

République Algérienne Démocratique et Populaire

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID-TLEMCCEN

FACULTE DES SCIENCES

Département de Chimie

MEMOIRE DE MAGISTER

Option

CATALYSE ET CHIMIE FINE

(Chimie organique)

Présentée par : *Mme AINSEBA Nabila*

THEME

**Conception, synthèse et évaluation
biologique de composés à visée anti
vasculaire**

Soutenu le : 15/12/2010

Devant le jury composé de

Président : Dr. ARRAR. Z. Université de Tlemcen

Examineur : Dr. CHOUKCHOU-BRAHAM. N. Université de Tlemcen
Dr. ZIANI-CHERIF. C. Université de Tlemcen

Encadreur : Dr. MOSTEFA-KARA. B. Université de Tlemcen

DEDICACES

*Avec l'aide de Dieu et tous les gens qui m'aiment
et qui m'ont soutenus j'ai pu achever ce modeste travail que je
dédie à :*

*Mes parents : merci pour l'amour, la tendresse et le soutien
qu'ils m'ont donnés pendant toutes ces années.*

*Grâce à eux je suis arrivée à devenir ce que je suis maintenant,
qu'ils trouvent dans ce mémoire un témoignage d'amour et de
reconnaissance.*

*A ma très chère mère pour ses sacrifices, son amour, sa tendresse et ses
encouragements.*

*A ma sœur Nadjet et mes frères Bedre-Eddine et Fayçal qui ont été toujours là
quand il le fallait.*

A la mémoire de mon cher frère Fouzi. .

Mon cher mari Nabil pour sa patience, son aide et son soutien

Toute ma famille, ma belle famille.

*Mes meilleurs amis qui ont partagés avec moi les bons et les mauvais
moments durant mes études.*

A tous ceux qui me sont très chers.

REMERCIEMENTS

Ce stage s'est déroulé au sein du laboratoire de Pharmacognosie, rattaché à l'UMR 8638 et à la faculté de Pharmacie de l'Université Paris Descartes.

Je tiens à remercier vivement, Monsieur B. MOSTEFA-KARA, Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté de diriger ce travail. Je lui exprime ma sincère gratitude pour son aide et ses conseils.

Je tiens à remercier Monsieur Z. ARRAR, Professeur à l'université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur de présider le jury.

Je remercie également Monsieur C. ZIANI-CHERIF, Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen d'avoir bien voulu examiner ce travail.

Mes vifs remerciements à N. CHOUKCHOU-BRAHAM, Maître de conférences à l'université de Tlemcen, d'avoir accepté de faire partie de notre jury.

Je tiens à remercier le professeur F. Tillequin de m'avoir permise de l'effectuer dans son laboratoire.

Je remercie mon responsable de stage, Monsieur X. Cachet, de m'avoir encadrée, aidée, et conseillée durant cette période.

Toute ma gratitude va à Madame S. MICHEL, professeur à l'université de Paris5, pour toute son aide précieuse et les encouragements qu'elle m'a sans cesse prodigués tout au long de mon travail.

Mes remerciements vont également à toute l'équipe, particulièrement à Alicia et Joseph. Enfin, je remercie tous ceux qui ont collaboré, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE	3
Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène	5
1. Etude bibliographique :	6
1.1 La vascularisation tumorale : une cible de choix en thérapie anticancéreuse	6
1.2 Les agents anti-vasculaires	7
1.3 Les combrétastatines	8
1.3.1 Les combrétastatines naturelles	8
1.3.2 La combrétastatine A-4 CA-4/CA-4P	10
1.3.3 Analogues de la combrétastatine A4	11
1.3.4 Remplacement du pont éthène par un pont constitué d'un atome :	14
1.3.5 Travaux antérieurs	15
2. Resultats et discusion	18
2.1 Objectif et synthèse envisagée	18
2.1.1 Préparation de la (2,4- Dihydroxyphényl) –(3,4,5-triméthoxyphényl)méthanone	19
Approche 1 :	19
Approche 2 :	20
Approche 3 :	21
Approche 4 :	23
2.1.2 Alkylation de la (2,4- Dihydroxyphényl)–(3,4,5-triméthoxyphényl) méthanone	24
2.1.3 Cyclisation des éthers propargyliques	26
2.2 Conclusion	28
3. Partie Expérimentale	29
Bibliographie	45

Chapitre 2 : Etude d'une voie d'accès au squelette indolo(3,2- α) carbazole.

1. Etude bibliographique	48
1.1Présentation des indolo[3,2- α]carbazoles	49
1.2Voies de synthèse des indolo[3,2- α]carbazoles	50
1.3Travaux antérieurs	52
2. Résultats et discussions	55
2.1 Synthèse de 3,4,5-triméthoxy β -nitrostyrène 7	55
2.2 Réaction du β -nitrostyrène 7 avec le 1 <i>H</i> -indole.	56
2.3 Réaction du β -nitrostyrène 7 avec le 5-bromo-1 <i>H</i> -indole	57
2.4 Réaction β -nitrostyrène 7 avec le 6-indolylcarboxylate de méthyle	58
2.5 Réaction β -nitrostyrène 7 avec le <i>N</i> -méthyl-1 <i>H</i> -indole	59
2.6 Conclusion	62
3. Partie Expérimentale	63
Bibliographie	67
ANNEXES	68

ABREVIATIONS

AcOEt : acétate d'éthyle.

Ar : aryle.

^{13}C : isotope carbone, Z=13.

°C : degré Celsius.

CDCl_3 : chloroforme deuteurié.

DCE : dichloroéthane.

cm : centimètre.

δ : déplacement chimique.

Δ : chauffage.

d : doublet.

DMF : diméthylformamide

DMAP : diméthylaminopyridine

Et : éthyle.

EtOH : éthanol.

g : gramme.

^1H : proton.

h : heure.

hex : hexane.

Hz : hertz.

IR : infrarouge.

J : constante de couplage.

m : multiplet .

Me : méthyle.

MeOH : méthanol.

min : minute.

ml : millilitre.

mmole : millimole.

Pf : point de fusion.

Ph : phényle.

ppm : partie par million.

q : quadruplet.

R : alkyle.

Rdt : rendement.

RMN: résonance magnétique nucléaire.

Rf : rapport frontal.

s : singulet ou seconde.

t : triplet.

T.a : température ambiante.

IPT : Inhibition de la polymérisation de la tubuline

Cl₅₀ : Concentration inhibitrice de la croissance cellulaire à 50 %

DBU : 1,8-Diazobicyclo(5.4.0)undec-7-ène

DBN : Diazabicyclo(4.3.0)non-5-ène

INTRODUCTION GENERALE

Généralité sur le cancer

Le cancer est la première cause de décès au monde, particulièrement dans les pays en développement. Il touche environ 10 millions de personnes dans le monde. En 2007, 7,9 millions des décès sont dus aux cancers, soit 13 % des décès totaux dans le monde. Sur la base d'une projection, les décès dus au cancer vont augmenter et sont estimés à environ 9 millions en 2015, et 12 millions en 2030.

Traitement du cancer :

Chirurgie, chimiothérapie et radiothérapie sont les trois principales modalités de traitement des cancers qui peuvent être utilisées seules ou en association.

En général, la chirurgie est indiquée dans les cas où la tumeur est importante car elle empêche la fonction normale des organes du corps, et dans le cas où il n'y a pas encore de migration tumorale.

La radiothérapie est utilisée régulièrement mais pas systématiquement, très souvent en association avec la chimiothérapie pour avoir une meilleure réponse (plus efficace et moins d'effets indésirables). Son indication est très variée selon la localisation du cancer, son évaluation et l'état du patient.

La chimiothérapie est de plus en plus utilisée, non seulement pour réduire les symptômes, mais aussi pour traiter directement le cancer. Toutefois, les médicaments cytotoxiques, en raison du manque de sélectivité, ont généralement des effets indésirables importants sur les tissus sains. Ils peuvent donc non seulement inhiber le développement du cancer mais aussi endommager les cellules saines. L'apparition de résistances et en particulier de résistances de type MDR (Multi Drug Resistance) associées à une surexpression de la glycoprotéine Pgp constituent, avec la toxicité, les deux causes majeures d'échec de la chimiothérapie anticancéreuse.

Introduction générale

Cependant, certaines tumeurs solides, en particulier les tumeurs du poumon ou du pancréas restent difficiles à traiter et l'élaboration de nouvelles stratégies est nécessaire. Ces dernières années, la vascularisation tumorale est devenue une cible importante. Une nouvelle classe d'agents anticancéreux qui, contrairement aux cytotoxiques classiques, ne va pas s'attaquer directement aux tumeurs mais à la vascularisation tumorale a été introduite en thérapeutique.

Chapitre 1 :
Synthèse de composés
Hétérocycliques en série Chromène

1. Etude bibliographique

1.1 La vascularisation tumorale : une cible de choix en thérapie anticancéreuse¹

L'approche anti-vasculaire repose sur une différence entre la vascularisation des tissus sains et celle des tumeurs.

La vascularisation étant essentielle à la tumeur pour qu'elle se développe, deux approches prometteuses sont actuellement en cours d'évaluation pour l'isoler et la détruire :

- L'approche anti-angiogénique qui vise à empêcher le processus de néovascularisation tumorale de s'établir (Figure 1).
- L'approche anti-vasculaire qui vise l'effondrement rapide et sélectif de la vascularisation tumorale établie et, ainsi, de manière indirecte la mort des cellules tumorales (Figure 1).

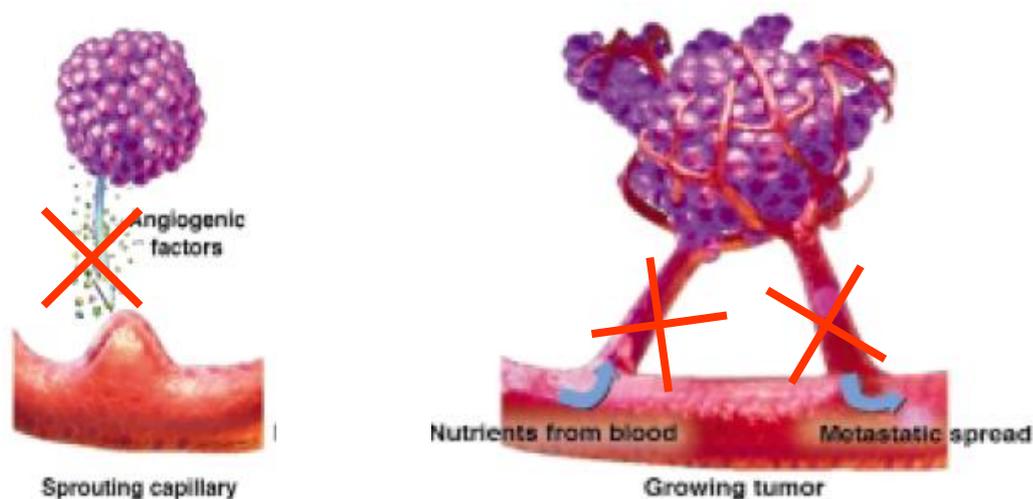


Figure 1 : Les approches angiogénique et antivasculaire¹

1.2 Les agents anti-vasculaires

Les agents anti-vasculaires ou VDAs (*Vascular Disrupting Agents*) se distinguent des agents anti-angiogéniques (qui empêchent le processus de néovascularisation dans les tumeurs) en provoquant un effondrement rapide et sélectif de la vascularisation tumorale déjà existante, et par conséquent la mort des cellules tumorales. Malgré tout, certains agents particuliers peuvent posséder des actions à la fois anti-angiogéniques et anti-vasculaires.

Les agents anti-vasculaires actuellement en développement clinique et préclinique sont de petites molécules pouvant être regroupées en deux principales classes : les agents antitubuline (voisins des combretastatines et du *N*-acétylcochinol) et les analogues de l'acide flavone-8-acétique.

Les agents anti-vasculaires, par définition, provoquent un effondrement rapide du flux sanguin tumoral et un agent efficace induira une perturbation vasculaire prolongée, culminant par une nécrose étendue des cellules tumorales. Une dose modérée de combretastatine A4 phosphate (CA-4P) va induire, chez l'animal, une réduction significative du flux sanguin tumoral qui peut être détectée 5 minutes après administration et un effondrement vasculaire quasi complet pouvant être obtenu dans les 20 minutes.

La mort des cellules endothéliales « drogue-induite » est un processus trop lent pour expliquer ces changements initiaux en réponse à l'administration de CA-4P. Les causes les plus probables de ce rapide collapsus *in vivo* sont les modifications morphologiques et fonctionnelles, associées au cytosquelette endothélial, similaires à celles qui interviennent *in vitro* pour les cellules endothéliales dans les minutes qui suivent l'exposition à ces composés. Elles incluent des changements de la structure cellulaire, l'assemblage de fibres de stress d'actine et la contractilité d'actinomyosine, la formation de points focaux d'adhésions, la rupture des jonctions intercellulaires et un accroissement de la perméabilité vasculaire (Figure 2).

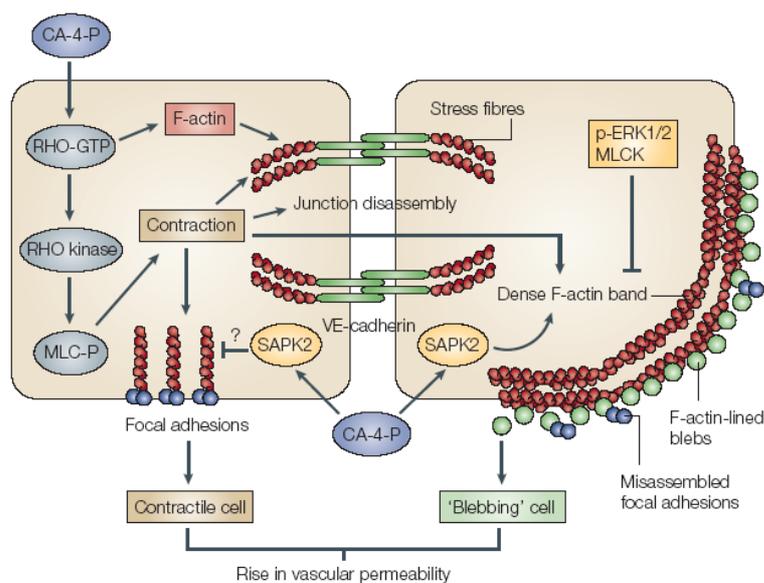
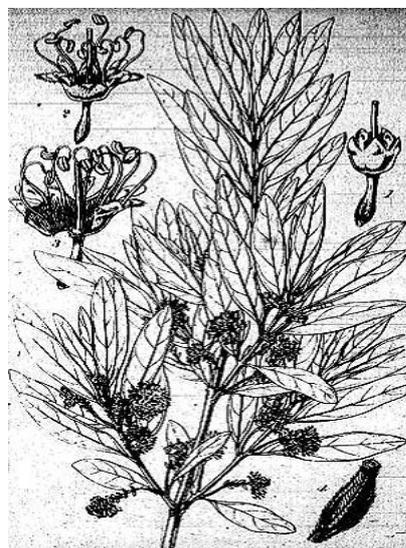


Figure 2 : Mode d'action intracellulaire hypothétique de la CA-4P¹

1.3 Les combrétastatines

1.3.1 Les combrétastatines naturelles



Les combrétastatines ont été isolées d'un arbre sud africain, le *Combretum caffrum* (Eckl.Zeyh.) Kuntze (connu sous le nom vernaculaire zoulou de « Mdubu ») (figure 3). On le rencontre communément près du lit des rivières qu'il surplombe.

C'est en 1979, que Petit et coll. qui étaient à la recherche de molécules inhibant la croissance des cellules cancéreuses, entamèrent l'étude de la composition de cet arbuste par

Figure 3 : *Combretum caffrum* Kuntze

extractions bioguidées. Le résultat de cette recherche fut l'isolement et la détermination structurale d'une série de nouvelles molécules actives, de type : phénanthrène, dihydrophénanthrène, stilbène et dibenzyle.

Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène

Dès 1982, l'isolement et la détermination structurale cristallographique de la (-)-combrétastatine ont été rapportés. Ce composé a montré une cytotoxicité remarquable sur les cellules cancéreuses (table 1). Elle s'est par la suite révélée inhiber la polymérisation de la tubuline en agissant d'une manière compétitive vis-à-vis de la fixation de la colchicine.

IPT (μM)	Cytotoxicité sur P388 (CI_{50} $\mu\text{g} / \text{mL}$)	Cytotoxicité sur L1210 (CI_{50} μM)
5-7,5	0,011	0,05

Tableau N° 1 : Cytotoxicité de la combrétastatine

L'intérêt pour cette molécule fut cependant rapidement éclipsé par la découverte consécutive de deux puissants inhibiteurs de la croissance cellulaire et de la polymérisation de la tubuline que sont les combrétastatines **A-1 (2)**⁵ et **A-4 (3)**⁶. Ensuite, plusieurs composés de cette famille ont été découverts : les combrétastatines **A-2 (4)** et **A-3 (5)**⁷, **B-1 (6)**², **B-2 (7)**⁴, **B-3 (8)**, **B-4 (9)**².

En 1988, les combrétastatines **D-1 (10)**³ et **D-2 (11)**⁸ de structure macrocyclique, **A-5 (12)**, **A-6 (13)** et **C-1 (14)**⁹, ont aussi été isolées.

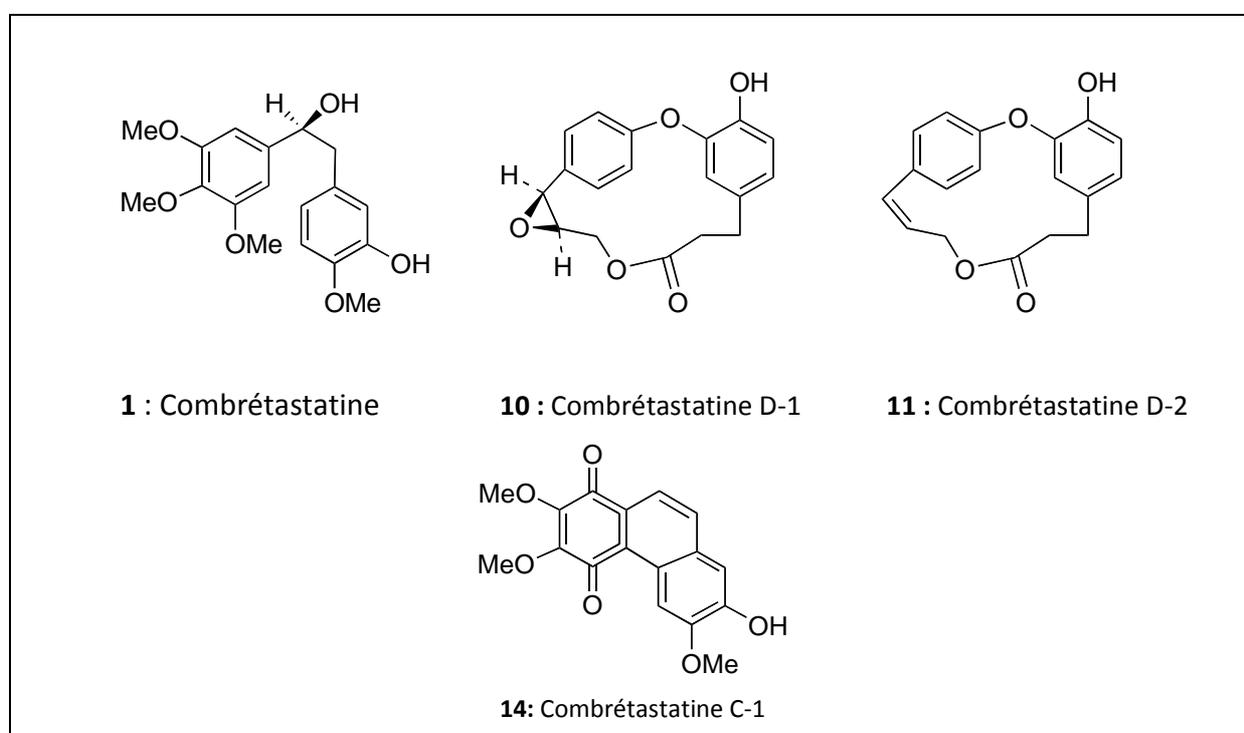


Schéma N°1

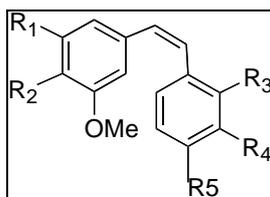


Schéma N°2

2 : CA-1 (<i>cis</i>)	R ₅ = OMe	R ₁ , R ₂ = OMe, R ₃ , R ₄ = OH
4 : CA-2 (<i>cis</i>)	R ₅ = OMe	R ₁ , R ₂ = O-CH ₂ -O, R ₃ = H, R ₄ = OH
5 : CA-3 (<i>cis</i>)	R ₅ = OMe	R ₁ , R ₄ = OH, R = OMe, R ₃ = H
3 : CA-4 (<i>cis</i>)	R ₅ = OMe	R ₁ , R ₂ = O-CH ₃ , R ₃ = H, R ₄ = OH
12 : CA-5 (<i>cis</i>)	R ₅ = OMe	R ₁ = OH, R ₂ , R ₄ = OMe, R ₃ = H
13 : CA-6 (<i>trans</i>)	R ₅ = OMe	R ₁ = OH, R ₂ , R ₄ = OMe, R ₃ = H
6 : CB-1	R ₄ = OH	R ₁ , R ₂ , R ₅ = OMe, R ₃ = OH
7 : CB-2	R ₄ = OH	R ₂ , R ₅ = OMe, R ₃ = H, R ₁ = OH
8 : CB-3	R ₄ = OH	R ₁ , R ₂ = OMe, R ₃ = H, R ₄ = OH
9 : CB-4	R ₄ = OH	R ₁ = OMe, R ₂ , R ₃ = H, R ₄ = OH

1.3.2 La Combrétastatine A-4/CA-4P

1.3.2.1 Cytotoxicité

Des essais de cytotoxicité, réalisés sur des lignées de cellules cancéreuses humaines, ont confirmé la puissance de la CA-4.

De nombreuses expériences ont été menées sur différentes lignées tumorales et sur des cellules endothéliales proliférantes afin d'explicitier le mécanisme d'action de la CA-4. Plusieurs voies sont explorées.

Sur la tubuline, les premiers résultats de l'équipe de Petit ont permis de déterminer le site de liaison de la CA-4 à la tubuline qui permet d'inhiber la polymérisation de la tubuline (CI₅₀ IPT=2-3μM). Ainsi, ils ont montré que la CA-4 est un inhibiteur compétitif de la liaison de la colchicine à la tubuline et ce, avec une constante apparente K_i de 0,14 μM. La CA-4 semble donc se lier spécifiquement au niveau du site de fixation de la colchicine sur la tubuline. Cette liaison est rapide et indépendante de la température.

Des études réalisées par Nabha et coll.¹¹ ont montré que la CA-4, arrête le cycle cellulaire en phase G2-M.

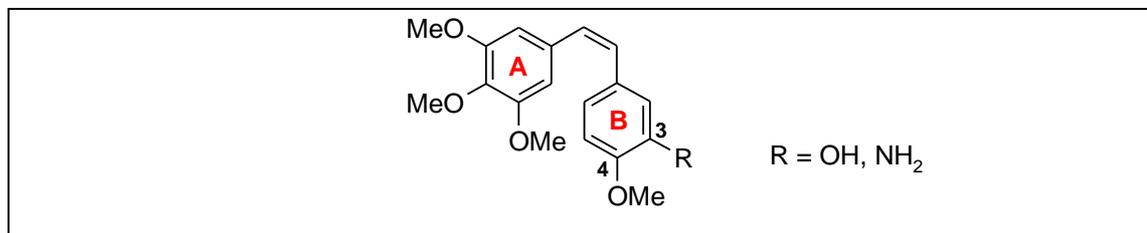
Le mécanisme d'action de la CA-4 n'est donc pas encore bien compris même s'il semble que ce composé agisse plutôt en provoquant en premier lieu une « catastrophe mitotique » avec l'arrêt du cycle cellulaire ; ultérieurement l'apoptose apparaîtrait par un mécanisme secondaire de mort cellulaire pour une faible proportion de cellules.

1.3.2.2 Activité anti-vasculaire

Comme nous l'avons mentionné précédemment, l'activité antitumorale de la combrétastatine A-4 repose essentiellement sur ses effets anti-vasculaires. Ainsi, elle induit une nécrose tumorale consécutive à son action sur les cellules endothéliales des vaisseaux des tumeurs. Différentes études *in vitro* montrent que cette molécule provoque des changements de la morphologie des cellules endothéliales, ainsi qu'une diminution de leur mobilité. Sur un modèle de cicatrisation chez la souris, Ahmed *et coll.*¹⁰ ont montré qu'une faible concentration de CA-4P (10 ng/mL) entraînait une inhibition significative de la migration de cellules endothéliales d'environ 40 %, l'inhibition maximale de 75 % étant obtenue pour une concentration de 3 µg/mL.

1.3.3 Analogues de la combrétastatine A4

La CA-4, molécule relativement simple en termes de structure (figure 4), est formée d'un noyau triméthoxyphényle (A), d'un noyau phényle (B) substitué en position 4 par un méthoxyle et en 3 par un hydroxyle. Tous deux sont reliés par une double liaison de configuration *cis*.¹⁴ Un des principaux inconvénients liés à la CA4 est l'instabilité de la double liaison qui tend à s'isomériser, sous l'effet de la chaleur et de la lumière, en dérivé de configuration *trans* qui est totalement inactif.¹⁰ Ceci a donc motivé de nombreuses équipes à concevoir de nouveaux analogues de la CA4 dans le but de stabiliser la molécule tout en tentant d'améliorer la solubilité dans les solvants biocompatibles.



De nombreuses études de pharmacomodulation ont été réalisées aussi bien sur la nature du pont joignant les deux cycles aromatiques que sur la nature des noyaux (A) et (B). Nous présenterons ici uniquement les différents types de modifications effectuées, et préférentiellement celles qui ont permis d'améliorer l'activité biologique.

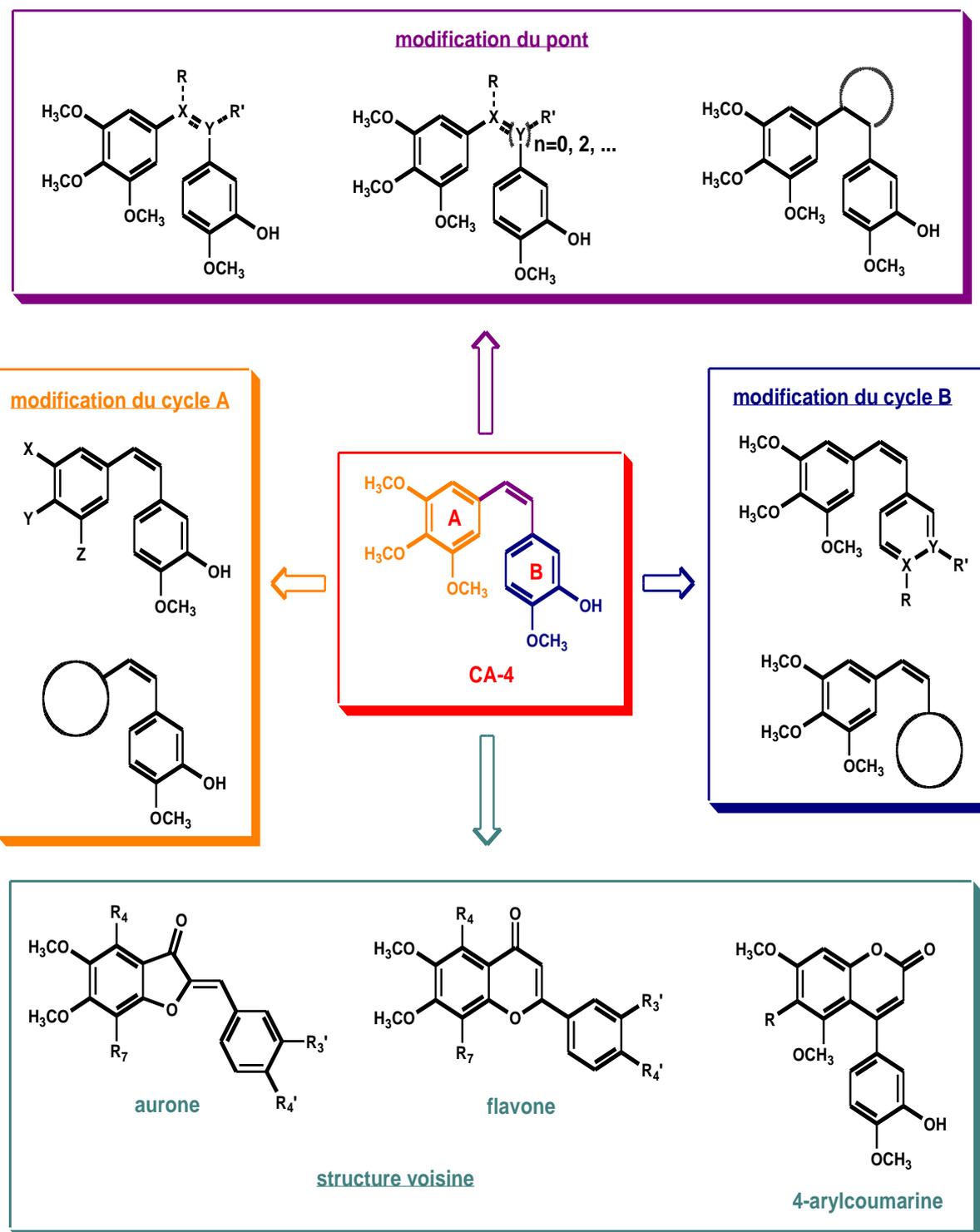


Schéma N°4

1.3.4 Remplacement du pont éthène par un pont constitué d'un atome : introduction d'un C=O

La stabilisation de la structure par introduction d'un groupement carbonyle a présenté les résultats les plus intéressants. C'est en 1992 que Cushman¹² a montré qu'un groupement carbonyle pouvait remplacer la liaison oléfinique sans perte notable d'activité. Ainsi, le composé (**15**) présente sensiblement la même activité que l'analogue 4-méthoxylé de la CA-4 (**16**).

Ultérieurement, des études de relations structure-activité ont été réalisées par l'équipe de Pettit¹³ et ont conduit à la synthèse de la phenstatine (**17**), analogue carbonylé de la CA-4. Ce composé s'est montré particulièrement attractif *in vitro*, avec un profil d'activité très voisin de celui de la CA-4 en termes de cytotoxicité, d'IPT et de déplacement de la colchicine de son site de liaison à la tubuline.

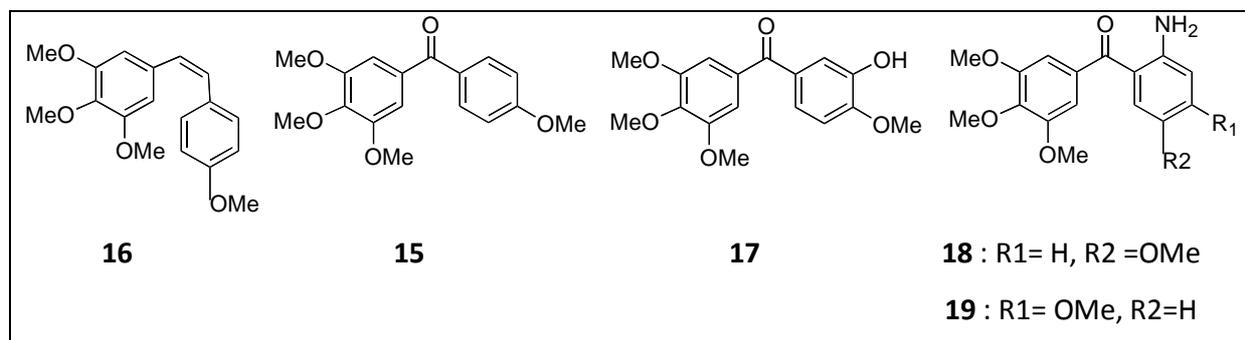


Schéma N°5

Composé	CA-4	16	15	17	18	19
Cl ₅₀	4	0,32	11	87	23	3
IPT	1,0	2,5	7,4	0,4	1,0	0,4

Tableau N° 2

1.3.5 Travaux antérieurs

Au cours des travaux préliminaires concernant la série aroylbenzopyranes, six composés de structure triméthoxybenzoylchromène ont été synthétisés. Leur cytotoxicité et leur capacité à provoquer un arrondissement des cellules HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) modifiées EA.hy926, prédictif de l'activité antivasculaire *in vivo* a été évaluée. Les différents composés sont modérément cytotoxiques.

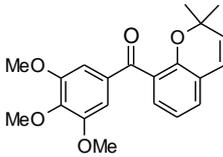
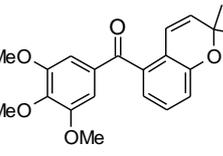
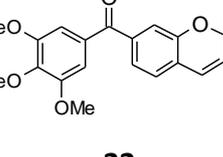
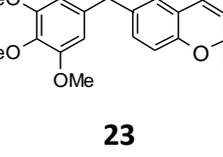
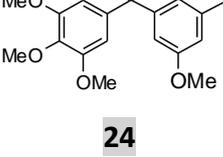
Structure	Cytotoxicité	Morphologie
	B16 cells Cl ₅₀ (μM)	Cellules EA·hy926 (μM)
 <p>20</p>	44,7 ± 3,5	> 25
 <p>21</p>	48,5 ± 6,5	> 25
 <p>22</p>	45,8 ± 6,6	> 25
 <p>23</p>	45,1 ± 3,0	> 25
 <p>24</p>	41,6 ± 7,2	6,25
CA-4	0,005 ± 0,001	0,008
Colchicine	0,031 ± 0,003	0,003

Tableau N°3

Un des dérivés obtenus, la (6-méthoxy-2,2-diméthyl-2*H*-chromèn-8-yl)(3,4,5-triméthoxyphényl)méthanone **24** présente un effet significatif sur la morphologie des cellules endothéliales à une dose non cytotoxique. Les travaux dans cette série doivent être poursuivis par la synthèse de nouveaux composés afin d'accroître cette dernière activité tout en évitant une augmentation de la cytotoxicité.

Tous les composés synthétisés présentent une faible cytotoxicité avec une CI_{50} voisine de 40 μ M sur l'inhibition de la prolifération de cellules de mélanome B16.

Le composé **24** induit une modification de la morphologie des cellules endothéliales EA·hy926 avec un arrondissement des cellules observé jusqu'à la concentration de 6,25 μ M (Figure 4).

Comparée à celle de la combrétastatine A4 ($CI_{50} = 8$ nM), cette valeur est beaucoup plus élevée, cependant, compte tenu de la faible cytotoxicité du composé **24**, ce résultat n'est pas dénué d'intérêt. En effet, on peut envisager d'obtenir spécifiquement un effet vasculaire sans effet cytotoxique.

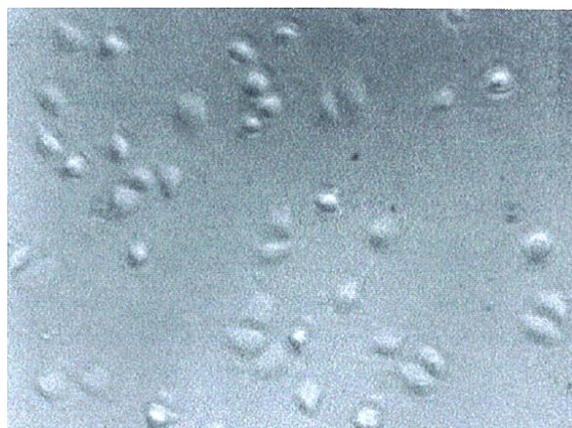
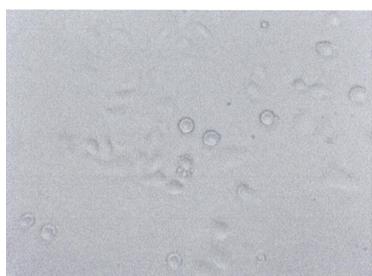
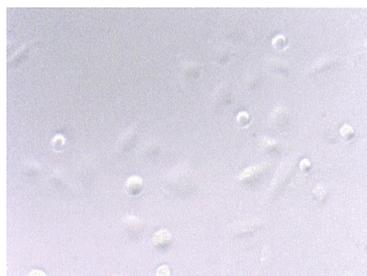
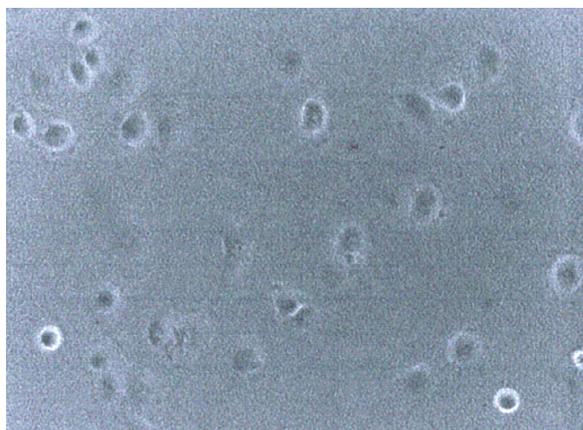
Ces essais devront être complétés par la détermination de l'inhibition de la polymérisation de la tubuline afin de voir si une corrélation existe avec l'effet d'arrondissement provoqué par le composé **24**.

Les autres produits (**20 -23**) n'ont pas d'activité sur la morphologie des cellules EA·hy926 à la concentration maximale utilisée de 25 μ M.

Après ces premiers résultats préliminaires, la synthèse de nouveaux composés est en cours afin d'essayer d'augmenter l'effet sur la morphologie des cellules endothéliales sans pour autant accroître leur cytotoxicité.



Témoin DMSO



Composé 24 6,25 μ M

Figure 4 : Effet du composé 24 (4 essais) et du DMSO sur la morphologie des cellules endothéliales EA-hy926

2. Resultats et discusion

2.1 Objectifs et synthèse envisagée

Le sujet qui m'a été confié s'inscrit donc dans la continuité de ces travaux et porte sur la synthèse et l'évaluation biologique de composés hétérocycliques analogues de la combrétastatine A4, en séries chromène (voir schéma ci-dessous).

L'évaluation des propriétés biologiques des molécules synthétisées sera réalisée par l'équipe du Dr Guy Chabot (U 640 Inserm UMR 8151 CNRS) et portera sur trois déterminations : cytotoxicité sur des cellules de mélanome murin B16, inhibition de la polymérisation de la tubuline et enfin effet des composés sur la morphologie des cellules endothéliales EA.hy926 (arrondissement). Les résultats obtenus orienteront les futures synthèses envisagées.

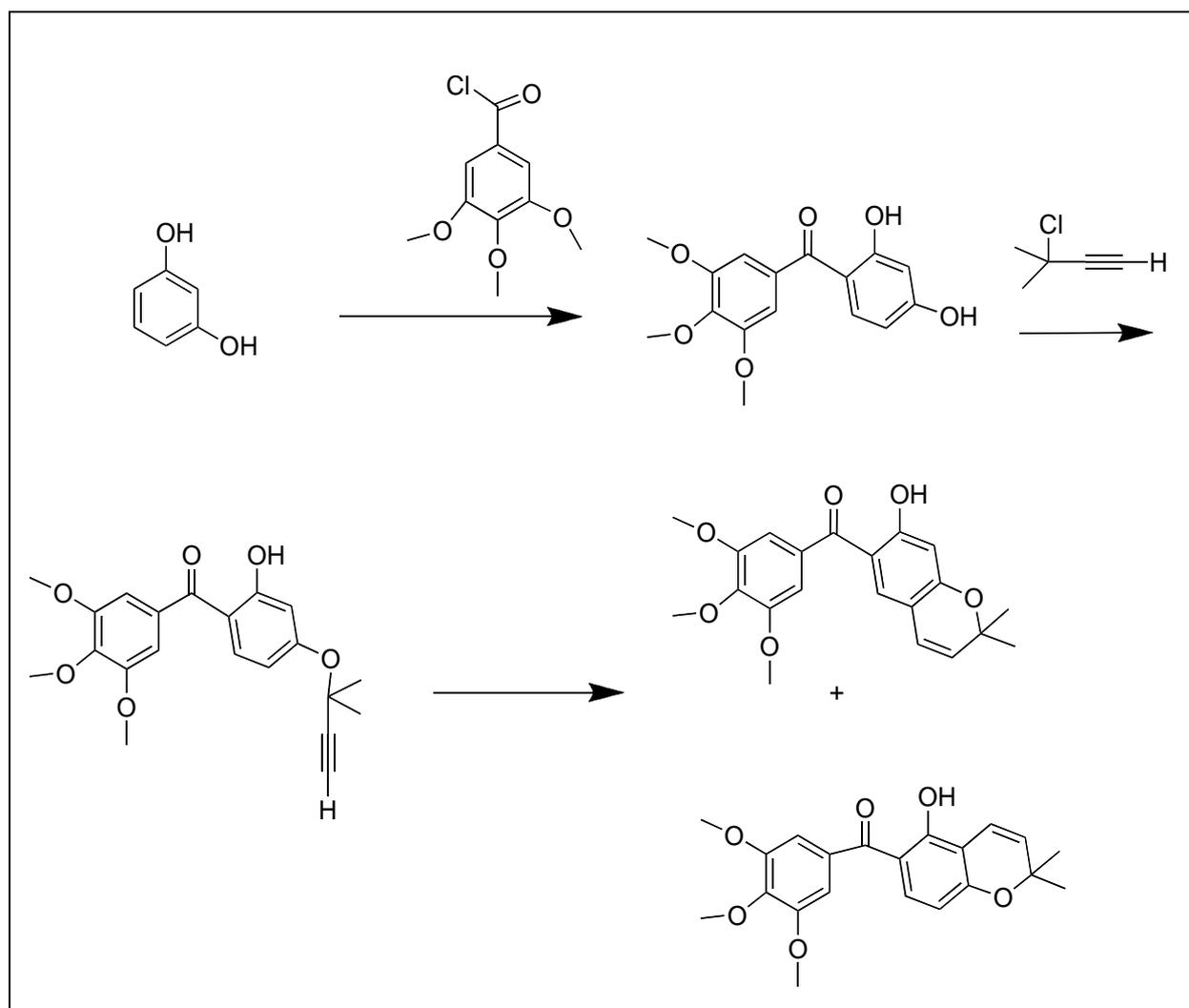
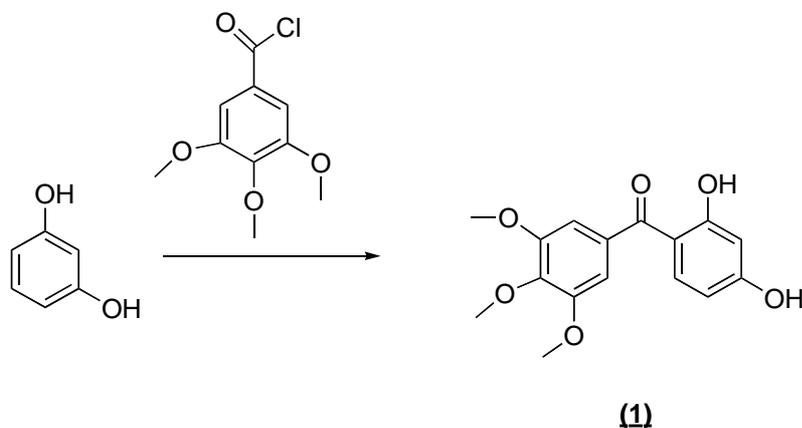


Schéma N°6

2.1.1 Préparation du (2,4-dihydroxyphényl)-(3,4,5-triméthoxyphényl)-méthanone (1):



Approche 1 :

La poudre de zinc est utilisé comme catalyseur dans les réactions d'acylation de Fritel-Craft, la position prédominante est la position 4 (para) .

- Réaction N°1 sous micro-onde : Les différents essais réalisés sont résumés dans le tableau N°4 ci dessous.

Essais	Résistance	Catalyseur	Durée	Produits
Résorcinol+chlorure de triméthoxybenzoyle	300 W	Zn	30 s	Produit de départ
Résorcinol+ chlorure de triméthoxybenzoyle	300 W	Zn	3 Min	Produit de départ
Résorcinol+ chlorure de triméthoxybenzoyle	300 W	Zn	5 Min	Produit de départ

Tableau N°4

Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène

- Réaction N°2 sans solvant à reflux : Les différents essais réalisés sont résumés dans le tableau N°5 ci dessous.

Essais	Température	Catalyseur	Durée	Produits
Résorcinol+chlorure de triméthoxybenzoyle	130°C	Zn	3 h	Mélange Complexe
Résorcinol+chlorure de triméthoxybenzoyle	130°C	Zn	24 h	Mélange Complexe

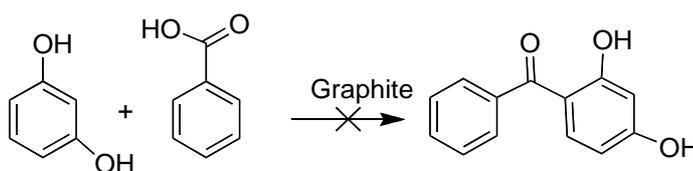
Tableau N°5

Conclusion :

La réaction ne permet pas d'obtenir le composé attendu. Le résorcinol est le produit majoritaire (dans les mélanges complexes le résorcinol est retrouvé sous forme acylée).

Approche 2 :

*Acylation par le graphite et l'acide méthane sulfonique MeSO_3H :



Le graphite dans l'acide méthanesulfonique a été utilisé pour préparer le 2,4-dihydroxyphényl)-(3,4,5-triméthoxyphényl)-méthanone (**1**) par acylation directe du résorcinol par l'acide benzoïque.

Conclusion :

Après purification et analyse par ¹H RMN, 4 produits sont obtenus en mélanges complexes, une nouvelle approche est alors envisagée.

Approche 3 :

L'acylation (Réaction de Friedel-Crafts) conduite en présence d'un acide de Lewis permet d'obtenir cette condensation par action du chlorure de l'acide triméthoxybenzoïque sur le résorcinol.

Les différents essais réalisés sont résumés dans le tableau N°6 ci-dessous.

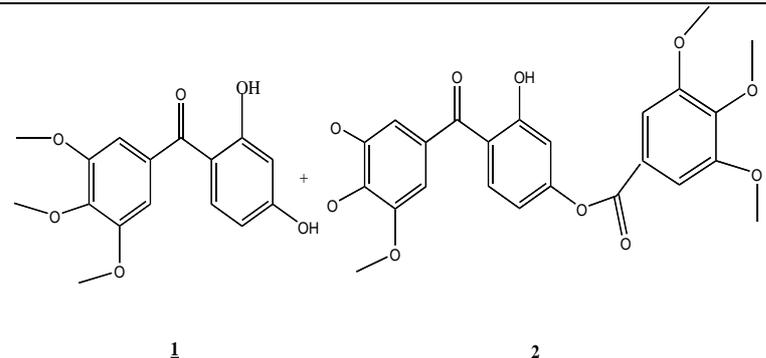
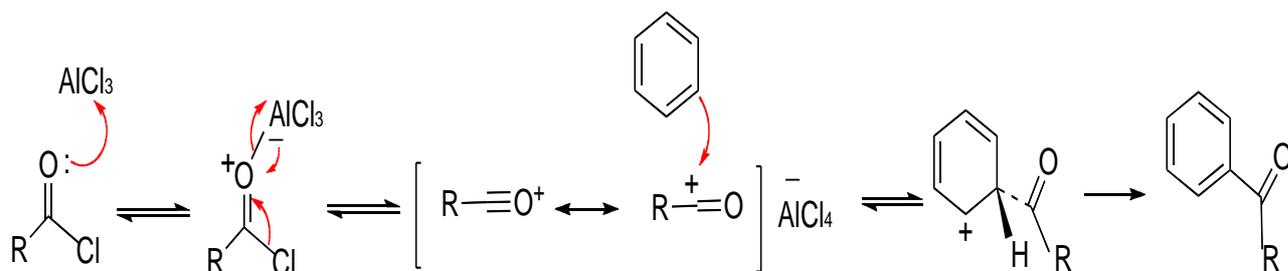
Equivalents de AlCl ₃	Solvant	Température	Durée	Produits
1,2	DCE	65°C	5h	Mélanges complexes
1,2	DCE	0°C	24h	Mélanges complexes
1,2	DCE	T° ambiante	24h	

Tableau N°6

Mécanisme :



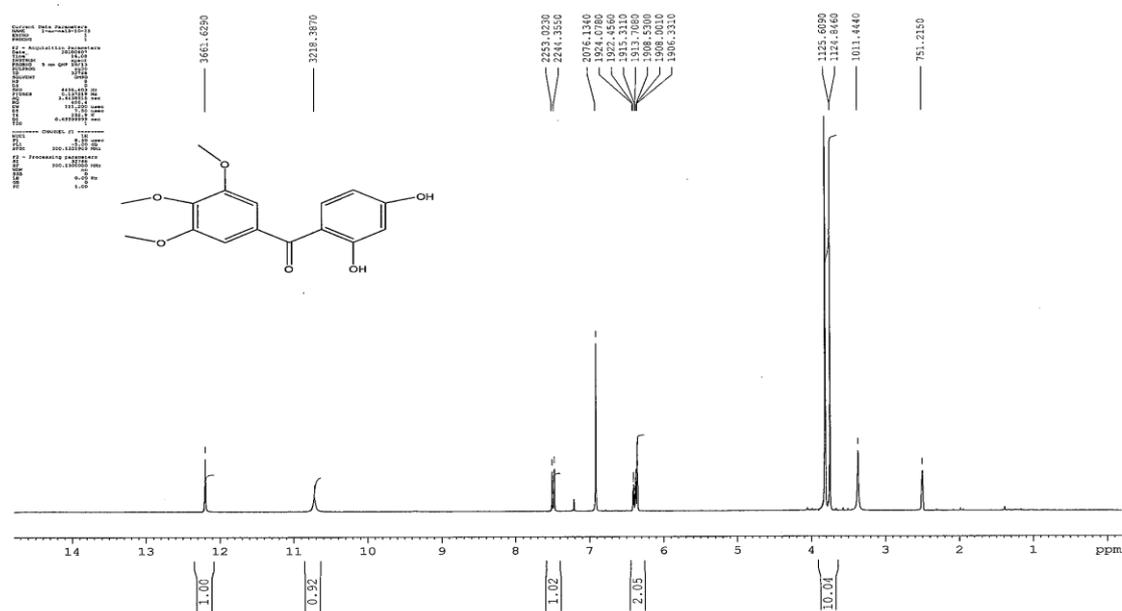
Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène

Conclusion :

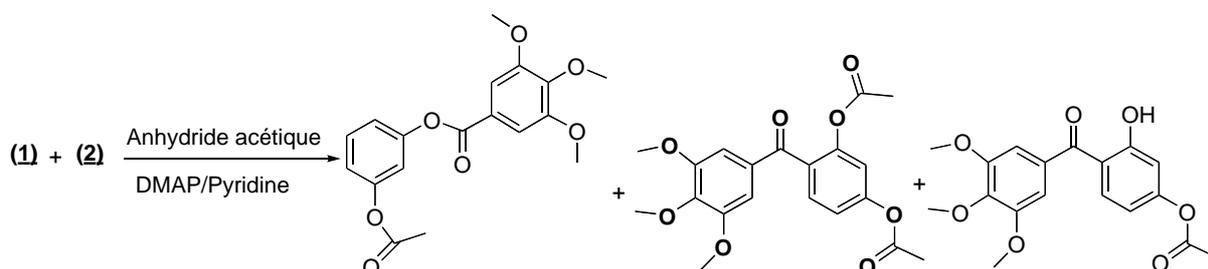
Le mélange des deux composés **(1)** et **(2)** est difficilement séparable par chromatographie sur colonne. Une saponification du mélange a été réalisée, une méthode simple, rapide est efficace consiste à hydrolyser les esters aromatiques en présence d'hydroxyde de potassium dans le méthanol à 35°C. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice, un solide jaune clair est obtenu avec un rendement de 39,3%.

La structure du composé **(1)** est confirmée par les données structurales (masse et RMN).

En effet, sur le spectre de RMN 1H de ce composé sont présents tous les signaux correspondants au 3,4,5-triméthoxyphényle (soit un singulet de 2 protons à un $\delta < 7$ ppm, correspondant aux protons H_{2'} et H_{6'}), et 3 singulets de 3 protons correspondant aux 3 groupes méthoxyles. Sont aussi présents les signaux de la partie dihydroxyphénylique (un doublet –Jo et un doublé dédoublé Jo et m de 2 protons à un $\delta < 7$ ppm correspondants aux protons H₅ et H₆) et un doublet d'un proton à un $\delta < 8$ ppm (J m) qui correspond au proton H₃. Les deux singulets des deux fonctions hydroxyles sont également présents à un $\delta = 11$ ppm et $\delta = 12$ ppm .

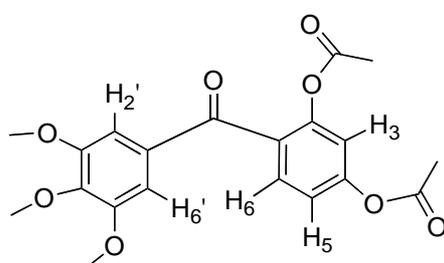


Approche 4 :



* Réaction d'acétylation suivie d'une saponification

Une autre méthode à été envisagée pour améliorer le rendement de la réaction, elle consiste à utiliser le mélange réactionnel inséparable de la réaction précédente (acylation de Fridel et Craft) et d'acétyler ce mélange réactionnel. L'acétylation pyridinée est conduite selon les conditions classiques par l'anhydride acétique en présence de quantités catalytiques de DMAP (diméthylaminopyridine). Le produit acétylé est obtenu après purification sur gel de silice sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 63,8 %.

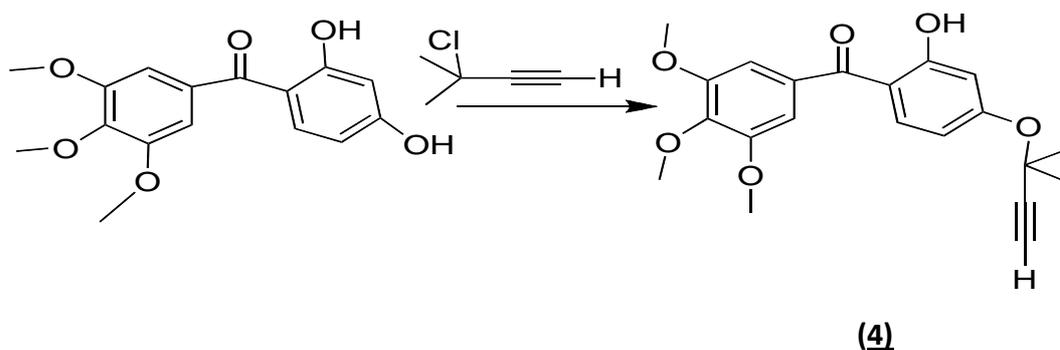


(3)

La structure du composé **(3)** est confirmée par l'étude de son spectre de masse et de RMN. Le spectre de RMN ¹H comparé à celui du composé 2,4-dihydroxyphényl-(3,4,5-triméthoxy-phényl)-méthanone montre la présence de deux singulets de 6 protons à δ<3 ppm correspondant aux protons CH₃ de l'acétate.

Une réaction de saponification a été envisagé en présence du KOH dans le méthanol à relux 35°C pour obtenir le produit **(1)**.

2.1.2 Alkylation du (2,4-dihydroxyphényl)-(3,4,5-triméthoxyphényl) méthanone (1):

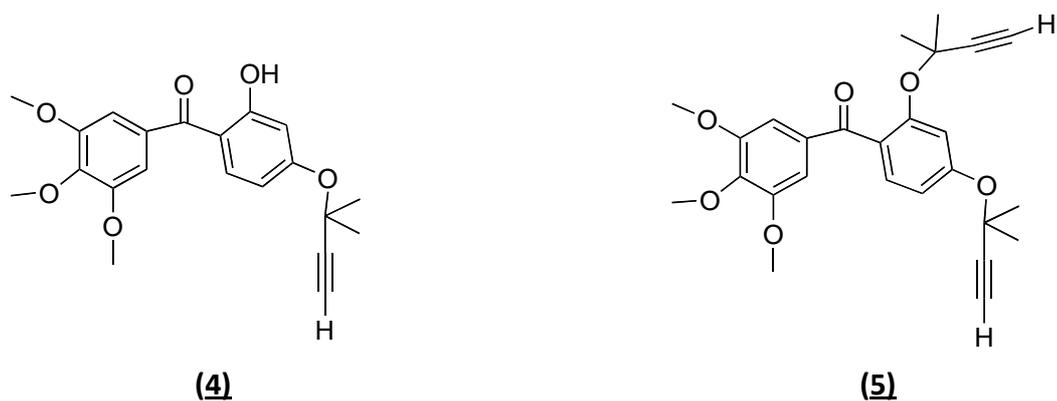


L'éthérisation est réalisée par la 3-chloro-3-méthylbutyne dans le toluène anhydre en présence d'iodure de potassium et le DBU (1,8-DIAZA-BICYCLO (5,4,0) undec-7-ène) une base organique assez forte, soluble dans les solvants organiques et ne possédant pas de propriétés nucléophiles.

Les différents essais réalisés sont résumés dans le tableau N°7 ci-dessous :

Equivalent DBU	Solvant	3-chloro-3-méthylbutyne	Température	Durée	Produits
1,1 éq	Toluène	3 éq	T° ambiante	24h	Produit de départ+ (4)
3,5 éq	Toluène	6 éq	T° ambiante	24h	(5)

Tableau N°7



La structure des deux composés **(4)** et **(5)** est confirmée par l'étude de leurs spectres de masse et de RMN. Le spectre de RMN ^1H du composé mono alkylé **(4)** montre la présence d'un singulet de 6 protons aux environs de 1,5ppm, correspondant aux protons du gem-diméthyle, et d'un singulet de un proton vers 2,2 ppm correspondant au proton acétylénique.

Le composé dialkylé **(5)** montre la présence de deux singulets de 6 protons aux environs de 1,5 ppm correspondants aux protons des deux gem-diméthyles, et de deux singulets entre 2,4 et 3,4 ppm correspondant aux protons acétyléniques.

Les premiers essais ont permis d'obtenir le dérivé souhaité avec un rendement d'environ 33 % après 24 h de réaction. Ce rendement modeste nous a conduit à changer la base et à utiliser le DBN (1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-ène). Le composé **1** en solution dans le toluène anhydre, réagit avec la 3-chloro-3-méthylbutyne en présence de DBN et d'iodure de potassium pour conduire aux résultats mentionnés dans le tableau N8 ci-dessous.

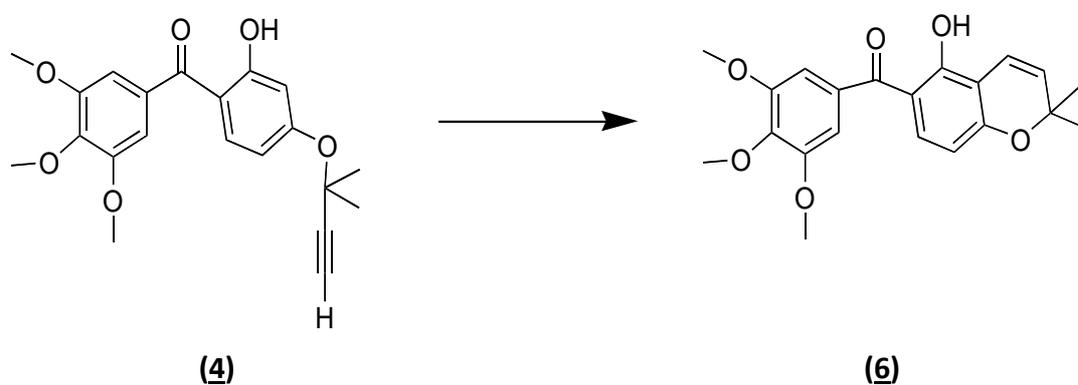
Equivalents DBN	Solvant	3-chloro-3-méthylbutyne	Température	Durée	Produits
1,1 éq	Toluène	3 éq	T° ambiante	24h	(4) +Produit de départ
1,1 éq	Toluène	3 éq	0°C	24h	Produit de départ
1,1 éq	Toluène	3 éq	T° ambiante	4j	(4)

Tableau N°8

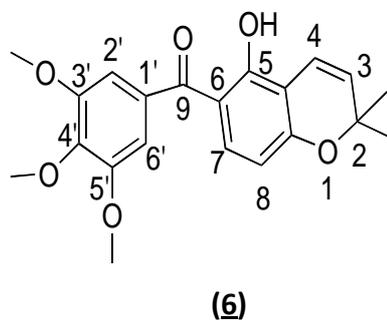
La conclusion que l'on peut dégager de cette étude est :

La DBN donne de meilleurs résultats, le produit monoalkylé est obtenu majoritairement avec un rendement de 55 % à température ambiante pendant 4 jours.

2.1.3 Cyclisation des éthers propargyliques :



La cyclisation intramoléculaire des éthers obtenus est réalisée dans le DMF à reflux 130°C ou dans le *N-N*-diméthylaniline à reflux 180°C et conduit aux benzopyranes correspondants.



Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène

La structure du composé cyclisé est également confirmée par son étude spectrale. En effet, sur le spectre RMN ^1H le singulet à 2,2 ppm du proton acétylénique n'est plus présent, et on trouve les doublets ($J=10\text{Hz}$) des deux protons correspondants aux protons de la double liaison du noyau pyrane.

Les différents essais réalisés sont résumés dans le tableau N°9 ci-dessous.

Solvant	Température	Durée	Produits
DMF	130°C	6 h	(5) + (6)
DMF	130°C	24 h	(6)
Diméthylaniline	180°C	24 h	Dégradation

Tableau N°9

2.2 Conclusion :

Ce travail se place dans le cadre de la synthèse de nouveaux analogues de la combrétastatine.

Au cours de ce travail, 5 nouveaux composés qui sont présentés dans le schéma N°7 ont été synthétisés, les tests biologiques sont décrits en annexe1.

Lors de la synthèse, compte tenu des difficultés rencontrées avec l'approche 1 et 2, les approches 3 et 4 semblent plus prometteuses.

Les travaux dans cette série doivent être poursuivis afin d'optimiser l'activité de ces nouveaux composés en particulier en termes d'effets morphologiques sur cellules HUVEC modifiées, prédictifs de l'activité anti vasculaire, tout en évitant une augmentation de la cytotoxicité.

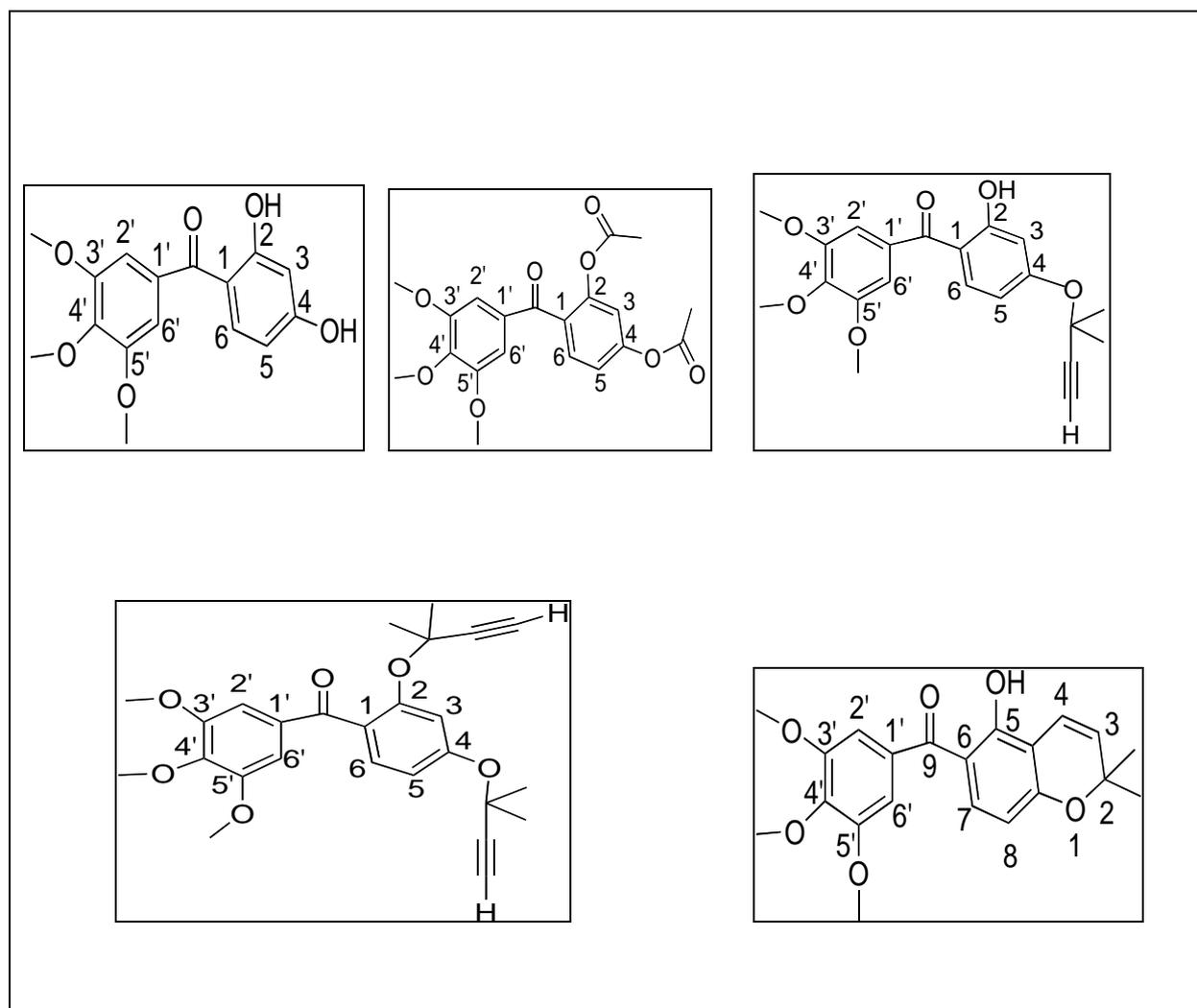


Schéma N°7

Partie

Expérimentale

GENERALITES

Solvants

Les solvants, quand la réaction se fait en conditions inertes, sont distillés avant usage :

- Le dichlorométhane, 1,2-dichloroéthane et le toluène sont distillés sur CaH_2 .
- Le DMF et la pyridine sont de qualité Purex pour analyse® (SDS) et séchés sur tamis moléculaire 4 Å.

Chromatographies

- Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur des plaques de silice de type Kieselgel 60 F254 Merck.
- Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur gel de silice Chromatogel 60 SDS (granulométrie 35-70 μm « Flash » ou 20-45 μm) sous faible pression d'air (200 à 300 mbar).

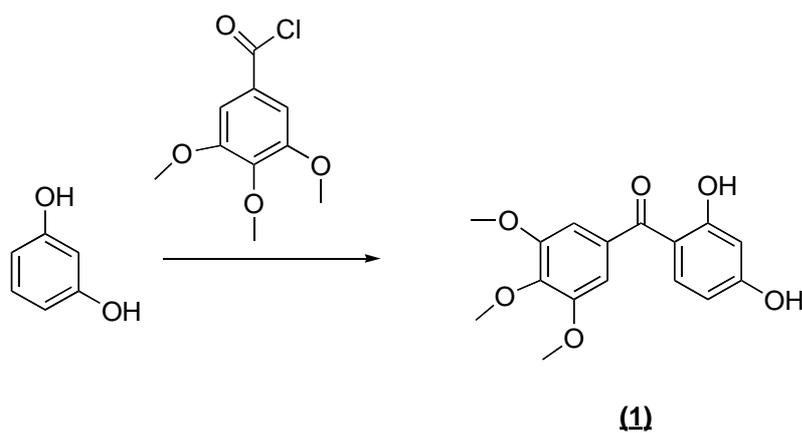
Analyses

- Les points de fusion (Pf) ont été déterminés au moyen d'un microscope à platine chauffante Leica.
- Les spectres d'absorption dans l'infrarouge (IR) ont été enregistrés sur un spectromètre NICOLET 510 FT-IR. Les échantillons étant préparés en pastille de bromure de potassium (KBr) ou sous en film liquide (NaCl), les nombres d'onde (ν_{max} en cm^{-1}) les plus caractéristiques sont relevés.
- Les spectres de résonance magnétique (RMN) du proton (^1H) et du carbone (^{13}C) ont été enregistrés sur un appareil Bruker AC300 (à respectivement 300 et 75 MHz) ou Avance 400 (à respectivement 400 et 100 MHz).
- Les déplacements chimiques δ sont exprimés par rapport au pic résiduel du solvant pris comme référence (7,26 ppm pour CDCl_3 et 2,50 ppm pour le DMSO en RMN du proton, 77,0 ppm pour CDCl_3 et 39,5 ppm pour le DMSO en RMN du carbone 13).

Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène

- Les constantes de couplage J sont exprimées en Hertz. Les notations suivantes sont utilisées pour exprimer la multiplicité des signaux : s pour singulet, d pour doublet, dd pour doublet de doublet, t pour triplet, m pour multiplet.
- Les spectres sont traités avec le logiciel TOPSPIN-NMR (BRUKER).
- Les spectres de masse ont été enregistrés à l'aide d'un appareil ZQ2000 Waters, source électrospray (ESI). L'ionisation est effectuée en mode positif.
- Les analyses élémentaires, ainsi que les analyses de masse haute résolution (HRMS) ont été déterminées à l'ICSN-CNRS de Gif sur Yvette (resp. par le service de microanalyse et le service de masse).

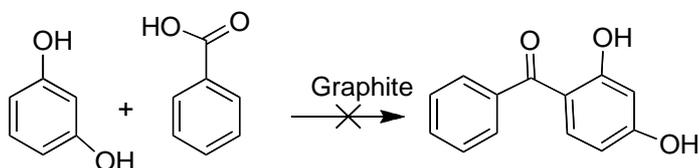
(2,4- Dihydroxyphényl) –(3,4,5-triméthoxyphényl)méthanone(1)



A une solution de résorsinol ($0,05\text{g}$, $4,54 \cdot 10^{-4}$ mol) et de 3,4,5-triméthoxy benzoylchloride ($0,1049\text{g}$, $4,54 \cdot 10^{-4}$ mol) et de la poudre de zinc ($0,0296$, $4,54 \cdot 10^{-4}$ mol). Le milieu réactionnel est placé dans un micro-onde à 300 w.

D'après la RMN l'essai est négatif.

(2,4-Dihydroxyphényl) -(3,4,5-triméthoxyphényl)méthanone (1)



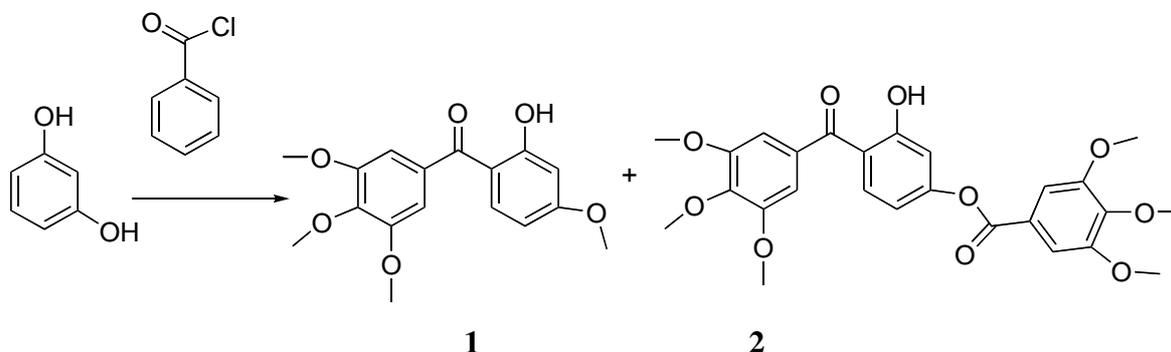
Le graphite (0,2g, $16,6 \cdot 10^{-3}$ mol) est dissous dans le MeSO_3H (15 mmol, 973 μl), sont ajoutés successivement l'acide benzoïque (2 mmol, 213 μl) et le résorcinol (0,220g, 2mmol). La solution obtenue est placée sous agitation chauffée à reflux à 120°C pendant 3h.

RMN ^1H : La réaction n'a pas marché, produit attendu non identifié, le produit obtenu majoritairement est le produit de départ.

D'après la RMN l'essai est négatif.

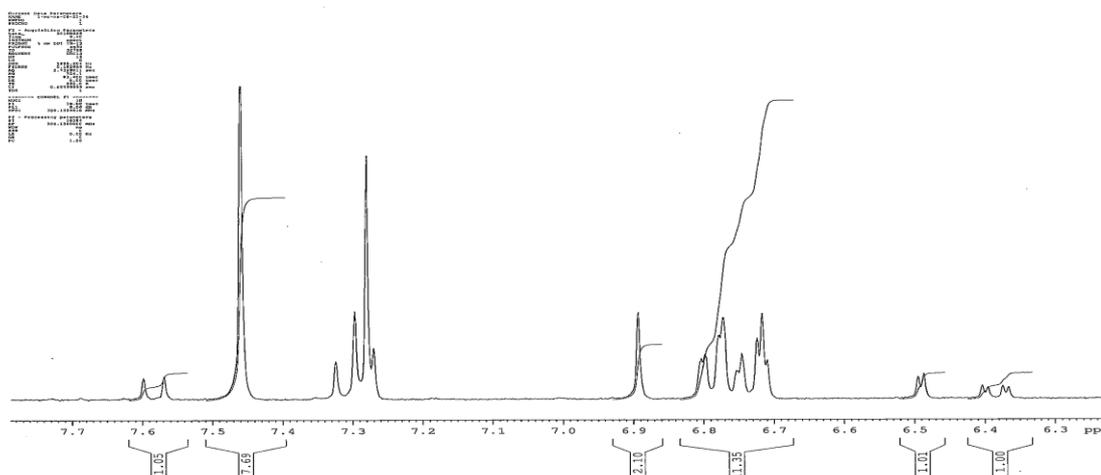
(2,4- Dihydroxyphényl) –(3,4,5-triméthoxyphényl)méthanone (1)

❖ Etape d'acétylation :



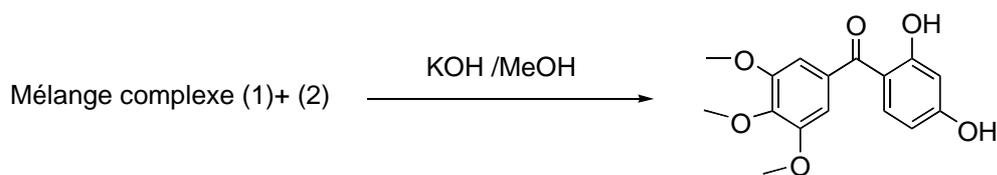
Mélange complexe

A une solution du résorcinol (0,5 g, $4,54 \cdot 10^{-3}$ mole), en solution dans 40 ml de 1,2-dichloroéthane anhydre, est ajouté le chlorure d'aluminium (0,72 g, $5,44 \cdot 10^{-3}$ mole) et le chlorure de 3,4,5-triméthoxybenzoyle (1,05 g, $4,54 \cdot 10^{-3}$ mole). La solution obtenue est agitée à température ambiante pendant 5 heures sous agitation magnétique. La réaction est stoppée par ajout de glace, et le mélange est extrait par AcOEt (3*50ml). Les phases organiques réunies sont lavées par de l'eau jusqu'à pH neutre, puis évaporées à sec sous pression réduite après séchage sur sulfate de sodium Na_2SO_4 anhydre et filtration. Le résidu jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice 20-45 μm (éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98/2 V/V). Les fractions contenant le composé **1**, en mélange inséparable avec **2**, sont identifiées par RMN et rassemblées ($m = 0,3$ g, *ratio 1/2* déterminée par RMN ^1H : 3,7/1)



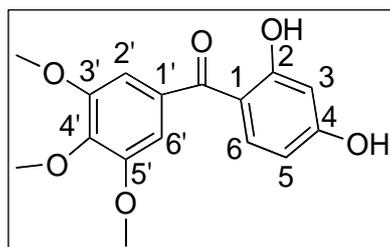
Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène

❖ Etape de saponification :



(1)

A une solution du mélange complexe (**1** + **2**) (0,5 g, $1,00 \cdot 10^{-3}$ mole) dissous dans 1,5 ml de méthanol, est ajouté 0,112 g de KOH ($2,00 \cdot 10^{-3}$ mole). La solution obtenue est agitée 1h à 35°C, sous agitation magnétique. La réaction est arrêtée par addition d'eau, et le mélange est extrait par de l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na_2SO_4 anhydre, filtrées et évaporées sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice 20-45 μm (éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{ACOET}$ 95/5 V/V). Le composé 1 est obtenu sous la forme d'un solide jaune (120 mg).



Formule brute	Masse Molaire (g/mol)	Etat physique	Rendement
$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_6$	304,09	Solide jaune clair	39,3 %

Tableau N°10

Spectre RMN: (DMSO- d_6) , δ (ppm)

^1H : 12,19 (s, échangeable par D_2O , 1H, $\text{C}_2\text{-OH}$) ; 10,72 (s, échangeable par D_2O , 1H, $\text{C}_4\text{-OH}$) ; 7,48 (d, $J_{6-5} = 8,66$ Hz, 1H, H_6) ; 6,91 (s, 2H, H_2',H_6') ; 6,39 (dd, $J_{5-6} = 9,00$ Hz, $J'_{5-3} = 1,62$ Hz, 1H, H_5) ; 6,36 (d, $J_{3-5} = 1,67$ Hz, 1H, H_3) ; 3,81 (s, 6H, $-\text{OCH}_3$ C_3',C_5'), 3,75 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$ C_4').

Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène

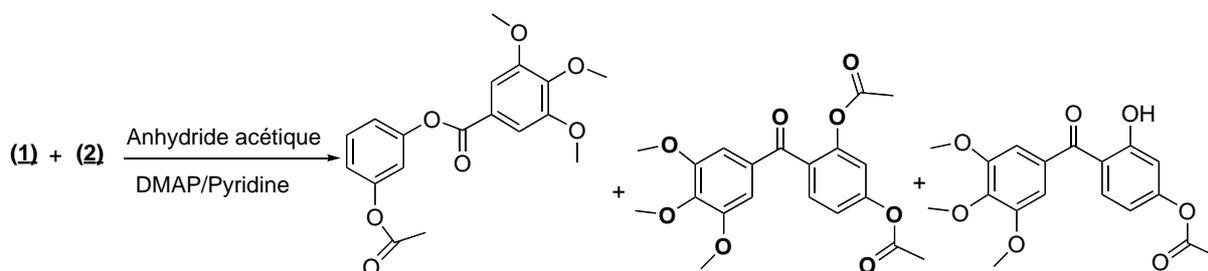
^{13}C : 56,5; 60,6 ; 103,2 ; 106,8 ; 108,6 ; 112,9 ; 133,7 ; 135,9 ; 140,7 ; 153,0 ; 164,9 ; 198,3

Spectre IR: (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3294, 3015, 2941, 1630, 1591, 1506, 1465, 1414, 1343, 1265, 1130, 771.

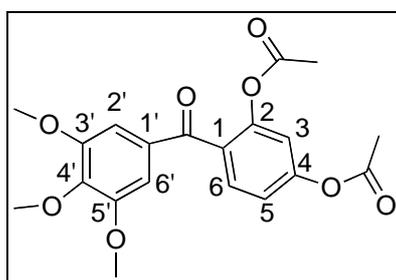
Spectre de masse : (ESI+) m/z : 327 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Pf (HCCl_3) : 175°C

(2,4- Diacétate phényl) –(3,4,5-triméthoxyphényl)méthanone (3)



Au mélange complexe (1 + 2) (0,150 g, $3,012 \cdot 10^{-4}$ mole) en solution dans 10 ml de pyridine anhydre, est ajouté goutte à goutte à 0°C (bain eau-glace) l'anhydride acétique ($1.506 \cdot 10^{-3}$ mole, 142 μ l), puis une quantité catalytique de 4-DMAP. Le milieu réactionnel est agité 24 h. sous argon à température ambiante. La réaction est arrêtée par addition de glace, puis laissée sous agitation magnétique pendant 30 min. Le mélange est transféré dans une ampoule à décanter, puis extrait par 3 fois 20 ml de CH_2Cl_2 . Les phases organiques réunies sont lavées à 0°C par de l'acide chlorhydrique à 10 % (jusqu'à pH acide), par de l'eau jusqu'à PH neutre, puis par une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis évaporée sous vide. Le résidu est chromatographié sur gel de silice 20-45 μ m (éluant cyclohexane/AcOEt 70/30 V/V), afin d'obtenir (3) (75 mg) sous la forme d'un solide blanc.



Formule brute	Masse Molaire (g/mol)	Etat physique	Rendement
$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8$	388,12	Solide blanc	64 %

Tableau N°11

Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène

Spectre RMN : (CDCl₃) , δ (ppm)

¹H: 7,58 (d, $J_{6-5} = 8,35$ Hz, 1H, H₆) ; 7,15 (dd, $J_{5-6} = 8,34$ Hz, $J'_{5-3} =$ Hz, 1H, H₅) ; 7,05 (d, $J_{3-5} = 1,35$ Hz, 1H, H₂·H_{6'}) ; 7,02 (s, 2H, H₂·H_{6'}) ; 3,86 (s, 3H, -OCH₃ C4') ; 3,81 (s, 6H, -OCH₃ C3',C5') ; 2,34 (s, 3H, -COCH₃) ; 2,02 (s, 3H, -COCH₃).

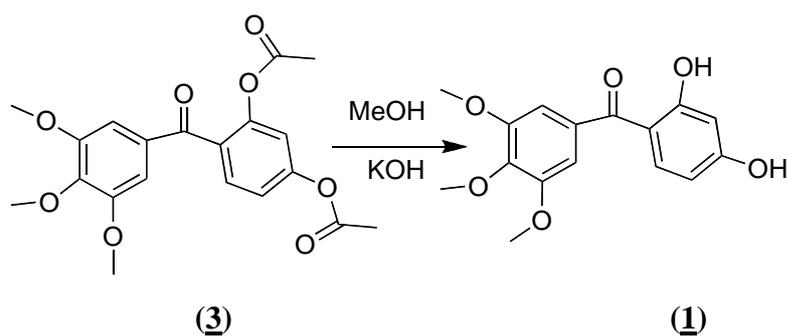
¹³C: 20; 22; 40; 55; 60; 107; 108; 118; 120; 129; 131,5; 132,5; 142,5; 149,5; 153; 153,5; 169; 169,5; 192,5.

Spectre IR: (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 2938,99 ; 1772,24 ; 1655,44 ; 1610,04 ; 1560,65 ; 1501,50 ; 1459,53 ; 1370,69 ; 1193,03 ; 1130,31 ; 979,31 ; 821,25.

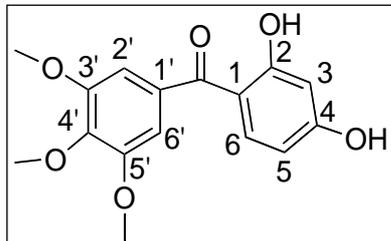
Spectre de masse : (ESI+) m/z : 411 [M+Na]⁺

Pf (HCCl₃) : 125°C

Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène



Le composé **(3)** ($0,130\text{ g}$, $3,35 \cdot 10^{-4}\text{ mole}$) est dissous dans $393\ \mu\text{l}$ de méthanol et $0,0375\text{ g}$ de KOH ($6,67 \cdot 10^{-4}\text{ mole}$) est ajouté. La solution obtenue est chauffée à 35°C , sous agitation magnétique, pendant 1 h . La réaction est stoppée par ajout d'eau (5 ml), et le mélange réactionnel est extrait par $2 \times 20\text{ ml}$ d'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na_2SO_4 anhydre, filtrées et évaporées sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice $20\text{-}45\ \mu\text{m}$ (éluant cyclohexane/AcOEt $70/30\text{ V/V}$), afin d'isoler le composé **(1)** ($m = 78\text{ mg}$).

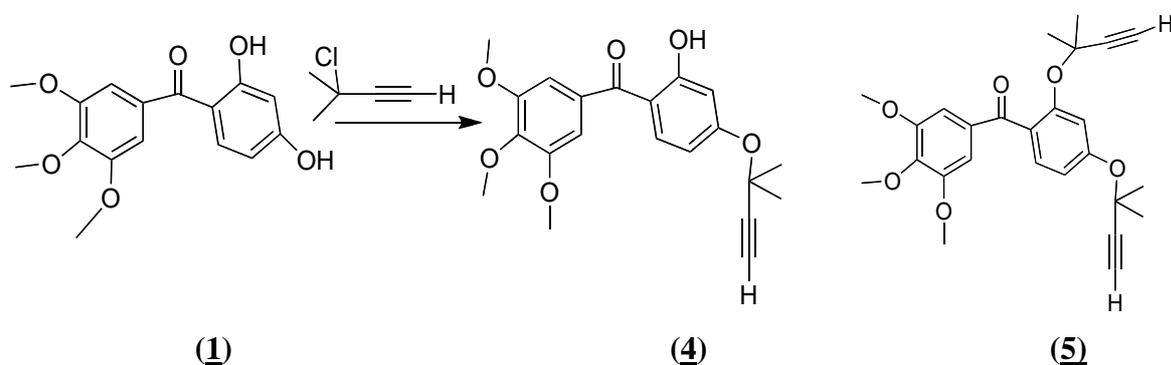


Formule brute	Masse Molaire (g/mol)	Etat physique	Rendement
$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_6$ Composé (1)	304,09	Solide jaune clair	60 %

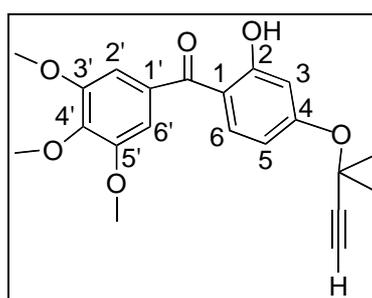
Tableau N° 12

Spectre RMN voir page 22.

(2-hydroxy-4-ether diméthyl propargylique phényl)-(3,4,5-triméthoxyphényl)méthanone
(4)



A une solution du composé **(1)** (0,03 g, $9,87 \cdot 10^{-5}$ mole) dans 500 μl de toluène anhydre, sont ajoutés successivement le 3-chloro-3-méthylbutyne (33,2 μl , $29,60 \cdot 10^{-5}$ mole), le iodure de potassium anhydre (18 mg, $10,85 \cdot 10^{-5}$ mole) et le DBN (16,2 μl , $10,85 \cdot 10^{-5}$ mole). La réaction est maintenue sous agitation magnétique, à température ambiante et sous argon, pendant une nuit. Le milieu réactionnel est alors dilué avec 5 ml de dichlorométhane, puis filtré. Le filtrat est évaporé à sec sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice 20-45 μm (éluant cyclohexane/AcOEt 70/30 V/V) afin d'isoler le composé **(4)** (m = 18 mg) sous la forme d'une huile jaunâtre, ainsi que le composé **5** (m = 20 mg), sous la forme d'un solide jaune.



Formule brute	Masse Molaire (g/mol)	Etat physique	Rendement
$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_6$ Composé (4)	370,14	Liquide visqueux jaunâtre	55 %

Tableau N°13

Spectre RMN composé (4): (CDCl₃) , δ(ppm)

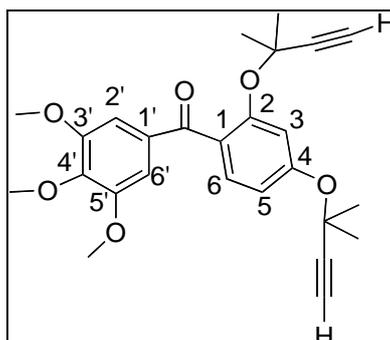
¹H: 12,4 (s, échangeable par D₂O, 1H, C₂-OH) ; 7,58 (dd, $J_{6-5} = 1,31$ Hz, H₆) ; 7,01 (d, $J_{3-5} = 1,39$ Hz, 1H, H₃) ; 6,90 (s, 2H, H_{2'}+H_{6'}) ; 6,65 (dd, $J_{5-6} =$ Hz, $J'_{5-3} = 1,45$ Hz, 1H, H₅) ; 3,94 (s, 3H, -OCH₃ C_{4'}) ; 3,92 (s, 6H, -OCH₃ C_{3'}C_{5'}) ; 2,70 (s, 1H, H acétylénique) ; 1,73 (s, 6H, C-(CH₃)₂).

¹³C: 29,55; 56,34; 61,01; 72,38, 75,25; 76,60; 77,03; 77,45; 84,5; 106,31; 106,50; 110,64; 113,47; 133,5; 134,55; 152,96; 162,68; 165,34; 199,5.

Spectre IR: (NaCl, film) ν_{\max} (cm⁻¹): 3286,77; 2988,11; 2956,97; 2838,66; 1621,84; 1579,59; 1504,41; 1414,48; 1313,50; 1129,09; 990,00; 859,19.

Spectre de masse : (ESI+) m/z : 393(MNa)⁺

Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène



Formule brute	Masse Molaire (g/mol)	Etat physique	Rendement
C ₂₆ H ₂₈ O ₆ Composé (5)	436,00	Solide jaune	46 %

Tableau N°14

Spectre RMN composé (5): (CDCl₃) , δ(ppm)

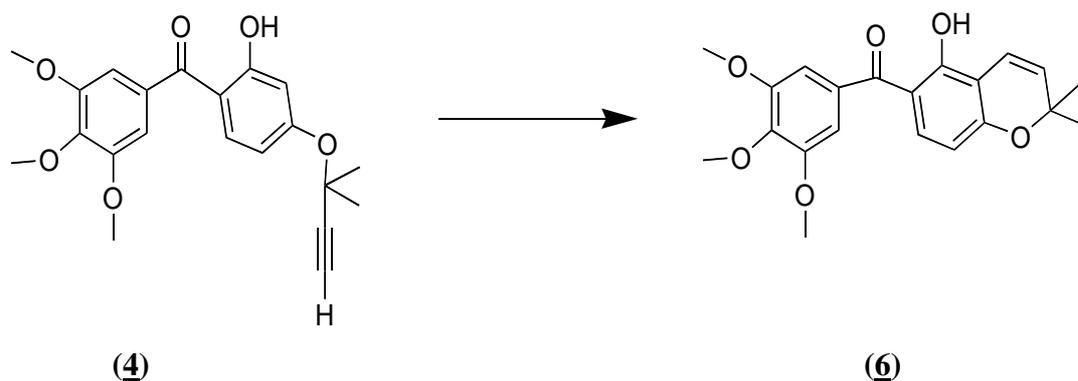
¹H: 7,50 (d, $J_{3-5} = 2,06$ Hz, 1H, H₃) ; 7,35 (d, $J_{6-5} = 8,45$ Hz, 1H, H₆) ; 6,92 (s, 2H, H₂+H_{6'}) ; 6,82 (dd, $J_{5-6} = 8,46$ Hz, $J_{5-3} = 2,03$ Hz, 1H, H₅) ; 3,85 (s, 6H, -OCH₃ C3'C5') ; 3,82 (s, 3H, -OCH₃ C4') ; 3,35 (s, 1H, H acétylénique), 2,50 (s superposé au signal du solvant, 1H, H acétylénique) ; 1,68 (s, 6H, -(CH₃)₂) ; 1,35 (s, 6H, -(CH₃)₂).

¹³C: 30; 40; 56,5; 61; 72,3; 72,5; 77,5; 78; 85; 86; 107; 134; 142; 152,5; 153,5; 158; 160,5; 199,5.

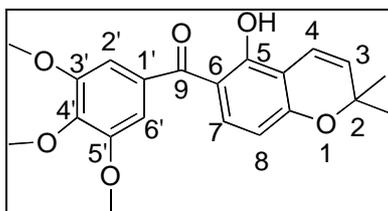
Spectre IR: (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 3255,91 ; 2987,70 ; 2940,09 ; 2837,42 ; 2113,73 ; 1646,82 ; 1502,00 ; 1413,09 ; 1337,23 ; 1187,75 ; 998,70 ; 957,36 ; 838,98.

Spectre de masse : (ES+) m/z :459 (MNa)⁺

Cyclisation des éthers propargyliques



Une solution de l'éther propargylique **(4)** ($0,018\text{g}$, $4,86 \cdot 10^{-5}$ mole), dans 3 ml de DMF anhydre, est chauffée à reflux et sous argon pendant 24 h. Après évaporation à sec sous pression réduite du solvant, le brut est directement purifié sur colonne de gel de silice (éluant cyclohexane/AcOEt 70/30 V/V), afin d'isoler le composé **6** sous la forme d'une huile de couleur jaune ($m = 17\text{mg}$).



Formule brute	Masse Molaire (g/mol)	Etat physique	Rendement
$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_6$ Composé (6)	370,14	Liquide jaune	94 %

Tableau N°15

Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène

Spectre RMN : (CDCl₃) , δ (ppm)

¹H: 12,80 (s, échangeable par D₂O, 1H, C₂-OH) ; 7,47 (d, $J_{7-8} = 8,94$ Hz, 1H, H₇) ; 6,90 (s, 2H, H₂+H₆) ; 6,77 (d, $J_{4-3} = 10,03$ Hz, 1H, H₄) ; 6,33 (d, $J_{8-7} = 8,86$ Hz, 1H, H₈) ; 5,63 (d, $J_{3-4} = 10,04$ Hz, 1H, H₃) ; 3,96 (s, 3H, -OCH₃ C4') ; 3,94 (s, 6H, -OCH₃ C3'C5') ; 1,55 (s, 6H, -(CH₃)₂).

¹³C: 28,44; 56,32; 56,34; 61,01; 76,60; 77,03; 77,45; 77; 94; 106,45; 108,09; 115,76; 128,31; 134,53; 152,93; 158; 160,5; 199,5.

Spectre IR: (NaCl, film) ν_{\max} (cm⁻¹): 2937,44; 1579,62; 1482,02; 1413,55; 1351,35; 1306,92; 1127,35; 806,59.

Spectre de masse : (ESI+) m/z : 393 [M+Na]⁺

Bibliographie

- 1- WHO. In The Impact of Cancer In Your Country - Graphs; <https://apps.who.int/infobase/report.aspx?iso=FRA&rid=119&goButton=Go> Ed., 2009c.
- 2- Denekamp, J.; Hill, S. A.; Hobson, B. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* **1983**, *19*, 271.
- 3- Tozer, G. M.; Kanthou, C.; Baguley, B. C. *Nat. Rev. Cancer* **2005**, *5*, 423.
- 4- Pettit, G. R.; Cragg, G. M.; Herald, D. L.; Schmidt, J. M.; Lohavanijaya, P. *Can. J. Chem.* **1982**, *60*, 1374.
- 5- Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Niven, M. L.; Hamel, E.; Schmidt, J. M. *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*, 119.
- 6- Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Hamel, E.; Lin, C. M.; Alberts, D. S.; Garcia-Kendall, D. *Experientia* **1989**, *45*, 209.
- 7- Pettit, G. R.; Singh, S. B. *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 2390.
- 8- Singh, S. B.; Pettit, G. R. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 2797–2800.
- 9- Singh, S. B.; Pettit, G. R. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4105–4114.
- 10- Ahmed, B.; Van Eijk, L. I.; Bouma-Ter Steege, J. C.; Van Der Schaft, D. W.; Van Esch, A. M.; Joosten-Achjanie, S. R.; Lambin, P.; Landuyt, W.; Griffioen, A. W. *Int J Cancer* **2003**, *105*, 20.
- 11- Nabha, S. M.; Mohammad, R. M.; Dandashi, M. H.; Coupaye-Gerard, B.; Aboukameel, A.; Pettit, G. R.; Al-Katib, A. M. *Clin. Cancer. Res.* **2002**, *8*, 2735.
- 12- Cushman, M.; Nagarathnam, D.; Gopal, D.; He, H. M.; Lin, C. M.; Hamel, E. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2293.
- 13- Pettit, G. R.; Toki, B.; Herald, D. L.; Verdier-Pinard, P.; Boyd, M. R.; Hamel, E.; Pettit, R. *K. J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1688.
- 14- Dupeyre, G.; Chabot, G. G.; Thoret, S.; Cachet, X.; Seguin, J.; Guenard, D.; Tillequin, F.; Scherman, D.; Koch, M.; Michel, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 4410.
- 15- Ty, N.; Dupeyre, G.; Chabot, G. G.; Seguin, J.; Tillequin, F.; Scherman, D.; Michel, S.; Cachet, X. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 7494.
- 16- Sharghi, H.; Hosseini, M.; Razihi, E. *Synthesis*. **2006**, *12*, 2047.

Chapitre 1 : Synthèse de composés hétérocycliques en série chromène

17- Beger, J; Binte, H-J; Brunne, L; Neumann, R. J.Prakt.Chem. **1992**, 334, 269-277.

18- Paul, S; Nanda, P; Gupta, R; Loupy, A. Synthesis. **2003**, 18, 2877-2881.

19- Bell, D; Mark, R; Graham, R; Geen, I; Mann, S. SmithKline Beecham Pharmaceuticals. Synthesis.**1995**.

20- Cruz-Almanza, R; Rérez-Flores, F ; Brena, L ; Tapia, E ; Ojeda, R ; Fuentes, A. J. Heterocyclic. Chem. **1995**, 32, 219.

21- Ahluwalia, V ; Jain, A ; Gupta, R. Bull. Chem. Soc. Jpn. **1982**, 55, 2649-2652.

CHAPITRE 2 :
Étude d'une voie d'accès
au squelette indolo[3,2-a]carbazole

1. Etude Bibliographique

En étudiant la préparation d' analogues de la combrétastatine A4, en série β -carbolines (voir schéma ci-dessous), une nouvelle voie d'accès au squelette indolo[3,2-*a*]carbazole, simple à mettre en oeuvre, a été découverte. Le 7-(3',4',5'-triméthoxyphényl)-5*H*,13*H*-indolo[3,2-*a*]carbazole **2** a ainsi été obtenu au cours d'une synthèse « one-pot » mettant en jeu le 1*H*-indole, le β -nitrostyrène obtenu à partir du (3,4,5-triméthoxy)benzaldéhyde et un acide de Lewis, en l'occurrence $\text{SnCl}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.¹

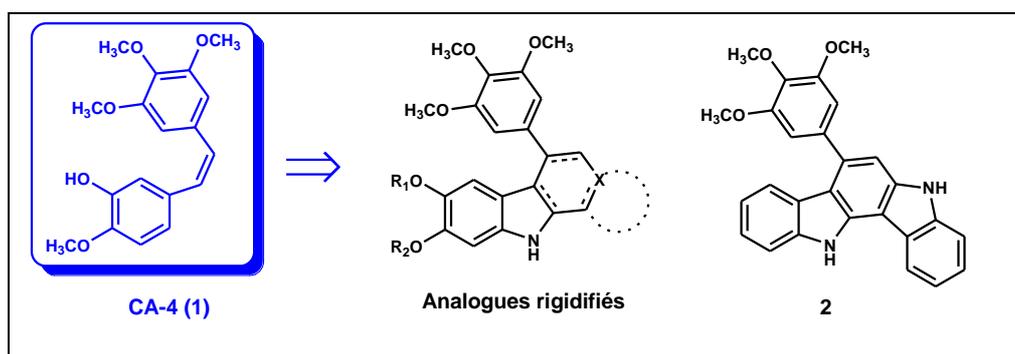


Schéma N° 1

Avant d'aborder ces travaux, je présenterai dans une première partie des généralités sur les indolo[3,2-*a*]carbazoles, en particulier leurs différentes voies de synthèse.

1.1 Présentation des indolo[3,2-a]carbazoles :

Les indolocarbazoles constituent plusieurs familles d'hétérocycles azotés, selon la géométrie de la fusion du noyau carbazole et de l'indole. Parmi elles, la famille des indolo[2,3-a]carbazoles a fait l'objet de très nombreux travaux car elle comprend de nombreux produits d'origine naturelle et d'intérêt biologique tels que la rébeccamycine (Schéma N° 2).¹

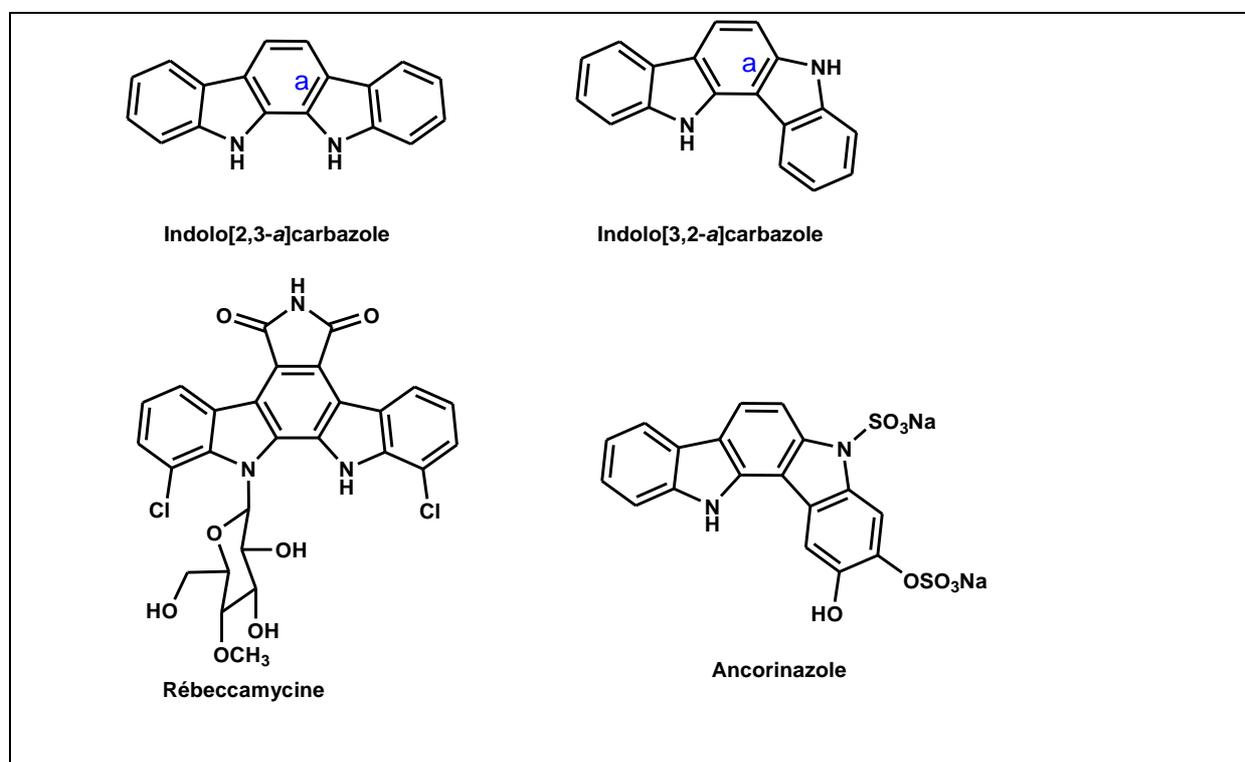


Schéma N° 2

Au contraire, aucune activité biologique n'est rapportée pour des composés possédant un squelette indolo[3,2-a]carbazole. De plus, un seul composé d'origine naturelle a été isolé dans cette série. Il s'agit de l'ancorinazole, extrait d'une éponge du genre *Ancorina*.² Ces deux raisons expliquent que la littérature sur ce type de composés soit peu abondante.

1.2 Voies de synthèse des indolo[3,2-a]carbazoles :

Depuis la première synthèse de ce squelette décrite en 1951, moins de dix autres préparations ont été publiées.³⁻⁸ Les travaux les plus intéressants sont ceux de J. Bergman et coll. qui mettent à profit la cyclisation intramoléculaire d'un triène intermédiaire provenant de l'oxydation d'un adduit, lui-même issu de la substitution électrophile en position 3 du 2-3'-bisindole.^{9,10} (voir schéma N° 3 ci-dessous):

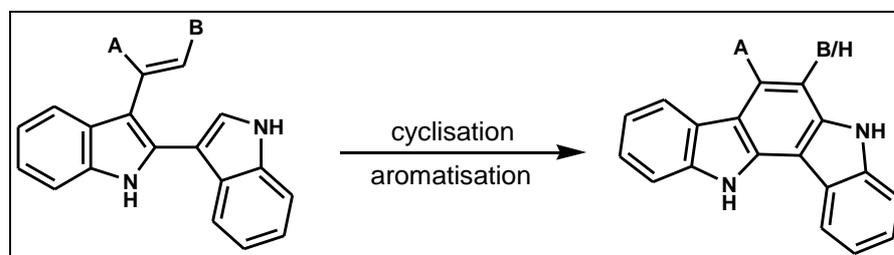


Schéma N°3

Généralement, le triène n'est pas isolé et l'indolo[3,2-a]carbazole est directement obtenu par chauffage à reflux en présence de l'électrophile.

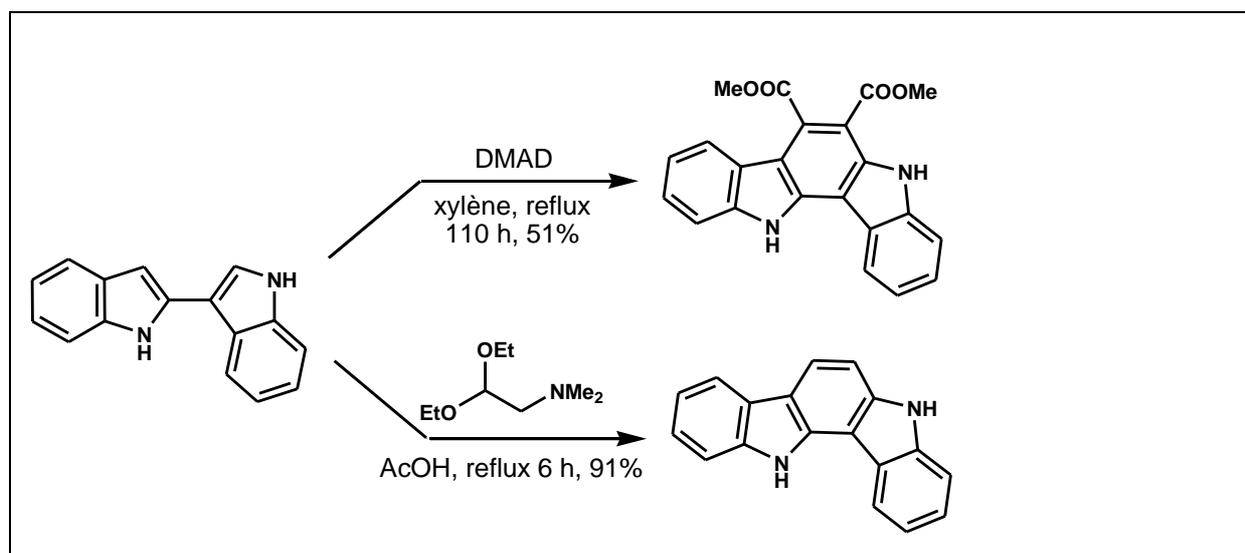


Schéma N°4

Ce type de réaction a été appliqué à la synthèse de l'ancorinazole à partir d'un 2-3'-bisindole disymétrique.¹¹ Toutefois, le nitroalcène **5**, peut être cyclisé par chauffage à reflux après avoir été isolé. Celui-ci est obtenu à partir de l'aldéhyde correspondant par une réaction de type Henry (CH_3NO_2 , NH_4OAc).

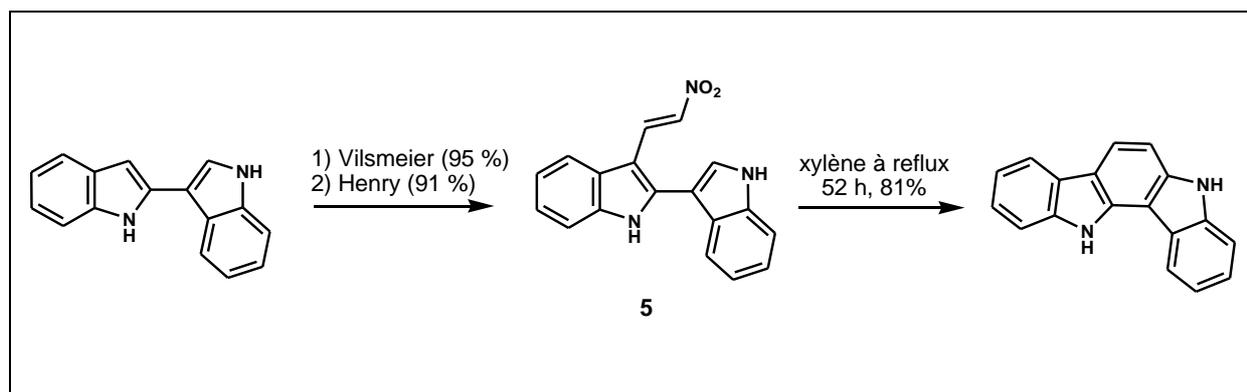


Schéma N°5

Finalement, J. Bergman et coll. ont montré que le cycle indolo[3,2-*a*]carbazole pouvait être directement formé à partir de l'indole et de l'électrophile (réaction réalisée avec des *N*-alkylmaléimides). Le dérivé benzylé de l'arcyriaflavine (**6**) est ainsi obtenu avec un rendement optimal de 26 % en utilisant un *ratio* indole/maléimide de 3 pour 1.⁹ En milieu acide, il se produit une dimérisation de l'indole suivie de la formation d'un adduit avec le maléimide qui se cyclise après oxydation. Le mécanisme a été confirmé par l'isolement de cet adduit intermédiaire, dans la littérature, même en présence de divers acides de Lewis.¹

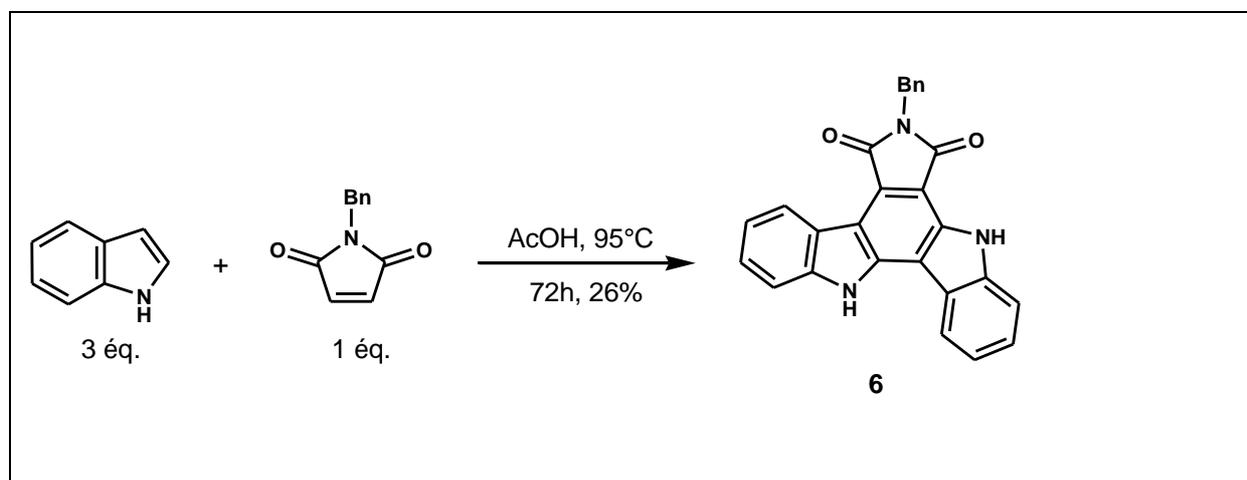


Schéma N°6

1.3 Travaux antérieurs du laboratoire :

Obtention du 7-(3',4',5'-triméthoxyphényl)-5H,13H-indolo[3,2-a]carbazole 2.

En étudiant l'accès à des analogues hétérocycliques contraints de la combrétastatine A4 (**1**), en particulier en série β -carboline, un composé inattendu, l'indolo[3,2-a]carbazole **2** a été obtenu. En effet, l'intermédiaire clé de cette synthèse est le β -nitroéthane **8**. Ce composé peut être préparé en couplant le 1H-indole et le β -nitrostyrène **7**.

En réalisant ce couplage dans le dichlorométhane anhydre, en présence de quantités catalytiques de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (10 mol %), on observe, par suivi par CCM, une disparition lente du composé **7**. En plus de l'adduit **8**, un autre produit, fluorescent sous UV à 366 nm et qui se colore en bleu après révélation à la vanilline sulfurique, apparaît dans le milieu réactionnel. Ce composé a été identifié comme étant le carbazole **2**. Après 72 h de réaction, correspondant à une disparition totale du composé **7**, l'adduit de Michaël **8** est obtenu avec un rendement de 40 %, et **2** avec un rendement de 26 % (11 % de l'indole de départ est retrouvé).¹

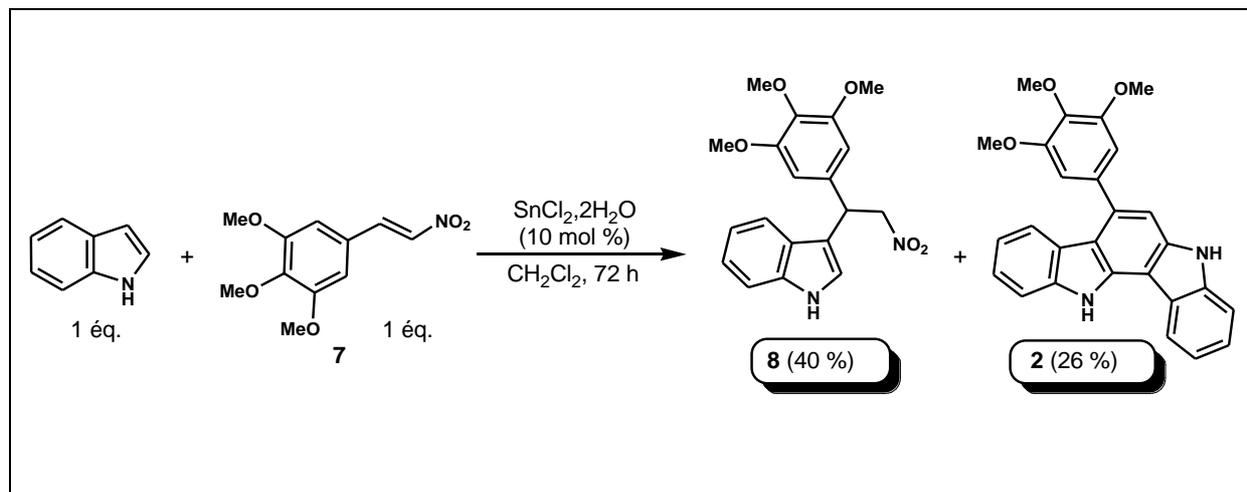


Schéma N°7

Ce résultat est d'autant plus intéressant et étonnant que, jamais auparavant, la formation directe de l'indolo[3,2-a]carbazole à partir de l'indole et du β -nitrostyrène n'avait été décrite.

De plus, comparées aux travaux de J. Bergman portant sur la cyclisation de l'indole et du maléimide dans l'acide acétique à reflux, les conditions réactionnelles employées ici sont particulièrement douces. Il faut également rappeler que, dans ses travaux, cet auteur réalise la cyclisation du nitroéthène **5** dans le xylène à reflux.

Ultérieurement, les conditions réactionnelles pour l'obtention de **2** ont été optimisées. En particulier, l'ajout d'un oxydant (MnO_2) dans le milieu et l'utilisation de quantités stoechiométriques de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ont permis d'obtenir un rendement de 54 %. Ces conditions sont rassemblées dans le tableau N°1 suivant :

Eq indole	Eq nitrostyrène	Eq MnO_2	Eq SnCl_2	T °C	Solvant
1	1	1	1	t.a.	CH_2Cl_2^*

* 10 ml/50 mg d'indole

Tableau N°1

Le mécanisme de la réaction a également été étudié et en partie élucidé :

Cette synthèse se fait en trois étapes selon le schéma suivant : **Voie A**

- * Dimérisation de l'1*H*-indole en 3-(indolin-2-yl)indole **9**, en présence de l'acide de Lewis SnCl_2 , suivie d'une déshydrogénation en 2,3'-bisindole **10**.
- * Addition de type Michaël ou plutôt une substitution électrophile aromatique de Friedel et Crafts du β -nitrostyrène sur l'indole dimérisé (\rightarrow **11**).
- * Cycloaddition de type Diels Alder, entraînant la formation d'un diène par élimination du groupement nitro (NO_2).

Mécanisme hypothétique de synthèse de l'indolo[3,2-a]carbazole 2 :

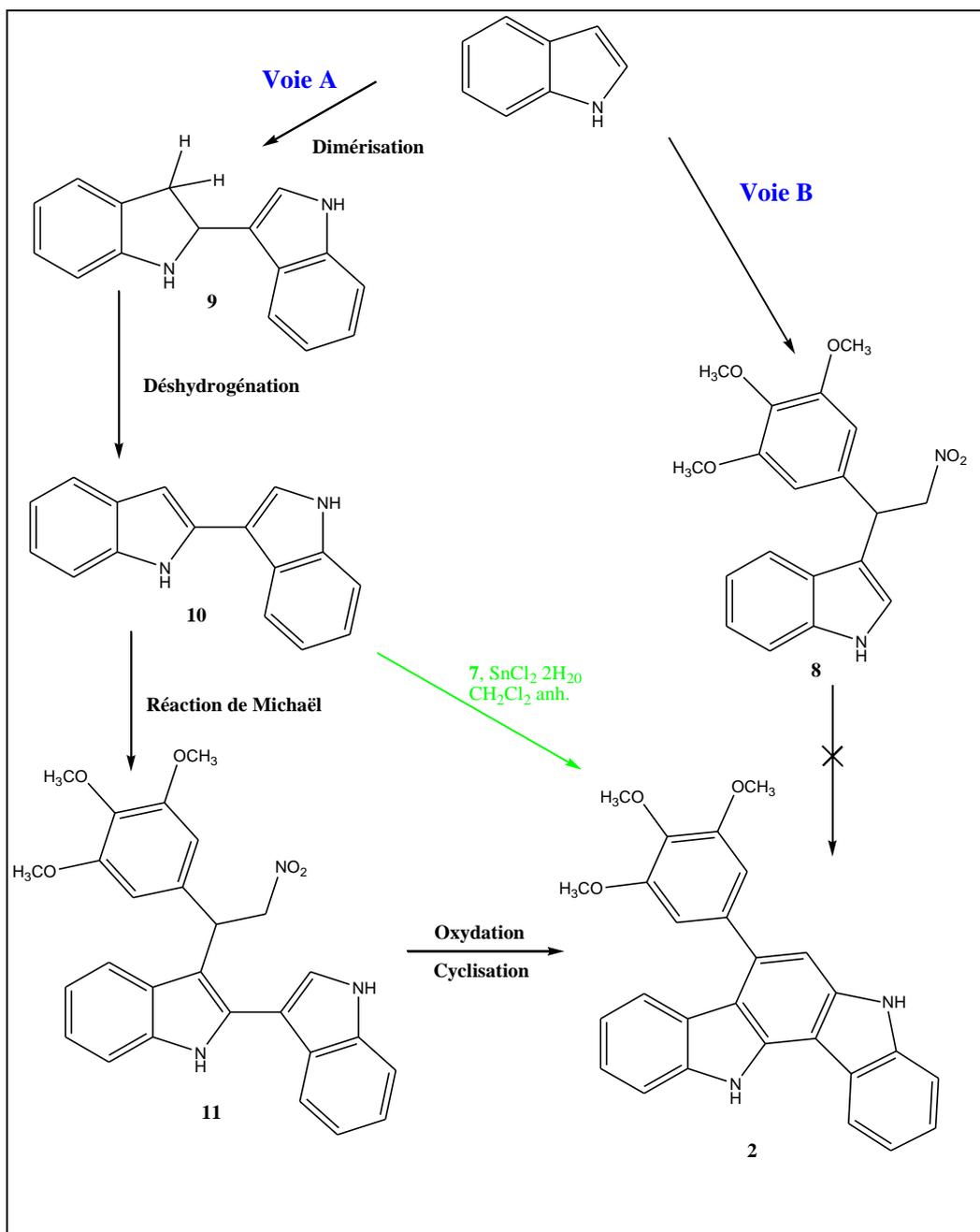


Schéma N°8

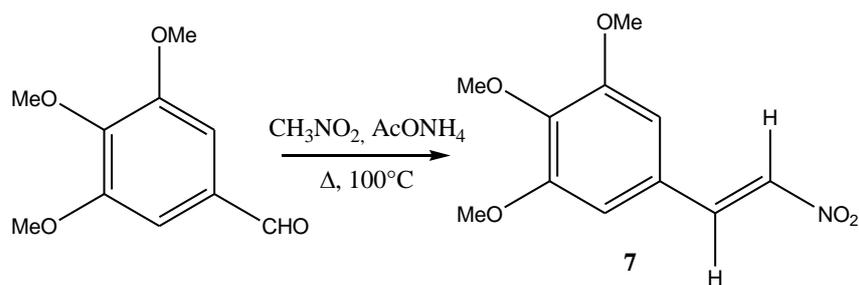
Ce mécanisme (**Voie A**) a été en partie démontré en réalisant une synthèse du carbazole **2**, à partir du 2,3'-bisindole **10**, en présence de **7** (Schéma précédent, flèche verte). Au contraire, il n'est pas possible de former le carbazole **2** à partir de l'adduit de Michaël dans les mêmes conditions (**Voie B**)

Résultats et discussions :

Au cours de ce stage, il a été envisagé d'étudier la portée de cette réaction et en particulier de tenter cette réaction avec des indoles substitués tels que le 5-bromo-1*H*-indole, *N*-méthyl-1*H*-indole et le 6-indolylcarboxylate de méthyle, tous les trois commerciaux. Au final, deux nouveaux indolo[3,2-*a*]carbazoles ont pu être synthétisés à partir du 5-bromo-1*H*-indole et du *N*-méthyl-1*H*-indole. Afin de me familiariser avec la réaction (« conditions optimisées »), j'ai également resynthétisé l'indolo[3,2-*a*]carbazole de référence **2**. De plus, le réactif commun à toutes ces réactions, le 3,4,5-triméthoxy- β -nitrostyrène, non commercial, a également été préparé.

Ces différentes réactions vont être successivement abordées.

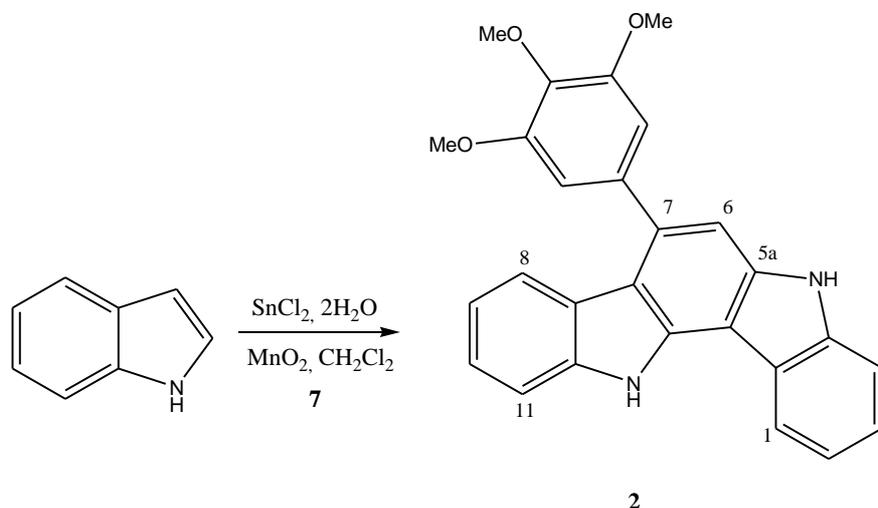
2.1 Synthèse du 3,4,5-triméthoxy- β -nitrostyrène **7** :



Le composé **7** peut être obtenu dans les conditions de Henry en traitant le 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde par le nitrométhane, en présence d'acétate d'ammonium et d'acide acétique. La réaction se fait sous chauffage à reflux du nitrométhane (100°C).¹² Après refroidissement de la réaction dans un bain de glace le nitrostyrène précipite après ajout d'un mélange d'eau et de méthanol. Il est alors récolté sur Büchner.

Le meilleur rendement obtenu pour cette réaction est de 88 % et la pureté du produit, vérifiée par RMN du proton, est satisfaisante. Ce composé est caractérisé par la présence d'une constante de couplage ³*J* caractéristique d'une configuration *trans* (*J*= 13,5 Hz) entre les protons oléfiniques.

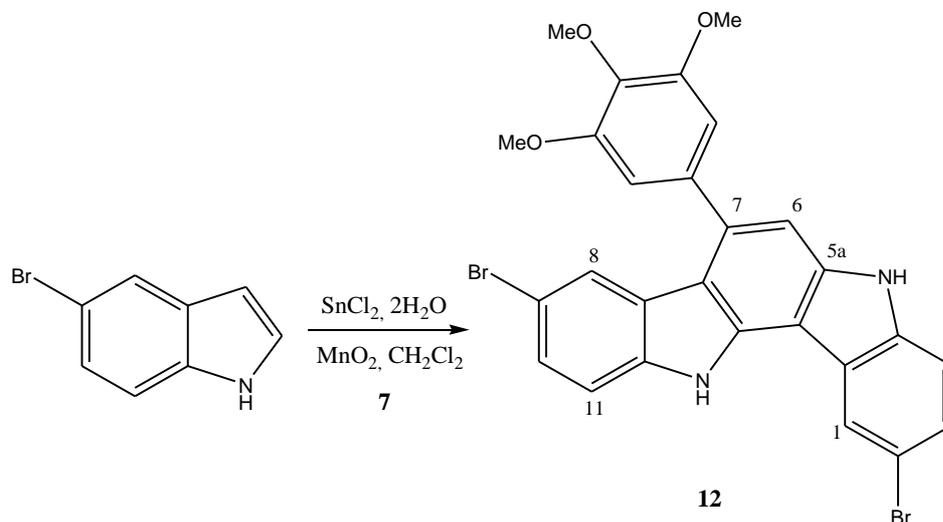
2.2 Réaction du β -nitrostyrène **7** avec le 1*H*-indole.



L'indole, le β -nitrostyrène **7**, MnO_2 et $\text{SnCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$ (1 équivalent de chaque) sont pesés séparément et transférés dans un ballon. La réaction est initiée par l'ajout du solvant, le dichlorométhane (CH_2Cl_2) anhydre (proportion : 10 ml/50 mg d'indole). Un suivi réactionnel est effectué par CCM. En effet, le produit désiré est fluorescent sous rayonnement UV à 366 nm. De plus, il apparaît bleu après révélation avec le réactif à la vanilline sulfurique (ces deux caractéristiques sont retrouvées avec tous les carbazoles synthétisés). La réaction est arrêtée lorsque au moins un des réactifs (indole ou **7**) a été consommé, habituellement au bout de 48 heures.

Dans cet essai, le composé **2** est obtenu avec un rendement de 27 %, mais un seul essai a été réalisé.

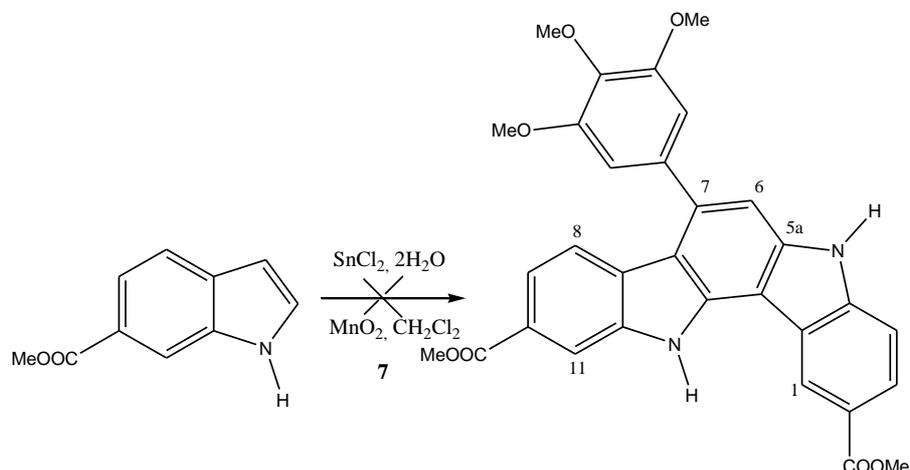
2.3 Réaction du β -nitrostyrène **7** avec le 5-bromo-1*H*-indole :



En traitant le β -nitrostyrène **7** avec le 5-bromo-1*H*-indole, on constate en CCM (voir ci-dessus) la formation du carbazole attendu **12**.

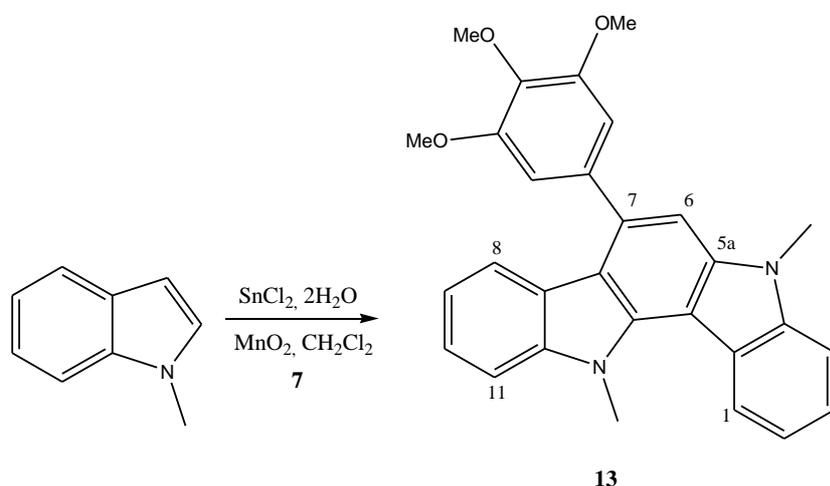
La réaction a été menée plusieurs fois sur des quantités comprises entre 50 et 100 mg. Les rendements varient de 8 à 18 %. Cet écart, et donc l'amélioration du rendement a porté sur l'étape d'extraction-purification. En effet, du fait de sa structure polyaromatique et de sa masse molaire élevée ($M_r=578$ g/mole), le composé **12** s'avère moyennement soluble dans de nombreux solvants organiques usuels et c'est pourquoi l'augmentation des volumes de solvant (AcOEt) mis en jeu lors de son extraction a permis d'augmenter significativement le rendement global de la réaction. Le faible rendement de formation de **12** peut également s'expliquer par la présence du brome sur l'indole. En effet, lors de précédents travaux, il a été montré que le rendement de cette réaction de formation du carbazole était dépendante des effets électroniques des groupements présents sur l'indole. Par exemple, la réaction ne marche pas avec le 5- et le 6-nitroindoles. Dans le cas du brome, son caractère électronégatif pourrait défavoriser l'étape de dimérisation.

2 .4 Réaction β -nitrostyrène 7 avec le 6-indolylcarboxylate de méthyle :



Malgré plusieurs essais réalisés, cette réaction ne fonctionne pas et le carbazole correspondant n'est pas observé sur CCM, même en fluorescence. Les réactifs de départ sont retrouvés inchangés. L'hypothèse la plus probable pour expliquer ce résultat est la même que celle évoquée précédemment pour le 5-bromoindoles et les 5- et 6-nitroindoles : la présence d'un groupement électroattracteur en position 6 défavorise la dimérisation de l'indole en réduisant la nucléophilie du noyau pyrrolique.

2.5 Réaction β -nitrostyrène **7** avec le *N*-méthyl-1*H*-indole :



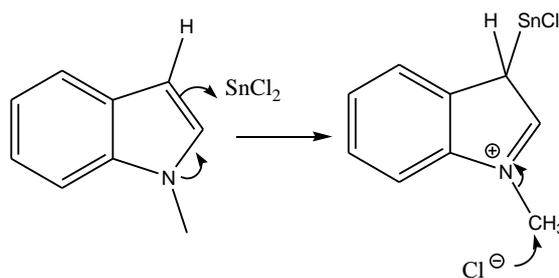
Le traitement du β -nitrostyrène **7** avec le *N*-méthylindole (50-300 mg) permet d'obtenir le carbazole attendu **13** avec aussi des rendements très moyens et variables en fonction de la méthode de purification retenue (11-29 %).

Dans ce cas, la réaction, suivie par CCM semble bien fonctionner, mais la purification du produit est difficile et a nécessité beaucoup d'essais et de conditions différentes. Plusieurs conditions de purification ont été testées :

- (1) : Colonne de silice ; éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle 8/2 (V/V). Dans ce cas, le carbazole **13** a en fait le même R_f que les faibles quantités de β -nitrostyrène de départ restantes, et les deux composés sortent de la colonne en mélange.
- (2) : Etape 1 suivie d'une purification sur colonne de silice greffée RP18 (modèle 10 g). Le rendement est dans ce cas de 11 %, le produit étant peu soluble dans la phase mobile utilisée (MeOH/H₂O 95/5 (V/V)).

- (3) : Colonne de silice ; éluant : cyclohexane/éther diéthylique 7/3 (V/V) suivie d'une purification sur colonne de silice greffée RP18 (modèle 10 g, éluant : MeOH). Le rendement global en carbazole est dans ce cas de 29 %. La séparation β -nitrostyrène/carbazole est meilleure et les fractions encore en mélange peuvent être purifiées sur silice greffée RP18.
- (4) : Colonne de silice ; éluant : cyclohexane/éther diéthylique 8/2 (V/V) suivie d'une cristallisation dans le méthanol. Dans ce cas, le rendement n'est que de 12 %.

En conclusion, la *N*-méthylation de l'indole n'empêche pas la réaction de se réaliser, le méthyle ne modifiant la nucléophilie de l'indole. Par contre, ces rendements très variables s'expliquent par la purification délicate du carbazole **13**. Sa solubilité est faible dans de nombreux solvants usuels. Par exemple, une fois cristallisé, le composé est très peu soluble dans l'acétone deutériée et même le dms-*d*6. La RMN est ainsi réalisée dans le DMF-*d*7. De plus, nous avons constaté que dans certaines fractions issues des chromatographies, le carbazole **13** était en mélange avec le carbazole **2**, c'est à dire son analogue déprotégé sur azotes indoliques. Cette déprotection partielle contribue à diminuer le rendement global de la réaction. Un mécanisme possible serait une substitution nucléophile du méthyle par un ion chlorure provenant de l'addition de SnCl₂ sur l'indole.



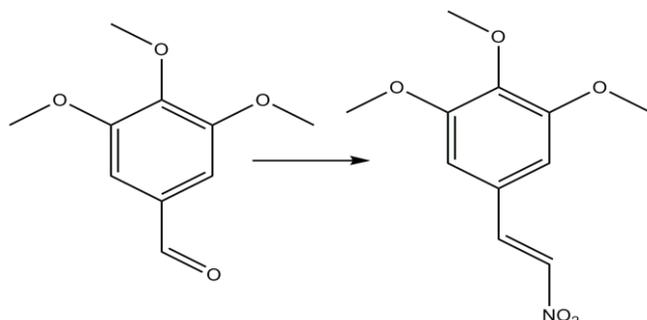
La structure du composé **13** est confirmée par son spectre RMN ^1H , qui présente également les signaux caractéristiques, communs à tous les carbazoles de cette série (spectre enregistré dans le DMF-*d*₇). Contrairement aux composés **2** et **12**, les deux signaux échangeables par D₂O et correspondant aux NH sont absents du spectre et par contre, deux singulets (3H) supplémentaires sont présents aux δ 4,64 et 3,90 ppm (N-CH₃). Dans le cas de cette molécule, le proton H1 apparaît sous la forme d'un doublet large ($J_o=8,13$ Hz), résonnant à 8,13 ppm ; le proton H6 apparaît sous la forme d'un singulet à 7,45 ppm et enfin, les protons H2',6' se présentent sous la forme d'un singulet (2H) à 7,05 ppm. De plus, la structure de ce composé est également confirmée par son spectre de masse, obtenu par électrospray (ESI+). Le spectre présente deux pics principaux à m/z 473, correspondant à l'adduit $\text{M}+\text{Na}^+$, et à m/z 923, correspondant à l'adduit $2\text{M}+\text{Na}^+$.

2.6 CONCLUSION :

Il est donc apparent que les groupements fonctionnels de l'indole jouent un rôle important dans l'avancement de la réaction. Les groupes électroattracteurs ainsi que la position 6 sur le cycle aromatique de l'indole, défavorisent la réaction. Il serait intéressant d'analyser les sels contenus dans le mélange afin de déterminer sous quelle forme se dégage NO_2 ainsi que d'examiner l'influence de la nature du nitrostyrène dans cette synthèse

PARTIE EXPERIMENTALE :

3.1 Synthèse de 3,4,5-triméthoxynitrostyrène 7 :



À une solution de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde (10g, 51.10^{-3} mol) d'acétate d'ammonium (15,32 g, 199.10^{-3} mol) dans 50 mL d'acide acétique est ajouté le nitrométhane (16,57 mL, 306.10^{-3} mol). Le mélange est chauffé à reflux à 100°C pendant 1h30. Après refroidissement de la réaction dans un bain de glace le nitrostyrène **7** précipite après ajout d'un mélange d'eau et de méthanol. Il est alors récolté sur Büchner (10,74 g, 88 %).

Formule Brute : C₁₁H₁₃NO₅

Masse moléculaire : 239,22 g /mol

Chapitre 2 : Etude d'une voie d'accès au squelette indolo [3,2-a] carbazole

IR (film NaCl) : 3104,2945, 2843, 1625, 1581, 1510, 1492, 1450, 1420, 1339, 1249, 1193, 1130, 995, 972, 820, 794, 725

RMN :

- ^1H (CDCl_3) : 3,91-3,92 (s, 9H, $^{1-3}\text{OCH}_3 + ^2\text{OCH}_3$) ; 6,77 (s, 2H, H_{4-6}) ; 7,54 (d, $J = 13,5$ Hz, 1H, $\text{H}_{2'}$) ; 7,94 (d, $J = 13,5$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$).

Spectre de masse : (ESI+) m/z 240 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Pt fusion : 112-114°C

❖ Les carbazoles : procédure générale

La réaction est réalisée dans le dichlorométhane anhydre (10 mL/50 mg), en présence de quantités stoechiométriques d'indole, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et MnO_2 sous agitation, à température ambiante. Au bout de 48 heures la réaction est arrêtée. Le carbazole apparaît bleu fluorescent sous UV à 365 nm sur les CCM. Après ajout d'un large excès d'acétate d'éthyle on effectue un lavage à l'eau permutée. La phase organique est évaporée sous vide, puis séchée à l'aide d'une pompe à palettes. La purification dépend de la nature des composés.

• Carbazole 2 :

La réaction a été réalisée sur 50 mg d'indole. La purification est faite avec une silice (35-70 μm) avec une phase mobile composée de cyclohexane et d'acétate d'éthyle (8/2). On obtient 24,2 mg de carbazole 2 (Rd=27%).

Formule brute : $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$

Masse moléculaire : 422,48 g/mol

Pt fusion : 273 °C

IR (film NaCl) : 2932, 1631, 1580, 1455, 1429, 1413, 1375, 1305, 1266, 1227, 1123

RMN : ^1H (CDCl_3) : 3,88 (s, 6H, $^{3'-5'}\text{OCH}_3$) ; 4,03 (s, 3H, $^4\text{OCH}_3$) ; 6,93 (s, 2H, $\text{H}_{2'-6}$) ; 7,08 (td, $J_0 = 7,6$ Hz, $J_m = 1,0$ Hz, 1H, H_9) ; 7,24 (s, 1H, H_6) ; 7,37 (td, $J_0 = 8,0$ Hz, $J_m = 1,0$ Hz, 1H, H_{10}) ; 7,39 (td, $J_0 = 7,3$ Hz, $J_m = 1,0$ Hz, 1H, H_2) ; 7,49 (td, $J_0 = 7,5$ Hz, $J_m = 1,0$ Hz, 1H, H_3) ; 7,55 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H_8) ; 7,57 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H_4) ; 7,61 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H_{11}) ; 8,22 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, H_1) ; 8,37 (s éch, 1H, ^5NH) ; 8,78 (s éch, 1H, ^{12}NH).

Spectre de masse : m/z 445 $[\text{M}+\text{Na}^+]$

- **Carbazole 12** :

La réaction a été réalisée sur 100 mg d'indole. La purification est faite avec une silice (20-45 μm) avec une phase mobile composée de cyclohexane et d'acétate d'éthyle (8/2). On obtient 26,3 mg de carbazole 12 (Rd=28%).

Formule Brute : $\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_3$

Masse moléculaire : 578 g/mol

RMN :

- **1H (400 MHz, Acétone-*d*6, δ ppm)** : 7,37 (s, 1H); 7,43 (dd, 1H, $J=8,55\text{Hz}$, $J'=2\text{Hz}$), 7,56 (dd, 1H, $J=8,60\text{Hz}$, $J'=1,85\text{Hz}$) ; 7,66-7,59 (m, 2H) ; 7,70 (d, 1H, $J=2,0\text{Hz}$) ; 8,69 (d, 1H, $J=1,85\text{Hz}$) ; 10,96 (s, 1H, NH) ; 11,37 (s, 1H, éch, NH)
- **13C (400 MHz, Acétone-*d*6, δ ppm)** : 155,6 ; 140,4 ; 138,6 ; 137,1 ; 136,6 ; 134,9 ; 126,9 ; 126,0 ; 125,5 ; 123,5, 123,4 ; 123,1 ; 112,7 ; 112,4 ; 111,7 ; 106,8 ; 105,5 ; 59,9 ; 55,7

Spectre de masse: m/z 601 $\text{C}_{29}\text{H}_{20}^{79}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_3 \text{Na}^+$

m/z 603 $\text{C}_{29}\text{H}_{20}^{79}\text{Br}^{81}\text{BrN}_2\text{O}_3 \text{Na}^+$

m/z 605 $\text{C}_{29}\text{H}_{20}^{81}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_3 \text{Na}^+$

IR (KBr) : 3442, 3384, 2999, 2960, 2933, 2834, 1638, 1577, 1509, 1457, 1413, 1372, 1368, 1310, 1284, 1235, 1121, 1083, 1053, 1003, 901, 850, 797, 760, 736, 685, 658, 571, 434

Pt fusion : $>350^\circ\text{C}$

- **Carbazole 13** :

La réaction a été réalisée sur 50 mg d'indole. Une séparation préalable sur silice normale avec un mélange cyclohexane/éther diéthylique (7/3) est effectuée. La purification est ensuite opérée sur silice greffée RP18((Flash Colum FC C18 40-60 μm 10g AIT Chromato / Büchi Pump Manager C615) avec du méthanol pur . Le dépôt est réalisé en phase liquide. On obtient 25 mg de carbazole 13(Rd= 29%).

Chapitre 2 : Etude d'une voie d'accès au squelette indolo [3,2-a] carbazole

RMN :

- ^1H (DMF- d_7) : 7,5 (d, $J=8,13$ Hz, 1H) ; 7,76 (d, $J=8,08$ Hz, 1H) ; 7,72 (d, $J=8,18$ Hz, 1H) ; 7,53 (ddd, $J=7,11$ Hz, $J'=1,07$ Hz, 1H), 7,48-7,43 (superposés : m(1H) + s(1H) à 7,45) ; 7,40 (ddd, $J=7,20$ Hz, $J'=1,20$ Hz, 1H) ; 7,34 (ddd, $J=7,20$ Hz, $J'=1,13$ Hz, 1H) ; 7,00-7,10 (superposés : m(1H) + s(2H) centré à 7,05), 4,64 (s, 3H, NCH_3) ; 4,09 (s, 3H, OCH_3) ; 3,90 (s, 9H, $\text{OCH}_3 + \text{NCH}_3$)

IR (KBr) : 3042, 2949, 2932, 2827, 1654, 1618, 1581, 1560, 1508, 1460, 1429, 1406, 1355, 1327, 1230, 1127, 1095, 1024, 1007, 974, 835, 723, 742

Spectre de masse : m/z 473 $\text{M}+\text{Na}]^+$

m/z 923 $2\text{M}+\text{Na}]^+$

Pt fusion (acétone): 272-273°C

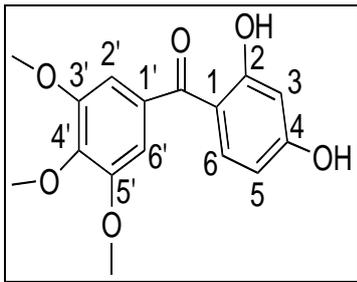
Bibliographie :

1. G. Dupeyre, *Thèse de l'Université de Paris-Descartes*, Synthèse et Evaluation d'analogues Indoliques de la Combrétastatine A-4 à Potentialité Antivasculaire. **2006**
2. K. Meragelman, *J. Org. Chem.*, 67, **2002**, 6671.
3. M. Tomlinson, *J. Chem. Soc.*, **1951**, 809.
4. J. Hall et S. Plant, *J. Chem. Soc.*, **1953**, 116.
5. M. Martin et coll., *J. Med. Chem.*, 35, **1992**, 4105.
6. M. Chakrabarty et coll., *S. Synth. Comm.*, 30 (20), **2000**, 3651.
7. M. Rao et coll., *Tetrahedron*, 55, **1999**, 11563.
8. V. Nair, V. Nandialath, K. G. Abhilasha, E. Suresh, *Org. Biomol. Chem.*, 6, **2008**, 1738.
9. J. Bergman et coll., *Tetrahedron*, 55, **1999**, 2363.
10. T. Janosik, J. Bergman, *Tetrahedron*, 55, **1999**, 2371.
11. N. Wahlström, J. Bergman, *Tetrahedron*, 45, **2004**, 7273.
12. M. Schmidt, K. Eger, *Pharmazie*, 51, **1996**, 11.

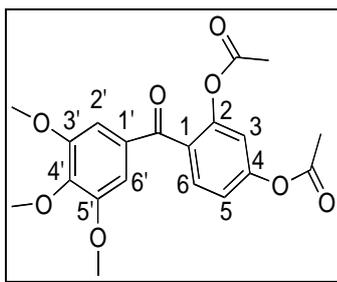
ANNEXES

ANNEXE 1:

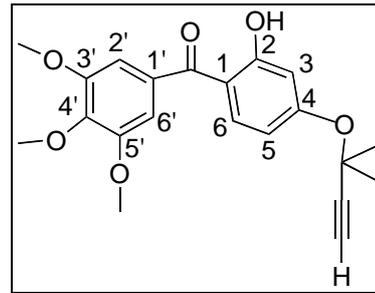
RESULTATS BIOLOGIQUES



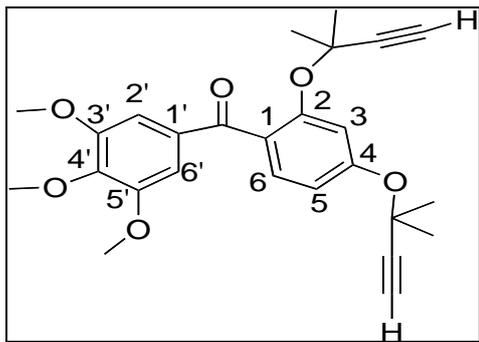
(1)



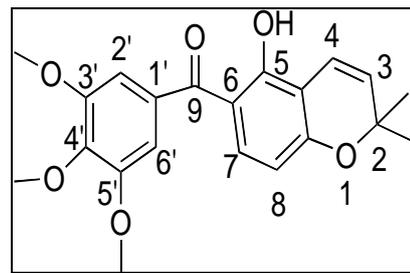
(3)



(4)



(5)



(6)

Résultats :

Cytotoxicité sur cellules B16 (IC₅₀ en μM) :

Composé **(1)** (diOH) : 8,5 μM

Composé **(3)** (diacétate) : 7,7 μM

Composé **(5)** (diéther propargylique) : 13,5 μM

Composé **(4)** (monoéther propargylique) : 54,9 μM

Composé **(6)** (analogue cyclisé) : 69,2 μM

CA4 (référence) 0,0026 μM

Morphologie sur cellules EA.hy926 (concentration limite d'arrondissement en M) :

Composé **(1)** (diOH) : 25 μM

Composé **(3)** (diacétate) : 12,5 μM

Composé **(5)** (diéther propargylique) : non actif à 100 μM

Composé **(4)** (monoéther propargylique) : non actif à 100 μM

Composé **(6)** (analogue cyclisé) : peu actif à 100 μM

CA4 (référence) 0,006 μM

Tests biologiques

Les tests biologiques ont été réalisés par l'équipe du Dr Guy G. Chabot du laboratoire de Pharmacologie Chimique et Génétique, U 640 INSERM-FRE 2463 CNRS, de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université René-Descartes (Paris V), dirigé par le Pr Daniel Scherman.

Evaluation de la cytotoxicité sur cellules de mélanome murin B16

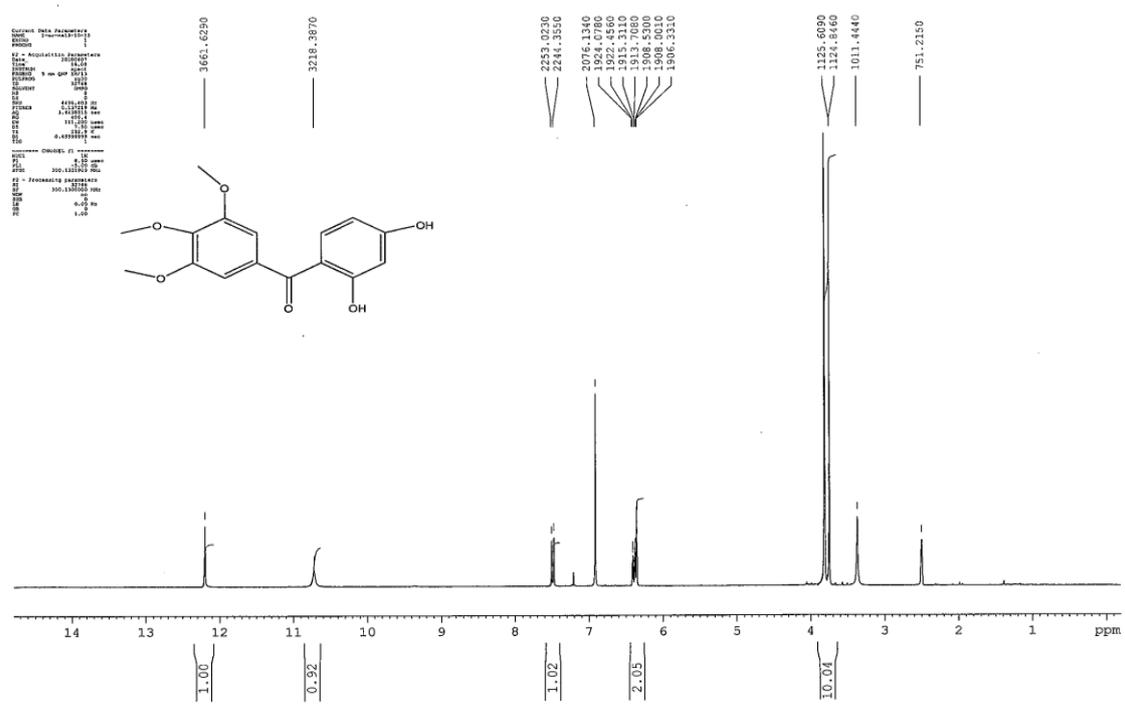
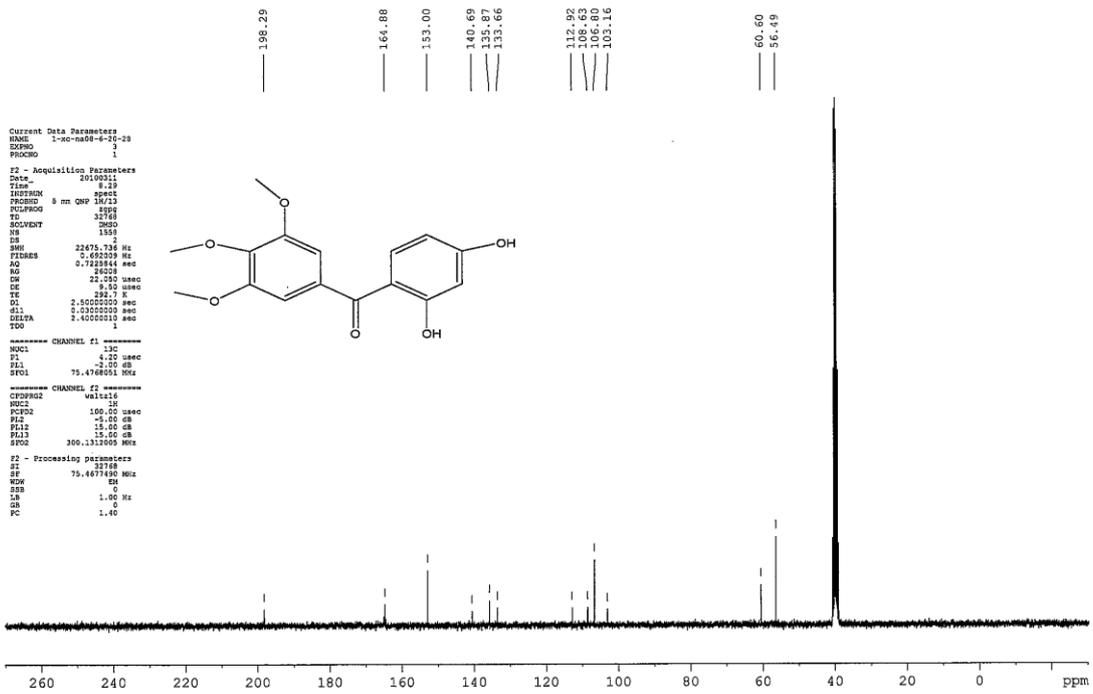
Tous les composés ont initialement été dissous dans le DMSO à une concentration de 2,5 mg/mL pour leur stockage avant d'être à nouveau dilués dans le milieu de culture cellulaire. A titre de comparaison, la combrétastatine A-4 et la colchicine ont été systématiquement inclus dans les expériences en tant que témoins internes.

Les cellules de mélanome murin B16 ont été cultivées dans du DMEM contenant 2 mM de L-glutamine, 10 % de sérum de veau foetal, 100 U/mL de pénicilline et 100 µg/mL de streptomycine (37 °C, 5 % CO₂). Des cultures exponentielles de cellules B16 ont étéensemencées sur plaques 96 puits à raison de 5000 cellules par puits dans 100 µL de milieu de culture. 24h après ensemencement, 100 µL de milieu contenant le composé d'intérêt (concentrations finales allant de 0,25 ng/mL à 25 µg/mL) sont ajoutés aux puits contenant les cellules (en triplex), et incubées pendant 48h à 37 °C sous 5 % de CO₂. Après une période d'exposition de 48h avec les composés à tester, la viabilité cellulaire a été évaluée par le test MTT (ce test est basé sur la réduction du MTT ou bromure de 3-(4',5'-diméthylthiazol-2'-yl)-2,5-diphényltétrazolium de couleur jaune par les déshydrogénases mitochondriales de cellules cancéreuses métaboliquement actives en formazan de couleur bleu-violet) et l'absorbance a été lue à 562 nm sur un lecteur de plaques (BioKinetics Reader, EL340). Des contrôles appropriés (tests MTT sur des puits contenant du DMEM seul) ont été menés pour soustraire l'absorbance du bruit de fond. La concentration finale en DMSO dans les cultures cellulaires n'excède pas 1 %. Les expériences ont été réalisées en triplex et répétées 3 à 7 fois. Les résultats sont représentés en pourcentage du contrôle qui contient 1 % de DMSO, qui n'était pas toxique à cette concentration. La concentration du composé inhibant la viabilité cellulaire de 50 % (CI50) a été déterminée graphiquement en utilisant le logiciel GraphPad. Les résultats sont présentés sous forme d'une moyenne associée à son écart type. Si nécessaire, la signifiante statistique entre les CI50 des composés a été déterminée en utilisant le test de Student.

Evaluation de l'effet sur la morphologie de cellules endothéliales EA.hy926

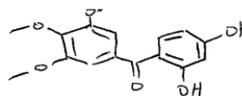
Pour évaluer les effets des composés sur la morphologie des cellules endothéliales, nous avons utilisé les cellules endothéliales de veine ombilicale humaine transformées EA.hy 926, dérivées de la fusion de cellules endothéliales de veine ombilicale humaine (HUVECs) et de la lignée cellulaire humaine immortalisée A549. Les cellules EA.hy 926 ont été cultivées dans du DMEM contenant 2 mM de L-glutamine, 10 % de sérum de veau foetal, 100 U/mL de pénicilline et 100 µg/mL de streptomycine (37 °C, 5 % CO₂). Des cultures exponentielles de cellules EA.hy 926 ont étéensemencées sur plaques 96 puits à raison de 5000 cellules par puits dans 100 µL de milieu de culture. 24h après ensemencement, 100 µL de milieu contenant le composé d'intérêt (concentrations finales allant de 0,25 ng/mL à 25 µg/mL) sont ajoutés aux puits contenant les cellules (en triplex), et incubées pendant 2h à 37 °C sous 5 % de CO₂. Après la période d'incubation de 2h, des photographies digitales ont été prises dans des zones représentatives au centre de chaque puits et avec un grossissement x360. L'effet morphologique sur des cellules endothéliales **est exprimé en plus faible concentration µM) à laquelle un arrondissement est observé** après une brève période d'incubation de 2 h, par rapport à un blanc de contrôle. Au-delà de 100 µM, une molécule est considérée comme inactive.

ANNEXES 2 :
ANALYSES SPECTROSCOPIQUES

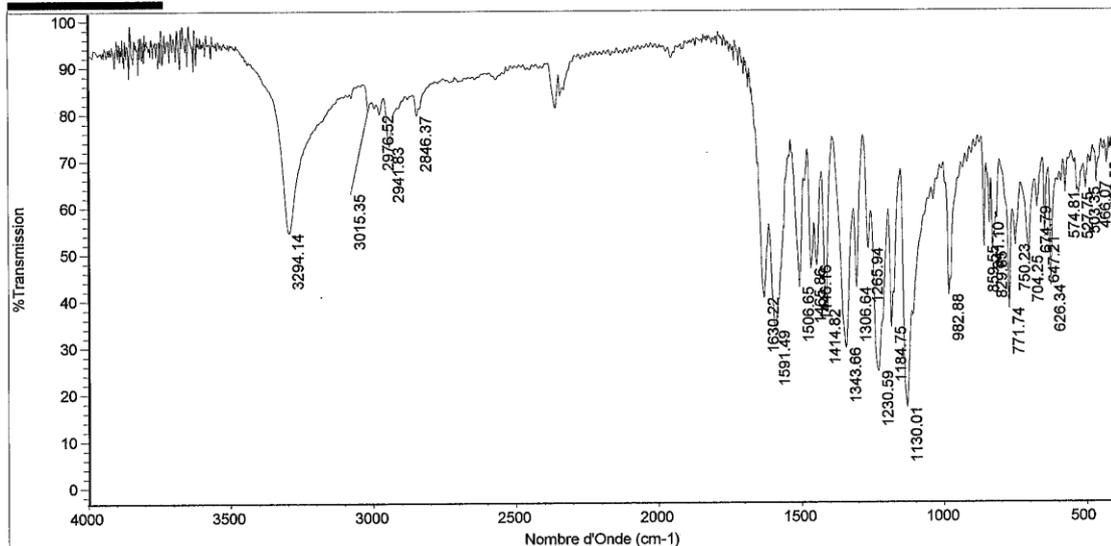


Nicolet

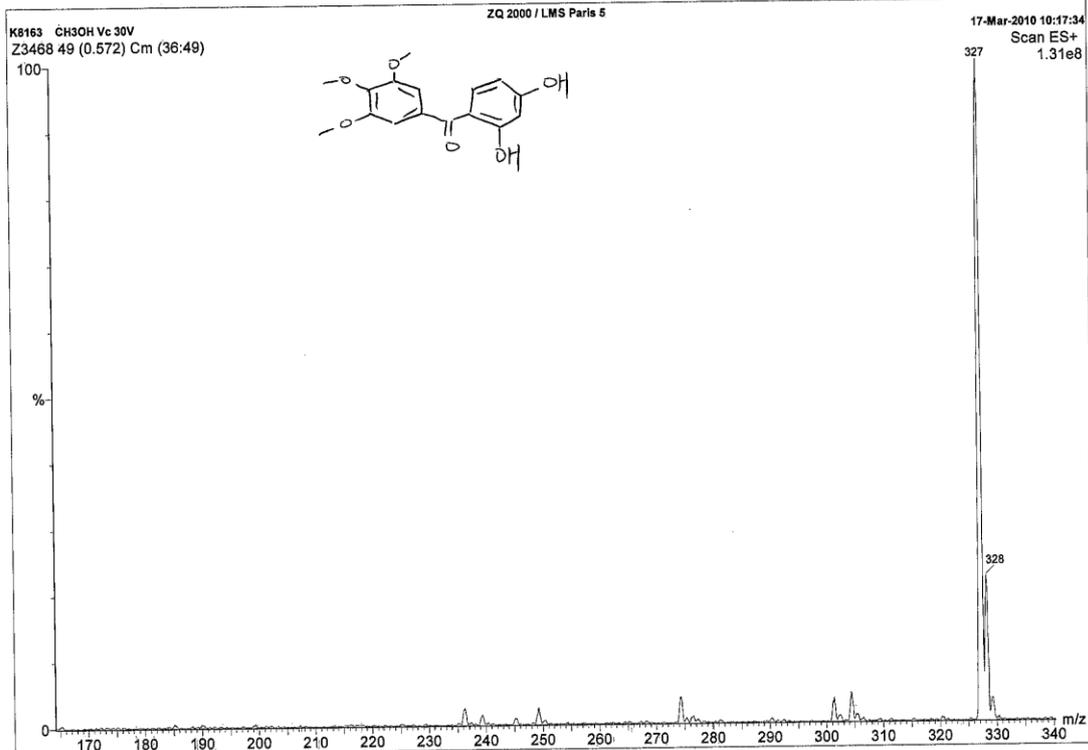
*Mer Mai 05 10:47:43 2010



Mer Mai 05 10:50:57 2010



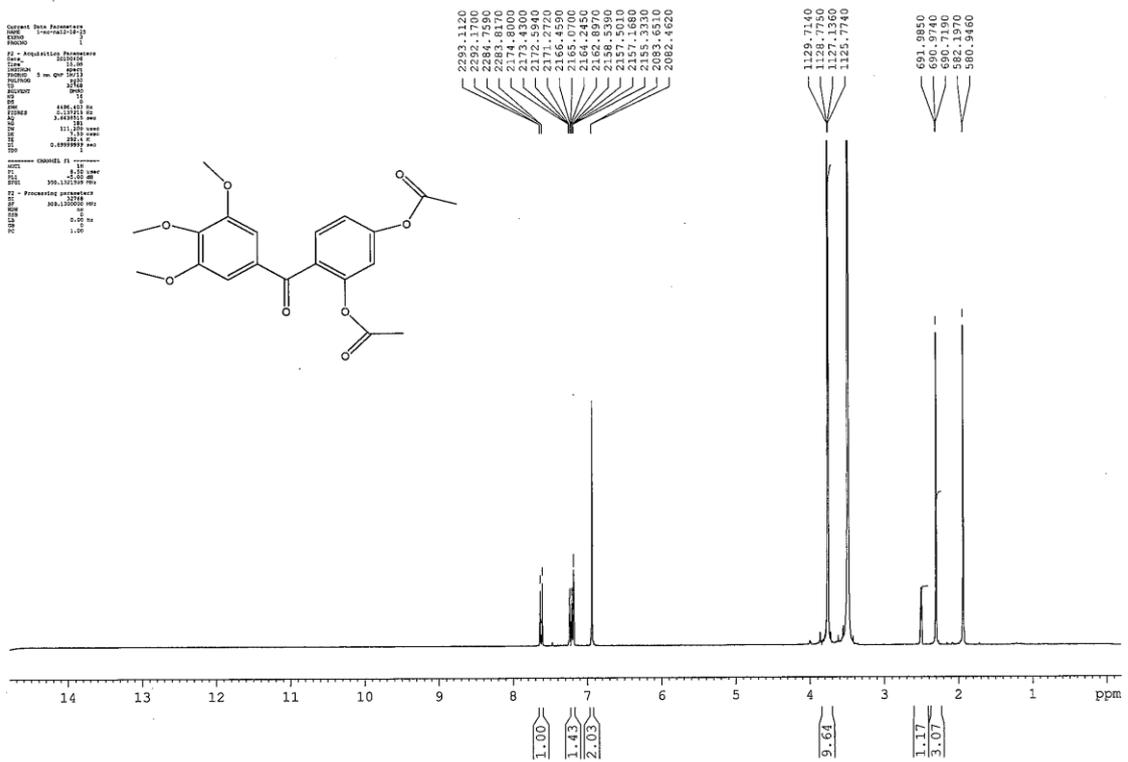
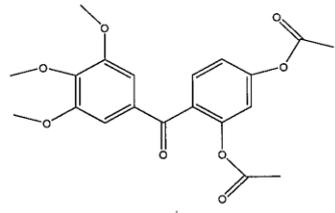
Nombre de scans échant. : 32 Détecteur: DTGS KBr
Nombre de scans backgr. : 32 Séparatrice: KBr
Résolution: 4.000 Source: IR
Gain échantillon: 16.0
Vitesse miroir: 1.5825
Ouverture: 100.00



```

Current Data Parameters
NAME 1-oc-na12-18-20
EXPNO 1
PROCNO 1
PC - Acquisition Parameters
Date_ 20130402
Time 13.50
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT DMSO
NS 1688
DS 2
SWH 22679.736 Hz
FIDRES 0.4922000 Hz
AQ 0.722844 sec
RG 13004
DE 21.000 usec
TE 303.1 K
D1 2.5000000 sec
d11 0.0200000 sec
DELTA 2.4000001 sec
TON 1
----- CHANNEL f1 -----
NUC1 13C
P1 4.00 usec
PL1 -2.00 dB
SFO1 75.4766031 MHz
----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 100.00 usec
PL2 -5.00 dB
PL3 15.00 dB
PL13 15.00 dB
SFO2 300.131000 MHz
PC - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677490 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.40

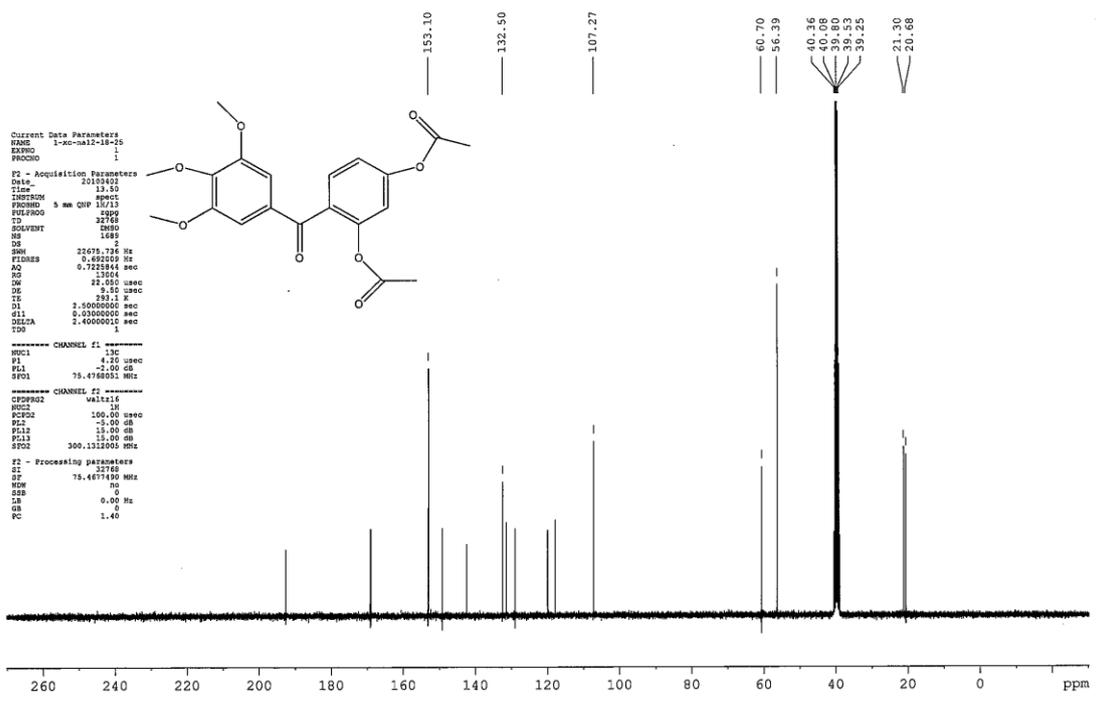
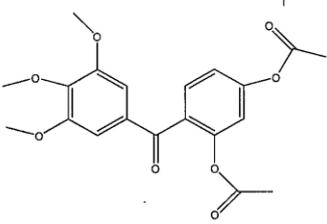
```



```

Current Data Parameters
NAME 1-oc-na12-18-20
EXPNO 1
PROCNO 1
PC - Acquisition Parameters
Date_ 20130402
Time 13.50
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT DMSO
NS 1688
DS 2
SWH 22679.736 Hz
FIDRES 0.4922000 Hz
AQ 0.722844 sec
RG 13004
DE 21.000 usec
TE 303.1 K
D1 2.5000000 sec
d11 0.0200000 sec
DELTA 2.4000001 sec
TON 1
----- CHANNEL f1 -----
NUC1 13C
P1 4.00 usec
PL1 -2.00 dB
SFO1 75.4766031 MHz
----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 100.00 usec
PL2 -5.00 dB
PL3 15.00 dB
PL13 15.00 dB
SFO2 300.131000 MHz
PC - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677490 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.40

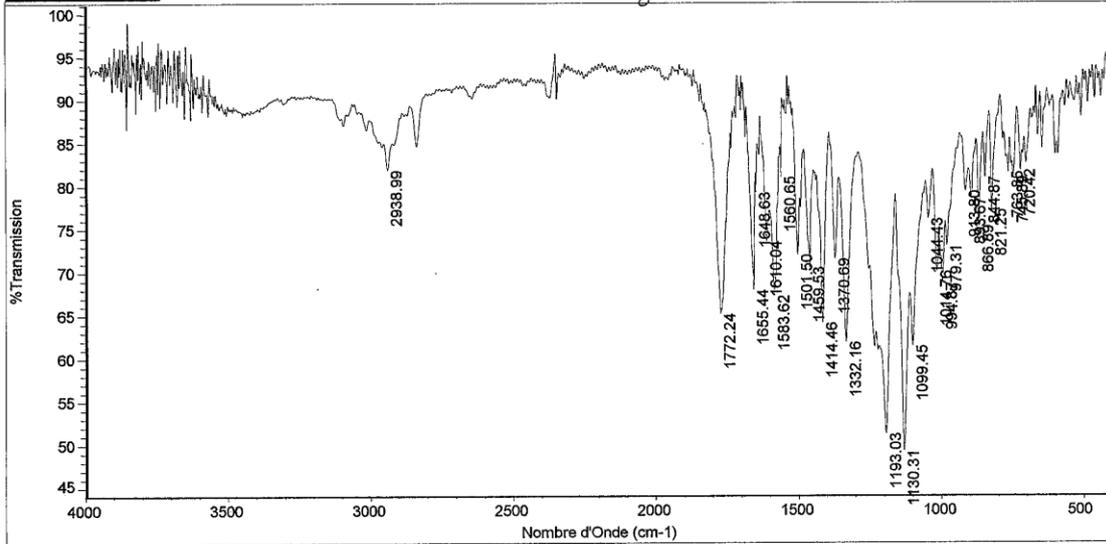
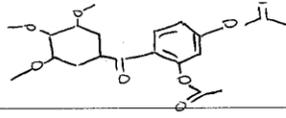
```



Nicolet

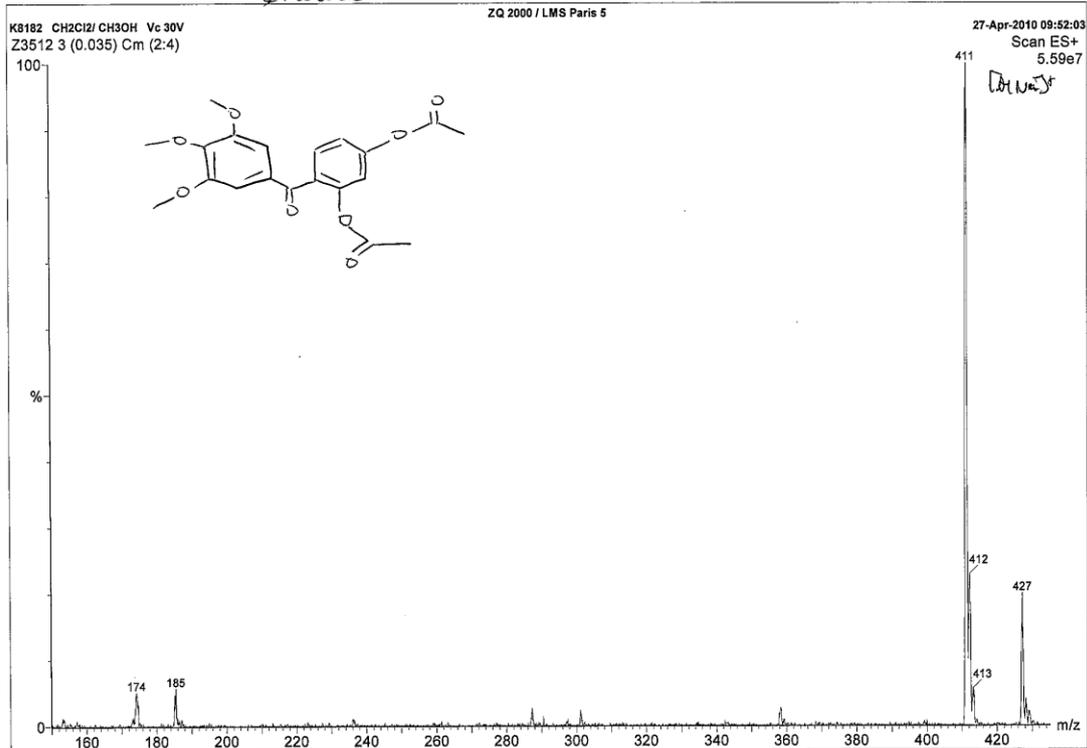
*xc-na12-pr ace

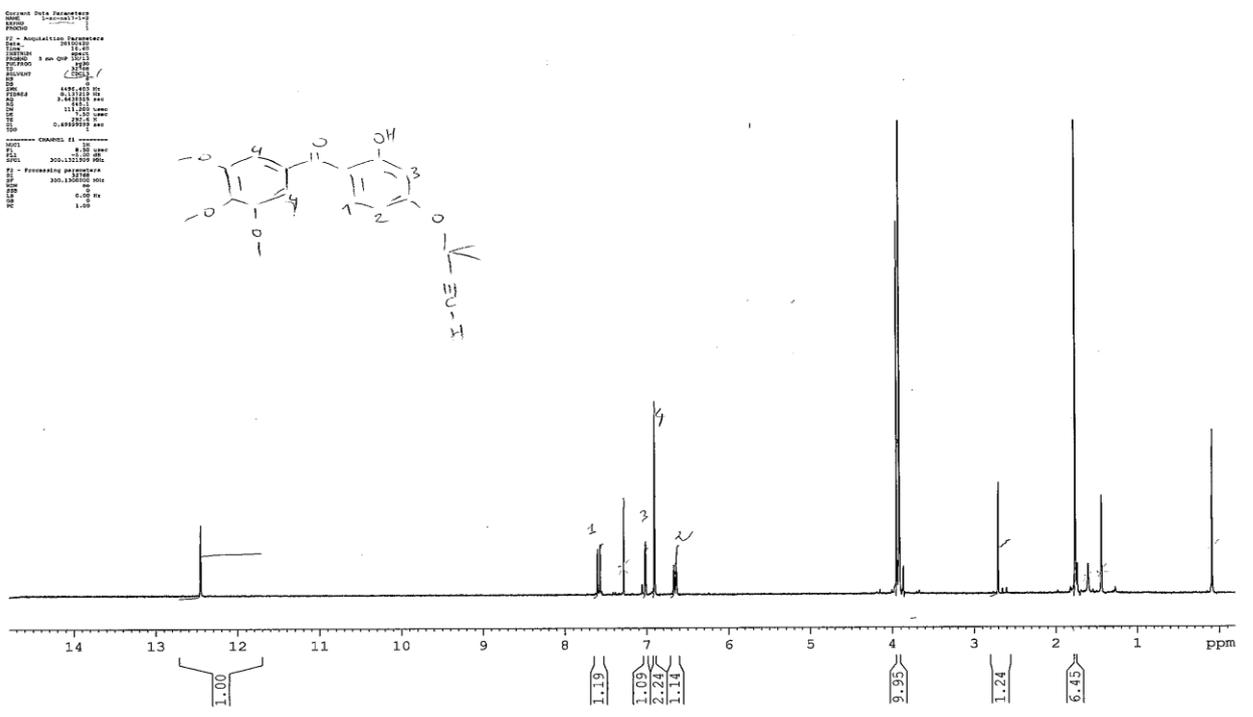
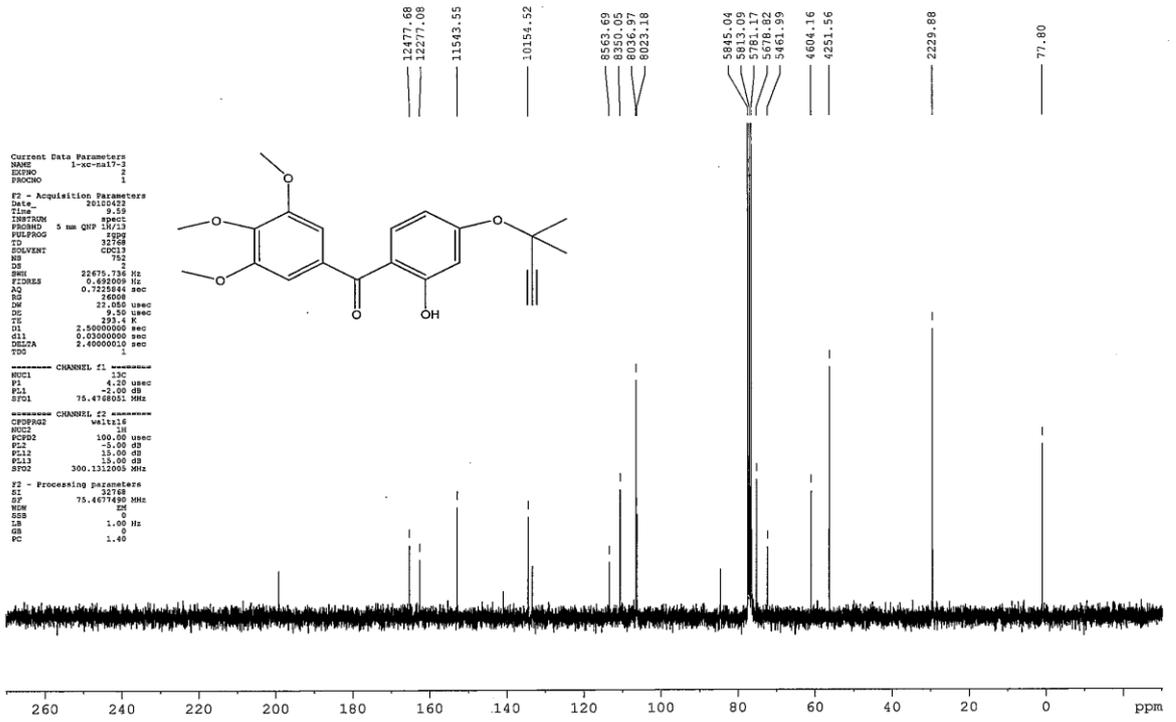
Mer Mai 05 11:57:05 2010



Nombre de scans échant. : 32 Détecteur: DTGS KBr
Nombre de scans backgr. : 32 Séparatrice: KBr
Résolution: 4.000 Source: IR
Gain échantillon: 4.0
Vitesse miroir: 1.5825
Ouverture: 100.00

Palata

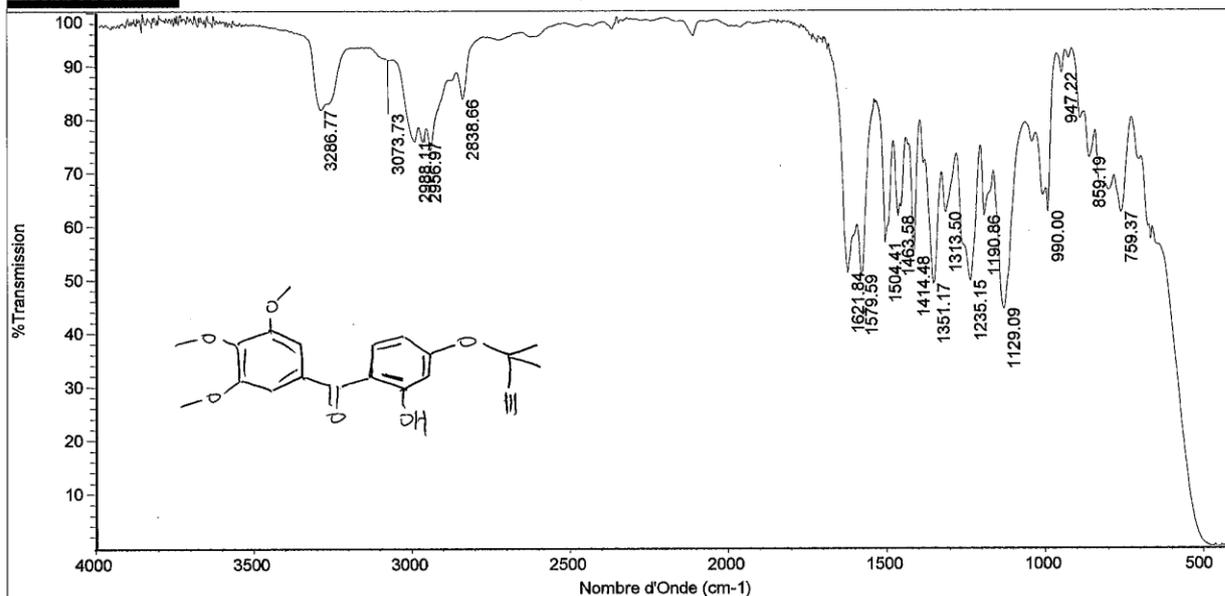




Nicolet

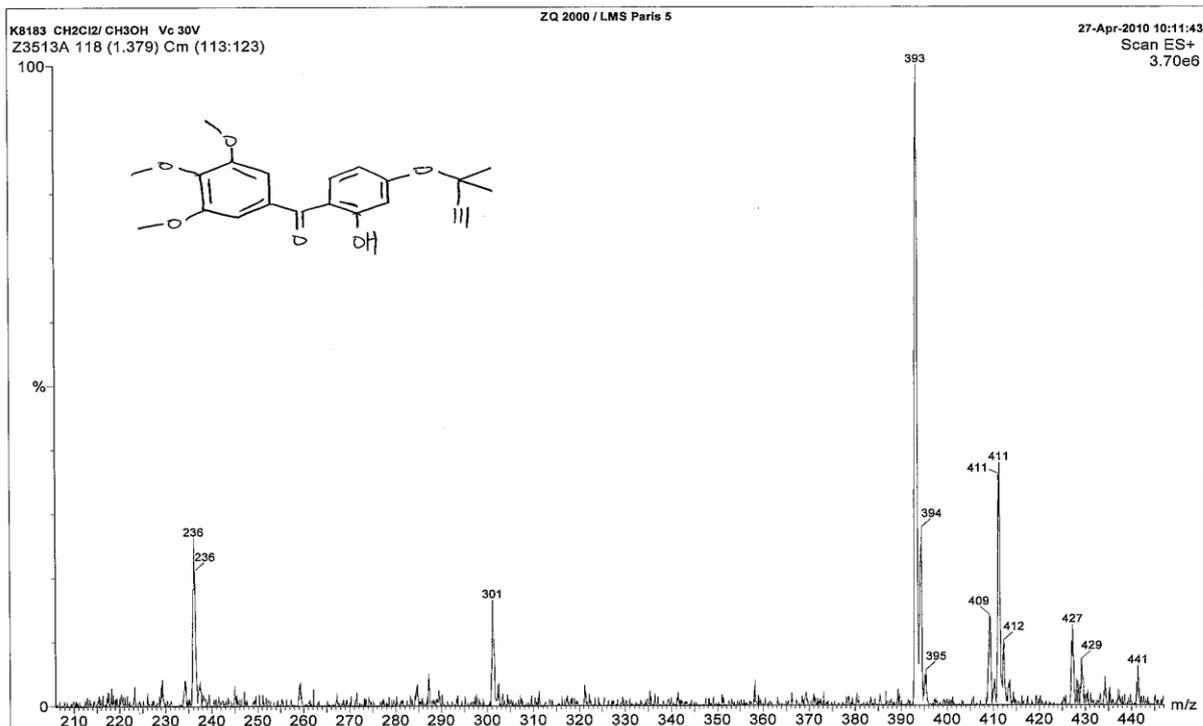
*xc-na17-3

Ven Avr 23 16:12:27 2010



Nombre de scans échant. : 32
Nombre de scans backgr. : 32
Résolution: 4.000
Gain échantillon: 2.0
Vitesse miroir: 1.5825
Ouverture: 100.00

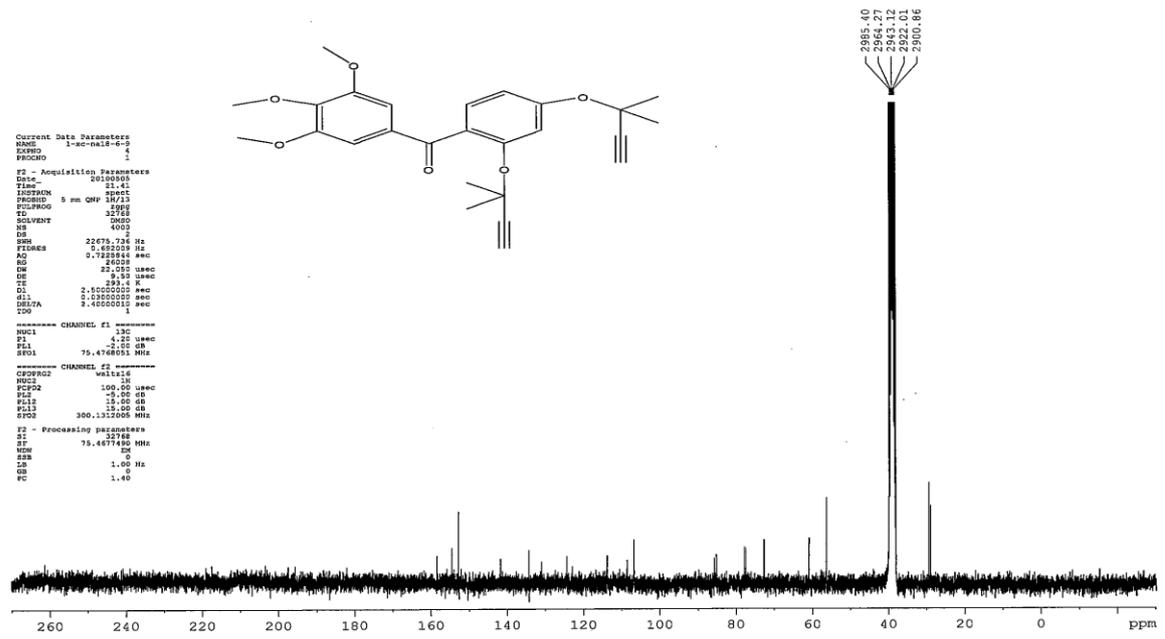
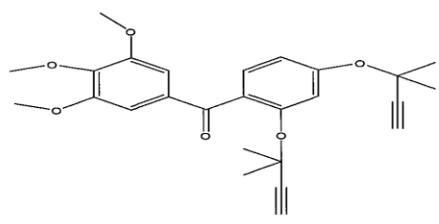
Détecteur: DTGS KBr
Séparatrice: KBr
Source: IR

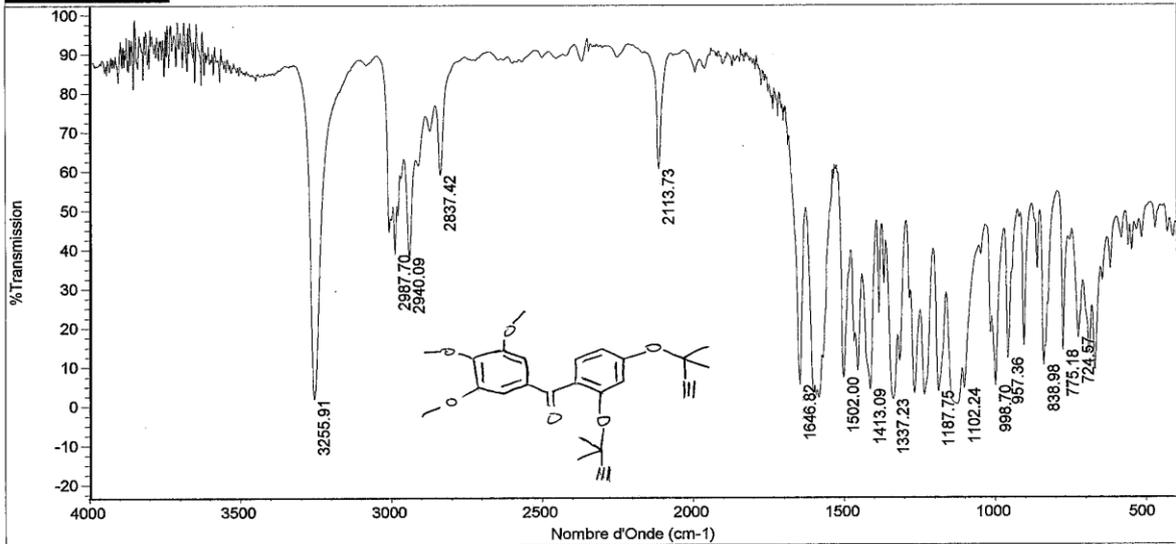



```

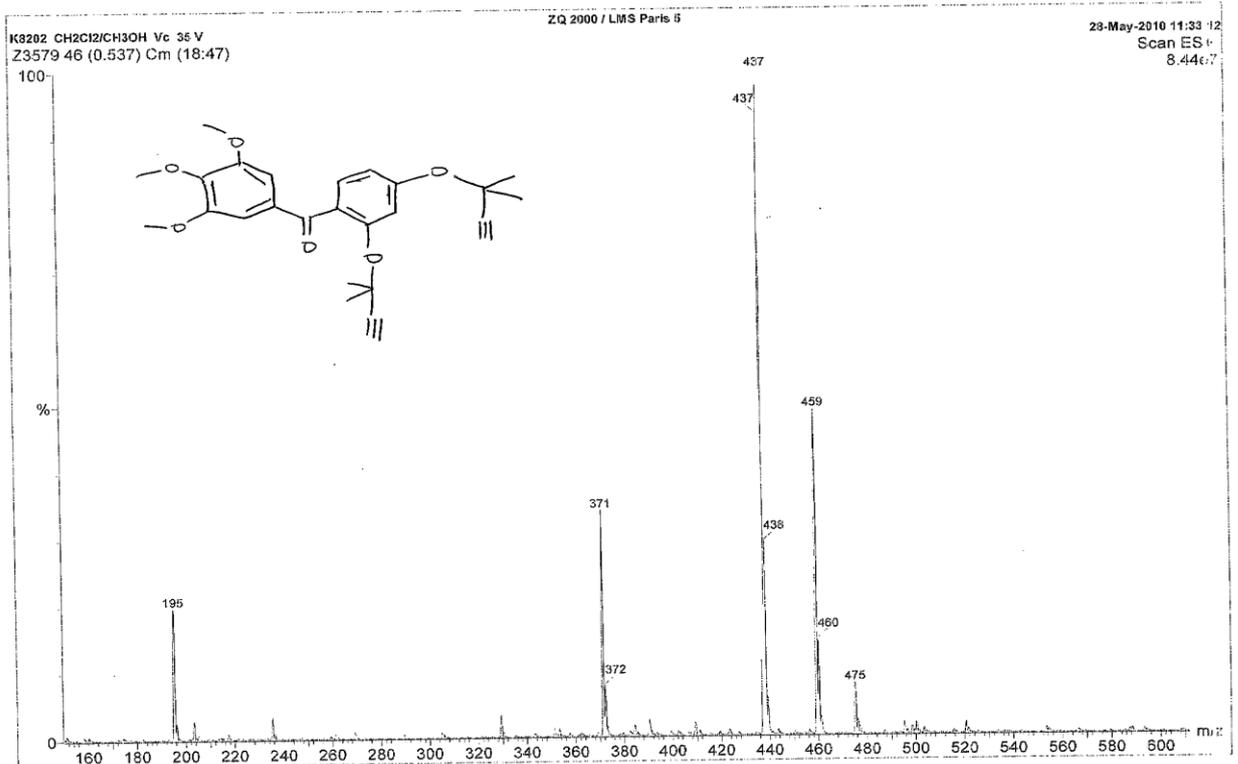
Current Date Parameters
NAME 1000001
EXPNO 4
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 2010001
Time 21:41
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/13
PULPROG zgpg30
TD 65536
SOLVENT DMSO
NS 4000
DS 4
SWH 22476.72 Hz
FIDRES 0.4622009 Hz
AQ 0.7428814 sec
RG 680.0
AQ 25.000 usec
TE 293.2 K
DQ 4.50 usec
DE 2.5000000 sec
DELTA 0.0300000 sec
DELTA2 2.6000000 sec
TD0 1
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 130
PT 4.00 usec
PL1 -2.00 dB
SFO1 75.4774001 MHz
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
P2 100.00 usec
PL2 0.00 dB
PL12 15.00 dB
PL13 15.00 dB
SFO2 300.1312000 MHz
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677400 MHz
WDW EM
SSB 0
LA 0
GB 0
PC 1.40

```





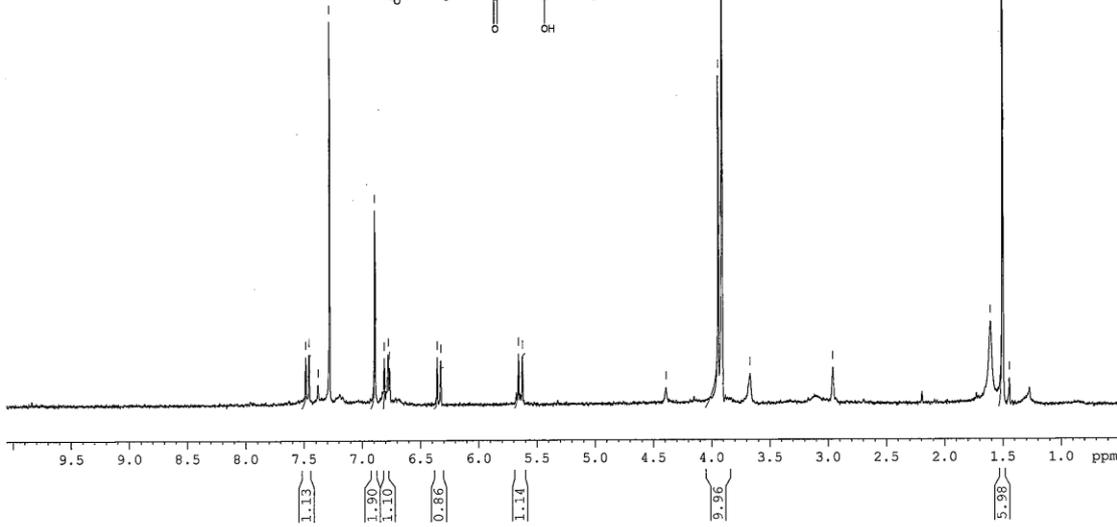
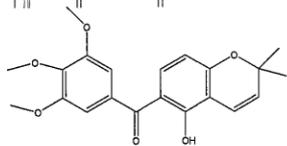
Nombre de scans échant : 32 Détecteur: DTGS KBr
 Nombre de scans backgr : 32 Séparatrice: KBr
 Résolution: 4.000 Source: IR
 Gain échantillon: 8.0
 Vitesse miroir: 1.5825
 Ouverture: 100.00




```

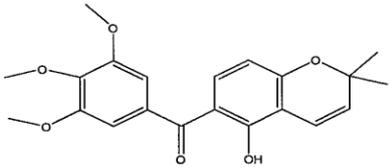
Current Data Parameters
NAME 1-oc-na-25-5
EXPNO 1
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20120525
Time 21.47
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/13
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 4000
DS 2
SWH 22675.735 Hz
FIDRES 0.492009 Hz
AQ 0.722844 sec
RG 2500
DE 22.050 usec
DC 1.50 usec
TE 293.0 K
SI 2.50000000 sec
G11 0.03000000 sec
SFO2 101.626126 MHz
DECOR 1
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 1.30
PL1 0.00 dB
NUC2 1H
PC 1.40
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 101.00 usec
PL2 -5.00 dB
PL12 15.00 dB
PL13 15.00 dB
SFO2 300.131009 MHz
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.467469 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.40
  
```

2246.7950
 2214.7650
 2185.7480
 2184.4530
 2068.7760
 2044.0650
 2034.0500
 2030.5000
 1907.5450
 1898.7170
 1688.2600
 1688.2000
 1317.9980
 1184.1940
 1182.9470
 1101.4210
 888.3530
 482.4280
 433.5200



```

Current Data Parameters
NAME 1-oc-na-25-5
EXPNO 1
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20120525
Time 21.47
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/13
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 4000
DS 2
SWH 22675.735 Hz
FIDRES 0.492009 Hz
AQ 0.722844 sec
RG 2500
DE 22.050 usec
DC 1.50 usec
TE 293.0 K
SI 2.50000000 sec
G11 0.03000000 sec
SFO2 101.626126 MHz
DECOR 1
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 1.30
PL1 0.00 dB
NUC2 1H
PC 1.40
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 101.00 usec
PL2 -5.00 dB
PL12 15.00 dB
PL13 15.00 dB
SFO2 300.131009 MHz
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.467469 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.40
  
```

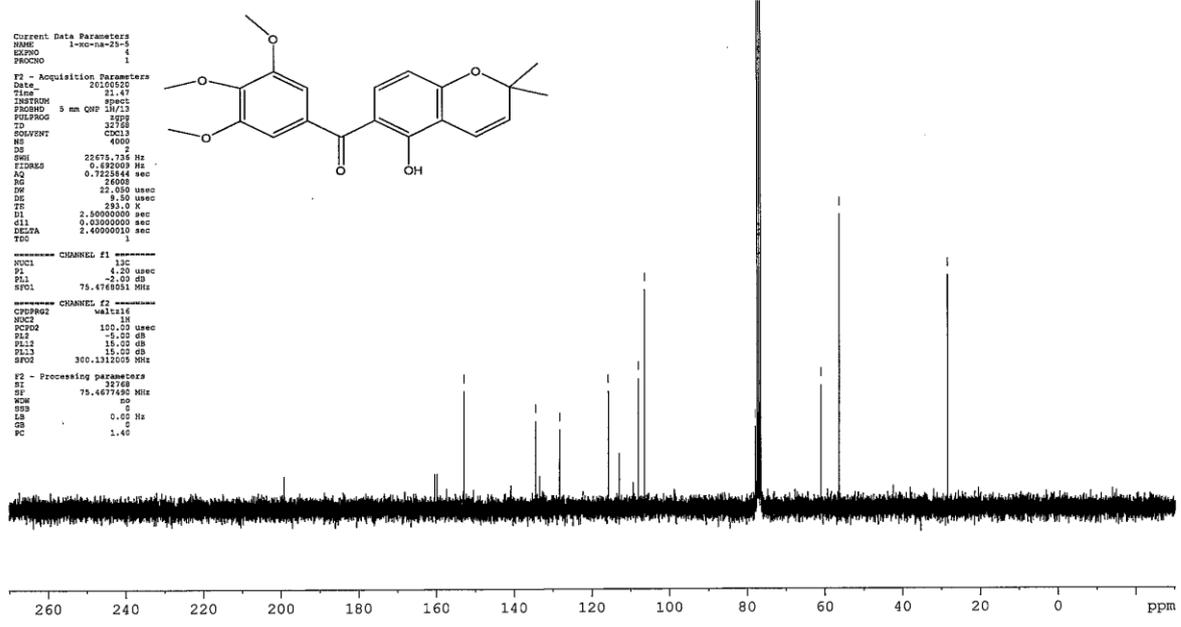


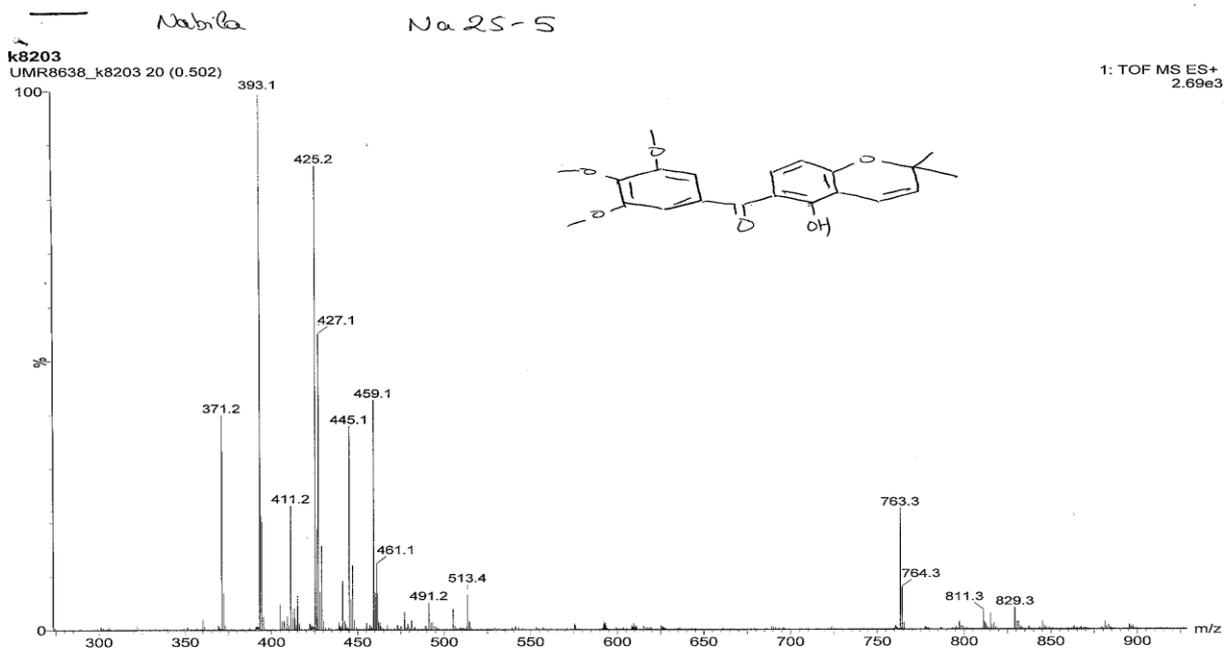
11541.53
 10152.87
 9683.48
 8736.24
 8157.51
 8033.85

5882.22
 5882.22
 5813.08
 5781.16

4603.87
 4521.96
 4250.59

2146.30

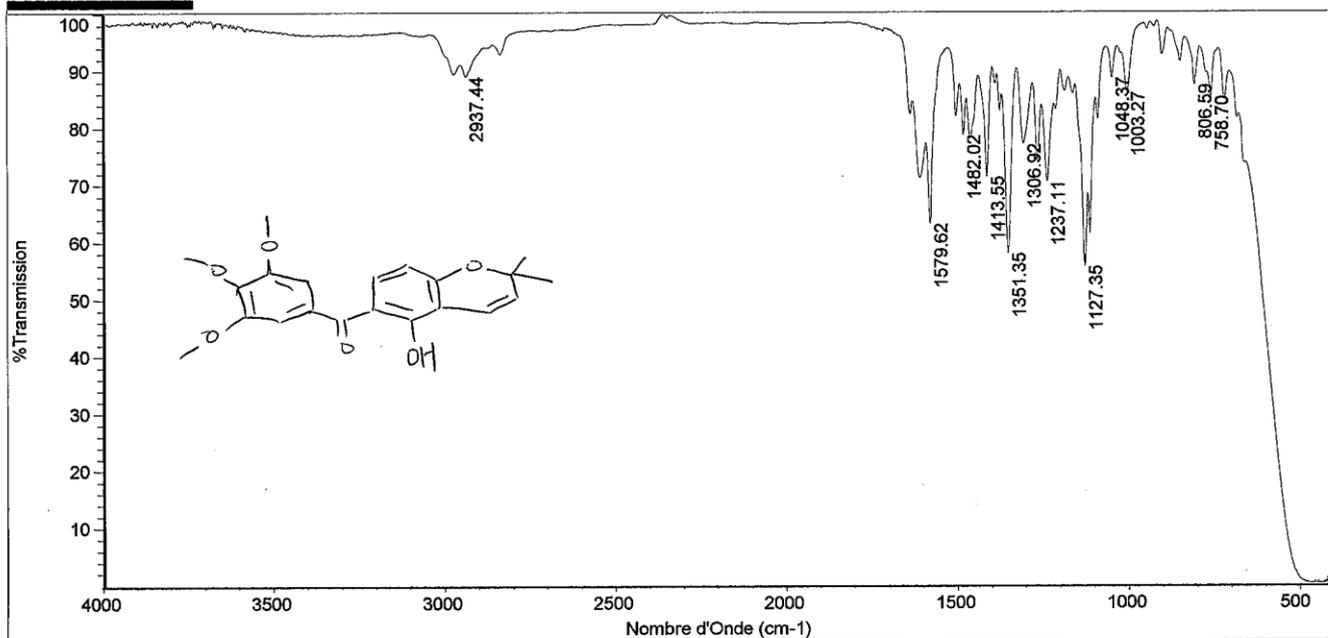




Nicolet

*NA25-5

Jeu Jun 10 11:49:56 2010



Nombre de scans échant. : 32
 Nombre de scans backgr. : 32
 Résolution: 4.000
 Gain échantillon: 4.0
 Vitesse miroir: 1.5825
 Ouverture: 100.00

Détecteur: DTGS KBr
 Séparatrice: KBr
 Source: IR

Résumé

Les chromènes et les indoles sont des composés assez répandus dans la nature, certains d'entre eux possèdent des activités biologiques. Nous citerons à titre d'exemples la combretastatine....

Quelques méthodes de synthèse de composés hétérocycliques analogues de la combretastatine A4 sont décrites dans la littérature. Dans notre travail nous avons choisi de préparer ce type d'hétérocycle en conservant la partie triméthoxyphénolique de la combretastatine A4, l'autre partie étant constituée par le chromène. Leur cytotoxicité et leur effet sur la morphologie des cellules, prédictif de l'activité antivasculaire.

La réactivité des chromènes nous a amené à préparer de nouveaux hétérocycles qui résultent d'une réaction d'acylation entre le résorcinol et l'acide 3,4,5-triméthoxy benzoylchloride par la suite une alkylation sur la position 4 du 2,4-dihydroxyphényl-(3,4,5-triméthoxyphényl) méthanone nous a permis d'effectuer ses cyclisations dans le DMF pour obtenir des nouveaux composés hétérocycles.

Mots clés : Combretastatine A4, activité antivasculaire, analogues, chromènes, indoles.

Abstract

The chromenes and indoles are widespread compound in nature, some of them have biological activities amongst which there are the combretastatine

Some synthesis methods of compounds heterocycle analogue of combretastatine A4 are widely described in the literature review. In this work we have chosen to prepare this kind of heterocycle to preserve the part trimethoxyphenolic of the combretastatine A4 Other party being constituted by the chromene, their cytotoxicity and their effect on the morphology of units predictif of the activity antivascular. Chromenes reactivity has urged us prepare new heterocycle resulting from the fusion between résorsinol and acid 3,4,5-triméthoxy benzoylchloride after reaction of alkylation 2,4-dihydroxyphényl-(3,4,5-triméthoxyphényl) méthanone we make it in DMF to obtain new heterocycles compounds.

Keywords: *Combretastatine A4, activity antivascular, analogous, chromènes, indoles.*

ملخص

المجموعة الأولى من الهيكل اربولنزوبييران ، على غرار هتروكومبرتستتن ترمتوكسفنول نوع الاحتفاظ بجزء من مقاس A4 كمبرتستتن، والجزء الآخر يتكون من كرومن. فكانت تخضع لاختبار المركبات البيولوجية. إلى النشاط الأمثل لهذه المركبات الجديدة على وجه الخصوص من حيث الآثار الشكلية على هوفيك تعديل نشاط انتفسكوير التنبؤية ، مع تجنب زيادة في السمية. في العمل السابق في المختبر من العقاقير على توليف من نظائرها غير المتجانسة من مقاس A4 ، طريق جديد لهيكل عظمي اندول كربزول، سهولة التنفيذ ، تم اكتشافه.