

UNIVERSITÉ FRANÇOIS – RABELAIS DE TOURS

ÉCOLE DOCTORALE SSBCV

Innovation Moléculaire et Thérapeutique GICC UMR 7292 CNRS

THÈSE

 présentée par :

Ludovic JUEN

soutenue le : 16 décembre 2016

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

Spécialité : Chimie Organique

Synthèse et évaluation biologique d'inhibiteurs de STAT5 dans le traitement des leucémies myéloïdes

THÈSE dirigée par :

Mme VIAUD-MASSUARD Marie-Claude Professeur, Université de Tours

RAPPORTEURS :

M. BESSON Thierry Professeur, Université de Rouen
Mme MOREAU Pascale Professeur, Université de Clermont-Ferrand

JURY :

M. BESSON Thierry Professeur, Université de Rouen
M. GOUILLEUX Fabrice Directeur de recherche, Université de Tours
Mme MOREAU Pascale Professeur, Université de Clermont-Ferrand
M. PRIÉ Gildas MCU, Université de Tours
M. PROST Stéphane Docteur-chercheur, Université Paris 7, CEA
Mme THIERY Valérie Professeur, Université de La Rochelle
Mme VIAUD-MASSUARD Marie-Claude Professeur, Université de Tours

A mes grands-parents,
A mes parents et mon frère,
A Camille,
Pour leur soutien et leur amour.

Remerciements

L'ensemble des travaux présentés dans ce manuscrit a été réalisé au sein de l'équipe Innovation Moléculaire et Thérapeutique appartenant à l'UMR7292 GICC. Ce projet de thèse a été effectué sous la direction du Professeur Marie-Claude Viaud-Massuard et le co-encadrement du Docteur Gildas Prié.

Avant tout, je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Professeur Marie-Claude Viaud-Massuard pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce projet passionnant, pour sa confiance, son soutien et sa générosité au cours de ces trois années. Je tiens à remercier le Docteur Gildas Prié pour son accueil et son soutien durant ces trois années passées dans la bonne humeur. Par leurs conseils précieux, leurs nombreuses suggestions, réflexions et recommandations, mais également en me laissant une grande liberté, ils m'ont permis de grandir et de me former par la recherche.

J'adresse mes sincères remerciements au Professeur Pascale Moreau et au Professeur Thierry Besson qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail.

Toute ma gratitude s'adresse également au Professeur Valérie Thiery, au Docteur Fabrice Gouilleux et au Docteur Stéphane Prost pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je remercie nos partenaires biologistes de l'équipe Niche Leucémique et Métabolisme Oxydatif, le Docteur Fabrice Gouilleux, le Docteur Jérôme Bourgeais et Marie Brachet-Botineau, pour leur collaboration fructueuse et la réalisation des tests biologiques. En particulier, je souhaite adresser mes remerciements chaleureux à Marie Brachet-Botineau, pour sa réactivité, son efficacité et sa pédagogie au cours de nos échanges.

Je souhaite également exprimer toute ma reconnaissance au Docteur Cécile Croix pour ses nombreux conseils tant professionnels que personnels et pour notre complicité établie au cours de ces trois années partagées au laboratoire. Les échanges scientifiques que nous avons pu avoir m'ont beaucoup aidé au cours de ce projet.

Je tiens tout particulièrement à remercier Camille pour nos discussions passionnées de chimie, qui nous ont aidés à franchir les difficultés rencontrées.

Je voudrais remercier chaleureusement toute l'équipe, pour leur accueil, leur aide et leurs conseils tout au long de ce projet : Stéphanie, Aurélie, Christine, Asma, Inmaculada, Aurélien, Audrey, Francesca.

Pour terminer, j'ai une pensée particulière pour mon frère Jérôme, mes parents, mes grands-parents ainsi que toute ma famille, pour leur soutien pendant ces années.

Résumé

Les leucémies, les syndromes myéloprolifératifs et myélodysplasiques sont la première cause de cancer chez l'enfant de moins de 15 ans. Depuis quinze ans, de nombreux faits expérimentaux ont souligné le rôle indispensable des facteurs de transcription STAT5 dans la genèse et le maintien des leucémies. Les facteurs de transcription STAT5 représentent donc une cible de choix dans un but thérapeutique de rémission totale de la pathologie. L'inhibition de l'activité de STAT5 contribuerait ainsi à éliminer l'impact de ces facteurs sur la survie, l'auto-renouvellement et la quiescence des cellules cancéreuses, et la résistance potentielle de ces cellules à des agents anti-cancéreux.

Des travaux antérieurs de l'équipe ont permis l'accès à une série de molécules, inventoriées dans notre chimiothèque (n° CNRS 069611), visant les récepteurs PPARs pour le traitement du diabète de type 2. Par ailleurs, les données de la littérature ont montré une potentielle inhibition de STAT5 par l'activation des récepteurs PPARs. Dans l'équipe LNOx (Leukemic Niche & redOx metabolism) de notre unité de recherche (UMR GICC 7292), le Docteur Fabrice Gouilleux est un spécialiste de la protéine STAT5. C'est dans ce contexte qu'il nous a paru évident d'évaluer l'activité biologique de certaines des molécules visant les récepteurs PPARs vis-à-vis de STAT5. Ces travaux préliminaires ont permis l'identification du composé CP196i comme un inhibiteur de la phosphorylation de STAT5 au mécanisme d'action indépendant de l'activation des récepteurs PPARs et avec en surcroît, un effet antiprolifératif sur la lignée KU812 modèle de leucémie myéloïde chronique (LMC). Le composé CP196i est constitué d'un squelette bi-hétérocyclique comprenant un noyau 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine relié à un indole par une chaîne éthoxy.

Sur la base de ces résultats prometteurs et eu égard au rôle crucial de STAT5 dans les leucémies myéloïdes, nous avons développé une nouvelle voie de synthèse optimisée et reproductible de ce squelette bi-hétérocycle de base. Nous avons ensuite fait une étude de pharmacomodulations à la fois sur l'indole et sur la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine. Cette étude nous a permis d'obtenir et de caractériser une série de 31 nouveaux analogues du composé CP196i.

Ces analogues ont été évalués *in vitro* pour leurs effets antiprolifératifs et cytotoxiques sur les lignées modèles de LMC K562 et KU812, lignées sur-exprimant la protéine STAT5 activée. L'évaluation biologique a permis d'identifier certains motifs structuraux essentiels à l'activité. Parmi ces analogues, le composé **31d** présente des propriétés antiprolifératives et cytotoxiques intéressantes et est considéré comme un nouveau chef de file.

En effet, le dérivé **31d** présente une CE_{50} de 5 μ M et de 9 μ M sur les cellules de la lignée KU812 et K562, soit une activité respectivement 39 fois et 962 fois plus importante que le composé de départ CP196i. Sur la lignée KU812, le composé **31d** induit l'apoptose des cellules et inhibe la phosphorylation de STAT5 dès 12 h de traitement. L'efficacité du composé **31d** est corrélée à l'inhibition de l'activité transcriptionnelle de STAT5. En effet, l'expression des gènes STAT5 n'est pas modifiée, mais l'expression du gène cible de STAT5 *PIM1* est inhibée. Enfin, ce composé **31d** s'est également révélé actif sur les lignées KG1a et MV-4-11 modèles de leucémie aigüe myéloïde avec des CE_{50} de 3 μ M et de 4 μ M.

Abstract

Leukemias, myeloproliferative and myelodysplastic syndromes are the leading cause of cancer in children under 15 years. For fifteen years, several experimental facts have underlined the essential role of STAT5 proteins in the maintenance and genesis of leukemia. Therefore STAT5 is an interesting target for therapeutic purposes of achieving complete remission of the pathology. Inhibition of STAT5 would also contribute to tackling the survival and self-renewing of leukemic cells, and to reducing the resistance of these cells to anti-cancer agents.

Previous work by our team allowed access to a series of molecules, inventoried in our chemical library (CNRS No. 069611), targeting PPARs receptors for the treatment of type 2 diabetes. Moreover, the literature data showed a potential inhibition of STAT5 by activation of PPARs receptors. In Team 2 LNOx (Leukemic Niche & redOx metabolism) of our research unit (UMR GICC 7292), Dr. Fabrice Gouilleux is a STAT5 protein specialist. In this context, we decided to evaluate the biological activity of some representative molecules of our PPAR series on STAT5.

This preliminary work allowed the identification of hit compound CP196i as an inhibitor of STAT5 phosphorylation through a mechanism of action independent of PPARs receptors activation. In addition, an antiproliferative effect was observed on the KU812 chronic myeloid leukemia (CML) cell line. Compound CP196i consists of a biheterocyclic scaffold including a 4,4-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline core linked to an indole ring by an ethoxy chain.

According to these promising results and given the key role of STAT5 in myeloid leukemia, we developed a new optimized and reproducible synthesis of the biheterocyclic scaffold. We then made a study of pharmacomodulations on both indole and 4,4-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline rings. This study allowed us to obtain and characterize a series of 31 new analogues of compound CP196i.

These analogs were evaluated *in vitro* for their antiproliferative and cytotoxic effects on K562 and KU812 CML cell lines over-expressing activated STAT5. The biological evaluation identified some key structural features essential for activity. Among these new analogs, compound **31d** has interesting antiproliferative and cytotoxic properties and is considered as a new lead.

With EC₅₀ of 5 μ M and 9 μ M on KU812 and K562 cell lines, new lead **31d** is respectively 39 times and 962 times more active than hit compound CP196i. On KU812 cell

line, compound **31d** induces apoptosis and inhibits the phosphorylation of STAT5 after 12 hours of treatment. The efficiency of compound **31d** is correlated with the inhibition of STAT5 transcriptional activity. Indeed, expression of STAT5 gene is not changed but the expression of its target gene *PIM1* is inhibited. Finally, the new lead **31d** also proved to be active on acute myeloid leukemia cell lines KG1a and MV-4-11 with EC₅₀ of 3 μ M and 4 μ M.

Table des matières

INTRODUCTION	21
I. GENERALITES	22
A. <i>Les cancers, un enjeu majeur de santé publique</i>	22
B. <i>L'hématopoïèse</i>	23
C. <i>Les leucémies</i>	24
1. La leucémie myéloïde chronique	25
2. Les leucémies aiguës myéloïdes	27
II. STAT5 : CIBLE THERAPEUTIQUE POUR LE TRAITEMENT DES LEUCEMIES	29
A. <i>Les facteurs de transcription de la famille STAT</i>	29
1. Les domaines fonctionnels.....	29
2. Structure tridimensionnelle	30
3. Mode d'activation	31
4. Les fonctions spécifiques des membres de la famille STAT	33
B. <i>Les facteurs de transcription STAT5</i>	36
1. Rôle de STAT5 dans les leucémies	37
2. STAT5, une cible pour le traitement des leucémies.....	38
C. <i>Inhibiteurs connus de STAT5</i>	39
1. Les inhibiteurs indirects de STAT5	39
2. Inhibiteurs directs de STAT5	42
3. Autres inhibiteurs de STAT5.....	45
D. <i>Inhibition de STAT5 par les agonistes de PPAR</i>	45
1. PPAR.....	45
2. Interactions PPAR/STAT5 : cross talk PPAR/STAT5	49
OBJECTIFS	51
I. ETAT DE L'ART	52
II. OBJECTIFS	55
A. <i>Optimiser la formation de la chaine entre l'hétérocycle A et l'hétérocycle B</i>	55
B. <i>Réaliser diverses modifications de R₁, R₂ et de la chaine</i>	55
PARTIE THÉORIQUE	57
I. OPTIMISATION ET SYNTHÈSE D'ANALOGUES DE L'ACIDE 2-(5-(2-(6-(CYCLOHEXANECARBONYL)-4,4-DIMETHYL-3,4-DIHYDROQUINOLEIN-1(2H)-YL)ETHOXY)-1H-INDOL-1-YL)ACÉTIQUE CP196I	58
A. <i>Synthèse du bicycle</i>	58
1. Approches rétrosynthétiques envisagées	58
2. Synthèse du bicycle.....	59
B. <i>Déprotection des composés 13a, 13b et 14</i>	71
II. PHARMACOMODULATION SUR L'HÉTÉROCYLE B.....	74

A.	<i>Introduction de substituants sur l'azote de l'indole</i>	74
B.	<i>Remplacement bioisostérique de l'indole par le 7-azaindole</i>	74
III.	PHARMACOMODULATION DE LA POSITION 6 DE LA 4,4-DIMETHYL-1,2,3,4-TETRAHYDROQUINOLEINE (HETEROCYCLE A) .	77
A.	<i>Synthèse de la (1-(2-((1H-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléin-6-yl)(cyclohexyl)méthanone 30</i>	77
1.	<i>via une réaction de Friedel et Crafts</i>	77
2.	<i>Introduction du cyclohexylcarbonyle sur le composé modèle 21</i>	77
3.	<i>Synthèse de la cétone 30</i>	82
B.	<i>Introduction de groupements aryles ou hétéroaryles en position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine par des couplages pallado-catalysés</i>	85
1.	<i>Réaction de Suzuki</i>	85
2.	<i>Synthèse des analogues 31a à 31h par couplage de Suzuki</i>	86
3.	<i>Pharmacomodulations autour du noyau pyridinique</i>	89
4.	<i>Introduction du groupement pyridin-2-yle</i>	90
IV.	HOMOLOGATION DES COMPOSES 15A , 15B ET 31D	94
A.	<i>Synthèse de l'intermédiaire 33, homologue de l'alcool 11b</i>	94
B.	<i>Synthèse des composés 34a et 34b, homologues des dérivés 15a et 15b</i>	94
C.	<i>Synthèse du composé 35, homologue du dérivé 31d</i>	95
V.	BILAN	97
VI.	EVALUATIONS BIOLOGIQUES	98
A.	<i>Tests de criblages</i>	98
1.	<i>Test colorimétrique MTT</i>	98
2.	<i>Test colorimétrique au bleu trypan</i>	99
3.	<i>Illustration des tests de criblage</i>	99
B.	<i>Détermination des CE_{50} des composés sélectionnés lors des tests de criblage</i>	101
1.	<i>Résultats</i>	101
2.	<i>Discussion</i>	102
C.	<i>Evaluation de l'apoptose induite sur des cellules de la lignée KU812 par les composés CP196i, 15a, 15b, 30, 31d, 31m, 31i, et 34a</i>	108
1.	<i>Principe de la mesure de l'apoptose</i>	108
2.	<i>Résultats et discussion</i>	109
D.	<i>Effets des composés les plus cytotoxiques sur les facteurs de transcription STAT5</i>	110
E.	<i>Evaluation biologique approfondie du chef de file 31d</i>	111
1.	<i>Expression des gènes STAT5</i>	111
2.	<i>Expression du gène PIM1</i>	112
3.	<i>Test de l'efficacité cytotoxique de 31d sur des lignées de LAM</i>	112
4.	<i>Tests de sélectivité</i>	113
5.	<i>Evaluation biologique vis-à-vis de PPARγ</i>	114

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	117
I. CONCLUSION GENERALE	118
II. PERSPECTIVES	123
PARTIE EXPÉRIMENTALE	124
I. MODES OPERATOIRES DES SYNTHÈSES ET CARACTÉRISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DES PRODUITS DÉCRITS.....	125
II. PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX DES TESTS BIOLOGIQUES.....	191
A. <i>Culture cellulaire</i>	191
B. <i>Criblage moléculaire</i>	191
C. <i>Evaluation de l'apoptose</i>	192
D. <i>Effet sur l'expression de STAT5</i>	192
E. <i>Effet sur les gènes cibles de STAT5</i>	192
F. <i>Evaluation de l'activité sur PPAR</i>	193

Liste des tableaux

Tableau 1 : fonctions assurées par les domaines conservés des STAT	30
Tableau 2 : optimisation des conditions de couplage.....	65
Tableau 3 : optimisation des conditions de formation de l'alcool 11b	69
Tableau 4 : optimisation de l'amination réductrice.....	70
Tableau 5 : évaluation biologique des composés 15a, 15b et CP196i	76
Tableau 6 : CE ₅₀ des composés CP196i, 30 et 15a	85
Tableau 7 : structures des analogues 31a-h.....	87
Tableau 8 : CE ₅₀ des composés 31d, 15a et CP196i	88
Tableau 9 : structures des analogues du composé 31d.....	89
Tableau 10 : CE ₅₀ des composés CP196i, 15a, 31d et 34a.....	96
Tableau 11 : EC ₅₀ des composés sélectionnés sur KU812 et K562	102
Tableau 12 : évaluation du composé 31d sur les lignées KG1a et MV-4-11 modèles de LAM	113

Liste des figures

Figure 1 : formation du chromosome de Philadelphie (d'après Lydon et collaborateurs ⁵)	25
Figure 2 : structures de la cytarabine et de la daunorubicine	28
Figure 3 : domaines fonctionnels conservés entre les facteurs de transcription STAT (adapté de Kisseleva et collaborateurs ¹²).	29
Figure 4 : structure tridimensionnelle du dimère activé STAT1 lié à l'ADN (d'après Chen et collaborateurs ¹³)	30
Figure 5 : structure du dimère de STAT5A non phosphorylé (d'après Neculai et collaborateurs ¹⁴)	31
Figure 6 : domaines fonctionnels des facteurs de transcription STAT5A et STAT5B	36
Figure 7 : régulation des niveaux de ROS par l'état d'activation de STAT5	38
Figure 8 : structure du mésylate d'imatinib	39
Figure 9 : structures des inhibiteurs de la tyrosine kinase BCR-ABL	40
Figure 10 : structures des inhibiteurs de FLT3	41
Figure 11 : structures des inhibiteurs de JAK2	42
Figure 12 : structure de l'inhibiteur BP-1-108	44
Figure 13 : structure du composé 13a	44
Figure 14 : structure du pimozide	45
Figure 15 : exemple de la plurivalence des PPARs avec l'isoforme γ (d'après Ahmadian et collaborateurs ⁸⁷)	46
Figure 16 : structures des fibrates	48
Figure 17 : structure du composé GW501516	48
Figure 18 : structures des thiazolidinediones	49
Figure 19 : structure du composé CP196i	53
Figure 20 : structures des composés CP196i, 15a, 15b, 16a, 16b, 16c et 20	75
Figure 21 : structures des composés CP196i, 30 et 15a	84
Figure 22 : structures des composés CP196i, 15b et 31d	88
Figure 23 : structures des composés CP196i, 15a, 31d et 34a	96
Figure 24 : courbes de prolifération obtenues avec la lignée K562	100
Figure 25 : courbes de viabilité obtenues avec la lignée K562	100
Figure 26 : structures des composés sélectionnés pour leur effet antiprolifératif	101
Figure 27 : structure du composé CP196i	103
Figure 28 : structures des composés 16c, 30, 15a et 15b	103

Figure 29 : structures des composés 14, 16b et 16a	104
Figure 30 : structures des composés 15a et 20	104
Figure 31 : structures des composés 31d, 31c et 31a	105
Figure 32 : structures des composés 31j, 31k et 31l.....	105
Figure 33 : structures des composés 31m, 31n et 31o.....	106
Figure 34 : structures des composés 31d, 31i et 32.....	106
Figure 35 : structures des composés 15a et 34a	107
Figure 36 : structures des composés 31d et 35.....	107
Figure 37 : principe de la mesure d'apoptose (http://www.ac-grenoble.fr).....	108
Figure 38 : évaluation de l'effet apoptotique sur la lignée KU812.....	109
Figure 39 : effet apoptotique du composé 31d sur les cellules de la lignée KU812	110
Figure 40 : phosphorylation et expression de STAT5 dans la lignée KU812 en présence de 10 µM des composés sélectionnés	110
Figure 41 : influence du composé 31d sur l'expression des gènes <i>STAT5</i>	111
Figure 42 : évaluation de l'impact du composé 31d sur l'expression de <i>PIMI</i>	112
Figure 43 : structure du composé 13a	113
Figure 44 : évaluation de la sélectivité du composé 31d vis-à-vis de STAT3, ERK1/2 et AKT	114
Figure 45 : structures de la rosiglitazone et du composé GW9662.....	115
Figure 46 : effets du chef de file 31d sur la prolifération des cellules de la lignée KU812 en présence ou non de GW9662	115
Figure 47 : effets du chef de file 31d sur la viabilité des cellules de la lignée KU812 en présence ou non de GW9662	115
Figure 48 : structure du composé CP196i	119
Figure 49 : analogues actifs de la première série	120
Figure 50 : structures des analogues actifs.....	121
Figure 51 : structure du chef de file 31d	122

Liste des schémas

Schéma 1 : l'hématopoïèse normale (adapté de Metcalf et collaborateurs ³)	23
Schéma 2 : voie de signalisation de la protéine de fusion BCR-ABL (d'après Fabbro et collaborateurs ⁶).....	26
Schéma 3 : activation des facteurs STAT par la stimulation de cytokines (https://courses.washington.edu/conj/bess/jakstat/jakstat.htm).....	32
Schéma 4 : les différents modes d'activation des STAT (adapté de Lim et Cao ¹³).....	33
Schéma 5 : cellules souches quiescentes comme nouvelle cible thérapeutique (d'après Mikkola et collaborateurs ⁵⁶).....	38
Schéma 6 : mode d'activation des protéines PPARs.....	47
Schéma 7 : conception des ligands PPAR.....	52
Schéma 8 : synthèse du CP196i	54
Schéma 9 : modifications envisagées pour la synthèse d'analogues du CP196i	55
Schéma 10 : obtention du composé D' par <i>O</i> -alkylation	58
Schéma 11 : voie A <i>via</i> substitution nucléophile ou <i>via</i> réaction de Mitsunobu	59
Schéma 12 : voie B <i>via</i> substitution nucléophile ou <i>via</i> amination réductrice.....	59
Schéma 13 : synthèse des intermédiaires 3a et 3b	60
Schéma 14 : synthèse de l'alcool 5	61
Schéma 15 : synthèse des alcools 6a et 6b	61
Schéma 16 : introduction du groupement tosyle sur l'alcool 6a	62
Schéma 17 : réaction de Mitsunobu entre 6a et 5	62
Schéma 18 : essai de formation de l'alcool sur le composé 5.....	63
Schéma 19 : exemple de formation d'éther selon la méthode de Niu.....	63
Schéma 20 : synthèse de l'intermédiaire 7.....	64
Schéma 21 : essai de formation de l'alcool sur le composé 7.....	64
Schéma 22 : synthèse de l'alcool 8 par couplage de type Ullmann	64
Schéma 23 : synthèse de l'intermédiaire tosylé 9	65
Schéma 24 : essais de couplage des intermédiaires 3b et 9	66
Schéma 25 : oxydation de l'alcool 8	66
Schéma 26 : protection du 5-bromoindole	67
Schéma 27 : synthèse des alcools 11a et 11b à partir de l'indole protégé	67
Schéma 28 : synthèse d'aryle alkyle éther selon Altman.....	68
Schéma 29 : synthèse de l'alcool 11b	69

Schéma 30 : synthèse de l'aldéhyde 12a.....	69
Schéma 31 : séquence d'oxydation et d'amination réductrice sur les composés 11a et 11b ...	70
Schéma 32 : synthèse du composé 14	71
Schéma 33 : déprotection des indoles 13a, 13b et 14.....	71
Schéma 34 : mécanisme de débenzylation de l'indole proposé par les auteurs ¹¹¹	72
Schéma 35 : déprotection de l'indole des composés 13b et 14	72
Schéma 36 : modifications sur l'azote de l'indole	74
Schéma 37 : synthèse du composé 20 (analogue 7-azaindole)	75
Schéma 38 : acylation de Friedel et Crafts pour obtenir la cétone B'	77
Schéma 39 : synthèse du composé 21	78
Schéma 40 : réaction d'un organolithien avec l'acide cyclohexanecarboxylique	78
Schéma 41 : synthèse de cétones aromatiques par Ushijima et collaborateurs ¹¹⁶	79
Schéma 42 : synthèse de la cétone 22	79
Schéma 43 : réaction d'un organomagnésien sur le chlorure de cyclohexanoyle.....	80
Schéma 44 : synthèse du composé 23 selon la méthode de Weiberth et collaborateurs ¹¹⁸	80
Schéma 45 : synthèse du nitrile 24 et de la cétone 22.....	81
Schéma 46 : réaction de débenzylation de la cétone modèle 22	81
Schéma 47 : protection de la cétone 23 en cétal 25	82
Schéma 48 : synthèse du nitrile 26.....	82
Schéma 49 : synthèse de la cétone 27	83
Schéma 50 : protection de la cétone 27 en cétal 28	83
Schéma 51 : synthèse de la cétone 30	84
Schéma 52 : cycle catalytique de la réaction de Suzuki.....	86
Schéma 53 : synthèse des analogues substitués en position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.....	87
Schéma 54 : synthèse des analogues du composé 31d.....	89
Schéma 55 : rôle du cuivre dans le couplage de l'ester boronique de la 2-pyridine.....	91
Schéma 56 : transmétallation de l'ester de MIDA dans les conditions de Dick ¹³²	91
Schéma 57 : réaction de l'ester de MIDA de la 2-pyridine avec 15b	92
Schéma 58 : boration de Suzuki	92
Schéma 59 : synthèse du dérivé 32	93
Schéma 60 : homologation envisagée des composés 15a, 15b et 31d	94
Schéma 61 : synthèse de l'alcool intermédiaire 33	94
Schéma 62 : synthèse des composés 34a et 34b avec une chaîne à 3 carbones	95

Schéma 63 : synthèse de l'analogue 35.....	95
Schéma 64 : bilan de la synthèse du composé 31d sur plus grande échelle.....	97
Schéma 65 : la réduction du MTT en formazan par la réductase mitochondriale des cellules vivantes métaboliquement actives.....	98
Schéma 66 : optimisation de la voie de synthèse du bicycle	119
Schéma 67 : élaboration de nouveaux analogues.....	120

Liste des abréviations

« Biologie »

Abl	Abelson
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ba/f3-ITD	Lignée cellulaire Ba/f3 exprimant le récepteur Flt3 porteur d'une duplication interne en tandem (ITD)
Bcl-2	B-cell lymphoma 2, gène anti-apoptotique
Bcl-xL	B-cell lymphoma-extra large, gène anti-apoptotique
bcr	Breaking cluster region
BRD	Protéine à bromodomaine
CC	Coiled-coil (superhélice)
CD4+	Cluster de différenciation 4
CE ₅₀	Concentration efficace médiane
CI ₅₀	Concentration Inhibitrice médiane
CIS	Cytokine-inducible SH2-containing protein
C-myc	Avian myelocytomatosis viral oncogene homolog
DBD	DNA binding domain (domaine de liaison à l'ADN)
EGF	Epidermal growth factor
ERK	Extracellular signal–regulated kinases
FDA	Food and drug administration
FGF	Fibroblast growth factor (facteurs de croissance des fibroblastes)
Flt3	Fms-like tyrosine kinase 3 receptor
Flt3-ITD	Fms-related tyrosine kinase 3-internal tandem duplication récepteur de tyrosine kinase porteur d'une duplication interne en tandem
GLOBOCAN	Global burden of cancer study
GAS	Gamma activated sequence
IFN	Interférons
IgE	Immunoglobuline E
IgM	Immunoglobuline M
IL	Interleukines
IM	Mésylate d'imatinib
ISGF-3	IFN-stimulated gene factor 3

Islet-1	Insulin gene enhancer protein
Jak	Janus kinase
KO	Knock-out
LAL	Leucémie aiguë lymphoïde
LAM	Leucémie aiguë myéloïde
LLC	Leucémie lymphoïde chronique
LMC	Leucémie myéloïde chronique
LK	Linker (lien)
MCL-1421	Induced myeloid leukemia cell differentiation protein
MGF	Mammary gland factor
MIP-1	Macrophage inflammatory proteins 1
NK	Natural killer (tueur naturel)
NRAS	Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog
PDGF	Platelet-derived growth factor
p21	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1
p48	Interferon regulatory factor 9
PI3 Kinase	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase
PIM1	Proviral integration site for Moloney murine leukemia virus 1
pO2	Pression partielle en dioxygène
PPAR	Peroxisome proliferator activated receptor (récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes)
P-STAT5	STAT5 phosphorylé
RANTES	Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted
RAS	Rat sarcoma
RAR	Récepteur de l'acide 9-trans-rétinoïque
RB	Retinoblastoma
ROS	Reactive oxygen species (espèces réactives de l'oxygène)
RXR	Récepteur de l'acide 9-cis-rétinoïque
SH2	Src Homology 2 domain
Src	Sarcome
Stat	Signal transducer and activator of transcription
TAD	Transactivation domain (domaine de transactivation)
Th1	T helper 1 (lymphocytes T auxiliaires)
TZD	Thiazolidinedione

Y	Tyrosine
« Chimie »	
1,2-DCE	1,2-Dichloroéthane
3-MCA	3-Méthylcholanthène
7-AAD	7-Aminoactinomycine D
8-HQ	8-Hydroxyquinoléine
Å	Ångström
AcOEt	Acétate d'éthyle
AcOH	Acide acétique
anh.	Anhydre
APTS	Acide <i>p</i> -toluènesulfonique
Bn	Benzyle
cat.	Catalytique
CCM	Chromatographie sur couche mince
CLHP	Chromatographie en phase liquide à haute performance
d	Doublet
dd	Doublet de doublet
dba	Dibenzylidèneacétone
DCM	Dichlorométhane
DDQ	2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DEA	Diéthanolamine
DIAD	Diazodicarboxylate de diisopropyle
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropyléthylamine
DMF	<i>N,N</i> -Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
dppf	1,1'-Bis(diphénylphosphino)ferrocène
EP	Éther de pétrole
éq.	Équivalent
Et	Éthyle
GP	Groupement protecteur
IBA	Acide iodobenzoïque
IBX	Acide 2-iodoxybenzoïque
iPr	Isopropyle
LogP	Logarithme du coefficient de partage entre l'octanol et l'eau

m	Multiplet
Me	Méthyle
Me ₄ Phen	3,4,7,8-Tétraméthyl-1,10-phénantroline
MIDA	Acide N-méthyliminodiacétique
MTT	Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium
<i>n</i> -Bu	<i>n</i> -Butyle
Pf	Point de fusion
Phen	1,10-Phénantroline
PMB	<i>p</i> -Méthoxybenzyle
ppm	Partie par million
Pyr	Pyridine
q	Quadruplet
Rdt	Rendement
RMN	Résonance magnétique nucléaire
s	Singulet
SMHR	Spectrométrie de masse à haute résolution
SPhos	2-Dicyclohexylphosphino-2',6'-diméthoxybiphényle
t	Triplet
TA	Température ambiante
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldiméthylsilyle
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -Butyle
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
TMS	Triméthylsilyle
TsCl	Chlorure de triméthylsilyle
UV	Ultraviolet
XPhosPdCycle	Chloro(2-dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphényl)[2-(2-aminoéthyl)phényl]palladium(II)

INTRODUCTION

I. Généralités

A. Les cancers, un enjeu majeur de santé publique

Le projet GLOBOCAN 2012 a eu pour objectif l'établissement de données fiables concernant l'incidence, la mortalité et la prévalence des principaux types de cancers en 2012. D'après les dernières statistiques de l'Organisation Mondiale de la Santé et du projet GLOBOCAN 2012¹, les cancers sont l'une des causes majeures de décès dans le monde, avec en 2012, près de 14,1 millions de nouveaux cas et 8,2 millions de décès¹. Depuis quelques années, les cancers frappent de plus en plus les pays en développement qui totalisent actuellement 57% des cas et 65% des décès dans le monde. Dans les pays développés, le taux d'incidence, tous types de cancers confondus, est deux fois plus élevé que dans les pays en développement. Cependant, la mortalité liée aux cancers dans les pays développés n'est que de 8 à 15% supérieure par rapport aux pays en développement. Le nombre de nouveaux cas devrait augmenter de 70% environ au cours des deux prochaines décennies.

En France, les données issues du rapport « Les cancers en France, Les Données » publié par l'Institut National du Cancer², font état de 385 000 nouveaux cas et de 149 500 décès par cancers en 2015. La lutte contre les cancers est donc un enjeu majeur de santé publique.

En 2015, les cancers le plus fréquemment diagnostiqués étaient le cancer de la prostate (26% des cancers chez l'homme) et le cancer du sein (31% des cancers chez la femme). Ces deux cancers appartiennent à la catégorie des cancers dits « solides » qui représentent plus de 90% des cancers chez l'Homme.

Dans ce manuscrit, nous avons limité notre propos à une autre catégorie de cancers, dit « liquides » ou « sanguins », et en particulier aux leucémies. Les leucémies, les syndromes myéloprolifératifs et myélodysplasiques sont la première cause de cancer chez l'enfant de moins de 15 ans (28,3% des cancers, dont 80% de leucémies aiguës lymphoïdes).

Afin de mieux appréhender ces hémopathies malignes, nous allons nous intéresser à l'hématopoïèse qui constitue l'ensemble des processus permettant la fabrication des cellules sanguines.

B. L'hématopoïèse

L'hématopoïèse correspond à l'ensemble des phénomènes qui conduisent à la fabrication et au remplacement continu et régulé des cellules sanguines matures³. Chez l'Homme, l'hématopoïèse a lieu dans la moelle osseuse et est présentée en quatre compartiments (Schéma 1) :

- Les cellules souches hématopoïétiques, multipotentes
- Les progéniteurs communs, engagés dans un lignage cellulaire
- Les précurseurs, cellules plus différenciées
- Les cellules sanguines matures fonctionnelles qui passent dans la circulation générale

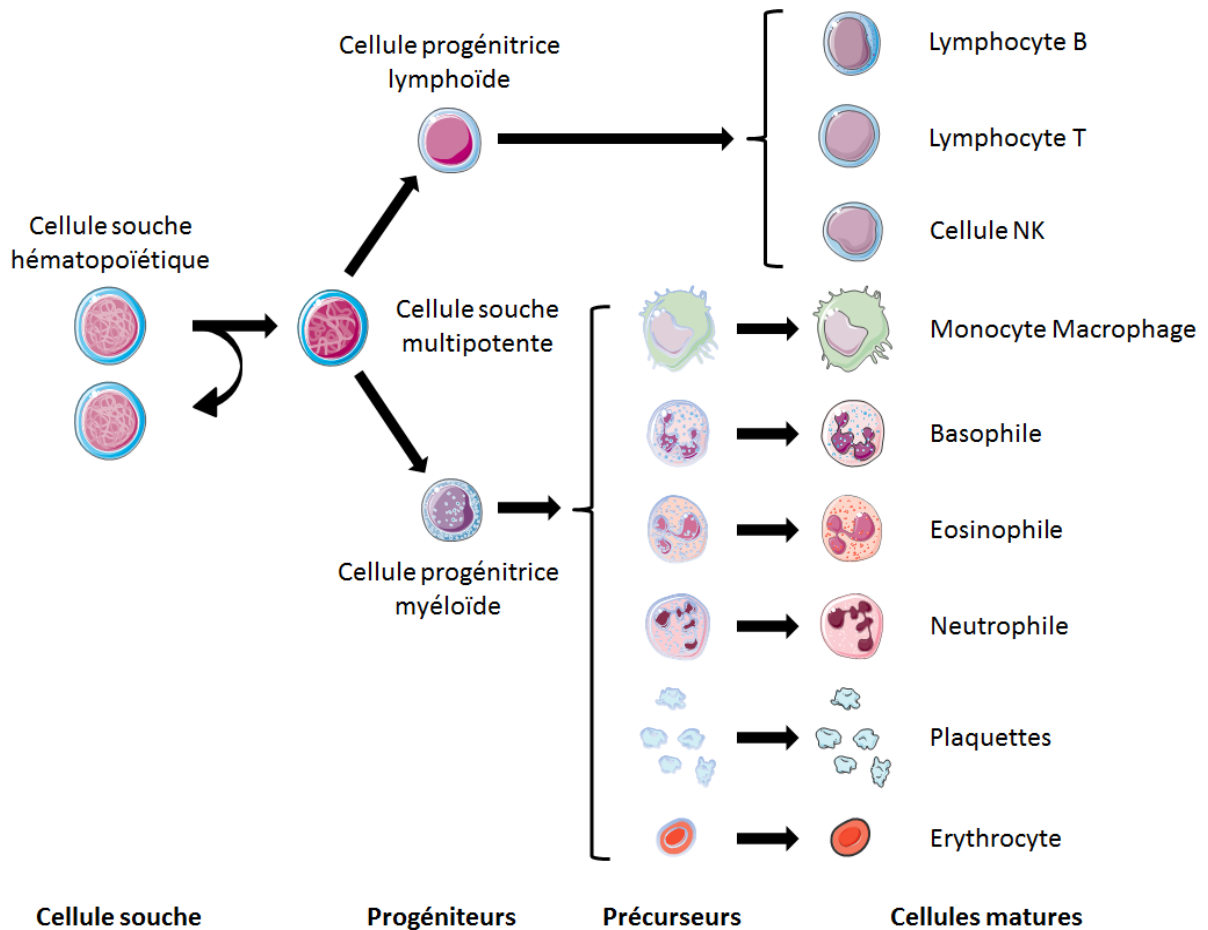


Schéma 1 : l'hématopoïèse normale (adapté de Metcalf et collaborateurs⁴)

Toutes les cellules sanguines sont produites à partir de cellules indifférenciées multipotentes appelées cellules souches hématopoïétiques. Sous l'influence de facteurs stimulants comme le facteur souche cellulaire (SCF) ou certaines cytokines (interleukines IL-

1, IL-3, IL-6, ...), une cellule souche hématopoïétique va s'engager dans la différenciation d'une lignée cellulaire et ainsi donner les cellules progénitrices. Ces progéniteurs communs prolifèrent et se différencient en précurseurs hématopoïétiques de plus en plus engagés dans un lignage qui vont produire au final des cellules sanguines matures (Schéma 1).

C. Les leucémies

Les hémopathies malignes correspondent à un ensemble hétérogène de cancers des cellules sanguines et de leurs précurseurs. On y retrouve les lymphomes, prolifération anormale de cellules sanguines dans les organes lymphoïdes, les myélomes, prolifération incontrôlée de plasmocytes anormaux, les syndromes myélodysplasiques, production par la moelle de cellules sanguines morphologiquement anormales dites « dysplasiques » et les leucémies.

En 1845, le médecin R. Virchow désigne sous le nom de « leucémie » (du grec *leukos*, blanc et *haima*, sang), des maladies où le sang des patients présente un aspect laiteux. Lors de la leucémogenèse, la cellule hématopoïétique normale acquiert ou conserve des propriétés d'auto-renouvellement, de réponses modifiées aux signaux prolifératifs et antiprolifératifs, une résistance à l'apoptose et parfois un blocage de sa maturation. Il en résulte une prolifération anormale, puis une accumulation de cellules hématopoïétiques dans la moelle osseuse et le sang. Selon que les cellules impliquées proviennent de la lignée granulocytaire ou de la lignée lymphocytaire, on qualifie ces hémopathies de leucémies myéloïdes ou lymphoïdes. Le second critère de distinction correspond à la capacité de maturation des cellules. Les leucémies sans blocage de maturation seront dites chroniques alors que celles présentant un blocage de la maturation cellulaire seront dites aiguës. On retrouve ainsi 4 grands types de leucémies:

- La leucémie myéloïde chronique (LMC)
- La leucémie aiguë myéloïde (LAM)
- La leucémie lymphoïde chronique (LLC)
- La leucémie aiguë lymphoïde (LAL)

Les leucémies, les syndromes myéloprolifératifs et myélodysplasiques sont la première cause de cancer chez l'enfant de moins de 15 ans (28,3% des cancers, dont 80% de leucémies aiguës lymphoïdes). Chez l'enfant de moins de 15 ans, le taux de survie à 5 ans est de 90% pour les leucémies aiguës lymphoïdes et de 66% pour les leucémies aiguës myéloïdes.

Chez l'adulte, le taux de survie à 5 ans pour les leucémies aigües myéloïdes est de 21% pour les hommes et 25% pour les femmes.

Dans la suite de ce manuscrit, nous limiterons notre propos aux leucémies myéloïdes (LMC, LAM) qui impliquent la transformation et la prolifération de précurseurs hématopoïétiques des lignées myéloïdes.

1. La leucémie myéloïde chronique

La leucémie myéloïde chronique correspond à la prolifération maligne et systématisée de la lignée granulocytaire sans blocage de la maturation. La LMC touche de 15 à 20% des patients atteints de leucémie. L'origine génétique de cette pathologie a été identifiée : il s'agit d'une translocation entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 donnant naissance à un chromosome anormal appelé chromosome Philadelphie présent dans 95% des LMC (Figure 1)⁵.

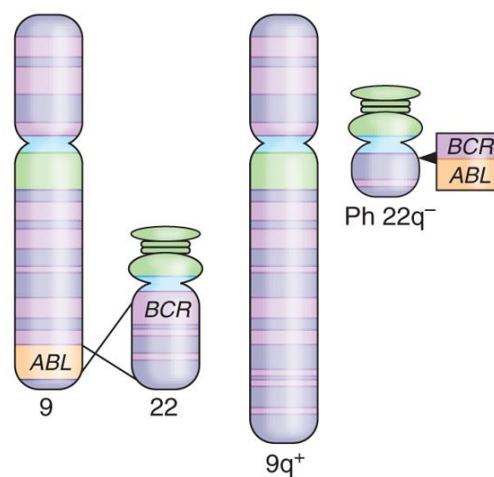


Figure 1 : formation du chromosome de Philadelphie (d'après Lydon et collaborateurs⁵)

La translocation s'opère au niveau de l'oncogène *abl* (abelson) du chromosome 9 et au niveau d'une région appelée *bcr* (breakpoint cluster region) du chromosome 22⁶. Il en résulte un gène de fusion *BCR-ABL* codant pour une protéine de fusion BCR-ABL qui présente une activité tyrosine kinase constitutive. Cette tyrosine kinase BCR-ABL active de nombreuses voies de signalisation impliquées dans la leucémogénèse dont les voies RAS, STAT5, et PI3K (Schéma 2)⁷.

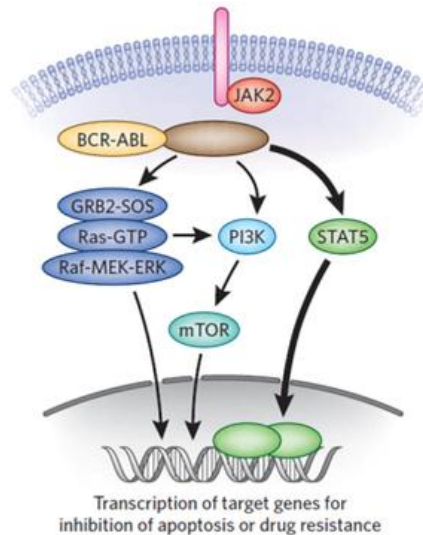


Schéma 2 : voie de signalisation de la protéine de fusion BCR-ABL (d'après Fabbro et collaborateurs⁷).

L'activation constitutive des voies RAS, STAT5, et PI3K par BCR-ABL apporte un avantage prolifératif aux cellules leucémiques sans bloquer leur maturation.

La LMC comporte trois phases distinctes qui sont les phases chronique, accélérée et blastique. Lors de la phase chronique, une prolifération de cellules différenciées présentant le chromosome Philadelphie est observée. Cette prolifération incontrôlée entraîne une saturation de la moelle, qui provoque une suppression de l'hématopoïèse normale. Le syndrome myéloprolifératif est alors confirmé par un myélogramme montrant une moelle extrêmement riche en cellules de lignée granuleuse⁸. Si la LMC n'est pas traitée en phase chronique, d'autres anomalies génétiques apparaissent et font évoluer la maladie en phase accélérée. Au cours de cette phase, l'instabilité génomique est croissante et des cellules peu différenciées appelées « blastes » sont présentes dans le sang. A terme, lorsque ces blastes représentent plus de 20% des cellules myéloïdes médullaires ou sanguines, la maladie entre alors en phase blastique et présente les caractéristiques d'une leucémie aiguë myéloïde. Le traitement de chimiothérapie standard de la LMC en phase chronique est un inhibiteur de la tyrosine kinase BCR-ABL comme l'imatinib, le nilotinib ou le dasatinib (cf. Figure 8 et Figure 9 dans le chapitre *i. Inhibiteurs de la kinase BCR-ABL*). Si ce traitement entraîne des effets secondaires, le bosutinib peut également être proposé. Si le traitement ne fonctionne pas (ou plus) avec un premier inhibiteur, un des autres inhibiteurs peut alors être utilisé. Si l'emploi de tous les autres inhibiteurs de kinase reste sans succès, ou si la mutation T315I de la kinase BCR-ABL apparaît, le ponatinib est alors employé.

2. Les leucémies aiguës myéloïdes

Les leucémies aiguës myéloïdes désignent un ensemble d'hémopathies associées à la prolifération maligne de blastes dans la moelle osseuse, le sang et parfois d'autres organes, entraînant une suppression de l'hématopoïèse normale⁹. En France, parmi toutes les formes de cancers, les LAM présentent un des plus faible taux de survie à 5 ans (66% chez l'enfant, moins de 26% chez l'adulte)². Toutes les catégories d'âges sont touchées, avec un pic de fréquence chez l'enfant de moins de 5 ans et une augmentation de la fréquence au cours du vieillissement chez l'adulte.

Des facteurs prédisposant à l'apparition des LAM ont été identifiés, comme les rayons ionisants (radioactivité), l'exposition à certains composés chimiques (benzène), certaines anomalies chromosomiques ou encore un déficit immunitaire. Des LAM dites « secondaires » peuvent être chimioinduites par des traitements anticancéreux lors d'un premier cancer ou faire suite à un autre syndrome myéloprolifératif (LMC par exemple).

Dans le cas des LAM, de nombreuses mutations de plusieurs gènes ont été mise en évidence, comme *FLT3* (Fms-like tyrosine kinase 3)¹⁰, comme étant impliquées dans la leucémogénèse, ces mutations conférant un avantage prolifératif aux cellules mutées. Cependant, ces mutations géniques ne sont pas observées chez tous les patients (environ 30% des patients présentent la mutation *FLT3-ITD*) et donc contrairement à la LMC, une cause unique et spécifique commune aux LAM n'a pas été identifiée à ce jour.

Comme pour la LMC, l'envahissement de la moelle entraîne une inhibition de l'hématopoïèse normale. Cependant, dans le cas des LAM, les cellules leucémiques en prolifération présentent un blocage de leur maturation à un stade plus ou moins avancé.

Le diagnostic de LAM est confirmé par un myélogramme montrant une moelle extrêmement riche en cellules dont plus de 20% sont des blastes.

Les agents anticancéreux les plus utilisés pour le traitement des LAM sont la cytarabine (antimétabolite) et des composés de la famille des anthracyclines (intercalant de l'ADN) comme la daunorubicine (Figure 2).

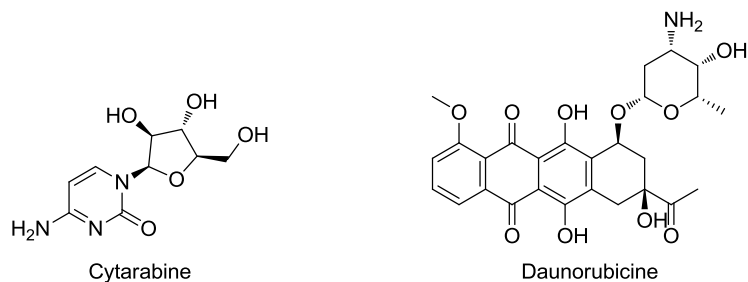


Figure 2 : structures de la cytarabine et de la daunorubicine

Le traitement des LAM commence par une phase de chimiothérapie intensive dite « d'induction », visant à éliminer les cellules immatures qui ont envahi le sang et la moelle afin de permettre un réamorçage de l'hématopoïèse normale et obtenir ainsi une rémission complète de la pathologie. La rémission complète correspond à un hémogramme normal et à un myélogramme présentant un nombre de blastes inférieur à 5%. Après la thérapie d'induction, un traitement dit de « consolidation » est appliqué afin d'éliminer les cellules leucémiques résiduelles et de prévenir les rechutes. Au cours de ce traitement, les mêmes agents anticancéreux sont alors utilisés à des doses inférieures.

II. STAT5 : cible thérapeutique pour le traitement des leucémies

A. Les facteurs de transcription de la famille STAT

Les facteurs de transcription sont les protéines qui interviennent dans l'initiation et la régulation de la transcription. Ils sont classés en deux groupes, les facteurs généraux et les facteurs spécifiques de la transcription. Les premiers sont directement impliqués dans la composition de la machinerie transcriptionnelle basale. Les seconds regroupent les facteurs homéotiques, les récepteurs nucléaires et des protéines caractérisées par la nature de leur domaine de liaison à l'ADN, dont les facteurs de transcription STAT. La famille des facteurs de transcription STAT est constituée de sept membres : STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B et STAT6. Les facteurs de transcription STAT1, 3, 4, 5a et 5b sont plus courts avec 750 à 795 acides aminés et STAT2 et 6 sont plus longs avec environ 850 acides aminés¹¹.

1. Les domaines fonctionnels

Les facteurs de transcription STAT partagent plusieurs domaines structuraux et fonctionnels communs plus ou moins conservés entre eux. Six domaines particuliers ont été identifiés par comparaison de séquence et mutagenèse dirigée (Figure 3)¹².

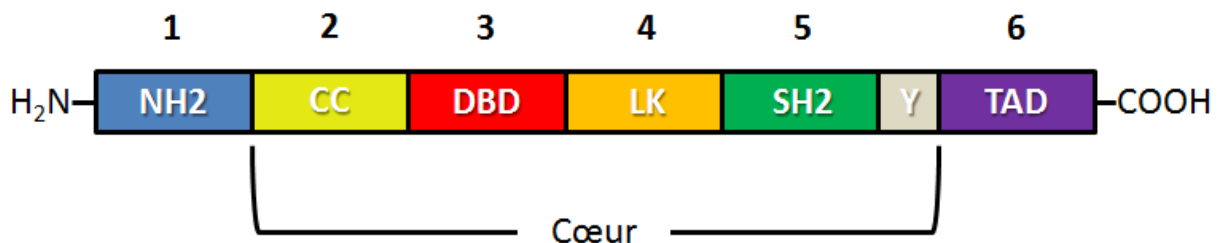


Figure 3 : domaines fonctionnels conservés entre les facteurs de transcription STAT (adapté de Kisseleva et collaborateurs¹²).

Les six domaines fonctionnels identifiés sur les facteurs de transcription STAT sont : le domaine N terminal NH₂, le domaine superhélice CC (coiled-coil), le domaine de liaison à l'ADN noté DBD (DNA binding domain), le linker LK, le domaine homologue des oncoprotéines Src (Sarcome) de type 2 SH2 (Src Homology 2) et le domaine de transactivation TAD (Trans-activation domain). Le segment phosphotyrosine Y n'est pas un domaine fonctionnel à proprement parler mais ce segment commun intervient dans la dimérisation des facteurs de transcription STAT.

Les différentes fonctions des 6 domaines caractéristiques sont résumées dans le Tableau 1.

	NH2	CC	DBD	LK	SH2	Y	TAD
Liaison au récepteur		×			×		
Dimérisation	×				×	×	×
Tétramérisation	×						
Import vers le noyau	×	×	×				
Export du noyau		×	×	×	×		×
Liaison à l'ADN			×	×			
Activité transcriptionnelle				×			×
Interaction protéine/protéine	×	×	×	×	×		×

Tableau 1 : fonctions assurées par les domaines conservés des STAT

Le « cœur » des facteurs de transcription STAT est constitué des domaines CC, BDB, LK et SH2. Ces quatre domaines interagissent entre eux par l'intermédiaire de séquences inter-domaines. Donc la seule modification d'un de ces domaines entraîne une restructuration globale de la protéine accompagnée d'une modulation de fonction.

2. Structure tridimensionnelle

Les premières données cristallographiques sur les facteurs de transcription STAT ont été publiées en 1998, avec la cristallisation du dimère activé de STAT1 humain complexé à l'ADN (PDB : 1BF5) (Figure 4)¹³.

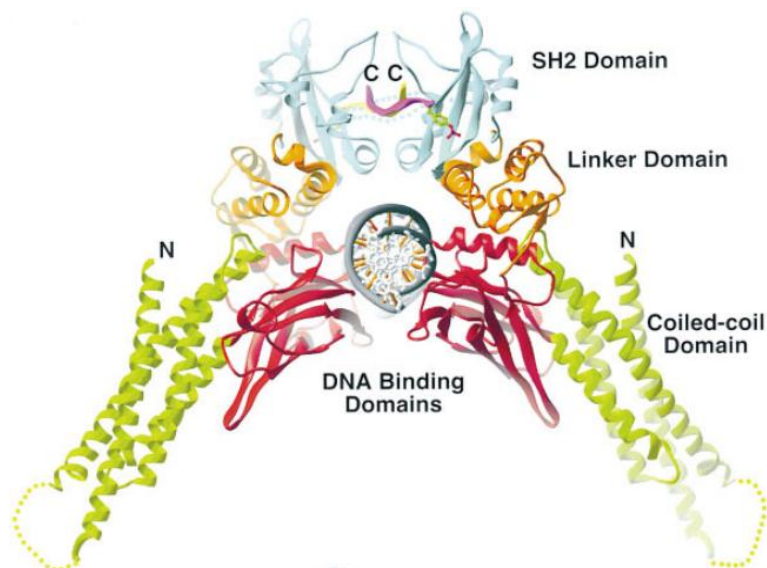


Figure 4 : structure tridimensionnelle du dimère activé STAT1 lié à l'ADN (d'après Chen et collaborateurs¹³)

La structure cristallographique obtenue a l'allure d'une pince qui englobe l'ADN cible. L'organisation spatiale de la protéine est conditionnée en partie par son cœur (du domaine CC au segment phosphotyrosine Y). L'état de phosphorylation du segment phosphotyrosine modifie ainsi la structure tridimensionnelle des facteurs de transcription STAT. Les dimères de STAT non phosphorylés adoptent une conformation très différente des dimères activés liés à l'ADN. Par exemple, l'homodimère de STAT5A non phosphorylé (PDB : 1Y1U) cristallisé par Neculai et collaborateurs adopte une structure en « bateau » (Figure 5)¹⁴.

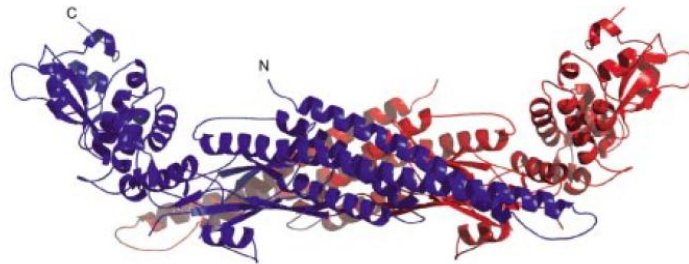


Figure 5 : structure du dimère de STAT5A non phosphorylé (d'après Neculai et collaborateurs¹⁴)

Cette forme antiparallèle non phosphorylée semble être la forme latente majoritaire des STAT dans le cytoplasme avant leur activation. L'initiation de la cascade de signalisation par la phosphorylation de plusieurs résidus assure le passage de la forme latente à la forme dimérique active capable de se lier à l'ADN cible^{14,15}.

Cependant, aucune donnée sur la structure complète des monomères de STAT, qu'ils soient phosphorylés ou non, n'est à ce jour disponible. La plupart des travaux de cristallographie sont réalisés en présence d'ADN et la majorité de ces études portent uniquement sur les seuls facteurs de transcriptions STAT1 et STAT3^{13,16,17}.

3. Mode d'activation

Les facteurs de transcription STAT agissent tous selon le même cycle qui consiste en une activation dans le cytoplasme, une translocation dans le noyau, une activité nucléaire de promotion de transcription, un export nucléaire et une désactivation. En fin de cycle, les facteurs de transcription rejoignent le réservoir cytoplasmique des STAT latents et activables. Il existe de nombreux ligands activateurs de STAT (interférons, facteurs de croissance, interleukines, ...). La voie d'activation classique des STAT commence par la stimulation par une cytokine (Schéma 3).

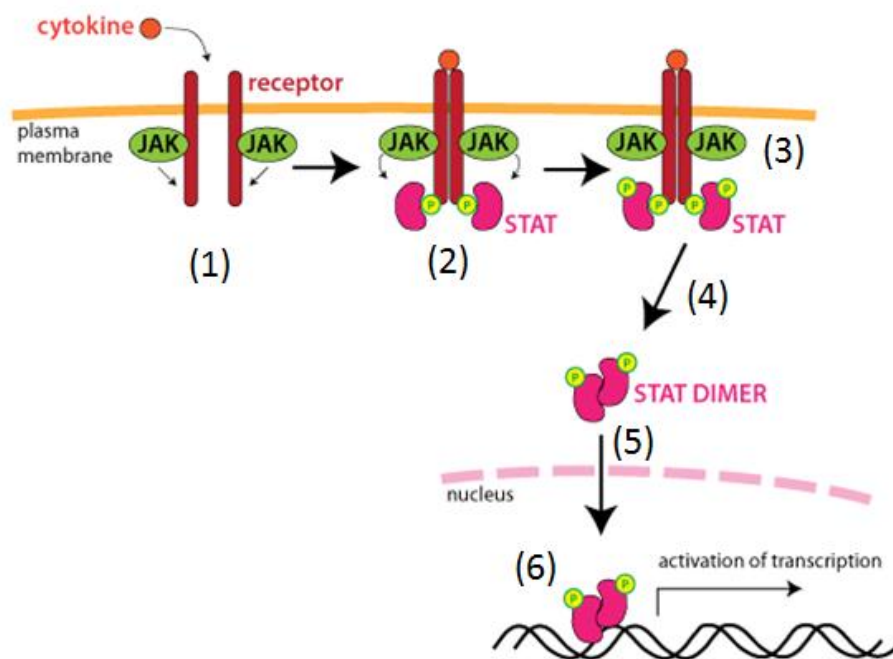


Schéma 3 : activation des facteurs STAT par la stimulation de cytokines

(<https://courses.washington.edu/conj/bess/jakstat/jakstat.htm>)

La fixation de cytokine sur le récepteur provoque la phosphorylation de la kinase Jak (Janus Kinase) qui en retour transphosphoryle un site du récepteur (1). La position phosphorylée du récepteur constitue un site de fixation pour les facteurs de transcription STAT inactifs présents dans le cytoplasme. Les STAT sont recrutés par le récepteur *via* leurs domaines SH2 et les kinases Jak phosphorylent le résidu tyrosine spécifique de la partie C-terminale des STAT (2). L'homo ou hétérodimérisation des STAT se produit par la formation réciproque de la liaison entre le résidu tyrosine phosphorylé d'un monomère et le domaine SH2 du second monomère (3). Le dimère de STAT est libéré du récepteur (4) puis transloqué dans le noyau par l'intermédiaire d'importines (5). Dans le noyau, le dimère active la transcription des gènes cibles des cytokines responsables de l'activation (6) (Schéma 4)¹⁵.

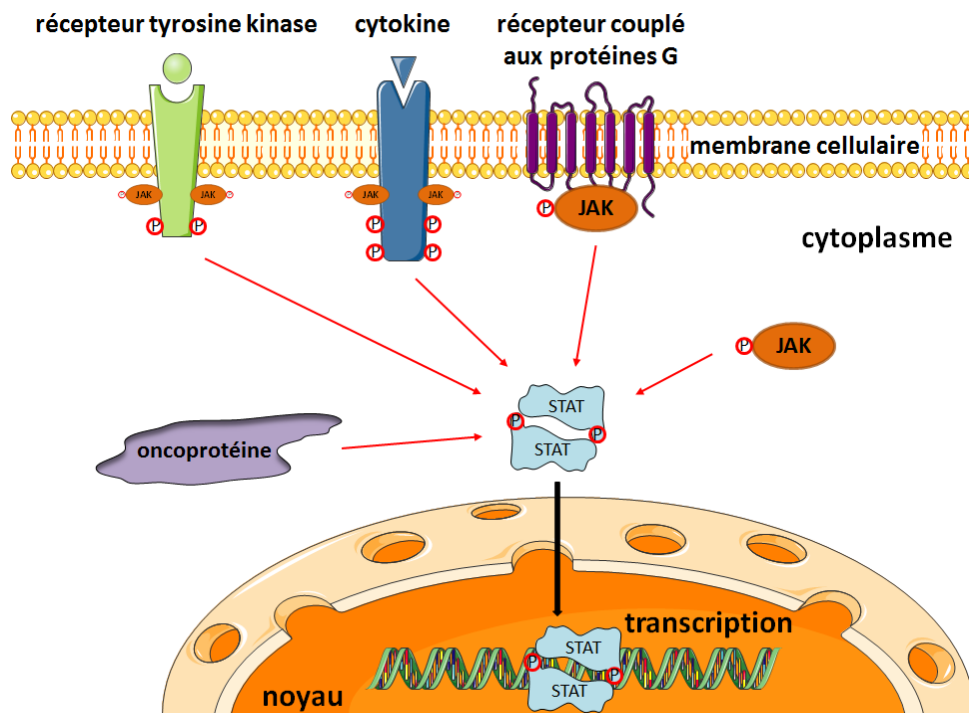


Schéma 4 : les différents modes d'activation des STAT (adapté de Lim et Cao¹⁵)

Les facteurs de transcription STAT peuvent être activés par des récepteurs ayant une activité tyrosine kinase intrinsèque tels EGF, FGF et PDGF¹⁸. D'autres voies d'activation font intervenir des récepteurs couplés aux protéines G comme RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted) et MIP-1 (Macrophage inflammatory protein) qui peuvent activer STAT1 et STAT3 dans les lymphocytes T après stimulation par leur ligand¹⁹. L'activation des facteurs de transcription STAT peut également reposer sur la participation d'adaptateurs intracellulaires comme la protéine Islet-1 par des interactions avec Jak1 et STAT3²⁰. Enfin, les facteurs de transcription STAT peuvent être activés par des kinases indépendantes d'un récepteur comme des oncoprotéines qui provoquent une activation directe et constitutive²¹.

4. Les fonctions spécifiques des membres de la famille STAT

Les facteurs de transcription STAT sont tous impliqués dans la régulation et l'expression de gènes qui contrôlent de grandes fonctions biologiques comme la prolifération, l'apoptose, le développement embryonnaire, l'organogénèse et l'immunité. Ces fonctions sont régulées par des cytokines, des facteurs de croissance et/ou des hormones. Même si la structure des différents STAT est proche, chaque STAT présente des fonctions physiologiques

particulières. A partir d'expériences sur des souris KO (Knock-Out) STAT, le rôle de chacun de ces facteurs de transcription a été étudié^{22,23}.

i. Les facteurs de transcription STAT1

Au cours d'études menées sur la cascade de signalisation activée par les interférons (IFN), les facteurs de transcription STAT1 et STAT2 ont été découverts²⁴. Les IFN interviennent dans la réponse immunitaire antivirale et antimicrobienne. Il existe deux types d'IFN, les IFN de type I (IFN- α et IFN- β) et les IFN de type II (IFN- γ). Une stimulation par les IFN- α/β provoque l'association des facteurs de STAT1 soit avec un homologue (homodimère), soit avec STAT2 (hétérodimère) pour transmettre le signal au noyau. Après internalisation, le dimère associé à la protéine p48 forme le complexe d'activation transcriptionnel ISGF-3 (IFN-stimulated gene factor 3) qui induit l'expression de gènes cibles des IFN- α/β . En revanche, l'activation de la voie des IFN- γ entraîne l'homodimérisation de STAT1 qui reconnaît spécifiquement les séquences GAS (interferon Gamma Activated Sequence).

Le rôle crucial de STAT1 dans la cascade de signalisation initiée par les IFN a été mis en évidence par des études sur des lignées modifiées et sur des souris KO STAT1. En effet, les souris STAT1^{-/-}, présentent une déficience de la réponse immunitaire vis-à-vis des infections virales et microbiennes^{25,26}. Enfin, STAT1 a également montré un rôle protecteur chez la souris contre l'apparition de cancers induits chimiquement par le 3-MCA (3-méthylcholanthrène). En effet, la fréquence d'apparition des tumeurs et la vitesse de développement tumoral sont plus importantes chez les souris déficientes en STAT1²⁷.

ii. Les facteurs de transcription STAT2

Comme STAT1, les facteurs de transcription STAT2 interviennent dans la voie de signalisation des IFNs et sont donc également responsables de la réponse immunitaire vis-à-vis des infections virales et microbiennes. Les souris KO STAT2 présentent donc les mêmes déficiences immunitaires que les souris KO STAT1. Un double KO STAT1/STAT2 augmente encore plus la sensibilité des souris aux infections comparé au KO simple. Donc les facteurs de transcription STAT2 transmettent des signaux indépendamment de STAT1. Les facteurs de transcription STAT2 sont capables de s'homodimériser et de former avec la protéine p48 un complexe d'activation alternatif²⁸.

iii. Les facteurs de transcription STAT3

L'étude des fonctions du facteur STAT3 est plus difficile puisqu'il est impliqué dans le développement embryonnaire. Donc les mutations artificielles de ce facteur entraînent une mort prématurée des embryons²⁹. STAT3 est exprimé dans presque tous les tissus et a différents rôles selon le type cellulaire. Il participe à l'activation de la prolifération pour les hépatocytes, des cellules neuronales, plasmatiques et les cellules T du système immunitaire. En revanche, il participe à la répression de la croissance cellulaire des cellules de la glande mammaire et des cellules myéloïdes. Une activation constitutive de STAT3 a été décelée dans de nombreuses lignées tumorales²⁹. STAT1 et STAT3 possèdent des séquences d'acides aminés proches (environ 52% d'homologie de séquence). Cependant, les partenaires de STAT1 et STAT3 sont différents et ainsi ils régulent des fonctions biologiques très différentes. Donc l'organisme ne peut pas remplacer un de ces facteurs par un autre pour contrebalancer un effet non désiré³⁰.

iv. Les facteurs de transcription STAT4

Les facteurs de transcription STAT4 sont exprimés dans des cellules du système immunitaire comme les lymphocytes NK, les cellules dendritiques et les lymphocytes T. Ces facteurs de transcription sont impliqués dans la voie de signalisation qui régit la réponse immunitaire adaptative et qui est activée par l'interleukine 12 (IL-12). L'extinction de STAT4 empêche la maturation de cellules CD4+ en lymphocytes Th1 et donc entraîne l'absence de production d'IgE³¹. STAT4 est également indispensable à la production des IFN- γ , donc en son absence, une déficience de la réponse immunitaire vis-à-vis des infections virales et microbiennes est également observée³⁰.

v. Les facteurs de transcription STAT6

Les facteurs de transcription STAT6 sont exprimés dans tous les tissus. Ils sont impliqués dans la réponse immunitaire et sont activés par les interleukines 4 et 13. Une déficience en facteur STAT6 se traduit par l'absence d'expression des gènes dépendant d'IL-4. Cette absence empêche la maturation des lymphocytes T en lymphocytes Th2. Par ailleurs, les lymphocytes B dépourvus de STAT6 ne peuvent réaliser la commutation isotypique des IgM en IgE²⁹.

B. Les facteurs de transcription STAT5

Le facteur MGF (Mammary Gland Factor) a été découvert en 1991 lors de l'étude de la régulation du gène de la β -caséine dans les cellules mammaires³². Après son séquençage et la découverte de son homologie avec STAT1 et STAT2, MGF a été renommé STAT5³³. Deux gènes distincts *STAT5A* et *STAT5B* ont été identifiés chez la souris et les deux facteurs de transcription STAT5A et STAT5B issus de ces gènes sont fortement apparentés avec plus de 90% d'homologie de séquence. Leurs différences sont principalement situées sur la région C-terminale du domaine TAD. STAT5A est constitué de 793 acides aminés et STAT5B de 786 acides aminés (Figure 6)³⁴.

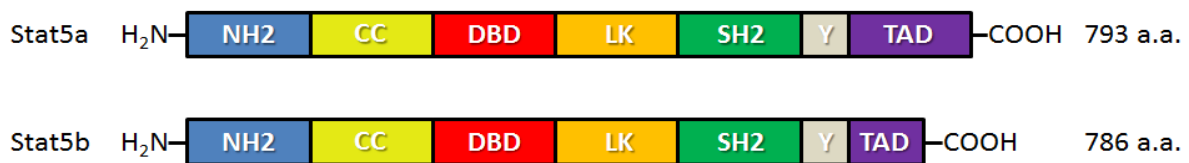


Figure 6 : domaines fonctionnels des facteurs de transcription STAT5A et STAT5B

Les facteurs de transcription STAT5 sont exprimés dans la plupart des tissus et peuvent être activés par des cytokines comme les interleukines et des hormones comme la prolactine et la somatotropine³⁴. Le grand nombre de ligands activateurs de STAT5 souligne son implication dans de nombreux processus physiologiques. La répartition tissulaire entre STAT5A et STAT5B est identique dans la plupart des tissus sauf dans les tissus mammaires et musculaires. STAT5A est prédominant dans les glandes mammaires alors que STAT5B est prédominant dans le foie et les muscles. Malgré leur proximité structurale, les deux facteurs de transcription ont des fonctions de régulation différentes. Par exemple, STAT5A est impliqué dans la voie de signalisation médiée par la prolactine qui est nécessaire au développement et à la fonctionnalité des glandes mammaires. Les souris KO STAT5A présentent une absence de réponse à la prolactine et une diminution du développement alvéolaire mammaire³⁵. STAT5B est dépendant de la somatotropine pour assurer la maturation des caractères sexuels secondaires. Les souris KO STAT5B présentent un développement anormal comme le nanisme ou l'obésité³⁶.

Ainsi, les facteurs de transcription STAT5 régulent la transcription de très nombreux gènes cibles et notamment des gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire tels que les gènes des cyclines D1 et D2 mais également des gènes anti-apoptotiques, tels que *BCL-XL*, *BCL-2* et *PIM1*³⁷. Une utilisation anormale des voies de signalisation STAT5 dépendantes

a également été décrite dans de nombreux cas de tumeurs solides^{38,39} (prostate, colon, gliomes, mélanomes).

Dans ce manuscrit, nous nous sommes limités au rôle des facteurs de transcription STAT5 dans les leucémies myéloïdes. Cependant, le développement de molécules thérapeutiques inhibitrices de STAT5 revêt également un intérêt pour le traitement des autres pathologies associées à STAT5.

1. Rôle de STAT5 dans les leucémies

Les facteurs de transcription STAT5 interviennent à plusieurs stades de l'hématopoïèse, sur les cellules souches hématopoïétiques⁴⁰⁻⁴⁴, les progéniteurs hématopoïétiques^{45,46} et les cellules matures⁴⁷⁻⁵⁰. En 1996, Van Etten et collaborateurs ont été les premiers à apporter des preuves de l'implication des facteurs de transcription STAT5 dans la LMC⁵¹. Leur activation provoque la transcription de gènes cibles qui jouent un rôle majeur dans la prolifération, la différenciation et l'apoptose des cellules. Le rôle indispensable des facteurs de transcription STAT5 a été démontré dans l'apparition⁵² et le maintien⁵³ de la LMC. En effet, l'activation anormale des facteurs de transcription STAT5 a été corrélée à l'emballement du cycle cellulaire et à une inhibition de l'apoptose. De plus une délétion de STAT5 dans des cellules leucémiques provoque un arrêt du cycle cellulaire suivie d'apoptose.

Des études récentes démontrent le rôle de STAT5 dans la régulation de la production des espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species, ROS). Dans les LAM présentant une tyrosine kinase mutée FLT3-ITD (Fms-related tyrosine kinase 3-internal tandem duplication), les cellules ont un taux élevé de ROS. Ce niveau élevé de ROS provoque des cassures double-brin de l'ADN, augmentant les taux d'erreur de réparation de l'ADN, et induisant donc une mutagénèse augmentée et une instabilité génétique⁵⁴. Parallèlement, cette production élevée de ROS a été associée à des taux élevés de STAT5 activée^{55,56}. Par ailleurs, il a été démontré que la forme non activée de STAT5 a un rôle protecteur contre le stress oxydatif et la production des ROS⁵⁷. Cet effet antioxydant de STAT5 inactivé favorise la quiescence et donc la résistance des cellules leucémiques aux traitements existants.

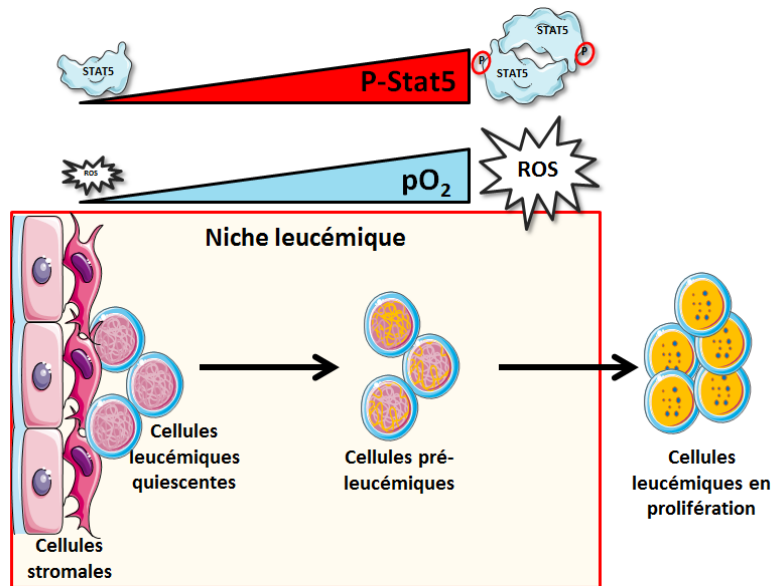


Figure 7 : régulation des niveaux de ROS par l'état d'activation de STAT5

Ainsi, selon l'état d'activation de STAT5, la protéine joue un rôle pro-oxydant promoteur d'instabilité génétique ou un rôle antioxydant qui induit la chimiorésistance de cellules souches leucémiques (Figure 7).

2. STAT5, une cible pour le traitement des leucémies

Une stratégie envisagée d'éradication de la leucémie consiste à induire la remise en cycle des cellules souches quiescentes pour les sensibiliser aux traitements classiques de chimiothérapie (Schéma 5)⁵⁸.

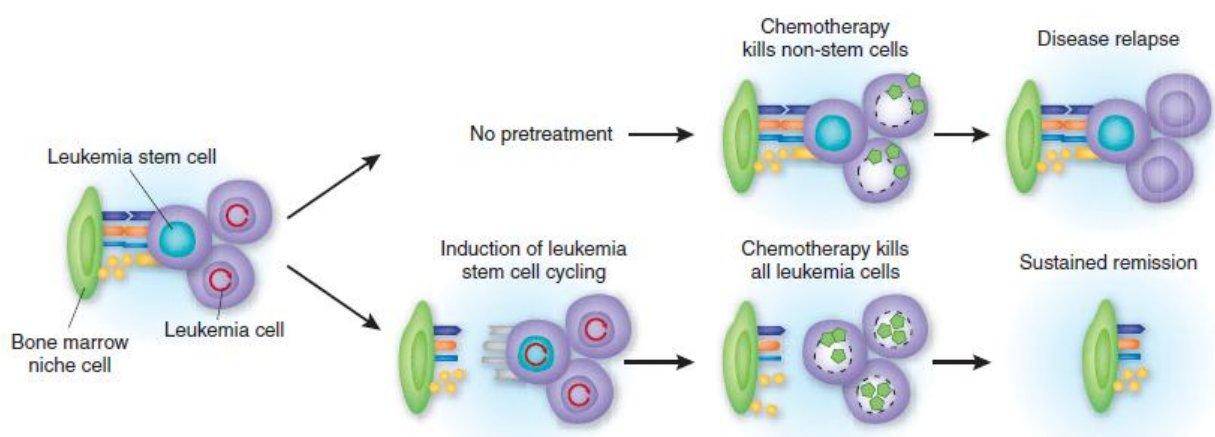


Schéma 5 : cellules souches quiescentes comme nouvelle cible thérapeutique (d'après Mikkola et collaborateurs⁵⁸)

Dans ce contexte la protéine STAT5 représente une cible de choix dans un but thérapeutique de rémission totale de la pathologie. Cibler l'expression de STAT5 permettrait l'induction d'un stress oxydatif. Celui-ci entrainerait la remise en cycle et la différenciation des cellules souches, les rendant à nouveau sensibles aux inhibiteurs classiques. L'inhibition de STAT5 permettrait ainsi d'éliminer l'impact de ces facteurs sur la survie, l'auto-renouvellement et la quiescence des cellules leucémiques et la résistance potentielle de ces cellules à des agents anti-cancéreux.

C. Inhibiteurs connus de STAT5

La majorité des inhibiteurs de la voie STAT5 ne sont pas dirigés directement contre la protéine, mais ciblent en amont les voies de signalisation des tyrosines kinases responsables de la dérégulation (BCR-ABL, FLT3, JAK2)⁵⁹. Les approches de ciblage direct de STAT5 consistent à empêcher la dimérisation de la protéine ou à bloquer la fixation de l'ADN sur le dimère.

1. Les inhibiteurs indirects de STAT5

i. Inhibiteurs de la kinase BCR-ABL

La protéine oncogénique BCR-ABL est responsable d'une suractivation constitutive de STAT5 provoquant une dérégulation des gènes cibles de STAT5. La découverte du mésylate d'imatinib (IM) (commercialisé par Novartis sous les noms de Gleevec® ou Glivec®), le premier inhibiteur de la kinase BCR-ABL approuvé en 2001 par la FDA, a été une grande avancée dans le traitement de la LMC (Figure 8). Cet inhibiteur sélectif, en se fixant sur le site ATP de la kinase BCR-ABL, provoque une diminution drastique des cellules comportant le chromosome de Philadelphie, rétablit une hématopoïèse normale et améliore le taux de survie des patients⁶⁰.

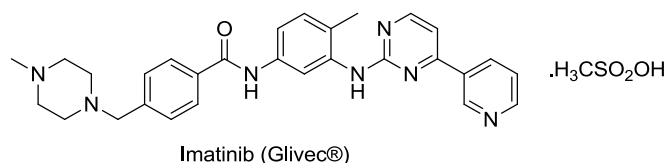


Figure 8 : structure du mésylate d'imatinib

Cependant, certains des sujets en rémission moléculaire subissent des rechutes rapides après l'interruption du traitement. La persistance d'un réservoir de cellules leucémiques quiescentes et insensibles à l'imatinib serait à l'origine des rechutes⁶¹. En outre, des cas de

résistances sont apparus, notamment à cause de mutations affectant le site de fixation de l'inhibiteur sur la kinase. Face à l'apparition de ces résistances à l'imatinib, de nouveaux inhibiteurs de la kinase BCR-ABL ont été développés comme le dasatinib (Bristol-Myers Squibb), le nilotinib (Novartis), le ponatinib (ARIAD Pharmaceuticals) et le bosutinib (Pfizer) (Figure 9).

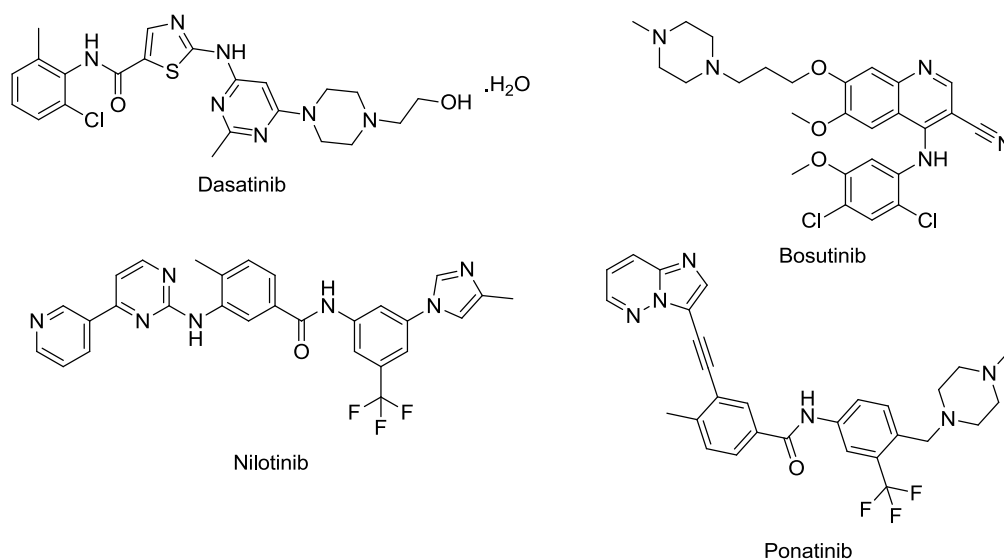


Figure 9 : structures des inhibiteurs de la tyrosine kinase BCR-ABL

Ces nouveaux inhibiteurs de kinase « à large spectre » sont moins sélectifs que l'imatinib. En effet, en plus de la kinase BCR-ABL, ils ciblent d'autres kinases telles Src (dasatinib) ou FLT3-ITD (ponatinib). Le dasatinib et le nilotinib ont été approuvés en 2010 comme traitement de première ligne de la LMC. Le bosutinib a été approuvé par la FDA en 2012 pour le traitement de patients adultes souffrant de LMC résistantes aux inhibiteurs déjà disponibles, ou présentant une intolérance à ces derniers. Enfin, le ponatinib a été autorisé en 2012 par la FDA pour le traitement de LMC présentant la mutation T315I de la kinase BCR-ABL.

ii. Inhibiteurs de FLT3-ITD

En plus des inhibiteurs de BCR-ABL, la voie STAT5 peut être ciblée par l'inhibition du récepteur à tyrosine kinase FLT3. En effet, près d'un tiers des patients atteints de LAM présentent une activation constitutive de FLT3 due au développement de mutations du gène *flt3* (internal tandem duplication ITD). La dérégulation de FLT3 provoque l'activation de nombreuses voies de signalisation dont la voie STAT5^{10,62}. L'activation constitutive de FLT3 augmente la survie et la résistance à l'apoptose des cellules leucémiques.

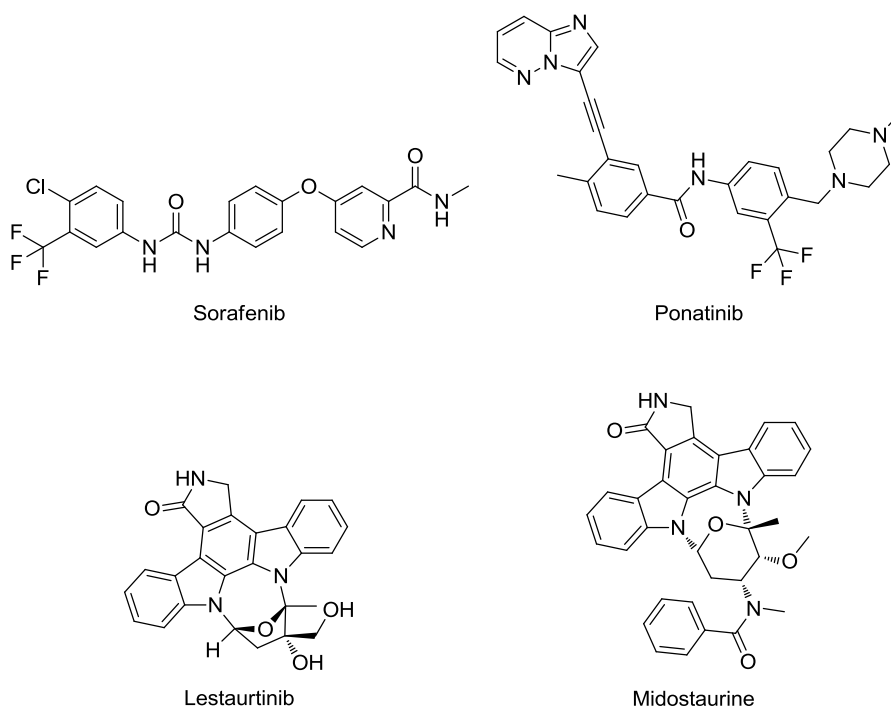


Figure 10 : structures des inhibiteurs de FLT3

Pour cibler FLT3, des petites molécules ont été développées et évaluées en clinique comme traitement potentiel des LAM⁶³⁻⁶⁵. L'inhibition de FLT3 par le sorafenib (Bayer-Onyx Pharmaceuticals), le lestaurtinib (Cephalon) et le ponatinib (Figure 10) diminue l'activation de STAT5. Les activités d'inhibition de FLT3 obtenues *in vitro* de ces trois composés n'ont pas été confirmées par les résultats des études cliniques⁶⁶. Cependant, un autre composé nommé midostaurine (Novartis) a été identifié par l'équipe de Weisberg⁶⁷ en 2002, comme un inhibiteur de la tyrosine kinase des récepteurs FLT3 (Figure 10). La midostaurine provoque un arrêt du cycle cellulaire en phase G1 et rétablit l'apoptose dans des cellules Ba/f3-ITD. L'inhibition de l'autophosphorylation de FLT3 s'accompagne également d'une diminution de la phosphorylation des résidus tyrosines de STAT5⁶⁸. Les essais cliniques, actuellement en phase III, permettront de déterminer si l'association de midostaurine aux traitements existants apporte un bénéfice pour les patients atteints d'une leucémie présentant une mutation du gène *flt3*. Les résultats de la phase IIB sont d'ores et déjà prometteurs, avec une diminution de la quantité de blastes périphériques de 71% chez les patients porteurs de la mutation *flt3* traités⁶⁹. Les essais cliniques, actuellement en phase III, comparent un programme de traitement des LAM avec une base de cytarabine (antimétabolite) ou de daunorubicine (intercalant de l'ADN) en association ou non avec de la midostaurine. Cette étude permettra de déterminer si l'association de midostaurine aux

traitements existants apporte un bénéfice pour les patients atteints d'une leucémie présentant une mutation du gène *flt3*.

iii. Inhibiteurs de JAK2

La Janus Kinase 2 (JAK2) est impliquée dans la prolifération cellulaire en activant les facteurs de transcription de STAT5.

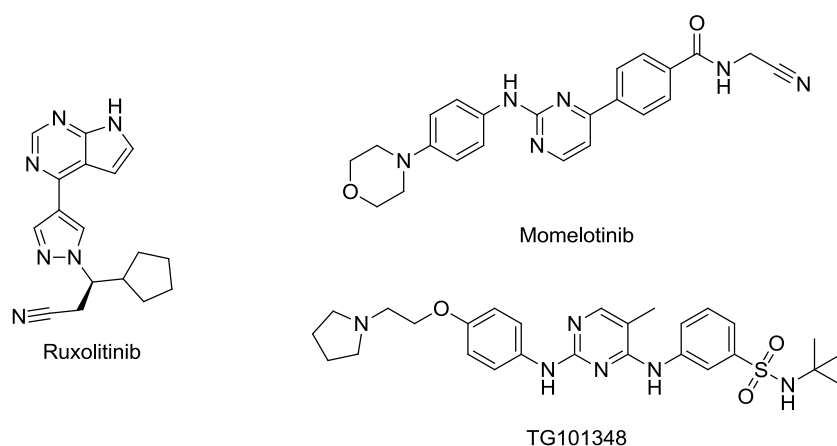


Figure 11 : structures des inhibiteurs de JAK2

Le ciblage de JAK2 a été entrepris par de nombreuses équipes. Les inhibiteurs ruxolitinib (Novartis), momelotinib (Gilead Sciences) et TG101348 (TargeGen) (Figure 11) des protéines Jak induisent une diminution de l'activation de STAT5 dans des syndromes myéloprolifératifs qui présentent une mutation activatrice de JAK2⁷⁰⁻⁷².

Cependant, ces inhibiteurs ont un manque de spécificité vis-à-vis des autres membres de la famille Jak mais aussi vis-à-vis d'autres kinases, tel le lestaurtinib décrit comme un inhibiteur de JAK2 et de FLT3^{63,72}. Par ailleurs, JAK2 interagissant avec beaucoup d'autres partenaires que les facteurs de transcription STAT5, ce manque de spécificité engendre des réponses et des effets indésirables très variables selon les patients. Enfin, une étude menée par Hantschel et collaborateurs a montré que la transformation myéloïde initiale et le maintien de la leucémie sont indépendants de JAK2⁵⁸. Dans le cas de la LMC, un ciblage direct de STAT5, sans passer par l'inhibition de JAK2, est donc plus pertinent.

2. Inhibiteurs directs de STAT5

i. Inhibiteurs de la transcription

Une stratégie envisagée pour bloquer l'activité de STAT5 est la fixation sur son site ADN d'un oligonucléotide. Le processus de reconnaissance et de fixation d'un facteur de

transcription à l'ADN est indispensable à son activité biologique. Le ciblage des facteurs de transcription STAT5 par des oligodésoxynucléotides (ODNs) permet leur séquestration dans le cytoplasme afin d'inhiber leur activité transcriptionnelle. Cette approche a permis d'inhiber la prolifération de cellules de la lignée K562⁷³.

Cependant, l'utilisation des ODNs est limitée par leur manque de stabilité dans le sérum et leur rapide dégradation par les nucléases intracellulaires⁷⁴. Par ailleurs, la localisation de ces ODNs se limite au cytoplasme, ce qui les rend inutiles si les facteurs de transcription STAT5 sont activés avant leur administration. Enfin, la vitesse de renouvellement des deux isoformes est différente : si l'administration d'ODNs réduit de 90% les niveaux de STAT5A activé en 6 h, il faut près de 48 h pour obtenir le même résultat sur STAT5B⁷⁵.

Une autre approche d'inhibition de l'activité transcriptionnelle des facteurs de transcription STAT5 est basée sur l'utilisation d'aptamères peptidiques. Un aptamère inséré dans un squelette de protéine de la famille des thio-rédoxines entraîne une modification des facteurs de transcription STAT5. Il en résulte une perte de la capacité de STAT5 à être internalisé dans le noyau cellulaire provoquant ainsi un effet cytotoxique sur des lignées cancéreuses³⁹.

Enfin, une étude a montré la possibilité de cibler STAT5 par l'inhibition du bromodomaine BRD2 par la molécule JQ1 qui manifeste des effets synergiques de cytotoxicité avec des inhibiteurs de tyrosine kinase⁷⁶. Un bromodomaine est un domaine de la protéine qui reconnaît les résidus de lysine acétylés des histones et joue le rôle de coactivateur d'un facteur de transcription. Le bromodomaine BRD2 favorise la transcription médiée par STAT5 et donc l'expression des gènes cibles de STAT5.

ii. Inhibiteurs de la dimérisation de STAT5

La formation du dimère de STAT5 par des interactions réciproques du domaine SH2 est un élément clé de l'activation de cette protéine. Une approche pour empêcher la dimérisation est l'inhibition de l'interaction entre le résidu phosphotyrosine et le domaine SH2. Cette approche a d'abord été développée sur STAT3⁷⁷. En effet, le squelette acide salicylique a été identifié comme se liant au domaine SH2 de STAT3⁷⁸. En 2011, l'équipe de Gunning a développé une série de composés comportant le squelette acide salicylique pour cibler le domaine SH2 de STAT5⁷⁹. L'évaluation des inhibiteurs potentiels de STAT5 a été réalisée sur des lignées modèles de LMC (K562) et de LAM (MV-4-11) qui présentent une activité constitutive de la protéine STAT5. Certaines molécules obtenues ciblent STAT5 dont

le composé BP-1-108 (Figure 12), qui inhibe STAT5 dans des cellules leucémiques K562 et MV-4-11 sans toxicité sur des cellules de moelle ne présentant pas STAT5 activé. Le dérivé BP-1-108 diminue l'expression de gènes cibles de STAT5 tels que *MYC*, *CCND1* (Cycline D1), *CCND2* (Cycline D2) et *MCL-1*. La molécule BP-1-108 a été évaluée pour sa cytotoxicité sur les lignées K562 et MV-4-11 et présente une CE_{50} de 42 μ M sur K562 et de 17 μ M sur MV-4-11.

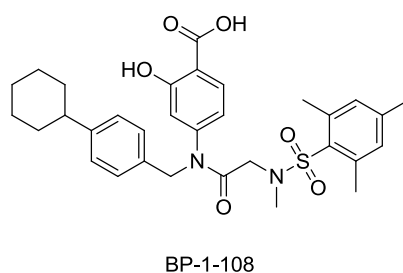


Figure 12 : structure de l'inhibiteur BP-1-108

Le composé BP-1-108 présente donc une cytotoxicité limitée et surtout les dérivés actifs de l'étude ne sont pas sélectifs puisqu'ils inhibent également STAT3 et STAT1. Le même groupe identifie en 2014 le composé 13a (Figure 13) comme le premier inhibiteur nanomolaire de la protéine STAT5 avec une CI_{50} de 370 nM⁸⁰.

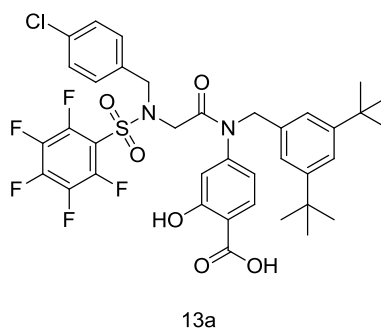


Figure 13 : structure du composé 13a

Le composé 13a inhibe la phosphorylation de STAT5 avec plus de sélectivité vis-à-vis de STAT3. En effet, la constante de dissociation sur STAT5 (42 ± 4 nM) est 7 fois inférieure à celle de STAT3 (287 ± 29 nM). Par ailleurs, 13a (à 5 μ M) ne manifeste pas d'activité sur un ensemble de 120 kinases dont BCR-ABL, FLT3-ITD et JAK2. La molécule 13a a été évaluée pour sa cytotoxicité sur les lignées MV-4-11 et K562 et présente une CE_{50} de 3 à 20 μ M.

3. Autres inhibiteurs de STAT5

Issu d'un criblage haut débit mené sur STAT5, un antipsychotique neuroleptique appelé pimozide (Janssen Pharmaceutica) a montré une activité d'inhibition de STAT5 (Figure 14)⁸¹.

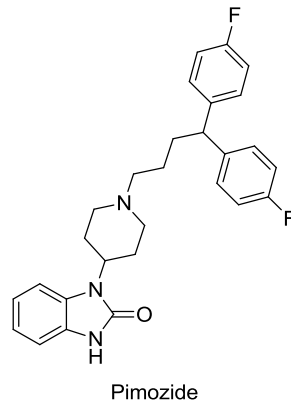


Figure 14 : structure du pimozide

Sur les lignées modèles de LMC KU812 et K562, le pimozide induit une inhibition de la phosphorylation de STAT5 avec une inhibition marquée de l'expression de ses gènes cibles (*BCL-XL*, *CISH*, *PIM1* et *CCND1* (Cycline D1)). A une concentration de 10 μ M, le pimozide diminue la viabilité des lignées de LMC mais ne présente pas de toxicité sur des cellules normales. Par ailleurs, il a été montré que des cellules résistantes à l'imatinib, présentant la mutation T315I de la kinase BCR-ABL, sont aussi sensibles au pimozide que des cellules non mutées. Enfin de nouveaux analogues du pimozide ont montré une cytotoxicité accrue et une activité sur STAT5 améliorée⁸². Cependant, le mécanisme d'action du pimozide sur les facteurs de transcription STAT5 est encore à élucider. Une autre catégorie d'inhibiteurs indirects de STAT5, les agonistes des récepteurs activables par les proliférateurs des peroxyosomes PPARs (de l'anglais : Peroxisome Proliferator-Activated Receptors), est développée dans la partie suivante.

D. Inhibition de STAT5 par les agonistes de PPAR

1. PPAR

Au cours de l'évolution, les organismes multicellulaires ont développé des mécanismes homéostatiques complexes pour la reconnaissance et la réponse à différents signaux endogènes ou exogènes. Les récepteurs PPARs sont un exemple de ces mécanismes de régulation. Les peroxyosomes sont des organites présents dans une majorité de cellules

eucaryotes et contiennent des enzymes impliquées dans le métabolisme des lipides. Les récepteurs activables par les proliférateurs des peroxyosomes ont été appelés ainsi en raison de leur capacité à stimuler la prolifération des peroxyosomes dans le foie des rongeurs après activation⁸³. Les PPARs sont apparentés à la superfamille des récepteurs nucléaires dont font également partie les récepteurs aux hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes, les récepteurs à l'acide rétinoïque (RAR, RXR) et le récepteur à la vitamine D⁸⁴. Trois isoformes des PPARs ont été identifiées : α , β/δ et γ . Chaque isoforme présente des fonctions physiologiques et pharmacologiques distinctes qui dépendent de leurs gènes cibles et de leur distribution tissulaire^{85,86}. Les PPARs jouent un rôle majeur de régulation des gènes impliqués dans de nombreux domaines dont le métabolisme des acides gras et dans la réponse inflammatoire (Figure 15)⁸⁷.

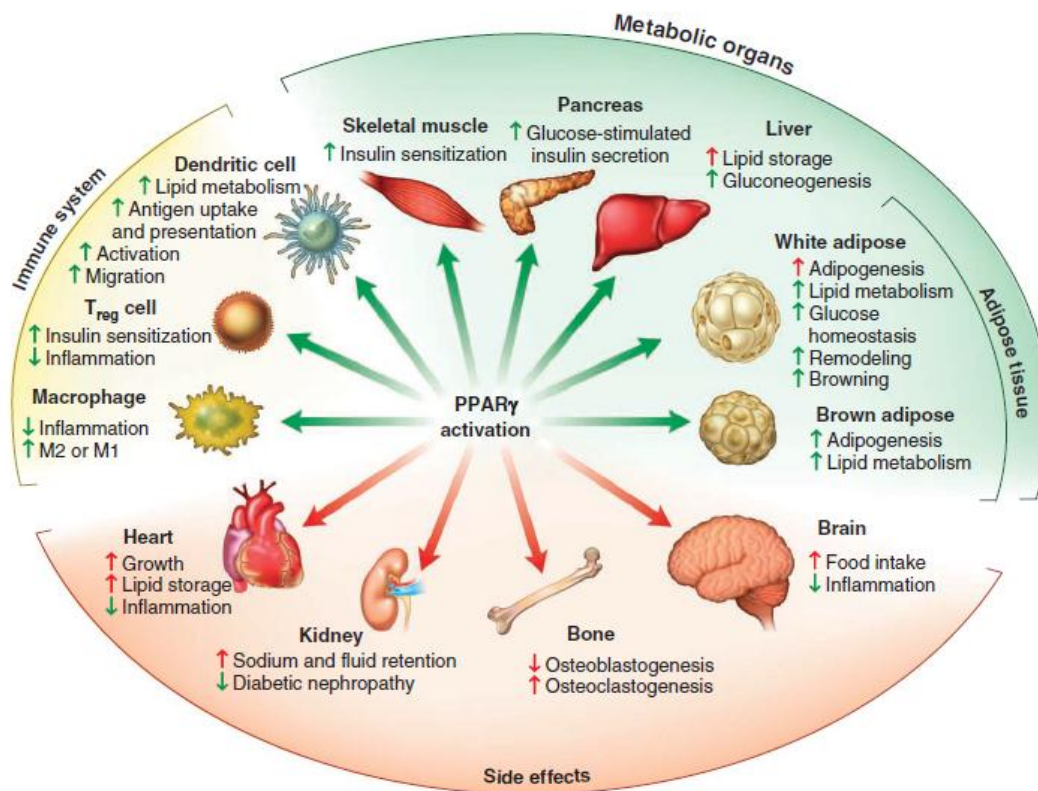


Figure 15 : exemple de la plurivalence des PPARs avec l'isoforme γ (d'après Ahmadian et collaborateurs⁸⁷)

Le potentiel de ces récepteurs a suscité la recherche de nouveaux ligands pour le traitement de nombreuses pathologies dont les désordres métaboliques comme le syndrome d'insulino-résistance et le diabète de type 2.

i. *Mode d'action des PPARs*

Après activation par la fixation d'un ligand, les PPARs s'hétérodimérisent avec le récepteur rétinoïde RXR (Schéma 6). Ce complexe PPAR/RXR constitue le facteur de transcription fonctionnel qui reconnaît et se fixe sur certaines séquences d'ADN de gènes cibles, nommés éléments de réponses. Ainsi, l'hétérodimère PPAR/RXR exerce une action régulatrice sur la machinerie transcriptionnelle. L'activité initiatrice ou répressive de ce complexe est déterminée par plusieurs protéines appelées co-facteurs.

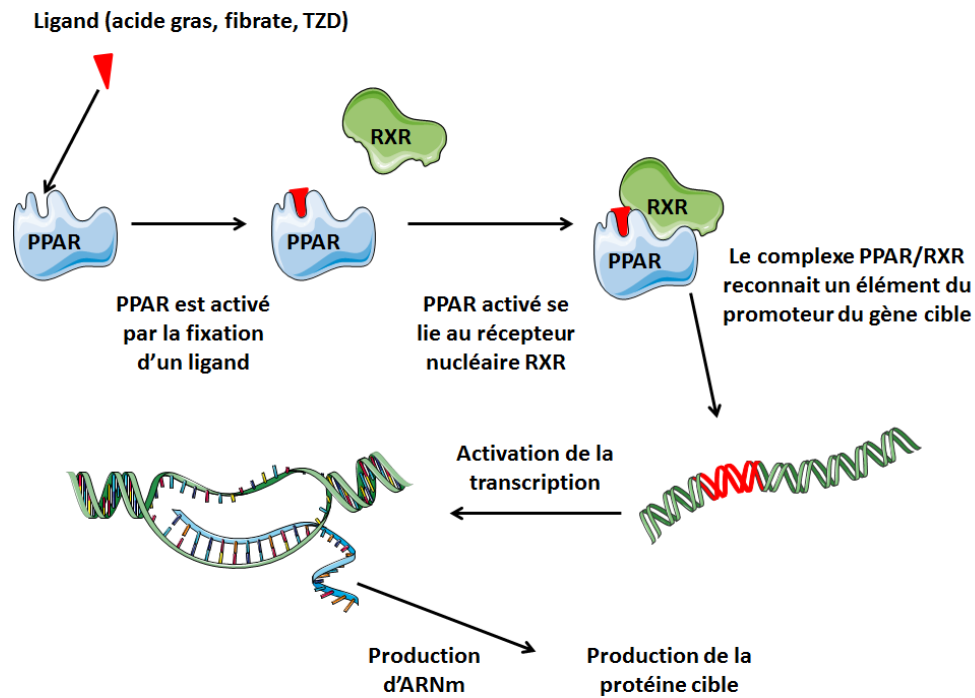


Schéma 6 : mode d'activation des protéines PPARs

ii. *Ligands de PPAR α*

L'activation de PPAR α est induite par des ligands naturels comme les acides gras insaturés ou les métabolites issus de l'oxydation des acides gras comme la famille des eicosanoïdes⁸⁸. Les ligands synthétiques de PPAR α comme les fibrates hypolipémifiants (Figure 16) se sont révélés de faibles agonistes peu sélectifs de l'isoforme α .

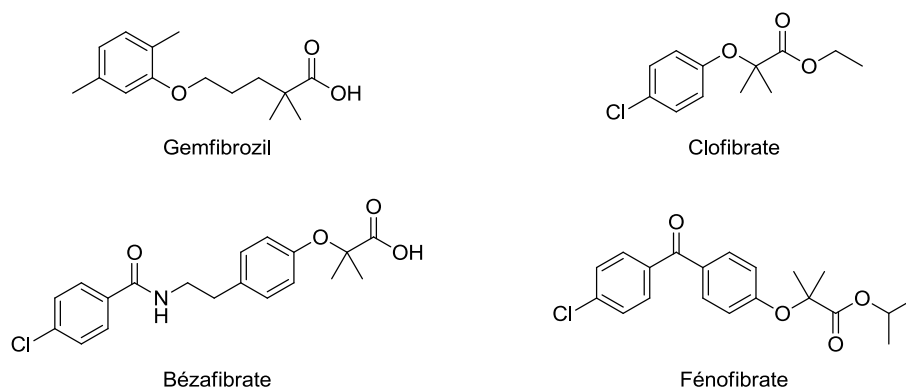


Figure 16 : structures des fibrates

iii. Ligands de PPAR δ

Brunmair et collaborateurs décrivent le composé GW501516 (Figure 17) comme un agoniste de PPAR δ qui entraîne une augmentation de la consommation des lipides par les muscles du squelette avec des effets antidiabétiques sur le rat⁸⁹. Ils attribuent ces effets à un basculement du métabolisme du glucose à un métabolisme des lipides dans la mitochondrie.

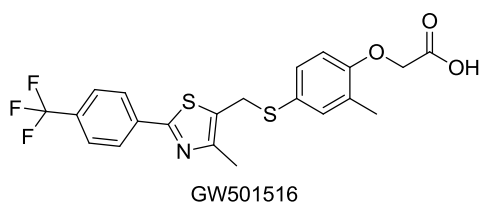


Figure 17 : structure du composé GW501516

Cependant, des expériences chez l'animal ont montré l'apparition de nombreux cancers dus à l'utilisation du composé GW501516. Par ailleurs, PPAR δ favoriserait la survie des cellules cancéreuses mammaires en diminuant le stress oxydatif⁹⁰.

iv. Ligands de PPAR γ

L'activation de PPAR γ est induite par les prostaglandines et par des ligands synthétiques comme les antidiabétiques de la famille des thiazolidinediones (TZD) (Figure 18). Cette activation entraîne la régulation du métabolisme du glucose en modulant l'insulino-résistance.

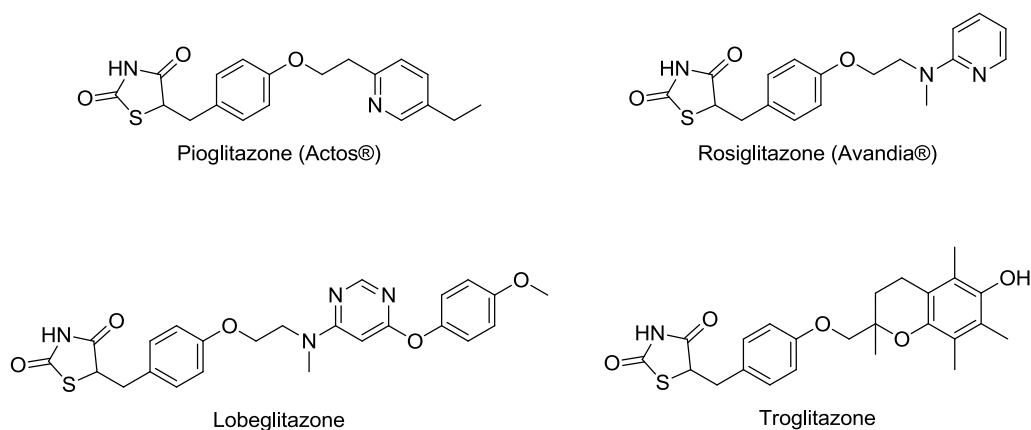


Figure 18 : structures des thiazolidinediones

Cependant, de nombreux effets secondaires sont associés aux TZD comme la rétention hydrosodée, la prise de poids, la perte osseuse et l'insuffisance cardiaque. Face à cet écueil, un nouveau concept de « modulateurs sélectifs de PPAR γ » a émergé pour obtenir des agents aux propriétés plus spécifiques et dépourvus d'effets secondaires⁹¹.

2. Interactions PPAR/STAT5 : cross talk PPAR/STAT5

Certaines données de la littérature démontrent qu'il existe un cross-talk entre les protéines PPARs et STAT5⁹². L'activation de PPAR γ a également des effets antiprolifératifs dans de nombreux types de cellules cancéreuses et sensibilise les cellules cancéreuses aux traitements par des agents anticancéreux. Ainsi, des études réalisées *in vitro* et *in vivo* ont montré que les TZD peuvent inhiber la croissance de cellules cancéreuses issues de carcinomes mammaires ou bien de cancer de la prostate, de la thyroïde et du colon⁹³. Dans le cas des hémopathies malignes, le traitement des cellules de certains lymphomes, de myélomes ou de leucémies myéloïdes *in vitro* par des TZD, induit un arrêt de croissance et/ou l'apoptose de ces cellules par des mécanismes qui restent peu clairs⁹⁴⁻⁹⁶. Il a aussi été récemment montré que des agonistes des récepteurs PPAR α/γ étaient capables de potentialiser l'effet inhibiteur de l'imatinib dans les cellules de LMC ou de LAL exprimant l'oncogène *BCR-ABL*⁹¹. En 2012, Prost et collaborateurs ont démontré que cibler l'expression de STAT5 par l'activation de PPAR γ dans la LMC tend à diminuer le réservoir des cellules souches leucémiques (CSL). Un essai clinique de phase II incluant 24 patients atteints de LMC résiduelle révèle un effet synergique entre les agonistes de PPAR γ et l'imatinib⁹⁷.

Cependant, bien que les TZD soient des ligands synthétiques des récepteurs PPAR γ , les données concernant leurs effets antiprolifératifs montrent que leur activité pourrait passer par des mécanismes indépendants de l'activation des récepteurs^{98,99}. Une preuve de

l'indépendance de l'activation des récepteurs PPAR γ et des effets anticancéreux est présentée dans l'étude menée par Seargent et collaborateurs¹⁰⁰ sur l'antagoniste puissant de PPAR γ nommé GW9662. L'association de GW9662 à la rosiglitazone empêche l'activation de PPAR γ mais l'effet antiprolifératif de la rosiglitazone est conservé. Ces effets antiprolifératifs des agonistes PPAR γ auraient pour origine une modulation des régulateurs essentiels du cycle cellulaire, notamment la cycline D1 et la p21 et l'induction de l'apoptose serait due à une inhibition des fonctions de Bcl-xL et Bcl-2¹⁰¹.

OBJECTIFS

I. Etat de l'art

Au cours des travaux de thèse du Docteur Cécile Parmenon¹⁰², menés en collaboration avec les laboratoires Servier, une série de molécules, inventoriées dans notre chimiothèque (n° CNRS 069611), visant les récepteurs PPARs a été obtenue pour le traitement du diabète de type 2^{103,104}. La série développée comprend des agonistes sélectifs de PPAR γ , des agonistes mixtes de PPAR α/γ et des composés inactifs. Ces molécules avaient été conçues par combinaison entre les éléments structuraux des composés LG-100641 (agoniste RXR, modulateur de PPAR γ), S26978-1 (modulateur de PPAR γ) et FK-614 (agoniste sélectif de PPAR γ) (Schéma 7).

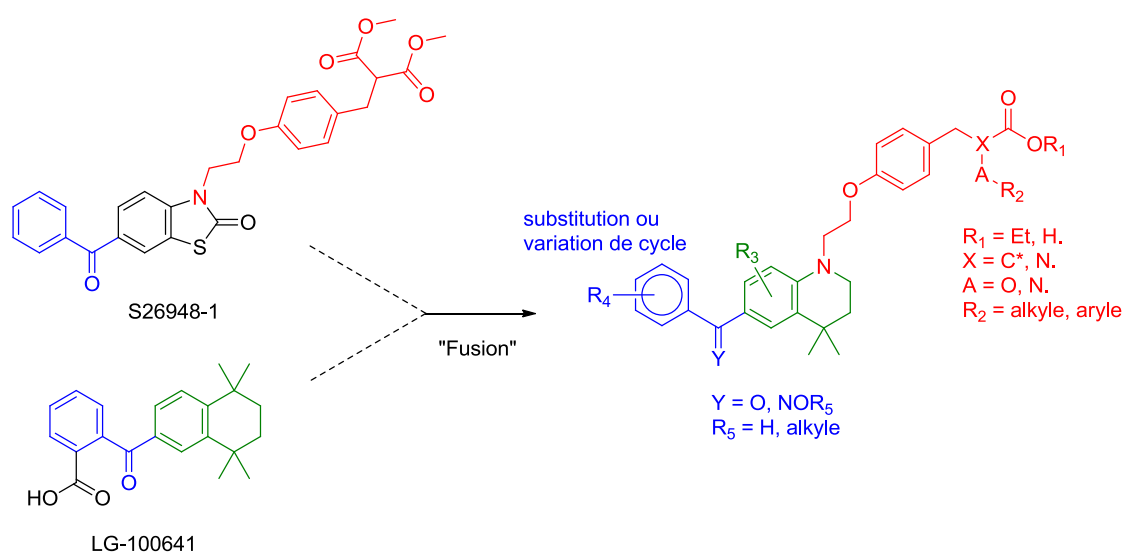


Schéma 7 : conception des ligands PPAR

Dans notre Unité Mixte de Recherche CNRS-Université de Tours 7292 Génétique, Immunothérapie, Chimie & Cancer (GICC), l'équipe LNOx (Leukemic Niche & redOx metabolism) s'intéresse à la niche tumorale et notamment à la protéine STAT5. Au sein de cette équipe, le Docteur Fabrice Gouilleux a une très bonne connaissance de la protéine STAT5 au niveau de son mécanisme d'action. Dans ce contexte et au vu des interactions possibles entre PPAR et STAT5, il nous a paru évident d'évaluer l'activité biologique de certaines des molécules visant les récepteurs PPARs vis-à-vis de STAT5.

Des travaux préliminaires, réalisés par Elmire Combescot dans l'équipe du Docteur Fabrice Gouilleux, ont montré l'activité du composé CP196i comme inhibiteur potentiel de la phosphorylation de STAT5 avec de surcroît un effet antiprolifératif sur la lignée KU812 modèle de LMC.

Le composé CP196i est constitué d'un noyau 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (hétérocycle A), substitué en position 6 par un groupement cyclohexanoyle, et lié par une chaîne éthoxy à un indole (hétérocycle B) *N*-alkylé par un groupement acide acétique (Figure 19).

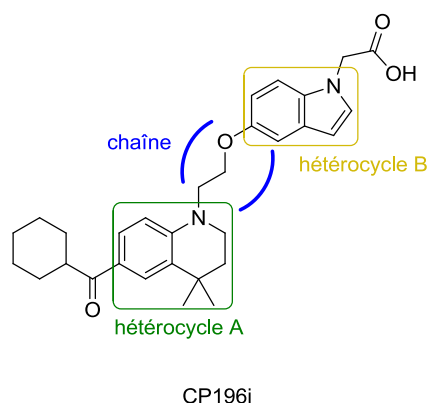


Figure 19 : structure du composé CP196i

Au sein de la structure du composé « hit » acide 2-(5-(2-(6-(cyclohexanecarbonyl)-4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)éthoxy)-1*H*-indol-1-yl)acétique CP196i, nous désignons par convention « bicycle » la structure comprenant le noyau 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (hétérocycle A), relié à l'indole (hétérocycle B) par une chaîne alkoxy (Figure 19). La synthèse mise au point au laboratoire du CP196i est réalisée en 10 étapes à partir de l'aniline et du 5-(benzyloxy)-1*H*-indole (Schéma 8).

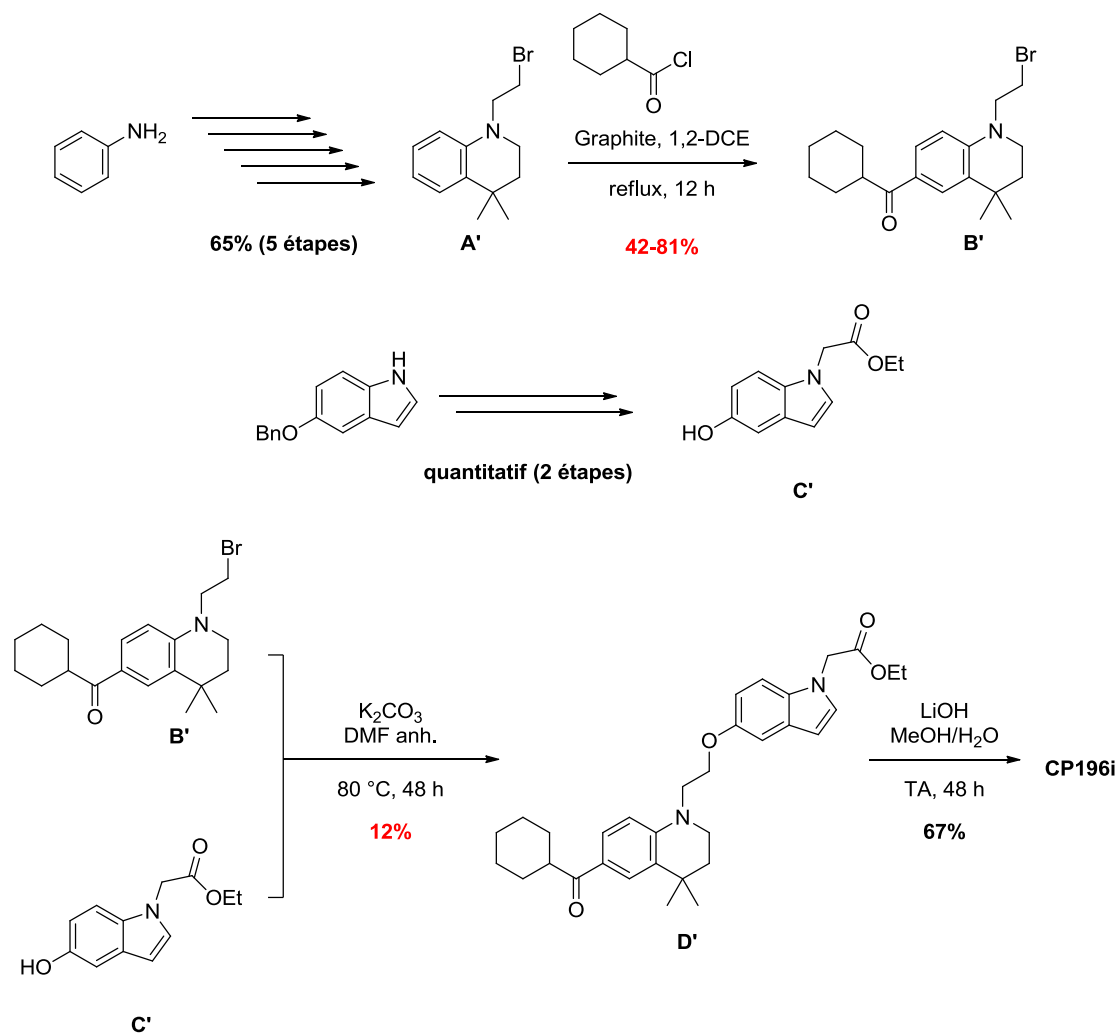


Schéma 8 : synthèse du CP196i

Il a été montré que cette molécule a une action sur STAT5 indépendante de l'activation des récepteurs PPAR γ .

II. Objectifs

Sur la base de ces résultats très prometteurs, nous avons considéré le CP196i comme un « hit » tout à fait pertinent vis-à-vis de STAT5. Par conséquent et dans le cadre de ce travail, nous avons donc décidé de conserver le squelette bi-hétérocyclique et de réaliser des modifications structurales sur ce bicyclic afin d'obtenir de nouveaux analogues dans le but d'identifier un « lead » pharmacologique.

A. Optimiser la formation de la chaîne entre l'hétérocycle A et l'hétérocycle B

Afin de réaliser la synthèse des analogues désirés, il a été nécessaire dans un premier temps d'optimiser la formation du bicyclic. En effet, l'étape d'*O*-alkylation permettant le couplage entre les deux intermédiaires hétérocycliques conduit au bicyclic avec un faible rendement de 12% (Schéma 8).

B. Réaliser diverses modifications de R₁, R₂ et de la chaîne

Après l'optimisation de la formation du bicyclic, les modifications envisagées sont présentées sur le Schéma 9.

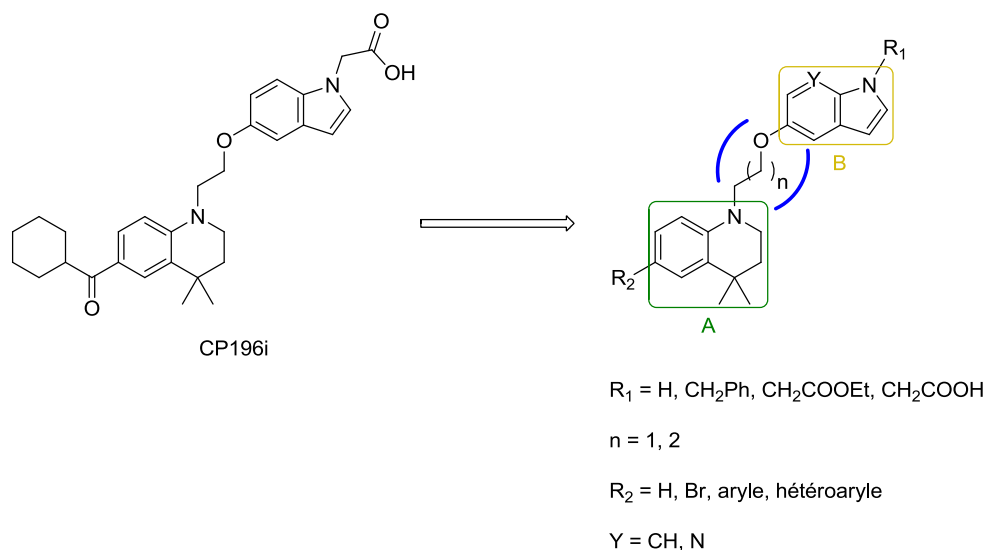


Schéma 9 : modifications envisagées pour la synthèse d'analogues du CP196i

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à la substitution de l'azote de l'indole (hétérocycle B) et au remplacement de cet indole par le 7-azaindole (1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine).

Puis nous avons étudié la substitution de la position 6 du noyau 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (hétérocycle A). Pour cela nous avons envisagé l'introduction d'un atome de brome sur cette position afin de créer des liaisons carbone-carbone par des réactions pallado-catalysées.

Enfin, dans une dernière partie et de façon préliminaire, nous nous sommes intéressés à l'homologation de la chaîne du bicycle qui relie l'hétérocycle A à l'hétérocycle B.

La synthèse et la méthodologie de l'ensemble des composés ciblés sont décrites dans la partie théorique de ce mémoire que nous avons choisi d'articuler en quatre principaux chapitres :

- Le premier chapitre est constitué des stratégies mises en œuvre pour l'optimisation de la synthèse du bicycle.
- Le deuxième chapitre fait état de la préparation des analogues diversement substitués sur le noyau indolique et en particulier sur l'azote du pyrole.
- Le troisième chapitre est consacré à l'ensemble des pharmacomodulations effectuées sur la position 6 du noyau 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.
- Enfin, le quatrième chapitre traite de l'étude préliminaire de l'homologation de la chaîne de certains composés.

De manière générale, l'analyse des résultats biologiques de l'ensemble des composés finaux permet d'argumenter les stratégies de pharmacomodulations choisies et d'élaborer les nombreuses perspectives pour poursuivre et prolonger ce travail.

Parmi la série de molécules synthétisées, le dérivé présentant la meilleure activité a été choisi pour des évaluations biologiques approfondies afin d'élucider son mécanisme d'action.

Les modes opératoires et les propriétés physicochimiques des composés synthétisés sont décrits en détail dans la partie expérimentale. Cette dernière partie fait également état des procédures suivies pour la réalisation des tests biologiques.

PARTIE THÉORIQUE

I. Optimisation et synthèse d'analogues de l'acide 2-(5-(2-(6-(cyclohexanecarbonyl)-4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)éthoxy)-1*H*-indol-1-yl)acétique CP196i

A. Synthèse du bicyclic

La préparation des analogues du « hit » nécessite une synthèse optimisée du bicyclic. Dans la séquence synthétique conduisant à la molécule CP196i, il existe une étape limitante conduisant au composé **D'** avec un rendement très faible de 12%. Ce dernier est obtenu par une réaction de *O*-alkylation du composé **C'** avec le dérivé bromé **B'** (Schéma 10).

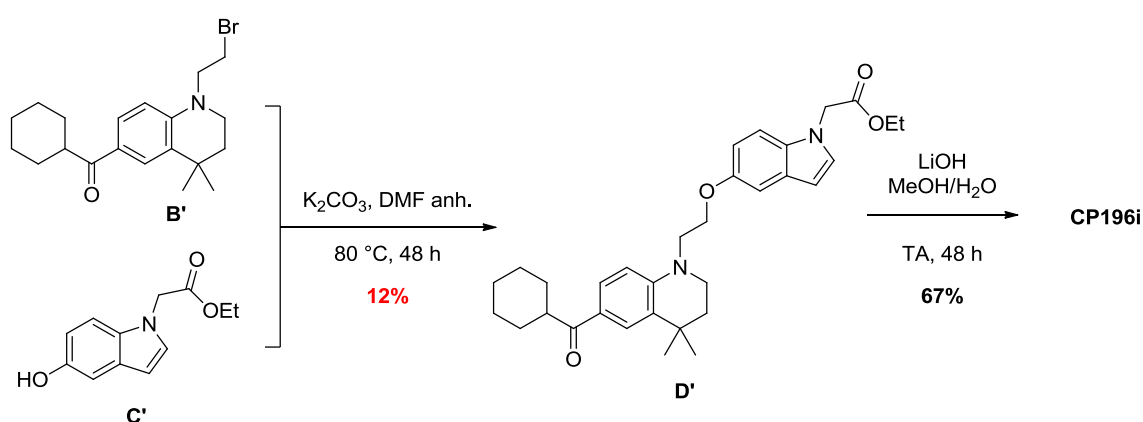


Schéma 10 : obtention du composé **D' par *O*-alkylation**

La limitation principale de cette réaction est la formation d'un produit secondaire résultant de la perte de la chaîne bromoéthyle. Afin de former le bicyclic avec une synthèse optimisée, nous avons choisi de remplacer cette étape.

Pour réaliser le couplage de l'hétérocycle A avec l'hétérocycle B, deux voies ont été étudiées en parallèle et font intervenir 3 types de réactions : la substitution nucléophile, la réaction de Mitsunobu et l'amination réductrice.

1. Approches rétrosynthétiques envisagées

i. Voie A : via une O-alkylation

L'approche rétrosynthétique de la voie A est basée sur la synthèse de deux intermédiaires hydroxylés. Le couplage de ces deux intermédiaires peut être envisagé *via* une réaction de substitution nucléophile ou *via* une réaction de Mitsunobu (Schéma 11).

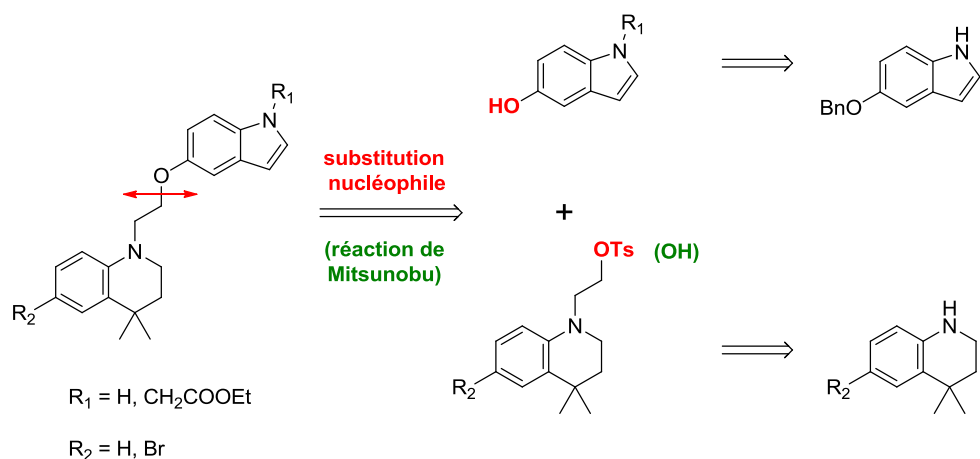


Schéma 11 : voie A via substitution nucléophile ou via réaction de Mitsunobu

ii. *Voie B : via une N-alkylation*

L'approche rétrosynthétique de la voie B est basée sur la synthèse d'une amine et d'un intermédiaire hydroxylé qui sont alors couplés soit par une réaction de substitution nucléophile, soit par une réaction d'amination réductrice appelée également alkylation réductrice (Schéma 12).

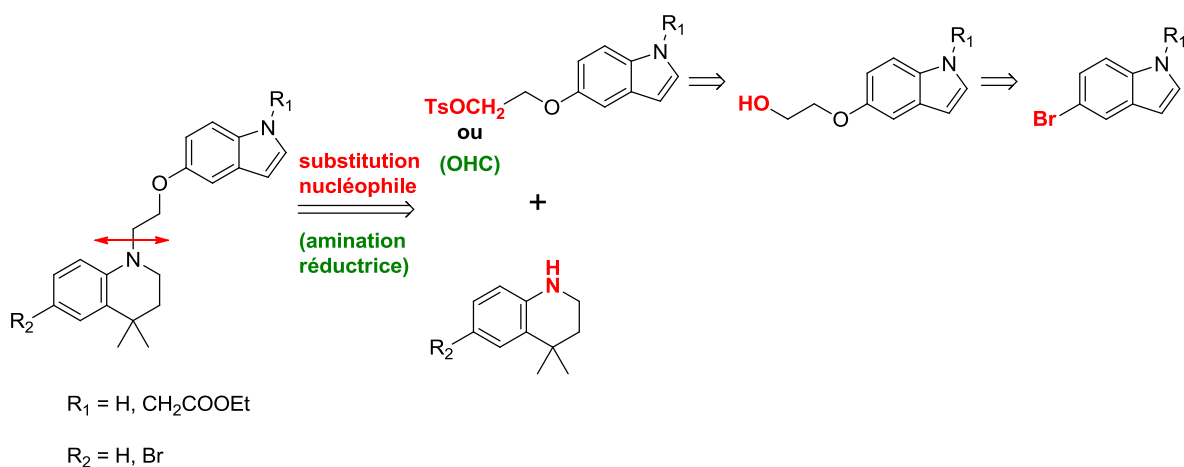


Schéma 12 : voie B via substitution nucléophile ou via amination réductrice

2. Synthèse du bicyclic

Ces deux voies d'obtention du bicyclic nécessitent la synthèse de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3a** et de la 6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3b**.

i. Synthèse de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3a** et de la 6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3b**

La synthèse a été réalisée selon la méthode mise au point par Parmenon et collaborateurs (Schéma 13)¹⁰³.

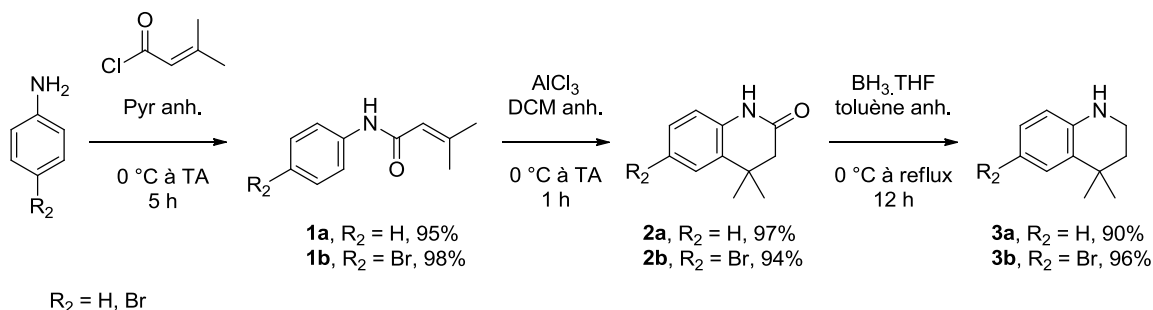


Schéma 13 : synthèse des intermédiaires 3a et 3b

Le traitement de l'aniline ou de la 4-bromoaniline par le chlorure de 3,3-diméthylacryloyle dans la pyridine anhydre conduit respectivement aux composés **1a** et **1b** avec d'excellents rendements. Après cyclisation par alkylation de Friedel-Crafts, les lactames **2a** et **2b** sont réduits par BH₃.THF dans le toluène pour former les amines **3a** et **3b** avec des rendements respectifs de 83% et 88% sur trois étapes.

ii. Synthèse des synthons nécessaires aux réactions d'O-alkylation

L'approche rétrosynthétique de la voie A (Schéma 11) requiert la synthèse des intermédiaires 2-(4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)éthanol **6a**, 2-(6-bromo-4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)éthanol **6b** et 2-(5-hydroxy-1*H*-indol-1-yl)acétate d'éthyle **5**.

• Synthèse de l'intermédiaire 2-(5-hydroxy-1*H*-indol-1-yl)acétate d'éthyle **5**

L'intermédiaire 2-(5-hydroxy-1*H*-indol-1-yl)acétate d'éthyle **5** est synthétisé selon une méthode développée au sein du laboratoire en deux étapes à partir du 5-(benzyloxy)-1*H*-indole commercialement disponible (Schéma 14).

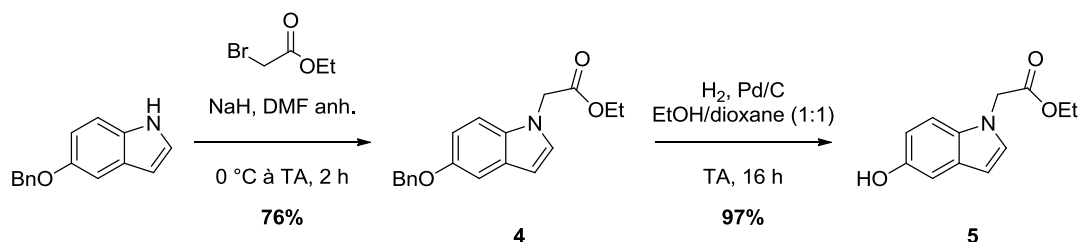


Schéma 14 : synthèse de l'alcool 5

L'indole **4** est obtenu par une réaction de *N*-alkylation du 5-(benzyloxy)-1*H*-indole en présence d'hydrure de sodium et de bromoacétate d'éthyle. Après hydrogénolyse du groupement benzyle de l'indole **4**, on obtient le phénol **5** avec un rendement de 74% sur deux étapes.

- Synthèse des intermédiaires 2-(4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)éthanol **6a** et 2-(6-bromo-4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)éthanol **6b**

Les deux alcools intermédiaires **6a** et **6b** ont été obtenus en deux étapes par une méthode développée au sein du laboratoire (Schéma 15).

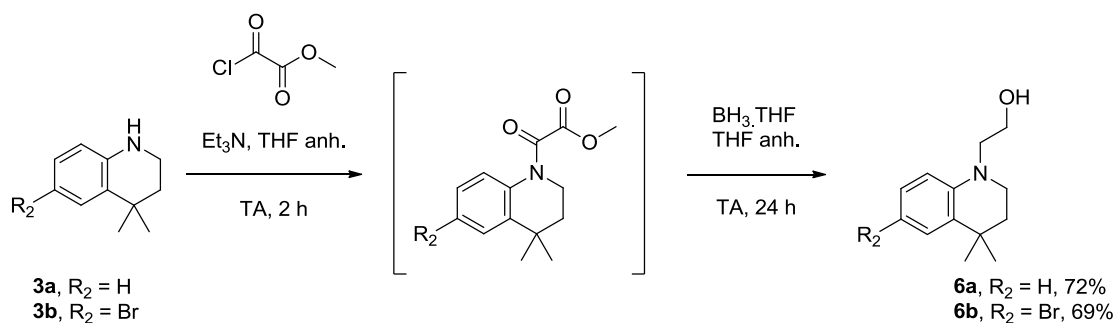


Schéma 15 : synthèse des alcools 6a et 6b

L'addition du 2-chloro-2-oxoacétate de méthyle sur les amines **3a** et **3b** suivie de la réduction par BH_3 .THF des intermédiaires obtenus mène aux alcools **6a** et **6b** avec des rendements de 72% et 69% sur 2 étapes.

iii. *O*-Alkylation par réaction de substitution nucléophile

En accord avec le schéma rétrosynthétique de la voie A (Schéma 11) la réaction de substitution nucléophile nécessite l'introduction d'un groupement nucléofuge de type tosyloxy sur l'alcool **6a** (Schéma 16).

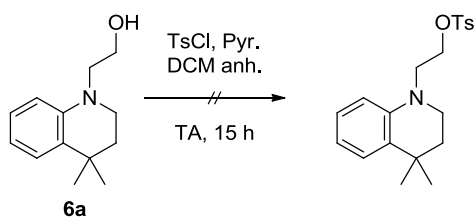


Schéma 16 : introduction du groupement tosyle sur l'alcool 6a

Dans nos conditions, la réaction de tosylation n'a pas conduit au produit attendu, mais à la formation du dérivé chloré accompagné de la dégradation importante du milieu réactionnel. L'atome de chlore possédant un faible caractère nucléophile, nous nous sommes orientés vers les autres voies décrites en préambule de ce chapitre.

iv. *O-Alkylation par réaction de Mitsunobu*

Les deux intermédiaires **5** et **6b** synthétisés précédemment ont été engagés dans les conditions classiques de la réaction de Mitsunobu (triphénylphosphine/diazodicarboxylate de diisopropyle (DIAD)) (Schéma 17).

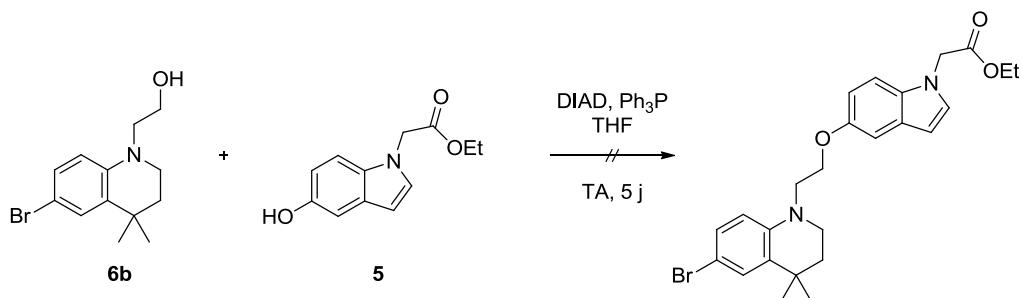


Schéma 17 : réaction de Mitsunobu entre 6a et 5

Ces conditions classiques n'ont pas permis d'obtenir le produit attendu mais ont conduit à la restitution des réactifs de départ.

Suite à ces résultats infructueux, nous avons envisagé de réaliser le couplage par une réaction de *N*-alkylation (voie B).

v. *N-Alkylation par réaction de substitution nucléophile*

L'approche rétrosynthétique de la voie B requiert la synthèse d'un dérivé portant un groupe partant de type tosyle pour la réaction de substitution nucléophile et d'un dérivé aldéhydique pour la réaction d'amination réductrice (Schéma 12). Ces deux dérivés sont obtenus à partir d'un intermédiaire alcool.

- Synthèse du 2-(5-(2-hydroxyéthoxy)-1H-indol-1-yl)acétate d'éthyle

- *en présence de 2-bromoéthanol*

Dans un premier temps, nous avons engagé l'indole **5** dans une réaction de substitution nucléophile sur le 2-bromoéthanol en présence de carbonate de potassium (Schéma 18).

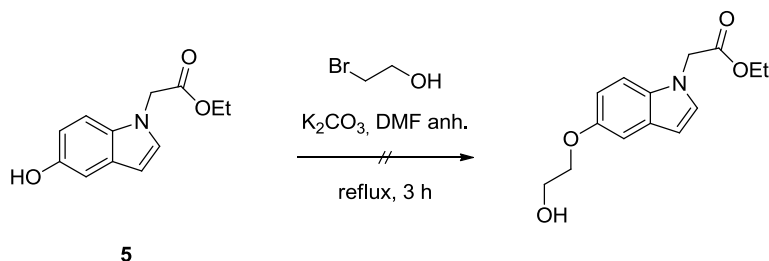


Schéma 18 : essai de formation de l'alcool sur le composé 5

Cette réaction a conduit à la dégradation du réactif de départ **5**.

- *en présence d'éthylène glycol*

Nous avons alors envisagé la synthèse de l'alcool à partir du 5-bromoindole en utilisant une réaction de type Ullmann sur la base des résultats de Niu et collaborateurs¹⁰⁵. Les auteurs décrivent le couplage de bromures d'aryle et d'alcools aliphatiques catalysé par le cuivre en présence du ligand 8-hydroxyquinoléine (L1) pour former les éthers correspondants (Schéma 19).

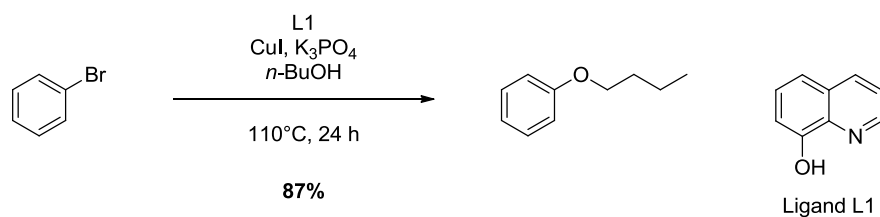


Schéma 19 : exemple de formation d'éther selon la méthode de Niu

Nous avons appliqué ces conditions décrites par Niu sur le composé 2-(5-bromo-1H-indol-1-yl)acétate d'éthyle **7**, obtenu par *N*-alkylation classique du 5-bromoindole en présence d'hydrure de sodium et de bromoacétate d'éthyle dans le DMF avec un excellent rendement (Schéma 20).

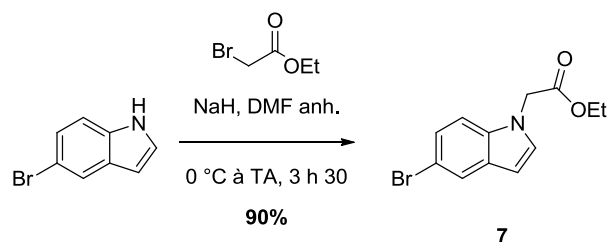


Schéma 20 : synthèse de l'intermédiaire 7

Le produit **7** obtenu a ensuite été engagé dans le couplage de type Ullmann dans l'éthylène glycol anhydre (Schéma 21).

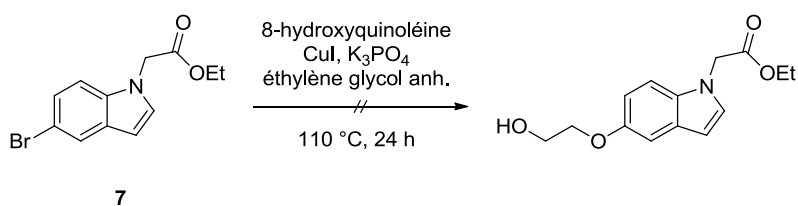


Schéma 21 : essai de formation de l'alcool sur le composé 7

Dans ces conditions, la réaction a conduit à la dégradation du milieu réactionnel avec la présence du composé résultant de l'hydrolyse de l'ester. Compte tenu de ce résultat, il nous est paru intéressant de réaliser la synthèse à partir du 5-bromoindole et d'éthylène glycol, précurseurs commercialement accessibles.

- Synthèse du 2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthanol **8**

Le traitement du 5-bromoindole par la méthode de Niu a permis l'obtention du composé **8** après l'optimisation des conditions opératoires (Schéma 22 et Tableau 2).

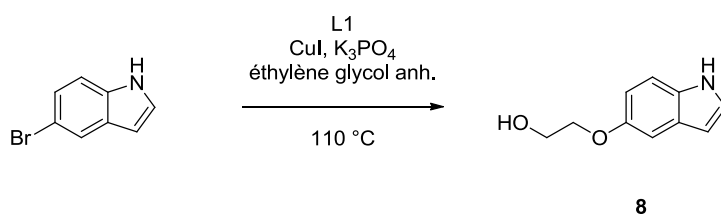


Schéma 22 : synthèse de l'alcool 8 par couplage de type Ullmann

Les différentes conditions testées pour l'obtention de l'alcool **8** sont résumées dans le Tableau 2.

Entrée	% L1	% CuI	temps (h)	Rdt (%)
1	10	5	24	28
2	6	3	48	34
3	20	10	48	46
4	20	10	72	56

Tableau 2 : optimisation des conditions de couplage

Le premier essai réalisé selon les conditions de Niu (10% de ligand L1 et 5% de CuI) a permis d'obtenir l'alcool **8** avec un faible rendement (Entrée 1, Tableau 2). Nous avons donc optimisé les conditions de cette réaction en modifiant plusieurs paramètres et en particulier le temps de réaction, la quantité de catalyseur et de ligand, tout en conservant le ratio 1/2 (CuI/L1) décrit par Niu et collaborateurs (Entrées 2 à 4, Tableau 2). Les conditions optimisées de cette étape (Entrée 4, Tableau 2) permettent la formation du produit **8** avec un rendement satisfaisant de 56%.

- Formation du dérivé tosylé **9**

Le traitement de l'alcool **8** par le chlorure de tosylo dans des conditions classiques permet d'obtenir le dérivé tosylé **9** avec un rendement de 81% (Schéma 23).

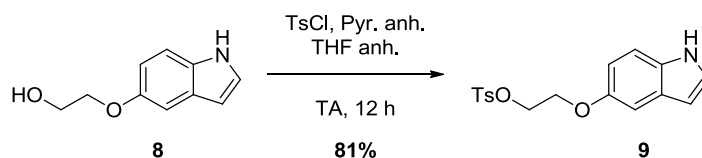


Schéma 23 : synthèse de l'intermédiaire tosylé **9**

- Essai de substitution nucléophile

Les deux intermédiaires **3b** et **9** ont ensuite été engagés dans une réaction de substitution nucléophile en testant différentes conditions (Schéma 24).

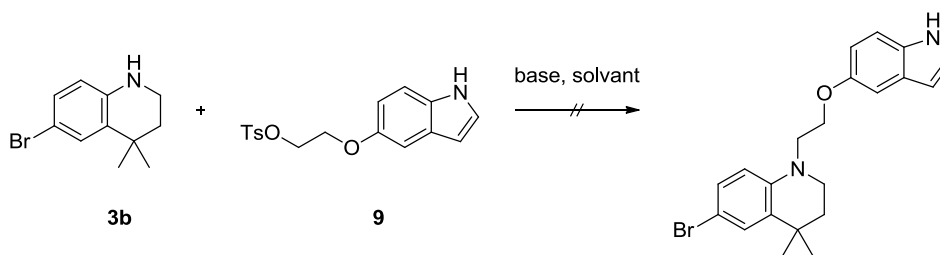


Schéma 24 : essais de couplage des intermédiaires 3b et 9

Plusieurs essais ont été réalisés en utilisant différentes bases (DIPEA, Et₃N, NaH, K₂CO₃, NaHCO₃), différents solvants (DMF, THF, acétonitrile) et à différentes températures (TA ou reflux). Cependant tous ces essais ont conduit soit à la dégradation soit à la restitution des réactifs de départ.

vi. *N-Alkylation par réaction d'amination réductrice*

La réaction d'amination réductrice nécessite la synthèse d'un intermédiaire aldéhyde résultant de l'oxydation de l'alcool **8** (Schéma 12).

- Oxydation de l'alcool **8** en aldéhyde

Nous avons entrepris l'oxydation de l'alcool intermédiaire **8** afin d'obtenir l'aldéhyde nécessaire à l'amination réductrice. Différentes conditions d'oxydation ont été testées comme le chlorochromate de pyridinium (PCC)¹⁰⁶, le DMSO activé (Swern)¹⁰⁷, la periodinane de Dess-Martin¹⁰⁸ et l'acide 2-iodoxybenzoïque (IBX)¹⁰⁹ (Schéma 25).

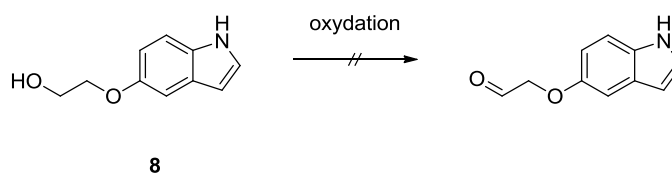


Schéma 25 : oxydation de l'alcool **8**

L'emploi du PCC et du DMSO activé (Swern) n'ont pas permis d'obtenir l'aldéhyde souhaité. L'utilisation du réactif de Dess-Martin et de l'acide 2-iodoxybenzoïque (IBX) permettent la formation de l'aldéhyde mais ce dernier n'a pas pu être isolé en raison de son manque de stabilité. En effet, un solide brun insoluble se forme après évaporation complète du solvant. Néanmoins, l'analyse RMN ¹H du milieu réactionnel partiellement évaporé a permis de montrer la formation de l'aldéhyde par l'apparition du signal caractéristique d'un

proton aldéhydique à 9,73 ppm dans le DMSO-*d*₆. Nous avons alors émis l'hypothèse que l'azote libre de l'indole pourrait être responsable de l'instabilité de la molécule.

- Protection du 5-bromoindole par un groupement benzyle ou *p*-méthoxybenzyle

Nous avons donc envisagé de protéger l'azote de l'indole par des groupements tels que le benzyle (Bn) et le *p*-méthoxybenzyle (PMB) (Schéma 26). Ces groupements ont été choisis pour leur stabilité vis-à-vis des conditions basiques utilisées lors de la formation de l'alcool et aussi pour leurs modes différents de déprotection permettant une plus grande adaptabilité vis-à-vis de groupes fonctionnels possiblement introduits au préalable.

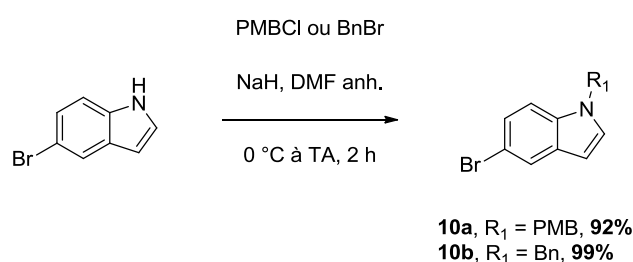


Schéma 26 : protection du 5-bromoindole

La *N*-alkylation du 5-bromoindole en présence d'hydrure de sodium soit par le 1-(chlorométhyl)-4-méthoxybenzène, soit par le bromure de benzyle, conduit respectivement aux composés **10a** et **10b** avec d'excellents rendements.

- Synthèse des alcools **11a-b** à partir de l'indole protégé

Nous avons alors appliqué les conditions optimisées du couplage de Niu obtenues dans le cas du composé **8** aux composés **10a** et **10b** (Schéma 27).

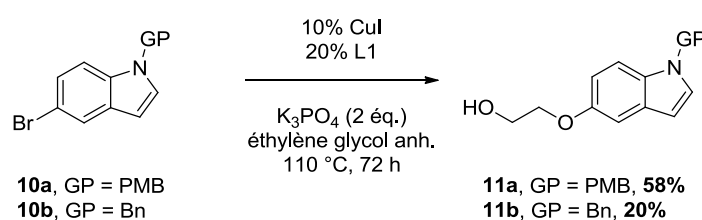


Schéma 27 : synthèse des alcools 11a et 11b à partir de l'indole protégé

Pour l'indole **10a** protégé par le groupement PMB, les conditions optimales précédentes (10% CuI, 20% L1, 110 °C, 72 h) ont permis d'obtenir le produit **11a** avec un rendement satisfaisant de 58%. Ces mêmes conditions, appliquées pour l'indole **10b** protégé par le groupement benzyle permettent d'obtenir le produit **11b** mais avec un rendement faible

de 20%. Nous avons donc envisagé d'autres conditions pour optimiser la formation du composé **11b**.

- Optimisation de la formation de l'alcool **11b**

Le ligand 3,4,7,8-tétraméthyl-1,10-phénantroline (L2) a été identifié par Altman et collaborateurs¹¹⁰ comme permettant le couplage des iodures d'aryles avec des alcools aliphatiques par couplage de type Ullmann. Leurs conditions optimales pour le couplage des iodures d'aryles font intervenir 1,5 équivalents d'alcool et de carbonate de césium, 5% molaire d'iodure de cuivre, 10% molaire de ligand L2 dans le toluène à 80 °C ou 110 °C durant 24 h. Les auteurs ont également testé ce système sur deux exemples de bromure d'aryle en modifiant certains paramètres. Ainsi, le couplage du 3-bromoanisole avec le *n*-hexanol a été réalisé dans l'alcool pur à 130 °C. Le couplage du 3-bromoanisole avec l'alcool benzylique est réalisé avec 10% molaire d'iodure de cuivre(I) et 20% molaire de ligand L2 (Schéma 28).

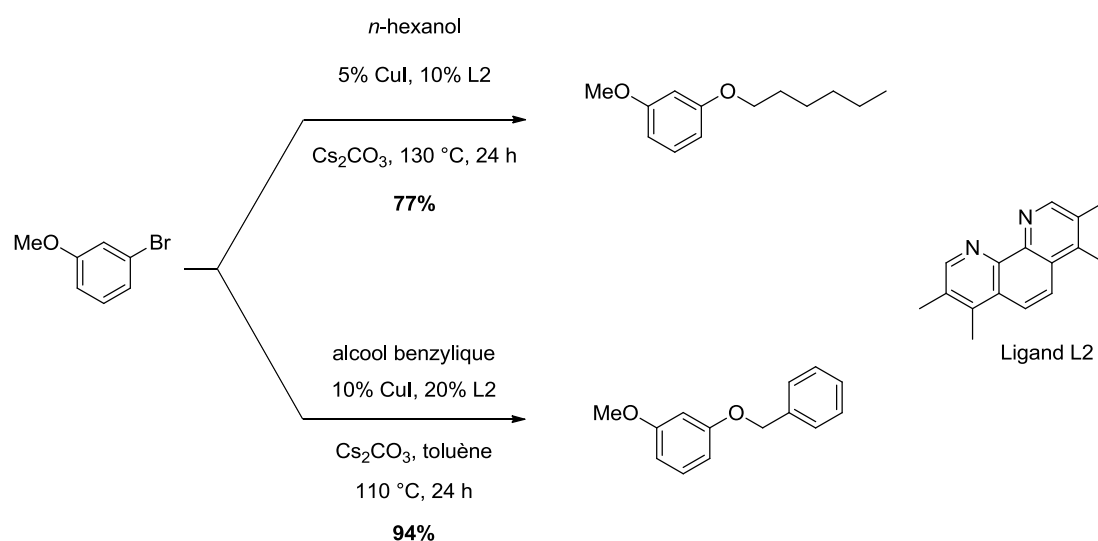
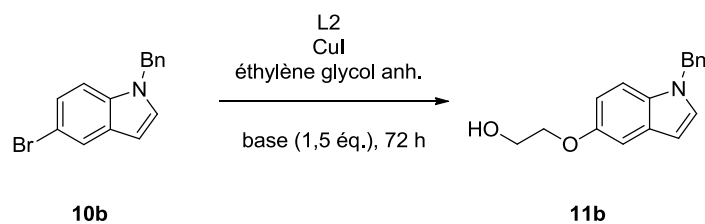


Schéma 28 : synthèse d'aryle alkyle éther selon Altman

Nous avons choisi de combiner les conditions de ces deux exemples pour la synthèse de l'alcool **11b** à partir du 1-benzyl-5-bromo-1*H*-indole **10b**. Tous les essais d'optimisation ont été réalisés dans l'éthylène glycol anhydre et le temps de réaction a été augmenté de 24 h à 72 h (Schéma 29).



Sch\u00e9ma 29 : synth\u00e8se de l'alcool 11b

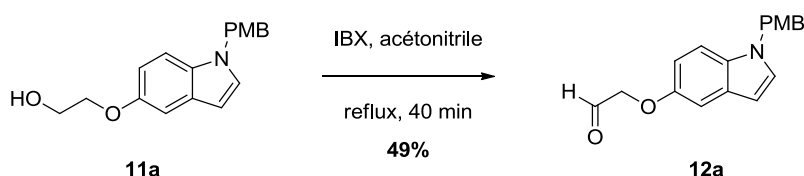
Entr\u00e9e	% CuI	% L2	base	T (°C)	Rdt (%)
1	10	20	carbonate de c\u00e9sium (1,5 \u00e9q.)	130	49
2	20	40	carbonate de c\u00e9sium (1,5 \u00e9q.)	130	29
3	10	20	phosphate de potassium (1,5 \u00e9q.)	130	43
4	10	20	carbonate de c\u00e9sium (1,5 \u00e9q.)	150	61

Tableau 3 : optimisation des conditions de formation de l'alcool 11b

L'augmentation de la quantit\u00e9 d'iodure de cuivre(I) et de ligand L2 \u00e0 20% et 40% molaire s'est av\u00e9r\u00e9e contre-productive (Entr\u00e9e 2, Tableau 3). La substitution du carbonate de c\u00e9sium par le phosphate de potassium n'a pas am\u00e9lior\u00e9 le rendement (Entr\u00e9e 3, Tableau 3). Les meilleurs r\u00e9sultats ont \u00e9t\u00e9 obtenus par l'\u00e9l\u00e9vation de la temp\u00e9rature \u00e0 150°C, avec 10% molaire d'iodure de cuivre et 20% molaire de ligand L2 (Entr\u00e9e 4, Tableau 3). Ces conditions ont permis de former le produit **11b** avec un rendement satisfaisant de 61%

- Oxydation de l'alcool **11a** et amination r\u00e9ductrice avec le compos\u00e9 **3b**

L'oxydation de l'alcool prot\u00e9g\u00e9 **11a** a \u00e9t\u00e9 test\u00e9e dans diff\u00e9rents solvants (ac\u00e9tate d'\u00e9thyle, ac\u00e9tonitrile ou 1,2-dichloro\u00e9thane (1,2-DCE)) \u00e0 l'aide d'acide 2-iodoxybenzoique. La r\u00e9action r\u00e9alis\u00e9e dans l'ac\u00e9tonitrile conduit le plus rapidement au compos\u00e9 2-((1-(4-m\u00e9thoxybenzyl)-1*H*-indol-5-yl)oxy)ac\u00e9tal d\u00e9hyde **12** (40 minutes dans l'ac\u00e9tonitrile, 2 h dans le 1,2-DCE et l'ac\u00e9tate d'\u00e9thyle) avec un rendement de 49% (Sch\u00e9ma 30).



Sch\u00e9ma 30 : synth\u00e8se de l'ald\u00e9hyde 12a

A ce stade de la synth\u00e8se, nous avons observ\u00e9 par RMN du proton que l'ald\u00e9hyde **12a** est instable. Pour pallier \u00e0 ce probl\u00e8me nous avons envisag\u00e9 de mettre en \u00e9uvre la s\u00e9quence

oxydation-amination réductrice en une seule étape. A cet effet, nous avons réalisé l'oxydation des intermédiaires **11a** et **11b** dans le 1,2-DCE, solvant le plus compatible avec la réaction d'amination réductrice (Schéma 31).

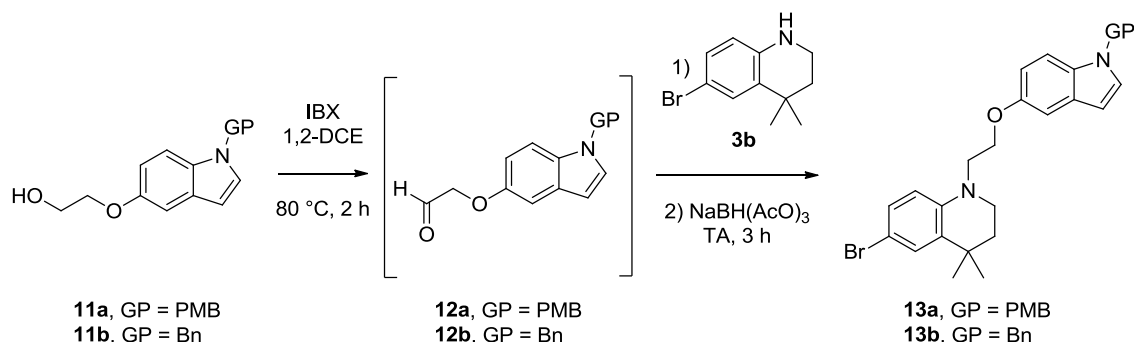


Schéma 31 : séquence d'oxydation et d'amination réductrice sur les composés **11a** et **11b**

Dans un premier temps, nous avons optimisé la réaction d'amination réductrice avec la 6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3b** en modifiant le nombre d'équivalents d'amine et du réducteur triacétoxyborohydrure de sodium ($\text{NaBH}(\text{AcO})_3$) (Tableau 4).

Entrée	GP	3b (éq.)	$\text{NaBH}(\text{AcO})_3$ (éq.)	Rdt (%)
1	PMB	1,0	1,4	53
2	Bn	1,0	1,4	51
3		2,0	2,0	68
4		1,5	2,0	63
5		2,0	1,4	56

Tableau 4 : optimisation de l'amination réductrice

Le rendement de la réaction est légèrement supérieur avec 2 équivalents de réducteur (Entrées 3 et 5, Tableau 4). La modification de l'excès d'amine **3b** n'a pas d'effet significatif (Entrées 3 et 4, Tableau 4). Les conditions optimisées ont permis d'obtenir le dérivé **13b** avec un rendement de 68% sur deux étapes (Entrée 3, Tableau 4). Un seul essai a été réalisé pour la synthèse de **13a**, qui a été obtenu avec un rendement de 53%.

- Oxydation de l'alcool et amination réductrice avec le composé **3a**

Dans le cas de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3a**, les conditions optimales font intervenir 2 équivalents d'amine et 1,4 équivalents de triacétoxyborohydrure de sodium. Dans ces conditions, le produit **14** a été obtenu à partir de l'alcool **11b** et de l'amine **3a** avec un rendement de 77% sur 2 étapes (Schéma 32).

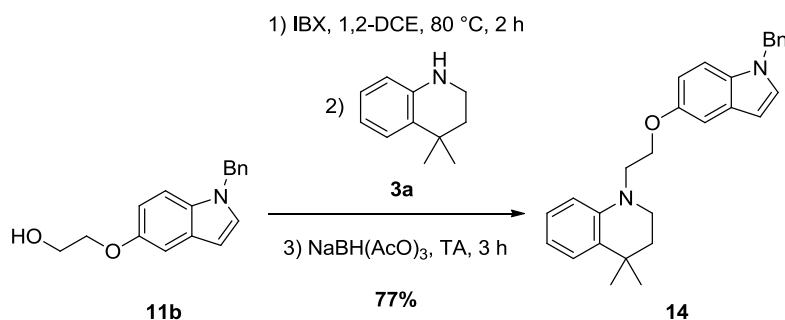


Schéma 32 : synthèse du composé 14

B. Déprotection des composés **13a**, **13b** et **14**

L'accès aux dérivés diversement substitués sur l'azote de l'indole nécessite tout d'abord l'obtention de l'indole déprotégé (Schéma 33).

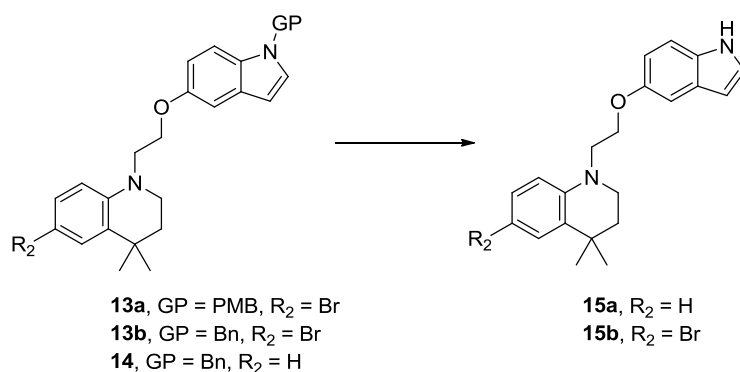


Schéma 33 : déprotection des indoles 13a, 13b et 14

Différentes méthodes ont été testées afin de déprotéger l'indole. Dans le cas du groupement PMB, la méthode classique de déprotection par la 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) conduit à la dégradation complète du composé de départ **13a**. En ce qui concerne le groupement benzyle, les conditions classiques de déprotection par hydrogénolyse en présence de palladium sur charbon et de dihydrogène n'ont pas permis d'obtenir le produit désiré. L'ajout d'acide acétique ou trifluoroacétique entraîne la débromation du composé de départ **13b** mais ne permet toujours pas l'hydrogénolyse du groupement benzyle.

D'autres conditions ont été testées afin de déprotéger l'indole, à l'aide de chlorure d'aluminium¹¹¹ ou de TFA dans l'anisole^{112,113}. Cependant tous les essais ont conduit soit à la dégradation soit à la restitution du réactif de départ.

Après un examen de la littérature, nous avons identifié la méthode développée par Haddach et collaborateurs¹¹⁴ mettant en jeu le couple DMSO/ *tert*-butylate de potassium (*t*-

BuOK) en présence de dioxygène, qui permet la déprotection d'azotes hétérocycliques aromatiques *N*-benzylés et notamment l'indole. Le mécanisme proposé par les auteurs est présenté sur le Schéma 34.

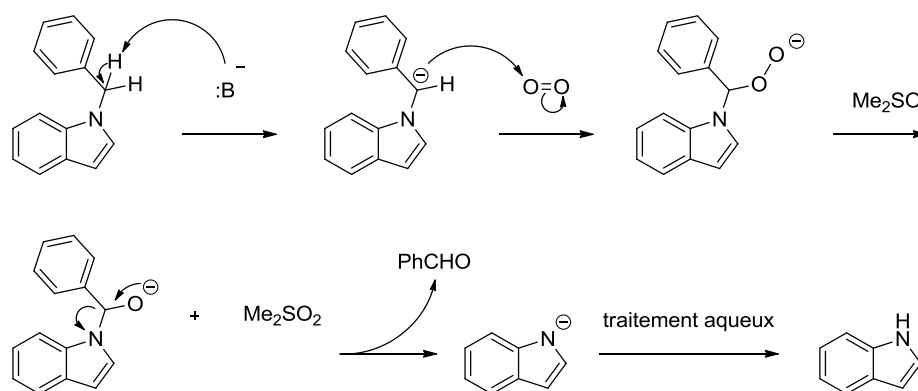


Schéma 34 : mécanisme de débenzylation de l'indole proposé par les auteurs¹¹⁴

La base déprotone la position benzylique de l'indole pour former un anion benzylique qui réagit avec le dioxygène introduit dans la solution par bullage. L'anion peroxyde obtenu est réduit par le DMSO pour former un anion instable qui après libération de benzaldéhyde et hydrolyse conduit à l'indole déprotégé. Leurs conditions optimales de déprotection font intervenir 7 équivalents de *tert*-butylate de potassium, 10 équivalents de DMSO dans le THF à TA. Le bullage de dioxygène pur par un tube de dispersion de gaz leur permet de réaliser la réaction en moins de 20 minutes. Les auteurs précisent que cette méthode peut être réalisée également en présence d'air mais dans ce cas la réaction est plus longue.

Nous avons donc adapté ces conditions de débenzylation à nos composés en utilisant comme source de dioxygène l'air comprimé du laboratoire (Schéma 35). La déprotection du dérivé bromé **13b** a fait intervenir 14 équivalents de *tert*-butylate de potassium.

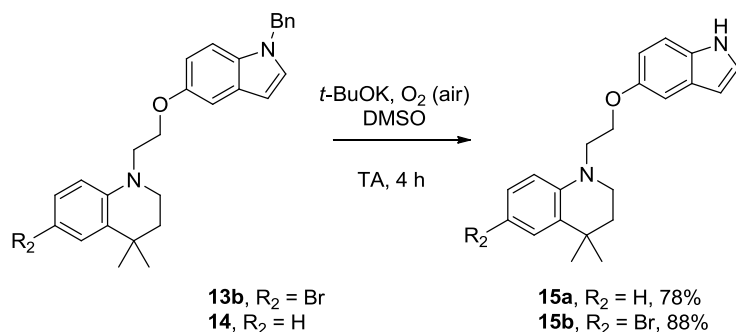


Schéma 35 : déprotection de l'indole des composés 13b et 14

Après optimisation des conditions, nous avons obtenu les indoles déprotégés **15a** et **15b** avec des rendements satisfaisants de 78 et 88%.

En conclusion, nous avons optimisé la formation du bicycle *via* une réaction d'oxydation de l'alcool **11b** suivie d'une amination réductrice avec les amines **3a** ou **3b**. Par comparaison avec le faible rendement (12%) de l'étape d'*O*-alkylation initiale, nous avons obtenu les composés **15a** et **15b** avec de bons rendements, respectivement de 77% et 68% sur deux étapes. Cette synthèse optimisée a permis l'obtention des dérivés **15a** et **15b** avec des rendements globaux respectivement de 30% et 32% sur 8 étapes.

Par ailleurs, l'optimisation de la réaction de déprotection nous a permis de nous intéresser à différentes pharmacomodulations sur l'indole (hétérocycle B).

II. Pharmacomodulation sur l'hétérocycle B

A. Introduction de substituants sur l'azote de l'indole

L'accès aux dérivés diversement substitués sur l'azote de l'indole est réalisé par *N*-alkylation du composé **15a** (Schéma 36).

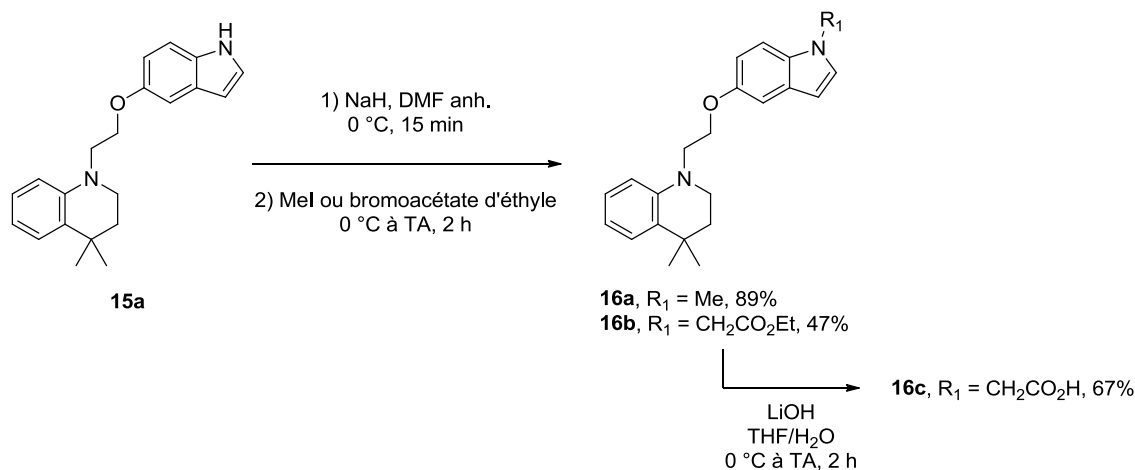


Schéma 36 : modifications sur l'azote de l'indole

La *N*-alkylation de l'indole **15a** par l'iodure de méthyle donne accès au dérivé **16a** avec un rendement de 89%. La *N*-alkylation de l'analogue **15a** par le bromoacétate d'éthyle permet d'obtenir l'ester **16b** qui après saponification donne accès à l'acide **16c**.

B. Remplacement bioisostérique de l'indole par le 7-azaindole

Le 7-azaindole est décrit comme un isostère de l'indole et est présent dans de nombreux produits biologiquement actifs^{115,116}. Nous avons donc choisi de réaliser la synthèse du dérivé **20**, analogue du composé **15a** en série 7-azaindole (Schéma 37).

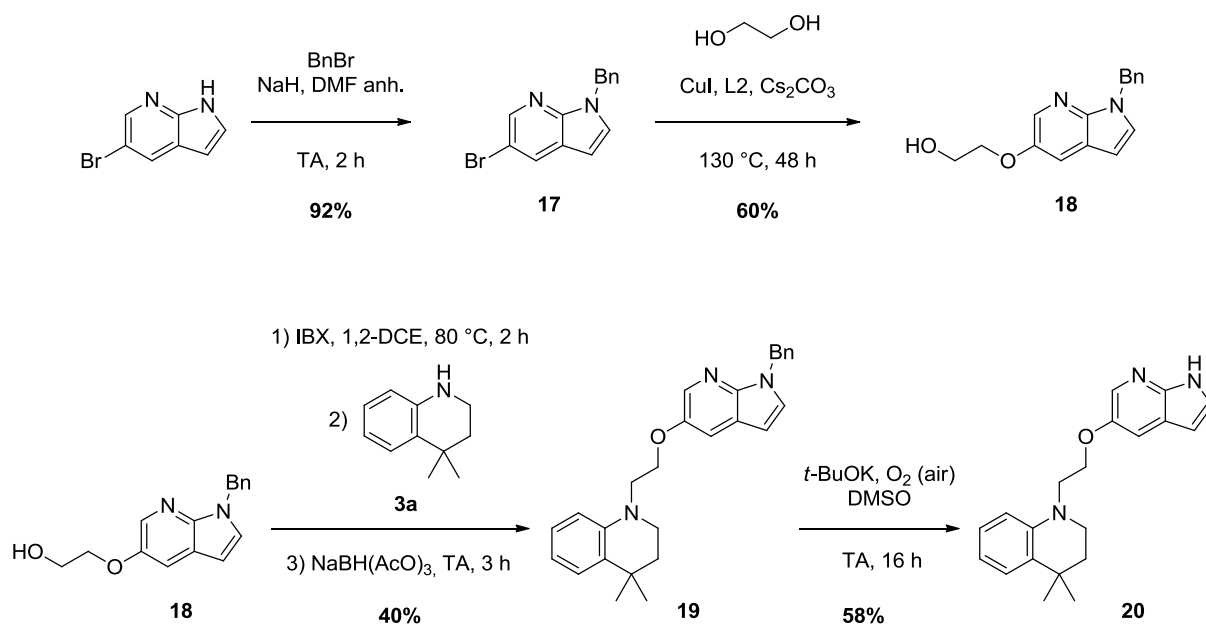


Schéma 37 : synthèse du composé **20** (analogue 7-azaindole)

L'application de la voie de synthèse mise au point sur l'indole au 7-azaindole a permis la synthèse de l'analogue **20** en 8 étapes avec un rendement global de 11%.

A ce stade de la synthèse il nous a paru intéressant de réaliser une première évaluation biologique des composés obtenus (Figure 20).

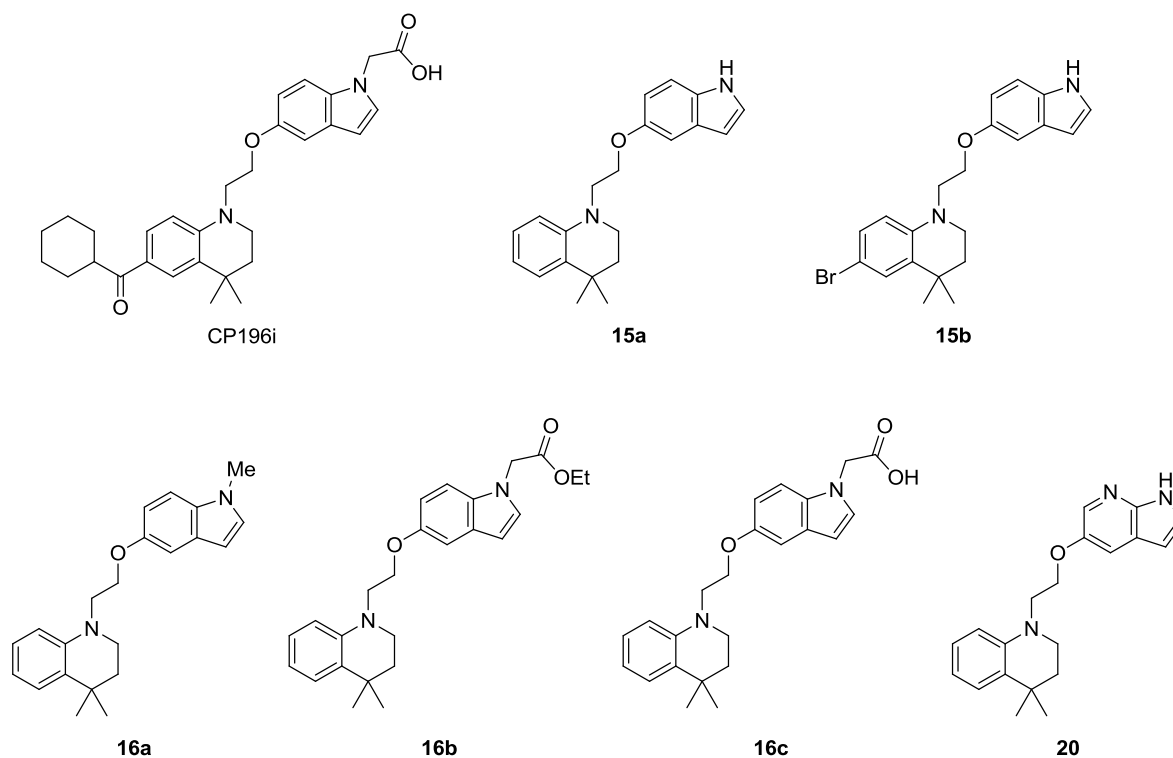


Figure 20 : structures des composés CP196i, 15a, 15b, 16a, 16b, 16c et 20

Les deux types de lignées cellulaires utilisées, KU812 et K562, sont des modèles de LMC présentant une surexpression des facteurs de transcriptions STAT5 activés (les modes opératoires seront largement décrits dans le chapitre VI - Evaluations biologiques). Un test préliminaire de criblage identifie les composés capables d'inhiber la prolifération de ces lignées. Les composés **15a** et **15b**, plus actifs que le hit CP196i, ont été sélectionnés pour évaluer leurs effets sur la viabilité des cellules. Les CE₅₀ de viabilité obtenues pour le **15a**, **15b** et le CP196i sont présentées dans le Tableau 5.

Composé	KU812 CE ₅₀ (μM)	K562 CE ₅₀ (μM)
CP196i	196,57 ± 16,11	8658 ± 59,52
15a	14,63 ± 2,04	78,13 ± 2,73
15b	7,59 ± 0,63	15,58 ± 1,67

Tableau 5 : évaluation biologique des composés 15a, 15b et CP196i

Les analogues de **15a** substitués sur l'azote par les groupements acide acétique, acétate d'éthyle, benzyle et méthyle n'ont aucun effet antiprolifératif sur les lignées KU812 et K562.

Par conséquent, nous pouvons conclure que l'azote non-substitué de l'indole semble important pour un meilleur effet antiprolifératif par rapport au « hit ».

Par ailleurs, le composé **20**, analogue en série 7-azaindole du composé **15a**, n'a présenté aucun effet antiprolifératif sur les lignées KU812 et K562.

En conclusion, les différents composés synthétisés mettent en évidence le rôle indispensable de l'indole présentant l'azote non-substitué dans l'efficacité cytotoxique des nouveaux analogues du « hit » CP196i. Au vu des résultats obtenus après les modifications menées sur l'indole, nous avons choisi de poursuivre nos travaux en conservant l'indole présentant l'azote non-substitué. Nous nous sommes alors intéressés à la modification de la position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.

III. Pharmacomodulation de la position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (hétérocycle A)

A. Synthèse de la (1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléin-6-yl)(cyclohexyl)méthanone **30**

Le composé **30** est l'analogue du hit CP196i conservant le groupement cyclohexanoyl sur la position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine, mais présentant l'azote libre sur l'indole.

1. *via* une réaction de Friedel et Crafts

Au sein du laboratoire, une réaction d'acylation de Friedel-Crafts entre l'intermédiaire **A'** et le chlorure de cyclohexanoyl catalysée par le graphite¹¹⁷ a été utilisée pour obtenir l'intermédiaire **B'** (Schéma 38).

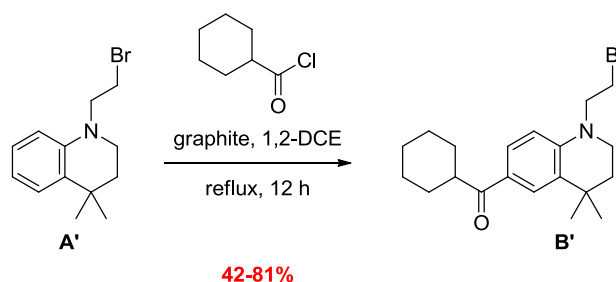


Schéma 38 : acylation de Friedel et Crafts pour obtenir la cétone **B'**

Cependant, cette réaction n'est pas reproductible et sa réussite dépend du lot de graphite utilisé. En effet, le graphite doit contenir des impuretés métalliques, telle la magnétite Fe₃O₄ qui engendrerait dans les conditions de la réaction FeCl₃, le catalyseur de la réaction d'acylation¹¹⁸. Au vu des résultats obtenus avec cette réaction catalysée par le graphite, nous avons choisi de mettre au point une méthode alternative d'introduction de la cétone.

2. Introduction du cyclohexylcarbonyl sur le composé modèle **21**

i. Synthèse du composé modèle **21**

Nous avons choisi de mettre au point les conditions d'introduction de la cétone sur un modèle simple et représentatif du bicyclic en termes de fonctions chimiques. Le composé modèle est la 1-benzyl-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **21** avec l'azote protégé par un groupement benzyle. En effet, plusieurs conditions envisagées pour introduire

la cétone font appel à des conditions très basiques. La protection de **3b** par amination réductrice à l'aide de benzaldéhyde permet d'obtenir la molécule modèle **21** avec un rendement de 74% (Schéma 39).

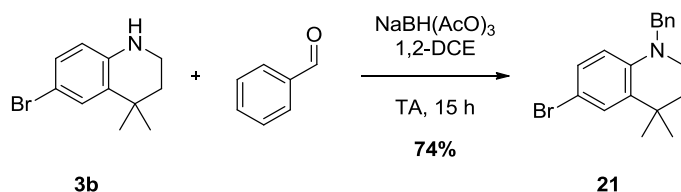


Schéma 39 : synthèse du composé 21

L'introduction de la cétone a alors été envisagée soit *via* un organolithien, soit *via* un organomagnésien.

ii. *via un organolithien*

- à partir d'un acide

L'introduction de la cétone a été envisagée par la réaction d'un organolithien sur l'acide cyclohexanecarboxylique (Schéma 40). Cette réaction nécessite un excès d'au moins 2 équivalents de composé organolithien par rapport à l'acide. En effet, le premier équivalent est consommé par une réaction acido-basique entre l'acide et le lithien pour former un carboxylate de lithium. Ce carboxylate de lithium peut alors subir une addition nucléophile du second équivalent de lithien pour former un hydrate de cétone instable qui se décompose en cétone après élimination d'une molécule d'eau.

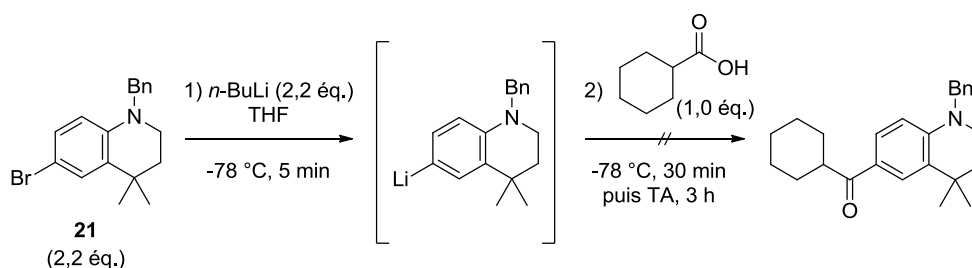


Schéma 40 : réaction d'un organolithien avec l'acide cyclohexanecarboxylique

Malheureusement, ces conditions n'ont pas permis d'obtenir le produit désiré mais ont conduit à la formation du produit débromé issu de l'échange halogène-lithium.

- à partir d'un aldéhyde

Après un examen de la littérature, nous avons constaté que la méthode « one-pot » mise au point par Ushijima et collaborateurs¹¹⁹ permet la synthèse des cétones aromatiques à partir de bromure d'aryle et d'aldéhydes aliphatiques. Après conversion du dérivé bromé en carbanion par le *n*-butyllithium, l'aldéhyde est additionné pour conduire à l'alcool intermédiaire oxydé *in situ* en présence de diiode pour former la cétone avec un rendement global de 83% (Schéma 41).

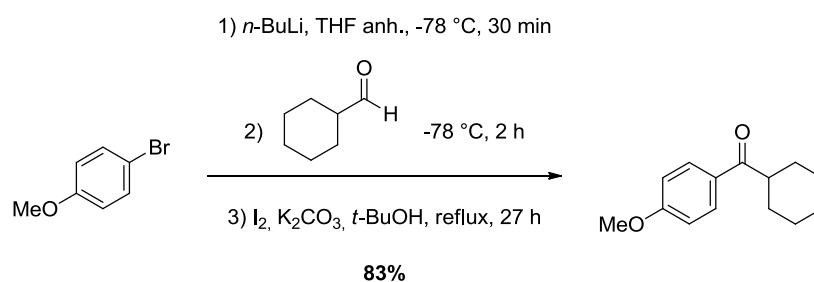


Schéma 41 : synthèse de cétones aromatiques par Ushijima et collaborateurs¹¹⁹

Nous avons donc appliqué ces conditions de formation de la cétone à notre composé **21**. Les différents essais réalisés n'ont pas permis d'obtenir la cétone **22** de façon satisfaisante. En effet, cette dernière a été obtenue avec un rendement faible au maximum de 11%, accompagnée de produits de dégradation (Schéma 42).

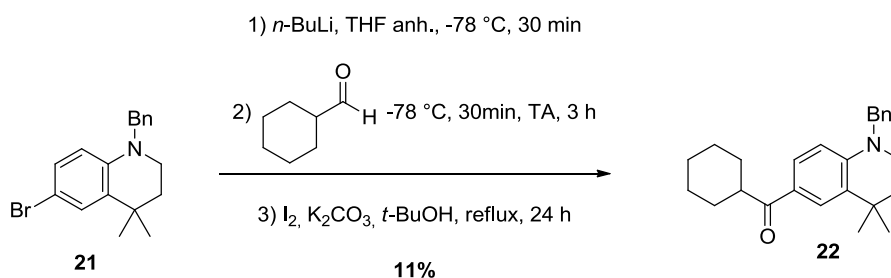


Schéma 42 : synthèse de la cétone 22

iii. via un organomagnésien

- à partir de chlorure de cyclohexanoyle

La méthode développée par Li et collaborateurs¹²⁰ a été appliquée au composé modèle **21**. Cette méthode suppose la formation d'un réactif de Grignard à partir d'un bromure d'aryle **21** par un échange halogène-magnésium puis l'attaque du magnésien sur un chlorure d'acyle (Schéma 43).

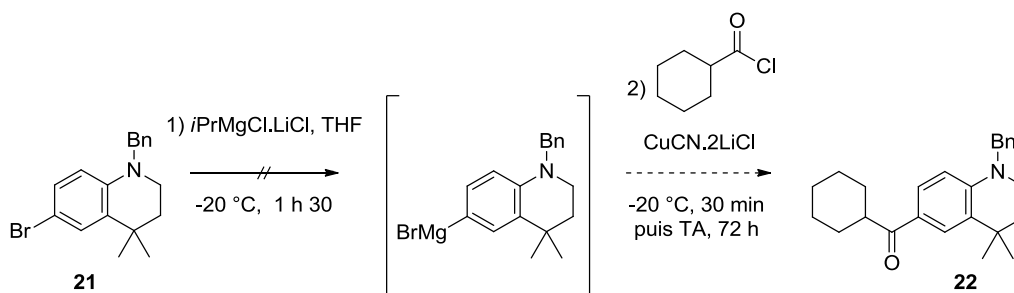


Schéma 43 : réaction d'un organomagnésien sur le chlorure de cyclohexanoyle

Malheureusement, l'échange halogène-métal n'a pas été observé et donc cette méthode n'a pas permis d'obtenir la cétone **22**.

- à partir du dérivé nitrile modèle **24**

Une voie alternative de synthèse des cétones est basée sur la méthode développée par Weiberth et collaborateurs¹²¹. Cette méthode consiste en l'attaque catalysée par un sel de cuivre(I) d'un composé organomagnésien sur un nitrile pour former une cétimine primaire qui est ensuite hydrolysée pour former une cétone.

Nous avons testé cette méthode sur le benzonitrile et le chlorure de cyclohexylmagnésium ce qui a conduit à la formation de la cétone correspondante avec un rendement satisfaisant de 89% (Schéma 44).

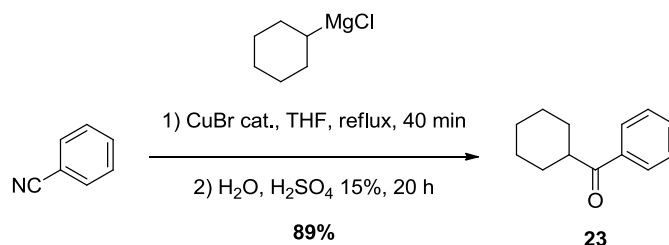


Schéma 44 : synthèse du composé **23 selon la méthode de Weiberth et collaborateurs¹²¹**

Afin d'utiliser cette voie alternative sur nos composés, il a été nécessaire de convertir le brome du composé **21** en nitrile. Le nitrile **24** a été formé selon la réaction de Rosenmund-von Braun¹²² en présence de cyanure de cuivre(I) dans le DMF au reflux avec un rendement satisfaisant de 86%. Le nitrile **24** obtenu a ensuite été converti en cétone **22** selon la méthode de Weiberth et collaborateurs avec un rendement de 70% (Schéma 45).

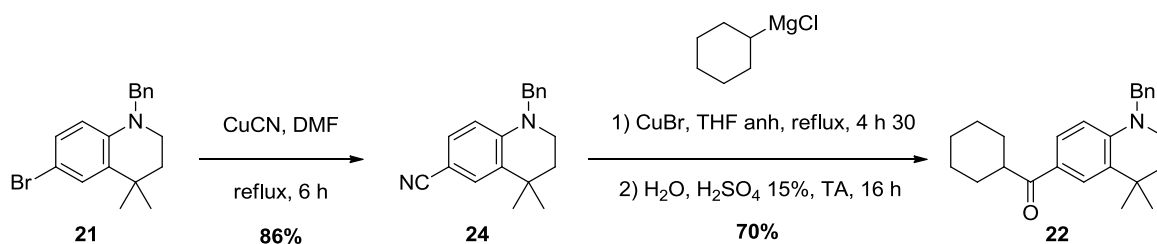


Schéma 45 : synthèse du nitrile 24 et de la cétone 22

Ainsi, la cétone modèle **22** a été obtenue avec un rendement de 60% sur deux étapes.

Nous avons ensuite essayé de déprotéger la cétone **22** dans les conditions opératoires mises au point sur notre bicyclic (Schéma 35).

iv. Réaction de débenzylation du composé 22

Le traitement du composé **22** par le *tert*-butylate de potassium en présence de dioxygène dans le DMSO ne permet pas d'obtenir le composé attendu mais conduit au composé hydroxylé en α du carbonyle avec un rendement de 22% (Schéma 46).

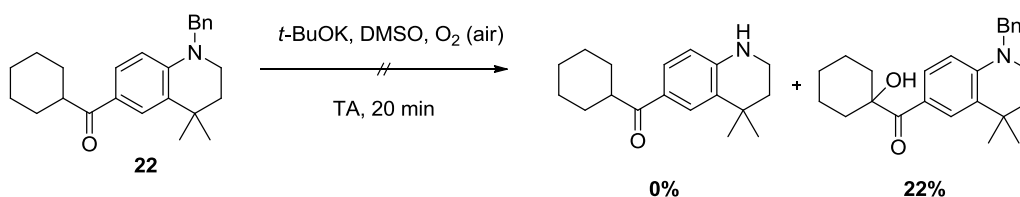


Schéma 46 : réaction de débenzylation de la cétone modèle 22

Cette observation est en accord avec les résultats de l'étude récente de Liang et collaborateurs¹²³, visant à hydroxyler la position en alpha d'une cétone en présence d'une base et de dioxygène.

- Protection de la fonction cétone en cétal sur le composé 23

Au vu de ces résultats, nous avons entrepris la protection de la cétone en cétal correspondant en présence d'acide *p*-toluènesulfonique, d'éthylène glycol dans le toluène au reflux avec un piège de Dean-Stark pour éliminer l'eau formée au cours de la réaction¹²⁴. Nous avons testé cette réaction de protection sur la cétone **23**, qui a conduit au cétal **25** avec un rendement de 95% (Schéma 47). Nous avons alors mis ce dernier en présence de *tert*-butylate de potassium et de dioxygène dans le DMSO pour vérifier la résistance du cétal aux conditions de débenzylation.

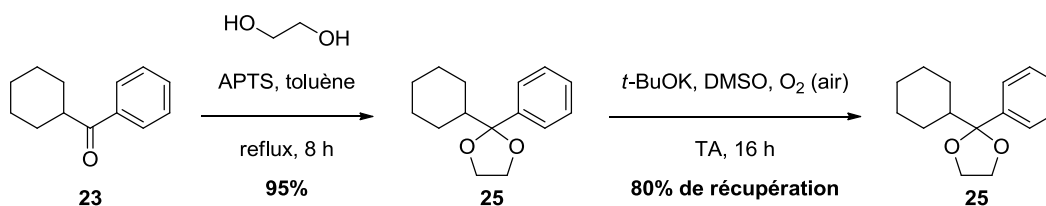


Schéma 47 : protection de la cétone 23 en cétal 25

Le cétal **25** résistant aux conditions de débenzylation prévues, nous avons transposé cette stratégie à la synthèse du composé **30**.

3. Synthèse de la cétone **30**

La stratégie mise au point sur le composé modèle **21** prévoit la conversion du dérivé bromé **13b** en nitrile puis l'attaque de ce nitrile par un organomagnésien et des réactions de protection/déprotection afin d'obtenir le dérivé **30**.

i. Obtention du composé **26**

Le composé bromé **13b** a été converti en nitrile **26** selon la réaction de Rosenmund-von Braun avec un rendement de 69% (Schéma 48).

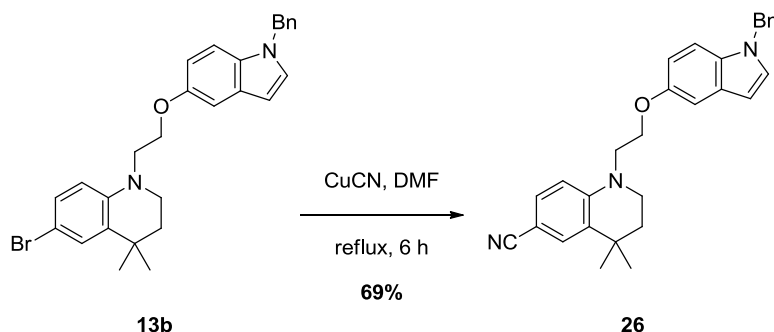


Schéma 48 : synthèse du nitrile 26

ii. Obtention du composé **27**

La cétone **27** a été obtenue à partir du nitrile **26** avec un rendement de 67% (Schéma 49).

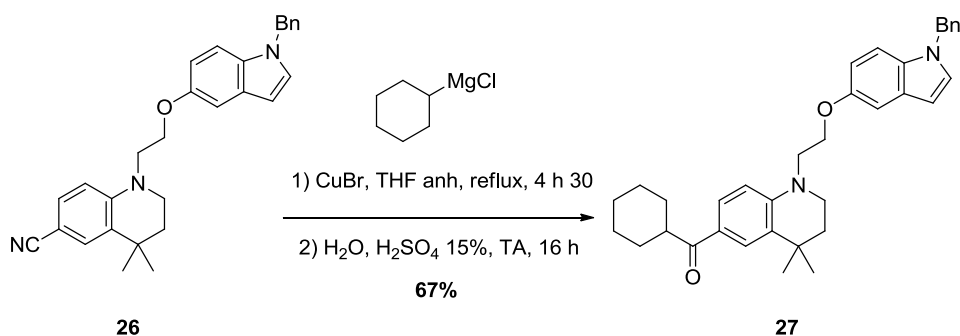


Schéma 49 : synthèse de la cétone 27

Le rendement sur deux étapes est inférieur à celui obtenu sur le modèle mais reste satisfaisant pour poursuivre la synthèse.

iii. Protection de la cétone 27 en cétal 28

La cétone **27** a alors été protégée en cétal **28** (Schéma 50)

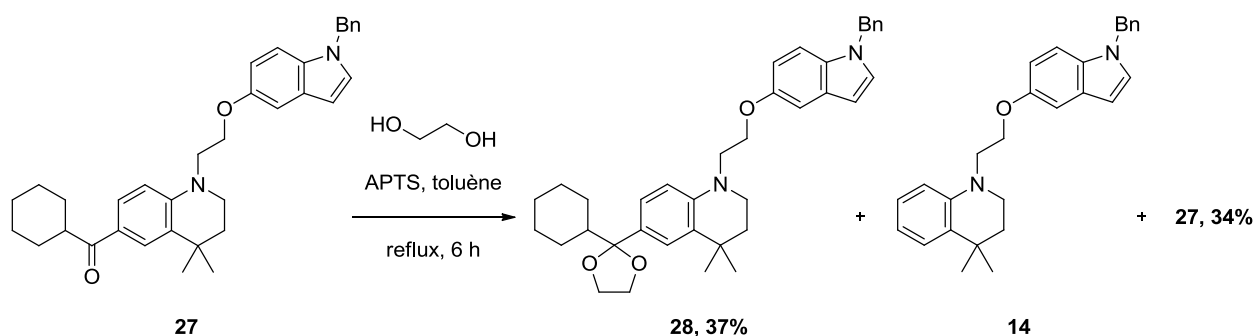


Schéma 50 : protection de la cétone 27 en cétal 28

L'intermédiaire **28** est obtenu avec un rendement très moyen de 37%. Nous avons observé une non conversion de la cétone **27** de départ quelques soient les divers essais. Par ailleurs, nous avons pu noter de façon surprenante la formation de traces du composé **14** en faible quantité. Le meilleur ratio conversion/dégradation a été obtenu après 6 h de réaction : 37% de cétal **28** et 34% de la cétone **27** de départ sont récupérés.

Afin d'améliorer le rendement très moyen de la protection de la cétone **27**, deux autres méthodes de formation du cétal à TA ont été testées. La réaction développée par Ciceri et collaborateurs¹²⁵ fait intervenir du tamis moléculaire et une quantité stœchiométrique d'acide *p*-toluènesulfonique dans l'éthylène glycol mais seules des traces du produit **28** ont été observées. Une deuxième méthode développée par Lucas et collaborateurs¹²⁶ fait intervenir

une quantité catalytique de triflate de triméthylsilyle et de 1,2-bis(triméthylsiloxy)éthane dans le dichlorométhane à 0°C et fournit le cétal **28** avec un rendement médiocre de 16%.

Ces essais d'optimisation de la protection n'ayant pas abouti, nous avons poursuivi la synthèse avec la méthode de cétalisation classique.

iv. *Obtention de la cétone 30*

Après protection en cétal du dérivé **27**, l'indole **28** est débenzylé selon les conditions de Haddach et collaborateurs¹¹⁴ avec un rendement satisfaisant de 83%. La fonction cétal du composé **29** est alors hydrolysée en milieu acide pour former la cétone **30** avec un rendement de 76% (Schéma 51).

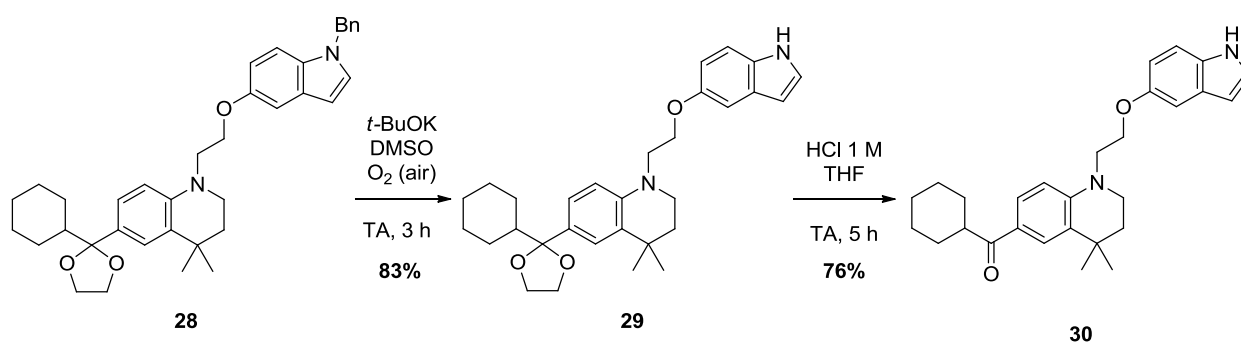


Schéma 51 : synthèse de la cétone 30

Le composé **30** a été évalué pour ses effets antiprolifératifs et cytotoxiques sur les lignées KU812 et K562 (voir chapitre VI-Évaluations biologiques). La CE_{50} du composé **30** (Figure 21), ainsi que celles des composés CP196i et **15a** pour comparaison, sont présentées dans le Tableau 6.

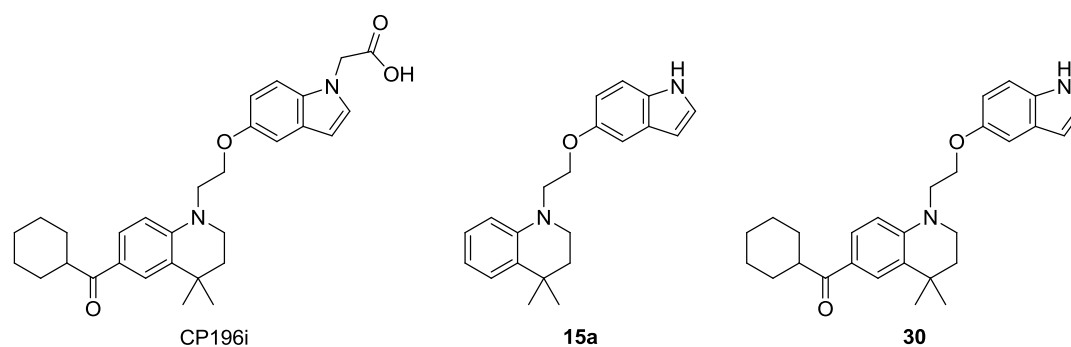


Figure 21 : structures des composés CP196i, 30 et 15a

Composé	KU812 CE ₅₀ (μM)	K562 CE ₅₀ (μM)
CP196i	196,57 ± 16,11	8658 ± 59,52
30	18,001 ± 0,35	1316,51 ± 25,01
15a	14,63 ± 2,04	78,13 ± 2,73

Tableau 6 : CE₅₀ des composés CP196i, 30 et 15a

L'efficacité cytotoxique du composé **30** est supérieure à celle du CP196i mais est inférieure à celle du dérivé **15a** en particulier sur la lignée K562. Le groupement cyclohexanoyle présent sur le « hit » CP196i n'est donc pas le meilleur substituant envisageable sur la position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine. Par conséquent, nous avons décidé d'étudier la substitution de cette position.

B. Introduction de groupements aryles ou hétéroaryles en position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine par des couplages pallado-catalysés

Pour réaliser l'introduction de groupements aryles ou hétéroaryles, nous avons opté pour la réaction de Suzuki.

1. Réaction de Suzuki

Les couplages pallado-catalysés sont un ensemble de méthodes robustes et très étudiées pour la formation de liaisons carbone-carbone. On peut citer entre autres la réaction de Suzuki^{127,128} largement usitée et décrite dans la littérature. Les partenaires classiques d'un couplage croisé de Suzuki sont généralement un acide boronique aromatique ou hétéroaromatique et un halogénure d'aryle.

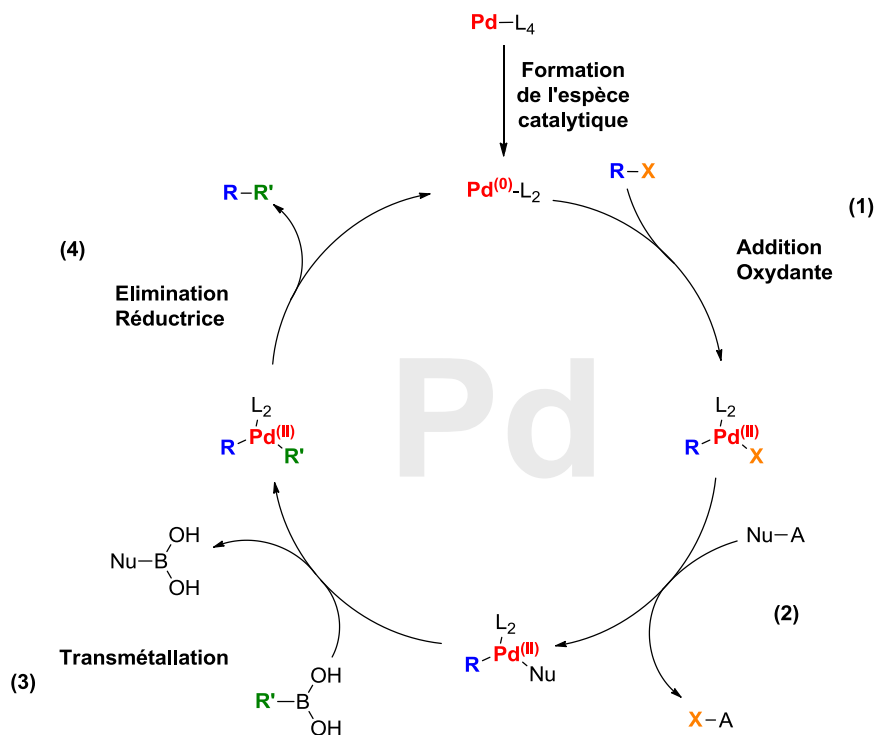


Schéma 52 : cycle catalytique de la réaction de Suzuki

Le mécanisme de cette réaction procède de la façon suivante (Schéma 52) : (1) l'addition oxydante d'un dérivé halogéné R-X sur le palladium au degré d'oxydation 0 Pd^0 mène au complexe $\text{R-Pd}^{\text{II}}\text{-X}$. (2) Cette espèce fait l'objet d'un échange de ligand entre l'halogène et un nucléophile. (3) Le complexe formé subit alors une transmétallation avec un acide boronique $\text{R}'\text{-B(OH)}_2$ et conduit au produit $\text{R-Pd}^{\text{II}}\text{-R}'$. (4) Au cours de l'élimination réductrice, la liaison R-R' est formée et le Pd^0 régénéré réengage le cycle catalytique. Cette réaction permet la formation du motif biaryle (ou bihétéroaryle) qui est présent dans de nombreux composés naturels¹²⁹ et pharmaceutiques¹³⁰.

Sur notre dérivé **15b**, l'atome de brome permet la fonctionnalisation de la position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine par la réaction de Suzuki.

2. Synthèse des analogues **31a** à **31h** par couplage de Suzuki

Puisque l'azote non substitué de l'indole est indispensable à la meilleure activité, nous avons choisi de réaliser les couplages de Suzuki sur l'intermédiaire **15b** afin de préparer les composés **31a-h** (Schéma 53). Les groupements phényle, 4-fluorophényle, 3-nitrophényle, 3-pyridinyle, 4-((4-méthylpipérazin-1-yl)sulfonyl)phényle, 3-thiophényle, 2-furanyle et 5-formyl-2-furanyle ont été introduits avec des rendements compris entre 30 et 83% (Tableau 7).

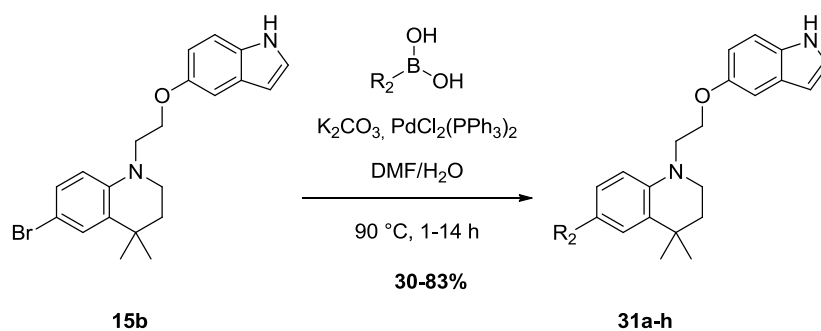


Schéma 53 : synthèse des analogues substitués en position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine

Entrée	Composé	R ₂	Temps (h)	Rdt (%)
1	31a		1	50
2	31b		2	80
3	31c		2	68
4	31d		3	69
5	31e		1,5	41
6	31f		14	50
7	31g		1	83
8	31h		2	30

Tableau 7 : structures des analogues 31a-h

Les réactions de Suzuki ont été réalisées en présence de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine ($\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$) comme catalyseur (0,1 éq.), de carbonate de potassium comme base (3,0 éq.) dans un mélange DMF/eau (5/1) avec l'acide boronique correspondant (3,0 éq.). Tous les acides boroniques utilisés sont commercialement disponibles à l'exception de l'ester boronique 1-méthyl-4-[[4-(4,4,5,5-tétraméthyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phényl]sulfonyl]pipérazine (Entrée 5, Tableau 7) synthétisé en deux étapes à partir du chlorure de 4-bromobenzène-1-sulfonyl¹³¹. Les réactions ont été menées jusqu'à disparition

totale du bromure d'aryle de départ, avec des temps de réaction courts de 1 à 3 h sauf pour le composé **31f** (Entrée 6, Tableau 7) (14 h). Les rendements plus moyens d'obtention des dérivés **31a** et **31f** (50%) (Entrées 1 et 6, Tableau 7) sont imputables à la purification difficile des produits désirés avec le produit débromé **15a** formé au cours de la réaction. Les rendements plus faibles obtenus pour les dérivés **31e** et **31h** sont dus à une purification difficile avec des produits de dégradation (Entrées 5 et 8, Tableau 7).

Les composés obtenus ont été évalués pour leurs effets antiprolifératifs sur les lignées KU812 et K562 (voir chapitre VI - Évaluations biologiques). **31d** est le seul composé de la série présentant une cytotoxicité plus intéressante que le « hit » CP196i. La CE₅₀ du composé **31d** (Figure 22), ainsi que celles des composés CP196i, **15a** et **15b** pour comparaison, sont présentées dans le Tableau 8.

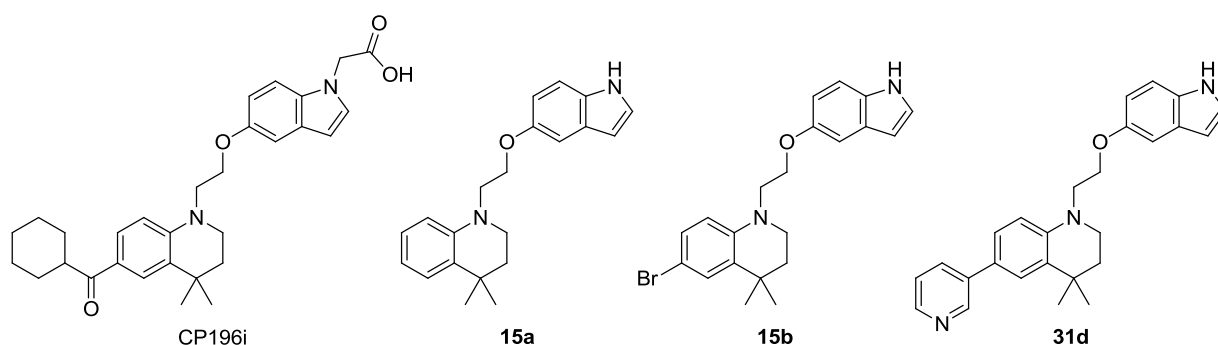


Figure 22 : structures des composés CP196i, 15b et 31d

Composé	KU812 CE ₅₀ (μM)	K562 CE ₅₀ (μM)
CP196i	196,57 ± 16,11	8658 ± 59,52
15a	14,63 ± 2,04	78,13 ± 2,73
15b	7,59 ± 0,63	15,58 ± 1,67
31d	5,375 ± 0,01	8,735 ± 1,54

Tableau 8 : CE₅₀ des composés 31d, 15a et CP196i

Le composé **31d** est environ 1000 fois plus efficace sur la lignée K562 et 32 fois plus efficace sur la lignée KU812 que le « hit » CP196i.

3. Pharmacomodulations autour du noyau pyridinique

Au vu des résultats encourageants du composé **31d**, nous avons décidé de le considérer comme notre chef de file. Afin d'améliorer l'efficacité cytotoxique et de déterminer des relations structure-activité, la synthèse de nouveaux analogues du dérivé **31d** a été envisagée. Nous avons choisi d'introduire différents substituants sur le groupement pyridin-3-yle et également de faire varier la position de l'azote sur le noyau pyridine (Schéma 54).

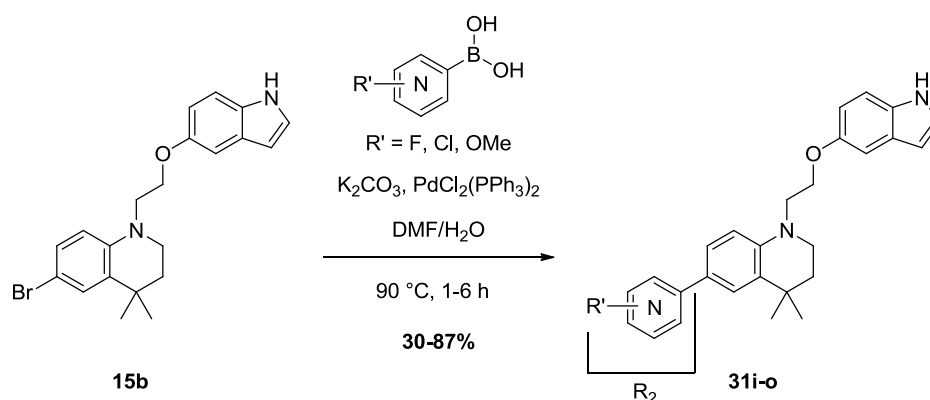


Schéma 54 : synthèse des analogues du composé 31d

Entrée	Composé	R ₂	Temps (h)	Rdt (%)
1	31i		1	46
2	31j		6	30
3	31k		1,5	87
4	31l		4	79
5	31m		1,5	43
6	31n		4,5	66
7	31o		4	62

Tableau 9 : structures des analogues du composé 31d

Les réactions de Suzuki ont été réalisées en présence de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine ($\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$) comme catalyseur (0,1 éq.), de carbonate de potassium

comme base (3,0 éq.) dans un mélange DMF/eau (5/1) avec l'acide boronique correspondant (3,0 éq.). Tous les acides boroniques utilisés sont commercialement disponibles. Les réactions ont été menées jusqu'à disparition totale du bromure d'aryle de départ, avec des temps courts de 1 à 6 h. Les rendements moyens d'obtention des dérivés **31j** et **31m** (Entrées 2 et 5, Tableau 9) sont dus à la formation du produit d'un couplage secondaire entre l'atome de chlore du produit attendu et une deuxième molécule d'acide boronique.

Sur le groupement pyridin-3-yle, nous avons choisi d'introduire les substituants fluor, chlore ou méthoxy en position 2 ou 6 de la pyridine (Entrées 2 à 7, Tableau 9). La substitution d'un hydrogène par le groupement fluor permet de conserver un encombrement stérique semblable et de modifier la distribution électronique sur la pyridine. Par ailleurs, les atomes d'hydrogènes situés sur un carbone en alpha d'un hétéroatome sont sujets à la métabolisation par oxydation, donc le fluor permet de protéger ces positions. L'introduction d'un atome de chlore modifie l'encombrement stérique de la position et la distribution électronique de la pyridine. En outre, l'atome de chlore ouvre la voie à d'autres fonctionnalisations notamment par des réactions de couplage pallado-catalysées. Enfin, la substitution de l'hydrogène par un groupement méthoxy électrodonneur peut favoriser le caractère accepteur de liaison hydrogène de l'azote de la pyridine.

4. Introduction du groupement pyridin-2-yle

L'introduction du groupement pyridin-2-yle par couplage de Suzuki est décrite comme complexe, en raison de l'instabilité de l'acide pyridin-2-ylboronique qui est sujet à une protodéboration. Nous avons envisagé deux voies d'introduction du groupement pyridin-2-yle : soit par l'utilisation d'un ester boronique de MIDA, soit par une boration de la 6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** suivie d'un couplage de Suzuki avec la 2-chloropyridine.

i. via un ester boronique de MIDA

Pour remédier à l'instabilité de l'acide pyridin-2-ylboronique, l'équipe de Burke et collaborateurs^{132,133} a développé une méthode utilisant un ester boronique plus stable. Il s'agit de l'ester de MIDA (*N*-méthyliminodiacétique acide), stable à TA et en présence d'air. Dans leurs conditions opératoires, l'ester de MIDA libère progressivement l'acide boronique réactif dans le milieu réactionnel ce qui permet d'éviter sa dégradation. Une étude menée par Deng et collaborateurs¹³⁴ a montré le rôle facilitateur de l'ajout de sel de cuivre(I) dans le couplage de Suzuki des ester boroniques de la 2-pyridine. Ces sels de cuivre(I) seraient impliqués dans une

première étape de transmétallation des liaisons carbone-bore à des liaisons carbone-cuivre pour former une espèce 2-pyridinyl-cuivre qui engage à son tour une étape de transmétallation avec le palladium (II) (Schéma 55).

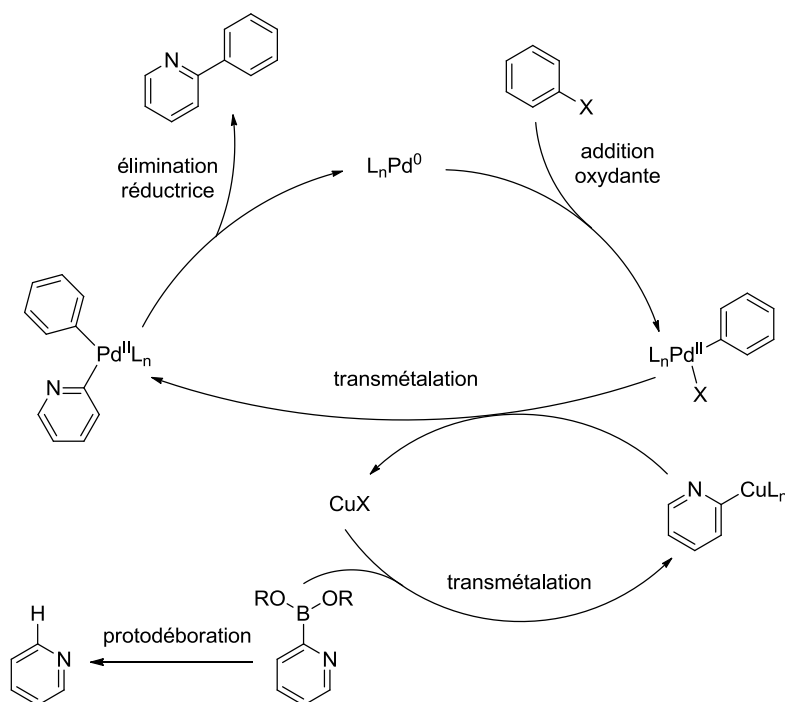


Schéma 55 : rôle du cuivre dans le couplage de l'ester boronique de la 2-pyridine

Dans les conditions mises aux point par Dick et collaborateurs¹³⁵, le cuivre forme avec la diéthanolamine (DEA), ligand trivalent, un complexe de $\text{Cu}(\text{DEA})_2$ qui en présence d'acétate de potassium est impliqué dans la transmétallation de l'ester de MIDA de la 2-pyridine avec le palladium (Schéma 56).

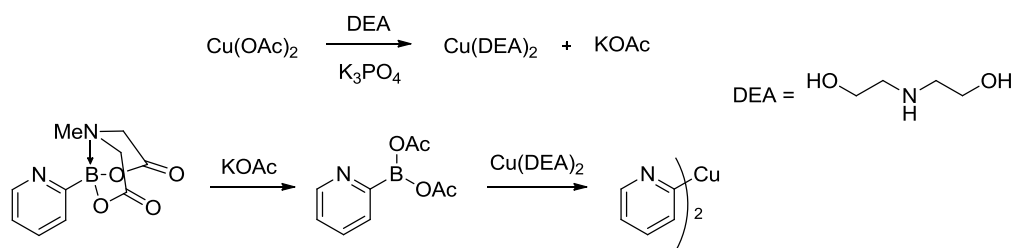


Schéma 56 : transmétallation de l'ester de MIDA dans les conditions de Dick¹³⁵

Nous avons appliqué les conditions de Aridoss¹³⁶, de Knapp et de Dick à notre substrat. Toutes les réactions ont été conduites en présence d'acétate de cuivre(II) dans le DMF anhydre pendant 18 h.

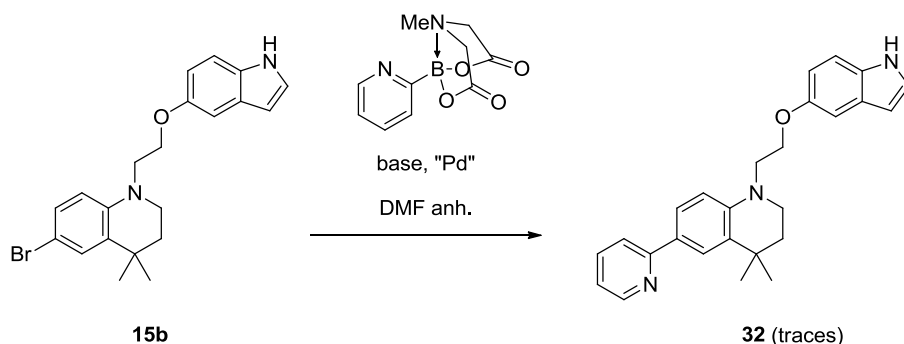


Schéma 57 : réaction de l'ester de MIDA de la 2-pyridine avec **15b**

Plusieurs essais ont été réalisés en utilisant différentes bases (phosphate de potassium, K_2CO_3), différents catalyseurs ($Pd(PPh_3)_4$, $Pd_2dba_3+SPhos$, $XPhosPdcycle$) et dans des conditions de températures différentes (80 °C ou 100 °C). Cependant tous ces essais ont conduit à l'obtention de traces du produit attendu **32** mais surtout à la dégradation du réactif de départ **15b**.

Puisque le manque de stabilité de l'acide boronique de la 2-pyridine est à l'origine des difficultés de couplage, nous avons également envisagé d'inverser les partenaires de couplage, à savoir former d'abord un ester boronique sur notre composé bromé **15b** puis le faire réagir avec une pyridine halogénée en position 2.

ii. via une réaction de boration de Suzuki

La boration de Suzuki permet la conversion des halogénures d'aryle en ester boronique par une réaction de couplage croisé avec le bis(pinacolato)diborane^{137,138} (Schéma 58).

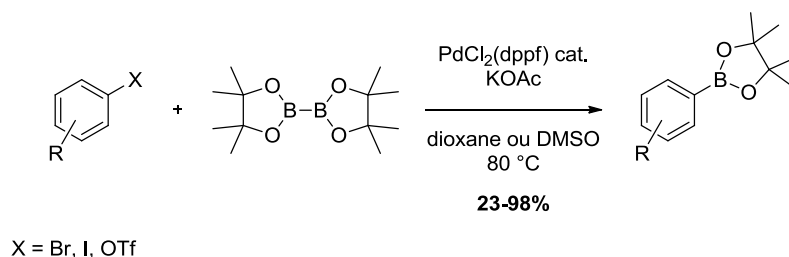


Schéma 58 : boration de Suzuki

Après boration de Suzuki du bromure d'aryle **15b**, l'ester boronique formé a été directement engagé dans un couplage de Suzuki avec la 2-chloropyridine¹³⁹ pour former le dérivé **32** avec un rendement de 23% sur deux étapes (Schéma 59).

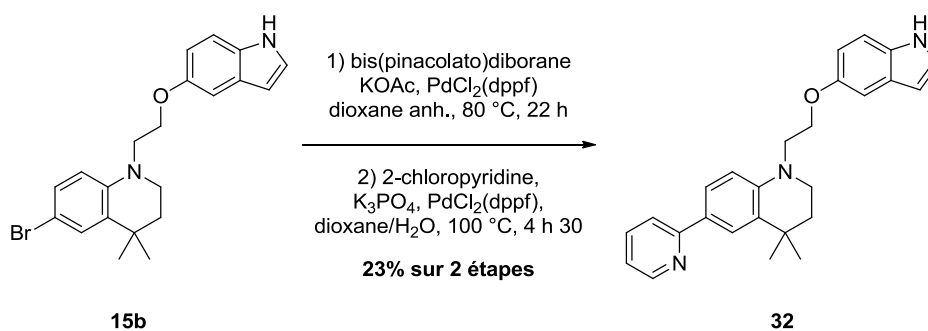


Schéma 59 : synthèse du dérivé 32

Les deux étapes n'ont pas été optimisées mais suffisamment de produit a été obtenu afin de réaliser les analyses et l'évaluation biologique du composé **32**.

Les analogues du chef de file **31d** ont été évalués pour leurs effets antiprolifératifs sur les lignées KU812 et K562 (voir chapitre VI-Évaluations biologiques). Aucun de ces analogues n'est plus actif que le composé **31d** et donc le substituant pyridin-3-yle demeure le plus prometteur à ce stade.

Dans la suite de notre étude de pharmacomodulation, nous avons choisi d'étudier l'homologation de la chaîne entre l'indole et la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.

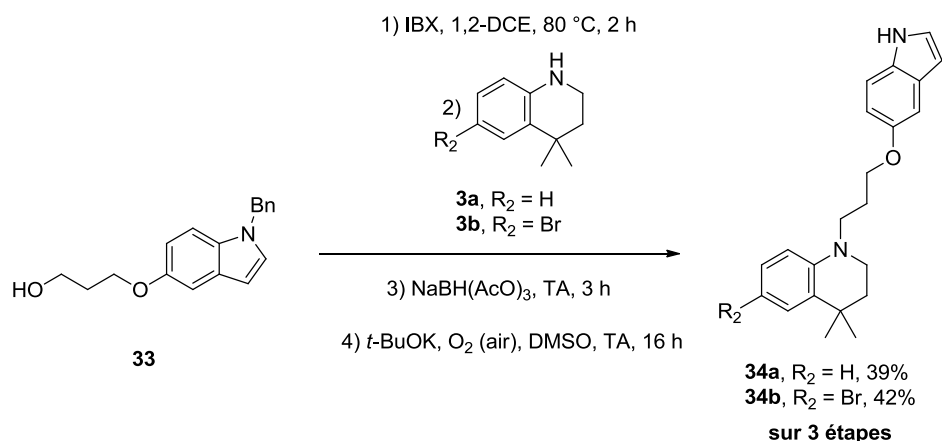


Schéma 62 : synthèse des composés **34a** et **34b** avec une chaîne à 3 carbones

Les dérivés **34a** et **34b** sont ainsi obtenus en huit étapes avec un rendement global respectivement de 15% et 18%.

C. Synthèse du composé **35**, homologue du dérivé **31d**

Le composé **35**, homologue du chef de file **31d**, est obtenu à partir du dérivé bromé **34b** par couplage de Suzuki avec un rendement de 62% (Schéma 63).

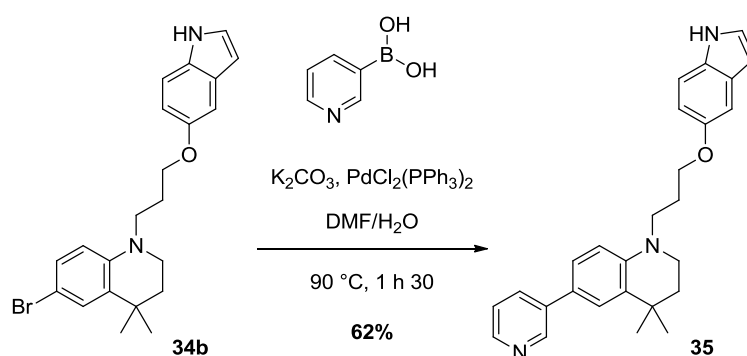


Schéma 63 : synthèse de l'analogue **35**

L'analogue **35** est ainsi obtenu en 9 étapes avec un rendement global de 11%.

Les composés **34a**, **34b** et **35** ont été évalués pour leurs effets antiprolifératifs sur les lignées KU812 et K562 (voir chapitre VI - Évaluations biologiques). Seul le composé **34a** présente un effet antiprolifératif plus intéressant que le « hit » CP196i.

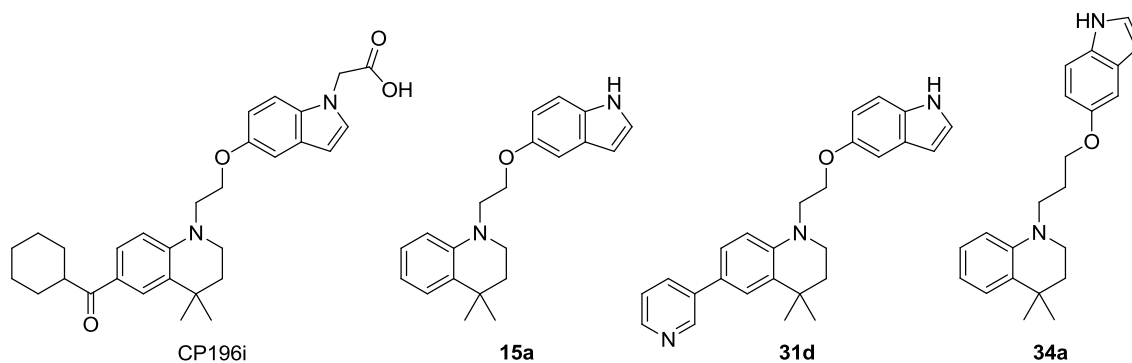


Figure 23 : structures des composés CP196i, 15a, 31d et 34a

La CE_{50} du composé **34a** (Figure 22), ainsi que celles des composés CP196i, **15a** et **31d** pour comparaison, sont présentées dans le Tableau 10.

Composé	KU812 CE_{50} (μM)	K562 CE_{50} (μM)
CP196i	$196,57 \pm 16,11$	$8658 \pm 59,52$
15a	$14,63 \pm 2,04$	$78,13 \pm 2,73$
31d	$5,375 \pm 0,01$	$8,735 \pm 1,54$
34a	$7,05 \pm 1,19$	$12,46 \pm 2,99$

Tableau 10 : CE_{50} des composés CP196i, 15a, 31d et 34a

Les dérivés **34a**, **34b** et **35** ne présentent pas une activité améliorée par rapport au composé **31d**.

V. Bilan

La mise au point d'une synthèse optimisée et reproductible du bicyclic, composé de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine reliée à l'indole par une chaîne éthyloxy, a permis l'obtention d'une série de 31 analogues du composé CP196i. L'évaluation biologique de ces analogues a permis d'identifier l'azote libre de l'indole comme un pharmacophore essentiel à l'activité. Parmi ces analogues, le composé **31d** présentant le substituant pyridin-3-yle en position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine a été identifié comme un nouveau chef de file aux propriétés antiprolifératives et cytotoxiques prometteuses. Des tests biologiques plus approfondis sur la molécule **31d**, comme l'évaluation de l'impact sur les gènes cibles de STAT5, ont nécessité la synthèse d'une quantité plus importante de produit. Nous avons donc synthétisé plusieurs centaines de milligrammes du composé **31d** à partir du 5-bromoindole en 9 étapes avec un rendement global de 22% (Schéma 64).

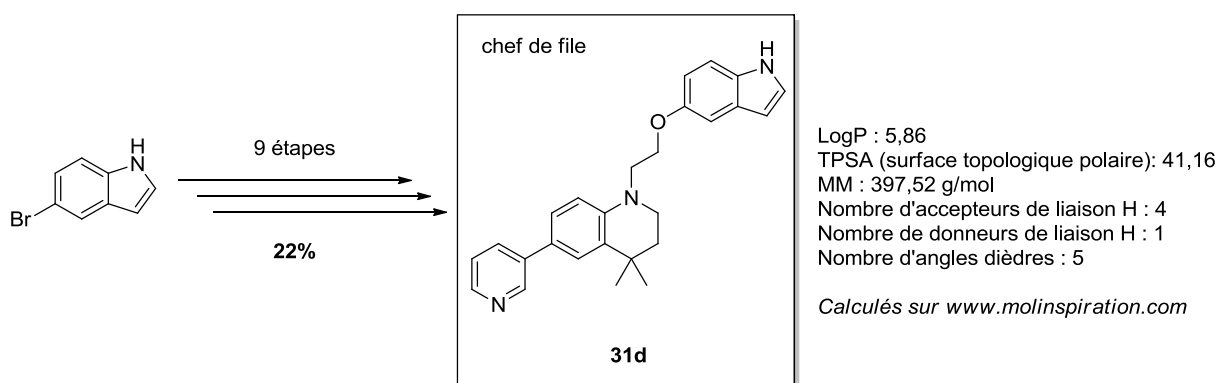


Schéma 64 : bilan de la synthèse du composé **31d** sur plus grande échelle

VI. Evaluations biologiques

L'ensemble des évaluations biologiques a été réalisé par nos collaborateurs de l'équipe LNOx (Leukemic Niche & redOx metabolism) de notre unité de recherche (UMR GICC 7292). L'évaluation biologique des composés synthétisés a été menée sur des lignées modèles de LMC K562 et KU812 qui sur-expriment la protéine STAT5 activée. La capacité antiproliférative et cytotoxique des nouveaux analogues sur ces lignées a orienté nos choix de pharmacomodulations tout au long de ce travail de thèse. Les tests ont été réalisés par des méthodes colorimétriques et les CE_{50} (concentration effectrice 50) de viabilité ont été mesurées pour les composés les plus cytotoxiques.

A. Tests de criblages

1. Test colorimétrique MTT

Il existe diverses méthodes pour déterminer la viabilité et la prolifération de cellules en réponse à un stimulus ou à un traitement. Les méthodes indirectes utilisant un réactif colorimétrique et permettant une lecture automatique sont très avantageuses, puisqu'elles sont rapides et simples à mettre en œuvre. Le test colorimétrique MTT développé par Mosmann et collaborateurs¹⁴⁰ est une méthode pratique et fiable de détermination du nombre de cellules vivantes. Cette méthode est basée sur la réduction enzymatique du sel jaune de bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium (MTT) en cristaux de formazan violet par les enzymes mitochondriales des cellules métaboliquement actives (Schéma 65).

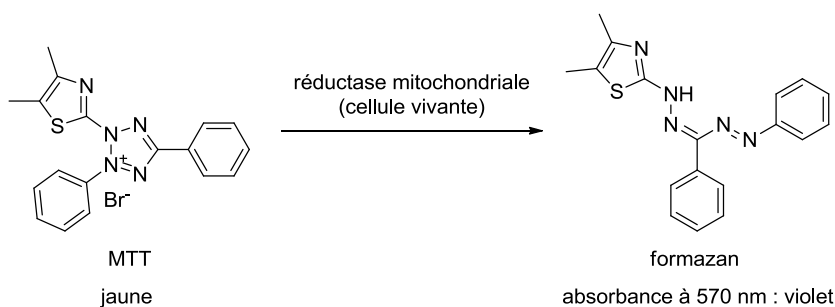


Schéma 65 : la réduction du MTT en formazan par la réductase mitochondriale des cellules vivantes métaboliquement actives

Les cristaux de formazan sont alors solubilisés par une solution de sulfate dodécylque de sodium (SDS) à 10% avec de l'acide chlorhydrique à 0,037% pour produire une solution dont l'absorbance à 570 nm est corrélée de façon linéaire à l'activité métabolique et au nombre de cellules. Le test MTT présente une bonne sensibilité et est utilisable en plaques de

96 puits qui peuvent être analysées par un lecteur d'absorbance multiplaques. Enfin, la relation de proportionnalité entre le nombre de cellules et l'absorbance est linéaire jusqu'à 1 million de cellules par puits.

2. Test colorimétrique au bleu trypan

Le bleu trypan est un colorant d'exclusion de la famille des colorants azoïques qui est utilisé pour le comptage des cellules vivantes. Lorsqu'un colorant d'exclusion entre dans une cellule vivante, cette dernière active un mécanisme d'exclusion qui va rejeter le colorant à l'extérieur de la cellule. Ce mécanisme est consommateur d'énergie et ne peut avoir lieu dans une cellule morte. Donc les cellules vivantes restent incolores alors que les cellules mortes apparaissent en bleu. Ainsi la prolifération des cellules traitées par les nouveaux analogues est évaluée par comptage sur lame de Mallassez des cellules vivantes (incolores) et mortes (bleues) sous microscope optique.

3. Illustration des tests de criblage

*i. Exemple du criblage des composés **14**, **15a**, **16a**, **16b** et **16c***

Les résultats du criblage des nouveaux analogues du « hit » CP196i sur la prolifération et la viabilité cellulaire des lignées K562 et KU812 ont permis de guider nos choix de pharmacomodulation. Afin d'illustrer les tests de criblage, nous avons choisi de présenter les résultats d'un nombre restreint de composés, sur la lignée K562. L'exemple présenté est celui de l'étude des substitutions de l'azote de l'indole avec le criblage des composés **14**, **15a**, **16a**, **16b** et **16c**, le « hit » CP196i étant présenté en comparaison.

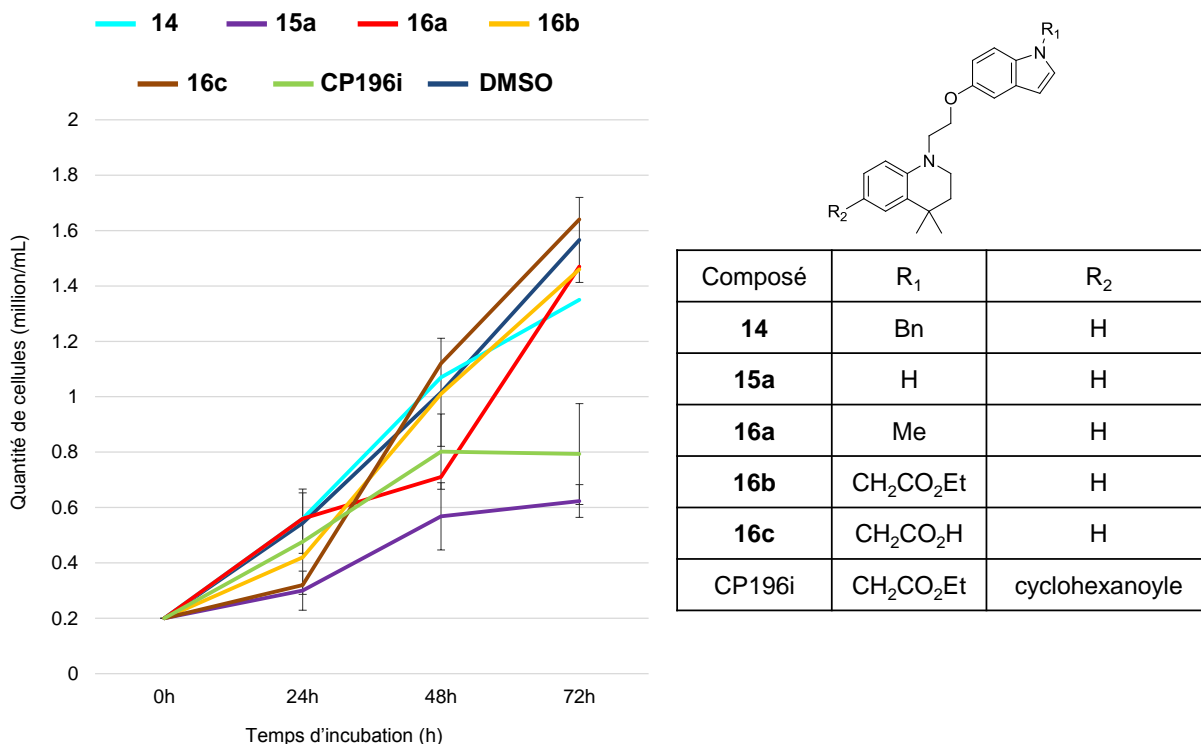


Figure 24 : courbes de prolifération obtenues avec la lignée K562

Les courbes de prolifération (Figure 24) montrent que pour une dose de 10 μ M, seul le composé **15a** inhibe la prolifération des cellules K562 plus fortement que le « hit » CP196i.

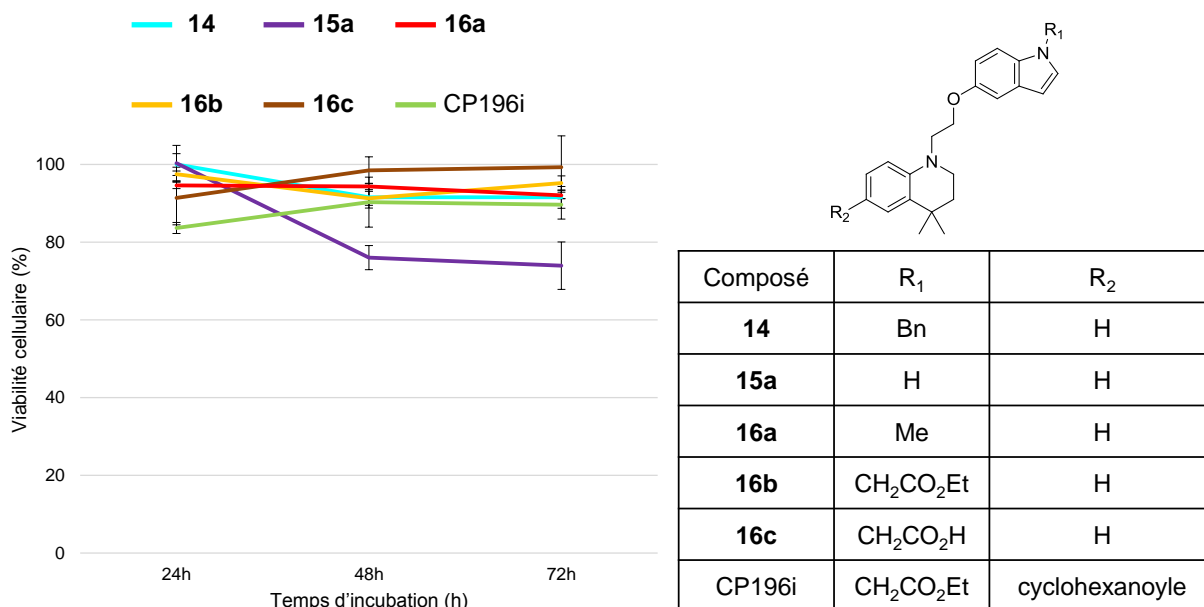


Figure 25 : courbes de viabilité obtenues avec la lignée K562

Les courbes de viabilité cellulaire (Figure 25) montrent que pour une dose de 10 μM , seul le composé **15a** diminue significativement la viabilité des cellules K562. Donc dans cet exemple précis, seul le composé **15a** a été sélectionné pour déterminer sa CE_{50} .

De la même façon, les résultats des tests de criblage des autres composés nous ont permis de sélectionner les composés les plus prometteurs, pour lesquels les CE_{50} de viabilité ont été déterminées.

B. Détermination des CE_{50} des composés sélectionnés lors des tests de criblage

1. Résultats

Les structures des composés sélectionnés lors des tests de criblage pour leurs effets antiprolifératifs sur les lignées KU812 et K562 sont présentées sur la Figure 26.

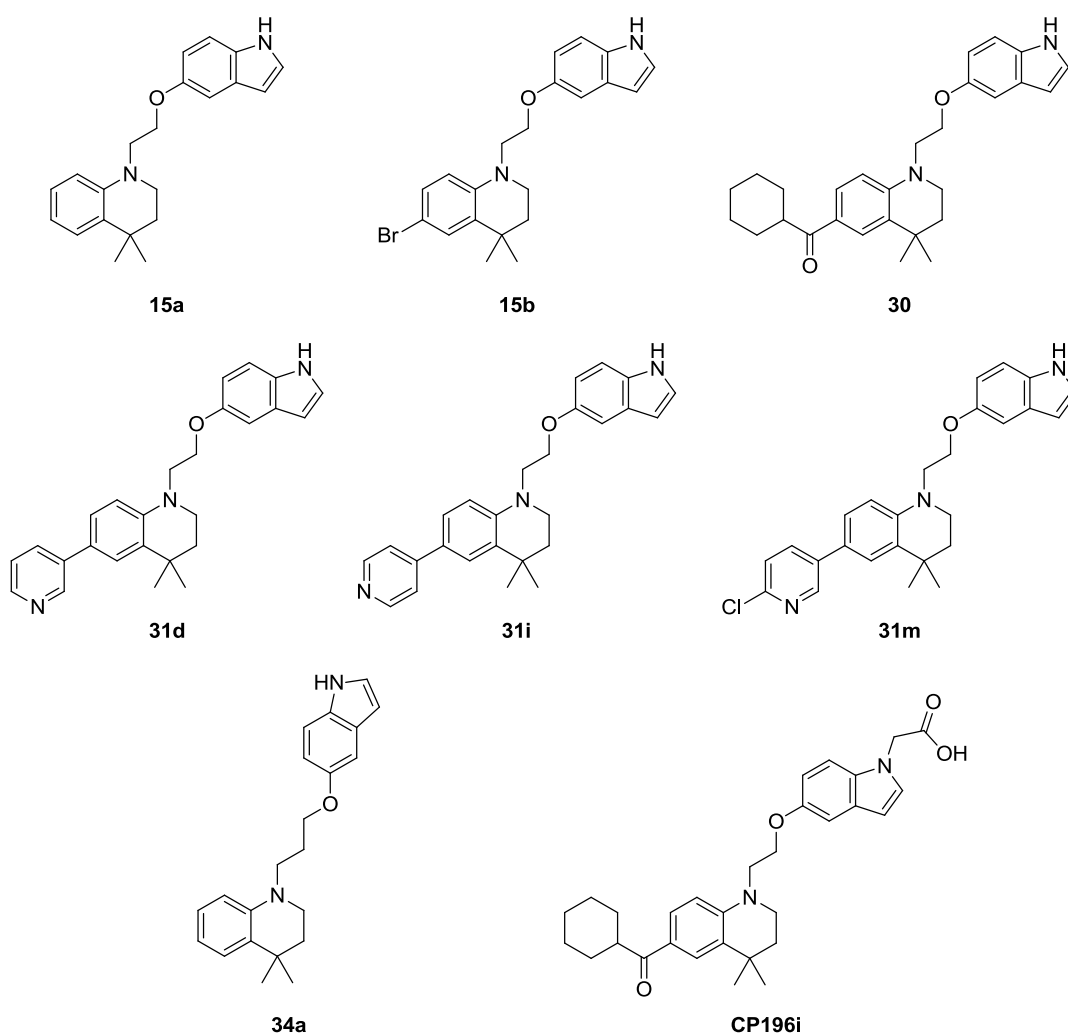


Figure 26 : structures des composés sélectionnés pour leur effet antiprolifératif

Pour ces composés sélectionnés, les CE_{50} mesurées sur les cellules des lignées KU812 et K562 sont reportées dans le Tableau 11.

	KU812	K562
Composés	EC_{50} (μ M)	EC_{50} (μ M)
CP 196i	$196,57 \pm 16,11$	$8658,96 \pm 59,52$
15a	$14,63 \pm 2,04$	$78,13 \pm 2,73$
15b	$7,59 \pm 0,63$	$15,58 \pm 1,67$
30	$18,00 \pm 0,35$	$1316,51 \pm 25,01$
31d	$5,375 \pm 0,01$	$8,74 \pm 1,54$
31m	$5,41 \pm 1,39$	$13,04 \pm 3,21$
31i	$9,38 \pm 1,18$	$22,65 \pm 1,09$
34a	$7,05 \pm 1,19$	$12,46 \pm 2,99$

Tableau 11 : EC_{50} des composés sélectionnés sur KU812 et K562

Pour les composés choisis, les CE_{50} de viabilité ont été évaluées par MTT. Les courbes dose-réponse ont été réalisées avec des concentrations en composé de 100 nM, 1 μ M, 10 μ M et 50 μ M.

2. Discussion

Les résultats des tests de criblage ont permis de déterminer la capacité antiproliférative et cytotoxique des nouveaux analogues et d'orienter nos choix de pharmacomodulations.

Lors des tests préliminaires, le composé « hit » CP196i (Figure 27) a montré une activité inhibitrice de la phosphorylation de STAT5 par Western Blot après 72 h de traitement à une dose de 10 μ M sur la lignée KU812.

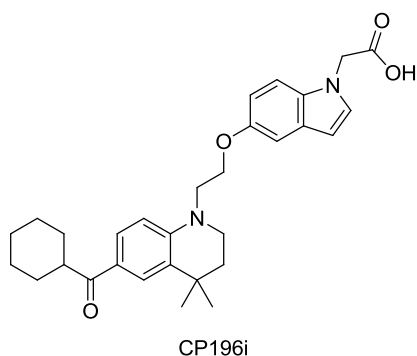


Figure 27 : structure du composé CP196i

Cependant, les tests de prolifération et de viabilité montrent une efficacité cytotoxique limitée du « hit » CP196i sur les lignées K562 et KU812, avec des CE_{50} de 8,7 mM et 0,2 mM respectivement. Les composés **16c**, **30**, **15a** et **15b** (Figure 28), analogues structurellement proches du « hit » CP196i, ont été évalués pour leurs effets antiprolifératifs et cytotoxiques.

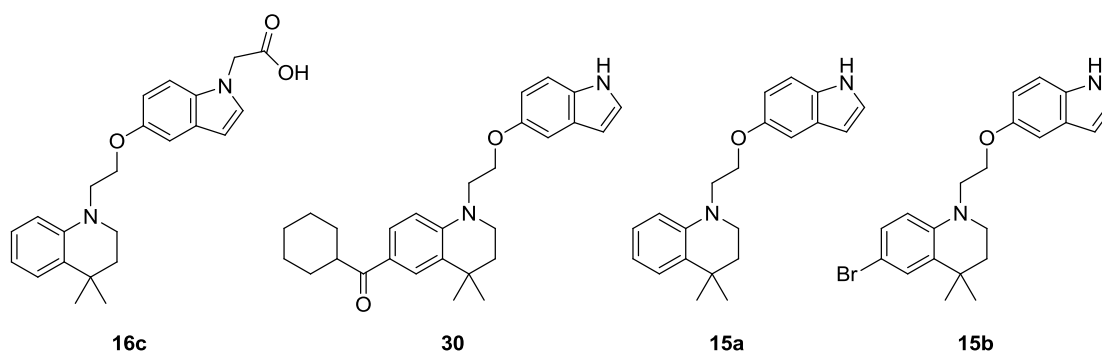


Figure 28 : structures des composés 16c, 30, 15a et 15b

Pour le composé **16c** (Figure 28), la délétion du groupement cyclohexanoylé entraîne une perte complète de l'efficacité cytotoxique. En revanche, pour le composé **30** (Figure 28), l'élimination du groupement acide acétique sur l'indole entraîne un gain d'efficacité cytotoxique par rapport au « hit » CP196i, avec une CE_{50} 16 fois plus faible sur K562 et 1,3 fois plus faible sur KU812. Enfin, pour le composé **15a** (Figure 28), la suppression des deux substituants mène à une augmentation de l'efficacité cytotoxique avec une CE_{50} de 79 μ M sur K562 et de 15 μ M sur KU812. L'efficacité cytotoxique du composé **15a** est donc 109 fois plus forte sur K562 et 13 fois plus forte sur KU812 que celle du « hit » CP196i. Le composé **15b** (Figure 28), bromé en position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine, est plus cytotoxique que **15a** avec une CE_{50} de 16 μ M sur K562 et de 8 μ M sur KU812.

Afin d'évaluer l'importance de la substitution ou non de l'azote, les intermédiaires **14** et **16b** (Figure 29) respectivement *N*-alkylés par un groupement benzyle et un groupement acétate d'éthyle ont été évalués pour leurs effets antiprolifératifs et cytotoxiques.

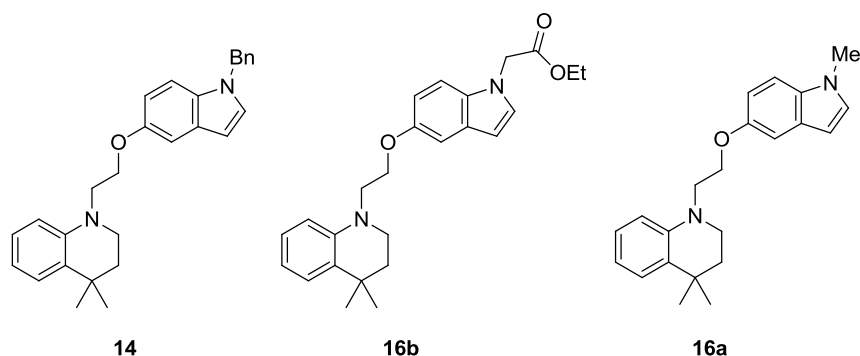


Figure 29 : structures des composés 14, 16b et 16a

Ces deux composés *N*-alkylés se sont révélés inactifs. Nous supposons que l'azote libre de l'indole joue donc un rôle de donneur de liaison hydrogène. Pour vérifier notre hypothèse et afin d'exclure la composante d'encombrement stérique, nous avons alors synthétisé le dérivé **16a** (Figure 29) *N*-méthylé. Ce composé étant inactif, nous pouvons conclure que l'azote non-substitué de l'indole est indispensable à l'efficacité cytotoxique et doit donc être conservé dans la suite des pharmacomodulations.

Le composé **20** (Figure 30), analogue du dérivé **15a** présentant comme hétérocycle B le 7-azaindole à la place de l'indole, a aussi été évalué pour ses effets antiprolifératifs et cytotoxiques.

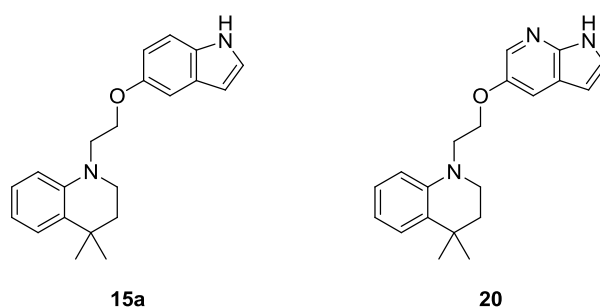


Figure 30 : structures des composés 15a et 20

Cependant, en série 7-azaindole, le dérivé **20** a perdu l'activité anti-leucémique observée pour le dérivé **15a**.

Les analogues **31a** à **31o**, modifiés en position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine, ont été évalués pour leurs effets antiprolifératifs et cytotoxiques.

Avec une CE_{50} de 9 μ M sur K562 et de 5 μ M sur KU812, le composé **31d** (Figure 31) est 962 fois plus efficace sur K562 et 32 fois plus efficace sur KU812 que le composé CP196i. Le composé **31c** (Figure 31) avec le groupement 3-nitrophényle possède la même distribution électronique que le dérivé **31d** mais est inactif. Par ailleurs, l'analogue **31a** (Figure 31) avec le groupement phényle possède le même volume que la molécule **31d** mais est inactif.

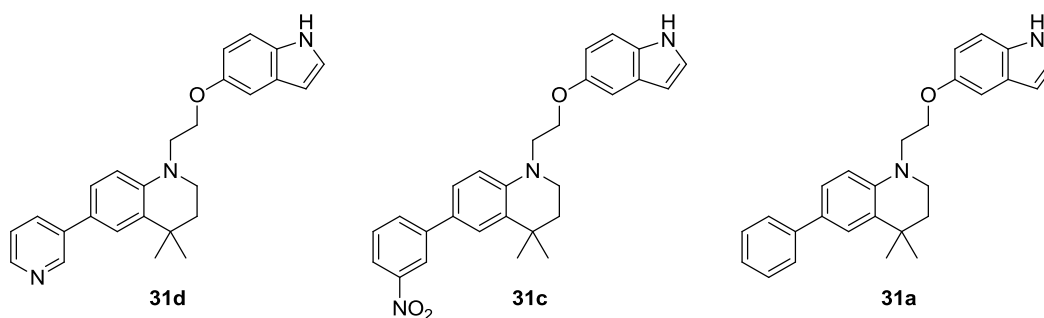


Figure 31 : structures des composés 31d, 31c et 31a

Nous supposons donc que le caractère accepteur de liaison hydrogène de l'azote de la pyridine du composé **31d** est nécessaire à l'activité de ce dernier.

Les analogues **31j**, **31k** et **31l** (Figure 32), substitués en position 2 de la pyridine respectivement par un groupement chlore, fluor ou méthoxy ont alors été évalués pour leurs effets antiprolifératifs et cytotoxiques.

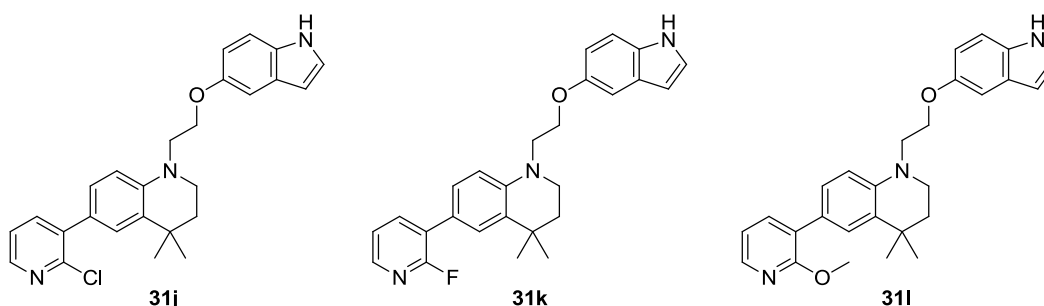


Figure 32 : structures des composés 31j, 31k et 31l

La substitution de la position 2 de la pyridine par le groupement chlore, fluor ou méthoxy entraîne une perte de l'efficacité cytotoxique des analogues **31j**, **31k** et **31l**.

Les analogues **31m**, **31n** et **31o** (Figure 33), substitués en position 6 de la pyridine respectivement par un groupement chlore, fluor ou méthoxy ont été évalués pour leurs effets antiprolifératifs et cytotoxiques.

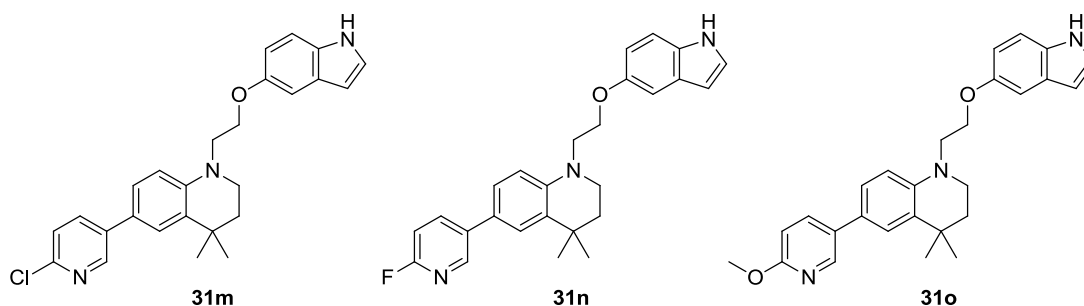


Figure 33 : structures des composés 31m, 31n et 31o

L'analogue chloré **31m** et le dérivé fluoré **31n** ont une cytotoxicité très proche de celle du composé **31d** sur la lignée KU812. L'introduction du groupement méthoxy en position 6 entraîne une diminution de l'activité du composé **31o**. Cette position reste donc à étudier *via* l'introduction d'autres substituants.

Les analogues **31i** et **32** (Figure 34), présentant l'azote de la pyridine respectivement en position 4 et 2 ont été évalués pour leurs effets antiprolifératifs et cytotoxiques.

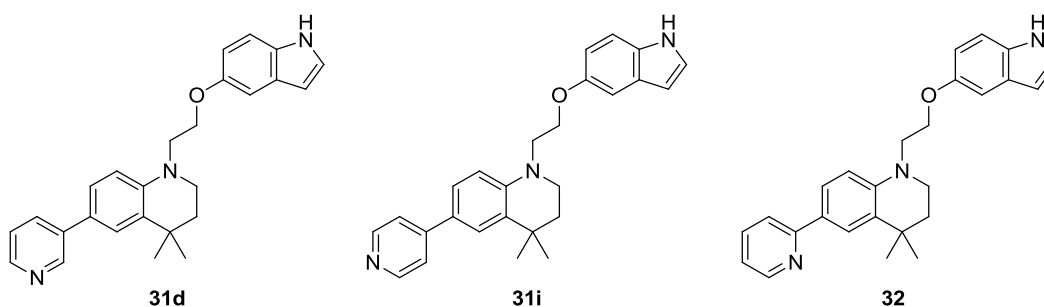


Figure 34 : structures des composés 31d, 31i et 32

Le déplacement de l'azote de la position 3 à 4 sur le dérivé **31i** réduit l'efficacité cytotoxique par 2,5 sur la lignée K562 et par 1,8 sur la lignée KU812 par rapport au composé **31d**. Le déplacement de l'azote de la position 3 à 2 sur le composé **32** entraîne quant à lui, une perte complète d'efficacité cytotoxique sur les lignées K562 et KU812.

Le composé **34a**, homologue du dérivé **15a** (Figure 35), a été évalué pour ses effets antiprolifératifs et cytotoxiques.

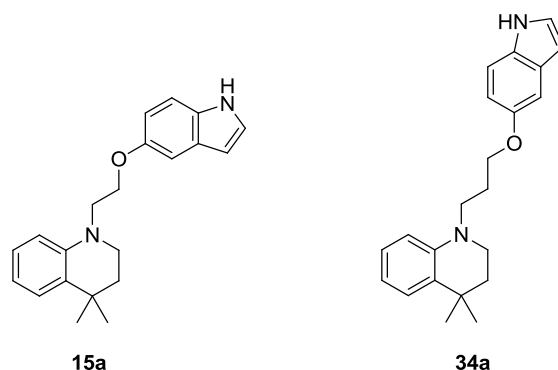


Figure 35 : structures des composés 15a et 34a

Les effets antiprolifératifs et cytotoxiques du composé **34a** sont améliorés par rapport au composé **15a**. L'homologation de **15a** ayant augmenté son activité, nous avons décidé d'appliquer cette modification à l'analogue le plus prometteur, le dérivé **31d**.

L'analogue **35** (Figure 36), issu de l'homologation du composé **31d**, a été évalué pour ses effets antiprolifératifs et cytotoxiques.

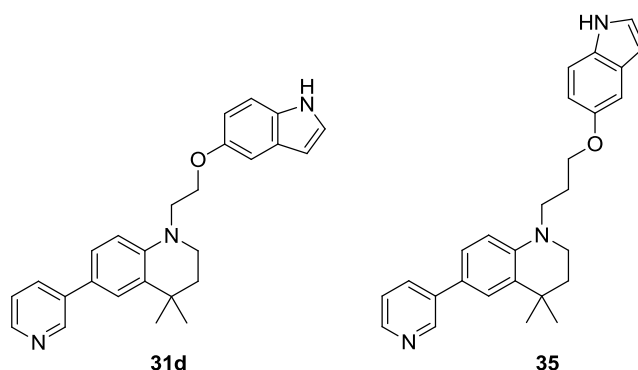


Figure 36 : structures des composés 31d et 35

Cependant, le composé **35**, homologue de **31d**, n'a aucun effet antiprolifératif ou cytotoxique sur les lignées KU812 et K562. La distance séparant l'indole du groupement 3-pyridine de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine est donc déterminante pour l'efficacité cytotoxique du composé **31d**.

Après l'analyse des CE_{50} de viabilité des composés sélectionnés, ces derniers ont été évalués pour leur capacité à induire l'apoptose de cellules leucémiques.

C. Evaluation de l'apoptose induite sur des cellules de la lignée KU812 par les composés CP196i, 15a, 15b, 30, 31d, 31m, 31i, et 34a

1. Principe de la mesure de l'apoptose

La membrane des cellules est constituée d'une bicouche de phospholipides (Figure 37). Dans les cellules vivantes, les phosphatidylsérines (PS), composants chargés négativement de cette couche, se trouvent sur le versant intracellulaire de la double couche. Lorsqu'une cellule entame le processus de mort programmée appelé apoptose, les résidus phosphatidylsérine sont transloqués sur le versant extracellulaire. Or la protéine nommée Annexine-V possède une forte affinité pour ces résidus. Cette protéine couplée à un fluorochrome comme la fluorescéine permet la détection de ces résidus transloqués et donc révèle la phase précoce d'entrée en apoptose.

Un autre fluorochrome, la 7-aminoactinomycine D (7-AAD) dérivé de l'actinomycine D, s'intercale entre les paires de bases C-G de l'ADN. Le 7-AAD n'étant pas perméant, seules les cellules mortes, dont l'intégrité de la membrane est compromise, sont marquées (Figure 37).

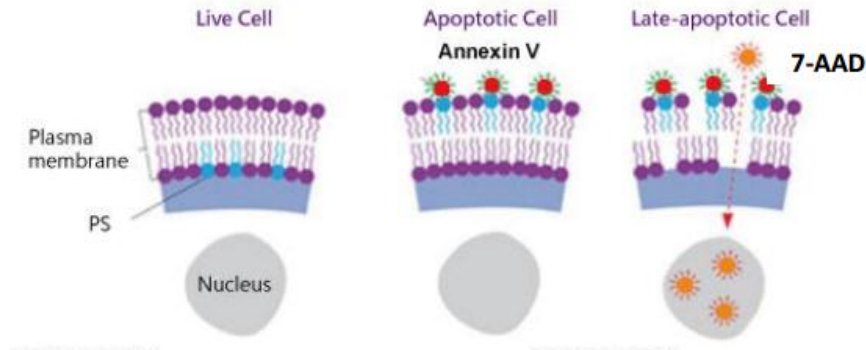


Figure 37 : principe de la mesure d'apoptose (<http://www.ac-grenoble.fr>)

La combinaison de ces deux fluorochromes permet de différencier les cellules vivantes (Annexine-V et 7-AAD négatives), des cellules en phase d'apoptose (Annexine-V positives, 7-AAD négatives) et des cellules mortes (Annexine-V positives, 7-AAD positives) d'une population cellulaire.

2. Résultats et discussion

La capacité de nos composés les plus cytotoxiques à induire l'apoptose de cellules de la lignée KU812, après 48 heures de traitement, a été évaluée par cytométrie en flux avec révélation à l'Annexine V et au 7-AAD. Ces résultats sont reportés sur la Figure 38.

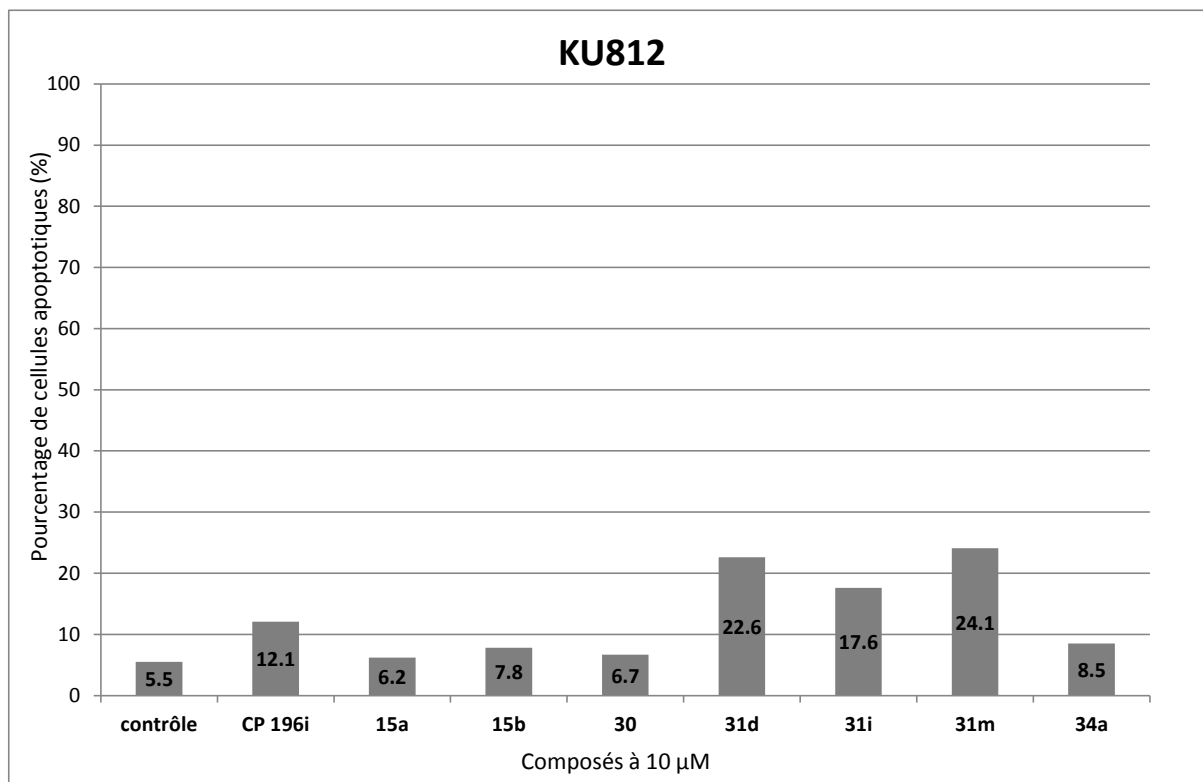


Figure 38 : évaluation de l'effet apoptotique sur la lignée KU812

Les composés **31d**, **31i** et **31m** induisent l'apoptose des cellules KU812 plus fortement que le « hit » CP196i. Pour ces trois dérivés possédant le motif pyridine, l'induction d'apoptose est corrélée avec les valeurs de CE_{50} (5, 9 et 5 μ M). Pour les composés **15a**, **15b** et **35** qui ne possèdent pas le motif pyridine, l'induction d'apoptose observée est étonnamment limitée au regard de leurs valeurs de CE_{50} (15, 8 et 7 μ M). Un exemple de l'effet apoptotique du composé **31d** est présenté en comparaison du contrôle sur la Figure 39.

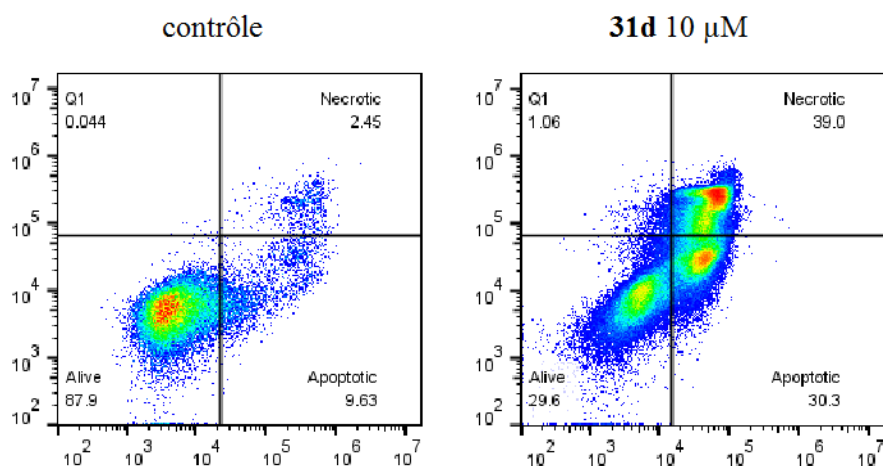


Figure 39 : effet apoptotique du composé 31d sur les cellules de la lignée KU812

Après l'analyse de l'effet apoptotique induit par les composés sélectionnés, ces derniers ont été évalués pour leur capacité à inhiber les facteurs de transcription STAT5.

D. Effets des composés les plus cytotoxiques sur les facteurs de transcription STAT5

L'état d'activation et d'expression du facteur de transcription STAT5 a été évalué par Western Blot sur la lignée KU812 après 10 heures de traitement par 10 μM des composés sélectionnés.

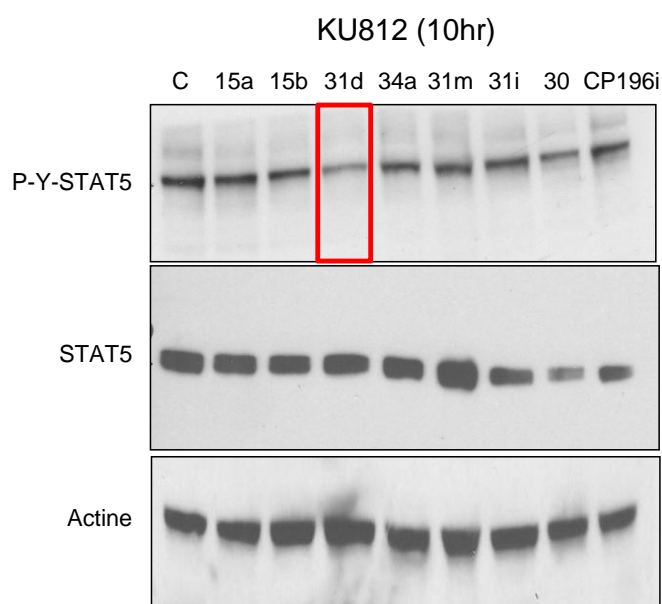


Figure 40 : phosphorylation et expression de STAT5 dans la lignée KU812 en présence de 10 μM des composés sélectionnés

Le composé **31d** est l'unique dérivé de notre série capable de diminuer la phosphorylation du facteur de transcription STAT5 dans les lignées KU812 dès 10 h de traitement (Figure 40).

Les résultats obtenus sur la série des composés sélectionnés montrent que le dérivé **31d** inhibe le plus fortement la prolifération et la viabilité des lignées KU812 et K562, mais aussi induit le plus fortement l'apoptose des cellules de la lignée KU812 et inhibe la phosphorylation des facteurs de transcription dès 10 heures de traitement. Le composé **31d** est donc à considérer comme notre nouveau chef de file et une évaluation approfondie de son potentiel anti-leucémique a été menée.

E. Evaluation biologique approfondie du chef de file **31d**

Une étude approfondie est en cours afin de caractériser le potentiel anti-leucémique, la sélectivité et le mode d'action du composé **31d** sur STAT5 dans les leucémies myéloïdes. Les premiers résultats de cette étude menée par nos partenaires biologistes sont présentés ci-après.

1. Expression des gènes *STAT5*

L'expression des gènes *STAT5* dans les cellules de la lignée KU812 a été évaluée par PCR quantitative en temps réel après 15 heures de traitement avec 10 μ M de composé **31d** (Figure 41).

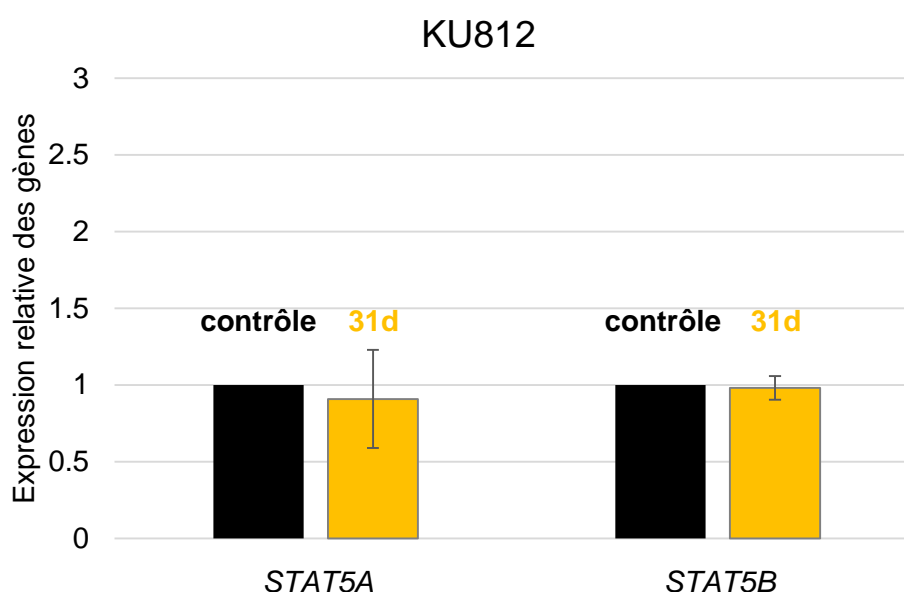


Figure 41 : influence du composé 31d sur l'expression des gènes *STAT5*

Pour une dose de 10 μM de **31d**, l'expression des gènes *STAT5A* et *STAT5B* dans les cellules de la lignée KU812 n'est pas modifiée (Figure 41). Donc les effets antiprolifératifs et cytotoxiques du chef de file **31d** ne sont pas dus à une inhibition de l'expression des facteurs de transcription STAT5.

2. Expression du gène *PIMI*

L'expression de *PIMI*, gène cible de STAT5, a été évaluée par PCR quantitative en temps réel après 15 heures de traitement avec 10 μM de **31d** ou avec 1 μM d'imatinib comme contrôle positif (Figure 42).

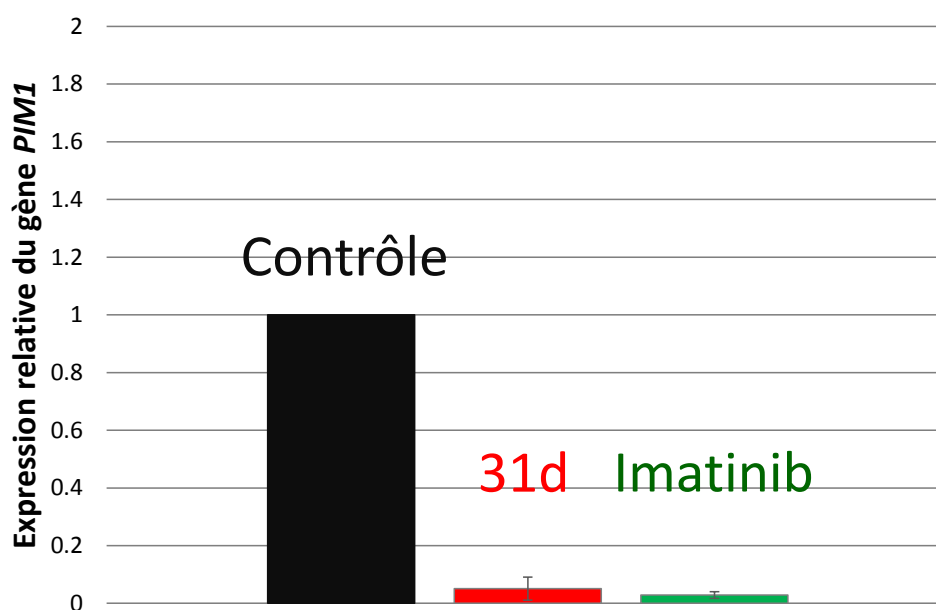


Figure 42 : évaluation de l'impact du composé 31d sur l'expression de *PIMI*

Le traitement par 10 μM de composé **31d** entraîne une diminution de l'expression du gène *PIMI* similaire à celle observée pour une dose de 1 μM d'imatinib. L'efficacité du composé **31d** est donc corrélée à l'inhibition de l'activité transcriptionnelle de STAT5. L'expression de deux autres gènes cibles de STAT5, *CISH* et *BCL-XL*, a également été évaluée, mais les effets observés sur l'expression de ces gènes ne sont pas comparables à ceux obtenus avec l'imatinib.

3. Test de l'efficacité cytotoxique de **31d** sur des lignées de LAM

L'efficacité cytotoxique du composé **31d** a été évaluée sur les lignées KG1a et MV-4-11, modèles de LAM. Les CE_{50} mesurées sont reportées dans le Tableau 12.

Lignée cellulaire	CE ₅₀ (μM)
KG1a	2,64 ± 0,51
MV-4-11	3,55 ± 0,47

Tableau 12 : évaluation du composé 31d sur les lignées KG1a et MV-4-11 modèles de LAM

Le composé **31d** diminue la viabilité des lignées KG1a et MV-4-11 avec des CE₅₀ de 2,6 et 3,5 μM respectivement. L'efficacité cytotoxique sur la lignée MV-4-11 du composé **31d** est aussi importante que celle d'autres composés décrits dans la littérature comme le composé « 13a » (Figure 43)⁸⁰.

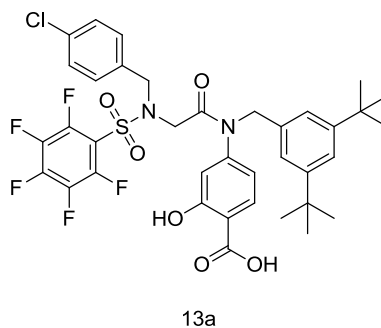


Figure 43 : structure du composé 13a

4. Tests de sélectivité

La sélectivité du composé **31d** vis-à-vis de l'activation et de l'expression des protéines STAT3, AKT et ERK1/2 a été évaluée par Western Blot (Figure 44).

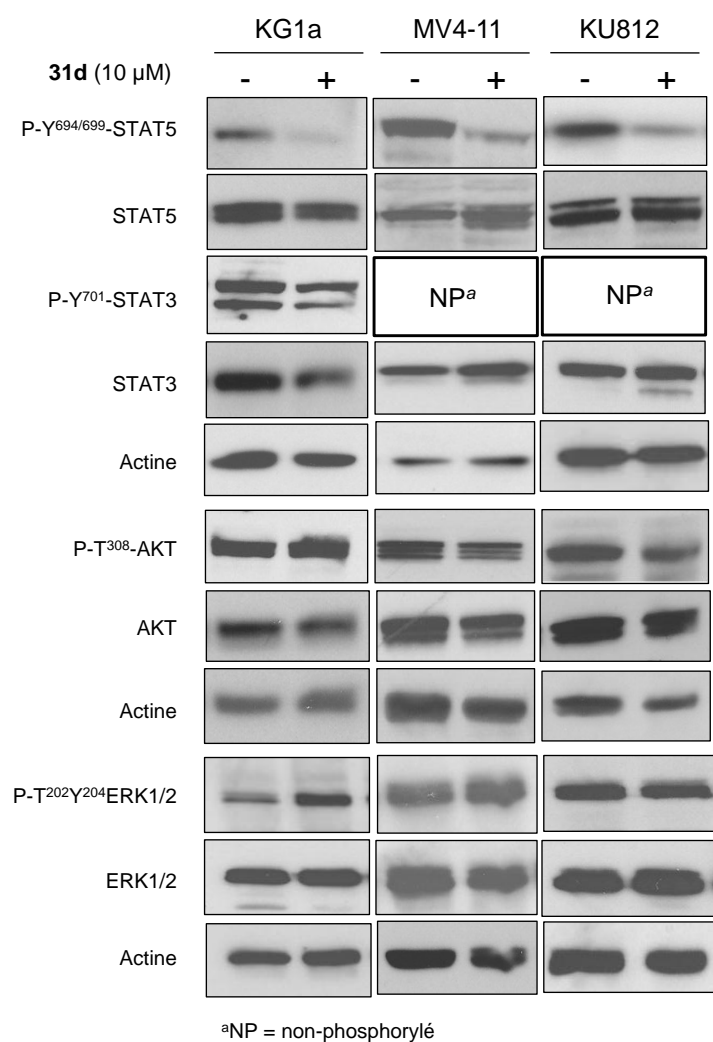


Figure 44 : évaluation de la sélectivité du composé 31d vis-à-vis de STAT3, ERK1/2 et AKT

Le composé **31d** inhibe la phosphorylation de STAT5 dans cellules des lignées KG1a, MV-4-11 et KU812 avec un bon profil de sélectivité vis-à-vis des protéines STAT3, AKT et ERK1/2 après 24 heures de traitement.

5. Evaluation biologique vis-à-vis de PPAR γ

Le « hit » CP196i étant issu à l'origine d'un projet visant PPAR γ , nous avons souhaité vérifier que les effets antiprolifératifs et cytotoxiques du chef de file **31d** étaient indépendants de mécanismes potentiels d'activation des récepteurs PPAR γ . A cette fin, nous avons évalué l'inhibition de la prolifération (Figure 46) et de la viabilité (Figure 47) des cellules de la lignée KU812 par la rosiglitazone ou par **31d** en présence ou non de l'antagoniste de PPAR γ GW9662 (Figure 45).

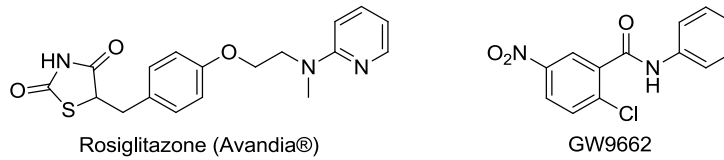


Figure 45 : structures de la rosiglitazone et du composé GW9662

Tous les composés ont été utilisés à une concentration de 10 μ M.

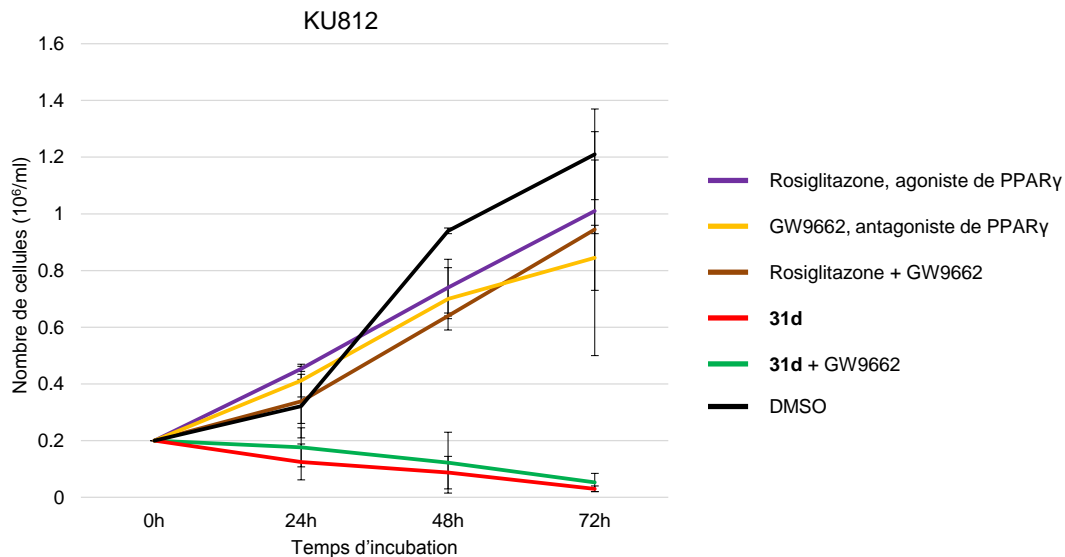


Figure 46 : effets du chef de file 31d sur la prolifération des cellules de la lignée KU812 en présence ou non de GW9662

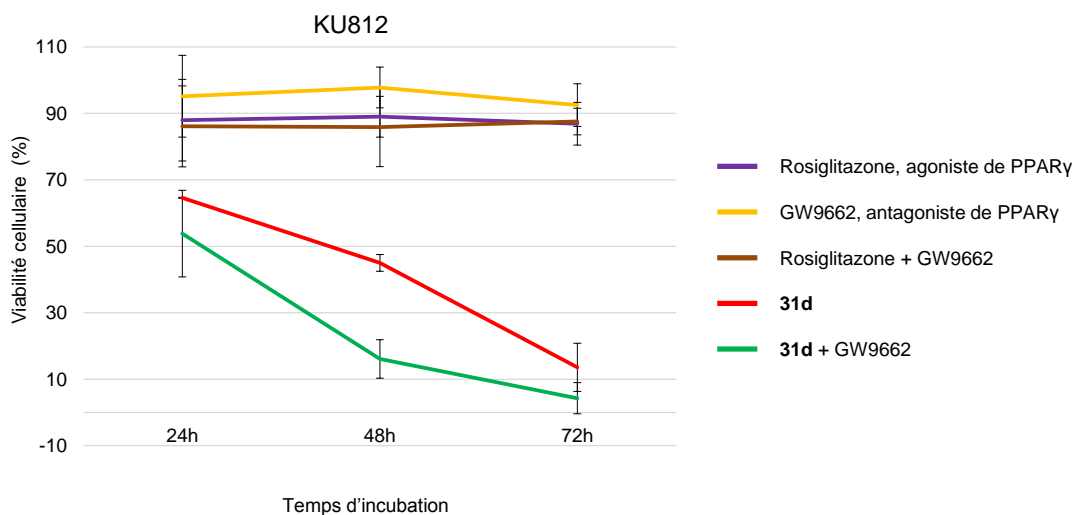


Figure 47 : effets du chef de file 31d sur la viabilité des cellules de la lignée KU812 en présence ou non de GW9662

Les effets antiprolifératifs et cytotoxiques n'ont pas été bloqués par le composé GW9662, ce qui indique que l'activation des récepteurs PPAR γ n'est pas impliquée dans l'activité inhibitrice du chef de file **31d**.

Pour conclure, le nouveau chef de file **31d** est l'analogue le plus actif identifié au cours de ce travail de thèse. Il réduit la viabilité des lignées modèles de leucémie myéloïde chronique et aigüe avec des CE₅₀ de 3 à 9 μ M. Il induit l'apoptose des cellules de la lignée KU812 et inhibe la phosphorylation de STAT5 à 10 μ M dès 10 h de traitement. L'efficacité du composé **31d** est corrélée à l'inhibition de l'activité transcriptionnelle de STAT5. En effet, l'expression des gènes STAT5 n'est pas modifiée, mais l'expression du gène cible de STAT5 *PIM1* est inhibée.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

I. Conclusion générale

Les hémopathies malignes correspondent à un ensemble hétérogène de cancers des cellules sanguines et de leurs précurseurs. On y retrouve les lymphomes, prolifération anormale de cellules sanguines dans les organes lymphoïdes, les myélomes, prolifération incontrôlée de plasmocytes anormaux, les syndromes myélodysplasiques, production par la moelle de cellules sanguines morphologiquement anormales dites « dysplasiques » et les leucémies. Les leucémies, les syndromes myéloprolifératifs et myélodysplasiques sont la première cause de cancer chez l'enfant de moins de 15 ans.

Depuis quinze ans, de nombreux faits expérimentaux ont souligné le rôle indispensable des facteurs de transcription STAT5 dans la genèse et le maintien des leucémies. En effet, leur activation provoque la transcription de gènes cibles qui jouent un rôle majeur dans la prolifération, la différenciation et l'apoptose des cellules. Par ailleurs, l'activation anormale des facteurs de transcription STAT5 a été corrélée à l'emballement du cycle cellulaire et à une inhibition de l'apoptose. Enfin, une délétion de STAT5 dans des cellules leucémiques provoque un arrêt du cycle cellulaire suivie d'apoptose. Les facteurs de transcription STAT5 représentent donc une cible de choix dans un but thérapeutique de rémission totale de ces pathologies. L'inhibition de l'activité de STAT5 contribuerait ainsi à éliminer l'impact de STAT5 sur la survie, l'auto-renouvellement et la quiescence des cellules cancéreuses ainsi que la résistance potentielle de ces cellules à des agents anti-cancéreux.

Par ailleurs, les données de la littérature ont montré une potentielle inhibition de STAT5 par l'activation des récepteurs PPARs. Dans le cas des hémopathies malignes, le traitement des cellules de certains lymphomes, de myélomes ou de leucémies myéloïdes *in vitro* par des thiazolidinediones, induit un arrêt de croissance et/ou l'apoptose de ces cellules, mais ces mécanismes restent peu clairs. En effet, bien que les thiazolidinediones soient des ligands synthétiques des récepteurs PPAR γ , les données concernant leurs effets antiprolifératifs montrent que leur activité pourrait passer par des mécanismes indépendants de l'activation de PPAR γ .

Des travaux antérieurs de l'équipe ont permis l'accès à une série de molécules, inventoriées dans notre chimiothèque (n° CNRS 069611), visant les récepteurs PPARs pour le traitement du diabète de type 2. Dans l'équipe LNOx (Leukemic Niche & redOx metabolism) de notre unité de recherche (UMR GICC 7292), le Docteur Fabrice Gouilleux est un spécialiste de la protéine STAT5. C'est dans ce contexte qu'il nous a paru évident d'évaluer l'activité biologique de certaines des molécules visant les récepteurs PPARs vis-à-vis des

facteurs de transcription STAT5. Ces travaux préliminaires ont permis l'identification du composé CP196i (Figure 48) comme un inhibiteur de la phosphorylation de STAT5 au mécanisme d'action indépendant de l'activation des récepteurs PPARs et ayant de surcroît, un effet antiprolifératif sur la lignée KU812 modèle de leucémie myéloïde chronique.

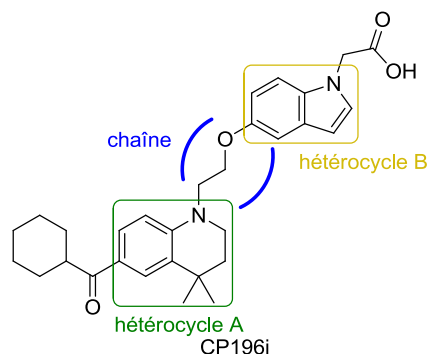


Figure 48 : structure du composé CP196i

Le composé CP196i est constitué d'un squelette bi-hétérocyclique comprenant un noyau 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine relié à un indole par une chaîne éthoxy.

Dans le cadre de ce travail de recherche, nous avons développé la synthèse d'analogues du CP196i en gardant le squelette central du bicyclic dans le but d'obtenir de meilleurs inhibiteurs. Dans un premier temps, nous nous sommes concentrés sur la formation du bicyclic qui constitue une étape limitante.

L'étape d'*O*-alkylation limitante a été remplacée par une étape de *N*-alkylation, via une réaction d'amination réductrice. Cette nouvelle voie de synthèse est reproductible, modulable et permet d'obtenir le bicyclic en 8 étapes avec un rendement global de 30% sur le dérivé non-bromé et 32% sur le dérivé bromé en position 6 du noyau 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (Schéma 66).

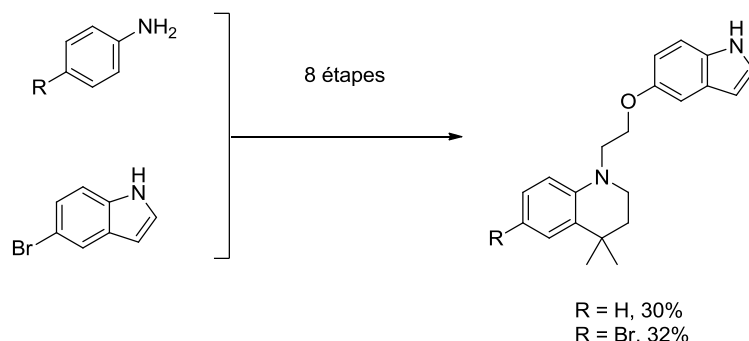


Schéma 66 : optimisation de la voie de synthèse du bicyclic

La deuxième partie de ce travail a ensuite consisté à réaliser la synthèse d'analogues du « hit » CP196i selon diverses modifications.

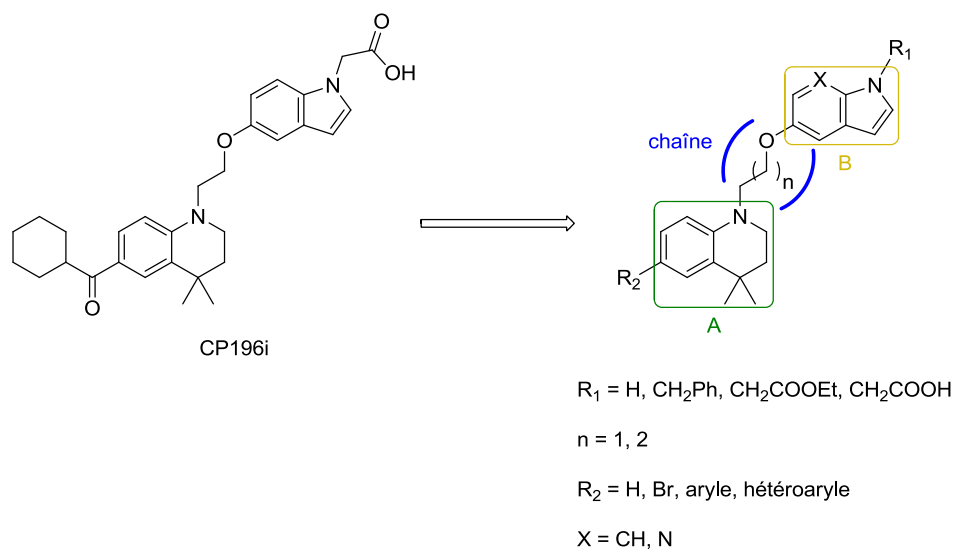


Schéma 67 : élaboration de nouveaux analogues

Les premières pharmacomodulations ont concerné la substitution de l'azote de l'indole par différents groupement benzyle, méthyle, acide acétique et ester correspondant. Enfin, nous avons envisagé le remplacement du noyau indole par le 7-azaindole.

Les nouveaux analogues présentant l'indole *N*-substitué sont tous inactifs. Les analogues possédant l'azote de l'indole non substitué, sont tous plus actifs que le « hit » C196i (Figure 49). Le remplacement de l'indole par l'azaindole a entraîné une perte de l'activité.

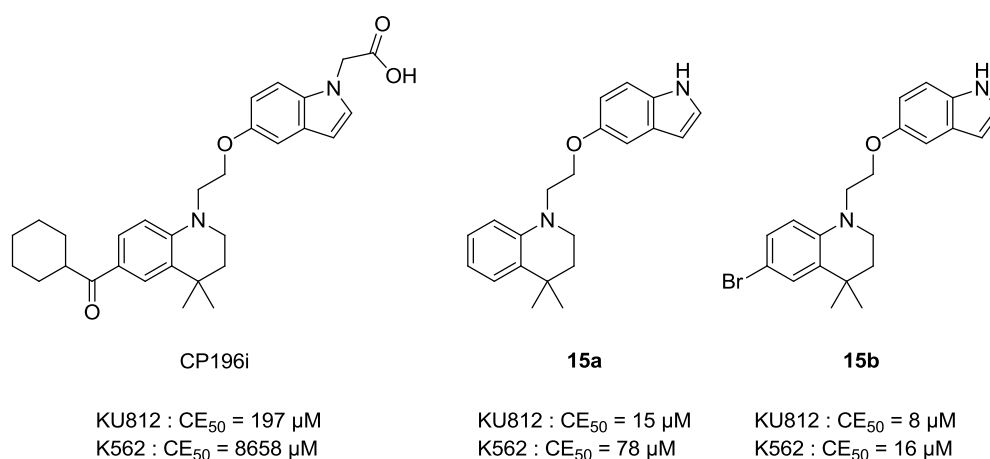


Figure 49 : analogues actifs de la première série

En conclusion, cette première série de molécules met en évidence le rôle indispensable de l'indole présentant l'azote libre dans l'efficacité cytotoxique des nouveaux analogues du « hit » CP196i. Nous avons donc choisi de poursuivre nos travaux en conservant ce motif.

Nous nous sommes alors intéressés à la substitution de la position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine. L'introduction d'un atome de brome a permis de réaliser des réactions pallado-catalysées et notamment des couplages de Suzuki. Ces réactions ont permis l'introduction de groupements aryles et hétéroaryles différemment substitués avec de bons rendements.

Les molécules actives de cette série sont les composés **31d**, **31m**, **31n** et dans une moindre mesure le dérivé **31i** (Figure 50).

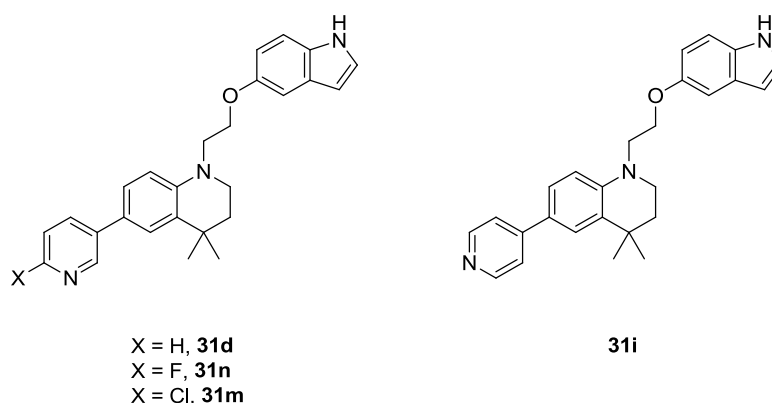
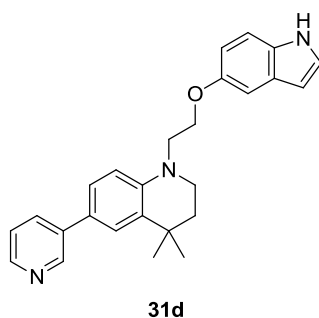


Figure 50 : structures des analogues actifs

Cette deuxième série d'analogues met en évidence le rôle déterminant du groupement pyridin-3-yle en position 6 de la 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine. Par ailleurs, cette étude a permis d'identifier notre chef de file 31d, en tant qu'inhibiteur de la phosphorylation de STAT5 présentant de surcroît un effet antiprolifératif et cytotoxique amélioré.

Enfin, l'étude de pharmacomodulation a été poursuivie par l'homologation de la chaîne du bicyclic qui relie les hétérocycles A et B.

Les trois molécules synthétisées n'ont pas montré une meilleure activité. Ce résultat nous a permis de conclure que la distance entre les hétérocycles A et B module l'activité des nouveaux analogues.



KU812 : CE₅₀ = 5 μM
 K562 : CE₅₀ = 9 μM
 KG1a : CE₅₀ = 3 μM
 MV-4-11 : CE₅₀ = 4 μM

Figure 51 : structure du chef de file 31d

Le composé **le plus actif** identifié au cours de ce travail de thèse est donc le dérivé **31d** (Figure 51), qui présente une CE₅₀ de 5 μM et de 9 μM sur les cellules de la lignée KU812 et K562, soit une activité respectivement **39 fois et 962 fois plus importante** que le « hit » de départ CP196i. Il **induit l'apoptose** des cellules de la lignée KU812 et **inhibe la phosphorylation de STAT5** à 10 μM dès 10 h de traitement. L'efficacité du composé **31d** est corrélée à **l'inhibition de l'activité transcriptionnelle de STAT5**. En effet, l'expression des gènes STAT5 n'est pas modifiée, mais l'expression du gène cible de STAT5 *PIMI* est inhibée. Enfin, le chef de file **31d** présente également une activité inhibitrice de STAT5 dans les lignées KG1a et MV-4-11 modèles de LAM. Cette activité est corrélée à une cytotoxicité intéressante (CE₅₀ de 3 à 4 μM).

II. Perspectives

A court terme, nous envisageons d'évaluer la toxicité du composé **31d** sur des cellules sanguines normales. Une vérification de la transposition des effets *in vitro* sur un modèle *in vivo* pourra alors être envisagée.

Si nous nous sommes intéressés au cours de cette étude à l'obtention d'inhibiteurs du facteur de transcription STAT5 pour le traitement des leucémies myéloïdes, il est important de souligner que STAT5 intervient dans d'autres pathologies, tels les cancers de la prostate, du colon, les gliomes et les mélanomes. Le composé **31d** pourrait donc également avoir un intérêt pour le traitement de ces pathologies cancéreuses.

La synthèse développée au cours de ce travail de thèse est modulable et optimisée. Ainsi, de nombreuses autres pharmacomodulations peuvent être envisagées pour moduler l'activité des nouveaux analogues sur STAT5.

A plus long terme, la poursuite de ce projet requiert une étude de modélisation moléculaire de STAT5 afin d'orienter rationnellement nos futurs choix de pharmacomodulation et de synthétiser de nouveaux inhibiteurs encore plus actifs que le chef de file **31d**.

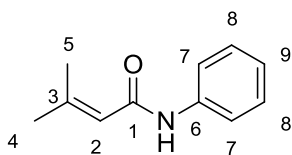
PARTIE EXPÉRIMENTALE

I. Modes opératoires des synthèses et caractéristiques physicochimiques des produits décrits

Tous les réactifs commerciaux sont utilisés sans purification préalable. Pour les réactions en conditions anhydres et sous gaz inerte, la verrerie est chauffée à l'aide d'un décapeur thermique pendant trois cycles vide/argon. L'évolution des réactions est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM) sur feuilles d'aluminium recouverte de gel de silice Merck (60 Å, F₂₅₄) et la révélation est réalisée sous lampe ultraviolet (UV) à 254 et 365 nm. Les purifications par colonnes de chromatographie sur gel de silice sont réalisées sur l'automate ISCO Combi Flash RF 75 PSI, avec des colonnes pré-paquées Redisep (60 Å, 230-400 mesh, grade 9385). Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton ¹H, du carbone ¹³C et du fluor ¹⁹F sont réalisés sur un appareil Brücker Ultrashield 300 (300 MHz (¹H), 75 MHz (¹³C) et 282 MHz (¹⁹F)). Les analyses sont réalisées dans le chloroforme deutéré (CDCl₃) ou dans le diméthylsulfoxyde deutéré (DMSO-d₆). Les déplacements chimiques (δ) sont mesurés en parties par million (ppm) par rapport au signal résiduel du chloroforme deutéré (CDCl₃) (δ¹H = 7,26 ppm, δ¹³C = 77,1 ppm) ou au signal résiduel du diméthylsulfoxyde hexadeutééré (DMSO-d₆) (δ¹H = 2,50 ppm, δ¹³C = 39,5 ppm).

Les constantes de couplage (*J*) sont exprimées en hertz (Hz) et la multiplicité est décrite de la façon suivante : singulet (s), doublet (d), doublet de doublet (dd), triplet (t), quadruplet (q), multiplet (m). Afin de clarifier la lecture des analyses RMN, la numérotation des atomes pour l'attribution des signaux a été fixée arbitrairement. Les analyses de spectrométrie de masse haute résolution (SMHR) ont été réalisées sur un spectromètre Q-Exactive de Thermo Scientific avec la technique d'ionisation par électrobulbion (ESI). Les points de fusion (Pf) ont été mesurés à l'aide d'un tube capillaire ouvert au moyen d'un appareil Büchi Melting Point Model B-540. La pureté des composés testés *in vitro* est déterminée par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) et est supérieure à 95%. Les analyses CLHP ont été réalisées sur le système LaChrom Elite [Hitachi L-2130 (pompe) et L-2400 (détecteur UV)] avec une détection UV à 254 nm. La colonne utilisée est une Phenomenex Synergi™ C-12, 4 µm taille de particule (100 mm × 4,6 mm), protégée par une pré-colonne Phenomenex Security Guard cartridge kit C12 (4,0 mm × 3,0 mm); élution réalisée avec 0,2% (en volume) de TFA dans l'eau (solvant A), et de l'acétonitrile (solvant B); gradient 35-100% de B au débit de 1 mL.min⁻¹; une température de 25 °C; injection de 10 µL d'une solution à 1,1 mg.mL⁻¹ dans le DMSO.

3-Méthyl-*N*-phénylbut-2-énamide (**1a**)



$C_{11}H_{13}NO$

MM = 175,23 g/mol

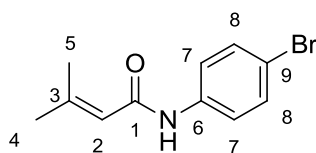
CAS : 13209-80-8

A une solution d'aniline (6,52 g ; 70,00 mmol) dans de la pyridine anhydre (32 mL) à 0 °C sous argon, est ajouté goutte à goutte le chlorure de 3,3-diméthylacryloyle (9,34 mL ; 84,00 mmol ; 1,2 éq.). Le milieu réactionnel est agité 5 h à TA puis hydrolysé prudemment par une solution d'HCl 1 M (500 mL). Le précipité obtenu est essoré puis lavé à l'eau (2 × 100 mL) et à l'heptane (2 × 100 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 90/10) pour conduire au composé **1a** sous la forme d'un solide blanc (8,70 g ; 95%).

Pf : 132-133 °C (litt. : 129-130 °C)¹⁴¹ ;

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,53 (m, 2H, **H**₇), 7,36 – 7,28 (m, 2H, **H**₈), 7,13 – 7,02 (m, *J* = 7,4 Hz, 2H, **H**₉), 5,71 (m, 1H, **H**₂), 2,22 (d, *J* = 1,2 Hz, 3H, **H**₅), 1,91 (d, *J* = 1,1 Hz, 3H, **H**₄).

N-(4-Bromophényl)-3-méthylbut-2-énamide (**1b**)



$C_{11}H_{12}BrNO$

MM = 254,12 g/mol

CAS : 135631-89-9

A une solution de 4-bromoaniline (17,20 g ; 100,00 mmol) dans de la pyridine anhydre (43 mL) à 0 °C sous argon, est ajouté goutte à goutte le chlorure de 3,3-diméthylacryloyle (13,35 mL ; 120,00 mmol ; 1,2 éq.). Le milieu réactionnel est agité 5 h à TA puis hydrolysé prudemment par une solution d'HCl 1 M (750 mL). Le précipité obtenu est essoré puis lavé à l'eau (2 × 100 mL) et à l'heptane (2 × 100 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 90/10) pour conduire au composé **1b** sous la forme d'un solide blanc (24,9 g ; 98%).

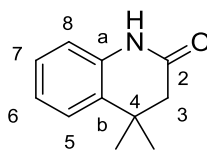
Pf : 121-122 °C (litt. : 118-119 °C)¹⁴² ;

RMN ¹H (DMSO, 300 MHz) : δ 9,96 (s, 1H, NH), 7,70 – 7,51 (m, 2H, H₇), 7,51 – 7,37 (m, 2H, H₈), 5,93 – 5,75 (m, 1H, H₂), 2,14 (d, *J* = 1,1 Hz, 3H, H₅), 1,86 (d, *J* = 1,0 Hz, 3H, H₄) ;

RMN ¹³C (DMSO, 75 MHz) : δ 164,7 (C₁), 152,0 (C₃), 138,9 (C₆), 131,4 (C₇), 120,9 (C₈), 118,9 (C₉), 114,4 (C₂), 27,1 (C₄), 19,5 (C₅) ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 254,01618, calculée pour $C_{11}H_{13}BrNO^+$ [M+H]⁺ 254,01750.

4,4-Diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-2(1H)-one (**2a**)



$C_{11}H_{13}NO$

MM = 175,23 g/mol

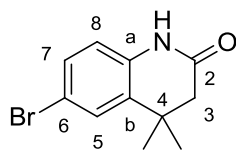
CAS : 76693-04-4

A une solution de 3-méthyl-*N*-phénylbut-2-énamide **1a** (11,70 g ; 66,78 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (80 mL) à 0 °C sous argon, est ajouté par portions du trichlorure d'aluminium (35,62 g ; 267,12 mmol ; 4,0 éq.) sur 30 min. Le mélange réactionnel est agité 1 h à TA, puis hydrolysé sur glace pilée et extrait à l'éther diéthylique (3 × 100 mL). La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (1 × 200 mL), puis avec de la saumure (1 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 70/30) pour conduire au composé **2b** sous la forme d'un solide blanc (10,20 g ; 87%).

Pf : 113-114°C (litt. : 111-112°C)¹⁴¹ ;

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,41 (s, 1H, **NH**), 7,30 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, **H₅**), 7,18 (m, 1H, **H₇** ou **H₆**), 7,05 (m, 1H, **H₆** ou **H₇**), 6,80 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, **H₈**), 2,50 (s, 2H, **H₃**), 1,33 (s, 6H, *gem* **CH₃**).

6-Bromo-4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-2(1H)-one (**2b**)



$C_{11}H_{12}BrNO$

MM = 254,12 g/mol

CAS : 135631-90-2

A une solution de *N*-(4-bromophényl)-3-méthylbut-2-énamide **1b** (24,90 g ; 97,98 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (120 mL) à 0 °C sous argon, est ajouté par portions du trichlorure d'aluminium (52,30 g ; 391,92 mmol ; 4,0 éq.) sur 30 min. Le mélange réactionnel est agité 1 h à TA, puis hydrolysé sur glace pilée et extrait à l'éther diéthylique (5 × 100 mL). La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (1 × 200 mL), puis avec de la saumure (1 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par recristallisation dans l'éthanol pour conduire au composé **2b** sous la forme d'un solide blanc (23,3 g ; 94%).

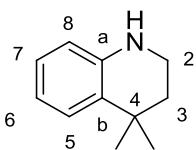
Pf : 175-176 °C (litt. : 174-175 °C)¹⁴² ;

RMN ¹H (DMSO, 300 MHz) : δ 10,26 (s, 1H, **NH**), 7,40 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, **H**₅), 7,33 (dd, *J* = 8,4, 2,2 Hz, 1H, **H**₇), 6,82 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, **H**₈), 2,35 (s, 2H, **H**₃), 1,21 (s, 6H, *gem* **CH**₃) ;

RMN ¹³C (DMSO, 75 MHz) : δ 169,2 (**C**₂), 136,4 (**C**_a), 134,7 (**C**_b), 129,9 (**C**₇), 127,1 (**C**₅), 117,4 (**C**₈), 114,1 (**C**₆), 44,4 (**C**₃), 33,8 (**C**₄), 27,0 (*gem* **CH**₃) ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 254,01628, calculée pour $C_{11}H_{13}BrNO^+$ [**M+H**]⁺ 254,01750.

4,4-Diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**3a**)



$C_{11}H_{15}N$

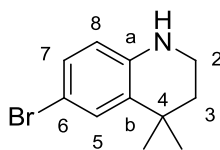
MM = 161,24 g/mol

CAS : 20364-31-2

A une solution de 4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-2(*1H*)-one **2a** (6,26 g ; 35,73 mmol) dans le toluène anhydre (67 mL) à 0 °C sous argon, est ajoutée goutte à goutte une solution du complexe borane/THF 1 M (135 mL ; 135,00 mmol ; 3,8 éq.). Le mélange est chauffé au reflux pendant 16 h, puis le milieu est hydrolysé à 0 °C par addition d'une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Le milieu réactionnel est extrait à l'acétate d'éthyle (2 × 200 mL) et la phase organique est lavée avec de la saumure (1 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 95/5) pour conduire au composé **3a** sous la forme d'une huile incolore (5,20 g ; 90%).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,19 (dd, $J = 7,7, 1,5$ Hz, 1H, **H₅**), 7,00 – 6,90 (m, 1H, **H₆**), 6,68 – 6,59 (m, 1H, **H₇**), 6,47 (dd, $J = 8,0, 1,2$ Hz, 1H, **H₈**), 3,88 (s, 1H, **NH**), 3,35 – 3,25 (m, 2H, **H₂**), 1,78 – 1,70 (m, 2H, **H₃**), 1,30 (s, 6H, *gem* **CH₃**).

6-Bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**3b**)



$C_{11}H_{14}BrN$

MM = 240,14 g/mol

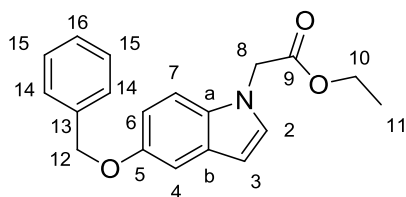
CAS : 135631-91-3

A une solution de 6-bromo-4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-2(*1H*)-one **2b** (8,60 g ; 33,84 mmol) dans le toluène anhydre (65 mL) à 0 °C sous argon, est ajoutée goutte à goutte une solution du complexe borane/THF 1 M (85 mL ; 85,00 mmol ; 2,5 éq.). Le mélange est chauffé au reflux pendant 4 h, puis le milieu est hydrolysé à 0 °C par addition d'une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Le milieu réactionnel est extrait à l'acétate d'éthyle (2 × 200 mL) et la phase organique est lavée avec de la saumure (1 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 90/10) pour conduire au composé **3b** sous la forme d'une huile incolore (7,80 g ; 96%).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,25 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H**₅), 7,02 (dd, $J = 8,5, 2,3$ Hz, 1H, **H**₇), 6,35 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, **H**₈), 3,97 (s, 1H, NH), 3,32 – 3,25 (m, 2H, **H**₂), 1,74 – 1,67 (m, 2H, **H**₃), 1,27 (s, 6H, *gem* **CH**₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 142,6 (**C**_a), 132,3 (**C**_b), 129,3 (**C**₇), 129,2 (**C**₅), 115,8 (**C**₆), 108,5 (**C**₈), 38,4 (**C**₂), 36,8 (**C**₃), 32,0 (**C**₄), 30,8 (*gem* **CH**₃) ; SMHR-ESI (m/z) : mesurée 240,03699, calculée pour $C_{11}H_{15}BrN^+$ $[M+H]^+$ 240,03824.

2-(5-(Benzyloxy)-1*H*-indol-1-yl)acétate d'éthyle (**4**)



$C_{19}H_{19}NO_3$

MM = 309,36 g/mol

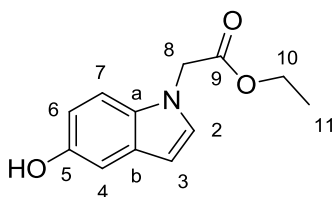
CAS : 402933-28-2

Procédure générale A : Alkylation de l'amine hétérocyclique (4, 7, 10a, 10b, 16a, 16b, 17).

A une solution de 5-(benzyloxy)-1*H*-indole (5,00 g ; 22,39 mmol) dans le DMF anhydre à 0 °C est ajouté par portion de l'hydrure de sodium (1,35 g à 60% ; 33,59 mmol ; 1,5 éq.). Le mélange est agité 30 min puis le bromoacétate d'éthyle (3,73 mL ; 33,59 mmol ; 1,5 éq.) est ajouté goutte à goutte. Après 2 h d'agitation à TA, le milieu réactionnel est prudemment hydrolysé à l'eau et extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée 4 fois avec de la saumure, séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 85/15) pour conduire au composé **4** sous forme d'une huile incolore (5,21 g ; 76%).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,52 – 7,27 (m, 5H, $H_{14}+H_{15}+H_{16}$), 7,21 – 7,12 (m, 2H, H_4+H_7), 7,07 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H, H_2), 6,98 (dd, $J = 8,9, 2,4$ Hz, 1H, H_6), 6,48 (dd, $J = 3,1, 0,7$ Hz, 1H, H_3), 5,11 (s, 2H, H_{12}), 4,81 (s, 2H, H_8), 4,22 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, H_{10}), 1,26 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, H_{11}).

2-(5-Hydroxy-1*H*-indol-1-yl)acétate d'éthyle (**5**)



$C_{12}H_{13}NO_3$

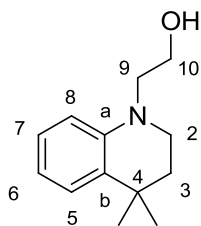
MM = 219,24 g/mol

CAS : 402933-29-3

Une solution de 2-(5-(benzyloxy)-1*H*-indol-1-yl)acétate d'éthyle **4** (2,50 g ; 8,08 mmol) dans un mélange éthanol/1,4-dioxane (15/15 mL) est dégazée. Le palladium sur charbon à 10% (0,25 g ; 10% massique) est additionné, puis le milieu est dégazé une nouvelle fois avant d'y faire buller de l'hydrogène. Le mélange est agité à TA pendant 16 h, filtré sur dicalite puis le filtrat est concentré sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 70/30) pour conduire au composé **5** sous la forme d'une huile incolore (1,73 g ; 97%).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,10 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H, **H**₇), 7,07 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H, **H**₂), 7,03 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, **H**₄), 6,79 (dd, $J = 8,7, 2,5$ Hz, 1H, **H**₆), 6,43 (dd, $J = 3,2, 0,8$ Hz, 1H, **H**₃), 4,79 (s, 2H, **H**₈), 4,59 (s, 1H, **OH**), 4,21 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, **H**₁₀), 1,25 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, **H**₁₁).

2-(4,4-Diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)éthanol (**6a**)



$C_{13}H_{19}NO$

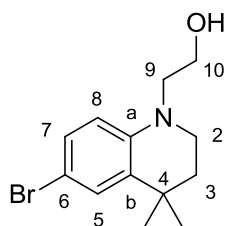
MM = 205,30 g/mol

A une solution de 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3a** (1,50 g ; 9,30 mmol) dans le THF anhydre (20 mL) à 0 °C sous argon, sont ajoutés le méthyl 2-chloro-2-oxoacétate (1,03 mL ; 11,16 mmol ; 1,2 équ.), la triéthylamine (1,56 mL ; 11,16 mmol ; 1,2 équ.). Le mélange est agité 1 h 30 à TA. Après addition de 10 mL d'eau, le milieu réactionnel est extrait à l'acétate d'éthyle (3 × 50 mL). La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de chlorure d'ammonium (1 × 100 mL), puis avec de la saumure (1 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. L'intermédiaire méthyl 2-(4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)-2-oxoacétate obtenu est utilisé sans purification. A une solution de ce dernier (0,75 g ; 3,04 mmol) dans le THF anhydre (10 mL) à 0 °C sous argon, est ajoutée goutte à goutte une solution du complexe borane/THF 1 M (15,2 mL ; 15,20 mmol ; 5,0 équ.). Le mélange est agité 2 h à TA et le milieu est hydrolysé à 0 °C par addition d'une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Le milieu réactionnel est extrait à l'acétate d'éthyle (3 × 50 mL) et la phase organique est lavée avec de la saumure (1 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 95/5) pour conduire au composé **6a** sous la forme d'une huile incolore (450 mg ; 72%).

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 7,10 (dd, $J = 7,6, 1,6$ Hz, 1H, **H₅**), 6,97 – 6,87 (m, 1H, **H₇**), 6,56 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, **H₈**), 6,52 – 6,42 (m, 1H, **H₆**), 4,69 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H, **OH**), 3,62 – 3,50 (m, 2H, **H₁₀**), 3,36 – 3,25 (m, 4H, **H₂+H₉**), 1,70 – 1,56 (m, 2H, **H₃**), 1,20 (s, 6H, *gem* **CH₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 143,9 (**C_a**), 130,2 (**C_b**), 126,5 (**C₇**), 125,6 (**C₅**), 114,9 (**C₆**), 110,4 (**C₈**), 57,5 (**C₁₀**), 53,3 (**C₉**), 45,8 (**C₂**), 36,6 (**C₃**), 31,5 (**C₄**), 30,6 (*gem* **CH₃**).

2-(6-Bromo-4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)éthanol (**6b**)



$C_{13}H_{18}BrNO$

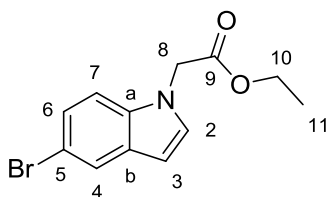
MM = 284,19 g/mol

A une solution de 6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3b** (0,72 g ; 3,00 mmol) dans le THF anhydre (6 mL) à 0 °C sous argon, sont ajoutés le méthyl 2-chloro-2-oxoacétate (0,33 mL ; 3,60 mmol ; 1,2 éq.), la triéthylamine (0,50 mL ; 3,60 mmol ; 1,2 éq.) et le mélange est agité 1 h 30 à TA. Après addition de 10 mL d'eau, le milieu réactionnel est extrait à l'acétate d'éthyle (3 × 30 mL). La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de chlorure d'ammonium (1 × 100 mL), puis avec de la saumure (1 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. L'intermédiaire méthyl 2-(6-bromo-4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)-2-oxoacétate obtenu est utilisé sans purification. A une solution de ce dernier (0,80 g ; 3,00 mmol) dans le THF anhydre (10 mL) à 0 °C sous argon, est ajoutée goutte à goutte une solution du complexe borane/THF 1 M (12,3 mL ; 12,30 mmol ; 4,1 éq.). Le mélange est agité 72 h à TA et le milieu est hydrolysé à 0 °C par addition d'une solution aqueuse saturée d'hydrogencarbonate de sodium. Le milieu réactionnel est extrait à l'acétate d'éthyle (3 × 50 mL) et la phase organique est lavée avec de la saumure (1 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 90/10) pour conduire au composé **6b** sous la forme d'une huile incolore (600 mg ; 85%).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,27 – 7,21 (m, 1H, **H₅**), 7,10 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H, **H₇**), 6,54 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, **H₈**), 3,82 (m, 2H, **H₁₀**), 3,44 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H, **H₉**), 3,38 – 3,26 (m, 2H, **H₂**), 1,79 – 1,67 (m, 2H, **H₃**), 1,64 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H, OH), 1,27 (s, 6H, *gem* **CH₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 143,5 (**C_a**), 133,8 (**C_b**), 129,6 (**C₇**), 129,0 (**C₅**), 113,0 (**C₈**), 108,3 (**C₆**), 59,8 (**C₁₀**), 54,3 (**C₉**), 46,6 (**C₂**), 36,8 (**C₃**), 32,3 (**C₄**), 30,8 (*gem* **CH₃**).

2-(5-Bromo-1*H*-indol-1-yl)acétate d'éthyle (**7**)



$C_{12}H_{12}BrNO_2$

MM = 282,13 g/mol

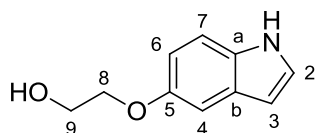
CAS : 726174-45-4

Le composé est obtenu selon la **procédure générale A**, à partir du 5-bromoindole (7,06 g ; 36,00 mmol), d'hydruure de sodium (1,73 g à 60% ; 43,20 mmol ; 1,2 éq.) et de bromoacétate d'éthyle (4,79 mL ; 43,20 mmol ; 1,2 éq.) dans le DMF anhydre (40 mL) après 3 h 30 d'agitation à TA. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétone : 85/15) pour conduire au composé **7** sous forme d'une huile incolore (9,15 g ; 90%).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,77 – 7,75 (m, 1H, **H**₄), 7,30 (dd, $J = 8,7, 1,7$ Hz, 1H, **H**₆), 7,12 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H, **H**₇), 7,09 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H, **H**₂), 6,50 (dd, $J = 3,2, 0,8$ Hz, 1H, **H**₃), 4,81 (s, 2H, **H**₈), 4,21 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, **H**₁₀), 1,26 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, **H**₁₁) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 168,3 (**C**₉), 135,3 (**C**_a), 130,5 (**C**_b), 129,8 (**C**₂), 125,0 (**C**₆), 123,8 (**C**₄), 113,4 (**C**₅), 110,6 (**C**₇), 102,2 (**C**₃), 62,0 (**C**₁₀), 48,1 (**C**₈), 14,3 (**C**₁₁).

2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthanol (**8**)



$C_{10}H_{11}NO_2$

MM = 177,20 g/mol

CAS : 1379198-12-5

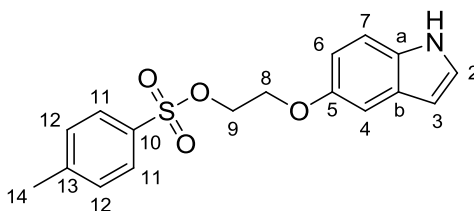
Dans un tube de Schlenk à fond rond de 50 mL séché sous argon sont ajoutés le 5-bromoindole (1,96 g ; 10,00 mmol), le phosphate de potassium (4,25 g ; 20,00 mmol ; 2,0 équ.), l'iodure de cuivre(I) (0,19 g ; 1,00 mmol ; 0,1 équ.) et la 8-hydroxyquinoléine (0,29 g ; 2,00 mmol ; 0,2 équ.). Après 3 cycles vide/argon, l'éthylène glycol anhydre (10 mL) est ajouté. Le mélange est agité vigoureusement à 110 °C pendant 72 h. Le milieu réactionnel est filtré sur dicalite, extrait à l'acétate d'éthyle et concentré sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 75/25) pour conduire au composé **8** sous la forme d'un solide brun (0,99 g ; 56%).

Pf : 95-96 °C ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 10,91 (s, 1H, **NH**), 7,29 (m, 2H, **H₂+H₇**), 7,04 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H₄**), 6,75 (dd, $J = 8,7, 2,4$ Hz, 1H, **H₆**), 6,39 – 6,25 (m, 1H, **H₃**), 4,87 (s, 1H, **OH**), 3,97 (t, $J = 5,1$ Hz, 2H, **H₈**), 3,74 (t, $J = 4,9$ Hz, 2H, **H₉**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 152,6 (**C₅**), 131,1 (**C_a**), 128,1 (**C_b**), 125,8 (**C₂**), 112,0 (**C₇**), 111,7 (**C₆**), 102,8 (**C₄**), 100,9 (**C₃**), 70,0 (**C₈**), 59,9 (**C₉**).

2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl 4-méthylbenzènesulfonate (**9**)



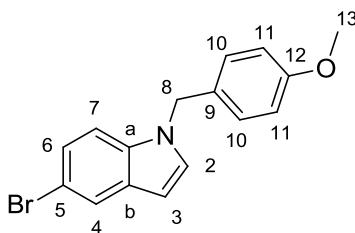
$C_{17}H_{17}NO_4S$

MM = 331,39 g/mol

A une solution de 2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthanol **8** (170 mg ; 1,00 mmol) dans le THF anhydre (1 mL) à 0°C sous argon sont ajoutés la pyridine anhydre (0,2 mL ; 2,50 mmol ; 2,5 éq.) et le chlorure de tosylate (0,48 g ; 2,50 mmol ; 2,5 éq.). Après 12 h d'agitation à TA, le milieu réactionnel est hydrolysé, extrait à l'acétate d'éthyle (3 × 50 mL), lavé par une solution d'HCl 1 M (1 × 100 mL), puis avec de la saumure (1 × 100 mL), séché sur du sulfate de magnésium et concentré sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 75/25) pour conduire au composé **9** sous la forme d'une huile incolore (0,27 g ; 81%).

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 10,93 (s, 1H, **NH**), 7,90 – 7,68 (m, 2H, **H**₁₁), 7,48 (m, 2H, **H**₁₂), 7,28 (m, 1H, **H**₂), 7,25 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, **H**₇), 6,94 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, **H**₄), 6,62 (dd, $J = 8,7, 2,4$ Hz, 1H, **H**₆), 6,33 – 6,26 (m, 1H, **H**₃), 4,38 – 4,26 (m, 2H, **H**₉), 4,12 (m, 2H, **H**₈), 2,42 (s, 3H, **H**₁₄).

5-Bromo-1-(4-méthoxybenzyl)-1*H*-indole (**10a**)



$C_{16}H_{14}BrNO$

MM = 316,19 g/mol

CAS : 1773849-42-5

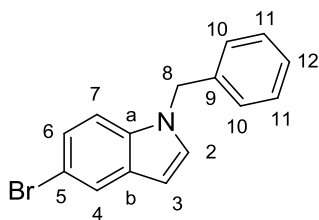
Le composé est obtenu selon la **procédure générale A**, à partir du 5-bromoindole (7,27 g ; 37,08 mmol), d'hydrure de sodium (1,55 g à 60% ; 38,94 mmol ; 1,05 équ.) et de 1-(chlorométhyl)-4-méthoxybenzène (5,03 mL ; 37,08 mmol ; 1,0 équ.) dans le DMF anhydre (100 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 98/2) pour conduire au composé **10a** sous la forme d'un solide blanc (10,78 g ; 92%).

Pf : 77-78 °C ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 7,74 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H, **H₄**), 7,54 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H, **H₂**), 7,45 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H, **H₇**), 7,21 (dd, $J = 8,7, 2,0$ Hz, 1H, **H₆**), 7,16 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, **H₁₀**), 6,90 – 6,80 (m, 2H, **H₁₁**), 6,46 (dd, $J = 3,1, 0,6$ Hz, 1H, **H₃**), 5,33 (s, 2H, **H₈**), 3,68 (s, 3H, **H₁₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 158,6 (**C₁₂**), 134,4 (**C_a**), 130,5 (**C₂**), 130,2 (**C_b**), 129,8 (**C₉**), 128,5 (**C₁₀**), 123,5 (**C₆**), 122,6 (**C₄**), 113,9 (**C₁₁**), 112,3 (**C₇**), 111,8 (**C₅**), 100,6 (**C₃**), 55,0 (**C₁₃**), 48,8 (**C₈**).

1-Benzyl-5-bromo-1*H*-indole (**10b**)



$C_{15}H_{12}BrN$

MM = 286,17 g/mol

CAS : 10075-51-1

Le composé est obtenu selon la **procédure générale A**, à partir du 5-bromoindole (18,00 g ; 91,82 mmol), d'hydruure de sodium (4,42 g à 60% ; 110,20 mmol ; 1,2 éq.) et de bromure de benzyle (13,11 mL ; 110,20 mmol ; 1,2 éq.) dans le DMF anhydre (117 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 98/2) pour conduire au composé **10b** sous la forme d'un solide blanc (26,10 g ; 99%).

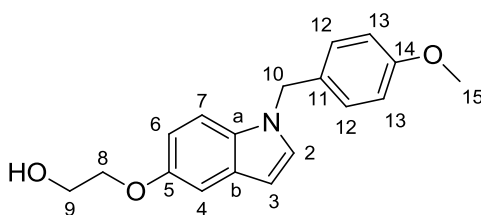
Pf : 91-92 °C (litt. : 93-95 °C)¹⁴³ ;

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,82 – 7,70 (m, 1H, **H₄**), 7,35 – 7,21 (m, 4H, **H₁₁+H₆+H₁₂**), 7,16 – 7,04 (m, 4H, **H₂+H₇+H₁₀**), 6,49 (dd, *J* = 3,2, 0,8 Hz, 1H, **H₃**), 5,30 (s, 2H, **H₈**) ;

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 137,1 (**C₉**), 135,1 (**C_a**), 130,5 (**C_b**), 129,6 (**C₂**), 129,0 (**C₁₁**), 127,9 (**C₁₂**), 126,8 (**C₁₀**), 124,6 (**C₆**), 123,6 (**C₄**), 113,0 (**C₅**), 111,3 (**C₇**), 101,4 (**C₃**), 50,4 (**C₈**) ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 286,02133, calculée pour $C_{15}H_{13}BrN^+$ [M+H]⁺ 286,02259.

2-((1-(4-Méthoxybenzyl)-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthanol (**11a**)



$C_{16}H_{19}NO_3$

MM = 297,35 g/mol

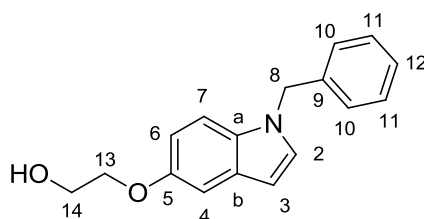
Dans un tube de Schlenk à fond rond de 50 mL séché sous argon sont ajoutés le 5-bromo-1-(4-méthoxybenzyl)-1*H*-indole **10a** (4,00 g ; 12,65 mmol), le phosphate de potassium (5,37 g ; 25,30 mmol ; 2,0 éq.), l'iodure de cuivre(I) (0,48 g ; 2,53 mmol ; 0,2 éq.) et la 8-hydroxyquinoléine (0,73 g ; 5,06 mmol ; 0,4 éq.). Après 3 cycles vide/argon, l'éthylène glycol anhydre (13 mL) est ajouté. Le mélange est agité vigoureusement à 110 °C pendant 72 h. Le milieu réactionnel est filtré sur dicalite, extrait à l'acétate d'éthyle et concentré sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane/acétate d'éthyle : 95/5) pour conduire au composé **11a** sous la forme d'un solide brun (1,45 g ; 39%).

Pf : 79-80 °C ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 7,42 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₂), 7,33 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, **H**₇), 7,16 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, **H**₁₂), 7,07 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H**₄), 6,85 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, **H**₁₃), 6,77 (dd, $J = 8,9, 2,3$ Hz, 1H, **H**₆), 6,37 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₃), 5,27 (s, 2H, **H**₁₀), 4,89 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H, **OH**), 3,97 (t, $J = 5,1$ Hz, 2H, **H**₈), 3,74 (m, 2H, **H**₉), 3,68 (s, 3H, **H**₁₅) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 158,6 (**C**₁₄), 152,9 (**C**₅), 131,0 (**C**₁₁), 130,3 (**C**_b), 129,4 (**C**₂), 128,8 (**C**_a), 128,5 (**C**₁₂), 113,9 (**C**₁₃), 111,7 (**C**₆), 110,9 (**C**₇), 103,3 (**C**₄), 100,5 (**C**₃), 70,0 (**C**₈), 59,9 (**C**₉), 55,0 (**C**₁₅), 48,8 (**C**₁₀).

2-((1-Benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthanol (**11b**)



$C_{17}H_{17}NO_2$

MM = 267,32 g/mol

Procédure générale B : formation des alcools (11b, 18, 33).

Dans un tube de Schlenk à fond rond de 50 mL séché sous argon sont ajoutés le 1-benzyl-5-bromo-1*H*-indole **10b** (3,00 g ; 10,48 mmol), le carbonate de césium (5,12 g ; 15,72 mmol ; 1,5 équ.), l'iodure de cuivre(I) (0,20 g ; 1,05 mmol ; 0,1 équ.) et la 3,4,7,8-tétraméthyl-1,10-phénanthroline (0,50 g ; 2,10 mmol ; 0,2 équ.). Après 3 cycles vide/argon, l'éthylène glycol anhydre (15 mL) est ajouté. Le mélange est agité vigoureusement à 150 °C pendant 72 h. Le milieu réactionnel est filtré sur dicalite, extrait à l'acétate d'éthyle et concentré sous pression réduite. La phase organique est lavée avec de la saumure, séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 70/30) pour conduire au composé **11b** sous la forme d'un solide brunâtre (1,71 g ; 61%).

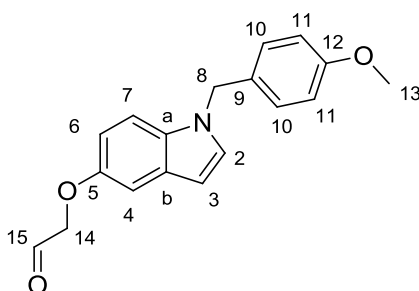
Pf : 95-96 °C ;

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,34 – 7,21 (m, 3H, $H_{11}+H_{12}$), 7,16 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, H_7), 7,14 – 7,06 (m, 4H, $H_2+H_4+H_{10}$), 6,85 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H, H_6), 6,47 (dd, $J = 3,1, 0,7$ Hz, 1H, H_3), 5,30 (s, 2H, H_8), 4,15 – 4,10 (m, 2H, H_{13}), 4,00 – 3,94 (m, 2H, H_{14}), 2,11 (s, 1H, OH) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 153,1 (C_5), 137,7 (C_9), 132,1 (C_b), 129,2 (C_a), 129,2 (C_2), 128,9 (C_{11}), 127,7 (C_{12}), 126,8 (C_{10}), 112,6 (C_6), 110,7 (C_7), 104,2 (C_4), 101,4 (C_3), 70,2 (C_{13}), 61,9 (C_{14}), 50,4 (C_8) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 268,13294, calculée pour $C_{17}H_{18}NO_2^+$ $[M+H]^+$ 268,13321.

2-((1-(4-Méthoxybenzyl)-1*H*-indol-5-yl)oxy)acétaldéhyde (**12a**)



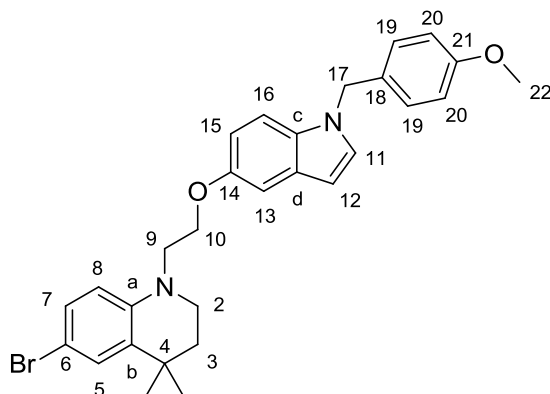
$C_{18}H_{17}NO_3$

MM = 295,33 g/mol

A une solution de 2-((1-(4-méthoxybenzyl)-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthanol **11a** (70 mg ; 0,23 mmol) dans l'acétonitrile anhydre (10 mL) sous argon, est ajouté l'acide 2-iodoxybenzoïque (200 mg ; 0,71 mmol ; 3,0éq.). Le mélange est agité 40 min à 80 °C puis refroidi à TA, filtré sur verre fritté et concentré sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 80/20) pour conduire au composé **12a** sous la forme d'une huile incolore (33 mg ; 49%).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,90 (t, $J = 1,2$ Hz, 1H, **H**₁₅), 7,21 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, **H**₇), 7,12 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H, **H**₂), 7,11 – 7,01 (m, 3H, **H**₄+**H**₁₀), 6,89 (dd, $J = 8,9, 2,5$ Hz, 1H, **H**₆), 6,86 – 6,79 (m, 2H, **H**₁₁), 6,46 (dd, $J = 3,1, 0,8$ Hz, 1H, **H**₃), 5,22 (s, 2H, **H**₈), 4,59 (d, $J = 1,2$ Hz, 2H, **H**₁₄), 3,77 (s, 3H, **H**₁₃).

6-Bromo-1-(2-((1-(4-méthoxybenzyl)-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**13a**)



$C_{29}H_{31}BrN_2O_2$

MM = 519,47 g/mol

Procédure générale C : amination réductrice (13a, 13b, 14, 19, 34a, 34b).

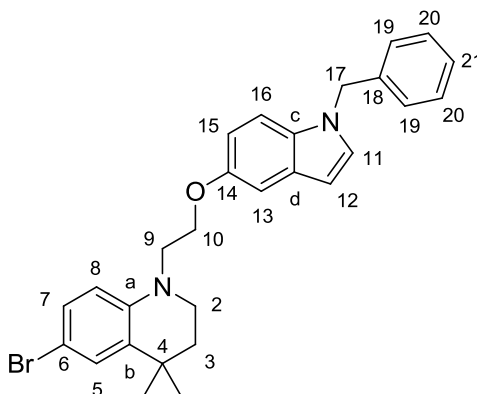
A une solution de 2-((1-(4-méthoxybenzyl)-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthanol **11a** (0,30 g ; 1,00 mmol) dans le 1,2-DCE anhydre sous argon, est ajouté l'acide 2-iodoxybenzoïque (0,84 g ; 3,00 mmol ; 3,0 éq.). Le mélange est agité 2 h à 80 °C puis refroidi à TA. Le milieu réactionnel est filtré sur verre fritté au-dessus d'un ballon contenant 6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3b** (0,24 g ; 1,00 mmol ; 1,0 éq.) dans 8 mL 1,2-DCE anhydre. Le mélange est agité 15 min puis le triacétoxyborohydrure de sodium (0,30 g ; 1,40 mmol ; 1,4 éq.) est ajouté. Le milieu réactionnel est agité 2 h puis est hydrolysé par ajout d'une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Après extraction à l'acétate d'éthyle, la phase organique est lavée avec de la saumure, séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 98/2) pour conduire au composé **13a** sous la forme d'une huile incolore (0,28 g ; 53%).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,25 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H_5), 7,16 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, H_{16}), 7,11 (dd, $J = 8,6, 2,3$ Hz, 1H, H_7), 7,09 – 7,01 (m, 4H, $H_{11} + H_{13} + H_{19}$), 6,87 – 6,75 (m, 3H, $H_{15} + H_{20}$), 6,54 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, H_8), 6,42 (dd, $J = 3,1, 0,7$ Hz, 1H, H_{12}), 5,21 (s, 2H, H_{17}), 4,18 (t, $J = 6,1$ Hz, 2H, H_{10}), 3,77 (s, 3H, H_{22}), 3,70 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, H_9), 3,48 – 3,41 (m, 2H, H_2), 1,76 – 1,69 (m, 2H, H_3), 1,26 (s, 6H, *gem* CH_3) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 159,2 (C_{21}), 153,2 (C_{14}), 142,8 (C_a), 133,6 (C_b), 131,9 (C_d), 129,7 (C_c), 129,5 (C_7), 129,2 (C_{18}), 128,9 (C_{13}), 128,9 (C_5), 128,3 (C_{19}), 114,3 (C_{20}), 112,5 (C_{15}), 112,4 (C_8), 110,6 (C_{16}), 107,8 (C_6), 104,0 (C_{11}), 101,2 (C_{12}), 65,4 (C_{10}), 55,4 (C_9), 51,1 (C_{22}), 49,9 (C_{17}), 46,7 (C_2), 36,7 (C_3), 32,3 (C_4), 30,6 (*gem* CH_3).

1-(2-((1-Benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine

(**13b**)



$C_{28}H_{29}BrN_2O$

MM = 489,45 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale C**, à partir du 2-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthanol **5a** (1,72 g ; 6,43 mmol), d'acide 2-iodoxybenzoïque (5,40 g ; 19,29 mmol ; 3,0 équ.), de 6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3b** (3,24 g ; 13,50 mmol ; 2,1 équ.) et de triacétoxyborohydrure de sodium (2,73 g ; 12,86 mmol ; 2,0 équ.) dans le 1,2-DCE anhydre (10 mL). Dans ce cas la purification par chromatographie sur gel silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 98/2) ne permet pas de séparer le composé **13b** de l'amine **3b**. Ce mélange est dissous dans de l'éther diéthylique (200 mL) et lavé par une solution d'HCl 3 M (3 × 100 mL). La phase organique est lavée avec de la saumure (1 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite pour conduire au composé **13b** sous la forme d'un solide blanc (2,14 g ; 68%).

Pf : 89-90 °C ;

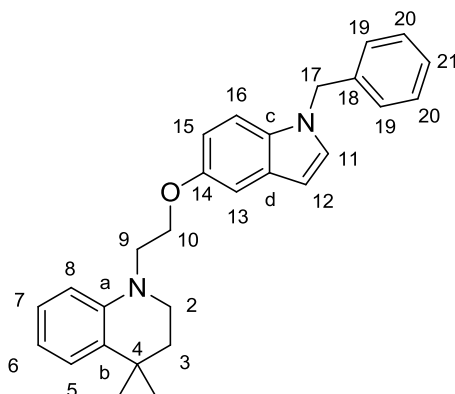
Pureté CLHP : 99,6% ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 7,43 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₁₁), 7,32 – 7,17 (m, 4H, **H**₁₆+**H**₂₀+**H**₂₁), 7,19 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H, **H**₅), 7,17 – 7,10 (m, 2H, **H**₁₉), 7,10 – 7,02 (m, 2H, **H**₇+**H**₁₃), 6,71 (dd, $J = 8,9, 2,4$ Hz, 1H, **H**₁₅), 6,62 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, **H**₈), 6,36 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₁₂), 5,35 (s, 2H, **H**₁₇), 4,11 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H, **H**₁₀), 3,66 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, **H**₉), 3,43 – 3,38 (m, 2H, **H**₂), 1,67 – 1,59 (m, 2H, **H**₃), 1,18 (s, 6H, *gem* **CH**₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 152,6 (**C**₁₄), 142,7 (**C**_a), 138,4 (**C**₁₈), 133,1 (**C**_b), 131,1 (**C**_d), 129,7 (**C**₁₁), 129,1 (**C**₁₃), 128,7 (**C**_c), 128,5 (**C**₂₀), 128,0 (**C**₅), 127,3 (**C**₂₁), 126,9 (**C**₁₉), 112,7 (**C**₈), 111,6 (**C**₁₅), 110,9 (**C**₁₆), 106,2 (**C**₆), 103,3 (**C**₇), 100,6 (**C**₁₂), 64,9 (**C**₁₀), 50,1 (**C**₉), 49,2 (**C**₁₇), 45,8 (**C**₂), 36,0 (**C**₃), 31,8 (**C**₄), 30,1 (*gem* **CH**₃) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 489,15330, calculée pour $C_{28}H_{30}BrN_2O^+$ [**M**+**H**]⁺ 489,15360.

1-(2-((1-Benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**14**)



$C_{28}H_{30}N_2O$

MM = 410,55 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale C**, à partir du 2-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthanol **11b** (1,70 g ; 6,36 mmol), d'acide 2-iodoxybenzoïque (5,34 g ; 19,08 mmol ; 3,0 éq.), de 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3a** (2,05 g ; 12,72 mmol ; 2,0 éq.) et de triacétoxyborohydrure de sodium (1,89 g ; 8,90 mmol ; 1,4 éq.) dans le 1,2-DCE anhydre (20 mL). Dans ce cas la purification par chromatographie sur gel silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 98/2) ne permet pas de séparer le composé **11b** de l'amine **3a**. Ce mélange est dissout dans de l'éther diéthylique (100 mL) et lavé par une solution d'HCl 1 M (1 × 100 mL). La phase organique est lavée avec de la saumure (1 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite pour conduire au composé **14** sous la forme d'une huile incolore (2,00 g ; 77%).

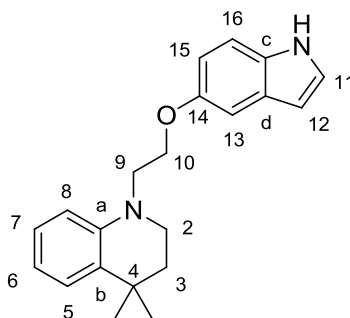
Pureté CLHP : 98,3% ;

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,33 – 7,23 (m, 3H, $H_{20}+H_{21}$), 7,20 (dd, $J = 7,6, 1,6$ Hz, 1H, H_5), 7,14 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, H_{16}), 7,12 – 7,00 (m, 5H, $H_{11}+H_{19}+H_{13}+H_7$), 6,82 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H, H_{15}), 6,69 – 6,59 (m, 2H, H_8+H_6), 6,44 (dd, $J = 3,1, 0,8$ Hz, 1H, H_{12}), 5,29 (s, 2H, H_{17}), 4,20 (t, $J = 6,3$ Hz, 2H, H_{10}), 3,74 (t, $J = 6,3$ Hz, 2H, H_9), 3,51 – 3,42 (m, 2H, H_2), 1,79 – 1,71 (m, 2H, H_3), 1,28 (s, 6H, *gem* CH_3) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 153,4 (C_{14}), 143,8 (C_a), 137,7 (C_{18}), 131,9 (C_d), 131,2 (C_b), 129,2 (C_c), 129,0 (C_{11}), 128,9 (C_{20}), 127,7 (C_{21}), 127,0 (C_7), 126,8 (C_{19}), 126,2 (C_5), 115,8 (C_8), 112,5 (C_{15}), 110,7 (C_6), 110,6 (C_{16}), 103,9 (C_{13}), 101,3 (C_{12}), 65,5 (C_{10}), 51,0 (C_9), 50,4 (C_{17}), 46,8 (C_2), 37,2 (C_3), 32,1 (C_4), 30,8 (*gem* CH_3) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 411,24285, calculée pour $C_{28}H_{31}N_2O^+$ [$M+H$] $^+$ 411,24309.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**15a**)



C₂₁H₂₄N₂O

MM = 320,43 g/mol

Procédure générale D : débenzylation de l'amine hétérocyclique (15a, 15b, 20, 29, 34a, 34b).

A une solution 1-(2-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **14** (186 mg ; 0,45 mmol) dans le DMSO (5 mL) à TA est ajouté le *tert*-butylate de potassium (356 mg ; 3,17 mmol ; 7,0 éq.). Un bullage d'air comprimé anhydre est maintenu dans la solution sous agitation à TA. Après l'achèvement de la réaction, le milieu réactionnel est hydrolysé par l'ajout d'une solution aqueuse saturée de chlorure d'ammonium, puis extrait à l'acétate d'éthyle, lavé avec de la saumure, séché sur du sulfate de magnésium et concentré sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 90/10) pour conduire au composé **15a** sous la forme d'un solide blanc (30 mg ; 78%).

Pf : 140-141 °C ;

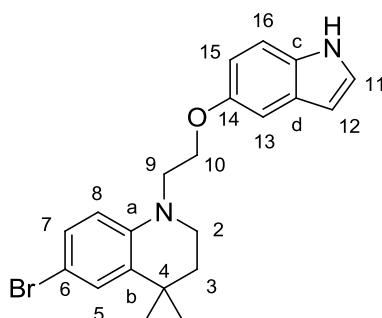
Pureté CLHP : 99,7% ;

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,04 (s, 1H, **H**₁₆), 7,27 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, **H**₁₆), 7,21 (dd, *J* = 7,6, 1,6 Hz, 1H, **H**₅), 7,19 – 7,16 (m, 1H, **H**₁₁), 7,10 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H, **H**₁₃), 7,09 – 7,01 (m, 1H, **H**₇), 6,86 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H, **H**₁₅), 6,67 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, **H**₈), 6,65 – 6,59 (m, 1H, **H**₆), 6,48 – 6,43 (m, 1H, **H**₁₂), 4,21 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H, **H**₁₀), 3,75 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H, **H**₉), 3,53 – 3,41 (m, 2H, **H**₂), 1,82 – 1,70 (m, 2H, **H**₃), 1,29 (s, 6H, *gem* CH₃) ;

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 153,5 (**C**₁₄), 143,8 (**C**_a), 131,3 (**C**_b), 131,2 (**C**_c), 128,4 (**C**_d), 127,0 (**C**₇), 126,2 (**C**₅), 125,0 (**C**₁₁), 115,9 (**C**₆), 112,9 (**C**₁₅), 111,8 (**C**₁₆), 110,7 (**C**₈), 103,7 (**C**₁₃), 102,5 (**C**₁₂), 65,6 (**C**₁₀), 51,1 (**C**₉), 46,8 (**C**₂), 37,2 (**C**₃), 32,1 (**C**₄), 30,8 (*gem* CH₃) ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 321,19556, calculée pour C₂₁H₂₅N₂O⁺ [M+H]⁺ 321,19614.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**15b**)



$C_{21}H_{23}BrN_2O$

MM = 399,32 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale D**, à partir du 1-(2-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **13b** (2,14 g ; 4,37 mmol) et de *tert*-butylate de potassium (6,86 g ; 61,18 mmol ; 14,0 éq.) dans le DMSO (109 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 80/20) pour conduire au composé **15b** sous la forme d'un solide blanc (1,54 g ; 88%).

Pf : 121-122 °C ;

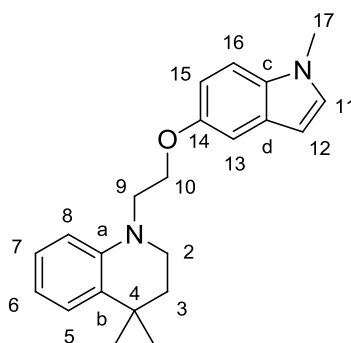
Pureté CLHP : 98,7% ;

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,04 (s, 1H, **NH**), 7,32 – 7,20 (m, $J = 8,7$ Hz, 2H, **H₁₆**+ **H₅**), 7,20 – 7,16 (m, 1H, **H₁₁**), 7,16 – 7,05 (m, 2H, **H₇**+ **H₁₃**), 6,85 (dd, $J = 8,8, 2,2$ Hz, 1H, **H₁₅**), 6,55 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, **H₈**), 6,49 – 6,44 (m, 1H, **H₁₂**), 4,20 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, **H₁₀**), 3,72 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, **H₉**), 3,56 – 3,34 (m, 2H, **H₂**), 1,84 – 1,57 (m, 2H, **H₃**), 1,27 (s, 6H, *gem* **CH₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 153,3 (**C₁₄**), 142,9 (**C_a**), 133,5 (**C_b**), 131,2 (**C_c**), 129,5 (**C₇**), 128,8 (**C₅**), 128,4 (**C_d**), 125,1 (**C₁₁**), 112,8 (**C₁₅**), 112,4 (**C₈**), 111,8 (**C₁₆**), 107,6 (**C₆**), 103,7 (**C₁₃**), 102,5 (**C₁₂**), 65,4 (**C₁₀**), 51,0 (**C₉**), 46,7 (**C₂**), 36,7 (**C₃**), 32,3 (**C₄**), 30,6 (*gem* **CH₃**) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 399,10624, calculée pour $C_{21}H_{24}BrN_2O^+$ $[M+H]^+$ 399,10665.

4,4-Diméthyl-1-(2-((1-méthyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**16a**)



C₂₂H₂₆N₂O

MM = 334,46 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale A**, à partir du 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15a** (50 mg ; 0,16 mmol), d'hydrure de sodium (8 mg à 60% ; 0,19 mmol ; 1,2 éq.) et d'iodure de méthyle (12 µL ; 0,19 mmol ; 1,2 éq.) dans le DMF (0,5 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 95/5) pour conduire au composé **16a** sous la forme d'un solide blanc (47 mg ; 89%).

Pf : 77-78 °C ;

Pureté CLHP : 98,7% ;

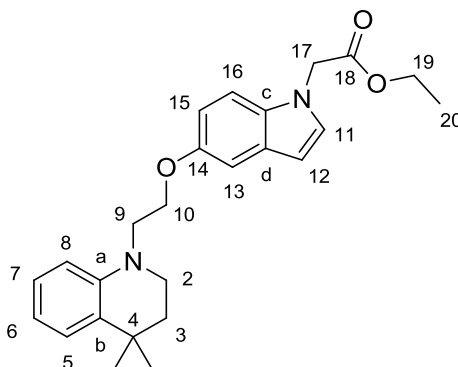
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,24 – 7,16 (m, 2H, **H**₅+**H**₁₆), 7,12 – 7,03 (m, 2H, **H**₇+**H**₁₃), 7,01 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H, **H**₁₁), 6,88 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H, **H**₁₅), 6,81 – 6,59 (m, 2H, **H**₆+**H**₈), 6,37 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H, **H**₁₂), 4,30 – 4,17 (m, 2H, **H**₁₀), 3,76 (s, 3H, **H**₁₇), 3,76 – 3,70 (m, 2H, **H**₉), 3,53 – 3,44 (m, 2H, **H**₂), 1,84 – 1,71 (m, 2H, **H**₃), 1,29 (s, 6H, *gem* CH₃) ;

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 153,2 (**C**₁₄), 143,7 (**C**_a), 132,4 (**C**_b), 131,4 (**C**_d), 129,5 (**C**₁₁), 128,9 (**C**_c), 127,1 (**C**₇), 126,3 (**C**₅), 116,1 (**C**₆), 112,4 (**C**₁₅), 111,0 (**C**₈), 110,0 (**C**₁₆), 103,9 (**C**₁₃), 100,5 (**C**₁₂), 65,6 (**C**₁₀), 51,3 (**C**₉), 46,7 (**C**₂), 37,0 (**C**₃), 33,1 (**C**₁₇), 32,1 (**C**₄), 30,9 (*gem* CH₃) ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 335,21194, calculée pour C₂₂H₂₇N₂O⁺ [M+H]⁺ 335,21179.

2-(5-(2-(4,4-Diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)éthoxy)-1*H*-indol-1-yl)acétate d'éthyle

(**16b**)



$C_{25}H_{30}N_2O_3$

MM = 406,52 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale A**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15a** (0,77 g ; 2,41 mmol), d'hydrure de sodium (0,12 g à 60% ; 2,89 mmol ; 1,2 éq.) et de bromoacétate d'éthyle (0,32 mL ; 2,89 mmol ; 1,2 éq.) dans le DMF anhydre (20 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétone : 90/10) pour conduire au composé **16b** sous forme d'une huile incolore (0,46 g ; 47%).

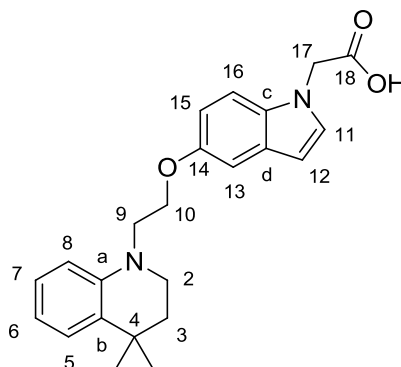
Pureté CLHP : 99,5% ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 7,31 – 7,23 (m, 2H, **H**₁₁ + **H**₁₆), 7,13 (dd, $J = 7,6, 1,5$ Hz, 1H, **H**₅), 7,07 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H**₁₃), 7,01 – 6,92 (m, 1H, **H**₇), 6,77 (dd, $J = 8,8, 2,3$ Hz, 1H, **H**₁₅), 6,66 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, **H**₈), 6,56 – 6,48 (m, 1H, **H**₆), 6,35 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₁₂), 5,06 (s, 2H, **H**₁₇), 4,22 – 4,06 (m, 4H, **H**₁₀+**H**₁₉), 3,68 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H, **H**₉), 3,46 – 3,39 (m, 2H, **H**₂), 1,71 – 1,63 (m, 2H, **H**₃), 1,21 (s, 6H, *gem* CH₃), 1,20 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, **H**₂₀) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 169,1 (**C**₁₈), 152,8 (**C**₁₄), 143,5 (**C**_a), 131,7 (**C**_b), 130,6 (**C**_d), 130,2 (**C**₁₁), 128,5 (**C**_c), 126,6 (**C**₇), 125,7 (**C**₅), 115,3 (**C**₆), 111,6 (**C**₁₅), 110,6 (**C**₈), 110,5 (**C**₁₆), 103,2 (**C**₁₃), 100,9 (**C**₁₂), 65,1 (**C**₁₀), 60,8 (**C**₁₉), 50,2 (**C**₉), 47,1 (**C**₁₇), 46,0 (**C**₂), 36,6 (**C**₃), 31,5 (**C**₄), 30,6 (*gem* CH₃), 14,1 (**C**₂₀) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 407,23188, calculée pour $C_{25}H_{31}N_2O_3^+$ [**M**+**H**]⁺ 407,23292.

Acide 2-(5-(2-(6-bromo-4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)éthoxy)-1*H*-indol-1-yl)acétique (**16c**)



$C_{23}H_{26}N_2O_3$

MM = 378,46 g/mol

A une solution de 2-(5-(2-(4,4-diméthyl-3,4-dihydroquinoléin-1(2*H*)-yl)éthoxy)-1*H*-indol-1-yl)acétate d'éthyle **16b** (50 mg ; 0,12 mmol) dans un mélange THF/eau (2,5/2,5 mL) à TA est ajouté l'hydroxyde de lithium (21 mg ; 0,49 mmol ; 4,1 éq.). Le milieu réactionnel est agité à TA pendant 2 h, puis le THF est éliminé par évaporation sous pression réduite et une solution d'HCl 1 M (20 mL) est ajoutée. Après extraction au dichlorométhane (3 × 20 mL), la phase organique est lavée avec de la saumure (1 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane/méthanol : 80/20) pour conduire au composé **16c** sous la forme d'un solide blanc (31 mg ; 67%).

Pf : 158-159 °C ;

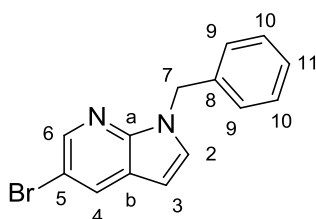
Pureté CLHP : 99,5% ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 12,89 (s, 1H, OH), 7,25 (m, 2H, **H**₁₁+ **H**₁₆), 7,12 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, **H**₅), 7,08 – 7,02 (m, 1H, **H**₁₃), 6,99 – 6,90 (m, 1H, **H**₇), 6,75 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H, **H**₁₅), 6,65 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, **H**₈), 6,56 – 6,46 (m, 1H, **H**₆), 6,31 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H, **H**₁₂), 4,95 (s, 2H, **H**₁₇), 4,14 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H, **H**₁₀), 3,68 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H, **H**₉), 3,47 – 3,39 (m, 2H, **H**₂), 1,70 – 1,63 (m, 2H, **H**₃), 1,21 (s, 6H, *gem* CH₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 170,5 (**C**₁₈), 152,7 (**C**₁₄), 143,5 (**C**_a), 131,7 (**C**_b), 130,6 (**C**_d), 130,2 (**C**₁₁), 128,5 (**C**_c), 126,6 (**C**₇), 125,7 (**C**₅), 115,3 (**C**₆), 111,5 (**C**₁₅), 110,6 (**C**₈), 110,5 (**C**₁₆), 103,2 (**C**₁₃), 100,6 (**C**₁₂), 65,1 (**C**₁₀), 50,1 (**C**₉), 47,2 (**C**₁₇), 46,0 (**C**₂), 36,6 (**C**₃), 31,5 (**C**₄), 30,6 (*gem* CH₃) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 379,19927, calculée pour $C_{23}H_{27}N_2O_3^+$ [**M**+**H**]⁺ 379,20162.

1-Benzyl-5-bromo-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (**17**)



$C_{14}H_{11}BrN_2$

MM = 287,15 g/mol

CAS : 1609130-04-2

Le composé est obtenu selon la **procédure générale A**, à partir de 5-bromo-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (2,00 g ; 10,15 mmol), d'hydruide de sodium (0,49 g à 60% ; 12,18 mmol ; 1,2 éq.) et de bromure de benzyle (1,32 mL ; 11,17 mmol ; 1,1 éq.) dans le DMF anhydre (20 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 99/1) pour conduire au composé **17** sous la forme d'un solide blanc (2,70 g ; 92%).

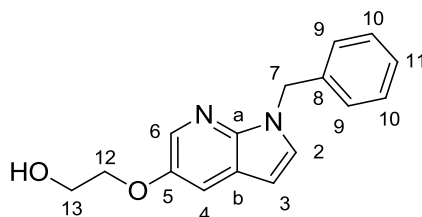
Pf : 65-66 °C;

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,36 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, **H**₆), 8,04 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, **H**₄), 7,37–7,02 (m, 6H, **H**₂+**H**₉+**H**₁₀+**H**₁₁), 6,43 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H, **H**₃), 5,47 (s, 2H, **H**₇) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 146,2 (**C**₈), 143,6 (**C**₆), 137,5 (**C**_a), 131,0 (**C**₄), 129,5 (**C**₂), 128,9 (**C**₁₀), 127,9 (**C**₁₁), 127,6 (**C**₉), 122,2 (**C**_b), 111,9 (**C**₅), 99,8 (**C**₃), 48,2 (**C**₇) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 287,01782, calculée pour $C_{14}H_{12}BrN_2^+$ [$M+H$] $^+$ 287,01784.

2-((1-Benzyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-5-yl)oxy)éthanol (**18**)



$C_{16}H_{16}N_2O_2$

MM = 268,31 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale B**, à partir d 1-benzyl-5-bromo-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **17** (1,40 g ; 4,88 mmol), de carbonate de césium (2,39 g ; 7,32 mmol ; 1,5 éq.), d'iodure de cuivre(I) (90 mg ; 0,49 mmol ; 0,1 éq.) et de 3,4,7,8-tétraméthyl-1,10-phénanthroline (230 mg ; 0,98 mmol ; 0,2 éq.) dans l'éthylène glycol anhydre (10 mL) après 48 h d'agitation à 130 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 60/40) pour conduire au composé **18** sous la forme d'un solide blanc (0,78 g ; 60%).

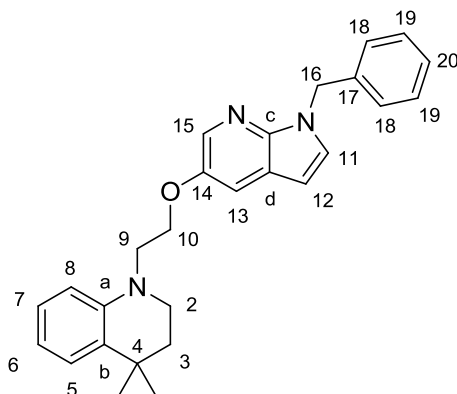
Pf : 92-93 °C ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 8,04 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H, **H₆**), 7,61 – 7,52 (m, 2H, **H₂+H₄**), 7,32 – 7,14 (m, 5H, **H₉+H₁₀+H₁₁**), 6,42 (d, $J = 3,4$ Hz, 1H, **H₃**), 5,43 (s, 2H, **H₇**), 4,94 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H, **OH**), 4,04 (t, $J = 4,9$ Hz, 2H, **H₁₂**), 3,81 – 3,69 (m, 2H, **H₁₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 150,4 (**C₅**), 142,7 (**C₈**), 138,6 (**C_a**), 133,5 (**C₆**), 129,8 (**C₂**), 128,5 (**C₁₀**), 127,3 (**C₁₁**), 127,2 (**C₉**), 119,9 (**C_b**), 112,3 (**C₄**), 99,0 (**C₃**), 70,8 (**C₁₂**), 59,7 (**C₁₃**), 47,3 (**C₇**) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 269,12738, calculée pour $C_{16}H_{17}N_2O_2^+$ [$M+H$] $^+$ 269,12845.

1-(2-((1-Benzyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**19**)



$C_{27}H_{29}N_3O$

MM = 411,54 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale C**, à partir de 2-((1-benzyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-5-yl)oxy)éthanol **18** (160 mg ; 0,60 mmol), d'acide 2-iodoxybenzoïque (504 mg ; 1,80 mmol ; 3,0 éq.), de 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3a** (190 mg ; 1,20 mmol ; 2,0 éq.) et de triacétoxyborohydrure de sodium (180 mg ; 0,84 mmol ; 1,4 éq.) dans le 1,2-DCE anhydre (10 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 98/2) pour conduire au composé **19** sous la forme d'une huile verdâtre (100 mg ; 40%).

Pureté CLHP : 99,8% ;

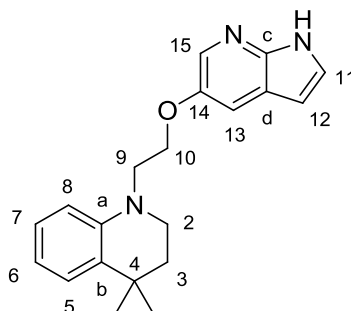
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,12 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H, **H**₁₅), 7,42 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H, **H**₁₃), 7,34 – 7,16 (m, 6H, **H**₅+ **H**₁₈+ **H**₁₉+ **H**₂₀), 7,15 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H, **H**₁₁), 7,10 – 7,02 (m, 1H, **H**₆), 6,69 – 6,60 (m, 2H, **H**₇+**H**₈), 6,37 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H, **H**₁₂), 5,46 (s, 2H, **H**₁₆), 4,24 (t, $J = 6,1$ Hz, 2H, **H**₁₀), 3,76 (t, $J = 6,1$ Hz, 2H, **H**₉), 3,52 – 3,42 (m, 2H, **H**₂), 1,82 – 1,71 (m, 2H, **H**₃), 1,29 (s, 6H, *gem* **CH**₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 150,7 (**C**₁₄), 143,7 (**C**_a), 143,6 (**C**₁₇), 138,0 (**C**_c), 134,2 (**C**₁₅), 131,4 (**C**_b), 128,9 (**C**₁₁), 128,8 (**C**₁₉), 127,7 (**C**₂₀), 127,5 (**C**₁₈), 127,0 (**C**₇), 126,3 (**C**₅), 120,4 (**C**_d), 116,1 (**C**₆), 112,9 (**C**₁₃), 110,6 (**C**₈), 99,6 (**C**₁₂), 66,5 (**C**₁₀), 51,1 (**C**₉), 48,1 (**C**₁₆), 47,0 (**C**₂), 37,1 (**C**₃), 32,1 (**C**₄), 30,8 (*gem* **CH**₃) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 412,23701, calculée pour $C_{27}H_{30}N_2O^+$ [$M+H$] $^+$ 412,23834.

1-(2-((1*H*-Pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine

(20)



C₂₀H₂₃N₃O

MM = 321,42 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale D**, à partir de 1-(2-((1-benzyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **19** (85 mg ; 0,207 mmol) et de *tert*-butylate de potassium (162 mg ; 1,44 mmol ; 7,0 éq.) dans le DMSO (10 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 70/30) pour conduire au composé **20** sous la forme d'un solide beige (30 mg ; 58%).

Pf : 126-127 °C ;

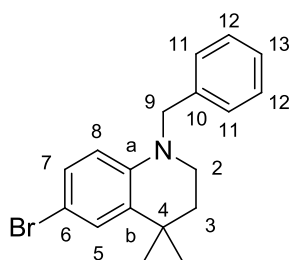
Pureté CLHP : 98,7% ;

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,84 (s, 1H, NH), 8,08 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H, H₁₅), 7,43 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H, H₁₃), 7,31 – 7,27 (m, 1H, H₁₁), 7,21 (dd, *J* = 7,5, 1,5 Hz, 1H, H₅), 7,10 – 7,02 (m, 1H, H₇), 6,69 – 6,60 (m, 2H, H₆+H₈), 6,41 (dd, *J* = 3,4, 2,0 Hz, 1H, H₁₂), 4,23 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, H₁₀), 3,76 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, H₉), 3,53 – 3,43 (m, 2H, H₂), 1,81 – 1,71 (m, 2H, H₃), 1,28 (s, 6H, *gem* CH₃) ;

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 150,7 (C₁₄), 144,2 (C_a), 143,7 (C_c), 133,8 (C₁₅), 131,4 (C_b), 127,0 (C₇), 126,3 (C₅), 126,1 (C₁₁), 120,4 (C_d), 116,1 (C₆), 113,2 (C₁₃), 110,6 (C₈), 100,7 (C₁₂), 66,6 (C₁₀), 51,1 (C₉), 47,0 (C₂), 37,2 (C₃), 32,1 (C₄), 30,8 (*gem* CH₃) ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 322,19159, calculée pour C₂₀H₂₄N₃O⁺ [M+H]⁺ 322,19139.

1-Benzyl-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**21**)



$C_{18}H_{20}BrN$

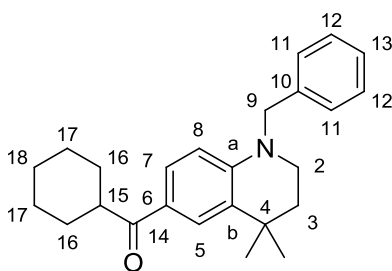
MM = 330,26 g/mol

A une solution de 6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3b** (3,10 g ; 12,91 mmol) et de benzaldéhyde (1,57 mL ; 12,91 mmol ; 1,0 éq.) dans le 1,2-DCE anhydre (30 mL) sous argon, est ajouté le triacétoxyborohydrure de sodium (3,83 g ; 18,07 mmol ; 1,4 éq.). Le milieu réactionnel est agité 12 h à TA puis est hydrolysé par ajout d'une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Après extraction à l'acétate d'éthyle, la phase organique est lavée avec de la saumure, séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 99/1) pour conduire au composé **21** sous la forme d'une huile incolore (4,38 g ; 85%).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,40 – 7,32 (m, 2H, H_{12}), 7,31 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H_5), 7,31 – 7,23 (m, 3H, $H_{11}+H_{13}$), 7,05 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H, H_7), 6,38 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, H_8), 4,52 (s, 2H, H_9), 3,47 – 3,36 (m, 2H, H_2), 1,87 – 1,76 (m, 2H, H_3), 1,35 (s, 6H, *gem* CH_3) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 143,3 (C_a), 138,3 (C_{10}), 133,1 (C_b), 129,6 (C_7), 128,8 (C_{12}), 128,5 (C_5), 127,1 (C_{13}), 126,5 (C_{11}), 112,8 (C_8), 107,8 (C_6), 55,3 (C_9), 46,2 (C_2), 36,7 (C_3), 32,4 (C_4), 30,3 (*gem* CH_3).

(1-Benzyl-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléin-6-yl)(cyclohexyl)méthanone (**22**)



$C_{25}H_{31}NO$

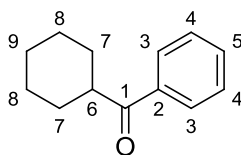
MM = 361,52 g/mol

A une solution de 1-benzyl-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine-6-carbonitrile **24** (1,06 g ; 3,85 mmol) dans le THF anhydre (20 mL) sous argon sont ajoutés le chlorure de cyclohexylmagnésium (solution à 2 M dans l'éther diéthylique, 2,9 mL ; 5,80 mmol ; 1,5 éq.), et le bromure de cuivre(I) (11 mg ; 0,077 mmol ; 0,02 éq.). Le mélange est chauffé au reflux pendant 4 h 30. Après retour à TA, 1 mL d'eau est ajouté prudemment, puis une solution aqueuse de H_2SO_4 (6 mL ; 15%) est additionnée. Après 20 h d'agitation à TA, le milieu réactionnel est extrait à l'éther diéthylique (3×100 mL), la phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (1×100 mL), puis avec de la saumure (1×100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 98/2) pour conduire au composé **22** sous la forme d'une huile verte (1,07 g ; 70%).

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 7,77 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H_5), 7,55 (dd, $J = 8,8, 1,9$ Hz, 1H, H_7), 7,36 – 7,26 (m, 2H, H_{12}), 7,26 – 7,16 (m, 3H, $H_{11}+H_{13}$), 6,47 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, H_8), 4,60 (s, 2H, H_9), 3,52 – 3,40 (m, 2H, H_2), 3,25 – 3,12 (m, 1H, H_{15}), 1,79 – 1,56 (m, 7H, $H_3+H_{16e}+H_{17e}+H_{18e}$), 1,39 – 1,30 (m, 5H, $H_{16a}+H_{17a}+H_{18a}$), 1,26 (s, 6H, gem CH_3) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 200,2 (C_{14}), 147,6 (C_a), 137,8 (C_{10}), 129,7 (C_b), 128,6 (C_{12}), 128,3 (C_7), 126,8 (C_{13}), 126,3 (C_{11}), 125,6 (C_5), 122,9 (C_6), 109,7 (C_8), 54,0 (C_9), 45,9 (C_2), 43,5 (C_{15}), 35,5 (C_3), 31,5 (C_4), 29,7 (gem CH_3), 29,5 (C_{16}), 25,7 (C_{18}), 25,3 (C_{17}).

Cyclohexyl(phényl)méthanone (**23**)



$C_{13}H_{16}O$

MM = 188,27 g/mol

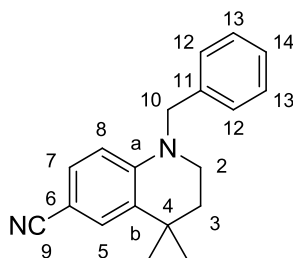
CAS : 712-50-5

A une solution de benzonitrile (2,00 g ; 19,40 mmol) dans le THF anhydre (40 mL) sous argon sont ajoutés le chlorure de cyclohexylmagnésium (solution à 2 M dans l'éther diéthylique, 10,7 mL ; 21,40 mmol ; 1,1 éq.), et le bromure de cuivre(I) (56 mg ; 0,38 mmol ; 0,02 éq.). Le mélange est chauffé au reflux pendant 40 min. Après retour à TA, 5 mL d'eau (5 mL) sont ajoutés prudemment, puis une solution aqueuse de H_2SO_4 (30 mL ; 15%) est additionnée. Après 20 h d'agitation à TA, le milieu réactionnel est extrait à l'éther diéthylique (3×100 mL), la phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (1×100 mL), puis avec de la saumure (1×100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 99/1) pour conduire au composé **23** sous la forme d'une huile incolore (3,25 g ; 89%).

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 8,01 – 7,86 (m, 2H, **H**₃), 7,67 – 7,56 (m, 1H, **H**₅), 7,55 – 7,46 (m, 2H, **H**₄), 3,45 – 3,30 (m, 1H, **H**₆), 1,84 – 1,59 (m, 5H, **H**_{7e}+**H**_{8e}+**H**_{9e}), 1,50 – 1,08 (m, 5H, **H**_{7a}+**H**_{8a}+**H**_{9a}) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 203,1 (**C**₁), 135,8 (**C**₂), 132,91 (**C**₅), 128,8 (**C**₄), 128,1 (**C**₃), 44,4 (**C**₆), 29,0 (**C**₈), 25,6 (**C**₉), 25,1 (**C**₇).

1-Benzyl-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine-6-carbonitrile (**24**)



$C_{19}H_{20}N_2$

MM = 276,38 g/mol

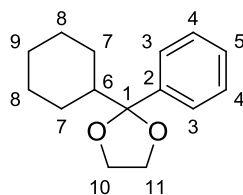
Une suspension de 1-benzyl-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **21** (1,30 g ; 3,94 mmol) et de cyanure de cuivre(I) (0,71 g ; 7,88 mmol ; 2,0 éq.) dans le DMF (18 mL) est chauffée au reflux pendant 6 h. Après retour à TA, le mélange est dilué avec une solution aqueuse de cyanure de sodium (80 mL ; 30%) et la solution obtenue est extraite à l'acétate d'éthyle (3 × 100 mL). La phase organique est lavée avec de la saumure (4 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 95/5) pour conduire au composé **24** sous la forme d'un solide blanc (0,94 g ; 86%).

Pf : 154-155 °C ;

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,44 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H_5), 7,40 – 7,13 (m, 6H, $H_7+H_{12}+H_{13}+H_{14}$), 6,45 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H, H_8), 4,58 (s, 2H, H_{10}), 3,55 – 3,45 (m, 2H, H_2), 1,85 – 1,76 (m, 2H, H_3), 1,32 (s, 6H, *gem* CH_3) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 147,3 (C_a), 137,0 (C_{11}), 131,5 (C_7), 131,1 (C_b), 129,5 (C_5), 129,0 (C_{13}), 127,4 (C_{14}), 126,3 (C_{12}), 121,2 (C_9), 110,8 (C_8), 97,2 (C_6), 54,9 (C_{10}), 46,3 (C_2), 35,8 (C_3), 32,1 (C_4), 29,8 (*gem* CH_3).

2-Cyclohexyl-2-phényl-1,3-dioxolane (**25**)



$C_{15}H_{20}O_2$

MM = 232,32 g/mol

CAS : 21709-62-6

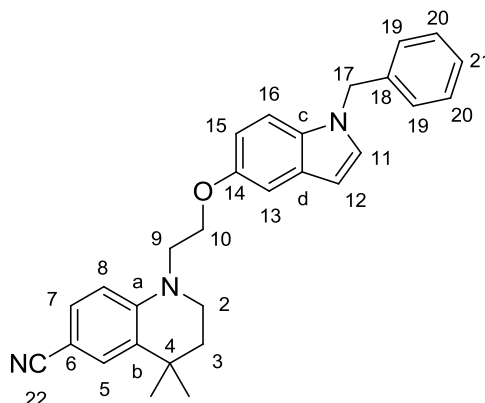
Dans un ballon surmonté d'un appareil de Dean-Stark, à une solution de cyclohexyl(phényl)méthanone **23** (1,00 g ; 5,32 mmol) dans le toluène anhydre (13 mL) sous argon sont ajoutés l'éthylène glycol anhydre (11,9 mL ; 212,80 mmol ; 40,0 équ.) et l'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté (31 mg ; 0,16 mmol ; 0,03 équ.). Le milieu biphasique est agité vigoureusement au reflux pendant 8 h. Après retour à TA, le mélange est lavé avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (2 × 50 mL), puis avec de la saumure (2 × 50 mL), séché sur du sulfate de magnésium et concentré sous pression réduite pour conduire au composé **25** sous la forme d'un solide jaunâtre (1,18 g ; 95%).

Pf : 46-47°C ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 7,39 – 7,13 (m, 5H, **H**₃+**H**₄+**H**₅), 3,98 – 3,82 (m, 2H, **H**₁₀ ou **H**₁₁), 3,68 – 3,53 (m, 2H, **H**₁₀ ou **H**₁₁), 1,77 – 1,48 (m, 6H, **H**₆+**H**_{7e}+**H**_{8e}+**H**_{9e}), 1,18 – 0,86 (m, 5H, **H**_{7a}+**H**_{8a}+**H**_{9a}) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 141,4 (**C**₂), 127,7 (**C**₄), 127,6 (**C**₅), 126,1 (**C**₃), 111,0 (**C**₁), 64,2 (**C**₁₀+**C**₁₁), 46,3 (**C**₆), 26,7 (**C**₈), 26,0 (**C**₉), 25,6 (**C**₇).

1-(2-((1-Benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine-6-carbonitrile (**26**)



$C_{29}H_{29}N_3O$

MM = 435,56 g/mol

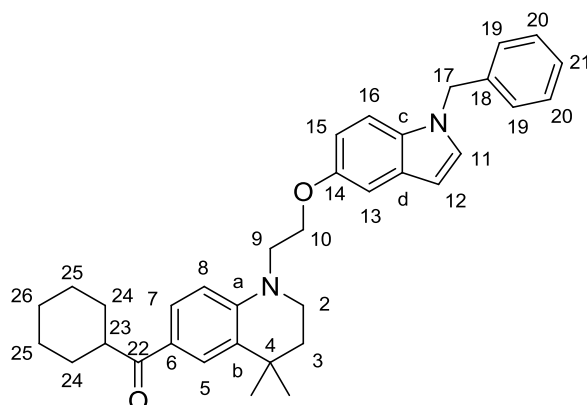
Une suspension de 1-(2-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **13b** (1,96 g ; 4,01 mmol) et de cyanure de cuivre(I) (3,59 g ; 40,11 mmol ; 10,0 éq.) dans le DMF (17 mL) est chauffée au reflux pendant 6 h. Après retour à TA, le mélange est dilué avec une solution aqueuse de cyanure de sodium (80 mL ; 30%) et la solution obtenue est extraite à l'acétate d'éthyle (3 × 100 mL). La phase organique est lavée avec de la saumure (4 × 100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 96/4) pour conduire au composé **26** sous la forme d'une huile verdâtre (1,20 g ; 69%).

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 7,45 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, **H**₅), 7,43 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₁₁), 7,33 (dd, $J = 8,9, 2,1$ Hz, 1H, **H**₇), 7,31 – 7,09 (m, 6H, **H**₁₆+**H**₁₉+ **H**₂₀+ **H**₂₁), 7,05 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H**₁₃), 6,78 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, **H**₈), 6,70 (dd, $J = 8,9, 2,3$ Hz, 1H, **H**₁₅), 6,36 (d, $J = 2,9$ Hz, 1H, **H**₁₂), 5,35 (s, 2H, **H**₁₇), 4,14 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H, **H**₁₀), 3,76 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H, **H**₉), 3,54 – 3,46 (m, 2H, **H**₂), 1,67 – 1,59 (m, 2H, **H**₃), 1,18 (s, 6H, *gem* **CH**₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 152,5 (**C**₁₄), 147,0 (**C**_a), 138,4 (**C**₁₈), 131,2 (**C**_b), 131,1 (**C**_d), 131,0 (**C**₇), 129,7 (**C**₁₁), 129,2 (**C**₅), 128,7 (**C**_c), 128,5 (**C**₂₀), 127,3 (**C**₂₁), 126,9 (**C**₁₉), 120,9 (**C**₂₂), 111,5 (**C**₁₅), 110,9 (**C**₁₆), 110,8 (**C**₈), 103,3 (**C**₁₃), 100,6 (**C**₁₂), 95,3 (**C**₆), 65,0 (**C**₁₀), 49,9 (**C**₉), 49,2 (**C**₁₇), 46,1 (**C**₂), 35,2 (**C**₃), 31,5 (**C**₄), 29,5 (*gem* **CH**₃) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 436,23811, calculée pour $C_{29}H_{30}N_3O^+$ [**M**+**H**]⁺ 436,23834.

(1-(2-((1-Benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléin-6-yl)(cyclohexyl)méthanone (**27**)



$C_{35}H_{40}N_2O_2$

MM = 520,70 g/mol

A une solution de 1-(2-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine-6-carbonitrile **26** (2,14 g ; 4,91 mmol) dans le THF anhydre (30 mL) sous argon sont ajoutés le chlorure de cyclohexylmagnésium (solution à 2 M dans l'éther diéthylique, 3,7 mL ; 7,37 mmol ; 1,5 éq.) et le bromure de cuivre(I) (14 mg ; 0,098 mmol ; 0,02 éq.). Le mélange est chauffé au reflux pendant 45 min. Après retour à TA, 2,5 mL d'eau sont ajoutés prudemment, puis une solution aqueuse de H_2SO_4 (20 mL ; 15%) est additionnée. Après 20 h d'agitation à TA, le milieu réactionnel est extrait au dichlorométhane (3×100 mL), la phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (1×100 mL), puis avec de la saumure (1×100 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle : 90/10) pour conduire au composé **27** sous la forme d'un solide jaunâtre (1,71 g ; 67%).

Pf : 69-70 °C ;

Pureté CLHP : 98,9% ;

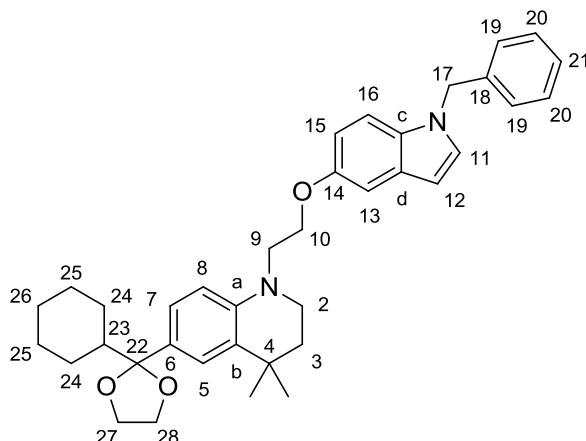
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,91 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, **H**₅), 7,69 (dd, $J = 8,8, 2,1$ Hz, 1H, **H**₇), 7,35 – 7,19 (m, 3H, **H**₂₀+ **H**₂₁), 7,14 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, **H**₁₆), 7,11 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H, **H**₁₁), 7,10 – 6,96 (m, 3H, **H**₁₃+ **H**₁₉), 6,80 (dd, $J = 8,9, 2,4$ Hz, 1H, **H**₁₅), 6,63 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, **H**₈), 6,45 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₁₂), 5,29 (s, 2H, **H**₁₇), 4,23 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H, **H**₁₀), 3,81 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H, **H**₉), 3,61 – 3,50 (m, 2H, **H**₂), 3,26 – 3,13 (m, 1H, **H**₂₃), 1,90 – 1,68 (m, 7H, **H**₃+**H**_{24e}+**H**_{25e}+**H**_{26e}), 1,60 – 1,33 (m, 5H, **H**_{24a}+**H**_{25a}+**H**_{26a}), 1,31 (s, 6H, *gem* **CH**₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 202,1 (**C**₂₂), 153,1 (**C**₁₄), 147,6 (**C**_a), 137,7 (**C**₁₈), 131,9 (**C**_b), 130,8 (**C**_d), 129,19 (**C**_c), 129,16 (**C**₁₁), 128,9 (**C**₂₀), 128,6 (**C**₇), 127,7 (**C**₂₁), 126,8 (**C**₅+**C**₁₉),

124,1 (C₆), 112,4 (C₁₅), 110,6 (C₁₆), 109,4 (C₈), 104,0 (C₁₃), 101,3 (C₁₂), 65,5 (C₁₀), 51,0 (C₉), 50,4 (C₁₇), 47,1 (C₂), 44,9 (C₂₃), 36,3 (C₃), 32,0 (C₄), 30,2 (*gem* CH₃), 29,9 (C₂₄), 26,21 (C₂₆), 26,18 (C₂₅) ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 521,31702, calculée pour C₃₅H₄₁N₂O₂⁺ [M+H]⁺ 521,31625.

1-(2-((1-Benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(2-cyclohexyl-1,3-dioxolan-2-yl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**28**)



$C_{37}H_{44}N_2O_3$

MM = 564,76 g/mol

Dans un ballon surmonté d'un appareil de Dean-Stark, à une solution de (1-(2-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléin-6-yl)(cyclohexyl)méthanone **27** (0,50 g ; 0,96 mmol) dans le toluène anhydre (11 mL) sous argon sont ajoutés l'éthylène glycol anhydre (2,15 mL ; 38,40 mmol ; 40,0 éq.) et l'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté (6 mg ; 0,03 mmol ; 0,03 éq.). Le milieu biphasique est agité vigoureusement au reflux pendant 6 h. Après retour à TA, le mélange est repris à l'acétate d'éthyle (100 mL) et lavé avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (2 × 50 mL). La phase organique est lavée avec de la saumure (2 × 50 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 96/4) pour conduire au composé **28** sous la forme d'un solide jaunâtre (0,20 g ; 37%).

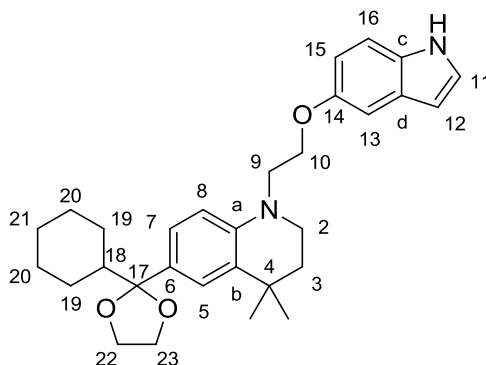
Pf : 66-67 °C ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 7,43 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₁₁), 7,32 – 7,17 (m, 4H, **H**₁₆+**H**₂₀+**H**₂₁), 7,17 – 7,11 (m, 2H, **H**₁₉), 7,06 (m, 2H, **H**₅+**H**₁₃), 6,90 (dd, $J = 8,5, 1,9$ Hz, 1H, **H**₇), 6,72 (dd, $J = 8,9, 2,3$ Hz, 1H, **H**₁₅), 6,59 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, **H**₈), 6,34 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₁₂), 5,35 (s, 2H, **H**₁₇), 4,12 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H, **H**₁₀), 3,84 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, **H**₂₇ ou **H**₂₈), 3,65 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H, **H**₉), 3,57 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H, **H**₂₇ ou **H**₂₈), 3,44 – 3,38 (m, 2H, **H**₂), 1,75 – 1,47 (m, 8H, **H**₃+**H**₂₃+**H**_{24e}+**H**_{25e}+**H**_{26e}), 1,18 (s, 6H, *gem* CH₃), 1,14 – 0,82 (m, 5H, **H**_{24a}+**H**_{25a}+**H**_{26a}) ;
 RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 152,7 (**C**₁₄), 142,9 (**C**_a), 138,4 (**C**₁₈), 131,1 (**C**_b), 129,6 (**C**₁₁), 129,4 (**C**_d), 128,7 (**C**_c), 128,5 (**C**₂₀), 127,4 (**C**₂₂), 127,3 (**C**₂₁), 126,9 (**C**₁₉), 124,7 (**C**₇), 123,7 (**C**₅), 111,6 (**C**₁₅), 111,3 (**C**₆), 110,8 (**C**₁₆), 109,7 (**C**₈), 103,3 (**C**₁₃), 100,6 (**C**₁₂), 65,1 (**C**₁₀),

63,8 (C₂₇+C₂₈), 50,2 (C₉), 49,2 (C₁₇), 46,6 (C₂₃), 45,9 (C₂), 36,5 (C₃), 31,5 (C₄), 30,7 (*gem* CH₃), 26,8 (C₂₅), 26,0 (C₂₆), 25,7 (C₂₄) ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 565,34142, calculée pour C₃₇H₄₅N₂O₃⁺ [M+H]⁺ 565,34247.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(2-cyclohexyl-1,3-dioxolan-2-yl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**29**)



$C_{30}H_{38}N_2O_3$

MM = 474,63 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale D**, à partir de 1-(2-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(2-cyclohexyl-1,3-dioxolan-2-yl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **28** (180 mg ; 0,32 mmol) et de *tert*-butylate de potassium (502 mg ; 4,47 mmol ; 14,0 éq.) dans le DMSO (30 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 90/10) pour conduire au composé **29** sous la forme d'un solide blanc (126 mg ; 83%).

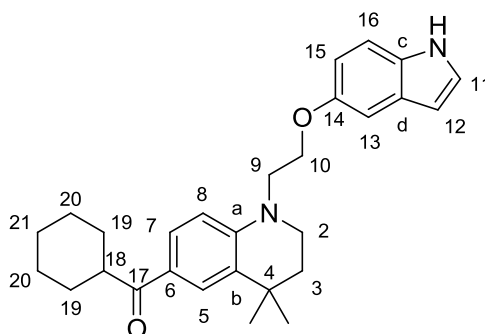
Pf : 71-72 °C ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 10,91 (s, 1H, NH), 7,35 – 7,20 (m, 2H, $H_{11}+H_{16}$), 7,07 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H, H_5), 7,04 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, H_{13}), 6,91 (dd, $J = 8,5, 1,8$ Hz, 1H, H_7), 6,72 (dd, $J = 8,7, 2,3$ Hz, 1H, H_{15}), 6,60 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, H_8), 6,32 – 6,26 (m, 1H, H_{12}), 4,13 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, H_{10}), 3,84 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H_{22} ou H_{23}), 3,66 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, H_9), 3,58 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H, H_{22} ou H_{23}), 3,46 – 3,38 (m, 2H, H_2), 1,75 – 1,50 (m, 8H, $H_3+H_{18}+H_{19e}+H_{20e}+H_{21e}$), 1,19 (s, 6H, *gem* CH_3), 1,14 – 0,87 (m, 5H, $H_{19a}+H_{20a}+H_{21a}$) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 152,4 (C_{14}), 142,9 (C_a), 131,1 (C_b), 129,4 (C_c), 128,0 (C_d), 127,4 (C_{17}), 125,8 (C_{11}), 124,7 (C_7), 123,6 (C_5), 112,0 (C_{16}), 111,5 (C_{15}), 111,4 (C_6), 109,7 (C_8), 102,7 (C_{13}), 100,8 (C_{12}), 65,1 (C_{10}), 63,8 ($C_{22}+C_{23}$), 50,3 (C_9), 46,6 (C_{18}), 45,9 (C_2), 36,5 (C_3), 31,5 (C_4), 30,7 (*gem* CH_3), 26,8 (C_{20}), 26,0 (C_{21}), 25,7 (C_{19}) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 475,29434, calculée pour $C_{30}H_{38}N_2O_3^+$ $[M+H]^+$ 475,29552.

(1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléin-6-yl)(cyclohexyl)méthanone (**30**)



$C_{28}H_{34}N_2O_2$

MM = 430,58 g/mol

A une solution de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(2-cyclohexyl-1,3-dioxolan-2-yl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **29** (60 mg ; 0,126 mmol) dans le THF (10 mL) sous argon est ajoutée une solution d'HCl 1 M (2,5 mL ; 2,50 mmol). Le mélange est agité à TA pendant 2 h, puis concentré sous pression réduite, extrait à l'acétate d'éthyle et concentré sous pression réduite. La phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée d'hydrogencarbonate de sodium (1 × 50 mL), puis avec de la saumure (1 × 50 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 85/15) pour conduire au composé **30** sous la forme d'un solide blanc (41 mg ; 76%).

Pf : 77-78 °C ;

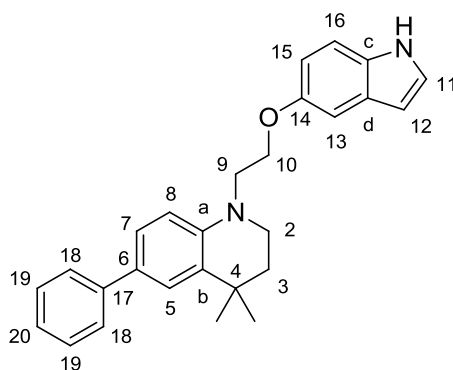
Pureté CLHP : 99,5% ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 10,91 (s, 1H, NH), 7,72 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, **H**₅), 7,64 (dd, $J = 8,8, 1,9$ Hz, 1H, **H**₇), 7,29 – 7,22 (m, 2H, **H**₁₁+**H**₁₆), 7,03 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, **H**₁₃), 6,73 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, **H**₈), 6,70 (dd, $J = 8,9, 2,4$ Hz, 1H, **H**₁₅), 6,31 – 6,27 (m, 1H, **H**₁₂), 4,17 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H, **H**₁₀), 3,79 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H, **H**₉), 3,57 – 3,50 (m, 2H, **H**₂), 3,29 – 3,19 (m, 1H, **H**₁₈), 1,79 – 1,59 (m, 7H, **H**₃+**H**_{19e}+**H**_{20e}+**H**_{21e}), 1,35 (m, 5H, **H**_{19a}+**H**_{20a}+**H**_{21a}), 1,22 (s, 6H, *gem* **CH**₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 200,3 (**C**₁₇), 152,3 (**C**₁₄), 147,5 (**C**_a), 131,2 (**C**_b), 130,0 (**C**_c), 128,3 (**C**₇), 128,0 (**C**_d), 125,9 (**C**₁₁), 125,7 (**C**₅), 122,7 (**C**₆), 112,0 (**C**₁₆), 111,4 (**C**₁₅), 109,6 (**C**₈), 102,8 (**C**₁₃), 100,8 (**C**₁₂), 65,0 (**C**₁₀), 50,1 (**C**₉), 46,2 (**C**₂), 43,4 (**C**₁₈), 35,6 (**C**₃), 31,5 (**C**₄), 29,8 (*gem* **CH**₃), 29,5 (**C**₁₉), 25,7 (**C**₂₁), 25,3 (**C**₂₀) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 431,27000, calculée pour $C_{28}H_{35}N_2O_2^+$ [**M**+**H**]⁺ 431,26930.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-6-phényl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**31a**)



C₂₇H₂₈N₂O

MM = 396,52 g/mol

Procédure générale E : couplage de Suzuki (31a-o, 35)

Une suspension de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (200 mg ; 0,50 mmol), de carbonate de potassium (207 mg ; 1,50 mmol ; 3,0 équ.) et d'acide phénylboronique (183 mg ; 1,50 mmol ; 3,0 équ.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) est dégazée sous argon. Le dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (35 mg ; 0,05 mmol ; 0,1 équ.) est ajouté au milieu et le mélange est agité à 90 °C pendant 1 h. Après l'achèvement de la réaction et retour à TA, le milieu réactionnel est filtré sur dicalite et extrait à l'acétate d'éthyle (3 × 50 mL). La phase organique est lavée avec de la saumure (4 × 50 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle : 95/15) pour conduire au composé **31a** sous la forme d'un solide brunâtre (100 mg ; 50%).

Pf : 121-122 °C ;

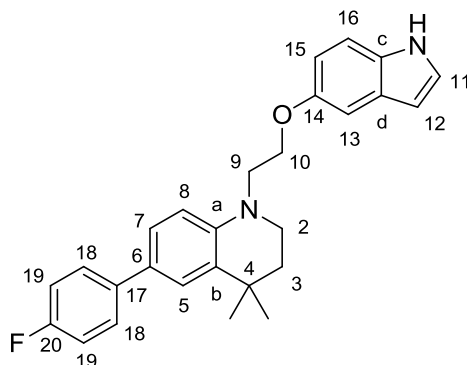
Pureté CLHP : 97,7% ;

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,05 (s, 1H, NH), 7,59 – 7,52 (m, 2H, H₁₈), 7,48 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, H₅), 7,45 – 7,36 (m, 2H, H₁₉), 7,33 (dd, *J* = 8,5, 2,2 Hz, 1H, H₇), 7,30 – 7,22 (m, 2H, H₁₆+H₂₀), 7,20 – 7,16 (m, 1H, H₁₁), 7,12 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, H₁₃), 6,88 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H, H₁₅), 6,78 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, H₈), 6,49 – 6,45 (m, 1H, H₁₂), 4,26 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, H₁₀), 3,80 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H, H₉), 3,57 – 3,49 (m, 2H, H₂), 1,86 – 1,78 (m, 2H, H₃), 1,36 (s, 6H, *gem* CH₃) ;

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 153,4 (C₁₄), 143,1 (C_a), 141,8 (C₁₇), 131,8 (C_b), 131,3 (C_c), 128,7 (C₁₉+C₂₀), 128,4 (C_d), 126,4 (C₁₈), 126,0 (C₇), 125,7 (C₆), 125,05 (C₁₁), 125,02 (C₅), 112,8 (C₁₅), 111,8 (C₁₆), 111,3 (C₈), 103,7 (C₁₃), 102,5 (C₁₂), 65,5 (C₁₀), 51,3 (C₉), 46,8 (C₂), 37,0 (C₃), 32,2 (C₄), 30,8 (*gem* CH₃) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 397,22532, calculée pour $C_{27}H_{29}N_2O^+$ $[M+H]^+$ 397,22744.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(4-fluorophényl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**31b**)



C₂₇H₂₇FN₂O

MM = 414,51 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (200 mg ; 0,50 mmol), d'acide (4-fluorophényl)boronique (209 mg ; 1,50 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (207 mg ; 1,50 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (35 mg ; 0,05 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 2 h d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/dichlorométhane : 60/40) pour conduire au composé **31b** sous la forme d'un solide brunâtre (165 mg ; 80%).

Pf : 123-124 °C ;

Pureté CLHP : 99,2% ;

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,04 (s, 1H, NH), 7,55 – 7,43 (m, 2H, H₁₈), 7,40 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, H₅), 7,32 – 7,20 (m, 2H, H₇+H₁₆), 7,20 – 7,13 (m, 1H, H₁₁), 7,14 – 7,02 (m, 3H, H₁₃+H₁₉), 6,87 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H, H₁₅), 6,75 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H₈), 6,52 – 6,40 (m, 1H, H₁₂), 4,24 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, H₁₀), 3,79 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, H₉), 3,58 – 3,43 (m, 2H, H₂), 1,87 – 1,70 (m, 2H, H₃), 1,34 (s, 6H, gem CH₃) ;

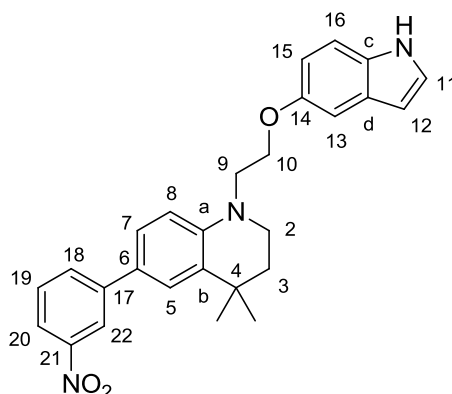
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 161,8 (d, *J* = 244,1 Hz, C₂₀), 153,4 (C₁₄), 143,2 (C_a), 138,0 (d, *J* = 3,2 Hz, C₁₇), 131,7 (C_b), 131,3 (C_c), 128,5 (C_d+C₆), 127,8 (d, *J* = 7,8 Hz, C₁₈), 125,6 (C₇), 125,1 (C₁₁), 124,8 (C₅), 115,5 (d, *J* = 21,2 Hz, C₁₉), 112,8 (C₁₅), 111,8 (C₁₆), 111,2 (C₈), 103,7 (C₁₃), 102,6 (C₁₂), 65,6 (C₁₀), 51,1 (C₉), 46,8 (C₂), 37,1 (C₃), 32,2 (C₄), 30,8 (gem CH₃) ;

¹⁹F RMN (282 MHz, CDCl₃) δ -118,04 ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 415,21734, calculée pour C₂₇H₂₈FN₂O⁺ [M+H]⁺ 415,21802.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-6-(3-nitrophényl)-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine

(**31c**)



$C_{27}H_{27}N_3O_3$

MM = 441,52 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (100 mg ; 0,25 mmol), de l'acide (3-nitrophényl)boronique (125 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (104 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (21 mg ; 0,03 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 2 h d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle : 90/10) pour conduire au composé **31c** sous la forme d'un solide orange (75 mg ; 68%).

Pf : 63-64 °C ;

Pureté CLHP : 97,6% ;

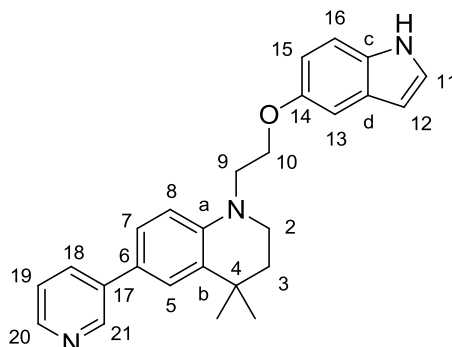
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,42 – 8,33 (m, 1H, **H**₂₂), 8,16 – 7,99 (m, 2H, **NH**+**H**₂₀), 7,90 – 7,81 (m, 1H, **H**₁₈), 7,56 – 7,48 (m, 1H, **H**₁₉), 7,47 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H**₅), 7,35 (dd, $J = 8,6, 2,3$ Hz, 1H, **H**₇), 7,29 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, **H**₁₆), 7,21 – 7,17 (m, 1H, **H**₁₁), 7,11 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, **H**₁₃), 6,87 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H, **H**₁₅), 6,77 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, **H**₈), 6,48 – 6,44 (m, 1H, **H**₁₂), 4,25 (t, $J = 6,1$ Hz, 2H, **H**₁₀), 3,81 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, **H**₉), 3,58 – 3,51 (m, 2H, **H**₂), 1,84 – 1,76 (m, 2H, **H**₃), 1,36 (s, 6H, *gem* **CH**₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 153,4 (**C**₁₄), 148,9 (**C**₂₁), 144,3 (**C**₁₇), 143,5 (**C**_a), 132,0 (**C**₁₈), 131,9 (**C**_b), 131,3 (**C**_c), 129,5 (**C**₁₉), 128,4 (**C**_d), 125,8 (**C**₇), 125,7 (**C**₆), 125,1 (**C**₁₁), 124,7 (**C**₅), 120,8 (**C**₂₂), 120,4 (**C**₂₀), 112,9 (**C**₁₅), 111,9 (**C**₁₆), 111,2 (**C**₈), 103,7 (**C**₁₃), 102,6 (**C**₁₂), 65,6 (**C**₁₀), 51,0 (**C**₉), 46,8 (**C**₂), 36,9 (**C**₃), 32,3 (**C**₄), 30,6 (*gem* **CH**₃) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 442,21305, calculée pour $C_{27}H_{28}N_3O_3^+$ [**M**+**H**] $^+$ 442,21252.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-6-(pyridin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine

(**31d**)



C₂₆H₂₇N₃O

MM = 397,51 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (200 mg ; 0,50 mmol), de l'acide pyridin-3-ylboronique (184 mg ; 1,50 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (208 mg ; 1,50 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (35 mg ; 0,05 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (20/4 mL) après 3 h d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 60/40) pour conduire au composé **31d** sous la forme d'un solide jaune (137 mg ; 69%).

Pf : 133-134 °C ;

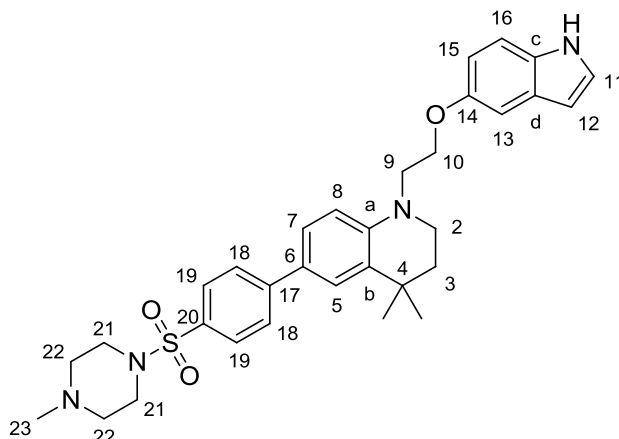
Pureté CLHP : 99,2% ;

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,80 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H, **H**₂₁), 8,51 – 8,41 (m, 1H, **H**₁₈), 8,11 (s, 1H, **NH**), 7,90 – 7,78 (m, 1H, **H**₂₀), 7,43 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H, **H**₅), 7,36 – 7,27 (m, 3H, **H**₇+**H**₁₆+**H**₁₉), 7,21 – 7,16 (m, 1H, **H**₁₁), 7,11 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, **H**₁₃), 6,86 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H, **H**₁₅), 6,77 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, **H**₈), 6,50 – 6,41 (m, 1H, **H**₁₂), 4,25 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, **H**₁₀), 3,80 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, **H**₉), 3,59 – 3,48 (m, 2H, **H**₂), 1,85 – 1,74 (m, 2H, **H**₃), 1,34 (s, 6H, *gem* **CH**₃) ;

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 153,4 (**C**₁₄), 147,1 (**C**₂₁), 146,4 (**C**₁₈), 144,1 (**C**_a), 137,5 (**C**₁₇), 133,8 (**C**₂₀), 131,9 (**C**_b), 131,3 (**C**_c), 128,5 (**C**_d), 125,7 (**C**₇), 125,1 (**C**₁₁), 124,8 (**C**₅), 124,5 (**C**₆), 123,7 (**C**₁₉), 112,9 (**C**₁₅), 111,8 (**C**₁₆), 111,2 (**C**₈), 103,7 (**C**₁₃), 102,6 (**C**₁₂), 65,6 (**C**₁₀), 51,2 (**C**₉), 46,8 (**C**₂), 36,9 (**C**₃), 32,3 (**C**₄), 30,7 (*gem* **CH**₃) ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 398,22215, calculée pour C₂₆H₂₈N₃O⁺ [**M**+**H**]⁺ 398,22269.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-6-(4-((4-méthylpipérazin-1-yl)sulfonyl)phényl)-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**31e**)



$C_{32}H_{38}N_4O_3S$

MM = 558,73 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (200 mg ; 0,50 mmol), de la 1-méthyl-4-((4-(4,4,5,5-tétraméthyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phényl)sulfonyl)pipérazine (550 mg ; 1,50 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (207 mg ; 1,50 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (35 mg ; 0,05 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 1 h 30 d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane/méthanol : 99/1) pour conduire au composé **31e** sous la forme d'un solide blanc (117 mg ; 42%).

Pf : 205-206 °C ;

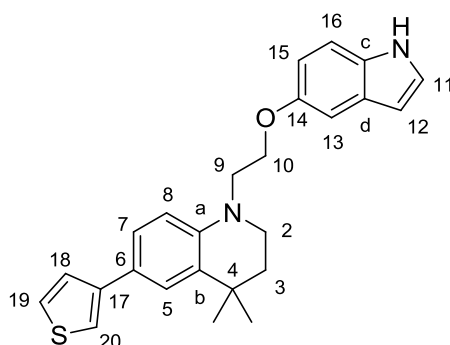
Pureté CLHP : 99,8% ;

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,13 (s, 1H, **H**₁), 7,73 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, **H**₁₉), 7,65 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, **H**₁₈), 7,45 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, **H**₅), 7,32 (dd, $J = 8,6, 2,1$ Hz, 1H, **H**₇), 7,28 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, **H**₁₆), 7,17 (m, 1H, **H**₁₁), 7,11 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, **H**₁₃), 6,86 (dd, $J = 8,8, 2,3$ Hz, 1H, **H**₁₅), 6,76 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, **H**₈), 6,45 (m, 1H, **H**₁₂), 4,25 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, **H**₁₀), 3,80 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, **H**₉), 3,63 – 3,45 (m, 2H, **H**₂), 3,24 – 2,90 (m, 4H, **H**₂₁), 2,61 – 2,38 (m, 4H, **H**₂₂), 2,27 (s, 3H, **H**₂₃), 1,85 – 1,74 (m, 2H, **H**₃), 1,35 (s, 6H, *gem* **CH**₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 153,4 (**C**₁₄), 146,6 (**C**₁₇), 144,4 (**C**_a), 131,7 (**C**₂₀+**C**_b), 131,3 (**C**_c), 128,4 (**C**_d), 128,4 (**C**₁₉), 126,4 (**C**₁₈), 126,2 (**C**₆), 126,0 (**C**₇), 125,1 (**C**₁₁), 125,0 (**C**₅), 112,8 (**C**₁₅), 111,9 (**C**₁₆), 111,1 (**C**₈), 103,7 (**C**₁₃), 102,5 (**C**₁₂), 65,6 (**C**₁₀), 54,7 (**C**₂₂), 51,0 (**C**₉), 46,9 (**C**₂), 46,0 (**C**₂₁), 45,8 (**C**₂₃), 36,9 (**C**₃), 32,2 (**C**₄), 30,6 (*gem* **CH**₃) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 559,27319, calculée pour $C_{32}H_{39}N_4O_3S^+$ [**M**+**H**] $^+$ 559,27374.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-6-(thiophèn-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine
(**31f**)



$C_{25}H_{26}N_2OS$

MM = 402,55 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (200 mg ; 0,50 mmol), de l'acide thiophèn-3-ylboronique (192 mg ; 1,50 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (207 mg ; 1,50 mmol ; 3,0 éq.), et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (35 mg ; 0,05 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 14 h d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle : 90/10) pour conduire au composé **31f** sous la forme d'un solide beige (100 mg ; 50%).

Pf : 135-136 °C ;

Pureté CLHP : 99,1% ;

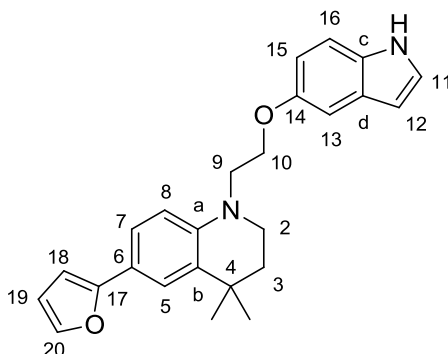
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,05 (s, 1H, **NH**), 7,45 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, **H₅**), 7,36 – 7,32 (m, 2H, **H₁₈+H₂₀**), 7,32 – 7,24 (m, 3H, **H₇+H₁₆+H₂₀**), 7,21 – 7,14 (m, 1H, **H₁₁**), 7,11 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, **H₁₃**), 6,87 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H, **H₁₅**), 6,72 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, **H₈**), 6,48 – 6,43 (m, 1H, **H₁₂**), 4,24 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H, **H₁₀**), 3,78 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H, **H₉**), 3,55 – 3,47 (m, 2H, **H₂**), 1,84 – 1,75 (m, 2H, **H₃**), 1,34 (s, 6H, *gem* **CH₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 153,4 (**C₁₄**), 143,2 (**C₁₇**), 143,1 (**C_a**), 131,5 (**C_b**), 131,2 (**C_c**), 128,4 (**C_d**), 126,4 (**C₁₈**), 125,7 (**C₇**), 125,3 (**C₁₉**), 125,1 (**C₁₁**), 124,5 (**C₅**), 124,0 (**C₆**), 117,5 (**C₂₀**), 112,9 (**C₁₅**), 111,8 (**C₁₆**), 111,0 (**C₈**), 103,7 (**C₁₃**), 102,6 (**C₁₂**), 65,6 (**C₁₀**), 51,1 (**C₉**), 46,8 (**C₂**), 37,1 (**C₃**), 32,2 (**C₄**), 30,8 (*gem* **CH₃**) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 403,18422, calculée pour $C_{25}H_{27}N_2OS^+$ [$M+H$] $^+$ 403,18386.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(furan-2-yl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine

(**31g**)



$C_{25}H_{26}N_2O_2$

MM = 386,49 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (100 mg ; 0,25 mmol), de l'acide furan-2-ylboronique (84 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (104 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (21 mg ; 0,03 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 1 h d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 95/5) pour conduire au composé **31g** sous la forme d'un solide brun (80 mg ; 83%).

Pf : 58-59 °C ;

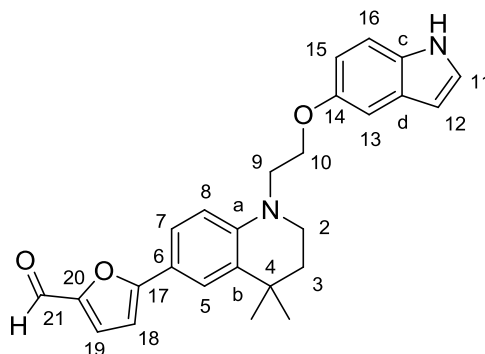
Pureté CLHP : 98,9% ;

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,04 (s, 1H, **NH**), 7,52 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, **H₅**), 7,41 – 7,37 (m, 1H, **H₂₀**), 7,35 (dd, $J = 8,6, 2,2$ Hz, 1H, **H₇**), 7,29 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, **H₁₆**), 7,20 – 7,16 (m, 1H, **H₁₁**), 7,10 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, **H₁₃**), 6,86 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H, **H₁₅**), 6,68 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, **H₈**), 6,49 – 6,43 (m, 1H, **H₁₂**), 6,43 – 6,35 (m, 2H, **H₁₈+H₁₉**), 4,23 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H, **H₁₀**), 3,77 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H, **H₉**), 3,54 – 3,45 (m, 2H, **H₂**), 1,82 – 1,72 (m, 2H, **H₃**), 1,32 (s, 6H, *gem* **CH₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 155,3 (**C₁₇**), 153,3 (**C₁₄**), 143,2 (**C_a**), 140,6 (**C₂₀**), 131,5 (**C_b**), 131,3 (**C_c**), 128,4 (**C_d**), 125,1 (**C₁₁**), 123,1 (**C₅**), 122,1 (**C₇**), 119,5 (**C₆**), 112,8 (**C₁₅**), 111,8 (**C₁₆**), 111,5 (**C₁₉**), 111,0 (**C₈**), 103,7 (**C₁₃**), 102,5 (**C₁₂**), 101,8 (**C₁₈**), 65,6 (**C₁₀**), 51,2 (**C₉**), 46,8 (**C₂**), 36,9 (**C₃**), 32,1 (**C₄**), 30,7 (*gem* **CH₃**) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 387,20697, calculée pour $C_{25}H_{27}N_2O_2^+$ [**M+H**] $^+$ 387,20670.

5-(1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléin-6-yl)furan-2-carbaldéhyde (**31h**)



$C_{26}H_{26}N_2O_3$

MM = 414,50 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (100 mg ; 0,25 mmol), de l'acide 5-formylfuran-2-ylboronique (105 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (104 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (21 mg ; 0,03 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 2 h d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétone : 70/30) pour conduire au composé **31h** sous la forme d'un solide brunâtre (31 mg ; 30%).

Pf : 70-71 °C ;

Pureté CLHP : 96,4% ;

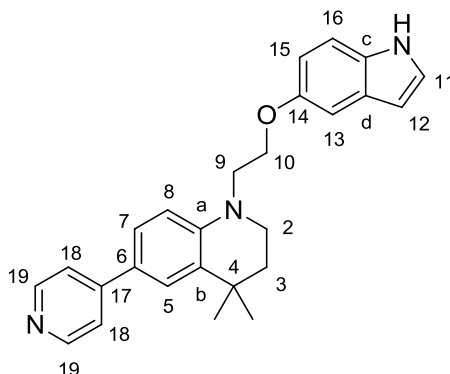
RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 10,91 (s, 1H, **NH**), 9,45 (s, 1H, **H₂₁**), 7,60 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, **H₅**), 7,58 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H, **H₁₉**), 7,50 (dd, $J = 8,7, 2,1$ Hz, 1H, **H₇**), 7,28 – 7,23 (m, 2H, **H₁₁+H₁₆**), 7,04 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H₁₃**), 7,00 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H, **H₁₈**), 6,82 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, **H₈**), 6,71 (dd, $J = 8,7, 2,4$ Hz, 1H, **H₁₅**), 6,31 – 6,27 (m, 1H, **H₁₂**), 4,17 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, **H₁₀**), 3,78 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H, **H₉**), 3,59 – 3,45 (m, 2H, **H₂**), 1,77 – 1,62 (m, 2H, **H₃**), 1,27 (s, 6H, *gem* **CH₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 176,2 (**C₂₁**), 160,6 (**C₁₇**), 152,3 (**C₁₄**), 150,5 (**C₂₀**), 145,1 (**C_a**), 131,2 (**C_b**), 130,9 (**C_c**), 128,0 (**C_d**), 126,8 (**C₁₉**), 125,8 (**C₁₁**), 124,5 (**C₇**), 122,6 (**C₅**), 115,3 (**C₆**), 112,0 (**C₁₆**), 111,4 (**C₁₅**), 111,0 (**C₈**), 105,3 (**C₁₈**), 102,8 (**C₁₃**), 100,8 (**C₁₂**), 65,1 (**C₁₀**), 50,1 (**C₉**), 46,0 (**C₂**), 35,9 (**C₃**), 31,6 (**C₄**), 30,0 (*gem* **CH₃**) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 415,19968, calculée pour $C_{26}H_{27}N_2O_3^+$ [**M+H**] $^+$ 415,20162.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-6-(pyridin-4-yl)-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine

(31i)



C₂₆H₂₇N₃O

MM = 397,51 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (100 mg ; 0,25 mmol), de l'acide pyridin-4-ylboronique (92 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (104 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (17 mg ; 0,025 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (5/1 mL) après 1 h d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane/méthanol : 98/2) pour conduire au composé **31i** sous la forme d'un solide jaune (46 mg ; 46%).

Pf : 142-143 °C ;

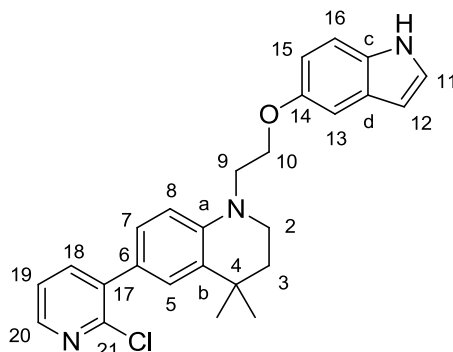
Pureté CLHP : 98,7% ;

RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ 10,91 (s, 1H, **NH**), 8,57 – 8,40 (m, 2H, **H₁₉**), 7,63 – 7,55 (m, 3H, **H₅+H₁₈**), 7,47 (dd, *J* = 8,7, 2,2 Hz, 1H, **H₇**), 7,30 – 7,21 (m, 2H, **H₁₁+H₁₆**), 7,04 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H, **H₁₃**), 6,80 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, **H₈**), 6,71 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H, **H₁₅**), 6,33 – 6,26 (m, 1H, **H₁₂**), 4,17 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H, **H₁₀**), 3,77 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H, **H₉**), 3,55 – 3,45 (m, 2H, **H₂**), 1,76 – 1,64 (m, 2H, **H₃**), 1,29 (s, 6H, *gem* **CH₃**) ;

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ 152,3 (**C₁₄**), 149,9 (**C₁₉**), 147,3 (**C₁₇**), 144,7 (**C_a**), 131,14 (**C_b**), 131,06 (**C_c**), 128,0 (**C_d**), 125,8 (**C₁₁**), 125,2 (**C₇**), 123,9 (**C₅**), 122,9 (**C₆**), 119,6 (**C₁₈**), 112,0 (**C₁₆**), 111,5 (**C₁₅**), 111,1 (**C₈**), 102,8 (**C₁₃**), 100,8 (**C₁₂**), 65,1 (**C₁₀**), 50,1 (**C₉**), 46,0 (**C₂**), 36,2 (**C₃**), 31,7 (**C₄**), 30,2 (*gem* **CH₃**) ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 398,22231, calculée pour C₂₆H₂₈N₃O⁺ [M+H]⁺ 398,22269.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(2-chloropyridin-3-yl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**31j**)



C₂₆H₂₆ClN₃O

MM = 431,96 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (100 mg ; 0,25 mmol), de l'acide 2-chloropyridin-3-ylboronique (47 mg ; 0,30 mmol ; 1,2 éq.), de carbonate de potassium (104 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (18 mg ; 0,025 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 6 h d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle : 80/20) pour conduire au composé **31j** sous la forme d'un solide jaune (32 mg ; 30%).

Pf : 71-72 °C ;

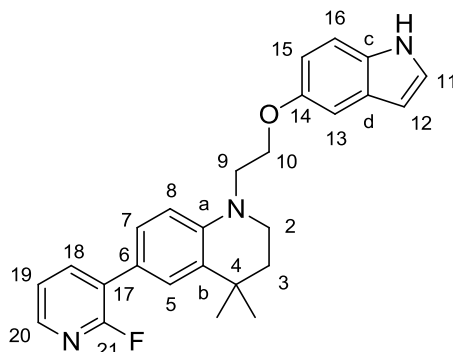
Pureté CLHP : 96,2% ;

RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ 10,92 (s, 1H, NH), 8,30 (dd, *J* = 4,7, 1,9 Hz, 1H, **H**₂₀), 7,80 (dd, *J* = 7,6, 1,9 Hz, 1H, **H**₁₈), 7,43 (dd, *J* = 7,6, 4,7 Hz, 1H, **H**₁₉), 7,33 – 7,22 (m, 3H, **H**₅+**H**₁₁+**H**₁₆), 7,13 (dd, *J* = 8,5, 2,1 Hz, 1H, **H**₇), 7,05 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, **H**₁₃), 6,80 – 6,69 (m, 2H, **H**₈+**H**₁₅), 6,34 – 6,27 (m, 1H, **H**₁₂), 4,17 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H, **H**₁₀), 3,75 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H, **H**₉), 3,54 – 3,44 (m, 2H, **H**₂), 1,76 – 1,65 (m, 2H, **H**₃), 1,24 (s, 6H, *gem* CH₃) ;

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ 152,4 (**C**₁₄), 148,4 (**C**₂₁), 147,2 (**C**₂₀), 143,6 (**C**_a), 139,8 (**C**₁₈), 136,7 (**C**₁₇), 131,1 (**C**_b), 130,1 (**C**_c), 128,0 (**C**_d), 127,7 (**C**₇), 126,9 (**C**₅), 125,8 (**C**₁₁), 123,4 (**C**₁₉), 123,2 (**C**₆), 112,0 (**C**₁₆), 111,5 (**C**₁₅), 110,3 (**C**₈), 102,8 (**C**₁₃), 100,8 (**C**₁₂), 65,1 (**C**₁₀), 50,1 (**C**₉), 46,0 (**C**₂), 36,3 (**C**₃), 31,6 (**C**₄), 30,3 (*gem* CH₃) ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 432,18316, calculée pour C₂₆H₂₇ClN₃O⁺ [M+H]⁺ 432,18372.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(2-fluoropyridin-3-yl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**31k**)



$C_{26}H_{26}FN_3O$

MM = 415,50 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (100 mg ; 0,25 mmol), de l'acide 2-fluoropyridin-3-ylboronique (106 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (104 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (18 mg ; 0,025 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 1 h 30 d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 80/20) pour conduire au composé **31k** sous la forme d'un solide jaune (91 mg ; 87%).

Pf : 61-62 °C ;

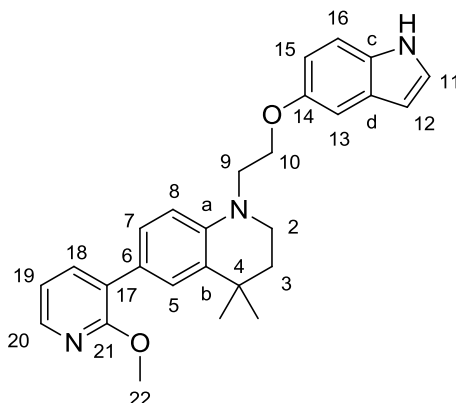
Pureté CLHP : 98,5% ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 10,92 (s, 1H, **NH**), 8,10 – 8,05 (m, 1H, **H₂₀**), 8,05 – 7,96 (m, 1H, **H₁₈**), 7,42 – 7,32 (m, 2H, **H₅+H₁₉**), 7,30 – 7,21 (m, 3H, **H₇+H₁₁+H₁₆**), 7,05 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H₁₃**), 6,79 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H, **H₈**), 6,72 (dd, $J = 8,7, 2,4$ Hz, 1H, **H₁₅**), 6,34 – 6,24 (m, 1H, **H₁₂**), 4,16 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, **H₁₀**), 3,75 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, **H₉**), 3,56 – 3,43 (m, 2H, **H₂**), 1,77 – 1,63 (m, 2H, **H₃**), 1,25 (s, 6H, *gem* **CH₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 159,6 (d, $J = 236,4$ Hz, **C₂₁**), 152,4 (**C₁₄**), 144,3 (d, $J = 14,9$ Hz, **C₂₀**), 143,8 (**C_a**), 140,0 (d, $J = 4,9$ Hz, **C₁₈**), 131,1 (**C_b**), 130,7 (**C_c**), 128,0 (**C_d**), 127,2 (d, $J = 3,6$ Hz, **C₇**), 126,0 (d, $J = 3,4$ Hz, **C₅**), 125,8 (**C₁₁**), 123,6 (d, $J = 27,7$ Hz, **C₁₇**), 122,5 (d, $J = 4,1$ Hz, **C₁₉**), 119,5 (d, $J = 5,4$ Hz, **C₆**), 112,0 (**C₁₆**), 111,5 (**C₁₅**), 110,7 (**C₈**), 102,8 (**C₁₃**), 100,8 (**C₁₂**), 65,0 (**C₁₀**), 50,1 (**C₉**), 46,0 (**C₂**), 36,2 (**C₃**), 31,6 (**C₄**), 30,2 (*gem* **CH₃**) ; ^{19}F RMN (282 MHz, DMSO) δ -72,10 ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 416,21272, calculée pour $C_{26}H_{27}FN_3O^+$ [**M+H**] $^+$ 416,21327.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(2-méthoxy-pyridin-3-yl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**311**)



$C_{27}H_{29}N_3O_2$

MM = 427,54 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (100 mg ; 0,25 mmol), de l'acide 2-méthoxy-pyridin-3-ylboronique (115 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (104 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (18 mg ; 0,025 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 4 h d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 80/20) pour conduire au composé **311** sous la forme d'un solide blanc (85 mg ; 79%).

Pf : 63-64 °C ;

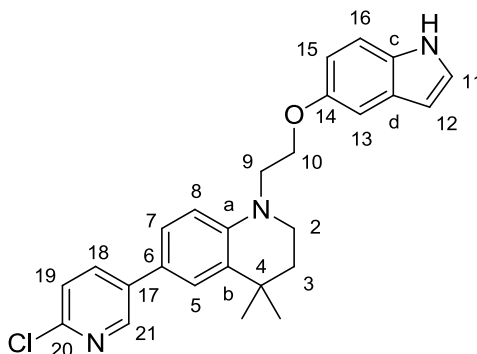
Pureté CLHP : 99,6% ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 10,92 (s, 1H, **H₁₁**), 8,04 (dd, $J = 4,9, 1,8$ Hz, 1H, **H₁₈**), 7,64 (dd, $J = 7,3, 1,8$ Hz, 1H, **H₂₀**), 7,36 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, **H₅**), 7,30 – 7,24 (m, 2H, **H₁₁+H₁₆**), 7,21 (dd, $J = 8,6, 2,1$ Hz, 1H, **H₇**), 7,05 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H₁₃**), 7,01 (dd, $J = 7,3, 4,9$ Hz, 1H, **H₁₉**), 6,73 (dd, $J = 8,8, 2,3$ Hz, 1H, **H₁₅**), 6,71 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, **H₈**), 6,33 – 6,27 (m, 1H, **H₁₂**), 4,16 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H, **H₁₀**), 3,85 (s, 3H, **H₂₂**), 3,73 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, **H₉**), 3,52 – 3,43 (m, 2H, **H₂**), 1,75 – 1,65 (m, 2H, **H₃**), 1,24 (s, 6H, *gem* **CH₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 160,1 (**C₂₁**), 152,4 (**C₁₄**), 144,0 (**C₁₈**), 143,0 (**C_a**), 137,4 (**C₂₀**), 131,1 (**C_b**), 130,2 (**C_c**), 128,0 (**C_d**), 127,4 (**C₇**), 126,5 (**C₅**), 125,8 (**C₁₁**), 124,5 (**C₁₇**), 122,6 (**C₆**), 117,5 (**C₁₉**), 112,0 (**C₁₆**), 111,5 (**C₁₅**), 110,3 (**C₈**), 102,8 (**C₁₃**), 100,8 (**C₁₂**), 65,1 (**C₁₀**), 53,1 (**C₂₂**), 50,1 (**C₉**), 46,0 (**C₂**), 36,5 (**C₃**), 31,6 (**C₄**), 30,4 (*gem* **CH₃**) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 428,23273, calculée pour $C_{27}H_{30}N_3O_2^+$ [**M+H**] $^+$ 428,23325.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(6-chloropyridin-3-yl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**31m**)



$C_{26}H_{26}ClN_3O$

MM = 431,96 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (100 mg ; 0,25 mmol), de l'acide (6-chloropyridin-3-yl)boronique (118 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (104 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (21 mg ; 0,03 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 1 h 30 d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle : 85/15) pour conduire au composé **31m** sous la forme d'un solide jaune (46 mg ; 43%).

Pf : 75-76 °C ;

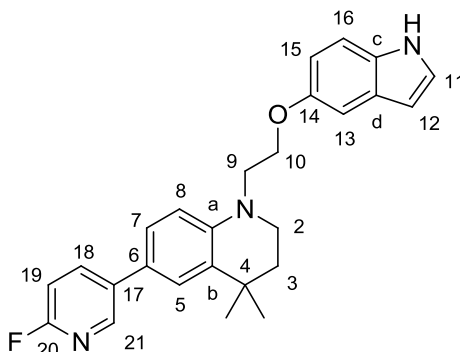
Pureté CLHP : 99,3% ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 10,91 (s, 1H, NH), 8,63 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H**₂₁), 8,04 (dd, $J = 8,4, 2,7$ Hz, 1H, **H**₁₈), 7,50 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H**₅), 7,47 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, **H**₁₉), 7,36 (dd, $J = 8,6, 2,2$ Hz, 1H, **H**₇), 7,29 – 7,23 (m, 2H, **H**₁₁+**H**₁₆), 7,04 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H**₁₃), 6,79 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H, **H**₈), 6,72 (dd, $J = 8,7, 2,4$ Hz, 1H, **H**₁₅), 6,33 – 6,27 (m, 1H, **H**₁₂), 4,16 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, **H**₁₀), 3,75 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, **H**₉), 3,53 – 3,46 (m, 2H, **H**₂), 1,74 – 1,67 (m, 2H, **H**₃), 1,28 (s, 6H, gem **CH**₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 152,4 (**C**₁₄), 147,2 (**C**₂₀), 146,5 (**C**₂₁), 144,0 (**C**_a), 136,2 (**C**₁₈), 135,6 (**C**₁₇), 131,3 (**C**_b), 131,1 (**C**_c), 128,0 (**C**_d), 125,8 (**C**₁₁), 125,1 (**C**₇), 124,05 (**C**₅), 124,03 (**C**₁₉), 121,9 (**C**₆), 112,0 (**C**₁₆), 111,5 (**C**₁₅), 111,2 (**C**₈), 102,8 (**C**₁₃), 100,8 (**C**₁₂), 65,1 (**C**₁₀), 50,1 (**C**₉), 46,0 (**C**₂), 36,3 (**C**₃), 31,7 (**C**₄), 30,2 (gem **CH**₃) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 432,18430, calculée pour $C_{26}H_{27}ClN_3O^+$ [**M**+**H**]⁺ 432,18372.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(6-fluoropyridin-3-yl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**31n**)



C₂₆H₂₆FN₃O

MM = 415,50 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (123 mg ; 0,31 mmol), de l'acide 6-fluoropyridin-3-ylboronique (130 mg ; 0,92 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (128 mg ; 0,92 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (22 mg ; 0,031 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 4 h 30 d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 80/20) pour conduire au composé **31n** sous la forme d'un solide blanc (84 mg ; 66%).

Pf : 62-63 °C ;

Pureté CLHP : 99,1% ;

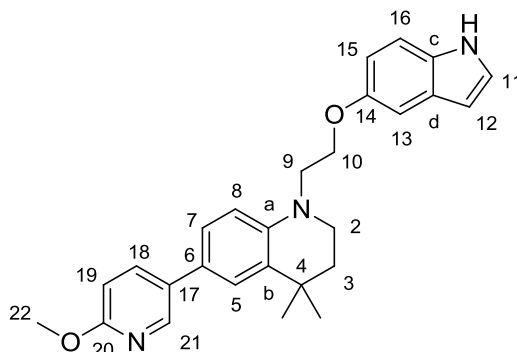
RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ 10,92 (s, 1H, NH), 8,42 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, **H**₂₁), 8,24 – 8,02 (m, 1H, **H**₁₈), 7,46 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, **H**₅), 7,32 (dd, *J* = 8,6, 2,2 Hz, 1H, **H**₇), 7,29 – 7,23 (m, 2H, **H**₁₁+**H**₁₆), 7,16 (dd, *J* = 8,5, 2,9 Hz, 1H, **H**₁₉), 7,04 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, **H**₁₃), 6,77 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, **H**₈), 6,72 (dd, *J* = 8,7, 2,4 Hz, 1H, **H**₁₅), 6,34 – 6,26 (m, 1H, **H**₁₂), 4,16 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H, **H**₁₀), 3,74 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H, **H**₉), 3,56 – 3,40 (m, 2H, **H**₂), 1,76 – 1,61 (m, 2H, **H**₃), 1,28 (s, 6H, *gem* CH₃) ;

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ 161,6 (d, *J* = 233,8 Hz, **C**₂₀), 152,4 (**C**₁₄), 143,9 (d, *J* = 14,8 Hz, **C**₂₁), 143,6 (**C**_a), 138,9 (d, *J* = 7,7 Hz, **C**₁₈), 134,8 (d, *J* = 4,4 Hz, **C**₁₇), 131,2 (**C**_b), 131,1 (**C**_c), 128,0 (**C**_d), 125,8 (**C**₁₁), 125,1 (**C**₇), 124,1 (**C**₅), 122,3 (**C**₆), 112,0 (**C**₁₆), 111,5 (**C**₁₅), 111,2 (**C**₈), 109,2 (d, *J* = 37,8 Hz, **C**₁₉), 102,8 (**C**₁₃), 100,8 (**C**₁₂), 65,1 (**C**₁₀), 50,1 (**C**₉), 46,0 (**C**₂), 36,4 (**C**₃), 31,7 (**C**₄), 30,3 (*gem* CH₃) ;

¹⁹F RMN (282 MHz, DMSO) δ -73,6 ;

SMHR-ESI (*m/z*) : mesurée 416,21128, calculée pour C₂₆H₂₇FN₃O⁺ [M+H]⁺ 416,21327.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-(6-méthoxy-pyridin-3-yl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**31o**)



$C_{27}H_{29}N_3O_2$

MM = 427,54 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (100 mg ; 0,25 mmol), de l'acide 6-méthoxy-pyridin-3-ylboronique (115 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (104 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (18 mg ; 0,025 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 4 h d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 80/20) pour conduire au composé **31o** sous la forme d'un solide jaune (66 mg ; 62%).

Pf : 59-60 °C ;

Pureté CLHP : 99,4% ;

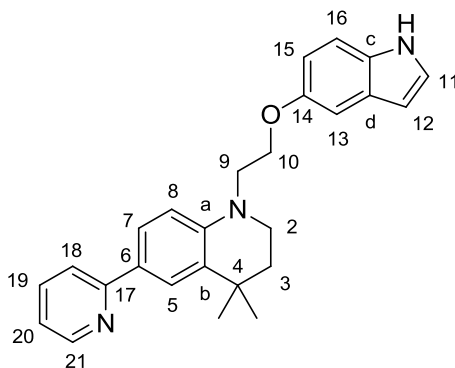
RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 10,92 (s, 1H, NH), 8,35 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, **H**₂₁), 7,88 (dd, $J = 8,6, 2,5$ Hz, 1H, **H**₁₈), 7,39 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, **H**₅), 7,29 – 7,21 (m, 3H, **H**₇+**H**₁₁+**H**₁₆), 7,04 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, **H**₁₃), 6,82 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, **H**₁₉), 6,78 – 6,69 (m, 2H, **H**₈+**H**₁₅), 6,32 – 6,28 (m, 1H, **H**₁₂), 4,15 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, **H**₁₀), 3,86 (s, 3H, **H**₂₂), 3,72 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, **H**₉), 3,51 – 3,43 (m, 2H, **H**₂), 1,73 – 1,65 (m, 2H, **H**₃), 1,27 (s, 6H, *gem* CH₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 162,0 (**C**₂₀), 152,4 (**C**₁₄), 143,3 (**C**₂₁), 143,1 (**C**_a), 136,6 (**C**₁₈), 131,2 (**C**_b), 131,1 (**C**_c), 130,1 (**C**₁₇), 128,0 (**C**_d), 125,8 (**C**₁₁), 124,6 (**C**₇), 123,71 (**C**₆), 123,69 (**C**₅), 112,0 (**C**₁₆), 111,5 (**C**₁₅), 111,2 (**C**₈), 110,3 (**C**₁₉), 102,8 (**C**₁₃), 100,8 (**C**₁₂), 65,1 (**C**₁₀), 53,1 (**C**₂₂), 50,2 (**C**₉), 46,0 (**C**₂), 36,5 (**C**₃), 31,7 (**C**₄), 30,4 (*gem* CH₃) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 428,23259, calculée pour $C_{27}H_{30}N_3O_2^+$ [M+H]⁺ 428,23325.

1-(2-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-6-(pyridin-2-yl)-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine

(32)



C₂₆H₂₇N₃O

MM = 397,51 g/mol

Une suspension de 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **15b** (200 mg ; 0,50 mmol), d'acétate de potassium (245 mg ; 2,50 mmol ; 5,0 éq.) et de bis(pinacolato)diborane (254 mg ; 1,00 mmol ; 2,0 éq.) dans le 1,4-dioxane (2,5 mL) est dégazée sous argon. Puis le chlorure de 1,1'-bis(diphénylphosphino)ferrocène-palladium(II) (4 mg ; 0,005 mmol ; 0,01 éq.) est ajouté et le mélange est agité à 80 °C pendant 22 h. Après retour à TA, le mélange est filtré sur dicalite, lavé à l'eau et extrait à l'acétate d'éthyle (3 × 50 mL). La phase organique est lavée avec de la saumure (50 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle : 85/15) pour conduire à l'intermédiaire 1-(2-((1*H*-indol-5-yl)oxy)éthyl)-4,4-diméthyl-6-(4,4,5,5-tétraméthyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine sous la forme d'un solide brunâtre (110 mg). Une solution de ce dernier (103 mg ; 0,23 mmol), de phosphate de potassium (98 mg ; 0,46 mmol ; 2,0 éq.) et de 2-chloropyridine (24 µL ; 1,15 mmol ; 5,0 éq.) dans un mélange 1,4-dioxane/eau (1/0,25 mL) est dégazée sous argon. Puis le chlorure de 1,1'-bis(diphénylphosphino)ferrocène-palladium(II) (4 mg ; 0,005 mmol ; 0,02 éq.) est ajouté et le mélange est agité à 100 °C pendant 4 h 30. Après retour à TA, le mélange est filtré sur dicalite, lavé à l'eau et extrait à l'acétate d'éthyle (3 × 50 mL). La phase organique est lavée avec de la saumure (50 mL), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane/acétate d'éthyle : 95/5) pour conduire au composé **32** sous la forme d'un solide jaune (42 mg ; 23%).

Pf : 65-66 °C ;

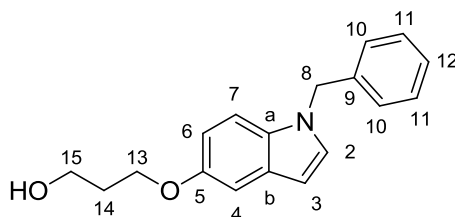
Pureté CLHP : 98,2% ;

RMN ^1H (300 MHz, DMSO) δ 10,92 (s, 1H, **NH**), 8,54 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H, **H₂₁**), 7,93 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, **H₅**), 7,81 – 7,67 (m, 3H, **H₇+H₁₈+H₁₉**), 7,26 (m, 2H, **H₁₁+H₁₆**), 7,18 – 7,11 (m, 1H, **H₂₀**), 7,05 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H₁₃**), 6,77 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, **H₈**), 6,72 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H, **H₁₅**), 6,32 – 6,27 (m, 1H, **H₁₂**), 4,17 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H, **H₁₀**), 3,76 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H, **H₉**), 3,54 – 3,44 (m, 2H, **H₂**), 1,76 – 1,64 (m, 2H, **H₃**), 1,28 (s, 6H, *gem* **CH₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 156,7 (**C₁₇**), 152,3 (**C₁₄**), 149,0 (**C₂₁**), 144,5 (**C_a**), 136,8 (**C₁₉**), 131,1 (**C_b**), 130,5 (**C_e**), 128,0 (**C_d**), 125,8 (**C₁₁**), 125,3 (**C₆**), 125,1 (**C₇**), 123,9 (**C₅**), 120,5 (**C₂₀**), 118,4 (**C₁₈**), 112,0 (**C₁₆**), 111,5 (**C₁₅**), 110,6 (**C₈**), 102,8 (**C₁₃**), 100,8 (**C₁₂**), 65,1 (**C₁₀**), 50,1 (**C₉**), 46,0 (**C₂**), 36,3 (**C₃**), 31,7 (**C₄**), 30,3 (*gem* **CH₃**) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 398,22189, calculée pour $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 398,22269.

3-((1-Benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)propan-1-ol (**33**)



$C_{18}H_{19}NO_2$

MM = 281,35 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale B**, à partir du 1-benzyl-5-bromo-1*H*-indole **10b** (3,00 g ; 10,48 mmol), de carbonate de césium (5,12 g ; 15,72 mmol ; 1,5 éq.), d'iodure de cuivre(I) (0,20 g ; 1,05 mmol ; 0,1 éq.) et de 3,4,7,8-tétraméthyl-1,10-phénanthroline (0,50 g ; 2,10 mmol ; 0,2 éq.) dans le 1,3-propanediol (10 mL) après 72 h d'agitation à 130 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane/acétate d'éthyle : 98/2) pour conduire au composé **33** sous la forme d'un solide blanc (1,42 g ; 48%).

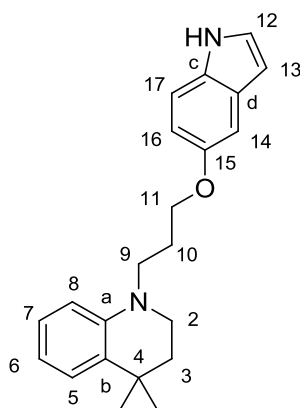
Pf : 91-92 °C ;

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,35 – 7,22 (m, 3H, **H**₄+**H**₁₁), 7,20 – 7,05 (m, 5H, **H**₂+**H**₇+**H**₁₀+**H**₁₂), 6,83 (dd, $J = 8,8, 2,0$ Hz, 1H, **H**₆), 6,47 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₃), 5,29 (s, 2H, **H**₈), 4,18 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H, **H**₁₃), 3,94 – 3,85 (m, 2H, **H**₁₅), 2,14 – 2,01 (m, $J = 5,6$ Hz, 2H, **H**₁₄), 1,95 (s, 1H, **OH**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 153,2 (**C**₅), 137,7 (**C**₉), 131,9 (**C**_b), 129,2 (**C**_a), 129,1 (**C**₄), 128,9 (**C**₁₁), 127,7 (**C**₁₂), 126,8 (**C**₁₀), 112,5 (**C**₆), 110,6 (**C**₇), 104,0 (**C**₂), 101,3 (**C**₃), 67,2 (**C**₁₃), 61,3 (**C**₁₅), 50,4 (**C**₈), 32,2 (**C**₁₄) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 282,14869, calculée pour $C_{18}H_{20}NO_2^+$ [$M+H$] $^+$ 282,14886.

1-(3-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)propyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**34a**)



$C_{22}H_{26}N_2O$

MM = 334,46 g/mol

Le composé intermédiaire 1-(3-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)propyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine obtenu selon la **procédure générale C**, à partir du 3-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)propan-1-ol **33** (0,56 g ; 2,00 mmol), d'acide 2-iodoxybenzoïque (1,68 g ; 6,00 mmol ; 3,0 équ.), de 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3a** (0,48 g ; 3,00 mmol ; 1,5 équ.) et de triacétoxyborohydrure de sodium (1,27 g ; 6,00 mmol ; 3,0 équ.) dans le 1,2-DCE anhydre (15 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 98/2) pour conduire au composé intermédiaire sous la forme d'une huile incolore (0,65 g ; 77%).

Pureté CLHP : 96,9% ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 7,44 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₁₂), 7,35 – 7,20 (m, 4H, **H**₁₇+**H**₂₁+**H**₂₂), 7,20 – 7,13 (m, 2H, **H**₂₀), 7,11 (dd, $J = 7,6, 1,5$ Hz, 1H, **H**₅), 7,07 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, **H**₁₄), 6,93 – 6,84 (m, 1H, **H**₇), 6,77 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H, **H**₁₆), 6,58 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, **H**₈), 6,52 – 6,43 (m, 1H, **H**₆), 6,37 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, **H**₁₃), 5,36 (s, 2H, **H**₁₈), 4,00 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, **H**₁₁), 3,43 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, **H**₉), 3,28 – 3,20 (m, 2H, **H**₂), 2,02 – 1,86 (m, 2H, **H**₁₀), 1,69 – 1,56 (m, 2H, **H**₃), 1,19 (s, 6H, *gem* CH₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 152,7 (**C**₁₅), 143,6 (**C**_a), 138,4 (**C**₁₉), 131,1 (**C**_b), 130,5 (**C**_d), 129,6 (**C**₁₂), 128,8 (**C**_c), 128,5 (**C**₂₁), 127,3 (**C**₂₂), 127,0 (**C**₂₀), 126,6 (**C**₇), 125,7 (**C**₅), 115,1 (**C**₆), 111,8 (**C**₁₆), 110,8 (**C**₁₇), 110,5 (**C**₈), 103,4 (**C**₁₄), 100,6 (**C**₁₃), 65,8 (**C**₁₁), 49,2 (**C**₁₈), 47,6 (**C**₉), 45,1 (**C**₃), 36,54 (**C**₂), 31,53 (**C**₄), 30,67 (*gem* CH₃), 25,53 (**C**₁₀) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 425,25628, calculée pour $C_{29}H_{33}N_2O^+$ [$M+H$]⁺ 425,25874.

Le composé **34a** est obtenu selon la **procédure générale D**, à partir du composé intermédiaire 1-(3-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)propyl)-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (78 mg ; 0,18 mmol) et de *tert*-butylate de potassium (145 mg ; 1,29 mmol ; 7,0 équ.) dans le DMSO

(10 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 95/5) pour conduire au composé **34a** sous la forme d'une huile incolore (30 mg ; 50%).

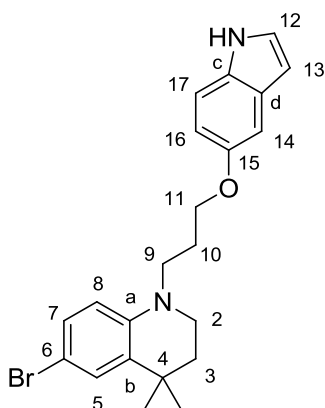
Pureté CLHP : 99,1% ;

RMN ^1H (300 MHz, DMSO) δ 10,92 (s, 1H, **NH**), 7,32 – 7,24 (m, 2H, **H**₁₂+**H**₁₇), 7,11 (dd, $J = 7,6, 1,5$ Hz, 1H, **H**₅), 7,05 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, **H**₁₄), 6,95 – 6,86 (m, 1H, **H**₇), 6,76 (dd, $J = 8,7, 2,3$ Hz, 1H, **H**₁₆), 6,60 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, **H**₈), 6,52 – 6,44 (m, 1H, **H**₆), 6,34 – 6,29 (m, 1H, **H**₁₃), 4,01 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, **H**₁₁), 3,44 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H, **H**₉), 3,29 – 3,22 (m, 2H, **H**₂), 2,02 – 1,90 (m, 2H, **H**₁₀), 1,69 – 1,61 (m, 2H, **H**₃), 1,19 (s, 6H, *gem* **CH**₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 152,4 (**C**₁₅), 143,7 (**C**_a), 131,1 (**C**_b), 130,5 (**C**_c), 128,0 (**C**_d), 126,6 (**C**₇), 125,8 (**C**₁₂), 125,7 (**C**₅), 115,1 (**C**₆), 112,0 (**C**₁₇), 111,6 (**C**₁₆), 110,6 (**C**₈), 102,9 (**C**₁₄), 100,8 (**C**₁₃), 65,7 (**C**₁₁), 47,7 (**C**₉), 45,1 (**C**₂), 36,6 (**C**₃), 31,5 (**C**₄), 30,7 (*gem* **CH**₃), 25,6 (**C**₁₀) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 335,20978, calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 335,21179.

1-(3-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)propyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine (**34b**)



$C_{22}H_{25}BrN_2O$

MM = 413,35 g/mol

Le composé intermédiaire 1-(3-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)propyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine est obtenu selon la **procédure générale C**, à partir du 3-((1-benzyl-1*H*-indol-5-yl)oxy)propan-1-ol **33** (1,10 g ; 3,91 mmol), d'acide 2-iodoxybenzoïque (3,28 g ; 11,73 mmol ; 3,0 éq.), de 6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **3b** (1,88 g ; 7,82 mmol ; 2,0 éq.), et de triacétoxyborohydrure de sodium (1,66 g ; 7,82 mmol ; 2,0 éq.) dans le 1,2-DCE anhydre (15 mL). Le composé intermédiaire obtenu (1,40 g ; 71%) étant instable, celui-ci (105 mg ; 0,21 mmol) est directement déprotégé selon la **procédure générale D**, par *tert*-butylate de potassium (330 mg ; 2,92 mmol) dans le DMSO (20 mL). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 85/15) pour conduire au composé **34b** sous la forme d'une gomme brune (51 mg ; 59%).

Pureté CLHP : 96,3% ;

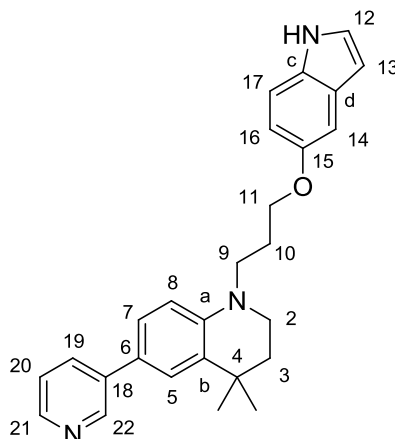
RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 10,92 (s, 1H, **NH**), 7,28 (m, 2H, **H₁₂+H₁₇**), 7,19 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, **H₅**), 7,07 – 6,97 (m, 2H, **H₇+H₁₄**), 6,75 (dd, $J = 8,7, 2,3$ Hz, 1H, **H₁₆**), 6,56 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, **H₈**), 6,35 – 6,28 (m, 1H, **H₁₃**), 3,99 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H, **H₁₁**), 3,43 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, **H₉**), 3,30 – 3,19 (m, 2H, **H₂**), 2,01 – 1,87 (m, 2H, **H₁₀**), 1,68 – 1,57 (m, 2H, **H₃**), 1,18 (s, 6H, *gem* **CH₃**) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 152,3 (**C₁₅**), 142,9 (**C_a**), 133,0 (**C_b**), 131,1 (**C_c**), 129,1 (**C₇**), 128,02 (**C_d**), 127,97 (**C₅**), 125,8 (**C₁₂**), 112,5 (**C₈**), 112,0 (**C₁₇**), 111,6 (**C₁₆**), 106,0 (**C₆**), 102,9 (**C₁₄**), 100,8 (**C₁₃**), 65,6 (**C₁₁**), 47,6 (**C₉**), 44,9 (**C₂**), 36,0 (**C₃**), 31,8 (**C₄**), 30,2 (*gem* **CH₃**), 25,4 (**C₁₀**) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 413,12043, calculée pour $C_{22}H_{26}BrN_2O^+$ $[M+H]^+$ 413,12230.

1-(3-((1*H*-Indol-5-yl)oxy)propyl)-4,4-diméthyl-6-(pyridin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine

(35)



$C_{27}H_{29}N_3O$

MM = 411,54 g/mol

Le composé est obtenu selon la **procédure générale E**, à partir du 1-(3-((1*H*-indol-5-yl)oxy)propyl)-6-bromo-4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **34b** (103 mg ; 0,25 mmol), de l'acide pyridin-3-ylboronique (92 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.), de carbonate de potassium (104 mg ; 0,75 mmol ; 3,0 éq.) et de dichlorure de palladium bistriphénylphosphine (18 mg ; 0,025 mmol ; 0,1 éq.) dans un mélange DMF/eau (10/2 mL) après 1 h 30 d'agitation à 90 °C. Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 60/40) pour conduire au composé **35** sous la forme d'un solide jaune (84 mg ; 47%).

Pf : 144-145 °C ;

Pureté CLHP : 99,2% ;

RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ 10,93 (s, 1H, NH), 8,79 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, **H**₂₂), 8,47 – 8,35 (m, 1H, **H**₂₁), 8,00 – 7,83 (m, 1H, **H**₁₉), 7,48 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, **H**₅), 7,37 (dd, $J = 7,9, 4,7$ Hz, 1H, **H**₂₀), 7,33 – 7,24 (m, 3H, **H**₇+**H**₁₂+**H**₁₇), 7,06 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, **H**₁₄), 6,78 (dd, $J = 8,7, 2,3$ Hz, 1H, **H**₁₆), 6,73 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H, **H**₈), 6,36 – 6,28 (m, 1H, **H**₁₃), 4,02 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H, **H**₁₁), 3,51 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H, **H**₉), 3,35 – 3,28 (m, 2H, **H**₂), 2,06 – 1,93 (m, 2H, **H**₁₀), 1,74 – 1,62 (m, 2H, **H**₃), 1,27 (s, 6H, *gem* CH₃) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ 152,4 (**C**₁₅), 146,54 (**C**₂₂), 146,49 (**C**₂₁), 143,8 (**C**_a), 136,2 (**C**₁₈), 132,6 (**C**₁₉), 131,1 (**C**_b+**C**_c), 128,0 (**C**_d), 125,8 (**C**₁₂), 125,1 (**C**₇), 124,1 (**C**₅), 123,7 (**C**₂₀), 123,2 (**C**₆), 112,0 (**C**₁₇), 111,7 (**C**₁₆), 111,1 (**C**₈), 103,0 (**C**₁₄), 100,8 (**C**₁₃), 65,7 (**C**₁₁), 47,6 (**C**₉), 45,1 (**C**₂), 36,4 (**C**₃), 31,7 (**C**₄), 30,4 (*gem* CH₃), 25,7 (**C**₁₀) ;

SMHR-ESI (m/z) : mesurée 412,23615, calculée pour $C_{27}H_{30}N_3O^+$ [M+H]⁺ 412,23834.

II. Protocoles expérimentaux des tests biologiques

A. Culture cellulaire

Les lignées cellulaires K562 et KU812 expriment le transcrite BCR-ABL et ont été utilisées comme modèle d'étude de la LMC. Ces lignées ont été cultivées à 37 °C en présence de 5% de CO₂, dans un milieu RPMI (Roswell Park Memorial Institute medium) enrichi avec 10% de SVF (Sérum de Veau Fœtal), 1% de Glutamine et 1% de pénicilline/streptomycine.

B. Criblage moléculaire

Pour évaluer l'activité des molécules sur la prolifération des cellules des lignées K562 et des KU812, celles-ci ont été traitées par 10 µM de chaque molécule ou avec du DMSO comme contrôle négatif, sur des durées de 24, 48 et 72 h. Au terme de l'incubation, les cellules vivantes ont été comptées sur lame de Malassez après coloration au bleu Trypan.

Pour évaluer le niveau de cytotoxicité des molécules sur les lignées, des tests de viabilité ont été réalisés par une étude spectrophotométrique après réaction avec le MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium). Les cellules sont incubées en plaque de 96 puits à la concentration de 20 000 cellules par puits pendant 24, 48 ou 72 h après traitement par les molécules d'intérêt à 10 µM ou avec du DMSO comme contrôle. A la fin de l'incubation, 10 µL d'une solution de 5 g/L de MTT (Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) sont ajoutés dans chaque puits. Après 4 h d'incubation à 37 °C en présence de 5% de CO₂ avec le réactif, 100 µL de tampon de lyse sont ajoutés (10% SDS ; 0,003% HCl) dans chaque puits et les plaques sont incubées à 37 °C en présence de 5% de CO₂ durant une nuit. L'absorbance est mesurée à 570 nm avec un spectrophotomètre Clariostar (BMG Labtech, Champigny sur Marne, France). Après avoir soustrait la densité optique (DO) du bruit de fond aux données, la viabilité est calculée selon la formule suivante : (DO cellules traitées / DO cellules non traitées) x 100.

Pour évaluer la relation dose effet des molécules, la viabilité des cellules a été évaluée par test MTT après 48 h de traitement, avec une concentration croissante de composés de 100 nM à 50 µM. La méthode utilisée est identique à celle précédemment expliquée.

Après sélection de la molécule **31d**, une évaluation de son effet sur la viabilité des lignées de LAM KG1a et MV-4-11 a été réalisée en traitant ces cellules durant 48 h avec des concentrations moléculaires de 100 nM à 50 µM. La cytotoxicité a également été évaluée par test MTT.

C. Evaluation de l'apoptose

L'apoptose cellulaire a été évaluée sur les cellules KU812 en utilisant un kit de détection Annexine V FITC – 7-AAD (Beckman Coulter, Marseille, France). 1 million de cellules sont incubées pendant 48 h après traitement par 10 μ M des molécules **15a**, **15b**, **30**, **31d**, **31m**, **31i**, **34a** et CP196i, ou du DMSO comme contrôle. Les cellules sont ensuite récoltées et lavées au PBS 1X puis sont marquées avec l'Annexine V et le 7-AAD. Après 15 minutes d'incubation, 300 μ L de tampon Annexine V sont ajoutés et la fluorescence est mesurée par cytométrie en flux (BD Accuri C6). L'analyse des données a été réalisée sur le logiciel d'acquisition FlowJo.

D. Effet sur l'expression de STAT5

L'évaluation de l'effet d'un traitement de 5, 10 ou 24 h par 10 μ M de **15a**, **15b**, **30**, **31d**, **31m**, **31i**, **34a** et CP196i sur l'expression de STAT5 dans les cellules KU812 a été réalisée par Western Blot. 1 million de cellules sont incubées avec ou sans traitement à 37 °C en présence de 5% de CO₂, puis elles sont lavées au PBS et enfin congelées. Les cellules sont suspendues dans un tampon Laemmli 1X (30 μ L par million de cellules), séparées sur des gels SDS-PAGE puis transférées sur des membranes de nitrocellulose (Bio-Rad). Les blots sont incubés avec les anticorps P-Y 694/699 - STAT5 (BD Transduction Laboratories, Franklin Lakes, USA), STAT5 (BD Transduction Laboratories, Franklin Lakes, USA) et Actine (Cell signaling Technology, Danvers, USA). La révélation est réalisée par un système de détection par chimioluminescence ECL (GE Healthcare, Little Chalfont, UK) en utilisant les peroxidases spécifiques conjuguées à des anticorps de type IgG murins, caprins ou cunilicol (Cell signaling Technology, Danvers, USA).

E. Effet sur les gènes cibles de STAT5

Afin d'évaluer l'effet potentiel du composé **31d** sur les gènes *STAT5A* et *STAT5B* et sur le gène cible de STAT5 : *PIMI*, une PCR quantitative en temps réel (qRT-PCR) a été réalisée sur des extraits de cellules KU812 traités pendant 15 h par 10 μ M de **31d**, 1 μ M d'imatinib ou par du DMSO comme contrôle négatif. Pour réaliser ce test, les ARN sont extraits en utilisant une solution de Trizol® puis reverse transcrit selon le protocole du kit de synthèse de cDNA SuperScript® VILO (Invitrogen, Carlsbad, United States). Les ADN en résultant sont utilisés pour la qRT-PCR réalisée par le Light Cycler 480 thermocycler II

(Roche). Les gènes étudiés sont donc : *STAT5A*, *STAT5B* et *PIMI* et les gènes de références utilisés *GAPDH* (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) et *ACTB* (Actin Beta). L'expression relative des gènes a été analysée par la méthode du $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

F. Evaluation de l'activité sur PPAR

Dans le but de connaître les effets sur PPAR de la molécule **31d**, son activité cytotoxique sur des cellules KU812, KG1a et MV-4-11 a été comparée à celle d'un agoniste PPAR γ connu, la rosiglitazone. La cytotoxicité de ces deux composés a ensuite été évaluée en présence d'un antagoniste PPAR γ , le GW9662. Les cellules KU812 ont donc été traitées durant 24, 48 ou 72 h avec 10 μ M de **31d** ou 10 μ M de rosiglitazone associées ou non à 10 μ M de GW9662. La viabilité des cellules après traitement a été mesurée par un test MTT, selon la procédure précédemment expliquée, et la prolifération des cellules a été évaluée par comptage au bleu Trypan suivant le protocole précédemment présenté.

Bibliographie

- (1) Torre, L. A.; Bray, F.; Siegel, R. L.; Ferlay, J.; Lortet-Tieulent, J.; Jemal, A. Global Cancer Statistics, 2012. *CA. Cancer J. Clin.* **2015**, *65*, 87–108.
- (2) ©Les Cancers En France, Les Données, INCa, Édition 2015. **2016**.
- (3) Casetti, L. New Roles of STAT5 Factors in Chronic Myeloid Leukemia Cell Maintenance, 2014.
- (4) Metcalf, D. Concise Review: Hematopoietic Stem Cells and Tissue Stem Cells: Current Concepts and Unanswered Questions. *Stem Cells* **2007**, *25*, 2390–2395.
- (5) Lydon, N. Attacking Cancer at Its Foundation. *Nat. Med.* **2009**, *15*, 1153–1157.
- (6) Eisbruch, A.; Blick, M.; Evinger-Hodges, M. J.; Beran, M.; Andersson, B.; Gutterman, J. U.; Kurzrock, R. Effect of Differentiation-Inducing Agents on Oncogene Expression in a Chronic Myelogenous Leukemia Cell Line. *Cancer* **1988**, *62*, 1171–1178.
- (7) Fabbro, D. BCR-ABL Signaling: A New STATus in CML. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, *8*, 228–229.
- (8) Epstein, F. H.; Faderl, S.; Talpaz, M.; Estrov, Z.; O'Brien, S.; Kurzrock, R.; Kantarjian, H. M. The Biology of Chronic Myeloid Leukemia. *N. Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 164–172.
- (9) Leger, D. Etude Des Voies de Signalisation Cellulaire Au Cours de L'apoptose et de La Différenciation Mégacaryocytaire Induites Par La Diosgénine Dans La Lignée Érythroleucémique Humaine HEL. Rôle Anti-Apoptotique Du Léflunomide et Voies de Transduction Du Signal a, 2006.
- (10) Kelly, L. M.; Liu, Q.; Kutok, J. L.; Williams, I. R.; Boulton, C. L.; Gilliland, D. G. FLT3 Internal Tandem Duplication Mutations Associated with Human Acute Myeloid Leukemias Induce Myeloproliferative Disease in a Murine Bone Marrow Transplant Model. *Blood* **2002**, *99*, 310–318.
- (11) Darnell, J. E. STATs and Gene Regulation. *Science* **1997**, *277*, 1630–1635.
- (12) Kisseleva, T.; Bhattacharya, S.; Braunstein, J.; Schindler, C. W. Signaling through the JAK/STAT Pathway, Recent Advances and Future Challenges. *Gene* **2002**, *285*, 1–24.
- (13) Chen, X.; Vinkemeier, U.; Zhao, Y.; Jeruzalmi, D.; Darnell, J. E.; Kuriyan, J. Crystal Structure of a Tyrosine Phosphorylated STAT-1 Dimer Bound to DNA. *Cell* **1998**, *93*, 827–839.
- (14) Neculai, D.; Neculai, A. M.; Verrier, S.; Straub, K.; Klumpp, K.; Pfitzner, E.; Becker, S. Structure of the Unphosphorylated STAT5a Dimer. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*,

40782–40787.

- (15) Lim, C. P.; Cao, X. Structure, Function, and Regulation of STAT Proteins. *Mol. Biosyst.* **2006**, *2*, 536–550.
- (16) Becker, S.; Groner, B.; Müller, C. W. Three-Dimensional Structure of the Stat3 β Homodimer Bound to DNA. *Nature* **1998**, *394*, 145–151.
- (17) Levy, D. E.; Darnell, J. E. Signalling: STATs: Transcriptional Control and Biological Impact. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2002**, *3*, 651–662.
- (18) Garcia, R.; Bowman, T. L.; Niu, G.; Yu, H.; Minton, S.; Muro-Cacho, C. A.; Cox, C. E.; Falcone, R.; Fairclough, R.; Parsons, S.; Laudano, A.; Gazit, A.; Levitzki, A.; Kraker, A.; Jove, R. Constitutive Activation of Stat3 by the Src and JAK Tyrosine Kinases Participates in Growth Regulation of Human Breast Carcinoma Cells. *Oncogene* **2001**, *20*, 2499–2513.
- (19) Wong, M.; Fish, E. N. RANTES and MIP-1 Activate Stats in T Cells. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 309–314.
- (20) Hao, A. The LIM/Homeodomain Protein Islet1 Recruits Janus Tyrosine Kinases and Signal Transducer and Activator of Transcription 3 and Stimulates Their Activities. *Mol. Biol. Cell* **2005**, *16*, 1569–1583.
- (21) Garcia, R.; Jove, R. Activation of STAT Transcription Factors in Oncogenic Tyrosine Kinase Signaling. *J. Biomed. Sci.* **1998**, *5*, 79–85.
- (22) Akira, S. Functional Roles of STAT Family Proteins: Lessons from Knockout Mice. *Stem Cells* **1999**, *17*, 138–146.
- (23) Imada, K.; Leonard, W. J. The Jak-STAT Pathway. *Mol. Immunol.* **2000**, *37*, 1–11.
- (24) Schindler, C.; Fu, X. Y.; Improta, T.; Aebersold, R.; Darnell, J. E. Proteins of Transcription Factor ISGF-3: One Gene Encodes the 91- and 84-kDa ISGF-3 Proteins That Are Activated by Interferon Alpha. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1992**, *89*, 7836–7839.
- (25) Durbin, J. E.; Hackenmiller, R.; Simon, M. C.; Levy, D. E. Targeted Disruption of the Mouse Stat1 Gene Results in Compromised Innate Immunity to Viral Disease. *Cell* **1996**, *84*, 443–450.
- (26) Sugawara, I.; Yamada, H.; Mizuno, S. STAT1 Knockout Mice Are Highly Susceptible to Pulmonary Mycobacterial Infection. *Tohoku J. Exp. Med.* **2004**, *202*, 41–50.
- (27) Kaplan, D. H.; Shankaran, V.; Dighe, A. S.; Stockert, E.; Aguet, M.; Old, L. J.; Schreiber, R. D. Demonstration of an Interferon-Dependent Tumor Surveillance System in Immunocompetent Mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1998**, *95*, 7556–7561.

- (28) Matikainen, S.; Ronni, T.; Lehtonen, A.; Sareneva, T.; Melén, K.; Nordling, S.; Levy, D. E.; Julkunen, I. Retinoic Acid Induces Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT) 1, STAT2, and p48 Expression in Myeloid Leukemia Cells and Enhances Their Responsiveness to Interferons. *Cell Growth Differ.* **1997**, *8*, 687–698.
- (29) Paukku, K.; Silvennoinen, O. STATs as Critical Mediators of Signal Transduction and Transcription: Lessons Learned from STAT5. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2004**, *15*, 435–455.
- (30) Horvath, C. M. STAT Proteins and Transcriptional Responses to Extracellular Signals. *Trends Biochem. Sci.* **2000**, *25*, 496–502.
- (31) Ihle, J. N. The Stat Family in Cytokine Signaling. *Curr. Opin. Cell Biol.* **2001**, *13*, 211–217.
- (32) Schmitt-Ney, M.; Happ, B.; Ball, R. K.; Groner, B. Developmental and Environmental Regulation of a Mammary Gland-Specific Nuclear Factor Essential for Transcription of the Gene Encoding Beta-Casein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1992**, *89*, 3130–3134.
- (33) Gouilleux, F.; Wakao, H.; Mundt, M.; Groner, B. Prolactin Induces Phosphorylation of Tyr694 of Stat5 (MGF), a Prerequisite for DNA Binding and Induction of Transcription. *EMBO J.* **1994**, *13*, 4361–4369.
- (34) Hennighausen, L.; Robinson, G. W. Interpretation of Cytokine Signaling through the Transcription Factors STAT5A and STAT5B. *Genes Dev.* **2008**, *22*, 711–721.
- (35) Kirken, R. A.; Malabarba, M. G.; Xu, J.; Liu, X.; Farrar, W. L.; Hennighausen, L.; Larner, A. C.; Grimley, P. M.; Rui, H. Prolactin Stimulates Serine/tyrosine Phosphorylation and Formation of Heterocomplexes of Multiple Stat5 Isoforms in Nb2 Lymphocytes. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 14098–14103.
- (36) Udy, G. B.; Towers, R. P.; Snell, R. G.; Wilkins, R. J.; Park, S. H.; Ram, P. A.; Waxman, D. J.; Davey, H. W. Requirement of STAT5b for Sexual Dimorphism of Body Growth Rates and Liver Gene Expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1997**, *94*, 7239–7244.
- (37) Basham, B.; Sathe, M.; Grein, J.; McClanahan, T.; D'Andrea, A.; Lees, E.; Rasclé, A. In Vivo Identification of Novel STAT5 Target Genes. *Nucleic Acids Res.* **2008**, *36*, 3802–3818.
- (38) Singh, N.; Hussain, S.; Bharadwaj, M.; Kakkar, N.; Singh, S. K.; Sobti, R. C. Overexpression of Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT-3 and STAT-5) Transcription Factors and Alteration of Suppressor of Cytokine Signaling (SOCS-1) Protein in Prostate Cancer. *J. Recept. Signal Transduct. Res.* **2012**, *32*, 321–

- (39) Weber, A.; Borghouts, C.; Brendel, C.; Moriggl, R.; Delis, N.; Brill, B.; Vafaizadeh, V.; Groner, B. The Inhibition of Stat5 by a Peptide Aptamer Ligand Specific for the DNA Binding Domain Prevents Target Gene Transactivation and the Growth of Breast and Prostate Tumor Cells. *Pharmaceuticals* **2013**, *6*, 960–987.
- (40) Bunting, K. D.; Bradley, H. L.; Hawley, T. S.; Moriggl, R.; Sorrentino, B. P.; Ihle, J. N. Reduced Lymphomyeloid Repopulating Activity from Adult Bone Marrow and Fetal Liver of Mice Lacking Expression of STAT5. *Blood* **2002**, *99*, 479–487.
- (41) Bradley, H. L.; Couldrey, C.; Bunting, K. D. Hematopoietic-Repopulating Defects from STAT5-Deficient Bone Marrow Are Not Fully Accounted for by Loss of Thrombopoietin Responsiveness. *Blood* **2004**, *103*, 2965–2972.
- (42) Couldrey, C.; Bradley, H. L.; Bunting, K. D. A STAT5 Modifier Locus on Murine Chromosome 7 Modulates Engraftment of Hematopoietic Stem Cells during Steady-State Hematopoiesis. *Blood* **2005**, *105*, 1476–1483.
- (43) Li, G.; Wang, Z.; Zhang, Y.; Kang, Z.; Haviernikova, E.; Cui, Y.; Hennighausen, L.; Moriggl, R.; Wang, D.; Tse, W.; Bunting, K. D. STAT5 Requires the N-Domain to Maintain Hematopoietic Stem Cell Repopulating Function and Appropriate Lymphoid-Myeloid Lineage Output. *Exp. Hematol.* **2007**, *35*, 1684–1694.
- (44) Wang, Z.; Li, G.; Tse, W.; Bunting, K. D. Conditional Deletion of STAT5 in Adult Mouse Hematopoietic Stem Cells Causes Loss of Quiescence and Permits Efficient Nonablative Stem Cell Replacement. *Blood* **2009**, *113*, 4856–4865.
- (45) Snow, J. W.; Abraham, N.; Ma, M. C.; Abbey, N. W.; Herndier, B.; Goldsmith, M. A. STAT5 Promotes Multilineage Hematolymphoid Development in Vivo through Effects on Early Hematopoietic Progenitor Cells. *Blood* **2002**, *99*, 95–101.
- (46) Dai, X.; Chen, Y.; Di, L.; Podd, A.; Li, G.; Bunting, K. D.; Hennighausen, L.; Wen, R.; Wang, D. Stat5 Is Essential for Early B Cell Development but Not for B Cell Maturation and Function. *J. Immunol.* **2007**, *179*, 1068–1079.
- (47) Moriggl, R.; Topham, D. J.; Teglund, S.; Sexl, V.; McKay, C.; Wang, D.; Hoffmeyer, A.; van Deursen, J.; Sangster, M. Y.; Bunting, K. D.; Grosveld, G. C.; Ihle, J. N. Stat5 Is Required for IL-2-Induced Cell Cycle Progression of Peripheral T Cells. *Immunity* **1999**, *10*, 249–259.
- (48) Shelburne, C. P.; McCoy, M. E.; Piekorz, R.; Sexl, V.; Roh, K. H.; Jacobs-Helber, S. M.; Gillespie, S. R.; Bailey, D. P.; Mirmonsef, P.; Mann, M. N.; Kashyap, M.; Wright, H. V.; Chong, H. J.; Bouton, L. A.; Barnstein, B.; Ramirez, C. D.; Bunting, K. D.;

- Sawyer, S.; Lantz, C. S.; Ryan, J. J. Stat5 Expression Is Critical for Mast Cell Development and Survival. *Blood* **2003**, *102*, 1290–1297.
- (49) Barnstein, B. O.; Li, G.; Wang, Z.; Kennedy, S.; Chalfant, C.; Nakajima, H.; Bunting, K. D.; Ryan, J. J. Stat5 Expression Is Required for IgE-Mediated Mast Cell Function. *J. Immunol.* **2006**, *177*, 3421–3426.
- (50) Ohmori, K.; Luo, Y.; Jia, Y.; Nishida, J.; Wang, Z.; Bunting, K. D.; Wang, D.; Huang, H. IL-3 Induces Basophil Expansion in Vivo by Directing Granulocyte-Monocyte Progenitors to Differentiate into Basophil Lineage-Restricted Progenitors in the Bone Marrow and by Increasing the Number of Basophil/mast Cell Progenitors in the Spleen. *J. Immunol.* **2009**, *182*, 2835–2841.
- (51) Ilaria, R. L.; Van Etten, R. A. P210 and P190(BCR/ABL) Induce the Tyrosine Phosphorylation and DNA Binding Activity of Multiple Specific STAT Family Members. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 31704–31710.
- (52) de Groot, R. P.; Raaijmakers, J. A. M.; Lammers, J.-W. J.; Koenderman, L. STAT5-Dependent CyclinD1 and Bcl-xL Expression in Bcr-Abl-Transformed Cells. *Mol. Cell Biol. Res. Commun.* **2000**, *3*, 299–305.
- (53) Hoelbl, A.; Schuster, C.; Kovacic, B.; Zhu, B.; Wickre, M.; Hoelzl, M. A.; Fajmann, S.; Grebien, F.; Warsch, W.; Stengl, G.; Hennighausen, L.; Poli, V.; Beug, H.; Moriggl, R.; Sexl, V. Stat5 Is Indispensable for the Maintenance of Bcr/abl-Positive Leukaemia. *EMBO Mol. Med.* **2010**, *2*, 98–110.
- (54) Mallette, F. A.; Gaumont-Leclerc, M.-F.; Ferbeyre, G. The DNA Damage Signaling Pathway Is a Critical Mediator of Oncogene-Induced Senescence. *Genes Dev.* **2007**, *21*, 43–48.
- (55) Sallmyr, A.; Fan, J.; Datta, K.; Kim, K.-T.; Grosu, D.; Shapiro, P.; Small, D.; Rassool, F. Internal Tandem Duplication of FLT3 (FLT3/ITD) Induces Increased ROS Production, DNA Damage, and Misrepair: Implications for Poor Prognosis in AML. *Blood* **2008**, *111*, 3173–3182.
- (56) Warsch, W.; Grundschober, E.; Berger, A.; Gille, L.; Cerny-Reiterer, S.; Tigan, A.-S.; Hoelbl-Kovacic, A.; Valent, P.; Moriggl, R.; Sexl, V. STAT5 Triggers BCR-ABL1 Mutation by Mediating ROS Production in Chronic Myeloid Leukaemia. *Oncotarget* **2012**, *3*, 1669–1687.
- (57) Casetti, L.; Martin-Lannere, S.; Najjar, I.; Plo, I.; Auge, S.; Roy, L.; Chomel, J.-C.; Lauret, E.; Turhan, A. G.; Dusanter-Fourt, I. Differential Contributions of STAT5A and STAT5B to Stress Protection and Tyrosine Kinase Inhibitor Resistance of Chronic

- Myeloid Leukemia Stem/Progenitor Cells. *Cancer Res.* **2013**, *73*, 2052–2058.
- (58) Mikkola, H. K. A.; Radu, C. G.; Witte, O. N. Targeting Leukemia Stem Cells. *Nat. Biotechnol.* **2010**, *28*, 237–238.
- (59) Langenfeld, F. Apport de La Modélisation et Des Simulations de Dynamique Moléculaire À La Description de STAT5 Comme Cible Pour Moduler La Signalisation Oncogénique, 2015.
- (60) An, X.; Tiwari, A. K.; Sun, Y.; Ding, P.-R.; Ashby, C. R.; Chen, Z.-S. BCR-ABL Tyrosine Kinase Inhibitors in the Treatment of Philadelphia Chromosome Positive Chronic Myeloid Leukemia: A Review. *Leuk. Res.* **2010**, *34*, 1255–1268.
- (61) Kavalchik, E.; Goff, D.; Jamieson, C. H. M. Chronic Myeloid Leukemia Stem Cells. *J. Clin. Oncol.* **2008**, *26*, 2911–2915.
- (62) Rocnik, J. L.; Okabe, R.; Yu, J. C.; Lee, B. H.; Giese, N.; Schenkein, D. P.; Gilliland, D. G. Roles of Tyrosine 589 and 591 in STAT5 Activation and Transformation Mediated by FLT3-ITD. *Blood* **2006**, *108*, 1339–1345.
- (63) Levis, M.; Allebach, J.; Tse, K. F.; Zheng, R.; Baldwin, B. R.; Smith, B. D.; Jones-Bolin, S.; Ruggeri, B.; Dionne, C.; Small, D. A FLT3-Targeted Tyrosine Kinase Inhibitor Is Cytotoxic to Leukemia Cells in Vitro and in Vivo. *Blood* **2002**, *99*, 3885–3891.
- (64) Auclair, D.; Miller, D.; Yatsula, V.; Pickett, W.; Carter, C.; Chang, Y.; Zhang, X.; Wilkie, D.; Burd, A.; Shi, H.; Rocks, S.; Gedrich, R.; Abriola, L.; Vasavada, H.; Lynch, M.; Dumas, J.; Trail, P. A.; Wilhelm, S. M. Antitumor Activity of Sorafenib in FLT3-Driven Leukemic Cells. *Leukemia* **2007**, *21*, 439–445.
- (65) Chao, Q.; Sprankle, K. G.; Grotzfeld, R. M.; Lai, A. G.; Carter, T. A.; Velasco, A. M.; Gunawardane, R. N.; Cramer, M. D.; Gardner, M. F.; James, J.; Zarrinkar, P. P.; Patel, H. K.; Bhagwat, S. S. Identification of AC220, a Uniquely Potent, Selective, and Efficacious FMS-Like Tyrosine Kinase-3 (FLT3) Inhibitor. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 7808–7816.
- (66) Sato, T.; Yang, X.; Knapper, S.; White, P.; Smith, B. D.; Galkin, S.; Small, D.; Burnett, A.; Levis, M. FLT3 Ligand Impedes the Efficacy of FLT3 Inhibitors in Vitro and in Vivo. *Blood* **2011**, *117*, 3286–3293.
- (67) Weisberg, E.; Boulton, C.; Kelly, L. M.; Manley, P.; Fabbro, D.; Meyer, T.; Gilliland, D. G.; Griffin, J. D. Inhibition of Mutant FLT3 Receptors in Leukemia Cells by the Small Molecule Tyrosine Kinase Inhibitor PKC412. *Cancer Cell* **2002**, *1*, 433–443.
- (68) Nelson, E. A.; Walker, S. R.; Xiang, M.; Weisberg, E.; Bar-Natan, M.; Barrett, R.; Liu,

- S.; Kharbanda, S.; Christie, A. L.; Nicolais, M.; Griffin, J. D.; Stone, R. M.; Kung, A. L.; Frank, D. a. The STAT5 Inhibitor Pimozide Displays Efficacy in Models of Acute Myelogenous Leukemia Driven by FLT3 Mutations. *Genes Cancer* **2012**, *3*, 503–511.
- (69) Fischer, T.; Stone, R. M.; DeAngelo, D. J.; Galinsky, I.; Estey, E.; Lanza, C.; Fox, E.; Ehninger, G.; Feldman, E. J.; Schiller, G. J.; Klimek, V. M.; Nimer, S. D.; Gilliland, D. G.; Dutreix, C.; Huntsman-Labed, A.; Virkus, J.; Giles, F. J. Phase IIB Trial of Oral Midostaurin (PKC412), the FMS-like Tyrosine Kinase 3 Receptor (FLT3) and Multi-Targeted Kinase Inhibitor, in Patients with Acute Myeloid Leukemia and High-Risk Myelodysplastic Syndrome with Either Wild-Type or Mutated FLT3. *J. Clin. Oncol.* **2010**, *28*, 4339–4345.
- (70) Wernig, G.; Kharas, M. G.; Okabe, R.; Moore, S. A.; Leeman, D. S.; Cullen, D. E.; Gozo, M.; McDowell, E. P.; Levine, R. L.; Doukas, J.; Mak, C. C.; Noronha, G.; Martin, M.; Ko, Y. D.; Lee, B. H.; Soll, R. M.; Tefferi, A.; Hood, J. D.; Gilliland, D. G. Efficacy of TG101348, a Selective JAK2 Inhibitor, in Treatment of a Murine Model of JAK2V617F-Induced Polycythemia Vera. *Cancer Cell* **2008**, *13*, 311–320.
- (71) Pardanani, A.; Lasho, T.; Smith, G.; Burns, C. J.; Fantino, E.; Tefferi, A. CYT387, a Selective JAK1/JAK2 Inhibitor: In Vitro Assessment of Kinase Selectivity and Preclinical Studies Using Cell Lines and Primary Cells from Polycythemia Vera Patients. *Leukemia* **2009**, *23*, 1441–1445.
- (72) Santos, F. P. S.; Kantarjian, H. M.; Jain, N.; Manshour, T.; Thomas, D. a; Garcia-Manero, G.; Kennedy, D.; Estrov, Z.; Cortes, J.; Verstovsek, S. Phase 2 Study of CEP-701, an Orally Available JAK2 Inhibitor, in Patients with Primary or Post-Polycythemia Vera/essential Thrombocythemia Myelofibrosis. *Blood* **2010**, *115*, 1131–1136.
- (73) Wang, X.; Zeng, J.; Shi, M.; Zhao, S.; Bai, W.; Cao, W.; Tu, Z.; Huang, Z.; Feng, W. Targeted Blockage of Signal Transducer and Activator of Transcription 5 Signaling Pathway with Decoy Oligodeoxynucleotides Suppresses Leukemic K562 Cell Growth. *DNA Cell Biol.* **2011**, *30*, 71–78.
- (74) Crinelli, R.; Bianchi, M.; Gentilini, L.; Magnani, M. Design and Characterization of Decoy Oligonucleotides Containing Locked Nucleic Acids. *Nucleic Acids Res.* **2002**, *30*, 2435–2443.
- (75) Behbod, F.; Nagy, Z. S.; Stepkowski, S. M.; Karras, J.; Johnson, C. R.; Jarvis, W. D.; Kirken, R. A. Specific Inhibition of Stat5a/b Promotes Apoptosis of IL-2-Responsive Primary and Tumor-Derived Lymphoid Cells. *J. Immunol.* **2003**, *171*, 3919–3927.

- (76) Liu, S.; Walker, S. R.; Nelson, E. A.; Cerulli, R.; Xiang, M.; Toniolo, P. A.; Qi, J.; Stone, R. M.; Wadleigh, M.; Bradner, J. E.; Frank, D. A. Targeting STAT5 in Hematologic Malignancies through Inhibition of the Bromodomain and Extra-Terminal (BET) Bromodomain Protein BRD2. *Mol. Cancer Ther.* **2014**, *13*, 1194–1205.
- (77) McMurray, J. S. A New Small-Molecule Stat3 Inhibitor. *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 1123–1124.
- (78) Siddiquee, K.; Zhang, S.; Guida, W. C.; Blaskovich, M. A.; Greedy, B.; Lawrence, H. R.; Yip, M. L. R.; Jove, R.; McLaughlin, M. M.; Lawrence, N. J.; Sebti, S. M.; Turkson, J. Selective Chemical Probe Inhibitor of Stat3, Identified through Structure-Based Virtual Screening, Induces Antitumor Activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2007**, *104*, 7391–7396.
- (79) Page, B. D. G.; Houry, H.; Laister, R. C.; Fletcher, S.; Vellozo, M.; Manzoli, A.; Yue, P.; Turkson, J.; Minden, M. D.; Gunning, P. T. Small Molecule STAT5-SH2 Domain Inhibitors Exhibit Potent Antileukemia Activity. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1047–1055.
- (80) Cumaraswamy, A. A.; Lewis, A. M.; Geletu, M.; Todic, A.; Diaz, D. B.; Cheng, X. R.; Brown, C. E.; Laister, R. C.; Muench, D.; Kerman, K.; Grimes, H. L.; Minden, M. D.; Gunning, P. T. Nanomolar-Potency Small Molecule Inhibitor of STAT5 Protein. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 1202–1206.
- (81) Nelson, E. A.; Walker, S. R.; Weisberg, E.; Bar-Natan, M.; Barrett, R.; Gashin, L. B.; Terrell, S.; Klitgaard, J. L.; Santo, L.; Addorio, M. R.; Ebert, B. L.; Griffin, J. D.; Frank, D. A. The STAT5 Inhibitor Pimozide Decreases Survival of Chronic Myelogenous Leukemia Cells Resistant to Kinase Inhibitors. *Blood* **2011**, *117*, 3421–3429.
- (82) Rondanin, R.; Simoni, D.; Romagnoli, R.; Baruchello, R.; Marchetti, P.; Costantini, C.; Fochi, S.; Padroni, G.; Grimaudo, S.; Pipitone, R. M.; Meli, M.; Tolomeo, M. Inhibition of Activated STAT5 in Bcr/Abl Expressing Leukemia Cells with New Pimozide Derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 4568–4574.
- (83) Issemann, I.; Green, S. Activation of a Member of the Steroid Hormone Receptor Superfamily by Peroxisome Proliferators. *Nature* **1990**, *347*, 645–650.
- (84) Mangelsdorf, D. J.; Thummel, C.; Beato, M.; Herrlich, P.; Schütz, G.; Umesono, K.; Blumberg, B.; Kastner, P.; Mark, M.; Chambon, P.; Evans, R. M. The Nuclear Receptor Superfamily: The Second Decade. *Cell* **1995**, *83*, 835–839.
- (85) Bishop-Bailey, D. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in the Cardiovascular System. *Br. J. Pharmacol.* **2000**, *129*, 823–834.

- (86) Buchan, K. W.; Hassall, D. G. PPAR Agonists as Direct Modulators of the Vessel Wall in Cardiovascular Disease. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 350–366.
- (87) Ahmadian, M.; Suh, J. M.; Hah, N.; Liddle, C.; Atkins, A. R.; Downes, M.; Evans, R. M. PPAR γ Signaling and Metabolism: The Good, the Bad and the Future. *Nat. Med.* **2013**, *99*, 557–566.
- (88) Yu, K.; Bayona, W.; Kallen, C. B.; Harding, H. P.; Ravera, C. P.; McMahon, G.; Brown, M.; Lazar, M. A. Differential Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors by Eicosanoids. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 23975–23983.
- (89) Brunmair, B.; Staniek, K.; Dörig, J.; Szöcs, Z.; Stadlbauer, K.; Marian, V.; Gras, F.; Anderwald, C.; Nohl, H.; Waldhäusl, W.; Fürnsinn, C. Activation of PPAR- δ in Isolated Rat Skeletal Muscle Switches Fuel Preference from Glucose to Fatty Acids. *Diabetologia* **2006**, *49*, 2713–2722.
- (90) Wang, X.; Wang, G.; Shi, Y.; Sun, L.; Gorczynski, R.; Li, Y.-J.; Xu, Z.; Spaner, D. E. PPAR-Delta Promotes Survival of Breast Cancer Cells in Harsh Metabolic Conditions. *Oncogenesis* **2016**, *5*, e232.
- (91) Bertz, J.; Zang, C.; Liu, H.; Wächter, M.; Possinger, K.; Phillip Koeffler, H.; Elstner, E. Compound 48, a Novel Dual PPAR A/ γ Ligand, Inhibits the Growth of Human CML Cell Lines and Enhances the Anticancer-Effects of Imatinib. *Leuk. Res.* **2009**, *33*, 686–692.
- (92) Shipley, J. Simultaneous, Bidirectional Inhibitory Crosstalk between PPAR and STAT5b. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2004**, *199*, 275–284.
- (93) Sporn, M. B.; Suh, N.; Mangelsdorf, D. J. Prospects for Prevention and Treatment of Cancer with Selective PPAR γ Modulators (SPARMs). *Trends Mol. Med.* **2001**, *7*, 395–400.
- (94) Zang, C.; Liu, H.; Waechter, M.; Eucker, J. Report Dual PPAR α/γ Ligand TZD18 Either Alone or in Combination with Imatinib Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis of Human CML Cell Lines. *Cell Cycle* **2006**, *5*, 2237–2243.
- (95) Garcia-Bates, T. M.; Lehmann, G. M.; Simpson-Haidaris, P. J.; Bernstein, S. H.; Sime, P. J.; Phipps, R. P. Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma and Its Ligands in the Treatment of Hematological Malignancies. *PPAR Res.* **2008**, *2008*, 1–18.
- (96) Liu, J.-J.; Hu, T.; Wu, X.-Y.; Wang, C.-Z.; Xu, Y.; Zhang, Y.; Xiao, R.-Z.; Lin, D.-J.; Huang, R.-W.; Liu, Q. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Agonist Rosiglitazone-Induced Apoptosis in Leukemia K562 Cells and Its Mechanisms of

- Action. *Int. J. Toxicol.* **2009**, *28*, 123–131.
- (97) Prost, S.; Relouzat, F.; Spentchian, M.; Ouzegdouh, Y.; Saliba, J.; Massonnet, G.; Beressi, J.-P.; Verhoeyen, E.; Raggueneau, V.; Maneglier, B.; Castaigne, S.; Chomienne, C.; Chrétien, S.; Rousselot, P.; Leboulch, P. Erosion of the Chronic Myeloid Leukaemia Stem Cell Pool by PPAR γ Agonists. *Nature* **2015**, *525*, 380–383.
- (98) Weng, J.-R. Beyond Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Signaling: The Multi-Facets of the Antitumor Effect of Thiazolidinediones. *Endocr. Relat. Cancer* **2006**, *13*, 401–413.
- (99) Wei, S.; Yang, J.; Lee, S.; Kulp, S. K.; Chen, C. PPAR γ -Independent Antitumor Effects of Thiazolidinediones. *Cancer Lett.* **2009**, *276*, 119–124.
- (100) Seargent, J. M.; Yates, E. A.; Gill, J. H. GW9662, a Potent Antagonist of PPAR γ , Inhibits Growth of Breast Tumour Cells and Promotes the Anticancer Effects of the PPAR γ Agonist Rosiglitazone, Independently of PPAR γ Activation. *Br. J. Pharmacol.* **2004**, *143*, 933–937.
- (101) Ondrey, F. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Pathway Targeting in Carcinogenesis: Implications for Chemoprevention. *Clin. Cancer Res.* **2009**, *15*, 2–8.
- (102) Parmenon, C. Synthèse et Évaluation Pharmacologique de Nouveaux Ligands Des Récepteurs Activés Par Les Proliférateurs de Peroxysomes Pour Le Traitement Du Diabète de Type II et Du Syndrome Métabolique, Thèse, Université de Tours, 2006.
- (103) Parmenon, C.; Guillard, J.; Caignard, D.-H.; Hennuyer, N.; Staels, B.; Audinot-Bouchez, V.; Boutin, J.-A.; Dacquet, C.; Ktorza, A.; Viaud-Massuard, M.-C. 4,4-Dimethyl-1,2,3,4-Tetrahydroquinoline-Based PPAR α/γ Agonists. Part I: Synthesis and Pharmacological Evaluation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1617–1622.
- (104) Parmenon, C.; Guillard, J.; Caignard, D.-H.; Hennuyer, N.; Staels, B.; Audinot-Bouchez, V.; Boutin, J.-A.; Dacquet, C.; Ktorza, A.; Viaud-Massuard, M.-C. 4,4-Dimethyl-1,2,3,4-Tetrahydroquinoline-Based PPAR α/γ Agonists. Part. II: Synthesis and Pharmacological Evaluation of Oxime and Acidic Head Group Structural Variations. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2683–2687.
- (105) Niu, J.; Guo, P.; Kang, J.; Li, Z.; Xu, J.; Hu, S. Copper(I)-Catalyzed Aryl Bromides To Form Intermolecular and Intramolecular Carbon–Oxygen Bonds. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5075–5078.
- (106) Corey, E. J.; Suggs, J. W. Pyridinium Chlorochromate. An Efficient Reagent for Oxidation of Primary and Secondary Alcohols to Carbonyl Compounds. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 2647–2650.

- (107) Omura, K.; Swern, D. Oxidation of Alcohols By “activated” dimethyl Sulfoxide. A Preparative, Steric and Mechanistic Study. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1651–1660.
- (108) Dess, D. B.; Martin, J. C. A Useful 12-I-5 Triacetoxyperiodinane (the Dess-Martin Periodinane) for the Selective Oxidation of Primary or Secondary Alcohols and a Variety of Related 12-I-5 Species. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7277–7287.
- (109) More, J. D.; Finney, N. S. A Simple and Advantageous Protocol for the Oxidation of Alcohols with O-Iodoxybenzoic Acid (IBX). *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3001–3003.
- (110) Altman, R. A.; Shafir, A.; Choi, A.; Lichtor, P. A.; Buchwald, S. L. An Improved Cu-Based Catalyst System for the Reactions of Alcohols with Aryl Halides. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 284–286.
- (111) Watanabe, T.; Kobayashi, A.; Nishiura, M.; Takahashi, H.; Usui, T.; Kamiyama, I.; Mochizuki, N.; Noritake, K.; Yokoyama, Y.; Murakami, Y. Synthetic Studies on Indoles and Related Compounds. XXVI. The Debenzylation of Protected Indole Nitrogen with Aluminum Chloride. (2). *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. **1991**, *39*, 1152–1156.
- (112) Boger, D. L.; Fink, B. E.; Hedrick, M. P. Total Synthesis of Distamycin A and 2640 Analogs: A Solution-Phase Combinatorial Approach to the Discovery of New, Bioactive DNA Binding Agents and Development of a Rapid, High-Throughput Screen for Determining Relative DNA Binding Affinity or DNA Binding. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6382–6394.
- (113) Davis, F. A.; Melamed, J. Y.; Sharik, S. S. Total Synthesis of (-)-Normalindine via Addition of Metalated 4-Methyl-3-Cyanopyridine to an Enantiopure Sulfinimine. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8761–8766.
- (114) Haddach, A. A.; Deaton-rewolinski, M. V. An Efficient Method for the N-Debenzylation of Aromatic Heterocycles. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 399–402.
- (115) Merour, J.-Y.; Joseph, B. Synthesis and Reactivity of 7-Azaindoles (1H-Pyrrolo[2,3-B]pyridine). *Curr. Org. Chem.* **2001**, *5*, 471–506.
- (116) Chi, S. M.; Choi, J.-K.; Yum, E. K.; Chi, D. Y. Palladium-Catalyzed Functionalization of 5- and 7-Azaindoles. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 919–922.
- (117) Kodomari, M.; Suzuki, Y.; Yoshida, K. Graphite as an Effective Catalyst for Friedel–Crafts Acylation. *Chem. Commun.* **1997**, No. 16, 1567–1568.
- (118) Laporte, C.; Baulès, P.; Laporterie, A.; Desmurs, J.-R.; Dubac, J. Acylation D’aromatiques Sous Irradiation Micro-Onde En Présence de Graphite. *C. R. Acad. Sci. II*. **1998**, 141–150.

- (119) Ushijima, S.; Dohi, S.; Moriyama, K.; Togo, H. Facile Preparation of Aromatic Ketones from Aromatic Bromides and Arenes with Aldehydes. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 1436–1442.
- (120) Li, Z.; Gevorgyan, V. Double Duty for Cyanogen Bromide in a Cascade Synthesis of Cyanoepoxides. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2011**, *50*, 2808–2810.
- (121) Weiberth, F. J.; Hall, S. S. Copper(I)-Activated Addition of Grignard Reagents to Nitriles. Synthesis of Ketimines, Ketones, and Amines. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 3901–3904.
- (122) Dhar, A.; Liu, S.; Klucik, J.; Berlin, K. D.; Madler, M. M.; Lu, S.; Ivey, R. T.; Zacheis, D.; Brown, C. W.; Nelson, E. C.; Birckbichler, P. J.; Benbrook, D. M. Synthesis, Structure–Activity Relationships, and RAR γ –Ligand Interactions of Nitrogen Heteroarotinoids. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3602–3614.
- (123) Liang, Y. F.; Jiao, N. Highly Efficient C-H Hydroxylation of Carbonyl Compounds with Oxygen under Mild Conditions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2014**, *53*, 548–552.
- (124) Lukács, G.; Porcs-Makkay, M.; Simig, G. Lithiation of 2-Aryl-2-(Chloroaryl)-1,3-Dioxolanes and Its Application in the Synthesis of Newortho-Functionalized Benzophenone Derivatives. *European J. Org. Chem.* **2004**, *2004*, 4130–4140.
- (125) Ciceri, P.; Demnitz, F. W. J. An Efficient, Rapid and Highly Selective Preparation of the Wieland-Miescher Ketone-9-Ethylene Ketal. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 389–390.
- (126) Lucas, P.; Mehdi, N. El; Ho, H. A.; Bélanger, D.; Breau, L. Expedient Synthesis of Symmetric Aryl Ketones and of Ambient-Temperature Molten Salts of Imidazole. *Synthesis* **2000**, *2000*, 1253–1258.
- (127) Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. A New Stereospecific Cross-Coupling by the Palladium-Catalyzed Reaction of 1-Alkenylboranes with 1-Alkenyl or 1-Alkynyl Halides. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437–3440.
- (128) Miyaura, N.; Suzuki, A. Stereoselective Synthesis of Arylated (E)-Alkenes by the Reaction of Alk-1-Enylboranes with Aryl Halides in the Presence of Palladium Catalyst. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1979**, No. 19, 866–867.
- (129) Kozlowski, M. C.; Morgan, B. J.; Linton, E. C. Total Synthesis of Chiral Biaryl Natural Products by Asymmetric Biaryl Coupling. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 3193.
- (130) Horton, D. A.; Bourne, G. T.; Smythe, M. L. The Combinatorial Synthesis of Bicyclic Privileged Structures or Privileged Substructures. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 893–930.
- (131) Devine, W.; Woodring, J. L.; Swaminathan, U.; Amata, E.; Patel, G.; Erath, J.; Roncal, N. E.; Lee, P. J.; Leed, S. E.; Rodriguez, A.; Mensa-Wilmot, K.; Sciotti, R. J.; Pollastri,

- M. P. Protozoan Parasite Growth Inhibitors Discovered by Cross-Screening Yield Potent Scaffolds for Lead Discovery. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 5522–5537.
- (132) Knapp, D. M.; Gillis, E. P.; Burke, M. D. A General Solution for Unstable Boronic Acids: Slow-Release Cross-Coupling from Air-Stable MIDA Boronates. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 6961–6963.
- (133) Dick, G. R.; Knapp, D. M.; Gillis, E. P.; Burke, M. D. General Method for Synthesis of 2-Heterocyclic N -Methyliminodiacetic Acid Boronates. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2314–2317.
- (134) Deng, J. Z.; Paone, D. V.; Ginnetti, A. T.; Kurihara, H.; Dreher, S. D.; Weissman, S. A.; Stauffer, S. R.; Burgey, C. S. Copper-Facilitated Suzuki Reactions: Application to 2-Heterocyclic Boronates. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 345–347.
- (135) Dick, G. R.; Woerly, E. M.; Burke, M. D. A General Solution for the 2-Pyridyl Problem. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2012**, *51*, 2667–2672.
- (136) Aridoss, G.; Zhou, B.; Hermanson, D. L.; Bleeker, N. P.; Xing, C. Structure–Activity Relationship (SAR) Study of Ethyl 2-Amino-6-(3,5-Dimethoxyphenyl)-4-(2-Ethoxy-2-Oxoethyl)-4H -Chromene-3-Carboxylate (CXL017) and the Potential of the Lead against Multidrug Resistance in Cancer Treatment. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 5566–5581.
- (137) Ishiyama, T.; Murata, M.; Miyaura, N. Palladium(0)-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Alkoxydiboron with Haloarenes: A Direct Procedure for Arylboronic Esters. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7508–7510.
- (138) Zhu, W.; Hu, Q.; Hanke, N.; van Koppen, C. J.; Hartmann, R. W. Potent 11 β -Hydroxylase Inhibitors with Inverse Metabolic Stability in Human Plasma and Hepatic S9 Fractions To Promote Wound Healing. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 7811–7817.
- (139) Trujillo, J. I.; Kiefer, J. R.; Huang, W.; Day, J. E.; Moon, J.; Jerome, G. M.; Bono, C. P.; Kornmeier, C. M.; Williams, M. L.; Kuhn, C.; Rennie, G. R.; Wynn, T. A.; Carron, C. P.; Thorarensen, A. Investigation of the Binding Pocket of Human Hematopoietic Prostaglandin (PG) D2 Synthase (hH-PGDS): A Tale of Two Waters. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 3795–3799.
- (140) Mosmann, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55–63.
- (141) Letellier, M.-A.; Guillard, J.; Caignard, D.-H.; Ferry, G.; Boutin, J. A.; Viaud-Massuard, M.-C. Synthesis of Potential Rho-Kinase Inhibitors Based on the Chemistry of an Original Heterocycle: 4,4-Dimethyl-3,4-Dihydro-1H-Quinolin-2-One. *Eur. J.*

Med. Chem. **2008**, *43*, 1730–1736.

- (142) Benbrook, D. M.; Madler, M. M.; Spruce, L. W.; Birckbichler, P. J.; Nelson, E. C.; Subramanian, S.; Weerasekare, G. M.; Gale, J. B.; Patterson, M. K.; Wang, B.; Wang, W.; Lu, S.; Rowland, T. C.; DiSivestro, P.; Lindamood, C.; Hill, D. L.; Berlin, K. D. Biologically Active Heteroarotinoids Exhibiting Anticancer Activity and Decreased Toxicity. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3567–3583.
- (143) Elokdah, H.; Abou-Gharbia, M.; Hennan, J. K.; McFarlane, G.; Mugford, C. P.; Krishnamurthy, G.; Crandall, D. L. Tiplaxtinin, a Novel, Orally Efficacious Inhibitor of Plasminogen Activator Inhibitor-1: Design, Synthesis, and Preclinical Characterization. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3491–3494.



Ludovic JUEN

Synthèse et évaluation biologique d'inhibiteurs de STAT5 dans le traitement des leucémies myéloïdes



Résumé

Les leucémies, syndromes myéloprolifératifs et myelodysplasiques sont la première cause de cancer chez l'enfant de moins de 15 ans. Les facteurs de transcription STAT5 ont un rôle indispensable dans la genèse et le maintien des leucémies. L'inhibition de STAT5 contribuerait à diminuer la survie, l'auto-renouvellement et la quiescence des cellules leucémiques ainsi que leur résistance potentielle aux agents anti-cancéreux. Suite à un précédent criblage de notre chimiothèque, un dérivé comprenant un noyau 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine lié à un indole par une chaîne éthoxy, a été identifié comme inhibiteur de la phosphorylation de STAT5. Dans ce contexte, nous avons optimisé la synthèse du bicyclic et réalisé une étude de pharmacomodulation donnant ainsi 31 nouveaux inhibiteurs potentiels. Un des composés obtenus réduit la viabilité de lignées modèles de leucémie myéloïde chronique et aiguë avec des CE_{50} de 3 à 9 μM . Ce « lead » inhibe sélectivement la phosphorylation de STAT5.

Mots-clés : leucémie myéloïde, STAT5, 4,4-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine, indole, synthèse hétérocyclique

Abstract

Leukemias, myeloproliferative and myelodysplastic syndromes are the leading cause of cancer in children under 15 years. STAT5 transcription factors have a key role in the genesis and maintenance of leukemia. The inhibition of STAT5 could decrease survival, self-renewal and quiescence of leukemic cells and their potential resistance to anti-cancer agents. After a previous screening of our chemical library, a derivative comprising a 4,4-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline core linked to an indole by an ethoxy chain, was identified as an inhibitor of STAT5 phosphorylation. In this context, we have optimized the synthesis of the biheterocyclic scaffold and carried out pharmacomodulation studies yielding 31 new potential inhibitors. One of these new compounds reduced viability of chronic and acute myeloid leukemia cell lines with EC_{50} from 3 to 9 μM . This new lead selectively inhibits STAT5 phosphorylation.

Keywords : myeloid leukemia, STAT5, 4,4-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline, indole, heterocyclic synthesis