

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
24 avril 2014 (24.04.2014)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2014/060366 A1

(51) Classification internationale des brevets :
C07D 207/333 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2013/071445

(22) Date de dépôt international :
14 octobre 2013 (14.10.2013)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
1259868 16 octobre 2012 (16.10.2012) FR

(71) Déposant : CENTRE NATIONAL DE LA RE-
CHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, rue
Michel Ange, F-75016 Paris (FR).

(72) Inventeurs : COLLIN, Pascal; 3 rue Perreyon, F-78530
Buc (FR). EGOROV, Maxim; 25 Chemin des Cantons, F-
44340 Bouguenais (FR). DELPECH, Bernard; 1 allée
Louise, F-92140 Clamart (FR). BAKALA, Joanna; 9/11
avenue de Saint Mandé, F-75012 Paris (FR). ACHAB,

Maria; Bât. H, Résidence du Châteaufort, Route de Châ-
teaufort, F-91190 Gif s/Yvette (FR). BIGNON, Jérôme;
35 voie des Gouttins, F-91530 Le Val Saint Germain (FR).
THOISON, Odile; 18 rue Royon, F-91120 Palaiseau (FR).
BENECHIE, Michel; Bât. 2, 160 av du Général Leclerc,
F-91190 Gif s/Yvette (FR).

(74) Mandataire : REGIMBEAU; 20, rue de Chazelles, F-
75847 PARIS Cedex 17 (FR).

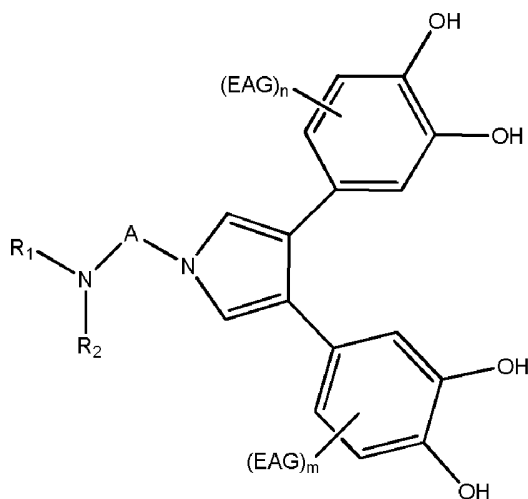
(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM,
ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title : N-SUBSTITUTED 3,4-BIS (CATECHOL) PYRROLE COMPOUNDS, AND THE PREPARATION AND USE THEREOF IN THE TREATMENT OF CANCER

(54) Titre : COMPOSES 3,4-BIS(CATECHOL)PYRROLE-N-SUBSTITUES, LEUR PREPARATION ET UTILISATION DANS LE TRAITEMENT DU CANCER



(I)

(57) Abstract : The present invention relates to a compound of formula (I) in which: - m is an integer from 0 to 3, preferably from 0 to 2; n is an integer from 0 to 3, preferably from 0 to 2; m + n ≥ 1; EAG is an electro-attractive group chosen independently from among a halogen atom, an NO₂, CF₃, CCl₃, CN, CO₂H, (C=O)NR₂, CH=NR, (C=S)OR, (C=O)SR, CS₂R, SO₂R, SO₂NR₂, SO₃R, P(O)(OR)₂, P(O)(R)₂, B(OR)₂ group where R is a (C₁ — C₆) alkyl radical, a phenyl group or a hydrogen atom; A is a saturated or unsaturated, linear or branched hydrocarbon chain including 1 to 10 atoms of carbon; and R₁ and R₂ each represent independently from one another a hydrogen atom, a CO-(C₁ - C₆)-alkyl, (C₁ — C₆) alkyl, phenyl or phenyl-(C₁ — C₆)-alkyl group, in which R₁ and R₂ form, together with the nitrogen atom they carry, a 5- to 15-member heterocycle, optionally substituted by a (C₁ — C₆) alkyl group; including its stereoisomers and the mixtures thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of same.

(57) Abrégé :

[Suite sur la page suivante]



WO 2014/060366 A1



GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

La présente invention concerne un composé de formule (I) dans laquelle : - m est un entier de 0 à 3, de préférence de 0 à 2; - n est un entier de 0 à 3, de préférence de 0 à 2; - m + n \geq 1; - EAG représente un groupe électroattracteur indépendamment choisi parmi un atome d'halogène, un groupe NO₂, CF₃, CCl₃, CN, CO₂H, (C=O)NR₂, CH=NR, (C=S)OR, (C=O)SR, CS₂R, SO₂R, SO₂NR₂, SO₃R, P(O)(OR)₂, P(O)(R)₂, B(OR)₂, où R est un radical (C₁ — C₆) alkyle, un groupe phényle ou un atome d'hydrogène; - A représente une chaîne hydrocarbonée, saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée, comprenant de 1 à 10 atomes de carbone; et - R₁ et R₂ représentent chacun, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène, un groupe CO-(C₁ - C₆)-alkyle, (C₁ — C₆) alkyle, phényle ou phényle- (C₁ — C₆)-alkyle, où R₁ et R₂ forment ensemble, avec l'atome d'azote qui les porte, un hétérocycle à 5 à 15 chaînons, éventuellement substitué par un groupe (C₁ — C₆) alkyle; y compris ses stéréoisomères et leurs mélanges, ou un sel d'acide pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

COMPOSES 3,4-BIS(CATECHOL)PYRROLE-N-SUBSTITUES, LEUR
PREPARATION ET UTILISATION DANS LE TRAITEMENT DU CANCER

La présente invention est relative à de nouveaux composés
5 3,4-bis(catéchol)pyrrole-N-substitués, leur préparation et utilisation dans le traitement
du cancer.

Les cellules tumorales ont pour origine des modifications chromosomiques
innée ou acquise résultant de translocation, amplification génique, insertion rétrovirale,
mutation, délétion génétique, ainsi que de désordres épigénétiques. Ces anomalies
10 touchent de nombreux gènes impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire, de
l'apoptose, de la croissance et de la survie, ainsi que les gènes de réparation,
stabilisation de l'ADN et de détoxification.

La grande majorité de la chimiothérapie anticancéreuse traditionnelle repose
principalement sur l'utilisation de drogues dont le mode d'action passe par le blocage
15 de la multiplication cellulaire, soit en phase S du cycle cellulaire en s'attaquant à l'ADN
de la cellule ou en phase G2/M en s'attaquant aux microtubules du fuseau mitotique
nécessaire à la division cellulaire. D'autres agents anticancéreux visent à déclencher une
mort cellulaire programmée par apoptose, en induisant un stress oxydatif.
L'inconvénient de ces approches est la relative non-spécificité des médicaments qui ne
20 peuvent épargner les cellules saines. Il s'ensuit des effets secondaires multiples. Plus
récemment, ont été développés de nouveaux axes thérapeutiques n'utilisant plus une
action cytotoxique, comme moyen de guérir, mais plutôt l'utilisation d'un frein pour
ralentir ou arrêter le développement tumoral. Cette chimiothérapie ciblée vise les
mécanismes intimes de la prolifération cellulaire en bloquant la multiplication des
25 cellules, par inhibition des voies de transmission des signaux de facteurs de croissance,
ou par inhibition de l'angiogénèse.

Cependant, avec ces nouveaux traitements anticancéreux ciblés, de nouvelles
chimiorésistances sont apparues. Elles diffèrent des mécanismes connus de
chimiorésistance liés principalement à l'expression de système membranaire
30 d'expulsion de drogues : protéine ABC (ATP-Binding Cassette) dont fait partie le
système MDR1 (Multi Drug Resistance-1). Dans ce cas, les cellules cancéreuses
développent une chimiorésistance en stimulant la voie de survie, associée à l'inhibition

des voies pro-apoptotiques. Cette voie de survie est activée par les récepteurs à activité tyrosine kinase (EGFR, PDGFR, IGFR), eux même activés par les facteurs de croissance. Elle est constituée par les protéines PI3K (Phosphatidyl inositol 3 OH kinase), PDK (phosphoinositide dependent tyrosine kinase), Akt (serine/thréonine protein kinase PKB), PTEN (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10), FOXO (forkhead box O), mTOR (mamalian target of rapamycin), associées aux oncogènes Src et Ras. D'une manière générale, la voie de survie a un effet protecteur contre l'apoptose et peut induire l'autophagie.

Le lien entre la voie de survie et la cancérogénèse est maintenant bien établi. En effet, des mutations dans les gènes codant pour la voie de survie sont présentes dans plus de 30% des cancers dont 70% des cancers du sein : mutation activatrice des gènes PIK3CA, PIK3CB, AKT1, AKT2, perte de fonction de PTEN, et surexpression des oncogènes src et Ras, régulant cette voie.

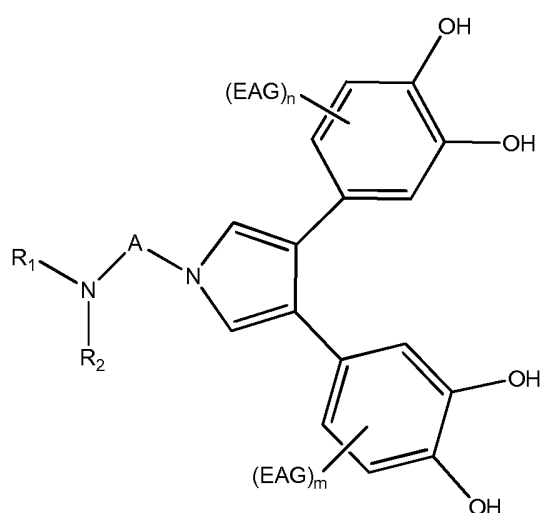
Ainsi, depuis quelques années, se sont développés des composés inhibiteurs de cette voie de survie pour lutter efficacement contre les cellules cancéreuses, qui en association avec d'autres drogues, bloquent la transmission des signaux des facteurs de croissance.

Les essais cliniques récents ont révélé que l'inhibition de la voie de survie bloquait la tumorigénèse. Ainsi, l'utilisation d'inhibiteur de la voie de survie comme traitement anticancéreux peut être considéré comme une nouvelle arme contre le cancer.

L'un des principaux objectifs de la pharmacologie des médicaments anticancéreux est donc la recherche permanente de nouvelles drogues susceptibles de manifester une meilleure efficacité thérapeutique, à travers des cibles moléculaires spécifiques, associée à l'absence de chimiorésistance ainsi que l'absence de toxicité sur les cellules saines.

Ces critères fondamentaux ont été retenus pour la sélection d'un nouveau médicament antitumoral.

La présente invention concerne les nouveaux composés 3,4-bis(catéchol)pyrrole-N-substitués de formule générale (I) ci-après, leur préparation ainsi que leur action antimitotique et leur mode d'action vis-à-vis de cellules cancéreuses.



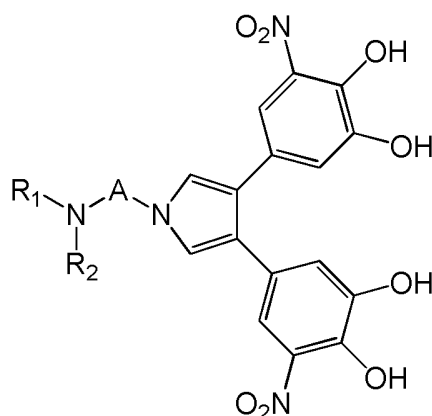
(I)

dans laquelle :

- m est un entier de 0 à 3, de préférence de 0 à 2 ;
- 5 - n est un entier de 0 à 3, de préférence de 0 à 2;
- $m + n \geq 1$
- EAG représente un groupe électroattracteur indépendamment choisi parmi un atome d'halogène, un groupe NO₂, CF₃, CCl₃, CN, CO₂H, (C=O)NR₂, CH=NR, (C=S)OR, (C=O)SR, CS₂R, SO₂R, SO₂NR₂, SO₃R, P(O)(OR)₂, P(O)(R)₂, B(OR)₂, où R est un
- 10 radical (C₁ – C₆) alkyle, un groupe phényle ou un atome d'hydrogène;
- A représente une chaîne hydrocarbonée, saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée, comprenant de 1 à 10 atomes de carbone ; et
- R₁ et R₂ représentent chacun, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène, un groupe CO-(C₁ – C₆)-alkyle, (C₁ – C₆) alkyle, phényle ou phényle-
- 15 (C₁ – C₆)-alkyle, où R₁ et R₂ forment ensemble, avec l'atome d'azote qui les porte, un hétérocycle à 5 à 15 chaînons, éventuellement substitué par un groupe (C₁ – C₆) alkyle ;

y compris ses stéréoisomères et leurs mélanges, ou un sel d'acide pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

- 20 La présente invention concerne en particulier le composé de formule (Ia) ainsi que son utilisation en tant que médicament pour le traitement du cancer.

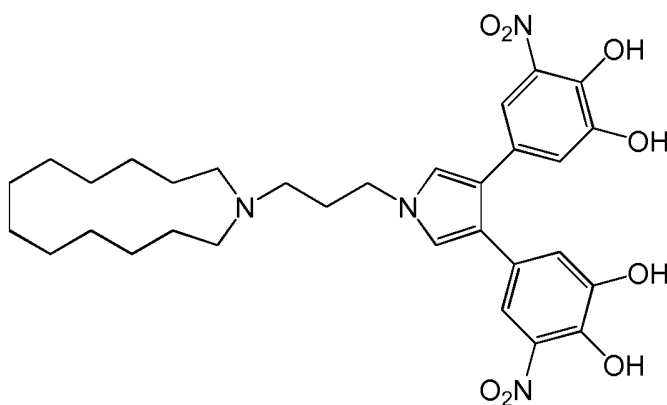


(1a)

En particulier, les radicaux R_1 et R_2 forment ensemble, avec l'atome d'azote qui les porte, un hétérocycle qui est saturé et qui ne comprend pas d'autre hétéroatome que l'atome d'azote qui porte R_1 et R_2 . Plus particulièrement R_1 et R_2 forment ensemble, avec l'atome d'azote qui les porte, un hétérocycle de 10 à 15 chaînons, de préférence à 13 chaînons.

En particulier, la chaîne A est une chaîne hydrocarbonée linéaire saturée comprenant 3 à 6 atomes de carbone, de préférence 3 atomes de carbone.

La présente invention concerne en particulier le composé de formule (1) ou un sel d'acide pharmaceutiquement acceptable de celui-ci



(1)

ainsi que son utilisation en tant que médicament dans le traitement du cancer.

On soulignera qu'*in vitro*, le composé (1), utilisé aux concentrations encadrant son IC₅₀, ne manifeste aucune cytotoxicité vis-à-vis des cellules humaines normales.

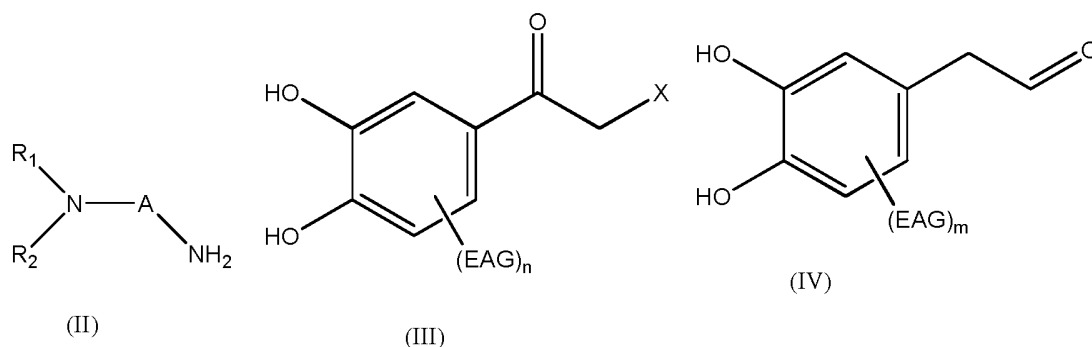
En particulier, le sel d'acide pharmaceutiquement acceptable préféré de la formule générale (I), plus particulièrement le composé (Ia) et préférentiellement le composé (1), est un chlorhydrate.

La présente invention s'étend également à une composition pharmaceutique comprenant au moins un composé de formule générale (I), plus particulièrement le composé (Ia) et préférentiellement le composé (1), avec au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable.

La présente invention concerne l'utilisation des composés (I), plus particulièrement (Ia) et (1), en tant que médicament dans le traitement du cancer, en particulier le cancer du poumon, du sein, du foie, de l'estomac, du côlon, de l'anus, de l'œsophage, du larynx, du nasopharynx, du pancréas, de la prostate, du rein, de la vessie, du duodénum, de l'endomètre, de la plèvre, de la peau, du testicule, de l'ovaire, de l'utérus, du cerveau, des os, de la bouche, de l'œil, ou les cancers hématopoïétiques tels que les leucémies, les leucémies myéloïdes, les lymphomes, le cancer de la moelle osseuse ou encore les tumeurs d'origine neuroectodermique tels que les glioblastomes.

L'invention porte également sur un procédé de préparation d'un composé de formule (I), plus particulièrement (Ia) et (1) comprenant :

a) la réaction entre une amine de formule (II) suivante, un halogénure de formule (III) suivante, et un aldéhyde de formule (IV) suivante,



dans lesquelles n et m, EAG, R₁, R₂ et A sont tels que définis précédemment à propos de la formule générale (I), et X représente un atome d'halogène, pour donner un composé de formule (I).

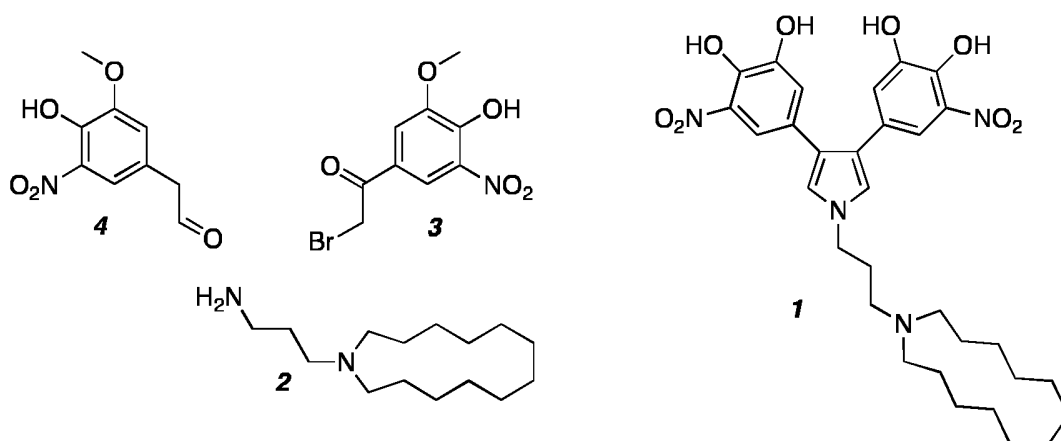
b) éventuellement la formation d'un sel pharmaceutiquement acceptable à partir du composé de formule (I) obtenu à l'étape a) précédente.

Dans ce procédé de préparation l'halogénure (III) et l'amine (II) sont d'abord mis à réagir ensemble avant d'ajouter l'aldéhyde (IV). De préférence, le radical X de l'halogénure (III) est un atome de chlore, de brome ou d'iode.

RESULTATS

5 Synthèse chimique

Le composé 5,5'-(1-(3-(azacyclotridécane-1-yl)propyl)-1*H*-pyrrole-3,4-diyl)bis(3-nitrobenzène-1,2-diol) (*1*) a été préparé via la condensation de l'halogénure de phénacyle **3** avec l'amine primaire **2** et le phénylacétaldéhyde **4**, représentés ci-après :



10

Le *N*-(3-aminopropyl)azatricyclodecane (**2**) ((a) G. Koren-Goldshlager, Y. Kashman, M. Schleyer, *J. Nat. Prod.*, 1998, 61, 282–284; (b) D. E. Williams, K. S. Craig, B. Patrick, L. M. McHardy, R. van Soest, M. Roberge, R. J. Andersen, *J. Org. Chem.*, 2002, 67, 245–258) a été obtenu à partir du laurolactame commercial selon le schéma 1 ci-après :

15

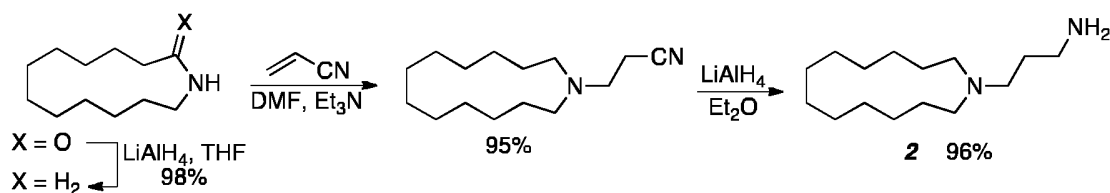
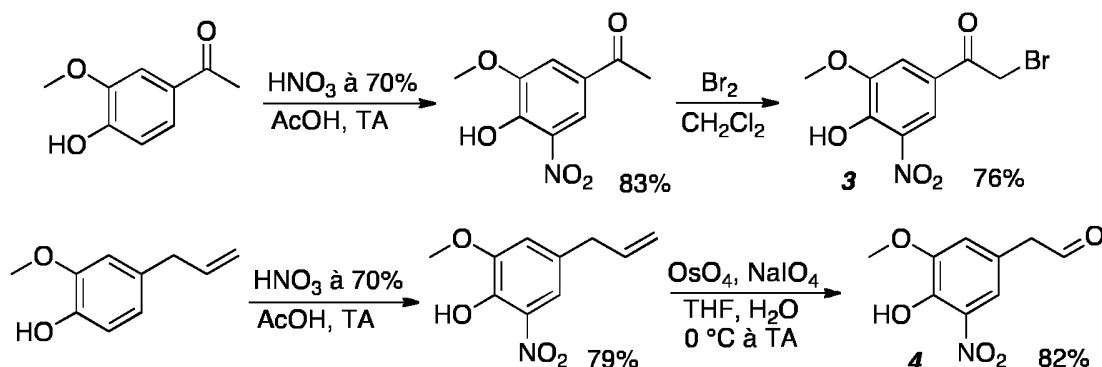


Schéma 1

20

Les composés 3 (J. Borgulya, H. Bruderer, K. Bernauer, G. Zürcher, M. Da Prada, *Helv. Chim. Acta*, 1989, 72, 952–968) et 4 ont été préparés selon le schéma 2 ci-après :



5

Schéma 2

Une méthode de formation monotope a été mise au point pour la synthèse du pyrrole 5 en partant de l'amine 2, de l'halogénure 3 et du phénylacétaldéhyde 4 (Schéma 3).

10

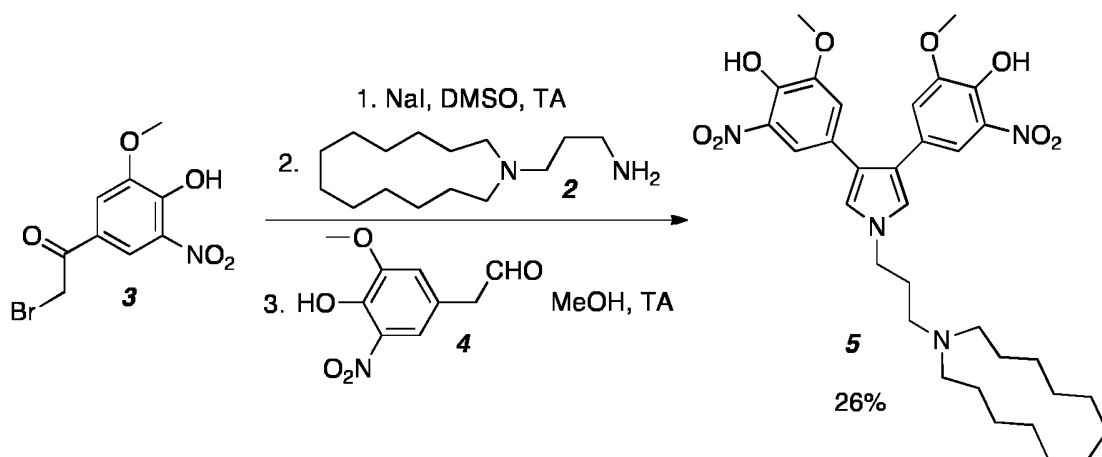


Schéma 3

Par traitement du composé 5 avec une solution de BBr₃ dans le dichlorométhane, le produit déméthylé (1) a été obtenu (Schéma 4).

15

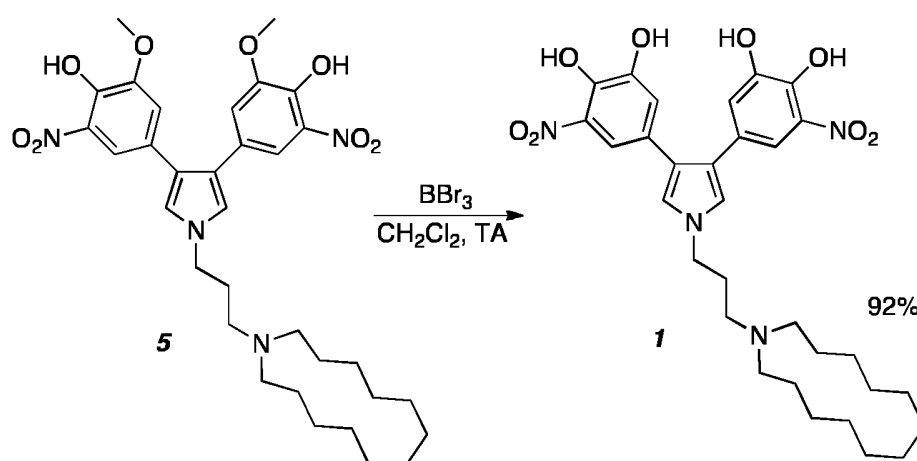


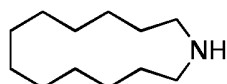
Schéma 4

Le chlorhydrate correspondant a été obtenu par traitement avec une solution de
 5 HCl dans le méthanol.

Partie expérimentale

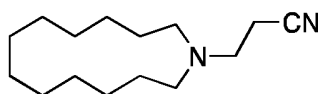
Préparation de la 3-(azacyclotridécan-1-yl)propan-1-amine (2)

Azacyclotridécane ((a) J. E. Baldwin, H. R. Vollmer, V. Lee, *Tetrahedron Lett.*,
 10 1999, 40, 5401–5404; (b) M. H. Weston, K. Nakajima, T. G. Back, *J. Org. Chem.*,
 2008, 73, 4630–4637).



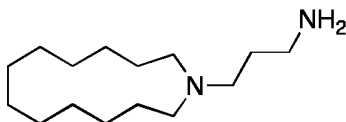
A une solution d'azacyclotridécan-2-one (4,3 g; 21,8 mmol) dans le THF (100
 mL) à TA sous argon, on ajoute graduellement LiAlH_4 (1,5 g; 39,5 mmol) puis le
 15 mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 16 h. Une solution saturée de Na_2SO_4
 est ensuite ajoutée graduellement à 0 °C pour neutraliser l'excès de LiAlH_4 , puis on
 ajoute un mélange éther/pentane 1:1 (200 mL) et un excès de K_2CO_3 solide pour
 absorber toute la phase aqueuse. La phase organique est ensuite décantée et le précipité
 est lavé trois fois avec un mélange éther/pentane 1:1. Le solvant est éliminé sous
 20 pression réduite pour donner l'azacyclotridécane (3,9 g; 98%) sous forme d'huile
 incolore. RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) δ (ppm) 2,62 (4 H; t; $J = 5,1$ Hz); 1,57–1,25 (20
 H; m). RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ (ppm) 47,9; 27,9; 26,5; 26,0; 25,4; 24,6.

3-(Azacyclotridécane-1-yl)propanenitrile



A une solution d'azacyclotridecane (3,8 g; 20,7 mmol) et de triéthylamine (50
5 μL ; 0,35 mmol) dans le DMF (15 mL) sous argon, on ajoute de l'acrylonitrile (7,7 mL;
115 mmol) et le mélange réactionnel est agité pendant 16 h à 70 °C. Le mélange
réactionnel est extrait avec de l'éther, la phase organique est lavée avec de la saumure,
séchée sur Na_2SO_4 , et évaporée sous pression réduite pour donner le 3-
(azacyclotridecan-1-yl)propanenitrile sous forme d'huile incolore (4,64 g; 95%). RMN
10 ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) δ (ppm) 2,76 (2 H; t; $J = 7,2$ Hz); 2,50–2,35 (6 H; m); 1,55–1,28
(20 H; m). RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ (ppm) 53,7; 49,7; 26,5; 26,2; 25,23; 25,18;
15,7.

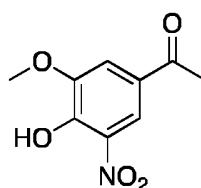
3-(Azacyclotridecan-1-yl)propan-1-amine (2) ((a) G. Koren-Goldshlager, Y.
15 Kashman, M. Schleter, *J. Nat. Prod.*, 1998, 61, 282–284; (b) D. E. Williams, K. S.
Craig, B. Patrick, L. M. McHardy, R. van Soest, M. Roberge, R. J. Andersen, *J. Org.*
Chem., 2002, 67, 245–258).



A une solution de 3-(azacyclotridecan-1-yl)propanenitrile (0,5 g; 2,1 mmol) dans
20 l'éther (15 mL) à 0 °C sous argon, on ajoute graduellement LiAlH_4 (0,3 g; 7,9 mmol) et
le mélange réactionnel est agité à 33 °C pendant 15 min. Une solution saturée de
 Na_2SO_4 est ensuite ajoutée graduellement à 0 °C pour neutraliser l'excès de LiAlH_4 ,
puis du K_2CO_3 solide est ajouté pour absorber toute la phase aqueuse. La phase
organique est décantée et le précipité est lavé trois fois avec de l'éther. Le solvant est
25 éliminé sous pression réduite pour donner 2 (0,49 g, 96%) sous forme d'huile incolore.
RMN ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) δ (ppm) 2,74 (2 H; t; $J = 7,0$ Hz); 2,40–2,28 (6 H; m); 1,57
(2 H; quint; $J = 7,0$ Hz); 1,44–1,32 (22 H; m). RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 125 MHz) δ (ppm)
54,4; 52,8; 41,2; 31,7; 26,7; 26,5; 26,3; 25,8; 25,6.

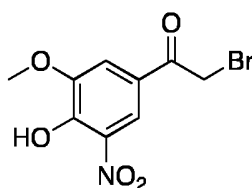
Préparation de la 2-bromo-1-(4-hydroxy-3-méthoxy-5-nitrophényl)éthanone (3)

- 1-(4-Hydroxy-3-méthoxy-5-nitrophényl)éthanone ((a) L. E. Kiss, H. S. Ferreira, L. Torrão, M. J. Bonifácio, P. N. Palma, P. Soares-da-Silva, D. A. Learnmonth, *J. Med. Chem.*, 2010, 53, 3396–3411; (b) X. Lu, S. Wan, J. Jiang, X. Jiang, W. Yang, P. Yu, L. Xu, Z. Zhang, G. Zhang, L. Shan, Y. Wang, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, 46, 2691–2698).



- A une solution de 4'-hydroxy-3'-méthoxyacétophénone (10 g; 60,2 mmol) dans l'acide acétique (140 mL) à TA, on ajoute HNO₃ à 70% (4,2 mL; 66,3 mmol). Le mélange réactionnel est agité pendant 30 min et les cristaux jaunes sont filtrés, lavés avec de l'éther et séchés pour donner la 1-(4-hydroxy-3-méthoxy-5-nitrophényl)éthanone (10,5 g; 83%), pf 158–159 °C (lit. 159–161 °C, éthanol, X. Lu, S. Wan, J. Jiang, X. Jiang, W. Yang, P. Yu, L. Xu, Z. Zhang, G. Zhang, L. Shan, Y. Wang, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, 46, 2691–2698). RMN ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ (ppm) 11,09 (1 H; s), 8,30 (1 H; d; *J* = 1,5 Hz); 7,75 (1 H; d; *J* = 1,5 Hz); 4,01 (3 H; s); 2,62 (3 H; s). RMN ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ (ppm) 194,9; 150,4; 150,1; 133,0; 128,3; 117,7; 115,3; 56,9; 26,0. IR (neat) ν_{max} cm⁻¹ 3228; 3091; 2988; 2925; 1676; 1612; 1535; 1413; 1378; 1350; 1329; 1218; 1136; 1047; 869; 735; 709; SMHR (ES) (*m/z*) [M-H]⁻ calculé pour C₉H₈NO₅ 210,0402; trouvé 210,0404.

2-Bromo-1-(4-hydroxy-3-méthoxy-5-nitrophényl)éthanone (3) (J. Borgulya, H. Bruderer, K. Bernauer, G. Zürcher, M. Da Prada, *Helv. Chim. Acta*, 1989, 72, 952–968).



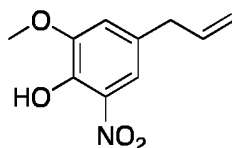
25

A une solution de 1-(4-hydroxy-3-méthoxy-5-nitrophényl)éthanone (9,6 g; 45,5 mmol) dans CH₂Cl₂ (200 mL) à TA, on ajoute graduellement du brome (2,4 mL;

46,8 mmol) et le mélange réactionnel est agité pendant 10 min. Durant cette période la couleur du brome disparaît totalement. Du pentane (400 mL) est alors ajouté. Après 10 min les cristaux jaunes sont filtrés sous une hotte, lavés avec un mélange pentane/éther 1:1, et séchés pour donner **3** (10 g; 76%), pf 143–145 °C (lit. 147–149 °C; J. Borgulya, H. Bruderer, K. Bernauer, G. Zürcher, M. Da Prada, *Helv. Chim. Acta*, 1989, 72, 952–968). RMN ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ (ppm) 11,18 (1 H; s), 8,36 (1 H; d; *J* = 1,8 Hz); 7,77 (1 H; d; *J* = 1,8 Hz); 4,44 (2 H; s); 4,03 (3 H; s). RMN ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ (ppm) 188,7; 150,7; 150,6; 133,0; 125,0; 118,3; 115,9; 57,0; 29,4. IR (neat) ν_{max} cm⁻¹ 3366; 3093; 2991; 2942; 1765; 1689; 1608; 1535; 1386; 1246; 1151; 1060; 912; 887; 850; 762. SMHR (ES) (*m/z*) [M-H]⁻ calculé pour C₉H₇⁷⁹BrNO₅ 287,9508; trouvé 287,9480.

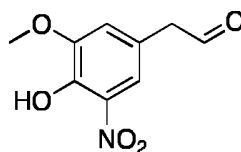
Préparation du 2-(4-hydroxy-3-méthoxy-5-nitrophényl)acétaldéhyde (**4**)

4-Allyl-2-méthoxy-6-nitrophénol (D. E. Lewin, A. Lowy, *J. Am. Chem. Soc.*, 1933, 55, 1995–2000).

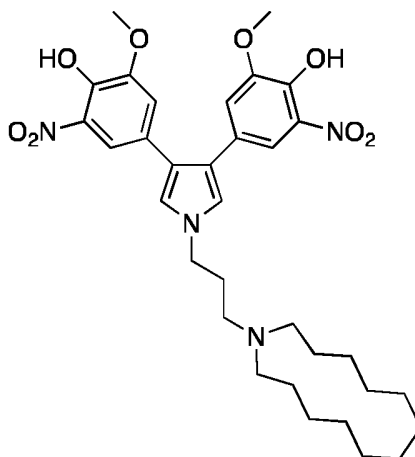


A une solution d'eugénol (6,76 g; 41,2 mmol) dans l'acide acétique (100 mL) à TA, on ajoute HNO₃ à 70% (2,8 mL; 44,2 mmol). Le mélange réactionnel est agité pendant 15 min, extrait avec de l'éther, lavé vigoureusement avec de la saumure, et finalement avec un tampon phosphate (pH = 7). La solution étherée est diluée avec le même volume de pentane, filtrée sur gel de silice et évaporée sous pression réduite pour donner le 4-allyl-2-méthoxy-6-nitrophénol (6,36 g, 79%) sous forme d'huile rouge foncé. RMN ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ (ppm) 10,61 (1 H; sl), 7,48 (1 H; d; *J* = 1,5 Hz); 6,96 (1 H; d; *J* = 1,5 Hz); 5,91 (1 H; m); 5,20–5,08 (2 H; m); 3,92 (3 H; s); 3,35 (2 H; d; *J* = 6,6 Hz). RMN ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ (ppm) 149,8; 144,8; 135,9; 133,6; 131,2; 118,6; 117,1; 115,0; 56,7; 39,4. IR (neat) ν_{max} cm⁻¹ 3225; 3080; 2976; 2939; 1639; 1539; 1428; 1390; 1326; 1259; 1133; 1061; 916; 763. SMHR (ES) (*m/z*) [M+Na]⁺ calculé pour C₁₀H₁₁NNaO₄ 232,0586; trouvé 232,0578.

2-(4-Hydroxy-3-méthoxy-5-nitrophényl)acétaldéhyde (4)

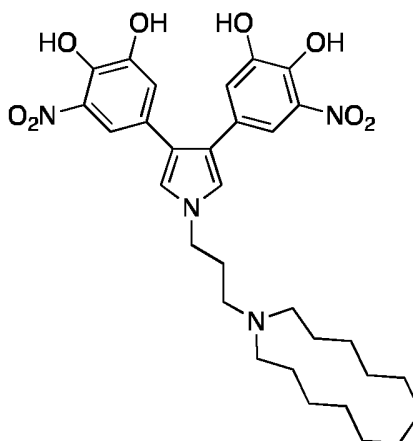


A une solution de 4-allyl-2-méthoxy-6-nitrophénol (2,0 g; 9,6 mmol) dans du THF (23 mL) et de l'eau (8 mL) à 0 °C, on ajoute une solution de tétr oxyde d'osmium
5 0.166 M (23 mg; 0,09 mmol) dans un mélange THF/eau 7:5 (0,55 mL). Après 5 min, on ajoute NaIO₄ (4,8 g; 22 mmol). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C, laissé revenir graduellement à TA pendant 1 h, extrait avec un mélange CH₂Cl₂/éther 1:1 et la phase organique est lavée une fois avec de la saumure, séchée sur Na₂SO₄, et évaporée sous pression réduite à 25 °C. Le residu est dissous dans le volume minimal de
10 CH₂Cl₂ et un mélange pentane/éther 1:1 est ajouté. Le solvant est évaporé sous pression réduite à 25 °C jusqu'à formation de cristaux jaunes; du pentane est ajouté et la solution est concentrée encore une fois. Les cristaux sont filtrés pour donner 4 (1.66 g, 82%), pf 130–132 °C. RMN ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ (ppm) 10,71 (1 H; s), 9,80 (1 H; t; J = 1,8 Hz); 7,57 (1 H; d; J = 1,8 Hz), 6,97 (1 H; d; J = 1,8 Hz), 3,96 (3 H; s); 3,74 (2 H; d; J =
15 1,8 Hz). RMN ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ (ppm) 197,8; 150,4; 145,8; 133,8; 123,1; 119,0; 116,6; 56,8; 49,5. IR (neat) ν_{\max} cm⁻¹ 3226; 1720; 1583; 1449; 1333; 1264; 1238; 1134; 1064; 921; 764. SMHR (ES) (m/z) [M-H]⁻ calculé pour C₉H₈NO₅ 210,0402; trouvé 210,0399.

20 5-(1-(3-(Azacyclotridécane-1-yl)propyl)-4-(4-hydroxy-3-méthoxy-5-nitrophényl)-1*H*-pyrrol-3-yl)-3-nitrobenzène-1,2-diol (5)

Le bromure de phénacyle 3 (1,23 g; 4,2 mmol) et NaI (3,2 g; 21 mmol) sont ajoutés à une solution de l'amine 2 (1 g, 4,2 mmol) dans le DMSO (20 mL) à TA sous argon et le mélange réactionnel est agité pendant 15 min à TA. Une solution de l'aldéhyde 4 (900 mg, 4,3 mmol) dans le méthanol (60 mL) est ensuite ajoutée et le mélange réactionnel est agité pendant 16 h à TA. Il est extrait avec CH₂Cl₂ et la phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO₃, de la saumure, séchée sur Na₂SO₄, évaporée sous pression réduite et chromatographiée sur gel de silice (gradient d'élution de CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH 80:1) pour donner 5 (682 mg, 26%) sous forme d'un solide rouge amorphe. RMN ¹H (CDCl₃; 500 MHz) δ (ppm) 7,65 (2 H; d; J = 2,0 Hz); 7,01 (2 H; d; J = 2,0 Hz); 6,87 (2 H; s); 4,05 (2 H; t; J = 7,0 Hz); 3,77 (6 H; s); 2,70–2,43 (6 H; m); 2,15 (2 H; quint; J = 7,5 Hz); 1,66–1,34 (20 H; m). RMN ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ (ppm) 149,7; 144,8; 133,9; 126,7; 121,0; 120,7; 118,7; 114,5; 56,8; 53,0; 51,7; 47,7; 27,9; 25,7; 25,6; 25,5; 25,2; 23,9. IR (neat) ν_{\max} cm⁻¹ 3255; 2930; 2859; 1552; 1522; 1464; 1337; 1240; 1156; 919; 732. SMHR (ES) (m/z) [M+H]⁺ calculé pour C₃₃H₄₅N₄O₈ 625,3237; trouvé 625,3228.

5,5'-(1-(3-(Azacyclotridécane-1-yl)propyl)-1*H*-pyrrole-3,4-diyl)bis(3-nitrobenzène-1,2-diol) (*I*)



Au composé 5 (50 mg; 0,080 mmol) sous argon à TA, on ajoute BBr₃ (solution 1 M dans CH₂Cl₂, 2 mL; 2 mmol). Le mélange hétérogène est agité pendant 30 min à TA. On ajoute un mélange CH₂Cl₂/pentane 1:1 (30 mL) et, après 5 min, le précipité est séparé, lavé avec le même mélange de solvants et dissous dans le volume minimal de CH₂Cl₂/éthanol 10:1. La solution est introduite sur une colonne de gel de silice, éluee avec CH₂Cl₂/éthanol 20:1 et évaporée sous pression réduite pour donner *I* sous forme

de solide amorphe rouge-orange (44 mg; 92%). RMN ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) δ (ppm) 7,44 (2 H; d; $J = 1,8$ Hz); 7,00 (2 H; s); 6,97 (2 H; d; $J = 1,8$ Hz); 4,12 (2 H; t; $J = 6,3$ Hz); 3,30–3,12 (6 H; m); 2,32 (2 H; quint; $J = 6,0$ Hz); 1,85–1,70 (4 H; m); 1,60–1,39 (16 H; m). RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) δ (ppm) 147,5; 141,9; 134,7; 127,0; 121,4; 121,3; 120,5; 113,5; 52,4; 52,0; 46,1; 25,9; 25,3; 24,6; 24,2; 23,9; 21,2. IR (neat) ν_{max} cm^{-1} 3379; 2932; 1621; 1555; 1471; 1300; 1236; 803; 762; 667. SMHR (ES) (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{N}_4\text{O}_8$ 597,2924; trouvé 597,2938.

Chlorhydrate $1 \cdot \text{HCl}$

A une solution de 1 dans un volume minimal de dichlorométhane, on ajoute une solution de HCl 2 M dans le méthanol (5 équiv) diluée dans de l'éther. Le précipité formé est alors filtré et séché. Pf 179–184 °C (déc). RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$; 300 MHz) δ (ppm) 7,19 (2 H; d; $J = 3,0$ Hz); 7,06 (2 H; s); 6,90 (2 H; d; $J = 3,0$ Hz); 4,00 (2 H; t; $J = 6,0$ Hz); 3,15–2,97 (6 H; m); 2,24 (2 H; quint; $J = 6,0$ Hz); 1,75–1,58 (4 H; m); 1,44–1,28 (16 H; m). RMN ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$; 75 MHz) δ (ppm) 148,0; 140,4; 137,7; 126,7; 121,3; 120,5; 120,1; 113,5; 51,9; 51,2; 46,7; 25,9; 25,7; 24,9; 24,7; 24,4; 20,9. IR (neat) ν_{max} cm^{-1} 3111; 2930; 2861; 1552; 1463; 1293; 1233; 1061; 866; 801; 762. SMHR (ES) (m/z) $[\text{M}-\text{HCl}-\text{H}]^-$ calculé pour $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_8$ 595,2768; trouvé 595,2773.

Etude biologique *in vitro*

L'activité biologique du composé (1) a été étudiée *in vitro* sur 3 lignées cellulaires cancéreuses différentes:

- HCT-116 (carcinome colorectal)
- U87 (glioblastome)
- K562 (leucémie myéloïde)

ainsi que sur 3 types cellulaires normaux non cancéreux :

- HUVEC (cellules endothéliales ombilicales vasculaires humaines).
- NHDF (fibroblastes de derme humain)
- HFDPC (cellules papillaires dermiques dérivées de follicules de cheveux humains).

Les cellules sélectionnées pour cette étude ont été incubées à 37°C en présence du composé (I) ajouté dans le milieu de culture à différentes concentrations et à différents temps.

L'ensemble des expériences réalisées a permis de déterminer le degré de toxicité du composé testé, d'étudier son effet sur le déroulement du cycle cellulaire ainsi que sa capacité à induire une réponse autophagique et une mort cellulaire par apoptose. Nous avons étudié son mode d'action afin de déterminer sa cible moléculaire.

1. Etude de l'effet du composé (I) sur la croissance cellulaire

L'effet du composé (I) sur la croissance des cellules HCT-116, U87 et K562 a été évalué l'aide d'un test de croissance cellulaire (CellTiter-Blue™ Cell Viability Assay, Promega). Les courbes de croissance ainsi que les valeurs des IC50 (concentration du composé qui induit la diminution de la croissance cellulaire de 50%) déterminées après 72h du traitement des cellules avec le composé (I) sont présentées dans la Figure 1. Elles sont de 30 nM pour les cellules HCT-116, 45 nM pour les cellules U87 et 70 nM pour les K562.

L'effet du composé (I) sur la croissance cellulaire a été décrit de façon plus détaillée sur la lignée cellulaire HCT-116. Cette étude a été réalisée en fonction de la concentration et du temps d'exposition des cellules à la molécule testée (24h, 48h et 72h) par le comptage du nombre de cellules vivantes après exclusion des cellules mortes par coloration au bleu de trypan.

La Figure 2 représente l'effet du composé (I) sur le nombre et la viabilité des cellules HCT 116 en fonction de sa concentration et du temps de traitement.

Les résultats présentés dans la Figure 2a montrent que le nombre de cellules diminue en fonction de la concentration et du temps de traitement avec le composé (I). Le composé (I) à la concentration de 25 nM manifeste déjà une activité dès 24 heures de traitement en réduisant le nombre de cellules de 40%, allant jusqu'à plus de 80% d'inhibition dès 48 heures pour les concentrations supérieures à l'IC50. Cet effet inhibiteur est cependant associé à une absence de modification de la viabilité cellulaire (Figure 2b). Ceci indique que l'action du composé (I) est cytostatique et non cytotoxique.

Afin de déterminer la spécificité d'action du composé (I) sur les cellules cancéreuses, nous avons évalué son effet vis-à-vis de cellules normales humaines

HUVEC, NHDF et HFDPC et des légendes de cellule cancéreuse HCT-116, U87 et K652. Les résultats présentés dans la Figure 3 montrent que l'IC₅₀ déterminé après 72h de traitement avec le composé (I) est 2 μ M pour les cellules HUVEC, 5 μ M pour les cellules NHDF et 10 μ M pour les HFDPC.

5 Les valeurs des IC₅₀ sont ainsi, jusqu'à 300 fois plus élevées pour les cellules normales par rapport à celles qui sont obtenues pour les cellules cancéreuses. Ceci indique clairement que les cellules malignes sont significativement plus sensibles à l'action du composé (I) par rapport aux cellules saines.

2. Etude de l'effet du composé (I) sur le cycle cellulaire

10 L'analyse par cytométrie en flux (FC500, Beckman Coulter) des cellules HCT-116 traitées avec le composé (I) a montré que ce composé bloque la division cellulaire en phase G₀/G₁. Cet effet est significatif après 24 heures d'exposition des cellules au composé (I) utilisé aux concentrations de 30 et 50 nM (Figure 4).

3. Etude de l'effet du composé (I) sur l'expression des protéines p21 et p27
15 impliquées dans l'arrêt du cycle cellulaire

À partir des résultats précédents montrant un arrêt du cycle en G₀/G₁, associé à une diminution du nombre de cellules en l'absence de toxicité, nous avons évalué l'expression des protéines p21 et p27 associées à l'arrêt du cycle cellulaire en G₀/G₁. Le gène de la protéine p27 est décrit comme étant régulé par FOXO3, alors que celui de
20 la protéine p21 est contrôlé par le facteur de transcription p53, stimulé entre autre par le stress oxydatif. Les cellules HCT 116 ont été traitées par le composé (I) pendant 24h. Les extraits cellulaires ont été ensuite analysés par Western blot. Les résultats présentés dans la Figure 5 montrent une augmentation de l'expression de la protéine p27 suite au traitement avec le composé (I) aux concentrations 25 et 50 nM. Le composé (I) n'a
25 aucun effet significatif sur l'expression de la protéine p21.

4. Etude de l'effet du composé (I) sur l'induction de l'apoptose

Afin d'affirmer que le composé (I) n'induit pas la mort cellulaire par apoptose, les cellules HCT-116 traitées pendant 24h ont été analysées pour évaluer l'activité des caspases 3 et 7 et la modification du potentiel transmembranaire mitochondrial.

30 L'activité des caspases 3 et 7, enzymes marqueurs de l'apoptose, a été mesurée à l'aide du test Apo-ONE (Promega) après traitement des cellules HCT-116 avec le composé (I) aux concentrations variantes de 5 nM à 75 nM. Les résultats présentés dans

la Figure 6a montrent l'absence de variations dans l'activité de ces enzymes suite au traitement avec la molécule testée.

L'étude du potentiel transmembranaire mitochondrial, $\Delta\psi_m$, a été réalisée par cytométrie en flux, en utilisant la sonde JC-1 (MitoProbe™ JC-1 assay, Molecular Probes). JC-1 est un composé anionique lipophile qui pénètre sélectivement dans la mitochondrie, dont la couleur change du vert au rouge lorsque le potentiel transmembranaire augmente. Contrairement aux cellules saines, les cellules en apoptose, présentent un faible $\Delta\psi_m$ qui est associé à une forte coloration verte de la sonde JC-1.

Les résultats présentés dans la Figure 6b montrent que le traitement des cellules HCT-116 avec le composé (I) aux concentrations variantes de 25 nM à 100 nM ne modifie pas significativement le $\Delta\psi_m$. L'ensemble de ces résultats indique que le composé (I) n'induit pas la voie apoptotique dépendante des caspases (mort cellulaire programmé de type I).

5. Etude de l'autophagie

Dans le but de savoir si l'arrêt du cycle cellulaire induit par le composé (I) entraîne une réaction autophagique, les cellules HCT-116 ont été traitées par le composé (I) à différentes doses pendant 24 heures. Les extraits cellulaires ont été ensuite soumis à l'analyse par Western blot afin de visualiser l'expression de la protéine LC3-II. En effet, la protéine LC3 existe dans la cellule soit sous forme cytosolique (LC3-I) soit associée aux phagosomes (LC3-II). Cette dernière est le marqueur de la réaction autophagique.

Les résultats présentés dans la Figure 7 montrent clairement une augmentation de l'expression de LC3-II en présence du composé (I) utilisé aux concentrations variants de 5 nM à 100 nM.

6. Etude du mode d'action du composé (I)

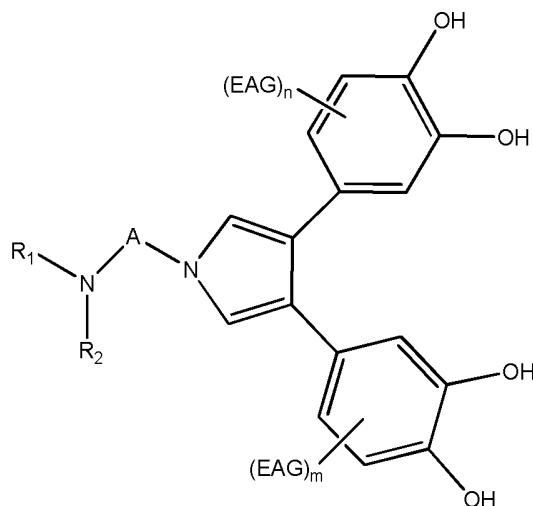
Compte tenu de l'arrêt du cycle cellulaire en phase G0/G1 associé à une réponse autophagique en absence d'apoptose suite au traitement avec le composé (I), nous avons étudié l'action de ce composé sur la voie de survie impliquant PI3 kinase - Akt - Foxo. Cette voie de signalisation se trouve très souvent dérégulée (par stimulation) dans un grand nombre de cellules cancéreuses et contribue à leur survie.

Les résultats présentés dans la Figure 8 montrent que le composé (I) bloque cette voie de survie. En effet, les cellules HCT-116 ont été exposées pendant 24h à l'action du composé (I) aux concentrations variant de 5 nM à 100 nM. L'analyse des extraits cellulaires par Western blot a révélé que le composé (I) dès la concentration de 25 nM supprime totalement la phosphorylation de la sérine 473 de la protéine Akt (Figure 8a). Il stimule l'expression de la protéine FOXO3 (Figure 8b), dont la synthèse est réduite par la protéine Akt-phosphorylée. Il stimule l'expression de la protéine peroxiredoxine 1, dont le gène est décrit comme étant sous contrôle du facteur FOXO3 (Figure 8c).

La protéine peroxiredoxine est une enzyme ayant une activité peroxydase, contrôlant la concentration de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) intracellulaire. Nous avons donc évalué l'effet du composé (I) sur la concentration d' H_2O_2 intracellulaire, en utilisant le DCF-DA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate, Sigma) comme marqueur de l' H_2O_2 intracellulaire. Le peroxyde d'hydrogène est un second messenger intracellulaire. Il régule, selon sa concentration, de nombreuses fonctions comme la prolifération ou l'apoptose. Une réduction de sa concentration est associée à une diminution de prolifération. Les résultats d'analyse en cytométrie en flux des cellules HCT-116 traitées par le composé (I) à la concentration de 50nM montrent une diminution d'environ 50% de la concentration d' H_2O_2 intracellulaire après 18 heures de traitement (Figure 9a). L'effet observé est dose dépendant (Figure 9b).

REVENDICATIONS

1. Composé de formule (I) suivante :



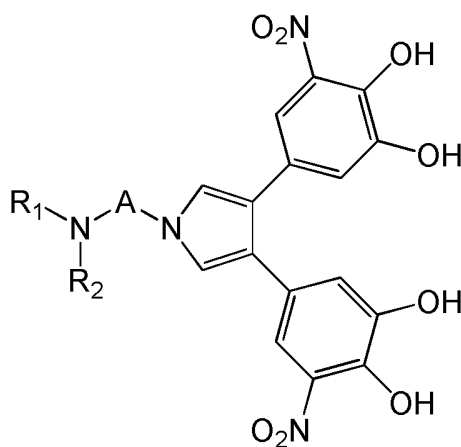
5

dans laquelle :

- m est un entier de 0 à 3, de préférence de 0 à 2 ;
- n est un entier de 0 à 3, de préférence de 0 à 2;
- $m + n \geq 1$
- 10 - EAG représente un groupe électroattracteur indépendamment choisi parmi un atome d'halogène, un groupe NO₂, CF₃, CCl₃, CN, CO₂H, (C=O)NR₂, CH=NR, (C=S)OR, (C=O)SR, CS₂R, SO₂R, SO₂NR₂, SO₃R, P(O)(OR)₂, P(O)(R)₂, B(OR)₂, où R est un radical (C₁ – C₆) alkyle, un groupe phényle ou un atome d'hydrogène;
- A représente une chaîne hydrocarbonée, saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée,
- 15 - comprenant de 1 à 10 atomes de carbone ; et
- R₁ et R₂ représentent chacun, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène, un groupe CO-(C₁ – C₆)-alkyle, (C₁ – C₆) alkyle, phényle ou phényle-(C₁ – C₆)-alkyle, où R₁ et R₂ forment ensemble, avec l'atome d'azote qui les porte, un hétérocycle à 5 à 15 chaînons, éventuellement substitué par un groupe (C₁ – C₆)
- 20 alkyle ;

y compris ses stéréoisomères et leurs mélanges, ou un sel d'acide pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

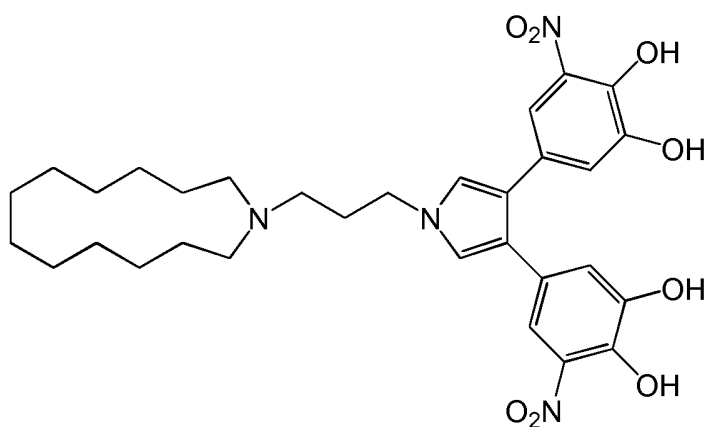
2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un composé de formule (Ia) suivante :



(Ia)

- 5 dans laquelle les radicaux R_1 et R_2 ont les significations données à la revendication 1, y compris ses stéréoisomères et leurs mélanges, ou un sel d'acide pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.
3. Composé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que R_1 et R_2 forment
10 ensemble, avec l'atome d'azote qui les porte, un hétérocycle qui est saturé et qui ne comprend pas d'autre hétéroatome que l'atome d'azote qui porte R_1 et R_2 .
4. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que R_1 et
15 R_2 forment ensemble, avec l'atome d'azote qui les porte, un hétérocycle de 10 à 15 chaînons, de préférence à 13 chaînons.
5. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que A est une chaîne hydrocarbonée linéaire saturée comprenant 3 à 6 atomes de carbone, de préférence 3 atomes de carbone.

6. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, correspondant au composé de formule (1) suivante :



(1)

5

ou un sel d'acide pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

7. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que le sel d'acide pharmaceutiquement acceptable est un chlorhydrate.

10

8. Composition pharmaceutique comprenant au moins un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable.

15

9. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, pour son utilisation en tant que médicament.

10. Composé selon la revendication 9, pour son utilisation en tant que médicament pour le traitement du cancer.

20

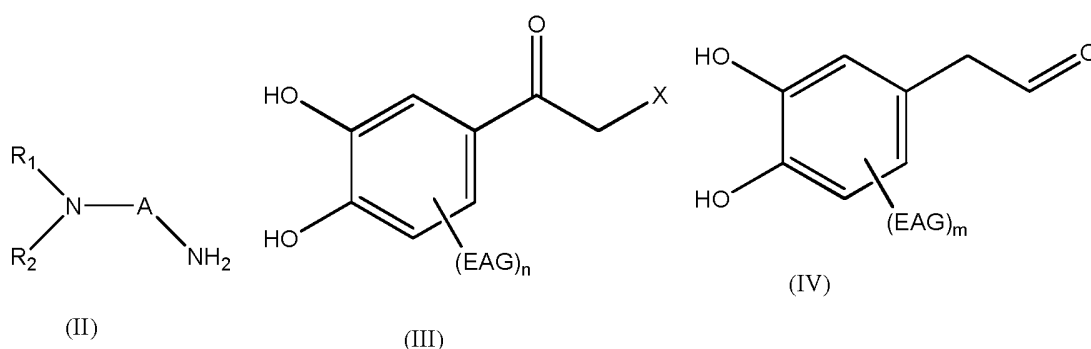
11. Composé selon la revendication 10, caractérisé en ce que le cancer est choisi parmi le cancer du poumon, du sein, du foie, de l'estomac, du côlon, de l'anus, de l'œsophage, du larynx, du nasopharynx, du pancréas, de la prostate, du rein, de la vessie, du duodénum, de l'endomètre, de la plèvre, de la peau, du testicule, de l'ovaire, de l'utérus, du cerveau, des os, de la bouche, de l'œil, ou les cancers hématopoïétiques tels que les leucémies, les leucémies myéloïdes, les lymphomes, le

25

cancer de la moelle osseuse ou encore les tumeurs d'origine neuroectodermique tels que les glioblastomes.

12. Procédé de préparation d'un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, comprenant :

a) la réaction entre une amine de formule (II) suivante, un halogénure de formule (III) suivante, et un aldéhyde de formule (IV) suivante,



dans lesquelles n et m, EAG, R₁, R₂ et A sont tels que définis à la revendication 1 et X représente un atome d'halogène, pour donner un composé de formule (I) selon la revendication 1, et

b) éventuellement la formation d'un sel pharmaceutiquement acceptable à partir du composé de formule (I) obtenu à l'étape (1) précédente.

13. Procédé de préparation d'un composé de formule (I) selon la revendication 12, caractérisé en ce que l'halogénure (III) et l'amine (II) sont d'abord mis à réagir ensemble avant d'ajouter l'aldéhyde (IV).

14. Procédé de préparation d'un composé de formule (I) selon l'une des revendications 12 et 13, caractérisé en ce que X est un atome de chlore, de brome ou d'iode.

1 / 9

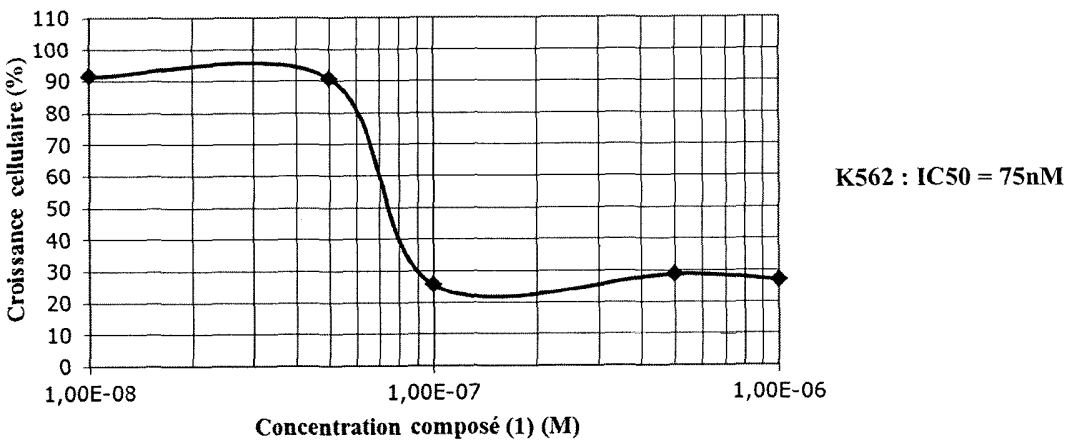
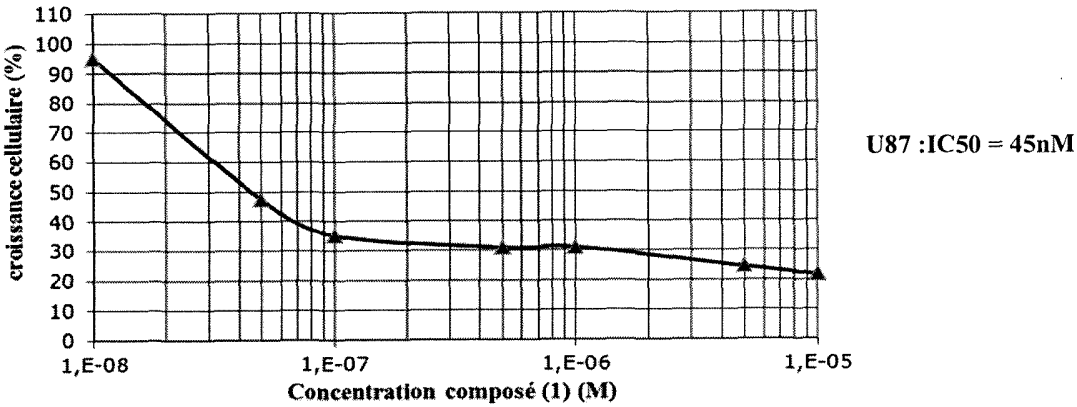
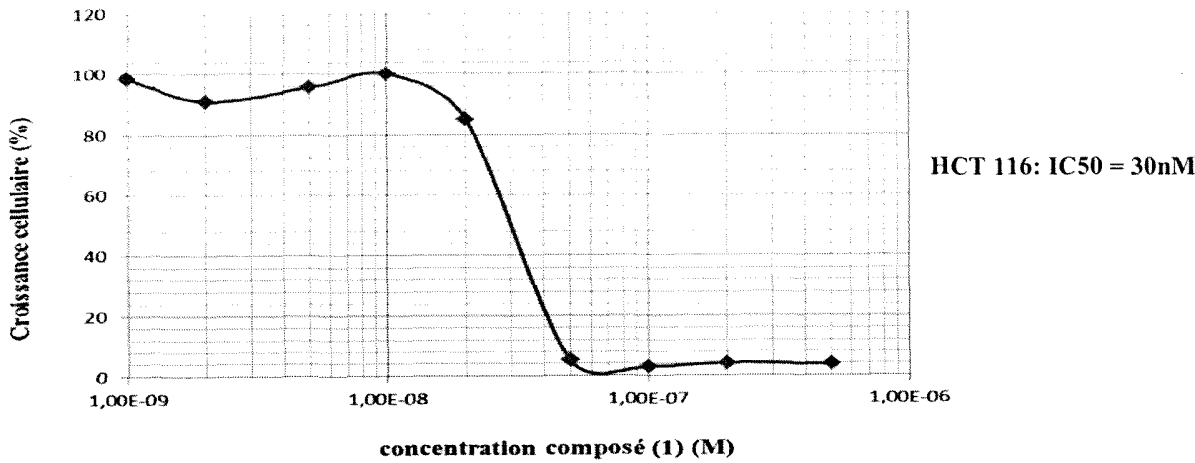


FIGURE 1

2 / 9

	24h	48h	72h
10nM	-12%	-18%	-20%
25nM	-40%	-62%	-50%
50nM	-44%	-83%	-91%
100nM	-44%	-83%	-92%
200nM	-45%	-86%	-94%

FIGURE 2a

	24h	48h	72h
	viabilité%	Viabilité%	Viabilité%
C	98	99	99
10nM	98	99	99
25nM	98	98	99
50nM	97	96	95
100nM	97	97	98
200nM	98	94	95

FIGURE 2b

3 / 9

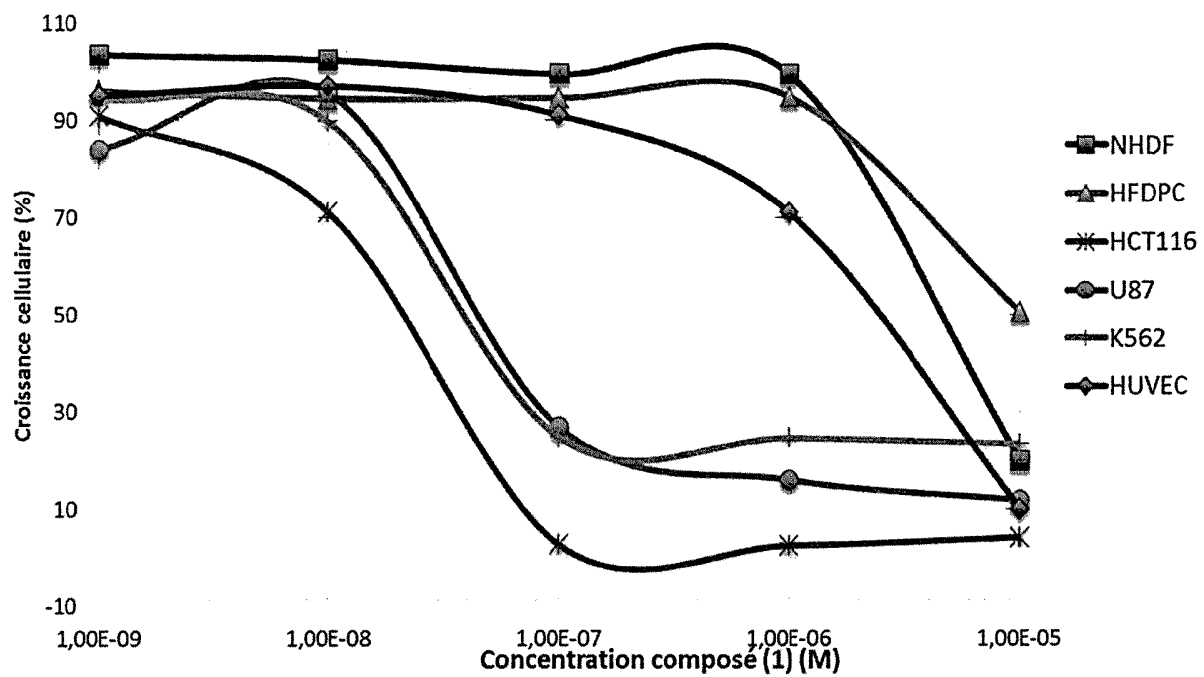


FIGURE 3

NT : non traité

	GO/G1 %	S %	G2/M %
NT1	27	47	26
NT2	26	43	31
10 nM	28	47	25
30 nM	42	40	18
50nM	64	21	15

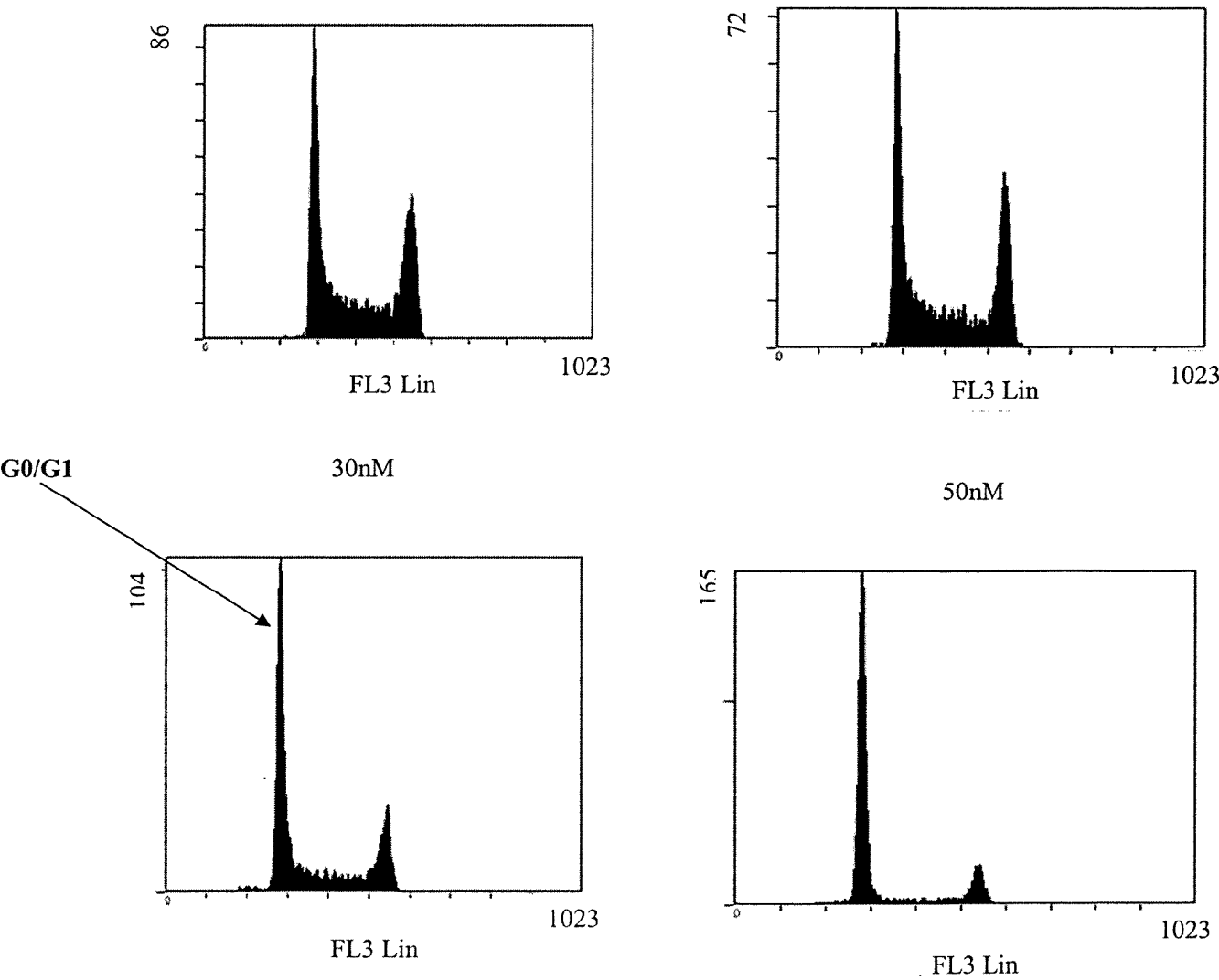


FIGURE 4

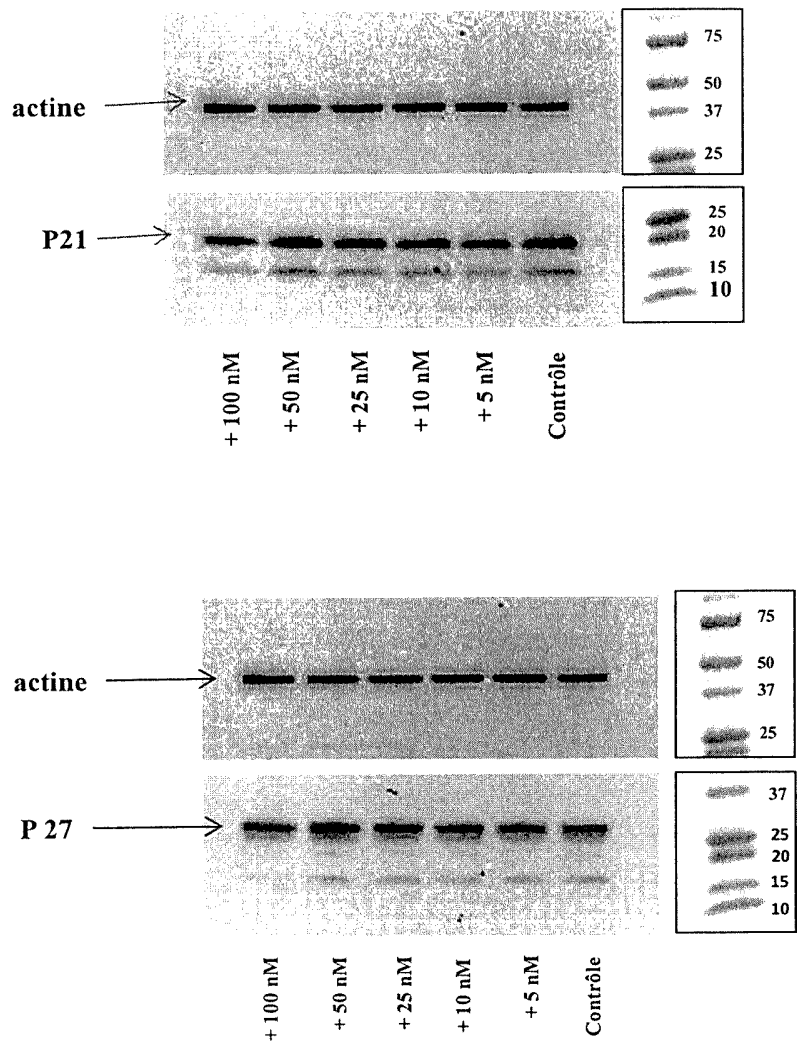


FIGURE 5

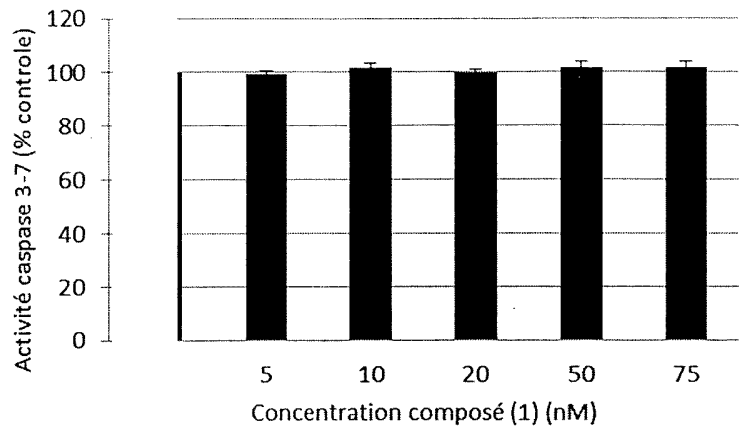


FIGURE 6a

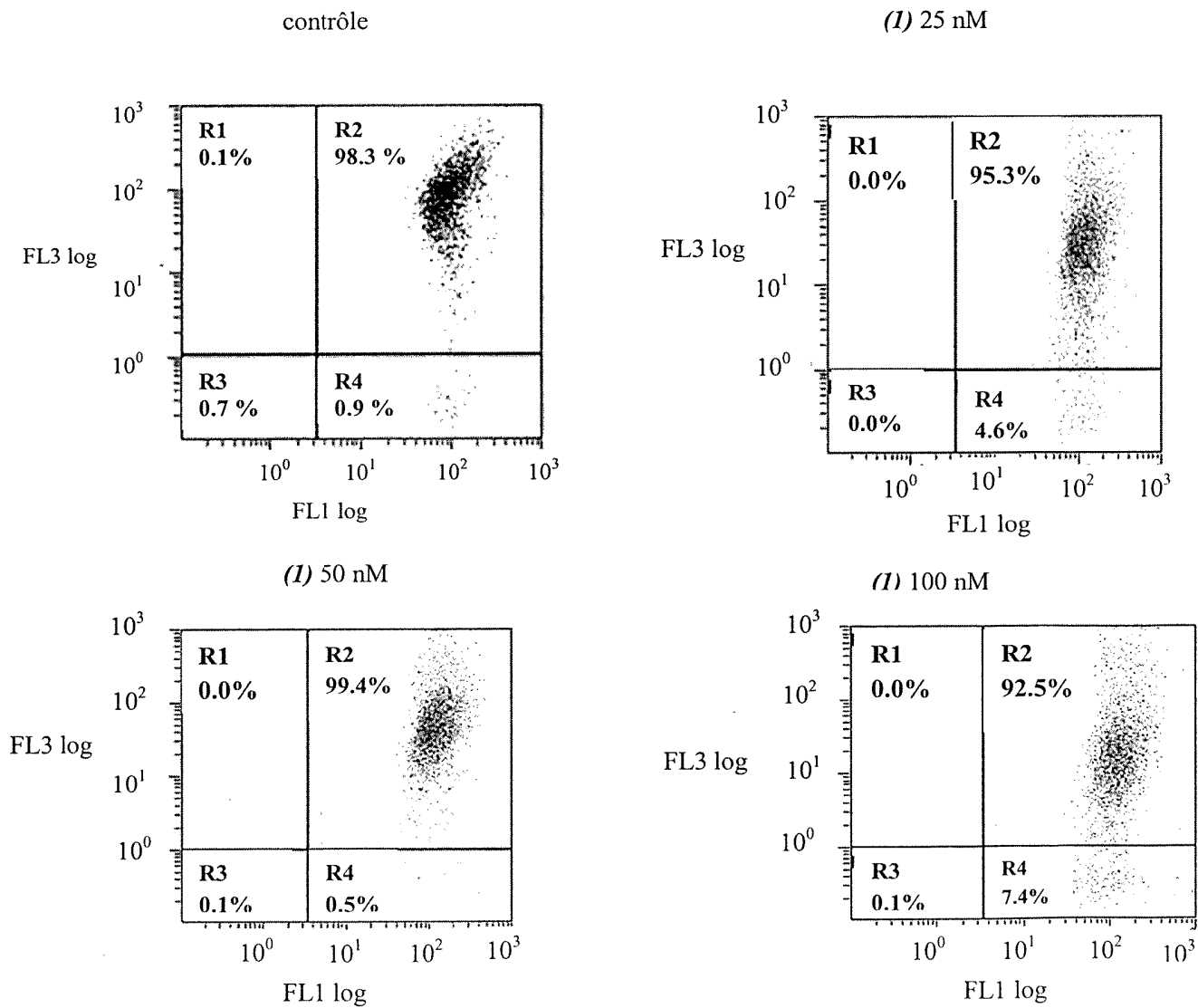


FIGURE 6b

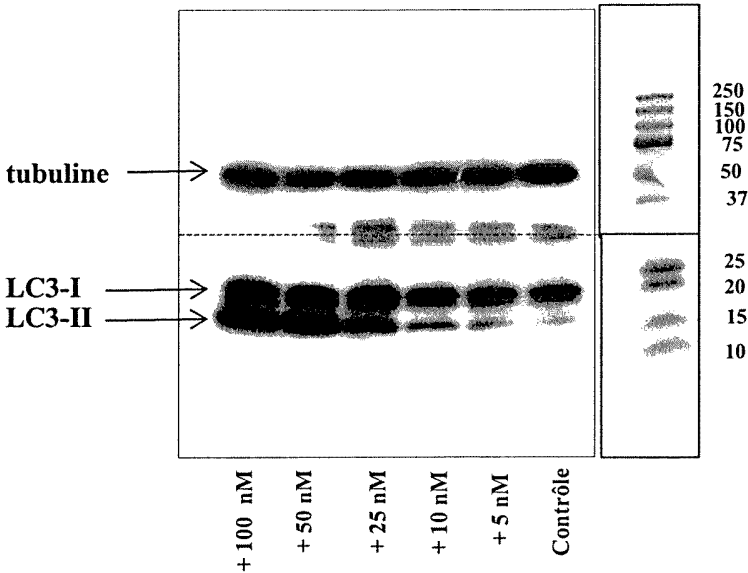


FIGURE 7

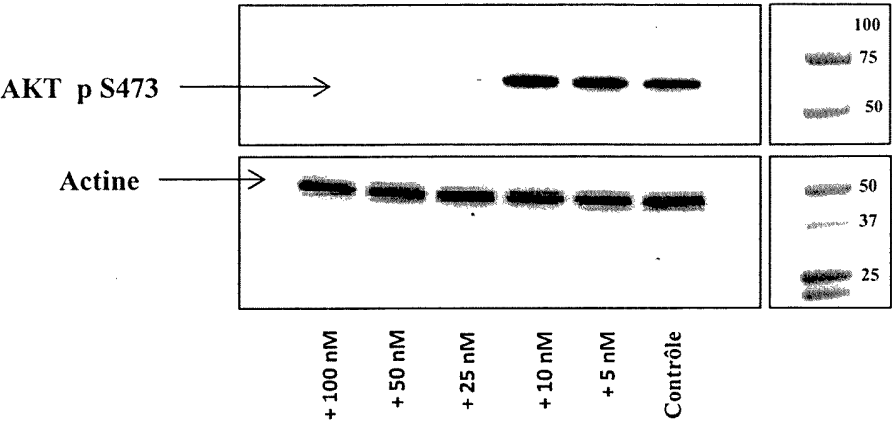


FIGURE 8a

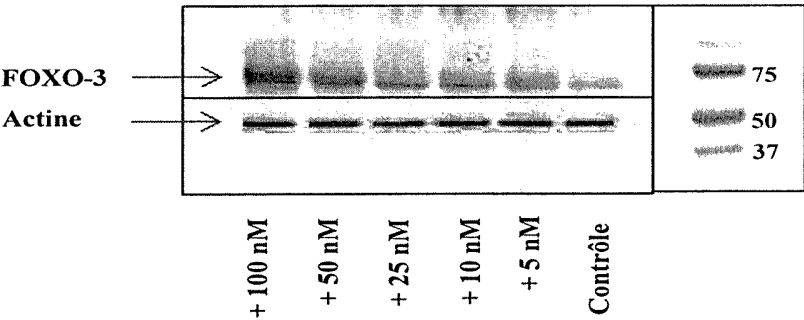


FIGURE 8b

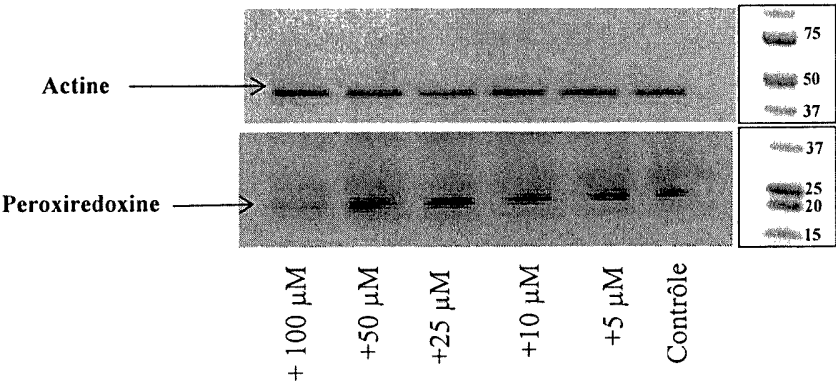


FIGURE 8c

Diagramme de recouvrement 1

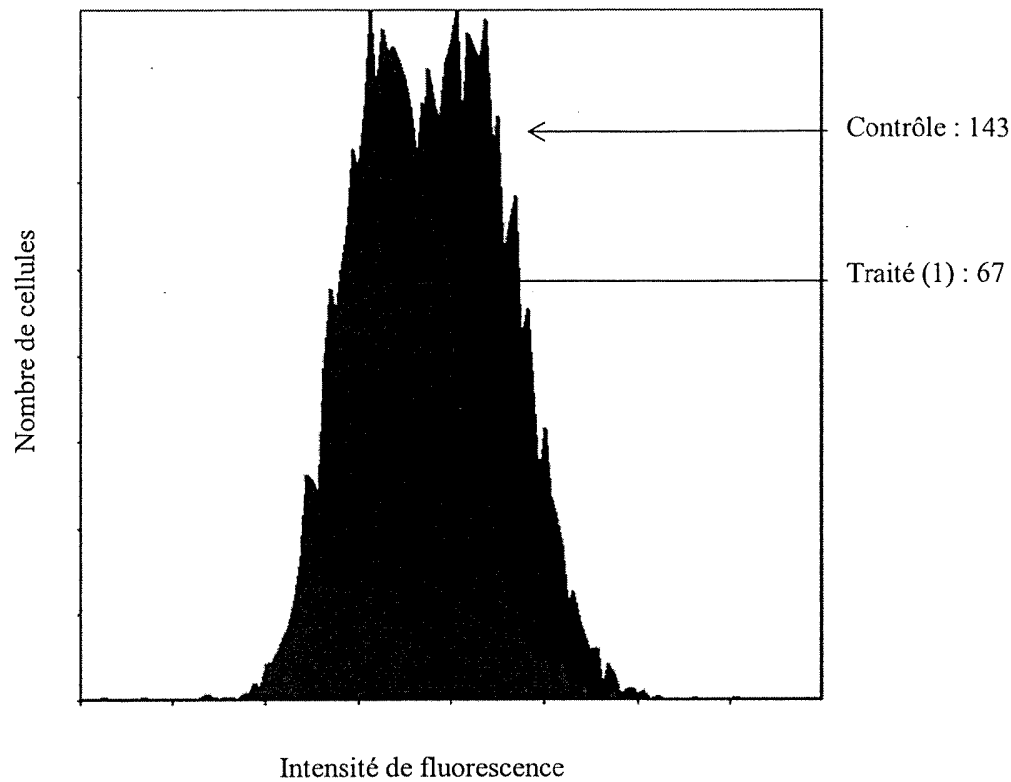


FIGURE 9a

DCF (H2O2), HCT, 18h

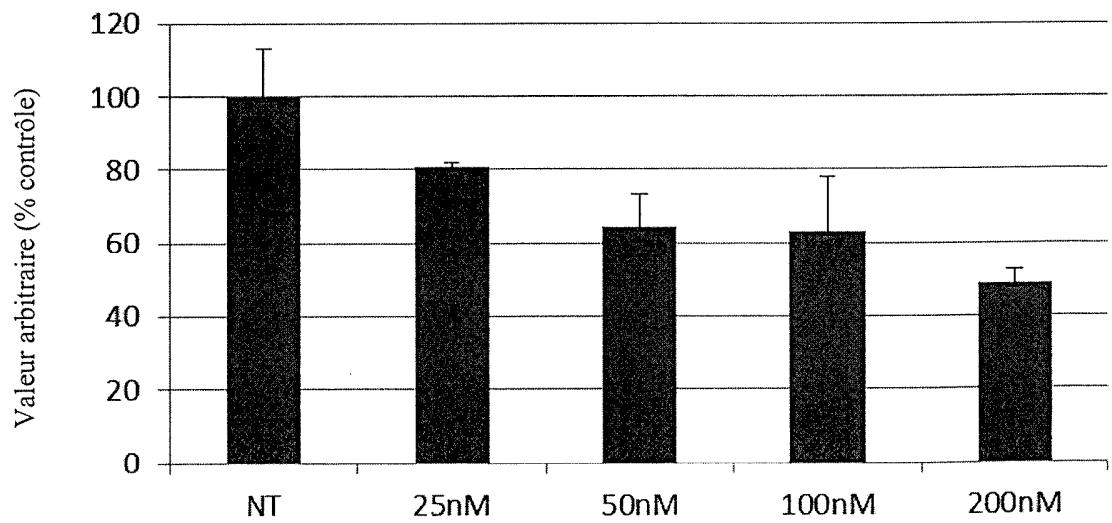


FIGURE 9b

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/071445

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D207/333 A61K31/40 A61P35/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 00/20411 A1 (PHARMA MAR SA [ES]; RUFFLES GRAHAM KEITH [GB]; KASHMAN YOEL [IL]) 13 April 2000 (2000-04-13) pages 12-14; claims 1,4-7 -----	1-14
A	YOEL KASHMAN ET AL: "Halitulin, a new cytotoxic alkaloid from the marine sponge Haliclona tulearensis", TETRAHEDRON LETTERS, vol. 40, no. 5, 1999, pages 997-1000, XP004151502, ISSN: 0040-4039, DOI: 10.1016/S0040-4039(98)02467-8 the whole document ----- -/-	1-14



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 November 2013

Date of mailing of the international search report

19/11/2013

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Ladenburger, Claude

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/071445

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DAVID E. WILLIAMS ET AL: "Motuporamines, anti-invasion and anti-angiogenic alkaloids from the marine sponge Xestospongia exigua (Kirkpatrick): isolation, structure elucidation, analogue synthesis, and conformational analysis", JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol. 67, no. 1, 2002, pages 245-258, XP002195935, ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/J0016101C cited in the application the whole document	1-14
A	----- WO 2008/064317 A1 (UNIV NEW JERSEY MED DENT [US]; WELSH WILLIAM J [US]) 29 May 2008 (2008-05-29) claims 1,14; compound Ini -----	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2013/071445

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0020411	A1	13-04-2000	<div> <div>AU</div> <div>6217099 A</div> <div>26-04-2000</div> </div> <div> <div>CA</div> <div>2346865 A1</div> <div>13-04-2000</div> </div> <div> <div>EP</div> <div>1119565 A1</div> <div>01-08-2001</div> </div> <div> <div>JP</div> <div>2002526540 A</div> <div>20-08-2002</div> </div> <div> <div>US</div> <div>6635656 B1</div> <div>21-10-2003</div> </div> <div> <div>WO</div> <div>0020411 A1</div> <div>13-04-2000</div> </div>

WO 2008064317	A1	29-05-2008	NONE

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2013/071445

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. C07D207/333 A61K31/40 A61P35/00 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) C07D		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 00/20411 A1 (PHARMA MAR SA [ES]; RUFFLES GRAHAM KEITH [GB]; KASHMAN YOEL [IL]) 13 avril 2000 (2000-04-13) pages 12-14; revendications 1,4-7 -----	1-14
A	YOEL KASHMAN ET AL: "Halitulin, a new cytotoxic alkaloid from the marine sponge Haliclona tulearensis", TETRAHEDRON LETTERS, vol. 40, no. 5, 1999, pages 997-1000, XP004151502, ISSN: 0040-4039, DOI: 10.1016/S0040-4039(98)02467-8 le document en entier ----- -/-	1-14
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents </div> <div> <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe </div> </div>		
* Catégories spéciales de documents cités: <div style="display: flex;"> <div style="flex: 1;"> <p>"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> </div> <div style="flex: 1;"> <p>"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément</p> <p>"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier</p> <p>"&" document qui fait partie de la même famille de brevets</p> </div> </div>		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée <div style="text-align: center;">6 novembre 2013</div>		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale <div style="text-align: center;">19/11/2013</div>
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé <div style="text-align: center;">Ladenburger, Claude</div>

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>DAVID E. WILLIAMS ET AL: "Motuporamines, anti-invasion and anti-angiogenic alkaloids from the marine sponge Xestospongia exigua (Kirkpatrick): isolation, structure elucidation, analogue synthesis, and conformational analysis", JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol. 67, no. 1, 2002, pages 245-258, XP002195935, ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/J0016101C cité dans la demande le document en entier</p> <p>-----</p>	1-14
A	<p>WO 2008/064317 A1 (UNIV NEW JERSEY MED DENT [US]; WELSH WILLIAM J [US]) 29 mai 2008 (2008-05-29) revendications 1,14; composé Ini</p> <p>-----</p>	1-14

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/EP2013/071445

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 0020411	A1	13-04-2000	AU 6217099 A 26-04-2000
			CA 2346865 A1 13-04-2000
			EP 1119565 A1 01-08-2001
			JP 2002526540 A 20-08-2002
			US 6635656 B1 21-10-2003
			WO 0020411 A1 13-04-2000

WO 2008064317	A1	29-05-2008	AUCUN
