des échantillons (désappariement des 2 brins), ces derniers sont déposés sur un gel de polyacrylamide sur lequel on réalise une électrophorèse. Après révélation, chaque bande est identifiée par comparaison avec sa position relative à des standards de séquence générés par traitement de l'ADN avec du sulfate de méthyle (réaction de type Maxam-Gilbert). L'intensité de chaque bande est ensuite intégrée en utilisant le logiciel ImageQuant. Les différences d'intensité sont enfin calculées et reportées sur un graphe de clivage relatif.

Deux phénomènes sont observés:

- une augmentation de l'action de la DNase sur certaines séquences, ce qui correspond à des séquences où le composé ne se lie pas.
- une diminution de l'action de la DNase sur les séquences où se fixent préférentiellement le composé.

Lorsque l'activité de la DNase n'est pas modifiée par la présence du composé, cela signifie que l'affinité du composé vis-à-vis de l'ADN est faible ou que le composé ne reconnaît pas de séquence spécifique.





Seuls les composés de structure indolizino[1,2-*b*]quinoléinique portant une fonction amine primaire ont été testés par cette méthode.

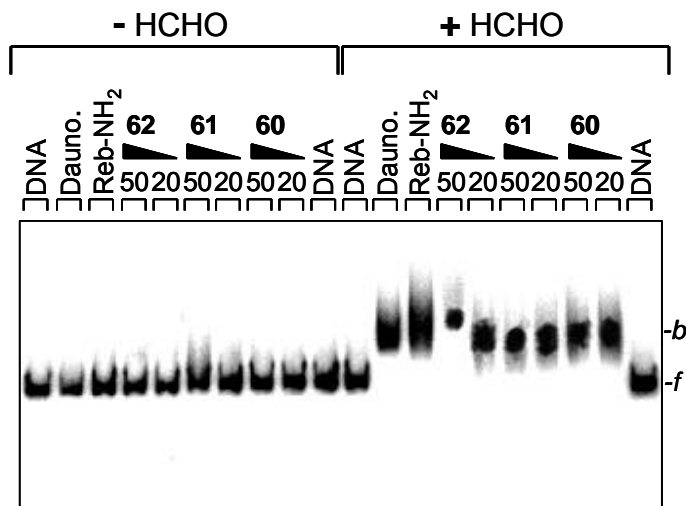
Le composé **62** n'induit pas de modification dans le clivage de l'ADN, ce qui peut être expliqué par la faible affinité montrée précédemment. Les composés **60** et **61** entraînent une diminution de l'activité DNAsique sur des sites riches en bases G-C et une augmentation de cette activité sur des séquences riches en bases A-T. Ceci traduit une affinité particulière pour des séquences G-C. La sélectivité de séquence montrée pour ces bases vis-à-vis des plateaux A-T est caractéristique du comportement d'un intercalant.

IV. Cross-link.

Méthode:

Cette technique consiste à former un pont covalent entre le ligand étudié et la molécule d'ADN (au niveau de la fonction amine d'une des bases de l'ADN) par l'intermédiaire d'une molécule de formaldéhyde. Cette technique est utilisable si le ligand étudié possède une fonction amine primaire qui pourra réagir avec le formaldéhyde et si cette fonction amine est suffisamment proche d'un groupement NH_2 de l'ADN. Le ligand (20 ou 50 μM) est mis en présence d'ADN radioactif (fragment de 117 bp) pendant 15 minutes afin d'atteindre l'équilibre de liaison. Du formaldéhyde (1% en solution tamponnée à pH 8,2) est alors ajouté. Après 1 heure d'incubation à 37 °C, l'ajout d'éthanol froid entraîne la précipitation de l'ADN libre et de l'ADN lié au ligand. Le résidu est alors soumis à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 6% dans des conditions non dénaturantes. L'ADN dont la charge globale est négative migre vers l'anode. Si le ligand s'est lié à l'ADN, un retard de migration est observé. Il peut être expliqué par l'augmentation de masse occasionnée par le ligand ou par la modification de la charge globale si le ligand est chargé positivement. La liaison du formaldéhyde seul n'affecte pas la migration de l'ADN.

Résultats (Perzyna et al., 2002^b):



L'étude du gel de polyacrylamide montre un retard dans la migration de l'ADN lorsque celui-ci est incubé en présence des ligands **60-62** et de formaldéhyde. Cela signifie que les pyrroloquinoléines comportant une fonction amine primaire permettent de former un pont entre leur fonction amine et celle d'une base de l'ADN par l'intermédiaire d'une molécule de formaldéhyde. Il est probable que la base d'ADN qui est impliquée dans cette liaison soit une guanine car les ligands étudiés sont intercalés entre les plateaux GC. Nous pouvons donc conclure que la fonction amine des ligands étudiés se situe à une faible distance de la fonction amine d'une guanine. De plus, la fonction amine des guanines pointent dans le petit sillon de l'ADN. Nous pouvons donc affirmer que les pyrroloquinoléines étudiées sont intercalées dans la double hélice et que leur fonction amine primaire est orientée vers le petit sillon de l'ADN.

V. Tests cellulaires: mesure du pouvoir anti-prolifératif.

Ces tests ont été réalisés par le Docteur Nicole Pommery et Amélie Lemoine (Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol, EA 2692).

Les molécules sont testées pour leur caractère anti-prolifératif sur 3 lignées cellulaires cancéreuses. Les lignées cancéreuses PC3, MCF7 et L1210 correspondent respectivement à des cellules prostatiques humaines hormono-indépendantes et issues de métastases osseuses, des cellules humaines provenant d'un adénocarcinome mammaire et à des cellules établies à partir d'une leucémie lymphoïde murine. Le choix de ces lignées a été dicté par l'objectif de l'équipe tendant à mettre en évidence des composés actifs sur des lignées cancéreuses représentatives de cancers difficilement curables par les traitements anticancéreux actuels. La lignée L1210 est, quant à elle, utilisée plus classiquement dans les tests de screening des molécules à visée antitumorale.

Protocole utilisé sur la lignée PC3:

Les cellules sontensemencées dans leur milieu de culture (RPMI + 10% de sérum de veau fœtal) dans des plaques 24 puits à raison de 18 000 cellules par puits et on les laisse se multiplier pendant 72 heures. On réalise ensuite une phase de quiescence, pendant 24 heures, pendant laquelle les cellules sont privées de tout facteur de croissance. Cette phase permet de synchroniser les cellules.

Les molécules à différentes concentrations (10^{-7} à 10^{-5} M) sont mises au contact des cellules pendant 72 heures. A l'issue de ce traitement, on évalue leur activité par le test MTT. Ce test met en jeu le bromure de 3-(4,5-diméthylthiazolyl)-2,5-diphényltétrazolium (MTT), sel de couleur jaune soluble dans l'eau. Les cellules vivantes possèdent des déshydrogénases mitochondriales, enzymes capables de cliver ce sel en un dérivé formazan, de couleur bleue, insoluble en milieu aqueux. Le MTT est laissé au contact des cellules traitées pendant 4 heures, puis les cristaux bleus de formazan formés sont solubilisés dans une solution de SDS (dodécylsulfate de sodium) solubilisé dans HCl pendant 12 heures à 37 °C. On mesure alors la densité optique (DO) des différents puits à 570/630 nm, proportionnelle au nombre de cellules vivantes. On peut ainsi déterminer le pourcentage de croissance:

$$\% \text{ de croissance} = (\text{DO}_{72 \text{ h}} - \text{DO}_{t=0}) / (\text{DO}_{t=0}) \times 100$$

On calcule ensuite la CI_{50} de chaque composé, c'est-à-dire la concentration qui inhibe 50% de la prolifération cellulaire.

Protocole utilisé sur la lignée MCF7:

Les cellules sontensemencées dans leur milieu de culture (MEM + 10 % de sérum de veau fœtal) en plaques de 24 puits à raison de 30 000 cellules par puits. On les laisse adhérer et se multiplier pendant 24 heures.

Les molécules à tester sont mises au contact des cellules pendant 72 heures à des concentrations variant de 10^{-7} à 10^{-5} M. A l'issue de ce traitement, on évalue leur activité grâce au test MTT.

Protocole utilisé sur la lignée L1210:

Les cellules sontensemencées dans leur milieu de culture (RPMI + 10 % de serum de veau fœtal) en plaques de 24 puits à raison de 10 000 cellules par puits. Les molécules à tester sont mises au contact des cellules pendant 72 heures, à des concentrations variant de 10^{-7} à 10^{-5} M. A l'issue de ce traitement, la croissance cellulaire est évaluée par numération sur cellule hématimétrique de Nageotte.

$$\% \text{ de croissance} = [(N_{72} - N_0)/N_0] \times 100$$

avec N_{72} est le nombre de cellules après 72 heures d'incubation

et N_0 est le nombre de cellules présentes dans le puits au moment du traitement.

Résultats (Perzyna et al., 2003):

Les résultats des tests cellulaires sont exprimés en CI_{50} , c'est-à-dire la concentration inhibant 50% de la croissance de la culture témoin ou en pourcentage d'inhibition correspondant à la plus forte concentration testée.

	L1210	MCF7	PC3
CPT	$CI_{50} = 0,055 \mu\text{M}$	$CI_{50} = 0,32 \mu\text{M}$	$CI_{50} = 0,31 \mu\text{M}$
60	$CI_{50} = 1,0 \mu\text{M}$	$CI_{50} = 6,5 \mu\text{M}$	$> 50 \mu\text{M}$
61	$CI_{50} = 4,5 \mu\text{M}$	$CI_{50} = 4,6 \mu\text{M}$	$CI_{50} = 7,8 \mu\text{M}$
62	32% d'inhibition à $10 \mu\text{M}$	20% d'inhibition à $10 \mu\text{M}$	$> 50 \mu\text{M}$
63	44% d'inhibition à $10 \mu\text{M}$	8% d'inhibition à $10 \mu\text{M}$	$> 50 \mu\text{M}$
64	26% d'inhibition à $10 \mu\text{M}$	12% d'inhibition à $10 \mu\text{M}$	$> 50 \mu\text{M}$
65	$> 50 \mu\text{M}$	$> 50 \mu\text{M}$	$> 50 \mu\text{M}$
66	$> 50 \mu\text{M}$	$> 50 \mu\text{M}$	$> 50 \mu\text{M}$
67	10% d'inhibition à $1 \mu\text{M}$	$> 5 \mu\text{M}$	$> 5 \mu\text{M}$
68	10% d'inhibition à $1 \mu\text{M}$	$> 5 \mu\text{M}$	$> 5 \mu\text{M}$
69	17% d'inhibition à $1 \mu\text{M}$	$> 5 \mu\text{M}$	$> 5 \mu\text{M}$
70	22% d'inhibition à $1 \mu\text{M}$	$> 5 \mu\text{M}$	9% d'inhibition à $1 \mu\text{M}$
71	$0,55 \mu\text{M}$	$0,55 \mu\text{M}$	ND
72	$3,9 \mu\text{M}$	$5,3 \mu\text{M}$	ND
73	$0,55 \mu\text{M}$	$4,6 \mu\text{M}$	ND
74	$0,55 \mu\text{M}$	$6,3 \mu\text{M}$	ND
75	problèmes de solubilité	problèmes de solubilité	ND
88	$3,4 \mu\text{M}$	$> 50 \mu\text{M}$	ND
89	ND	ND	ND

Dans la série des indolizinoquinoléines et des quinopyrrolonaphthyridines, l'ensemble des composés testés n'a pas montré de cytotoxicité très marquée sur les lignées MCF7 et PC3, lignées cellulaires connues pour leur résistance à de nombreux agents anti-cancéreux. Sur la lignée L1210, qui est une lignée plus sensible, la plupart des composés ont montré un caractère cytotoxique à forte concentration. Deux composés se sont démarqués : il s'agit des molécules **60** et **61** qui possèdent une fonction amine primaire et une chaîne solubilisante. Ils ont également manifesté un caractère cytotoxique sur les lignées MCF7 et PC3 avec une CI_{50} de l'ordre du micromolaire. Dans

cette série, on aboutit aux mêmes conclusions que pour l'affinité à l'ADN : la fonction amine primaire est nécessaire pour la cytotoxicité et la chaîne latérale joue un rôle crucial.

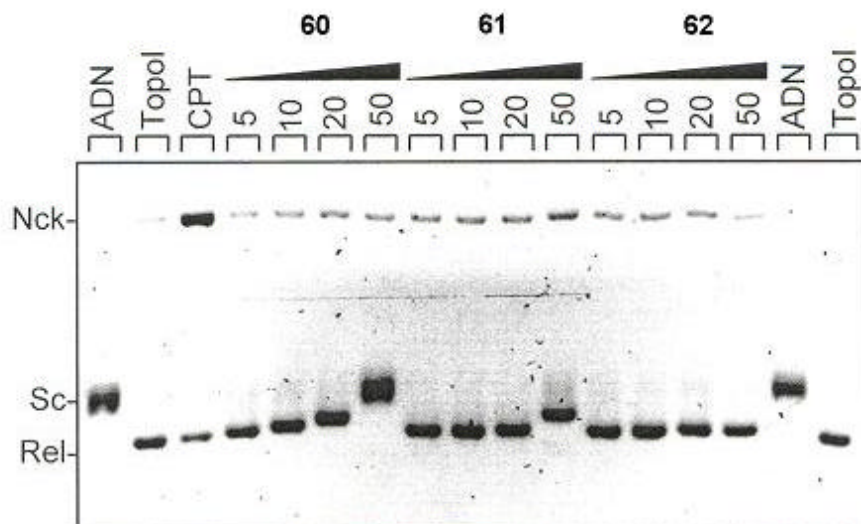
Dans la série des benzopyrrolizinoquinoléines, la plupart des composés ont montré un caractère cytotoxique sur les deux lignées cellulaires étudiées (les tests sur la lignée PC3 sont en cours). Le composé **71** montre une forte toxicité sur la lignée MCF7 avec une CI_{50} égale à $0,55 \mu\text{M}$. La cytotoxicité des composés possédant un groupe éthyle sur la quinoléine est plus faible que celle de leurs analogues possédant un groupement méthyle. Ceci peut être expliqué par la diminution de la solubilité en milieu aqueux due à la chaîne hydrocarbonée plus longue. En effet, nous avons observé, pour le composé **75**, la formation de cristaux dans le milieu de culture. L'introduction d'une chaîne solubilisante semble nécessaire car le composé témoin **88** possédant deux fonctions phénol est faiblement cytotoxique. Par contre, l'insertion d'une deuxième chaîne semble plutôt défavorable : le composé **73** montre une cytotoxicité modérée alors qu'il possède la meilleure affinité pour l'ADN. Afin de déterminer si l'insertion d'une chaîne pipéridinoéthoxy est défavorable en position 8, nous avons synthétisé le composé **89** qui n'a pas encore été testé. A partir des résultats concernant le composé **73**, nous pouvons avancer l'hypothèse que l'insertion d'une chaîne est défavorable en cette position ou que le fait que les 3 atomes d'azote protonés de ce composé induisent une trop grande charge pour qu'il franchisse les barrières membranaires.

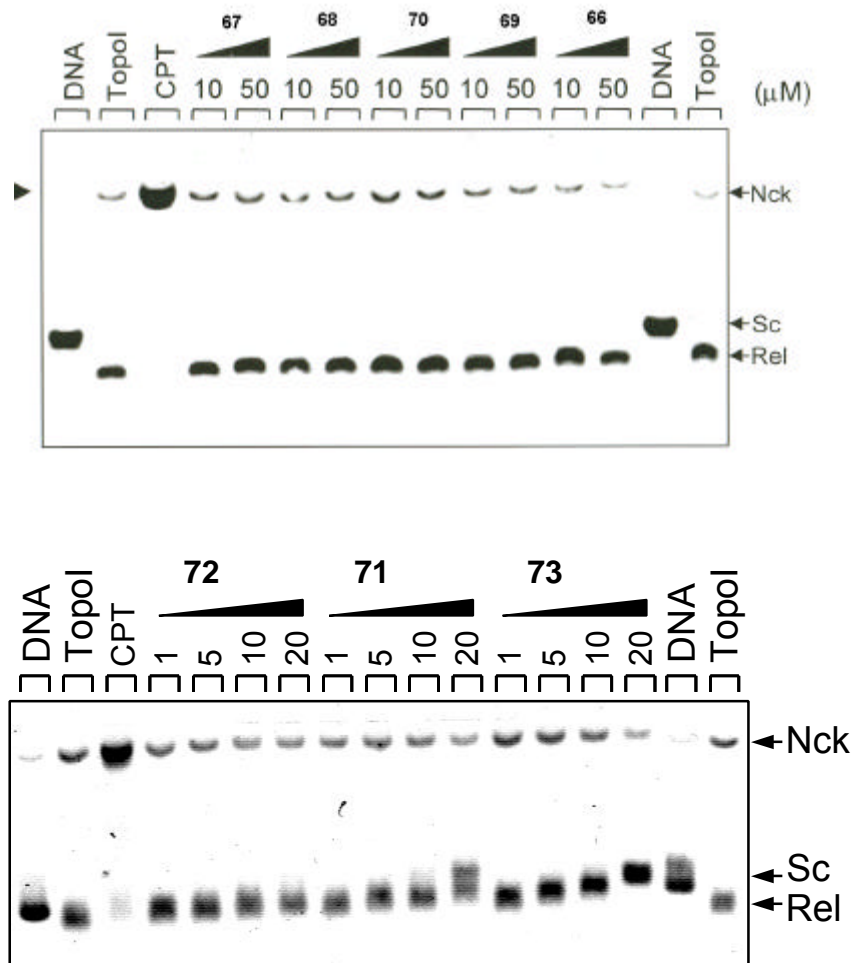
VI. Inhibition de la topoisomérase I.

Méthode:

Un test de relaxation de l'ADN par la topoisomérase I a été utilisé afin d'évaluer de manière qualitative le pouvoir inhibiteur sur cette enzyme des molécules des 3 séries. Dans cette technique, on utilise de l'ADN circulaire superenroulé négativement extrait d'un plasmide bactérien. La relaxation de cet ADN par la topoisomérase I humaine est étudiée en absence ou en présence du composé testé. L'ADN est tout d'abord coupé par l'enzyme. Lorsque le ligand est inhibiteur de la topoisomérase, l'ADN sera observé dans sa forme clivée. Si la topoisomérase finit son cycle catalytique, l'ADN est resoudé et sera dans sa forme relaxée. Afin de visualiser l'ADN dans cet état, on ajoute du bromure d'éthidium (molécule intercalante) qui permet le réenroulement de la double hélice mais de manière positive cette fois. Trois formes d'ADN peuvent donc être observées : l'ADN surenroulé négativement noté Sc, l'ADN clivé noté Nck et l'ADN relaxé puis réenroulé noté Rel. Ces formes peuvent être séparées par électrophorèse sur gel d'agarose horizontal. Cette expérience a également été réalisée avec la camptothécine, inhibiteur spécifique de la topoisomérase I (témoin positif).

Résultats:





La première colonne correspond à l'ADN seul qui est donc dans sa forme surenroulée négativement. La deuxième colonne montre l'ADN relaxé en présence de topoisomérase I. En présence de camptothécine (colonne 3), le complexe ADN-topoisomérase I est piégé et on observe majoritairement l'ADN clivé.

En présence des différentes pyrroloquinoléines à des concentrations variant entre 5 et 50 μM , on observe de l'ADN relaxé et de l'ADN clivé. Lorsque la concentration atteint 50 μM , on observe un retard dans la migration de l'ADN relaxé, ce qui peut être expliqué par la liaison du ligand à l'ADN, dont la migration est modifiée.

L'intensité de la bande correspondant à l'ADN relaxé ne varie pas en fonction de la concentration en ligand étudié. Il en est de même pour la bande correspondant à l'ADN clivé. Cette observation signifie que les composés testés ne manifestent pas de caractère inhibiteur sur la topoisomérase I. La présence d'ADN clivé peut être expliquée par le déroulement normal du cycle catalytique qui passe par cet intermédiaire.

**CONCLUSIONS
ET
PERSPECTIVES**

L'objectif de nos travaux était de concevoir et de synthétiser de nouveaux composés ligands de l'ADN. Nous avons pour but de proposer de nouvelles structures intercalantes de l'ADN et qui, en plus de ce pouvoir de stacking, possèderaient un autre mode d'action (inhibiteur de topoisomérase I, inhibiteur de télomérase...).

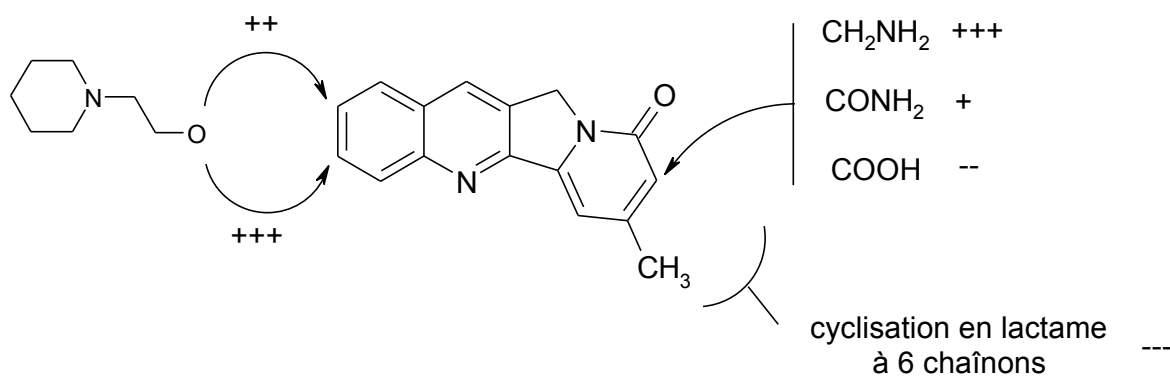
Nous avons tout d'abord travaillé avec des analogues simplifiés de la camptothécine. Ces molécules possèdent le squelette indolizino[1,2-*b*]quinoléinique de la camptothécine et sont fonctionnalisées sur le cycle pyridone. Ensuite, nous avons synthétisé des composés à motif benzopyrrolonaphthyridine, composés pentacycliques dont la forme générale est en croissant. La plupart des composés intercalants de l'ADN possèdent un ensemble hétérocyclique rectiligne, c'est pourquoi nous nous sommes intéressés à la synthèse de benzopyrrolizinoquinoléines. Ces dernières sont constituées d'un ensemble pentacyclique qui n'a jamais été décrit dans la littérature.

Toutes ces molécules ont en commun un cœur quinoléinique que nous avons formé par la méthode de Friedländer, voie d'accès qui permet l'obtention de quinoléines par condensation d'*o*-aminobenzaldéhydes ou d'*o*-aminocétones avec des cétones énolisables. Nous avons tout d'abord synthétisé 3 *o*-aminobenzaldéhydes et 4 *o*-aminocétones, ainsi que 2 séries de cétones énolisables. C'est lors de la synthèse des cétones énolisables que nous avons rencontré le plus grand nombre de difficultés. En effet, la synthèse de ces synthons est longue (jusque 10 étapes), la purification des intermédiaires n'est pas aisée et beaucoup ne peuvent être stockés en raison de leur faible stabilité. Nous avons ensuite mis au point les conditions de la réaction de Friedländer et nous avons proposé une synthèse par l'assistance des micro-ondes qui a fait l'objet d'une publication.

L'ensemble des composés synthétisés ont été testés pour leur affinité à l'ADN et pour leur caractère cytotoxique sur les lignées cancéreuses L1210 (leucémie murine), MCF7 (lignée humaine du cancer du sein) et PC3 (lignée humaine du cancer de la prostate). Ces tests nous permettent de proposer un ensemble de relations structure-activité. Nous pouvons comparer les indolizinoquinoléines et les quinopyrrolonaphthyridines. Toutefois, il ne nous semble pas judicieux de rapprocher ces composés des benzopyrrolizinoquinoléines étant donné la différence de leur mode d'action avec l'ADN.

➤ Série des indolizinoquinoléines et des benzopyrroloquinoléines :

Ce squelette tétra- ou pentacyclique ne permet pas à lui seul, comme on pouvait s'y attendre, une bonne interaction avec l'ADN. Les tests d'affinité pour l'ADN montrent que l'introduction d'une chaîne pipéridinoéthoxy sur le cycle quinoléinique est capitale. De plus, cette chaîne permet de conférer à ces molécules une bonne solubilité en milieu aqueux. En ce qui concerne les groupements introduits sur le cycle pyridone, seule la fonction amine primaire confère une forte affinité pour l'ADN. L'introduction d'un groupement amide a montré une affinité moyenne alors que la substitution par une fonction acide carboxylique est défavorable. L'obtention des benzopyrroloquinoléines par une cyclisation entre les positions 7 et 8 est défavorable pour l'affinité à l'ADN.



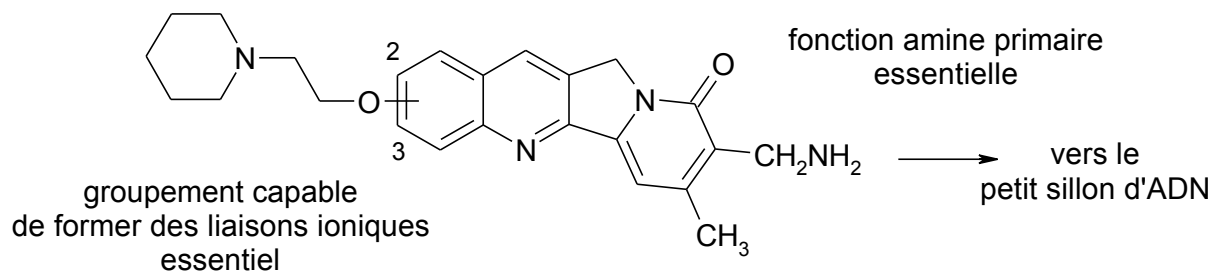
Nous pouvons donc dire que le cycle quinoléinique doit porter un groupement capable de former de liaisons électrostatiques avec l'ADN (atome d'azote protoné essentiel), de préférence en position 3. Le cycle pyridone est substitué de manière optimale par une fonction amine primaire, groupement donneur-accepteur de liaisons hydrogène et capable de former des liaisons ioniques avec l'ADN.

Les 11 composés des 2 premières séries ont été testés pour leur caractère cytotoxique sur les 3 lignées cellulaires précitées. Seuls les composés possédant une fonction amine et une chaîne solubilisante montrent un caractère cytotoxique intéressant sur ces trois lignées (CI₅₀ de l'ordre du micromolaire).

Aucun composé de ces séries n'a manifesté de caractère inhibiteur sur la topoisomérase I. Ce résultat était prévisible compte-tenu de la délétion du cycle lactonique de la camptothécine.

Nous avons cherché à déterminer le mode d'interaction avec l'ADN des trois composés substitués par une fonction amine qui ont montré une forte affinité pour l'ADN ($10^4 \text{ M}^{-1} < K_{\text{app}} < 10^6 \text{ M}^{-1}$). Une étude par dichroïsme linéaire électrique a mis en évidence leur caractère intercalant et l'expérience d'empreinte à la DNase I a révélé qu'ils reconnaissent préférentiellement les séquences GC aux enchaînements AT. La présence d'une fonction amine

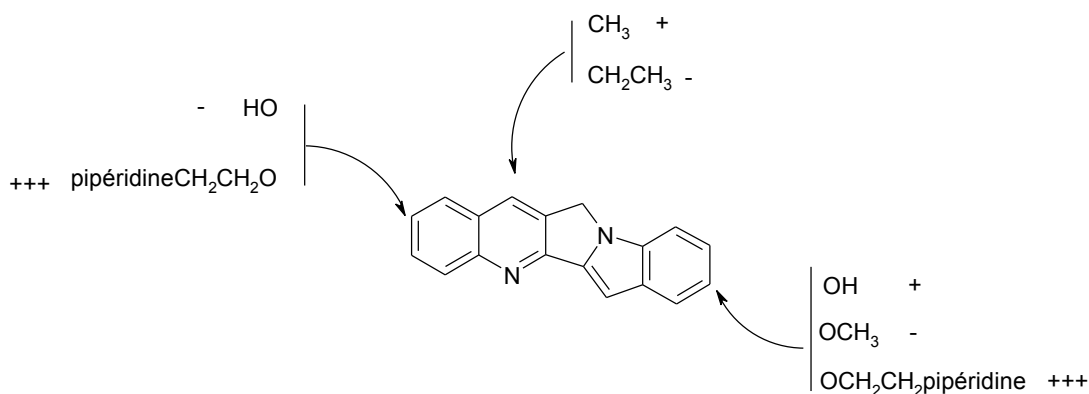
primaire a également permis de réaliser une étude cross-link avec le formaldéhyde, ce qui a fait l'objet d'une publication. Nous avons alors pu déterminer que la fonction amine primaire était à une courte distance de la fonction amine d'une guanine. Nous pouvons donc affirmer que la fonction amine de la molécule testée pointe vers le petit sillon de l'ADN.



	60 (chaîne en position 3)	61 (chaîne en position 2)
K_{app} (M^{-1})	$8,4 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^6$
Mode d'interaction avec l'ADN	intercalant	intercalant
L1210	$CI_{50} = 1,0 \mu M$	$CI_{50} = 4,5 \mu M$
MCF7	$CI_{50} = 6,5 \mu M$	$CI_{50} = 4,6 \mu M$
PC3	$> 50 \mu M$	$CI_{50} = 7,8 \mu M$

➤ Série des benzopyrrolizinoquinoléines :

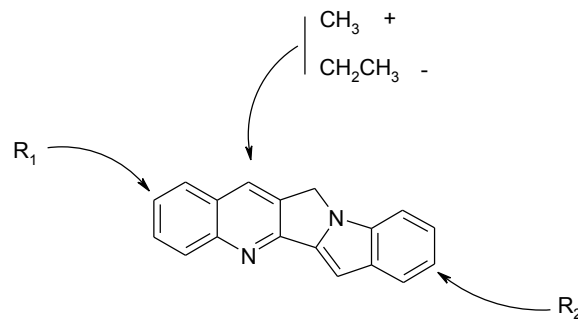
Ce squelette pentacyclique permet une bonne interaction avec l'ADN. L'ensemble des composés synthétisés ont montré une forte affinité pour l'ADN (K_{app} de l'ordre de $10^6 M^{-1}$). La substitution de la quinoléine par un groupement méthyle est préférable à un groupe éthyle. Le remplacement de l'hydroxyle de la quinoléine par une chaîne pipéridinoéthoxy est favorable. L'introduction d'un deuxième groupe pipéridinoéthoxy en position 8 confère la meilleure affinité pour l'ADN. La substitution de cette position 8 par une fonction phénol est plus favorable que celle par un groupement méthoxy.



Le composé possédant les deux chaînes pipéridinoéthoxy a montré au cours des tests d'affinité deux modes d'interaction avec l'ADN. Les premiers résultats concernant l'étude du mode d'interaction de ces molécules avec l'ADN semblent révéler qu'elles interagissent avec l'ADN en tant que ligand du petit sillon. Le deuxième mode d'action par lequel le composé possédant les 2 chaînes interagit avec l'ADN serait l'intercalation entre les plateaux de bases. D'autres tests sont en cours afin de confirmer ces hypothèses et d'étudier la séquence nucléotidique reconnue par ces composés.

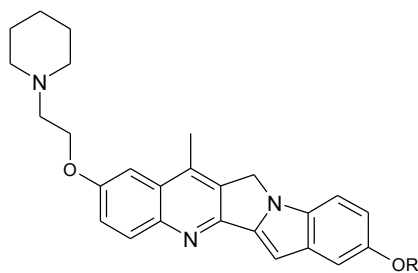
Nous pouvons tout de même conclure que ce squelette montre une forte affinité pour l'ADN. Aucun des différents substituants introduits n'est fortement défavorable pour l'affinité.

Les molécules qui ont montré la plus forte cytotoxicité sur les lignées L1210 et MCF7 sont celles qui possèdent une chaîne pipéridinoéthoxy. Il semble que l'introduction de 2 chaînes ne soit pas favorable : on peut avancer l'hypothèse que la molécule a alors du mal à franchir les barrières membranaires à cause d'un trop grand nombre de charges ou que l'insertion d'un groupement encombrant en position 8 soit défavorable. D'autre part, la molécule possédant 2 fonctions phénol n'a pas manifesté un fort caractère cytotoxique.



R ₁	R ₂	Effet sur la cytotoxicité
OH	OH	--
OH	OCH ₂ CH ₂ pipéridine	ND
OCH ₂ CH ₂ pipéridine	OH	+++
OCH ₂ CH ₂ pipéridine	OCH ₂ CH ₂ pipéridine	+
OCH ₂ CH ₂ pipéridine	OCH ₃	+/-

En conclusion sur cette série, il semble qu'il faille trouver un compromis entre forte interaction pour l'ADN et caractère cytotoxique marqué. Nous pouvons proposer les composés possédant une seule chaîne solubilisante qui montrent une forte cytotoxicité sur la lignée MCF7 et une bonne affinité pour l'ADN. Le composé possédant les deux chaînes pipéridinoéthoxy reste à l'étude pour son interaction originale avec l'ADN : il montre une double interaction avec l'ADN, intercalant/ligand du petit sillon.



71: R = H
73: R = CH₂CH₂pipéridine

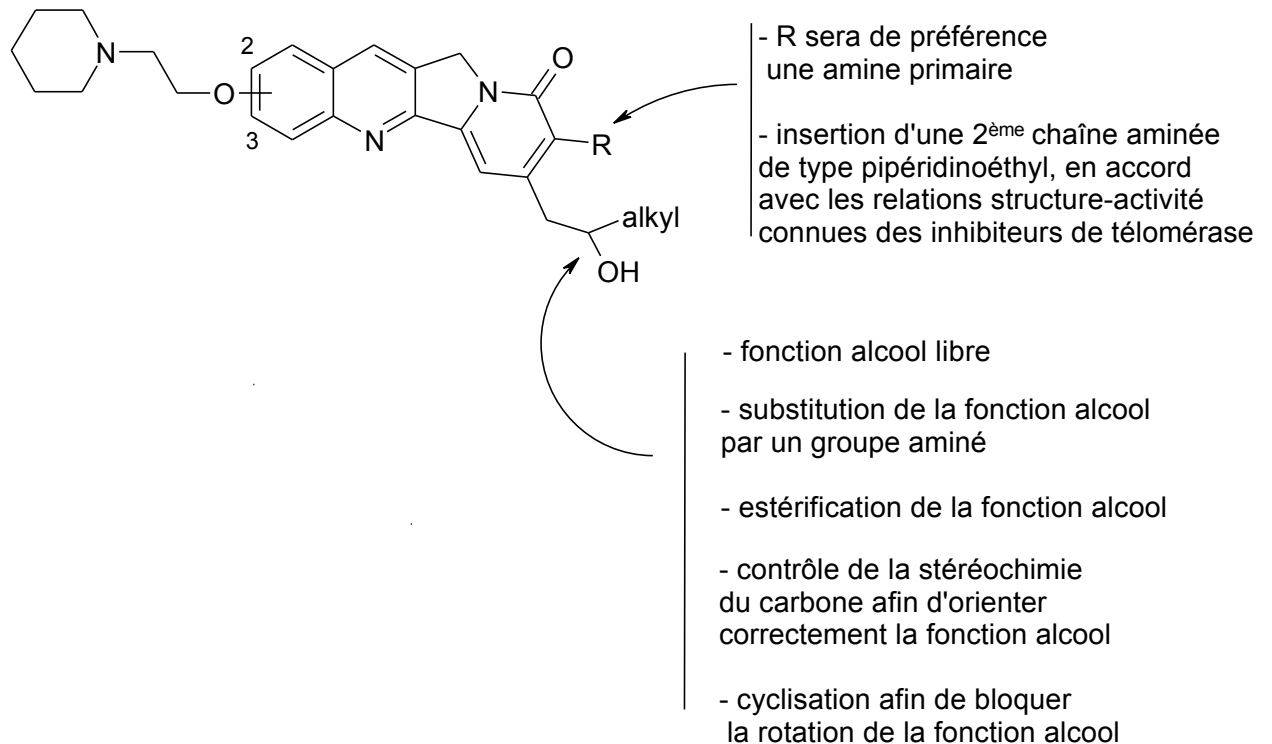
	71	73
K _{app} (M ⁻¹)	4,2.10 ⁶	8,6.10 ⁶
Mode d'interaction avec l'ADN	ligand du petit sillon	ligand du petit sillon / intercalant
L1210	CI ₅₀ = 0,55 μM	CI ₅₀ = 0,55 μM
MCF7	CI ₅₀ = 0,55 μM	CI ₅₀ = 4,6 μM

Le caractère inhibiteur potentiel de ces composés sur la télomérase (notamment pour le composé possédant les 2 chaînes aminées) sera prochainement étudié.

Le squelette benzopyrrolizinoquinoléine semble être un meilleur ligand de l'ADN que le squelette indolizinoquinoléine. Son mode d'action avec l'ADN (ligand du petit sillon) est original pour une structure polycyclique plane. Contrairement à ce que nous supposions, le squelette en croissant interagit préférentiellement par intercalation alors que le squelette plus linéaire se positionne plus facilement dans le petit sillon. Certains composés montrent une cytotoxicité marquée sur les lignées MCF7 et PC3.

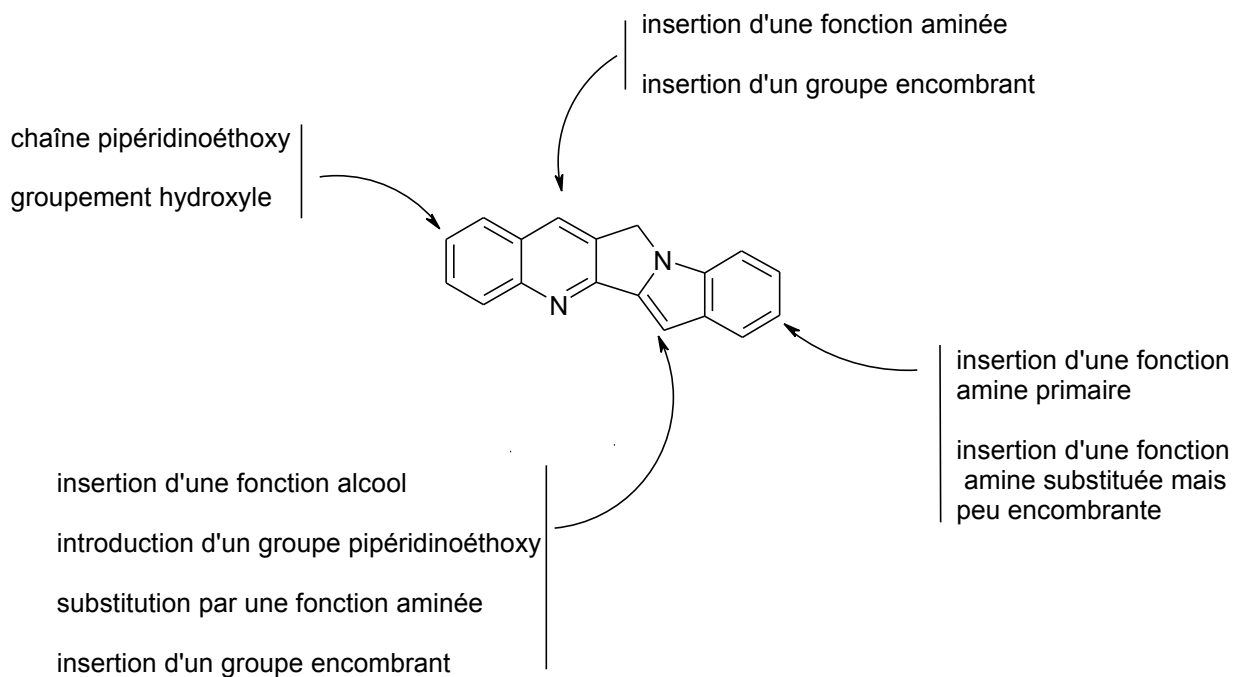
L'évaluation pharmacologique des benzopyrrolizinoquinoléines en cours de synthèse nous permettra d'étoffer les relations structure-activité déjà établies. L'évaluation de l'activité anti-téломérase potentielle reste à réaliser et nous pourrons alors comparer les indolizinoquinoléines possédant les 2 chaînes aminées (molécules en cours de synthèse) avec les benzopyrrolizinoquinoléines possédant également deux groupes pipéridine.

Dans la série des indolizinoquinoléines, la position 7 substituée actuellement par un groupement méthyle pourra être fonctionnalisée : la possibilité d'arracher un proton de ce groupe par une base forte telle que l'hydrure de sodium ou le butyllithium permettra d'introduire divers groupement et notamment une fonction alcool, qui est montrée comme essentielle dans le complexe ternaire ADN-topoisomérase I-topotécan.



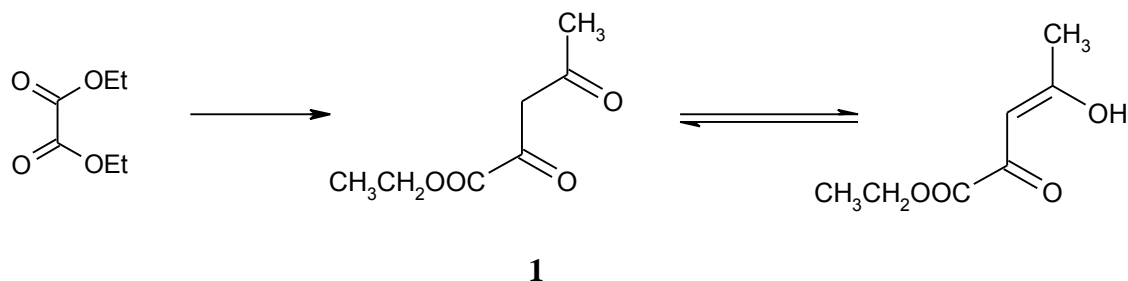
Dans la série des benzopyrrolizinoquinoléines, il reste à déterminer le motif hétérocyclique minimum pour obtenir une bonne affinité pour l'ADN et les fonctions les plus favorables pour obtenir une forte cytotoxicité. Il faut également comprendre quels groupements confèrent la préférence pour le petit sillon et lesquels sont nécessaires pour un caractère intercalant. L'insertion d'une fonction amine primaire, qui s'est montrée très favorable dans la série précédente, est à envisager.

Nous pouvons également espérer connaître le sens d'insertion de la molécule dans le petit sillon en introduisant des groupements affins pour l'ADN (fonction aminée par exemple) qui devraient augmenter l'affinité s'ils sont introduits sur le site favorable mais aussi des substituants encombrants (groupement benzylique par exemple) qui pourraient entraîner une incompatibilité stérique et donc diminuer l'affinité.



PARTIE
EXPERIMENTALE

Acétopyruvate d'éthyle



REACTIFS :

Sodium	12 g	1 eq.		0,52 at.g
Ethanol absolu			270 mL	
Oxalate d'éthyle		0,9 eq.	65 mL	0,47 mol
Acétone		0,9 eq.	35 mL	0,47 mol

PROTOCOLE :

L'éthanolate de sodium est préparé en ajoutant le sodium par petites quantités à l'éthanol absolu préalablement séché sur tamis moléculaire.

Après disparition du sodium, le mélange oxalate d'éthyle/acétone est ajouté goutte-à-goutte à l'éthanolate de sodium. Il se forme un précipité blanc qui évolue rapidement vers le jaune. Le mélange jaune intense prend en masse et on laisse agiter pendant 1 h. Le précipité est essoré et lavé par l'éthanol.

Le précipité est ensuite dissous dans 144 mL d'eau, puis acidifié par H₂SO₄ concentré (19,2 mL) jusqu'à l'obtention d'une solution de couleur orange, extraite par le dichlorométhane. La phase organique est lavée plusieurs fois par une solution de NaHCO₃ 10% jusqu'à neutralité et séchée sur MgSO₄ puis évaporée. L'huile jaune orangée obtenue est ensuite purifiée par distillation sous pression réduite afin d'obtenir l'acétopyruvate d'éthyle sous forme d'une huile incolore.

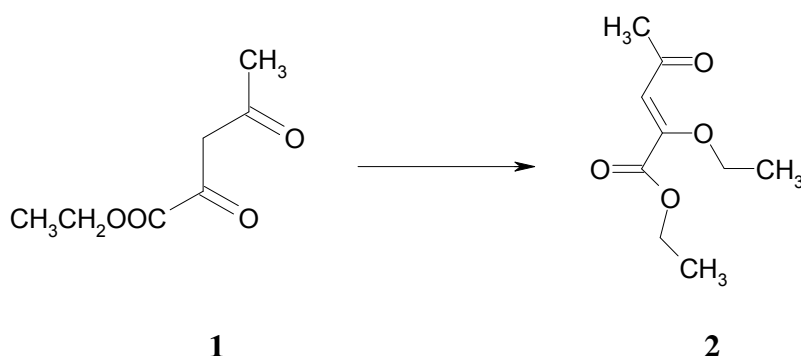
RMN (CDCl₃):

1,38	t, 3H, J = 7,2 Hz, COOCH ₂ CH ₃	Huile incolore
2,28	s, 3H, CH=COHCH ₃	Rdt = 72%
4,25	q, 2H, J=7,2 Hz, COOCH ₂ CH ₃	Rf (Cyclohexane 6/AE 4) = 0,71
6,39	s, 1H, CH=COHCH ₃	E = 108 °C (12 mm Hg)

IR:

1599	v C=C (énol)
1638	v CO (oxalate)
1733	v CO (cétone)
1740	v CO (ester)
2986	v OH (énol)

2-Ethoxy-4-oxopent-2-énoate d'éthyle



REACTIFS :

Acétopyrivate d'éthyle 1	10 g	1 eq.		63 mmol
Chlorure d'ammonium	0,7 g	0,2 eq.		13 mmol
Orthoformiate de triéthyle		1,3 eq.	13,6 mL	82 mmol
Ethanol absolu			20 mL	

PROTOCOLE :

Le chlorure d'ammonium utilisé est conservé au dessiccateur, l'éthanol absolu est stocké sur tamis moléculaire et l'orthoformiate de triéthyle est distillé.

Le chlorure d'ammonium et l'éthanol sont placés sous atmosphère d'azote. Le chloroformiate de triéthyle et l'acétopyrivate d'éthyle sont ensuite ajoutés par un septum. Le mélange est agité pendant 7 jours à température ambiante.

Lorsque la réaction est terminée, le chlorure d'ammonium est filtré, puis lavé par l'éther. On évapore sous vide l'éthanol et l'éther. Le résidu huileux est hydrolysé dans 100 mL d'eau, puis extrait par l'éther. La phase organique est lavée par une solution de NaHCO₃ 10%, par l'eau et enfin par une solution d'eau saturée en NaCl. Après évaporation, on obtient l'éther d'énol **2** sous forme d'huile jaune.

Cette huile est purifiée par distillation sous pression réduite (127-129°C sous 11 mm Hg).

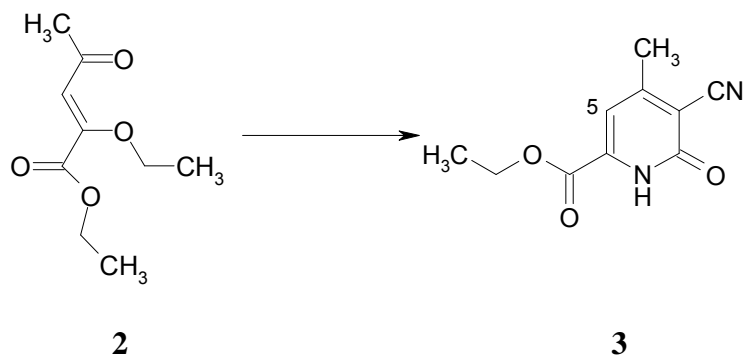
RMN (DMSO-*d*₆) :

1,30 à 1,37	M, 6H, COOCH ₂ CH ₃ et OCH ₂ CH ₃	Huile jaune clair
2,38	s, 3H, COCH ₃	Rdt = 84%
4,00	q, 2H, J=7,2 Hz, OCH ₂ CH ₃	Rf (Cyclohexane 6/AE 4) = 0,65
4,30	q, 2H, J = 7,2 Hz, COOCH ₂ CH ₃	E = 127-129 °C (11 mm Hg)
6,22	s, 1H, CHCOCH ₃	

IR :

1576	v C=C
1680	v CO (cétone)
1733	v CO (ester)

3-Cyano-6-éthoxycarbonyl-4-méthylpyridin-2-one



REACTIFS :

Ether d'énol 2	5 g	1 eq.	27 mmol
Cyanoacétamide	2,52 g	1 eq.	27 mmol
Carbonate de potassium	4,2 g	1 eq.	27 mmol
Acétone			60 mL

PROTOCOLE :

Le matériel est séché et la réaction est réalisée dans des conditions anhydres. Le cyanoacétamide est séché au dessiccateur, le carbonate de potassium est séché à l'étuve et l'acétone est conservée sur CaCl_2 . Le mélange de cyanoacétamide et d'acétone est porté à reflux. Le carbonate de potassium est ensuite ajouté par petites portions. Le milieu réactionnel est alors placé sous atmosphère d'azote. L'éther d'énol **2** est ensuite introduit goutte-à-goutte par un septum. Le milieu réactionnel est agité pendant 18 h à reflux de l'acétone.

Le milieu réactionnel est dilué dans 500 mL d'eau, puis acidifié par de l'acide sulfurique 3 N jusqu'à l'obtention d'un précipité orangé. Le précipité est essoré et lavé par de l'eau acide. Il est ensuite séché à l'étuve à 50°C . Il est utilisé sans purification supplémentaire dans l'étape suivante.

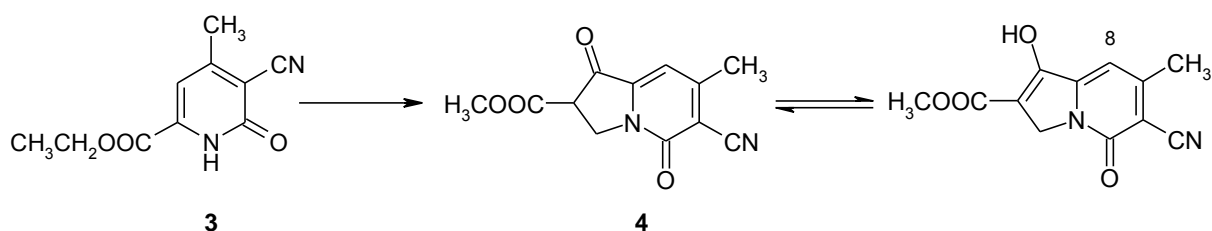
RMN (CDCl_3):

1,47	t, 3H, $J = 7,0$ Hz, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$	Solide rose clair
2,55	s, 3H, CH_3	Rdt = 90%
4,47	q, 2H, $J = 7,0$ Hz, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$	Rf (CH_2Cl_2 98/ CH_3OH 2) = 0,65
6,96	s, 1H, H_5	F = 236°C (acide acétique 50%)
11,25	s, 1H, NH (échangeable dans D_2O)	

IR:

1635	v CO (pyridone)
1720	v CO (ester)
2210	v CN

6-Cyano-2-méthoxycarbonyl-7-méthyl-1,5-dioxo- 1,2,3,5-tétrahydroindolizine



REACTIFS 1:

Pyridone 3	5 g	0,95 eq.	28 mmol
Carbonate de potassium	3,87 g	1 eq.	27 mmol
Acrylate de méthyle		8 eq.	215 mmol
DMF distillé		20,2 mL	100 mL

PROTOCOLE 1:

Le carbonate de potassium est conservé au dessiccateur et la réaction est réalisée dans des conditions anhydres.

Le mélange de carbonate de potassium, de pyridone **3** et de diméthylformamide est placé sous atmosphère d'azote et porté à 45 °C. Après 5 à 10 min, il se forme une suspension claire. L'acrylate de méthyle est alors introduit goutte-à-goutte. L'agitation se poursuit pendant 40 h à 45 °C. Le milieu réactionnel de couleur vert clair prend en masse.

Le précipité est essoré, puis dissous dans l'eau. Cette phase aqueuse est ensuite acidifiée par de l'acide chlorhydrique jusqu'à ce que le produit précipite. Ce précipité est essoré et lavé par l'eau acide.

Solide beige clair

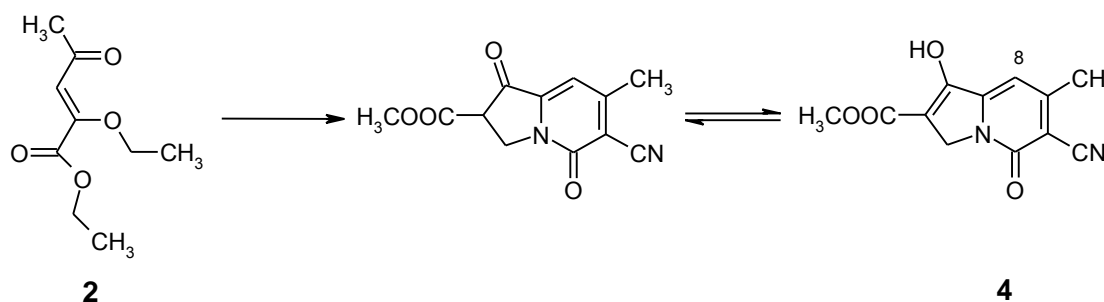
Rdt = 54%

Rdt global de **2** à **4** = 48,5%

Rf (CH₂Cl₂ 9/ CH₃OH 1) = 0,30

F = 224 °C (acide acétique glacial)

6-Cyano-2-méthoxycarbonyl-7-méthyl-1,5-dioxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizine



REACTIFS 2:

Cétone 2	50 g	0,9 eq.		269 mmol
Carbonate de potassium	42 g	1 eq.		304 mmol
Cyanoacétamide	25,2 g	1 eq.		304 mmol
Acrylate de méthyle		7,4 eq.	180 mL	2,0 mol
DMF distillé			400 mL	

PROTOCOLE 2:

Le carbonate de potassium est conservé au dessiccateur et la réaction est réalisée dans des conditions anhydres.

Le carbonate de potassium, le cyanoacétamide et le diméthylformamide sont placés sous atmosphère d'azote et le mélange est porté à 45°C. La cétone **2** est alors introduite goutte-à-goutte. L'agitation se poursuit pendant 18 h et il se forme un précipité rouge épais.

L'acrylate de méthyle est alors ajouté goutte-à-goutte. Le mélange est chauffé pendant 72 h à 45 °C.

Le précipité formé est essoré, puis dissous dans l'eau. La solution est alors acidifiée avec de l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à pH 1,5. L'ester **4** est obtenu sous forme de solide beige. Il est essoré puis séché.

Il est utilisé dans l'étape suivante sans purification supplémentaire.

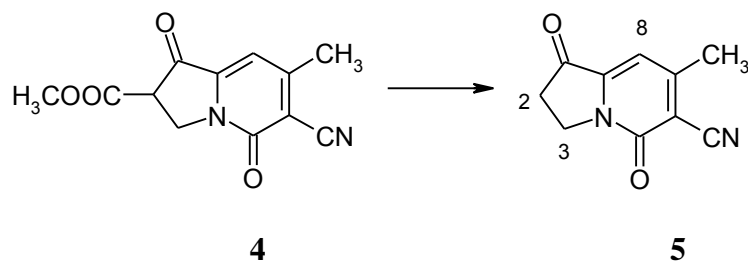
RMN (DMSO- d_6):

2,55	s, 3H, $\underline{\text{CH}_3}$	Solide beige clair
3,80	s, 3H, $\underline{\text{COOCH}_3}$	Rdt = 65%
6,60	s, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$	Rf (CH_2Cl_2 9/ CH_3OH 1) = 0,30
6,80	s, 1H, $\underline{\text{H}_8}$	F = 224 °C (acide acétique glacial)
11,85	s, 1H, $\underline{\text{OH}}$ (échangeable dans D_2O)	

IR:

1619	v CO (pyridone)
1659	v CO (cétone)
1718	v CO (ester)
2218	v CN

6-Cyano-7-méthyl-1,5-dioxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizine



REACTIFS :

Ester 4	5,9 g	1 eq.	24 mmol
Acide chlorhydrique concentré (12 N)			60 mL
Acide acétique glacial			60 mL

PROTOCOLE :

L'ester **4** est ajouté dans un mélange d'acide chlorhydrique concentré et d'acide acétique glacial. Ce mélange est chauffé pendant 4 h à reflux.

Le milieu réactionnel est dilué dans 200 mL d'eau, puis extrait plusieurs fois par le dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées par l'eau, puis par une solution d'eau saturée en NaCl. Elles sont enfin séchées et évaporées sous vide.

Le nitrile **5** est utilisé sans purification supplémentaire dans l'étape suivante.

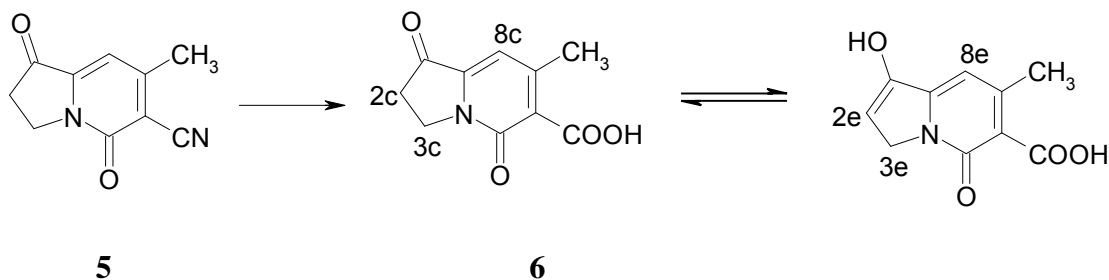
RMN (DMSO- d_6) :

2,55	s, 3H, $\underline{\text{CH}_3}$	Solide marron Rdt = 74% Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ CH ₃ OH 1) = 0,70 F = 176 °C (méthanol)
2,95	t, 2H, J = 7,0 Hz, $\underline{\text{H}_2}$	
4,20	t, 2H, J = 7,0 Hz, $\underline{\text{H}_3}$	
7,00	s, 1H, $\underline{\text{H}_8}$	

IR :

1646	v CO (pyridone)
1745	v CO (cétone)
2240	v CN

Acide 7-méthyl-1,5-dioxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizine-6-carboxylique



REACTIFS :

Nitrile 5	1 g	1 eq.		5,3 mmol
Acide sulfurique			15 mL	
Eau			5 mL	

PROTOCOLE :

On introduit le nitrile **5** dans le mélange acide sulfurique/eau (3/1). Le milieu réactionnel est alors chauffé à 120 °C pendant 20 h.

Après refroidissement, le milieu est dilué dans 150 mL d'eau, puis extrait plusieurs fois par le chloroforme. Les phases organiques sont rassemblées, lavées par une solution d'eau saturée en NaCl, séchées et évaporées sous vide pour donner l'acide **6** sous forme d'un solide brun. Le produit est enfin purifié sur colonne de silice. Un mélange dichlorométhane 95/méthanol 5 est utilisé comme éluant.

RMN (DMSO-*d*₆) :

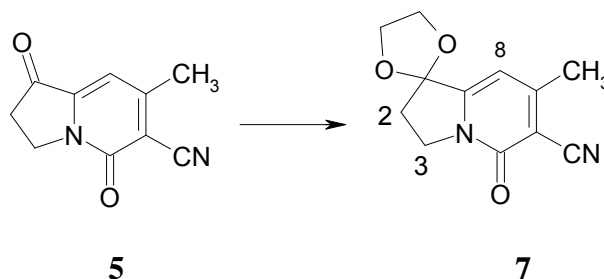
2,49	s, 3H, <u>CH</u> _{3c}	Solide brun
2,67	s, 3H, <u>CH</u> _{3e}	Rdt = 40%
2,90	t, 2H, J = 6,1 Hz, <u>H</u> _{2c}	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ CH ₃ OH 1) = 0,51
4,17	t, 2H, J = 6,1 Hz, <u>H</u> _{3c}	F = 179 °C (Toluène)
4,61	d, 2H, J = 2,6 Hz, <u>H</u> _{3e}	
5,95	t, 1H, J = 2,7 Hz, <u>H</u> _{2e}	<u>IR :</u>
6,72	s, 1H, <u>H</u> _{8e}	1632 v CO (pyridone)
6,94	s, 1H, <u>H</u> _{8c}	1726 v CO (acide)
10,93	s, 1H, <u>OH</u> _e , échangeable dans D ₂ O	1747 v CO (cétone)
14,33	s, 1H, <u>COOH</u> _c , échangeable dans D ₂ O	3464 v OH (acide)
15,23	s, 1H, <u>COOH</u> _e , échangeable dans D ₂ O	

SM (IE) :

207	M ⁺
189	M ⁺ - H ₂ O
163	M ⁺ - COO

Remarque : on détecte les 2 formes tautomères (la forme cétone indiquée « c » et la forme énol indiquée « e »). En solution dans le DMSO, à température ambiante, l'équilibre est en faveur de la forme cétone (75%).

**6-Cyano-7-méthyl-5-oxo-1-(1,3-dioxolanyl)-
1,2,3,5-tétrahydroindolizine**

**REACTIFS :**

Cétone 5	1 g	1 eq.		5,3 mmol
Chlorure de triméthylsilyle	3,75 g	6,5 eq.	4,4 mL	35 mmol
Ethylène glycol	1,5 g	4,5 eq.	1,5 mL	24 mmol
Dichlorométhane			30 mL	

PROTOCOLE :

Le dichlorométhane préalablement séché sur CaCl_2 , le chlorure de triméthylsilyle et l'éthylène glycol sont placés sous atmosphère inerte. La cétone **5** est alors introduite. Ce mélange est maintenu sous atmosphère d'azote pendant 65 h à température ambiante.

Le mélange réactionnel est ensuite alcalinisé par 100 mL d'hydroxyde de sodium 1 N. Il est extrait plusieurs fois par le dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées, puis lavées par de l'eau et par une solution d'eau saturée en NaCl. Elles sont enfin séchées et évaporées pour obtenir l'indolizine **7**.

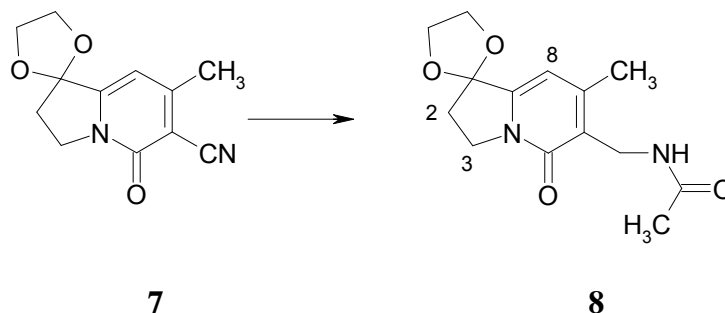
RMN (DMSO- d_6) :

2,35	t, 2H, J = 6,0 Hz, $\underline{\text{H}}_2$	Solide blanc Rdt = 71% Rf (CH_2Cl_2 9/ CH_3OH 1) = 0,75 F = 191 °C (méthanol)
2,40	s, 3H, $\underline{\text{CH}}_3$	
3,98	t, 2H, J = 6,0 Hz, $\underline{\text{H}}_3$	
4,07 à 4,20	M, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$	
6,58	s, 1H, $\underline{\text{H}}_8$	

IR :

1640	v CO (pyridone)
2240	v CN
2900	v C-C (acétal)

6-Acétamidométhyl-7-méthyl-5-oxo-1-(1,3-dioxolanyl)-1,2,3,5-tétrahydroindolizine



REACTIFS :

Nitrile 7	1 g	1 eq.	3,6 mmol
Nickel de Raney	1,5 g		
Acide acétique glacial			15 mL
Anhydride acétique			45 mL

PROTOCOLE :

Le mélange acide acétique glacial /anhydride acétique (1:3) est introduit dans un autoclave. Le nickel de Raney est lavé par de l'acide acétique puis introduit dans l'autoclave. Le nitrile **6** est ensuite ajouté. Le mélange est chauffé pendant 6 h à 45 °C sous une pression d'hydrogène de 45 psi.

Après refroidissement, le milieu réactionnel est filtré sur célite afin d'éliminer le nickel. Le filtrat est évaporé à sec; l'huile brune obtenue est diluée dans 100 mL d'eau saturée en NaCl, puis extraite plusieurs fois par le chloroforme. Les phases organiques sont rassemblées, séchées puis évaporées à sec. Le composé **7** est alors obtenu sous forme d'une huile jaune. Cette huile est reprise dans l'éther où l'amide précipite sous forme de poudre blanche.

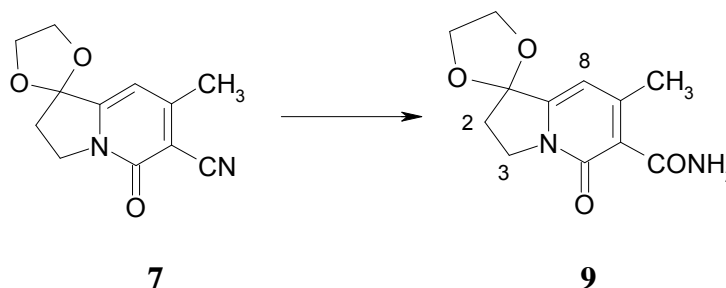
RMN (CDCl₃) :

1,93	s, 3H, NHCOCH ₃	
2,36	t, 2H, J = 6,6 Hz, H ₂	Solide blanc
2,40	s, 3H, CH ₃	Rdt = 72%
4,07 à 4,18	M, 6H, OCH ₂ CH ₂ O et H ₃	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ CH ₃ OH 1) = 0,55
4,36	d, 2H, CH ₂ NHCOCH ₃	F = 152 °C (acétone)
6,14	s, 1H, H ₈	
6,81	M, 1H, NHCOCH ₃	

IR :

1656	v CO (pyridone) et v CO (amide)
2886	v C-C (acétal)
3258	v NH (amide)

6-Aminocarbonyl-7-méthyl-5-oxo-1-(1,3-dioxolanyl)-1,2,3,5-tétrahydroindolizine

**REACTIFS :**

Nitrile 7	2 g	1 eq.	8 mmol
Hydroxyde de sodium	3,3 g	10 eq.	80 mmol
Eau			10 mL
Méthanol			50 mL

PROTOCOLE :

L'hydroxyde de sodium est dissous dans l'eau. Le méthanol et le nitrile **7** sont ensuite ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 48 h.

Après refroidissement, le mélange est acidifié par de l'acide acétique jusqu'à pH 4. Il est ensuite extrait par du dichlorométhane. La phase organique est lavée plusieurs fois par une solution d'eau saturée en NaCl, séchée sur MgSO₄ et évaporée pour obtenir une huile marron. Par ajout d'éther diisopropylique, le produit précipite. Le précipité est essoré. Le solide beige obtenu est solubilisé dans le toluène en présence de charbon végétal. Après filtration du charbon, l'amide **9** précipite sous forme de poudre blanche.

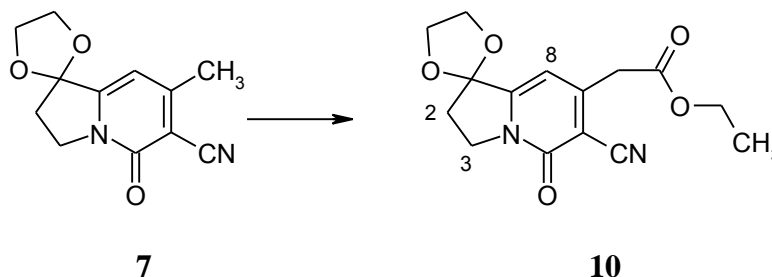
RMN (DMSO-*d*₆):

2,32	s, 3H, <u>CH</u> ₃	Solide blanc
2,35	t, 2H, J = 7,0 Hz, <u>H</u> ₂	Rdt = 65%
3,94	t, 2H, J = 7,0 Hz, <u>H</u> ₃	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ CH ₃ OH 1) = 0,65
4,04 à 4,18	M, 4H, O <u>CH</u> ₂ <u>CH</u> ₂ O	F = 187 °C (toluène)
6,36	s, 1H, <u>H</u> ₈	
7,37 et 8,08	2 M, 1H et 1H, <u>CONH</u> ₂	

IR:

1662	v CO (pyridone) et v CO (amide)
2972	v C-C (acétal)
3175 et 3325	v NH ₂ (amide)

2-[6-Cyano-1-(1,3-dioxolanyl)-5-oxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizin-7-yl]acétate d'éthyle



REACTIFS :

Pyridone 7	5 g	1 eq.		21,6 mmol
Carbonate de diéthyle	5,1 g	2 eq.	5,2 mL	43,2 mmol
NaH (60% dans l'huile minérale)	3,5 g	4 eq.		86,2 mmol
Ethanol	0,3 g	0,3 eq.	0,4 mL	6,5 mmol
Toluène anhydre			30 mL	

PROTOCOLE :

L'hydrure de sodium est ajouté par petites portions au toluène anhydre. Le mélange est agité pendant 15 min à température ambiante. La pyridone **7** est ensuite ajoutée par petites quantités. Le mélange est placé sous atmosphère d'azote et porté à reflux pendant 30 min. Le mélange de carbonate de diéthyle et d'éthanol est alors ajouté goutte-à-goutte sur une période de 10 min. Le mélange est chauffé à reflux pendant 3 h.

Après refroidissement, le milieu réactionnel est filtré. Le précipité vert-brun obtenu est dissous dans l'eau puis acidifié avec de l'acide acétique 50%. Ce milieu est extrait plusieurs fois par le dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées puis évaporées sous pression réduite.

Le résidu vert est purifié sur colonne chromatographique de silice avec, comme éluant, un mélange CH₂Cl₂ 9/AE 1 → CH₂Cl₂ 7/AE 3. L'ester **10** est obtenu sous forme d'une poudre blanche.

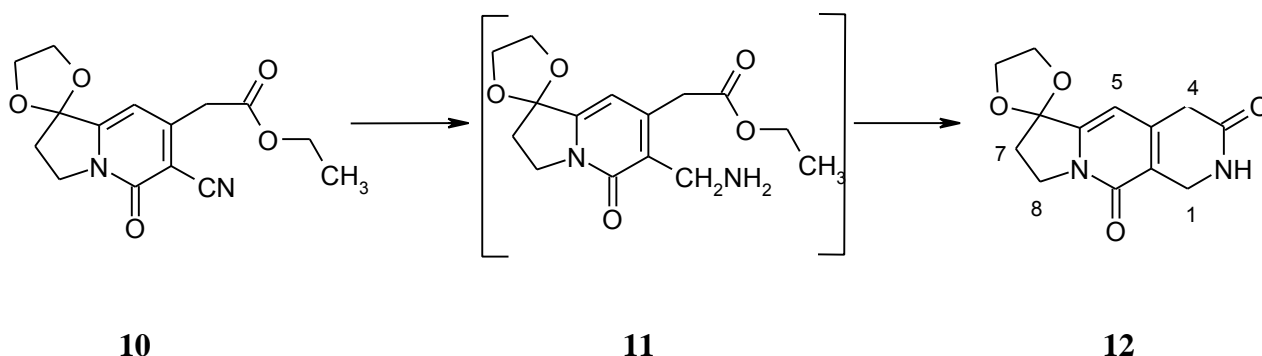
RMN (CDCl₃) :

1,30	t, 3H, J = 7,1 Hz, COOCH ₂ CH ₃	Solide blanc
2,44	t, 2H, J = 7,0 Hz, H ₂	Rdt = 62%
3,79	s, 2H, CH ₂ COOCH ₂ CH ₃	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ CH ₃ OH 1) = 0,61
4,13 à 4,23	M, 8H, OCH ₂ CH ₂ O, H ₃ et COOCH ₂ CH ₃	F = 173 °C (méthanol)
6,34	s, 1H, H ₈	

IR :

1600	v C=C
1652	v CO (pyridone)
1732	v CO (ester)
2221	v CN
2914	v C-C (acétal)

6-(1,3-Dioxolanyl)-1,4,7,8-tétrahydro-2H-pyrrolo[1,2-b][2,7]naphthyridine-3,10-dione



REACTIFS :

Ester 10	2 g	1 eq.	6,6 mmol
Nickel de Raney	3 g		
Ethanol			50 mL
Ammoniac			

PROTOCOLE :

L'éthanol est saturé par de l'ammoniac pendant 15 min. Le nickel de Raney est lavé par de l'éthanol.

L'éthanol saturé en ammoniac et le nickel de Raney lavé sont introduits dans un autoclave. L'ester **10** est ensuite ajouté. Le mélange est chauffé pendant 6 h à 45 °C sous 50 psi d'hydrogène.

Après refroidissement, le nickel de Raney est filtré et lavé avec de l'éthanol chaud. Le filtrat est ensuite évaporé sous pression réduite.

Le mélange d'ester **11** et de naphthyridine **12** est alors chauffé à 60 °C dans l'éthanol pendant 4 h afin de terminer la cyclisation en naphthyridine **12**. Le milieu réactionnel est concentré par évaporation de la moitié de l'éthanol présent. Lors du refroidissement, la naphthyridine cristallise sous forme de fines aiguilles blanches.

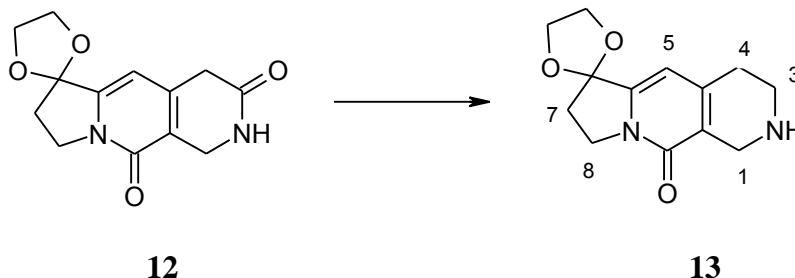
RMN (DMSO-*d*₆):

2,33	t, 2H, J = 6,8 Hz, <u>H</u> ₇	Solide blanc
3,34	M, 2H, <u>H</u> ₄	Rdt = 71%
3,93	t, 2H, J = 6,8 Hz, <u>H</u> ₈	Rf (CH ₂ Cl ₂ 95/ CH ₃ OH 5) = 0,17
4,03 à 4,16	M, 6H, OCH ₂ CH ₂ O et <u>H</u> ₁	F > 250 °C (éthanol)
6,28	s, 1H, <u>H</u> ₅	
8,00	s, 1H, NHCO (échangeable dans D ₂ O)	

IR:

1605	v C=C
1670	v CO (pyridone)
1676	v CO (lactame)
2914	v C-C (acétal)
3201	v NH (lactame)

6-(1,3-Dioxolanyl)-1,2,3,4,7,8-hexahydro-pyrrolo[1,2-b][2,7]naphtyridin-10-one

**REACTIFS :**

Lactame 12	1 g	1 eq.		3,8 mmol
Borane - sulfure de diméthyle (2M/THF)	2,3 g	8 eq.	16 mL	30,4 mmol
Dichlorométhane			10 mL	

PROTOCOLE :

Le lactame **12** est dissous dans du dichlorométhane préalablement séché sur CaCl₂. La solution est agitée sous atmosphère d'azote à température ambiante. 2 équivalents de borane sont introduits toutes les 12 h par un septum. Une fois la totalité du borane introduit, le mélange est agité pendant 24 h à température ambiante.

Le milieu réactionnel est dilué dans 200 mL de méthanol. La solution est concentrée sous pression réduite. Après lavage du précipité jaune par l'éthanol, on obtient une poudre blanche.

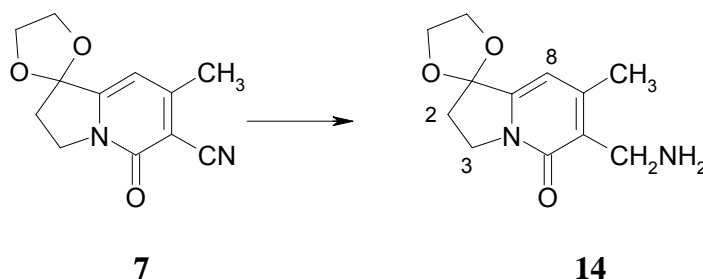
RMN (DMSO-*d*₆) :

2,32	t, 2H, J = 6,8 Hz, <u>H</u> ₇	Solide blanc
2,58 à 2,79	M, 3H, <u>H</u> _{3ax} , <u>H</u> _{4ax} , <u>H</u> _{4eq}	Rdt = 53%
3,15 à 3,24	M, 2H, <u>H</u> _{3eq} , <u>H</u> _{1ax}	Rf (CH ₂ Cl ₂ 95/ CH ₃ OH 5) = 0,45
3,73	d, 1H, J = 16 Hz, <u>H</u> _{1eq}	
3,92	t, 2H, J = 6,8 Hz, <u>H</u> ₈	
4,02 à 4,13	M, 4H, OCH ₂ CH ₂ O	
6,27	s, 1H, <u>H</u> ₅	
6,40	s, 1H, <u>NH</u> (non échangeable)	

IR :

1589	v C=C
1655	v CO (pyridone)
3171	v NH (amine)

6-(Aminométhyl)-7-méthyl-5-oxo-1-(1,3-dioxolanyl)-1,2,3,5-tétrahydroindolizine

**REACTIFS :**

Nitrile 7	1 g	1 eq.	3,6 mmol
Nickel de Raney	1,5 g		
Ethanol saturé en ammoniac			60 mL

PROTOCOLE :

L'éthanol saturé en ammoniac puis le nickel de Raney est lavé par de l'éthanol sont introduits dans un autoclave. Le nitrile **7** est ensuite ajouté. Le mélange est chauffé pendant 6 h à 45 °C sous une pression d'hydrogène de 45 psi.

Après refroidissement, le milieu réactionnel est filtré sur célite afin d'éliminer le nickel. Le filtrat est évaporé à sec; l'huile brune obtenue est diluée dans 100 mL de solution de carbonate de potassium à 10%, puis extraite plusieurs fois par le chloroforme. Les phases organiques sont rassemblées, séchées puis évaporées à sec. Le composé **14** est alors obtenu sous forme d'une huile jaune. Cette huile est reprise dans l'éther diisopropylique où le produit attendu précipite sous forme de poudre beige.

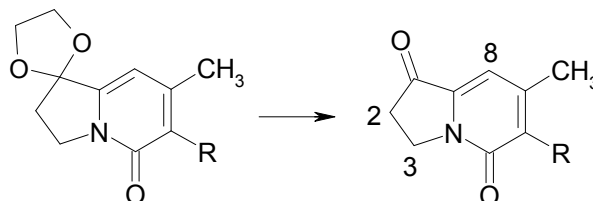
RMN (CDCl₃) :

1,76	s, 2H, <u>NH₂</u>	Solide beige Rdt = 32% Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ CH ₃ OH 1) = 0,30 F = 130 °C (Cyclohexane/Toluène)
2,28	s, 3H, <u>CH₃</u>	
2,36	t, 2H, J = 7,1 Hz, <u>H₂</u>	
3,78	s, 2H, <u>CH₂</u>	
4,08 à 4,18	M, 6H, <u>OCH₂CH₂O</u> et <u>H₃</u>	
6,11	s, 1H, <u>H₈</u>	

IR :

1578	v CC (aromatique)
1653	v CO (pyridone)
2885	v C-C (acétal)
3370	v NH ₂ (amine)

7-Méthyl-1,5-dioxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizines



$R = \text{CH}_2\text{NHCOCH}_3$	8	19
$R = \text{CONH}_2$	9	20

PROTOCOLE :

1g de pyridone **8** ou **9** est dissous dans de l'acide trifluoroacétique à 80% (10 mL). Le milieu réactionnel est placé sous atmosphère inerte et agité pendant 3 h à température ambiante.

Il est ensuite concentré sous vide. Le solide jaune obtenu est lavé plusieurs fois par de l'éther.

19 : 6-Acétamidométhyl-7-méthyl-1,5-dioxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizine

RMN (CDCl₃) :

1,95	s, 3H, <u>NHCOCH₃</u>	Solide beige
2,51	s, 3H, <u>CH₃</u>	Rdt = 85%
2,91	t, 2H, J = 6,6 Hz, <u>H₂</u>	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ CH ₃ OH 1) = 0,46
4,29	t, 2H, J = 6,6 Hz, <u>H₃</u>	F = 185 °C
4,42	d, 2H, J = 6,6 Hz, <u>CH₂NHCOCH₃</u>	
6,80	M, 2H, <u>NHCOCH₃</u> et <u>H₈</u>	

IR :

1647	v CO (pyridone) et v CO (amide)
1735	v CO (cétone)
3301	v NH (amide)

20 : 6-Aminocarbonyl-7-méthyl-1,5-dioxo-1,2,3,5-tétrahydroindolizine

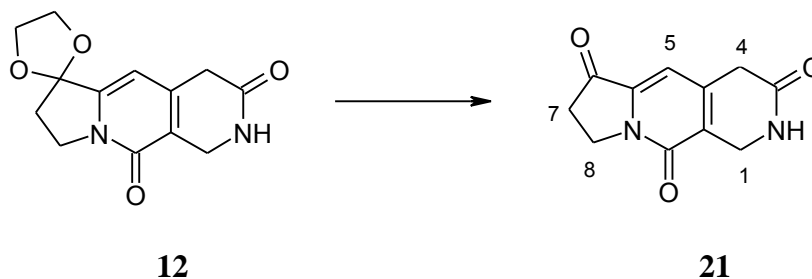
RMN (DMSO-d₆) :

2,31	s, 3H, <u>CH₃</u>	Solide jaune
2,88	t, 2H, J = 6,5 Hz, <u>H₂</u>	Rdt = 93%
4,08	t, 2H, J = 6,5 Hz, <u>H₃</u>	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ CH ₃ OH 1) = 0,38
6,75	s, 1H, <u>H₈</u>	F = 161 °C
7,53 et 7,99	2 M, 1H et 1H, <u>CONH₂</u>	

IR :

1672	v CO (pyridone) et v CO (amide)
1745	v CO (cétone)
3130 et 3328	v NH ₂ (amide)

**1,4,7,8-Tétrahydro-
pyrrolo[1,2-b][2,7]naphtyridin-3,6,10-trione**



PROTOCOLE :

1g de pyridone **12** est dissous dans de l'acide trifluoroacétique à 80% (10 mL). Le milieu réactionnel est placé sous atmosphère inerte et agité pendant 3 h à température ambiante.

Il est ensuite concentré sous vide. Le solide jaune obtenu est lavé plusieurs fois par de l'éther.

RMN (DMSO- d_6) :

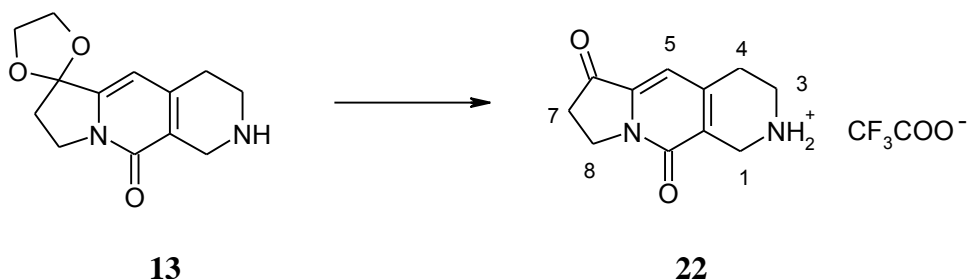
2,32	t, 2H, J = 6,4 Hz, \underline{H}_7
3,44	M, 2H, \underline{H}_4
3,92	t, 2H, J = 6,4 Hz, \underline{H}_8
4,20	d, 2H, J = 2,0 Hz, \underline{H}_1
6,73	s, 1H, \underline{H}_5
8,06	s, 1H, \underline{NHCO} (échangeable dans D_2O)

Solide beige
Rdt = 90%
Rf (CH_2Cl_2 95/ CH_3OH 5) = 0,29
F > 250 °C

IR :

1604	v C=C
1653	v CO (pyridone)
1683	v CO (lactame)
1721	v CO (cétone)
3254	v NH (amide)

**1,2,3,4,6,7,8,10-Octahydropyrrolo[1,2-b][2,7]naphthyridine-6,10-dione,
trifluoroacétate**



PROTOCOLE :

1g de pyridone **13** est dissous dans de l'acide trifluoroacétique à 80% (10 mL). Le milieu réactionnel est placé sous atmosphère inerte et agité pendant 3 h à température ambiante.

Il est ensuite concentré sous vide. Le solide beige obtenu est lavé plusieurs fois par de l'éther.

RMN (DMSO- d_6) :

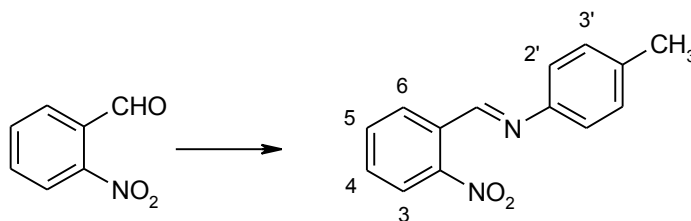
2,91	M, 4H, $\underline{\text{H}}_7$ et $\underline{\text{H}}_4$
3,35	q, 2H, $J = 6,2 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H}}_3$
4,04	s, 2H, $\underline{\text{H}}_1$
4,14	t, 2H, $J = 6,5 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H}}_8$
6,80	s, 1H, $\underline{\text{H}}_5$
9,29	s, 2H, $\underline{\text{NH}}_2^+$ (échangeables dans D_2O)

Solide blanc
Rdt = 76%
Rf (CH_2Cl_2 7/ CH_3OH 3) = 0,13
F = 205 °C (décomposition)

IR :

1599	v C=C
1650	v CO (pyridone)
1744	v CO (cétone)
3420	v NH_2^+ (amine salifiée)

N-*o*-Nitrobenzylidène-*p*-toluidine



25

REACTIFS :

<i>o</i> -Nitrobenzaldéhyde	1 g	1 eq.	6,66 mmol
<i>p</i> -Toluidine	0,71 g	1 eq.	6,66 mmol
Ethanol absolu			10 mL

PROTOCOLE :

L'*o*-nitrobenzaldéhyde et la *p*-toluidine sont dissous dans un minimum d'éthanol tiède. Ce mélange est porté à reflux et laissé à ébullition pendant 5 min.

On plonge le ballon dans un bain d'eau glacée où le produit précipite. Il est ensuite essoré.

RMN (CDCl₃) :

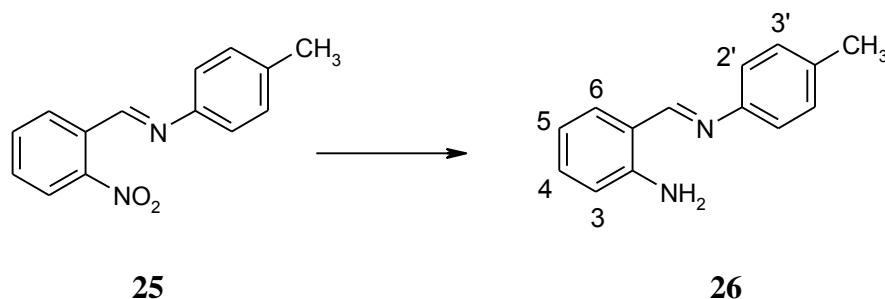
2,40	s, 3H, <u>CH</u> ₃
7,21 à 7,29	M, 4H, <u>H</u> _{2'} et <u>H</u> _{3'}
7,62	t, 1H, J = 7,5 Hz, <u>H</u> ₅
7,75	t, 1H, J = 7,5 Hz, <u>H</u> ₄
8,32	d, 1H, J = 7,5 Hz, <u>H</u> ₃
8,96	s, 1H, <u>CH</u> N

Solide jaune
Rdt = 98%
Rf (AE 2/ Cyclohexane 8) = 0,30
F = 72 °C (éthanol)

IR :

1335 et 1515 v NO₂

N-*o*-Aminobenzylidène-*p*-toluidine



REACTIFS :

N- <i>o</i> -nitrobenzylidène- <i>p</i> -toluidine	2,4 g	1 eq.		10 mmol
Ethanol			10 mL	
Sulfure de sodium . 9 H ₂ O	7,2 g	3 eq.		30 mmol
Ethanol/eau			10 mL/20 mL	

PROTOCOLE :

La N-*o*-nitrobenzylidène-*p*-toluidine est dissoute à chaud dans 10 mL d'éthanol. Cette solution est alors portée à reflux.

Le sulfure de sodium est dissous dans le mélange eau/éthanol, puis ajouté goutte-à-goutte à la solution du composé nitré.

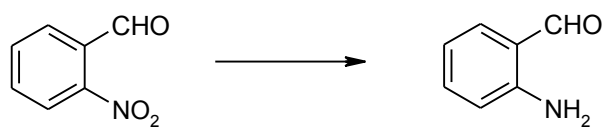
Le mélange est maintenu pendant 10 min à reflux. L'amine précipite *in situ* lors du refroidissement de la solution; elle est essorée, séchée et stockée au réfrigérateur sous argon et à l'abri de la lumière.

RMN (CDCl₃):

2,39	s, 3H, <u>CH₃</u>	Solide jaune pâle
6,56	s, 2H, <u>NH₂</u> , échangeables dans D ₂ O	Rdt = 92%
6,71 à 6,76	M, 2H, <u>H₄</u> et <u>H₅</u>	Rf (AE 2/ Cyclohexane 8) = 0,62
7,20	M, 5H, <u>H₃</u> , <u>H_{2'}</u> , et <u>H_{3'}</u>	F = 102 °C (méthanol)
7,34	d, 1H, J = 7,0 Hz, <u>H₆</u>	
8,55	s, 1H, <u>CHN</u>	

IR:

3258 et 3415 ν NH₂

o -Aminobenzaldéhyde**27****RÉACTIFS :**

<i>o</i> -Nitrobenzaldéhyde	1g	1 eq.	7 mmol
Palladium sur charbon 10%	100 mg		
Tétrahydrofurane		5 mL	

PROTOCOLE :

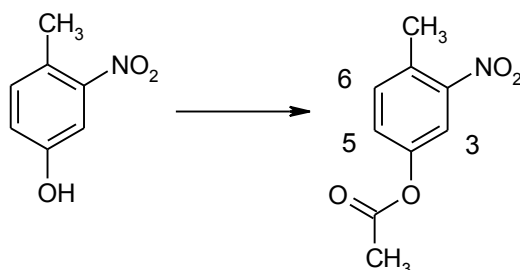
Le nitrobenzaldéhyde, le palladium sur charbon et le tétrahydrofurane sont placés sous pression atmosphérique d'hydrogène pendant 24 h à température ambiante.

Le milieu réactionnel est ensuite filtré sur célite afin d'éliminer le charbon palladié. Le filtrat est extrait plusieurs fois par le dichlorométhane. Les phases organiques sont ensuite séchées sur MgSO₄ et évaporées. L'amine obtenue sous forme d'huile est reprise par de l'éther saturé en HCl afin de former le chlorhydrate qui est essoré.

Solide rouge
Rf (AE 5/ Cyclohexane 5) = 0,63

IR:
1666 v CHO
3351 et 3415 v NH₂

4-Acétoxy-2-nitrotoluène



28

REACTIFS :

4-Méthyl-3-nitrophénol	10 g	1 eq.	65,4 mmol
Anhydride acétique			70 mL
Acide sulfurique			1 mL

PROTOCOLE :

Le phénol est dissous dans l'anhydride acétique contenant l'acide sulfurique. Le milieu est ensuite agité à température ambiante pendant 12 h.

Le mélange est dilué dans 200 mL d'eau froide. La solution est refroidie dans un bain de glace et le produit huileux cristallise. L'ester est essoré, lavé à l'eau froide et séché au dessiccateur.

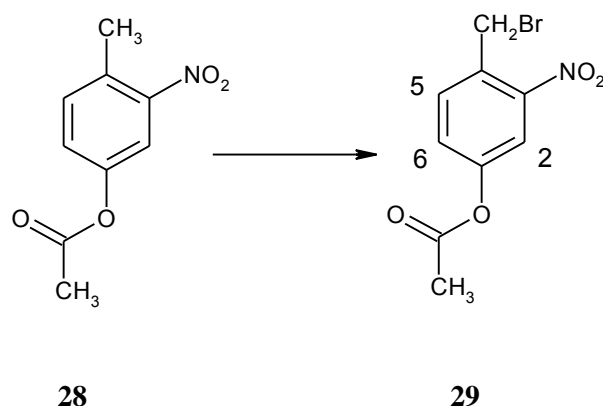
RMN (CDCl₃) :

2,34	s, 3H, OCOCH ₃	Solide beige Rdt = 92% Rf (AE 5/ Heptane 5) = 0,68 F = 71 °C (éthanol)
2,61	s, 3H, CH ₃	
7,29	dd, 1H, J _o = 8,3 Hz, J _m = 2,4 Hz, H ₅	
7,37	d, 1H, J _o = 8,3 Hz, H ₆	
7,78	d, 1H, J _m = 2,4 Hz, H ₃	

IR :

1348 et 1527	v NO ₂
1759	v CO

1-Acétoxy-4-bromométhyl-3-nitrobenzène



REACTIFS :

4-Acétoxy-2-nitrotoluène	2 g	1 eq.	10,3 mmol
N-bromosuccinimide	7,3 g	4 eq.	41,2 mmol
Peroxyde de benzoyle	500 mg	0,2 eq.	2 mmol
Tétrachlorure de carbone			60 mL

PROTOCOLE :

L'ester **28** est dissous dans le tétrachlorure de carbone séché sur CaCl₂. Le N-bromosuccinimide et le peroxyde de benzoyle, conservés au dessiccateur, sont ajoutés. La solution est portée à reflux grâce à une lampe halogène (puissance 500 W), pendant 3 h.

Après refroidissement, le succinimide est filtré et lavé avec du tétrachlorure de carbone. Le filtrat est concentré aux $\frac{3}{4}$, puis refroidi dans l'eau glacée. Le solide obtenu est essoré, lavé par l'éther, puis séché.

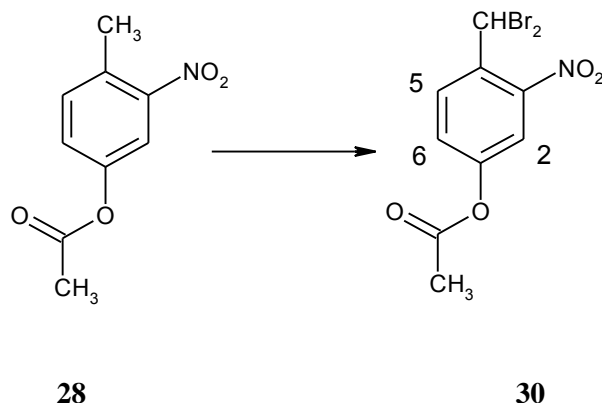
RMN (CDCl₃):

2,27	s, 3H, OCOCH ₃	Solide beige Rdt = 72% Rf (AE 4/ Heptane 6) = 0,57
4,75	s, 2H, CH ₂ Br	
7,32	d, 1H, J _o = 8,4 Hz, H ₆	
7,51	d, 1H, J _o = 8,4 Hz, H ₅	
7,78	s, 1H, H ₂	

IR:

654	v C – Br
1338 et 1532	v NO ₂
1773	v CO

1-Acétoxy-4-dibromométhyl-3-nitrobenzène



RÉACTIFS :

4-Acétoxy-2-nitrotoluène	2 g	1 eq.	10,3 mmol
N-bromosuccinimide	7,3 g	4 eq.	41,2 mmol
Peroxyde de benzoyle	500 mg	0,2 eq.	2 mmol
Tétrachlorure de carbone			60 mL

PROTOCOLE :

L'ester **28** est dissous dans le tétrachlorure de carbone séché sur CaCl_2 . Le N-bromosuccinimide et le peroxyde de benzoyle, conservés au dessiccateur, sont ajoutés. La solution est portée à reflux grâce à une lampe halogène (puissance 500 W), pendant 7 h.

Après refroidissement, le succinimide est filtré et lavé avec du tétrachlorure de carbone. Le filtrat est concentré aux $\frac{3}{4}$, puis refroidi dans l'eau glacée. Le solide obtenu est essoré, lavé par l'éther, puis séché.

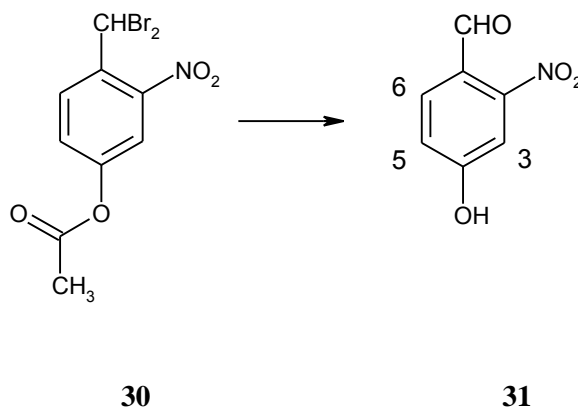
RMN (CDCl_3):

2,37	s, 3H, OCOCH_3	Solide beige
7,47	s, 1H, CHBr_2	Rdt = 83%
7,50	dd, 1H, $J_o = 8,7 \text{ Hz}$, $J_m = 2,5 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H}}_6$	Rf (AE 4/ Heptane 6) = 0,61
7,74	d, 1H, $J_m = 2,5 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H}}_2$	F = 101 °C (éther)
8,27	d, 1H, $J_o = 8,7 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H}}_5$	

IR :

630	v C – Br
1352 et 1535	v NO_2
1758	v CO

4-Hydroxy-2-nitrobenzaldehyde



REACTIFS :

1-Acétoxy-4-dibromométhyl-3-nitrobenzène	10 g	28 mmol
Hydrogénocarbonate de sodium	9,9 g	
Ethanol		220 mL
Eau		220 mL

PROTOCOLE :

L'hydrogénocarbonate de sodium est dissous dans 440 mL d'un mélange eau/éthanol (1/1). Le dérivé dibromé **30** est ajouté à cette solution. Le mélange est porté à reflux pendant 3 h. L'éthanol est ensuite évaporé sous vide.

Après refroidissement, la solution est acidifiée avec de l'acide chlorhydrique 2 N jusqu'à ce que le produit précipite. L'aldéhyde est alors essoré, lavé à l'eau glacée et séché au dessiccateur.

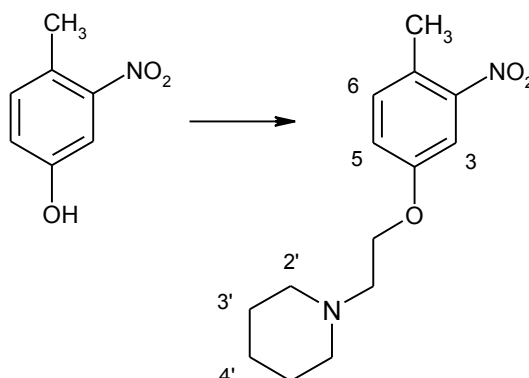
RMN (CD₃OD) :

6,12	s, 1H, <u>OH</u>	Solide jaune
7,34	dd, 1H, $J_o = 8,8$ Hz, $J_m = 2,7$ Hz, <u>H₅</u>	Rdt = 82%
7,54	d, 1H, $J_m = 2,7$ Hz, <u>H₃</u>	Rf (AE 4/ Heptane 6) = 0,33
8,06	d, 1H, $J_o = 8,8$ Hz, <u>H₆</u>	F = 137 °C (éthanol/au)
10,27	s, 1H, <u>CHO</u>	

IR :

1358 et 1533	v NO ₂
1672	v CO
3250	v OH

4-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-3-nitrotoluène



32

REACTIFS :

4-Méthyl-3-nitrophénol	500 mg	1 eq.	3 mmol
N-2-chloroéthylpipéridine	600 mg	1 eq.	3 mmol
Carbonate de potassium	1350 mg	3 eq.	10 mmol
Diméthylformamide			5 mL

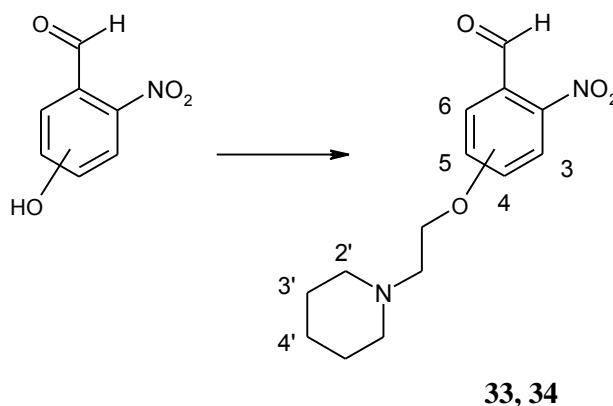
PROTOCOLE :

L'aldéhyde, la pipéridine, le carbonate de potassium et le diméthylformamide sont chauffés à 80 °C pendant 3 h. Après refroidissement, le mélange est dilué dans 30 mL d'eau. Le produit est extrait par l'éther. Un lavage basique avec K_2CO_3 permet d'éliminer le phénol qui n'a pas réagi. La phase organique est ensuite évaporée et le nitrotoluène **32** est obtenu sous forme huileuse.

RMN (CDCl₃) :

1,36	M, 2H, <u>H_{4'}</u>	Huile jaune
1,52	qu, 4H, J = 5,6 Hz, <u>H_{3'}</u>	Rdt = 58%
2,42	M, 7H, <u>H_{2'}</u> et <u>CH₃</u>	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ MeOH 1) = 0,45
2,69	t, 2H, J = 6,2 Hz, NCH ₂ CH ₂ O	
4,04	t, 2H, J = 6,2 Hz, NCH ₂ CH ₂ O	
6,97	dd, 1H, J _o = 8,1 Hz, J _m = 2,9 Hz, <u>H₅</u>	
7,12	d, 1H, J _o = 8,1 Hz, <u>H₆</u>	
7,42	d, 1H, J _m = 2,9 Hz, <u>H₃</u>	

[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-2-nitrobenzaldéhydes



REACTIFS :

Hydroxy-2-nitrobenzaldéhyde	1 g	1 eq.	6 mmol
N-2-chloroéthylpipéridine	1,1 g	1 eq.	6 mmol
Carbonate de potassium	2,5 g	3 eq.	18 mmol
Diméthylformamide			10 mL

PROTOCOLE :

L'aldéhyde, la pipéridine, le carbonate de potassium et le diméthylformamide sont chauffés à 80 °C pendant 3 h. Après refroidissement, le mélange est dilué dans 30 mL d'eau. Le produit est extrait par l'éther. La phase organique est ensuite évaporée et l'aldéhyde est obtenu sous forme huileuse.

33 : 4-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-2-nitrobenzaldéhyde

RMN (CD₃OD) :

1,39	M, 2H, <u>H</u> ₄ ,
1,55	M, 4H, <u>H</u> ₃ ,
2,45	M, 4H, <u>H</u> ₂ ,
3,28	t, 2H, J = 6,0 Hz, NCH ₂ CH ₂ O
4,23	t, 2H, J = 6,0 Hz, NCH ₂ CH ₂ O
7,18	dd, 1H, J _o = 8,8 Hz, J _m = 2,7 Hz, <u>H</u> ₅
7,46	d, 1H, J _m = 2,8 Hz, <u>H</u> ₃
8,22	d, 1H, J _o = 8,8 Hz, <u>H</u> ₆
10,35	s, 1H, <u>CHO</u>

Huile jaune

Rdt = 70%

Rf (CH₂Cl₂ 9/ MeOH 1) = 0,78

IR :

1351 et 1536	v NO ₂
1611	v C=C (aromatique)
1693	v CO (aldéhyde)
2770, 2856 et 2935	v C-H (aliphatique)

34 : 5-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-2-nitrobenzaldéhydeRMN (CD₃OD) :

1,41	M, 2H, <u>H₄</u> ,
1,58	M, 4H, <u>H₃</u> ,
2,48	M, 4H, <u>H₂</u> ,
3,28	t, 2H, J = 5,8 Hz, N <u>CH₂</u> CH ₂ O
4,21	t, 2H, J = 5,8 Hz, NCH ₂ <u>CH₂</u> O
7,14	dd, 1H, J _o = 9,2 Hz, J _m = 2,9 Hz, <u>H₄</u>
7,30	d, 1H, J _m = 2,9 Hz, <u>H₆</u>
8,12	d, 1H, J _o = 9,2 Hz, <u>H₃</u>
10,44	s, 1H, <u>CHO</u>

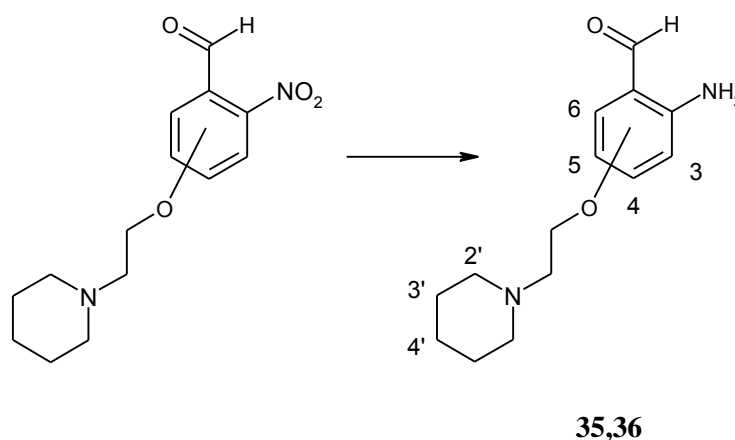
Huile jaune

Rdt = 80%

Rf (CH₂Cl₂ 9/ MeOH 1) = 0,47IR :

1330 et 1517	v NO ₂
1584	v C=C (aromatique)
1698	v CO (aldéhyde)
2787, 2853 et 2933	v C-H (aliphatique)

2-Amino-[2-(1-pipéridino)éthoxy]benzaldéhydes



REACTIFS :

2-(1-Pipéridino)éthoxy-2-nitrobenzaldéhyde 33,34	1 g	1 eq.	3,6 mmol
Fer en poudre	1,2 g	6 eq.	21,6 at.g
Acide acétique/éthanol/eau			10/10/5 mL
Acide chlorhydrique concentré			0,25 mL

PROTOCOLE :

Le nitrobenzaldéhyde **33** ou **34** est dissous dans le mélange acide acétique/éthanol/eau (2:2:1). La poudre de fer, puis l'acide chlorhydrique sont ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 15 min, puis filtré à chaud. La solution est ensuite alcalinisée avec du bicarbonate de sodium et extraite par le chloroforme. La phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée en NaCl, puis séchée sur MgSO₄ et enfin évaporée. On obtient alors l'amine sous forme huileuse.

35 : 2-Amino-4-[2-(1-pipéridino)éthoxy]benzaldéhyde

RMN (CDCl₃) :

1,45	M, 2H, <u>H</u> _{4'}
1,61	M, 4H, <u>H</u> _{3'}
2,53	M, 4H, <u>H</u> _{2'}
2,78	t, 2H, J = 6,0 Hz, NCH ₂ CH ₂ O
4,12	t, 2H, J = 6,0 Hz, NCH ₂ CH ₂ O
6,08	d, 1H, J _m = 2,2 Hz, <u>H</u> ₃
6,28	dd, 1H, J _o = 8,6 Hz, J _m = 2,2 Hz, <u>H</u> ₅
6,31	s, 2H, NH ₂ , échangeables dans D ₂ O
7,33	d, 1H, J _o = 8,6 Hz, <u>H</u> ₆
9,66	s, 1H, CHO

Huile orangée

Rdt = 75%

Rf (CH₂Cl₂ 9/ MeOH 1) = 0,43

IR :

1621	v C=C (aromatique)
1662	v CO (aldéhyde)
2853 et 2934	v C-H (aliphatique)
3337 et 3442	v NH ₂

36 : 2-Amino-5-[2-(1-pipéridino)éthoxy]benzaldéhydeRMN (CDCl₃) :

1,46	M, 2H, <u>H</u> ₄ ,
1,63	M, 4H, <u>H</u> ₃ ,
2,56	M, 4H, <u>H</u> ₂ ,
2,80	t, 2H, J = 5,8 Hz, N <u>CH</u> ₂ CH ₂ O
4,10	t, 2H, J = 5,8 Hz, NCH ₂ <u>CH</u> ₂ O
5,86	s, 2H, <u>NH</u> ₂ , échangeables dans D ₂ O
6,11	d, 1H, J _o = 8,6 Hz, <u>H</u> ₃
6,99	M, 1H, <u>H</u> ₄
7,03	d, 1H, J _m = 2,9 Hz, <u>H</u> ₆
9,82	s, 1H, <u>CHO</u>

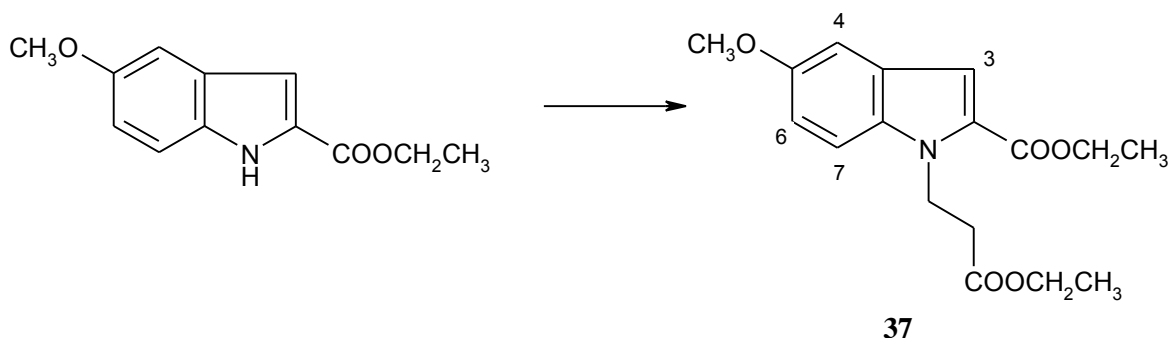
Huile marron

Rdt = 85%

Rf (CH₂Cl₂ 9/ MeOH 1) = 0,36IR :

1598	v C=C (aromatique)
1664	v CO (aldéhyde)
2852 et 2925	v C-H (aliphatique)
3332 et 3441	v NH ₂

1-(3-Ethoxy-3-oxopropyl)-5-méthoxy-1H-indole-2-carboxylate d'éthyle



REACTIFS :

2-Ethoxycarbonyl-5-méthoxyindole	2 g	1 eq.		9 mmol
Tert-butylate de potassium	1 g	1eq.		9 mmol
Acrylate d'éthyle	910 mg	1 eq.	1 mL	9 mmol
Toluène			30 mL	

PROTOCOLE :

Le tert-butylate de potassium est introduit dans le toluène préalablement séché. Cette suspension est agitée pendant 10 min à température ambiante. L'indole est ensuite ajouté. Le mélange est agité pendant 2 h à température ambiante. Enfin, l'acrylate d'éthyle est ajouté et le mélange est porté à reflux pendant 24 h.

Après refroidissement, le milieu réactionnel est hydrolysé, acidifié avec de l'acide chlorhydrique 4 N. La phase organique est alors lavée par l'eau. Le toluène est évaporé pour fournir une huile marron.

Cette huile est purifiée sur colonne de silice avec le dichlorométhane comme éluant. Le produit est obtenu sous forme d'une huile jaune.

RMN (CDCl₃) :

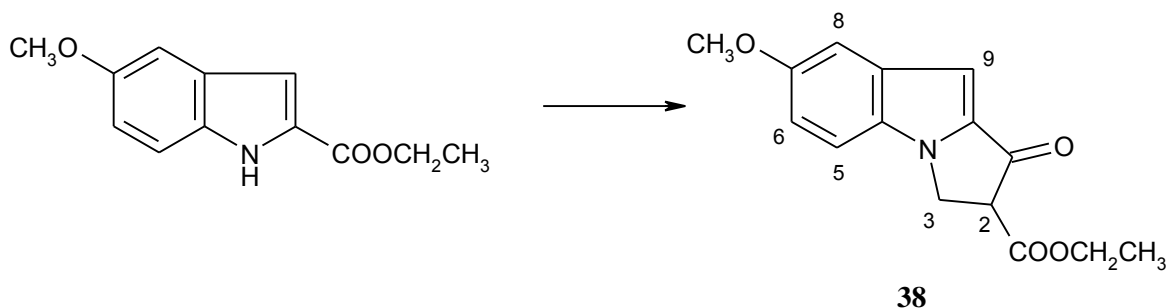
1,17	t, 3H, J = 7,1 Hz, COOCH ₂ CH ₃
1,40	t, 3H, J = 7,1 Hz, COOCH ₂ CH ₃
2,82	t, 2H, J = 7,1 Hz, CH ₂ COOCH ₂ CH ₃
3,83	s, 3H, OCH ₃
4,08	q, 2H, J = 7,1 Hz, COOCH ₂ CH ₃
4,37	q, 2H, J = 7,1 Hz, COOCH ₂ CH ₃
4,80	t, 2H, J = 7,1 Hz, NCH ₂ CH ₂ COOCH ₂ CH ₃
7,00	dd, 1H, J = 3,2 Hz, J = 8,7 Hz, H ₆
7,04	s, 1H, H ₃
7,21	s, 1H, H ₄
7,36	d, 1H, J = 8,7 Hz, H ₇

Huile jaune
R_f (CH₂Cl₂) = 0,41

IR :

1523	v CC (aromatique)
1624	v CN (indole)
1724 et 1732	v CO (esters)

7-Méthoxy-1-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[1,2-a]indole-2-carboxylate d'éthyle



REACTIFS :

2-Ethoxycarbonyl-5-méthoxyindole	5 g	1 eq.		23 mmol
Tert-butylate de potassium	2,6 g	1 eq.		23 mmol
Acrylate d'éthyle	2,3 g	1 eq.	2,5 mL	23 mmol
Toluène			100 mL	

PROTOCOLE :

Le tert-butylate de potassium est introduit dans le toluène préalablement séché. Cette suspension est agitée pendant 10 min à température ambiante. L'indole est ensuite ajouté. Le mélange est agité pendant 2 h à température ambiante. Enfin, l'acrylate d'éthyle est ajouté et le mélange est porté à reflux pendant 4 j.

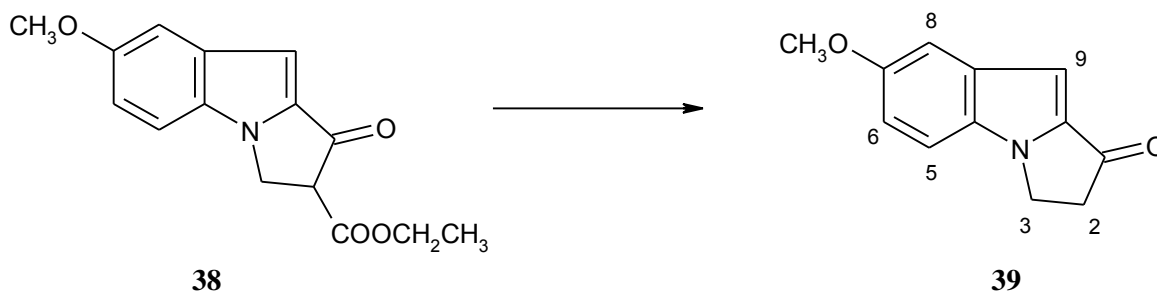
Après refroidissement, le milieu réactionnel est hydrolysé, acidifié avec de l'acide chlorhydrique 4 N. La phase organique est alors lavée par l'eau. Le toluène est évaporé pour fournir un solide orange.

Ce solide est lavé plusieurs fois par le méthanol afin d'obtenir une poudre beige.

RMN (CDCl₃):

1,35	t, 3H, J = 7,1 Hz, COOCH ₂ CH ₃	Poudre beige
3,87	s, 3H, OCH ₃	Rdt = 90%
4,20	dd, 1H, J = 4,2 Hz, J = 8,1 Hz, H ₂	Rf (CH ₂ Cl ₂ 99 / MeOH 1) = 0,59
4,31	q, 2H, J = 7,1 Hz, COOCH ₂ CH ₃	F = 92 °C (méthanol)
4,60	dd, 1H, système ABX, J = 8,1 Hz, J = 11,1 Hz, H ₃	
4,81	dd, 1H, système ABX, J = 4,2 Hz, J = 11,1 Hz, H ₃	
7,00	d, 1H, J = 1,0 Hz, H ₉	<u>IR:</u>
7,09	dd, 1H, J _o = 7,1 Hz, J _m = 2,5 Hz, H ₆	1537 v CC (aromatique)
7,11	M, 1H, H ₈	1625 v CN (indole)
7,35	ddd, 1H, J _o = 7,1 Hz, J _p = 1,4 Hz, J = 1,0 Hz, H ₅	1720 v CO (cétone et ester)

7-Méthoxy-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[1,2-a]indol-1-one



REACTIFS :

Indole 38	5,7 g	1 eq.	21 mmol
Acide acétique			125 mL

PROTOCOLE :

L'indole **38** est dissous dans l'acide acétique. Le mélange est porté à reflux pendant 24 h.

Après refroidissement, le milieu réactionnel est dilué avec 600 ml d'eau. Il se forme un précipité qui est essoré.

D'autre part, le filtrat est également extrait 2 fois par le dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées, lavées par de l'eau saturée en NaCl et évaporées afin d'obtenir un solide marron.

Les 2 lots de solide sont rassemblés et purifiés sur colonne de silice avec le dichlorométhane comme éluant. L'indole **39** est alors obtenu sous forme d'une poudre jaune.

RMN (CDCl₃) :

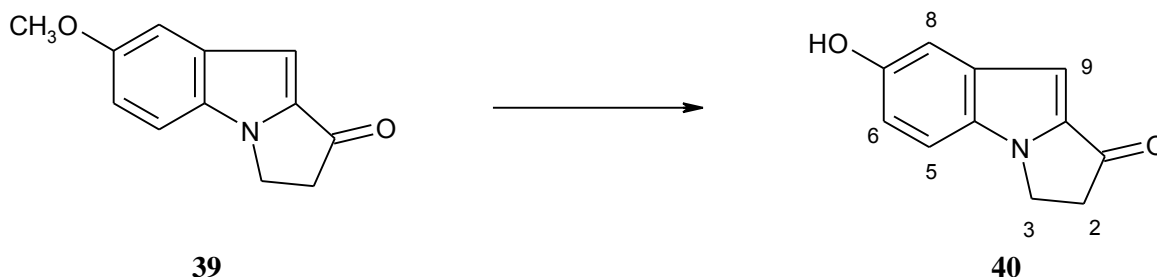
3,22	t, 2H, J = 6,2 Hz, <u>H₂</u>	
3,87	s, 3H, <u>OCH₃</u>	
4,43	t, 2H, J = 6,1 Hz, <u>H₃</u>	
6,94	s, 1H, <u>H₉</u>	
7,06	dd, 1H, J _o = 9,3 Hz, J _m = 2,7 Hz, <u>H₆</u>	
7,12	d, 1H, J _m = 2,7 Hz, <u>H₈</u>	
7,34	d, 1H, J _o = 9,3 Hz, <u>H₅</u>	

Poudre jaune
 Rdt = 80%
 Rf (CH₂Cl₂ 99 / MeOH 1) = 0,50
 F = 182 °C (acétone/cyclohexane)

IR :

1536	v CC (aromatique)
1623	v CN (indole)
1698	v CO (cétone)

7-Hydroxy-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[1,2-a]indol-1-one



REACTIFS :

Indole 39	950 mg	1 eq.		4,7 mmol
Tribromure de bore (1 M / CH ₂ Cl ₂)		3 eq.	14,2 mL	14,2 mmol
Dichlorométhane			30 mL	

PROTOCOLE :

L'indole **39** est dissous dans le dichlorométhane. Le milieu réactionnel est ensuite mis sous atmosphère d'azote et refroidi à 0°C. La solution de tribromure de bore (1 eq.) est alors ajoutée par un septum. Le milieu réactionnel est agité pendant 2 h à température ambiante puis 2 équivalents de la solution de tribromure de bore sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité pendant 2 h supplémentaires.

Il est ensuite dilué dans 200 mL d'eau glacée et extrait plusieurs fois par l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont séchées et évaporées pour donner un solide marron. Le composé est enfin purifié par chromatographie sur colonne de silice avec le mélange dichlorométhane 98 / méthanol 2 comme éluant.

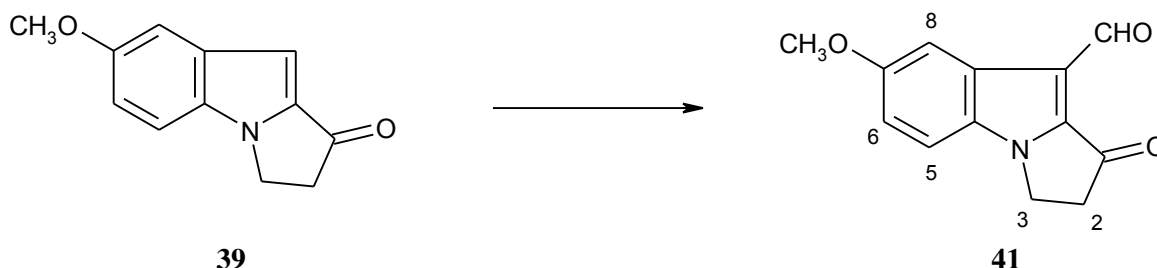
RMN (DMSO-d₆) :

3,14	t, 2H, J = 5,8 Hz, <u>H</u> ₂	Poudre marron
4,43	t, 2H, J = 5,8 Hz, <u>H</u> ₃	Rdt = 55%
6,74	s, 1H, <u>H</u> ₉	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9 / MeOH 1) = 0,52
6,92	dd, 1H, J _o = 9,0 Hz, J _m = 2,4 Hz, <u>H</u> ₆	F = 247 °C (méthanol/eau)
6,98	d, 1H, J _m = 2,4 Hz, <u>H</u> ₈	
7,43	d, 1H, J _o = 9,0 Hz, <u>H</u> ₅	
9,17	s, 1H, <u>OH</u> , échangeable dans D ₂ O	

IR :

1533	v CC (aromatique)
1626	v CN (indole)
1681	v CO (cétone)
3329	v OH (phénol)

7-Méthoxy-1-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[1,2-a]indole-9-carbaldéhyde



REACTIFS 1:

Indole 39	1 g	1 eq.		5,0 mmol
Chlorure d'étain (IV) (1 M / CH ₂ Cl ₂)		2 eq.	10 mL	10 mL
Dichlorométhylméthyléther	765 mg	1,3 eq.	0,5 mL	6,7 mmol
Dichlorométhane séché			50 mL	

PROTOCOLE 1:

Le chlorure stannique est introduit par une ampoule à addition dans un ballon tricol préalablement séché et inerté à l'azote. Le milieu est refroidi à 0 °C dans un bain de glace et de NaCl. Le dichlorométhylméthyléther est ajouté par une ampoule à addition. L'indole **39**, dilué dans le dichlorométhane, est introduit goutte-à-goutte sur une période de 3 h par une ampoule à addition. Le milieu réactionnel est alors agité pendant 3 jours à température ambiante sous atmosphère d'azote.

Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé par l'ajout de 30 mL d'eau puis agité pendant 3 h. Il est extrait plusieurs fois par le dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées puis filtrées sur célite, lavées 3 fois par de l'acide chlorhydrique 3N et par de l'eau saturée en NaCl. Elles sont enfin évaporées pour donner l'aldéhyde. Ce composé est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange acétate d'éthyle 7 / cyclohexane 3 comme éluant.

REACTIFS 2:

Indole 39	1 g	1 eq.		5,0 mmol
POCl ₃		3,2 eq.	1,5 mL	16 mmol
DMF sec		18 eq.	7 mL	90 mmol

PROTOCOLE 2:

Le DMF sec est introduit dans un ballon bicol. Ce ballon est placé dans un bain de glace puis POCl₃ est introduit. Le mélange est agité pendant 15 min à 0 °C. L'indole **39**, dilué dans le DMF sec, est introduit goutte-à-goutte. Le milieu réactionnel est ensuite agité pendant 2 h à température ambiante.

Le milieu réactionnel est alors versé sur de la glace puis alcalinisé avec K₂CO₃. Ce mélange est extrait plusieurs fois par le dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées, lavées par une solution d'eau saturée en NaCl, séchées et évaporées.

Le solide marron-vert obtenu est purifié sur colonne de silice avec un mélange acétate d'éthyle 7 / cyclohexane 3 comme éluant.

RMN (CDCl₃):

3,27	t, 2H, J = 5,7 Hz, <u>H</u> ₂
3,85	s, 3H, O <u>C</u> H ₃
4,55	t, 2H, J = 5,7 Hz, <u>H</u> ₃
7,06	dd, 1H, J _o = 9,2 Hz, J _m = 2,3 Hz, <u>H</u> ₆
7,12	d, 1H, J _m = 2,3 Hz, <u>H</u> ₈
7,34	d, 1H, J _o = 9,2 Hz, <u>H</u> ₅
10,28	s, 1H, <u>C</u> H <u>O</u>

Poudre orange

Rdt 1 = 30 %

Rdt 2 = 75 %

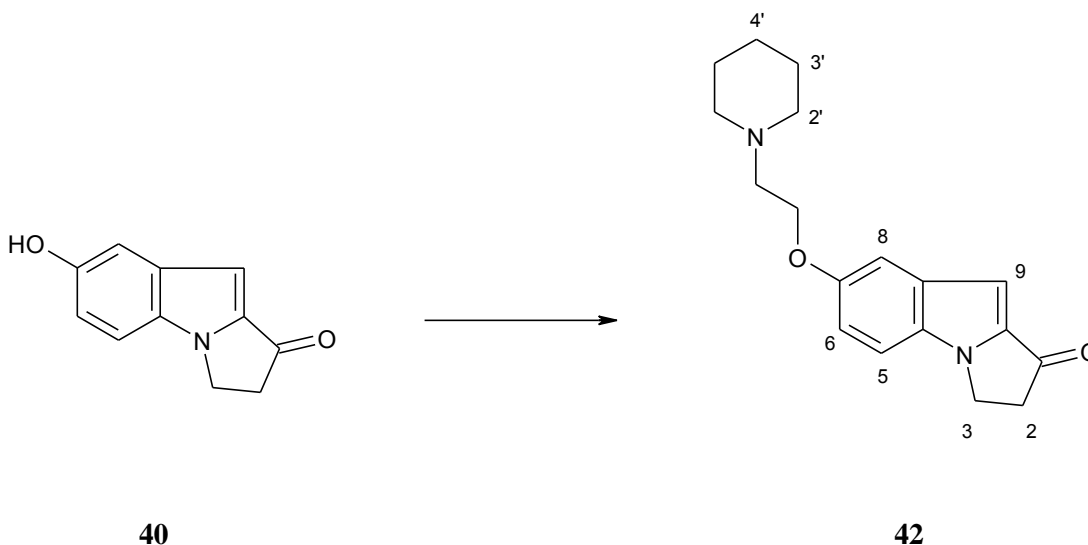
Rf (CH₂Cl₂ 98 / MeOH 2) = 0,71

F = 212 °C (dichlorométhane/éther de pétrole)

IR:

1541	v CC (aromatique)
1614	v CN (indole)
1660	v CO (aldéhyde)
1707	v CO (cétone)

7-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[1,2-a]indol-1-one

**RÉACTIFS :**

Indole 40	500 mg	1 eq.	2,7 mmol
N-2-chloroéthylpipéridine . HCl	735 mg	1,5 eq.	4,0 mmol
Carbonate de potassium	1,5 g	4 eq.	10,6 mmol
Diméthylformamide			10 mL

PROTOCOLE :

L'indole **40**, la pipéridine et le carbonate de potassium sont introduits dans un ballon. Le diméthylformamide est ajouté et le milieu réactionnel est chauffé à 80 °C, pendant 4 h.

Après refroidissement, le milieu est hydrolysé dans 100 mL d'eau, extrait 2 fois par l'éther. Les phases organiques sont rassemblées, séchées et évaporées.

L'indole **42** est recristallisé dans le cyclohexane.

RMN (CDCl₃):

1,47	M, 2H, <u>H</u> _{4'}
1,62	M, 4H, <u>H</u> _{3'}
2,54	M, 4H, <u>H</u> _{2'}
2,82	t, 2H, J = 6,0 Hz, NCH ₂ CH ₂ O
3,22	t, 2H, J = 6,0 Hz, <u>H</u> ₂
4,16	t, 2H, J = 6,0 Hz, NCH ₂ CH ₂ O
4,43	t, 2H, J = 6,0 Hz, <u>H</u> ₃
6,92	s, 1H, <u>H</u> ₉
7,08	dd, 1H, J _o = 8,7 Hz, J _m = 2,4 Hz, <u>H</u> ₆
7,12	d, 1H, J _m = 2,4 Hz, <u>H</u> ₈
7,33	d, 1H, J _o = 8,7 Hz, <u>H</u> ₅

Poudre jaune

Rdt = 52 %

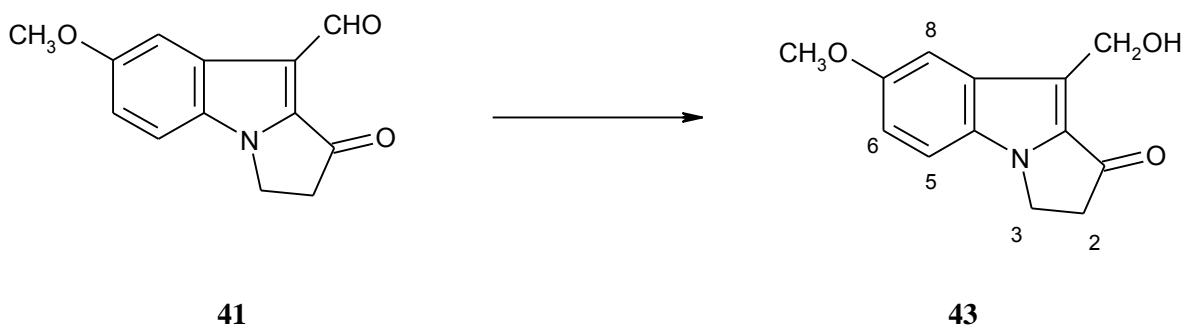
Rf (CH₂Cl₂ 9 / MeOH 1) = 0,35

F = 126 °C (cyclohexane)

IR :

1528	v CC (aromatique)
1622	v CN (indole)
1722	v CO (cétone)
2933	v CH (aliphatique)

9-(Hydroxyméthyl)-7-méthoxy-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[1,2-a]indol-1-one

**REACTIFS :**

Indole 41	220 mg	1 eq.		1,0 mmol
BH ₃ (1 M / THF)		1 eq.	1 mL	1,0 mmol
THF distillé			30 mL	

PROTOCOLE :

Dans un ballon bicol préalablement séché sont introduits le tétrahydrofurane fraîchement distillé et l'indole **41**. Le milieu réactionnel est placé sous atmosphère d'azote et refroidi dans un bain de glace. Le borane est introduit à travers un septum. Le milieu réactionnel est agité pendant 3 h à température ambiante.

Le milieu est ensuite hydrolysé par ajout de 40 mL d'eau et laissé agité pendant 12 h. Il est alors extrait plusieurs fois par du dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées, lavées par une solution de NaHCO₃ à 10%, puis par une solution d'eau saturée en NaCl, séchées et évaporées.

Le produit est enfin purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange acétate d'éthyle 5/cyclohexane 5 comme éluant.

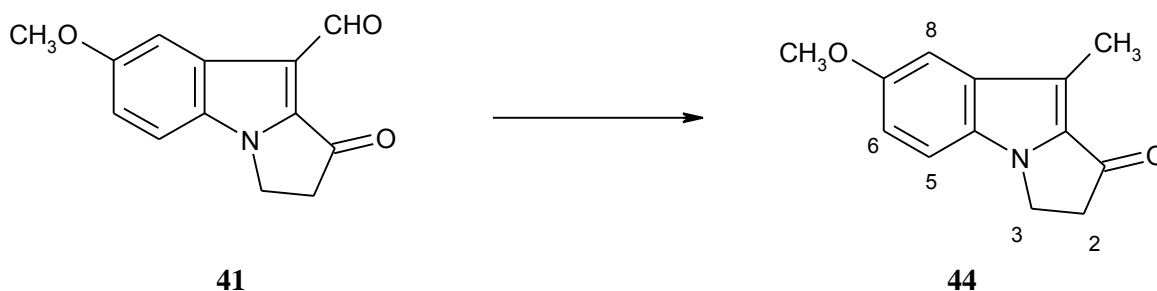
RMN (DMSO-*d*₆) :

3,15	t, 2H, J = 6,5 Hz, <u>H</u> ₂	Poudre beige Rdt = 83 % Rf (CH ₂ Cl ₂ 98 / MeOH 2) = 0,25 F = 150 °C (toluène)
3,80	s, 3H, OCH ₃	
4,37	t, 2H, J = 6,5 Hz, <u>H</u> ₃	
4,82	d, 2H, J = 5,8 Hz, CH ₂ OH	
4,99	t, 1H, J = 5,8 Hz, CH ₂ OH, échangeable dans D ₂ O	
7,01	dd, 1H, J _o = 9,0 Hz, J _m = 2,5 Hz, <u>H</u> ₆	
7,29	d, 1H, J _m = 2,5 Hz, <u>H</u> ₈	
7,49	d, 1H, J _o = 9,0 Hz, <u>H</u> ₅	

IR :

1558	v CC (aromatique)
1623	v CN (indole)
1705	v CO (cétone)
2926	v CH (aliphatique)

**9-Méthyl-7-méthoxy-2,3-dihydro-
1H-pyrrolo[1,2-a]indol-1-one**

**REACTIFS :**

Indole 41	220 mg	1 eq.		1,0 mmol
BH ₃ (1 M /THF)		3 eq.	3 mL	3,0 mmol
THF distillé			30 mL	

PROTOCOLE :

Dans un ballon bicol préalablement séché sont introduits le tétrahydrofurane fraîchement distillé et l'indole **41**. Le milieu réactionnel est placé sous atmosphère d'azote et refroidi dans un bain de glace. Le borane est introduit à travers un septum. Le milieu réactionnel est agité pendant 3 h à température ambiante.

Le milieu est ensuite hydrolysé par ajout de 40 mL d'eau et laissé agité pendant 12 h. Il est alors extrait plusieurs fois par du dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées, lavées par une solution de NaHCO₃ à 10%, puis par une solution d'eau saturée en NaCl, séchées et évaporées.

Le produit est enfin purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange acétate d'éthyle 5/cyclohexane 5 comme éluant.

RMN (CDCl₃) :

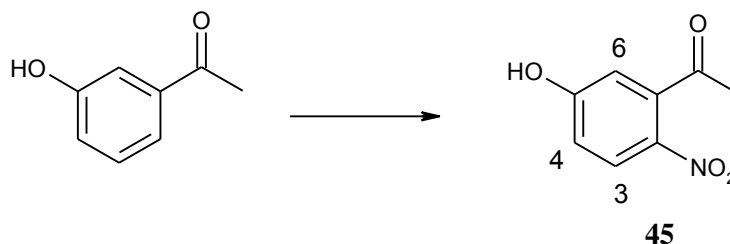
5,54	s, 3H, <u>CH</u> ₃
3,17	t, 2H, J = 6,5 Hz, <u>H</u> ₂
3,89	s, 3H, <u>OCH</u> ₃
4,33	t, 2H, J = 6,5 Hz, <u>H</u> ₃
7,02 à 7,06	M, 2H, <u>H</u> ₆ et <u>H</u> ₈
7,26	d, 1H, J _o = 8,7 Hz, <u>H</u> ₅

Poudre beige
Rf (CH₂Cl₂ 98 / MeOH 2) = 0,83
F = 162 °C (éthanol)

IR :

1566	v CC (aromatique)
1620	v CN (indole)
1704	v CO (cétone)
2924	v CH (aliphatique)

5-Hydroxy-2-nitroacétophénone



REACTIFS :

3-Hydroxyacétophénone	20 g	1 eq.	146,8 mmol
Acide nitrique 70%		1 eq.	10,4 mL
Acide acétique			80 mL

PROTOCOLE :

La 3-hydroxyacétophénone est dissoute dans l'acide acétique. Le milieu réactionnel est alors chauffé à 70 °C. L'acide nitrique ($d = 1,4$) est ensuite introduit goutte-à-goutte en contrôlant la température afin qu'elle ne varie pas de ± 2 °C.

Une fois l'ajout terminé, le milieu est versé dans 400 mL d'eau glacée où le produit précipite. Ce mélange est laissé pendant une nuit à 4 °C. Le précipité formé est essoré puis séché. Il correspond aux trois régioisomères formés : les 2-nitro-, 4-nitro- et 6-nitro-3-hydroxyacétophénones.

L'isomère désiré est obtenu par recristallisation fractionnée dans le benzène où il précipite pur ou par séparation chromatographique sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane 95 / méthanol 5 comme éluant.

RMN (DMSO- d_6) :

2,48	s, 3H, COCH ₃
6,84	d, 1H, $J_m = 2,5$ Hz, <u>H</u> ₆
7,00	dd, 1H, $J_m = 2,5$ Hz, $J_o = 9,0$ Hz, <u>H</u> ₄
8,08	d, 1H, $J_o = 9,0$ Hz, <u>H</u> ₃
11,39	s, 1H, OH

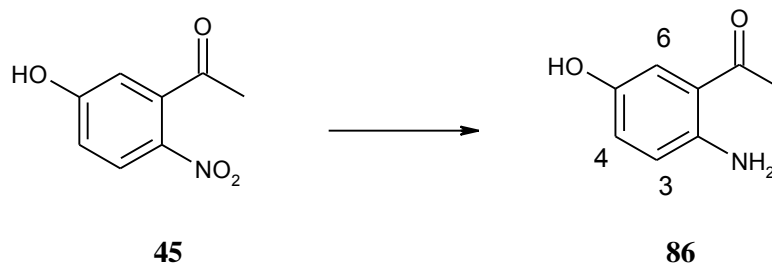
Poudre beige

Rdt = 30% (en isomère désiré)
 Rf (CH₂Cl₂ 9 / MeOH 1) = 0,51
 F = 148 °C (benzène)

IR :

1337 et 1517	v NO ₂
1574	v CC (aromatique)
1691	v CO (cétone)
3110	v OH

2-Amino-5-hydroxyacétophénone



REACTIFS :

Acétophénone 45	1,0 g	1 eq.	5,5 mmol
Fer en poudre	1,86 g	6 eq.	33,1 at.g
Acide acétique/éthanol/eau			10/10/5 mL
Acide chlorhydrique concentré			0,25 mL

PROTOCOLE :

La 2-nitroacétophénone **45** est dissoute dans le mélange acide acétique/éthanol/eau (2:2:1). La poudre de fer, puis l'acide chlorhydrique sont ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 15 min, puis filtré à chaud. La solution est ensuite alcalinisée avec du bicarbonate de sodium et extraite par le chloroforme. La phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée en NaCl, puis séchée sur MgSO₄ et enfin concentrée. Le solide jaune obtenu est enfin lavé par l'acétate d'éthyle.

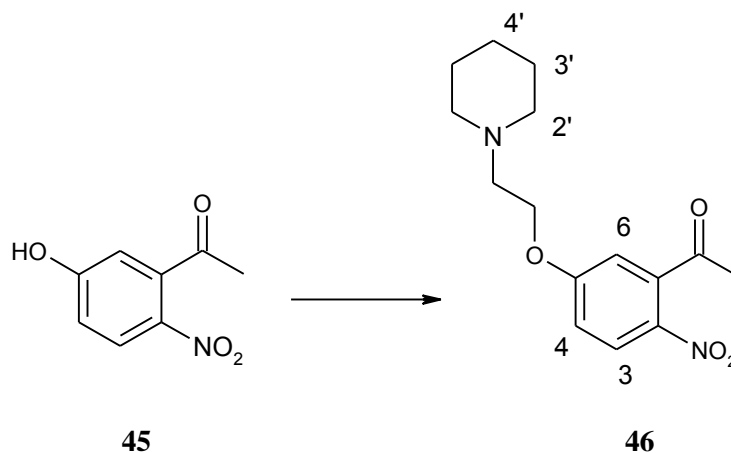
RMN (DMSO-*d*₆) :

2,45	s, 3H, COCH ₃	Solide jaune
6,61 à 6,65	M, 3H, <u>H</u> ₃ et <u>NH</u> ₂ échangeables dans D ₂ O	Rdt = 68 %
6,82	dd, 1H, J _m = 2,9 Hz, J _o = 9,1 Hz, <u>H</u> ₄	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ MeOH 1) = 0,37
7,07	d, 1H, J _m = 2,9 Hz, <u>H</u> ₆	F = 181 °C (acétate d'éthyle)
8,68	s, 1H, <u>OH</u> échangeable dans D ₂ O	

IR :

1556	v C=C (aromatique)
1626	v CO (cétone)

5-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-2-nitroacétophénone

**REACTIFS :**

Acétophénone 45	1,5 g	1 eq.	8,3 mmol
N-(2-chloroéthyl)pipéridine	1,7 g	1,1 eq.	9,1 mmol
Carbonate de potassium	4,6 g	4 eq.	33,2 mmol
DMF			10 mL

PROTOCOLE :

L'acétophénone **45**, la pipéridine, le carbonate de potassium et le diméthylformamide sont introduits dans un ballon et chauffés à 80 °C pendant 4 h.

Après refroidissement, le milieu réactionnel est hydrolysé dans 200 mL d'eau, puis extrait plusieurs fois par de l'éther. Les phases organiques rassemblées sont lavées 2 fois par HCl 0,5 N. Les phases aqueuses acides sont ensuite alcalinisées avec K₂CO₃ et extraites par l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont séchées puis évaporées pour donner l'acétophénone **46** sous forme d'une huile jaune.

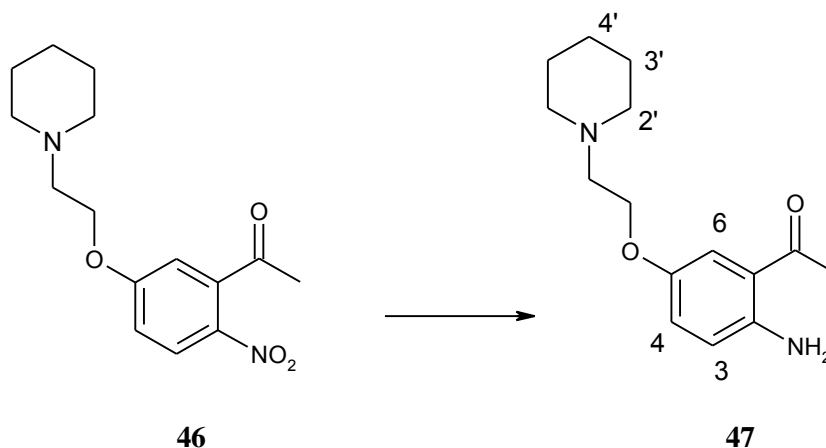
RMN (CDCl₃) :

1,40	M, 2H, <u>H</u> _{4'}	Huile jaune
1,54	qu, 4H, J = 5,6 Hz, <u>H</u> _{3'}	Rdt = 92 %
2,46	M, 7H, COCH ₃ et <u>H</u> _{2'}	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9 / MeOH 1) = 0,43
2,75	t, 2H, J = 6,0 Hz, OCH ₂ <u>CH</u> ₂ N	
4,15	t, 2H, J = 6,0 Hz, OCH ₂ <u>CH</u> ₂ N	
6,75	d, 1H, J _m = 2,9 Hz, <u>H</u> ₆	
6,96	dd, 1H, J _m = 2,9 Hz, J _o = 8,9 Hz, <u>H</u> ₄	
8,07	d, 1H, J _o = 8,9 Hz, <u>H</u> ₃	

IR :

1335 et 1515	v NO ₂
1581	v CC (aromatique)
1711	v CO (cétone)
2936	v CH (aliphatique)

2-Amino-5-[2-(1-pipéridino)éthoxy]acétophénone

**REACTIFS :**

Acétophénone 46	1,7 g	1 eq.	5,8 mmol
Fer en poudre	1,96 g	6 eq.	34,9 at.g
Acide acétique/éthanol/eau			10/10/5 mL
Acide chlorhydrique concentré			0,25 mL

PROTOCOLE :

La 2-nitroacétophénone **46** est dissoute dans le mélange acide acétique/éthanol/eau (2:2:1). La poudre de fer, puis l'acide chlorhydrique sont ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 15 min, puis filtré à chaud. La solution est ensuite alcalinisée avec du bicarbonate de sodium et extraite par le chloroforme. La phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée en NaCl, puis séchée sur MgSO₄ et enfin évaporée. On obtient alors l'amine sous forme huileuse.

RMN (CDCl₃) :

1,52	M, 2H, <u>H</u> ₄
1,74	qu, 4H, J = 5,8 Hz, <u>H</u> ₃
2,55	s, 3H, <u>CH</u> ₃
2,79	M, 4H, <u>H</u> ₂
3,00	t, 2H, J = 5,4 Hz, OCH ₂ CH ₂ N
4,17	t, 2H, J = 5,4 Hz, OCH ₂ CH ₂ N
6,60	d, 1H, J ₀ = 8,8 Hz, <u>H</u> ₃
6,95	dd, 1H, J _m = 2,7 Hz, J _o = 8,8 Hz, <u>H</u> ₄
7,18	d, 1H, J _m = 2,7 Hz, <u>H</u> ₆

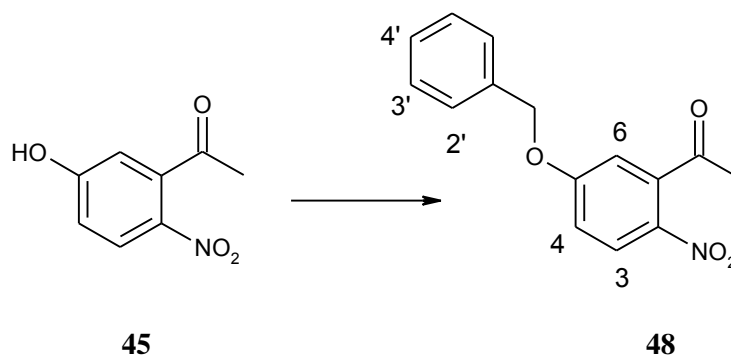
Huile jaune

Rdt = 88%

Rf (CH₂Cl₂ 9/ MeOH 1) = 0,35**IR :**

1588	ν C=C (aromatique)
1670	ν CO (cétone)
2943	ν C-H (aliphatique)
3330 et 3424	ν NH ₂

5-Benzyloxy-2-nitroacétophénone



REACTIFS :

5-Hydroxy-2-nitroacétophénone	1,5 g	1 eq.		8,3 mmol
Bromure de benzyle	1,7 g	1,2 eq.	1,2 mL	9,9 mmol
Carbonate de potassium	4,6 g	4 eq.		33,1 mmol
DMF			15 mL	

PROTOCOLE :

L'acétophénone **45**, le bromure de benzyle, le carbonate de potassium et le diméthylformamide sont introduits dans un ballon et chauffés à 80 °C pendant 4 h.

Après refroidissement, le milieu réactionnel est dilué dans 200 mL d'eau, puis extrait plusieurs fois par de l'éther. Les phases organiques sont séchées puis concentrées sous pression réduite. La nitroacétophénone **48** précipite par ajout d'un mélange d'éther et d'éther de pétrole.

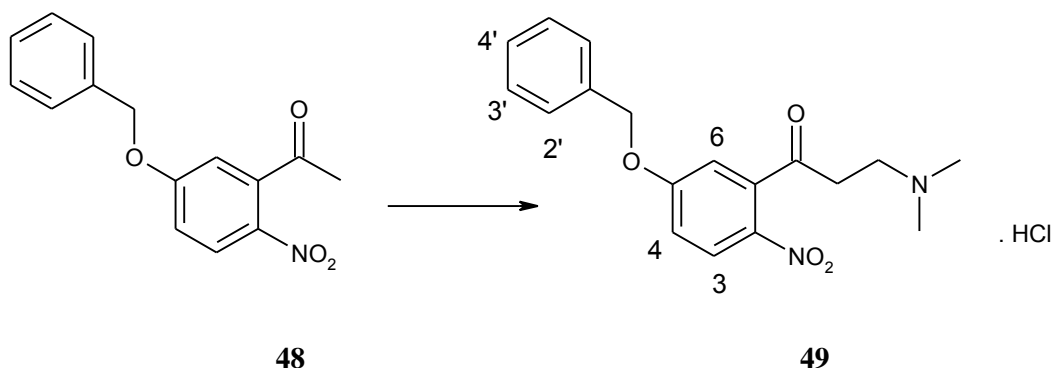
RMN (DMSO-*d*₆) :

2,53	s, 3H, COCH ₃	Poudre jaune pâle
5,18	s, 2H, OCH ₂ Φ	Rdt = 77%
6,87	d, 1H, J _m = 2,7 Hz, H ₆	Rf (CH ₂ Cl ₂) = 0,71
7,05	dd, 1H, J _m = 2,7 Hz, J _o = 9,2 Hz, H ₄	F = 74 °C (éther/éther de pétrole)
7,41	M, 5H, H _{2'} , H _{3'} , H _{4'}	
8,14	d, 1H, J _o = 9,2 Hz, H ₃	

IR :

1338 et 1508	v NO ₂
1543 et 1579	v CC (aromatique)
1703	v CO (cétone)

b-Diméthylamino-5-benzyloxy-2-nitroacétophénone, chlorhydrate



REACTIFS :

5-Benzyloxy-2-nitroacétophénone	1,7 g	1 eq.		6,3 mmol
Chlorhydrate de diméthylamine	615 mg	1,2 eq.		7,5 mmol
Formaldéhyde 37%	510 mg	1 eq.	0,47 mL	6,3 mmol
Anhydride acétique			15 mL	

PROTOCOLE :

Le chlorhydrate de diméthylamine et le formaldéhyde sont agités à température ambiante pendant 30 min. L'anhydride acétique est ensuite introduit et le mélange est chauffé à 60 °C jusqu'à la formation d'une solution homogène. L'acétophénone est alors ajoutée et la réaction se poursuit pendant 30 minutes à 60 °C.

Le milieu réactionnel est ensuite concentré sous pression réduite. Le résidu obtenu est dilué dans un mélange acétone/éther (1:1) et agité à température ambiante pendant 12 h.

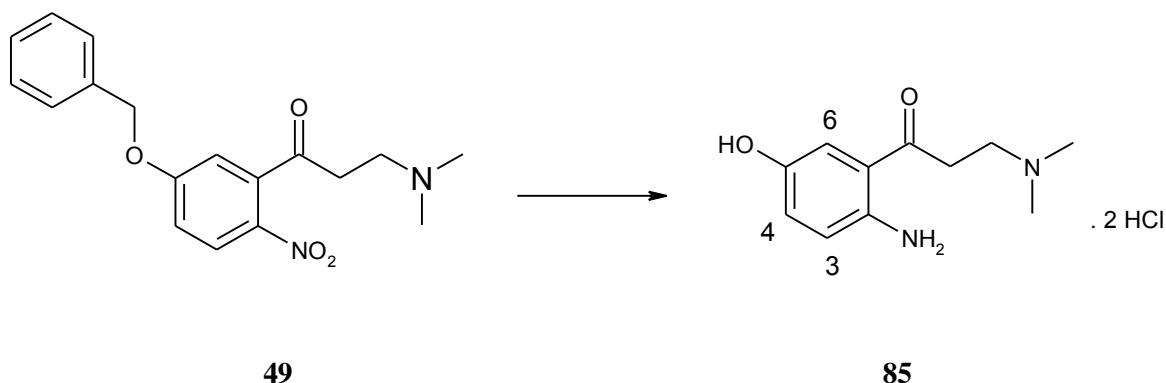
Le précipité formé est essoré et recristallisé dans un mélange butanol/éther.

IR :

1336 et 1510	v NO ₂
1581	v CC (aromatique)
1714	v CO (cétone)
3016	v CH (aliphatique)

Poudre blanche
 Rdt = 58%
 Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1) = 0,51
 F = 130 °C (butanol/éther)

b-Diméthylamino-2-amino-5-hydroxyacétophénone, chlorhydrate

**REACTIFS :**

Propiophénone 49	2,5 g	1 eq.	6,8 mmol
Pd/C	1,0 g		
Méthanol		50 mL	

PROTOCOLE :

La propiophénone **49** est dissoute dans le méthanol. Le palladium sur charbon est ajouté et le mélange est placé sous pression atmosphérique d'hydrogène pendant 1 h.

Avant de filtrer le palladium sur célite, 5 mL d'acide chlorhydrique 6 N sont ajoutés au mélange. Le filtrat est alors concentré sous pression réduite et le résidu est dilué dans un mélange méthanol/éther (1:3). Ce mélange est agité pendant 1 h à température ambiante puis le précipité est essoré.

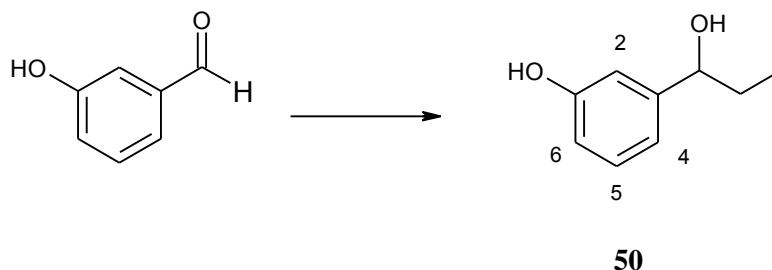
RMN (DMSO- d_6) :

2,79 à 3,16	M, 6H, N(CH ₃) ₂	Poudre blanche
3,42	t, 2H, J = 7,0 Hz, COCH ₂ CH ₂ N	Rdt = 63%
3,58	t, 2H, J = 7,0 Hz, COCH ₂ CH ₂ N	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/MeOH 1/NH ₃) = 0,24
7,10	dd, 1H, J _m = 2,4 Hz, J _o = 8,7 Hz, H ₄	F = 163 °C (méthanol/éther)
7,26	d, 1H, J _o = 8,7 Hz, H ₃	
7,39	d, 1H, J _m = 2,4 Hz, H ₆	
7,51	s, 1H, OH échangeable dans D ₂ O	
10,75	s, 1H, NH ⁺ échangeable dans D ₂ O	

IR :

1547 et 1576	v CC (aromatique)
1670	v CO (cétone)
2704 et 2977	v CH (aliphatique)

3 - (1 - Hydroxypropyl) phénol



REACTIFS :

3-Hydroxybenzaldehyde	5 g	1 eq.		41,3 mmol
Magnésium	3,2 g	3 eq.		132,2 mmol
Bromoéthane	14 g	3 eq.	9,8 mL	132,2 mmol
Ether			250 mL	

PROTOCOLE :

L'éther séché sur tamis moléculaire est introduit dans un ballon tricol préalablement séché. Le magnésium est introduit et le milieu est placé sous atmosphère d'azote. Le bromoéthane dilué dans l'éther (30 mL) est introduit goutte-à-goutte. Après la fin de l'ajout, le milieu réactionnel est agité pendant 30 minutes à température ambiante puis il est refroidi dans un bain de glace et de NaCl. Le 3-hydroxybenzaldehyde solubilisé dans l'éther (100 mL) est introduit goutte-à-goutte sur une période de 1 h. Après la fin de l'ajout, le mélange est agité pendant 1 h à température ambiante.

Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé sur un mélange de glace et d'acide chlorhydrique 2 N. Après dissolution du milieu réactionnel, cette phase aqueuse est extraite plusieurs fois par l'éther. Les phases organiques sont rassemblées, lavées par une solution d'eau saturée en NaCl, séchées et évaporées.

Le produit désiré est obtenu pur par recristallisation dans un mélange d'acétate d'éthyle et de cyclohexane.

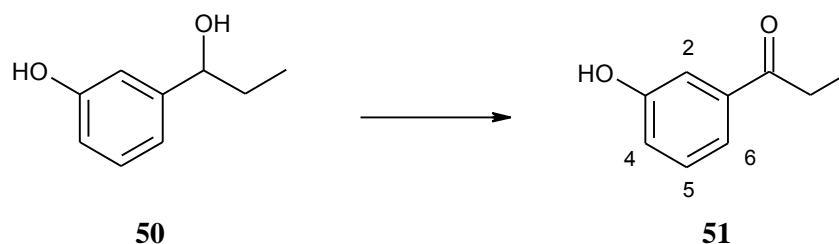
RMN (DMSO- d_6) :

0,81	t, 3H, J = 7,5 Hz, CH ₂ CH ₃	Poudre blanche
1,56	qu, J = 7,5 Hz, J = 6,2 Hz, CHCH ₂ CH ₃	Rdt = 55%
4,33	q, J = 6,2 Hz, J = 4,0 Hz, CH(OH)CH ₂ CH ₃	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9 / MeOH 1) = 0,39
5,03	d, J = 4,0 Hz, CH(OH)CH ₂ CH ₃ , échangeable dans D ₂ O	F = 111 °C (AE/cyclohexane)
6,59	dd, 1H, J _o = 8,0 Hz, J _m = 2,7 Hz, H ₄	
6,70	M, 2H, H ₂ et H ₆	
7,08	t, 1H, J _o = 8,0 Hz, H ₅	
9,25	s, 1H, ΦOH, échangeable dans D ₂ O	

IR :

1590	v CC (aromatique)
3086	v OH (alcool)
3404	v OH (phénol)

3 - Hydroxypropiophénone

**REACTIFS :**

Phénol 50	2,5 g	1 eq.	16,7 mmol
DDQ	4,2 g	1,1 eq.	18,3 mmol
Dioxane			40 mL

PROTOCOLE :

La 3-hydroxypropiophénone est solubilisée dans le dioxane puis la DDQ est ajoutée. Le mélange est chauffé à reflux pendant 72 h.

Après refroidissement, le milieu réactionnel est filtré. Le filtrat est évaporé sous vide et fournit une huile marron.

Cette huile est purifiée sur colonne chromatographique de silice en utilisant un mélange dichlorométhane → dichlorométhane 9 / acétate d'éthyle 1 comme éluant. La cétone précipite par ajout de cyclohexane à l'huile orange.

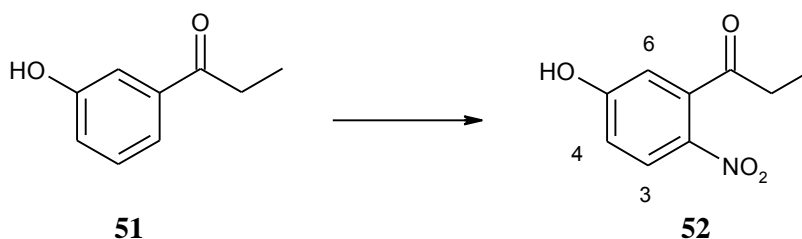
RMN (CDCl₃) :

1,22	t, 3H, J = 7,2 Hz, CH ₂ CH ₃	Poudre jaune
3,00	q, J = 7,2 Hz, CH ₂ CH ₃	Rdt = 91%
7,09	dd, 1H, J _o = 8,2 Hz, J _m = 2,3 Hz, H ₄	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9 / MeOH 1) = 0,59
6,70	t, 1H, J _o = 8,2 Hz, J _o = 7,7 Hz, H ₅	F = 75 °C (cyclohexane)
7,33	d, 1H, J _o = 7,7 Hz, H ₆	
9,25	s, 1H, H ₂	

IR :

1594	v CC (aromatique)
1661	v CO (cétone)
3300	v OH (phenol)

5-Hydroxy-2-nitropropiophénone



REACTIFS :

3-Hydroxypropiophénone 51	1,15 g	1 eq.		7,7 mmol
Acide nitrique 70%		1 eq.	0,55 mL	
Acide acétique			10 mL	

PROTOCOLE :

La 3-hydroxypropiophénone est dissoute dans l'acide acétique. Le milieu réactionnel est alors chauffé à 70 °C. L'acide nitrique (d = 1,4) est ensuite introduit goutte-à-goutte en contrôlant la température afin qu'elle ne varie pas de +/- 2 °C.

Une fois l'ajout terminé, le milieu est dilué dans 50 mL d'eau glacée. Cette phase aqueuse est extraite plusieurs fois par l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées, lavées par de l'eau saturée en NaCl, séchées et évaporées sous pression réduite.

Le résidu est purifié par colonne chromatographique de silice en utilisant un mélange dichlorométhane 9 / acétate d'éthyle 1 comme éluant. Le solide obtenu est lavé plusieurs fois par le cyclohexane.

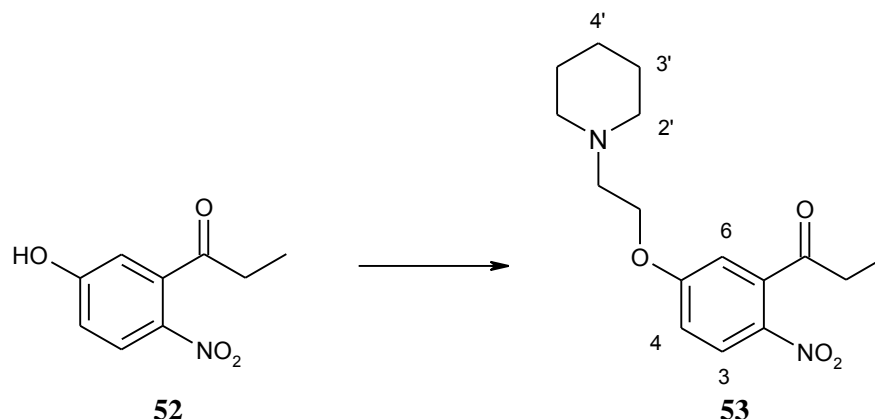
RMN (DMSO-*d*₆) :

1,09	t, 3H, J = 7,0 Hz, CH ₂ CH ₃	Poudre beige
2,76	q, J = 7,0 Hz, CH ₂ CH ₃	Rdt = 35% (en isomère désiré)
6,80	d, 1H, J _m = 2,6 Hz, H ₆	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9 / MeOH 1) = 0,58
6,99	dd, 1H, J _o = 9,2 Hz, J _m = 2,6 Hz, H ₄	F = 48 °C
8,10	d, 1H, J _o = 9,2 Hz, H ₃	
11,39	s, 1H, OH, échangeable dans D ₂ O	

IR :

1335 et	v NO ₂
1517	
1593	v CC (aromatique)
1693	v CO (cétone)
3261	v OH

5-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-2-nitropropionophénone

**REACTIFS :**

Propiophénone 52	1,7 g	1 eq.	8,7 mmol
N-(2-chloroéthyl)pipéridine	1,9 g	1,2 eq.	10,5 mmol
Carbonate de potassium	4,8 g	4 eq.	34,8 mmol
DMF			10 mL

PROTOCOLE :

La propiophénone **52**, la pipéridine, le carbonate de potassium et le diméthylformamide sont introduits dans un ballon et chauffé à 80 °C pendant 4 heures.

Après refroidissement, le milieu réactionnel est dilué dans 200 mL d'eau, puis extrait plusieurs fois par de l'éther. Les phases organiques rassemblées sont lavées 2 fois par HCl 0,5 N. Les phases aqueuses acides sont ensuite alcalinisées avec K₂CO₃ et extraites par l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont séchées puis évaporées afin de donner la propiophénone **53** sous forme d'une huile jaune.

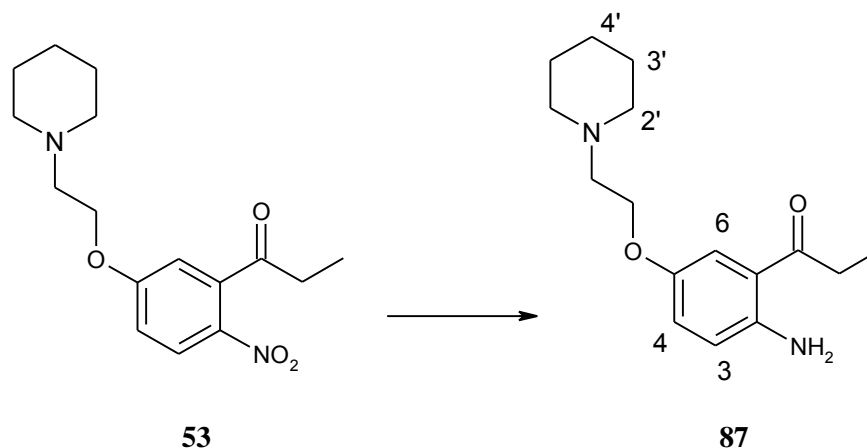
RMN (CDCl₃) :

1,22	t, 3H, J = 7,1 Hz, CH ₂ CH ₃	Huile jaune Rdt = 66% Rf (CH ₂ Cl ₂ 9 / MeOH 1) = 0,52
1,46	M, 2H, H _{4'}	
1,63	qu, 4H, J = 5,5 Hz, H _{3'}	
2,56	M, 4H, H _{2'}	
2,72	q, 2H, J = 7,1 Hz, CH ₂ CH ₃	
2,86	t, 2H, J = 6,0 Hz, OCH ₂ CH ₂ N	
4,24	t, 2H, J = 6,0 Hz, OCH ₂ CH ₂ N	
6,75	d, 1H, J _m = 2,7 Hz, H ₆	
6,99	dd, 1H, J _m = 2,7 Hz, J _o = 9,3 Hz, H ₄	
8,11	d, 1H, J _o = 9,3 Hz, H ₃	

IR :

1339 et 1515	v NO ₂
1580	v CC (aromatique)
1710	v CO (cétone)
2936	v CH (aliphatique)

2-Amino-5-[2-(1-pipéridino)éthoxy]propiophénone

**REACTIFS :**

Propiophénone 53	1,7 g	1 eq.	6,2 mmol
Fer en poudre	2,07 g	6 eq.	37,0 at.g
Acide acétique/éthanol/eau			10/10/5 mL
Acide chlorhydrique concentré			0,25 mL

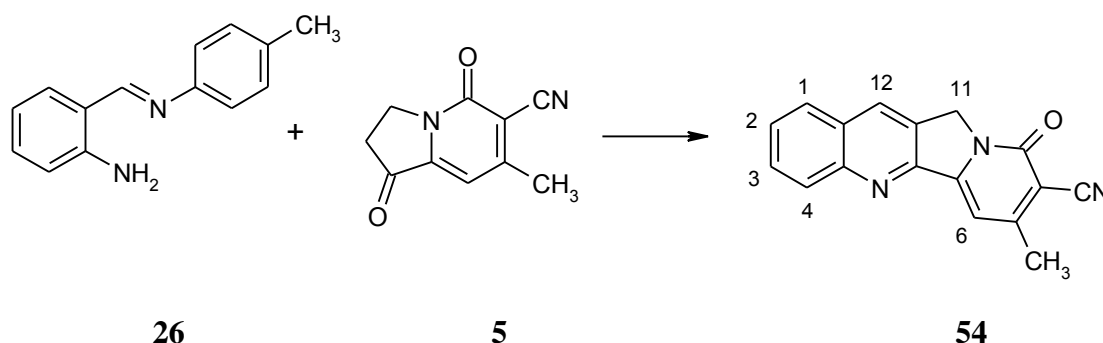
PROTOCOLE :

La 2-nitropropiophénone **53** est dissoute dans le mélange acide acétique, éthanol, eau (2:2:1). La poudre de fer, puis l'acide chlorhydrique sont ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 15 min, puis filtré à chaud. La solution est ensuite alcalinisée avec du bicarbonate de sodium et extraite par le chloroforme. La phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée en NaCl, puis séchée sur MgSO₄ et enfin évaporée. On obtient alors l'amine sous forme huileuse.

RMN (CDCl₃) :

1,20	t, 3H, J = 7,3 Hz, CH ₂ CH ₃	Huile jaune
1,52	M, 2H, H _{4'}	Rdt = 86%
1,74	qu, 4H, J = 5,5 Hz, H _{3'}	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ MeOH 1) = 0,21
2,77	M, 4H, H _{2'}	
2,97	M, 4H, OCH ₂ CH ₂ N et CH ₂ CH ₃	IR :
4,16	t, 2H, J = 5,5 Hz, OCH ₂ CH ₂ N	1587 v CC (aromatique)
6,53	s, 2H, NH ₂ , échangeables dans D ₂ O	1651 v CO (cétone)
6,61	d, 1H, J _o = 8,8 Hz, H ₃	2938 v CH (aliphatique)
6,95	dd, 1H, J _m = 2,9 Hz, J _o = 8,8 Hz, H ₄	3343 et 3456 v NH ₂
7,23	d, 1H, J _m = 2,9 Hz, H ₆	

7-Méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino [1,2-b]quinoléine-8-carbonitrile

**REACTIFS :**

Amine 26	720 mg	0,8 eq.	3,4 mmol
Nitrile 5	800 mg	1 eq.	4,3 mmol
Acide acétique			10 mL

PROTOCOLE 1:

Le nitrile **5** et l'acide acétique sont placés sous atmosphère d'azote et portés à reflux.

Dès dissolution du nitrile, l'aminobenzaldéhyde **26** est ajouté. Le mélange est maintenu 1 h à reflux.

Le milieu réactionnel est versé dans l'eau froide, puis extrait par l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée par une solution saturée en NaCl, séchée sur MgSO₄ et évaporée sous vide.

Le produit obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec l'acétate d'éthyle comme éluant.

PROTOCOLE 2:

L'imine **26**, la cétone **5** et l'acide acétique sont placés dans un four à micro-ondes pendant 15 min. Le milieu réactionnel est chauffé de manière à atteindre le reflux du mélange azéotropique acide acétique/eau.

Le milieu réactionnel est versé dans l'eau froide, puis extrait par l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée par une solution saturée en NaCl, séchée sur MgSO₄ et évaporée sous vide.

Le produit obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec l'acétate d'éthyle comme éluant.

RMN (CF₃COOD) :

2,31	s, 3H, CH ₃
5,27	s, 2H, H ₁₁
6,70 à 7,90	M, 5H, H ₁ , H ₂ , H ₃ , H ₄ , H ₆
8,93	s, 1H, H ₁₂

Solide marron
Rdt 1 = 43%
Rdt 2 = 59%
Rf (AE) = 0,50
F > 250 °C (DMF)

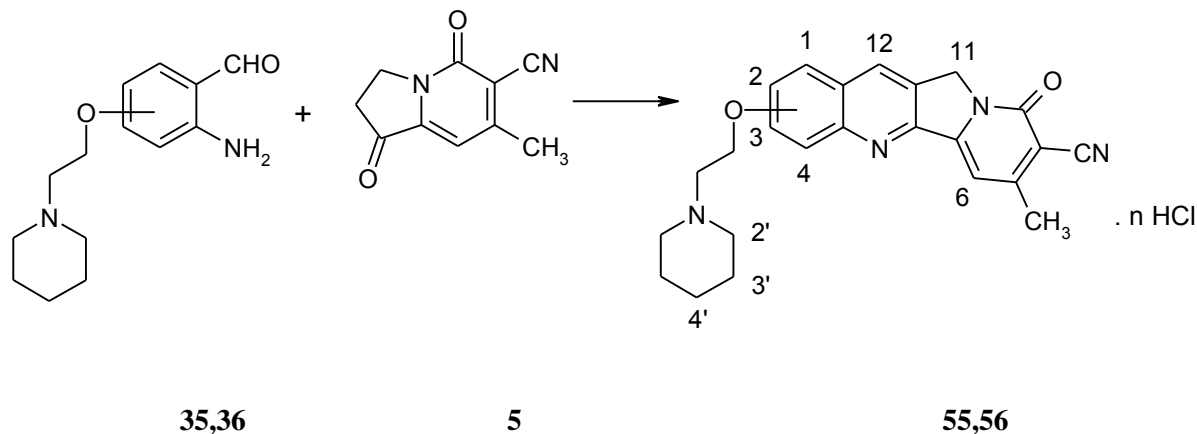
SM (ionisation chimique) :

274	MH ⁺
302	M-CH ₂ -CH ₃ ⁺

IR en cm⁻¹:

1650	v CO (pyridone)
2218	v CN

x-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-b]quinoléine-8-carbonitriles, chlorhydrates



REACTIFS :

Aminobenzaldéhyde 35,36	1,1g	0,8eq.	4,0mmol
Nitrile 5	1g	1eq.	5,3mmol
Acide acétique			15mL

PROTOCOLE 1:

L'aminobenzaldéhyde, la cétone **5** et l'acide acétique sont placés sous atmosphère d'azote et portés à reflux pendant 2 h.

Après refroidissement, l'acide acétique est évaporé sous vide. Le solide marron obtenu est dissous dans le méthanol avant l'addition d'acide chlorhydrique gazeux. Le méthanol est ensuite évaporé et le solide marron est lavé plusieurs fois par l'éther. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane 9 /méthanol 1 comme éluant.

PROTOCOLE 2:

L'aminobenzaldéhyde, la cétone **5** et l'acide acétique sont placés dans un four à micro-ondes pendant 15 min. Le milieu réactionnel est chauffé de manière à atteindre le reflux du mélange azéotrope acide acétique/eau.

Après refroidissement, l'acide acétique est évaporé sous vide. Le solide marron obtenu est dissous dans le méthanol avant l'addition d'acide chlorhydrique gazeux. Le méthanol est ensuite évaporé et le solide marron est lavé plusieurs fois par l'éther. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane 9 /méthanol 1 comme éluant.

55 : 3-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*]quinoléine-8-carbonitrile, chlorhydrate

RMN (CDCl₃) :

1,48	M, 2H, <u>H₄</u> ,
1,65	M, 4H, <u>H₃</u> ,
2,61	M, 7H, <u>H₂</u> , <u>CH₃</u>
2,93	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
4,34	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
5,25	s, 2H, <u>H₁₁</u>
7,18 à 7,82	M, 4H, <u>H₁</u> , <u>H₂</u> , <u>H₄</u> , <u>H₆</u>
8,32	s, 1H, <u>H₁₂</u>

Solide jaune

Rdt 1 = 31%

Rdt 2 = 71%

Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1) = 0,49

F > 250 °C (DMF/éther)

IR en cm⁻¹ :

1655 v CO (pyridone)

2218 v CN

56 : 2-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*]quinoléine-8-carbonitrile, chlorhydrate

RMN (CDCl₃) :

1,76	M, 2H, <u>H₄</u> ,
1,92	M, 4H, <u>H₃</u> ,
2,58	M, 7H, <u>H₂</u> , <u>CH₃</u>
2,95	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
4,30	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
5,25	s, 2H, <u>H₁₁</u>
7,15 à 7,87	M, 4H, <u>H₁</u> , <u>H₃</u> , <u>H₄</u> , <u>H₆</u>
8,27	s, 1H, <u>H₁₂</u>

Solide jaune

Rdt 1 = 38%

Rdt 2 = 57%

Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1) = 0,53

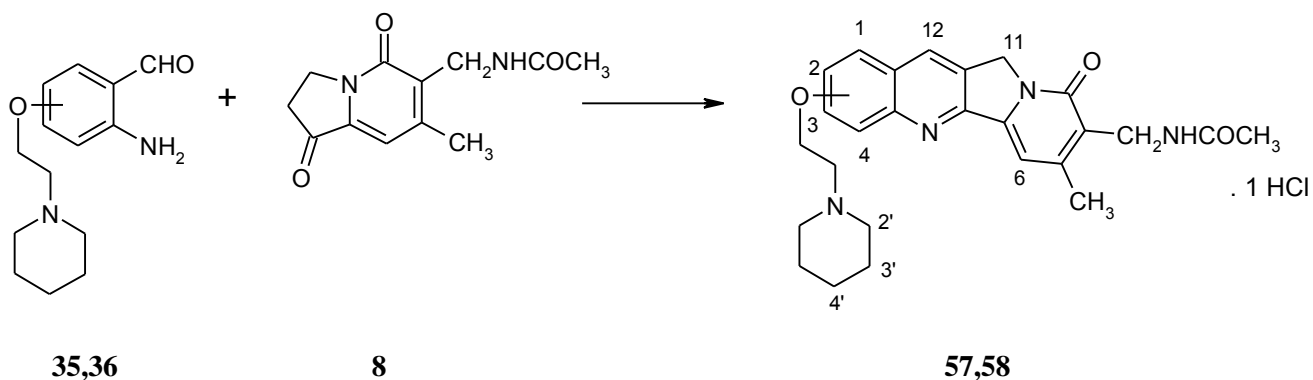
F > 250 °C (DMF/éther)

IR en cm⁻¹ :

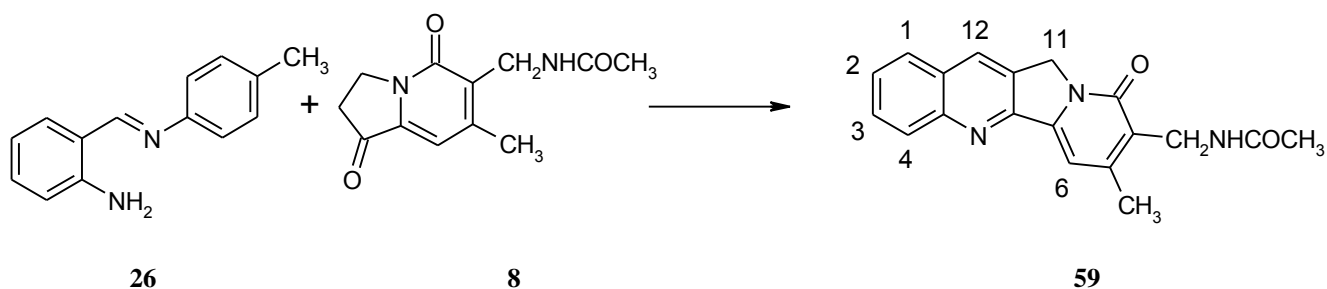
1653 v CO (pyridone)

2214 v CN

**8-Acétamidométhyl-
x-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-
9,11-dihydroindolizino[1,2-b]quinoléines,
chlorhydrates**

**REACTIFS :**

Aminobenzaldéhyde 35,36	1,1 g	1 eq.	6 mmol
Cétone 8	1 g	1 eq.	6 mmol
Acide acétique			20 mL

**REACTIFS :**

N-o-aminobenzylidène-p-toluidine	625 mg	1,2 eq.	3 mmol
Cétone 8	580 mg	1 eq.	2,5 mmol
Acide acétique			20 mL

PROTOCOLE 1:

L'aminobenzaldéhyde **35, 36** ou l'imine **26**, la cétone **8** et l'acide acétique sont placés sous atmosphère d'azote et portés à reflux pendant 8 h.

Après refroidissement, l'acide acétique est évaporé sous vide. Le solide marron obtenu est dissous dans le méthanol avant l'addition d'acide chlorhydrique gazeux. Le méthanol est ensuite évaporé et le solide marron est lavé plusieurs fois par l'éther avant d'être utilisé sans purification supplémentaire dans l'étape suivante.

Le produit peut être purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant un mélange dichlorométhane 7/méthanol 3 comme éluant. Le solide orange obtenu est recristallisé dans l'éthanol.

PROTOCOLE 2:

L'aminobenzaldéhyde **35**, **36** ou l'imine **26**, la cétone **8** et l'acide acétique sont placés dans un four à micro-ondes pendant 15 min. Le milieu réactionnel est chauffé de manière à atteindre le reflux du mélange azéotrope acide acétique/eau.

Après refroidissement, l'acide acétique est évaporé sous vide. Le solide marron obtenu est dissous dans le méthanol avant l'addition d'acide chlorhydrique gazeux. Le méthanol est ensuite évaporé et le solide marron est lavé plusieurs fois par l'éther.

Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant un mélange dichlorométhane 7 /méthanol 3 comme éluant. Le solide orange obtenu est recristallisé dans l'éthanol.

57 : 8-Acétamidométhyl-3-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrate

SM (IE) :

446	M ⁺	Solide orangé
403	M ⁺ - COCH ₃	Rdt 1 = 44%
304	M ⁺ - COCH ₃ - pipéridine	Rdt 2 = 74%
275	M ⁺ - COCH ₃ - pipéridine - CH ₂ NH	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/MeOH 1 + NH ₃) = 0,39 F > 250 °C (EtOH/H ₂ O)

IR :

1595	v CC (aromatique)
1618	v CN (quinoléine)
1664	v CO (pyridone)
2935	v CH (aliphatique)
3300	v NH (amide)

58 : 8-Acétamidométhyl-2-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrate

SM (IE) :

446	M ⁺	Solide marron
403	M ⁺ - COCH ₃	Rdt 1 = 45 %
304	M ⁺ - COCH ₃ - pipéridine	Rdt 2 = 60 %
275	M ⁺ - COCH ₃ - pipéridine - CH ₂ NH	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/MeOH 1 + NH ₃) = 0,53 F > 250 °C (EtOH/H ₂ O)

IR :

1591	v CC (aromatique)
1621	v CN (quinoléine)
1655	v CO (pyridone)
2934 et 2853	v CH (aliphatique)
3418	v NH (amide)

59 : 8-Acétamidométhyl-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrate

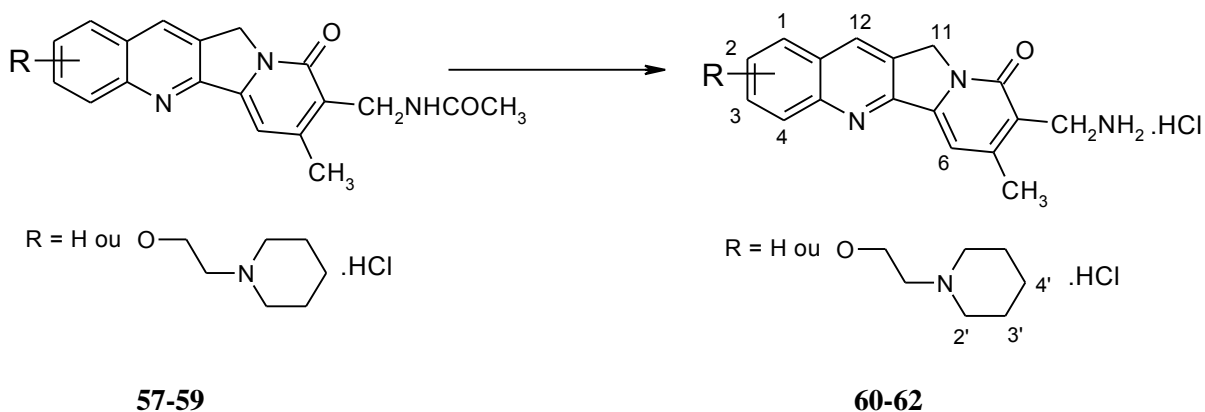
SM (IE) :

319	M ⁺	Solide marron
276	M ⁺ - COCH ₃	Rdt 1 = 48%
		Rdt 2 = 91%
		Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/MeOH 1 + NH ₃) = 0,63 F > 250 °C (DMF/Et ₂ O)

IR :

1591	v CC (aromatique)
1666	v CO (pyridone)
3329	v NH (amide)

**8-Aminométhyl-
x-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-
9,11-dihydroindolizino[1,2-b]quinoléines,
chlorhydrates**

**REACTIFS :**

57, 58 ou 59	1,5 g	1 eq.	3,7 mmol
Acide chlorhydrique 6 N			50 mL

PROTOCOLE:

L'amide **57**, **58** ou **59** est dissous dans l'acide chlorhydrique 6 N. Le mélange est porté à reflux pendant 24 h. Après refroidissement, le milieu réactionnel est dilué dans 200 mL d'eau. La phase aqueuse acide est lavée plusieurs fois par le chloroforme. Elle est ensuite évaporée sous pression réduite. On obtient alors un solide marron qui est purifié sur colonne de silice avec comme éluant un mélange dichlorométhane 7 /méthanol 3. On obtient ainsi une poudre qui est recristallisée dans un mélange éthanol/eau.

60: 8-Aminométhyl-3-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrateRMN (DMSO-*d*₆):

1,70	M, 2H, <u>H₄</u>
1,83	M, 4H, <u>H₃</u>
2,46	s, 3H, <u>CH₃</u>
3,05	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
3,58	M, 4H, <u>H₂</u>
3,98	s, 2H, <u>CH₂NH₂</u>
4,68	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
5,26	s, 2H, <u>H₁₁</u>
7,16	s, 1H, <u>H₆</u>
7,43	dd, 1H, J _o = 9,1 Hz, J _m = 2,0 Hz, <u>H₂</u>
7,58	d, 1H, J _m = 2,0 Hz, <u>H₄</u>
8,08	d, 1H, J _o = 9,1 Hz, <u>H₁</u>
8,23	s, 3H, <u>NH₃⁺</u> , échangeables dans D ₂ O
8,65	s, 1H, <u>H₁₂</u>
10,85	s, 1H, <u>NH⁺</u> , échangeable dans D ₂ O

Solide jaune

Rdt = 76%

Rf (CH₂Cl₂ 8/MeOH 2) = 0,39F > 250 °C (EtOH/H₂O)SM (IE) :

404	M ⁺
290	M ⁺ - pipéridine - NH ₂

HPLC (Kromasil C18) :MeOH 30% ; H₂O 70% ; TFA 0,1%

Pureté : 97%

T_r = 7,36 minAnalyse élémentaire : **60** + 2 HCl + 3 H₂O

	% théorique	% expérimental
C	54,24	53,84
H	6,83	6,63
N	10,54	10,52
Cl	13,34	13,26

IR :

1569	v CC (aromatique)
1617	v CN (quinoléine)
1653	v CO (pyridone)
2924	v CH (aliphatique)
3386	v NH ₂ (amine chlorhydratée)

61 : 8-Aminométhyl-2-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrateRMN (DMSO-*d*₆):

1,77	M, 2H, <u>H₄</u>
1,87	M, 4H, <u>H₃</u>
2,46	s, 3H, <u>CH₃</u>
3,07	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
3,55	M, 4H, <u>H₂</u>
4,00	s, 2H, <u>CH₂NH₂</u>
4,68	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
5,27	s, 2H, <u>H₁₁</u>
7,15	s, 1H, <u>H₆</u>
7,57	d, 1H, J _o = 9,0 Hz, <u>H₃</u>
7,64	s, 1H, <u>H₁</u>
8,09	d, 1H, J _o = 9,0 Hz, <u>H₄</u>
8,23	s, 3H, <u>NH₃⁺</u> , échangeables dans D ₂ O
8,57	s, 1H, <u>H₁₂</u>
11,27	s, 1H, <u>NH⁺</u> , échangeable dans D ₂ O

Solide jaune

Rdt = 70%

Rf (CH₂Cl₂ 8/MeOH 2) = 0,43F > 250 °C (EtOH/H₂O)SM (IE) :

404	M ⁺
-----	----------------

HPLC (Kromasil C18) :MeOH 30% ; H₂O 70% ; TFA 0,1%

Pureté : 98%

T_r = 10,4 minAnalyse élémentaire : **61** + 2 HCl + 3,5 H₂O

	% théorique	% expérimental
C	53,33	53,52
H	6,90	6,75
N	10,37	10,30
Cl	13,12	12,96

IR :

1567	v CC (aromatique)
1621	v CN (quinoléine)
1655	v CO (pyridone)
2927	v CH (aliphatique)
3417	v NH ₂ (amine chlorhydratée)

62: 8-Aminométhyl-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*] quinoléine, chlorhydrateRMN (DMSO-*d*₆) :

3,35	s, 3H, <u>CH</u> ₃
4,00	s, 2H, <u>CH</u> ₂ NH ₂
5,31	s, 2H, <u>H</u> ₁₁
7,27	s, 1H, <u>H</u> ₆
7,74	td, 1H, J _o = 8,3 Hz, J _m = 1,3 Hz, <u>H</u> _{2 ou 3}
7,88	td, 1H, J _o = 8,3 Hz, J _m = 1,3 Hz, <u>H</u> _{2 ou 3}
8,09	s, 2H, <u>NH</u> ₃ ⁺ , échangeables dans D ₂ O
8,15 à 8,18	M, 2H, <u>H</u> ₁ et <u>H</u> ₄
8,72	s, 1H, <u>H</u> ₁₂

Solide beige

Rdt = 58%

Rf (CH₂Cl₂ 8/MeOH 2) = 0,59F > 250 °C (EtOH/H₂O)HPLC (Kromasil C18) :MeOH 30% ; H₂O 70% ; TFA 0,1%

Pureté : 100%

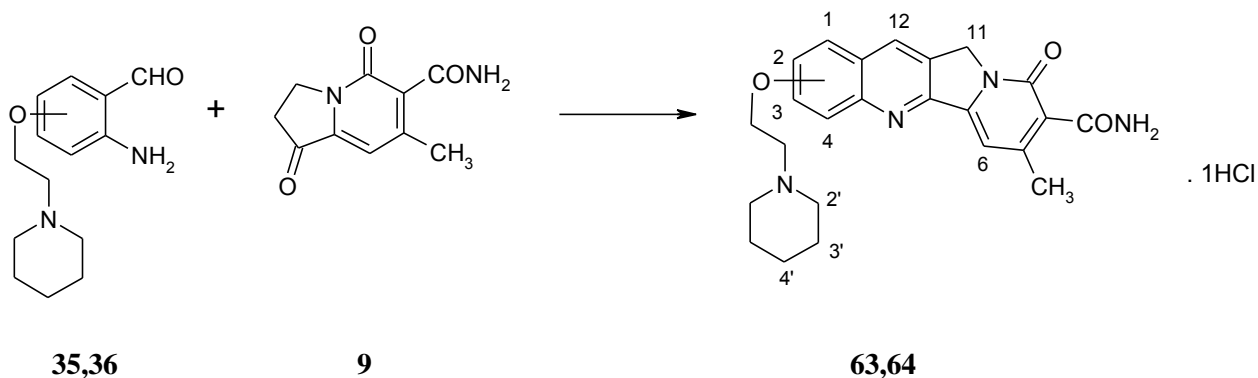
T_r = 7,21 minSM (IE) :277 M⁺IR :

1573	v CC (aromatique)
1609	v CN (quinoléine)
1656	v CO (pyridone)
3422	v NH ₂ (amine chlorhydratée)

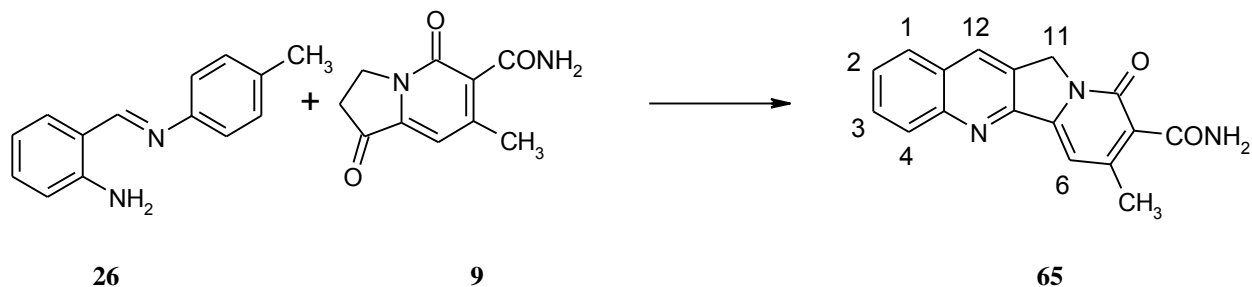
Analyse élémentaire : 62 + 1,5 HCl + 2,25 H₂O

	% théorique	% expérimental
C	54,81	54,43
H	5,68	5,08
N	11,28	11,13
Cl	14,28	14,27

**8-Aminocarbonyl-
x-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-
9,11-dihydroindolizino[1,2-b]quinoléines,
chlorhydrates**

**REACTIFS :**

Aminobenzaldéhyde 35,36	1,1 g	1 eq.	6 mmol
Cétone 9	1 g	1 eq.	6 mmol
Acide acétique			20 mL

**REACTIFS :**

N- <i>o</i> -aminobenzylidène- <i>p</i> -toluidine	625 mg	1,2 eq.	3 mmol
Cétone 9	580 mg	1 eq.	2,5 mmol
Acide acétique			20 mL

PROTOCOLE 1:

L'aminobenzaldéhyde **35, 36** ou l'imine **26**, la cétone **9** et l'acide acétique sont placés sous atmosphère d'azote et portés à reflux pendant 8 h.

Après refroidissement, l'acide acétique est évaporé sous vide. Le solide obtenu est dissous dans le méthanol avant l'addition d'acide chlorhydrique gazeux. Le méthanol est ensuite évaporé et le solide marron est lavé plusieurs fois par l'éther.

Le produit peut être purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant un mélange dichlorométhane 8 /méthanol 2 comme éluant.

PROCOLE 2:

L'aminobenzaldéhyde **35**, **36** ou l'imine **26**, la cétone **9** et l'acide acétique sont placés dans un four à micro-ondes pendant 15 min. Le milieu réactionnel est chauffé de manière à atteindre le reflux du mélange azéotropique acide acétique/eau.

Après refroidissement, l'acide acétique est évaporé sous vide. Le solide marron obtenu est dissous dans le méthanol avant l'addition d'acide chlorhydrique gazeux. Le méthanol est ensuite évaporé et le solide marron est lavé plusieurs fois par l'éther.

Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant un mélange dichlorométhane 8 /méthanol 2 comme éluant.

63: 8-Aminocarbonyl-3-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino [1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrate

RMN (DMSO-*d*₆):

1,42	M, 2H, <u>H₄'</u>
1,82	M, 4H, <u>H₃'</u>
2,50	s, 3H, <u>CH₃</u>
3,05	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
3,59	M, 4H, <u>H₂'</u>
4,63	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
5,23	s, 2H, <u>H₁₁</u>
7,10	s, 1H, <u>H₆</u>
7,42	dd, 1H, $J_o = 9,0$ Hz, $J_m = 2,3$ Hz, <u>H₂</u>
7,49 et 8,24	2 M, 1H et 1H, <u>CONH₂</u>
7,60	d, 1H, $J_m = 2,3$ Hz, <u>H₄</u>
8,09	d, 1H, $J_o = 9,1$ Hz, <u>H₁</u>
8,64	s, 1H, <u>H₁₂</u>
10,22	s, 1H, <u>NH⁺</u> , échangeable dans D ₂ O

Solide beige

Rdt 1 = 51%

Rdt 2 = 61%

Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1/NH₃) = 0,31F > 250 °C (EtOH/H₂O)HPLC (Kromasil C18):MeOH 30% ; H₂O 70% ; TFA 0,1%

Pureté : 99,5 %

T_r = 10,3 minSM (IE):418 M⁺Analyse élémentaire : 63 + 1 HCl + 2,5 H₂OIR:

1541	v CC (aromatique)
1619	v CN (quinoléine)
1676	v CO (pyridone et amide)
2854 et 2926	v CH (aliphatiques)
3300	v NH ₂ (amide)

	% théorique	% expérimental
C	57,65	57,89
H	6,45	6,20
N	11,21	11,53
Cl	7,09	7,11

64: 8-Aminocarbonyl-2-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino [1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrateRMN (DMSO-*d*₆):

1,71	M, 2H, <u>H</u> _{4'}
1,82	M, 4H, <u>H</u> _{3'}
2,49	s, 3H, <u>CH</u> ₃
3,06	M, 2H, <u>NCH</u> ₂ CH ₂ O
3,56	M, 4H, <u>H</u> _{2'}
4,60	M, 2H, <u>NCH</u> ₂ CH ₂ O
5,23	s, 2H, <u>H</u> ₁₁
7,11	s, 1H, <u>H</u> ₆
7,48 et 8,28	2 M, 1H et 1H, <u>CONH</u> ₂
7,55	dd, 1H, $J_o = 9,2$ Hz, $J_m = 2,7$ Hz, <u>H</u> ₃
7,61	d, 1H, $J_m = 2,7$ Hz, <u>H</u> ₁
8,08	d, 1H, $J_o = 9,2$ Hz, <u>H</u> ₄
8,56	s, 1H, <u>H</u> ₁₂
10,35	s, 1H, <u>NH</u> ⁺ , échangeable dans D ₂ O

Solide beige
Rdt 1 = 46%
Rdt 2 = 72%
Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1/NH₃) = 0,48
F > 250 °C (EtOH/H₂O)

HPLC (Kromasil C18):

MeOH 38% ; H₂O 62% ; TFA 0,1%
Pureté : 99,3%
T_r = 7,5 min

SM (IE) :

418 M⁺

Analyse élémentaire : 64 + 1 HCl + 2,5 H₂O

		% théorique	% expérimental	
<u>IR:</u>	1552	v CC (aromatique)	C 57,65	57,60
	1658	v CO (pyridone et amide)	H 6,45	6,34
	2956	v CH (aliphatiques)	N 11,21	11,19
	3360	v NH ₂ (amide)	Cl 7,09	7,31

65: 8-Aminocarbonyl-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*]quinoléineRMN (DMSO-*d*₆):

2,51	s, 3H, <u>CH</u> ₃
5,28	s, 2H, <u>H</u> ₁₁
7,21	s, 1H, <u>H</u> ₆
7,51 et 8,24	2 M, 2H, <u>CONH</u> ₂
7,73	td, 1H, $J_o = 8,3$ Hz, $J_m = 1,3$ Hz, <u>H</u> ₂ ou <u>3</u>
7,88	td, 1H, $J_o = 8,3$ Hz, $J_m = 1,3$ Hz, <u>H</u> ₂ ou <u>3</u>
8,17	M, 2H, <u>H</u> ₁ et <u>H</u> ₄
8,72	s, 1H, <u>H</u> ₁₂

Solide marron
Rdt 1 = 42%
Rdt 2 = 86%
Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1/NH₃) = 0,49
F > 250 °C (EtOH/H₂O)

HPLC (Kromasil C18):

MeOH 46% ; H₂O 54% ; TFA 0,1%
Pureté : 97,3%
T_r = 7,18 min

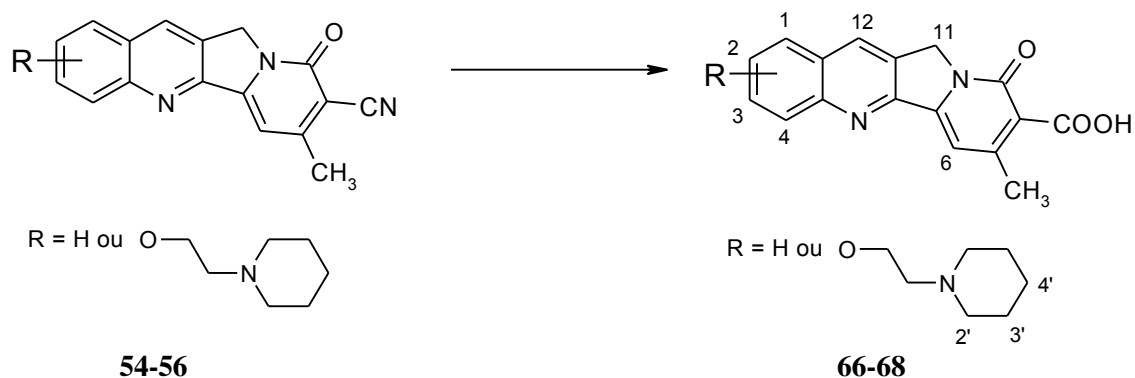
SM (IE) :

291 M⁺

Analyse élémentaire : 65 + 0,5 HCl + 0,5 H₂O

		% théorique	% expérimental	
<u>IR:</u>	1545	v CC (aromatique)	C 64,09	64,31
	1668	v CO (pyridone et amide)	H 4,59	4,30
	3275	v NH ₂ (amide)	N 13,19	13,03

Acides x-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-b]quinoléine-8-carboxyliques, sulfates

**REACTIFS :**Nitrile **54, 55, 56**

1 g

1 eq.

Acide sulfurique 80%

30 mL

PROTOCOLE:

Le nitrile **54, 55** ou **56** est dissout dans l'acide sulfurique 80%. Le milieu réactionnel est chauffé pendant 36 h à 150 °C.

Après refroidissement, le milieu est dilué dans l'eau puis alcalinisé avec NaOH 10% jusque pH 5-6 où le produit précipite. Le précipité formé est filtré et essoré.

Il est enfin purifié sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane /méthanol 9/1 → 7/3 comme éluant.

66 : Acide 3-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*]quinoléine-8-carboxylique, sulfate

RMN (DMSO-*d*₆) :

1,50	M, 2H, <u>H</u> _{4'}
1,67	M, 4H, <u>H</u> _{3'}
2,71	s, 3H, <u>CH</u> ₃
2,93	M, 2H, <u>NCH</u> ₂ CH ₂ O
3,47	M, 4H, <u>H</u> _{2'}
4,44	M, 2H, <u>NCH</u> ₂ CH ₂ O
5,30	s, 2H, <u>H</u> ₁₁
7,30 à 7,35	M, 2H, <u>H</u> ₆ , <u>H</u> ₂
7,54	M, 1H, <u>H</u> ₄
8,08	d, 1H, $J_0 = 9,1$ Hz, <u>H</u> ₁
8,65	s, 1H, <u>H</u> ₁₂

Solide jaune
Rdt = 25%
Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1 + NH₃) = 0,05
F > 250 °C (EtOH/DMF)

IR :

1559 v CC (aromatique)
1621 v CN (quinoléine)
1682 v CO (pyridone)
1717 v CO (acide)

HPLC (Kromasil C18) :

MeOH 42% ; H₂O 58% ; TFA 0,1%
Pureté : 89%
T_r = 8,15 min

SM (IC) :

419	M ⁺
375	M ⁺ - COO

67 : Acide 2-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*]quinoléine-8-carboxylique, sulfate

RMN (DMSO-*d*₆) :

0,87	M, 2H, <u>H</u> _{4'}
1,25	M, 4H, <u>H</u> _{3'}
2,74	s, 3H, <u>CH</u> ₃
2,85	M, 2H, <u>NCH</u> ₂ CH ₂ O
3,37	M, 4H, <u>H</u> _{2'}
4,15	M, 2H, <u>NCH</u> ₂ CH ₂ O
5,35	s, 2H, <u>H</u> ₁₁
7,31	s, 1H, <u>H</u> ₆
7,42	M, 2H, <u>H</u> ₃ , <u>H</u> ₁
8,05	d, 1H, $J_0 = 8,8$ Hz, <u>H</u> ₄
8,52	s, 1H, <u>H</u> ₁₂

Solide jaune
Rdt = 30%
Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1 + NH₃) = 0,05
F > 250 °C (EtOH/DMF)

HPLC (Kromasil C18) :

MeOH 26% ; H₂O 74% ; TFA 0,1%
Pureté : 100%
T_r = 4,7 min

SM (CI) :

419	M ⁺
-----	----------------

IR :

1588 v CC (aromatique)
1672 v CO (pyridone)
1731 v CO (acide)

68: Acide 7-méthyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-*b*] quinoléine-8-carboxylique, sulfateRMN (DMSO-*d*₆) :

2,73	s, 3H, <u>CH</u> ₃
5,39	s, 2H, <u>H</u> ₁₁
7,48	s, 1H, <u>H</u> ₆
7,77	t, 1H, <i>J</i> _o = 7,2 Hz, <u>H</u> ₂ ou <u>3</u>
7,91	t, 1H, <i>J</i> _o = 7,2 Hz, <u>H</u> ₂ ou <u>3</u>
8,18	M, 2H, <u>H</u> ₁ et <u>H</u> ₄
8,76	s, 1H, <u>H</u> ₁₂
14,90	s, 1H, <u>COOH</u>

Solide marron

Rdt = 50%

Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1 + NH₃) = 0,05

F > 250 °C (DMF)

HPLC (Kromasil C18) :MeOH 54% ; H₂O 36% ; TFA 0,1%

Pureté : 90%

T_r = 10,5 minSM (IE) :

292	M ⁺
248	M ⁺ - COO

IR :

1573	v CC (aromatique)
1615	v CN (quinoléine)
1641	v CO (pyridone)
1723	v CO (acide)

69: 8-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-3,14-dioxo-1,2,3,4,12,14-hexahydroquino[2',3':3,4]pyrrolo[1,2-*b*][2,7]naphthyridine, chlorhydrate

RMN (DMSO-*d*₆) :

1,49	M, 2H, <u>H</u> ₄
1,72	M, 4H, <u>H</u> ₃
3,02	M, 2H, NCH ₂ CH ₂ O
3,30	M, 4H, <u>H</u> ₂
3,54	s, 2H, <u>H</u> ₄
4,26	s, 2H, <u>H</u> ₁
4,52	M, 2H, NCH ₂ CH ₂ O
5,21	s, 2H, <u>H</u> ₁₂
7,01	s, 1H, <u>H</u> ₅
7,27	d, 1H, J _o = 8,3 Hz, <u>H</u> ₉
7,56	s, 1H, <u>H</u> ₇
8,03	d, 1H, J _o = 8,3 Hz, <u>H</u> ₁₀
8,10	s, 1H, <u>NH</u> , échangeable dans D ₂ O
8,60	s, 1H, <u>H</u> ₁₁
9,92	s, 1H, <u>NH</u> ⁺ , échangeable dans D ₂ O

IR :

1604	v CC (aromatique)
1619	v CN (quinoléine)
1678	v CO (pyridone et lactame)
2931	v CH (aliphatiques)
3170	v NH (lactame)
3361	v NH ⁺ (chlorhydrate)

Solide jaune

Rdt = 28%

Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1/NH₃) = 0,34

F > 250 °C (Ethanol/Eau)

HPLC (Kromasil C18) :

MeOH 26% ; H₂O 74% ; TFA 0,1%

Pureté : 100 %

T_r = 17,1 min

SM (IE) :

430 M⁺

Analyse élémentaire : **69** + 1 HCl + 2 H₂O

	% théorique	% expérimental
C	59,70	60,02
H	6,21	6,43
N	11,14	11,32
Cl	7,05	6,85

70: 9-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-3,14-dioxo-1,2,3,4,12,14-hexahydroquino[2',3':3,4]pyrrolo[1,2-*b*][2,7]naphthyridine, chlorhydrate

RMN (DMSO-*d*₆) :

1,51	M, 2H, <u>H</u> ₄
1,66	M, 4H, <u>H</u> ₃
3,00	M, 2H, NCH ₂ CH ₂ O
3,33	M, 4H, <u>H</u> ₂
3,53	s, 2H, <u>H</u> ₄
4,26	s, 2H, <u>H</u> ₁
4,44	M, 2H, NCH ₂ CH ₂ O
5,25	s, 2H, <u>H</u> ₁₂
7,06	s, 1H, <u>H</u> ₅
7,53 à 7,58	M, 2H, <u>H</u> ₈ , <u>H</u> ₁₀
8,05 à 8,10	M, 2H, <u>H</u> ₇ , <u>NH</u> , échangeable dans D ₂ O
8,54	s, 1H, <u>H</u> ₁₁

IR :

1592	v CC (aromatique)
1623	v CN (quinoléine)
1662	v CO (pyridone et lactame)
2942	v CH (aliphatiques)

Solide jaune

Rdt = 34 %

Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1/NH₃) = 0,34

F > 250 °C (Ethanol/Eau)

HPLC (Kromasil C18) :

MeOH 34% ; H₂O 66% ; TFA 0,1%

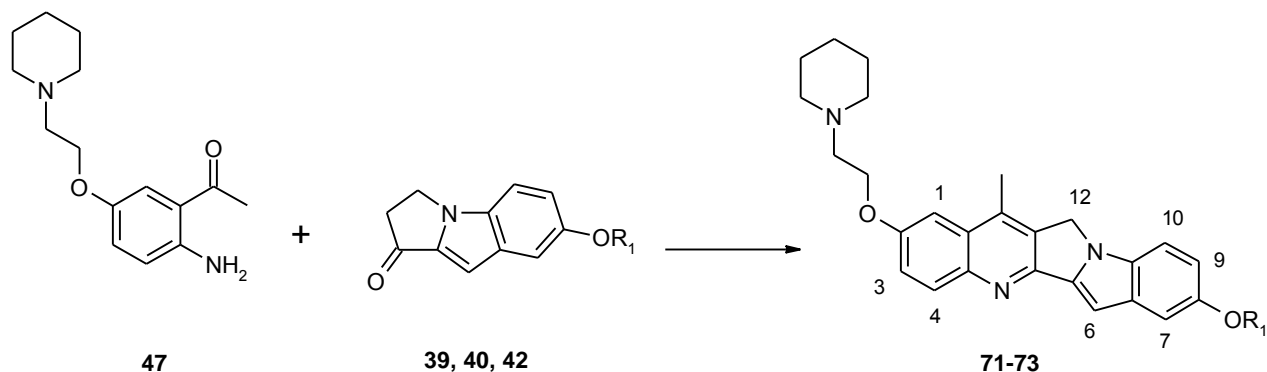
Pureté : 91%

T_r = 10,9 min

SM (IE) :

430 M⁺

2-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-13-méthyl-12H-benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-b]quinoléines, chlorhydrates



40, 71: R₁ = H
39, 72: R₁ = CH₃
42, 73: R₁ = OCH₂CH₂pipéridine

REACTIFS :

Aminoacétophénone 47	570 mg	1,1 eq.	2,2 mmol
Pyrroloindole		1 eq.	2,0 mmol
PPTS	1 g	2 eq.	4,0 mmol
Butan-1-ol			10 mL

PROTOCOLE :

L'aminoacétophénone **47**, le pyrroloindole (**39** : 400 mg , **40** : 370 mg, **42** : 600 mg), PPTS et le butanol sont introduits dans un ballon. La solution est portée à reflux pendant 4 h avec entraînement azéotropique en utilisant un appareil de Dean-Stark.

Après refroidissement, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite. Le résidu est dilué dans 100 mL d'acétate d'éthyle, lavé par une solution de carbonate de potassium à 10%, puis par une solution d'acide chlorhydrique 1N. Les phases aqueuses acides sont rassemblées, alcalinisées par K₂CO₃, puis extraites par l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont lavées par de l'eau saturée en NaCl, séchées et évaporées sous pression réduite.

Le solide marron obtenu est purifié sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/méthanol 99/1 → 5/5 comme éluant.

71: 2-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-8-hydroxy-13-méthyl-12H-benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrateRMN (DMSO-*d*₆):

1,43	M, 2H, <u>H₄</u>
1,80	m, 4H, J = 6,0 Hz, <u>H₃</u>
2,76	s, 3H, <u>CH₃</u>
3,00	M, 2H, N <u>CH₂CH₂O</u>
3,53	M, 4H, <u>H₂</u>
4,48	M, 2H, N <u>CH₂CH₂O</u>
5,26	s, 2H, <u>H₁₂</u>
6,78	d, 1H, J = 8,6 Hz, <u>H₉</u>
6,95	M, 2H, <u>H₆</u> et <u>H₇</u>
7,36	d, 1H, J = 8,6 Hz, <u>H₁₀</u>
7,45	s, 1H, <u>H₁</u>
7,56	d, 1H, J = 9,0 Hz, <u>H₃</u>
7,97	d, 1H, J = 9,0 Hz, <u>H₄</u>

Solide jaune

Rdt = 38%

Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1) = 0,17F > 250°C (EtOH/H₂O)HPLC (Kromasil C18):MeOH 38% ; H₂O 62% ; TFA 0,1%

Pureté : 100%

T_r = 11,4 minSM (IC) :414 MH⁺Analyse élémentaire : 71 + 2 HCl + 2 H₂OIR :

1509	v CC (aromatique)
1622	v CN (quinoléine et indole)
2933	v CH (aliphatiques)

	% théorique	% expérimental
C	59,77	60,03
H	6,37	6,14
N	8,04	8,10
Cl	13,57	13,54

72: 2-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-8-méthoxy-13-méthyl-12H-benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrateRMN (CDCl₃) (forme basique) :

1,51	M, 2H, <u>H₄</u>
1,67	qu, 4H, J = 6,0 Hz, <u>H₃</u>
2,58	M, 7H, <u>CH₃</u> et <u>H₂</u>
2,87	t, 2H, J = 6,0 Hz, N <u>CH₂CH₂O</u>
3,89	s, 3H, <u>OCH₃</u>
4,60	t, 2H, J = 6,0 Hz, N <u>CH₂CH₂O</u>
5,03	s, 2H, <u>H₁₂</u>
6,89	dd, 1H, J _m = 2,2 Hz, J = 8,7 Hz, <u>H₉</u>
6,98	s, 1H, <u>H₆</u>
7,15	d, 1H, J _m = 2,7 Hz, <u>H₁</u>
7,18	d, 1H, J _m = 2,2 Hz, <u>H₇</u>
7,24	d, 1H, J _o = 8,7 Hz, <u>H₁₀</u>
7,35	dd, 1H, J = 2,7 Hz, J _o = 9,3 Hz, <u>H₃</u>
8,02	d, 1H, J = 9,3 Hz, <u>H₄</u>

Solide marron (base)

Solide orange (chlorhydrate)

Rdt = 40%

Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1) = 0,26 (base)

F = 215°C (EtOH) (base)

F > 250°C (EtOH/Eau) (chlorhydrate)

HPLC (Kromasil C18) (forme chlorhydrate):MeOH 46% ; H₂O 54% ; TFA 0,1%

Pureté : 100%

T_r = 14,5 minSM (IC) :427 M⁺
328 M⁺ - CH₂pipéridineIR :

1509	v CC (aromatique)
1622	v CN (quinoléine et indole)
2963	v CH (aliphatiques)

73 : 2,8-bis[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-13-méthyl-12H-benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrate

RMN (DMSO-*d*₆):

1,41	M, 4H, <u>H₄</u>
1,75	M, 8H, <u>H₃</u>
2,77	s, 3H, <u>CH₃</u>
3,04	M, 4H, <u>NCH₂CH₂O</u> et <u>NCH₂CH₂O</u>
3,54	M, 8H, <u>H₂</u>
4,46	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
4,66	M, 2H, <u>NCH₂CH₂O</u>
5,48	s, 2H, <u>H₁₂</u>
7,03	d, 1H, J = 8,8 Hz, <u>H₉</u>
7,10	s, 1H, <u>H₆</u>
7,34	s, 1H, <u>H₇</u>
7,56	M, 3H, <u>H₁</u> , <u>H₃</u> , <u>H₁₀</u>
8,14	d, 1H, J = 9,8 Hz, <u>H₄</u>
10,47	s, 1H, NH ⁺ (échangeable dans D ₂ O)
10,64	s, 1H, NH ⁺ (échangeable dans D ₂ O)

Solide jaune

Rdt = 57%

Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1/NH₃) = 0,56

F > 250 °C (EtOH/Eau)

HPLC (Kromasil C18):

MeOH 38% ; H₂O 62% ; TFA 0,1%

Pureté : 100 %

T_r = 9,0 min

SM (IC) :

524 MH⁺

IR :

1503	v CC (aromatique)
1619	v CN (quinoléine et indole)
2951	v CH (aliphatiques)
3461	v NH (chlorhydrates)

Analyse élémentaire : 73 + 3 HCl + 3 H₂O

	% théorique	% expérimental
C	57,60	57,93
H	7,18	7,17
N	8,14	8,16
Cl	15,46	15,46

74: 2-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-13-éthyl-8-hydroxy-12H-benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrateRMN (DMSO-*d*₆):

1,36	t, 3H, J= 7,6 Hz, CH ₂ CH ₃
1,82	M, 6H, H ₄ , H ₃ '
3,05	q, 2H, J= 7,6 Hz, CH ₂ CH ₃
3,18	M, 2H, NCH ₂ CH ₂ O
3,58	M, 4H, H ₂ '
4,64	M, 2H, NCH ₂ CH ₂ O
5,46	s, 2H, H ₁₂
6,84	d, 1H, J = 8,5 Hz, H ₉
6,96	s, 1H, H ₆
7,03	s, 1H, H ₇
7,42	d, 1H, J = 8,5 Hz, H ₁₀
7,60	M, 2H, H ₁ , H ₃
7,97	d, 1H, J = 9,0 Hz, H ₄
10,27	s, 1H, NH ⁺ , échangeable dans D ₂ O

Solide jaune
Rdt = 41%
Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1) = 0,12
F > 250°C (EtOH/H₂O)

HPLC (Kromasil C18) :
MeOH 46% ; H₂O 54% ; TFA 0,1%
Pureté : 99,6%
T_r = 6,47 min

IR :

1503	v CC (aromatique)
1622	v CN (quinoléine et indole)
2968	v CH (aliphatiques)
3177	v OH
3512	v NH ⁺ (chlorhydrate)

75: 2-[2-(1-Pipéridino)éthoxy]-13-éthyl-8-méthoxy-12H-benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrateRMN (DMSO-*d*₆):

1,37	t, 3H, J= 7,6 Hz, CH ₂ CH ₃
1,83	M, 6H, H ₄ , H ₃ '
3,07	M, 2H, NCH ₂ CH ₂ O
3,18	q, 2H, J= 7,6 Hz, CH ₂ CH ₃
3,57	M, 4H, H ₂ '
3,81	s, 3H, OCH ₃
4,64	M, 2H, NCH ₂ CH ₂ O
5,51	s, 2H, H ₁₂
6,94	dd, 1H, J _o = 8,6 Hz, J _m = 2,4 Hz, H ₉
7,04	s, 1H, H ₆
7,22	d, 1H, J _m = 2,4 Hz, H ₇
7,52	d, 1H, J = 8,6 Hz, H ₁₀
7,60	M, 2H, H ₁ , H ₃
8,12	d, 1H, J = 9,8 Hz, H ₄
10,24	s, 1H, NH ⁺ , échangeable dans D ₂ O

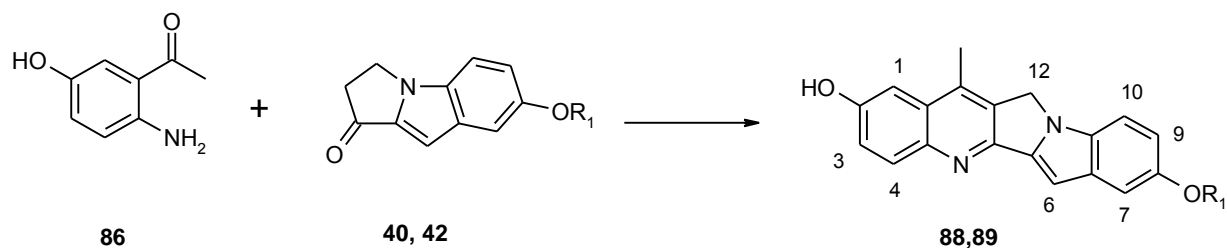
Solide orange
Rdt = 44%
Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1) = 0,11
F > 250°C (EtOH/Eau)

HPLC (Kromasil C18) :
MeOH 54% ; H₂O 46% ; TFA 0,1%
Pureté : 99,5%
T_r = 8,45 min

IR :

1503	v CC (aromatique)
1622	v CN (quinoléine et indole)
2968	v CH (aliphatiques)
3512	v NH ⁺ (chlorhydrate)

**2-Hydroxy-13-méthyl-12H-
benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-b]quinoléines,
chlorhydrates**



40, 88: R₁ = H

42, 89: R₁ = OCH₂CH₂pipéridine

REACTIFS :

Aminoacétophénone 86	200 mg	1,1 eq.	1,3 mmol
Pyrroloindole		1 eq.	1,2 mmol
PPTS	600 mg	2 eq.	2,4 mmol
Butan-1-ol			10 mL

PROTOCOLE :

L'acétophénone **86**, le pyrroloindole (**40** : 220 mg, **42** : 360 mg), PPTS et le butanol sont introduits dans un ballon. La solution est portée à reflux pendant 2 h avec entraînement azéotropique en utilisant un appareil de Dean-Stark.

Après refroidissement, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/méthanol 99/1 → 5/5 comme éluant.

88: 2,8-dihydroxy-13-méthyl-12*H*-benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrateRMN (DMSO-*d*₆) :

2,71	s, 3H, <u>CH</u> ₃
5,45	s, 2H, <u>H</u> ₁₂
6,90	d, 1H, J = 9,2 Hz, <u>H</u> ₉
7,05	M, 2H, <u>H</u> ₆ et <u>H</u> ₇
7,45	M, 2H, <u>H</u> ₁ et <u>H</u> ₃
7,51	d, 1H, J = 9,2 Hz, <u>H</u> ₁₀
8,07	d, 1H, J = 8,7 Hz, <u>H</u> ₄
10,57	s, 1H, <u>NH</u> ⁺ , échangeable dans D ₂ O

Solide marron

Rdt = 38%

Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1) = 0,47

F > 250°C (DMF/Ether)

HPLC (Kromasil C18) :MeOH 46% ; H₂O 54% ; TFA 0,1%

Pureté : 99,3 %

T_r = 7,9 minIR :

1518	v CC (aromatique)
1626	v CN (quinoléine et indole)
3336	v OH

89: 2-hydroxy-13-méthyl-8-[2-(1-pipéridino)éthoxy]-12*H*-benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-*b*]quinoléine, chlorhydrateRMN (DMSO-*d*₆) :

1,38	m, 2H, <u>H</u> _{4'}
1,80	M, 4H, <u>H</u> _{3'}
2,64	s, 3H, <u>CH</u> ₃
2,87	M, 2H, <u>NCH</u> ₂ CH ₂ O
3,48	M, 4H, <u>H</u> _{2'}
4,29	M, 2H, <u>NCH</u> ₂ CH ₂ O
5,33	s, 2H, <u>H</u> ₁₂
6,98	M, 2H, <u>H</u> ₉ et <u>H</u> ₇
7,21	s, 1H, <u>H</u> ₆
7,36	d, 1H, J _m = 2,3 Hz, <u>H</u> ₁
7,43	dd, 1H, J = 2,7 Hz, J _o = 9,1 Hz, <u>H</u> ₃
7,50	d, 1H, J _o = 8,7 Hz, <u>H</u> ₁₀
7,91	d, 1H, J = 9,1 Hz, <u>H</u> ₄

Solide jaune

Rdt = 46%

Rf (CH₂Cl₂ 9/MeOH 1) = 0,18

F > 250°C (EtOH/Eau)

HPLC (Kromasil C18) :MeOH 46% ; H₂O 54% ; TFA 0,1%

Pureté : 97,5 %

T_r = 5,2 minIR :

1536	v CC (aromatique)
1633	v CN (quinoléine et indole)
2943	v CH (aliphatiques)
3348	v OH
3440	v NH ⁺ (chlorhydrate)

80 : 2,3,8-Triméthoxy-13-méthyl-12*H*-benzo[5,6]pyrrolizino[1,2-*b*]quinoléineRMN (DMSO-*d*₆) :

2,66	s, 3H, <u>CH₃</u>	Solide blanc
3,80	s, 3H, <u>OCH₃</u>	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ CH ₃ OH 1) = 0,54
3,96	s, 3H, <u>OCH₃</u>	F > 250 °C (DMF/éthanol)
3,97	s, 3H, <u>OCH₃</u>	
5,34	s, 2H, <u>CH₂</u>	
6,78	s, 1H, <u>H₆</u>	<u>SM (IC) :</u>
6,87	dd, 1H, J _o = 9,3 Hz, J _m = 2,2 Hz, <u>H₉</u>	360 M ⁺
7,19	d, 1H, J _m = 2,2 Hz, <u>H₇</u>	
7,36	s, 1H, <u>H₁</u>	
7,45 à 7,48	M, 2H, <u>H₁₀</u> et <u>H₄</u>	

IR :

1509 et 1563	v CC (aromatique)
1625	v CN (quinoléine et indole)

81 : 2-(6,7-Diméthoxy-4-méthyl-2-quinolyl)-4,5-diméthoxyanilineRMN (DMSO-*d*₆) :

2,67	s, 3H, <u>CH₃</u>	Solide jaune
3,76	s, 6H, 2 <u>OCH₃</u>	Rf (CH ₂ Cl ₂ 9/ CH ₃ OH 1) = 0,49
3,94	s, 6H, 2 <u>OCH₃</u>	F = 213 °C (Ethanol)
6,45	s, 1H, <u>H₆</u>	
6,96	s, 2H, <u>NH₂</u> , échangeables dans D ₂ O	
7,26	s, 1H, <u>H₃</u>	
7,31	s, 1H, <u>H₃</u>	<u>SM (IC) :</u>
7,36	s, 1H, <u>H₅</u>	354 M ⁺
7,69	s, 1H, <u>H₈</u>	

IR :

1545 et 1585	v CC (aromatique)
162	v CN (quinoléine)
3443	v NH ₂

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Adams DJ, Dewhirst MW, Flowers JL, Gamcsik MP, Colvin OM, Manikumar G, Wani MC, Wall ME, 2000.

Camptothecin analogues with enhanced antitumor activity at acidic pH.
Cancer Chemother. Pharmacol., 46, 263-271.

Back W, 1971.

Über die synthese von o-acylamino-b-dimethylaminopropiophenonen.
Arch. Pharmaz., 304, 27-31.

Back W, 1970.

Über die synthese von o-acylamino-b-dimethylaminopropiophenonen.
Arch. Pharmaz., 303, 491-495.

Bailly C, Bernier JL, Houssin R, Hénichart JP, 1987.

Design of two metal-chelating, DNA-binding models: molecular combinations of bleomycin and amsacrine anti-tumor drugs.
Anti-Cancer Drug Design, 1, 303-312.

Bailly C, Pommery N, Houssin R, Hénichart JP, 1989.

Design, synthesis, DNA-binding and biological activity of a DNA minor groove binding intercalating drug.
J. Pharm. Sci., 78, 910-917.

Bailly C, Beauvillain JC, Bernier JL, Hénichart JP, 1990.

Plasma membrane perturbations induced by bleomycin-iron complex.
Cancer Res., 50, 385-392.

Bailly C, Hénichart JP, 1991.

DNA-recognition by intercalator-minor groove binder hybrid molecules.
Bioconjugate Chem., 2, 375-378.

Bailly C, Sun JS, Colson P, Houssier C, Hélène C, Waring M, Hénichart JP, 1992.

Design of a sequence-specific DNA-cleaving molecule which conjugates a copper-chelating peptide, a netropsin residue and an acridine chromophore.
Bioconjugate Chem., 3, 100-103.

Bailly C, Hénichart JP, 1994.

Molecular pharmacology of intercalator-groove binder hybrid molecules.
In "Molecular Aspects of Anticancer Drug-DNA Intercations" Mac Millan Press, London
Waring M.J., Neidle S., Eds., 2, 162-186.

Bailly C, Lansiaux A, Dassonneville L, Demarquay D, Coulomb H, Huchet M, Lavergne O, Bigg DCH, 1999.

Homocamptothecin, an E-ring-modified camptothecin analogue, generates new topoisomerase I-mediated DNA breaks.
Biochemistry, 38, 15556-15563.

Baumgarten HE, Krieger AL, 1955.

Naphthyridines. I. Synthesis of some 1,7-naphthyridines.
J. Amer. Chem. Soc., 77, 2438-2440.

Bell MR, D'Ambra TE, Kumar V, Eissenstat MA, Herrmann JL, Wetzel JR, Rosi D, Phillon RE, Daum SJ, Hlasta DJ, Kullnig RK, Ackerman JH, Haubrich DR, Luttinger DA, Baizman ER, Miller MS, Ward SJ, 1991.

Antinociceptive (aminoalkyl)indoles.

J. Med. Chem., 34, 1099-1110.

Bencteux E, 1997.

Conception et synthèse d'inhibiteurs d'activité protéine tyrosine kinase potentiellement actifs dans le traitement du cancer.

Thèse d'Université ; Spécialité : Pharmacochimie ; Université de Lille 2.

Bernier JL, Kenani A, Houssin R, Helbecque N, Lohez M, Hecquet B, Hénichart JP, 1986.

Molecular interaction between bleomycin and amsacrine in the presence of cupric ions.

J. Inorg. Biochem., 27, 271-285.

Bird TGC, Bruneau P, Crawley GC, Edwards MP, Foster SJ, Girodeau JM, Kingston JF, McMillan RM, 1991.

(Methoxyalkyl)thiazoles: a new series of potent, selective, and orally active 5-lipoxygenase inhibitors displaying high enantioselectivity.

J. Med. Chem., 34, 2176-2186.

Bom D, Curran DP, Kruszewski S, Zimmer SG, Strode JT, Kohlhagen G, Du W, Chavan AJ, Fraley KA, Bingcang AL, Latus LJ, Pommier Y, Burke TG, 2000.

The Novel Silatecan 7-tert-Butyldimethylsilyl-10-hydroxycamptothecin Displays High Lipophilicity, Improved Human Blood Stability, and Potent Anticancer Activity.

J. Med. Chem., 43, 3970-3980.

Borsche W, Doeller W, Wagner-Roemmich M, 1943.

Über tricyclische Lactone aus Chinaldincarbonsäure-(3)-ester und über [3-Carboxy-chinolyl-(2)]-brenztraubensäurediäthylester.

Chem. Ber., 76, 1099-1102.

Bourdouxhe C, Colson P, Houssier C, Hénichart JP, Waring MJ, Denny WA, Bailly C, 1995.

Design of composite drug molecules: mutual effects on binding to DNA of an intercalator, amsacrine, and a minor groove binder, netropsin.

Anti-Cancer Drug Design, 10, 131-154.

Brana MF, Cacho M, Gradillas A, de Pascual-Teresa B, Ramos A, 2001.

Intercalators as anticancer drugs.

Curr. Pharm. Design, 7, 1745-1780.

Catrycke MO, Houssin R, Hénichart JP, Pfeiffer B, Renard P, Dassonneville L, Bailly C, 1999.

Synthesis and cytotoxicity of analogues of the antibiotic BE 10988 inhibitors of DNA topoisomerase II.

Bioorg. Med. Chem. Lett., 9, 2025-2030.

Chackal S, 2002.

Conception, synthèse et évaluation pharmacologique de nouvelles benzopyridoacridines, indenopyridoacridines et pyrroloquinoléines, ligands potentiels de l'ADN.

Thèse d'Université ; Spécialité : Pharmacochimie ; Université de Lille 2.

Chackal S, Houssin R, Hénichart JP, 2002.

An efficient synthesis of the new benzo[c]pyrido[2,3,4-kl]acridine skeleton.

J. Org. Chem., 67, 3502-3505.

Chackal S, Facompré M, Houssin R, Goossens JF, Pommery N, Hénichart JP, Bailly C, 2003.^a
Highly cytotoxic benzo[c]pyrido[2,3,4-kl]acridines.
Bioorg. Med. Chem. Lett., 13, 943-946.

Chackal S, Houssin R, Pommery N, Hénichart JP, 2003.^b
Design, synthesis and pharmacological evaluation of new anticancer fused pentacycles.
J. Enzym Inhib. Med. Chem., sous presse.

Champoux JJ, 2001.
DNA topoisomerases: structure, function and mechanism.
Annu. Rev. Biochem., 70, 369-413.

Claisen L, 1907.
Zur Acetalisierung der Aldehyde und Ketone.
Chem. Ber., 40, 3903-3914.

Comins DL, Saha JK, 1996.
Concise synthesis of Mappicine ketone and (+/-) Mappicine.
J. Org. Chem., 61, 9623-9624.

Cornet J, 1999.
Conception, synthèse et étude pharmacologique d'inhibiteurs non peptidiques des métalloprotéases matricielles.
Thèse d'Université ; Spécialité : Pharmacochimie ; Université de Lille 2.

Correia JJ, Lobert S, 2001.
Physicochemical aspects of tubulin-interacting antimetabolic drugs.
Curr. Pharm. Design, 7, 1213-1228.

Costi MP, Ferrari S, 2001.
Update on antifolate drugs targets.
Curr. Drug. Targets, 2, 135-166.

Crow RT, Crothers DM, 1992.
Structural Modifications of Camptothecin and Effects on Topoisomerase I Inhibition.
J. Med. Chem, 35, 4160-4164.

Cuesta J, Read MA, Neidle S, 2003.
The design of G-quadruplex ligands as telomerase inhibitors.
Mini Rev. Med. Chem., 3, 11-21.

Dallavalle S, Delsoldato T, Ferrari A, Merlini L, Penco S, Carenini N, Perego P, De Cesare M, Pratesi G, Zunino F, 2000.
Novel 7-Substituted Camptothecins with Potent Antitumor Activity.
J. Med. Chem., 43, 3963-3969.

Dallavalle S, Ferrari A, Merlini L, Penco S, Carenini N, De Cesare M, Perego P, Pratesi G, Zunino F, 2001.^a
Novel cytotoxic 7-iminomethyl and 7-aminomethyl derivatives of camptothecin.
Bioorg. Med. Chem. Lett., 11, 291-294.

Dallavalle S, Ferrari A, Biasotti B, Merlini L, Penco S, Gallo G, Marzi M, Tinti MO, Martinelli R, Pisano C, Carminati P, Carenini N, Beretta G, Perego P, De Cesare M, Pratesi G, Zunino F, 2001.^b

Novel 7-oxyminomethyl derivatives of camptothecin with potent in vitro and in vivo antitumor activity.
J. Med. Chem., 44, 3264-3274.

Domarkas J, 2001.

Conception, synthèse et évaluation pharmacologique d'inhibiteurs pseudopeptidiques de la farnésyltransférase, potentiellement utilisables dans le traitement du cancer.
Thèse d'Université ; Spécialité : Pharmacochimie ; Université de Lille 2.

Dudouit F, Goossens JF, Houssin R, Hénichart JP, Colson P, Houssier C, Gelus N, Bailly C, 2000.

Synthesis, DNA binding, topoisomerase inhibition and cytotoxic properties of 4-arylcaboxamidopyrrolo-2-carboxanilides.
Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 553-557.

Ejima A, Terasawa H, Sugimori M, Ohsuki S, Matsumoto K, Kawato Y, Yasuoka M, Tagawa H, 1992.

Antitumor agents. V. Synthesis and antileukemic activity of E-ring-modified (RS)-camptothecin.
Chem. Pharm. Bull., 40, 683-688.

Emerson DL, Besterman JM, Brown HR, Evans MG, Leitner PP, Luzzio MJ, Shaffer JE, Sternbach DD, Uehling D, Vuong A, 1995.

In vivo antitumor activity of two new seven-substituted water-soluble camptothecin analogues.
Cancer Res., 55, 603-609.

Fan Y, Weinstein N, Kohn KW, Shi LM, Pommier Y, 1998.

Molecular Modeling Studies of the DNA-ternary cleavable Complex with Camptothecin.
J. Med. Chem., 41, 2216-2226.

Fossé P, René B, Saucier JM, Hénichart JP, Waring MJ, Colson P, Bailly C, 1994.

Stimulation of site-specific topoisomerase II-mediated DNA cleavage by an N-methylpyrrole carboxamideanilinoacridine conjugate. Relation to DNA-binding.
Biochemistry, 33, 9865-9874.

Frewin RJ, Johnson SA, 2001.

The role of purine combinations in the management of acute leukemias.
Hematol. Oncol., 19, 151-157.

Gatto B, Capranico G, Palumbo M, 1999.

Drugs acting on DNA topoisomerases: recent advances and future perspectives.
Curr. Pharm. Des., 5, 195-215.

Giorgi-Renault S, Gebel-Servolles P, Héllissey P, Renault J, Bernier JL, Hénichart JP, Cros S, 1989.

2,3-Bis(2-pyridyl)-5,8-quinoxalinediones with metal chelating properties: synthesis and biological evaluation.
J. Pharm. Sci., 78, 267-273.

Govindachari TR, Ravindranath KR, Viswanathan N, 1974

Mappicine, a minor alkaloid from Mappia foetida Miers.
J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1215-1217.

Haddou N, Morier-Teissier E, Helbecque N, Catteau JP, Bernier JL, Hénichart JP, 1992.

Etude d'une anthraquinone bisubstituée par un peptide chélateur du cuivre.

J. Pharm. Belg., 47, 442.

Han Z, Cao Z, Chatterjee D, Wyche J, Pantazis P, 1999.

Propionate and butyrate esters of camptothecin and 9-nitrocamptothecin as antileukemia prodrugs in vitro.

Eur. J. Haematol., 62, 246-255.

Henecka K, 1949.

Zur Kenntnis der b-dicarbonyl-verbindungen, V. Mitteil: über die Kondensation von Acetonoxalester und O-äthyl-aceton-oxalester mit Cyanoacetamid.

Chem. Ber., 82, 36-38.

Hénichart JP, Houssin R, Bernier JL, Catteau JP, 1982.

Synthetic model of a bleomycin metal complex.

J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1295-1297.

Hénichart JP, Bernier JL, Helbecque N, Houssin R, 1985.^a

Is the bithiazole moiety of bleomycin a classical intercalator?

Nucleic Acids Res., 13, 6703-6717.

Hénichart JP, Bernier JL, Houssin R, Lohez M, Kenani A, Catteau JP, 1985.^b

Copper II and iron II complexes of methyl-2-(2-aminoethyl)aminomethylpyridine-6-carboxy-1-histidinate (AMPHIS), a peptide mimicking the metal-chelating moiety of bleomycin. An ESR investigation.

Biochem. Biophys. Res. Commun., 126, 1036-1041.

Henze HR, Knowles MB, 1954.

Synthesis of 5-(pyridyl-substituted)hydantoins.

J. Org. Chem., 19, 1127-1135

Houssin R, Bernier JL, Hénichart JP, 1984.

Aminoalkyl derivatives of 2,4-bithiazole-4-carboxylic acid, the intercalating part of bleomycin.

J. Heterocyclic Chem., 21, 681-683.

Imbert TF, 1998.

Discovery of podophyllotoxins.

Biochimie, 80, 207-222.

Imperiali B, Prins TJ, Fisher SL, 1993.

Chemoenzymatic synthesis of 2-amino-3-(2,2'-bipyridinyl)propanoic acids.

J. Org. Chem., 58, 1613-1616.

Jonhston D, Smith DM, Sheperd T, Thompson D, 1987.

O-Nitrobenzylidene compounds. Part 3. Formation of 4-arylamino-3-methoxycinnoline 1-oxydes from N-o-nitrobenzylideneanilines, cyanide ion, and methanol: the intermediacy of 2-aryl-3-cyano-2H-indazole 1-oxydes.

J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 495-500.

- Kehrer DFS, Soepenber O, Loos WJ, Verweij J, Sparreboom A, 2001.**
Modulation of camptothecin analogs in the treatment of cancer.
Anti-Cancer Drugs, 12, 89-105.
- Kelleher C, Teixeira MT, Förstemann K, Lingner J, 2002.**
Telomerase: biochemical considerations for enzyme and substrate.
Trends Biochem. Sci., 27, 572-579.
- Kenani A, Lohez M, Houssin R, Helbecque N, Bernier JL, Lemay P, Hénichart JP, 1987.**
Chelating, DNA-binding and DNA-cleaving properties of a synthetic model for bleomycin.
Anti-Cancer Drug Design, 2, 47-59.
- Kenani A, Bailly C, Helbecque N, Houssin R, Bernier JL, Hénichart JP, 1989.**
Metal-complexing, DNA-binding and DNA-cleaving properties of a synthetic molecule AMBIGLU, a simplified model for the study of bleomycin.
Eur. J. Med. Chem., 24, 371-377.
- Kim DK, Ryu DH, Lee JY, Lee N, Kim YW, Kim JS, Chang K, Im GJ, Kim TK, Choi WS, 2001.**
Synthesis and biological evaluation of novel A-ring modified hexacyclic camptothecin analogues.
J. Med. Chem., 44, 1594-1602.
- Kim DK, Lee N, 2002.**
Recent advances in topoisomerase I-targeting agents, camptothecin analogues.
Mini Rev. Med. Chem., 2, 611-619.
- Klinke P, Gibian H, 1961.**
Über chalkone.
Chem. Ber., 94, 26-38.
- Kohn KW, Pommier Y, 2000.**
Molecular and biological determinants of the cytotoxic actions of camptothecins. Perspective for the development of new topoisomerase I inhibitors.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 922, 11-26.
- Kuminoto T, Nitta K, Tanaka T, Uehara N, Baba H, Takeuchi M, Yokokura T, Swada S, Miyasaka T, Mutai M, 1987.**
Antitumor activity of 7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino]carbonyloxycamptothecin, a novel water-soluble derivative of camptothecin against murine tumors.
Cancer Res., 47, 5944-5947.
- Laco GS, Collins JR, Luke BT, Kroth H, Sayer JM, Jerina DM, Pommier Y, 2002.**
Human topoisomerase I inhibition: docking camptothecin and derivatives into a structure-based active site model.
Biochemistry, 41, 1428-1435.
- Laconde G, 2002.**
Conception, synthèse et évaluation pharmacologique de sulfonamides et benzoindolothiazépines modulateurs potentiels du cycle cellulaire.
Thèse d'Université ; Spécialité : Pharmacochimie ; Université de Lille 2.
- Larsen AK, Gilbert C, Chyzak G, Plisov SY, Naguibneva I, Lavergne O, Lesueur-Ginot L, Bigg DCH, 2001.**
Unusual potency of BN 80915, a novel fluorinated E-ring modified camptothecin, toward human colon carcinoma cells.
Cancer Res., 61, 2961-2967.

Lavergne O, Bigg DCH, 1998.

Les autres camptothécines : avancées récentes sur les analogues de la camptothécine autres que l'irinotecan et le topotécan.

Bull. Cancer, 51-58.

Lavergne O, Lesueur-Ginot L, Pla Rodas F, Kasprzyk PG, Pommier J, Demarquay D, Prevost G, Ulibarri G, Rolland A, Schiano-Liberatore AM, Harnett J, Pons D, Camara J, Bigg DCH, 1998.

Homocamptothecins : Synthesis and Antitumor Activity of Novel E-Ring-Modified Camptothecin Analogues.

J. Med. Chem., 41, 5410-5419.

Lavergne O, Harnett J, Rolland A, Lanco C, Lesueur-Ginot L, Demarquay D, Huchet M, Coulomb H, Bigg DCH, 1999.

BN 80927 : A novel homocamptothecin with inhibitory activities on both topoisomerase I and topoisomerase II.

Bioorg. Med. Chem. Lett., 9, 2599-2602.

Lesueur-Ginot L, Demarquay D, Kiss R, Kasprzyk PG, Dassonneville L, Bailly C, Camara J, Lavergne O, Bigg DCH, 1999.

Homocamptothecin, an E-Ring Modified Camptothecin with Enhanced Lactone Stability, Retains Topoisomerase I-targeted Activity and Antitumor Properties.

Cancer Res., 59, 2939-2943.

Liu LF, Desai SD, Li TK, Mao Y, Sun M, Sim SP, 2000.

Mechanism of action of camptothecin.

Ann. N.Y. Acad. Sci. USA, 922, 1-10.

Longo-Sorbello GS, Bertino JR, 2001.

Current understanding of methotrexate pharmacology and efficacy in acute leukemias. Use of newer antifolate in clinical trials.

Haematologica, 86, 121-127.

Lyng R, Rodger A, Nordén B, 1992.

The CD of ligand-DNA systems. II. poly(dA-dT) B-DNA.

Biopolymers, 32, 1201-1215.

Lyng R, Rodger A, Nordén B, 1991.

The CD of ligand-DNA systems. I. poly(dG-dC) B-DNA.

Biopolymers, 31, 1709-1720.

Malecki N, 2001.

Conception et synthèse de dérivés quinoléiniques et quinazoliques, inhibiteurs potentiels des topoisomérase I et II.

Thèse d'Université. Spécialité Pharmacochimie. Université de Lille 2.

Malecki N, Houssin R, Hénichart JP, Couturier D, Petra F, Legentil L, Rigo B, 2003.

Studies on pyrrolidinones. Synthesis of new α -pyridones derivatives.

J. Heterocyclic Chem., 40, 45-50.

Morgan AR, Lee JS, Pulleyblank DE, Murray NL, Evans DH, 1979.

Ethidium fluorescence assays. Part I. Physicochemical studies.

Nucleic Acids Res., 7, 547-569.

Morier-Teissier E, Bailly C, Bernier JL, Houssin R, Helbecque N, Catteau JP, Colson P, Houssier C, Hénichart JP, 1989.

Synthesis, biological activity and DNA interaction of anilinoacridine and bithiazole peptide derivatives related to AMSA and bleomycin antitumor drugs.

Anti-Cancer Drug Design, 4, 37-52.

Morier-Teissier E, Boitte N, Helbecque N, Bernier JL, Pommery N, Duvalet JL, Fournier C, Hecquet B, Catteau JP, Hénichart JP, 1993.

Synthesis and antitumor properties of an anthraquinone bisubstituted by the copper chelating peptide Gly-Gly-L-His.

J. Med. Chem., 36, 2084-2090.

Mrani D, Gosselin G, Bailly C, Houssin R, Rao KE, Zimmermann J, Balzarini J, De Clercq E, Hénichart JP, Imbach JL, Lown JW, 1992.

Synthesis and determination of sequence selective DNA minor groove binding of bithiazole-linked netropsin derivatives.

Eur. J. Med. Chem., 27, 331-344.

Nicholas AW, Wani MC, Manikumar G, Wall ME, Kohn KW, Pommier Y, 1990.

Plant antitumor agents. 29. Synthesis and biological activity of ring D and ring E modified analogues of camptothecin.

J. Med. Chem., 33, 972-978.

Nieto Y, Jones RB, 2001.

DNA binding agents.

Cancer Chemother. Biol. Response Modif., 19, 189-213.

Pantazi P, Mendoza JT, Early JA, Kozielski AJ, Natelson EA, Giovanella BC, 1993.

9-Nitro-camptothecin delays growth of U-937 leukemia tumors in nude mice and is cytotoxic or cytostatic for human myelomonocytic leukaemia lines in vivo.

Eur. J. Haematol., 50, 81-89.

Perry PJ, Jenkins TC, 2001.

DNA tetraplex-binding drugs: structure-selective targeting is critical for antitumor telomerase inhibition.

Mini Rev. Med. Chem., 1, 31-41.

Perzyna A, Houssin R, Barbry D, Hénichart JP, 2002.^a

Microwave Assisted Synthesis of Indolizino[1,2-b]quinoline

Synlett, 2077-2079.

Perzyna A, Marty C, Facompré M, Goossens JF, Pommery N, Colson P, Houssier C, Houssin R, Hénichart JP, Bailly C, 2002.^b

Formaldehyde-induced DNA cross-link of indolizino[1,2-b]quinolines derives from the A-D rings of camptothecin.

J. Med. Chem., 45, 5809-5812.

Perzyna A, Houssin R, Goossens JF, Pommery N, Marty C, Facompré M, Colson P, Houssier C, Bailly C, Hénichart JP, 2003.

Indolizino[1,2-b]quinoline derived from A-D rings of camptothecin : Synthesis and DNA interaction

J. Enz. Inhib. Med. Chem., sous presse.

Pienta KJ, 2001.

Preclinical mechanisms of action of docetaxel and docetaxel combinations in prostate cancer.
Semin. Oncol., 28, 3-7.

Pindur U, Lemster T, 1998.

Antitumor drug design: DNA-binding ligands, which inhibit the topoisomerase I.
Pharmazie, 53, 79-86.

Platzer P, Thalhammer T, Hamilton G, Ulsperger E, Rosenberg E, Wissiack R, Jäger W, 2000.

Metabolism of camptothecin, a potent topoisomerase I inhibitor, in the isolated perfused rat liver.
Cancer Chemother. Pharmacol., 45, 50-54.

Plouvier B, Bailly C, Houssin R, Hénichart JP, 1991.

Synthesis of two new thiazole-containing oligopeptides as a potential minor groove binding analogs of netropsin.
Heterocycles, 32, 693-701.

Plouvier B, Bailly C, Houssin R, Fournier C, Hecquet B, Hénichart JP, 1992.

Activité biologique in vivo de deux hybrides ligands du petit sillon-intercalants.
J. Pharm. Belg., 47, 444.

Pourquier P, Pommier Y, 1998.

Les topoisomérases I : nouvelles cibles pour le traitement des cancers et mécanismes de résistance.
Bull. Cancer, déc, 5-10.

Pourquier P, Pommier Y, 2001.

Topoisomerase I-mediated DNA damage.
Adv. Cancer res., 80, 189-216.

Redinbo MR, Stewart L, Kuhn P, Champoux JJ, Hol WGJ, 1998.

Crystal Structures of Human Topoisomerase I in Covalent and Noncovalent Complexes with DNA.
Science, 279, 1504-1513.

Reese RM, Tchkmelyan S, Chapman Y, Prager D, Rosen PJ, 1998.

A phase II trial of Irinotecan in hormone-refractory prostate cancer.
Invest. New Drugs, 16, 353-359.

Remers WA, Weiss MJ, 1965.

9-(2-Aminoethyl)-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[1,2-a]indoles, new tryptamine analogs.
J. Med. Chem., 8, 700-702.

Rougier P, Bugat R, 1996.

CPT-11 in the treatment of colorectal cancer: clinical efficacy and safety profile.
Sem. Oncol., 23, 34-41.

Santos A, Zanetta S, Cresteil T, Debroussent A, Pein F, Raymond E, Vernillet L, Rise ML, Boige V, Gouyette A, Vassal G, 2000.

Metabolism of irinotecan (CPT-11) by CYP3A4 and CYP3A5 in humans.
Clin. Cancer. Res., 6, 2012-2020.

Slichenmeyer WJ, Von Hoff DD, 1990.

New natural products in cancer chemotherapy.
J. Clin. Pharmacol., 30, 770-788.

Staker BL, Hjerrild K, Feese MD, Behnke CA, Burgin AB, Stewart L, 2002.

The mechanism of topoisomerase I poisoning by a camptothecin analog.

Proc. Natl. Acad. Sci., 99, 15387-15392.

Subrahmanyam D, Venkateswarlu A, Rao KV, Vrs Sastry T, Vandana G, Kumar SA, 1999.

Novel C-Ring Analogues of 20(S)-Camptothecin-Part-2 : Synthesis and In Vitro Cytotoxicity of 5-C-Substituted 20(S)-Camptothecin Analogues.

Bioorg. Med. Chem. Lett., 9, 1633-1638.

Sugimori M, Ejima A, Ohsuki S, Uoto K, Mitsui L, Matsumoto K, Kawato Y, Yasuoka M, Sato K, Tagaa H, Terasawa H, 1994.

Antitumor Agents. 7. Synthesis and Antitumor Activity of Novel Hexacyclic Camptothecin Analogues.

J. Med. Chem., 37, 3033-3039.

Sugimori M, Ejima A, Ohsuki S, Uoto K, Mitsui I, Matsumoto K, Kawato Y, Hirota Y, Sato K, Terasawa H, 1998.

Synthesis and antitumor activity of ring A- and F-modified hexacyclic camptothecin analogues.

J. Med. Chem., 41, 2308-2318.

Supko JG, Malspeis L, 1993.

Pharmacokinetics of the 9-amino and 10,11-methylenedioxy derivatives of camptothecin in mice.

Cancer Res., 53, 3062-3069.

Suvorov NN, Redotova MV, Orlova LM, Ogareva OB, 1962.

Indole derivatives: Synthesis of 6- and 4-substituted tryptamines.

J. Gen. Chem. USSR, 32, 2325-2331.

Uluka H, Swaan PW, 2002.

Camptothecins: a review of their chemotherapeutic potential.

Drugs, 62, 2039-2057.

Urasaki Y, Takebayashi Y, Pommier Y, 2000.

Activity of a novel camptothecin analogue, homocamptothecin, in camptothecin-resistant cell lines with topoisomerase I alterations.

Cancer Res., 60, 6577-6580.

Van Hattum AH, Pinedo HM, Schluper HMM, Hausheer FH, Boven E, 2000.

New highly lipophilic camptothecin BNP1350 is an effective drug in experimental human cancer.

Int. J. Cancer, 88, 260-266.

Vismara E, Fontana F, Minisci F, 1987.

A new method for the oxydation of methyl to formyl groups in heteroaromatic derivatives.

Gazz. Chim. Ital., 117, 135-136.

Wall ME, Wani MC, Cook CE, Palmer KH, Mc Phail AT, Sim GA, 1966.

Plant Antitumor Agents. I. The Isolation and Structure of Camptothecin, a novel Alkaloid Leukemia and Tumor Inhibitor from Camptotheca acuminata.

J. Am. Chem. Soc., 88, 3888.

Wall ME, Wani M, 1991.

Camptothecin analogs as potent inhibitors of human colorectal cancer.

Patent WO 91/05556.

Wani MC, Ronman PE, Lindley JT, Wall ME, 1980.

Plant antitumor agents. 18. Synthesis and biological activity of camptothecin analogues.
J. Med. Chem., 23, 554-560.

White LK, Wright WE, Shay JW, 2001.

Telomerase inhibitors.
Trends Biotech., 19, 114-120.

Zhang W, LoCurcio M, Lin CC, Jimenez LS, 1996.

Synthesis and reactivity of 2,3-dihydro-1H-pyrrolo[1,2-a]indole derivatives, analogs of the FR900482 and mitomycin C active intermediates.
J. Heterocyclic Chem., 33, 1647-1651.

Zhao H, Lee C, Sai P, Choe YH, Boro M, Pendri A, Guan S, Greenwald B, 2000.

20-O-Acylcamptothecin derivatives: evidence for lactone stabilization.
J. Org. Chem., 65, 4601-4606.

Le cancer est la deuxième cause de mortalité dans les pays développés après les maladies cardiovasculaires. C'est pourquoi de nombreuses recherches sont entreprises afin d'obtenir des outils thérapeutiques pour combattre cette maladie. Une des cibles biologiques de choix pour le traitement des cancers est la double hélice d'ADN, qui contient les informations nécessaires à la multiplication cellulaire.

Nous nous sommes inspirés de la camptothécine, alcaloïde pentacyclique, connue pour ses propriétés antitumorales, qui est le chef de file des inhibiteurs de topoisomérase I, enzyme essentielle pour la réplication de l'ADN. L'utilisation du squelette polycyclique de la camptothécine afin de concevoir des ligands de l'ADN constitue une approche originale dans cette série. Notre étude décrit la conception, la synthèse et l'évaluation pharmacologique de pyrrolo[3,4-*b*]quinoléines condensées, ligands de l'ADN.

Les différents motifs polycycliques étudiés et les diverses modulations entreprises nous permettent de proposer de nouvelles squelettes liant l'ADN et un ensemble de relations structure-affinité. L'ensemble des tests biologiques ont permis de déterminer le mode d'interaction de ces composés avec l'ADN (intercalant et/ou ligand du petit sillon) et de mettre en évidence des molécules cytotoxiques sur des lignées cancéreuses humaines (MCF7, cancer du sein, et PC3, cancer de la prostate).

La préparation de ces quinoléines condensées de structure originale a été réalisée par la réaction de Friedländer (cyclisation d'un *o*-aminobenzaldéhyde ou d'une *o*-aminocétone avec une cétone énolisable) dont nous avons optimisé les conditions afin d'améliorer les rendements.

Design, synthesis and pharmacological evaluation of new pyrrolo[3,4-*b*]quinolines, as potential DNA binders

Cancer is the second leading cause of death after cardiovascular disease in developed countries. This is the reason why considerable research is being carried out to discover new drugs to treat this illness. DNA is one of the most important biological targets, as it contains the information required for cellular replication.

We worked from the camptothecin natural model, a pentacyclic alkaloid, known for its high antitumor activity and its inhibition of topoisomerase I, an essential enzyme for DNA replication. The use of its polycyclic pattern to design new DNA binders is an original approach in this class of active compounds. Our study deals with the design, synthesis and pharmacological testing of fused pyrrolo[3,4-*b*]quinolines, as potential DNA binders.

The various polycyclic scaffolds studied and modulations undertaken lead us to propose new DNA-binding patterns and structure-affinity relationships. The type of interaction of these compounds with DNA (intercalation or/and minor groove binding) has been determined and some molecules can be noted for their cytotoxicity on human cancer cells (MCF7, breast cancer cells, and PC3, prostate cancer cells).

The preparation of these original fused quinolines was obtained by Friedländer condensation (cyclisation of an *o*-aminobenzaldehyde or an *o*-aminoacetophenone with an enolisable ketone), whose conditions were optimized in order to improve yields.

Discipline : Pharmacochimie

Mots clés : cancer, intercalant, quinoléine, indolizine, réaction de Friedländer, camptothécine

Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol – Université de Lille 2

3 rue du Professeur Laguesse
BP 83 - 59006 LILLE Cedex