UNIVERSITÉ FRANÇOIS - RABELAIS

DE TOURS

ÉCOLE DOCTORALE SANTE, SCIENCES ET TECHNOLOGIES

UMR CNRS 6239 GICC : Génétique, Immunothérapie, Génétique et Cancer

THÈSE

présentée par :

Charlotte CHAULET

soutenue le : **15 décembre 2010**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université François - Rabelais**

Discipline / Spécialité : Sciences de la Vie et de la Santé / Chimie Organique

Synthèse et étude du mécanisme d'action de nouveaux analogues de la thalidomide, dérivés du noyau 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine, sur la modulation des cellules NK et la production des cytokines TNF-α et IL-6

THÈSE dirigée par :

Pr VIAUD-MASSUARD Marie-Claude	Professeur, Université François – Rabelais, Tours

RAPPORTEURS :

Pr BERTEINA-RABOIN Sabine	Professeur, Institut de Chimie Organique et Analytique, Orléans
Dr LALLEMAND Marie-Christine	HDR, Maître de Conférence, Université Paris Descartes, Paris

---

JURY :

Pr DELERIS Gérard	Professeur, Université Victor Segalen, Bordeaux
Pr BERTEINA-RABOIN Sabine	Professeur, Institut de Chimie Organique et Analytique, Orléans
Dr LALLEMAND Marie-Christine	HDR, Maître de Conférence, Université Paris Descartes, Paris
Pr PUJOL Maria-Dolores	Professeur, Université de Barcelone, Barcelone
Pr VIAUD-MASSUARD Marie-Claude	Professeur, Université François – Rabelais, Tours

A David.

Remerciements

Mes remerciements s'adressent au Professeur Marie-Claude Viaud-Massuard pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et permis de réaliser des travaux de recherche tant en synthèse organique que sur moi-même. Que ce manuscrit soit le reflet de mon profond respect à son égard.

Mes remerciements s'adressent également au Professeur Sabine Berteina-Raboin et au Docteur Marie-Christine Lallemand pour avoir accepté de juger ce travail ; ainsi qu'aux Professeurs Gérard Deleris et Maria-Dolores Pujol pour avoir accepté de siéger parmi les membres de mon jury.

Résumé

La thalidomide est un sédatif hypnotique mis sur le marché pour la première fois en Allemagne en octobre 1957 et largement vendu par la suite dans 46 pays sous 51 noms commerciaux différents. Il fut également utilisé comme antiémétique chez les femmes enceintes et, dès le jour de Noël de l'année 1956, un premier enfant atteint de phocomélie naissait, six mois avant la mise sur le marché. La thalidomide fut retirée de la vente fin 1961, du fait de ses effets dévastateurs sur le développement fœtal.

De nombreux mécanismes d'action de la thalidomide dans l'embryopathie ont été rapportés, notamment un effet antiangiogénique avec inhibition de la neurovascularisation au cours du développement des membres durant la vie fœtale. Par la suite, la thalidomide s'est imposée comme traitement dans un grand nombre de pathologies. Il a également été démontré qu'elle était capable d'induire une augmentation ou une inhibition de l'expression de chimiokines ou de facteur de croissance.

L'élaboration de nouvelles molécules analogues plus efficaces reste au centre de nombreuses études de recherche. Sur la base des travaux effectués sur la régulation de la production de cytokines et de la modulation des lymphocytes NK par la thalidomide et ses analogues, nous avons travaillé autour du noyau 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine. Cette étude a permis de fonctionnaliser ce noyau sur diverses positions par différents types de synthèse organique : désulfonylation, réactions d'addtion 1,4 de type Michael, couplage peptidique, … et d'élaborer des molécules originales. Les composés synthétisés ont fait l'objet d'études pharmacologiques.

Résumé en anglais

Thalidomide is a sedative hypnotic on the market for the first time in Germany in October 1957 and subsequently sold widely in the 46 countries under 51 different trade names. It was also used as antiemetic in pregnant women and from the Christmas Day of 1956, a first child with phocomelia born, six months before placing on the market. Thalidomide was withdrawn from the market in late 1961, because of its devastating effects on fetal development.

Many mechanisms of action of thalidomide embryopathy have been reported, including an antiangiogenic effect with inhibition of neurovascularisation during limb development during fetal life. Subsequently, thalidomide has emerged as a treatment of many diseases. It was also demonstrated its ability to induce an increase or inhibition of expression of chemokines or growth factor.

The development of new molecules like more effective remains the focus of many research studies. Based on studies on the regulation of cytokines production and modulation of NK cells by thalidomide and its analogs, we worked on the 1*H*-pyrrolo [2,3-*b*] pyridine. This study led us to functionalize 7-azaindole on various positions and by different organic synthesis: desulfonylation, Michael addition, peptide coupling… These synthetized compounds have been tested in pharmacologic studies.

Table des matières

Remerciements 1
Résumé 2
Résumé en anglais 3
Table des matières 4
Liste des abréviations 8
CONTEXTE 12
INTRODUCTION 14
I. La thalidomide 15
I.1. Généralités 15
I.2. Propriétés pharmacocinétiques 20
I.3. Propriétés pharmacodynamiques 22
I.3.1. Immunomodulation 22
I.3.2. Activation des cellules T 24
I.3.3. Angiogénèse 25
I.3.4. Mécanismes anti-tumoraux et apoptotiques 25
I.4. Rôle des IMiDs dans le traitement du cancer 26
I.4.1. Le myélome multiple 27
I.4.2. Les syndromes myélodysplasiques (SMD) 27
II. Les cellules Natural Killer (NK) 29
II.1. Généralités 29
II.2. Ontogénèse des cellules NK 30
II.3. Activation de la cellule NK 32
II.4. Les récepteurs 33
II.4.1. Les récepteurs inhibiteurs 33
II.4.2. Les récepteurs activateurs 34
II.5. « Education » des cellules NK 36
II.6. Mécanismes cytolytiques des cellules NK 37
III. Les molécules modulatrices des cellules NK : les Métalloprotéases Matricielles 39
III.1. Généralités 39
III.2. Structure des MMPs 40
III.3. Régulation de l'expression des MMPs 41
III.4. Autres molécules inhibitrices des MMPs 44

IV. Les cytokines pro-inflammatoires : Tumor Necrosis Factor-α (TNF-α) et Interleukin-6 (IL-6) 47
IV.1. Le TNF-α 47
IV.1.1. Structure du TNF-α 47
IV.1.2. Origine et synthèse 48
IV.1.3. Les récepteurs du TNF-α 49
IV.1.4. Effets biologiques 50
IV.2. L'IL-6 51
IV.2.1. Structure et classification de la protéine 52
IV.2.2. Le complexe récepteur de l'IL-6 53
IV.2.3. Effets biologiques 54
V. Les inhibiteurs du TNF-α analogues de la thalidomide 55
OBJECTIFS 59
RESULTATS ET DISCUSSION 62
Synthèse de molécules modulatrices de l'expression des cellules NK a partir du noyau 7-aza-2-oxindole 63
I. Synthèse de 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-ones 63
II. Synthèse de dérivés fonctionnalisés en position 3 64
II.1. Introduction de la double liaison en position 3 64
II.2. Réduction de la double liaison 66
III. Addition 1,4 de type Michael 67
IV. Introduction d'un alcyne en position 12 75
IV.1. Mise au point de la réaction 75
IV.2. Formation de l'alcyne vrai 77
Synthèse de molécules modulatrices de la production des cytokines pro-inflammatoires a partir du noyau 7-azaindole *N*-sulfonylé 78
I. Synthèse du 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine 79
II. Synthèse de dérivés en position 2 à partir du dérivé halogéné 80
II.1. Synthèse du 2-iodo-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*] pyridine 80
II.2. Synthèse d'amines aromatiques sulfonylées 81
II.2.1. A partir de chlorures de nitrobenzènesulfonyles 81
II.2.2. Réduction du groupement nitro 82
I.3. Réactions de couplage aminant 83
III. Réaction de désulfonylation 91

III.1. En série indole ou 7-azaindole en présence de groupements acides, halogénés ou azotés 96
III.2. En série indole ou 7-azaindole en présence de groupements esters 97
III.3. En série indole ou 7-azaindole en présence de groupements amides ou lactones 97
III.4. En série azaindole en présence d'un groupement silyle 98
IV. Synthèse de dérivés en position 2 à partir de l'acide carboxylique 100
IV.1. Introduction de l'enchaînement carbonyle-azote 100
IV.1.1. A partir de l'aniline 100
IV.1.2. A partir de chlorure de nitrobenzène-1-sulfonyle 102
IV.1.3. A partir des amines sulfonylées 35 à 42 103
IV.2. Synthèse d'un tricycle de type hydantoïne 104
IV.2.1. Schéma rétrosynthétique 105
IV.2.2. Réaction de cyclisation à partir de l'acide 45 105
IV.2.3. Réaction de cyclisation à partir du 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle 106
RESULTATS PHARMACOLOGIQUES 111
I. Synthèse du lénalidomide 113
I.1. Synthèse du motif 3-aminopipéridine-2,6-dione **77** 113
I.2. Réaction de cyclisation 114
II. Etude sur les cellules NK 115
II.1. Les anticorps monoclonaux thérapeutiques 116
II.2. Protocole du test biologique 117
II.2.1. Les lignées cellulaires NK 117
II.2.2. Les anticorps monoclonaux 117
II.2.3. Evaluation de la cytotoxicité des composés chimiques. 117
II.2.4. Sensibilisation de la plaque par les anticorps monoclonaux 118
II.2.5. Stimulation des cellules NKL 118
II.2.6. Marquage du CD107 et de l'IFN-γ 118
II.2.7. Analyse par cytométrie en flux 118
II.3. Analyse des résultats biologiques pour l'expression du CD107 et la synthèse de l'IFN-γ 120
II.3.1. Les IMiDs 120
II.3.2. En série 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine 121
II.3.3. Screening des composés issus de la chimiothèque 124

III. Etude sur la production de TNF-α et d'IL-6 des cellules mononucléaires 125
III.1. Protocole du test biologique 125
III.1.1. Isolement et culture des cellules mononucléaires 125
III.1.2. Conditionnement des composés chimiques 125
III.1.3. Protocole du test ELISA 125
III.2. Analyse des résultats biologiques pour l'expression du TNF-α et de l'IL-6 127
III.2.1. Dosage du TNF-α 128
III.2.2. Dosage de l'IL-6 129
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES 130
PARTIE EXPERIMENTALE 137
Méthodes Générales 138

Liste des abréviations

Biologie

ADCC	Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity (cytotoxicité médiée par les anticorps)
AR	Anémie Réfractaire
AREB	Anémie Réfractaire avec Excès de Blastes
ARSI	Anémie Réfractaire avec Sidéroblastes en couronne
ARN	Acide Ribonucléique
BCR	Récepteur des Lymphocytes B
βFGF	Facteur de croissance des fibroblastes β
CD	Cluster of Differenciation
cIAP	Cellular Inhibitors of Apoptosis
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CMV	Cytomégalovirus
CNTF	Ciliary neutrophic factor
COX-2	Cyclooxygénase-2
CPA	Cellule présentatrice d'antigène
CT	Cardiothrophin
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ELP	Précurseur lymphoïde précoce
ENL	*erythema nodusum leprosum*
FADD	Fas-Associated protein with Death Domain
FasL	Fas Ligand
Fc	Fragment cristallisable
FDA	Food and Drug Administration
FLAME	FADD-Like Antiapoptotic Molecule
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
GVH	Maladie du greffon contre l'hôte
HBP	4-Helix Bundle Peptides
HPA	Axe hypothalamo-hypophyso-cortcicosurrénalien
HSC	Cellule Souche Hématopoïétique
ICAM	Integrin Cellular Adhesion Molecule
IFN	Interferon
Ig	Immunoglobuline
IGF	Insulin-like Growth Factors
IkB	Inhibiteur de kappa B kinase
IL	Interleukine
IMiDs	Drogues Immunomodulatrices
IPSS	International pronostic scoring system
ITIM	Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif
KIR	Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor
LeMMC	Leucémie Myélomonocytaire Chronique

LGL	Large Granular Lymphocyte
LIF	Leukemia Inhibithory Factor
LILR	Leucocyte Immunoglobulin Like Receptor
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MCP	Monocyte Chemoattractant Protein
MIP	Macrophage Inflammatory Protein
MICA	MHC class I chain-related protein A
MICB	MHC class I chain-related protein B
MM	Myélome multiple
MMPIs	Inhibiteur de métalloprotéases matricielles
MMPs	Métalloprotéases matricielles
MT-MMPs	Métalloprotéases matricielles de type membranaire
NCR	Natural cytotoxicity receptors
NF-κB	Facteur nucléaire κB
NK	Natural Killer
NKP	Précurseur des cellules NK
OSM	Oncostatine M
RANKL	Receptor activator of NFκB ligand
RIP	Receptor interactive protein
SIDA	Syndrome de l'immunodéficience acquise
SMD	Syndrome myélodysplasique
SODD	Silencer of death domaine
TACE	TNF-α converting enzyme
TCR	Récepteur des lymphocytes T
TGF	Facteur de croissance transformant
Th	T-helper
TIMPs	Tissue inhibitors of matrix metalloproteases
TLR	Récepteur Toll-like
TNF	Facteur de nécrose de tumeur
TNFR	Récepteur du facteur de nécrose de tumeur
TRADD	Tumor necrosis factor receptor associated death domain
TRAF	Facteur associé au facteur de nécrose de tumeur
VCAM	Vascular cell adhesion molecule
VEGF	Facteur de croissance vasculaire endothéliale
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
WHO	World Health Organization (Organisation mondiale de la santé)

Chimie

Ac	Acétate
AcOH	Acide acétique
AIBN	Azobisisobutyronitrile
arom	Aromatique
BINAP	2,2'-Bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle
Bn	Benzyle
Boc	*tert*-butyloxycarbonyle
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CDI	1,1'-Carbonyldiimidazole
d	Doublet
dba	Dibenzylidèneacétone
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
DCC	Dicyclohexylcarbodiimide
DCM	Dichlorométhane
dd	Doublet de doublet
DIEA	*N,N*-diisopropyléthylamine
DMAP	4-(Diméthylamino)pyridine
DMF	*N,N*-diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxide
EDCI	1-(3-Diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide
éq.	équivalent
Et	Ethyle
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HOBt	Hydroxybenzotriazole
IC	Ionisation Chimique
IE	Impact Electronique
IR	Infra-Rouge
LDA	Diispropylamidure de lithium
m	Multiplet
Me	Méthyle
NBS	*N*-Bromosuccinimide
*n*Bu	*Normal*-Butyle
Nu	Nucléophile
PBPB	Tribromure de pyridinium
Pf	Point de fusion
Ph	Phényle
Ph-bod	(*R,R*)-diphényl-bicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène
ppm	Partie par million
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
q	Quadruplet
Rdt	Rendement
RMN	Résonnance Magnétique Nucléaire

s	Singulet
sl	Singulet large
SM	Spectre de Masse
t	Triplet
TA	Température Ambiante
TBAF	Fluorure de tétrabutylammonium
t-Bu	*tert*-Butyle
TEA	Triéthylamine
THF	Tétrahydrofurane
TMEDA	Tétraméthyléthylènediamine
TMS	Triméthylsilyle
UV	Ultraviolet
Xantphos	4,5-Bis(diphénylphosphino)-9,9-diméthylxanthène

CONTEXTE

Le projet d'étude de nouvelles molécules, dérivées de la thalidomide, potentialisatrices des lymphocytes NK et pouvant agir en synergie avec les anticorps monoclonaux a été développé dans le cadre du projet MAb IMPACT (R07007NN) (MAb IMPACT = IMProving ACTivation of FcγRIIIa-expressing effector cells, pharmacogenetic based optimisation of monoclonal antibody (MAb) therapy for cancer).

En 2005, l'Institut National du Cancer (INCa) a créé pour 3 ans un réseau structurant au sein du Cancéropôle Grand Ouest, dénommé MAb IMPACT, avec pour objectif l'optimisation des traitements par anticorps, afin de les rendre plus efficaces chez un plus grand nombre de patients. Ce réseau, dirigé par le Pr. Hervé Watier, chef de service du laboratoire d'Immunologie du CHRU et responsable d'une équipe de recherche sur les anticorps thérapeutiques au sein de l'UMR CNRS 6239 GICC Génétique-Immunothérapie-Chimie et Cancer, a permis à seize équipes du Grand Ouest (localisées à Nantes, Angers, Poitiers, Rennes, Brest, Orléans et Tours) de collaborer. Ce programme consistait à déterminer comment les interactions entre les IgG et FcγRIIIa contribuaient à un effet anti-tumoral et comment celles-ci pourraient être optimisées ou exploitées pour améliorer l'efficacité clinique des anticorps monoclonaux recombinants. Le programme du réseau MAb IMPACT s'est achevé fin 2008.

Ainsi, dans le cadre du projet Mab IMPACT, notre équipe de recherche a collaboré avec l'équipe du Pr. Watier afin d'établir un protocole de tests biologiques permettant de déterminer l'impact de la thalidomide, et de ses dérivés, sur la réponse cellulaire des lymphocytes NK et d'émettre des hypothèses sur le mécanisme d'action de ces molécules.

Grâce aux différents meetings du réseau Mab IMPACT, nous avons développé une nouvelle collaboration avec l'équipe de recherche «Inflammation, Tissus Epithéliaux et Cytokines» de l'Université de Poitiers, dirigée par le Dr. Jean-Claude Lecron, qui a permis d'étudier une autre propriété de la thalidomide : la modulation de la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF-α et IL-6).

Dans un souci de recherche constante d'optimisation des structures chimiques, les tests biologiques, effectués dans les deux axes, ont été réalisés tout au long du projet permettant ainsi une bonne réactivité au niveau de la conception et de l'élaboration de nouvelles molécules.

Ce projet de thèse a été supporté financièrement par la Région Centre.

INTRODUCTION

I. La thalidomide

I.1. Généralités

La thalidomide a tout d'abord été synthétisée en 1953 par Ciba, une société pharmaceutique Suisse, puis en 1954 par Kunz un chimiste de la société Chemie Grünenthal, une compagnie pharmaceutique allemande.[1] La firme testa la molécule comme antigrippal, antiépileptique, antihistaminique, antibiotique mais sans résultat. Le seul effet réellement constant de la thalidomide semblait résider dans le profond sommeil paisible qu'expérimentaient les volontaires. Le produit paraissait par ailleurs incroyablement sûr, aucun effet secondaire n'ayant été observé sur les animaux de laboratoire ; la mort due à un surdosage accidentel ou intentionnel chez l'Homme était impossible.[2]

Sachant qu'à l'époque les hypnotiques sont essentiellement représentés par les barbituriques dont la sécurité est moindre, la firme Chemie Grünenthal décide de commercialiser la thalidomide à cet usage, sous l'appellation de Contergan®.[3] Les nausées matinales du début de grossesse représentent une autre indication officielle du médicament, qui peut être également administré chez les femmes durant l'allaitement et pour calmer les enfants « difficiles ».

Suite à une vaste campagne publicitaire (50 revues médicales, 50 000 circulaires thérapeutiques, 250 000 lettres aux médecins en Allemagne), le produit, commercialisé le 1er octobre 1957, devint rapidement un « best-seller ». En 1959, on estime à un million le nombre d'utilisateurs quotidiens en Allemagne, la firme écoule une tonne de thalidomide par mois, et le produit est le troisième médicament le plus vendu en Europe. Une compagnie anglaise, la Distillers Company, acquerra la licence et commercialisera la thalidomide sous le nom de Distaval®,[3] stipulant à son tour dans la notice qu'elle pouvait être prise sans risque par les femmes enceintes. *In fine*, la drogue sera vendue dans 46 pays, par une douzaine de compagnies sous licence, en Europe mais aussi en Asie, en Australie et en Afrique, sous une

[1] (a) Eriksson T., Bjorkman S., Hoglund P. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **2001**, *57*, 365
(b) Lenz W. *Teratology* **1988**, *38*, 203
(c) Lenz W. *Teratology* **1992**, *46*, 417

[2] Tassig H.B. *JAMA* **1962**, *180*, 1106

[3] Hales B.F. *Nat. Med.* **1999**, *5*, 489

quarantaine de noms différents (dont le Softénon® en Belgique) ; dans bon nombre de formulations, la thalidomide sera mélangée à de la quinine, à de la vitamine C, à de la phénacétine ou de l'aspirine, et même à des barbituriques.

Initialement, le médicament pouvait être acheté sans prescription médicale, mais assez rapidement il s'avéra qu'il était responsable parfois de névrites périphériques éventuellement sévères et irréversibles. La firme allemande reçut plusieurs centaines de cas rapportés, nia systématiquement tout rapport de cause à effet, mais à la fin de l'été 1961, elle fut contrainte d'accepter que la prescription médicale en devint obligatoire dans toute l'Allemagne. La drogue continua cependant d'être considérée comme incroyablement sûre.

Assez rapidement également, les centres allemands de néonatalogie constatèrent une augmentation du nombre de nouveau-nés ayant des malformations rares et graves touchant surtout les membres (agénésie des bras et/ou des jambes appelée phocomélie), mais également absence d'oreilles et surdité, paralysie faciale, lésions oculaires, anomalies cardiaques, digestives, urinaires et génitales. Faute de communication adéquate et d'enquête épidémiologique (rendues difficiles par l'absence de prescription obligatoire), chaque centre se croira victime de la fameuse loi des séries liées au hasard, d'autant plus que beaucoup de femmes enceintes avaient pris le médicament durant leur grossesse sans que cela n'entraîne de malformations. Aussi, et bien que le premier bébé atteint par la thalidomide soit né le 25 décembre 1956 (malformations des oreilles, le bébé était celui d'un employé de la firme qui avait reçu des échantillons…), il faudra attendre le 16 septembre 1961 pour que l'on recense 27 cas de phocomélie et qu'une des nouvelles drogues sur le marché soit suggérée responsable. Dès lors, le Dr Lenz, chef du service de pédiatrie à l'hôpital universitaire d'Hambourg interrogera les mères des enfants malformés et collectera, notamment par voie de petites annonces dans la presse, 14 cas supplémentaires ayant pour dénominateur commun la prise de thalidomide.[4] Au même moment, un obstétricien australien, le Dr Mc Bride qui avait prescrit la thalidomide à ses patientes, arrive aux mêmes conclusions.[5] Grâce à leurs publications dans le Lancet et à la divulgation au grand public des conclusions du Dr Lenz par un important newspapers, Chemie Grünenthal et Distillers Co accepteront finalement, fin 1961, après des semaines de dénis obstinés, de retirer la thalidomide des marchés allemands et anglais. En raison de la passivité des pouvoirs publics, la thalidomide continuera cependant

[4] Lenz W. *Lancet* **1962**, *1*, 45

[5] McBride W. G. *Lancet* **1961**, *2*, 1358

d'être vendue durant plusieurs mois encore en Belgique, au Brésil, au Canada, en Italie, sans compter les boîtes encore en possession des particuliers. Au Japon, elle ne sera retirée du marché qu'en septembre 1962.

On considère que 24 000 embryons pourraient avoir été endommagés, une partie de ceux-ci étant morts avant la naissance. Parmi les survivants, 40% décédèrent avant leur premier anniversaire.[4,5] On estime donc que plus de 5 000 enfants atteints, devenus adultes maintenant, sont en vie. Rien qu'en Allemagne, 2 866 victimes furent reconnues.

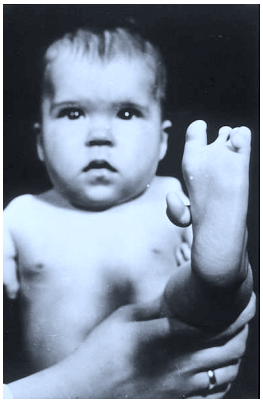


Figure 1 : Exemple de malformations provoquées par la thalidomide ; orteil surnuméraire sur le pied gauche

Quatre mois après le retrait de la thalidomide, on rapportait que le médicament, à dose *ad hoc* et à une période clé de la gestation entraînait chez le lapin des effets tératogènes. D'autres études montrèrent ensuite que cela se vérifiait chez le singe entre le 23ème et le 31ème jour de la gestation ;[1a,1b] mais il était trop tard. L'expérimentation animale effectuée avant commercialisation de la thalidomide se révélait donc inappropriée, utilisant soit des espèces relativement peu sensibles, comme le rat, soit des dosages excessifs qui provoquaient la mort des fœtus ne permettant donc pas d'observer les séquelles, soit l'administration à un moment inadéquat de la gestation. Chez l'Homme, la drogue est tératogène du 35ème au 50ème jour[1a,1b] après les dernières menstruations, une période précoce où la femme peut ignorer qu'elle est enceinte. Un seul et unique comprimé durant cette période suffit.[2]

Alors que la Food and Drug Administration (FDA) américaine compte aujourd'hui plus de 200 postes médicaux, elle n'employait à l'époque que sept temps-pleins. Frances Kelsey, médecin ne travaillant que depuis quelques mois à la FDA, reçut comme premier dossier celui de la thalidomide introduit en vue d'autorisation de commercialisation sur le territoire

américain en septembre 1960, par la compagnie Richardson-Merrel qui en avait acheté la licence. Ce devait être un dossier facile, une simple formalité, les règles en vigueur depuis 1938 ne concernant que la sûreté des médicaments, pas leur efficacité. Surprise par l'absence totale d'effets secondaires rapportés dans le dossier, et estimant, en accord avec sa petite équipe (1 pharmacien, 1 chimiste) que les données concernant l'absorption, le métabolisme et l'excrétion du médicament étaient insuffisantes,[6] elle tint tête à la société pharmaceutique qui réintroduisit le dossier en janvier 1961 ; elle le repoussa encore durant une année pendant laquelle les effets secondaires tels que la névrite devinrent publics. Grâce à son jugement, les USA furent épargnés, le produit n'y étant jamais commercialisé. Elle reçut du Président J.F. Kennedy la plus prestigieuse décoration civile en août 1962. Fin 1961, l'Allemagne se dota d'un équivalent de FDA, comme de nombreux autres pays. On recense néanmoins une dizaine de cas d'enfants mal formés suite à la thalidomide aux USA, des échantillons (2,5 millions de comprimés) ayant été envoyés à plus d'un millier de praticiens par la firme américaine qui anticipait un accord rapide de la FDA.

Bien qu'il n'y eût pas comme en Europe de véritable scandale aux USA, vue le petit nombre de victimes, le pays prit lentement conscience du péril auquel il avait échappé grâce aux campagnes d'avertissement données par le Dr Helen Taussig, célèbre cardiologue du John Hopkins Hospital, et surtout grâce à un article de presse paru dans le Washington Post en juillet 1962. Ces évènements propulsèrent le projet de loi Kefauver, du nom d'un sénateur du Tennessee qui travaillait sans relâche mais sans succès depuis des années à améliorer l'accès aux médicaments. Entérinée en octobre 1962, la loi imposait dorénavant pour qu'un médicament soit approuvé, non seulement qu'il fasse preuve de sa sûreté mais aussi de son efficacité, et que les patients participant à des études cliniques donnent leur consentement. Les autres pays emboîtèrent le pas, durcissant les investigations nécessaires à l'enregistrement des médicaments.

Le plus grand procès de l'histoire du médicament s'éternisa en Allemagne de mai 1968 à janvier 1970, après sept ans d'instructions préalables. Il fut suspendu sans condamnation, les avocats de Chemie Grünenthal réfutant toutes les accusations et évinçant les témoins principaux, comme le Dr Lenz soupçonné de sympathie pour les victimes. Un des arguments de la défense était que grâce à la thalidomide, des fœtus atteints de malformations spontanées normalement fatales avaient pu survivre. En marge du tribunal, les avocats de Chemie

[6] Kelsey F. *Teratology* **1988**, *38*, 221

Grünenthal finirent par convaincre les plaignants que si le procès perdurait plus longtemps et débouchait sur des condamnations, Chemie Grünenthal ne serait financièrement plus en mesure de dédommager les plaignants. La firme évita donc le jugement en contrepartie d'une forte somme (100 millions de marks) versée à une fondation en faveur des victimes, qui continue d'ailleurs à percevoir des indemnités. En Angleterre, une véritable conspiration du silence entre les instances juridiques, le gouvernement et la très puissante Distillers Company empêcha les familles des victimes d'obtenir toute compensation sérieuse jusqu'au 24 septembre 1972, date à laquelle le Sunday Times rompit l'interdit fait à la presse de publier tout article sur la thalidomide sous peine d'emprisonnement. Suite à cette publication « Our Thalidomide Children : a National Shame », quelques actionnaires de la firme, outrés par l'abandon dans lequel se trouvaient les victimes se coalisèrent pour faire pression sur Distillers ; il fallut cependant attendre une campagne d'affichettes placardées de nuit dans Londres incitant la population à boycotter les alcools vendus par Distillers, pour que celle-ci, affolée par la chute de son chiffre d'affaires, contribue finalement à un important fond indépendant de solidarité. Guinness, actuel propriétaire de la compagnie, continue d'alimenter ce fond. Les victimes des autres pays furent dédommagées de la même façon, à l'exception de l'Italie, sans qu'aucune condamnation ne soit prononcée.

En 1964, un patient grabataire, atteint d'une forme de lèpre particulièrement douloureuse, l'érythème nodulaire, est référé au Dr Jacob Sheskin du Jerusalem Hospital for Hansen's Disease.[7] Ses souffrances sont telles qu'il n'a plus dormi depuis des semaines. A tout hasard, Sheskin lui administre deux comprimés de thalidomide et constate que le patient s'endort pendant vingt heures et qu'il est capable ensuite de sortir du lit. L'administration de la thalidomide a permis d'observer une réduction de la fièvre et des sueurs nocturnes, ainsi que l'amélioration des lésions de la peau. Six autres patients similaires observèrent des résultats identiques ; une étude en double aveugle au Vénézuela, suivie d'une étude à grande échelle par le WHO (organisation mondiale de la santé) confirmèrent un taux élevé de succès. Le WHO stipula que seules les femmes ménopausées pouvaient être exposées à la thalidomide.[8]

Toutefois, il fallut attendre 1998 pour que la thalidomide reçu l'approbation de la FDA[9] pour le traitement de l'*erythema nodosum leprosum* (ENL). En mai 2006, la thalidomide a été

[7] Sheskin J. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1965**, *6*, 303

[8] Jakeman P., Smith W.C.S. *Lancet* **1994**, *343*, 432

[9] Diggle G.E. *Int. J. Clin. Pract.* **2001**, *55*, 627

approuvée pour le traitement du myélome multiple et a été signalée efficace dans un large spectre de maladies malignes et bénignes. L'accès à ce médicament aux USA est limité, et nécessite la participation au STEPS, programme visant à prévenir les événements indésirables associés à la tératogénicité.[10]

La thalidomide et ses analogues sont des drogues immunomodulatrices (IMiDs) qui présentent une multitude d'effets biologiques sur les cytokines et la réponse à médiation cellulaire. Ces effets sont largement responsables de l'efficacité clinique observée dans des conditions telles que le lupus érythémateux, les ulcères aphteux qui se produisent dans le virus de l'immunodéficience humaine et la maladie de Behçet, la maladie du greffon contre l'hôte, et le cancer.[11] La thalidomide est la plus étudiée des IMiDs, mais les nouveaux analogues structuraux, le CC-5013 (lenalidomide, Revlimid^{TM}, Celgene Corp) et le CC-4047 (Actimid^{TM}), promettent une activité encore plus grande pour le développement clinique. Ces deux analogues de la thalidomide ont été développés dans le milieu des années 1990 avec un profil de toxicité relativement favorable.

I.2. Propriétés pharmacocinétiques

La thalidomide (*N*-phthalimidoglutaramide) (figure 2) est obtenu à partir de l'acide glutamique en forme lévogyre ou dextrogyre dont les propriétés principales sont immunomodulatrices et anti-inflammatoires, notamment par l'action sur la production des cytokines et le fonctionnement cellulaire. Les études *in vitro* et *in vivo* ont précisé dans un premier temps les effets spécifiques de chacun des énantiomères. L'effet sédatif semble être du au *R*-énantiomère, alors que les effets tératogènes seraient plutôt associés au *S*-énantiomère. Lorsqu'un énantiomère spécifique de la thalidomide est administré par voie orale ou intraveineuse il subit rapidement une inversion chirale amenant à la formation de

---

[10] (a) Zeldis J.B., Williams B.A., Thomas S.D., Elsayed M.E. *Clin. Ther.* **1999**, *21*, 319

(b) Lary J.M., Daniel K.L., Erickson J.D., Roberts H.E., Moore C.A. *Drug Saf.* **1999**, *21*, 161

(c) Annas G.J., Elias S. *Am. J. Public. Health* **1999**, *89*, 98

[11] (a) Hamaryudan V., Mat C., Saip S., Ozyazgan Y., Siva A., Yurdakaul S. *Annals of Int. Med.* **1998**, *128*, 443

(b) Jacobson J.M., Greenspan J.S., Spritzler J., Ketter N., Fahey J.L., Jackson J.B. *The new Engl. J. of Med.* **1997**, *336*, 1487

(c) Kumar S., Witzig T.E., Rajkumar V. *J. Clin. Onc.* **2004**, *22*, 2477

(d) Parker P.M., Chao N., Nademanee A., O'Donnell M.R., Schmidt G.M., Snyder D.S. *Blood* **1995**, *86*, 3604

(e) Pearson J.M., Vedagiri M. *Leprosy Rev.* **1969**, *40*, 111

l'autre énantiomère, ce qui rend difficile l'étude séparée des propriétés de chacun des énantiomères. Par ailleurs, dans une étude menée sur le lapin New-Zeland, les deux formes ont montré des effets tératogènes.[12]

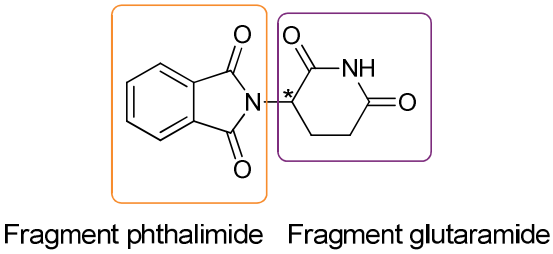


Figure 2 : Structure de la thalidomide (2-(2,6-dioxopipéridin-3-yl)isoindoline-1,3-dione)

La faible solubilité dans l'eau conduit à l'élaboration de la thalidomide exclusivement comme un agent oral.[13] Après ingestion, la thalidomide subit spontanément un clivage hydrolytique non enzymatique donnant plus de 12 métabolites différents. La thalidomide et ses métabolites sont rapidement éliminés dans l'urine, avec une demi-vie d'élimination moyenne d'environ 5 heures. Les propriétés pharmacocinétiques de la thalidomide lors d'insuffisance rénale ou hépatique sont peu connues.

Au cours de la dernière décennie, les IMiDs de deuxième génération ont été développés par modification chimique du squelette de la thalidomide pour augmenter l'activité immunomodulatrice et minimiser les effets limitant la dose neurotoxique. Les deux composés, le lénalidomide et le CC-4047, sont des dérivés 4-amino-glutaramide de la thalidomide dans laquelle un groupe amino a été ajouté en position 4 du cycle phthalimide de la molécule mère[14] (figure 3). Le lénalidomide présente également la perte d'un carbonyle, transformant alors le squelette de la molécule mère en dérivé d'isoindolinone (figure 3). Les deux agents existent également sous forme de mélange racémique des formes actives *R* et *S*. Comme la thalidomide, ils sont tous deux administrés par voie orale en dose quotidienne. L'élimination rénale prédomine, et la prudence est recommandée chez des patients avec une clairance de la créatinine diminuée. La demi-vie du lénalidomide et du CC-4047, après administration par

[12] Eriksson T., Bjorkman S., Roth B., Hoglund P. *J. Pharm. and Pharmacol.* **2000**, *52*, 807

[13] Chen T.L., Vogelsang G.B., Petty B.G., Brundrett R.B., Noe D.A., Santos G.W. *Drug Metab. Disposition* **1989**, *17*, 402

[14] (a) Bartlett J.B., Michael A., Clarke I.A., Dredge K., Nicholson S. *British J. Cancer* **2004**, *90*, 955
(b) Teo S.K., Chen Y., Muller G.W., Chen R.S., Thomas S.D., Stirling D.I. *Chirality* **2003**, *15*, 348

voie orale est estimée à 3 et 7 heures, respectivement.[15] Contrairement à l'administration de la thalidomide dans laquelle la somnolence, la constipation et la neuropathie périphérique sont des toxicités dose-limitantes connues, le lénalidomide et le CC-4047 montrent une diminution de la toxicité neurosédative de manière significative.

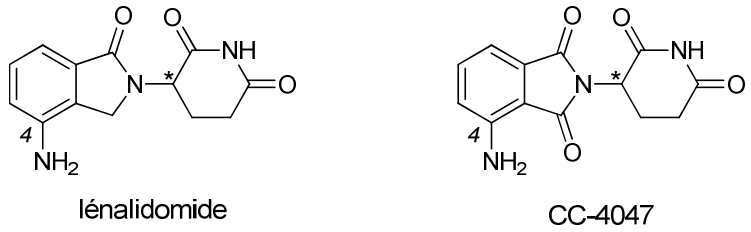


Figure 3 : Modification de la structure de la thalidomide en insérant un groupement amino (NH_2-) en position 4 sur le fragment phthalimide pour générer les IMiDs CC-5013 ou lénalidomide et CC-4047. Le lénalidomide présente également la perte d'un carbonyle

I.3. Propriétés pharmacodynamiques

I.3.1. Immunomodulation

La thalidomide et ses dérivés sont de puissants immunomodulateurs avec des effets biologiques sur la stimulation des cytokines et l'immunité à médiation cellulaire (schéma 1).

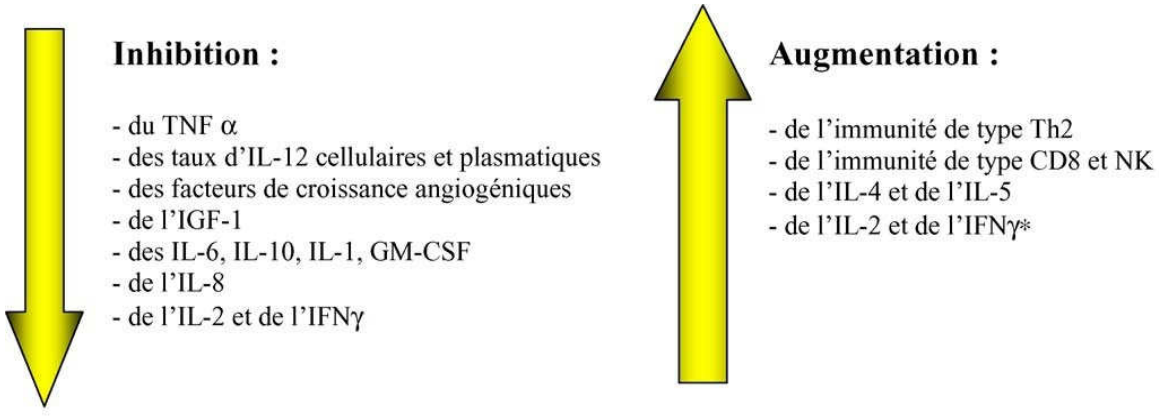


Schéma 1 : Impact de la thalidomide en termes d'inhibition et d'augmentation de différentes cytokines et facteurs de croissance. Abréviation : IL, interleukine ; IGF, insulin-like growth factors ; GM-CSF, Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor; IFN, interferon; CD8, cluster of differentiation 8; NK, natural killer

[15] Schey S.A., Fields P., Bartlett J.B., Clarke I.A., Shan G., Knight R.D. *J. Clin. Onc.* **2004**, *22*, 3269

L'un des médiateurs clés responsable de la réponse anti-inflammatoire observée avec l'utilisation d'IMiD est le Tumor Necrosis Factor (TNF)-α. La thalidomide améliore la dégradation du TNF-α des ARN messagers, supprimant ainsi la libération de cette cytokine pro-inflammatoire des monocytes et des macrophages stimulés par l'endotoxine.[16] L'effet sur le TNF-α est considéré comme largement responsable du bénéfice clinique observé chez les patients ayant des maladies inflammatoires comme l'ENL. Ces patients ont une production de TNF-α élevée qui est supprimée après le traitement avec la thalidomide.[17] En outre, les deux composés, le lénalidomide et le CC-4047 ont une puissance jusqu'à 50 000 fois plus élevée que la thalidomide comme inhibiteurs de la production de cytokines, y compris la suppression de la sécrétion du TNF-α induite par l'endotoxine.[18]

L'activation du facteur de transcription du facteur nucléaire kappa B (NF-κB), un régulateur clé de la production du TNF-α et de l'interleukine(IL)-8, est bloquée après exposition à la thalidomide par inhibition de l'inhibiteur de kappa B kinase (IkB).[19] Cependant, la réponse cellulaire à des agents immunomodulateurs est assez complexe avec pour preuve que la production de TNF-α est en fait renforcée dans le cadre de l'activation des cellules T. Ceci est démontrable *in vitro* avec une régulation positive de la production de TNF-α par les lymphocytes T CD4+ et CD8+ stimulés par des anticorps anti-CD3.[20] En outre, une augmentation de la concentration sérique de TNF-α a été signalée lors de l'exposition à des IMiDs dans les premières phases d'essais impliquant des tumeurs solides et des maladies dermatologiques inflammatoires.[21]

Bien que les effets biologiques de la modulation de TNF-α par les IMiDs puissent jouer un rôle clé pour les bienfaits thérapeutiques dans une variété de conditions inflammatoires, il existe plusieurs autres cytokines qui sont également touchées par cette classe d'agents et qui peuvent jouer un rôle important dans la modulation immunitaire. Une génération d'enzymes et de cytokines pro-inflammatoires, telles que la cyclooxygénase-2 (COX-2), l'interleukine-1 beta (IL-1β), le facteur de croissance transformant (TGF)-β, et l'IL-6 sont supprimées lors de

---

[16] Moreira A.L., Sampaio E.P., Zmuidzinas A., Frindt P., Smith K., Kaplan G. *J. Exp. Med.* **1993**, *177*, 1675

[17] Sampaio E.P., Kaplan G., Miranda A., Nery J.A., Miguel C.P., Viana S.M. *J. Infectious Dis.* **1993**, *168*, 408

[18] Corral L.G., Haslett P.A., Muller G.W., Chen R., Wong L.M., Ocampo C.J. *J. Immunol.* **1999**, *163*, 380

[19] Keifer J.A., Guttridge D.C., Ashburner B.P., Baldwin A.S. *J. Biol. Chem.* **2001**, *275*, 22382

[20] Marriott J.B., Clarke I.A., Dredge K., Muller G., Stirling D., Dalgleish A.G. *Clin. Exp. Immunol.* **2002**, *130*, 75

[21] Wolkenstein P., Latarjet J., Roujeau J.C., Duguet C., Boudeau S., Vailant L. *Lancet* **1998**, *352*, 1586

l'exposition aux IMiDs, et contribuent à l'activation du récepteur des cellules T (TCR) (schéma 1). Analogiquement à la modulation du TNF-α, la sécretion d'IL-12 est supprimée par les IMiDs lorsque les monocytes sont stimulés par des lipopolysaccharides et est renforcée dans le cadre de la stimulation des cellules T.[16,22] L'expansion des cellules T et des cellules NK est favorisée par la sécrétion d'IL-12 et ainsi les IMiDs ont le potentiel pour être un complément utile dans le développement de vaccins contre le cancer et d'autres approches d'immunothérapie. En outre, l'IL-12 stimule la production d'interféron-γ (IFN-γ) et les deux cytokines ont démontré avoir des activités anti-tumorale et anti-angiogénique (schéma 1).[23]

I.3.2. Activation des cellules T

La réponse immunitaire à des antigènes étrangers est un processus très réglementé exigeant la présentation du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)/peptides lié à une cellule présentatrice d'antigène (CPA) au récepteur des cellules T. Des molécules auxiliaires, telles que B7 sur CPA et CD2 à la surface des lymphocytes T, fournissent des signaux secondaires qui sont essentiels à la réactivité des cellules T. Ces interactions conduisent à l'activation subséquente et à la prolifération des cellules T suivie par une cascade de cytokines et de réponses cellulaires. La thalidomide et ses dérivés sont capables d'améliorer la réponse des cellules T CD8+ en l'absence des signaux secondaires de co-stimulation.[24] Les données *in vitro* des lymphocytes T humains suggèrent que la thalidomide améliore la prolifération de l'IL-2 et la production d'IFN-γ *via* le complexe TCR. L'effet de la thalidomide sur l'expansion des cellules T est dose-dépendante et se produit même à de faibles niveaux de stimulation CD3. En outre, la thalidomide affecte l'équilibre entre les T-helper (Th)-1 et (Th)-2 au moins en partie par la modulation de l'IL-4, IL-5 et IFN-γ (schéma 2).[25]

Les dérivés de la thalidomide sont également de puissants costimulateurs des cellules T qui améliorent *in vitro* l'activation des cellules T CD8+. Lors de l'exposition au cytomégalovirus (CMV) et aux protéines du virus de la grippe, le lénalidomide et la thalidomide ont été

---

[22] Corral L.G., Haslett P.A., Muller G.W., Chen R., Wong L.M., Ocampo C.J. *AIDS Res. Human Retrviruses* **1999**, *15*, 1169

[23] (a) Beatty G.L., Paterson Y. *J. Immunol.* **2001**, *166*, 2276

(b) Qin Z., Blankenstein T. *Immunity* **2000**, *12*, 677

[24] Haslett P.A.J., Corral L.G., Albert M., Kaplan G. *J. Exp. Med.* **1998**, *187*, 1885

[25] McHugh S.M., Rifkin I.R., Deighton J., Wilson A.B., Lachmann P.J., Lockwood C.M. *Clin. Exp. Immunol.* **1995**, *99*, 160

démontrés pour augmenter la production de cytokines CD8+ et l'activité cytotoxique.[26] Ces enquêtes précliniques ont suggéré un rôle potentiel de l'utilisation des IMiDs dans le développement de vaccin anti-tumoral et en tant que modulateurs de la réponse immunitaire dans le cadre d'immunité déficiente en CD4+ comme le VIH et la maladie du greffon contre l'hôte.

I.3.3. Angiogénèse

Dans le début des années 1990, la thalidomide a été rapportée pour avoir de puissantes propriétés anti-angiogéniques, confirmant par la même son action tératogène sur la croissance des membres.[27] Le facteur de croissance vasculaire endothéliale (VEGF) et le facteur de croissance des fibroblastes beta (βFGF) sont de puissants mitogènes qui sont produits en excès dans une variété de tumeurs malignes, dont le myélome multiple et les troubles myéloïdes. Les sécrétions paracrine et autocrine du VEGF provoquent la prolifération de lignées cellulaires de myélome multiple et ont également été montrées pour promouvoir l'auto-renouvellement des progéniteurs de leucémie. La sécrétion de VEGF et βFGF à partir de cellules de moelle osseuse et du stroma tumoral est supprimée lors de l'exposition aux IMiDs, ce qui entraîne une réduction de la migration des cellules endothéliales. La thalidomide et le CC-4047 peuvent supprimer l'induction du VEGF dans des co-cultures de multiples lignées cellulaires du myélome multiple et les cellules stromales de moelle osseuse (schéma 2).[28]

I.3.4. Mécanismes anti-tumoraux et apoptotiques

Indépendamment des activités immunomodulatrices, les IMiDs ont directement une activité anti-prolifération dans les hémopathies malignes. Ils induisent une inhibition dose-dépendante de la prolifération des lignées cellulaires du myélome multiple qui sont résistantes à la chimiothérapie standard.[29] Les effets sur l'apoptose sont évidents à de multiples niveaux de signalisation des récepteurs de mort cellulaire, y compris la potentialisation de TNF reliée à l'apoptose induit par le ligand (TRAIL).[17] L'exposition du lénalidomide sur des lignées

[26] Haslett P.A.J., Hanekom W.A., Muller G., Kaplan G. *J. Infectious Dis.* **2003**, *187*, 946

[27] D'Amato R., Loughman M.S., Flynn E., Folkman J. *Proc. Nat. Acad. Science USA* **1994**, *91*, 4082

[28] Gupta D., Treon S.P., Shima Y., Hideshima T., Podar K., Tai Y.T. *Leukemia* **2001**, *15*, 1950

[29] Lentzsch S., LeBlanc R., Podar K., Davies F., Lin B., Hideshima T. *Leukemia* **2003**, *17*, 41

cellulaires de leucémie et autres hémopathies provoque l'arrêt des cycles cellulaires G_0/G_1.[30] En outre, le lénalidomide a préférentiellement une activité anti-prolifération contre une lignée de cellules mutantes 5q avec l'induction de l'expression correspondante des gènes codés au locus 5q. Ces résultats précliniques ont été confirmés par des essais cliniques impliquant des patients atteints de syndromes myélodysplasiques (SMD).

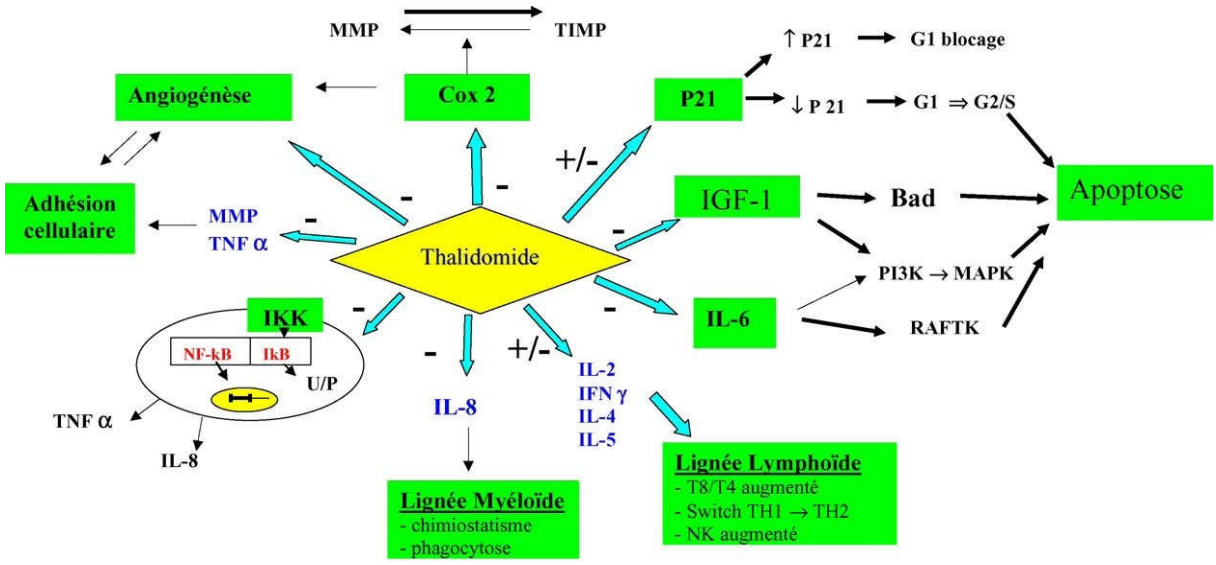


Schéma 2 : Principaux modes d'action de la thalidomide

I.4. Rôle des IMiDs dans le traitement du cancer

La thalidomide et ses analogues ont un potentiel thérapeutique dans un large spectre de maladies compte tenu de leurs multiples effets pharmacologiques. Les propriétés connues immunomodulatrices et anti-angiogéniques des IMiDs ont donné l'impulsion nécessaire pour enquêter sur ces agents dans le traitement des hémopathies malignes et dans les tumeurs solides. De nombreux essais en phase précoce dans les tumeurs solides ont montré une activité dans le cancer de la prostate, le mélanome, les tumeurs neuroendocrines, le carcinome hépatocellulaire, le cancer du poumon et les gliomes.[9c] Les taux de réponse ont été prometteurs dans certains cas, mais d'autres études sont nécessaires pour élucider la véritable ampleur du bénéfice thérapeutique dans les tumeurs solides. En outre, les IMiDs sont des agents attractifs pour le traitement des hémopathies myéloïdes et lymphoïdes au regard des activités reconnues dans le lymphome non hodgkinien, la leucémie myéloïde aiguë et la myélofibrose à métaplasie myéloïde.

[30] Dredge K., Horsfall R., Robinson S.P., Zhang L.H., Lu L., Tang Y. *Microvasc. Res.* **2005**, *69*, 56

I.4.1. Le myélome multiple

Le myélome multiple (MM) est une hémopathie maligne lymphoïde B caractérisée par le développement d'un clone de plasmocytes tumoraux avec envahissement de la moelle hématopoïétique. La guérison est exceptionnelle, la médiane de survie est de trois ans pour les patients recevant une chimiothérapie avec des posologies standard d'alkylants, et de quatre à cinq ans pour les patients recevant un traitement intensif avec autogreffe de cellules souches hématopoïétiques.[31] L'arrivée de la thalidomide en 1999 est un évènement important dans l'histoire thérapeutique du MM puisqu'il permet de remettre en réponse des patients réfractaires à toute chimiothérapie, même si la première publication faisant état d'un myélome multiple traité par la thalidomide date de 1965.[32]

Dans l'étude initiale sur 84 patients, la thalidomide était prescrite entre 200 et 800 mg/jour en fonction de la tolérance. Cette étude a été actualisée en 2001 avec 169 patients et un recul médian de 22 mois. Le taux de réponse avec une réduction du composant monoclonal d'au moins 50 % était de 30 %, dont 14 % de réponses complètes. Tous les répondeurs présentaient une réduction de la plasmocytose médullaire, une diminution de la bêta-2-microglobuline sérique et une augmentation du taux d'hémoglobine. La survie globale à deux ans était de 48 ± 6 %, et semblait meilleure chez les patients recevant une dose supérieure ou égale à 400 mg/jour, évoquant un effet dose-dépendant. De nombreuses études ont maintenant rapporté des résultats sur l'utilisation de la thalidomide en monothérapie dans les MM en rechute ou réfractaires. Les taux de réponse rapportés varient de 30 à 70 %.

La thalidomide peut être active à faible dose. Dans une étude limitée, 3 patients sur 14 recevant la thalidomide à la dose de 50 mg/jour pour une rechute non fulminante ont obtenu une réponse. Une autre étude, utilisant la thalidomide à des doses variant de 50 à 400 mg/jour, rapporte un taux de réponse au moins partielle de 24 %, inférieure à celle observée à la dose journalière de 400 mg/jour de thalidomide.

I.4.2. Les syndromes myélodysplasiques (SMD)

Ils regroupent quatre entités dans l'International Pronostic Scoring System (IPSS), selon le nombre de cytopénies, les anomalies cytogénétiques et le pourcentage de cellules blastiques

[31] Moreau P. *Oncology* **2002**, *4*, 97

[32] Olson K., Hall T., Horton J., Khung C., Ghosly H. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1965**, *6*, 292

dans la moelle osseuse : l'anémie réfractaire (AR), les anémies réfractaires avec sidéroblastes en couronne (ARSI) et avec excès de blastes (AREB) et la leucémie myélomonocytaire chronique (LeMMC).[33]

Les SMD s'associent à une apoptose intramédullaire excessive des cellules souches hématopoïétiques médiée par de multiples cytokines : TNF-α, IL1-β, TGF-β et IL-6.[34] Une angiogénèse excessive est démontrée sur l'expression plasmatique des cytokines angiogéniques, VEGF, bFGF, TNF-α, angiogénine et angiopoietine-1,[35] et serait corrélée à l'acutisation des SMD.[36] Plus récemment, un taux de VEGF elevé, constituant un facteur de mauvais pronostique, a été retrouvé dans le cytoplasme de myéloblastes et de précurseurs myéloïdes immatures chez des patients présentant des LeMMC.[32]

La thalidomide, à des posologies variant de 150 à 400 mg/jour, donne 30 % de réponses, principalement dans les SMD sans excès de blastes, avec un délai médian de réponse de deux mois. La principale amélioration concerne la correction de l'anémie, et peut aller jusqu'à l'indépendance transfusionnelle.[37] Il n'est pas rapporté de réponses complètes hématologiques ou de rémissions cytogénétiques.

La thalidomide, depuis longtemps connu pour ses propriétés tératogènes, a récupéré depuis 1999 ses lettres de noblesse s'imposant comme un traitement important de diverses pathologies, dont l'*erythema nodosum leprosum*, le myélome multiple et les syndromes myélodysplasiques. La meilleure connaissance des mécanismes d'action a permis le développement d'analogues structuraux de la thalidomide, privilégiant un des mécanismes d'action spécifique de la thalidomide, les IMiDs (*Immunomodulatory Drugs*). La première molécule de cette famille est le lénalidomide qui a prouvé sa meilleure efficacité par rapport à la thalidomide et a amélioré son profil de toxicité, permettant d'être envisagé dans un large répertoire clinique.

---

[33] Greenberg P., Cox C., LeBeau M.M., Fenaux P., Morel P., Sanz G. *Blood* **1997**, *89*, 2079

[34] Yoshida Y., Mufti G.J. *Leuk. Res.* **1999**, *23*, 777

[35] (a) Bellamy W.T., Richter L., Sirjani D., Roxas C., Glinsmann-Gibson B., Frutiger Y. *Blood* **2001**, *97*, 1427
(b) Aguayo A., Kantarjian H.M., Estey E.H., Giles F.J., Verstovsek S., Manshouri T. *Cancer* **2002**, *95*, 1923

[36] Pruneri G., Bertolini F., Soligo D., Carboni N., Cortelezzi A., Ferrucci P.F. *Br. J. Cancer.* **1999**, *81*, 1398

[37] Matthews S.J., McCoy C. *Clin. Ther.* **2003**, *25*, 342

II. Les cellules Natural Killer (NK)

II.1. Généralités

Les cellules NK ont été découvertes chez l'Homme et la souris au début des années 1970 sur des critères fonctionnels correspondant à leur aptitude à lyser certaines cellules tumorales en l'absence de stimulation préalable[38] d'où leur dénomination de « tueuses naturelles ». Par la suite leur définition s'est précisée ; elles ont été décrites comme de grands lymphocytes granuleux (*LGL : Large Granular Lymphocyte*) (figure 4) dont les gènes codant pour les récepteurs impliqués dans la reconnaissance des agents pathogènes restent en configuration germinale[39] contrairement aux lymphocytes T et B dont les gènes des récepteurs de reconnaissance antigénique subissent diverses recombinaisons.

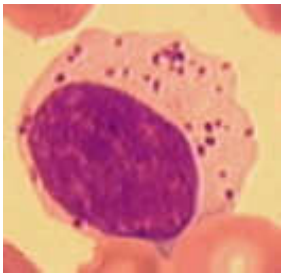


Figure 4 : Cellule NK (Natural Killer) du sang périphérique humain, colorée au May-Grünwald-Giesma

Au début de années 1980, une attention particulière leur a été consacrées[40] avec notamment, la formulation de l'hypothèse du « soi manquant » par Klas Kärre,[41] basée sur le fait que la lyse d'une cellule hématopoïétique cible, par exemple une lignée tumorale, est inversement proportionnelle à l'expression par celle-ci des antigènes du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe I.[42] Les bases moléculaires de ces mécanismes ont été élucidées à la fois chez l'Homme et chez la souris par la découverte de récepteurs aux molécules du CMH de classe I capables d'inhiber à la fois les programmes de cytotoxicité et

[38] Hokland M., Kuppen P.J. *Mol. Immunol.* **2005**, *42*, 381

[39] Lanier L.L., Phillips J.H., Hackett J.Jr., Tutt M., Kumar V. *J. Immunol.* **1986**, *137*, 2735

[40] Timonen T., Saksela E., Ranki A., Hayry P. *Cell. Immunol.* **1979**, *48*, 133

[41] (a) Kärre K. *Scand. J. Immunol.* **2002**, *55*, 221
(b) Kärre K. *Nat. Immunol.* **2008**, *9*, 477

[42] Kärre K., Ljunggren H.G., Piontek G., Kiessling R. *Nature* **1986**, *319*, 675

de production de cytokines des cellules NK. En effet, une cellule cible exprimant des molécules de CMH de classe I capables d'être reconnues par un de ces récepteurs exprimés sur la cellule NK sera protégée de la lyse. En contrepartie, une cellule cible reconnue par les cellules NK, mais dépourvue de molécules du CMH de classe I capable d'être reconnue par ces récepteurs sera lysée. Ces récepteurs permettent ainsi aux cellules NK de distinguer les cellules normales des cellules tumorales ou infectées par des virus pour lesquelles l'absence ou l'altération de l'expression d'un ou plusieurs allèles de classe I sont fréquentes. Néanmoins, certaines cellules comme les globules rouges n'expriment pas les molécules du CMH de classe I et ne sont pourtant pas détruites. Ceci suggère que la cytotoxicité NK nécessite non seulement l'absence de signal inhibiteur mais également la présence d'un signal activateur.

Dans les années 1990, plusieurs études ont permis la mise en évidence de récepteurs exprimés par les cellules NK tels que les récepteurs activateurs ou inhibiteurs.[43] Les propriétés fonctionnelles des cellules NK ont également été mises en évidence telles que la cytotoxicité dite naturelle et la cytotoxicité médiée par les anticorps (ADCC) dans la réponse immunitaire contre certains virus, parasites et bactéries intra-cellulaires.[44] Elles ont aussi une fonction de coopération cellulaire par la sécrétion de cytokines (IFN-γ, TNF-α, TGF-β, IL-1β, IL-10, IL-3, IL-5 et IL-13) et de chimiokines (IL-8, MIP-1α, MIP-1β). Aujourd'hui les cellules NK sont considérées comme étant des acteurs clés, non seulement dans la réponse immunitaire innée anti-infectieuse, mais également dans la régulation de la réponse immunitaire adaptative de par les cytokines qu'elles produisent et *via* l'interaction avec d'autres cellules de l'immunité telles que les cellules dendritiques.

II.2. Ontogénèse des cellules NK

La moelle osseuse est le principal site de développement des cellules NK chez l'adulte.[45] Des études plus récentes suggèrent que les ganglions lymphatiques et le thymus peuvent constituer

---

[43] (a) Bakker A.B., Phillip J.H., Figdor C.G., Lanier L.L. *J. Immunol.* **1998**, *160*, 5239

(b) Lanier L.L. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1998**, *452*, 13

[44] (a) Biron C.A., Nguyen K.B., Pien G.C., Cousens L.P., Salazar-Mather T.P. *Annu. Rev. Immunol.* **1999**, *17*, 189

(b) Scott P., Trinchieri G. *Curr. Opin. Immunol.* **1995**, *7*, 34

(c) Unanue E.R. *Curr. Opin. Immunol.* **1997**, *9*, 35

[45] Trinchieri G. *Adv. Immunol.* **1989**, *47*, 187

une source alternative.[46] Néanmoins la contribution relative des ces organes au pool des cellules NK contenues dans l'organisme n'est pas connue ; il semblerait qu'elle soit faible, compte tenu du phénotype distinct des cellules issues des ces organes. En 2007, Huntington *et al.*, proposent, pour l'Homme, un schéma illustrant les différents sites où les cellules NK seraient susceptibles de se développer : les précurseurs des cellules NK seraient produits au niveau de la moelle osseuse à partir des cellules hématopoïétiques et dans le thymus à partir de précurseurs précoces lymphoïdes (schéma 3).[47] Les précurseurs des cellules NK pourraient migrer dans différents tissus de l'organisme tels que les ganglions lymphatiques, le foie et la rate et se développer en cellules NK immatures se différenciant localement en cellules NK matures. Chez l'Homme adulte, les cellules NK représentent 5 à 20% des cellules lymphoïdes du sang périphérique.

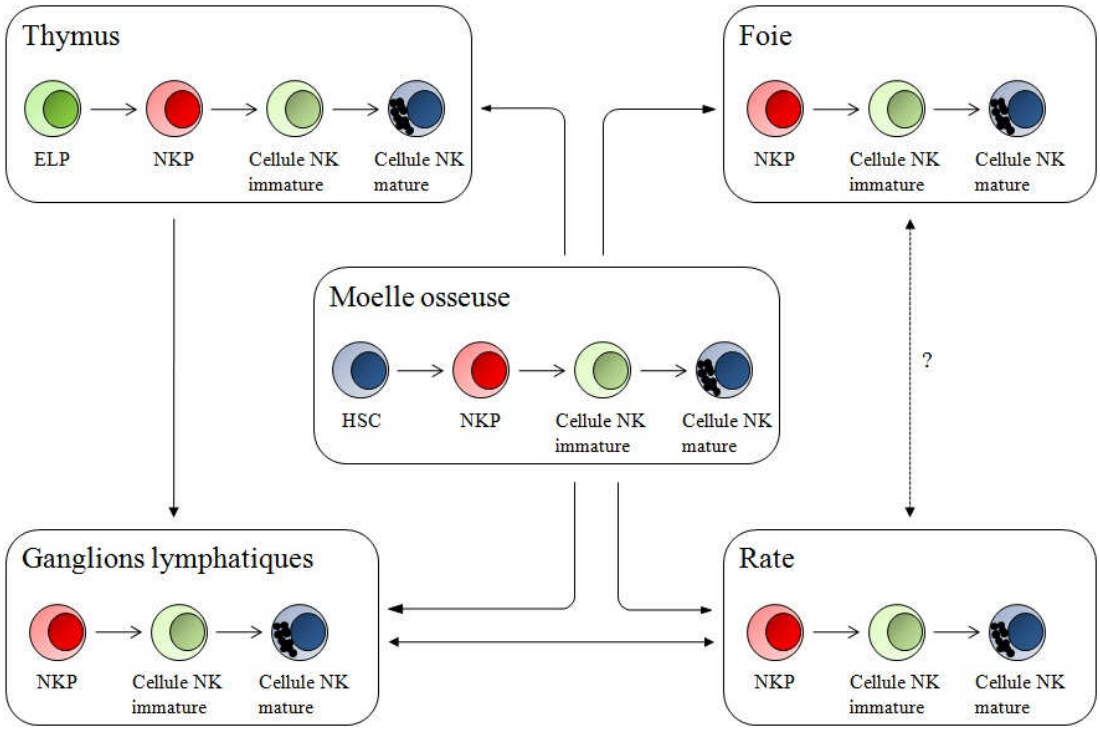


Schéma 3 : Développement des cellules NK. Abréviations : ELP, précurseurs lymphoïdes précoces ; NKP, précurseurs des cellules NK ; HSC, cellules souches hématopoïétiques

[46] (a) Freud A.G., Becknell B., Roychowdhury S., Mao H.C., Ferketich A.K., Nuovo G.J., Hughes T.L., Marburger T.B., Sung J., Baiocchi R.A., Guimond M., Caligiuri M.A. *Immunity* **2005**, *22*, 295

(b) Vosshenrich C.A., Garcia-Ojeda M.E., Samson-Villeger S.I., Pasqualetto V., Enault L., Richard-Le Goff O., Corcuff E., Guy-Grand D., Rocha B., Cumano A., Rogge L., Ezine S., Di Santo J.P. *Nat. Immunol.* **2006**, 7, 1217

[47] Huntington N.D., Vosshenrich C.A., Di Santo J.P. *Nat. Rev. Immunol.* **2007**, *7*, 703

II.3. Activation de la cellule NK

L'état d'activation de la cellule NK résulte de l'intégration d'une balance de signaux provenant de ses récepteurs activateurs et inhibiteurs (figure 5).[48]

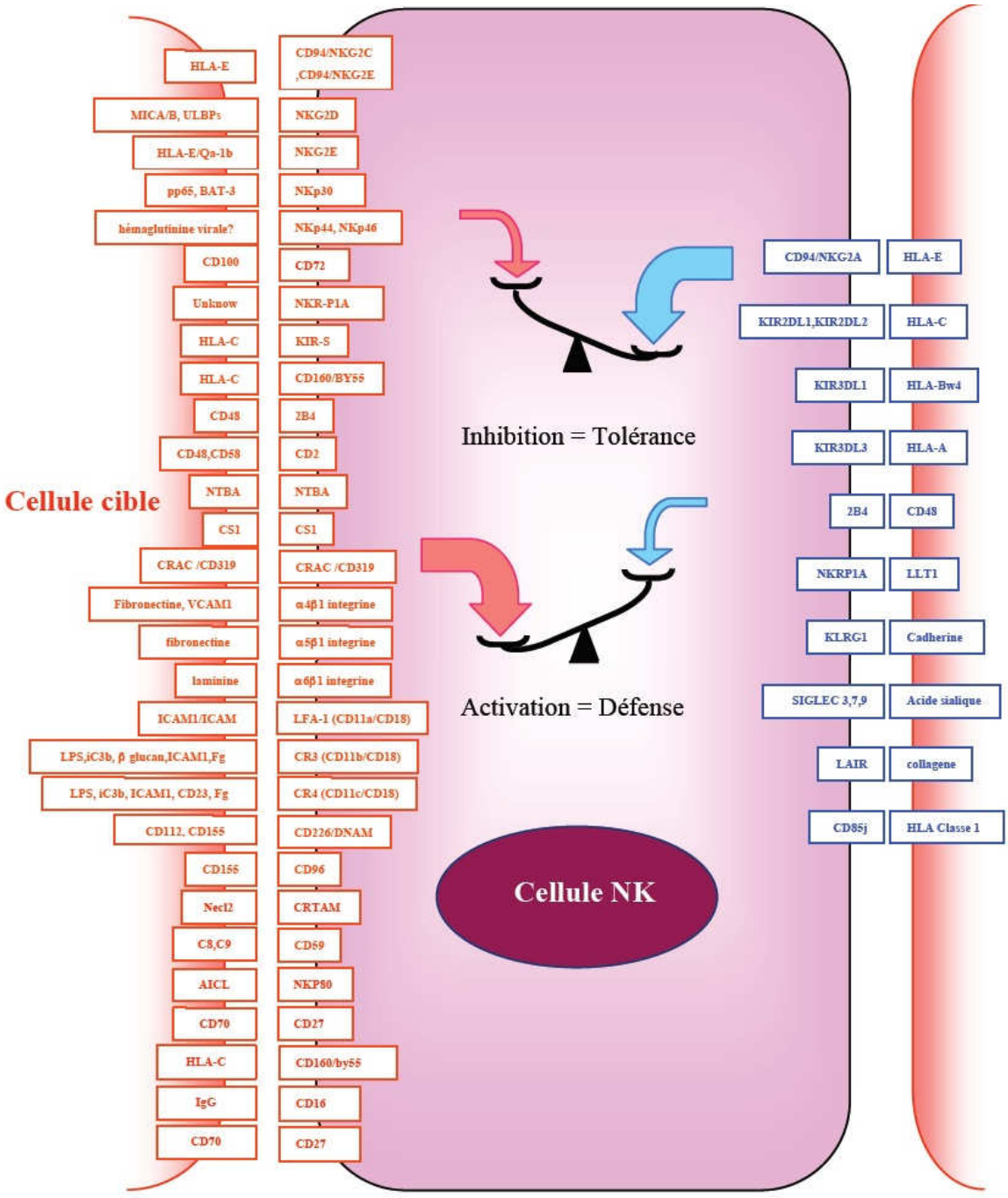


Figure 5 : Principaux récepteurs activateurs (rouge) et inhibiteurs (bleu) de la cellule NK et leur ligands respectifs

[48] Vivier E., Nunes J.A., Vely F. *Science* **2004**, *306*, 1517

Si les lymphocytes T et B possèdent chacun un récepteur activateur majeur (TCR et BCR), les cellules NK possèdent une grande variété de récepteurs activateurs qui, s'ils ne parviennent pas seuls à entraîner une activation de la cellule NK, sont capables de le réaliser par co-engagement. Les cellules NK possèdent également des récepteurs inhibiteurs capables de contrôler cette activation. L'intégration d'un signal activateur plus faible que le signal inhibiteur se traduira par une inhibition de la cellule NK et donc par la tolérance de la cellule cible. A l'inverse, l'intégration d'un signal activateur plus fort que le signal inhibiteur se traduira par une activation de la cellule NK et une réponse fonctionnelle (figure 5).

II.4. Les récepteurs

II.4.1. Les récepteurs inhibiteurs

Chez l'Homme, les récepteurs inhibiteurs exprimés par les cellules NK appartiennent soit à la superfamille des Immunoglobulines (Ig), soit à la superfamille des lectines dimériques de type C. Le premier groupe est composé des KIR (*Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor*) inhibiteurs et des LILR (*Leucocyte Immunoglobulin Like Receptor*) (schéma 4).

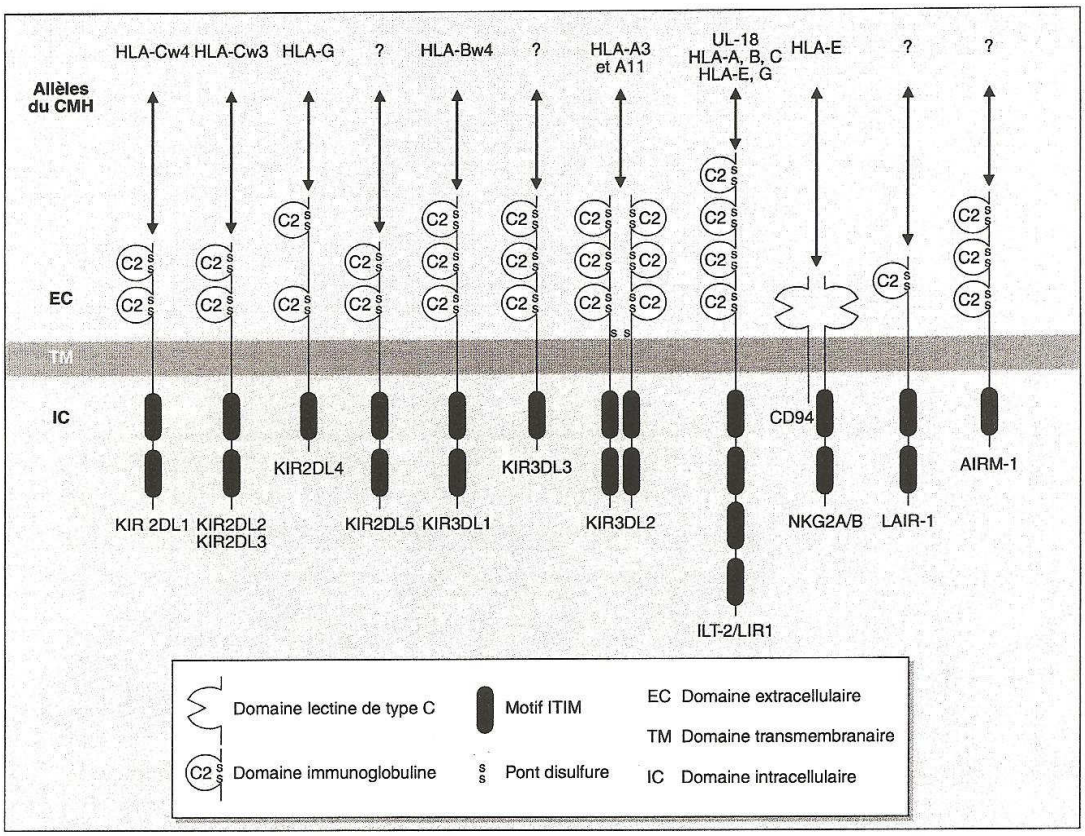


Schéma 4 : Les récepteurs inhibiteurs des cellules NK

Le deuxième groupe est représenté par les hétérodimères CD94/NKG2A qui ont pour ligand une molécule non polymorphique du CMH de classe I non classique : HLA-E (schéma 4).

L'engagement de ces différents récepteurs sur la cellule NK conduit à une inhibition de l'activation des programmes de cytotoxicité cellulaire et de sécrétion de cytokines. Un même mécanisme est partagé par tous ces différents récepteurs. Ils possèdent tous dans la partie cytoplasmique un ou deux motifs ITIM (*Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif*). La phosphorylation des tyrosines du ou des ITIM après engagement du récepteur permet le recrutement des protéines à domaine SH2 ayant une activité tyrosine phosphatase. Celles-ci vont pouvoir, par leur activité phosphatase, inhiber la cascade de signalisation induite par des récepteurs activateurs couplés à une activité tyrosine kinase.

II.4.2. Les récepteurs activateurs

La nomenclature initiale des récepteurs KIR était « *Killer Inhibitory Receptors* ». La découverte progressive de molécules homologues ayant une fonction activatrice a conduit à conserver l'acronyme KIR avec la signification désignée plus haut. Comme les KIR inhibiteurs, les KIR activateurs ont pour ligands les molécules du CMH de classe I (schéma 5). Cela peut paraître paradoxal qu'un même ligand puisse entraîner deux types de signaux opposés. Néanmoins, lorsqu'une cellule NK co-exprime des KIR activateurs et des KIR inhibiteurs, c'est généralement le signal inhibiteur qui l'emporte. De plus, les KIR activateurs reconnaissent les molécules du CMH de classe I avec une plus faible affinité que leurs homologues inhibiteurs. En fait, les KIR reconnaîtraient principalement des variantes du CMH de classe I que l'on retrouve dans les conditions pathologiques.[49]

Plusieurs autres récepteurs activateurs appartenant à la super-famille des immunoglobulines et dont les ligands ne sont pas des produits du CMH, ont été décrits et nommés récepteurs NCR (*Natural Cytotoxicity Receptors*) (schéma 5). Ils sont pour la plupart très spécifiques des cellules NK. Les ligands des récepteurs NCRs ne seraient exprimés que dans des conditions pathologiques : il a été montré que, [50] les récepteurs NCRs reconnaissent des hémagglutinines

[49] Rajalingam R. *Iran J. Immunol.* **2007**, *4*, 61

[50] (a) Hecht M.L., Rosental B., Horlacher T., Hershkovitz O., De Paz J.L., Noti C., Schauer S., Porgador A., Seeberger P.H. *J. Proteome Res.* **2009**, *8*, 712

(b) Lanier L.L. *Annu. Rev. Immunol.* **2005**, *23*, 225

virales ainsi que des ligands associés aux tumeurs qui pourraient correspondre à des héparines sulfates.

La famille des récepteurs CD2 regroupe un ensemble de molécules participant au processus d'adhérence inter-cellulaire mais pouvant également avoir des propriétés sur la fonction cellulaire.

Le récepteur NKG2D est un récepteur activateur qui, à la différence des autres récepteurs NKG2, ne possède pas de séquence ITIM au niveau de sa portion intracellulaire et n'est pas associé au CD94. Il est exprimé par la plupart des cellules NK, mais aussi par certains lymphocytes T. Les ligands de ce récepteur sont connus et, parmi eux, on trouve les protéines de stress MICA et MICB (*MHC class I-related chain A and B*) qui sont faiblement exprimées par des cellules épithéliales et fibroblastiques dans les conditions physiologiques. Le stress, les infections virales, les transformations malignes augmentent fortement leur expression, constituant un signal d'alerte pour les cellules NK et les lymphocytes T cytotoxiques.

Les récepteurs Toll-like (TLR) de l'immunité innée, connus pour être classiquement exprimés à la surface des monocytes, macrophages et cellules dendritiques, ont été décrits pour certains comme étant exprimés par la cellule NK.[51] La stimulation par leurs ligands induit ainsi une augmentation de la cytotoxicité et de la sécrétion de cytokines par ces cellules.[52]

Le récepteur ou CD16 ou FcγRIII (schéma 5) est impliqué dans la réaction de cytotoxicité dépendante des anticorps ADCC (*Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity*) qui correspond à la lyse sélective des cibles recouvertes d'anticorps. En effet, le FcγRIIIA est capable de reconnaître le fragment Fc des Ig fixées à la surface des cellules cibles. Il est également exprimé à la surface des monocytes et des granulocytes, notamment les neutrophiles, sous une forme légèrement différente (FcγRIIIB).[53]

Enfin, les cellules NK expriment plusieurs autres récepteurs et notamment des molécules d'adhésion, des récepteurs aux cytokines et aux chimiokines.

---

[51] (a) Gorski K.S., Waller E.L., Bjornton-Severson J. *Int. Immunol*. **2006**, *18*, 1115
(b) Hart O.M., Athie-Morales V., O'Connor G.M. *J. Immunol*. **2005**, *175*, 1636

[52] Sivori S., Falco M., Della Chiesa M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 10116

[53] Moldovan I., Galon J., Maridonneau-Parini I., Roman Roman S., Mathiot C., Fridman W.H., Sautes-Fridman C. *Immunol. Lett.* **1999**, *68*, 125

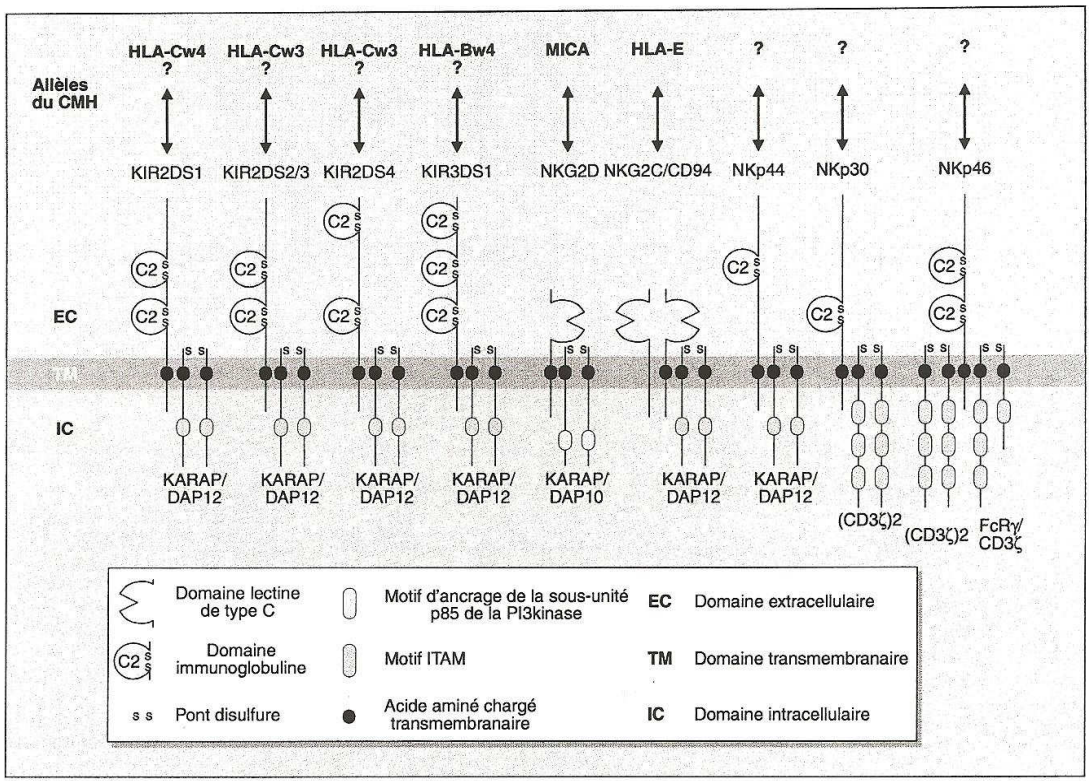


Schéma 5 : Les récepteurs activateurs de la cellule NK.

II.5. « Education » des cellules NK

Les cellules NK de notre organisme possèdent cette double particularité d'être prêtes à tuer sans immunisation préalable, et d'être tolérantes envers notre organisme. Les cellules normales de notre organisme peuvent exprimer les ligands aux récepteurs activateurs de la cellule NK, soulignant le potentiel auto-réactif de ces cellules, normalement contrôlé par l'expression du CMH de classe I engageant les récepteurs inhibiteurs de ces cellules, selon l'hypothèse du « soi manquant ».[39a] Mais ces récepteurs inhibiteurs spécifiques des molécules de classe I de l'individu ne sont pas exprimés par la totalité des cellules NK, l'expression de ces différents récepteurs sur chaque cellule semblant être stochastique. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer que ces cellules n'attaquent pas l'organisme hôte. La principale serait que la cellule NK mature fonctionnellement, exprimerait au moins un KIR spécifique des molécules de classe I de l'hôte.[54] Cette hypothèse est supportée par des travaux réalisés chez la souris établissant le rôle des molécules de classe I dans l'éducation fonctionnelle des cellules NK.[55] Des expériences de l'équipe de Yokoyama ont montré que les

[54] Raulet D.H., Vance R.E. *Nat. Rev. Immunol.* **2006**, *6*, 520

[55] Fernandez N.C., Treiner E., Vance R.E. *Blood* **2005**, *105*, 4416

cellules NK ayant subi l'éducation sont tolérantes vis-à-vis de l'hôte car elles possèdent les récepteurs inhibiteurs pour le CMH de classe I du soi.[56] Les cellules NK non éduquées sont aussi tolérantes car non fonctionnellement compétentes. Récemment, Anfossi *et al.* ont révélé le rôle de la reconnaissance des molécules de classe I de l'hôte par les récepteurs KIR inhibiteurs dans l'éducation fonctionnelle des cellules NK humaines.[57]

II.6. Mécanismes cytolytiques des cellules NK

Les cellules NK utilisent divers mécanismes cytolytiques (figure 6).

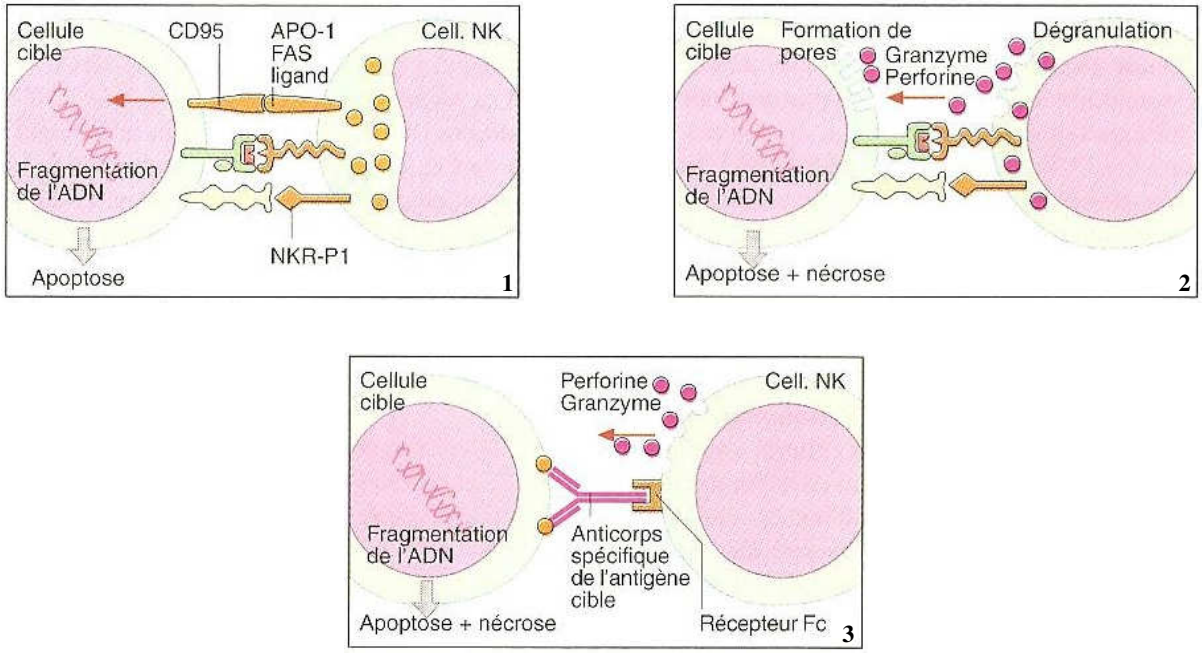


Figure 6 : Mécanismes cytolytiques des cellules NK. (1) Lyse non sécrétoire, (2) Lyse sécrétoire, (3) ADCC

Si les cellules cibles expriment des récepteurs de l'apoptose tels que CD95, une lyse sans sécrétion de facteurs cytolytiques peut avoir lieu. L'interaction de CD95 avec ces ligands sur les cellules NK induit l'apoptose (figure 6.1).

Le mécanisme dominant de cytolyse par les cellules NK implique le relargage de granules lytiques : ces dernières contiennent la perforine, une protéine formant des pores dans les membranes de la cellule cible, ainsi que la granzime, un groupe de diverses protéases. Ces

[56] Kim S., Sunwoo J.B., Yang L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 3053

[57] Anfossi N., André P., Guia S. *Immunity* **2006**, *25*, 331

protéases pénètrent dans le cytoplasme de la cellule par endocytose. En présence de perforine, le granzime B atteint le noyau où il peut activer des caspases, protéines favorisant l'apoptose (figure 6.2).

Les cellules NK peuvent aussi tuer des cellules chargées d'anticorps, action appelée cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC). Les anticorps forment une liaison ente la cellule cible à laquelle ils se lient et la cellule NK qui fixe le fragment Fc des anticorps *via* le récepteur CD16. Les cellules libèrent alors les molécules de perforine et de granzyme incluses dans les granules, provoquant ainsi la lyse de la cellule cible (figure 6.3).

III. Les molécules modulatrices des cellules NK : les Métalloprotéases Matricielles

III.1. Généralités

Nous avons énoncé plus haut que les cellules NK exprimaient à leur surface divers récepteurs activateurs et inhibiteurs. Parmi les récepteurs activateurs, nous avons décrit le CD16, récepteur capable de reconnaître la portion Fc d'un anticorps qui serait exprimé à la surface d'une cellule cible. Ce récepteur est primordial dans la réponse cellulaire de type ADCC. Plusieurs études ont démontré que le récepteur CD16 des cellules NK pouvait être clivé par une famille enzymatique. Le nombre de récepteurs exprimés à la surface des cellules, donc le nombre de sites de reconnaissance des portions Fc des anticorps, diminue et la réponse cellulaire de type ADCC ne se fait plus correctement. Cette famille enzymatique est celle des Métalloprotéases Matricielles (MMPs)

Les MMPs font partie de la grande famille des metzincines. Elles sont impliquées dans tous les processus nécessaires au développement et jouent un rôle majeur dans le remodelage tissulaire *via* la dégradation de la matrice extracellulaire. Ainsi, elles sont associées à différentes pathologies telle l'arthrite rhumatoïde, les maladies cardiovasculaires et le développement tumoral.

Elles constituent une famille d'endopeptidases à doigt de zinc comprenant au moins 24 membres dénommés soit par un nom descriptif, soit par un numéro. En accord avec la spécificité de leur substrat et de leur structure, les membres de la famille des MMPs ont été classés en au moins 5 familles distinctes : les collagénases, les gélatinases, les stromelysines, les matrilysines et le MMPs de type membranaires (MT-MMPs).[58] Malgré une certaine spécificité de substrats, les spectres protéolytiques des différentes MMPs sont assez larges et se recouvrent, permettant ainsi la dégradation de l'ensemble des composants de la matrice extracellulaire.

[58] (a) Chakraborti S., Mandal M., Das S., Mandal A., Chakraborti T. *Mol. Cell. Biochem.* **2003**, *253*, 269
(b) Sternlicht M.D., Werb Z. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* **2001**, *17*, 463

III.2. Structure des MMPs

La structure primaire des MMPs contient au minimum 3 domaines : un pré-domaine, un pro-domaine et un domaine catalytique proprement dit (figure 7A). Le pré-domaine, au niveau N-terminal, correspond à un peptide signal. Il est nécessaire à la sécrétion des MMPs puis est rapidement dégradé. Le pro-domaine maintient l'activité enzymatique sous forme latente et est classiquement constitué d'une séquence peptidique comprenant un résidu cystéine qui interagit avec l'atome de zinc au niveau du domaine catalytique.[59] Les MMPs sont donc sécrétées sous forme latente ou zymogène.

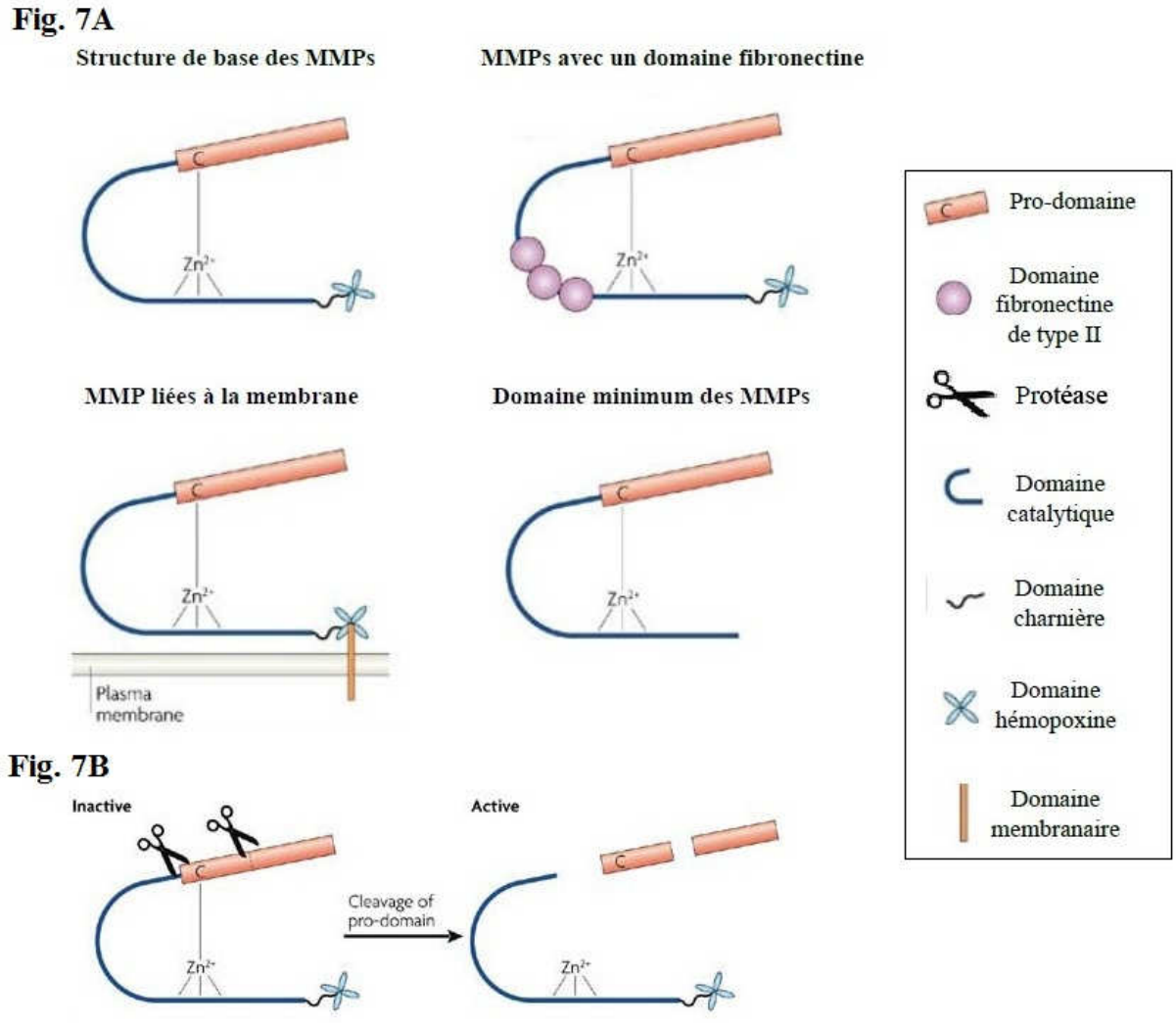


Figure 7 : Les Métalloprotéases Matricielles. Fig. 7A Structure des MMPs, Fig. 7B Activation par clivage du pro-domaine

[59] Page-McCaw A., Ewald A.J., Werb Z. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2007**, *8*, 221

Pour être actif, le pro-domaine doit être éliminé ou modifié par clivage protéolytique, libérant ainsi l'atome de zinc du résidu cystéine et entraînant l'activation du domaine catalytique qui peut alors se lier à son substrat (figure 7B). La plupart des MMPs possèdent en plus un domaine charnière riche en proline et un domaine C-terminal contenant une séquence homologue à de l'hémopoxine ou de la vitronectine. Ce dernier domaine intervient dans la reconnaissance du substrat des MMPs.

Ainsi pour assurer une bonne médiation cellulaire vis-à-vis des cellules tumorales, il était donc intéressant de développer des inhibiteurs des ces métalloprotéases matricielles. Depuis quelques années, il y a eu un regain d'intérêt pour les inhibiteurs de MMPs (MMPIs), jugés efficaces dans des maladies neurodégénératives et cardiovasculaires.

III.3. Régulation de l'expression des MMPs

L'activité des MMPs dans l'espace extracellulaire dépend de l'équilibre entre leur inhibition et leur activation. *In vivo*, l'activité des MMPs est contrôlée par des inhibiteurs endogènes, connus sous le nom de TIMPs (*Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteases*). Ces inhibiteurs forment un complexe équimolaire avec les formes actives des MMPs.

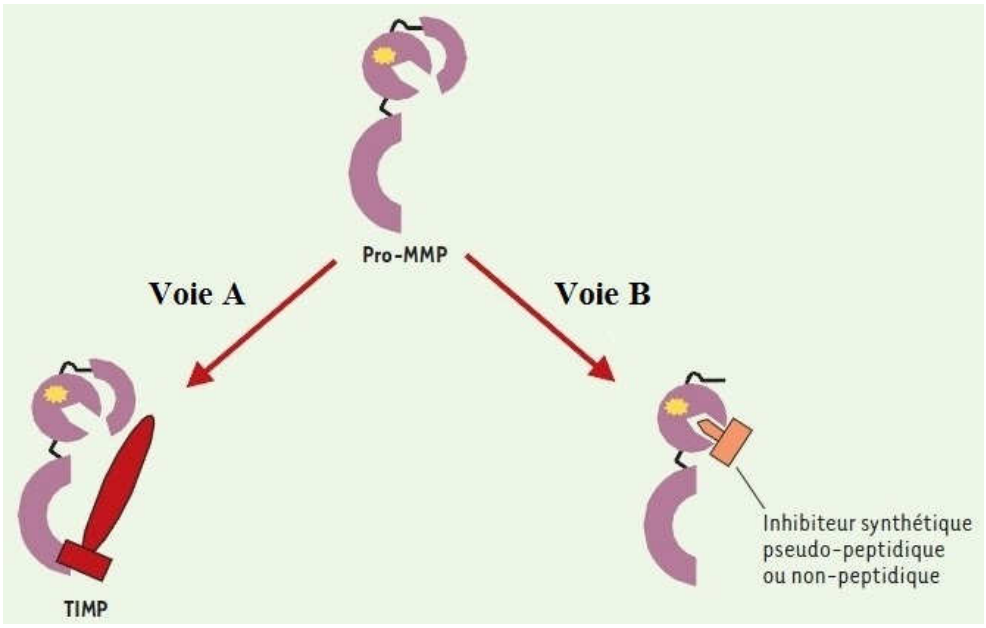


Schéma 6 : Mécanismes d'inhibition de l'activité des MMPs. Voie A Formation d'un complexe équimolaire avec le TIMP, Voie B Inhibition par des inhibiteurs synthétiques pseudo-peptidiques ou non-peptidiques qui entrent en compétition au niveau du site catalytique avec le substrat naturel

Dans ces complexes, le domaine N-terminal des TIMPs se lie au domaine catalytique des MMPs et, de ce fait, bloque l'accès à la poche contenant l'atome de zinc (schéma 6, voie A).[60] La régulation des MMPs par les TIMPs est donc un facteur important contrôlant le catabolisme de la matrice extracellulaire. Des modifications de cette régulation ont été à l'origine de plusieurs états pathologiques comme l'arthrite, le cancer, la réparation tissulaire et la cirrhose.

Le rôle de ces MMPs dans la progression tumorale en a fait une cible thérapeutique importante. En outre, le fait que, dans de nombreux cancers, les MMPs sont produites par les cellules du stroma plutôt que par les cellules tumorales suggère que l'inhibition des MMPs pourrait échapper au développement de résistances principalement dues a l'instabilité génétique des cellules tumorales. Différentes approches ont ainsi été développées pour interférer avec l'expression ou l'activation des MMPs.

Un inhibiteur typique des MMPs possède 2 parties : un groupe de liaison au zinc, capable de chélater l'ion Zn(II) et ainsi bloquer l'accès du substrat au centre catalytique ; et un squelette peptidomimétique qui crée des interactions non-covalentes avec les différents sites d'interactions de l'enzyme (figure 8).[61] Ces inhibiteurs interagissent donc directement avec le site catalytique des MMPs pour bloquer de façon réversible leur activité protéolytique.[62]

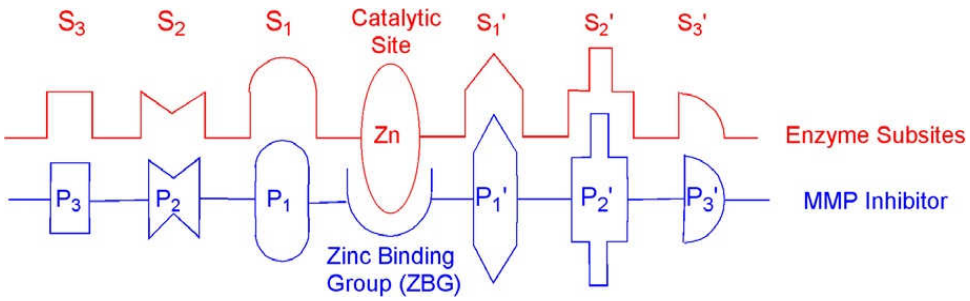


Figure 8 : Représentation schématique des interactions entre les MMPs et leurs inhibiteurs

Des inhibiteurs synthétiques ont été par la suite développés. Le mécanisme d'inhibition par ces inhibiteurs passe par une compétition entre ces inhibiteurs et le substrat naturel au niveau du site catalytique (schéma 6, voie B). Plusieurs molécules ayant une grande affinité pour les MMPs ont été synthétisées et peuvent être classées en trois catégories :

---

[60] Bode W., Fernandez-Catalan C., Grams F. *Ann. NY Acad. Sci.* **1999**, *878*, 73

[61] Yan Y.L., Miller M.T., Cao Y., Cohen S.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 1970

[62] Hidalgo M., Eckhardt S.G. *J. Natl. Cancer. Inst.* **2001**, *93*, 178

- les inhibiteurs pseudo-peptidiques. Ces composés présentent une structure pseudo-peptidique mimant le site de clivage du substrat. Ces inhibiteurs entrent donc en compétition avec le substrat des MMPs et se lient au site catalytique par chélation de l'atome de zinc. La majorité des inhibiteurs étudiés *in vitro* et *in vivo* dans cette catégorie sont des hydroxamates dont les plus connus sont le Batimastat® et le Marimastat® (British Biotech) (figure 9).

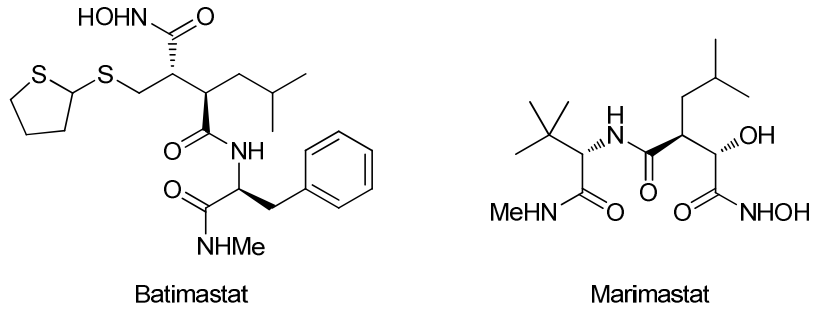


Figure 9 : Structure chimique des inhibiteurs pseudo-peptidiques

- les inhibiteurs non peptidiques. La structure des ces composés est fondée sur l'analyse tridimensionnelle du site catalytique par radiocristallographie. Le mode d'inhibition est similaire à celui des agents pseudo-peptidiques avec toutefois une plus grande spécificité pour le type de MMPs inhibé. Les principales molécules de cette catégorie sont le Prinomastat® (Agouron-Pfizer), le BAY 129566® (Bayer), le BMS-275291® (Bristol Myers Squibb) et le CGS-27023® (Novartis) (figure 10).

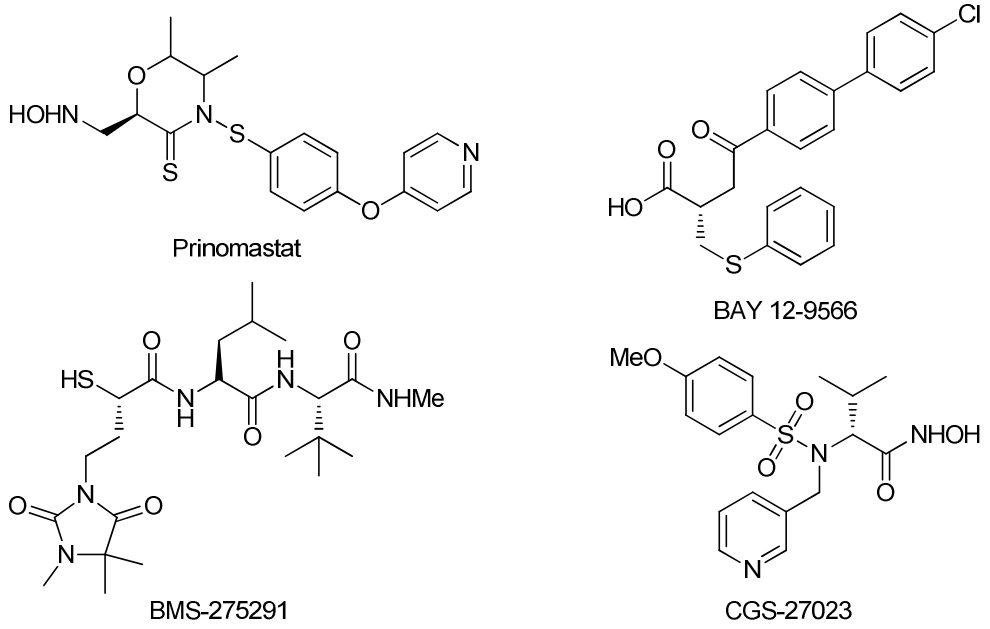


Figure 10 : Structure chimique des inhibiteurs non peptidiques de MMPs

- les dérivés de tétracyclines. Cette classe de médicaments comprend des antibiotiques tels que la tétracycline, la doxycycline et la minocycline, mais aussi de nouveaux composés analogues tels que le Metastat®, une tétracycline chimiquement modifiée pour éliminer l'activité antimicrobienne et la toxicité gastro-intestinale. Ils bloquent l'activité des MMPs par chélation de l'atome de zinc du site catalytique, interfèrent avec l'activation protéolytique des pro-enzymes, réduisant l'expression des MMPs et diminuent leur dégradation (figure 11).

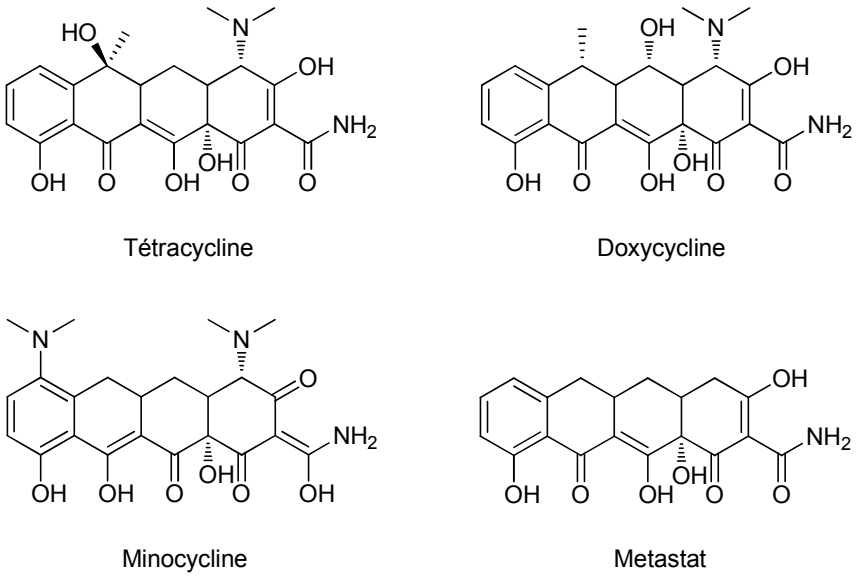


Figure 11 : Structure chimique des inhibiteurs de MMPs dérivés de tétracyclines

III.4. Autres molécules inhibitrices des MMPs

A la suite de la découverte de ces divers inhibiteurs des MMPs, décrits précédemment, plusieurs équipes de recherche se sont intéressés au développement de nouveaux composés présentant des similitudes structurales avec certains.

Galardy *et al.*[63] synthétisèrent en 1994 des dérivés des inhibiteurs pseudo-peptidiques des MMPs. En étudiant la fonctionnalisation des différents sites sur le squelette des inhibiteurs pseudo-peptidiques, ils ont ainsi obtenu un composé leader, le Galardin, introduisant un cycle azoté, un noyau indole (figure 12).

[63] Galardy R.F. *Drugs Future* **1993**, *18*, 1109

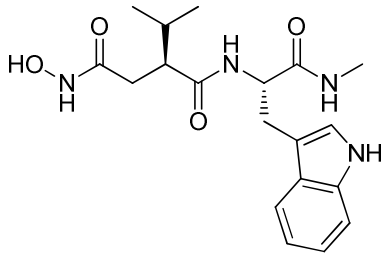


Figure 12 : Structure chimique du composé mis en évidence par Galardy et al.

Puis, Martin *et al.*[64] travaillèrent sur des dérivés du Marimastat® et firent la conclusion que la présence d'une fonction sulfonamide et d'un noyau pipéridine est importante pour la régulation des activités des MMPs. Deux composés ressortent de leur étude (figure 13).

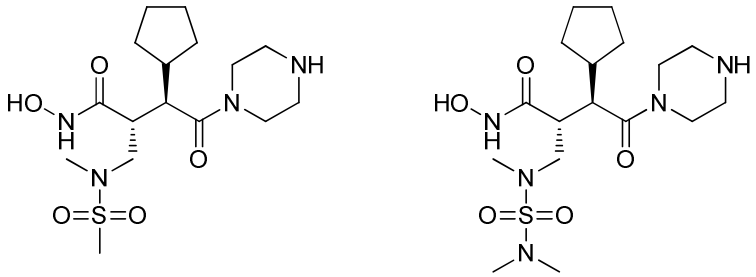


Figure 13 : Structure chimique des molécules mises en évidence par Martin et al.

Plus récemment, Yoshiizumi *et al.*[65] ont travaillé sur le composé élaboré par Novartis (CGS-27023), en jouant sur l'allongement du groupement méthoxy et en introduisant un cycle azoté voire multiazoté. Ils ont ainsi établi une série de composés comprenant un noyau dérivé de la tétrahydroquinoxaline (figure 14).

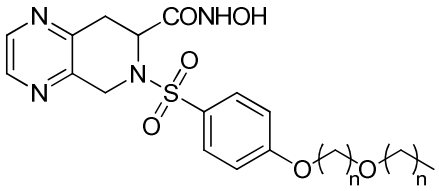


Figure 14 : Structure chimique de la série de composés mis en évidence par Yoshiizumi et al.

[64] Martin F.M., Beckett R.P., Bellamy C.L., Courtney P.F., Davies S.J., Drummond A.H., Dodd R., Pratt L.M., Patel S.R., Ricketts M.L., Todd R.S., Tuffnell A.R., Ward J.W.S, Whittaker M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2887

[65] Yoshiizumi K., Yamamoto M., Miyasaka T., Ito Y., Kamihara H., Sawa M., Kiyoi T., Yamamoto T., Nakajima F., Hirayama R., Kondo H, Ishibushi E., Ohmoto H., Inoue Y., Yoshino K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *11*, 433

Enfin Li *et al.*[66] mirent en évidence en 2004 un nouveau composé inhibiteur des MMPs dérivé d'un noyau pyrrolidine, le LY52 (Figure 15).

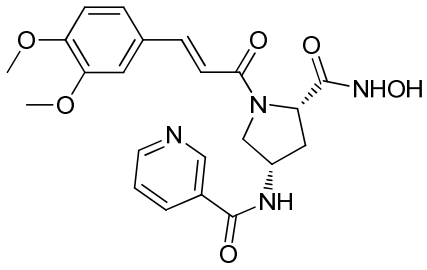


Figure 15 : Structure chimique du LY52

[66] Li Y.L., Xu W.F. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 5171

IV. Les cytokines pro-inflammatoires : Tumor Necrosis Factor-α (TNF-α) et Interleukin-6 (IL-6)

IV.1. Le TNF-α

Le facteur de nécrose tumorale α est une cytokine appartenant à la superfamille des TNF, qui comprend une vingtaine de peptides comme la lymphotoxine, le Fas ligand (FasL), le CD40 ligand, ou encore RANKL (*Receptor Activator of NFκB Ligand*). Les actions médiées par ces molécules et par leurs récepteurs sont très diverses. Elles participent à la régulation des systèmes de défense immunitaire, de la survie cellulaire ou de l'organogénèse.

L'origine du terme TNF vient d'observations anciennes de nécroses hémorragiques de tumeurs chez certains patients lors d'une infection bactérienne.[67] Par ailleurs, chez l'animal infecté par des parasites comme *Trypanosoma brucei*, on observait une anorexie, une cachexie et une hyperlipémie dues à l'inhibition de la lipoprotéine lipase. Cette cachexie était provoquée par un facteur inconnu appelé cachectine. L'identité du TNF et de la cachectine a par la suite été démontrée. [68]

L'appellation TNF regroupe 3 molécules : le TNF-α et les lymphotoxines α et β. A l'origine de lésions tissulaires ou des effets hémodynamiques du choc septique, inducteur d'apoptose, responsable de perturbations métaboliques conduisant à la cachexie, le TNF-α est une cytokine aux actions multiples qui agit non seulement sur les mécanismes de l'immunité et l'inflammation, mais qui possède aussi des effets endocriniens, centraux, gastro-intestinaux et métaboliques.

IV.1.1. Structure du TNF-α

La structure globale du TNF-α est décrite comme un sandwich formé de deux feuillets bêta antiparallèles, eux-mêmes constitués de 8 brins antiparallèles (figure 16). Des ponts disulfures

[67] Carswell E.A., Old L.J., Kassel R.L., Green S., Fiore N., Williamson B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1975**, *72*, 3666

[68] Beutler B., Greenwald D., Hulmes J.D., Chang M., Pan Y.C., Mathison J., Ulevitch R., Cerami A. *Nature* **1985**, *316*, 552

lient les monomères afin de stabiliser la structure, mais ne sont pas nécessaires à l'activité biologique. L'extrémité C-terminale est à l'intérieur de la structure alors que l'extrémité N-terminale est libre à l'extérieur.

Le TNF-α est exprimé sous la forme d'une protéine membranaire de 233 acides aminés (26 kDa), qui peut être clivée par une métalloprotéase membranaire de la famille des adamalysines, la *TNF-α converting enzyme* (TACE), en une molécule de 157 acides aminés (17 kDa). Celle-ci s'oligomérise en trimères pour constituer la forme circulante du TNF-α.[69]

Ces deux formes, soluble (sTNF) et membranaire (mTNF), agissent en se fixant sur leurs récepteurs : le *tumor necrosis factor receptor type 1* (TNFR1) et le TNFR2.

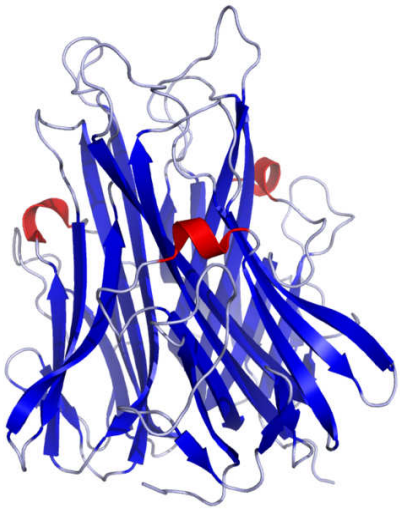


Figure 16 : Structure tridimensionnelle du TNF-α

IV.1.2. Origine et synthèse

Les monocytes et macrophages sont les principales cellules productrices de TNF-α, mais les autres cellules de l'immunité (lymphocytes T et B, cellules NK, mastocytes) ainsi que les kératinocytes, les astrocytes, les cellules microgliales, les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses, ou certaines cellules tumorales en produisent également. La quantité de TNF-α synthétisée dépend de l'état d'activation de la cellule, du type cellulaire et du stimulus impliqué.

[69] (a) Kriegler M., Perez C., DeFay K., Albert I., Lu S.D. *Cell* **1988**, *53*, 45
(b) Tang P., Hung M.C., Klostergaard J. *Biochemistry* **1996**, *35*, 8216

Les facteurs induisant la synthèse du TNF-α sont principalement d'origine infectieuse (le lipopolysaccharide, les bactéries, les infections virales, les globules infectés par *Plasmodium falciparum*) et immunologique (TNF-α lui-même, IL-1, fragment Fc des Immunoglobulines, ligand du CD40). D'autres facteurs peuvent induire la synthèse de TNF-α, comme la vitamine D, les microcristaux ou la radiothérapie.

IV.1.3. Les récepteurs du TNF-α

Le TNF-α agit en liant ses récepteurs (TNFR1 et TNFR2), qui ont des fonctions et des voies de signalisation différentes. Dans les deux cas, la trimérisation du récepteur, préalable ou consécutive à la fixation du ligand, est indispensable à son activité fonctionnelle.

L'activation des TNFR1 et 2 induit le recrutement intracellulaire de différentes protéines qui activent les voies de NFκB et des MAP kinases. Les TNFR1 et 2 peuvent recruter TRAF2 (*TNFR associated factor 2*), qui est l'intermédiaire clé pour l'activation des cascades de signalisation NFκB et MAPK. Plus précisément, le TNFR2 recrute TRAF2 qui lui-même recrute TRAF1, dont le rôle est d'amplifier le phénomène. L'activation de TNFR1 se traduit par le recrutement de TRADD (*TNFR associated death domain*) puis de TRAF2, ainsi que des protéines RIP (*Receptor Interactive Protein*).

Ces voies de signalisation conduisent, par l'intermédiaire de facteurs comme ATF2, AP-1, ELK-1, CREB, Bcl2 à la transcription de nombreux gènes : cytokines, dont le TNF-α lui-même, molécules d'adhésion et facteurs de croissance (IL-1, IL-6, IL-8, sélectines, ICAM (*Integrin Cellular Adhesion Molecule*), VCAM (*Vascular Cell Adhesion Molecule*), MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein 1*), IFN-γ, TGF-β, cyclo-oxygénase 2.

Par l'intermédiaire du TNFR1, le TNF-α induit également la voie des caspases, ce qui a pour conséquence l'apoptose. Une autre façon de provoquer la mort cellulaire consiste en l'induction d'une nécrose cellulaire, indépendante des caspases. Ces voies de transduction sont régulées par des protéines régulatrices telles que cIAP (*cellular Inhibitors of Apoptosis*), FLAME (*FADD-like Antiapoptotic Molecule*), SODD (*Silencer Of Death Domain*) qui participent surtout à la modulation de l'apoptose induite par le TNF-α.[70]

[70] Wajant J., Pfizenmaier K., Scheurich P. *Cell. Death Differ.* **2003**, *10*, 45

IV.1.4. Effets biologiques

Les effets biologiques du TNF-α dépendent de l'expression de ses récepteurs par les différents types cellulaires, de leur sensibilité aux formes soluble et membranaire du TNF-α et de l'expression tissulaire ou cellulaire des protéines impliquées dans la signalisation intracellulaire du TNF-α. Ils sont liés également à la cinétique (quantité, rapidité) de la production de TNF-α en réponse à un stimulus particulier.

IV.1.4.1. Rôle physiologique

Le TNF-α intervient dans la défense de l'organisme, en particulier contre les agressions microbiennes. Cette action se traduit par de la fièvre, la synthèse de protéines de l'inflammation par le foie, le recrutement des cellules dans les sites inflammatoires, l'activation des monocytes/macrophages, la synthèse de molécules responsables de la défense immédiate dans les tissus, l'apoptose des cellules infectées, l'amplification de la réponse anti-infectieuse par la synthèse de cytokines, l'activation des lymphocytes T et B.[71] A titre d'exemple, le TNF-α est un acteur clé de la défense contre les infections à germes intracellulaires, comme la tuberculose et intervient dans la formation de granulômes.

IV.1.4.2. Processus inflammatoire

Les mécanismes induits par la liaison du TNF-α à ses récepteurs cellulaires participent à la défense anti-infectieuse et à sa régulation, mais ils peuvent être exacerbés et contribuer à des processus délétères.

Des concentrations circulantes élevées de TNF-α en réponse à une infection aigüe sont associées à des phénomènes de choc : libération d'hormones cataboliques, détresse respiratoire, nécrose intestinale, nécrose rénale tubulaire aigüe, hémorragie surrénalienne, coagulation intravasculaire disséminée ou encore hyperthermie. Les lésions tissulaires qui en résultent peuvent être irréversibles. L'exemple-type est le choc septique, où l'action du TNF-α contribue à la défaillance multiviscérale. Dans le cadre d'une exposition chronique à des doses modérées, il induit perte de poids, anorexie, catabolisme protéique, déplétion des

[71] Sibilia J., Waschman D. *Encycl. Med. Chir.* **2002**

réserves lipidiques, résistance à l'insuline, favorise la croissance des métastases, l'activation endothéliale.[72] Ce sont les effets qui lui ont valu l'appellation de « cachectine ».

Quand sa production est dérégulée, le TNF-α est impliqué par ces actions dans la pathogénie de nombreuses maladies immunitaires, auto-immunes ou inflammatoires : polyarthrite rhumatoïde, maladie de Crohn, maladie du greffon contre l'hôte (GVH), cachexie associée au cancer ou au SIDA ; mais aussi métaboliques comme l'insulinorésistance, l'insuffisance cardiaque congestive, l'arthérosclérose, les pancréatites ou la stéatose hépatique alcoolique. Dans le cas de nombreuses maladies auto-immunes, l'inhibition du TNF-α par un anticorps monoclonal, comme l'infliximab ou l'adalimumab, fait partie de l'arsenal thérapeutique actuellement disponible. En inhibant le TNF-α, ces drogues inhibent la réponse inflammatoire qui est la cause principale des manifestations cliniques de ces pathologies.

IV.2. L'IL-6

L'interleukin-6 est une cytokine essentielle à l'organisation de la réponse inflammatoire et à la communication bilatérale entre les systèmes immunitaire et neuroendocrinien. Cette cytokine pro-inflammatoire participe, entre autres, à la régulation fine de l'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien (HPA) qui se traduit par l'augmentation des taux de glucocortistéroïdes circulants et constitue un système de rétroaction négatif crucial dans le contrôle de l'inflammation.

L'IL-6 est une cytokine multifonctionnelle identifiée à l'origine comme une protéine capable de stimuler la production des anticorps par les plasmocytes et la synthèse des protéines de la phase aigüe par les hépatocytes. Elle peut déclencher la croissance de certaines cellules, inhiber celle d'autres cellules, induire leur différenciation et les activer. Sans en être directement la cause, l'IL-6 semble être impliquée dans le développement de plusieurs pathologies, comme le myélome multiple, la glomérulonéphrite mésangiale prolifération, l'ostéoporose, l'arthrite rhumatoïde, la sclérose en plaques, la maladie d'Alzheimer et le SIDA. L'IL-6 peut être utilisée dans différents traitements visant, par exemple, à inhiber le développement de certaines tumeurs ou à stimuler le système immunitaire à la suite d'une immunosuppression causée par une chimiothérapie.

[72] Papadakis K.A., Targan S.R. *Gastroenterology* **2000**, *119*, 1148

IV.2.1. Structure et classification de la protéine

L'IL-6 est repliée dans l'espace selon une conformation caractéristique dont la stabilité repose sur la présence de deux ponts disulfures, dont l'un est essentiel à l'activité biologique, formés entre des résidus cystéine.[73] Le corps principal de la protéine est caractérisé par quatre hélices alpha, composées de 21 à 27 acides aminés, interconnectées par des structures en forme de boucle. Les deux premières hélices sont disposées de façon parallèle l'une par rapport à l'autre et antiparallèle par rapport aux deux autres. La chaîne polypeptidique comporte également une cinquième petite hélice de 11 résidus (figure 17). Cette architecture n'est pas spécifique de l'IL-6, mais caractérise aussi plusieurs autres cytokines telles que l'IL-11, le LIF (*Leukemia Inhibitory Factor*), l'OSM (*Oncostatine M*), le CT-1 (*Cardiothrophin 1*) et le CNTF (*Ciliary Neutrophic Factor*). Ces molécules ont été regroupées sur la base de leur structure tridimensionnelle commune à l'intérieur d'une même famille de protéines HBP (*4-Helix Bundle Peptides*). Selon leur taille, les protéines HBP peuvent être subdivisées en deux groupes, celui des chaînes longues, composées de 169 à 277 acides aminés, et celui des chaînes courtes de 109 à 152 acides aminés.[74]

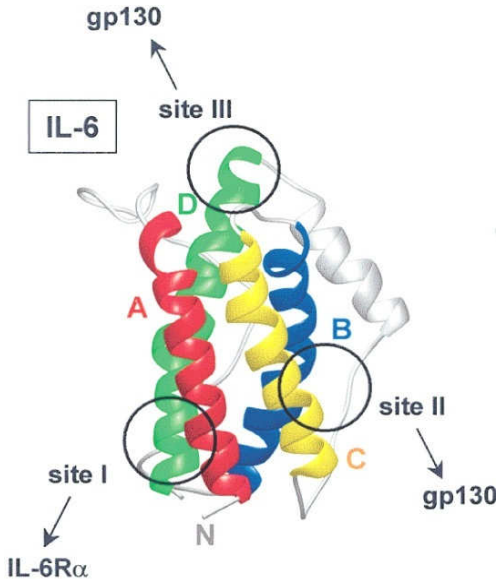


Figure 17 : Représentation tridimensionnelle de l'IL-6. Les quatre hélices α (A, B, C et D) sont marquées par des couleurs différentes lesquelles sont arrangées en configuration « montante-montante-descendante-descendante ». Les sites de liaison au récepteur de l'IL-6 sont représentés par un cercle noir.

[73] Simpson R.J., Moritz R.L., Van R., Van Snick J. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1988**, *157*, 364

[74] Boulay J.L., Paul W.E. *Curr. Biol.* **1993**, *3*, 573

IV.2.2. Le complexe récepteur de l'IL-6

Le récepteur de l'IL-6 est composé de deux sous-unités protéiques différentes, l'une (IL-6R ou IL-6Rα) pour lier la cytokine de manière spécifique[75] et l'autre (gp130 ou IL-6Rβ) pour la transduction du signal vers l'intérieur de la cellule.[76] Il s'agit de deux protéines fortement glycosylées qui comportent un seul domaine transmembranaire et sont dénuées de toute activité catalytique intrinsèque.

Au cours des dernières années, un nombre croissant de récepteurs de cytokines a été identifié et l'analyse de leur structure a révélé l'existence d'une grande famille de récepteurs que l'on peut subdiviser en quatre groupes (schéma 7). L'IL-6R et la gp130 sont classés parmi les récepteurs de type I*A*, caractérisés par des domaines similaires à la fibronectine de type III organisés en tandem. Chaque récepteur contient au moins deux domaines distinctifs, quatre résidus cystéine en position conservée et un motif Trp-Ser-X-Trp-Ser. Ces domaines sont constitués de sept feuillets bêta disposés de façon antiparallèle et forment en quelque sorte une poche qui servirait à la liaison du ligand. L'IL-6R contient en plus un domaine similaire aux Immunoglobulines dans la portion N-terminale du domaine extracellulaire.

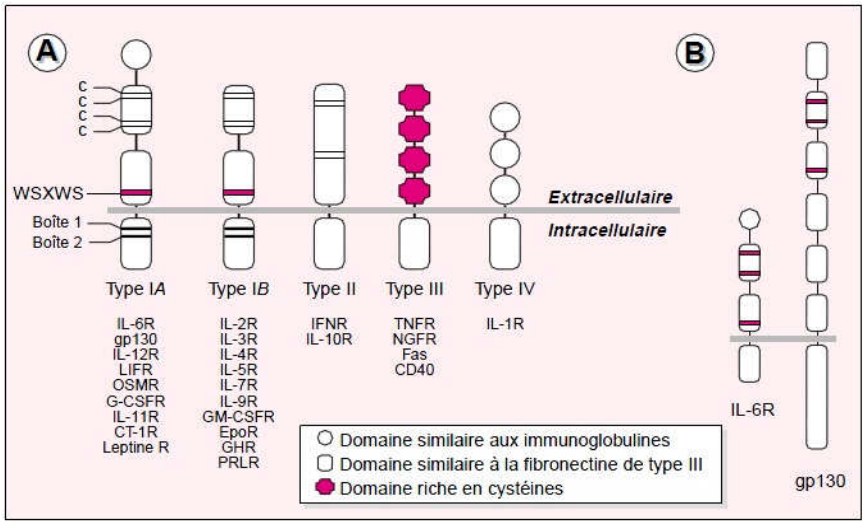


Schéma 7 : La famille des récepteurs de cytokines. (A) Structures générales des quatre sous-types de récepteurs composés d'un nombre variable de domaines caractéristiques disposés en tandem. (B) Structures spécifiques de l'IL-6R et de la gp130. Abréviations : C : cystéine ; WSXWS : motif Trp-Ser-X-Trp-Ser

[75] Yamasaki K., Taga T., Hirata Y., Yawata H., Kawanishi Y., Seed B., Taniguchi T., Hirano T., Kishimoto T. *Science* **1988**, *241*, 825

IV.2.3. Effets biologiques

Il a été démontré que l'IL-6 était impliquée dans le processus de diverses pathologies telles que le diabète,[77] l'athérosclérose,[78] la dépression,[79] le lupus érythémateux systémique,[80] le cancer de la prostate,[81] et la polyarthrite rhumatoïde.[82] Les patients ayant un cancer à un stade avancé ont des niveaux plus élevés d'IL-6 dans le sang. Il y a donc un intérêt à développer des agents anti-IL-6 comme thérapie contre un grand nombre de ces maladies.[83] Le premier de ces agents est le tocilizumab, un anticorps monoclonal de type humanisé, qui a été approuvé pour la polyarthrite rhumatoïde.

---

[76] Taga T., Hibi M., Hirata Y., Yamasaki K., Yasukawa K., Matsuda T., Hirano T., Kishimoto T. *Cell* **1989**, *58*, 573

[77] Kristiansen O.P., Mandrup-Poulsen T. *Diabetes* **2005**, *54*, S114

[78] Dubiński A., Zdrojewicz Z. *Pol. Merkur. Lekarski* **2007**, *22*, 291

[79] Dowlati Y., Herrmann N., Swardfager W., Liu H., Sham L., Reim E.K., Lanctot K.L. *Biological Psychiatry* **2010**, *67*, 446

[80] Tackey E., Lipsky P.E., Illei G.G. *Lupus* **2004**, *13*, 339

[81] Smith P.C., Hobisch A., Lin D.L., Culig Z., Keller E.T. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2001**, *12*, 33

[82] Nishimoto N. *Curr. Opin. Rheumatol.* **2006**, *18*, 277

[83] Smolen J.S., Maini R.N. *Arthritis Res. Ther.* **2006**, *8*, S5

V. Les inhibiteurs du TNF-α analogues de la thalidomide

Depuis la découverte des différentes propriétés pharmacologiques de la thalidomide, beaucoup de recherches se sont centrées sur le développement de nouveaux analogues de la thalidomide, différents des IMiDs, plus puissants en terme d'inhibition de cytokines pro-inflammatoires.

C'est en 1996 que Muller *et al.* [84] firent la découverte de nouveaux analogues de la thalidomide ayant une meilleure inhibition du TNF-α. Partant de l'hypothèse que le fragment phthalimide intact était important dans l'activité de la thalidomide, ils ont hydrolysé la partie glutaramide de la molécule conduisant à des composés *N*-phthaloylglutamine ou *N*-phthaloylisoglutamine. En fonctionnalisant dans un premier temps le groupement phényle introduit en position 3 de l'aminoacide par divers groupements électro-donneur ou électro-attracteur, puis en travaillant sur la fonction amide et enfin sur la substitution du cycle aromatique du fragment phthalimide par des halogènes, des chaînes alkyles ou des groupements nitrés. Ils ont mis en évidence deux composés qui présentent des groupements amino en position 3 et en position 4 avec une activité 500 fois supérieure à celle de la thalidomide (IC_{50} = 0,38 et 0,45 µM) (figure 18).

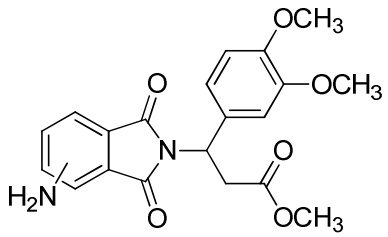


Figure 18 : Structure chimique des inhibiteurs du TNF-α mis en évidence par Muller et al.

En 2001 Gütschow *et al.*[85] firent la découverte de dérivés hautement inhibiteurs de la production du TNF-α. Ces composés sont tétrafluorés sur le fragment phthalimide et présentent soit un substituant de type pyrimidinetrione, soit un groupement difluorophényle. Ils sont capables d'inhiber à 100% la production de TNF-α à des concentrations de 50 et 25 µM, et sont encore actifs, plus faiblement, à une concentration de 0,5 µM (figure 19).

---

[84] Muller G.W., Corral L.G., Shire M.G., Wang H., Moreira A.L., Kaplan G., Stirling D.I. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3238

[85] Gütschow M., Hecker T., Thiele A., Hauschildt S., Eger K. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1059

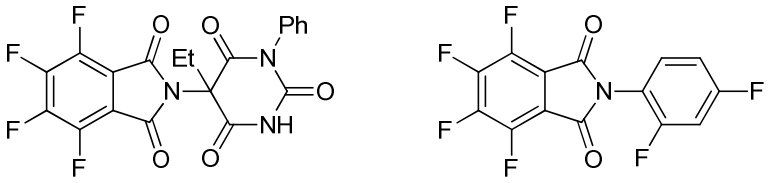


Figure 19 : Structure chimique des inhibiteurs du TNF-α mis en évidence par Gütschow et al.

Nakamura *et al.*[86] s'intéressèrent aux métabolites mono- et di-hydroxylés, et hydrolysés de la thalidomide. Suite à l'introduction de groupements hydroxyles à différentes positions sur la thalidomide, le pourcentage d'inhibition de la production de TNF-α variait fortement. Seul un composé montra une excellente inhibition (91% à une concentration de 30 µM) (figure 20).

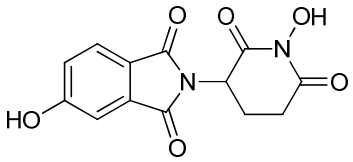


Figure 20 : Structure chimique de l'inhibiteur dihydroxylé du TNF-α mis en évidence par Nakamura et al.

Les métabolites dits « hydrolysés » sont des composés qui présentent une ouverture de cycle soit sur le fragment phthalimide, soit sur le fragment glutaramide, soit sur les deux. Le composé ouvert sur le fragment phthalimide correspond au meilleur inhibiteur du TNF-α. En effet, il affiche une inhibition de 80% à une concentration de 3 µM[87] (figure 21).

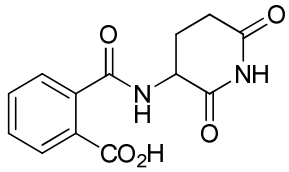


Figure 21 : Structure chimique de l'inhibiteur hydrolysé du TNF-α mis en évidence par Nakamura et al.

Très récemment Stewart *et al.*[88] s'intéressèrent à la fonctionnalisation du cycle phényle du fragment phthalimide par des couplages de type Suzuki et Sonogashira, à partir de composés halogénés en position 4 ou 5. Ils ont mis en évidence un composé, dérivé en position 5 *via* une

[86] Nakamura T., Noguchi T., Kobayashi H., Miyashi H., Hashimoto Y. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 1709

[87] Nakamura T., Noguchi T., Miyachi H., Hashimoto Y. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, *55*, 651

[88] Stewart S.G., Spagnolo D., Polomska M.E., Sin M., Karimi M., Abraham L.J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 5819

réaction de Suzuki, qui inhibe la production de TNF-α à 90% à une concentration de 100 µM (figure 22).

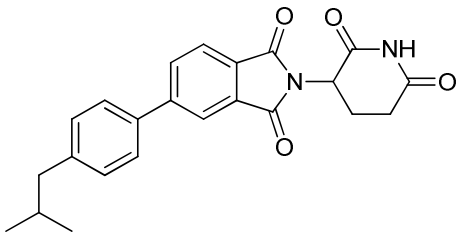


Figure 22 : Structure chimique de l'inhibiteur TNF-α mis en évidence par Stewart et al.

Tous les inhibiteurs exposés jusqu'ici ne sont que des modulations structurales du squelette de la thalidomide. C'est en 2002 que Lima *et al.*[89] développèrent une nouvelle série d'inhibiteurs de TNF-α analogues de la thalidomide. Conservant toujours le fragment phthalimide, ils le fonctionnalisent avec un groupement arylsulfonamide, décrit comme un inhibiteur sélectif du TNF-α par Montana *et al.*[90] (schéma 8).

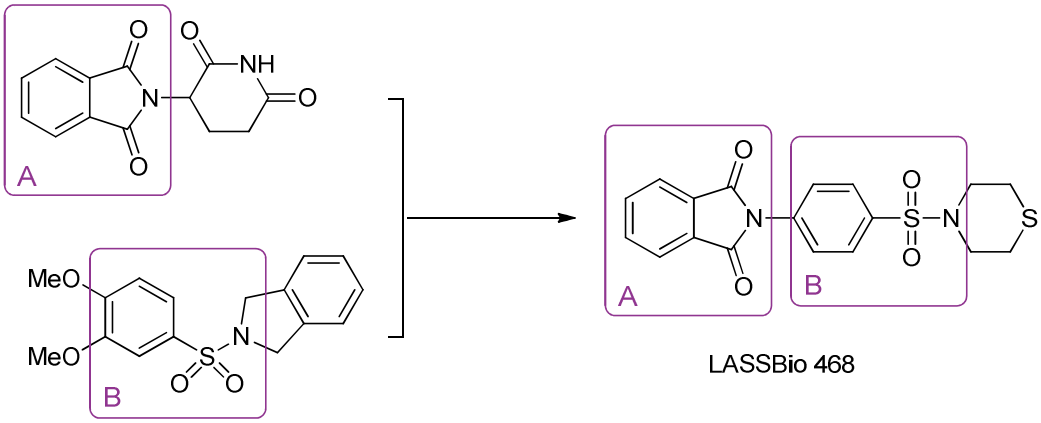


Schéma 8 : Structure chimique de LASSBio 468 synthétisé à partir du 2-((3,4-diméthoxyphényl)sulfonyl)isoindoline, élaboré par Montana et al.

Enfin, ils introduisent à l'extrémité de ces nouvelles molécules des dérivés pipéraziniques, des noyaux morpholine et thiomorpholine. Un composé ressort, le LASSBio 468 substitué par la thiomorpholine, qui présente une inhibition du TNF-α de 72% à une concentration de

[89] Lima L.M., Castro P., Machado A.L., Fraga C.A.M., Lugnier C., Gonçalves de Moraes V.L., Barreiro E.J. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3067

[90] Montana J.G., Buckley G.M., Cooper N., Dyke H.J., Gowers L., Gregory J.P., Hellewell P.G., Kendall H.J., Lowe C., Maxey R., Miotla J., Naylor R.J., Runcie K.A., Tuladhar B., Warneck J.B.H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 2635

300 µM, comparativement à la thalidomide qui inhibe à 50% la production de TNF-α pour une même concentration.

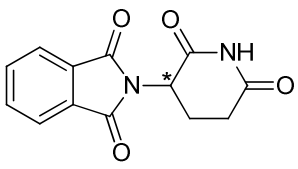
Ainsi, d'après les nombreuses études menées sur la recherche constante de l'élaboration de nouvelles molécules analogues structurales de la thalidomide et de ses IMiDs, en terme d'efficacité immunomodulatrice ou anti-inflammatoire, nous avons pu envisager la synthèse de divers composés potentiellement plus efficaces que les molécules de référence.

OBJECTIFS

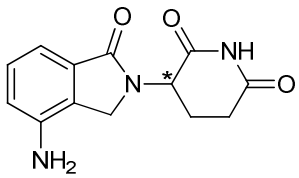
Ce travail de thèse s'inscrit dans la thématique de l'UMR 6239 CNRS/Université François Rabelais de Tours intitulée Génétique, Immunothérapie, Chimie et Cancer (GICC).

Ce projet de recherche s'articule autour de la conception novatrice de structures hétérocycliques de façon à enrichir les aspects méthodologiques mais également à élucider et comprendre des mécanismes fondamentaux de la progression tumorale et des réponses de la cellule cancéreuse aux inhibiteurs des cibles tumorales. Il s'agit d'une thèse de chimie à visée thérapeutique à l'interface chimie-biologie.

Dans le chapitre précédent, nous avons décrit que la thalidomide et ses analogues ont un rôle ubiquitaire comme modulateur soit de la réponse aux anticorps soit dans la production de cytokines pro-inflammatoires. Sur la base de ces composés, nous avons décidé d'utiliser le squelette 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine en lieu et place du phthalimide.

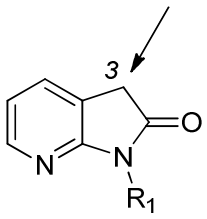


Thalidomide



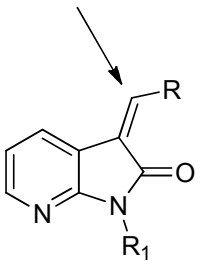
Lénalidomide

⌘ Dans un premier temps, notre modèle d'étude est la 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one, en tant que modulateur potentiel des cellules NK.



R_1 = H ou Me

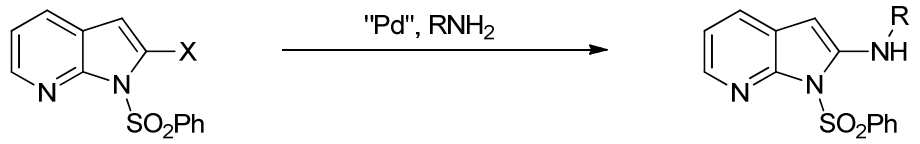
Nous avons étudié le traitement par différents aldéhydes en position 3, suivi des additions sur la double liaison en α,β de la fonction amide par des couplages de type Michael.



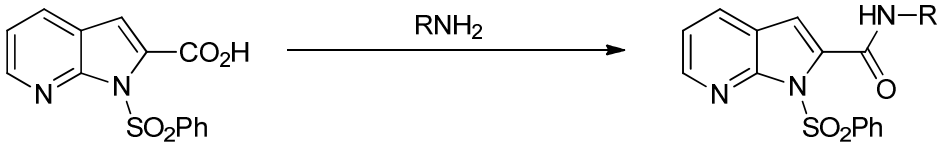
R_1 = H ou Me

⌘ Dans un deuxième temps et afin d'obtenir des inhibiteurs de la production des cytokines pro-inflammatoires, nous nous sommes intéressés à la fonctionnalisation en position 2 du 7-azaindole :

- Soit par des réactions d'amination palladocatalysées, à partir d'un dérivé halogéné du 7-azaindole.

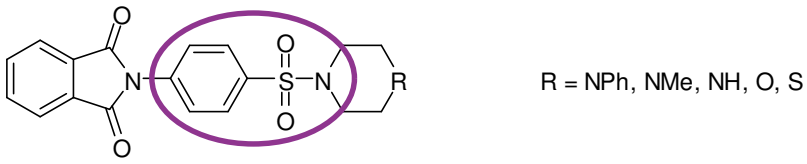


- Soit par des réactions de couplage peptidique, à partir de l'acide 7-azaindol-2-ique.



La nature des groupements R dans les trois familles précitées est en corrélation avec la structure des composés de la littérature.

Dans le but d'élaborer des composés à caractère inhibiteur des cytokines pro-inflammatoires, nous nous sommes appuyés sur les travaux de Lima *et al.* qui mettaient en avant la présence d'un motif phénylsulfonamide, introduit sur le phthalimide.



Famille de composés élaborés par Lima et al.[89]

RESULTATS
ET
DISCUSSION

SYNTHESE DE MOLECULES MODULATRICES DE L'EXPRESSION DES CELLULES NK A PARTIR DU NOYAU 7-AZA-2-OXINDOLE

Comme évoqué dans les objectifs, nos efforts se sont concentrés sur l'élaboration de nouvelles molécules construites autour du noyau 7-aza-2-oxindole. Ce motif semble être judicieux pour l'élaboration de nouveaux composés modulateurs de l'expression des cellules NK.

I. Synthèse de 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-ones

Le noyau 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one ou 7-aza-2-oxindole semble être un synthon de départ intéressant, aux vues de ses diverses applications d'intérêt biologique,[91] pour l'élaboration de nouvelles molécules permettant une certaine modulation de l'expression des cellules NK. De plus, il intègre dans sa structure une fonction amide intracyclique qui peut se révéler intéressante pour les propriétés pharmacologiques des molécules synthétisées.

L'utilisation de ce squelette hétérocyclique paraît également pertinente d'un point de vue méthodologie de synthèse. De part sa structure, il permet d'envisager un grand nombre de réactions chimiques, permettant de le fonctionnaliser en diverses positions.[92]

Le noyau 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **2** est obtenu aisément au départ du composé 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine par addition d'un agent bromant doux et sélectif, le tribromure de

[91] (a) Hodge C.N., Aldrich P.E., Wassermann Z.R., Fernandez C.H., Nemet G.A., Arvanitis A., Cheeseman R.S., Chorvat R.J., Ciganek E., Christos T.E., Gilligan P.J., Krenitsky P., Scholfied E., Strucely P. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 819

(b) Popowycz F., Routier S., Joseph B., Merour J.Y. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 1031

(c) Fang Y.Q., Yuen J., Lautens M. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5152

[92] (a) Wood E.R., Kuyper L., Petrov K.G., Hunter R.N., Harris P.A., Lackey K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 953

(b) Popowycz F., Routier S., Joseph B., Mérour J.Y. **2007**, *63*, 1031

pyridinium, au sein du *tert*-butanol.[93] La réduction du composé dibromé **1** est réalisée dans l'acide acétique au moyen de poudre de zinc préalablement activé, pour conduire au 7-aza-2-oxindole **2** avec un rendement global de 53% (schéma 9).

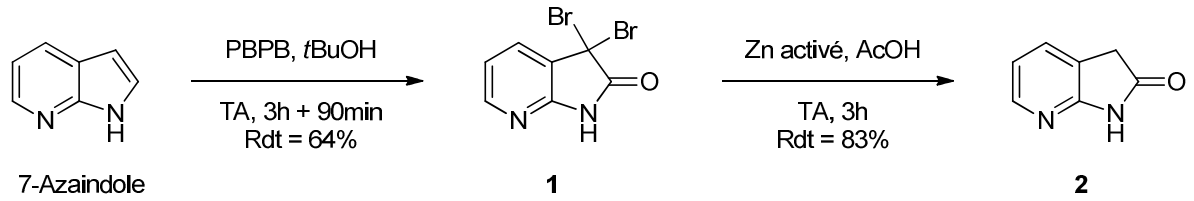


Schéma 9

L'analogue *N*-méthylé **5** a été obtenu par la même voie de synthèse à partir du 7-azaindole préalablement méthylé en conditions classiques par l'action d'hydrure de sodium et d'iodométhane au sein de la *N*,*N*-diméthylformamide. Le rendement global sur 3 étapes est de 69% (schéma 10).

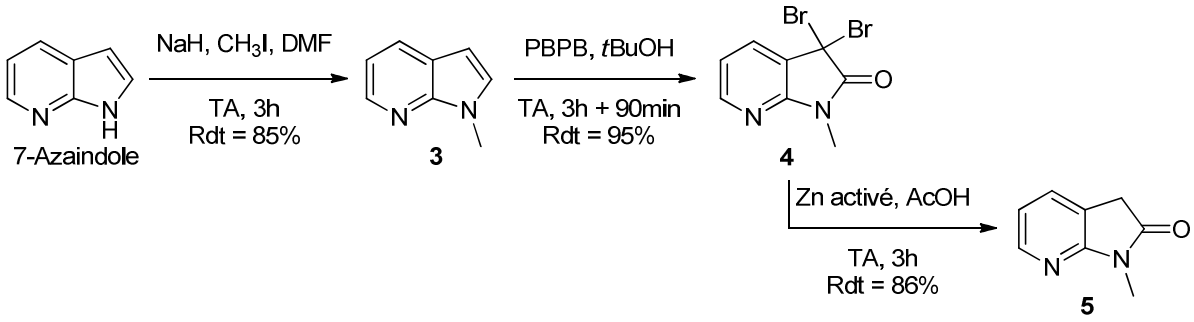


Schéma 10

Les synthons **2** et **5** synthétisés, nous avons ainsi pu mener une étude sur leur fonctionnalisation en position 3.

II. Synthèse de dérivés fonctionnalisés en position 3

II.1. Introduction de la double liaison en position 3

La condensation d'un aldéhyde sur le 7-aza-2-oxindole, d'après les données fournies par la littérature, entraîne la déshydratation instantanée de l'alcool généré et conduit à la formation

[93] Marfat A., Carta M.P. *Tetrahedron. Lett.* **1987**, *28*, 4027

de la double liaison.[94] A partir de ces données, nous avons envisagé d'introduire divers aldéhydes en vue d'étudier leur impact sur la modulation de l'activité des cellules NK.

Cette réaction est réalisée au sein d'un mélange toluène/éthanol à température ambiante et en présence d'une quantité catalytique de pipéridine (schéma 11). Nous avons synthétisé six composés à partir du composé **2** et deux composés à partir de l'analogue méthylé **5**. Les résultats sont résumés dans le tableau 1.

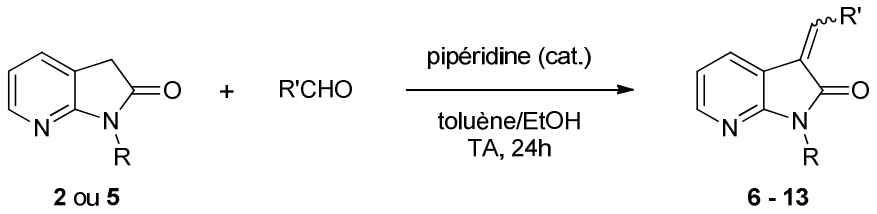


Schéma 11

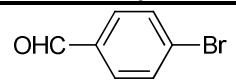
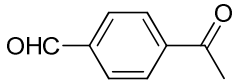
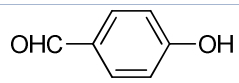
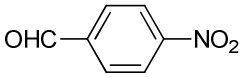
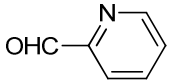
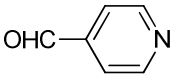
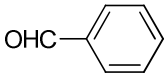
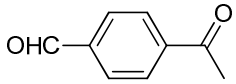
R	Aldéhyde	Composé	Rdt (%)
H	 4-Bromobenzaldéhyde	**6**	66
H	 4-Acétylbenzaldéhyde	**7**	43
H	 4-Hydroxybenzaldéhyde	**8**	32
H	 4-Nitrobenzaldéhyde	**9**	64
H	 Picolinaldéhyde	**10**	46
H	 Isonicotinaldéhyde	**11**	49
Me	 Benzaldéhyde	**12**	86
Me	 4-Acétylbenzaldéhyde	**13**	48

Tableau 1

[94] Viaud M.C., Jamoneau P., Guillaumet G. *Synth. Comm.* **1997**, *27*, 3861

Les composés **6** à **13** sont obtenus avec des rendements oscillants de 32 à 86%, mais dans le cas des réactions ayant conduit à un rendement moyen, le produit de départ est en partie récupéré.

Aux vues des résultats biologiques encourageants de la molécule **7** sur la modulation de l'expression des cellules NK, résultats qui seront présentés dans la partie « Résultats pharmacologiques » de ce manuscrit, nous avons envisagé une première pharmacomodulation consistant en la réduction de la double liaison.

II.2. Réduction de la double liaison

Cette réaction est réalisée dans des conditions classiques de réduction sous hydrogène, en présence de palladium sur charbon 10% dans un mélange dichlorométhane/méthanol à température ambiante pendant 18 heures. Le composé **7** a subi ces conditions opératoires et le produit d'hydrogénation **14** est obtenu avec un rendement moyen de 36% (schéma 12).

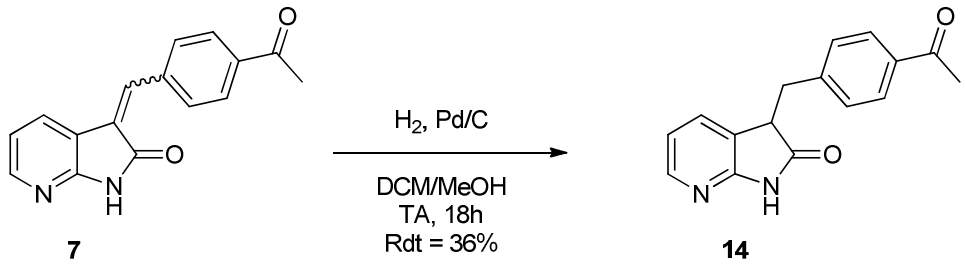


Schéma 12

Les résultats pharmacologiques observés sur le composé **14** n'étant pas concluants, nous n'avons pas réalisé d'hydrogénation sur les autres composés.

A partir des molécules **6** à **13** nous avons envisagé de les fonctionnaliser sur 2 positions (figure 23) :

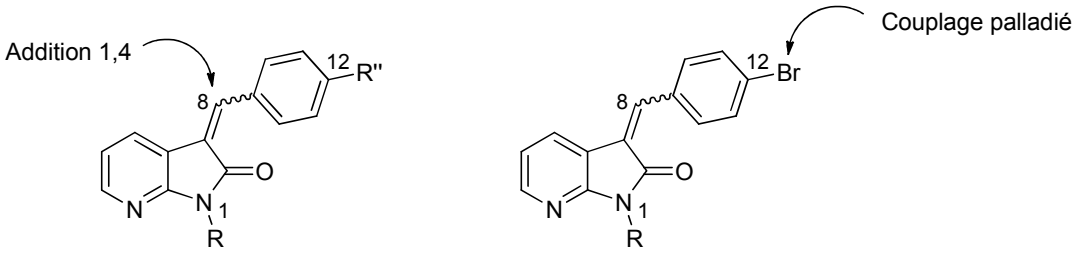


Figure 23

- en position 8 où nous pouvons réaliser des réactions d'addition 1,4 de type Michael,
- en position 12 où nous pouvons réaliser à partir du composé **6** des réactions de couplage palladocatalysé.

III. Addition 1,4 de type Michael

A notre connaissance, aucune publication ne décrit de réactions d'addition de Michael à partir du noyau 7-aza-2-oxindole comme accepteur de Michael. Quelques réactions sont décrites à partir du noyau indolin-2-one, parmi lesquelles, López-Alvaredo *et al.*[95] rapportent une addition de type Michael sur une indolin-2-one *N*-méthylée. La réaction est réalisée par l'action du 1-pyrrolidino-1-cyclohexène au sein d'éther de pétrole (schéma 13).

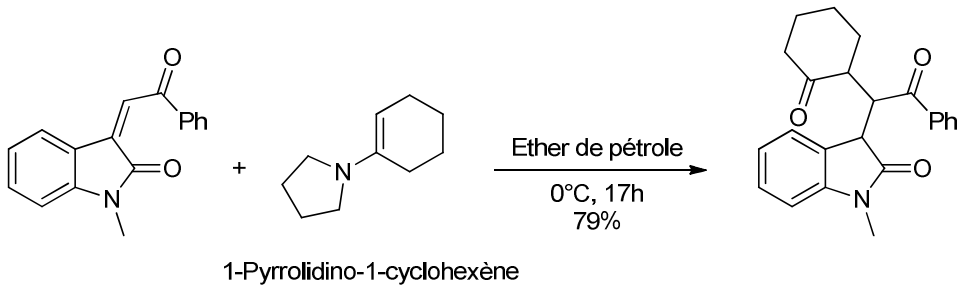


Schéma 13

Nous avons appliqué au composé **13** la réaction décrite précédemment. Toutefois, quelque soit la température (0°C ou température ambiante), nous n'avons observé que la dégradation du milieu réactionnel (schéma 14).

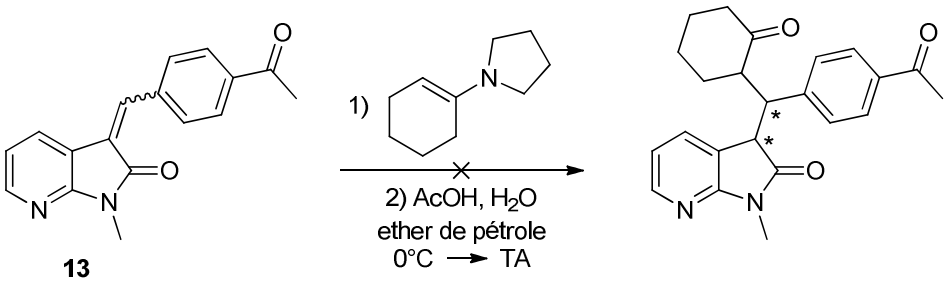


Schéma 14

Puis en 2006, Tinarelli *et al.*[96] décrivent des réactions de type Michael sur des dérivés de δ-lactames α,β-insaturés. Plusieurs conditions opératoires sont testées. Parmi celles-ci, le groupement méthoxy peut être introduit au moyen du méthoxyde de sodium au sein du méthanol à température ambiante pendant 24 heures ; et le groupement azido est introduit par action d'azidotriméthylsilane, en présence de 1,8-diazabicyclo-[5.4.0]-undéc-7-ène, en quantité catalytique, d'acide acétique au sein du toluène et à température ambiante (schéma 15).

[95] López-Alvaredo P., García-Granda S., Álavarez-Rúa C., Avendaño C. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1702

[96] Tinarelli A., Paolucci C. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6630

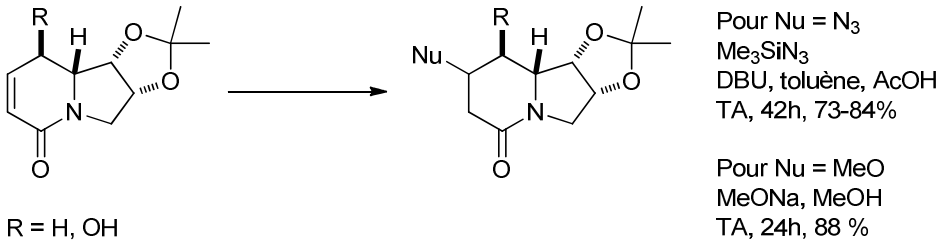


Schéma 15

Ces réactions sont réalisées sur le composé **13**. Mais dans les deux cas, aucune réaction n'est observée (schéma 16).

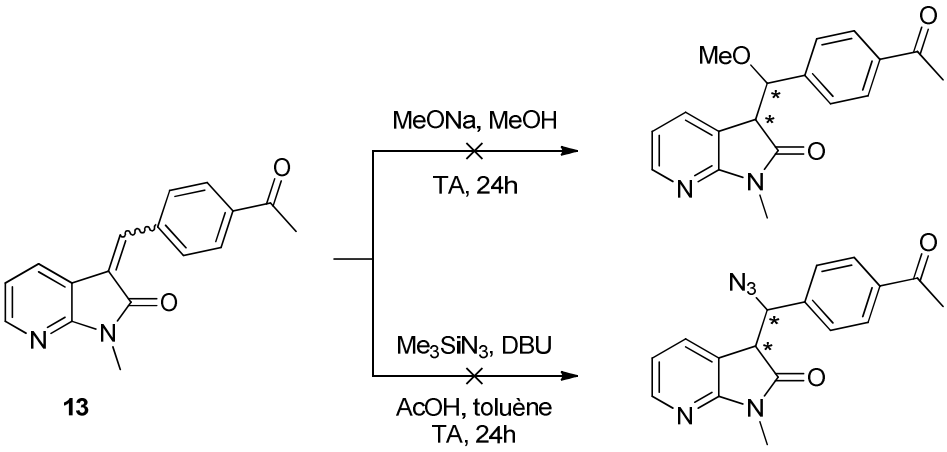


Schéma 16

Plus récemment, Hayashi *et al.*[97] développèrent de nouveaux ligands permettant, avec l'action d'un catalyseur au rhodium, une addition 1,4 de divers acides boroniques sur des dérivés de maléimides. Ces ligands sont basés sur un squelette bicyclique, le bicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène (bod*) (figure 24), sur lequel sont introduits des groupements phényles (schéma 17). Ils utilisent également un autre ligand bicyclique, le (*R*)-BINAP (figure 24), permettant également l'introduction d'acides boroniques sur des dérivés de maléimides, et comparent ainsi l'énantiosélectivité induite par chacun des ligands.

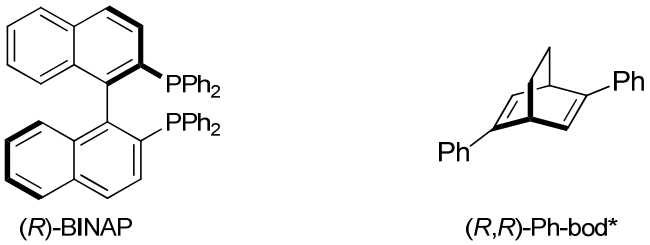


*Figure 24 : Structure des ligands (*R*)-BINAP et (*R,R*)-diphénylbicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène*

[97] (a) Shintani R., Duan W.L., Hayashi T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5628

(b) Duan W.L., Imazaki Y., Shintani R., Hayashi T. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 8529

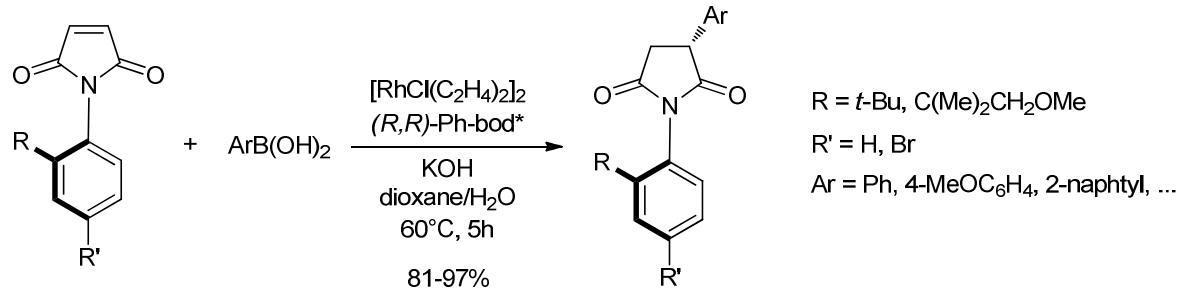


Schéma 17

Le cycle catalytique proposé pour l'addition d'acide phénylboronique sur un maléimide est décrit dans le schéma 18.[97a]

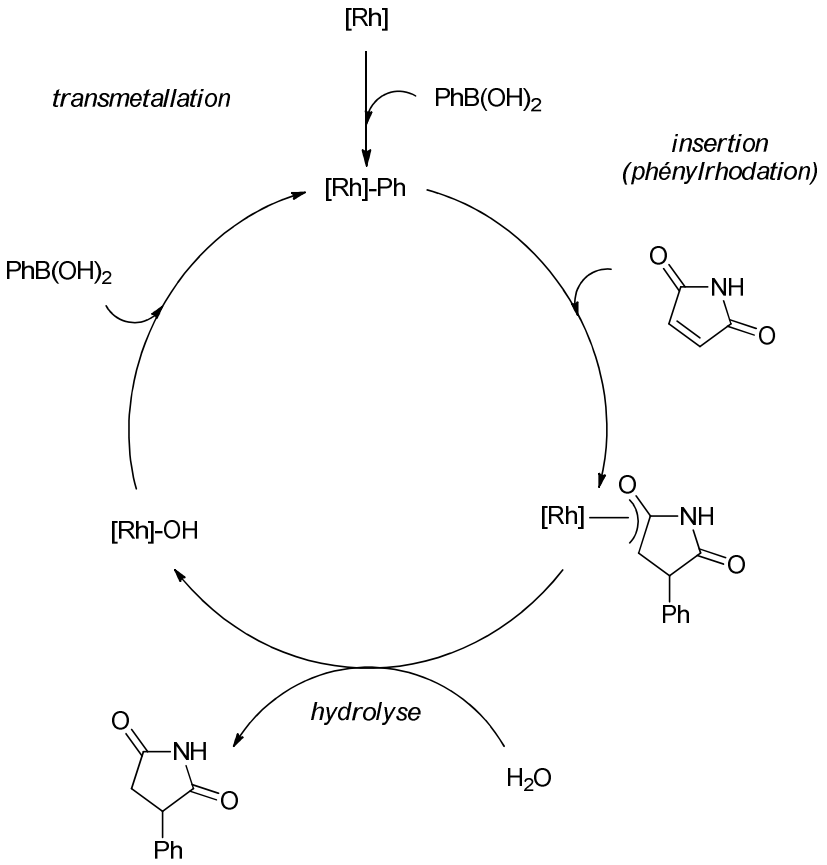


Schéma 18

La première étape est la transmétallation du groupement phényle, du bore au rhodium. L'espèce organométallique est alors additionnée à la double liaison de l'énone : c'est l'étape d'insertion. La dernière étape est une hydrolyse de la liaison rhodium-oxygène conduisant ainsi à la formation de la liaison carbone-carbone. Par addition d'un nouvel équivalent d'acide phénylboronique, le catalyseur peut être régénéré et être réengagé dans un nouveau cycle catalytique.

Nous avons donc testé l'introduction de l'acide phénylboronique sur le composé **13** en présence des ligands (*R*)-BINAP ou (*R*,*R*)-Ph-(bod)*, du catalyseur au rhodium, le μ-dichlorotétraéthylène dirhodium(I) et d'une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium au sein du dioxane, à 60°C et ce pendant 3 heures (schéma 19). Aucune réaction n'est observée dans chacun des cas et nous récupérons intégralement les produits de départ.

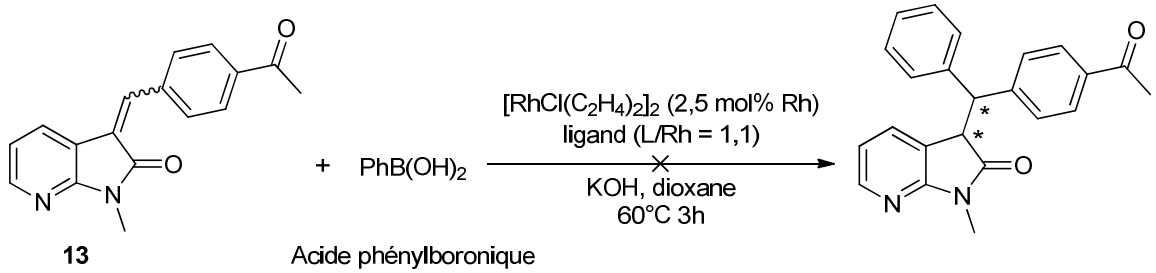


Schéma 19

Ces différents échecs nous ont conduits à revenir sur la structure du composé **13**. Celui-ci présente un groupement électro-attracteur de type acétyle sur le noyau aromatique qui peut entraîner la délocalisation de la double liaison en α,β de l'amide vers le noyau aromatique (schéma 20).

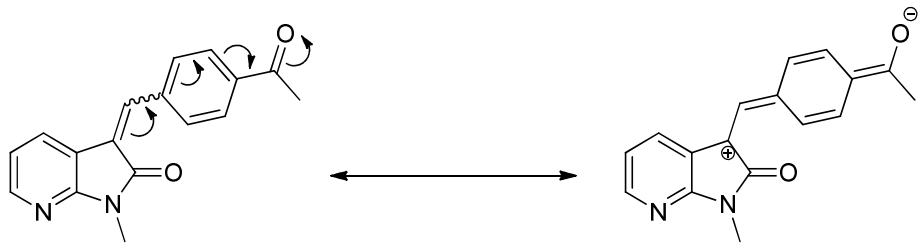


Schéma 20

Pour vérifier cette hypothèse, nous nous sommes intéressés à ces réactions sur le composé **12** qui ne possède pas de groupement acétyle en *para*. Par ailleurs, ce composé présente deux formes isomères Z et E, dont le rapport de l'une par rapport à l'autre a été déterminé par spectrométrie de masse (R/S ou S/R = 9/1). A partir de ce composé, aucune réaction n'est observée avec le ligand (*R*)-BINAP, alors que l'introduction de l'acide phénylboronique en présence du ligand (*R*,*R*)-diphénylbicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène est observée avec un excellent rendement de 93% (schéma 21).

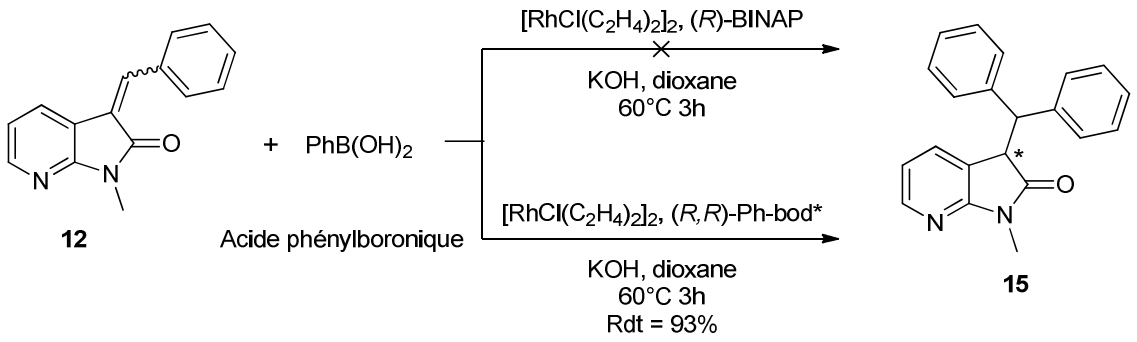


Schéma 21

Nous avons ainsi pu envisager l'introduction de divers acides boroniques aromatiques substitués, mais également des acides boroniques hétérocycliques. A notre connaissance, la littérature ne mentionne pas l'introduction de tels dérivés sur des carbonyles d'amides α,β-insaturés. Les résultats de ces réactions en présence d'acides boroniques aromatiques sont résumés dans le tableau 2.

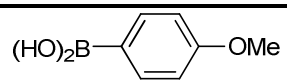
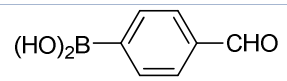
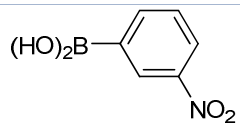
$RB(OH)_2$	**x mol% $[RhCl(C_2H_4)_2]_2$**	**Composé**	**Rdt (%)**	**R/S ou S/R (%)**
 Acide (4-méthoxyphényl)boronique	5	**16**	86	54/46
 Acide (4-formylphényl)boronique	5	**17**	86	58/42
 Acide (3-nitrophényl)boronique	5	**18**	73	54/46

Tableau 2

Nous constatons que les acides boroniques substitués en position *méta* ou *para* sont introduits avec de bons rendements (73 à 86%). En revanche, la substitution en position *ortho* par des groupements électro-attracteurs ou électro-donneurs ne favorise pas la réaction, le produit de départ est intégralement récupéré (schéma 22). Nous supposons alors que la non réactivité des acides boroniques pourrait être dépendante, pour ces conditions opératoires, de l'encombrement stérique de ceux-ci.

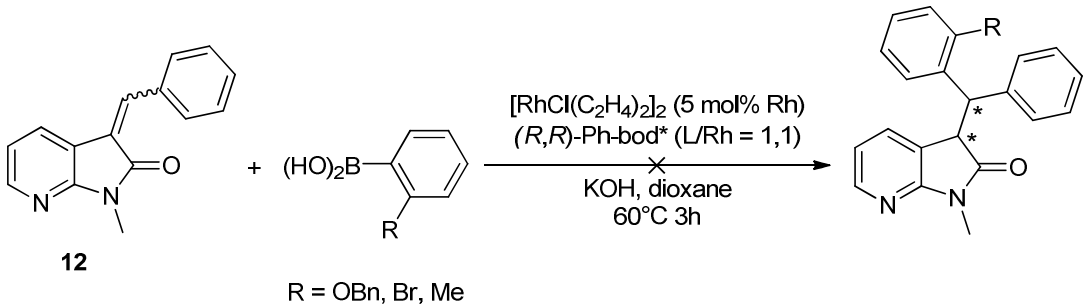


Schéma 22

Des acides boroniques hétérocycliques ont été testés dans les mêmes conditions (tableau 3).

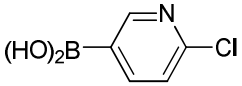
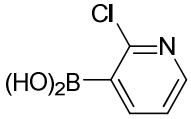
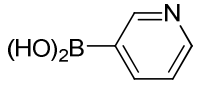
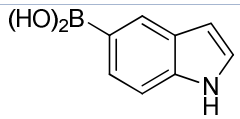
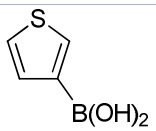
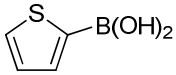
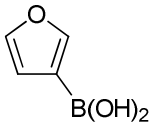
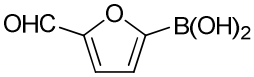
$RB(OH)_2$	**x mol% $[RhCl(C_2H_4)_2]_2$**	**Composé**	**Rdt (%)**	**R/S ou S/R (%)**
 Acide (6-chloropyridin-3-yl)boronique	2,5		Aucune réaction	
	5	**19**	17	53/47
	10	**19**	41	53/47
 Acide (2-chloropyridin-3-yl)boronique	5	Aucune réaction		
 Acide pyridin-3-ylboronique	5 10	Aucune réaction		
 Acide (1*H*-indol-5-yl)boronique	5	**20**	86	53/47
 Acide thiophèn-3-ylboronique	5	**21**	35	53/47
	10	**21**	71	53/47
 Acide thiophèn-2-ylboronique	5 10	Aucune réaction		
 Acide furan-3-ylboronique	5	**22**	38	
 Acide (5-formylfuran-2-yl)boronique	2,5 5	Aucune réaction		

Tableau 3

Le fait d'utiliser un ligand énantiomériquement pur doit conduire à des synthèses stéréocontrôlées. Rappelons que le composé de départ **12** est présent sous la forme d'un mélange d'isomères Z/E ou E/Z avec un rapport de 9/1. Les produits d'addition **16** à **22** présentent un carbone asymétrique en position 8. Nous avons donc voulu vérifier si nos synthèses avaient favorisé la formation d'un diastéréoisomère par rapport à l'autre. Malheureusement, l'analyse HPLC sur colonne chirale (ChiralPak1A, Hexane/*i*Propanol 90/10) des composés **16** à **22** a révélé qu'ils étaient présents sous la forme d'un mélange quasi-racémique (tableaux 2 et 3, figure 25).

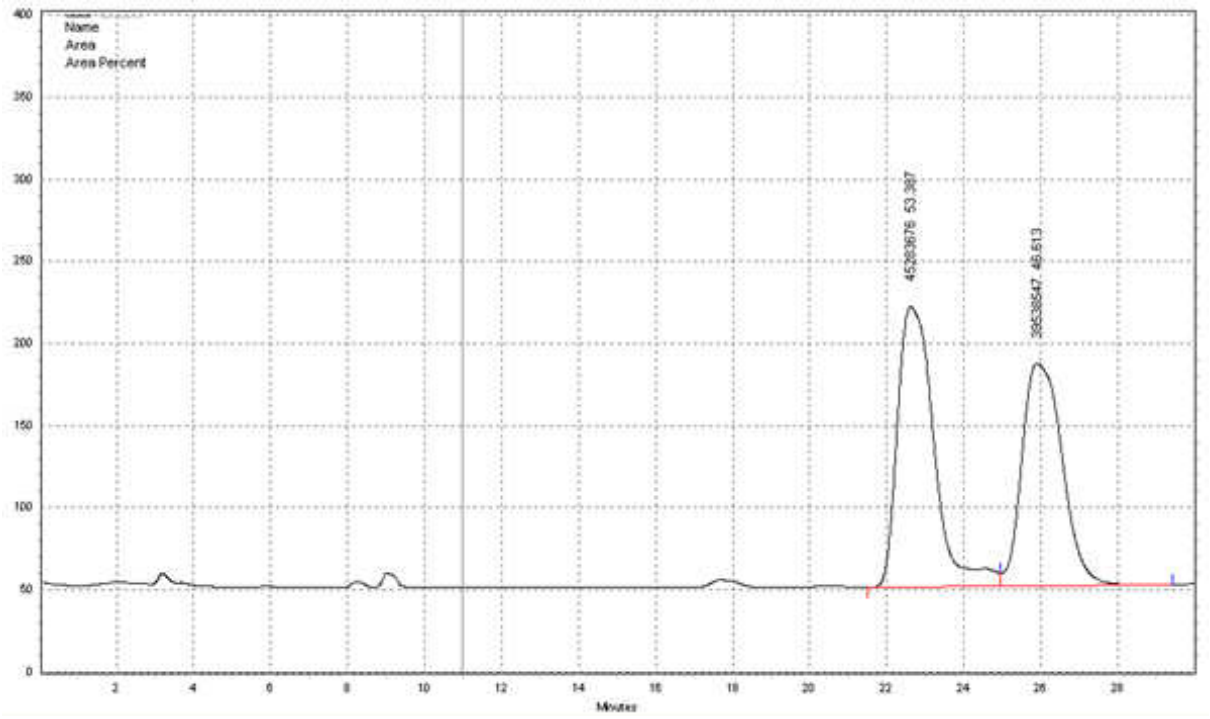
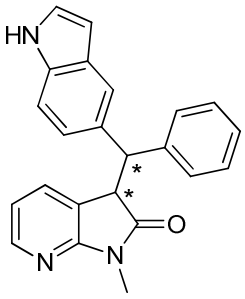


*Figure 25 : Chromatogramme HPLC du composé **22** avec un ratio R/S ou S/R de 53/47*

Désireux d'optimiser la stéréoselectivité de cette réaction, nous avons donc procéder à la mise en place de deux essais pour lesquels le temps de réaction et la température varient. En effet, Hayashi *et al.*[98] ont démontré que la formation des produits d'addition est fortement dépendante du temps de réaction. Ils ont conclu que plus le temps de conversion était faible, plus forte était l'énantiosélectivité, car il pouvait se produire une racémisation du ligand dans le temps. Pour cette étude, nous avons choisi l'acide (1*H*-indol-5-yl)boronique qui permettait l'accès au composé **20**, après 3 heures à 60°C, avec un très bon rendement (86%). Les résultats sont rapportés dans le tableau 4. Lorsque la température est conservée et le temps de

[98] Kina A., Ueyama K., Hayashi T. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5889

réaction diminué à 20 minutes, le rendement et le rapport des diastéréoisomères R et S sont inchangés. Nous constatons par ailleurs que la réaction réalisée à température ambiante après 10 minutes, conduit au composé **20** avec un moins bon rendement (58%), mais toujours en mélange quasi racémique de R et de S. Enfin, à 0°C, aucune addition n'est observée, supposant alors que la température joue un rôle crucial dans ces réactions.



Composé **20**

T°C	Tps	Rdt (%)	R/S ou S/R (%)
60°C	3 h	86	53/47
60°C	20 min	87	54/46
TA	10 min	58	52/48
0°C	8 h	Aucune réaction	

Tableau 4

Suite à ces résultats, il semble donc que le milieu réactionnel soit propice à la racémisation du ligand. Néanmoins cette méthode nous a permis de décrire une série de dérivés résultant d'une addition en 1,4 sur l'amide du 7-aza-2-oxindole, [99] réaction non décrite à notre connaissance à ce jour. Par ailleurs, la diversité des acides boroniques laisse présager des réactions complémentaires de cyclisation intramoléculaire (figure 26).

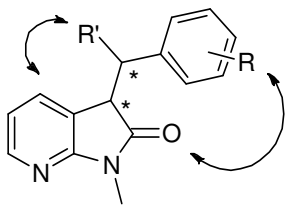


Figure 26

[99] Chaulet C., Croix C., Viaud-Massuard M.C. en cours de soumission

IV. Introduction d'un alcyne en position 12

Aux vues des résultats biologiques peu encourageants pour les composés **6** à **13** (excepté pour le composé **7**), nous avons imaginé réaliser un allongement de la molécule à partir du composé bromé **6**. Effectivement, ce composé offre de nombreuses perspectives quant aux voies de synthèses envisageables. Différentes réactions ont été réalisées sur ce noyau, dont des réactions de type Stille.[100] Parmi les réactions possibles à partir de ce composé, nous nous sommes intéressés à une réaction de type Sonogashira permettant ainsi d'introduire un alcyne. Cette fonction est un point de départ intéressant pour l'élaboration de nouveaux composés (schéma 23).

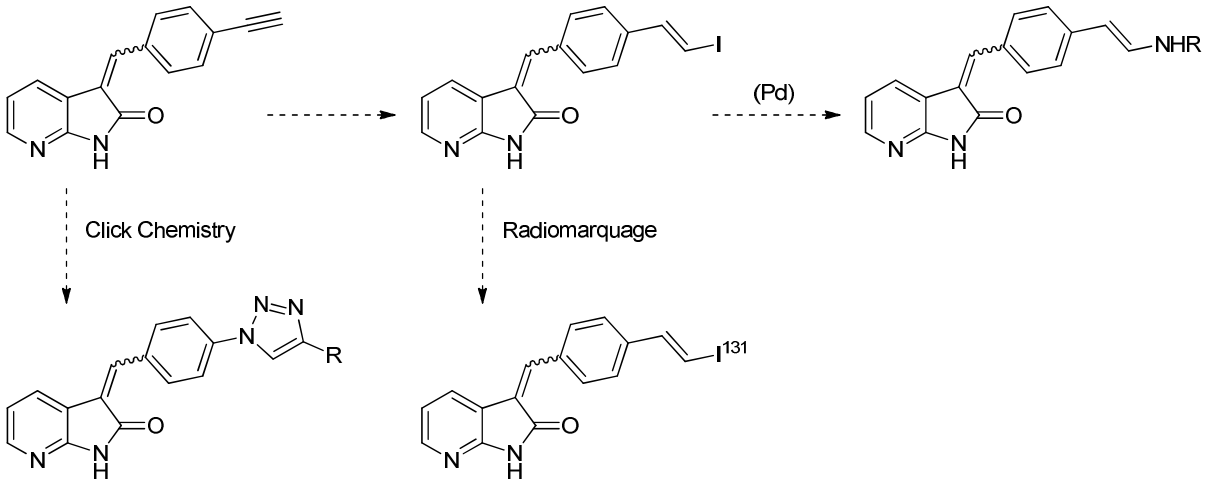


Schéma 23

IV.1. Mise au point de la réaction

Nous avons alors imaginé introduire le triméthylsilylacétylène, où le groupement triméthylsilyle pourra par la suite être clivé en milieu acide, donnant lieu à l'alcyne vrai. Nous avons testé dans un premier temps les conditions mettant en jeu du palladium(II) acétate, de la tri-*ortho*-tolylphosphine et de la triéthylamine au sein de la *N*,*N*-diméthylformamide réalisé sur la 6-bromo-3-méthyloxazolo[4,5-*b*]pyridin-2(3*H*)-one. [101] Ce mélange est chauffé à 130°C pendant 3 heures (schéma 24).

[100] Letellier M.A., Thèse de l'Université de Tours, **2007**

[101] Viaud M.C., Jamoneau P., Savelon L., Guillaumet G. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2409

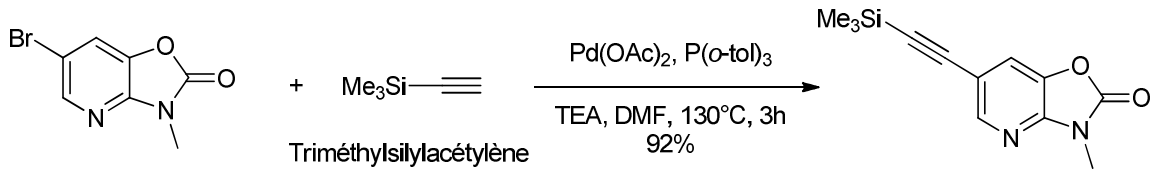


Schéma 24

Ces conditions ont été appliquées sur le composé **6**, mais aucune réaction n'est observée (schéma 25).

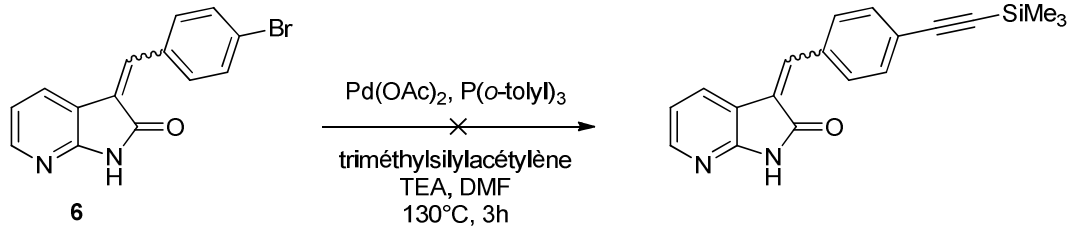


Schéma 25

L'introduction du motif triméthylsilyle a également été décrite dans la littérature par Villares *et al.*.[102] Les conditions utilisées par les auteurs mettent en oeuvre des dérivés halogénés aromatiques en présence de palladium(0) de tétrakis(triphénylphosphine), d'iodure de cuivre(I), de triéthylamine au sein du toluène. Le mélange réactionnel est chauffé en tube scellé à 115°C pendant 24 heures (schéma 26).

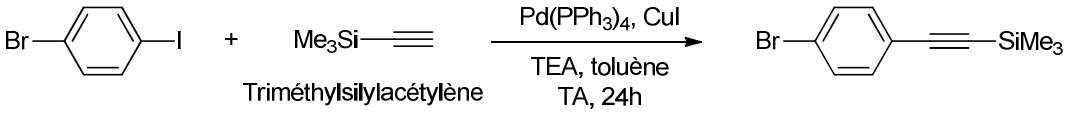


Schéma 26

Si l'application de ces conditions au composé **6** conduit bien à la synthèse du composé silylé **23**, le rendement de la réaction est faible (33%) et un grand nombre de produits de dégradation est observé (schéma 27).

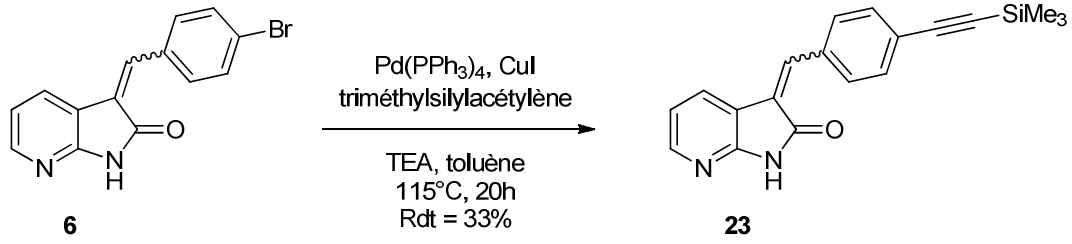


Schéma 27

[102] Villares A., Lydon D.P., Low P.J., Robinson B.J., Ashwell G.J., Royo F.M., Cea P. *Chem. Mater.* **2008**, *20,* 258

Dans le but d'accéder à une conversion optimale, nous avons étudié l'impact de divers paramètres (solvant, conditions de chauffage, température) sur la réactivité des produits engagés. Les conditions et résultats sont résumés dans le tableau 5.

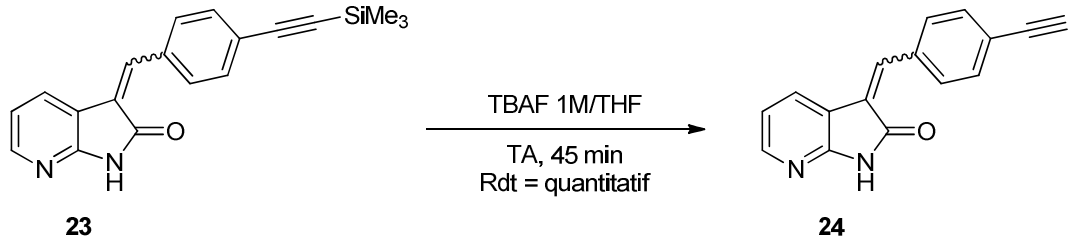
Solvant	Conditions de chauffage	Température	Résultats
DMF	Ballon	TA ⟶ 75°C	Aucune réaction
DMF	Tube scellé	50°C	45% + produit de départ
DMF	Tube scellé	80°C	53% + dégradation

Tableau 5

Nous retiendrons pour les synthèses ultérieures les conditions en tube scellé chauffé à 50°C. Certes le rendement de la réaction est moyen (45%) et moins bon qu'à 80°C, mais la récupération aisée du produit de départ, après purification, nous paraît être en faveur de ces conditions.

IV.2. Formation de l'alcyne vrai

Le composé **23** est désilylé dans des conditions classiques par l'action d'une solution de fluorure de tétrabutylammonium dans le tétrahydrofurane. A température ambiante et après 45 minutes, la réaction est totale et conduit au composé désilylé **24** avec un rendement quantitatif (schéma 28).



23 **24**

Schéma 28

Le composé **24** représente un synthon intéressant pour l'étude de nouvelles molécules potentialisatrices des cellules NK. Des études sur ce noyau sont en cours de réalisation au sein du laboratoire.

SYNTHESE DE MOLECULES MODULATRICES DE LA PRODUCTION DES CYTOKINES PRO-INFLAMMATOIRES A PARTIR DU NOYAU 7-AZAINDOLE *N*-SULFONYLE

Un de nos objectifs est d'introduire le motif 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine ou 7-azaindole dans la structure d'inhibiteurs potentiels de cytokines, car l'étude de la réactivité de ce composé a été largement décrite dans la littérature.[103] Il était intéressant dans notre étude d'introduire un groupement sulfonyle, offrant ainsi différents sites donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène. Le noyau 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine semble alors être une structure de départ pertinente pour la synthèse d'inhibiteurs de la production de cytokines pro-inflammatoires et laisse présager de la mise au point de réactions chimiques intéressantes. Nous pouvons envisager d'introduire l'enchaînement azote-carbonyle par couplage peptidique avec divers acides. L'amine de départ pourra être obtenue par réaction de couplage aminant avec la benzylamine, suivie d'une hydrogénolyse. Par ces mêmes réactions, nous pouvons également envisager d'introduire des amines autres que la benzylamine (schéma 29).

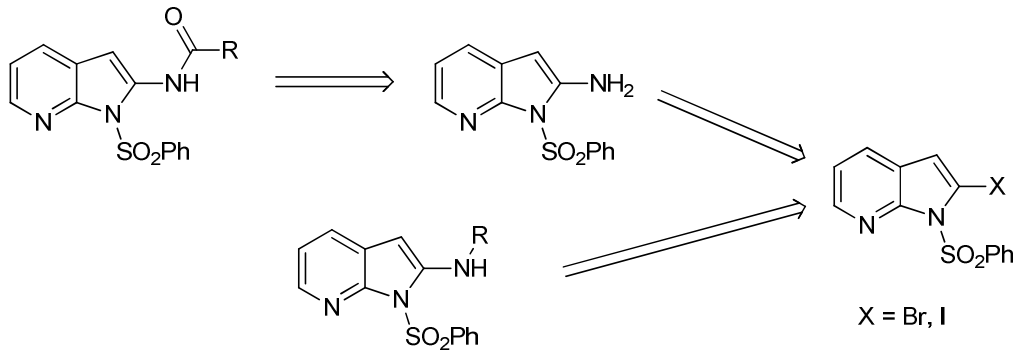


Schéma 29

L'enchaînement inverse carbonyle-azote peut également être introduit par des réactions de couplage peptidique sur l'acide carboxylique de départ avec diverses amines (schéma 30).

[103] (a) Stoit A.R., den Hartog A.P., Mons H., van Schaik S., Barkhuijsen N., Stroomer C., Coolen H.K.A.C., Reinders J.H., Adolfs T.J.P., van der Neut M., Keizer H., Kruse C.G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 188

(b) Aoki K., Obata T., Yamazaki Y., Mori Y., Hirokawa H., Koseki J.I., Hattori T., Niitsu K., Takeda S., Aburada M., Miyamoto K.I. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, *55*, 255



Schéma 30

Dans les schémas 35 et 36, les groupements R sont des groupements qui intègrent dans leur structure un motif phénylsulfonamide, faisant ainsi référence aux molécules obtenues par Lima *et al.* (figure 27).

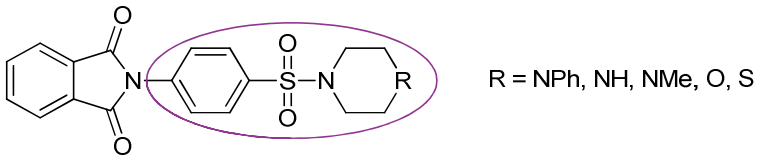


Figure 27

I. Synthèse du 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine

La synthèse du noyau 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **25** est réalisée, selon des conditions classiques de *N*-sulfonylation,[104] à partir du 7-azaindole commercial par action du chlorure de benzène sulfonyle en milieu organique basique, catalysée par un agent de transfert, le bromure de tétrabutylammonium. Ce composé est obtenu rapidement, sans purification et avec un excellent rendement (schéma 31).

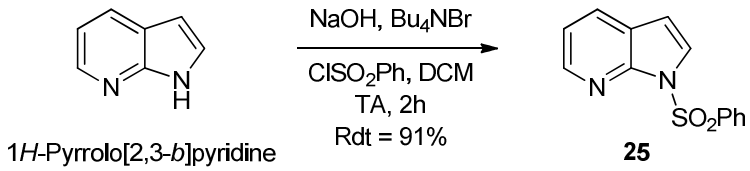


Schéma 31

La présence d'un groupement sulfonyle sur l'azote du noyau pyrrole permettra par la suite d'orienter l'introduction d'électrophiles en position 2 du bicycle.

[104] Sandham D.A., Adcock C., Bala K., Barker L., Brown Z., Dubois G., Budd D., Cox B., Fairhurst R.A., Furegati M., Leblanc C., Manini J., Profit R., Reilly J., Stringer R., Schmidt A., Turner K.L., Watson S.J., Willis J., Williams G., Wilson C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4794

II. Synthèse de dérivés en position 2 à partir du dérivé halogéné

II.1. Synthèse du 2-iodo-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*] pyridine

Nous nous sommes intéressés à la synthèse de composés halogénés en position 2 du 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **25** en vue de réaliser des couplages aminants de type Buchwald mettant en jeu un grand nombre d'amines. A notre connaissance, de telles réactions ne sont pas décrites sur cet hétérocycle.

Nous avons dans un premier temps envisagé d'introduire le brome comme halogène, car les réactions de couplage aminant décrites dans la littérature utilisent majoritairement des composés bromés. Nous avons donc testé des conditions de bromation sur le composé **25**, par l'action du diisopropylamidure de lithium, en présence ou non de tétraméthyléthylènediamine, et du dibromoéthane. Aucune réaction n'a été observée dans chacun des cas et le produit de départ est récupéré intégralement (schéma 32).

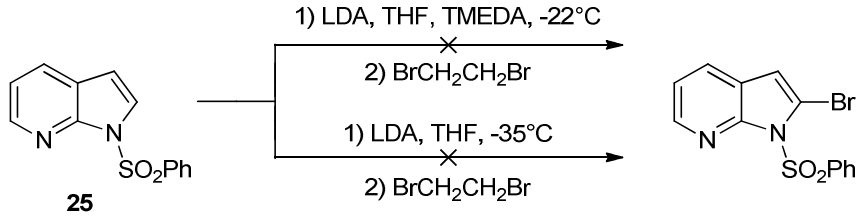
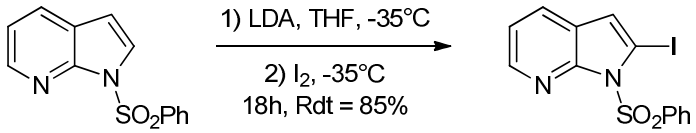


Schéma 32

Nous avons alors envisagé l'introduction d'un autre halogène, l'iode. La iodation régiosélective de l'azaindole protégé a d'abord nécessité la mise au point de la réaction. En effet beaucoup de travaux décrivaient cette synthèse et stipulaient qu'elle était réalisée par addition de diisopropylamidure de lithium en présence de tétraméthyléthylènediamine puis de diiode à -35°C.[105] Nous avons donc réalisé cette synthèse sans jamais obtenir le produit désiré. Nous nous sommes aperçu que la présence de la tétraméthyléthylènediamine bloquait la réactivité du diisopropylamidure de lithium car nous n'observions pas la formation du

[105] Mérour J.Y., Joseph B. *Curr. Org. Chem.* **2001**, *5*, 471

précipité rouge caractéristique de l'anion formé. Nous avons donc supprimé la base de notre schéma réactionnel et avons obtenu le composé **26** avec un très bon rendement (schéma 33).



25 **26**

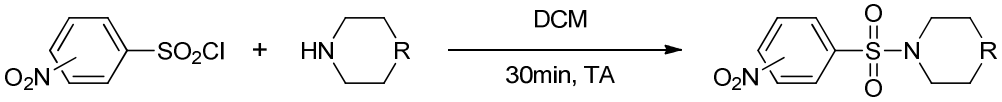
Schéma 33

Ce dérivé iodé peut être un bon précurseur pour des réactions de couplages aminants

II.2. Synthèse d'amines aromatiques sulfonylées

II.2.1. A partir de chlorures de nitrobenzènesulfonyles

La substitution nucléophile à partir de chlorures de sulfonyles et avec différentes amines de type pipérazine, morpholine ou thiomorpholine est réalisée au sein du dichlorométhane et à température ambiante (schéma 34). Les sulfonamides escomptés sont obtenus avec de très bons rendements (tableaux 6 et 7).



27 - 34

Schéma 34

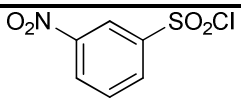
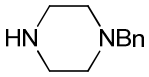
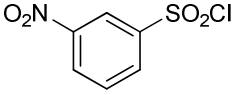
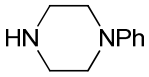
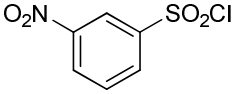
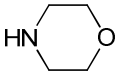
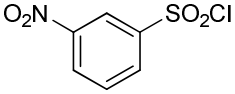
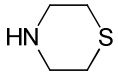
Dérivés nitrés de départ	Dérivés de pipérazines	Composé	Rdt (%)
 Chlorure de 3-nitrobenzène-1-sulfonyle	 1-Benzylpipérazine	**27**	90
 Chlorure de 3-nitrobenzène-1-sulfonyle	 1-Phénylpipérazine	**28**	86
 Chlorure de 3-nitrobenzène-1-sulfonyle	 Morpholine	**29**	98
 Chlorure de 3-nitrobenzène-1-sulfonyle	 Thiomorpholine	**30**	98

Tableau 6

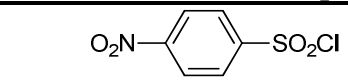
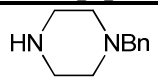
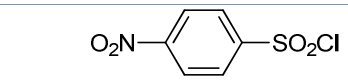
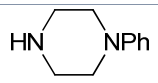
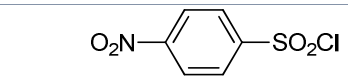
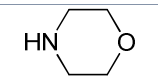
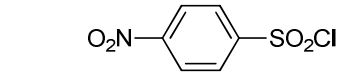
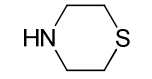
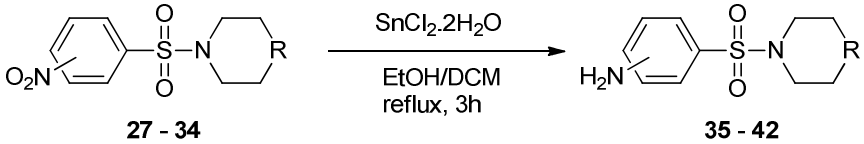
Dérivés nitrés de départ	Dérivés de pipérazines	Composé	Rdt (%)
 Chlorure de 4-nitrobenzène-1-sulfonyle	 1-Benzylpipérazine	**31**	99
 Chlorure de 4-nitrobenzène-1-sulfonyle	 1-Phénylpipérazine	**32**	Quantitatif
 Chlorure de 4-nitrobenzène-1-sulfonyle	 Morpholine	**33**	Quantitatif
 Chlorure de 4-nitrobenzène-1-sulfonyle	 Thiomorpholine	**34**	97

Tableau 7

II.2.2. Réduction du groupement nitro

Le groupement nitro est ensuite réduit en conditions douces en présence de chlorure stanneux dihydraté au reflux d'un mélange éthanol/dichlorométhane, pour aboutir aux composés réduits avec de bons rendements[106] (schéma 35). Les résultats sont résumés dans les tableaux 8 et 9.



27 - 34 **35 - 42**

Schéma 35

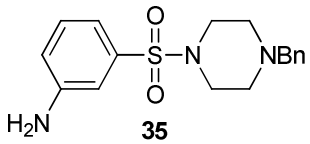
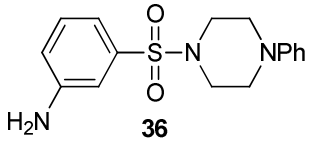
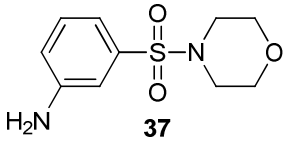
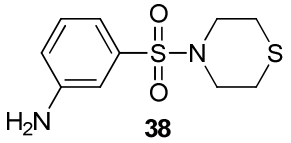
Substrat	Composé	Rdt (%)
27	 **35**	95
28	 **36**	74
29	 **37**	99
30	 **38**	83

Tableau 8

[106] Kamal A., Reddy P.S.M.M., Reddy D.R. **2004** US 192678

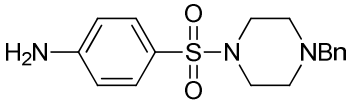
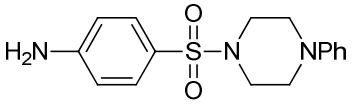
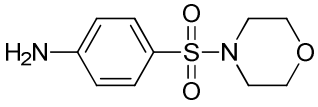
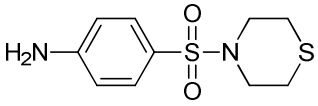
Substrat	Composé	Rdt (%)
31	 **39**	87
32	 **40**	95
33	 **41**	99
34	 **42**	96

Tableau 9

Les amines ainsi obtenues vont pouvoir être engagées dans des réactions de couplage aminant.

I.3. Réactions de couplage aminant

Les réactions de couplage aminant sur des noyaux halogénés ont été amplement décrites dans la littérature, notamment par Buchwald et Hartwig.[107] Pour obtenir des conditions optimales de couplage, tous les paramètres de la réaction pallado-catalysée doivent être étudiés : le choix du solvant, celui du catalyseur (du palladium autant que du ligand, s'il est nécessaire), de la base et enfin de l'halogène. Nous avons donc testé de nombreuses voies de synthèse dans l'optique d'introduire différentes amines.

Wolfe et Buchwald rapportèrent en 1996 des réactions de couplage aminant sur des dérivés iodés aromatiques mettant en jeu comme catalyseur le tris-(dibenzylidène-acétone)dipalladium(0), comme ligand la tri-*ortho*-tolylposphine et comme base le *tert*-butylate de sodium au sein du dioxane. [108] A partir d'amines aromatiques et aliphatiques, ils obtiennent les produits de couplage avec des rendements variables (schéma 36).

[107] (a) Wolfe J.P., Rennels R.A., Buchwald S.L. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 7525

(b) Louie J., Hartwig J.F. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3609

(c) Stauffer S.R., Lee S., Stambuli J.P., Hauck S.I., Hartwig J.F. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1423

[108] Wolfe J.P., Buchwald S.L. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1133

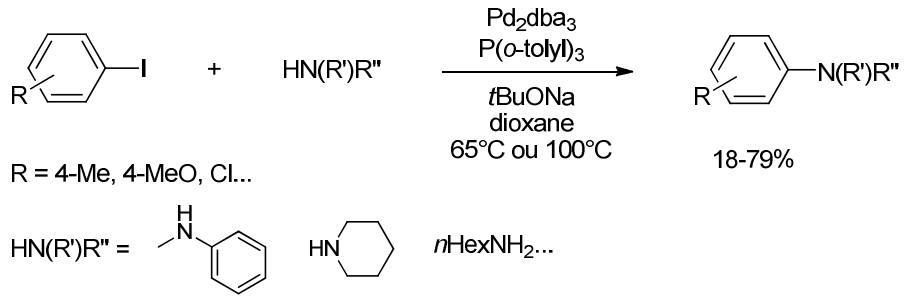


Schéma 36

Nous avons testé ces conditions sur le composé iodé **26** avec l'amine **39**. Aucune réaction n'a été observée après 24 heures et nous récupérons intégralement les produits de départ (schéma 37).

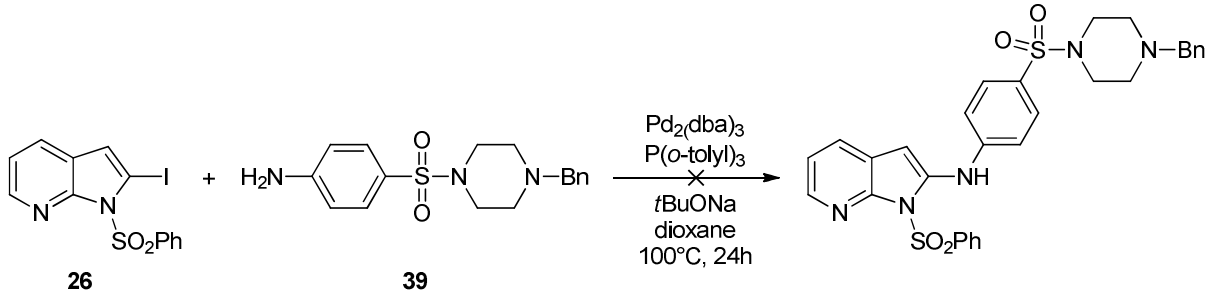


Schéma 37

En 1998, l'équipe de Buchwald[109] rapporta une nouvelle méthode mettant en œuvre le même catalyseur et la même base que dans l'exemple précédent et choisit comme ligand le 2'-(dicyclohexylphosphino)-*N*,*N*-diméthyl-[1,1'-biphényl]-2-amine, reconnu plus actif dans les réactions d'amination (schéma 38). Les produits de couplage sont alors obtenus avec de bons rendements.

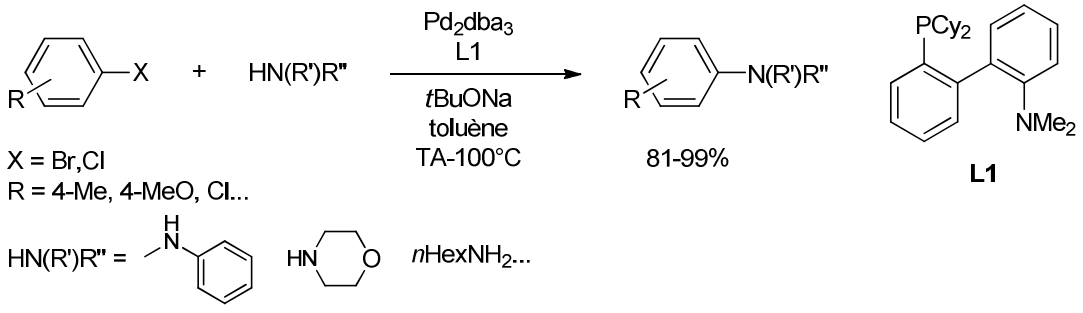
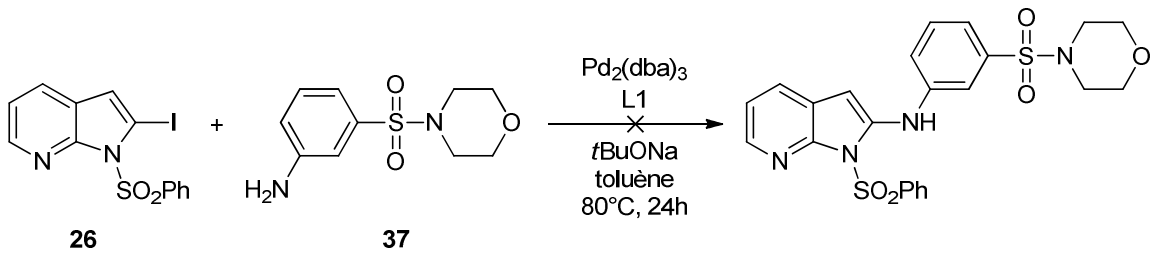


Schéma 38

[109] Old D.W., Wolfe J.P., Buchwald S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9722

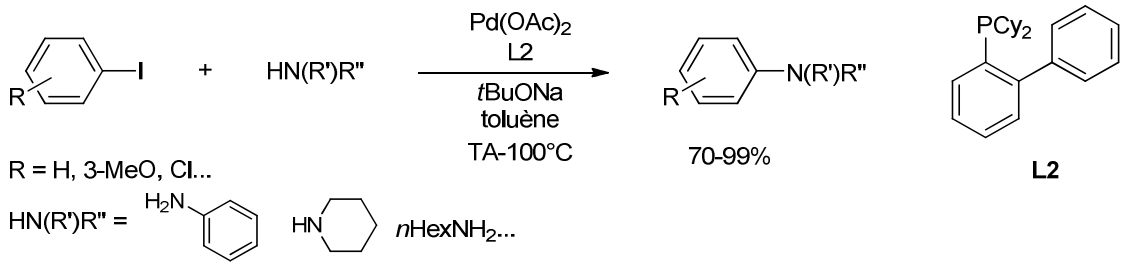
Cette synthèse a été réalisée dans les mêmes conditions avec l'amine **39**. Comme précédemment, aucune réaction n'est observée et le produit de départ est récupéré (schéma 39).



26 **37**

Schéma 39

En 2001, Ali et Buchwald[110] rapportèrent que la fonctionnalisation de dérivés iodés aromatiques par des amines aliphatiques et aromatiques en présence de palladium(II) acétate, de [1,1'-biphényl]-2-yldicyclohexylphosphine, de *tert*-butylate de sodium au sein du toluène permet d'obtenir les produits de couplage avec de très bons rendements (schéma 40).

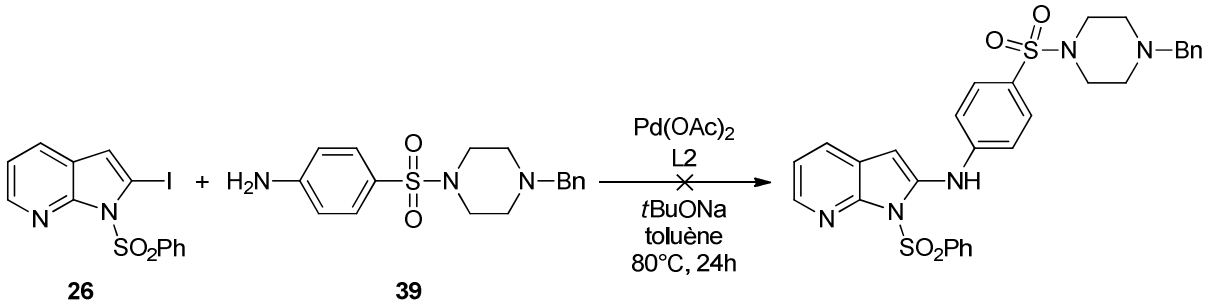


70-99%

L2

Schéma 40

Nous avons ainsi testé ces conditions en présence de l'amine **39** et avons observé aucune réaction, le produit de départ est entièrement restitué (schéma 41).



26 **39**

Schéma 41

[110] Ali M.H., Buchwald S.L. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2560

En 2007, Viaud-Massuard *et al.*[111] rapportèrent une méthode d'amination de dérivés chlorés du 7-azaindole, mettant en œuvre le tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium(0), le *tert*-butylate de sodium et le XantPhos comme ligand (schéma 42).

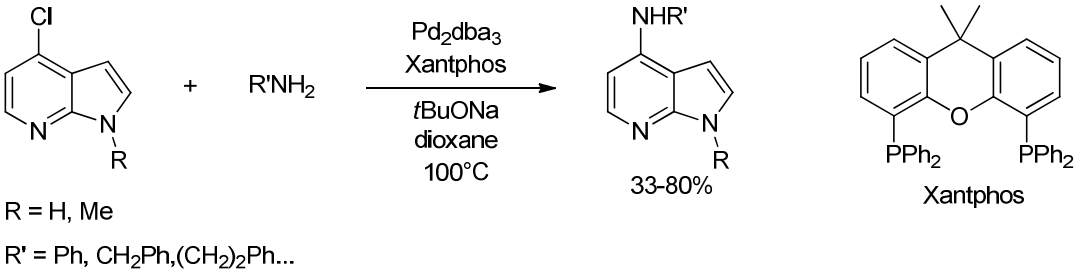


Schéma 42

Nous avons testé cette synthèse avec plusieurs amines et avons observé un résultat inattendu. Nous n'obtenons pas le produit de couplage désiré mais le produit de désulfonylation **43** avec de bons rendements (schéma 43). Ce résultat sera exploité un peu plus tard dans ce mémoire.

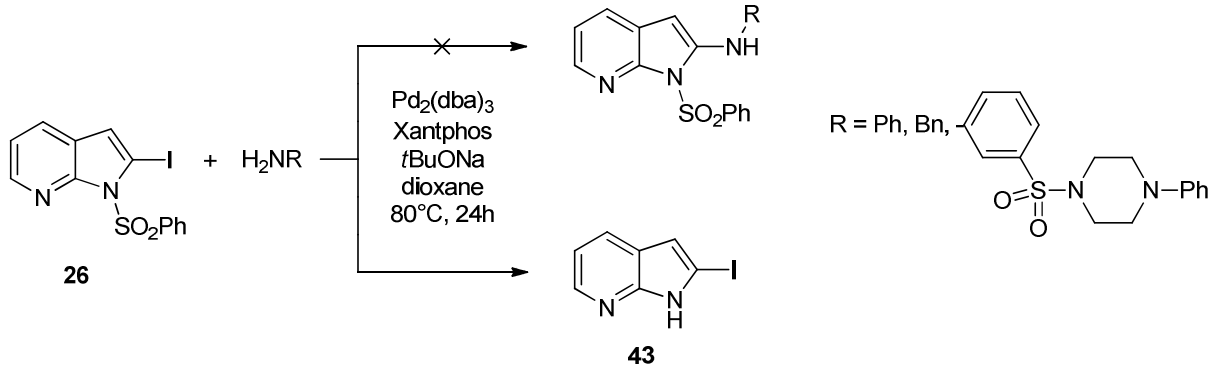


Schéma 43

Par la suite, nous avons testé les conditions mises au point par Garnier *et al.* en 2004.[112] Celles-ci permettent le couplage d'amines portées par un hétérocycle aromatique sur des dérivés chlorés pyridiniques. La réaction fait intervenir soit le Xantphos, soit le [1,1'-biphényl]-2-yldicyclohexylphosphine (L2) comme ligand, le palladium(II) acétate en présence de potassium carbonate au reflux du dioxane (schéma 44).

[111] Guillard J., Decrop M., Gallay N., Espanet C., Boissier E., Herault O., Viaud-Massuard M.C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 1934

[112] (a) Garnier E., Audoux J., Pasquinet E., Suzenet F., Poullain D., Lebret B., Guillaumet G. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7809

(b) Garnier E., Thèse de l'Université d'Orléans, **2004**

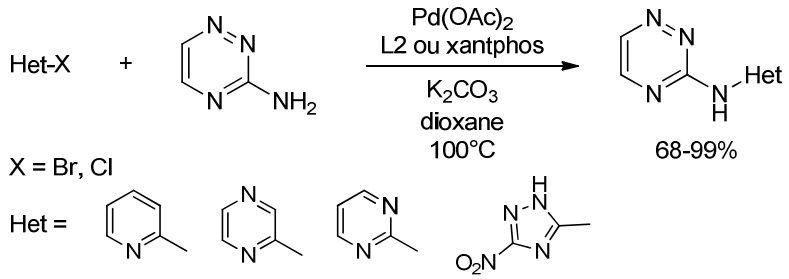


Schéma 44

Cette synthèse a été testée sur l'amine **40** (schéma 45), mais aucune réaction n'a été observée, quelque soit le ligand utilisé. Le produit de départ est récupéré intégralement.

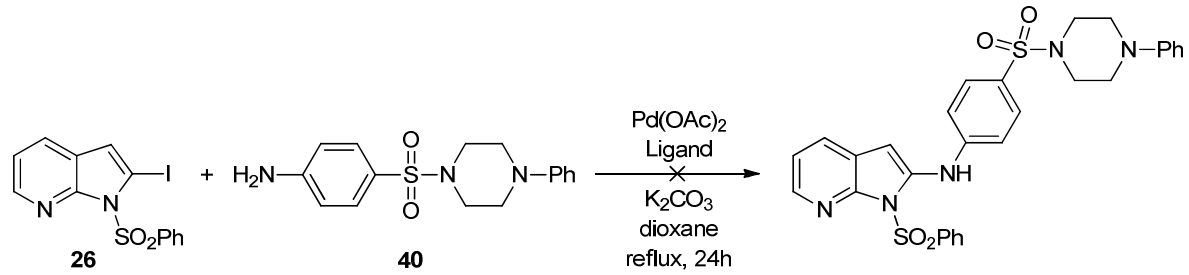


Schéma 45

Buchwald *et al.*[113] ont décrit en 2002 des aminations de composés aromatiques iodés dans des conditions de type Ullman par l'action d'iodure de cuivre(I) en présence de phosphate de potassium, d'éthane-1,2-diol au sein de l'isopropanol (schéma 46).

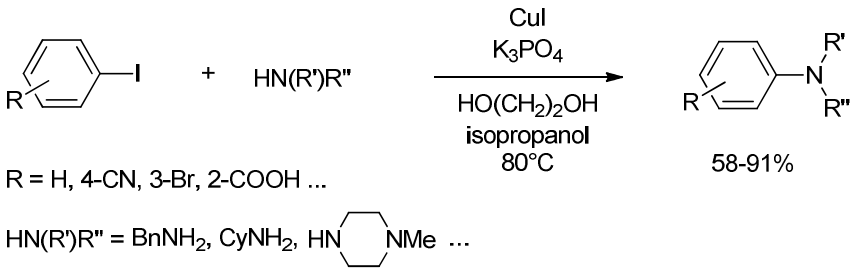


Schéma 46

Ils ont également réalisé plus récemment des essais de type Ullman en présence d'un ligand bicarbonylé, la 2-isobutyrylcyclohexanone. [114] Ils fonctionnalisent des composés aromatiques iodés par des amines aliphatiques (schéma 47).

[113] Kwong F.Y., Klapars A., Buchwald S.L. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 581

[114] Shafir A., Buchwald S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8742

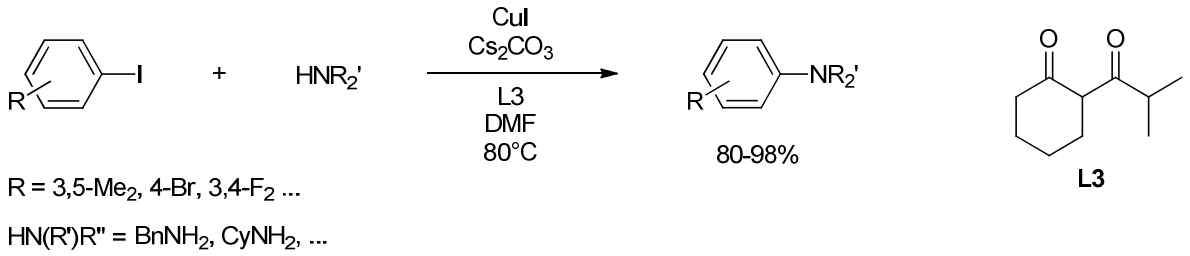


Schéma 47

Nous avons donc testé ces conditions de type Ullman en présence des amines **37** et **39** (schéma 48). Les conditions opératoires sont résumées dans le tableau 10.

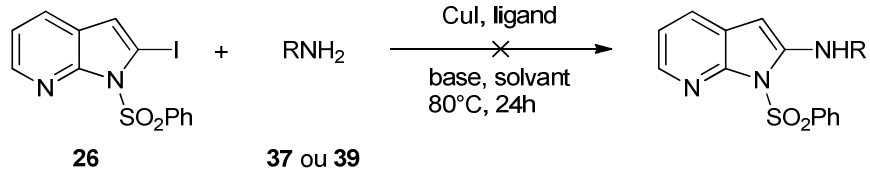


Schéma 48

Dans aucun des cas, la réaction de couplage aminant a été observée. Le produit de départ est intégralement récupéré.

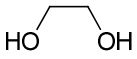
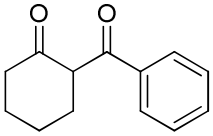
Amine	Catalyseur	Ligand	Base	Solvant	Temp. (°C)	Tps (h)
37	CuI		K_3PO_4	*i*PrOH	80°C tube scellé	24
39	CuI		Cs_2CO_3	DMF	TA → 80°C ballon	24

Tableau 10

Aux vues de ces résultats et avant de poursuivre notre étude, nous avons émis l'hypothèse que les amines synthétisées et testées jusqu'alors n'étaient peut-être pas les meilleures candidates pour réaliser ces synthèses. En effet, du fait de leur fort encombrement stérique et de la présence du groupement électro-attracteur, la réactivité de l'amine pouvait être altérée. Nous avons donc envisagé les synthèses ultérieures avec des amines un peu plus nucléophiles, comme l'aniline ou la benzylamine.

En 2002, Maes *et al.*[115] ont réalisé des aminations sur des iodopyridines en présence d'amines aromatiques présentant différents groupements électro-donneurs ou attracteurs, de palladium(II) acétate, du ligand BINAP, de carbonate de césium au sein du toluène (schéma 49).

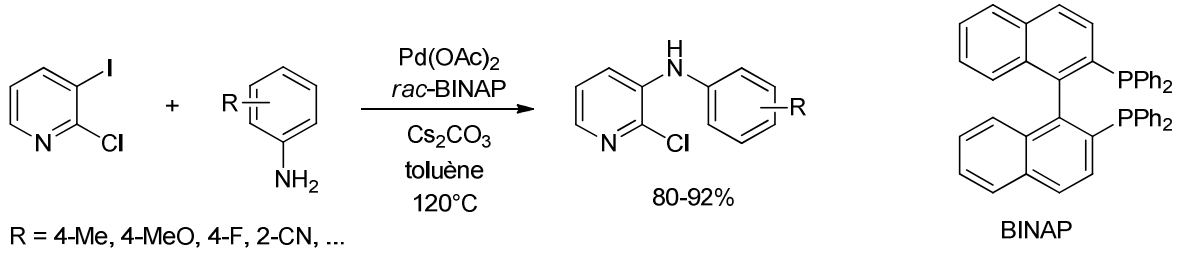


Schéma 49

Ces conditions ont été testées à partir de l'aniline, mais ne nous ont pas permis d'obtenir les produits désirés (schéma 50).

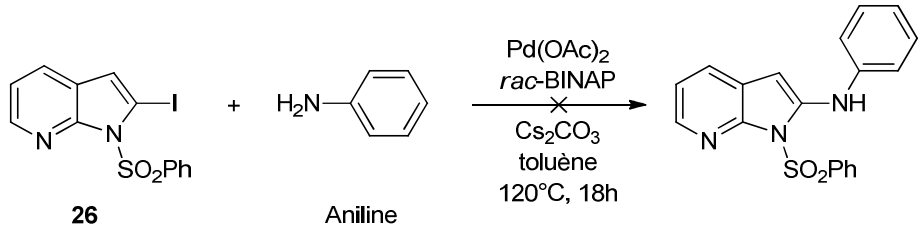


Schéma 50

Snider *et al.*[116] rapportèrent en 2003 une réaction d'amination intramoléculaire sur un noyau indole iodé en position 2. Ils ont réalisé cette synthèse par l'action de tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium(0), de tri-*ortho*-tolylposphine et de carbonate de potassium au sein du toluène (schéma 51).

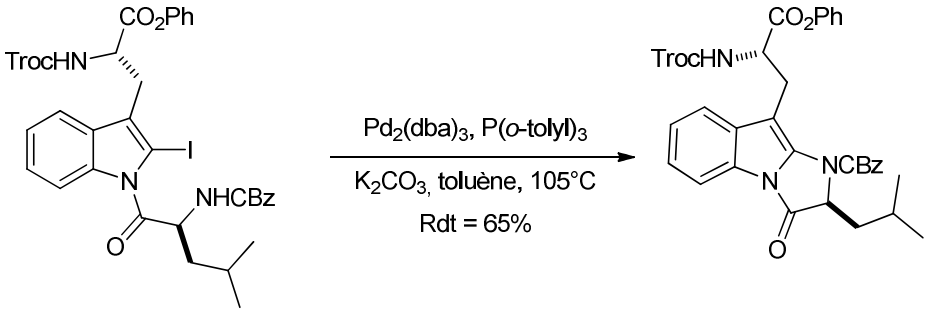


Schéma 51

[115] Maes B.U., Loones K.T.J., Jonckers T.H.M., Lemière G.L.F., Dommisse R.A., Haemers A. *Synlett* **2002**, *12*, 1995

[116] Snider B.B., Zeng H. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 545

Malgré la similitude structurale du produit de départ avec le composé **26**, et la diversité des amines engagées, ce mode opératoire n'a pas fourni les produits escomptés mais a conduit à la restitution du produit de départ (schéma 52, tableau 11).

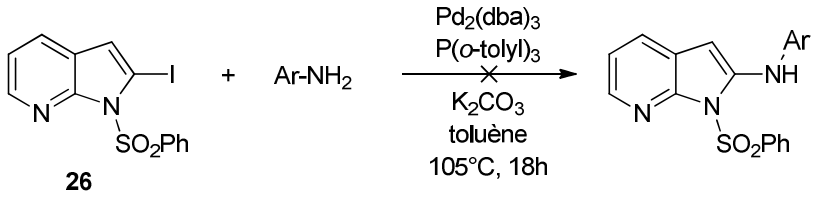


Schéma 52

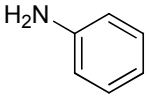
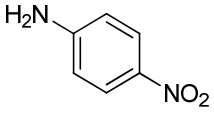
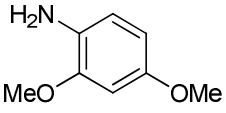
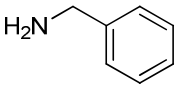
Ar-NH$_2$	 Aniline	 4-Nitroaniline	 2,4-Diméthoxyaniline	 Benzylamine
Résultat	Aucune réaction n'est observée, le produit **26** est récupéré dans sa totalité			

Tableau 11

Plus récemment, Buchwald *et al.*[117] ont développé de nouveaux catalyseurs et ligands permettant l'introduction d'amines hétéroaromatiques sur des dérivés iodés hétéroaromatiques (schéma 53). Le ligand et le catalyseur associé les plus réactifs pour ce type d'étude sont le BrettPhos et le pré-catalyseur au palladium présentant une entité de BrettPhos (figure 28).

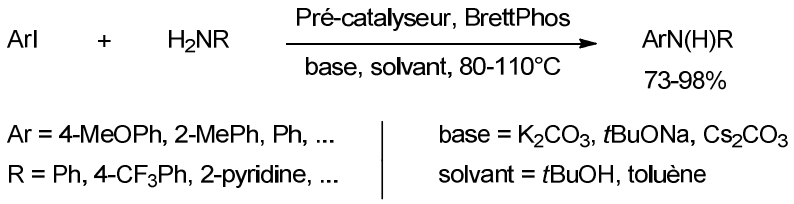


Schéma 53

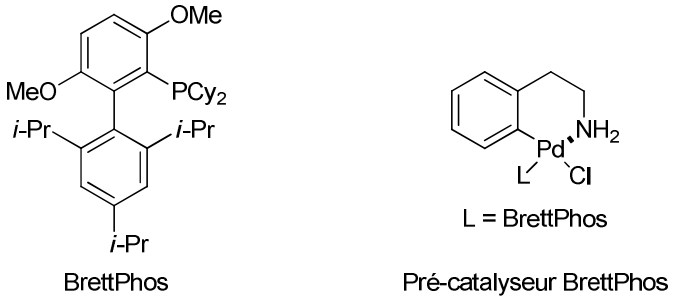
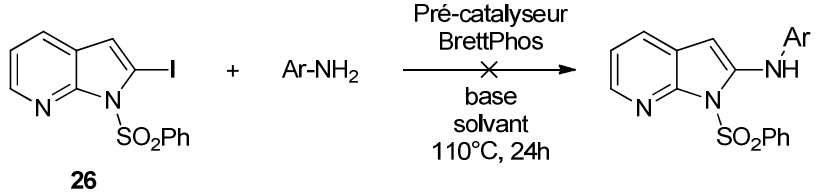


Figure 28 : Structure chimique du ligand BrettPhos et du pré-catalyseur au palladium

[117] Fors B.P., Davis N.R., Buchwald S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5766

Nous avons alors réalisé plusieurs synthèses dans différentes conditions de solvant et de base, mettant en jeu diverses amines, mais nous n'observons aucune réaction (schéma 54, tableau 12).



26

Schéma 54

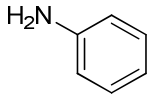
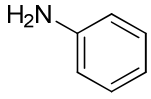
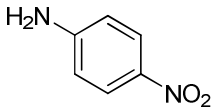
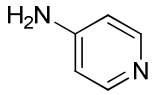
Ar-NH_2	**Base**	**Solvant**	**Résultat**
 Aniline	K_2CO_3	*t*BuOH	Aucune réaction
 Aniline	*t*BuONa	toluène	Aucune réaction
 4-Nitroaniline	K_2CO_3	toluène	Aucune réaction
 4-Aminopyridine	K_2CO_3	toluène	Aucune réaction

Tableau 12

Cette étude ne nous a pas permis d'obtenir un produit de couplage aminant entre le 2-iodo-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **26** et diverses amines.

III. Réaction de désulfonylation

Rappelons que lors d'essais de couplage aminant sur le 2-iodo-1-phénylsulfonyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine par diverses amines et selon les conditions[111] mettant en œuvre le tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium(0), le *tert*-butylate de sodium, le XantPhos au sein du dioxane, nous avions observé la formation de produits issus de la désulfonylation et non de réactions de couplage aminant (schéma 43).

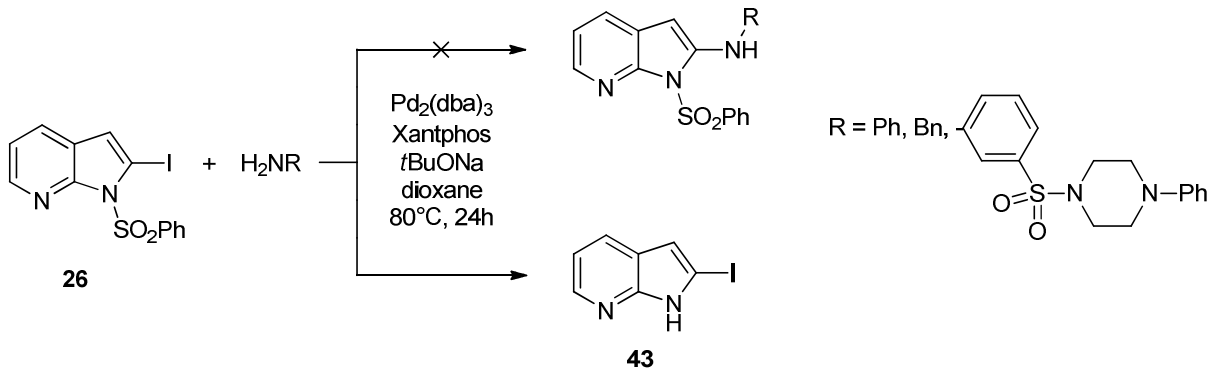


Schéma 43

Le groupement benzènesulfonyle est l'un des groupements couramment utilisé pour protéger les amines, car les sulfonamides qui en résultent sont plus robustes et ont une structure cristalline facilement isolable. En outre, ce groupe peut modifier la polarisabilité du composé protégé en agissant comme un groupement électro-attracteur. Les méthodes utilisées pour la désulfonylation sont très largement décrites dans la littérature : réduction par des métaux (Li ou Na) dans l'ammoniaque, l'hexaméthylphosphoramide ou des alcools;[118] le naphthalene[119] ou anthracène de sodium,[120] l'amalgame Na-Hg,[121] le tributylstannane (Bu_3SnH),[122] un mélange de métaux avec $TiCl_4$,[123] l'iodure de samarium(II) (SmI_2),[124] le magnésium au sein du méthanol,[125] les métaux alcalins en gel de silice,[126] des conditions acides avec l'acide sulfurique,[127] un mélange acide acétique/acide perchlorique,[128] le bromure d'hydrogène à 48% dans le phénol et à 30% dans l'acide acétique,[129] le fluorure de potassium sur alumine sous

[118] (a) Berkessel A., Schröder M., Sklorz C. A., Tabanella S., Vogl N., Lex J., Neudörfl J. M. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3050

(b) Paul, B. J., Hobbs, E., Buccino, P., Hudlicky, T. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6433

[119] Burtoloso A.C.B., Correia C.R.D. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 9928

[120] Quaal K.S., Ji S. Kim Y.M., Closson W.D., Zubieta J.A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 1311

[121] Forshee P.B., Sibert J.W. *Synthesis* **2006**, 5, 756

[122] (a) Wnuk S.F., Bergolla L.A., Garcia Jr.P.I. *J. Org. Chem* **2002**, *67*, 3065

(b) Knowles H.S., Parsons A.F., Pettifer R.M., Rickling S. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 979

[123] Vellemä E., Lebedev O., Mäeorg U. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1373

[124] Blay G., Cardona L., Climent E., Pedro J.R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5593

[125] (a) Nenadjenko V.G., Karpov A.S., Balenkova E.S. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 2517

(b) Alonso D.A., Andersson P.G. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9455

[126] Nandi P., Redko M.Y., Petersen K., Dye J.L., Lefenfeld M., Vogt P.F., Jackson J.E. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5441

[127] Nolan C., Gunnlaugsson T. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1993

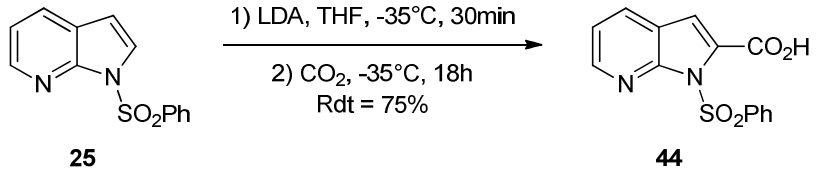
[128] Kudav D.P., Samant S.P., Hosangandi B.D. *Synth. Commun.* **1987**, *17*, 1185

[129] Weisblat D. I., Magerlein B.J., Myers D.R. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 3630

micro-ondes ;[130] ou des conditions basiques avec de la soude ou de la potasse,[131] le carbonate de potassium dans l'acétonitrile,[132] le carbonate de césium dans un mélange tétrahydrofurane/méthanol,[133] le fluorure de tétrabutylammonium au reflux du tétrahydrofurane.[134]

Certes ces conditions sont nombreuses, mais sont souvent choisies en fonction des groupements présents sur la molécule de départ à désulfonyler. Par ailleurs, en ce qui concerne l'hydrolyse du sulfonamide en série pyrrolo-pyridine, la littérature mentionne très souvent soit un traitement basique, soit l'action d'un ion fluorure.[135]

Notre molécule de départ pour cette étude est l'acide 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **44**. Ce dernier est obtenu à partir du 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **25** par action du diisopropylamidure de lithium puis du dioxyde de carbone gazeux à -35°C au sein du tétrahydrofurane anhydre (schéma 55).



25 **44**

Schéma 55

Mahboobi *et al.*[136] ont rapporté en 2001 des conditions de déprotection de l'azote du cycle pyrrole d'indole et d'azaindole mettant en œuvre une solution aqueuse de soude à 10% au sein de l'éthanol porté à reflux pendant 12 heures (schéma 56).

---

[130] Silveira C.C., Bernardi C.R., Braga A.L., Kaufman T.S. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 8947

[131] (a) Jolicoeur B., Chapman E. E., Thompson A., Lubell W.D. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11531
(b) Liu Y., Shen L., Prashad M., Tibbatts J., Repič O., Blacklock T.J. *Org. Proc. Res. & Dev.* **2008**, *12*, 778

[132] (a) Kumari N., Reddy B.G., Vankar Y.D. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 160
(b) Fukuyama T., Jow C.K., Cheung M. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6373

[133] Bajwa J.S., Chen G.P., Prasad K., Repič O., Blacklock T.J. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6425

[134] (a) Itoh T., Yokoya M., Miyaushi K., Nagata K., Ohsawa A. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4301
(b) Witulski B., Alayrac C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3281
(c) Yasuhara A., Sakamoto T. *Tetrahedron* **1998**, *39*, 595

[135] Joseph B., Da Costa H., Mérour J.Y., Léonce S. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3189

[136] Mahboobi S., Pontgratz H., Hufsky H., Hockemeyer J., Frieser M., Lyssenko A., Paper D.H., Bürgermeister J., Böhmer F.D., Fiebig H.H., Burger, A.M., Baasner S., Beckers T. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4535

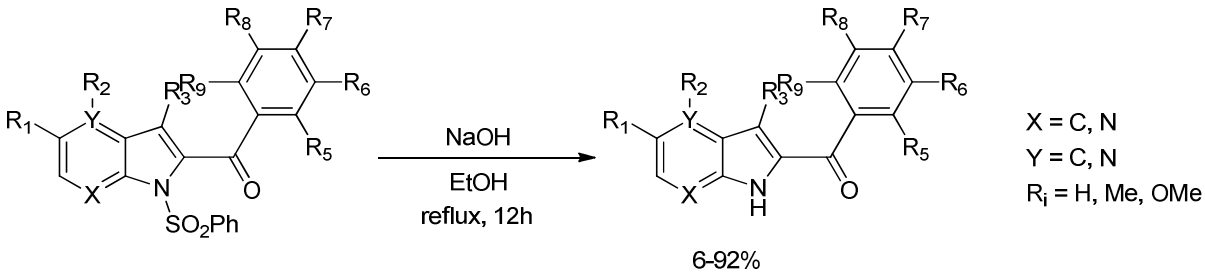


Schéma 56

En 2004, Mendiola *et al.*[137] décrivent une déprotection de 7-azaindole par l'action de carbonate de potassium dans un mélange méthanol/eau porté à reflux pendant 7 heures (schéma 57).

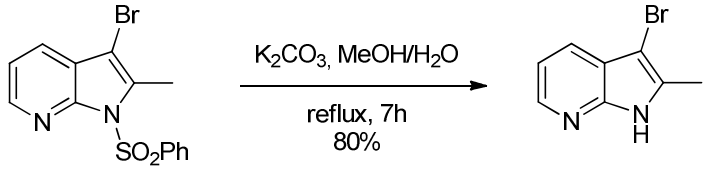


Schéma 57

Ces deux modes opératoires ont été réalisés à partir l'acide 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **44**. Le composé issu de la déprotection n'est pas observé, dans les deux cas le produit de départ se dégrade (schéma 58).

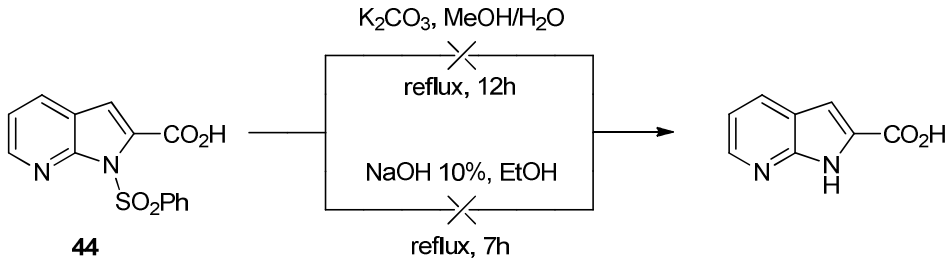


Schéma 58

Nous avons donc exposé le composé **44** à 3 équivalents de *tert*-butylate de sodium dans le dioxane porté à 80°C en tube scellé. Après 24 heures, nous obtenons le produit de désulfonylation **45** avec un rendement de 90% (Schéma 59).

[137] Mendiola J., Baeza A., Alvarez-Builla J., Vaquero J.J. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4974

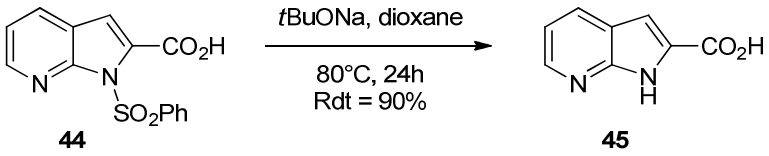


Schéma 59

Nous avons donc poursuivi et optimisé notre étude sur la désulfonylation du composé **44** en présence de *tert*-butylate de sodium. Nous avons d'abord déterminé la quantité nécessaire de *tert*-butylate de sodium. Nous avons fait varier le nombre d'équivalents de *tert*-butylate de sodium de 1,1 à 3, en étudiant également les conditions de chauffage, soit de façon classique en ballon, soit sous pression en tube scellé. Les résultats sont résumés dans le tableau 13.

Nombre d'équivalent de *t*BuONa	**Composé 45, rdt (%)**	
	Réaction en tube scellé	**Réaction en ballon**
3	90	75
2	75	89
1,5	**92**	**80**
1,1	79	79

Tableau 13

Pour les synthèses à suivre, nous engagerons donc 1,5 équivalent de *tert*-butylate de sodium en tube scellé. Nous avons également déterminé que 3 heures de chauffage suffisaient pour que la réaction atteigne son avancement maximal.

Avant de réaliser l'étude de l'impact du *tert*-butylate de sodium sur divers groupements fonctionnels, nous avons testé ces nouvelles conditions sur l'indole et le 7-azaindole non substitués, préalablement sulfonylés selon le mode opératoire décrit précédemment. Les résultats de cette réaction de désulfonylation sont résumés dans le tableau 14.

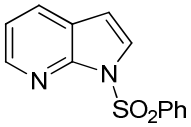
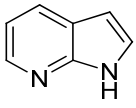
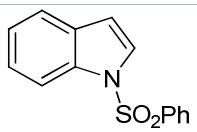
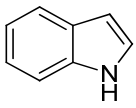
Substrat	**Produit de déprotection**	**Rdt (%)**
 **25**	 **46**	93
 **47**	 **48**	90

Tableau 14

III.1. En série indole ou 7-azaindole en présence de groupements acides, halogénés ou azotés

Ce résultat très intéressant nous a amené à étendre cette réaction sur des dérivés d'indoles et de 7-azaindoles présentant des groupements non sensibles vis-à-vis des conditions de désulfonylation en milieu basique. Ces composés présentent des groupements acides halogénés, aminés et nitrés (tableau 15).

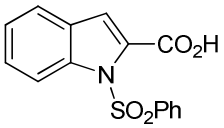
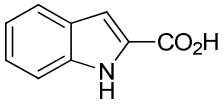
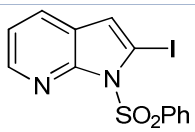
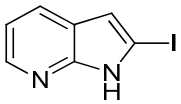
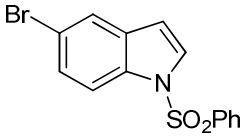
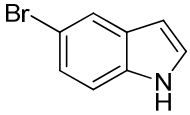
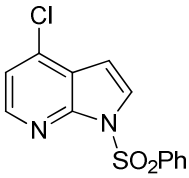
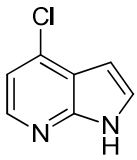
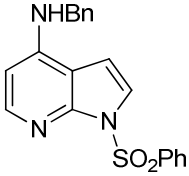
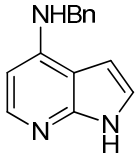
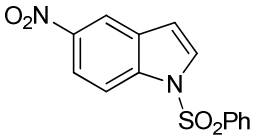
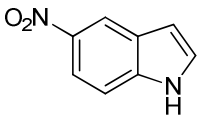
Substrat	Produit de déprotection	Rdt (%)
 **49**	 **50**	98
 **26**	 **43**	93
 **51**	 **52**	94
 **53**	 **54**	89
 **55**	 **56**	Quantitatif
 **57**	 **58**	98

Tableau 15

Tous les composés présentés dans cette étude ont été préalablement sulfonylés selon le mode opératoire décrit précédemment. Les composés **49**, **51** et **57** sont issus de la sulfonylation de composés commerciaux, les composés **53** et **55** de la sulfonylation de composés de la chimiothèque du laboratoire. Les composés escomptés sont obtenus avec d'excellents rendements.

III.2. En série indole ou 7-azaindole en présence de groupements esters

Il était ensuite intéressant de tester ces conditions sur des composés qui présentent des groupements sensibles vis-à-vis de conditions de déprotection en milieu basique. Nous nous sommes intéressés dans un premier temps aux dérivés substitués par un ester méthylique (tableau 16). Les composés **59** et **63** sont issus de la sulfonylation de composés issus de la chimiothèque du laboratoire et le composé **61** de la sulfonylation du produit commercial.

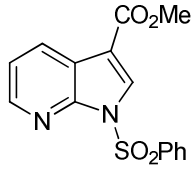
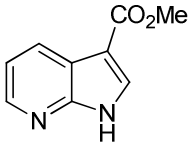
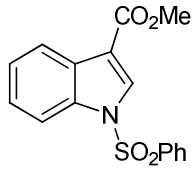
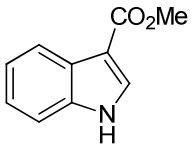
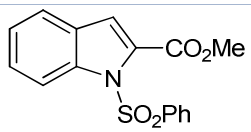
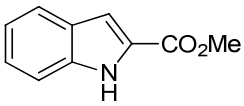
Substrat	Produit de déprotection	Rdt (%)
 **59**	 **60**	66
 **61**	 **62**	60
 **63**	 **64**	86

Tableau 16

Nous constatons que la désulfonylation s'effectue avec des rendements corrects (60 à 86%) mais surtout que dans ces conditions l'ester méthylique n'est pas hydrolysé.

III.3. En série indole ou 7-azaindole en présence de groupements amides ou lactones

Les fonctions amides peuvent être clivées en milieu basique entre autres en présence d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 4M à chaud. Nous avons testé nos conditions sur le composé **67** dont la synthèse sera décrite ultérieurement dans ce mémoire. La désulfonylation s'effectue avec un excellent rendement tout en conservant la liaison amide intacte (schéma 60).

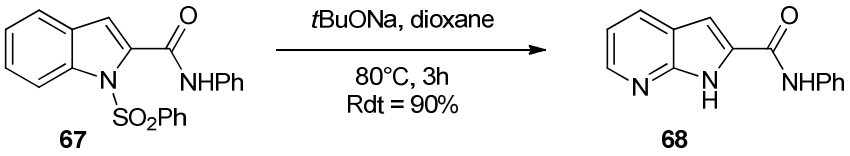


Schéma 60

Dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe du Pr. Maria-Dolores Pujol, ces conditions ont été testées sur des composés indoliques, protégés par un groupement phénylsulfonyle, présentant soit une fonction amide en position 2 de l'indole, soit une fonction lactone. [138] Plusieurs essais préalables de déprotection ont été réalisés sur ces molécules et ont tous conduit à la rupture de la liaison amide ou à l'ouverture de la lactone. Grâce aux conditions opératoires avec le *tert*-butylate de sodium, l'équipe du Pr. Pujol a ainsi pu obtenir les produits de désulfonylation sans rupture de la liaison amide et sans ouverture de la lactone avec de bons rendements (tableau 17).

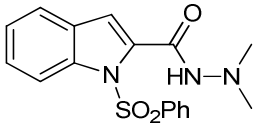
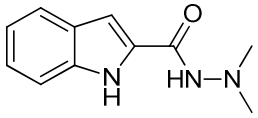
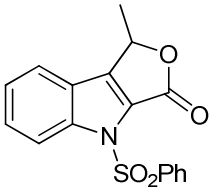
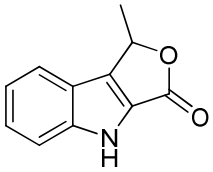
Substrat	Produit de déprotection	Rdt (%)
		79
		98

Tableau 17

III.4. En série azaindole en présence d'un groupement silyle

La désilylation de composés chimiques est largement décrites dans la littérature et se réalise dans la majorité des cas dans des conditions identiques à celles utilisées pour la désulfonylation : carbonate de potassium ou fluorure de tétrabutylammonium. Nous avons voulu vérifier si les conditions mises au point étaient compatibles avec ce groupement.

Nous avons alors introduit le groupement triméthylsilyle sur le composé **25** par l'action du diisopropylamidure de lithium, à -35°C, et du chlorure de triméthylsilyle. Conformément à la littérature,[101] le produit silylé **65** est obtenu avec un rendement correct de 67% (schéma 61).

[138] Romero M., Pujol M.D. *Synlett* **2003**, *2*, 173

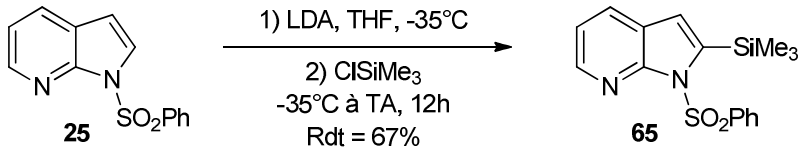


Schéma 61

Le traitement du composé **65** par le *tert*-butylate de sodium au sein du dioxane a conduit à la formation du produit de désulfonylation **66**, mais également au 7-azaindole, qui résulte à la fois d'une désulfonylation et d'une désilylation (schéma 62).

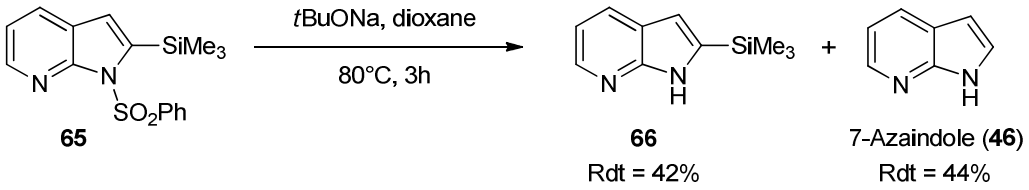


Schéma 62

Dans le but d'augmenter la formation du composé **66** par rapport à celle du 7-azaindole, nous avons testé d'autres conditions en modifiant soit le temps, soit la température. Les résultats de ces essais sont résumés dans le tableau 18.

Nombre d'équivalent de *t*BuONa	**T°C (mode de chauffage)**	**Temps (h)**	**Ratio 66/46 (%)**
1,5	80°C (tube scellé)	3	42/44
1,0	80°C (tube scellé)	3	40/41
1,5	30°C (tube scellé)	3	39/42
1,5	80°C	3	41/38
1,5	40°C	3	Aucune réaction
1,5	TA	8	Aucune réaction

Tableau 18

La synthèse en chauffage classique nous a permis de réaliser un suivi réactionnel au cours du temps et nous avons constaté que la formation des deux composés **66** et **46** était simultanée.

Nous avons ainsi pu démontrer que la *N*-désulfonylation pouvait être réalisée en présence de *tert*-butylate de sodium au sein du dioxane, et que cette méthode était compatible des groupements fonctionnels tels que les esters, les amides, les silyles et les lactones, groupements hydrolysés dans des conditions en milieu basique ou en présence de fluorure.[139]

[139] Chaulet C., Croix C., Basset J., Pujol M.D., Viaud-Massuard M.C. *Synlett*, **2010**, *10*, 1481

IV. Synthèse de dérivés en position 2 à partir de l'acide carboxylique

Le deuxième objectif pour l'élaboration de molécules modulatrices de la production de cytokines pro-inflammatoires était d'introduire l'enchaînement inverse carbonyle-azote. Celui-ci sera alors réalisé à partir de l'acide 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique par réaction de couplage peptidique. Afin d'obtenir les motifs sulfonamides, deux voies d'accès peuvent être envisagées (schéma 63). Dans un premier temps, nous pouvons imaginer l'introduction de chaque motif séparément, en débutant par le couplage de l'aniline, puis la sulfonylation par l'acide chlorosulfonique et enfin la substitution nucléophile par diverses amines de type pipérazine, morpholine ou thiomorpholine. La deuxième voie d'accès consisterait en l'introduction directe des amines sulfonylées **35** à **42**.

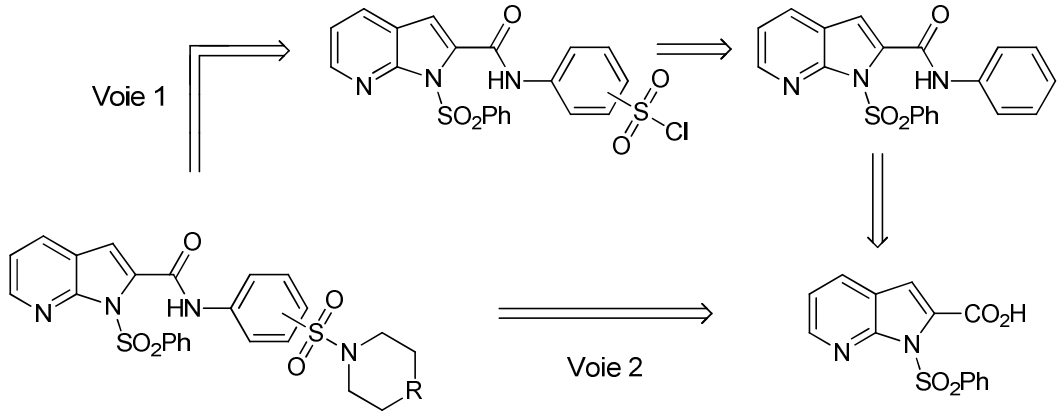


Schéma 63

IV.1. Introduction de l'enchaînement carbonyle-azote

IV.1.1. A partir de l'aniline

IV.1.1.1. Réaction de couplage peptidique

Afin de mettre les conditions de couplage au point, nous avons tout d'abord engagé l'acide 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **44** avec une amine aromatique

simple, l'aniline. Nous avons testé des conditions classiques de couplage peptidique mettant en jeu le 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarboiimide et la 4-diméthylaminopyridine au sein du dichlorométhane. Aucune réaction n'est observée après 24 heures et nous récupérons l'intégralité des produits de départ (schéma 64).



Schéma 64

Plusieurs études ont rapporté l'utilisation du réactif benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate (PyBop) comme activateur de la fonction acide. En effet ce réactif est particulièrement efficace lors de couplage peptidique entre une amine et un acide porté par des hétérocycles.[140] Nous avons donc réalisé cette synthèse en présence de PyBop, de *N*,*N*-diisopropyléthylamine au sein de la *N*,*N*-diméthylformamide à température ambiante pendant 24 heures. Nous avons obtenu le produit de couplage attendu **67**, mais également le produit de couplage **68** présentant la perte du groupement benzènesulfonyle (schéma 65).

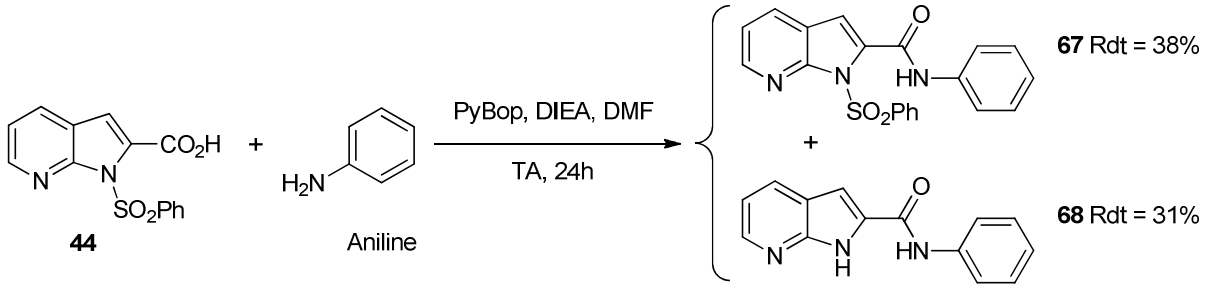


Schéma 65

IV.1.1.2. Réaction avec l'acide chlorosulfonique

Les composés **69** et **70** ont été engagés en présence d'acide chlorosulfonique afin d'introduire le groupement sulfonyle en *para* de l'amide nouvellement généré. Ces conditions ne nous ont

[140] (a) Moriarty K.J., Winters M., Qiao L., Ryan D., DesJarlis R., Robinson D., Cook B.N., Kashem M.A., Kaplita P.V., Liu L.H., Farrell T.M., Khine H.H., King J., Pullen S.S., Roth G.P., Magolda R., Takahashi H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5537

(b) Linder J., Blake A.J., Moody C.J. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3908

(c) Minassian F. *C.R. Chimie* **2005**, *8*, 859

pas permis d'obtenir les produits sulfonylés escomptés, mais ont conduit à la dégradation des produits de départ (schéma 66).

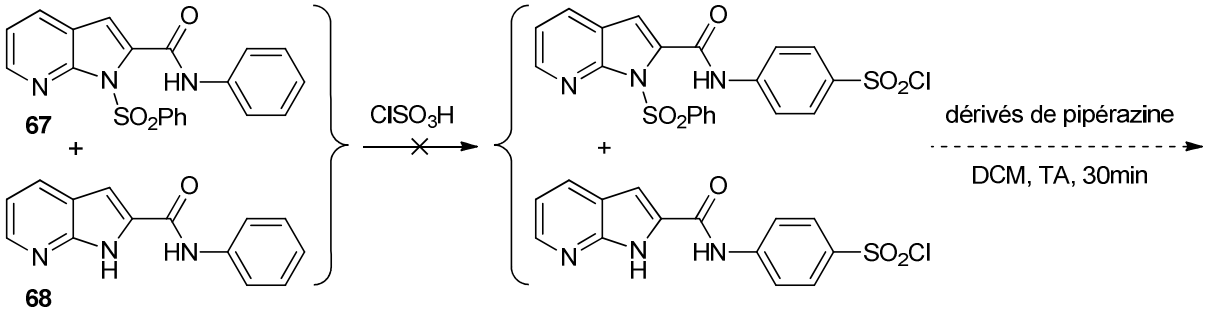


Schéma 66

Compte-tenu du résultat précédent et de la difficulté à introduire le groupement sufonyle, nous avons envisagé une autre voie d'accès qui consiste à coupler les dérivés nitrés commerciaux chlorosulfonylés, dont la fonction nitro peut être réduite.

IV.1.2. A partir de chlorure de nitrobenzène-1-sulfonyle

Le chlorure de 4-nitrobenzène-1-sulfonyle est réduit en conditions douces en présence de chlorure stanneux dihydraté au reflux d'un mélange méthanol/dichlorométhane, pour aboutir au chlorure de 4-aminobenzènesulfonyle **69** avec un rendement médiocre (schéma 67).

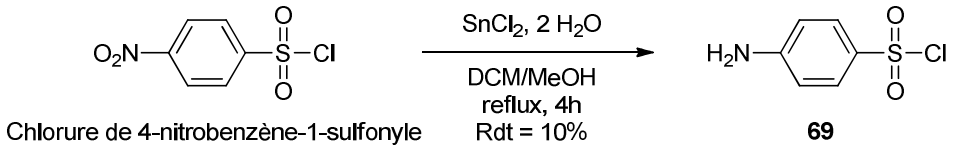


Schéma 67

L'introduction de l'amine **69** sur le composé **44** par l'action du PyBop en présence de *N*,*N*-diisopropyléthylamine au sein de la *N*,*N*-diméthylformamide s'est révélée infructueuse, mais sans dégradation du milieu réactionnel (schéma 68).

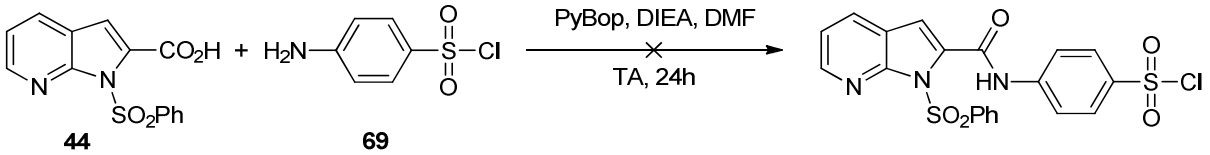


Schéma 68

Cette voie de synthèse n'a pas abouti au produit désiré, nous envisageons en dernier lieu l'introduction des amines sulfonylées **35** à **42** (figure 29).

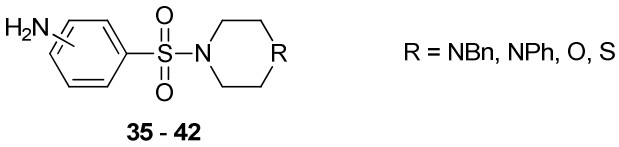


Figure 29

IV.1.3. A partir des amines sulfonylées 35 à 42

Nous avons donc testé notre dernière hypothèse, à savoir l'introduction des amines fonctionnalisées par les motifs pipéraziniques. Nous avons dans un premier temps engagé deux composés présentant la fonction amine en position 4 du cycle aromatique et un groupement phényle ou benzyle sur l'azote terminal de la pipérazine. L'action du PyBop avec ces amines n'a pas permis d'obtenir les produits de couplage désirés (schéma 69).

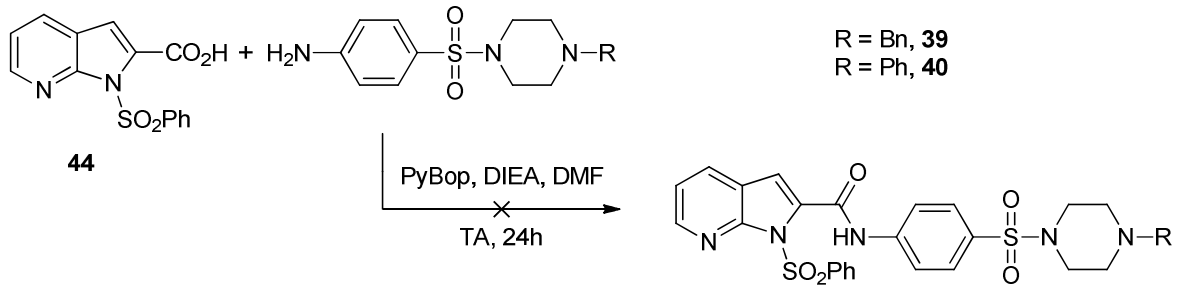


Schéma 69

Nous supposons que la présence du groupement sulfonyle en *para* de l'amine permet une délocalisation des électrons sur le cycle aromatique créant un intermédiaire moins réactif pour la réaction de couplage peptidique (schéma 70).

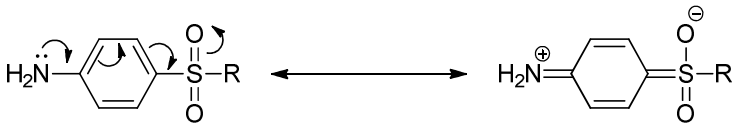


Schéma 70

Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons alors testé les composés présentant la fonction amine en *meta* du groupement sulfonyle (schéma 71). Les produits de couplages avec les amines **36** à **38** ont été obtenus selon les conditions décrites précédemment avec des rendements moyens (tableau 19), mais la réaction est également accompagnée de la perte du sulfonyle (schéma 71).

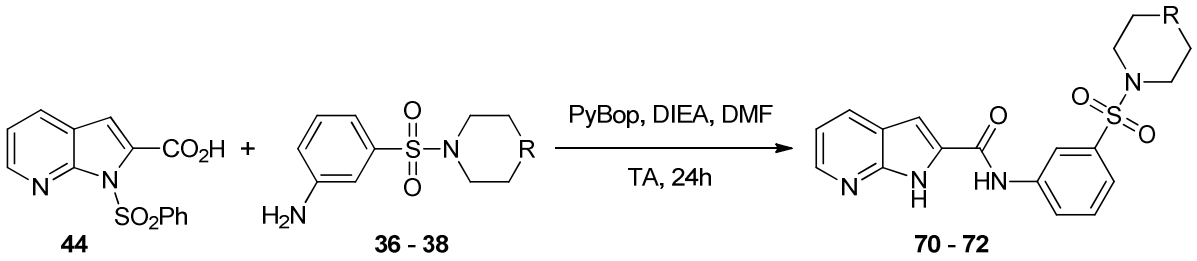


Schéma 71

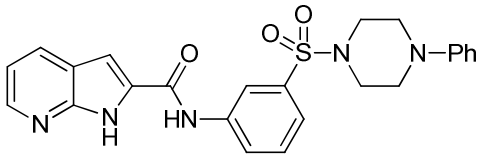
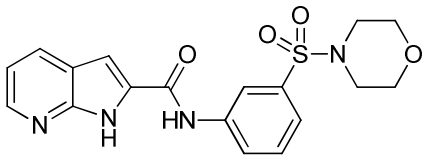
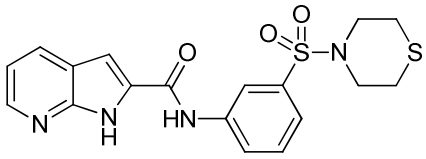
R	Produit	Rdt (%)
N-Ph (**36**)	 **70**	34
O (**37**)	 **71**	30
S (**38**)	 **72**	31

Tableau 19

Grâce aux conditions opératoires mises au point, nous avons pu introduire des amines fonctionnalisées par des motifs pipérazines. Ces composés présentent un enchaînement azote-carbonyle, un fragment phénylsulfonamide et des dérivés pipéraziniques ou morpholiniques, qui sont des motifs importants pour l'élaboration de nouveaux composés à potentiel régulateur de TNF-α.

IV.2. Synthèse d'un tricycle de type hydantoïne

Nous avons envisagé de synthétiser des analogues tricycliques de type hydantoïnes des molécules **70** à **72** (schéma 72) afin d'étudier l'impact d'une structure rigidifiée sur l'activité pharmacologique en terme de production des cytokines pro-inflammatoires.

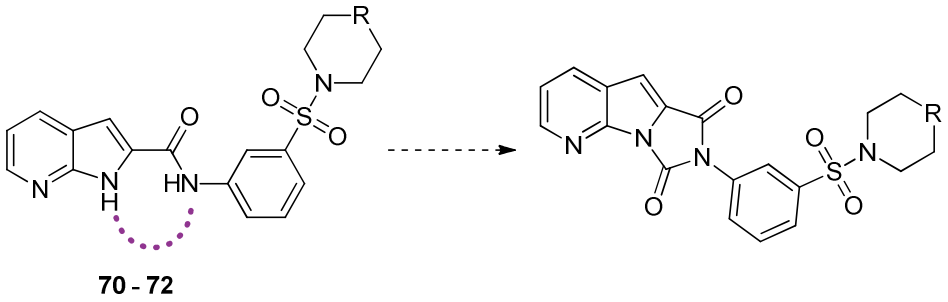


Schéma 72

IV.2.1. Schéma rétrosynthétique

Le tricycle sulfonylé analogue des composés **70** à **72** peut être envisagé à partir de l'acide 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **45** ou de son analogue en ester éthylique. Après cyclisation au moyen d'un isocyanate, l'obtention du tricycle en série NH permettra par la suite des réactions de couplage aminant avec des dérivés halogénés sulfonylés (schéma 73).

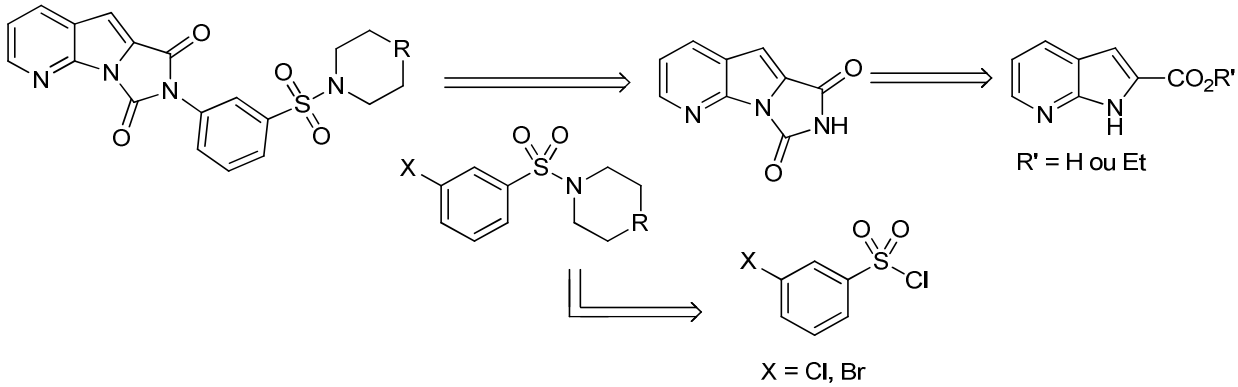


Schéma 73

Nous nous sommes intéressés dans un premier temps aux réactions de cyclisation à partir de l'acide 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **45**.

IV.2.2. Réaction de cyclisation à partir de l'acide 45

Alagille[141] a rapporté une méthode de cyclisation à partir de l'acide indoline-2-carboxylique par l'action d'isocyanate de potassium en milieu acide aqueux (schéma 74).

[141] Alagille D., Thèse de l'Université d'Orléans, **2002**

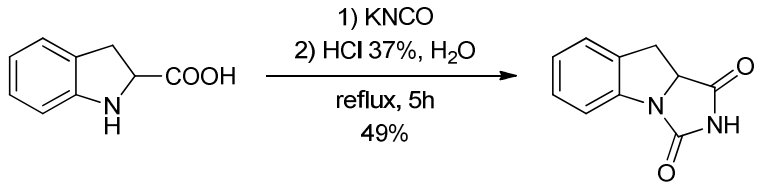


Schéma 74

Nous avons donc envisagé cette synthèse sur l'acide 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **45** avec l'isocyanate de potassium ou le phénylisocyanate. Cette méthode ne nous a permis d'obtenir les hydantoïnes escomptées, le produit de départ est récupéré (schéma 75).

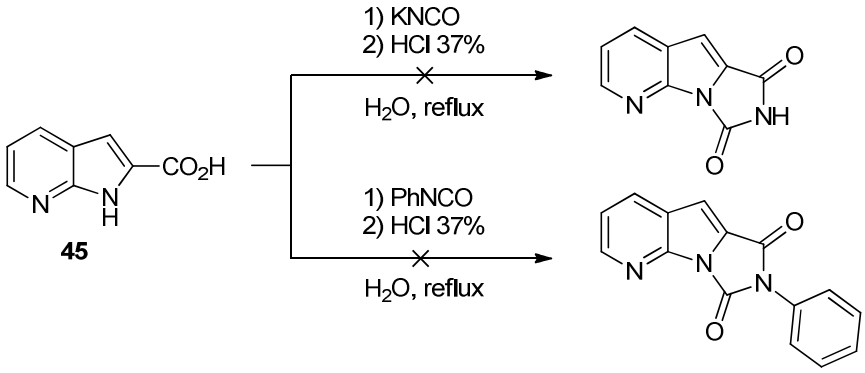


Schéma 75

Ces conditions ne nous ont pas permis d'obtenir les composés escomptés. Plusieurs études rapportant la synthèse de tricycles à partir d'ester, nous avons alors envisagé la cyclisation à partir du 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle.

IV.2.3. Réaction de cyclisation à partir du 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle

IV.2.3.1. Synthèse de l'ester

Pour réaliser cette synthèse, nous avons traité l'acide 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **44** par de l'acide sulfurique au sein de l'éthanol. L'estérification s'est produite avec 85% de rendement, mais l'ester éthylique **73** obtenu est sous la forme désulfonylée (schéma 76).

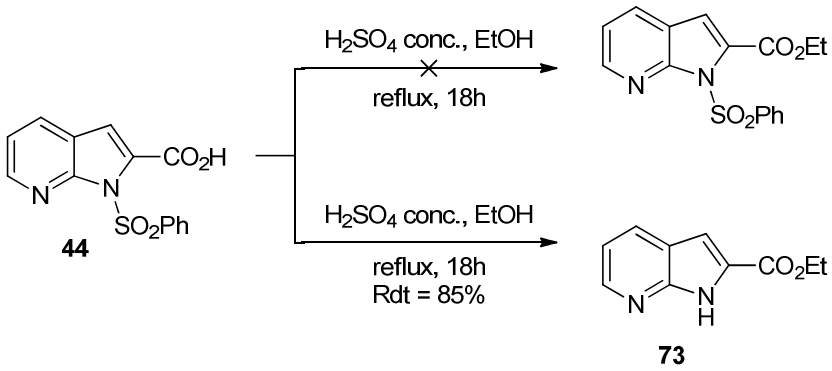


Schéma 76

Cette voie permet l'accès en une seule étape à l'ester **73** déprotégé. Nous avons également réalisé ces conditions sur l'acide 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **45**, mais celle-ci donne accès à l'ester avec un moins bon rendement (schéma 77).

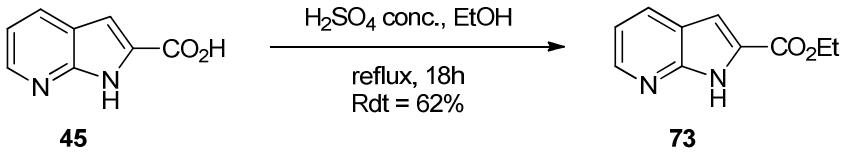


Schéma 77

L'ester **73** obtenu, nous pouvons l'engager dans des réactions de cyclisation.

IV.2.3.2. Réaction de cyclisation à partir du phénylisocyanate

Papadopoulos *et al.*[142] ont synthétisé un tricycle à partir de l'ester éthylique en position 2 de l'indole en présence de phénylisocyanate et de triéthylamine (schéma 78).

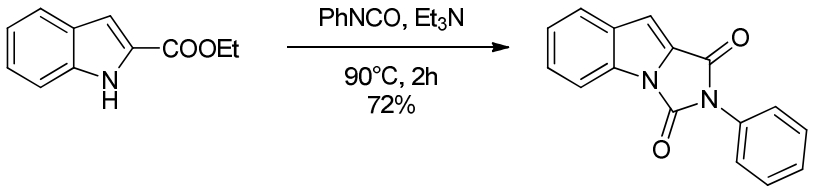
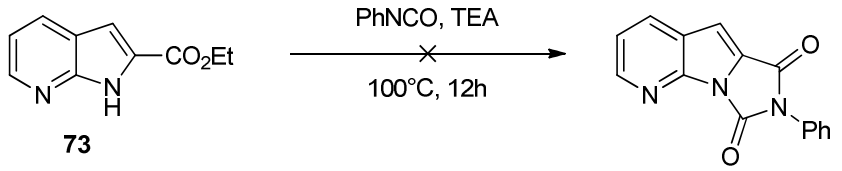


Schéma 78

[142] Papadopoulos E.P., Bedrosian *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 4551

Nous avons testé les conditions de Papadopoulos *et al.* sur le 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle **73**. Aucune réaction n'est observée, l'ester est intégralement récupéré (schéma 79).



73

Schéma 79

D'autres conditions ont été mises au point par Corey *et al.*[143] en prenant comme substrat l'indoline-2-carboxylate d'éthyle. Cette synthèse se réalise en deux étapes : l'introduction sur l'azote du phénylisocyante, puis la cyclisation intramoléculaire en milieu basique par l'action du méthoxyde de sodium (schéma 80).

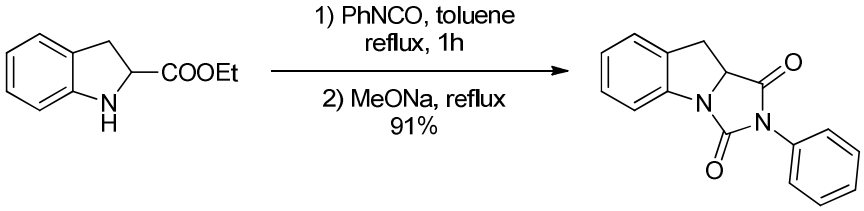
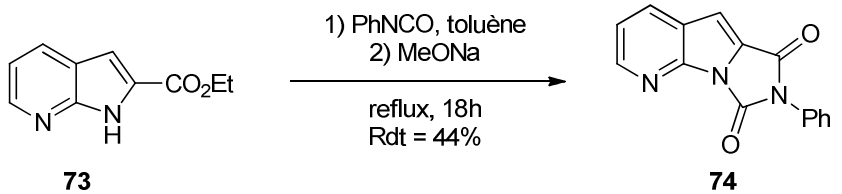


Schéma 80

Nous réalisons ces conditions opératoires sur l'ester **73** et observons la formation du tricycle désiré avec un rendement moyen de 44% (Schéma 81).



73 **74**

Schéma 81

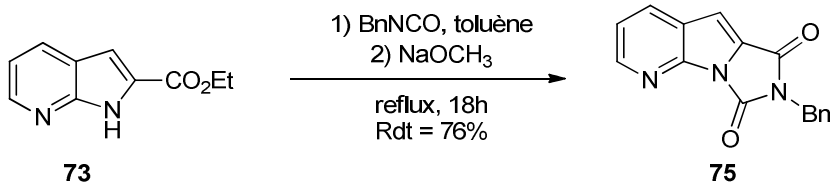
Les conditions opératoires mises au point nous permettent d'envisager l'introduction d'un benzylisocyanate. Le groupement benzyle une fois introduit pourra par son hydrogénolyse conduire à l'amine correspondante.

[143] Corey E.J., McCaully R.J., Sachdev H.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 2476

IV.2.3.3. Réaction de cyclisation à partir du benzylisocyanate

- Réaction de cyclisation :

L'action du benzylisocyanate sur l'ester **73** conduit à la formation du tricycle benzylé **75** avec un rendement de 76% (schéma 82).



73 **75**

Schéma 82

- Hydrogénolyse du groupement benzyle :

Des réactions classiques de débenzylation ont été réalisées en présence de palladium sur charbon sous hydrogène, au sein du méthanol, du dichlorométhane ou d'un mélange entre ces deux solvants. Aucune réaction n'est observée ; dans chacun des cas, le produit de départ est récupéré (schéma 83).

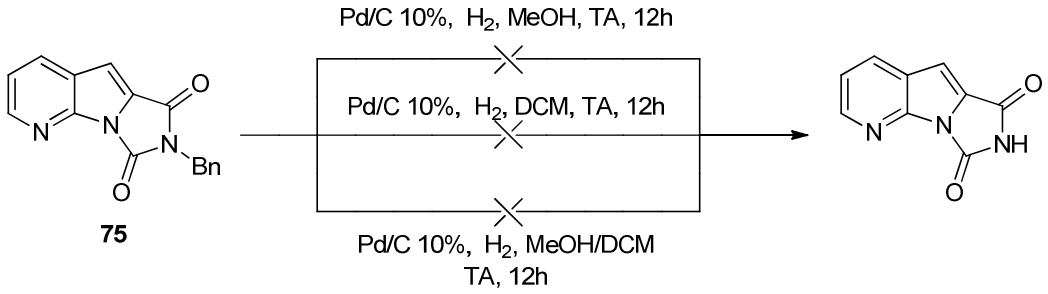


Schéma 83

Haddach *et al.*[144] ont décrit une nouvelle méthode de *N*-débenzylation d'hétérocycles aromatiques en mettant en œuvre du *tert*-butylate de potassium et du diméthylsulfoxyde en quantité catalytique, au sein du tétrahydrofurane (schéma 84).

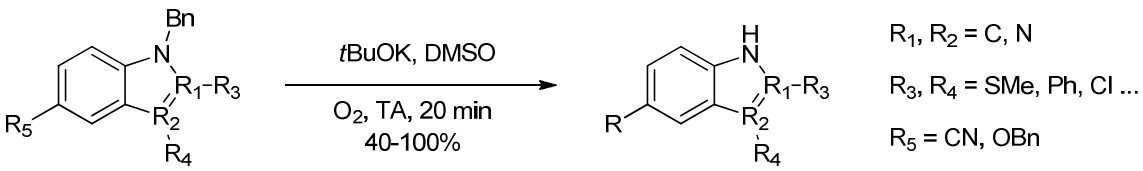


Schéma 84

[144] Haddach A.A., Kelleman A., Deaton-Rewolinski M.V. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 399

Plus récemment, d'autres conditions décrites par Carniato *et al.*[145] dans un brevet ont été mises au point, où la débenzylation d'un phthalimide s'effectue en présence de chlorure d'aluminium au sein du toluène (schéma 85).

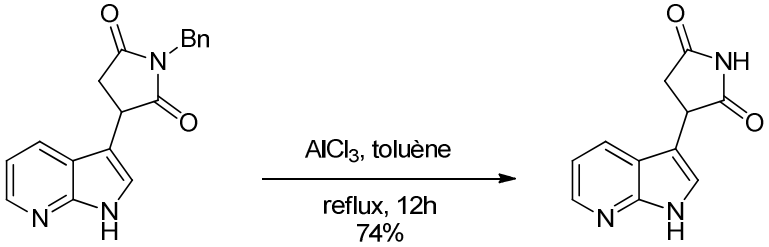


Schéma 85

Ces deux conditions opératoires ont été réalisées sur le tricycle benzylé **75**, mais ne nous ont permis d'obtenir le produit de débenzylation, le produit de départ est intégralement récupéré (schéma 86).

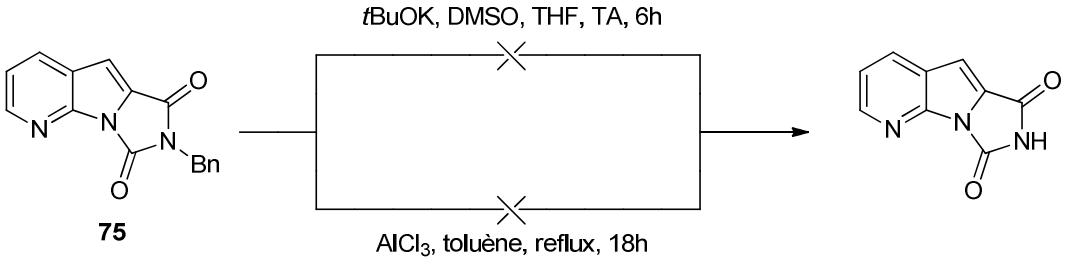


Schéma 86

Aux vues des résultats décevants sur les essais de débenzylation, nous pouvons entrevoir d'autres schémas de synthèse. Il est possible d'imaginer l'introduction d'un isocyanate sulfonylé, mais également la cyclisation intramoléculaire des composés **70** à **72** par le traitement au 1,1'-carbonyldiimidazole. Des études sont en cours de réalisation au sein du laboratoire.

[145] Carniato D., Schultz M., Roche D., Hallakou-Bozec S. **2009**, WO2009/059666

RESULTATS PHARMACOLOGIQUES

Dans le but d'analyser correctement les activités pharmacologiques des composés synthétisés, il est important de les comparer aux molécules de référence, la thalidomide et le lénalidomide. C'est dans ce sens que nous avons envisagé la resynthèse du lénalidomide, molécule protégée par un brevet. La thalidomide est quant à elle disponible commercialement.

Ce projet de thèse se trouve à l'interface de deux disciplines scientifiques : la chimie et la biologie, et a pour but d'élaborer des molécules d'intérêt qui vont permettre d'élucider et de comprendre des mécanismes biologiques. Ceci a permis d'établir des collaborations avec l'équipe du Pr. Hervé Watier pour l'étude pharmacologique des molécules sur les cellules NK, et l'équipe du Dr. Jean-Claude Lecron pour l'analyse biologique des composés synthétisés sur les cytokines pro-inflammatoires : le TNF-α et l'IL-6. L'élaboration et la conception de ces nouvelles molécules ont été guidées par la mise en œuvre de nouvelles méthodologies synthétiques et en relation avec les résultats biologiques. Ces aller et retour nous ont permis d'orienter nos recherches durant ces trois années.

Ainsi pour une meilleure appréhension et compréhension du contexte biologique de ma thèse, il m'a paru nécessaire de bénéficier d'une formation. J'ai donc suivi, tout à fait au début de ma thèse, un module de 20 heures d'Immunologie à la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Tours. Ainsi, j'ai pu mieux connaître les anticorps monoclonaux, leur structure, leur nomenclature et leurs mécanismes d'action d'une manière générale. Ces quelques points seront décrits dans cette partie.

Afin de comprendre les résultats pharmacologiques obtenus et de les interpréter au mieux pour chaque étude menée, j'ai également assisté aux tests biologiques effectués à l'Hôpital Bretonneau de Tours pour l'étude des cellules NK, et au Pôle Biologie et Santé de l'Université de Poitiers pour l'étude des cytokines pro-inflammatoires.

I. Synthèse du lénalidomide

La synthèse du lénalidomide est très peu décrite dans la littérature. Seuls Müller *et al.*[146] ont présenté succinctement dans une publication la synthèse de cette molécule. Cette synthèse s'articule en deux étapes, tout d'abord la synthèse de la 3-aminopipéridine-2,6-dione, puis la condensation de cette dernière sur le 2-méthyl-3-nitrobenzoate de méthyle.

I.1. Synthèse du motif 3-aminopipéridine-2,6-dione **77**

La synthèse de ce fragment a été largement décrite[147] dans la littérature à partir de la *Nα*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-L-glutamine. En effet, la 3-aminopipéridine-2,6-dione est également nécessaire à la synthèse de la thalidomide. La majorité des études rapportent que la première étape de cette synthèse est réalisée dans des conditions de couplage peptidique au moyen du 1,1'-carbonyldiimidazole et de la 4-diméthylaminopyridine, en présence ou non de triéthylamine, au sein du tétrahydrofurane. Nous avons donc réalisé cette synthèse, mais aucune réaction n'est observée (schéma 87). Nous avons également testé d'autres conditions de couplage peptidique mettant en œuvre la triéthylamine, le *N*-hydroxybenzotriazole et le dicyclohexylcarbodiimide au sein du chloroforme. De nouveau, aucune réaction n'est observée (schéma 87).

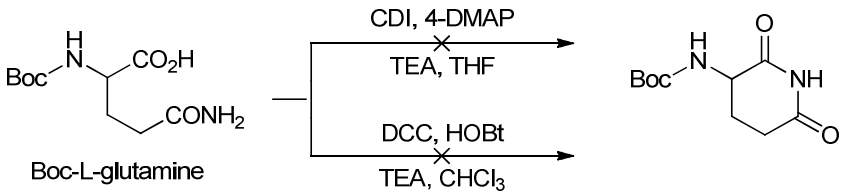


Schéma 87

Nous avons alors réalisé la synthèse au sein du toluène et avons ainsi pu obtenir le *tert*-butyl(2,6-dioxopipéridin-3-yl)carbamate **76** avec un rendement de 72% (schéma 88).

---

[146] Muller, G. W.; Chen, R.; Huang, S.-Y.; Corral, L. G.; Wong, L. M.; Patterson, R. T.; Chen, Y.; Kaplan, G.; Stirling, D. I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1625

[147] (a) Périno S., Contino-Pépin C., Satchi-Fainaro R., Butterfield C., Pucci B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 412

(b) Capitosi S.M., Hansen T.P., Brown M.L. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2865

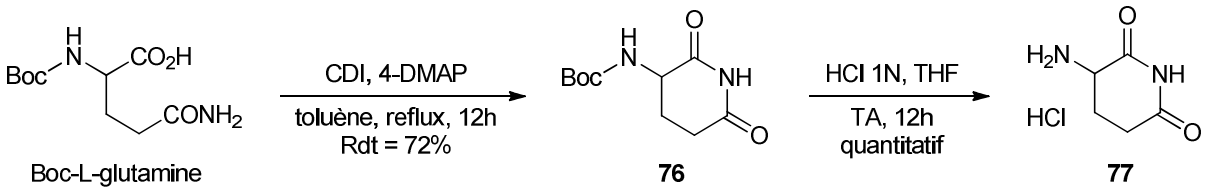


Schéma 88

La deuxième étape pour l'obtention de la 3-aminopipéridine-2,6-dione **77** réside en la déprotection du groupement *tert*-butyloxycarbonyle. Cette étape est également très décrite dans la littérature[142] et est majoritairement réalisée au moyen d'acide trifuoroacétique avec ou sans cosolvant. Nous avons réalisé cette synthèse, mais n'avons obtenu qu'un résidu huileux non purifiable. Nous avons donc choisi de déprotéger le groupement *tert*-butyloxycarbonyle par l'action d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1N dans le tétrahydrofurane, conduisant au composé **77** avec un rendement quantitatif (schéma 88).

I.2. Réaction de cyclisation

La formation du lénalidomide a été envisagée dans la littérature à partir du 2-méthyl-3-nitrobenzoate de méthyle. Ce composé va subir une bromation au moyen du *N*-bromosuccinimide et de l'azobisisobutyronitrile en quantité catalytique au reflux du tétrachlorure de carbone. Puis la 3-aminopiperidine-2,6-dione **77** pourra être condensée sur le composé **78** à l'aide de triéthylamine dans un mélange acétonitrile/diméthylsulfoxyde. La dernière étape consiste en la réduction du groupement nitro en groupement amino. Cette réaction est réalisée par hydrogénation à l'aide du palladium sur charbon 10% au sein d'un mélange méthanol/*N*,*N*-diméthylformamide (schéma 89). Le rendement global sur 3 étapes est de 23%.

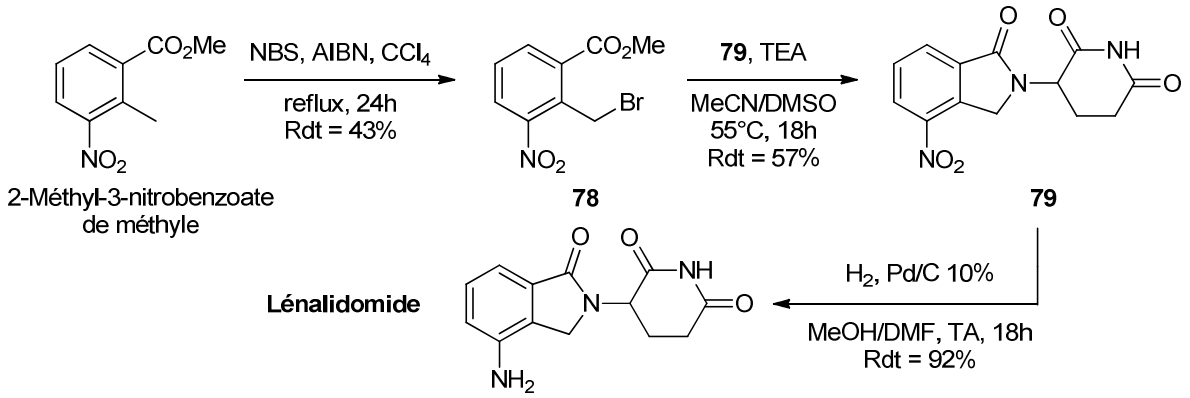


Schéma 89

II. Etude sur les cellules NK

Nous avons énoncé précédemment que la reconnaissance d'une cellule cible par un anticorps pouvait être accompagnée par le recrutement des cellules NK. En effet celles-ci possèdent à leur surface cellulaire des récepteurs, nommés CD16 ou FcγRIII, capables de reconnaître la portion Fc des anticorps fixés sur la cible. Cette reconnaissance des cellules NK permet ainsi une réponse cellulaire qui conduira à la lyse de la cellule. Parmi les réponses cellulaires, deux phénomènes peuvent être observés : la dégranulation de la cellule NK et donc l'expression des marqueurs de la dégranulation – le CD107 – et la synthèse de cytokines dont l'interféron IFN- γ (figure 30).

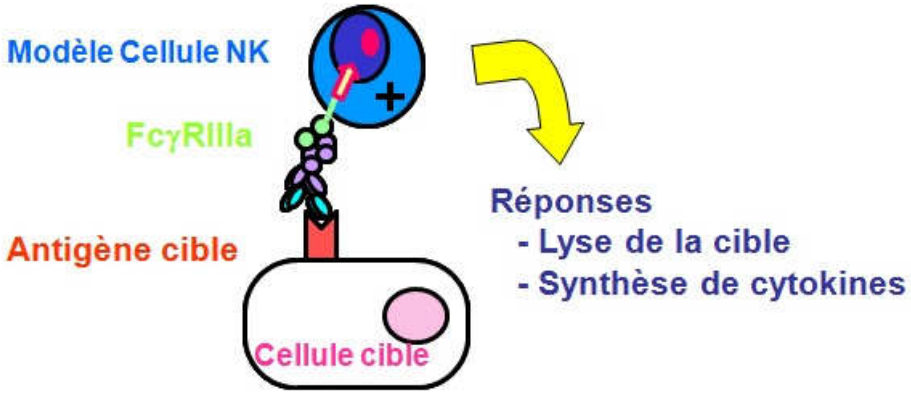


Figure 30

Nous avons alors établi un modèle afin de quantifier la réponse des cellules NK vis-à-vis d'une exposition à divers composés chimiques. Ce modèle fait intervenir un anticorps monoclonal qui pourra reconnaître le CD16 des cellules NK (Figure 31). L'expression de CD107 et de l'IFN-γ avec ou sans ajout de molécules de synthèse sera évaluée par cytométrie en flux.

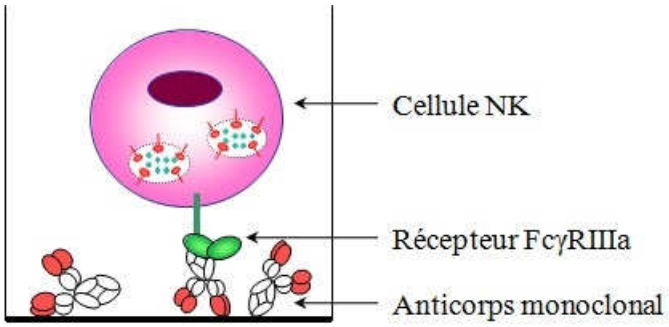


Figure 31

II.1. Les anticorps monoclonaux thérapeutiques

Les anticorps monoclonaux thérapeutiques sont des médicaments dont l'importance, principalement en cancérologie, ne cesse de croître, en terme d'utilisation. La plupart d'entre eux sont conçus sur le format des IgG1 humaines dérivant d'anticorps murins. Le terme « monoclonal » vient du caractère mono-spécifique des anticorps. En effet, ils reconnaissent un type unique de site antigénique et sont homogènes contrairement aux anticorps polyclonaux.

La structure générale d'un anticorps s'articule autour de deux chaînes, légère (L) et lourde (H), chacune divisée en deux domaines, constant (C) et variable (V). L'association d'un domaine variable de chaîne lourde et d'un domaine variable de chaîne légère constitue le paratope ou site de reconnaissance de l'antigène. Les domaines constants des chaînes lourdes constituent la partie dite Fc des anticorps, impliquée notamment dans la reconnaissance du récepteur CD16 des cellules NK (figure 32).

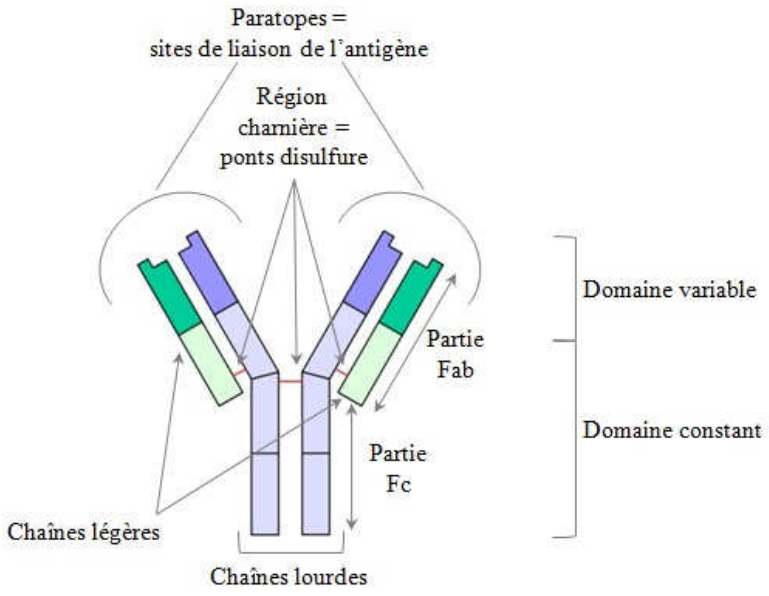


Figure 32

Les anticorps monoclonaux utilisés en thérapeutique ont dans leur nomenclature un suffixe commun : MAB pour Monoclonal AntiBody. Selon leur nature, ils ont été classés en quatre familles, dont chacune possède une syllabe bien définie :

- les anticorps murins portent le suffixe **MOMAB**
- les anticorps chimériques Homme/souris sont identifiés par le suffixe **XIMAB**
- les anticorps humanisés portent le suffixe **ZUMAB**
- les anticorps entièrement humains ont dans leur dénomination le suffixe **MUMAB**

Les tests biologiques réalisés sur les cellules NK font intervenir l'anticorps thérapeutique Infliximab. C'est un anticorps chimérique anti-TNF-α qui a été développé et utilisé en clinique pour le traitement de deux pathologies inflammatoires : la polyarthrite rhumatoïde et la maladie de Crohn, dans lesquelles le TNF-α joue un rôle crucial. Sa dénomination commerciale est le REMICADE®.

II.2. Protocole du test biologique

II.2.1. Les lignées cellulaires NK

Dans cette étude, les cellules NK utilisées sont issues de lignées cellulaires NKL. Elles ont été cultivées dans un milieu de culture composé de RPMI 1640 complété par 40 mL de sérum humain, 5 mL de glutamine, 5 mL de pénicilline, 5 mL de streptomycine et 167 µL d'IL-2.

II.2.2. Les anticorps monoclonaux

Deux anticorps monoclonaux ont été utilisés dans cette étude : un anticorps thérapeutique, l'infliximab et un anticorps anti-CD16 clone 3G8.

II.2.3. Evaluation de la cytotoxicité des composés chimiques.

Les cellules NKL dans leur milieu de culture RPMI sont mises en présence des composés chimiques à une concentration de 5 µg/mL. Ces composés sont préalablement solubilisés dans un mélange de tampon Phosphate Buffer Saline 10X (PBS) et de DMSO avec un pourcentage de DMSO minimum pour la solubilité des composés. La concentration finale des solutions en composés chimiques est de 1 mg/mL. Le PBS est une solution aqueuse composé de 80 g de chlorure de sodium, 2 g de chlorure de potassium, 9,17 g d'hydrogénophosphate de disodium et de 2 g de dihydrogénophosphate de potassium complétée à 1000 mL d'eau.

Après incubation pendant 72 heures à 37°C, les cellules NKL sont diluées avec le colorant Bleu de Trypan avec un rapport 1/1. C'est un colorant vital qui est internalisé dans la cellule. Lorsque les cellules sont vivantes, elles peuvent l'externaliser et sont alors incolores au microscope ; mais lorsqu'elles sont mortes, elles sont incapables d'externaliser le colorant et apparaissent donc en bleu au microscope. Ces cellules sont comptées au moyen de la cellule de Malassez, qui présente un quadrillage avec un volume bien défini (1 mm^3).

II.2.4. Sensibilisation de la plaque par les anticorps monoclonaux

Les plaques Nunc Maxisorp® de 96 puits ont été sensibilisées pendant 12 heures à 4°C par 100 µL de solutions à une concentration de 5 µg/mL des différents anticorps (Infliximab ou 3G8) préalablement mélangés ou non à une solution à une concentration de 0,5 mg/mL d'anticorps monoclonal co-stimulant ciblant le CD16, le NKG2D. La plaque est ensuite lavée 3 fois avec une solution de PBS TWEEN (45 µL de TWEEN 20 dans 100 mL de PBS), puis saturée 30 minutes avec une solution d'albumine sérique bovine (BSA) à 1% dans du PBS, et de nouveau lavée 3 fois avec du PBS-TWEEN avant utilisation.

II.2.5. Stimulation des cellules NKL

Les composés solubilisés sont ajoutés au milieu de culture à une concentration de 5 µg/mL. Les cellules sont ensuite incubées en présence d'un bloqueur de sécretion protéique, le GolgiPlug à raison de 1 µL par mL de solution cellulaire, de 5 µL d'anticorps anti-CD107-PC5 et 10 µL d'ISO PC5, pendant 4 heures à 37°C.

II.2.6. Marquage du CD107 et de l'IFN-γ

Après incubation, les cellules NKL ont été transférées dans des tubes de cytométrie. Les cellules ont été lavées avec 1 mL de tampon PBS, centrifugées 5 minutes à 1600 tr/min et incubées pendant 20 minutes à 4°C avec 270 µL d'une solution de perméabilisation cytofix/cytoperm. Après un lavage avec 1 mL d'une solution de lavage Perm/Wash, les cellules ont été centrifugées à 1600 tr/min pendant 5 minutes à 4°C, puis incubées 30 minutes à 4°C avec 10 µL d'anticorps anti-IFNγ-PE et 10 µL d'anticorps anti-CD107-PC5. Les cellules ont été de nouveau lavées avec 1 mL de la solution de lavage Perm/Wash et centrifugées à 1600 tr/min pendant 5 minutes à 4°C. Finalement le culot cellulaire est repris dans 400 µL de tampon PBS pour l'analyse des cellules en cytométrie en flux.

II.2.7. Analyse par cytométrie en flux

Les cellules ont été analysées avec un cytomètre XL (Beckman Coulter) en utilisant un logiciel d'acquisition et d'analyse EXPO 32®.

La cytométrie en flux est une technique permettant de faire défiler des particules, molécules ou cellules à grande vitesse dans le faisceau d'un laser, en les comptant et en les caractérisant.

C'est la lumière réémise (par diffusion ou fluorescence) qui permet de classer la population suivant plusieurs critères et de les trier.

Pour chaque expérience, un cytogramme est réalisé en fonction du nombre d'IFN-γ synthétisé, représenté en abscisse, et du nombre de marqueur CD107 exprimé, représenté en ordonnée. Le cytogramme est divisé en quatre cadrans (figure 33) :
- le cadran en bas à gauche où les cellules NKL sont IFN-γ négatives et CD107 négatives,
- le cadran en bas à droite où les cellules NKL sont IFN-γ positives et CD107 négatives,
- le cadran en haut à gauche où les cellules NKL sont IFN-γ négatives et CD107 positives,
- le cadran en haut à droite où les cellules NKL sont IFN-γ positives et CD107 positives.

Chaque cytogramme est étudié en fonction d'un cytogramme de référence caractérisé par l'absence de composés chimiques.

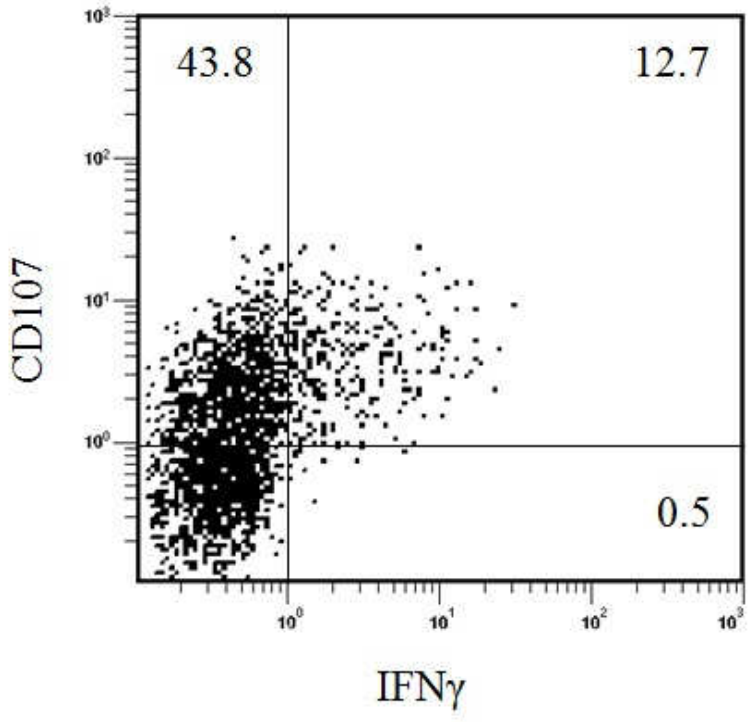


Figure 33 : Exemple d'un cytogramme présentant l'activité d'une cellule NKL stimulée par l'infliximab

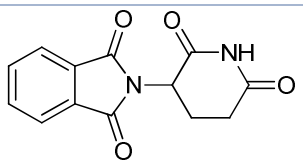
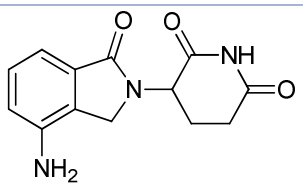
Les points présents dans chaque cadran sont comptés et un pourcentage est calculé par rapport au cytogramme de référence. Par souci de clarté, nous ne présenterons pas dans ce mémoire les résultats de chaque expérience sous forme de cytogrammes mais sous la forme d'un tableau présentant les différents pourcentages d'expression d'IFN-γ et de CD107.

II.3. Analyse des résultats biologiques pour l'expression du CD107 et la synthèse de l'IFN-γ

La thalidomide et le lénalidomide ainsi que 13 molécules synthétisées dans cette étude ont été testés. Nous avons également testé 15 molécules issues de la chimiothèque du laboratoire. Nous envisagions grâce à ces molécules de déterminer de nouveaux motifs intéressants pour l'élaboration de nouvelles molécules modulatrices de l'expression des cellules NK et ainsi de mieux comprendre le mécanisme d'immunomodulation.

Les tableaux suivants présentent les valeurs de pourcentage d'expression du CD107 et de l'IFN-γ des composés synthétisés, des composés de la chimiothèque et des IMiDs.

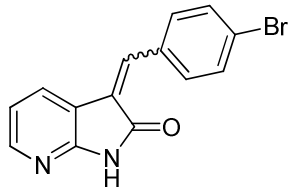
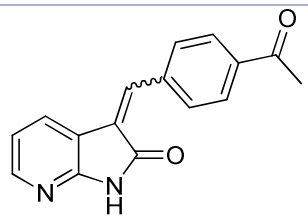
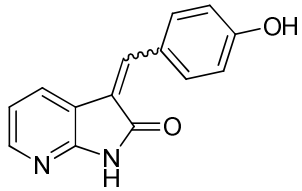
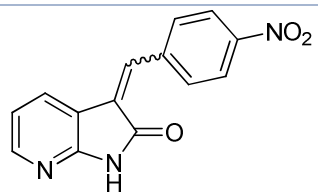
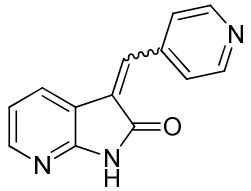
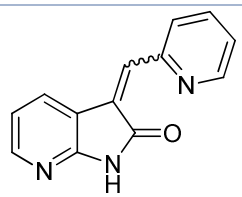
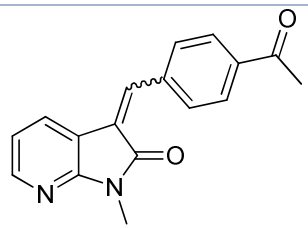
II.3.1. Les IMiDs

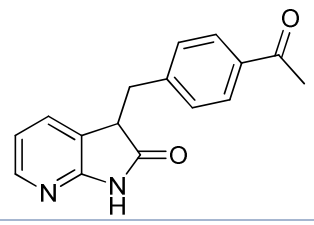
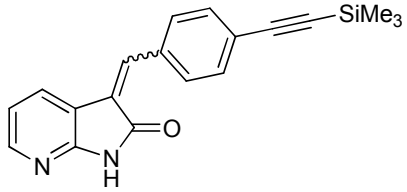
Composé	Structure	Cytotoxicité (pourcentage de mort cellulaire)	Expression du CD107 et IFNγ des cellules NKL stimulées par infliximab	Expression du CD107 et IFNγ des cellules NKL stimulées par 3G8
Thalidomide		-	2,1	6,8
Lénalidomide		-	-9,4	-3,6

Deux IMiDs ont été testés, la thalidomide et son analogue le plus actif décrit dans la littérature, le lénalidomide. Dans notre modèle moléculaire, ces deux composés n'induisent pas de réponse positive sur la dégranulation ou la synthèse d'IFN-γ. Le lénalidomide présente même une régulation négative de l'expression du CD107 et de l'IFN-γ. Malgré l'absence d'activité de ces deux composés, ces résultats sont tout de même encourageants. En effet, nous pouvons alors affirmer que le mécanisme d'action des IMiDs ne passe pas par la voie de la dégranulation membranaire ou de la synthèse de cytokines telles que l'IFN-γ.

II.3.2. En série 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine

II.3.2.1. Substitution en position 3

Composé	Structure	Cytotoxicité (pourcentage de mort cellulaire)	Expression du CD107 et IFNγ des cellules NKL stimulées par infliximab	Expression du CD107 et IFNγ des cellules NKL stimulées par 3G8
6		+35%	-	-
7		-	31,1	-6,0
8		-	-8,2	-2,3
9		-	0,4	13,7
10		-	-0,2	14,9
11		+71%	-	-
13		-	-12,0	1,8

14		-	-2,1	3,4
23		-	-1,4	4,6

Huit composés présentant une double liaison en position 3 ont été testés. Seul le composé **7** induit une augmentation de l'expression du CD107 et de l'IFN-γ des cellules NKL stimulées par l'anticorps thérapeutique (+31,1%).

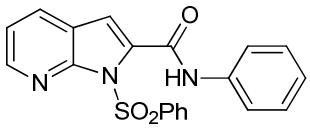
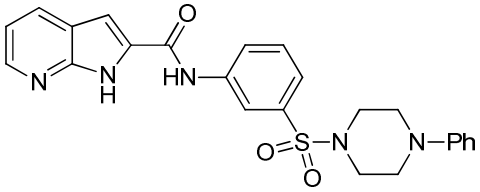
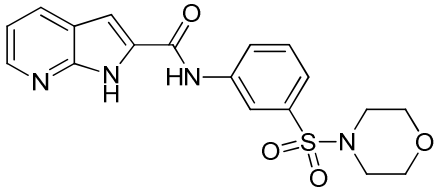
La méthylation de l'azote du noyau pyrrolo[2,3-*b*]pyridine engendre une nette baisse de l'activité des cellules NKL stimulées par infliximab (composé **13**, -12,0%).

L'étude de différents substituants introduits sur le cycle aromatique n'a pas abouti à l'obtention d'un composé plus actif que le composé **7**. Deux composés présentent de plus des effets cytotoxiques sur les cellules NKL (composé **6**, +35% de mort cellulaire, composé **11**, +71% de mort cellulaire).

Un analogue du composé **7** présentant la réduction de la double liaison a été testé (composé **14**). Celui-ci n'engendre pas de modification sur l'activité des cellules NKL.

Ainsi, le composé 3-(4-acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **7** semble être un composé pertinent dans l'élaboration de nouvelles molécules modulatrices de la dégranulation et de la synthèse d'IFN-γ des cellules NK.

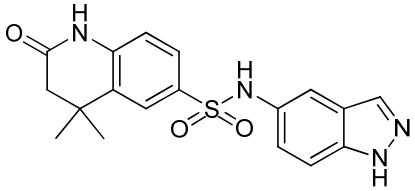
II.3.2.2. Substitution en position 2

Composé	Structure	Cytotoxicité (pourcentage de mort cellulaire)	Expression du CD107 et IFNγ des cellules NKL stimulées par infliximab	Expression du CD107 et IFNγ des cellules NKL stimulées par 3G8
67		+	-	-
70		+	-	-
71		+	-	-

Trois composés dérivés du 7-azaindole et issus d'un couplage peptidique en position 2 ont également été testés. Ceux-ci montrent des effets cytotoxiques sur les cellules NKL (composés **67**, **70** et **71**).

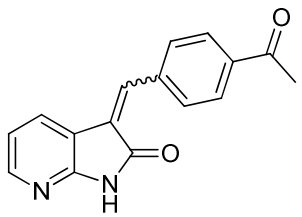
Ainsi l'hétérocycle 7-azaindolique substitué en position 2 n'est vraisemblablement pas un précurseur judicieux pour la synthèse de molécules modulatrices de l'expression des cellules NK.

II.3.3. Screening des composés issus de la chimiothèque

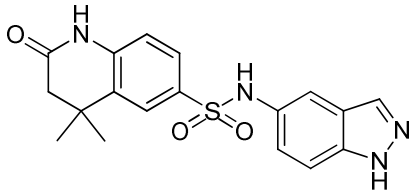
Composé	Structure	Cytotoxicité (pourcentage de mort cellulaire)	Expression du CD107 et IFNγ des cellules NKL stimulées par infliximab	Expression du CD107 et IFNγ des cellules NKL stimulées par 3G8
MCV14		-	13,7	4,3

Les quinze composés testés présentaient pour la majorité d'entre eux des hétérocycles azotés et des groupements sulfonyles. Seul le composé **MCV14** présente une faible augmentation de l'expression du CD107 et de l'IFN-γ des cellules NKL stimulées par l'infliximab (+13,7%). Ce composé, construit autour du noyau 4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-one, représente alors un précurseur intéressant dans l'élaboration de nouveaux composés modulateurs de l'expression des cellules NK.

Dans notre modèle cellulaire, les IMiDs n'ont aucune action sur les cellules NK, nous permettant ainsi de conclure que ces composés ne sont pas engagés dans ces voies de signalisation. Parmi les composés synthétisés, seul le composé **7** présente une activité intéressante sur la production des cytokines pro-inflammatoires. Il apparaît alors comme un bon candidat pour la stimulation des cellules NK. Il est également à noter que le composé **MCV14**, composé issu de la chimiothèque, présente une faible augmentation de la production de cytokines. Sa structure, dérivée de la dihydroquinoléinone *gem*-diméthylée couplée à un noyau 1*H*-indazole, laisse entrevoir quelques similitudes structurales avec les dérivés du 7-aza-2-oxindole et ainsi permet d'envisager de nouvelles pharmacomodulations (figure 34).



3-(4-Acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **7**



MCV14

Figure 34

III. Etude sur la production de TNF-α et d'IL-6 des cellules mononucléaires

Les tests biologiques permettant de mesurer l'expression des cytokines pro-inflammatoires sont réalisés selon la technique ELISA sur des cellules mononucléaires du sang.

III.1. Protocole du test biologique

III.1.1. Isolement et culture des cellules mononucléaires

Du sang périphérique est prélevé sur trois patients sains (avec leur accord au préalable) auquel est ajouté un anti-coagulant, l'héparine. Les cellules mononucléaires sont isolées par gradient de densité Ficoll, qui permet après centrifugation à 2500 tr/min pendant 20 minutes de concentrer ces cellules en un anneau. Cet anneau est soigneusement prélevé, lavé 2 fois et dilué avec un milieu de culture RPMI 1640 supplémenté avec 10% de sérum de veau fœtal (SVF), comme facteur de croissance, 100 UI/mL de pénicilline et 100 µg/mL de streptomycine.

III.1.2. Conditionnement des composés chimiques

Les composés testés sont préalablement solubilisés dans un minimum de DMSO complété par du PBS afin d'obtenir des solutions à différentes concentrations. Les composés sont donc testés à 100 µM, 10 µM et 1 µM.

III.1.3. Protocole du test ELISA

Pour le dosage ELISA du TNF-α, les plaques Nunc Maxisorp® de 96 puits ont été sensibilisées pendant 12 heures à température ambiante par 100 µL d'anticorps de capture du TNF-α dans 18 µL de tampon PBS à pH 7,4. La plaque est ensuite lavée 3 fois avec une solution de PBS/TWEEN à 0,05%, puis saturée 1 heure à température ambiante avec une solution d'albumine sérique bovine à 1% dans du PBS.

Pour le dosage ELISA de l'IL-6, les plaques Nunc Maxisorp® de 96 puits ont été sensibilisées pendant 12 heures à 4°C par 100 µL d'anticorps B-E8 dans 20 µL de tampon

carbonate à pH 9,6. La plaque est ensuite lavée 3 fois avec une solution de PBS/TWEEN à 0,05%, puis saturée 1 heure à température ambiante avec une solution de sérum de veau fœtal à 10% dans du PBS. Pour les deux dosages, les plaques sont de nouveau lavées 3 fois avec une solution de PBS TWEEN à 0,05% puis égouttées vigoureusement.

Les cytokines recombinantes IL-6 recombinante SERVA diluée dans du PBS 10% SVF et la TNF-α humaine recombinante diluée dans du PBS 1% BSA sont ensuite distribuées, et les échantillons de composés chimiques à différentes concentrations sont additionnés. Après incubation 2 heures à température ambiante pour le dosage de l'IL-6 et à 4°C pour le dosage du TNF-α, les plaques sont lavées 3 fois avec une solution de PBS TWEEN à 0,05%.

Les plaques sont ensuite sensibilisées 20 minutes à température ambiante par un deuxième anticorps, dit de détection, couplé à la biotine et par la streptavidine, enzyme qui présente une forte affinité pour la biotine et permet de rendre le produit de réaction détectable et mesurable grâce à l'apparition d'une coloration. Les plaques sont ensuite lavées 3 fois avec une solution de PBS TWEEN à 0,05%.

Enfin, la dernière étape est la révélation des anticorps fixés. Les plaques sont incubées à température ambiante et à l'obscurité pendant 20 minutes avec 100 µL d'une solution révélatrice contenant 10,4 mL d'hydrogénophosphate de disodium, 9,6 mL d'acide citrique, 20 mL d'eau distillée, 20 mg d'*ortho*-phénylènediamine et 16 µL d'eau oxygénée. L'apparition d'une coloration dans le substrat indique la présence de l'anticorps à doser. L'intensité de celle-ci est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration d'anticorps recherché.

L'utilisation d'un lecteur de densité optique permet l'obtention d'un résultat quantitatif. Le filtre utilisé pour la lecture de la densité optique avec l'*ortho*-phénylènediamine est de 490 nm. Ce type d'expérience nécessite l'arrêt de la réaction en ajoutant 50 µL d'acide sulfurique 3M. Après transformation des résultats bruts, nous pouvons exprimer les valeurs des concentrations d'expression des cytokines pro-inflammatoires pour chaque expérience.

III.2. Analyse des résultats biologiques pour l'expression du TNF-α et de l'IL-6

La thalidomide, le lénalidomide ainsi que 6 molécules synthétisées dans cette étude ont été testés. La figure suivante présente les structures chimiques des composés synthétisés testés pour leur capacité à inhiber la production des cytokines pro-inflamatoires :

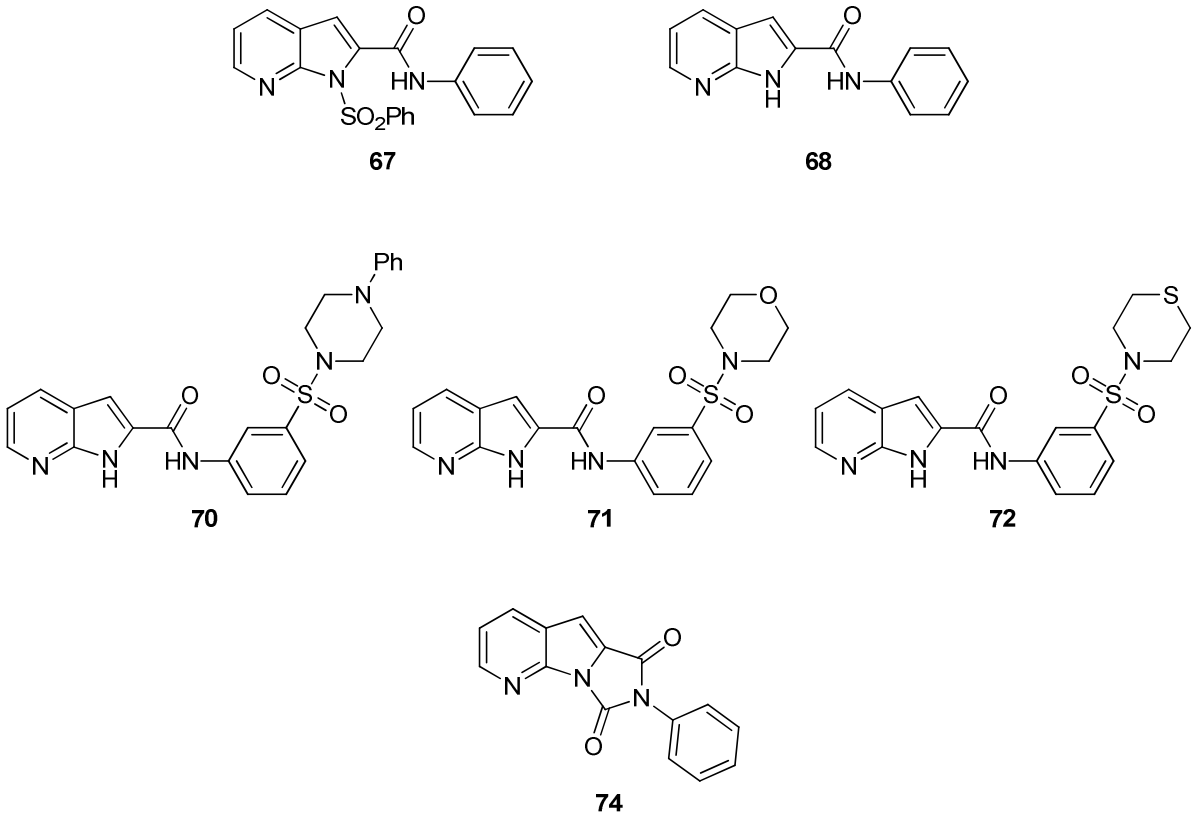


Figure 35 : Structure chimique des composés testés

Les diagrammes suivants présentent les concentrations d'expression des cytokines pro-inflammatoires en réponse à l'exposition des composés chimiques à différentes concentrations.

III.2.1. Dosage du TNF-α

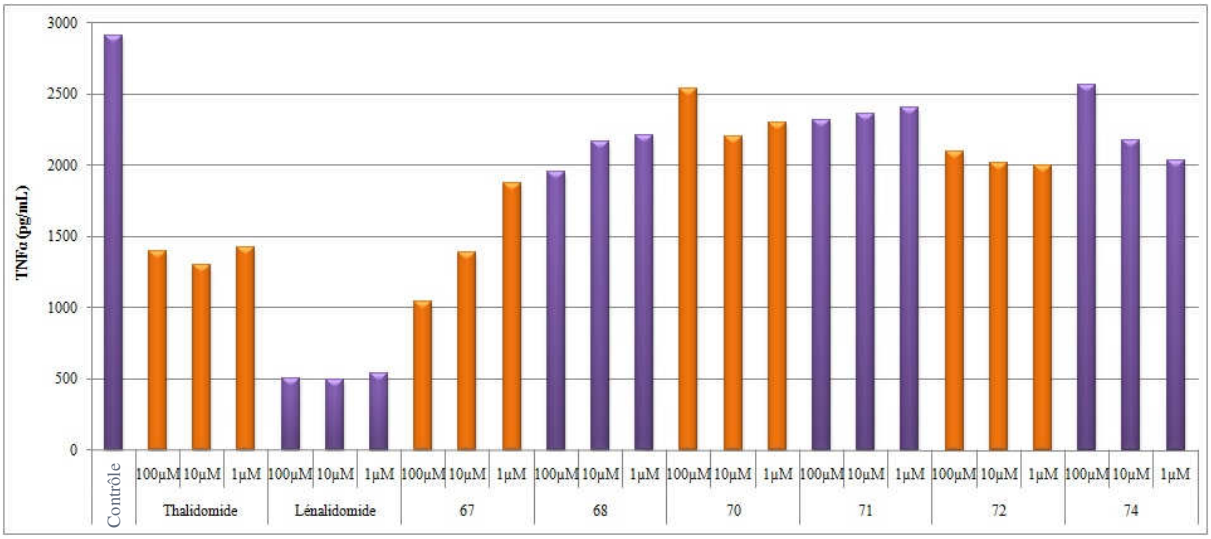


Figure 36 : Représentation de l'action relative des différents composés sur la production de TNF-α (pg/mL)

Comme décrit dans la littérature, la thalidomide et le lénalidomide inhibent la production de TNF-α, avec une inhibition plus forte pour le lénalidomide quelque soit la concentration de celui-ci.

Nous constatons que le composé **67** inhibe la production de TNF-α de façon dose-dépendante. Par ailleurs, il présente une inhibition plus forte de la production de TNF-α que la thalidomide pour une concentration de 100 µM.

La désulfonylation de l'azote du noyau pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (composé **68**) n'engendre pas d'inhibition de la production de TNF-α, nous pouvons donc en conclure que la présence d'un groupement phénylsulfonyle semble avoir une importance dans la structure d'inhibiteurs efficaces du TNF- α.

La fonctionnalisation du cycle aromatique par divers motifs phénylsulfonamides, substitués par des pipérazines, morpholine et thiomorpholine a donné naissance aux composés **70**, 7**1** et **72**. Ces composés ne présentent pas d'activité inhibitrice de la production du TNF-α. Contrairement aux résultats de Lima, les motifs précédemment cités ne sont pas, dans notre étude, des motifs pertinents dans l'élaboration de nouvelles molécules inhibitrices de la production de TNF-α.

Enfin, le composé tricyclique **74** ne semble pas être un noyau judicieux pour l'élaboration d'inhibiteurs efficaces du TNF- α.

III.2.2. Dosage de l'IL-6

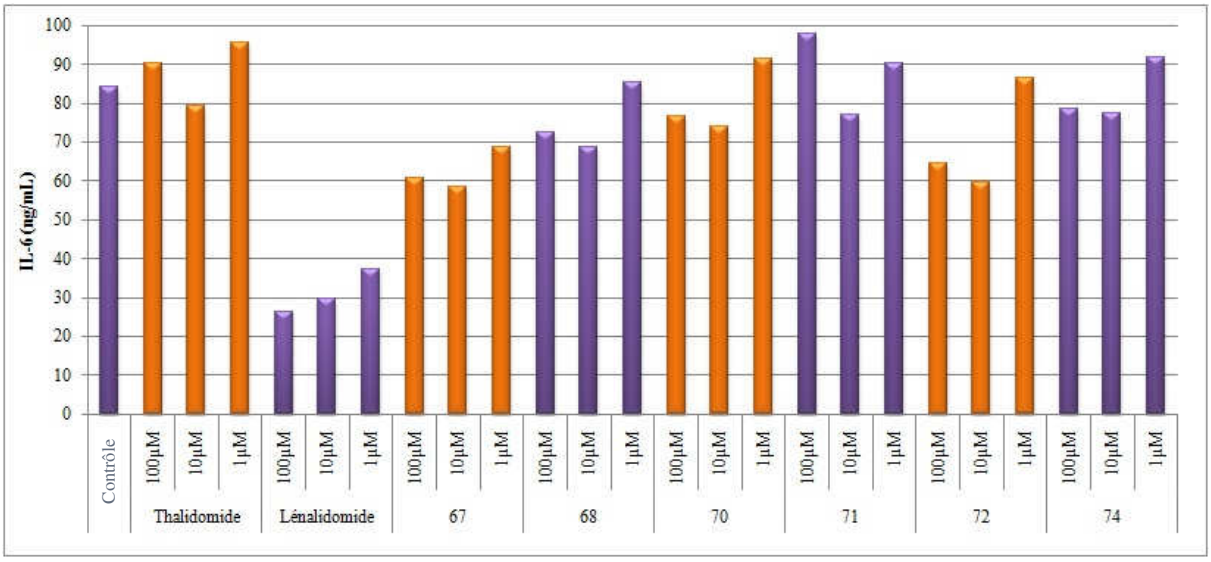


Figure 37 : Représentation de l'action relative des différents composés sur la production d'IL-6 (ng/mL)

Dans cette étude, la thalidomide n'a aucun effet sur la production d'Il-6, alors que le lénalidomide induit une forte inhibition de la production d'IL-6.

Parallèlement aux résultats observés pour la production de TNF-α, le composé **67** inhibe la production d'IL-6 plus efficacement que la thalidomide. De nouveau, il est plus inhibiteur que son analogue désulfonylé (composé **68**).

De même que pour la régulation de la production du TNF-α, les composés **70** et **71** ne sont pas inhibiteurs de la production d'IL-6. En revanche le composé **72** inhibe à 100 µM et 10 µM la production d'IL-6 du même ordre que le composé **67**. La présence du motif thiomorpholine semble être astucieuse dans ce cas, pour la conception de nouvelles molécules inhibitrices de la production d'IL-6.

Le composé tricyclique **74** ne présente pas d'activité inhibitrice de la production d'IL-6.

L'introduction de motifs phénylsulfonamides couplés à des noyaux pipéraziniques ou morpholiniques, par analogie avec les résultats de Lima, ne nous ont pas permis d'obtenir de nouveaux leader en terme d'inhibition. Cependant la fonctionnalisation en position 2 par un motif carbonyle du noyau 7-azaindole *N*-sulfonylé semble constituer le modèle le plus judicieux dans la synthèse d'inhibiteurs de la production des cytokines pro-inflammatoires et le composé **67** apparaît comme un synthon pertinent pour une étude de pharmacomodulation autour de ce noyau.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Cinquante et un ans se sont écoulés depuis la mise en vente en 1957 de la première boîte de la thalidomide. L'affaire de la thalidomide est la pire catastrophe que la médecine et la pharmacie aient eu à subir. La thalidomide était à l'origine un simple tranquillisant, fabriqué de 1957 à 1961 par la société pharmaceutique Chemie Grünenthal. Elle a été distribuée dans le monde entier, sauf dans quatre pays : les Etats Unis, la Chine, l'URSS et la France, où l'autorisation de mise sur le marché n'a jamais été délivrée. Deux éléments ont contribué à la non-vente du médicament et ainsi permis aux Français d'éviter les méfaits de la thalidomide : la loi de 1961 instituant un contrôle strict des médicaments et la grande lenteur de l'Administration. En effet, en fin d'année 1961, l'Administration finit par accorder son visa pour la fabrication de la thalidomide, pour le suspendre peu après, dès que les effets néfastes furent connus. Dans les autres pays, et durant toute la durée de sa commercialisation, la thalidomide a remporté un succès sans précédent pour un tranquillisant. Mais à la fin des années 1950, les personnels hospitaliers constatèrent chez certains consommateurs l'apparition de graves névrites. Ils demandèrent son retrait immédiat des pharmacies, mais la demande resta lettre morte. Entre temps les obstétriciens notèrent une recrudescence tout à fait anormale de naissance de bébés difformes. Certains imputèrent la responsabilité aux essais nucléaires, mais d'autres, comme le pédiatre allemand Wildukind Lenz rejetèrent l'hypothèse. Après avoir interrogé ses patientes et recoupé ses informations avec celles d'autres collègues, il acquit la certitude que le coupable n'était autre que la thalidomide. Son retrait définitif intervient en novembre 1961, mais il était trop tard. Entre douze et vingt mille enfants naquirent sans bras et sans jambes, des dizaines d'avortements spontanés eurent lieu et des milliers d'autres personnes qui n'eurent qu'une légère malformation, ne furent pas déclarées.

Malgré le lourd passif qu'a accumulé la thalidomide, la molécule a toujours suscité l'intérêt des chercheurs. On lui découvrit, peu de temps après son retrait des marchés, des propriétés biologiques très encourageantes pour son application future dans le traitement de diverses pathologies. En effet, son application a été démontrée dans le traitement contre la lèpre, le myélome multiple, la maladie de Behcet, la maladie de Crohn, le syndrome du greffon contre l'hôte entre autres. Les recherches ont été approfondies et ont mis en évidence certains mécanismes d'action de la thalidomide au niveau cellulaire. Elle possède des propriétés immunomodulatrices, anti-inflammatoires, anti-angiogéniques en induisant une augmentation ou une inhibition de l'expression de chimiokines ou de facteur de croissance.

Pour pallier aux effets cytotoxiques de la thalidomide mais conserver ses propriétés anti-cancéreuses, des analogues de celle-ci, nommés IMiDs, ont été développés. Après de nombreux tests précliniques, d'un point de vue pharmacologique, pharmacocinétique et cytotoxique, de cette classe de composés, une molécule a été identifiée pour le développement clinique en oncologie, le lénalidomide. Il est indiqué dans le traitement de certaines maladies hématologiques, comme les syndromes myélodysplasiques et le myélome multiple.

La thalidomide possède la faculté à moduler l'expression des lymphocytes NK et à inhiber la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires. Nous nous sommes donc intéressés à l'élaboration de nouvelles molécules analogues de la thalidomide en terme d'activité pharmacologique, dans le but de mieux comprendre certains mécanismes d'action de ces composés sur leur cible, en particulier les cellules NK.

⌘ L'impact des petites molécules synthétiques sur la modulation des cellules NK nous a conduit à utiliser le noyau 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one comme squelette de base. A partir de cette structure hétérocyclique, diverses synthèses chimiques et pharmacomodulations ont été envisagées.

- La double liaison en α,β de la fonction amide, introduite par condensation d'un aldéhyde, a pu être fonctionnalisée par des additions 1,4 de type Michael, catalysées par un complexe au rhodium. De part la diversité des acides boroniques introduits, cette réaction a donné accès à des molécules originales, non décrites à ce jour dans la littérature. Ces composés n'ont pas encore fait l'objet d'une étude pharmacologique.

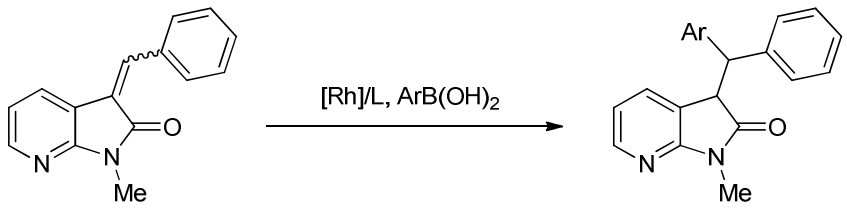
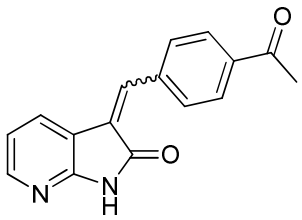


Schéma 90

- Parmi les composés issus de la condensation d'aldéhydes en position 3 du 7-aza-2-oxindole, seul le composé **7** a présenté des résultats intéressants en tant qu'activateur des fonctions effectrices des cellules NK, à savoir leur faculté à exprimer le marqueur CD107 lors de la dégranulation et à synthétiser l'IFN-γ (figure 38).



Composé **7**
% augmentation = 31%

Figure 38

⌘ L'étude de la modulation de la production des cytokines pro-inflammatoires nous a amenés à étudier l'enchaînement azote-carbonyle et son contraire carbonyle-azote en position 2 du 7-azaindole (figure 39). Ce noyau apparaissait comme évident après l'étude de la structure des analogues de la thalidomide décrits dans la littérature.

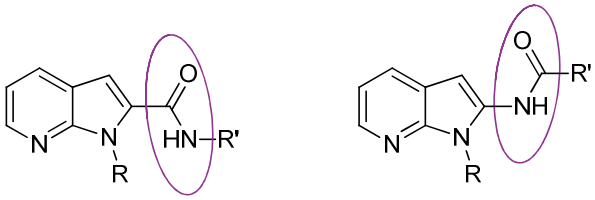


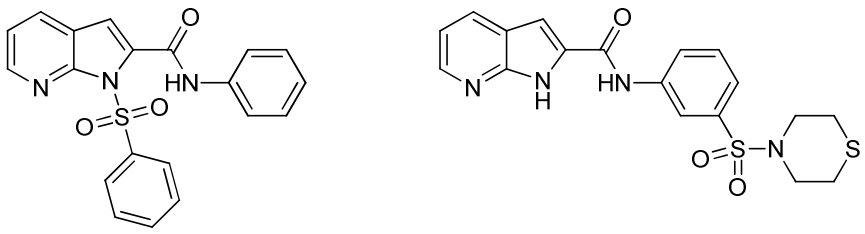
Figure 39

- L'enchaînement azote-carbonyle n'a jamais pu être obtenu. Nous n'avons pas réussi à mettre au point une synthèse permettant d'introduire des amines, de quelque nature qu'elle soit. Par ailleurs, tous ces essais infructueux de réaction de couplage aminant nous ont permis de mettre au point une nouvelle réaction de déprotection du groupement benzènesulfonyle par action du *tert*-butylate de sodium. Cette réaction revêt un intérêt non négligeable, car elle compatible avec des substituants sensibles aux hydrolyses basiques et aux agents fluorures.

- L'enchaînement carbonyle-azote a été introduit en position 2 du 7-azaindole, conduisant à l'élaboration de molécules originales présentant des groupements sulfonamides dont Lima *et al.* ont démontré leur importance.

Parmi les composés testés dans cette série, le composé **67** ressort plus particulièrement de cette étude pour l'inhibition des cytokines pro-inflammatoires. Elle résulte du couplage de l'aniline non substituée sur l'acide du 7-azaindole *N*-sulfonylé. Contrairement à ce qui avait été mis en avant par Lima *et al.*, à savoir la présence d'un motif phénylsulfonamide, les molécules présentant ce type d'enchaînement ne révèlent pas d'activité pertinente, hormis le composé **72** qui montre une inhibition de l'IL-6 du même ordre que le composé **67** (figure 40).

Dans tous les cas, aucune molécule ne présente une meilleure activité que le lénalidomide.



Composé **67** Composé **72**

Figure 40

L'hypothèse de l'élaboration de molécules rigidifiées s'est révélée intéressante d'un point de vue méthodologie de synthèse, nous avons pu élaborer un tricycle original de type hydantoïne à partir de l'ester éthylique du 7-azaindole. Les résultats pharmacologiques de cette molécule sont décevants, mais résultent sans nul doute d'un manque de substitution sur cette molécule.

Fort de ces résultats, plusieurs perspectives peuvent être envisagées :

- ✓ Une étude sur l'introduction d'acides boroniques en addition 1,4 à partir des composés en série NH peut être envisagée. Afin d'élaborer des analogues du composé **7**, le plus actif, les réactions d'addition 1,4 sur le composé bromé **6** peuvent être envisagées, suivie de la fonctionnalisation du brome en groupement acétyle. Une étude pharmacologique sur ces nouveaux dérivés peut être envisagée, ce qui permettra d'approfondir les données de relation structure-activité (schéma 91).

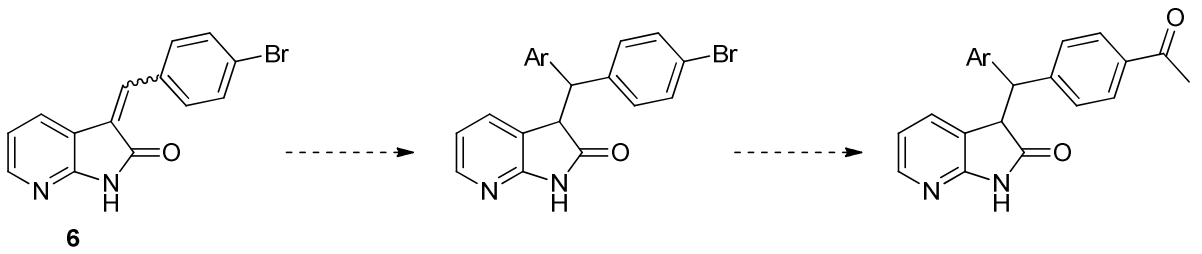


Schéma 91

✓ L'obtention du composé **24** permet d'ouvrir la voie à une nouvelle étude de pharmarmacomodulations. Nous pouvons notamment envisager d'introduire un iode radiomarqué afin de suivre l'évolution du composé radioactif dans les différents modèles cellulaires et ainsi mieux définir les mécanismes d'action (schéma 92).

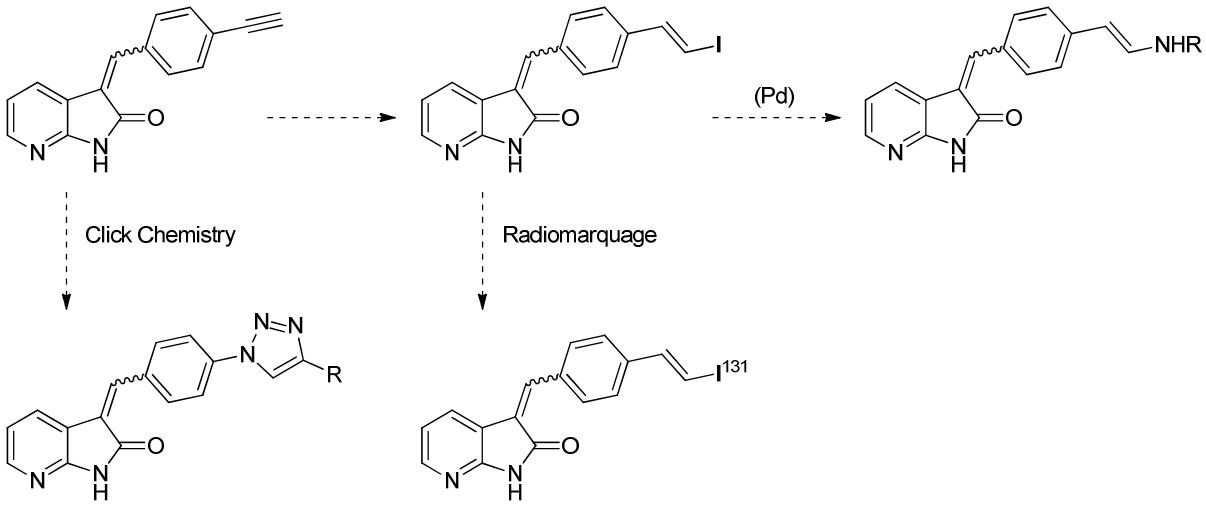


Schéma 92

✓ Les résultats observés lors de la réaction de cyclisation par l'action d'un isocyanate permettent d'entrevoir de nouvelles synthèses en vue obtenir le tricycle sulfonylé.

- Nous pouvons envisager de convertir les amines sulfonylées **35** à **42** en isocyanates pour pouvoir les introduire directement sur l'ester **45** (schéma 93).

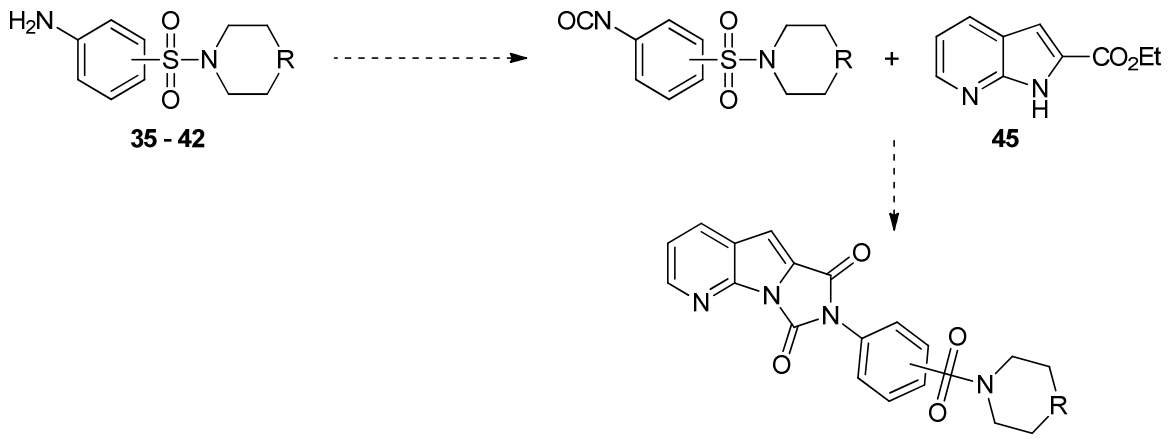


Schéma 93

- Un traitement avec le *N*,*N'*-carbonyldiimidazole (CDI) peut être envisagé sur les composés **70** à **72** afin de réaliser une cyclisation intramoléculaire (schéma 94).

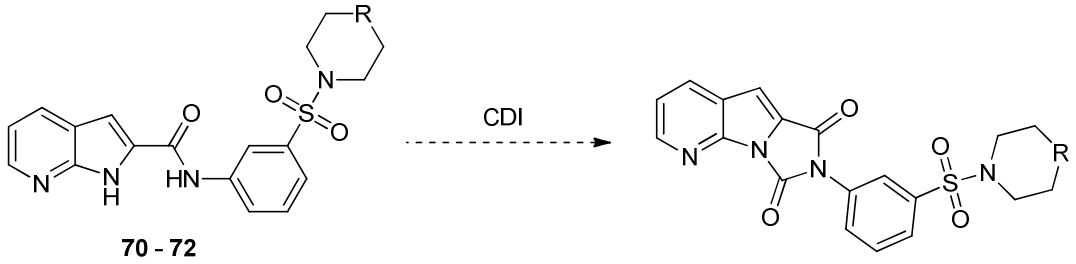


Schéma 94

- Une étude sur la position du groupement sulfonyle sur le noyau aromatique, ainsi que l'inversion de l'enchaînement phényle-sulfonyle peuvent être envisagées à partir d'un isocyanate de départ sulfonylé (figure 41).

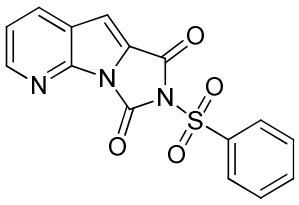


Figure 41

En conclusion, les différentes séries chimiques dévéloppées nous ont permis à la fois de mettre au point ou de développer de nouvelles méthodologies (hydrolyse de sulfonamides, addition 1,4 sur des amides α,β insaturés, …), mais aussi par la diversité moléculaire des différents composés, d'étayer et de vérifier certains mécanismes biologiques.

PARTIE EXPERIMENTALE

METHODES GENERALES

Les solvants anhydres sont reçus sous septum sous atmosphère inerte et utilisés tels quels.

L'évolution des réactions est déterminée par chromatographie sur couche mince (CCM) sur feuilles d'aluminium recouvertes de gel de silice Merck 60 F254 (épaisseur 0,2 mm). La révélation est réalisée sous lampe ultraviolet (UV) à 254 nm ou 365 nm ou à l'aide de révélateurs tels que la ninhydrine ou le permanganate de potassium.

Les purifications par chromatographie sont réalisées sur gel de silice Merck 40-70 µm (230-400 mesh) sous pression d'air comprimé. Elles sont réalisées par gradient d'éluant.

Les points de fusion sont mesurés à l'aide de tubes capillaires au moyen d'un appareil Büchi Melting Point B-540 et ne sont pas corrigés. Ils sont exprimés en degrés Celsius (°C) et les températures de décomposition sont signalées par le symbole (d).

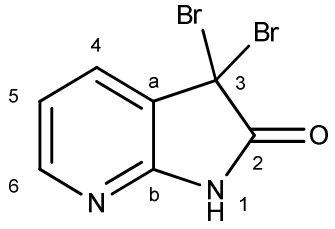
Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton ^{1}H et du carbone ^{13}C sont réalisés sur un des trois appareils suivants : Brucker Avance DPX200 (200,31 MHz), (300,13 MHz) ou (500,13 MHz). Chaque signal est repéré par son déplacement chimique (δ), son intégration, sa multiplicité (s : singulet, d : doublet, dd : doublet de doublet, ddd : doublet de doublet de doublet, t : triplet, q : quadruplet, m : massif) et éventuellement sa ou ses constante(s) de couplage. Les déplacements chimiques sont mesurés en parties par million (ppm) par rapport :

- au signal résiduel du chloroforme deutéré ($CDCl_3$) ($\delta^{1}H$ = 7.26 ppm, $\delta^{13}C$ = 77.1 ppm),
- au signal résiduel du diméthylsufloxide hexadeutéré (DMSO-d6) ($\delta^{1}H$ = 2.50 ppm, $\delta^{13}C$ = 39.5 ppm)

Afin de clarifier la lecture des analyses RMN, la numérotation des atomes pour l'attribution des signaux a été fixée arbitrairement.

Les spectres de masse (SM) sont réalisés sur spectromètre GC-MS Shimadzu QP2010 avec la technique de l'ionisation chimique (IC) ou la technique de l'impact électronique (IE).

3,3-Dibromo-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (1)



$C_7H_4Br_2N_2O$
MM = 291,93 g/mol
CAS : 113423-51-1
Solide beige

La 1*H*-pyrrolo[2,3-b]pyridine (8,46 mmol ; 1,00 g ; 1 éq) est solubilisée dans 30 mL de *tert*-butanol. Le tribromure de pyridinium (25,40 mmol ; 8,12 g ; 3 éq) est additionné par portion sur une durée de 15 min et le mélange est agité à température ambiante pendant 3 h. Un nouvel équivalent de tribromure de pyridinium (8,46 mmol ; 2,70 g ; 1 éq) est alors ajouté et l'agitation maintenue 90 min. Le *tert*-butanol est ensuite évaporé et le résidu obtenu repris dans un mélange acétate d'éthyle/eau. La phase organique est lavée avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium puis de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre, et les solvants sont évaporés sous pression réduite. La trituration au DCM du résidu obtenu conduit au produit attendu avec un rendement de 64% (1,58 g).

Pf : 198-199°C (litt.: 198-200°C).[148]

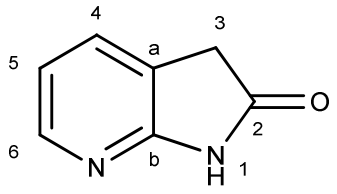
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 7,19 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,6 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,3 Hz, H_5); 7,92 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,6 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,5 Hz, H_4); 8,30 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,3 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,5 Hz, H_6); 10,32 (*sl*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 43,6 (C_3); 120,3 (C_5); 126,4 (C_a); 134,7 (C_4); 150,0 (C_6); 152,8 (C_b); 169,2 (C_2).

SM (IE) : m/z = 291 [M+H ^{79}Br^{79}Br]; 293 [M+H ^{79}Br^{81}Br]; 295 [M+H ^{81}Br^{81}Br].

[148] Marfat A., Carta M.P. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4027

1*H*-Pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (2)



$C_7H_6N_2O$
MM = 134,14 g/mol
CAS : 5654-97-7
Solide beige

La 3,3-dibromo-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **1** (6,85 mmol ; 2,00 g ; 1 éq) est mise en suspension dans 25 mL d'acide acétique et le zinc préalablement activé (68,51 mmol ; 4,48 g ; 10 éq) est additionné par portion sur une durée de 15 min. L'agitation est maintenue à température ambiante pendant 3 h puis le milieu réactionnel est hydrolysé. Le produit est extrait à l'acétate d'éthyle, la phase organique est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium puis séchée sur sulfate de magnésium anhydre. Après évaporation des solvants sous pression réduite, le résidu obtenu est mis à cristalliser au congélateur pendant 48 h. Le produit désiré est isolé par précipitation dans l'éther diéthylique avec 83% de rendement (0,92 g).

Pf : 174-175°C (litt.: 175°C).[149]

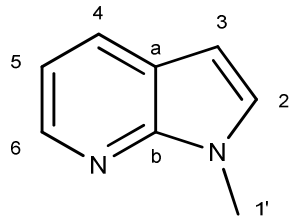
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,62 (*s*, 2H, H_3); 7,00 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,3 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,4 Hz, H_5); 7,53 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,3 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,3 Hz, H_4); 8,21 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,4 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,3 Hz, H_6); 9,80 (*sl*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 36,0 (C_3); 118,4 (C_5); 120,4 (C_a); 132,7 (C_4); 146,8 (C_6); 158,0 (C_b); 175,8 (C_2).

SM (IE) : m/z = 134 [M].

[149] Kägi H. *Helv. Chim. Acta* **1941**, *24*, 141E

_N_-Méthyl-1_H_-pyrrolo[2,3-_b_]pyridine (3)



$C_8H_8N_2$
MM = 132,16 g/mol
CAS : 27257-15-4
Huile jaune

L'hydrure de sodium à 60% dans l'huile (25,39 mmol ; 2,54 g ; 1,5 éq) est solubilisé dans 25 mL de DMF anhydre sous atmosphère d'argon et la solution est refroidie à l'aide d'un bain de glace. Une solution de 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (16,93 mmol ; 2,00 g ; 1 éq) dans 6 mL de DMF anhydre, elle aussi refroidie à l'aide d'un bain de glace, est canulée goutte à goutte sur la solution d'hydrure de sodium. Après 15 min à 0°C, l'iodure de méthyle (25,39 mmol ; 1,58 mL ; 1,5 éq) est additionné lentement. Après 3 h à température ambiante, le milieu réactionnel est hydrolysé et neutralisé à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique 1N. Le produit est extrait à l'acétate d'éthyle et la phase organique lavée plusieurs fois avec une solution saturée de chlorure d'ammonium et séchée sur sulfate de magnésium anhydre. Après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) et isolé avec 85% de rendement (1,90 g).

(Litt.: Huile jaune)[150]

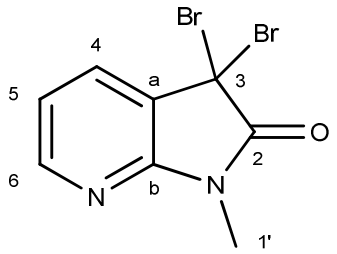
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,89 (*s*, 3H, $H_{1'}$); 6,45 (*d*, 1H, J_{3-2} = 3,4 Hz, H_3); 7,05 (*dd*, 1H, J_{5-4} = 7,8 Hz, J_{5-6} = 4,7 Hz, H_5); 7,17 (*d*, 1H, J_{2-3} = 3,4 Hz, H_2); 7,90 (*dd*, 1H, J_{4-5} = 7,8 Hz, J_{4-6} = 1,5 Hz, H_4); 8,35 (*dd*, 1H, J_{6-5} = 4,7 Hz, J_{6-4} = 1,5 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 29,9 ($C_{1'}$); 98,0 (C_3); 114,2 (C_5); 119,2 (C_a); 127,4 (C_2); 127,7 (C_4); 141,5 (C_6); 146,5 (C_b).

SM (IE) : m/z =132 [M].

[150] Lane B.S., Sames D. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2897

_N_-Méthyl-3,3-dibromo-1_H_-pyrrolo[2,3-_b_]pyridin-2(3_H_)-one (4)



$C_8H_6Br_2N_2O$
MM = 305,95 g/mol
CAS : 183208-21-1
Solide beige

La *N*-méthyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **4** (7,57 mmol ; 1,00 g ; 1 éq) est solubilisée dans 20 mL de *tert*-butanol. Le tribromure de pyridinium (22,70 mmol ; 7,26 g ; 3 éq) est additionné par portion sur une durée de 15 min et le mélange est agité à température ambiante pendant 3 h. Un nouvel équivalent de tribromure de pyridinium (7,57 mmol ; 2,42 g ; 1 éq) est alors ajouté et l'agitation maintenue 90 min. Le *tert*-butanol est ensuite évaporé et le résidu obtenu repris dans 60 mL d'un mélange acétate d'éthyle/eau (2:1). La phase organique est lavée avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium puis de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre, et les solvants sont évaporés sous pression réduite. La trituration au DCM du résidu obtenu conduit au produit attendu avec un rendement de 95% (2,31 g).

Pf: 177-178°C (litt.: 180°C).[151]

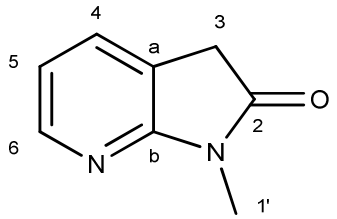
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,37 (*s*, 3H, $H_{1'}$); 7,13 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,5 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,3 Hz, H_5); 7,85 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,5 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,6 Hz, H_4); 8,27 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,3 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,6 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 26,7 ($C_{1'}$); 43,4 (C_3); 120,1 (C_5); 126,4 (C_a); 133,6 (C_4); 150,6 (C_6); 153,0 (C_b); 169,7 (C_2).

SM (IC, méthane) : m/z = 290 [M-CH_3+H ^{79}Br^{79}Br]; 292 [M-CH_3+H ^{79}Br^{81}Br]; 294 [M-CH_3+H ^{81}Br^{81}Br].

[151] Viaud M.C., Guillaumet G., Mazéas D., Van de Poël H., Renard P., Pfeiffer B., Delagrange P. **1996** EP 0737685

_N_-Méthyl-1_H_-pyrrolo[2,3-_b_]pyridin-2(3_H_)-one (5)



$C_8H_8N_2O$
MM = 148,16 g/mol
CAS : 156136-84-4
Solide beige

La *N*-méthyl-3,3-dibromo-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **4** (3,27 mmol ; 1,00 g ; 1 éq) est mise en suspension dans 15 mL d'acide acétique et le zinc préalablement activé (32,68 mmol ; 2,14 g ; 10 éq) est additionné par portion sur une durée de 15 min. L'agitation est maintenue à température ambiante pendant 3 h puis le milieu réactionnel est hydrolysé. Le produit est extrait à l'acétate d'éthyle, la phase organique est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium puis séchée sur sulfate de magnésium anhydre. Après évaporation des solvants sous pression réduite, le résidu obtenu est mis à cristalliser au congélateur pendant 48h. Le produit désiré est isolé par précipitation dans un mélange Heptane/Et_2O (1:1) avec 86% de rendement (0,48 g).

Pf: 94-95°C (litt.: 94-96°C).[152]

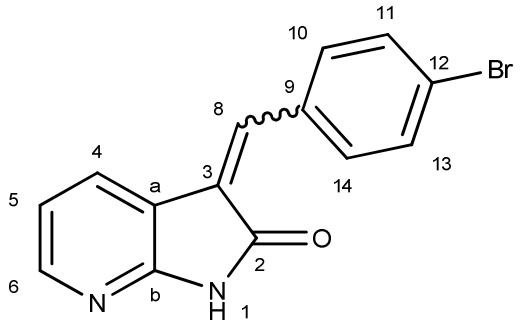
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,33 (*s*, 3H, $H_{1'}$); 3,57 (*s,* 2H, H_3); 6,98 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,2 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,3Hz, H_5); 7,51 (*d*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,2 Hz, H_4); 8,22 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 5,3 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 25,7 ($C_{1'}$); 35,2 (C_3); 118,14 (C_5); 119,7 (C_a); 131,9 (C_4); 147,2 (C_6); 157,2 (C_b); 174,8 (C_2).

SM (IE) : m/z = 148 [M].

[152] Rewcastle G.W., Palmer B.D., Dobrusin E.M., Fry D.W., Kraker A.J., Denny W.A. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2033

3-(4-Bromobenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (6)



$C_{14}H_9BrN_2O$
MM = 301,14 g/mol
Solide jaune

Procédure générale I

Sous atmosphère d'argon, la 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **2** (7,45 mmol ; 1,00 g ; 1 éq) est solubilisée dans 20 mL d'un mélange éthanol/toluène (1/1). Sont additionnés successivement, le 4-bromobenzaldéhyde (8,95 mmol ; 1,66 g ; 1,2 éq) et la pipéridine (0,75 mmol ; 0,07 mL ; 0,1 éq). Après 24 heures à température ambiante, le solvant est évaporé sous pression réduite et le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant DCM/AcOEt) et isolé avec un rendement de 66% (1,48 g).

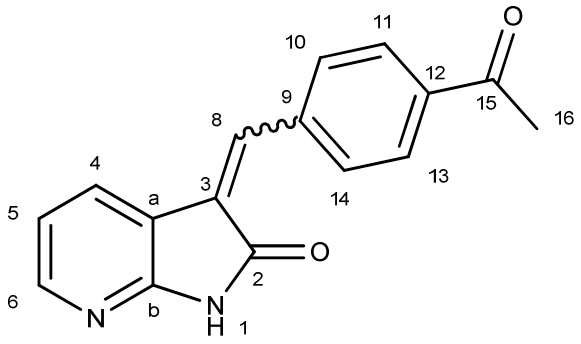
Pf : 125-126°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,73 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,6 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 2,4 Hz, H_5); 7,43-7,67 (*m*, 5H, H_{arom} + H_8); 7,69 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,6 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,4 Hz, H_4); 8,23 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 2,4 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,4 Hz, H_6); 10,97 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 116,9 (C_a); 119,3 (C_5); 123,8 (C_3); 125,4 (C_{12}); 130,8 (C_4); 132,3 (C_{10} + C_{14}); 133,6 (C_{11} + C_{13}); 134,2 (C_9); 137,8 (C_8); 146,6 (C_6); 159,5 (C_b); 170,3 (C_2).

SM (IE) : m/z = 300 [M ^{79}Br]; 302 [M ^{81}Br].

3-(4-Acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (7)



$C_{16}H_{12}N_2O_2$
MM = 364,28 g/mol
Solide jaune

Le composé **7** est obtenu selon la **procédure générale I** au départ de la 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **2** (1,86 mmol ; 0,25 g ; 1 éq), du 4-acétylbenzaldéhyde (2,80 mmol ; 0,41 g ; 1,5 éq) et de la pipéridine (0,19 mmol ; 0,02 mL ; 0,1 éq) dans 5 mL d'un mélange éthanol/toluène (1/1) à température ambiante, et après chromatographie sur gel de silice (éluant DCM/AcOEt) avec un rendement de 43% (0,67 g).

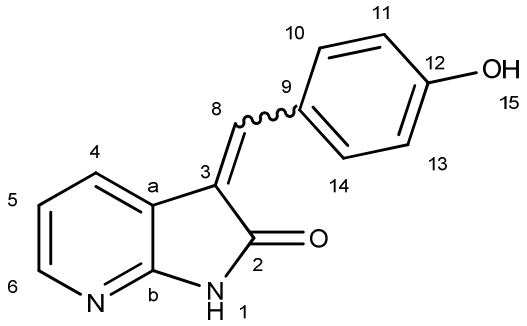
Pf : 122-123°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 2,60 (s, 3H, H_{16}); 6,86 (dd, 1H, J_{5-4} = 7,4 Hz, J_{5-6} = 5,2 Hz, H_5); 7,70-7,74 (m, 2H, H_{10} + H_{14}); 7,82 (dd, 1H, J_{4-5} = 7,4 Hz, J_{4-6} = 1,5 Hz, H_4); 7,95 (s, 1H, H_8); 8,06-8,10 (m, 2H, H_{11} + H_{13}); 8,17 (dd, 1H, J_{6-5} = 5,2 Hz, J_{6-4} = 1,5 Hz, H_6); 8,31 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 26,9 (C_{16}); 116,3 (C_a); 118,0 (C_5); 123,5 (C_3); 128,2 (C_{10} + C_{14}); 129,2 (C_{11} + C_{13}); 135,4 (C_8); 136,5 (C_4); 138,6 (C_{12}); 139,6 (C_9); 150,8 (C_6); 159,9 (C_b); 171,1 (C_2); 197,9 (C_{15}).

SM (IE) : m/z = 364 [M].

3-(4-Hydroxybenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (8)



$C_{14}H_{10}N_2O_2$
MM = 238,24 g/mol
Solide jaune

Le composé **8** est obtenu selon la **procédure générale I** au départ de la 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **2** (1,12 mmol ; 0,15 g ; 1 éq), du 4-hydroxybenzaldéhyde (1,34 mmol ; 0,16 g ; 1,2 éq) et de la pipéridine (0,11 mmol ; 0,01 mL ; 0,1 éq) dans 5 mL d'un mélange éthanol/toluène (1/1) à température ambiante, et après chromatographie sur gel de silice (éluant DCM/AcOEt) avec un rendement de 32% (0,09 g).

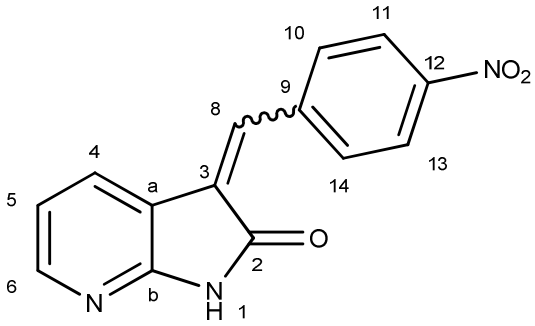
Pf : 101-103°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,60-6,71 (*m*, 5H, H_5 + H_{arom}); 7,51 (*dd*, 1H, J_{4-5} = 7,4 Hz, J_{4-6} = 1,4 Hz, H_4); 7,72 (*s*, 1H, H_8); 8,03 (*dd*, 1H, J_{6-5} = 5,2 Hz, J_{6-4} = 1,5 Hz, H_6); 8,31 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 116,8 (C_a); 117,2 (C_5); 115,6 (C_{11} + C_{13}); 124,8 (C_3); 131,3 (C_{10} + C_{14}); 133,7 (C_9); 135,8 (C_4); 140,8 (C_8); 152,6 (C_6); 156,4 (C_{12});159,6 (C_b); 170,3 (C_2).

SM (IE) : m/z = 238 [M].

3-(4-Nitrobenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (9)



$C_{14}H_9N_3O_3$
MM = 267,24 g/mol
Solide jaune

Le composé **9** est obtenu selon la **procédure générale I** au départ de la 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **2** (1,12 mmol ; 0,15 g ; 1 éq), du 4-nitrobenzaldéhyde (1,34 mmol ; 0,20 g ; 1,2 éq) et de la pipéridine (0,11 mmol ; 0,01 mL ; 0,1 éq) dans 5 mL d'un mélange éthanol/toluène (1/1) à température ambiante, et après chromatographie sur gel de silice (éluant DCM/AcOEt) avec un rendement de 64% (0,19 g)

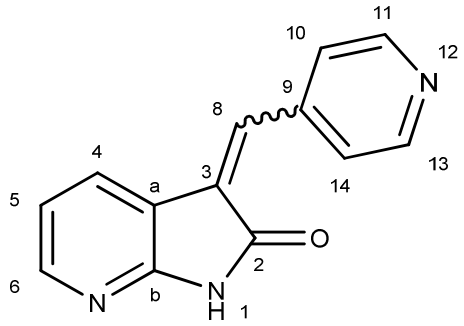
Pf : 136-137°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 6,89 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,5 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,1 Hz, H_5); 7,73 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,5 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,5 Hz, H_4); 7,82 (*s*, 1H, H_8); 8,05-8,21 (*m*, 4H, H_{arom}); 8,23 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,3 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,5 Hz, H_6); 11,34 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 116,0 (C_a); 117,09(C_5); 124,6 (C_3); 128,4 (C_{12}); 135,8 (C_4); 129,3 (C_{10} + C_{14}); 127,6 (C_{11} + C_{13}); 141,7 (C_9); 144,8 (C_8); 156,6 (C_6); 160,6 (C_b); 170,5 (C_2).

SM (IE) : m/z = 267 [M].

3-(Pyridin-4-ylméthylène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (10)



$C_{13}H_9N_3O$
MM = 223,23 g/mol
Solide jaune

Le composé **10** est obtenu selon la **procédure générale I** au départ de la 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **2** (1,12 mmol ; 0,15 g ; 1 éq), de la 4-pyridincarboxaldéhyde (1,34 mmol ; 0,13 mL ; 1,2 éq) et de la pipéridine (0,11 mmol ; 0,01 mL ; 0,1 éq) dans 5 mL d'un mélange éthanol/toluène (1/1) à température ambiante, et après chromatographie sur gel de silice (éluant DCM/AcOEt) avec un rendement de 46% (0,11 g).

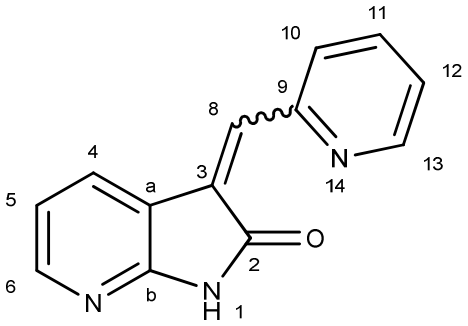
Pf : 150-152°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 6,92 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,4 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,1 Hz, H_5); 7,63-7,70 (*m*, 4H, $H_8 + H_4 + H_{10} + H_{14}$); 8,12 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,3 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,5 Hz, H_6); 8,70-8,74 (*m*, 2H, $H_{11} + H_{13}$); 11,23 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 116,9 (C_a); 118,3 (C_5); 128,8 (C_3); 132,8 (C_4); 131,3 ($C_{10} + C_{14}$); 132,8 (C_8); 142,7 (C_9); 148,6 ($C_{11} + C_{13}$); 150,3 (C_6); 159,4 (C_b); 171,3 (C_2).

SM (IE) : m/z = 223 [M].

3-(Pyridin-2-ylméthylène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (11)



$C_{13}H_9N_3O$
MM = 223,23 g/mol
Solide jaune

Le composé **11** est obtenu selon la **procédure générale I** au départ de la 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **2** (1,12 mmol ; 0,15 g ; 1 éq), du 2-pyridincarboxaldéhyde (1,34 mmol ; 0,13mL ; 1,2 éq) et de la pipéridine (0,11 mmol ; 0,01 mL ; 0,1 éq) dans 5 mL d'un mélange éthanol/toluène (1/1) à température ambiante, et après chromatographie sur gel de silice (éluant DCM/AcOEt) avec un rendement de 49% (0,12 g).

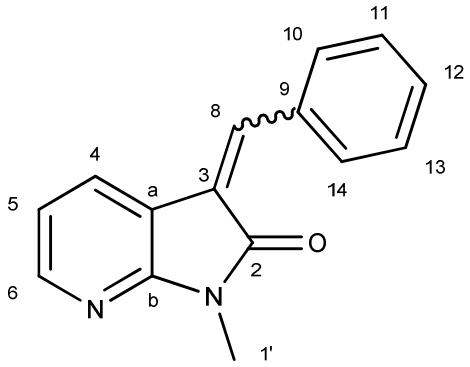
Pf : 148-150°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 7,05 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,4 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,2 Hz, H_5); 7,40-7,47 (*m*, 1H, H_{12}); 7,75 (*s*, 1H, H_8); 7,94-7,98 (*m*, 2H, H_{10} + H_{11}); 8,14 (*dd*, 1H, H_{13}); 8,90 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,4 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,5 Hz, H_4); 9,27 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,2 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,5 Hz, H_6); 11,23 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 116,2 (C_a); 118,1 (C_5); 122,4 (C_{12}); 124,3 (C_{10}); 127,8 (C_3); 135,8 (C_4); 137,1 (C_{11}); 139,8 (C_8); 148,6 (C_{13}); 152,6 (C_6); 154,7 (C_9); 159,9 (C_b); 171,1 (C_2).

SM (IE) : m/z = 223 [M].

3-Benzylidène-1-méthyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (12)



$C_{14}H_{12}N_2O$
MM = 236,27 g/mol
Solide jaune

Le composé **12** est obtenu selon la **procédure générale I** au départ de la *N*-méthyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **5** (8,09 mmol ; 1,20 g ; 1 éq), du benzaldéhyde (12,15 mmol ; 1,23 mL ; 1,5 éq) et de la pipéridine (3,24 mmol ; 0,32 mL ; 0,4 éq) dans 20 mL d'un mélange éthanol/toluène (1/1) à température ambiante, et après chromatographie sur gel de silice (éluant DCM/AcOEt) avec un rendement de 86% (1,65 g).

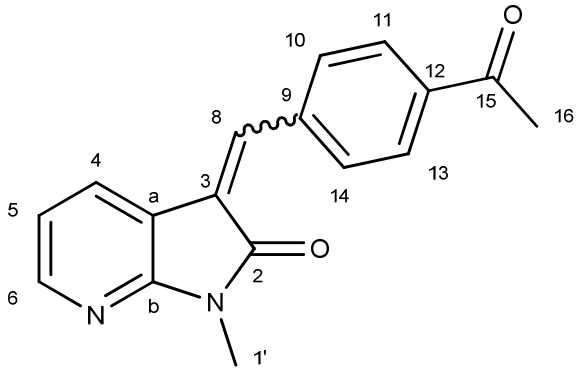
Pf : 98-99°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,42 (*s*, 3H, $H_{1'}$); 6,85 (*dd*, 1H, J_{5-4} = 7,5 Hz, J_{5-6} = 5,2 Hz, H_5); 7,49-7,57 (*m*, 3H, , H_{10} + H_{12} + H_{14}); 7,64-7,69 (*m*, 2H, H_{11} + H_{13}); 7,87 (*dd*, 1H, J_{4-5} = 7,5 Hz, J_{4-6} = 1,4 Hz, H_4); 8,01 (*s*, 1H, H_8); 8,20 (*dd*, 1H, J_{6-5} = 5,2 Hz, J_{6-4} = 1,4 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 25,8 ($C_{1'}$); 116,4 (C_a); 117,9 (C_5); 125,9 (C_3); 128,8 (C_{12}); 129,2 (C_{10} + C_{14}); 129,8 (C_{11} + C_{13}); 130,5 (C_4); 134,8 (C_9); 139,5 (C_8); 148,2 (C_6); 157,4 (C_b); 168,5 (C_2).

SM (IE) : m/z = 236 [M].

3-(4-Acétylbenzylidène)-*N*-méthyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (13)



$C_{17}H_{14}N_2O_2$
MM = 278,31 g/mol
Solide jaune

Le composé **13** est obtenu selon la **procédure générale I** au départ de la *N*-méthyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **5** (4,72 mmol ; 0,70 g ; 1 éq), du 4-acétylbenzaldéhyde (7,09 mmol ; 1,05 g ; 1,5 éq) et de la pipéridine (0,19 mmol ; 0,02 mL ; 0,1 éq) dans 10 mL d'un mélange éthanol/toluène (1/1) à température ambiante, et après chromatographie sur gel de silice (éluant DCM/AcOEt) avec un rendement de 48% (0,64 g).

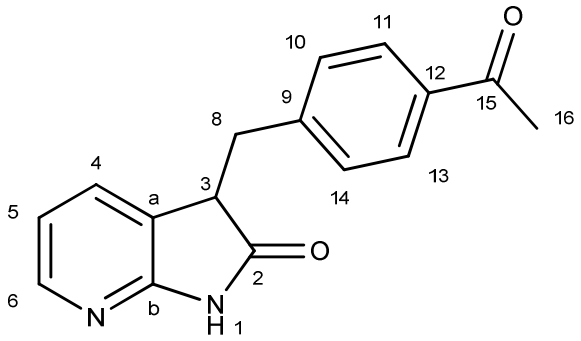
Pf : 152-153°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 2,70 (*s*, 3H, H_{16}); 3,42 (*s*, 3H, $H_{1'}$); 6,86 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,5 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,3 Hz, H_5); 7,73-7,80 (*m*, 3H, $H_4 + H_{10} + H_{14}$); 7,99 (*s*, 1H, H_8); 8,11 (*d*, 2H, $J_{11\text{-}10} = J_{13\text{-}14}$ = 8,3 Hz, $H_{11} + H_{13}$); 8,22 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,3 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,5 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 25,9 (C_{16}); 27,2 ($C_{1'}$); 115,9 (C_a); 118,0 (C_5); 127,5 (C_3); 129,2 ($C_{10} + C_{14}$); 129,9 ($C_{11} + C_{13}$); 132,4 (C_8); 137,5 (C_4); 138,2 (C_{12}); 139,5 (C_9); 148,8 (C_6); 157,7 (C_b); 168,1 (C_2); 197,7 (C_{15}).

SM (IE) : m/z = 278 [M].

3-(4-Acétylbenzyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (14)



$C_{16}H_{14}N_2O_2$
MM = 266,29 g/mol
Huile incolore

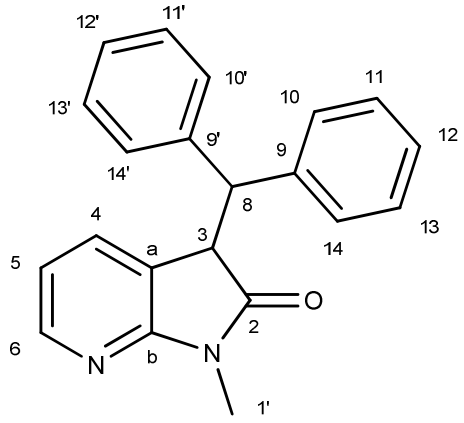
Sous argon, la 3-(4-acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **7** (3,78 mmol ; 0,10 g ; 1 éq) et le palladium sur charbon (10 mg ; 10% masse) sont mis en solution dans 5 mL d'un mélange dichlorométhane/méthanol (1/1). Après 2 cycles vide/argon, l'argon est remplacé par l'hydrogène et la solution est agitée 18 h à température ambiante. Après filtration sur célite, les solvants sont évaporés sous pression réduite et le produit est purifié par chromatographie sur de silice (éluant CH/AcOEt) et obtenu avec un rendement de 36% (0,18g).

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 2,62 (*s*, 3H, H_{16}); 2,86 (*dd*, 1H, $J_{8a\text{-}8b}$ = 13,0 Hz, $J_{8a\text{-}3}$ = 9,8 Hz, H_{8a}); 3,55 (*dd*, 1H, $J_{8b\text{-}8a}$ = 13,0 Hz, $J_{8b\text{-}3}$ = 4,6 Hz, H_{8b}); 3,75 (*dd*, 1H, $J_{3\text{-}8a}$ = 9,8 Hz, $J_{3\text{-}8b}$ = 4,6 Hz, H_3); 6,86 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,1 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,2 Hz, H_5); 6,98 (*d*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,2 Hz, H_4); 7,29(*d*, 2H, $J_{10\text{-}11} = J_{14\text{-}13}$ = 8,3 Hz, $H_{10} + H_{14}$); 7,90 (*d*, 2H, $J_{11\text{-}10} = J_{13\text{-}14}$ = 8,3 Hz, $H_{11} + H_{13}$); 8,12 (*d*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,2 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 26,3 (C_{16}); 36,8 (C_8); 47,1 (C_3); 118,0 (C_5); 123,9 (C_a); 129,2 ($C_{10} + C_{14}$); 130,3 ($C_{11} + C_{13}$); 131,8 (C_4); 137,4 (C_{12}); 144,1 (C_9); 148,0 (C_6); 157,8 (C_b); 177,1 (C_2); 197,9 (C_{15}).

SM (IE): m/z = 266 [M].

3-Benzhydryl-*N*-méthyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (15)



$C_{21}H_{18}N_2O$
MM = 314,38 g/mol
Huile marron

Procédure générale II

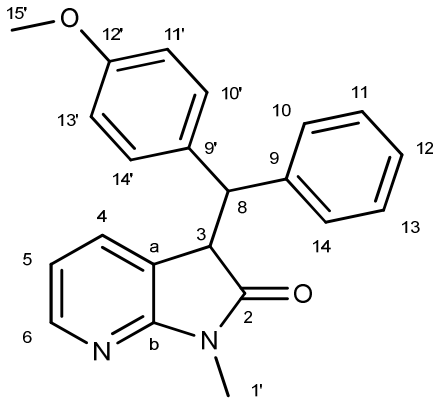
Le μ-dichlorotétraéthylène dirhodium(I) (0,01 mmol ; 2,10 mg ; 2,5% mol Rh) et le (*R*,*R*)-diphénylbicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène (0,01 mmol ; 3,00 mg ; L/Rh=1,1) sont mis en solution dans 1 mL de dioxane. La solution est agitée 15 min. Après addition de l'acide phénylboronique (1,27 mmol ; 0,16 g ; 3,0 éq.), la solution est agitée 3 min. Après addition d'une solution de potasse à une concentration de 1M (0,21 mmol ; 0,21 mL ; 0,5 éq.), la solution est de nouveau agitée 3 min. Une solution de 3-(4-acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **7** (0,42 mmol ; 0,10 g ; 1,0 éq.) dans 1 mL de dioxane est additionnée au mélange précédent. Le milieu réactionnel est alors chauffé à 60°C pendant 3 h. Après évaporation des solvants sous pression réduite, le composé est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) et isolé avec un rendement de 93% (0,12 g).

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,01 (*s*, 3H, $H_{1'}$); 4,35 (*d*, 1H, J_{8-3} = 3,6 Hz, H_8); 4,91 (*d*, 1H, J_{3-8} = 3,6 Hz, H_3); 6,74 (*dd*, 1H, J_{5-4} = 5,0 Hz, J_{5-6} = 3,6 Hz, H_5); 6,85-6,89 (*m*, 1H, H_{arom}); 6,96-6,99 (*m*, 2H, H_{arom}); 7,13-7,16 (*m*, 3H, H_{arom}); 7,25-7,35 (*m*, 5H, H_{arom} + H_4); 8,10 (*d*, 1H, J_{6-5} = 3,6 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 35,7 ($C_{1'}$); 42,1 (C_8); 55,7 (C_3); 118,0 (C_5); 126,2 (C_{12} + $C_{12'}$); 128,9 (C_{10} + C_{14} + $C_{10'}$ + $C_{14'}$); 130,3 (C_a); 137,8 (C_4); 144,0 (C_6); 146,7 (C_9); 152,8 (C_b); 176,1 (C_2).

SM (IE): m/z = 314 [M].

3-((4-Méthoxyphényl)(phényl)méthyl)-*N*-méthyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (16)



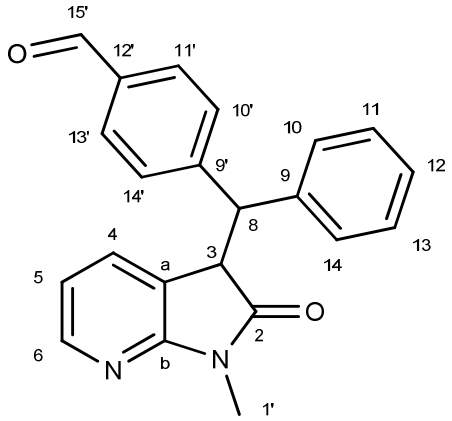
$C_{22}H_{20}N_2O_2$
MM = 344,41 g/mol
Huile marron

Le compose **16** est obtenu selon la **procedure générale II** au départ du μ-dichlorotétraéthylène dirhodium(I) (0,02 mmol ; 4,10 mg ; 5% mol Rh), du (*R*,*R*)-diphényl-bicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène (0,02 mmol ; 6,00 mg ; L/Rh=1,1), de l'acide 4-méthoxyboronique (1,27 mmol ; 0,19 g ; 3,0 éq.), d'une solution de potasse à une concentration de 1M (0,21 mmol ; 0,21 mL ; 0,5 éq.) et de la 3-(4-acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **7** (0,42 mmol ; 0,10 g ; 1,0 éq.) dans 2 mL de dioxane à 60°C pendant 3 h, et après chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) avec un rendement de 86% (0,13 g).

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,05 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 3,06 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 3,70 (*s*, 3H, $H_{15'R\ ou\ S}$); 3,77 (*s*, 3H, $H_{15'R\ ou\ S}$); 4,31 (*dd*, 2H, H_8); 4,85 (*dd*, 2H, H_3); 6,60-6,35 (*m*, 22H, H_{arom} + H_4 + H_5); 8,09 (*d*, 2H, H_6).

SM (IE): m/z = 344 [M].

3-((4-Formylphényl)(phényl)méthyl)-*N*-méthyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (17)



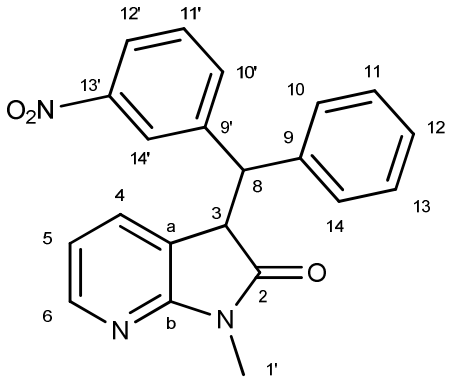
$C_{22}H_{18}N_2O_2$
MM = 342,39 g/mol
Huile marron

Le compose **16** est obtenu selon la **procedure générale II** au départ du μ-dichlorotétraéthylène dirhodium(I) (0,02 mmol ; 4,10 mg ; 5% mol Rh), du (*R*,*R*)-diphényl-bicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène (0,02 mmol ; 6,00 mg ; L/Rh=1,1), de l'acide (4-formylphényl)boronique (1,27 mmol ; 0,19 g ; 3,0 éq.), d'une solution de potasse à une concentration de 1M (0,21 mmol ; 0,21 mL ; 0,5 éq.) et de la 3-(4-acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **7** (0,42 mmol ; 0,10 g ; 1,0 éq.) dans 2 mL de dioxane à 60°C pendant 3 h, et après chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) avec un rendement de 86% (0,13 g).

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,08 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 3,10 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 4,31 (*d*, 2H, H_8); 4,81 (*d*, 1H, $H_{3R\ ou\ S}$); 5,06 (*d*, 1H, $H_{3R\ ou\ S}$); 6,79-8,15 (*m*, 24H, H_{arom} + H_4 + H_5 + H_6); 9,95 (*d*, 2H, $H_{15'R\ ou\ S}$); 10,00 (*d*, 2H, $H_{15'R\ ou\ S}$).

SM (IE) : m/z = 342 [M].

_N_-Méthyl-3-((3-nitrophényl)(phényl)méthyl)-1_H_-pyrrolo[2,3-_b_]pyridin-2(3_H_)-one (18)



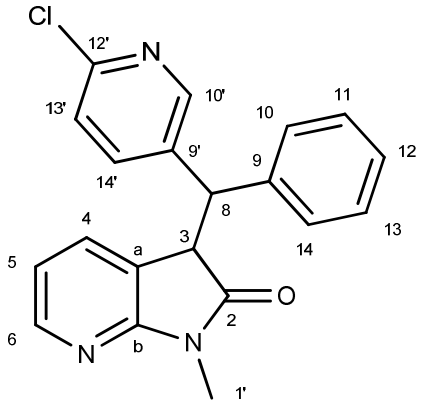
$C_{21}H_{17}N_3O_3$
MM = 342,39 g/mol
Huile marron

Le compose **18** est obtenu selon la **procedure générale II** au départ du μ-dichlorotétraéthylène dirhodium(I) (0,02 mmol ; 4,10 mg ; 5% mol Rh), du (*R*,*R*)-diphényl-bicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène (0,02 mmol ; 6,00 mg ; L/Rh=1,1), de l'acide (3-nitrophényl)boronique (1,27 mmol ; 0,21 g ; 3,0 éq.), d'une solution de potasse à une concentration de 1M (0,21 mmol ; 0,21 mL ; 0,5 éq.) et de la 3-(4-acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **7** (0,42 mmol ; 0,10 g ; 1,0 éq.) dans 2 mL de dioxane à 60°C pendant 3 h, et après chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) avec un rendement de 86% (0,13 g).

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,10 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 3,14 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 4,44 (*d*, 2H, H_8); 4,43 (*d*, 1H, $H_{3R\ ou\ S}$); 5,12 (*d*, 1H, $H_{3R\ ou\ S}$); 6,79-8,25 (*m*, 24H, $H_{arom} + H_4 + H_5 + H_6$).

SM (IE) : m/z = 342 [M].

3-((6-Chloropyridin-3-yl)(phényl)méthyl)-*N*-méthyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (19)



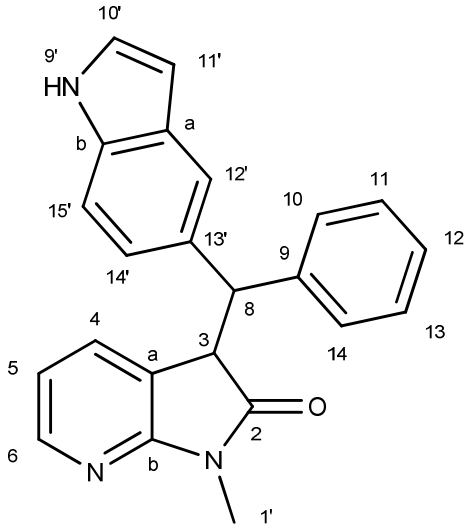
$C_{20}H_{16}ClNO_3$
MM = 349,81 g/mol
Huile marron

Le compose **19** est obtenu selon la **procedure générale II** au départ du μ-dichlorotétraéthylène dirhodium(I) (0,02 mmol ; 4,10 mg ; 5% mol Rh), du (*R*,*R*)-diphényl-bicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène (0,02 mmol ; 6,00 mg ; L/Rh=1,1), de l'acide (6-chloropyridin-3-yl)boronique (1,27 mmol ; 0,20 g ; 3,0 éq.), d'une solution de potasse à une concentration de 1M (0,21 mmol ; 0,21 mL ; 0,5 éq.) et de la 3-(4-acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **7** (0,42 mmol ; 0,10 g ; 1,0 éq.) dans 2 mL de dioxane à 60°C pendant 3 h, et après chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) avec un rendement de 41% (0,06 g).

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,11 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 3,12 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 4,36 (*dd*, 2H, H_8); 4,64 (*d*, 1H, $H_{3R\ ou\ S}$); 5,03 (*d*, 1H, $H_{3R\ ou\ S}$); 6,80-8,35 (*m*, 22H, H_{arom} + H_4 + H_5 + H_6).

SM (IE) : m/z = 349 [M].

3-((1*H*-Indol-5-yl)(phényl)méthyl)-*N*-méthyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (20)



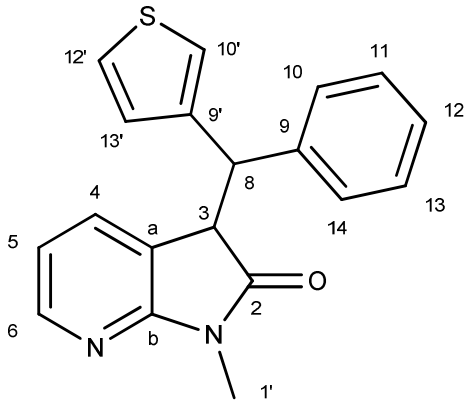
$C_{23}H_{19}N_3O$
MM = 353,42 g/mol
Huile marron

Le compose **20** est obtenu selon la **procedure générale II** au départ du μ-dichlorotétraéthylène dirhodium(I) (0,02 mmol ; 4,10 mg ; 5% mol Rh), du (*R*,*R*)-diphényl-bicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène (0,02 mmol ; 6,00 mg ; L/Rh=1,1), de l'acide (1*H*-indol-5-yl)boronique (1,27 mmol ; 0,20 g ; 3,0 éq.), d'une solution de potasse à une concentration de 1M (0,21 mmol ; 0,21 mL ; 0,5 éq.) et de la 3-(4-acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **7** (0,42 mmol ; 0,10 g ; 1,0 éq.) dans 2 mL de dioxane à 60°C pendant 3 h, et après chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) avec un rendement de 86% (0,13 g).

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,10 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 3,12 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 4,46 (*m*, 2H, H_8); 4,99 (*d*, 1H, $H_{3R\ ou\ S}$); 5,12 (*d*, 11H, $H_{3R\ ou\ S}$); 6,39-6,42 (*m*, 1H, $H_{5R\ ou\ S}$); 6,49-6,52 (*m*, 1H, $H_{5R\ ou\ S}$); 6,70-7,55 (*m*, 22H, H_{arom} + H_4 + H_5); 8,11-8,15 (*m*, 2H, H_6); 8,44 (*s*, 1H, $H_{9'R\ ou\ S}$); 8,54 (*s*, 1H, $H_{9'R\ ou\ S}$).

SM (IE) : m/z = 349 [M].

***N*-Méthyl-3-(phényl(thiophèn-3-yl)méthyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (21)**



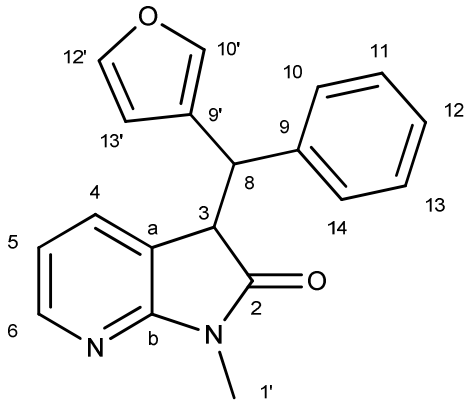
$C_{19}H_{16}N_2OS$
MM = 320,41 g/mol
Huile marron

Le compose 2**1** est obtenu selon la **procedure générale II** au départ du μ-dichlorotétraéthylène dirhodium(I) (0,04 mmol ; 8,00 mg ; 10% mol Rh), du (*R*,*R*)-diphénylbicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène (0,04 mmol ; 12,00 mg ; L/Rh=1,1), de l'acide thiophèn-3-ylboronique (1,27 mmol ; 0,16 g ; 3,0 éq.), d'une solution de potasse à une concentration de 1M (0,21 mmol ; 0,21 mL ; 0,5 éq.) et de la 3-(4-acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **7** (0,42 mmol ; 0,10 g ; 1,0 éq.) dans 2 mL de dioxane à 60°C pendant 3 h, et après chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) avec un rendement de 71% (0,10 g).

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,04 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 3,10 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 4,13 (*d*, 2H, $H_{8R\ ou\ S}$); 4,31 (*d*, 2H, $H_{8R\ ou\ S}$); 4,95 (*d*, 1H, $H_{3R\ ou\ S}$); 5,13 (*d*, 1H, $H_{3R\ ou\ S}$); 6,57 (*dd*, 1H, $H_{5R\ ou\ S}$); 6,78-7,41 (*m*, 22H, H_{arom}); 8,11-8,18 (*m*, 4H, H_5 + H_6).

SM (IE) : m/z = 320 [M].

3-(Furan-3-yl(phényl)méthyl)-*N*-méthyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (22)



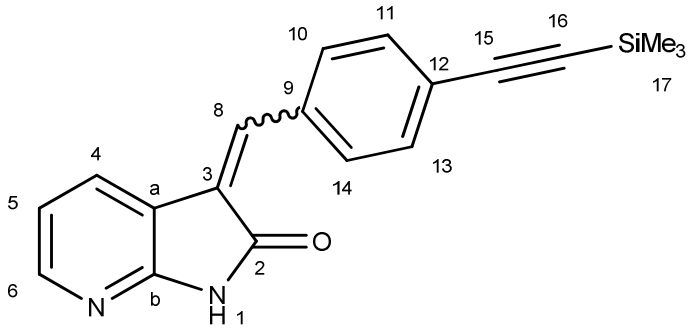
$C_{19}H_{16}N_2O_2$
MM = 304,34 g/mol
Huile jaune

Le compose **21** est obtenu selon la **procedure générale II** au départ du μ-dichlorotétraéthylène dirhodium(I) (0,02 mmol ; 4,00 mg ; 5% mol Rh), du (*R*,*R*)-diphényl-bicyclo[2.2.2]octa-2,5-diène (0,02 mmol ; 6,00 mg ; L/Rh=1,1), de l'acide furan-3-ylboronique (1,27 mmol ; 0,16 g ; 3,0 éq.), d'une solution de potasse à une concentration de 1M (0,21 mmol ; 0,21 mL ; 0,5 éq.) et de la 3-(4-acétylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **7** (0,42 mmol ; 0,10 g ; 1,0 éq.) dans 2 mL de dioxane à 60°C pendant 3 h, et après chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) avec un rendement de 38% (0,05 g).

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,02 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 3,14 (*s*, 3H, $H_{1'R\ ou\ S}$); 4,12 (*d*, 2H, H_8); 4,75 (*d*, 1H, $H_{3R\ ou\ S}$); 4,95 (*d*, 1H, $H_{3R\ ou\ S}$); 5,74 (*s*, 1H, $H_{13'R\ ou\ S}$); 6,42 (*s*, 1H, $H_{13'R\ ou\ S}$); 6,79-6,86 (*m*, 3H, H_{arom}); 6,92-6,95(*m*, 2H, H_{arom}); 7,05-7,39 (*m*, 12H, H_{arom}); 7,48 (t, 1H, H_{arom}); 8,10-8,17 (*m*, 2H, H_6).

SM (IE) : m/z = 304 [M].

3-(4-((Triméthylsilyl)éthynyl)benzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (23)



$C_{19}H_{18}N_2OSi$
MM = 318,44 g/mol
Solide jaune

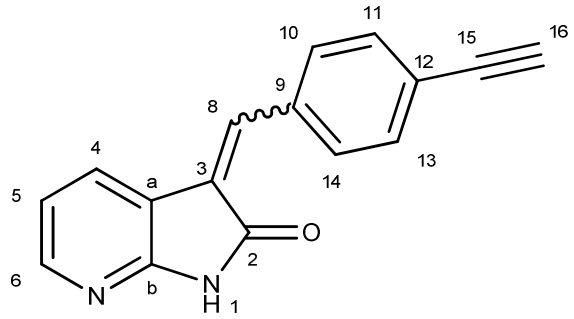
Sous argon, la 3-(4-bromobenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **6** (0,66 mmol ; 0,20 g ; 1,0 éq), le tétrakis(triphénylphosphine)palladium(0) (0,03 mmol ; 3,80 mg ; 0,05 éq) et l'iodure de cuivre(I) (0,07 mmol ; 1,30 mg ; 0,1 éq) sont placés dans un tube scellé. Après deux cycles vide/argon, le triméthylsilylacétylène (1,00 mmol ; 0,14 mL ; 1,5 éq) est additionné. Enfin 2 mL d'un mélange 1/1 triéthylamine/*N*,*N*-diméthylformamide sont ajoutés en rinçant les parois du tube. Le septum est remplacé par un bouchon en téflon et le milieu réactionnel est mis à chauffé à 50°C pendant 20 h. Après hydrolyse du milieu, le produit est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) et isolé avec un rendement de 45% (0,10 g).

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 0,25 (*s*, 9H, H_{17}); 6,90 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,6 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,2 Hz, H_5); 7,57-7,61 (*m*, 2H, H_{10} + H_{14}); 7,69-7,81 (*m*, 4H, H_4 + H_8 + H_{11} + H_{13}); 8,08-8,12 (*m*, 1H, H_6); 11,23 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 3,5 (C_{17}); 55,1 (C_{16}); 100,2 (C_{15}); 118,2 (C_5); 119,5 (C_a); 123,3 (C_3 + C_{12}); 128,2 (C_{10} + C_{14}); 132,7 (C_{11} + C_{13}); 134,6 (C_9); 136,0 (C_4); 145,4 (C_8); 158,1 (C_6); 160,2 (C_b); 170,2 (C_2).

SM (IE) : m/z = 303 [M-CH_3].

3-(4-Ethynylbenzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one (24)



$C_{16}H_{10}N_2O$
MM = 246,26 g/mol
Solide jaune

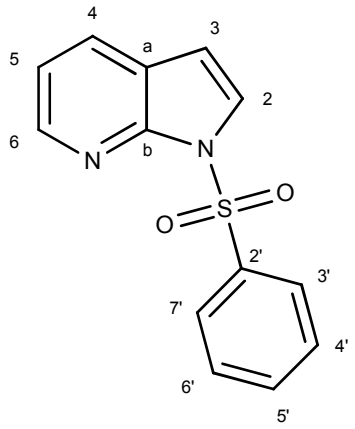
Sous argon, la 3-(4-((triméthylsilyl)éthynyl)benzylidène)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(3*H*)-one **23** (0,13 mmol ; 0,04 g ; 1 éq) est solubilisée dans 8 mL de tétrahydrofurane anhydre. Puis le fluorure de *tert*-butylammonium en solution à une concentration de 1M dans le tétrahyfurane (0,31 mmol ; 0,35 mL ; 2,5 éq) est additionné. Après 45 min à température ambiante, le milieu est hydrolysé et le produit est extrait au dichlorométhane. La phase organique est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est isolé sans purification avec un rendement quantitatif (0,03 g).

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 4,39 (*s*, 1H, H_{16}); 6,61 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,5 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,0 Hz, H_5); 7,62 (*d*, 2H, H_{10} + H_{14}); 7,73-7,75 (*m*, 3H, H_8 + H_{11} + H_{13}); 8,13-8,09 (*m*, 1H, H_4); 8,35-8,37 (*m*, 1H, H_6);11,26 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 81,1 (C_{16}); 82,2 (C_{15}); 118,1 (C_5); 119,5 (C_a); 123,3 (C_3 + C_{12}); 128,2 (C_{10} + C_{14}); 132,7 (C_{11} + C_{13}); 134,6 (C_9); 136,0 (C_4); 145,4 (C_8); 158,1 (C_6); 160,2 (C_b); 170,2 (C_2).

SM (IE): m/z = 246 [M].

_N_-(Phénylsulfonyl)-1_H_-pyrrolo[2,3-_b_]pyridine (25)



$C_{13}H_{10}N_2O_2S$
MM = 258,30 g/mol
Solide blanc

Procédure générale III

Dans des conditions anhydres, la soude (50,79 mmol ; 2,03 g ; 3 éq) finement broyée est ajoutée à une solution de 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (16,93 mmol ; 2,00 g ; 1 éq) et de bromure de tétrabutylammonium (0,05 mmol ; 0,16 g ; 0,03 éq) dans 40 mL de dichlorométhane anhydre. A 0°C, le chlorure de benzènesulfonyle (21,16 mmol ; 2,70 mL ; 1,25 éq) est additionné goutte à goutte et la solution est agitée 15 min à 0°C. Puis, après 2 h à température ambiante, la suspension est filtrée sur Célite. La phase organique est lavée à l'eau, puis avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est lavé à l'heptane et isolé avec un rendement de 91% (3,98 g).

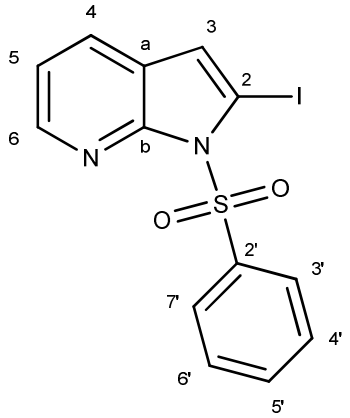
Pf : 127-129°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,59 (*d*, 1H, $J_{3\text{-}2}$ = 4,0 Hz, H_3); 7,16 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,9 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 4,8 Hz, H_5); 7,45-7,52 (*m*, 3H, $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 7,71 (*d*, 1H, $J_{2\text{-}3}$ = 4,0 Hz, H_2); 7,83 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,9 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,6 Hz, H_4); 8,15-8,21 (m, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 8,41 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 4,8 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,6 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 105,4 (C_3); 118,9 (C_5); 122,8 (C_a); 126,4 (C_2); 127,8 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 128,9 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 129,6 (C_4); 133,9 ($C_{5'}$); 138,3 ($C_{2'}$); 144,8 (C_6); 147,1 (C_b).

SM (IE) : m/z = 258 [M].

2-Iodo-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (26)



$C_{13}H_9IN_2O_2S$
MM = 384,19 g/mol
Solide beige

Dans des conditions anhydres, la *N*-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **25** (7,74 mmol ; 2,00 g ; 1 éq) est solubilisée dans 30 mL de tétrahydrofurane anhydre, puis la solution est refroidie à -35°C. Le diisopropylamidure de lithium (18,58 mmol ; 9,20 mL ; 2,4 éq) est additionné goutte à goutte. Après 30 min, une solution d'iode (15,49 mmol ; 3,93 g ; 2 éq) dans 10 mL de tétrahydrofurane est canulée sur la première solution. Après 12 h à température ambiante, le milieu est hydrolysé et le produit est extrait au dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau, puis avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) et isolé avec un rendement de 85% (2,53 g).

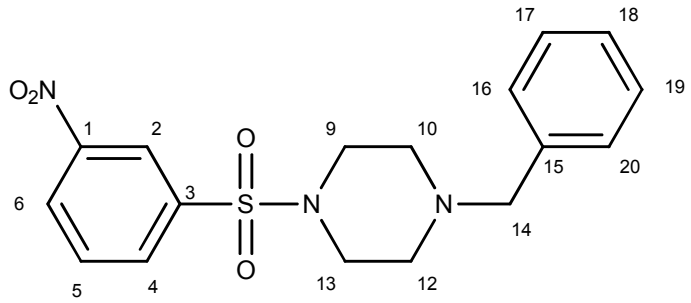
Pf : 118-120°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,98 (*s*, 1H, H_3); 7,13 (*dd*, 1H, J_{5-4} = 7,9 Hz, J_{5-6} = 4,8 Hz, H_5); 7,45-7,52 (*m*, 3H, $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 7,71 (*dd*, 1H, J_{4-5} = 7,9 Hz, J_{4-6} = 1,6 Hz, H_4); 8,15-8,23 (m, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 8,37 (*dd*, 1H, J_{6-5} = 4,8 Hz, J_{6-4} = 1,6 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 76,3 (C_2); 119,3 (C_3); 120,3 (C_5); 123,8 (C_a); 127,7 ($C_{5'}$); 128,0 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 128,9 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 134,1 (C_4); 138,5 ($C_{2'}$); 144,6 (C_6); 149,5 (C_b).

SM (IE) : m/z = 384 [M].

1-Benzyl-4-((3-nitrophényl)sulfonyl)pipérazine (27)



$C_{17}H_{19}N_3O_4S$
MM = 361,42 g/mol
Solide beige

Procédure générale IV

Le chlorure de 3-nitrobenzène-1-sulfonyle (2,26 mmol ; 0,50 g ;1 éq) et la *N*-benzylpipérazine (4,51 mmol ; 0,78 mL ; 2 éq) sont solubilisés dans 50 mL de dichlorométhane. Après 30 min, le milieu est hydrolysé et le produit est extrait au dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau, puis avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est isolé avec un rendement de 90% (0,73 g).

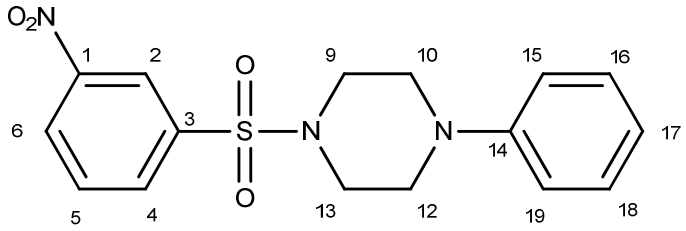
Pf : 70-72°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 2,54 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 3,09 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 3,50 (*s*, 2H, H_{14}); 7,22-7,28 (*m*, 5H, H_{16} + H_{17} + H_{18} + H_{19} + H_{20}); 8,77 (*t*, 1H, H_5); 8,06 (*td*, 1H, H_4); 8,45 (*dd*, 1H, H_6); 8,58 (*m*, 1H, H_2).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 46,4 (C_9 + C_{13}); 51,9 (C_{10} + C_{12}); 62,6 (C_{14}); 122,9 (C_2); 127,4 (C_6 + C_{18}); 128,5 (C_{17} + C_{19}); 129,1 (C_{16} + C_{20}); 130,6 (C_5); 133,3 (C_4); 136,1 (C_3); 137,2 (C_{15}); 146,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 361 [M].

1-((3-Nitrophényl)sulfonyl)-4-phénylpipérazine (28)



$C_{16}H_{17}N_3O_4S$
MM = 347,39 g/mol
Solide beige

Le composé **28** est obtenu selon la **procédure générale IV** au départ du chlorure de 3-nitrobenzène-1-sulfonyle (2,26 mmol ; 0,50 g ; 1 éq) et de la *N*-phénylpipérazine (4,51 mmol ; 0,68 mL ; 2 éq) dans 50 mL de dichlorométhane à température ambiante avec un rendement de 86% (0,67 g).

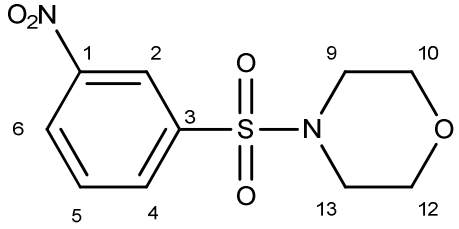
Pf : 75-76°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 3,10-3,22 (*m*, 8H, H_9 + H_{10} + H_{12} + H_{13}); 3,35 (*s*, 2H, H_{14}); 7,22-6,79-6,91 (*m*, 3H, H_{15} + H_{17} + H_{19}); 7,15-7,23 (*m*, 3H, H_{16} + H_{18}); 7,96 (*t*, 1H, H_5); 7,96 (*td*, 1H, H_4); 8,40 (*m*, 1H, H_2); 8,55 (*dd*, 1H, H_6).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 48,1 (C_9 + C_{13}); 52,3 (C_{10} + C_{12}); 114,9 (C_{15} + C_{19}); 121,4 (C_{17}); 123,9 (C_2); 128,5 (C_6); 129,1 (C_{16} + C_{18}); 130,6 (C_5); 133,6 (C_4); 135,8 (C_3); 145,2 (C_{14}); 146,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 347 [M].

4-((3-Nitrophényl)sulfonyl)morpholine (29)



$C_{10}H_{12}N_3O_5S$
MM = 272,28 g/mol
Solide beige

Le composé **29** est obtenu selon la **procédure générale IV** au départ du chlorure de 3-nitrobenzène-1-sulfonyle (2,26 mmol ; 0,50 g ; 1 éq) et de la morpholine (4,51 mmol ; 0,20 mL ; 2 éq) dans 50 mL de dichlorométhane à température ambiante avec un rendement de 98% (0,60 g).

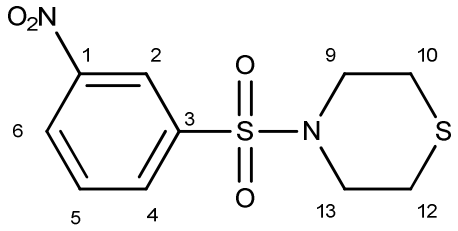
Pf : 83-85°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,95 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 3,63 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 7,96 (*t*, 1H, H_5); 8,18 (*td*, 1H, H_4); 8,36 (*m*, 1H, H_2); 8,58 (*dd*, 1H, H_6).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 45,1 (C_9 + C_{13}); 68,3 (C_{10} + C_{12}); 123,2 (C_2); 127,5 (C_6); 129,6 (C_5); 133,5 (C_4); 135,8 (C_3); 148,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 272 [M].

4-((3-Nitrophenyl)sulfonyl)thiomorpholine (30)



$C_{10}H_{12}N_2O_4S_2$
MM = 288,34 g/mol
Solide beige

Le composé **30** est obtenu selon la **procédure générale IV** au départ du chlorure de 3-nitrobenzène-1-sulfonyle (2,26 mmol ; 0,50 g ; 1 éq) et de la thiomorpholine (4,51 mmol ; 0,43 mL ; 2 éq) dans 50 mL de dichlorométhane à température ambiante avec un rendement de 98% (0,64 g).

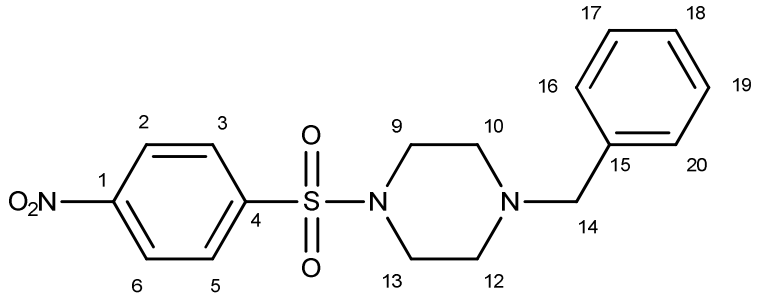
Pf : 68-70°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,65 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 3,53 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 7,99 (*t*, 1H, H_5); 8,21 (*td*, 1H, H_4); 8,38 (*m*, 1H, H_2); 8,59 (*dd*, 1H, H_6).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 25,1 (C_{10} + C_{12}); 56,4 (C_9 + C_{13}); 123,5 (C_2); 127,6 (C_6); 129,9 (C_5); 133,6 (C_4); 135,8 (C_3); 148,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 288 [M].

_N_-Benzyl-4-((4-nitrophényl)sulfonyl)pipérazine (31)



$C_{17}H_{19}N_3O_4S$
MM = 361,42 g/mol
Solide beige

Le composé **31** est obtenu selon la **procédure générale IV** au départ du chlorure de 4-nitrobenzène-1-sulfonyle (2,26 mmol ; 0,50 g ; 1 éq) et de la *N*-benzylpipérazine (4,51 mmol ; 0,78 mL ; 2 éq) dans 50 mL de dichlorométhane à température ambiante avec un rendement de 99% (0,82 g).

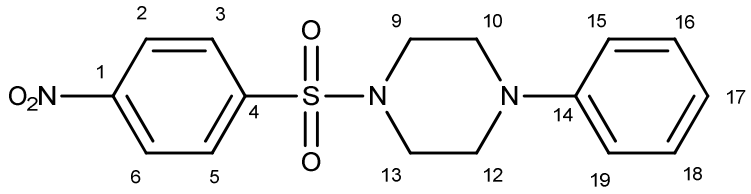
Pf : 74-75°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,49 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 2,95 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 3,45 (*s*, 2H, H_{14}); 7,22-7,28 (*m*, 5H, H_{16} + H_{17} + H_{18} + H_{19} + H_{20}); 8,00 (*m*, 2H, H_3 + H_5); 8,43 (*m*, 2H, H_2 + H_6).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 46,7 (C_9 + C_{13}); 52,5 (C_{10} + C_{12}); 63,9 (C_{14}); 124,9 (C_2 + C_3); 128,1 (C_{18}); 129,2 (C_3 + C_5 + C_{17} + C_{19}); 129,6 (C_{16} + C_{20}); 137,8 (C_{15}); 142,4 (C_4); 150,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 361 [M].

1-((4-Nitrophényl)sulfonyl)-4-phénylpipérazine (32)



$C_{16}H_{17}N_3O_4S$
MM = 347,39 g/mol
Solide beige

Le composé **32** est obtenu selon la **procédure générale IV** au départ du chlorure de 4-nitrobenzène-1-sulfonyle (2,26 mmol ; 0,50 g ; 1 éq) et de la *N*-phénylpipérazine (4,51 mmol ; 0,68 mL ; 2 éq) dans 50 mL de dichlorométhane à température ambiante avec un rendement quantitatif (0,78 g).

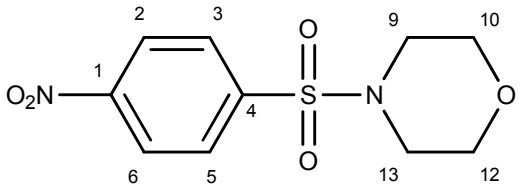
Pf : 85-86°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 3,09-3,35 (*m*, 8H, $H_9 + H_{10} + H_{12} + H_{13}$); 3,35 (*s*, 2H, H_{14}); 7,22-6,75-6,91 (*m*, 3H, $H_{15} + H_{17} + H_{19}$); 8,04 (*m*, 2H, $H_3 + H_5$) ; 8,45 (*m*, 2H, $H_2 + H_6$).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 48,2 ($C_9 + C_{13}$); 53,3 ($C_{10} + C_{12}$); 114,2 ($C_{15} + C_{19}$); 121,9 (C_{17}); 124,9 ($C_2 + C_6$); 128,3 ($C_3 + C_5$); 129,6 ($C_{16} + C_{18}$); 145,6 (C_4); 149,2 (C_{14}); 151,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 347 [M].

4-((4-Nitrophényl)sulfonyl)morpholine (33)



$C_{10}H_{12}N_3O_5S$
MM = 272,28 g/mol
Solide beige

Le composé **33** est obtenu selon la **procédure générale IV** au départ du chlorure de 4-nitrobenzène-1-sulfonyle (2,26 mmol ; 0,50 g ; 1 éq) et de la morpholine (4,51 mmol ; 0,20 mL ; 2 éq) dans 50 mL de dichlorométhane à température ambiante avec un rendement quantitatif (0,61 g).

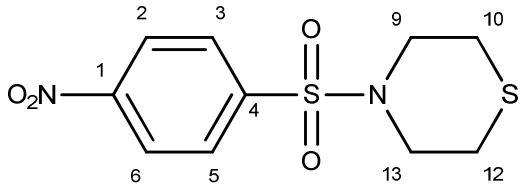
Pf : 86-88°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,95 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 3,62 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 8,02 (*m*, 2H, H_3 + H_5); 8,46 (*m*, 2H, H_2 + H_6).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 47,1 (C_9 + C_{13}); 65,3 (C_{10} + C_{12}); 124,2 (C_2 + C_6); 128,5 (C_3 + C_5); 145,5 (C_4); 151,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 272 [M].

4-((4-Nitrophényl)sulfonyl)thiomorpholine (34)



$C_{10}H_{12}N_2O_4S_2$
MM = 288,34 g/mol
Solide beige

Le composé **34** est obtenu selon la **procédure générale IV** au départ du chlorure de 4-nitrobenzène-1-sulfonyle (2,26 mmol ; 0,50 g ; 1 éq) et de la thiomorpholine (4,51 mmol ; 0,43 mL ; 2 éq) dans 50 mL de dichlorométhane à température ambiante avec un rendement de 97% (0,63 g).

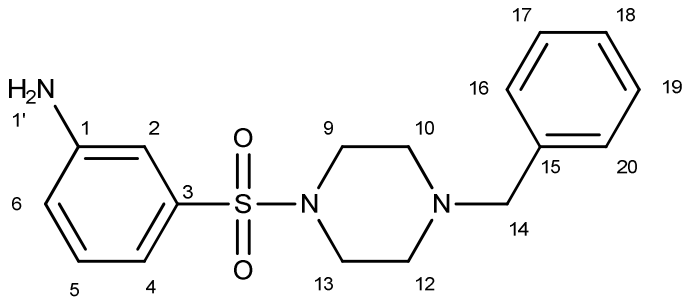
Pf : 72-73°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,56 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 3,53 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 8,15 (*m*, 2H, H_3 + H_5); 8,42 (*m*, 2H, H_2 + H_6).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 26,1 (C_{10} + C_{12}); 51,4 (C_9 + C_{13}); 124,5 (C_2 + C_6); 128,6 (C_3 + C_5); 145,6 (C_4); 151,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 288 [M].

3-((4-Benzylpipérazin-1-yl)sulfonyl)aniline (35)



$C_{17}H_{21}N_3O_2S$
MM = 331,41 g/mol
Solide beige

Procédure générale V

La *N*-benzyl-4-((3-nitrophényl)sulfonyl)pipérazine **27** (0,83 mmol ; 0,30 g ; 1 éq) est solubilisée dans 30 mL d'un mélange dichlorométhane/éthanol (1/1), puis le chlorure stanneux dihydraté (4,15 mmol ; 0,94 g ; 5 éq) est additionné. Après 3 h à reflux, le milieu est hydrolysé et le produit est extrait au dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau, puis avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est isolé avec un rendement de 95% (0,26 g).

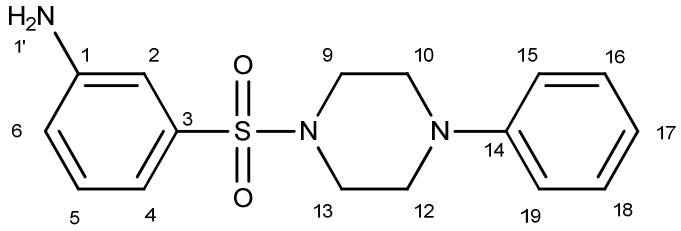
Pf : 108-110°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,52 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 3,09 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 3,50 (*s*, 2H, H_{14}); 5,91 (*s*, 2H, $H_{1'}$); 6,82 (*t*, 1H, H_5); 6,99-7,09 (*m*, 2H, H_4 + H_5); 7,22-7,28 (*m*, 6H, H_6 + H_{16} + H_{17} + H_{18} + H_{19} + H_{20}).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 46,2 (C_9 + C_{13}); 53,9 (C_{10} + C_{12}); 64,3 (C_{14}); 115,9 (C_2); 117,3 (C_4); 118,4 (C_6); 127,7 (C_{18}); 128,2 (C_5); 128,9 (C_{17} + C_{19}); 129,5 (C_{16} + C_{20}); 138,1 (C_3); 138,29(C_{15}); 148,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 331 [M].

3-((4-Phénylpipérazin-1-yl)sulfonyl)aniline (36)



$C_{16}H_{19}N_3O_2S$
MM = 317,41 g/mol
Solide beige

Le composé **36** est obtenu selon la **procédure générale V** au départ de la 1-((3-nitrophényl)sulfonyl)-4-phénylpipérazine **28** (0,64 mmol ; 0,30 g ; 1 éq) et du chlorure stanneux dihydraté (4,31 mmol ; 0,98 g ; 5 éq) dans 25 mL d'un mélange dichlorométhane/éthanol à reflux pendant 3 h avec un rendement de 74% (0,61 g).

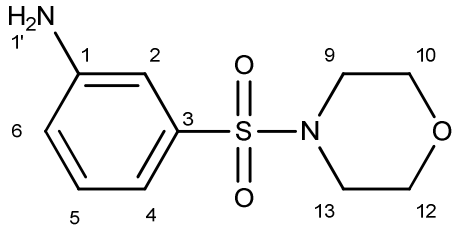
Pf : 115-116°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,98 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 3,18 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 3,35 (*s*, 2H, H_{14}); 5,68 (*s*, 2H, $H_{1'}$); 6,75-6,99 (*m*, 6H, H_{arom}); 7,15-7,29 (*m*, 3H, H_{arom}).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 48,1 (C_9 + C_{13}); 52,3 (C_{10} + C_{12}); 114,9 (C_{15} + C_{19}); 115,1 (C_2); 117,4 (C_4); 118,5 (C_6); 121,1 (C_{17}); 127,6 (C_5); 129,1 (C_{16} + C_{18}); 138,6 (C_3); 148,2 (C_{14}); 149,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 317 [M].

3-(Morpholinosulfonyl)aniline (37)



$C_{10}H_{14}N_2O_3S$
MM = 242,29 g/mol
Solide beige

Le composé **37** est obtenu selon la **procédure générale V** au départ de la 4-((3-nitrophényl)sulfonyl)morpholine **29** (1,10 mmol ; 0,30 g ; 1 éq) et du chlorure stanneux dihydraté (5,51 mmol ; 1,25 g ; 5 éq) dans 40 mL d'un mélange dichlorométhane/éthanol à reflux pendant 3 h avec un rendement de 99% (0,26 g).

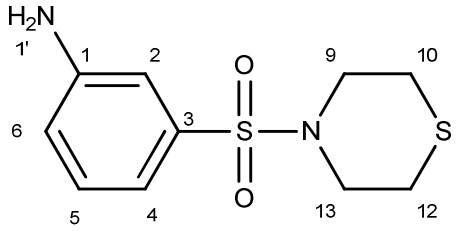
Pf : 120-122°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,96 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 3,65 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 5,75 (*s*, 2H, $H_{1'}$); 6,63 (*m*, 1H, H_6); 7,12 (*s*, *2*H, H_2); 7,22 (*m*, 1H, H_4); 7,48 (*t*, 1H, H_5).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 47,1 (C_9 + C_{13}); 65,3 (C_{10} + C_{12}); 114,2 (C_2); 117,5 (C_4); 119,5 (C_6); 127,6 (C_5); 138,8 (C_3); 149,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 242 [M].

3-(Thiomorpholinosulfonyl)aniline (38)



$C_{10}H_{14}N_2O_2S_2$
MM = 258,36 g/mol
Solide beige

Le composé **38** est obtenu selon la **procédure générale V** au départ de la 4-((3-nitrophényl)sulfonyl)thiomorpholine **30** (1,04 mmol ; 0,30 g ; 1 éq) et du chlorure stanneux dihydraté (5,20 mmol ; 1,18 g ; 5 éq) dans 40 mL d'un mélange dichlorométhane/éthanol à reflux pendant 3 h avec un rendement de 83% (0,27 g).

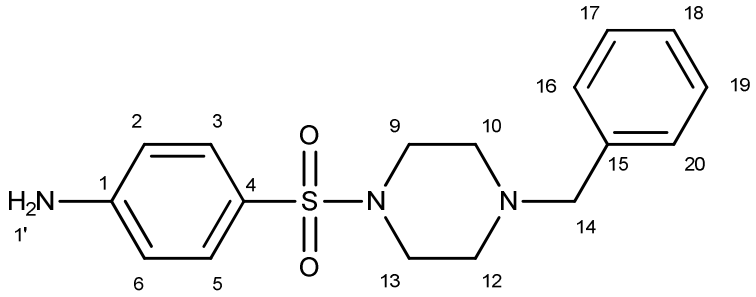
Pf : 105-107°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,58 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 3,52 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 5,82 (*s*, 2H, $H_{1'}$); 6,63 (*m*, 1H, H_6); 7,12 (*s*, *2*H, H_2); 7,21 (*m*, 1H, H_4); 7,49 (*t*, 1H, H_5).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 26,1 (C_{10} + C_{12}); 51,4 (C_9 + C_{13}); 115,5 (C_2); 117,6 (C_4); 118,6 (C_6); 128,9 (C_5); 138,8 (C_3); 150,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 258 [M].

4-((4-Benzylpipérazin-1-yl)sulfonyl)aniline (39)



$C_{17}H_{21}N_3O_2S$
MM = 331,41 g/mol
Solide beige

Le composé **39** est obtenu selon la **procédure générale V** au départ de la *N*-benzyl-4-((4-nitrophényl)sulfonyl)pipérazine **31** (0,83 mmol ; 0,30 g ; 1 éq) et du chlorure stanneux dihydraté (4,15 mmol ; 0,94 g ; 5 éq) dans 30 mL d'un mélange dichlorométhane/éthanol à reflux pendant 3 h avec un rendement de 87% (0,24 g).

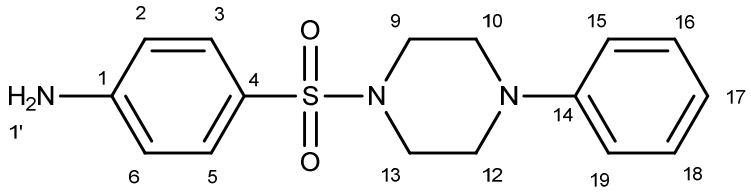
Pf : 113-114°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,58 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 3,52 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 3,66 (*s*, 2H, H_{14}); 5,82 (*s*, 2H, $H_{1'}$); 6,63 (*m*, 2H, H_2 + H_6); 7,26-7,33 (*m*, 5H, H_{16} + H_{17} + H_{18} + H_{19} + H_{20}); 7,63 (*m*, 2H, H_3 + H_5).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 26,1 (C_{10} + C_{12}); 51,4 (C_9 + C_{13}); 65,1 (C_{14}); 115,5 (C_2 + C_6); 127,2 (C_{18}); 128,2 (C_{17} + C_{19}); 128,9 (C_{16} + C_{20}); 129,6 (C_4); 130,2 (C_3 + C_5); 138,8 (C_{15}); 150,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 331 [M].

4-((4-Phénylpipérazin-1-yl)sulfonyl)aniline (40)



$C_{16}H_{19}N_3O_2S$
MM = 317,41 g/mol
Solide beige

Le composé **40** est obtenu selon la **procédure générale V** au départ de la 1-((4-nitrophényl)sulfonyl)-4-phénylpipérazine **32** (0,87 mmol ; 0,30 g ; 1 éq) et du chlorure stanneux dihydraté (4,32 mmol ; 0,98 g ; 5 éq) dans 25 mL d'un mélange dichlorométhane/éthanol à reflux pendant 3 h avec un rendement de 95% (0,26 g).

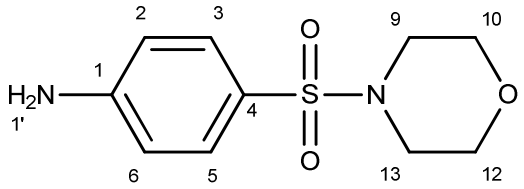
Pf : 120-122°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,58 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 3,52 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 5,82 (*s*, 2H, $H_{1'}$); 6,1 (*m*, 2H, H_2 + H_6); 6,79 (*s*, 1H, H_{17}); 6,97 (*m*, 2H, H_{15} + H_{19}); 7,27 (*m*, 2H, H_{16} + H_{18}); 7,61 (*m*, 2H, H_3 + H_5).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 26,1 (C_{10} + C_{12}); 51,4 (C_9 + C_{13}); 112,5 (C_2 + C_6); 114,6 (C_{15} + C_{19}); 121,6 (C_{17}); 129,9 (C_4 + C_{16} + C_{18}); 130,8 (C_{14}); 151,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 317 [M].

4-(Morpholinosulfonyl)aniline (41)



$C_{10}H_{14}N_2O_3S$
MM = 242,29 g/mol
Solide beige

Le composé **41** est obtenu selon la **procédure générale V** au départ de la 1-((4-nitrophényl)sulfonyl)-4-phénylpipérazine **33** (1,10 mmol ; 0,30 g ; 1 éq) et du chlorure stanneux dihydraté (5,51 mmol ; 1,25 g ; 5 éq) dans 40 mL d'un mélange dichlorométhane/éthanol à reflux pendant 3 h avec un rendement de 99% (0,27 g).

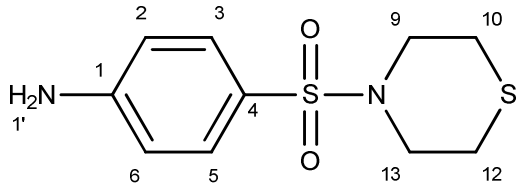
Pf : 131-132°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,58 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 3,52 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 5,82 (*s*, 2H, $H_{1'}$); 6,63 (*m*, 1H, H_6); 7,12 (*s*, 2H, H_2); 7,21 (*m*, 1H, H_4); 7,49 (*t*, 1H, H_5).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 26,1 (C_{10} + C_{12}); 51,4 (C_9 + C_{13}); 115,5 (C_2); 117,6 (C_4); 118,6 (C_6); 128,9 (C_5); 138,8 (C_3); 150,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 242 [M].

4-(Thiomorpholinosulfonyl)aniline (42)



$C_{10}H_{14}N_2O_2S_2$
MM = 258,36 g/mol
Solide beige

Le composé **42** est obtenu selon la **procédure générale V** au départ de la 4-((4-nitrophényl)sulfonyl)thiomorpholine **34** (1,04 mmol ; 0,30 g ; 1 éq) et du chlorure stanneux dihydraté (5,20 mmol ; 1,76 g ; 5 éq) dans 40 mL d'un mélange dichlorométhane/éthanol à reflux pendant 3 h avec un rendement de 99% (0,27 g).

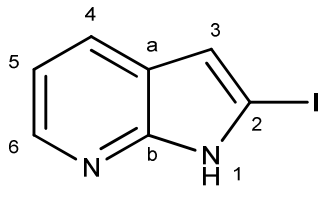
Pf : 110-112°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,58 (*m*, 4H, H_{10} + H_{12}); 3,52 (*m*, 4H, H_9 + H_{13}); 5,82 (*s*, 2H, $H_{1'}$); 6,63 (*m*, 1H, H_6); 7,12 (*s*, 2H, H_2); 7,21 (*m*, 1H, H_4); 7,49 (*t*, 1H, H_5).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 26,1 (C_{10} + C_{12}); 51,4 (C_9 + C_{13}); 115,5 (C_2); 117,6 (C_4); 118,6 (C_6); 128,9 (C_5); 138,8 (C_3); 150,9 (C_1).

SM (IE) : m/z = 258 [M].

2-Iodo-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (43)



$C_7H_5IN_2$
MM = 244,03 g/mol
Solide beige

- couplage palladié : dans des conditions anhydes, le 2-iodo-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **26** (0,21 mmol ; 0,08 g ; 1 éq), la 3-((4-phénylpipérazin-1-yl)sulfonyl)aniline **36** (0,63 mmol ; 0,20 g ; 3 éq), le tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium(0) (0,005 mmol ; 0,004 g ; 0,02 éq), le Xantphos (0,009 mmol ; 0,005 g ; 0,04 éq) et le *tert*-butylate de sodium (0,68 mmol ; 0,07 g ; 3 éq) sont placés dans un tube scellé. Après 2 cycles vide/argon, 1 mL de dioxane est ajouté en rinçant les parois du tube. Le tube est scellé avec un bouchon en Téflon et le milieu est chauffé à 80°C. Après 3 h, le milieu est hydrolysé et le produit est extrait au dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau, puis avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est isolé avec un rendement de 80% (0,05 g).

- désulfonylation : Le composé **43** peut aussi être obtenu selon la **procédure générale VI** au départ du 2-iodo-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **26** (0,52 mmol ; 0,20 g ; 1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (0,78 mmol ; 0,08 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 93% (0,12 g).

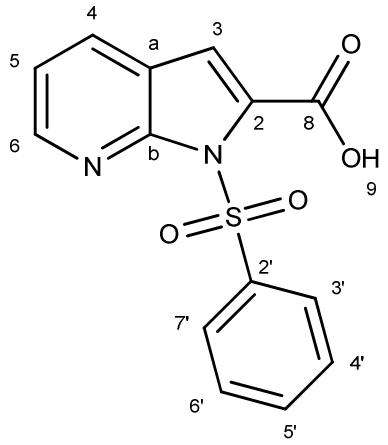
Pf : 189-190°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,73 (*s*, 1H, H_3); 7,09 (*dd*, 1H, J_{5-4} = 7,8 Hz, J_{5-6} = 4,9 Hz, H_5); 7,90 (*dd*, 1H, J_{4-5} = 7,8 Hz, J_{4-6} = 1,1 Hz, H_4); 8,38 (*dd*, 1H, J_{6-5} = 4,9 Hz, J_{6-4} = 1,1 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 78,2 (C_2); 110,1 (C_3); 116,1 (C_5); 123,0 (C_a); 127,8 (C_4); 141,4 (C_6); 150,5 (C_b).

SM (IE) : m/z = 244 [M].

Acide 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique (44)



$C_{14}H_{10}N_2O_4S$
MM = 302,31 g/mol
Solide beige

Dans des conditions anhydres, la 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **25** (7,74 mmol ; 2,00 g ; 1 éq) est solubilisée dans 30 mL de tétrahydrofurane anhydre, puis la solution est refroidie à -35°C. Le diisopropylamidure de lithium (18,58 mmol ; 9,20 mL ; 2,4 éq) est additionné goutte à goutte. Après 30 min, du dioxyde de carbone gazeux est mis à buller dans la solution. Après 12 h avec retour progressif de la température à température ambiante, le milieu est hydrolysé et la phase aqueuse est acidifiée à pH 2 avec une solution d'acide chlorhydrique 6N, puis le produit est extrait au dichlorométhane. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est isolé avec un rendement de 75% (1,75 g).

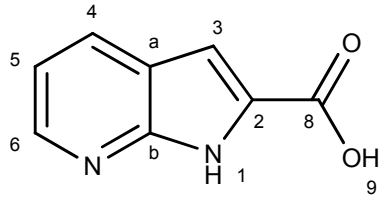
Pf : 165-166°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 7,27 (*s*, 1H, H_3); 7,37 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,9 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 4,8 Hz, H_5); 7,71-7,79 (*m*, 3H, $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 8,12 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,9 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,6 Hz, H_4); 8,24-8,28 (*m*, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 8,50 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 4,8 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,6 Hz, H_6).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 111,9 (C_3); 120,3 (C_5); 120,6 (C_a); 127,8 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 129,4 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 131,6 (C_4); 132,9 ($C_{5'}$); 134,7 ($C_{2'}$); 137,9 (C_2); 146,8 (C_6); 149,1 (C_b); 162,0 (C_8).

SM (IE) : m/z = ne passe pas.

Acide 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique (45)



$C_8H_6N_2O_2$
MM = 162,15 g/mol
Solide beige

Procédure générale VI

Dans des conditions anhydres, l'acide 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **44** (0,66 mmol ; 0,20 g ; 1 éq) et le *tert*-butyate de sodium (0,99 mmol ; 0,10 g ; 1,5 éq) sont placés dans un tube scellé. Après deux cycles vide/argon, 1 mL de dioxane est ajouté en rinçant les parois du tube. Celui-ci est scellé avec un bouchon en téflon et le milieu est porté à 80°C. Après 3 h, le milieu est hydrolysé et la phase aqueuse est acidifiée à pH 2 avec une solution d'acide chlorhydrique 6N, puis le produit est extrait au dichlorométhane. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est isolé avec un rendement de 92% (0,10 g).

Ce traitement à l'acide chlorhydrique n'est utilisé que pour les composés présentant une fonction acide. Pour tous les autres composés, une extraction classique H_2O/DCM sera réalisée.

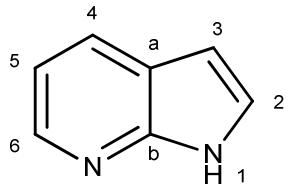
Pf : 282-283°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 7,10 (*s*, 1H, H_3); 7,13 (*dd*, 1H, J_{5-4} = 7,9 Hz, J_{5-6} = 4,6 Hz, H_5); 8,08 (*dd*, 1H, J_{4-5} = 7,9 Hz, J_{4-6} = 1,5 Hz, H_4); 8,38 (*dd*, 1H, J_{6-5} = 4,8 Hz, J_{6-4} = 1,5 Hz, H_6); 12,37 (*s*, 1H, H_1); 13,14 (*s*, 1H, H_9).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 106,2 (C_3); 116,7 (C_5); 119,2(C_a); 128,9 (C_2); 130,6 (C_4); 146,3 (C_6); 148,8 (C_b); 162,6 (C_8).

SM (IE) : m/z = 162 [M].

1*H*-Pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (46)



$C_7H_6N_2$
MM = 118,14 g/mol
Solide blanc
CAS : 271-63-6

Le composé **46** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ de la *N*-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **25** (0,77 mmol ; 0,20 g ; 1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (1,16 mmol ; 0,11 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 93% (0,09 g).

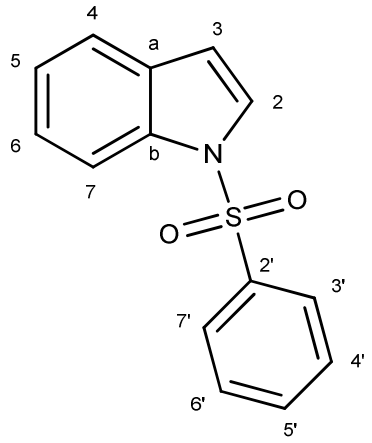
Pf : 105-107°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,54 (*d*, 1H, J_{3-2} = 3,5 Hz, H_3); 7,12 (*dd*, 1H, J_{5-4} = 7,8 Hz, J_{5-6} = 4,8 Hz, H_5); 7,45 (*d*, 1H, J_{2-3} = 3,5 Hz, H_2); 8,01 (*dd*, 1H, J_{4-5} = 7,8 Hz, J_{4-6} = 1,5 Hz, H_4); 8,39 (*dd*, 1H, J_{6-5} = 4,8 Hz, J_{6-4} = 1,5 Hz, H_6); 12,37 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 100,3 (C_3); 115,6 (C_5); 120,6 (C_a); 125,5 (C_2); 129,0(C_4); 142,9 (C_6); 148,8 (C_b).

SM (IE) : m/z = 118 [M].

1-(Phénylsulfonyl)-1*H*-indole (47)



$C_{14}H_{11}NO_2S$
MM = 257,31 g/mol
Solide blanc
CAS : 40899-71-6

Le composé **47** est obtenu selon la **procédure générale III** au départ du 1*H*-indole (8,54 mmol ; 1,00 g ; 1 éq), du bromure de tétrabutylammonium (0,25 mmol ; 0,08 g ; 0,03 éq), de la soude (25,61 mmol ; 1,02 g ; 3 éq) et du chlorure de benzènesulfonyle (10,67 mmol ; 1,36 mL ; 1,25 éq) dans 20 mL de dichlorométhane à température ambiante pendant 2 h avec un rendement de 95% (2,09 g).

Pf : 75-76°C (litt. : 76,5-77,5°C).[153]

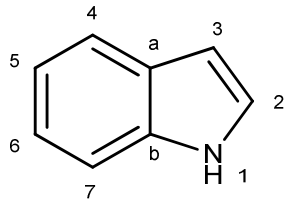
RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 6,69 (*m*, 1H, H_3); 7,24-7,28 (*m*, 1H, H_5); 7,32-7,36 (*m*, 1H, H_6); 7,44-7,47 (*m*, 2H, $H_{4'}$ + $H_{6'}$); 7,53-7,56 (*m*, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 7,61 (*m*, 1H, H_2); 7,90-7,92 (*m*, 2H, $H_{5'}$ + H_4); 8,03 (*m*, 1H, H_7).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 108,9 (C_2); 113,4 (C_3); 114,5 (C_7); 119,8 (C_5); 123,2 (C_4); 124,9 (C_6); 128,3 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 129,7 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 130,9 (C_a); 133,8 ($C_{5'}$); 134,7 (C_b); 138,0 ($C_{2'}$).

SM (IE) : m/z = 257 [M].

[153] Uchiyama M., Matsumoto Y., Nakamura S., Ohwada T., Kobayashi N., Yamashita N., Matsumiya A., Sakamoto T. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8755

1*H*-indole (48)



C_8H_7N
MM = 117,14 g/mol
Solide blanc
CAS : 120-72-9

Le composé **48** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ du *N*-(phénylsulfonyl)-1*H*-indole **47** (0,77 mmol ; 0,20 g ; 1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (1,16 mmol ; 0,11 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 90% (0,09 g).

Pf : 53-54°C (litt. : 49,5-50,5°C).[154]

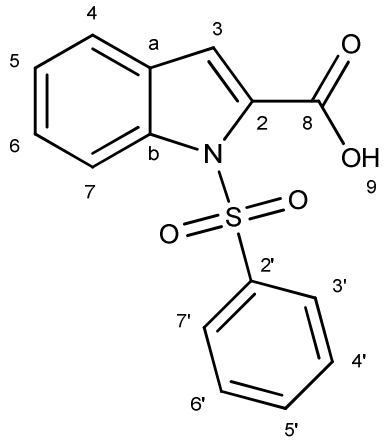
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,45 (*d*, 1H, $J_{3\text{-}2}$ = 3,5 Hz, H_3); 7,00-7,08 (*m*, 2H, H_5 + H_6); 7,27 (*d*, 1H, $J_{2\text{-}3}$ = 3,5 Hz, H_2); 7,40 (*m*, 1H, H_7); 7,45 (*m*, 1H, H_4); 12,1 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 102,3 (C_3); 111,7 (C_7); 119,6 (C_6); 120,5 (C_4); 121,7 (C_5); 124,2 (C_2); 127,6 (C_a); 135,5 (C_b).

SM (IE) : m/z = 117 [M].

[154] Gassman P.G., van Bergen T.J., Gilbert D.P., Cue Jr B.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 5495

Acide 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-indole-2-carboxylique (49)



$C_{15}H_{11}NO_4S$
MM = 301,32 g/mol
Solide blanc
CAS : 40899-93-2

Le composé **49** est obtenu selon la **procédure générale III** au départ de l'acide 1*H*-indole-2-carboxylique (6,21 mmol ; 1,00 g ; 1 éq), du bromure de tétrabutylammonium (0,18 mmol ; 0,60 g ; 0,03 éq), de la soude (18,62 mmol ; 0,74 g ; 3,0 éq) et du chlorure de benzènesulfonyle (7,76 mmol ; 0,99 mL ; 1,25 éq) dans 20 mL de dichlorométhane à température ambiante pendant 2 h avec un rendement de 75% (1,40 g).

Pf : 174-176°C (litt. : 175-178°C).[155]

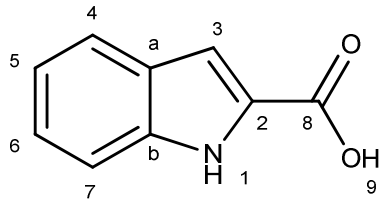
RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 6,87 (*m*, 1H, H_5); 7,33 (*m*, 1H, H_6); 7,44 (*s*, 1H, H_3); 7,62-7,71 (*m*, 3H, $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 7,83-7,86 (*m*, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 7,90-7,92 (*m*, 2H, H_4 + H_7).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 108,9 (C_3); 108,4 (C_7); 119,8 (C_5); 124,2 (C_4); 124,9 (C_6); 127,3 (C_2); 128,6 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 129,9 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 133,8 ($C_{5'}$); 134,9 (C_a); 136,7 (C_b); 138,0 ($C_{2'}$); 160,5 (C_8).

SM (IE) : m/z = ne passe pas.

[155] Mahboobi S., Teller S., Pongratz H., Hufsky H., Sellmer A., Botzki A., Uecker A., Beckers T., Baasner S., Schächtele C., Überall F., Kassack M.U., Dove S., Böhmer F.D. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1002

Acide 1*H*-indole-2-carboxylique (50)



$C_9H_7NO_2$
MM = 161,16 g/mol
Solide blanc
CAS : 1477-50-5

Le composé **50** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ de l'acide *N*-(phénylsulfonyl)-1*H*-indole-2-carboxylique **49** (0,66 mmol ; 0,20 g ;1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (0,99 mmol ; 0,10 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 98% (0,10 g).

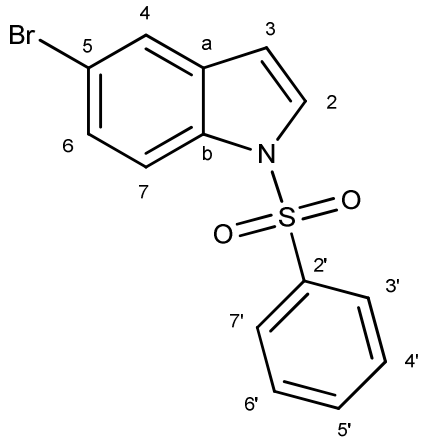
Pf : 204-205°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,96-6,99 (*m*, 2H, H_5 + H_6); 7,21 (*s*, 1H, H_3); 7,54 (*m*, 1H, H_4); 7,67 (*m*, 1H, H_7); 12,1 (*s*, 1H, H_1); 13,43 (*s*, 1H, H_9).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 108,3 (C_3); 111,1 (C_7); 119,7 (C_5); 120,5 (C_4); 127,6 (C_6); 126,2 (C_2); 130,6 (C_a); 132,5 (C_b); 160,5 (C_8).

SM (IE) : m/z = ne passe pas.

5-Bromo-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-indole (51)



$C_{14}H_{10}BrNO_2S$
MM = 336,20 g/mol
Solide blanc
CAS : 118757-11-2

Le composé **51** est obtenu selon la **procédure générale III** au départ du 5-bromo-1*H*-indole (5,10 mmol ; 1,00 g ; 1 éq), du bromure de tétrabutylammonium (0,15 mmol ; 0,05 g ; 0,03 éq), de la soude (15,27 mmol ; 0,61 g ; 3,0 éq) et du chlorure de benzènesulfonyle (6,38 mmol ; 0,81 mL ; 1,25 éq) dans 15 mL de dichlorométhane à température ambiante pendant 2 h avec un rendement quantitatif (1,71 g).

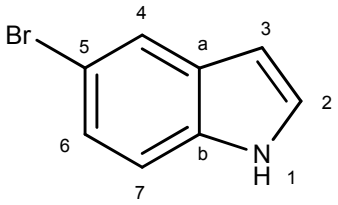
Pf : 115-116°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,38 (*m*, 1H, H_3); 7,60-7,70 (*m*, 5H, H_2 + H_5 + $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 7,80-7,87 (*m*, 3H, H_7 + $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 8,15 (*s*, 1H, H_4).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 108,3 (C_2);113,9 (C_3 + C_{13}); 121,2 (C_4); 124,9 (C_6); 128,5 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 129,9 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 131,9 (C_a); 133,4 (C_7 + $C_{5'}$); 137,0 ($C_{2'}$).

SM (IE) : m/z = 336 [M].

5-Bromo-1*H*-indole (52)



C_8H_6BrN
MM = 196,04 g/mol
Solide beige
CAS : 10075-50-0

Le composé **52** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ du 5-bromo-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-indole **51** (0,59 mmol ; 0,20 g ; 1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (0,89 mmol ; 0,09 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 94% (0,11 g).

Pf: 90-92°C (litt. : 90-92°C).[156]

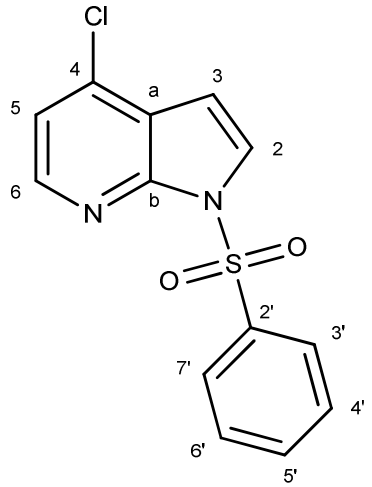
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,45 (*m*, 1H, H_3); 7,27-7,40 (*m*, 3H, H_2 + H_6 + H_7); 8,05 (*m*, 1H, H_4); 8,92 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 102,5 (C_3); 113,1 (C_5 + C_7); 121,5 (C_4); 125,6 (C_2 + C_6); 130,2 (C_a); 134,5 (C_b).

SM (IE): m/z = 196 [M].

[156] Moyer P.M., Shiurba J.F., Rapoport H. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5106

4-Chloro-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (53)



$C_{13}H_9ClN_2O_2S$
MM = 292,74 g/mol
Solide beige

Le composé **51** est obtenu selon la **procédure générale III** au départ du 4-chloro-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (6,55 mmol ; 1,00 g ; 1 éq), du bromure de tétrabutylammonium (0,19 mmol ; 0,06 g ; 0,03 éq), de la soude (19,66 mmol ; 0,79 g ; 3,0 éq) et du chlorure de benzènesulfonyle (8,19 mmol ; 1,04 mL ; 1,25 éq) dans 15 mL de dichlorométhane à température ambiante pendant 2 h avec un rendement de 95% (1,92 g).

Pf : 120-121°C (litt. : 120°C).[157]

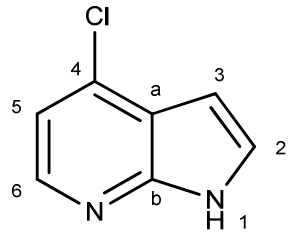
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,33 (*d*, 1H, $J_{3\text{-}2}$ = 3,5 Hz, H_3); 7,28 (*d*, 1H, $J_{2\text{-}3}$ = 3,5 Hz, H_2); 7,45 (*m*, 1H, H_5); 7,62-7,71 (*m*, 3H, $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 7,80-7,86 (*m*, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 8,42 (*m*, 1H, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 79,5 (C_4); 99,3 (C_3);115,9 (C_5); 121,9 (C_a); 123,2 (C_2); 128,5 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 129,9 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 133,4 ($C_{5'}$); 137,0 ($C_{2'}$); 143,9 (C_6);.149,2 (C_b).

SM (IE) : m/z = 292 [M].

[157] Layek M., Gajare V., Kalita D., Islam A., Mukkanti K., Pal M. *Tetrahedron* **2008**, *65*, 4814

4-Chloro-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (54)



$C_7H_5ClN_2$
MM = 152,58 g/mol
Solide beige

Le composé **54** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ de la 4-chloro-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **53** (0,68 mmol ; 0,20 g ;1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (1,02 mmol ; 0,10 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 89% (0,09 g).

Pf : 179-180°C (litt. : 177-178°C).[158]

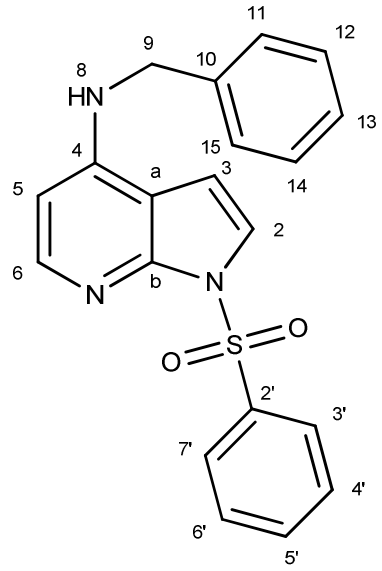
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,6 (*d* 1H, $J_{3\text{-}2}$ = 3,2 Hz, H_3); 7,18 (*d*, 1H, $J_{5\text{-}6}$ = 5,2 Hz, H_5); 7,45 (*d* 1H, $J_{2\text{-}3}$ = 3,2 Hz, H_2); 8,27 (*d*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,2 Hz, H_6); 11,01 (*sl*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 100,5 (C_3); 116,1 (C_5); 121,2 (C_a); 126,6 (C_2); 134,5 (C_4); 143,5 (C_6); 149,5 (C_b).

SM (IE): m/z = 152 [M].

[158] Benoit S., Gingras S., Soundararajan N. **2003** WO 082289

_N_-Benzyl-1-(phénylsulfonyl)-1_H_-pyrrolo[2,3-_b_]pyridin-4-amine (55)



$C_{20}H_{17}N_3O_2S$
MM = 363,43 g/mol
Solide beige

Le composé **55** est obtenu selon la **procédure générale III** au départ du *N*-benzyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-4-amine (4,47 mmol ; 1,00 g ; 1 éq), du bromure de tétrabutylammonium (0,13 mmol ; 0,04 g ; 0,03 éq), de la soude (13,43 mmol ; 0,54 g ; 3,0 éq) et du chlorure de benzènesulfonyle (5,57 mmol ; 0,71 mL ; 1,25 éq) dans 10 mL de dichlorométhane à température ambiante pendant 2 h avec un rendement de 60% (0,98 g).

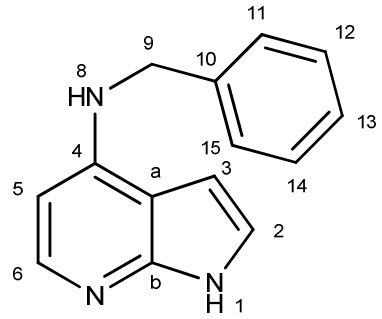
Pf : 185-186°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 4,36 (*s*, 2H, H_9); 6,45 (*d*, 1H, $J_{3\text{-}2}$ = 3,5 Hz, H_3); 6,95 (*d*, 1H, $J_{5\text{-}6}$ = 5,3 Hz, H_5); 7,23-7,30 (*m*, 5H, H_{11} + H_{12} + H_{13} + H_{14} + H_{15}); 7,18 (*d*, 1H, $J_{2\text{-}3}$ = 3,5 Hz, H_2); 7,62-7,71 (*m*, 3H, $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 7,80-7,86 (*m*, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 8,27 (*d*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,3 Hz, H_6); 8,87 (*s*, 1H, H_8).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 48,5 (C_9); 99,3 (C_3); 101,9 (C_5); 107,9 (C_a); 124,2 (C_2); 125,2 (C_{13}); 126,5 (C_{11} + C_{15}); 128,9 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$ + C_{12} + C_{14}); 130,2 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 133,4 ($C_{5'}$); 79,5 (C_4); 137,5 ($C_{2'}$); 139,3 (C_6); 144,3 (C_6);.148,2 (C_b); 150,1 (C_4).

SM (IE) : m/z = 363 [M].

_N_-Benzyl-1_H_-pyrrolo[2,3-_b_]pyridin-4-amine (56)



$C_{14}H_{13}N_3$
MM = 223,27 g/mol
Solide beige

Le composé **56** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ de la *N*-benzyl-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-4-amine **55** (0,55 mmol ; 0,20 g ; 1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (0,83 mmol ; 0,08 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement quantitatif (0,12 g).

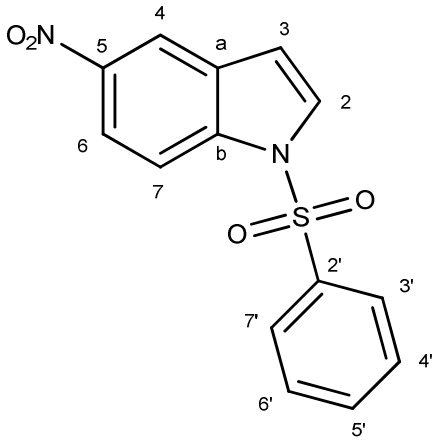
Pf : 168-170°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 4,87 (*s*, 1H, H_8); 6,72 (*d*, 1H, $J_{3\text{-}2}$ = 3,2 Hz, H_3); 7,18 (*d*, 1H, $J_{5\text{-}6}$ = 5,2 Hz, H_5); 7,23-7,30 (*m*, 5H, H_{11} + H_{12} + H_{13} + H_{14} + H_{15}); 7,53 (*d*, 1H, $J_{2\text{-}3}$ = 3,2 Hz, H_2); 8,19 (*d*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,2 Hz, H_6); 10,89 (*sl*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 48,9 (C_8); 98,5 (C_3); 103,1 (C_5); 112,2 (C_a); 125,2 (C_{13}); 126,5 (C_{11} + C_{15}); 127,6 (C_2); 128,3 (C_{12} + C_{14}); 139,0 (C_{10}); 143,5 (C_6); 148,0 (C_4); 149,3 (C_b).

SM (IE) : m/z = 223 [M].

5-Nitro-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-indole (57)



$C_{14}H_{10}N_4O_2S$
MM = 302,31 g/mol
Solide beige

Le composé **57** est obtenu selon la **procédure générale III** au départ du 5-nitro-1*H*-indole (6,16 mmol ; 1,00 g ; 1 éq), du bromure de tétrabutylammonium (0,18 mmol ; 0,06 g ; 0,03 éq), de la soude (18,50 mmol ; 0,74 g ; 3,0 éq) et du chlorure de benzènesulfonyle (7,71 mmol ; 0,98 mL ; 1,25 éq) dans 15 mL de dichlorométhane à température ambiante pendant 2 h avec un rendement de 91% (1,83 g).

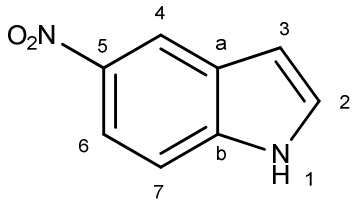
Pf : 152-153°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,38 (*d*, 1H, $J_{3\text{-}2}$ = 3,5 Hz, H_3); 7,58 (*d*, 1H, $J_{2\text{-}3}$ = 3,5 Hz, H_2); 7,62-7,71 (*m*, 3H, $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 7,79-7,86 (*m*, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 8,10 (*m*, 1H, H_6); 8,23 (*m*, 1H, H_7); 9,62 (*s*, 1H, H_4).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 108,3 (C_2); 112,9 (C_7); 113,9 (C_3); 114,2 (C_6); 128,9 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 129,2 (C_a); 129,9 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 132,4 (C_5); 133,6 ($C_{5'}$); 137,5 ($C_{2'}$); 140,2 (C_b); 142,5 (C_4).

SM (IE) : m/z = 302 [M].

5-Nitro-1*H*-indole (58)



$C_8H_6N_2O_2$
MM = 162,15 g/mol
Solide beige
CAS : 6146-52-7

Le composé **58** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ du 5-nitro-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-indole **57** (0,66 mmol ; 0,20 g ; 1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (0,99 mmol ; 0,10 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 98% (0,11 g).

Pf: 140-142°C (litt. : 140-141°C).[159]

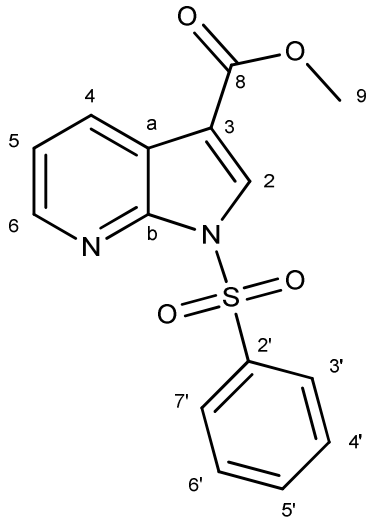
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 6,45 (*d*, 1H, $J_{3\text{-}2}$ = 3,2 Hz, H_3); 7,31 (*d*, 1H, $J_{2\text{-}3}$ = 3,2 Hz, H_2); 7,75 (*d*, 1H, $J_{7\text{-}6}$ = 5,2 Hz, H_7); 8,56 (*d*, 1H, $J_{6\text{-}7}$ = 5,2 Hz, H_6); 9,26 (*s*, 1H, H_4); 10,89 (*sl*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 102,5 (C_3); 112,1 (C_7); 115,5 (C_6); 124,6 (C_2); 129,2 (C_a); 133,0 (C_5); 141,3 (C_b); 142,9 (C_4).

SM (IE): m/z = 162 [M].

[159] Fors B.P., Buchwald S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 12898

1-(Phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-3-carboxylate de méthyle (59)



$C_{15}H_{12}N_2O_4S$
MM = 316,33 g/mol
Solide beige

Le composé **59** est obtenu selon la **procédure générale III** au départ de l'ester 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-3-carboxylate de méthyle (5,67 mmol ; 1,00 g ; 1 éq), du bromure de tétrabutylammonium (0,17 mmol ; 0,05 g ; 0,03 éq), de la soude (17,13 mmol ; 0,68 g ; 3,0 éq) et du chlorure de benzènesulfonyle (7,10 mmol ; 0,91 mL ; 1,25 éq) dans 15 mL de dichlorométhane à température ambiante pendant 2 h avec un rendement de 81% (1,45 g).

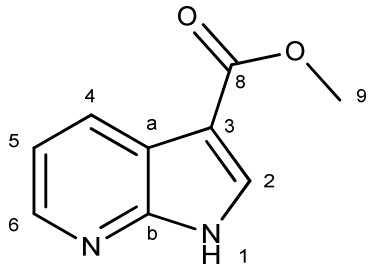
Pf : 176-177°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,91 (C_9); 7,36 (*d*, 1H, $J_{5\text{-}6}$ = 5,2 Hz, H_5); 7,62-7,71 (*m*, 3H, $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 7,79-7,86 (*m*, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 8,24 (*s*, 1H, H_2); 7,58 (*d*, 1H, $J_{2\text{-}3}$ = 3,5 Hz, H_2); 8,48 (*d*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,2 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 51,2 (C_9), 115,9 (C_3); 118,4 (C_5); 119,2 (C_a); 124,3 (C_2); 128,9 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 129,9 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 132,5 (C_4); 133,6 ($C_{5'}$); 137,5 ($C_{2'}$); 145,2 (C_6); 112,9 (C_7); 146,2 (C_b); 165,8 (C_8).

SM (IE) : m/z = 316 [M].

1*H*-Pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-3-carboxylate de méthyle (60)



$C_9H_8N_2O_2$
MM = 176,17 g/mol
Solide beige

Le composé **60** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ de l'ester 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-3-carboxylate de méthyle **59** (0,63 mmol ; 0,20 g ; 1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (0,95 mmol ; 0,09 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 66% (0,07 g).

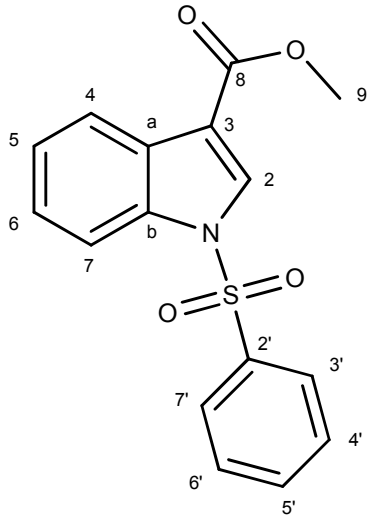
Pf : 190-191°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,95 (*s*, 3H, H_9); 7,35 (*dd*, 1H, $J_{5\text{-}4}$ = 7,5 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 5,3 Hz, H_5); 7,55 (*s*, 1H, H_2); 8,43 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,5 Hz, $J_{5\text{-}6}$ = 1,6 Hz, H_4); 8,51 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,3 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,6 Hz, H_6); 10,89 (*sl*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 51,3 (C_9), 115,6 (C_3); 118,0 (C_5); 119,2 (C_a); 131,5 (C_2); 132,9 (C_4); 142,5 (C_6); 148,3 (C_b); 166,1 (C_8).

SM (IE) : m/z = 176 [M].

1-(Phénylsulfonyl)-1*H*-indole-3-carboxylate de méthyle (61)



$C_{16}H_{13}NO_4S$
MM = 315,34 g/mol
Solide beige

Le composé **61** est obtenu selon la **procédure générale III** au départ de l'ester 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-3-carboxylate de méthyle (5,71 mmol ; 1,00 g ; 1 éq), du bromure de tétrabutylammonium (0,17 mmol ; 0,06 g ; 0,03 éq), de la soude (17,25 mmol ; 0,69 g ; 3,0 éq) et du chlorure de benzènesulfonyle (7,14 mmol ; 0,91 mL ; 1,25 éq) dans 15 mL de dichlorométhane à température ambiante pendant 2 h avec un rendement de 75% (1,35 g).

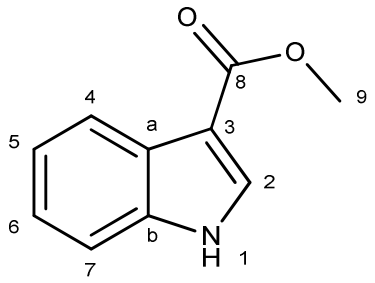
Pf : 142-144°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,79 (*s*, 9H, H_9); 7,60-7,74 (*m*, 6H, H_5 + H_6 + H_7 + $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 8,24 (*s*, 1H, H_2); 7,58 (*d*, 1H, $J_{2\text{-}3}$ = 3,5 Hz, H_2); 8,89 (*m*, 1H, H_4).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 49,8 (C_9), 108,9 (C_3); 114,7 (C_7); 119,4 (C_5); 121,5 (C_4); 124,2 (C_6); 127,3 (C_2); 126,2 (C_a); 128,9 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 129,6 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 134,6 ($C_{5'}$); 135,2 (C_b); 137,0 ($C_{2'}$); 168,8 (C_8).

SM (IE) : m/z = 315 [M].

1*H*-Indole-3-carboxylate de méthyle (62)



$C_{10}H_9NO_2$
MM = 175,18 g/mol
Solide beige
CAS : 942-24-5

Le composé **62** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ de l'ester 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-indole-3-carboxylate de méthyle **61** (0,63 mmol ; 0,20 g ;1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (0,95 mmol ; 0,09 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 60% (0,11 g).

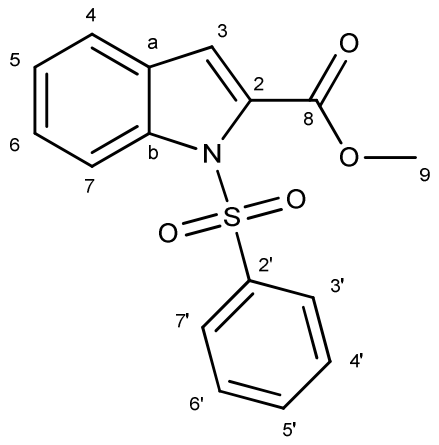
Pf : 150-151°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,76 (*s*, 3H, H_9); 7,35-7,40 (*m*, 2H, H_6 + H_7); 7,61 (*m*, 1H, H_5); 8,08 (*s*, 1H, H_2); 8,43 (*m*, 1H, H_4); 11,26 (*sl*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 51,9 (C_9); 108,6 (C_3); 111,6 (C_7); 112,5 (C_2); 119,1 (C_5); 121,5 (C_6); 122,2 (C_a); 126,9 (C_4); 137,3 (C_b); 168,1 (C_8).

SM (IE): m/z = 175 [M].

1-(Phénylsulfonyl)-1*H*-indole-2-carboxylate de méthyle (63)



$C_{16}H_{13}NO_4S$
MM = 315,34 g/mol
Solide beige

Le composé **63** est obtenu selon la **procédure générale III** au départ de l'ester 1*H*-indole-2-carboxylate de méthyle (5,71 mmol ; 1,00 g ; 1 éq), du bromure de tétrabutylammonium (0,17 mmol ; 0,06 g ; 0,03 éq), de la soude (17,25 mmol ; 0,69 g ; 3,0 éq) et du chlorure de benzènesulfonyle (7,14 mmol ; 0,91 mL ; 1,25 éq) dans 15 mL de dichlorométhane à température ambiante pendant 2 h avec un rendement de 71% (1,28 g).

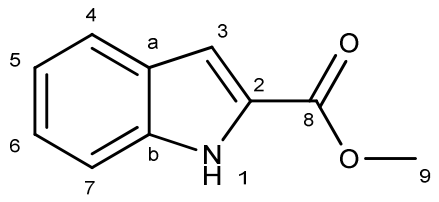
Pf : 186-187°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,92 (*s*, 3H, H_9); 7,38 (*m*, 1H, H_5); 7,43 (*s*, 1H, H_3); 7,63-7,74 (*m*, 5H, H_6 + H_7 + $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 7,70-7,85 (*m*, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 8,13 (*m*, 1H, H_4).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 51,6 (C_9), 108,9 (C_3); 109,7 (C_7); 120,4 (C_5); 124,5 (C_4); 124,9 (C_6); 127,9 (C_2); 128,3 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 129,6 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 133,6 ($C_{5'}$); 134,1 (C_a); 135,6 (C_b); 137,8 ($C_{2'}$); 160,8 (C_8).

SM (IE) : m/z = 315 [M].

1*H*-Indole-2-carboxylate de méthyle (64)



$C_{10}H_9NO_2$
MM = 175,18 g/mol
Solide beige
CAS : 1202-04-6

Le composé **64** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ de l'ester 1-(phénylsulfonyl)-1*H*-indole-2-carboxylate de méthyle **63** (0,63 mmol ; 0,20 g ;1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (0,95 mmol ; 0,09 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 86% (0,10 g).

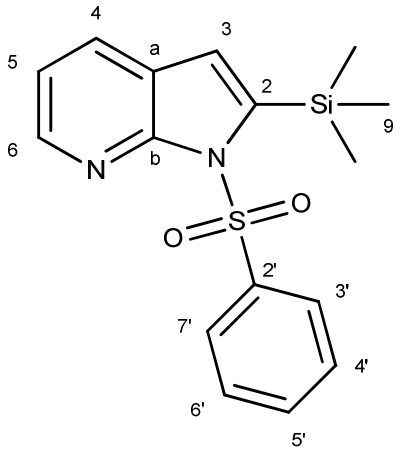
Pf : 197-198°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 3,88 (*s*, 3H, H_9); 7,25 (*s*, 1H, H_3); 7,37-7,41 (*m*, 3H, H_5 + H_6 + H_7); 7,75 (*m*, 1H, H_4); 11,89 (*sl*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 52,9 (C_9); 111,6 (C_7); 112,3 (C_3); 119,9 (C_5); 120,9 (C_4); 121,9 (C_6); 125,5 (C_2); 130,2 (C_a); 131,3 (C_b); 160,1 (C_8).

SM (IE) : m/z = 175 [M].

1-(Phénylsulfonyl)-2-(triméthylsilyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (65)



$C_{16}H_{18}N_2O_2SS$=i
MM = 330,48 g/mol
Solide beige

Dans des conditions anhydres, une solution de *N*-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **25** (3,87 mmol ; 1,00 g ; 1 éq) et de tétraméthyléthylènediamine (3,87 mmol ; 0,58 mL ; 1 éq) dans 15 mL de tétrahydrofurane anhydre est refroidie à -35°C. Le diisopropylamidure de lithium (9,29 mmol ; 4,60 mL ; 2,4 éq) est additionné goutte à goutte. Après 30 min, le chlorure de triméthylsilyle (4,65 mmol ; 0,59 mL ; 1,2 éq) est ajouté goutte à goutte. Après 12 h, le milieu est hydrolysé et le produit est extrait au dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau, puis avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) et isolé avec un rendement de 67% (0,86 g).

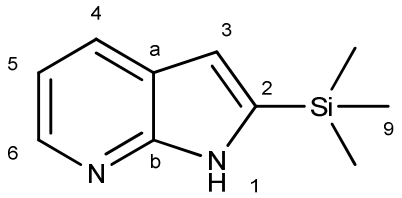
Pf : 137-138°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 0,51 (*s*, 9H, H_9); 6,85 (*s*, 1H, H_3); 7,11 (*dd*, 1H, J_{5-4} = 7,8 Hz, J_{5-6} = 4,8 Hz, H_5); 7,40-7,57 (*m*, 3H, $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 7,78 (*dd*, 1H, J_{4-5} = 7,8 Hz, J_{4-6} = 1,2 Hz, H_4); 8,11-8,15 (m, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 8,36 (*dd*, 1H, J_{6-5} = 4,8 Hz, J_{6-4} = 1,2 Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 0,49 (C_9); 117,4 (C_3); 118,7 (C_5); 122,4 (C_2); 128,1 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 128,6 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 129,0 ($C_{5'}$); 133,6 (C_4); 138,9 (C_a); 143,2 ($C_{2'}$); 144,9 (C_6); 150,3 (C_b).

SM (IE) : m/z = 330 [M].

2-(Triméthylsilyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (66)



$C_{10}H_{14}N_2Si$
MM = 175,18 g/mol
Solide beige

Le composé **66** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ de la 1-(phénylsulfonyl)-2-(triméthylsilyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **65** (0,61 mmol ; 0,20 g ;1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (0,91 mmol ; 0,09 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 42% (0,05 g).

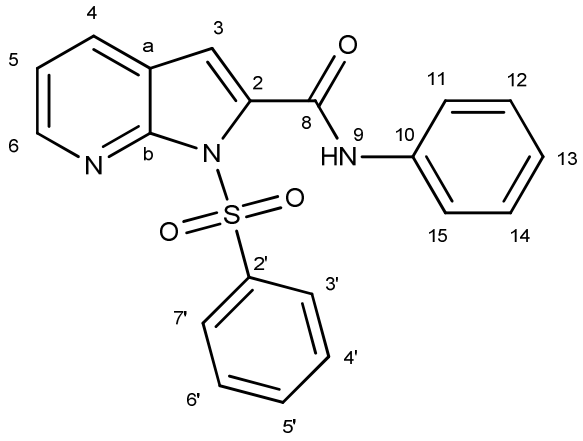
Pf : 162-163°C.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) δ ppm : 0,43 (*s*, 9H, H_9); 6,71 (*s*, 1H, H_3); 7,09 (*dd*, 1H, J_{5-4} = 7,8 Hz, J_{5-6} = 4,8 Hz, H_5); 7,96 (*dd*, 1H, J_{4-5} = 7,8 Hz, J_{4-6} = 1,2 Hz, H_4); 8,36 (*dd*, 1H, J_{6-5} = 4,8 Hz, J_{6-4} = 1,2 Hz, H_6); 11,85 (*sl*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 0,1 (C_9); 109,1 (C_3); 115,4 (C_5); 121,3 (C_2); 128,9 (C_4); 140,3 (C_a); 142,2 (C_6); 151,5 (C_b).

SM (IE) : m/z = 160 [M-CH_3].

_N_-phényl-1-(phénylsulfonyl)-1_H_-pyrrolo[2,3-_b_]pyridine-2-carboxamide (67)



$C_{20}H_{15}N_3O_3Si$
MM = 377,42 g/mol
Solide blanc

Procédure générale VII

Dans des conditions anhydres, le PyBop (0,99 mmol ; 0,52 g ; 1,2 éq) et la *N*,*N*-diisopropyléthylamine (3,39 mmol ; 0,59 mL ; 4,1 éq) sont ajoutés à une solution d'acide *N*-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **44** (0,83 mmol ; 0,25 g ; 1 éq) solubilisé dans 10 mL de *N*,*N*-diméthylformamide. Après 20 min à température ambiante, l'aniline (0,83 mmol ; 0,08 mL ; 1éq) est ajoutée au milieu réactionnel. Après 24 h à température ambiante, le milieu est hydrolysé et le produit est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) et isolé avec un rendement de 38% (0,12 g).

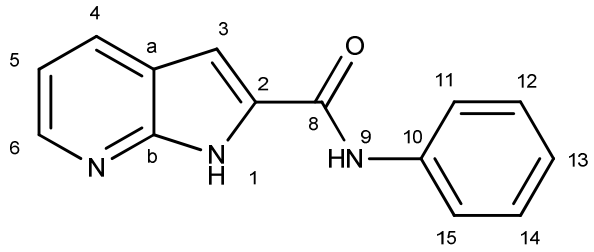
Pf : 205-207°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 7,12-7,19 (*m*, 2H, H_3 + H_{13}); 7,35-7,44 (*m*, 3H, H_5 + H_{12} + H_{14}); 7,64-7,79 (*m*, 5H, H_{11} + H_{15} + $H_{4'}$ + $H_{5'}$ + $H_{6'}$); 8,14 (*dd*, 1H, J_{4-5} = 7,9 Hz, J_{4-6} = 1,6 Hz, H_4); 8,29-8,33 (*m*, 2H, $H_{3'}$ + $H_{7'}$); 8,48 (*dd*, 1H, J_{6-5} = 4,8 Hz, J_{6-4} = 1,6 Hz, H_6); 10,95 (*sl*, 1H, H_9).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 108,8 (C_3); 119,8 (C_{11} + C_{15}); 120,2 (C_5); 120,6 (C_a); 124,2 (C_{13}); 128,1 ($C_{3'}$ + $C_{7'}$); 128,9 (C_{12} + C_{14}); 129,5 ($C_{4'}$ + $C_{6'}$); 131,2 ($C_{5'}$); 134,8 (C_4); 135,5 (C_2); 137,9 ($C_{10'}$); 138,8 ($C_{2'}$); 146,3 (C_6); 148,2 (C_b); 159,2 (C_8).

SM (IE) : m/z = 377 [M].

_N_-phényl-1_H_-pyrrolo[2,3-_b_]pyridine-2-carboxamide (68)



$C_{14}H_{11}N_3O$
MM = 237,26 g/mol
Solide blanc

- par couplage pepidique : le poduit est isolé, après chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt), avec un rendement de 31% (0,06 g).

- par désulfonylation : le composé **68** est obtenu selon la **procédure générale VI** au départ du *N*-phényl-1-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxamide **67** (0,53 mmol ; 0,20 g ;1 éq) et du *tert*-butylate de sodium (0,79 mmol ; 0,08 g ; 1,5 éq) dans 1 mL de dioxane à 80°C pendant 3 h avec un rendement de 90% (0,11 g).

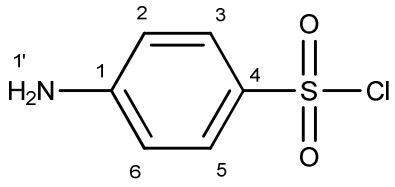
Pf : 215-216°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 7,08-7,19 (*m*, 2H, H_5 + H_{13}); 7,34-7,42 (*m*, 3H, H_5 + H_{12} + H_{14}); 7,79-7,84 (*m*, 2H, H_{11} + H_{15}); 8,14 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,9 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,4 Hz, H_4); 8,38 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 4,6 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,4 Hz, H_6); 10,95 (*s*, 1H, H_9); 12,38 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm : 103,8 (C_3); 116,6 (C_5); 119,2 (C_a); 120,1 (C_{11} + C_{15}); 123,7 (C_{13}); 128,8 (C_{12} + C_{14}); 130,3 (C_2); 132,0 (C_{10}); 138,8 (C_4); 145,7 (C_6); 148,5 (C_b); 159,2 (C_8).

SM (IE) : m/z = 237 [M].

4-Aminobenzène-1-sulfonyl chloride (69)



$C_6H_6ClNO_2S$
MM = 191,64 g/mol
Huite jaune

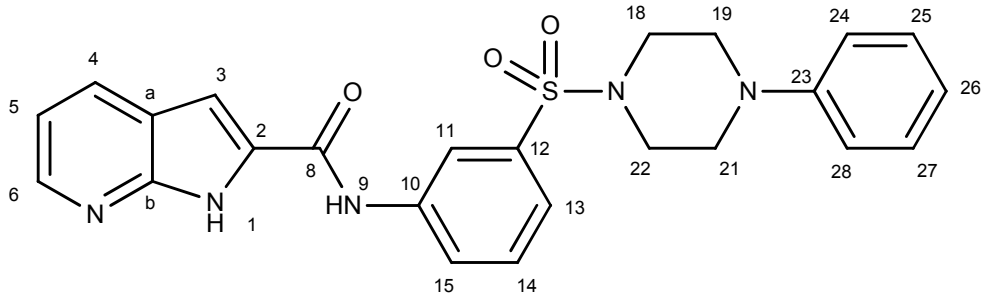
Le composé **67** est obtenu selon la **procédure générale V** au départ du chlorure de 3-nitrobenzène-1-sulfonyle (6,77 mmol ; 1,50 g ;1 éq) et du chlorure stanneux dihydraté (33,84 mmol ; 7,64 g ; 5 éq) dans 50 mL d'un mélange dichlorométhane/éthanol à reflux pendant 3 h avec un rendement de 10% (0,13 g).

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 3,72 (*m*, 2H, $H_{1'}$); 6,58 (*m*, 2H, $H_2 + H_6$); 7,24 (*s*, 2H, $H_3 + H_5$).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 113,6 ($C_2 + C_6$); 131,4 ($C_3 + C_5$); 136,5 (C4); 156,6 (C_1).

SM (IE) : m/z = 191 [M].

_N_-(3-((4-Phénylpipérazin-1-yl)sulfonyl)phényl)-1_H_-pyrrolo[2,3-_b_]pyridine-2-carboxamide (70)



$C_{24}H_{23}N_5O_3S$
MM = 461,54 g/mol
Solide blanc

Le composé **70** est obtenu selon la **procédure générale VII**, au départ de l'acide *N*-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **44** (0,83 mmol ; 0,25 g ; 1 éq), du PyBop (0,99 mmol ; 0,52 g ; 1,2 éq), de la *N*,*N*-diisopropyléthylamine (3,39 mmol ; 0,59 mL ; 4,1 éq) et de la 3-((4-phénylpipérazin-1-yl)sulfonyl)aniline **36** (0,83 mmol ; 0,26 mg ; 1éq) dans 10 mL de *N*,*N*-diméthylformamide à température ambiante pendant 24 h, et après chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) avec un rendement de 34% (0,13 g).

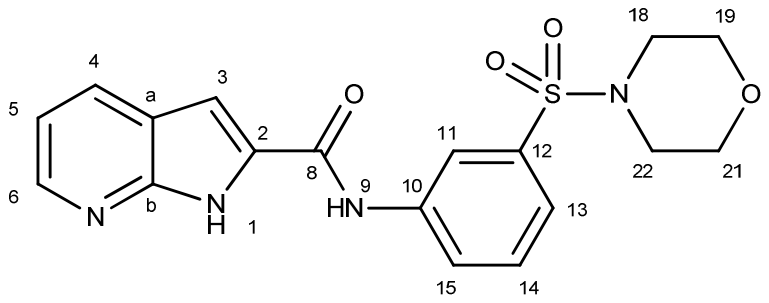
Pf : 221-223°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 3,07 (*m*, 4H, H_{18} + H_{22}); 3,22 (*m*, 4H, H_{19} + H_{21}); 6,79 (*m*, 1H, H_5); 6,90 (*m*, 2H, H_3 + H_{26}); 7,17-7,20 (*m*, 3H, H_{14} + H_{24} + H_{28}); 7,45 (*s*, 1H, H_{11}); 7,50 (*m*, 1H, H_{13}); 7,67 (*m*, 1H, H_{15}); 8,15 (*m*, 2H, H_{25} + H_{27}); 8,34 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,5 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,4 Hz, H_4); 8,39 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,2 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,4 Hz, H_6); 10,63 (*s*, 1H, H_9); 12,34 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 48,8 (C_{18} + C_{22}); 53,8 (C_{19} + C_{21}); 113,2 (C_3); 114,2 (C_{24} + C_{28}); 115,2 (C_5); 119,1 (C_{11}); 121,1 (C_{26}); 122,2 (C_a); 122,9 (C_{13}); 124,8 (C_{15}); 127,5 (C_{14}); 128,0 (C_4); 129,8 (C_{25} + C_{27}); 136,3 (C_{10}); 137,2 (C_{12}); 139,9 (C_2); 142,4 (C_6); 149,6 (C_{23}); 157,4 (C_b); 162,5 (C_8).

SM (IE) : m/z = 461 [M].

***N*-(3-(Morpholinosulfonyl)phényl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxamide (71)**



$C_{18}H_{18}N_4O_4S$
MM = 386,42 g/mol
Solide blanc

Le composé **71** est obtenu selon la **procédure générale VII**, au départ de l'acide *N*-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **44** (0,83 mmol ; 0,25 g ; 1 éq), du PyBop (0,99 mmol ; 0,52 g ; 1,2 éq), de la *N*,*N*-diisopropyléthylamine (3,39 mmol ; 0,59 mL ; 4,1 éq) et de la 3-(morpholinosulfonyl)aniline **37** (0,83 mmol ; 0,26 mg ; 1éq) dans 10 mL de *N*,*N*-diméthylformamide à température ambiante pendant 24 h, et après chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) avec un rendement de 30% (0,10 g).

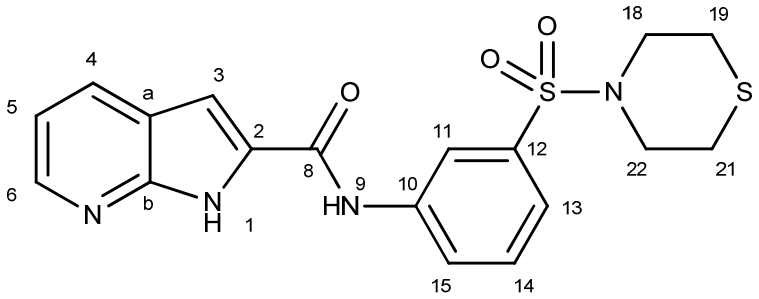
Pf : 231-232°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,92 (*m*, 4H, H_{18} + H_{22}); 3,65 (*m*, 4H, H_{19} + H_{21}); 7,16 (*m*, 1H, H_5); 7,46 (*m*, 2H, H_3 + H_{15}); 7,68 (*m*, 1H, H_{13}); 8,15 (*m*, 2H, H_{11} +H_{14}); 8,29 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,5 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,4 Hz, H_4); 8,39 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,2 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,4 Hz, H_6); 10,63 (*s*, 1H, H_9); 12,34 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 48,8 (C_{18} + C_{22}); 53,8 (C_{19} + C_{21}); 113,2 (C_3); 115,2 (C_5); 119,1 (C_{11}); 122,2 (C_a); 122,9 (C_{13}); 124,8 (C_{15}); 127,5 (C_{14}); 128,0 (C_4); 136,3 (C_{10}); 137,2 (C_{12}); 139,9 (C_2); 142,4 (C_6); 157,4 (C_b); 162,5 (C_8).

SM (IE) : m/z = 386 [M].

***N*-(3-(Thiomorpholinosulfonyl)phényl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxamide (72)**



$C_{18}H_{18}N_4O_4S$
MM = 386,42 g/mol
Solide blanc

Le composé **12** est obtenu selon la **procédure générale VII**, au départ de l'acide *N*-(phénylsulfonyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylique **44** (0,83 mmol ; 0,25 g ; 1 éq), du PyBop (0,99 mmol ; 0,52 g ; 1,2 éq), de la *N*,*N*-diisopropyléthylamine (3,39 mmol ; 0,59 mL ; 4,1 éq) et de la 3-(thiomorpholinosulfonyl)aniline **38** (0,83 mmol ; 0,26 mg ; 1éq) dans 10 mL de *N*,*N*-diméthylformamide à température ambiante pendant 24 h, et après chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) avec un rendement de 30% (0,10 g).

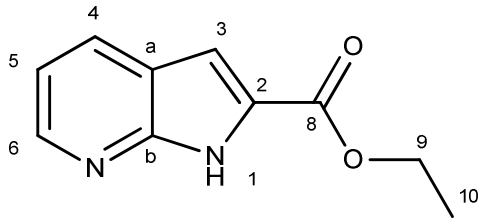
Pf : 239-240°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 2,68 (*m*, 4H, H_{19} + H_{21}); 3,25 (*m*, 4H, H_{18} + H_{22}); 7,16 (*m*, 1H, H_5); 7,46 (*m*, 2H, H_3 + H_{15}); 7,70 (*m*, 1H, H_{13}); 8,16 (*m*, 2H, H_{11} +H_{14}); 8,30 (*dd*, 1H, $J_{4\text{-}5}$ = 7,5 Hz, $J_{4\text{-}6}$ = 1,4 Hz, H_4); 8,40 (*dd*, 1H, $J_{6\text{-}5}$ = 5,2 Hz, $J_{6\text{-}4}$ = 1,4 Hz, H_6); 10,63 (*s*, 1H, H_9); 12,36 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 48,8 (C_{18} + C_{22}); 53,8 (C_{19} + C_{21}); 113,2 (C_3); 115,2 (C_5); 119,1 (C_{11}); 122,2 (C_a); 122,9 (C_{13}); 124,8 (C_{15}); 127,5 (C_{14}); 128,0 (C_4); 136,3 (C_{10}); 137,2 (C_{12}); 139,9 (C_2); 142,4 (C_6); 157,4 (C_b); 162,5 (C_8).

SM (IE) : m/z = 386 [M].

1*H*-Pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle (73)



$C_{10}H_{10}N_2O_2$
MM = 386,42 g/mol
Solide beige

Dans des conditions anhydres, l'acide sulfurique concentré (0,1 mL) est ajouté à une solution d'acide *N*-(phénylsulfonyl)-1*H*-indole-2-carboxylique **46** (0,66 mmol ; 0,20 g ; 1 éq) solubilisé dans 5 mL d'éthanol absolu. Après 18 h au reflux, au moyen d'un appareil Dean Starck, le milieu est hydrolysé et le produit est extrait au dichlorométhane. La phase organique est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est isolé avec un rendement de 85% (0,11 g).

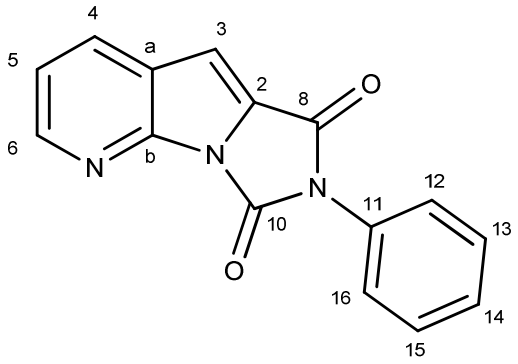
Pf : 189-190°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 1,45 (*t*, 3H, $J_{10\text{-}9}$ = 7,1 Hz, H_{10}); 4,48 (*q*, 2H, $J_{9\text{-}10}$ = 7,1 Hz, H_9); 7,22 (*m*, 2H, H_3 + H_5); 8,12 (*m*, 1H, H_4); 8,67 (*m*, 1H, H_6); 12,48 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 14,8 (C_{10}); 60,8 (C_9); 107,2 (C_3); 115,2 (C_5); 121,1 (C_a); 128,2 (C_4); 129,9 (C_2); 142,4 (C_6); 155,4 (C_b); 160,5 (C_8).

SM (IE) : m/z = 386 [M].

7-Phényl-6*H*-imidazo[1',5':1,5]pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-6,8(7*H*)-dione (74)



$C_{15}H_9N_3O_2$
MM = 263,24 g/mol
Solide blanc

Procédure générale VIII

L'ester 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle **73** (0,68 mmol ; 0,13 g ; 1éq) et le phénylisocyanate (1,03 mmol ; 0,11 mL ; 1,5 éq) sont dilués dans 5 mL de toluène anhydre et le milieu est chauffé à reflux. Après 1 h, le milieu réactionnel est laissé revenir à température ambiante et le méthoxyde de sodium (0,09 mmol ; 4,80 mg ; 0,13 éq) est additioné. Le milieu est de nouveau porté à reflux avec un montage de type Soxhlet pendant 18 h. Après retour à température ambiante, la suspension est filtrée, et le solide est recristallisé dans l'éthanol. Le produit est isolé avec un rendement de 44% (0,08 g).

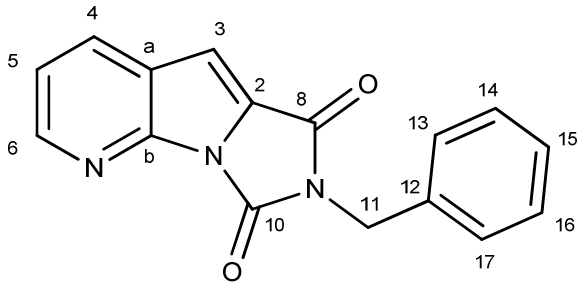
Pf : 193-194°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 7,07-7,12 (*m*, 2H, H_3 + H_5); 7,25-7,38 (*m*, 5H, H_{arom}); 8,14 (*m*, 1H, H_4); 8,54 (*m*, 1H, H_6).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 113,2 (C_3); 115,6 (C_5); 122,2 (C_a); 128,1 (C_{12} + C_{14} + C_{16}); 128,3 (C_4); 128,9 (C_{13} + C_{15}); 132,5 (C_{11}); 140,2 (C_2); 142,4 (C_6); 144,2 (C_b); 155,2 (C_{10}); 163,6 (C_8).

SM (IE) : m/z = 263 [M].

7-Benzyl-6*H*-imidazo[1',5':1,5]pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-6,8(7*H*)-dione (75)



$C_{16}H_{11}N_3O_2$
MM = 277,28 g/mol
Solide blanc

Le composé **75** est obtenu selon la **porcédure générale VIII** au départ de l'ester 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle **73** (0,68 mmol ; 0,13 g ; 1éq), du benzylisocyanate (1,03 mmol ; 0,14 g ; 1,5 éq) et du méthoxyde de sodium (0,09 mmol ; 4,80 mg ; 0,13 éq) dans 5 mL de toluène avec un rendement de 76% (0,14 g).

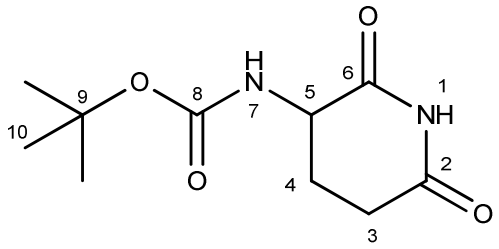
Pf : 185-187°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 5,51 (*s*, 2H, H_{11}); 7,23-7,36 (*m*, 7H, H_3 + H_5 + H_{arom}); 8,14 (*m*, 1H, H_4); 8,54 (*m*, 1H, H_6).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 49,6 (C_{11}); 115,2 (C_3); 117,6 (C_5); 122,2 (C_a); 128,1 (C_{12} + C_{14} + C_{16}); 128,3 (C_4); 128,9 (C_{13} + C_{15}); 132,5 (C_{11}); 140,2 (C_2); 142,4 (C_6); 144,2 (C_b); 155,2 (C_{10}); 166,2 (C_8).

SM (IE) : m/z = 277 [M].

tert-Butyle (2,6-dioxopipéridin-3-yl)carbamate (76)



$C_{10}H_{16}N_2O_4$
MM = 228,25 g/mol
Solide blanc

Dans des conditions anhydres, la *Nα*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-L-glutamine (8,12 mmol ; 2,00 g ; 1 éq) est solubilisée dans 20 mL de toluène anhydre, à cette solution sont ajoutés le 1,1'-carbonyldiimidazole (8,93 mmol ; 1,45 g ; 1,1 éq) et la 4-diméthylaminopyridine (0,03 mmol ; 4,0 mg, 0,4 mol%). Le milieu réactionnel est porté à reflux. Après 12 h, les sovlants sont évaporés sous pression réduite, et le produit est reprit à l'acétate d'éthyle chaud. Après chromatographie sur gel de sílice (éluant DCM/MeOH), le produit est isolé avec un rendement de 72% (1,34 g).

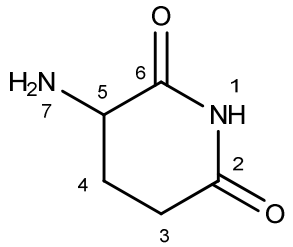
Pf : 126-128°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 1,13 (*s*, 9H, H_{10}); 1,90-2,20 (*m*, 4H, H_3 + H_4); 4,01 (*m*, 1H, H_5); 8,12 (*s*, 1H, H_7), 11,03 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 23,3 (C_4); 28,4 (C_{10}), 29,2 (C_3); 61,6 (C_5); 79,1 (C_9); 155,2 (C_8); 168,4 (C_6); 173,2 (C_2).

SM (IE) : m/z = 228 [M].

3-Aminopipéridine-2,6-dione (77)



$C_5H_8N_2O_2$
MM = 128,13 g/mol
Solide blanc

Le *tert*-butyle (2,6-dioxopipéridin-3-yl)carbamate **77** (2,19 mmol ; 0,50 g ; 1 éq) est solubilisé dans 100 mL de tétrahydrofurane, à cette solution sont ajoutés 20 mL d'acide chlorhydrique 1N. Après 12 h à température ambiante, le milieu est hydrolysé et le produit est extrait à l'éther. La phase aqueuse est évaporée et le produit est isolé avec un rendement quantitatif (0,28 g).

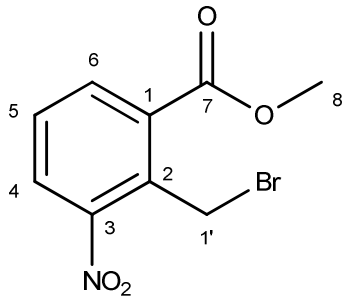
Pf : 149-150°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 1,90-2,20 (*m*, 4H, H_3 + H_4); 4,12 (*m*, 1H, H_5); 5,12 (*s*, 2H, H_7), 11,03 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 26,3 (C_4); 29,2 (C_3); 58,6 (C_5); 168,4 (C_6); 173,2 (C_2).

SM (IE) : m/z = 128 [M].

2-(Bromométhyl)-3-nitrobenzoate de méthyle (78)



$C_9H_8BrNO_4$
MM = 274,07 g/mol
Solide blanc

Dans des conditions anhydres, l'ester 2-(bromométhyl)-3-nitrobenzoate de méthyle (7,69 mmol ; 1,50 g ; 1 éq) est solubilisé dans 18 mL de tétrachlorure de carbone, auquel est ajouté le *N*-bromosuccinimide (9,22 mmol ; 1,64 g ; 1,2 éq) et l'azobisisobutyronitrile (0,77 mmol ; 0,13 g ; 0,1 éq). Le milieu est porté à reflux pendant 24 h. Après retour à température ambiante, le milieu est hydrolysé et le produit extrait au dichlorométhane. La phase organique est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH/AcOEt) et isolé avec un rendement de 43% (0,89 g).

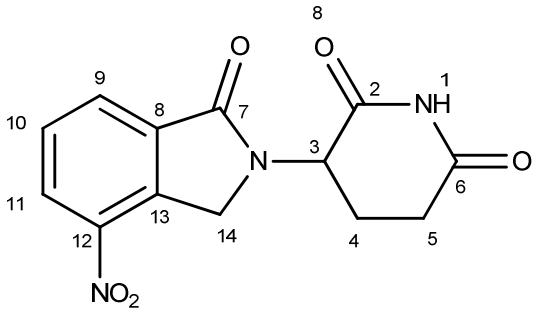
Pf : 83-85°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 3,89 (*s*, 3H, H_8); 4,56 (*s*, 2H, $H_{1'}$); 7,63 (*t*, 1H, H_5); 7,86 (*m*, 1H, H_6); 8,02 (*m*, 1H, H_4).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 25,3 ($C_{1'}$); 51,2 (C_8); 129,6 (C_4 + C_5); 132,4 (C_1); 134,2 (C_2); 136,2 (C_6); 149,5 (C_3); 168,0 (C_8).

SM (IE) : m/z = 274 [M].

3-(4-Nitro-1-oxoisoindolin-2-yl)pipéridine-2,6-dione (79)



$C_{13}H_{11}N_3O_5$
MM = 289,24 g/mol
Solide violet

Dans des conditions anhydres, le 2-(bromométhyl)-3-nitrobenzoate de méthyle **78** (1,87 mmol ; 0,51 g ; 1 éq) et la 3-aminopipéridine-2,6-dione **77** (1,87 mmol ; 0,31 g ; 1 éq) sont solubilisés dans 12 mL d'acétonitrile et 2 mL de diméthylsulfoxyde. Après 10 min à température ambiante, la triéthylamine (3,74 mmol ; 0,52 mL ; 2 éq) est ajoutée, et le milieu est chauffé à 55°C pendant 18 h. Après retour à température ambiante, 12 mL d'eau distillée sont ajoutés et le milieu est agité encore pendant 2 h. La suspension est filtrée et le produit est lavé à l'acétate d'éthyle, lyophilisé pendant une nuit, et obtenu avec un rendement de 57% (0,31 g).

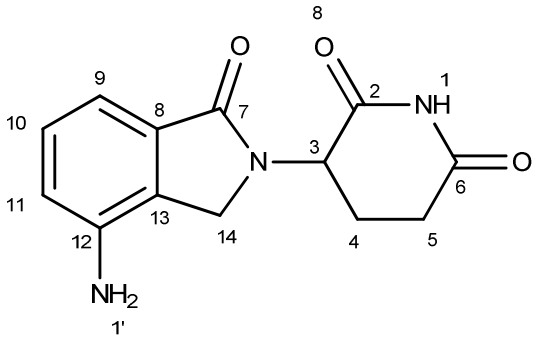
Pf : 175-176°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 1,90-2,23 (*m*, 4H, H_4 + H_5); 4,22 (*s*, 2H, H_{14}); 4,55 (*m*, 1H, H_3); 7,70 (*m*, 1H, H_{10}); 8,25-8,30 (*m*, 2H, H_9 + H_{11}); 11,12 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 21,3 (C_4); 29,7 (C_5); 44,2 (C_{14}); 74,2 (C_3); 125,6 (C_{11}); 127,4 (C_{10}); 130,2 (C_{13}); 133,0 (C_8 + C_9); 148,5 (C_{12}); 168,0 (C_2); 169,3 (C_7); 173,6 (C_6).

SM (IE) : m/z = 289 [M].

Lénalidomide



$C_{13}H_{13}N_3O_3$
MM = 259,26 g/mol
Solide blanc

Dans des conditions anhydres, la 3-(4-nitro-1-oxoisoindolin-2-yl)pipéridine-2,6-dione **79** (0,52 mmol ; 0,15 g ; 1 éq) est solubilisée dans 60 mL d'un mélange 1/1 méthanol/*N*,*N*-diméthylformamide. Après 2 cycles vide/argon, le palladium sur charbon (0,10 mmol ; 0,03 ; 20 mol%) est additionné, et l'argon est remplacé par l'hydrogène. Après 18 h, la suspension est filtrée sur Célite, le filtrat est lavé à l'eau et le produit est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium anhydre et, après évaporation des solvants sous pression réduite, le produit est isolé avec un rendement de 92% (0,12 g).

Pf : 198-199°C.

RMN ^{1}H (DMSO) δ ppm : 1,90-2,23 (*m*, 4H, H_4 + H_5); 4,22 (*s*, 2H, H_{14}); 4,55 (*m*, 1H, H_3); 6,35 (*s*, 2H, $H_{1'}$); 6,93 (*m*, 1H, H_{11}); 7,19-7,25 (*m*, 2H, H_9 + H_{10}); 11,12 (*s*, 1H, H_1).

RMN ^{13}C (DMSO) δ ppm : 21,3 (C_4); 29,7 (C_5); 44,2 (C_{14}); 74,2 (C_3); 125,6 (C_{11} + C_9); 122,2 (C_{13}); 131,4 (C_{10}); 133,0 (C_8); 145,5 (C_{12}); 168,0 (C_2); 169,3 (C_7); 173,6 (C_6).

SM (IE) : m/z = 259 [M].

Charlotte CHAULET

Synthèse et étude du mécanisme d'action de nouveaux analogues de la thalidomide, dérivés du noyau 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine, sur la modulation des cellules NK et la production des cytokines TNF-α et IL-6

La thalidomide est un sédatif hypnotique mis sur le marché pour la première fois en Allemagne en octobre 1957 et largement vendu par la suite dans 46 pays sous 51 noms commerciaux différents. Il fut également utilisé comme antiémétique chez les femmes enceintes et, dès le jour de Noël de l'année 1956, un premier enfant atteint de phocomélie naissait, six mois avant la mise sur le marché. La thalidomide fut retirée de la vente fin 1961, du fait de ses effets dévastateurs sur le développement fœtal.

De nombreux mécanismes d'action de la thalidomide dans l'embryopathie ont été rapportés, notamment un effet antiangiogénique avec inhibition de la neurovascularisation au cours du développement des membres durant la vie fœtale. Par la suite, la thalidomide s'est imposée comme traitement dans un grand nombre de pathologies. Il a également été démontré qu'elle était capable d'induire une augmentation ou une inhibition de l'expression de chimiokines ou de facteur de croissance.

L'élaboration de nouvelles molécules analogues plus efficaces reste au centre de nombreuses études de recherche. Sur la base des travaux effectués sur la régulation de la production de cytokines et de la modulation des lymphocytes NK par la thalidomide et ses analogues, nous avons travaillé autour du noyau 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine. Cette étude a permis de fonctionnaliser ce noyau sur diverses positions par différents types de synthèse organique : désulfonylation, réactions d'addtion 1,4 de type Michael, couplage peptidique, … et d'élaborer des molécules originales. Les composés synthétisés ont fait l'objet d'études pharmacologiques.

Thalidomide is a sedative hypnotic on the market for the first time in Germany in October 1957 and subsequently sold widely in the 46 countries under 51 different trade names. It was also used as antiemetic in pregnant women and from the Christmas Day of 1956, a first child with phocomelia born, six months before placing on the market. Thalidomide was withdrawn from the market in late 1961, because of its devastating effects on fetal development.

Many mechanisms of action of thalidomide embryopathy have been reported, including an antiangiogenic effect with inhibition of neurovascularisation during limb development during fetal life. Subsequently, thalidomide has emerged as a treatment of many diseases. It was also demonstrated its ability to induce an increase or inhibition of expression of chemokines or growth factor.

The development of new molecules like more effective remains the focus of many research studies. Based on studies on the regulation of cytokines production and modulation of NK cells by thalidomide and its analogs, we worked on the 1*H*-pyrrolo [2,3-*b*] pyridine. This study led us to functionalize 7-azaindole on various positions and by different organic synthesis: desulfonylation, Michael addition, peptide coupling… These synthetized compounds have been tested in pharmacologic studies.

Mots-clés : Synthèse hétérocyclique, réactions pallado-catalysées, thalidomide, 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine, cellules NK, anticorps monoclonaux, TNF-α, IL-6

Equipe 5 : Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique
UMR CNRS 6239 GICC Génétique-Immunothérapie-Chimie et Cancer
UFR des Sciences Pharmaceutiques – Université François Rabelais
31, Avenue Monge – 37200 TOURS (France)