Dérivés pipérazinyles pour le traitement de cancers

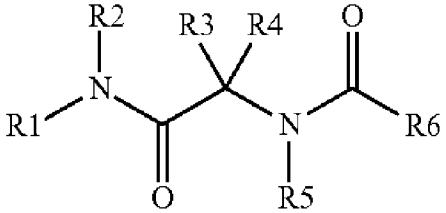
La présente invention concerne des composés pipérazinyles utiles notamment pour le traitement du cancer, ainsi que les compositions les contenant et leur procédé de préparation.

Avec l'allongement de la durée de vie, le cancer, une des premières causes de mortalité au monde, touche de plus en plus de personnes et reste difficile à soigner.

Le développement de résistance aux agents anticancéreux est un problème sérieux qui freine considérablement le traitement de nombreux types de cancers. La baisse de tolérance à un agent est souvent accompagnée de résistance croisée à une variété d'autres agents. Cette résistance multiple aux agents anticancéreux (Multidrug Resistance, MDR) est causée par de nombreux mécanismes dont seul un petit nombre est bien caractérisé. Ces mécanismes incluent une augmentation de l'efflux des médicaments, une augmentation des capacités de détoxication de la cellule, une altération des cibles moléculaires affectées par ces agents-anticancéreux, une modification du système de réparation de l'ADN ainsi qu'une modification des voies apoptotiques (Baguley, Mol. Biotechnol., 2010, 46, 308-316 ; Gatti et al., Methods Mol. Med. 2005, 111, 127-148 ; Longley et al., J. Pathol. 2005, 205, 275-292 ; Kohno et al., Eur. J. Cancer 2005, 41, 2577-2586).

Le développement de traitement anticancéreux pouvant échapper à ces mécanismes de résistance est un enjeu majeur et jusqu'à maintenant les essais initiés n'ont donné que peu de résultats.

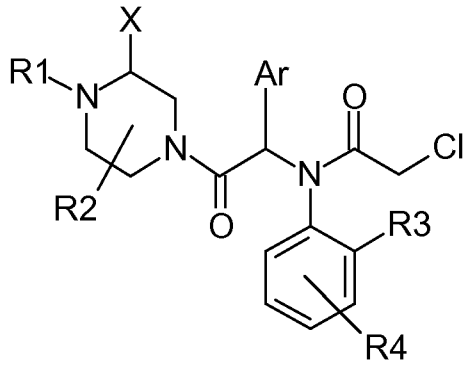
Des agents anticancéreux plus particulièrement destinés au traitement d'un cancer résistant à une chimiothérapie sont décrits dans WO 2009/150248. Ils répondent à la formule générale (I) suivante :



dans laquelle R1 et R2 peuvent former, avec l'atome d'azote qui les porte, un hétérocycle tel qu'un groupe pipérazinyle éventuellement substitué, les seuls composés exemplifiés étant éventuellement substitués sur l'atome d'azote de la pipérazine.

Les inventeurs de la présente demande de brevet ont découvert de manière surprenante que l'introduction d'un substituant X en alpha du second atome d'azote de la pipérazine (voir formule (I) ci-dessous) permettait d'améliorer les propriétés physico-chimiques des composés, en particulier leurs solubilités, leurs propriétés pharmacocinétiques ainsi que leurs activités biologiques.

La présente demande de brevet a donc plus particulièrement pour objet un composé pipérazinyle substitué de formule générale (I) suivante :



(I)

ainsi que ses sels pharmaceutiquement acceptables, ses stéréoisomères ou mélanges de stéréoisomères en toutes proportions, en particulier un mélange d'énantiomère, et notamment un mélange racémique,

pour laquelle :

- X représente un groupement (C_1-C_6)alkyle, phényle, benzyle, C(O)OR5, ou C(O)NHR5,
- R1 représente un atome d'hydrogène ou un groupement C(O)H, C(O)R6, ou C(O)OR6,
- R2 représente un atome d'hydrogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, ou R2 forme avec R1 ou X une chaîne hydrocarbonée saturée de manière à former un cycle à 5 ou 6 chaînons, notamment à 5 chaînons,
- R3 représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, ou (C_1-C_6)alkoxy,

– R4 représente un atome d'hydrogène ou d'halogène, CN, NO_2, ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, (C_1-C_6)alkoxy, aryloxy, benzyloxy, ou hétéroaryloxy, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène,

– Ar représente un groupement thiophényle ou un groupement phényle éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène, et

- R5 et R6 représentent, indépendamment l'un de l'autre, un groupement (C_1-C_6)alkyle, aryl-(C_1-C_6)alkyle ou aryle, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène.

Par « halogène », on entend au sens de la présente invention un atome de fluor, de brome, de chlore ou d'iode. Avantageusement, il s'agit d'un atome de fluor, de brome ou de chlore.

Par groupement « alkyle », on entend, au sens de la présente invention, tout groupe hydrocarboné saturé, linéaire ou ramifié, comportant avantageusement 1 à 6, de préférence 1 à 4 atomes de carbone. Il peut s'agir en particulier des groupes méthyle, éthyle, n-propyle, iso-propyle, n-butyle, iso-butyle, sec-butyle, tert-butyle, n-pentyle, néopentyle ou n-hexyle. Avantageusement il s'agit d'un groupe méthyle, éthyle, isopropyle, tert-butyle ou isobutyle.

Le cas échéant, le groupement alkyle peut être substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène, en particulier brome, chlore et fluor et avantageusement fluor. Il s'agira en particulier dans ce cas du groupement -CF_3.

Par groupement « alkoxy », on entend, au sens de la présente invention, un groupement alkyle tel que défini ci-dessus lié au reste de la molécule par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène. Des exemples de groupement alkoxy sont le groupe méthoxy, éthoxy isopropoxy ou encore tert-butoxy. Avantageusement, il s'agit du méthoxy ou du tert-butoxy, et encore plus avantageusement, il s'agit du méthoxy.

Le cas échéant, le groupement alkoxy peut être substitué par un ou plusieurs atomes de fluor. Dans ce cas, il s'agira avantageusement du groupement -$OCHF_2$ ou -OCF_3, en particulier -OCF_3.

Par groupement « aryle », on entend, au sens de la présente invention, un groupement aromatique, comportant de préférence de 5 à 10 atomes de carbone et comprenant un ou plusieurs cycles accolés. Avantageusement, il s'agit du phényle.

Par groupement « hétéroaryle », on entend, au sens de la présente invention, tout groupe aryle tel que défini ci-dessus dans lequel un ou plusieurs atomes de carbone ont été remplacés par un ou plusieurs hétéroatomes, avantageusement 1 à 4, et encore plus avantageusement 1 à 2, tels que par exemple des atomes de soufre, azote ou oxygène. Avantageusement, il s'agit d'un groupe furyle, thiophényle, pyridinyle, pyrimidyle, quinolinyle, 1,2,3-thiadiazolyle, benzoimidazolyle, indazolyle ou 1,2,3-benzotriazolyle.

Par groupement « aryloxy », on entend, au sens de la présente invention, un groupement aryle tel que défini ci-dessus lié au reste de la molécule par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène. Il s'agit avantageusement d'un groupement phényloxy.

Par groupement « hétéroaryloxy », on entend, au sens de la présente invention, un groupement hétéroaryle tel que défini ci-dessus lié au reste de la molécule par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène. Il s'agit avantageusement d'un groupement pyridinyloxy.

Par groupement « aryl-(C_1-C_6)alkyle », on entend au sens de la présente invention, un groupement aryle tel que défini ci-dessus lié au reste de la molécule par l'intermédiaire d'un groupement alkyle tel que défini ci-dessus comprenant 1 à 6 atomes de carbone. Avantageusement, il s'agit d'un groupe benzyle ou 1-phénéthyle, et encore plus avantageusement d'un benzyle.

Dans la présente invention, on entend par « pharmaceutiquement acceptable » ce qui est utile dans la préparation d'une composition pharmaceutique qui est généralement sûre, non toxique et ni biologiquement ni autrement non souhaitable et qui est acceptable pour une utilisation vétérinaire de même qu'en pharmacopée humaine.

Par « sels pharmaceutiquement acceptables » d'un composé, on entend désigner dans la présente invention des sels qui sont pharmaceutiquement acceptables, comme défini ici, et qui possèdent l'activité pharmacologique souhaitée du composé parent. De tels sels comprennent :

(1) les hydrates et les solvates,

(2) les sels d'addition d'acide formés avec des acides inorganiques tels que l'acide chlorhydrique, l'acide bromhydrique, l'acide sulfurique, l'acide nitrique, l'acide

phosphorique et similaires ; ou formés avec des acides organiques tels que l'acide acétique, l'acide benzènesulfonique, l'acide benzoïque, l'acide camphresulfonique, l'acide citrique, l'acide éthane-sulfonique, l'acide fumarique, l'acide glucoheptonique, l'acide gluconique, l'acide glutamique, l'acide glycolique, l'acide hydroxynaphtoïque, l'acide 2-hydroxyéthanesulfonique, l'acide lactique, l'acide maléique, l'acide malique, l'acide mandélique, l'acide méthanesulfonique, l'acide muconique, l'acide 2-naphtalènesulfonique, l'acide propionique, l'acide salicylique, l'acide succinique, l'acide dibenzoyl-L-tartrique, l'acide tartrique, l'acide p-toluènesulfonique, l'acide triméthylacétique, l'acide trifluoroacétique et similaires, avantageusement, ce sera l'acide chlorhydrique ; et

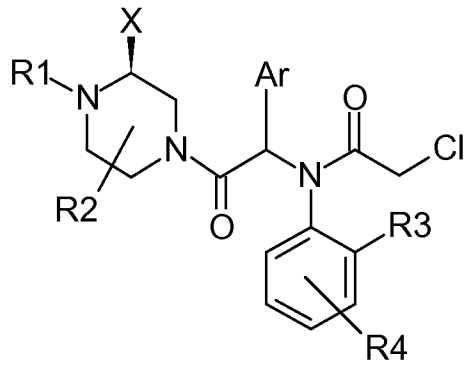
(3) les sels formés lorsqu'un proton acide présent dans le composé parent soit est remplacé par un ion métallique, par exemple un ion de métal alcalin (Na^+, K^+ ou Li^+ par exemple), un ion de métal alcalino-terreux (comme Ca^{2+} ou Mg^{2+}) ou un ion d'aluminium ; soit se coordonne avec une base organique ou inorganique. Les bases organiques acceptables comprennent la diéthanolamine, l'éthanolamine, N-méthylglucamine, la triéthanolamine, la trométhamine et similaires. Les bases inorganiques acceptables comprennent l'hydroxyde d'aluminium, l'hydroxyde de calcium, l'hydroxyde de potassium, le carbonate de sodium et l'hydroxyde de sodium.

Dans la présente invention, on entend désigner par « stéréoisomères », au sens de la présente invention, des diastéréoisomères ou des énantiomères. Il s'agit donc d'isomères optiques. Les stéréoisomères qui ne sont pas des images dans un miroir l'un de l'autre sont ainsi désignés par « diastéréoisomères », et les stéréoisomères qui sont des images dans un miroir non superposables sont désignés par « énantiomères ».

Un atome de carbone lié à quatre substituants non identiques est appelé un centre chiral.

Un mélange équimolaire de deux énantiomères est appelé mélange racémique.

Les composés selon la présente invention pourront en particulier répondre à la formule (I-bis) suivante :



(I-bis),

l'atome d'azote portant le groupement X étant alors de configuration (S).

Avantageusement, X représentera un groupe (C_1-C_6)alkyle, en particulier (C_1-C_4)alkyle, phényle ou benzyle.

Avantageusement, R1 représentera un atome d'hydrogène ou un groupement C(O)R6, ou C(O)OR6, en particulier un atome d'hydrogène.

Avantageusement, R2 représentera un atome d'hydrogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, tel que méthyle.

Avantageusement, R3 représentera un atome d'hydrogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, tel que méthyle.

Avantageusement, R4 représentera un atome d'hydrogène ou d'halogène, ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, (C_1-C_6)alkoxy, ou aryloxy, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène, en particulier de fluor.

Avantageusement, Ar représentera un groupement thiophényle ou un groupement phényle substitué par un ou plusieurs atomes de fluor tel que le 4-fluoro-phényle.

Selon un mode de réalisation particulier l'invention, X représente un groupement (C_1-C_6)alkyle, phényle, benzyle, C(O)OR5, C(O)NHR5 ; R1 représente un atome d'hydrogène ; R2 représente un atome d'hydrogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, avantageusement (C_1-C_4)alkyle ou forme avec R1 ou X une chaîne hydrocarbonée saturée de manière à former un cycle à 5 chaînons ; R3 représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, en particulier (C_1-C_3)alkyle, ou (C_1-C_6)alkoxy, tel que méthoxy ; R4 représente un atome d'halogène, CN, NO_2 ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, (C_1-C_6)alkoxy, aryloxy, benzyloxy, ou

hétéroaryloxy, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène ; Ar représente un groupement thiophényle ou un groupement phényle éventuellement substitué par un halogène ; et R5 et R6 représentent, indépendamment l'un de l'autre, un groupement (C_1-C_6)alkyle, aryl-(C_1-C_6)alkyle, ou aryle, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène.

Encore plus avantageusement, X représente un groupement (C_1-C_6)alkyle, phényle, benzyle, C(O)OR5, C(O)NHR5 ; R1 représente un atome d'hydrogène ; R2 représente un atome d'hydrogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, avantageusement (C_1-C_4)alkyle ; R3 représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, en particulier (C_1-C_3)alkyle, ou (C_1-C_6)alkoxy, tel que méthoxy ; R4 représente un atome d'halogène, ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, (C_1-C_6)alkoxy, aryloxy, benzyloxy, ou hétéroaryloxy, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène ; Ar représente un groupement thiophényle ou un groupement phényle éventuellement substitué par un halogène ; et R5 et R6 représentent, indépendamment l'un de l'autre, un groupement (C_1-C_6)alkyle, aryl-(C_1-C_6)alkyle, ou aryle, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène.

De manière encore plus avantageuse, X représente un groupement (C_1-C_6)alkyle, phényle, ou benzyle ; R1 et R2 représentent un atome d'hydrogène ; R3 représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, en particulier (C_1-C_3)alkyle ; R4 représente un atome d'halogène, ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, (C_1-C_6)alkoxy, aryloxy, ou benzyloxy, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène ; Ar représente un groupement thiophényle ou un groupement phényle éventuellement substitué par un halogène ; et R5 et R6 représentent, indépendamment l'un de l'autre, un groupement (C_1-C_6)alkyle, aryl-(C_1-C_6)alkyle, ou aryle, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène.

De préférence, X représente un groupement (C_1-C_6)alkyle, phényle, ou benzyle ; R1 et R2 représentent un atome d'hydrogène ; R3 représente un atome d'hydrogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, en particulier (C_1-C_3)alkyle ; R4 représente un atome d'halogène, ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, (C_1-C_6)alkoxy, aryloxy, ou benzyloxy,

ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène ; Ar représente un groupement thiophényle ou un groupement phényle éventuellement substitué par un atome de fluor tel que le 4-fluoro-phényle ; et R5 et R6 représentent, indépendamment l'un de l'autre, un groupement (C_1-C_6)alkyle, aryl-(C_1-C_6)alkyle, ou aryle, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes de fluor.

Il s'agira en particulier de l'un des exemples I-1a à I-63 décrits dans la partie expérimentale ci-après, ou d'un de leurs sels pharmaceutiquement acceptables, de leurs stéréoisomères ou mélanges de stéréoisomères en toutes proportions, en particulier un mélange d'énantiomère, et notamment un mélange racémique.

La présente invention concerne également un composé de formule (I) tel que défini ci-dessus pour son utilisation en tant que médicament, en particulier destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer, et en particulier au traitement d'un cancer résistant à une chimiothérapie.

La présente invention concerne également l'utilisation d'un composé de formule (I) tel que défini ci-dessus pour la fabrication d'un médicament, en particulier destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer, et en particulier au traitement d'un cancer résistant à une chimiothérapie.

La présente invention concerne également une méthode de traitement ou de prévention du cancer, en particulier d'un cancer résistant à une chimiothérapie, comprenant l'administration d'une quantité suffisante d'un composé de formule (I) tel que défini ci-dessus à un patient en ayant besoin.

La présente invention a également pour objet une composition pharmaceutique comprenant au moins un composé de formule (I) tel que défini ci-dessus, en association avec un ou plusieurs excipients pharmaceutiquement acceptables.

Dans un mode de réalisation particulier, cette composition pourra comprendre au moins un autre principe actif.

En particulier, ce(s) principe(s) actif(s) pourra(pourront) être des agents anticancéreux utilisés classiquement dans le traitement du cancer. Ces agents anticancéreux pourront être choisi(s) en particulier parmi le cisplatine et ses dérivés tels

que le carboplatine et l'oxalyplatine ; des taxanes tels que le taxol, le taxotère, le paclitaxel et le docétaxel ; des alcaloïdes de vinca tels que la vinblastine, la vincristine et la vinorelbine ; des analogues de purine tels que la mercaptopurine, la thioguanine, la pentostatine et la 2-chlorodésoxyadénosine ; des inhibiteurs de topoisomerase I tels que des composés de la camptothécine comme l'irinotecan et le topotecan ; des inhibiteurs de topoisomerase II tels que l'épipodophyllotoxine, la podophyllotoxine et leurs dérivés comme l'étoposide et le téniposide ; des dérivés nucléosides antitumoraux tels que le 5-fluorouracile, la leucovorine, la gemcitabine ou la capécitabine ; des agents alkylants tels que des moutardes à l'azote comme la cyclophosphamide, la mechloréthamine, la chlorambucile et le melphalan, des nitroso-urées comme la carmustine, la lomustine et la streptozocine, des alkylsulfonates comme le busulfan, des éthylènimines et des méthylmélamines comme la thiotépa et l'hexaméthylmélamine, et des tétrazines comme la dacarbazine ; des dérivés d'antracyclines anti-tumoraux tels que la daunorubicine, l'adriamycine, le doxil, l'idarubicine et la mitoxantrone ; des molécules ciblant le récepteur IGF-I telles que la picropodophylline ; des dérivés de tetracarcin tels que le tetrocarcin A ; des corticostéroïdes tels que la prednisone ; des anticorps tels que le trastuzumab (anticorps anti-HER2), le rituximab (anticorps anti-CD20), le gemtuzamab, le cetuximab, le pertuzumab et le bevacizumab; des antagonistes ou des modulateurs sélectifs des récepteurs des oestrogènes tels que le tamoxifen, le fulvestrant, le toremifène, le droloxifène, le faslodex et le raloxifène ; des inhibiteurs d'aromatase tels que l'exémestane, l'anastrozole, le letrozole et le vorozole ;des agents de différenciation tels que les rétinoïdes comme l'acide rétinoïque et la vitamine D et des agents bloquant le métabolisme de l'acide rétinoïque tels que l'accutane ; des inhibiteurs d'ADN méthyle-transférase tels que l'azacytidine et le decitabine ; des antifolates tels que le permetrexed disodique ; des antibiotiques tels que l'antinomycine D, la bléomycine, la mitomycine C, l'actinomycine D, la carminomycine, la daunomycine et la plicamycine ; des antimétabolites tels que la chlofarabine, l'aminoptérine, la cytosine arabinoside, la floxuridine et le méthotrexate ; des agents induisant l'apoptose et des agents antiangiogéniques des inhibiteurs de Bcl-2 tels que YC 137, BH 312, ABT 737, le gossypol, HA 14-1, TW 37 et l'acide décanoïque ; des agents se liant à la tubuline tels que la combrestatine, des dérivés de colchicine et le nocodazole ; des inhibiteurs de kinase tels que le flavoperidol, le mésylate d'imatinib, l'erlotinib et le gefitinib ; des

inhibiteurs de farnésyl transférase tels que le tipifarnib ; des inhibiteurs des histone-désacétylases tels que le butyrate de sodium, l'acide suberoylanilide hydroxamique, le depsipeptide, NVP- LAQ824, R306465, JNJ-26481585 et la trichostatine A ; des inhibiteurs du système ubiquitine-protéasome tels que MLN .41, le bortezomib et l'yondelis ; et des inhibiteurs de télomérase tels que la telomestatine.

Les composés selon l'invention peuvent être administrés par voie orale, sublinguale, parentérale, sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, transdermique, locale ou rectale.

Dans les compositions pharmaceutiques de la présente invention pour l'administration orale, sublinguale, parentérale, sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, transdermique, locale ou rectale, l'ingrédient actif peut être administré sous formes unitaires d'administration, en mélange avec des supports pharmaceutiques classiques, aux animaux ou aux êtres humains. Les formes unitaires d'administration appropriées comprennent les formes par voie orale telles que les comprimés, les gélules, les poudres, les granules et les solutions ou suspensions orales, les formes d'administration sublinguale et buccale, les formes d'administration parentérale, sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, intranasale ou intraoculaire et les formes d'administration rectale.

Lorsque l'on prépare une composition solide sous forme de comprimés, on mélange l'ingrédient actif principal avec un véhicule pharmaceutique tel que la gélatine, l'amidon, le lactose, le stéarate de magnésium, le talc, la gomme arabique ou analogues. On peut enrober les comprimés de saccharose ou d'autres matières appropriées ou encore on peut les traiter de telle sorte qu'ils aient une activité prolongée ou retardée et qu'ils libèrent d'une façon continue une quantité prédéterminée de principe actif.

On obtient une préparation en gélules en mélangeant l'ingrédient actif avec un diluant et en versant le mélange obtenu dans des gélules molles ou dures.

Une préparation sous forme de sirop ou d'élixir peut contenir l'ingrédient actif conjointement avec un édulcorant, un antiseptique, ainsi qu'un agent donnant du goût et un colorant approprié.

Les poudres ou les granules dispersibles dans l'eau peuvent contenir l'ingrédient actif en mélange avec des agents de dispersion ou des agents mouillants, ou des agents de mise en suspension, de même qu'avec des correcteurs de goût ou des édulcorants.

Pour une administration rectale, on recourt à des suppositoires qui sont préparés avec des liants fondant à la température rectale, par exemple du beurre de cacao ou des polyéthylèneglycols.

Pour une administration parentérale, intranasale ou intraoculaire, on utilise des suspensions aqueuses, des solutions salines isotoniques ou des solutions stériles et injectables qui contiennent des agents de dispersion et/ou des agents mouillants pharmacologiquement compatibles.

Le principe actif peut être formulé également sous forme de microcapsules, éventuellement avec un ou plusieurs supports additifs.

Les composés de l'invention peuvent être utilisés à des doses comprises entre 0,01 mg et 1000 mg par jour, donnés en une seule dose une fois par jour ou administrés en plusieurs doses tout au long de la journée, par exemple deux fois par jour en doses égales. La dose administrée par jour est avantageusement comprise entre 5 mg et 500 mg, encore plus avantageusement entre 10 mg et 200 mg. Il peut être nécessaire d'utiliser des doses sortant de ces gammes ce dont l'homme du métier pourra se rendre compte lui-même.

La présente invention a également pour objet une composition pharmaceutique comprenant :

(i) au moins un composé de formule (I) tel que défini ci-dessus, et

(ii) au moins un autre principe actif,

en tant que produits de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps.

En effet, il est courant de traiter le cancer par bi- ou trithérapie. Il pourrait être utile notamment d'associer les molécules de l'invention avec un ou plusieurs composés anticancéreux permettant ainsi de traiter le cancer, d'une part, et de prévenir l'apparition de cellules cancéreuses résistantes, d'autre part.

En particulier, ce(s) principe(s) actif(s) pourra(pourront) être des agents anticancéreux utilisés classiquement dans le traitement du cancer. Ces agents anticancéreux pourront être choisi(s) en particulier parmi le cisplatine et ses dérivés tels que le carboplatine et l'oxalyplatine ; des taxanes tels que le taxol, le taxotère, le paclitaxel et le docétaxel ; des alcaloïdes de vinca tels que la vinblastine, la vincristine

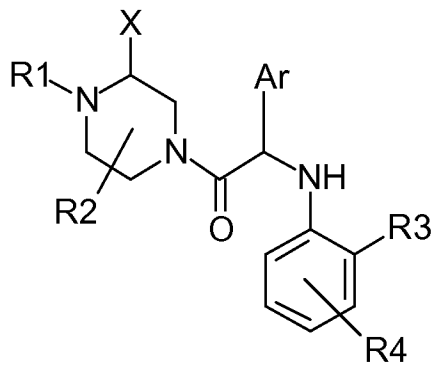
et la vinorelbine ; des analogues de purine tels que la mercaptopurine, la thioguanine, la pentostatine et la 2-chlorodésoxyadénosine ; des inhibiteurs de topoisomerase I tels que des composés de la camptothécine comme l'irinotecan et le topotecan ; des inhibiteurs de topoisomerase II tels que l'épipodophyllotoxine, la podophyllotoxine et leurs dérivés comme l'étoposide et le téniposide ; des dérivés nucléosides antitumoraux tels que le 5-fluorouracile, la leucovorine, la gemcitabine ou la capécitabine ; des agents alkylants tels que des moutardes à l'azote comme la cyclophosphamide, la mechloréthamine, la chlorambucile et le melphalan, des nitroso-urées comme la carmustine, la lomustine et la streptozocine, des alkylsulfonates comme le busulfan, des éthylènimines et des méthylmélamines comme la thiotépa et l'hexaméthylmélamine, et des tétrazines comme la dacarbazine ; des dérivés d'antracyclines anti-tumoraux tels que la daunorubicine, l'adriamycine, le doxil, l'idarubicine et la mitoxantrone ; des molécules ciblant le récepteur IGF-I telles que la picropodophylline ; des dérivés de tetracarcin tels que le tetrocarcin A ; des corticostéroïdes tels que la prednisone ; des anticorps tels que le trastuzumab (anticorps anti-HER2), le rituximab (anticorps anti-CD20), le gemtuzamab, le cetuximab, le pertuzumab et le bevacizumab; des antagonistes ou des modulateurs sélectifs des récepteurs des oestrogènes tels que le tamoxifen, le fulvestrant, le toremifène, le droloxifène, le faslodex et le raloxifène ; des inhibiteurs d'aromatase tels que l'exémestane, l'anastrozole, le letrozole et le vorozole ;des agents de différenciation tels que les rétinoïdes comme l'acide rétinoïque et la vitamine D et des agents bloquant le métabolisme de l'acide rétinoïque tels que l'accutane ; des inhibiteurs d'ADN méthyle-transférase tels que l'azacytidine et le decitabine ; des antifolates tels que le permetrexed disodique ; des antibiotiques tels que l'antinomycine D, la bléomycine, la mitomycine C, l'actinomycine D, la carminomycine, la daunomycine et la plicamycine ; des antimétabolites tels que la chlofarabine, l'aminoptérine, la cytosine arabinoside, la floxuridine et le méthotrexate ; des agents induisant l'apoptose et des agents antiangiogéniques des inhibiteurs de Bcl-2 tels que YC 137, BH 312, ABT 737, le gossypol, HA 14-1, TW 37 et l'acide décanoïque ; des agents se liant à la tubuline tels que la combrestatine, des dérivés de colchicine et le nocodazole ; des inhibiteurs de kinase tels que le flavoperidol, le mésylate d'imatinib, l'erlotinib et le gefitinib ; des inhibiteurs de farnésyl transférase tels que le tipifarnib ; des inhibiteurs des histone-désacétylases tels que le butyrate de sodium, l'acide suberoylanilide hydroxamique, le

depsipeptide, NVP- LAQ824, R306465, JNJ-26481585 et la trichostatine A ; des inhibiteurs du système ubiquitine-protéasome tels que MLN .41, le bortezomib et l'yondelis ; et des inhibiteurs de télomérase tels que la télomestatine.

La présente invention a également pour objet une composition pharmaceutique telle que définie ci-dessus, pour son utilisation à titre de médicament, destiné notamment au traitement ou à la prévention du cancer, en particulier au traitement d'un cancer résistant à une chimiothérapie.

La présente invention concerne également un procédé de préparation d'un composé de formule (I) tel que défini ci-dessus comprenant les étapes successives suivantes :

a) réaction d'une amine de formule (II) suivante :



(II)

avec X, R1, R2, R3, R4 et Ar tels que définis précédemment, R1 ne représentant pas un atome d'hydrogène,

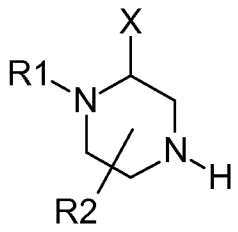
avec du chlorure de chloroacétyle en présence d'une base pour donner un composé de formule (I) avec R1 ≠ H, et

b) éventuellement déprotection de l'atome d'azote portant le groupement R1 ≠ H pour donner un composé de formule (I) avec R1 = H.

Etape a) :

La base utilisée pour cette étape sera de préférence une base faible telle que $NaHCO_3$.

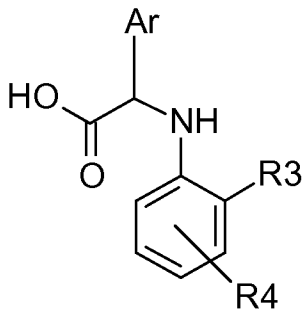
L'amine de formule (II) pourra être obtenue par réaction d'une pipérazine de formule (III) suivante :



(III)

avec X, R1 et R2 tels que définis précédemment, R1 ne représentant pas un atome d'hydrogène,

avec un acide de formule (IV) suivante :



(IV)

avec R3, R4 et Ar tels que définis précédemment.

Cette réaction peut être réalisée dans des conditions de couplage peptidique bien connues de l'homme du métier.

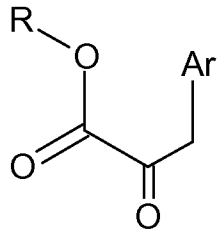
Le couplage est ainsi réalisé de préférence en présence d'un agent de couplage, tel que le diisopropylcarbodiimide (DIC), le dicyclohexylcarbodiimide (DCC), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (EDC), le carbonyldiimidazole (CDI), le 2-(1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium hexafluorophosphate (HBTU), le 2-(lH-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium tetrafluoroborate (TBTU) ou encore le O-(7-azobenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium hexafluorophosphate (HATU), éventuellement associé à un auxiliaire de couplage tel que le N-hydroxy succinimide (NHS), le N-hydroxy benzotriazole (HOBt), le 3,4-dihydro-3-hydroxy-4-oxo-1,2,3-benzotriazole (HOOBt), le l-hydroxy-7-azabenzotriazole (HAt) ou le N-hydroxysylfosuccinimide (sulfo NHS). De préférence, il s'agira du HBTU.

Une base telle que la diisopropyl-éthylamine (DIPEA) peut également être présente.

La pipérazine de formule (III) est soit commerciale soit préparée selon des méthodes bien connues de l'homme du métier.

L'acide de formule (IV) peut être préparé quant à lui selon les étapes successives suivantes :

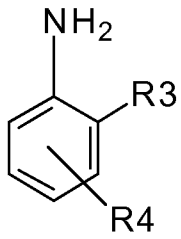
i) réaction d'un cétoester de formule (V) suivante :



(V)

avec Ar tel que défini précédemment et R représentant un groupe (C_1-C_6)alkyle, tel qu'éthyle,

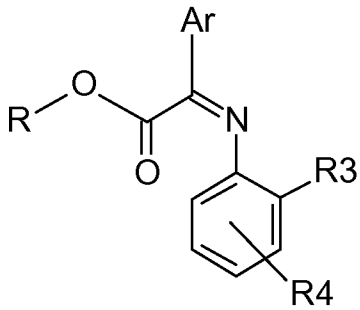
avec une aniline de formule (VI) suivante :



(VI)

avec R3 et R4 tels que définis précédemment,

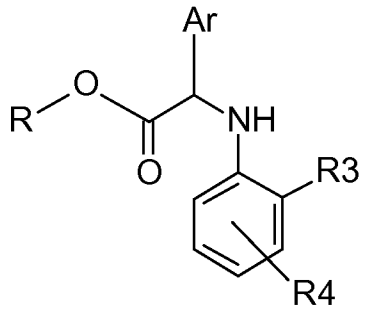
pour donner une imine de formule (VII) suivante :



(VII)

avec R, R3, R4 et Ar tels que définis précédemment,

ii) réduction de l'imine de formule (VII) obtenue à l'étape précédente pour donner une amine de formule (VIII) suivante :



(VII)

avec R, R3, R4 et Ar tels que définis précédemment, et

iii) saponification de la fonction ester du composé de formule (VIII) obtenu à l'étape précédent pour donner l'acide de formule (IV).

L'étape i) peut être réalisée en présence d'un acide comme l'acide para-toluène sulfonique (APTS). La réaction peut être réalisée dans un solvant polaire tel que le toluène. De préférence, le milieu réactionnel sera chauffé au reflux en utilisant un Dean-Stark de manière à éliminer l'eau formée au cours de la réaction au fur et à mesure.

Le cétoester (V) utilisé pour cette réaction est soit commercial, soit préparé par une réaction de Friedel-Crafts à partir de chlorure d'oxalate d'éthyle et de l'aromatique correspondant, en présence d'un acide de Lewis comme le chlorure d'aluminium $AlCl_3$.

L'aniline (VI) utilisée pour cette réaction est soit commerciale, soit préparée par des méthodes bien connues de l'homme du métier.

L'étape ii) de réduction peut être réalisée en présence d'un agent réducteur bien connu de l'homme du métier tel que le cyanoborohydrure de sodium.

L'étape iii) de saponification peut être réalisée dans des conditions bien connues de l'homme du métier, notamment en présence d'une base telle que NaOH, KOH ou LiOH.

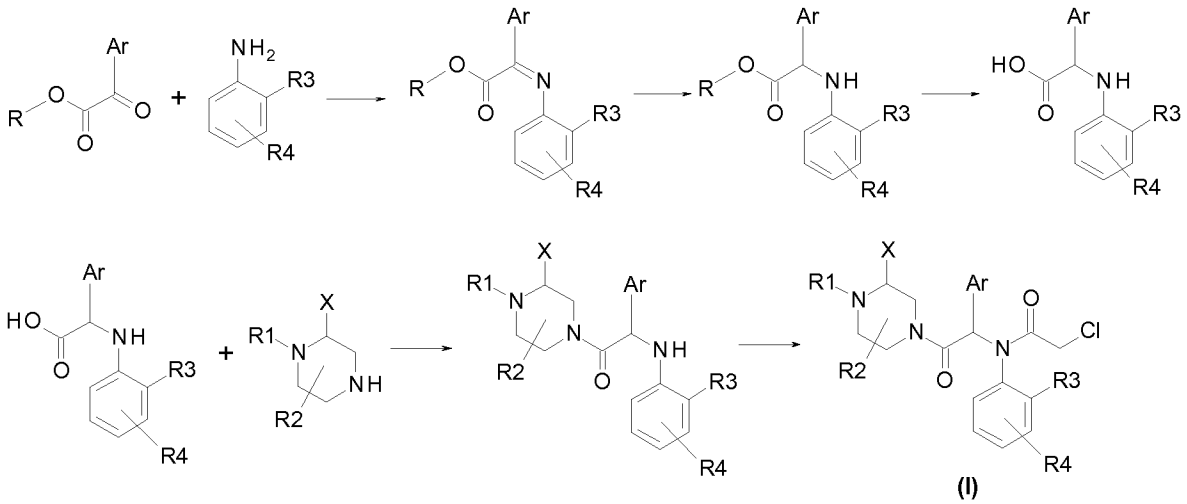
Etape b) :

Cette étape sera réalisée de préférence avec un composé de formule (I) pour lequel R1 = CO_2R6, tel que CO_2tBu, par traitement avec un acide tel que HCl.

Le composé ainsi obtenu pourra être séparé du milieu réactionnel par des méthodes bien connues de l'homme du métier, comme par exemple par extraction, évaporation du solvant ou encore par précipitation et filtration.

Le composé pourra être par ailleurs purifié si nécessaire par des techniques bien connues de l'homme du métier, comme par recristallisation si le composé est cristallin, par distillation, par chromatographie sur colonne sur gel de silice ou encore par chromatographie liquide haute performance (HPLC).

Le procédé selon la présente invention pour préparer des composés selon la présente invention avec R1 ≠ H est présenté sur le schéma réactionnel suivant :



Les exemples suivants illustrent l'invention sans toutefois la limiter.

FIGURE :

La figure 1 présente les courbes temps-concentration plasmatique pour une souris ayant reçu le composé I-43 dia2 administré par voie intra-veineuse (IV) à la dose de 10 mg/kg ou par voie orale (PO) à la dose de 30 mg/kg.

EXEMPLES :

<u>I – Synthèse de composés selon l'invention</u>

Dans la partie qui suit, deux nomenclatures distinctes ont été adoptées lorsque les deux diastéréoisomères d'un composé selon l'invention ont été séparés :

- a / b désignant chacun la structure particulière d'un diastéréoisomère unique,

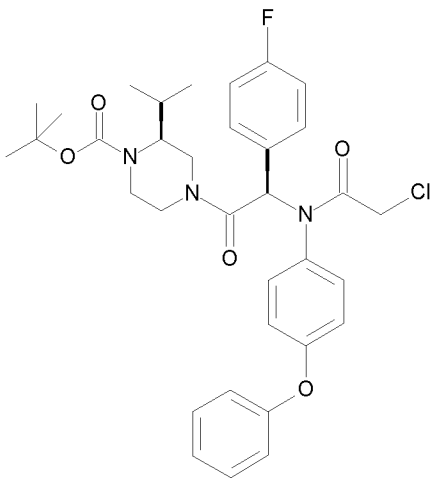
– dia1 / dia2 désignant respectivement le diastéréoisomère le moins polaire et le plus polaire dans le système chromatographique utilisé.

En effet, la stéréochimie particulière de chacun des diastéréoisomères n'a pas été déterminée. Par conséquent, il est impossible d'attribuer à chacun des diastéréoisomères dia1 et dia2 isolés la structure particulière a et b. C'est pourquoi une double nomenclature a été utilisée.

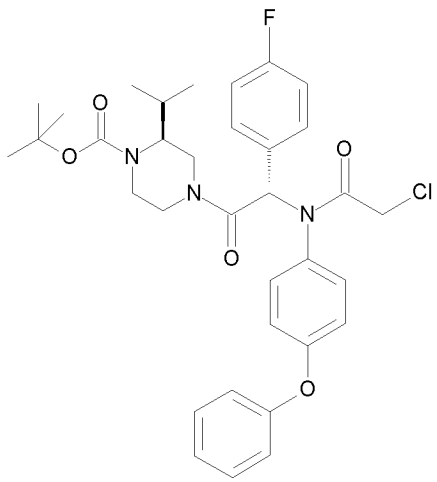
Les abréviations suivantes ont été utilisées dans cette partie :

CCM	Chromatographie sur Couche Mince
DCM	Dichlorométhane
DIEA	Diisopropyléthylamine
HBTU	2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium hexafluorophosphate
LCMS	Chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
TA	Température ambiante

<u>Exemples I-1a et I-1b</u> : Diastéréoisomères de l'ester tert-butylique de l'acide 4-[2-[(2-chloro-acétyl)-(4-phénoxy-phényl)-amino]-2-(4-fluoro-phényl)-acétyl]-(S)-2-isopropyl-pipérazine-1-carboxylique.



I-1a



I-1b

<u>Stade 1 : Ester éthylique de l'acide (4-fluoro-phényl)-oxo-acétique **(1)**</u> :

A une solution de chlorure d'aluminium (21,13 g ; 160 mmol) dans le DCM (200 mL) à 0°C sous argon, est ajouté goutte à goutte pendant 10 min le chlorure d'oxalate d'éthyle (17,9 mL ; 160 mmol). Le milieu est laissé sous agitation pendant 10 minutes. Le fluorobenzène (14,7 mL ; 160 mmol) dilué dans 30 mL de DCM, est ajouté goutte à goutte à 0°C. Le milieu est laissé sous agitation à température ambiante pendant 12 heures. Le milieu est lavé à l'eau et la phase organique est séchée sur $MgSO_4$. Après évaporation, l'huile récupérée est purifiée par flash chromatographie sur gel de silice avec l'éluant cyclohexane-acétate d'éthyle 90-10.

Récupération d'une huile jaune (17,08 g ; 54 %).

RMN ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) : δ 8,04-8,14 (m ; 1,8 H) ; 7,15-7,24 (m ; 1,9 H) ; 4,46 (q ; J = 7.2 Hz ; 2,0 H) ; 1,44 (t ; J = 7.2 Hz ; 3,0 H).

Stade 2 : Ester éthylique de l'acide (4-fluoro-phényl)-[(Z)-4-phénoxy-phénylimino]-acétique **(2)** :

A une solution de **1** (3,92 g ; 20 mmol) dans le toluène (25 mL), sont ajoutés successivement l'acide para-toluène sulphonique (200 mg ; 1 mmol) et la 4-phénoxyphényle-aniline (3,70 g ; 20 mmol) en présence de tamis moléculaire. Le milieu est porté au reflux dans un DeanStark pendant 20 heures. Le milieu est lavé à l'eau et la phase organique est séchée sur $MgSO_4$. Après évaporation, l'huile récupérée est purifiée par flash chromatographie sur gel de silice avec l'éluant cyclohexane-acétate d'éthyle 90-10.

Récupération d'une huile jaune (6,27 g ; 86 %).

LCMS [M+H] = 364 ($C_{22}H_{18}FNO_3$)

Stade 3 : Ester éthylique de l'acide (4-fluoro-phényl)-(4-phénoxy-phnylamino)-acétique **(3)** :

A une solution de **2** (6,27 g ; 17,26 mmol) dans le méthanol (75 mL) et l'acide acétique (7,5 mL), est ajouté le cyanoborohydrure de sodium (1,63 g ; 26 mmol). Le milieu est laissé sous agitation pendant 1 heure à TA. Le méthanol est évaporé partiellement, la solution est neutralisée avec Na_2CO_3 avec ajout d'eau si nécessaire. Le milieu est extrait au DCM et la phase organique est séchée sur $MgSO_4$. Après évaporation, l'huile récupérée est purifiée par flash chromatographie sur gel de silice avec l'éluant cyclohexane-acétate d'éthyle 95-5.

Récupération d'une huile jaune (5,91 g ; 93 %).

LCMS [M+H] = 366 ($C_{22}H_{20}FNO_3$)

RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) : δ 7,45-7,54 (m ; 1,9 H) ; 7,23-7,31 (m ; 1,9 H) ; 6,97-7,11 (m ; 2,9 H) ; 6,81-6,94 (m ; 3,9 H) ; 6,54 (d ; *J* = 9,0 Hz ; 2,0 H) ; 5,01 (br ; 1,0 H) ; 4,90 (br ; 0,9 H) ; 4,10-4,32 (m ; 2,0 H) ; 1,23 (t ; *J* = 7,0 Hz ; 3,0 H).

Stade 4 : Acide (4-fluoro-phényl)-(4-phénoxy-phénylamino)-acetique **(4)** :

A une solution de **3** (8,04 g ; 22 mmol) dans 130 mL d'acétonitrile est ajouté 66 mL d'une solution 1 M en LiOH (3 éq). Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 2 à 3 heures, la fin de la réaction est contrôlée par CCM (cyclohexane-acétate d'éthyle 60-40). L'acétonitrile est partiellement évaporé, le milieu est acidifié avec une solution 1 M en HCl additionné de 200 mL d'eau. Le milieu est filtré et le solide récupéré est lavé trois fois à l'eau puis est séché au dessicateur sous vide en présence de P_2O_5.

Récupération poudre blanche (7,17 g ; 97 %).

LCMS [M+H] = 338 ($C_{20}H_{16}FNO_3$)

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO) : δ 7,55 (dd ; *J* = 8,5 Hz ; *J* = 5,6 Hz ; 2,1 H) ; 7,28 (t ; *J* = 7,9 Hz ; 2,1 H) ; 7,20 (t ; *J* = 8,5 Hz ; 2,1 H) ; 6,99 (t ; *J* = 7,0 Hz ; 1,1 H) ; 6,74-6,90 (m ; 4,0 H) ; 6,62-6,70 (m ; 2,0 H) ; 5,10 (s ; 1,0 H).

Stade 5 : ester ter-butylique de l'acide 4-[2-(4-fluoro-phényl)-2-(4-phénoxy-phénylamino)-acétyl]-(S)-2-isopropyl-pipérazine-1-carboxylique **(5)** :

A une solution de **4** (7,17 g ; 21,2 mmol) dans le DCM (150 mL) en présence d'un équivalent de DIEA (3,7 mL) est ajoutée une solution du chlorhydrate de la Boc-alpha-(S)-isopropyle-pipérazine (5,63 g ; 21,26 mmol) en présence d'1 éq de DIEA (3,7 mL) dans 50 mL de DCM, suivi du HBTU (8,06 g ; 21,2 mmol). Le milieu est laissé sous agitation pendant 12 heures. Le milieu est lavé à l'eau et la phase organique est séchée sur $MgSO_4$. Après évaporation, l'huile récupérée est purifiée par flash chromatographie sur gel de silice avec l'éluant cyclohexane-acétate d'éthyle 80-20.

Récupération d'une mousse blanche (11,90 g ; 100 %).

LCMS [M+H] = 548 ($C_{32}H_{38}FN_3O_4$)

Stade 6 : Ester tert-butylique de l'acide 4-[2-[(2-chloro-acétyl)-(4-phénoxy-phényl)-amino]-2-(4-fluoro-phényl)-acétyl]-(S)-2-isopropyl-pipérazine-1-carboxylique

A une solution de **5** (11,86 g ; 22,66 mmol) dans 250 mL de DCM en présence de $NaHCO_3$ (7,30 g ; 87,0 mmol), est ajouté le chlorure de chloroacétyle (3,45 mL ;

43,3 mmol). Le milieu est laissé sous agitation pendant 12 heures. Le milieu est lavé à l'eau et la phase organique est séchée sur $MgSO_4$. Après évaporation, l'huile récupérée est purifiée par flash chromatographie sur gel de silice avec un gradient cyclohexane-acétate d'éthyle de 95-5' à 50-50 pour obtenir séparément les deux diastéréoisomères sous forme de mousse incolore :

Diastéréoisomère le moins polaire (**I-1 dia1**)

(3,80 g ; 28 %)

LCMS [M+H] = 625 ($C_{34}H_{39}ClFN_3O_5$)

RMN ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) : δ 7,92-8,01 (m ; 1,0 H) ; 7,30-7,40 (m ; 2,0 H) ; 7,10-7,18 (m ; 1,1 H) ; 7,01-7,09 (m ; 1,1 H) ; 6,84-7,00 (m ; 6,1 H) ; 6,55-6,65 (m ; 1,1 H) ; 6,32-6,48 (m ; 2,1 H) ; 4,72 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,5 H) 4,63 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,4 H) ; 3,52-3,96 (m ; 4,0 H) ; 3,10-3,27 (m ; 0,5 H) ; 2,85-3,07 (m ; 0,4 H) ; 2,23-2,85 (m ; 0,5 H + 0,7 H + 0,4 H) ; 1,87-2,14 (m ; 0,6 H) ; 1,42 (s ; 8,7 H) ; 1,17 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,0 H) ; 1,03 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,3 H) ; 0,88 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,1 H) ;0,69 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,3 H).

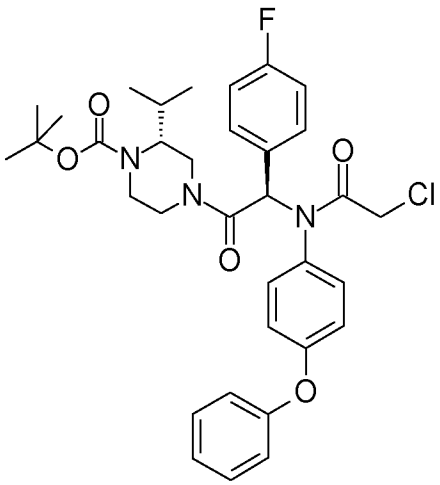
Diastéréoisomère le plus polaire (**I-1 dia2**)

(3,29 g ; 24 %)

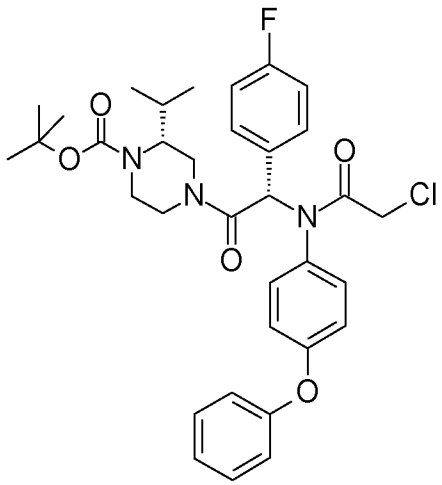
LCMS [M+H] = 625 ($C_{34}H_{39}ClFN_3O_5$)

RMN ^1H (300 MHz, CD_2Cl_2) : δ 7,85-8,00 (m ; 1,0 H) ; 7,36 (t ; *J* = 7,6 Hz ; 2,1 H) ; 6,99-7,21 (m ; 3,2 H) ; 6,81-6,98 (m ; 5,2 H) ; 6,63 (br ; 1,1 H) ; 6,35-6,55 (m ; 2,1 H) ; 4,65 (d ; *J* = 13,1 Hz ; 0,6 H) 4,42 (d ; *J* = 13,1 Hz ; 0,3 H) ; 3,50-4,16 (m ; 4,9 H) ; 3,00-3,43 (m ; 0,9 H) ; 2,57-2,90 (m ; 1,9 H) ; 1,98-2,18 (m ; 0,7 H) ; 1,36-1,49 (m ; 10,0 H) ; 1,73 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 2,1 H) ; 0,90 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 2,1 H) ; 0,63 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 1,0 H) ;0,20 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 0,9 H).

Exemples I-2a et I-2b : Diastéréoisomères de l'ester tert-butylique de l'acide 4-[-2-[(2-chloro-acétyl)-(4-phénoxy-phényl)-amino]-2-(4-fluoro-phényl)-acétyl]-(R)-2-isopropyl-pipérazine-1-carboxylique.



I-2a



I-2b

Stade 1 : Ester tert-butylique de l'acide 4-[2-(4-fluoro-phényl)-2-(4-phénoxy-phénylamino)-acétyl]-(R)-2-isopropyl-pipérazine-1-carboxylique **(6)** :

A une solution d'acide (4-fluoro-phényl)-(4-phénoxy-phénylamino)-acétique **4** (253 mg ; 0,75 mmol) dans le DCM (10 mL) en présence d'un équivalent de DIEA (131 µL) est ajoutée une solution de la Boc-alpha-(R)-isopropyle-pipérazine (171 mg ; 0,75 mmol) en présence d'1 éq de DIEA (131 µL) dans 5 mL de DCM, suivi du HBTU (285 mg ; 0,75 mmol). Le milieu est laissé sous agitation pendant 12 heures. Le milieu est lavé à l'eau et la phase organique est séchée sur $MgSO_4$. Après évaporation, l'huile récupérée est purifiée par flash chromatographie sur gel de silice avec l'éluant cyclohexane-acétate d'éthyle 80-20.

Récupération d'une mousse blanche (369 mg ; 90 %).

LCMS [M+H] = 548 ($C_{32}H_{38}FN_3O_4$)

Stade 2 : Ester ter-butylique de l'acide 4-[-2-[(2-chloro-acétyl)-(4-phénoxy-phényl)-amino]-2-(4-fluoro-phényl)-acétyl]-(R)-2-isopropyl-pipérazine-1-carboxylique :

Les deux diastéréoisomères ont été préparés à partir de **6** en suivant le même mode opératoire que pour la préparation de l'exemple 1 (stade 6).

Récupération séparément des deux diastéréoisomères sous forme de mousse incolore :

Diastéréoisomère le moins polaire (**I-2 dia1**) (195 mg ; 42 %)

LCMS [M+H] = 625 ($C_{34}H_{39}ClFN_3O_5$)

RMN ^1H (300 MHz, CD_2Cl_2) : δ 7,85-8,00 (m ; 1,0 H) ; 7,36 (t ; *J* = 7,6 Hz ; 2,0 H) ; 6,99-7,21 (m ; 3,1 H) ; 6,81-6,98 (m ; 4,9 H) ; 6,63 (br ; 1,0 H) ; 6,35-6,55 (m ; 2,1 H) ; 4,65 (d ; *J* = 13,0 Hz ; 0,7 H) 4,42 (d ; *J* = 13,0 Hz ; 0,2 H) ; 3,50-4,16 (m ; 4,9 H) ;

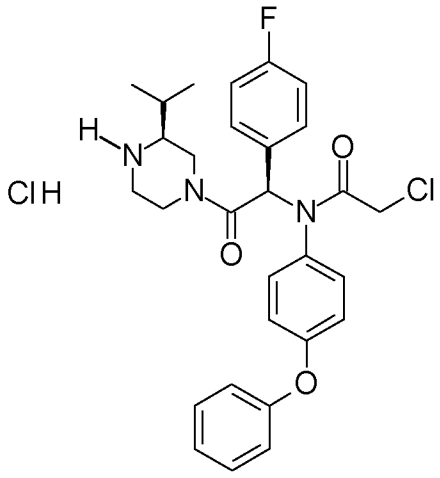
3,00-3,43 (m ; 0,8 H) ; 2,57-3,90 (m ; 2,0 H) ; 1,98-2,18 (m ; 0,8 H) ; 1,36-1,49 (m ; 10,5 H) ; 1,73 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 2,0 H) ; 0,90 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 2,0 H) ; 0,63 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 0,8 H) ;0,20 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 0,8 H).

Diastéréoisomère le plus polaire (**I-2 dia2**) (122 mg ; 26 %)

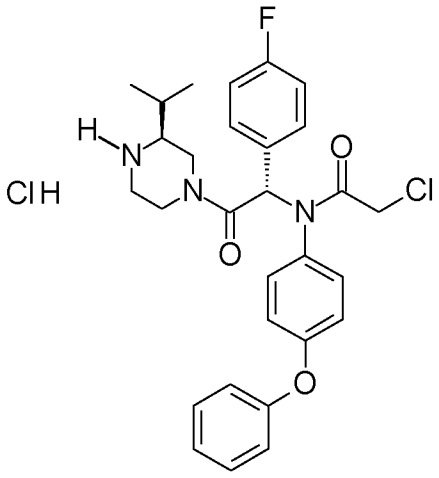
LCMS [M+H] = 625 ($C_{34}H_{39}ClFN_3O_5$)

RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) : δ 7,92-8,01 (m ; 1,0 H) ; 7,30-7,40 (m ; 2,0 H) ; 7,10-7,18 (m ; 1,0 H) ; 7,01-7,09 (m ; 1,1 H) ; 6,84-7,00 (m ; 6,0 H) ; 6,55-6,65 (m ; 1,1 H) ; 6,32-6,48 (m ; 2,1 H) ; 4,72 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,4 H) 4,63 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,3 H) ; 3,52-3,96 (m ; 4,7 H) ; 3,10-3,27 (m ; 0,7 H) ; 2,85-3,07 (m ; 0,5 H) ; 2,23-2,85 (m ; 0,5 H + 0,6 H + 0,8 H) ; 1,87-2,14 (m ; 0,9 H) ; 1,42 (s ; 8,6 H) ; 1,17 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,4 H) ; 1,03 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 2,1 H) ; 0,88 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 2,1 H) ;0,69 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,6 H).

Exemples I-3a et I-3b : Chlorhydrate des diastéréoisomères du 2-chloro-N-[1-(4-fluoro-phenyl)-2-((S)-3-isopropyl-piperazin-1-yl)-2-oxo-ethyl]-N-(4-phenoxy-phenyl)-acetamide.



I-3a



I-3b

A une solution du diastéréoisomère I-1dia2 (3,24 g ; 5,2 mmol) dans 50 mL de DCM est ajouté le HCl gaz par bullage. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 12 heures à TA. Le DCM est évaporé et l'huile résiduelle est précipitée dans l'éther.

On obtient l'exemple **I-3 dia2** sous forme d'une poudre blanche après filtration : (2,53 g ; 87 %).

LCMS [M+H] = 524 ($C_{29}H_{32}Cl_2FN_3O_3$)

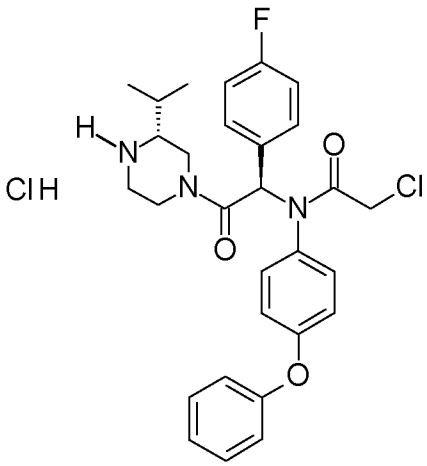
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO) : δ 8,60-9,35 (m ; 1,6 H) ; 7,77 (br ; 0,8 H) ; 7,30-7,40 (m ; 2,0 H) ; 7,00-7,23 (m ; 5,1 H) ; 6,80-7,00 (m ; 3,1 H) ; 6,54-6,76 (m ; 3,0 H) ; 4,56 (d ; *J* = 13,3 Hz ; 1,0 H) ; 3,88-4,16 (m ; 3,0 H) ; 3,00-3,30 (m ; 3,1 H) ; 2,65-2,96 (m ; 1,7 H) ; 1,52-2,00 (m ; 1,6 H) ; 1,00 (t ; *J* = 7,4 Hz ; 2,4 H) ; 0,59 (dd ; *J* = 15,6 Hz ; *J* = 6,7 Hz ; 3,5 H).

en appliquant le même procédé à partir de l'exemple **I-1dia1,** on obtient l'exemple **I-3 dia1** sous forme d'une poudre blanche après filtration : (63 mg).

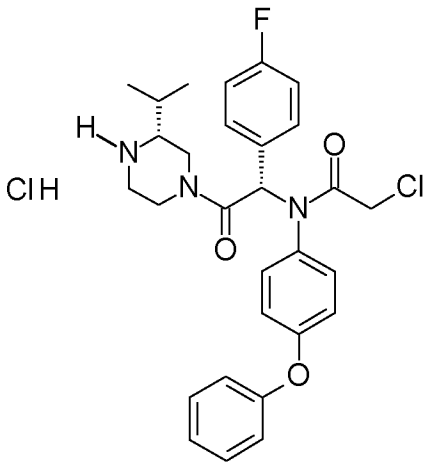
LCMS [M+H] = 524 ($C_{29}H_{32}Cl_2FN_3O_3$)

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO) : δ 8,65-9,6 (br ; 1,2 H) ; 7,77 (br ; 0,8 H) ; 7,30-7,40 (m ; 2,0 H) ; 6,36-7,25 (m ; 11,7 H) ; 4,40-4,60 (m ; 0,8 H) ; 4,00-4,12 (m ; 2,0 H) ; 3,76-3,98 (m ; 0,9 H) ; 3,37-3,63 (m ; 0,9 H) ; 2,65-3,30 (m ; 4,0 H) ; 1,77-2,06 (m ; 1,6 H) ; 0,89-1,06 (m ; 6,1 H).

<u>Exemples I-4a et I-4b</u> : Chlorhydrate des diastéréoisomères du 2-Chloro-N-[1-(4-fluoro-phenyl)-2-((R)-3-isopropyl-piperazin-1-yl)-2-oxo-ethyl]-N-(4-phenoxy-phenyl)-acetamide.



I-4a



I-4b

Le même protocole que celui des exemples I-3a et I-3b a été utilisé à partir de chacun des diastéréoisomères I-2a et I-2b.

<u>A partir du premier diastéréoisomère de l'exemple I-2</u> (**<u>I-4 dia1</u>**) :

Récupération d'une poudre blanche après filtration : (95 mg)

LCMS [M+H] = 524 ($C_{29}H_{32}Cl_2FN_3O_3$)

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO) : δ 8,65-9,6 (br ; 1,3 H) ; 7,77 (br ; 0,4 H) ; 7,30-7,40 (m ; 2,0 H) ; 6,36-7,25 (m ; 11,8 H) ; 4,40-4,60 (m ; 0,9 H) ; 4,00-4,12 (m ; 2,0 H) ; 3,76-3,98 (m ; 1,0 H) ; 3,37-3,63 (m ; 1,0 H) ; 2,65-3,30 (m ; 3,8 H) ; 1,77-2,06 (m ; 1,8 H) ; 0,89-1,06 (m ; 6,1 H).

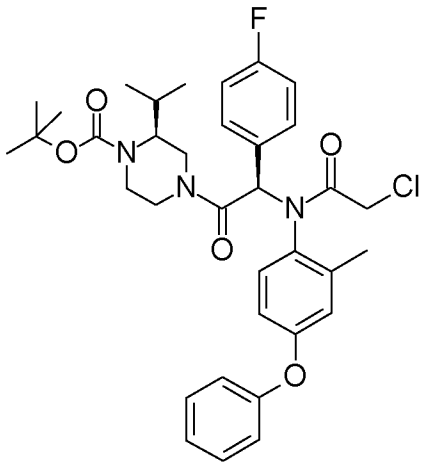
A partir du second diastéréoisomère de l'exemple I-2 (**I-4 dia2**) :

Récupération d'une poudre blanche après filtration : (95 mg)

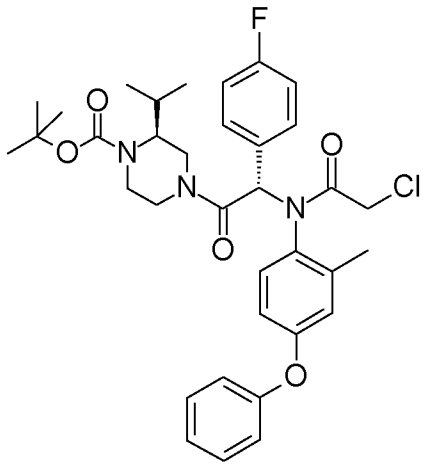
LCMS [M+H] = 524 ($C_{29}H_{32}Cl_2FN_3O_3$)

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO) : δ 8,60-9,35 (m ; 1,7 H) ; 7,77 (br ; 0,9 H) ; 7,30-7,40 (m ; 2,0 H) ; 7,00-7,23 (m ; 5,0 H) ; 6,80-7,00 (m ; 3,0 H) ; 6,54-6,76 (m ; 2,9 H) ; 4,56 (d ; *J* = 13,3 Hz ; 1,0 H) ; 3,88-4,16 (m ; 3,0 H) ; 3,00-3,30 (m ; 3,1 H) ; 2,65-2,96 (m ; 1,7 H) ; 1,52-2,06 (m ; 1,9 H) ; 1,00 (t ; *J* = 7,2 Hz ; 2,4 H) ; 0,59 (dd ; *J* = 15,4 Hz ; *J* = 6,7 Hz ; 3,3 H).

Exemples I-5a et I-5b : Diastéréoisomères de l'ester tert-butylique de l'acide 4-[-2-[(2-chloro-acétyl)-(2-méthyl-4-phénoxy-phényl)-amino]-2-(4-fluoro-phényl)-acétyl]-(S)-2-isopropyl-pipérazine-1-carboxylique.



I-5a



I-5b

Stade 1 : Ester tert-butylique de l'acide 4-[2-(4-fluoro-phényl)-2-(2-méthyl-4-phénoxy-phénylamino)-acétyl]-(S)-2-isopropyl-pipérazine-1-carboxylique **(8)** :

A une solution d'acide (4-fluoro-phényl)-(2-méthyl-4-phénoxy-phénylamino)-acétique (9,29 g ; 26,4 mmol) dans le DCM (150 mL) en présence d'un équivalent de DIEA (4,6 mL) est ajouté une solution du chlorhydrate de la Boc-alpha-(S)-isopropyle-pipérazine (7,00 g ; 26,4 mmol) en présence d'1 éq de DIEA (4,6 mL) dans 50 mL de

DCM, suivi du HBTU (10,00 g ; 26,4 mmol). Le milieu est laissé sous agitation pendant 12 heures. Le milieu est lavé à l'eau et la phase organique est séchée sur $MgSO_4$. Après évaporation, l'huile récupérée est purifiée par flash chromatographie sur gel de silice avec l'éluant cyclohexane-acétate d'éthyle 80-20.

Récupération d'une mousse blanche (14,13 g ; 95 %).

LCMS [M+H] = 562 ($C_{33}H_{40}FN_3O_4$)

Stade 2 : Ester tert-butylique de l'acide 4-[-2-[(2-chloro-acétyl)-(2-méthyl-4-phénoxy-phényl)-amino]-2-(4-fluoro-phényl)-acétyl]-(S)-2-isopropyl-pipérazine-1-carboxylique

A une solution de **8** (14,13 g ; 25,1 mmol) dans 250 mL de DCM en présence de $NaHCO_3$ (8,40 g ; 100,0 mmol), est ajouté le chlorure de chloroacétyle (4,00 mL ; 50,0 mmol). Le milieu est laissé sous agitation pendant 12 heures. Le milieu est lavé à l'eau et la phase organique est séchée sur $MgSO_4$. Après évaporation, l'huile récupérée est purifiée par flash chromatographie sur gel de silice avec l'éluant cyclohexane-acétate d'éthyle 90-10 jusqu'à 50-50 progressivement.

Récupération des deux diastéréoisomères sous forme de mousse incolore :

Diastéréoisomère le moins polaire (**I-5 dia1**) (3,83 g ; 24 %)

LCMS [M+H] = 639 ($C_{35}H_{41}ClFN_3O_5$)

RMN ^1H (300 MHz, CD_2Cl_2) : δ 7,94-8,57 (m ; 1,0 H) ; 7,35 (t ; *J* = 7,9 Hz ; 2,0 H) ; 7,07-7,27 (m ; 3,0 H) ; 6,74-6,95 (m ; 5,0 H) ; 6,58 (br d ; *J* = 2,6 Hz ; 1,1 H) ; 6,51 (br s ; 0,2 H) ; 6,41 (s ; 0,8 H) ; 6,31 (br s ; 0,3 H) ; 4,62 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,7 H) 4,39 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,3 H) ; 3,53-4,05 (m ; 4,8 H) ; 3,04-3,46 (m ; 0,8 H) ; 2,41-2,96 (m ; 2,1 H) ; 2,04-2,23 (m ; 0,8 H) ; 1,82-1,95 (m ; 2,2 H) ; 1,43 (br s ; 10,1 H) ; 1,07 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 2,1 H) ; 0,90 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 2,3 H) ; 0,63 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 1,0 H) ;0,29 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 0,8 H).

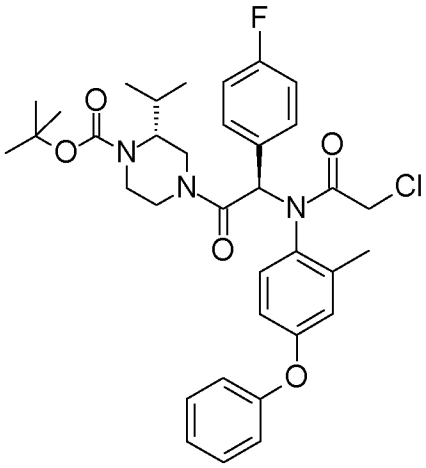
Diastéréoisomère le plus polaire (**I-5 dia2**) (4,40 g ; 27 %)

LCMS [M+H] = 639 ($C_{35}H_{41}ClFN_3O_5$)

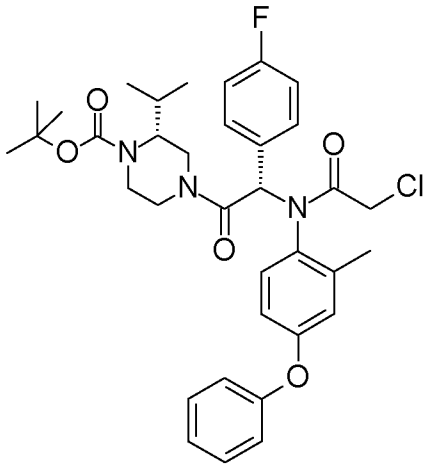
RMN ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) : δ 8,00-8,10 (m ; 1,0 H) ; 7,30-7,40 (m ; 2,1 H) ; 6,98-7,18 (m ; 3,2 H) ; 6,73-6,90 (m ; 5,3 H) ; 6,52-6,58 (m ; 1,0 H) ; 6,34-6,39 (m ; 1,0 H) ; 4,71 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,7 H) ; 4,49 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,4 H) ; 3,50-4,00 (m ; 4,7 H) ; 3,10-3,30 (m ; 0,7 H) ; 2,86-3,07 (m ; 0,4 H) ; 2,54-2,85 (m ; 1,5 H) ; 2,30-2,47 (m ; 0,4 H) ; 1,80-1,87 (m ; 2,8 H) ; 1,54-1,60 (m ; 2,5 H) ; 1,42 (br s ; 8,8 H) ; 1,19 (d ; *J* = 6,6

Hz ; 1,1 H) ; 1,00 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,5 H) ; 0,88 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,2 H) ;0,64 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,5 H).

Exemples I-6a et I-6b : Diastéréoisomères de l'ester tert-butylique de l'acide 4-[-2-[(2-chloro-acétyl)-(4-phénoxy-phényl)-amino]-2-(4-fluoro-phényl)-acétyl]-(R)-2-isopropyl-pipérazine-1-carboxylique



I-6a



I-6b

Ces deux diastéréoisomères ont été préparés de la même manière qu'à l'exemple précédent sous forme de mousse incolore :

Diastéréoisomère le moins polaire (**I-6 dia1**) (97 mg ; 30 %)

LCMS [M+H] = 639 ($C_{35}H_{41}ClFN_3O_5$)

RMN ^{1}H (300 MHz, CD_2Cl_2) : δ 7,94-8,57 (m ; 0,9 H) ; 7,35 (t ; *J* = 7,9 Hz ; 1,9 H) ; 7,05-7,25 (m ; 3,1 H) ; 6,72-6,93 (m ; 5,0 H) ; 6,58 (br d ; *J* = 2,6 Hz ; 1,1 H) ; 6,41 (s ; 0,8 H) ; 6,31 (br s ; 0,3 H) ; 4,63 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,8 H) 4,40 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,3 H) ; 3,51-4,06 (m ; 4,8 H) ; 3,03-3,45 (m ; 1,0 H) ; 2,41-2,96 (m ; 1,6 H) ; 2,02-2,21 (m ; 0,8 H) ; 1,82-1,95 (m ; 2,1 H) ; 1,43 (br s ; 10,1 H) ; 1,07 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 2,1 H) ; 0,90 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 2,3 H) ; 0,63 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 1,0 H) ;0,29 (d ; *J* = 6,5 Hz ; 0,8 H).

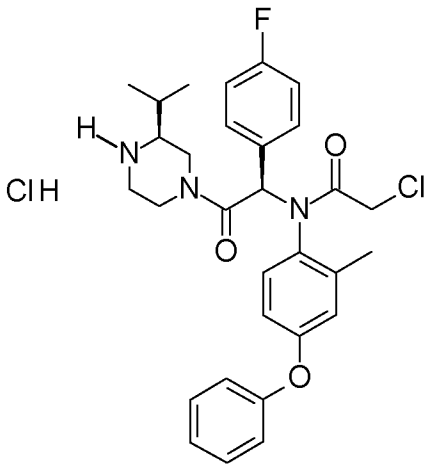
Diastéréoisomère le plus polaire (**I-6 dia2**) (90 mg ; 28 %)

LCMS [M+H] = 639 ($C_{35}H_{41}ClFN_3O_5$)

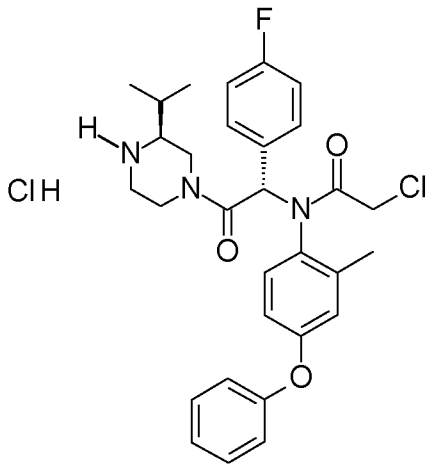
RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) : δ 8,00-8,10 (m ; 1,0 H) ; 7,30-7,40 (m ; 2,1 H) ; 6,98-7,18 (m ; 3,1 H) ; 6,73-6,90 (m ; 5,1 H) ; 6,52-6,58 (m ; 1,0 H) ; 6,34-6,39 (m ; 1,0 H) ; 4,70 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,7 H) ; 4,49 (d ; *J* = 13,5 Hz ; 0,4 H) ; 3,50-4,00 (m ; 4,8 H) ; 3,10-3,30 (m ; 0,7 H) ; 2,86-3,07 (m ; 0,4 H) ; 2,54-2,85 (m ; 1,5 H) ; 2,30-2,47 (m ; 0,4

H) ; 1,80-1,87 (m ; 2,8 H) ; 1,54-1,60 (m ; 2,6 H) ; 1,42 (br s ; 8,6 H) ; 1,20 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,1 H) ; 1,01 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,5 H) ; 0,89 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,2 H) ;0,64 (d ; *J* = 6,6 Hz ; 1,5 H).

Exemples I-7a et I-7b : Chlorhydrate des diastéréoisomères du 2-chloro-*N*-[-1-(4-fluoro-phényl)-2-((S)-3-isopropyl-pipérazin-1-yl)-2-oxo-éthyl]-*N*-(2-méthyl-4-phénoxy-phényl)-acétamide



I-7a



I-7b

A une solution de l'un des diastéréoisomères I-5a et I-5b dans 50 mL de DCM est ajouté le HCl gaz par bullage. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 12 heures à TA. Le DCM est évaporé et l'huile résiduelle est précipitée dans l'éther éthylique.

A partir du premier diastéréoisomère de l'exemple I-5 (**I-7 dia1**) :

Récupération d'une poudre blanche après filtration : (26 mg)

LCMS [M+H] = 538 ($C_{30}H_{34}Cl_2FN_3O_3$)

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO) : δ 8,79-9,33 (m ; 1,3 H) ; 7,83 (t ; *J* = 9,0 Hz ; 1,0 H) ; 7,24-7,40 (m ; 4,0 H) ; 6,97-7,15 (m ; 3,1 H) ; 6,73-6,89 (m ; 3,2 H) ; 6,64 (d ; *J* = 2,7 Hz ; 0,9 H) ; 6,51-6,59 (m ; 1,0 H) ; 4,40-4,55 (br m ; 1,1 H) ; 3,86-4,09 (m ; 3,6 H) ; 3,45-3,60 (m ; 0,7 H) ; 2,78-3,05 (m ; 2,8 H) ; 1,79-2,00 (m ; 4,5 H) ; 1,61-1,77 (m ; 0,7 H) ; 0,97 (d ; *J* = 6,7 Hz ; 6,0 H).

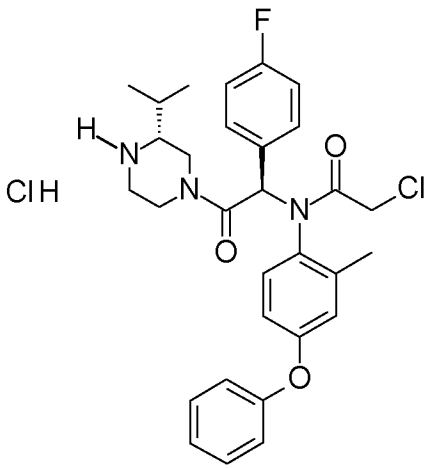
A partir du second diastéréoisomère de l'exemple I-5 (**I-7 dia2**) :

Récupération d'une poudre blanche après filtration : (2,62 g)

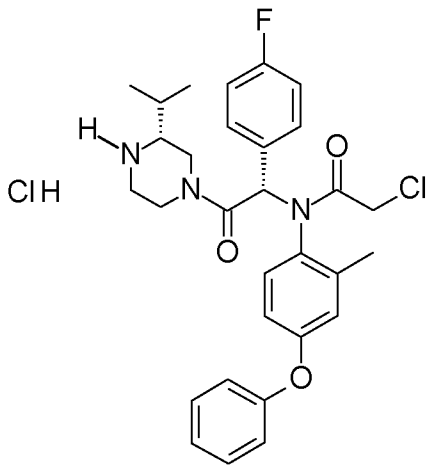
LCMS [M+H] = 538 ($C_{30}H_{34}Cl_2FN_3O_3$)

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO) : δ 8,78-9,51 (m ; 1,9 H) ; 7,82 (t ; *J* = 8,9 Hz ; 0,9 H) ; 7,20-7,41 (m ; 4,0 H) ; 6,97-7,16 (m ; 3,1 H) ; 6,71-6,90 (m ; 3,1 H) ; 6,61-6,70 (m ; 1,9 H) ; 4,46-4,60 (br m ; 1,0 H) ; 3,85-4,15 (m ; 3,1 H) ; 3,00-3,30 (m ; 3,0 H) ; 2,57-2,96 (m ; 1,8 H) ; 1,43-1,98 (m ; 4,3 H) ; 1,00 (dd ; *J* = 8,8 Hz ; *J* = 7,0 Hz ; 2,7 H) ; 0,71 (d ; *J* = 6,8 Hz ; 1,6 H) ; 0,65 (d ; *J* = 6,8 Hz ; 1,5 H).

Exemple I-8 : Chlorhydrate du 2-chloro-*N*-[-1-(4-fluoro-phényl)-2-((R)-3-isopropyl-pipérazin-1-yl)-2-oxo-éthyl]-*N*-(2-méthyl-4-phénoxy-phényl)-acetamide



I-8a



I-8b

Le même protocole que celui de l'exemple précédent a été utilisé à partir de chacun des diastéréoisomères de l'exemple I-6.

A partir du premier diastéréoisomère de l'exemple I-6 (**I-8 dia1**) :

Récupération d'une poudre blanche après filtration : (34 mg ; 56 %)

LCMS [M+H] = 538 ($C_{30}H_{34}Cl_2FN_3O_3$)

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO) : δ 8,79-9,33 (m ; 1,3 H) ; 7,83 (t ; *J* = 9,0 Hz ; 0,9 H) ; 7,24-7,40 (m ; 4,0 H) ; 6,97-7,15 (m ; 3,1 H) ; 6,73-6,89 (m ; 3,1 H) ; 6,64 (d ; *J* = 2,7 Hz ; 1,0 H) ; 6,51-6,59 (m ; 1,0 H) ; 4,41-4,56 (br m ; 1,1 H) ; 3,86-4,09 (m ; 3,4 H) ; 3,45-3,60 (m ; 0,7 H) ; 2,78-3,05 (m ; 2,8 H) ; 1,79-2,00 (m ; 4,4 H) ; 1,61-1,77 (m ; 0,8 H) ; 0,97 (d ; *J* = 6,7 Hz ; 6,0 H).

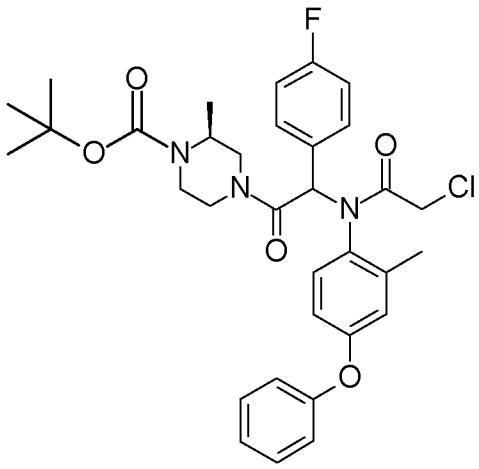
A partir du second diastéréoisomère de l'exemple I-6 (**I-8 dia2**) :

Récupération d'une poudre blanche après filtration : (30 mg ; 54 %)

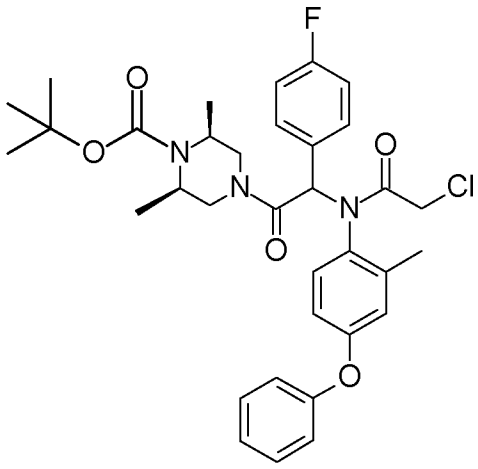
LCMS [M+H] = 538 ($C_{30}H_{34}Cl_2FN_3O_3$)

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO) : δ 8,78-9,51 (m ; 1,5 H) ; 7,82 (t ; *J* = 8,9 Hz ; 1,0 H) ; 7,20-7,41 (m ; 4,0 H) ; 6,97-7,16 (m ; 3,1 H) ; 6,71-6,90 (m ; 3,2 H) ; 6,61-6,70 (m ; 1,9 H) ; 4,46-4,60 (br m ; 1,0 H) ; 3,85-4,15 (m ; 3,1 H) ; 3,00-3,30 (m ; 2,9 H) ; 2,57-2,96 (m ; 1,8 H) ; 1,43-1,98 (m ; 4,3 H) ; 1,00 (dd ; *J* = 8,8 Hz ; *J* = 7,0 Hz ; 2,7 H) ; 0,71 (d ; *J* = 6,8 Hz ; 1,6 H) ; 0,65 (d ; *J* = 6,8 Hz ; 1,5 H).

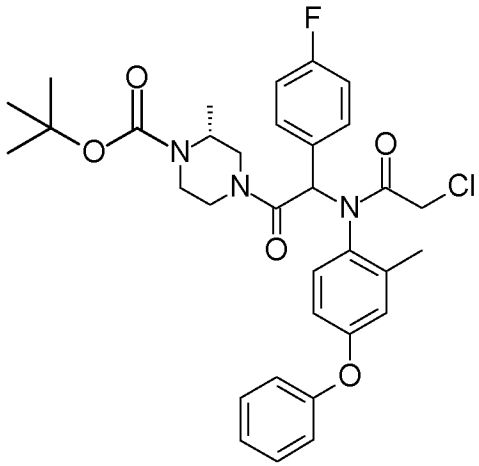
En utilisant les mêmes modes opératoires et les mêmes modes de séparation par chromatographie sur silice que ci-dessus, les exemples suivants ont été préparés à partir d'anilines et de pipérazines diversement substituées. Ils ont été isolés soit sous forme de mélange de deux ou quatre diastéréoisomères (un numéro d'exemple pour la même structure chimique), soit sous forme de diastéréoisomères séparés. Dans ce dernier cas, la nomenclature a / b a été utilisée pour désigner chacun des diastéréoisomères.



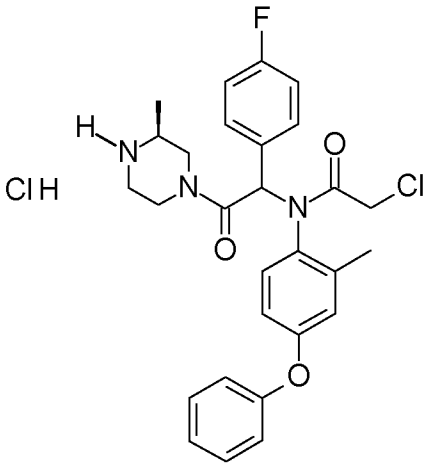
I-9



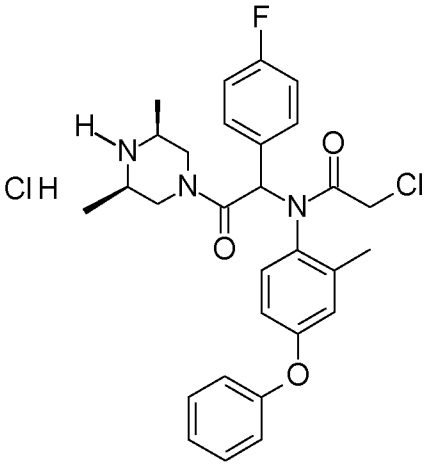
I-10



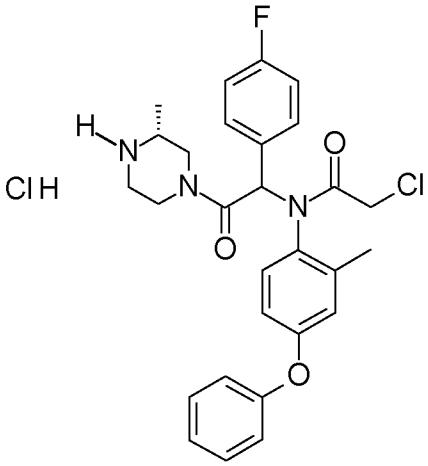
I-11



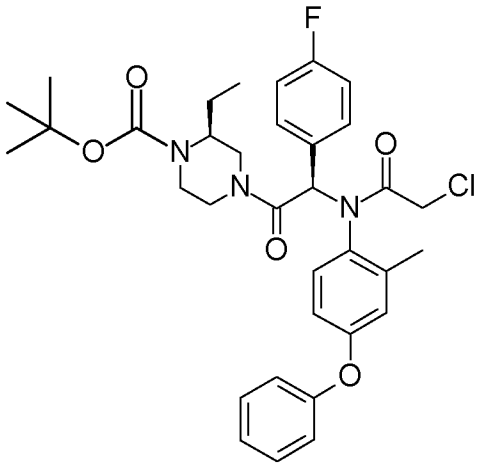
I-12



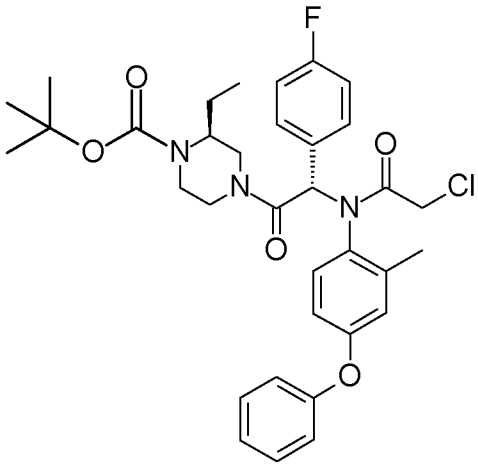
I-13



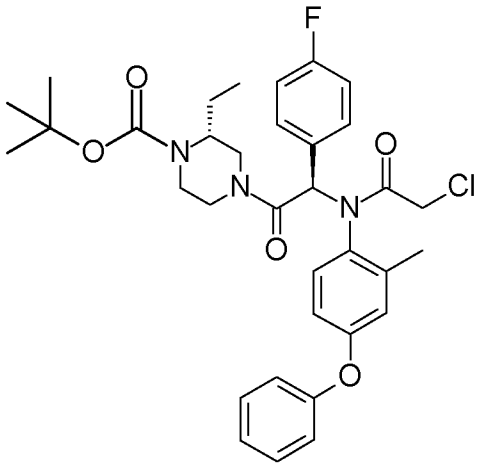
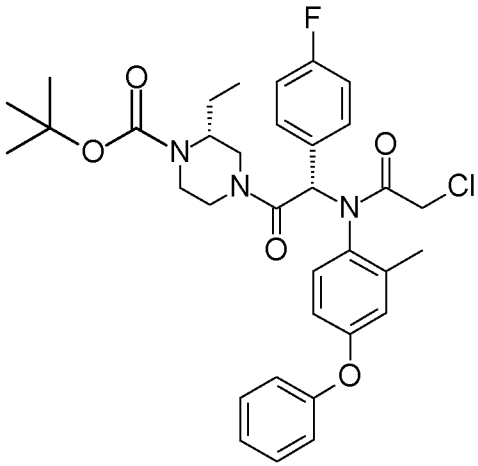
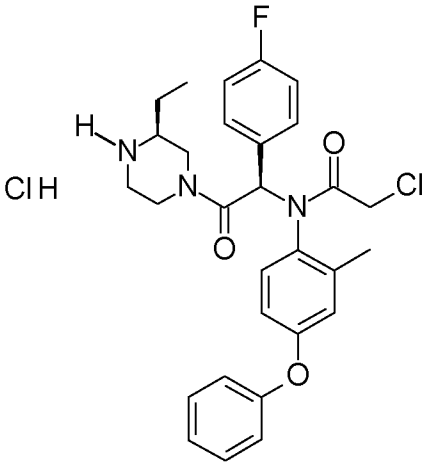
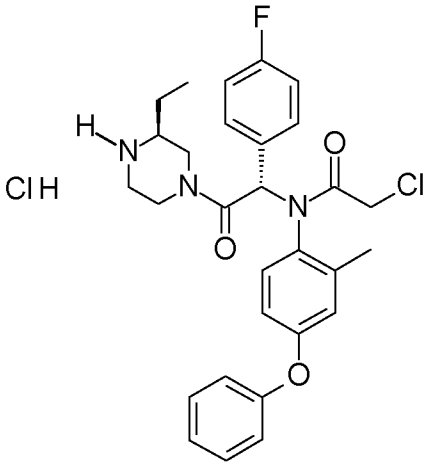
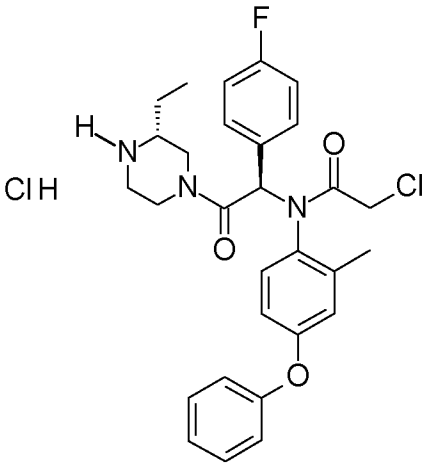
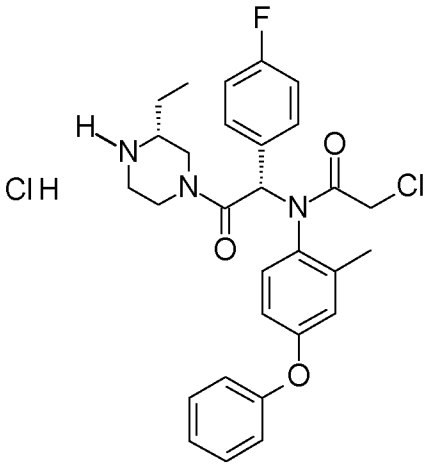
I-14

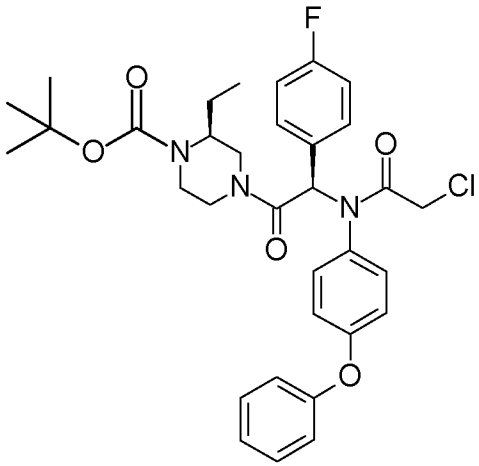


I-15a

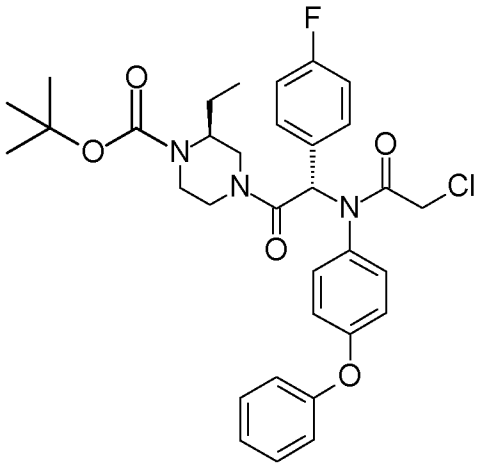


I-15b

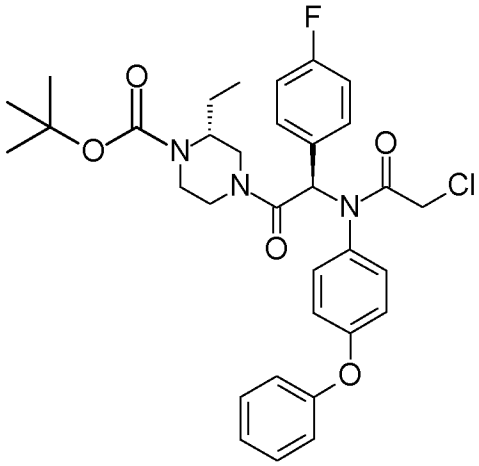
 I-16a	 I-16b
 I-17a	 I-17b
 I-18a	 I-18b



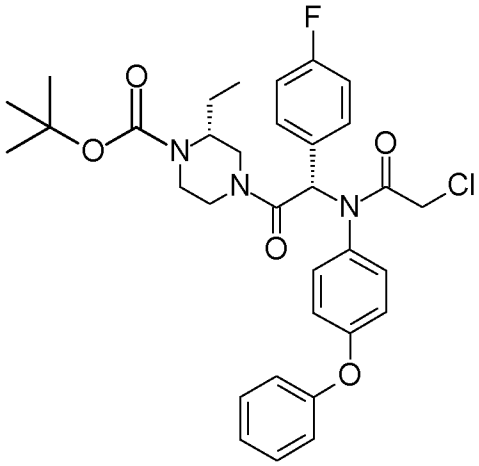
I-19a



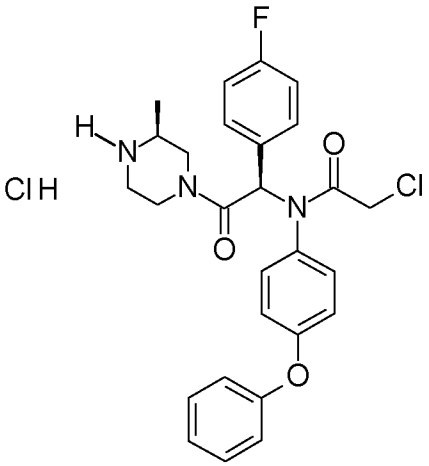
I-19b



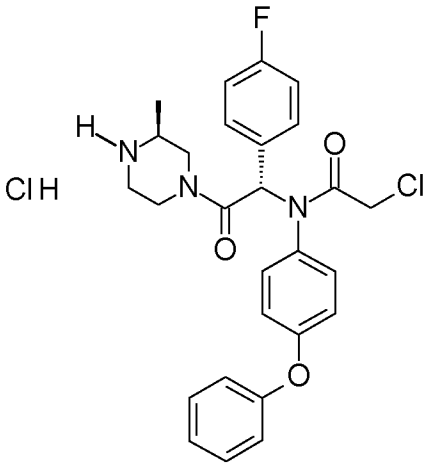
I-20a



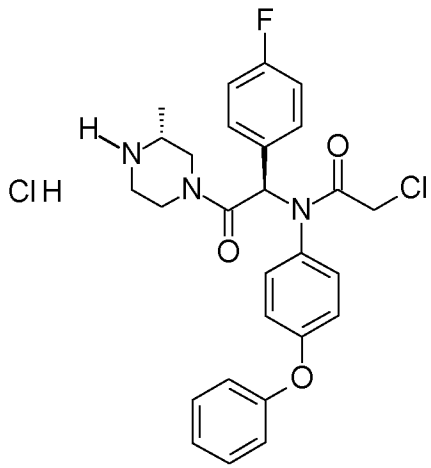
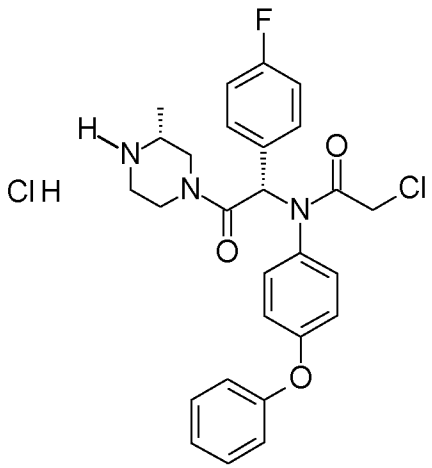
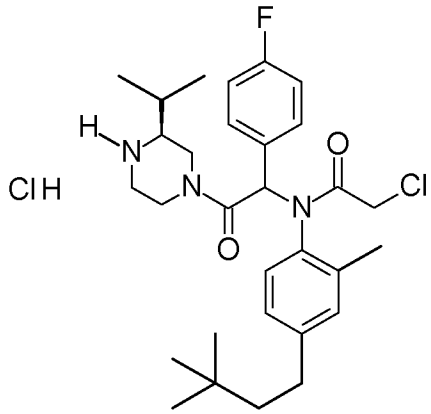
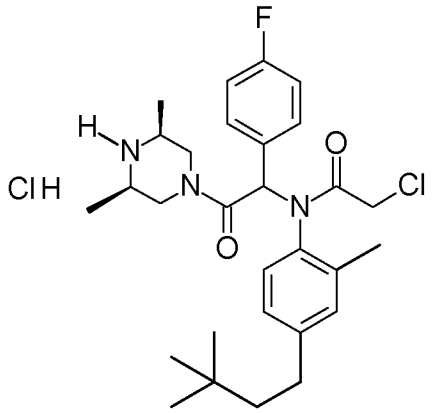
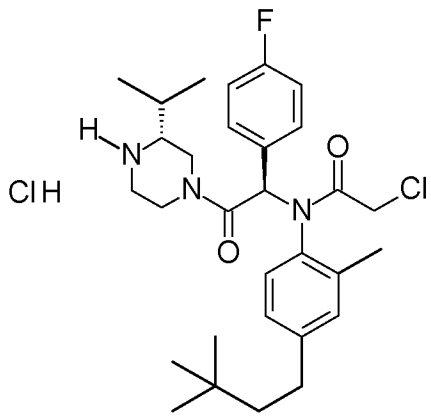
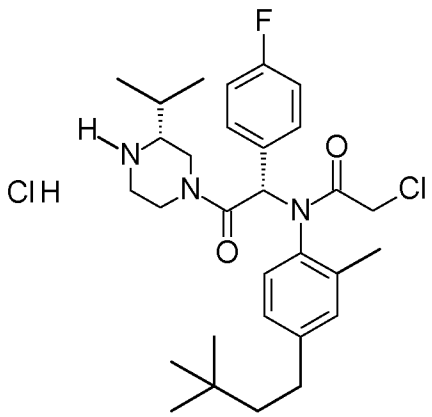
I-20b

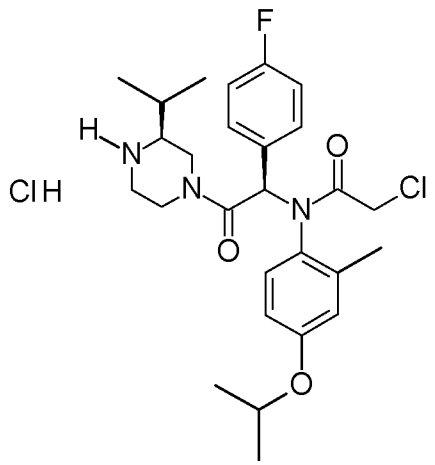
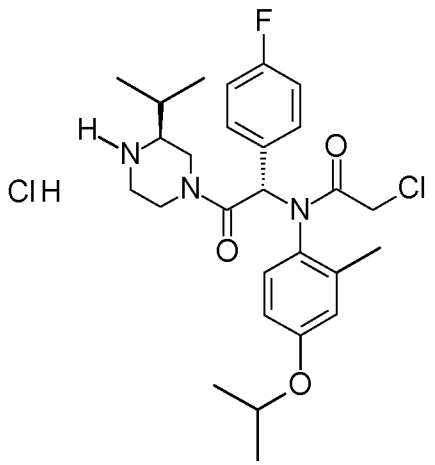
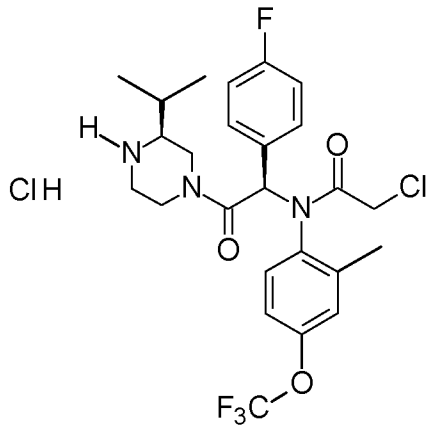
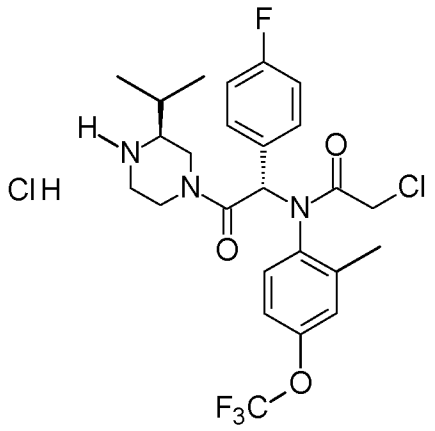


I-21a

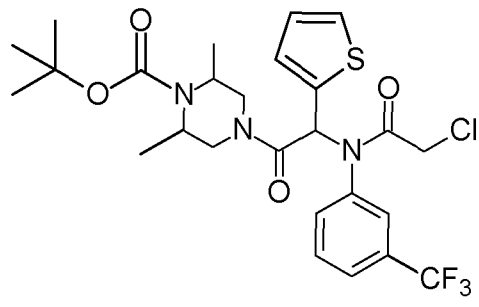


I-21b

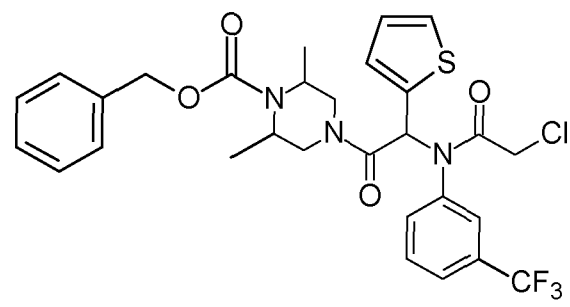
 I-22a	 I-22b
 I-23	 I-24
 I-25a	 I-25b

 I-26a	 I-26b
 I-27a	 I-27b

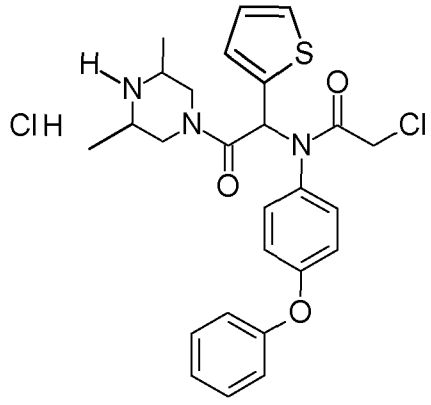
Les exemples suivants ont été obtenus en remplaçant l'ester éthylique de l'acide (4-fluoro-phényl)-oxo-acétique par le thiophène-2-glyoxylate d'éthyle et en utilisant les mêmes modes opératoires que précédemment.



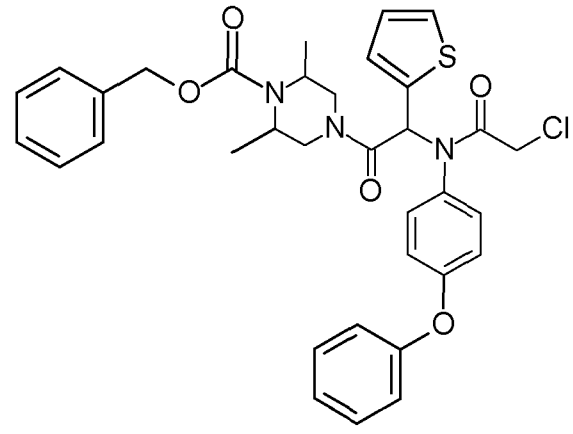
I-28



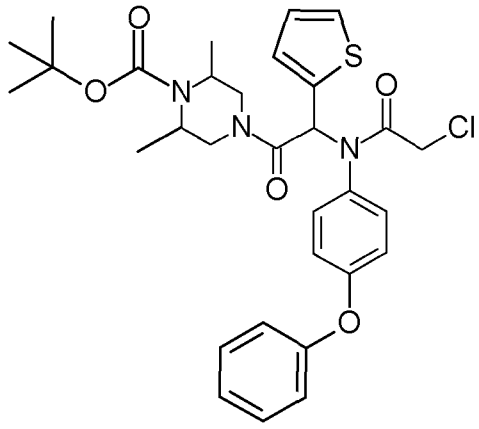
I-29



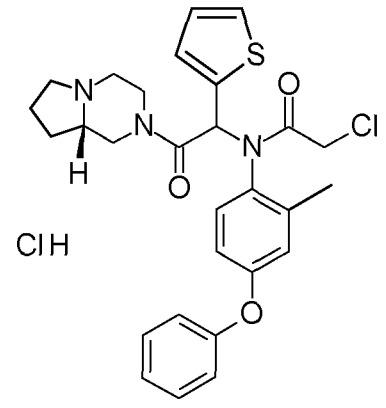
I-30



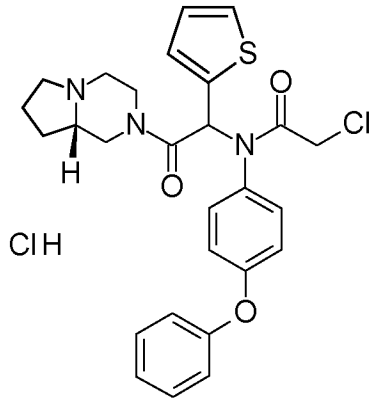
I-31



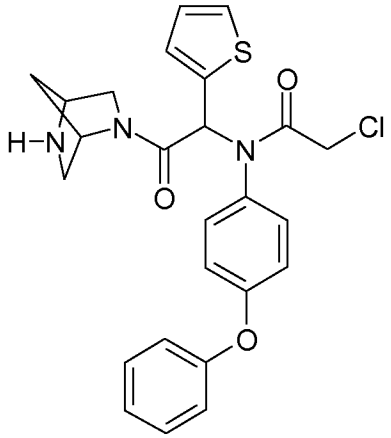
I-32



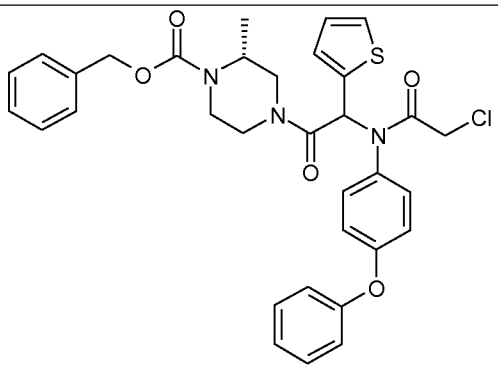
I-33



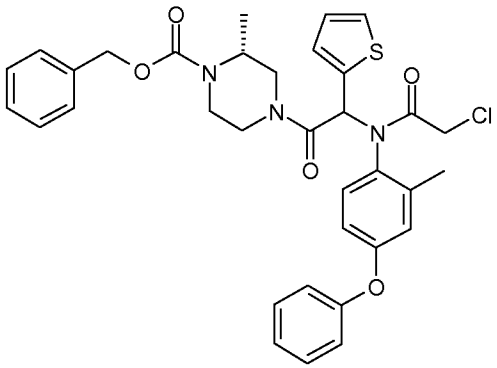
I-34



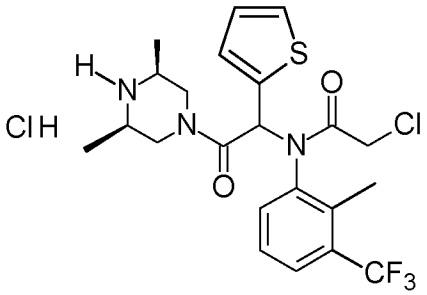
I-35



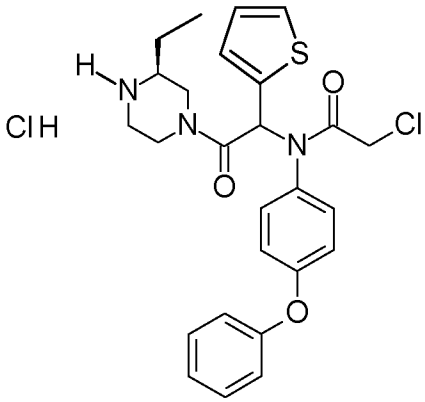
I-36



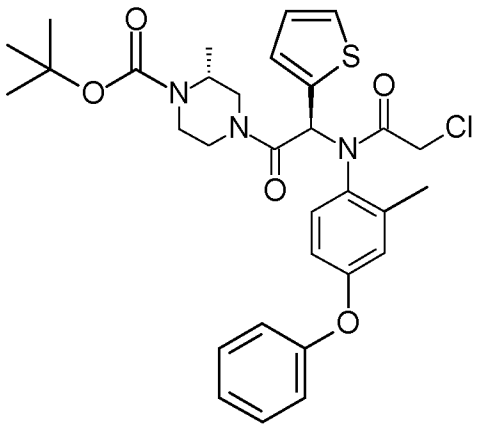
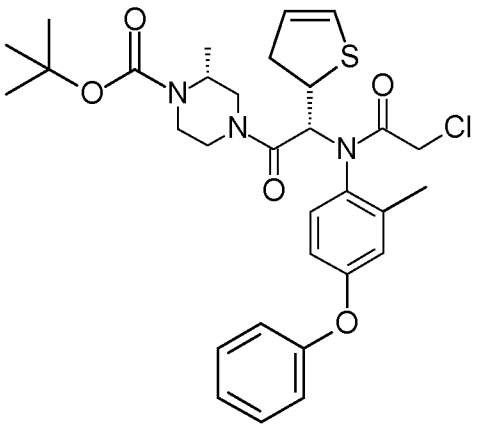
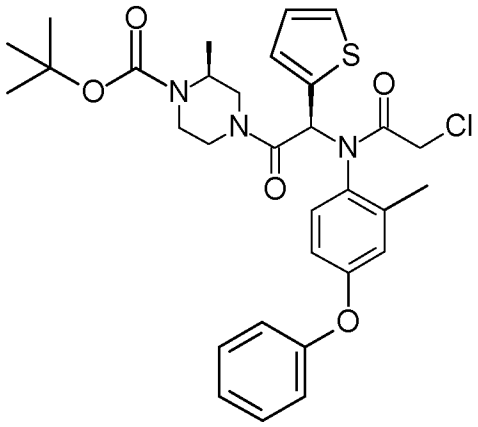
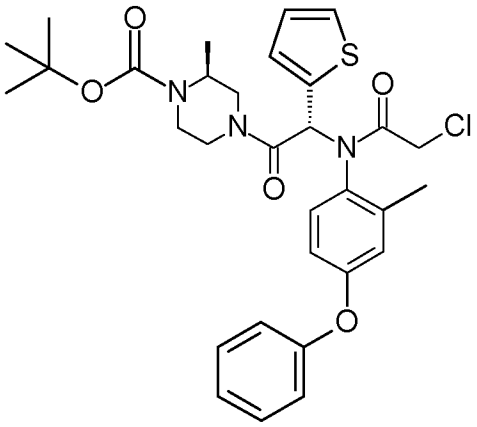
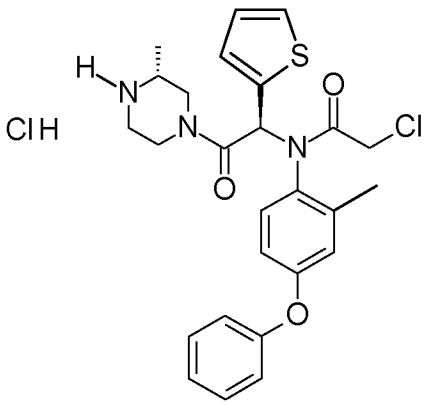
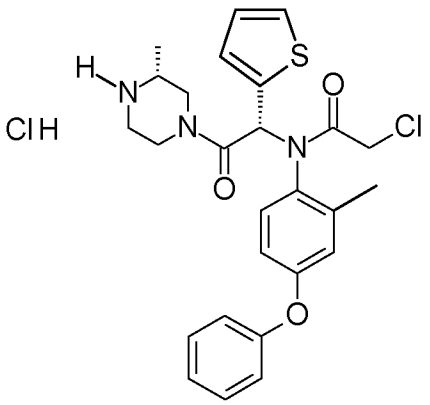
I-37

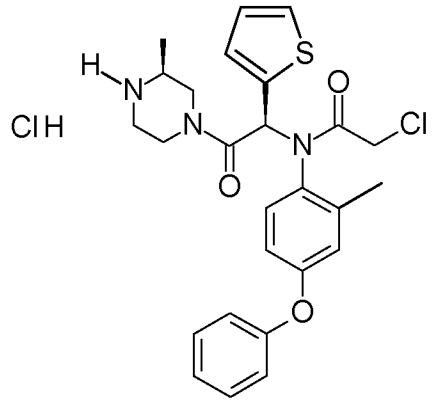
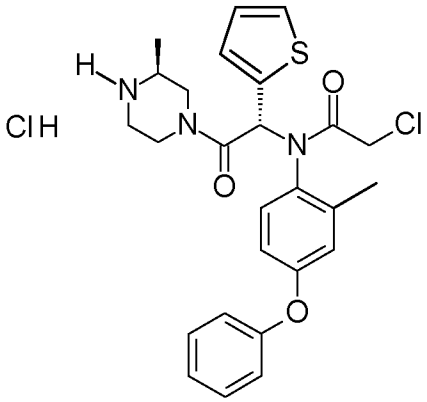
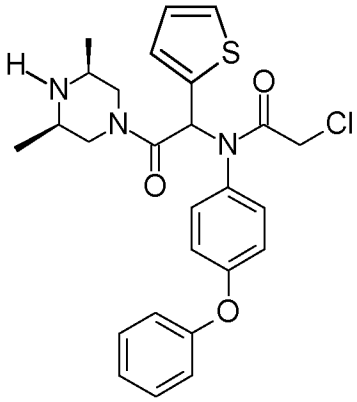
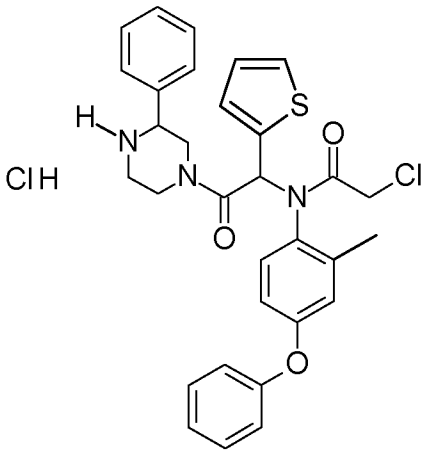
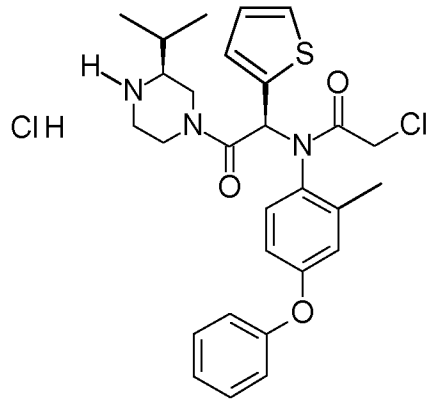
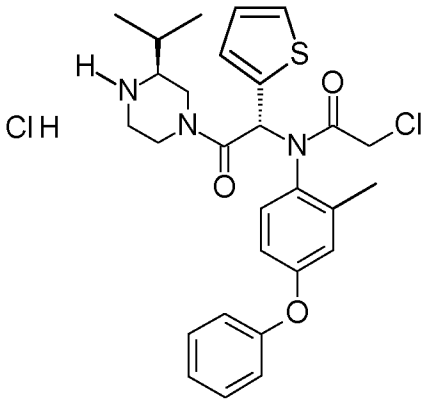


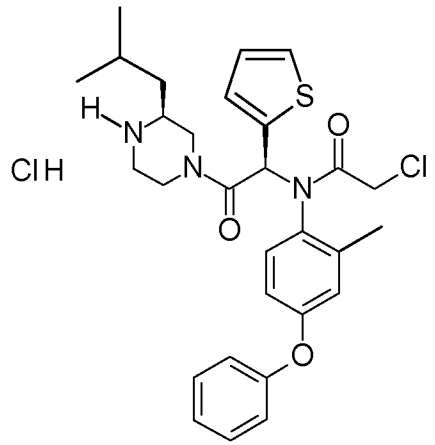
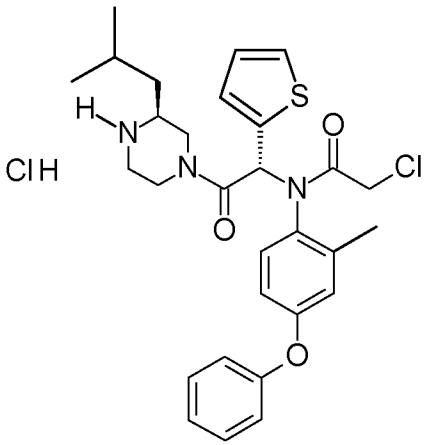
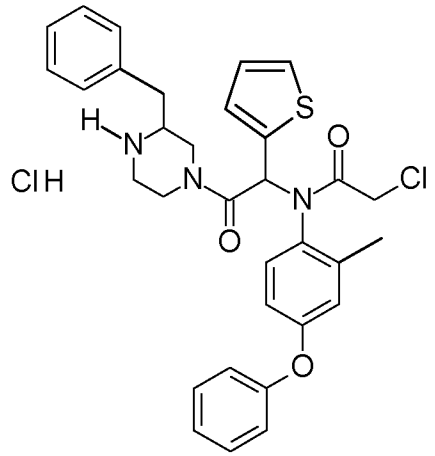
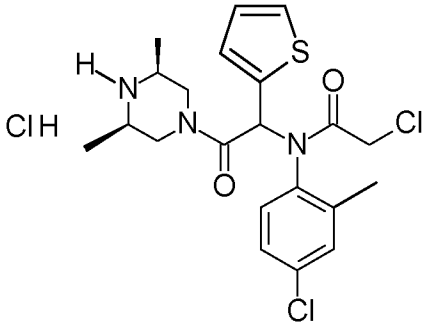
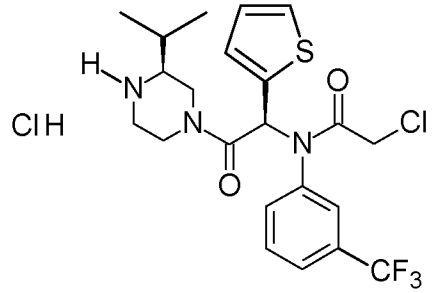
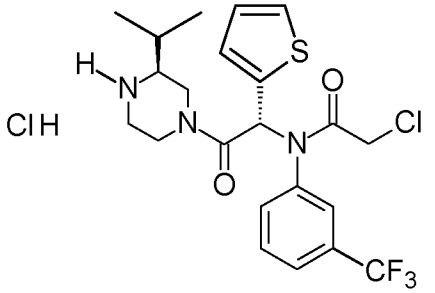
I-38

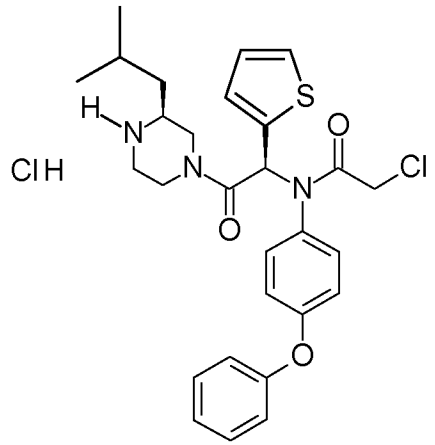
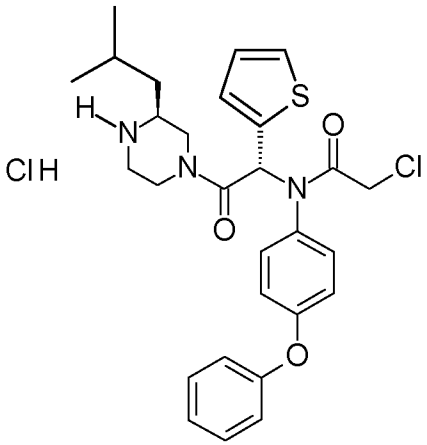
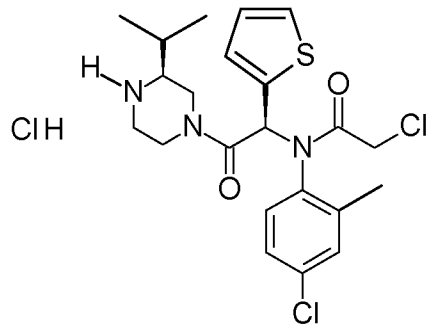
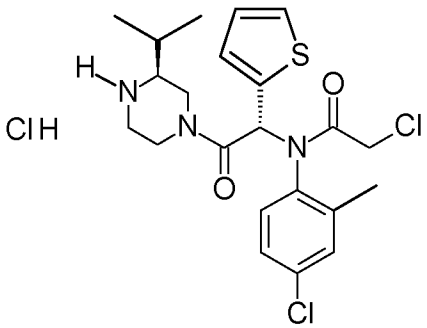
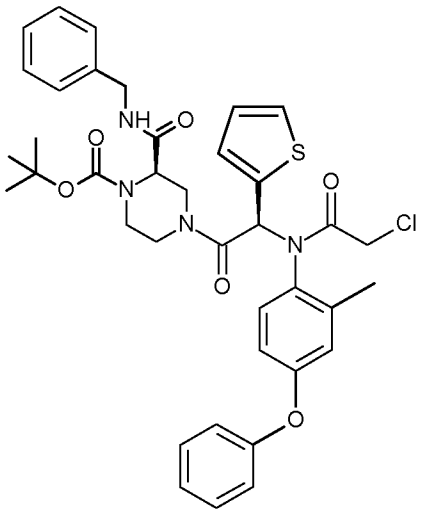
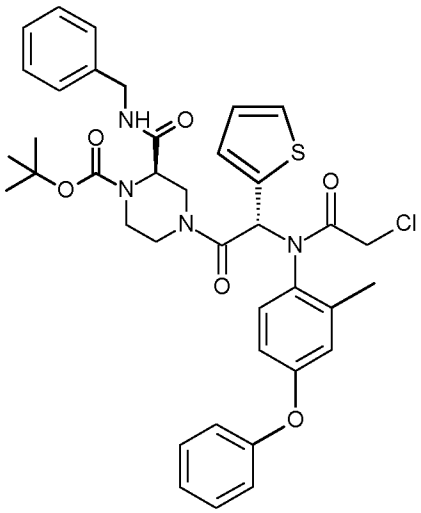


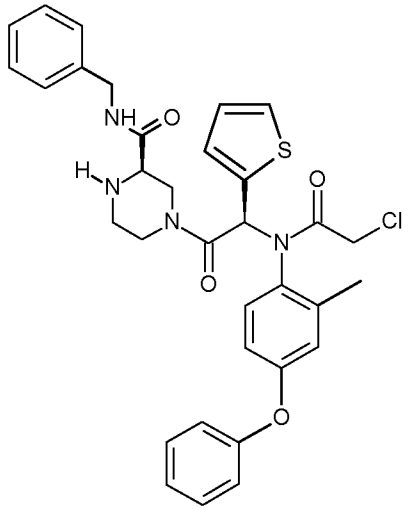
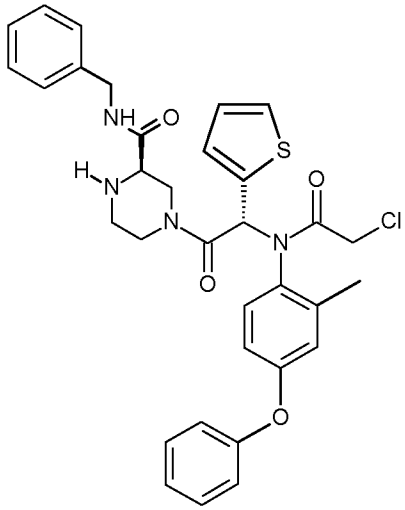
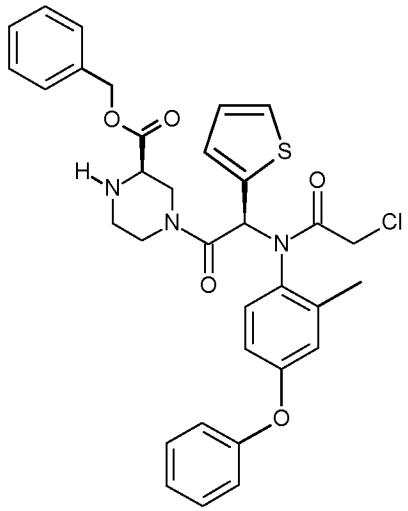
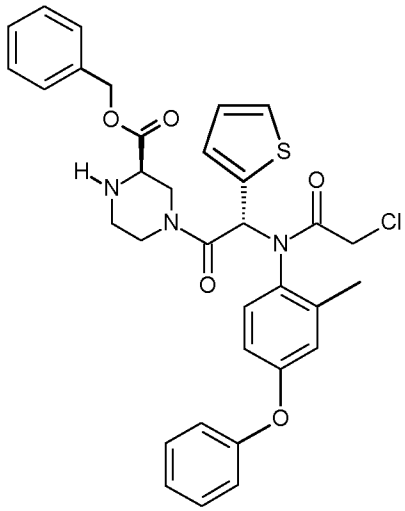
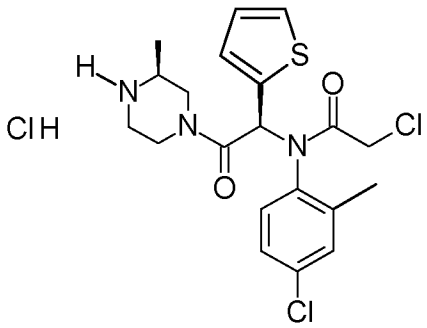
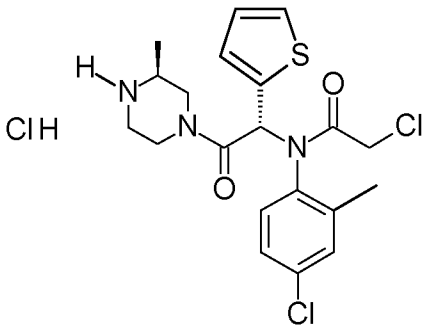
I-39

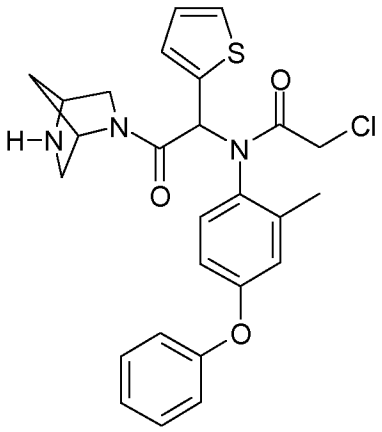
 I-40a	 I-40b
 I-41a	 I-41b
 I-42a	 I-42b

 I-43a	 I-43b
 I-44	 I-45
 I-46a	 I-46b

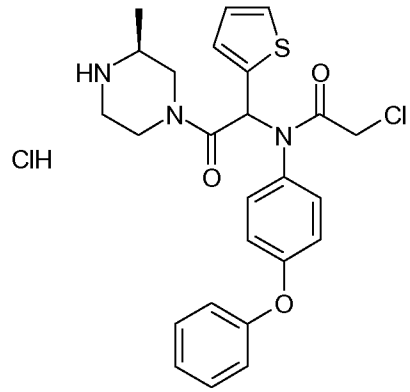
 I-47a	 I-47b
 I-48	 I-49
 I-50a	 I-50b

 I-51a	 I-51b
 I-52a	 I-52b
 I-53a	 I-53b

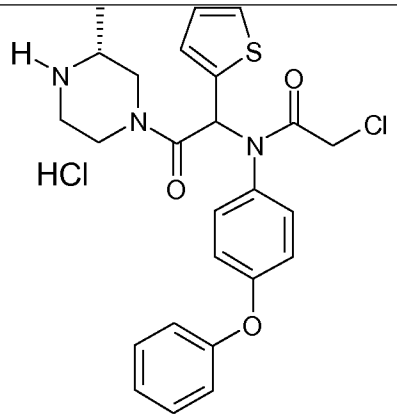
 I-54a	 I-54b
 I-55a	 I-55b
 I-56a	 I-56b



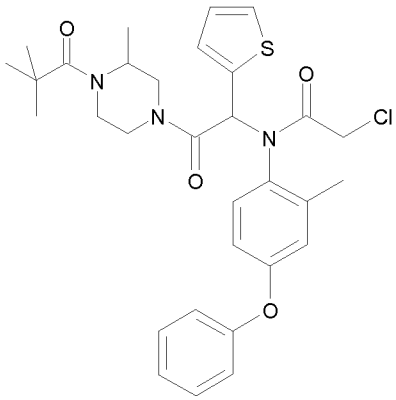
I-57



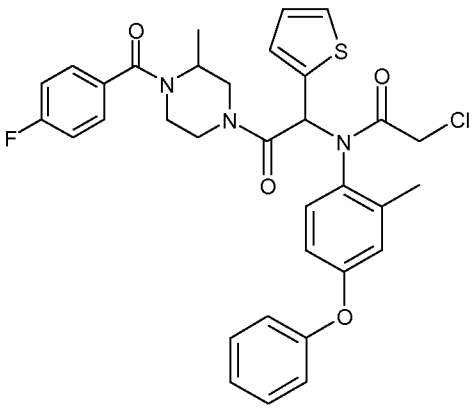
I-58



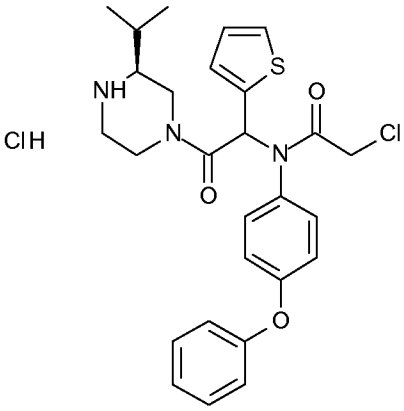
I-59



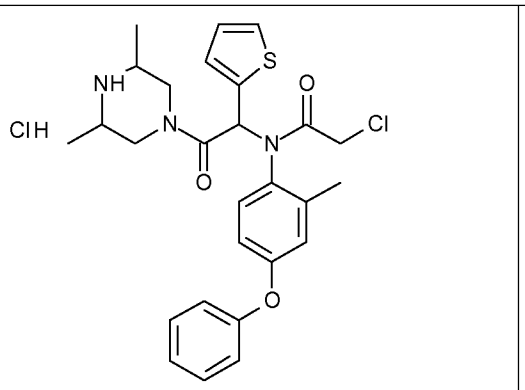
I-60



I-61



I-62



I-63

II – Etude pharmacologique des composés selon la présente invention

1) Tests de cytotoxicité

Les effets des composés de l'invention sur la prolifération de cellules cancéreuses ont été étudiés sur différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines d'origines tissulaires différentes (MCF-7 : cancer du sein, MCF-7/adr : cancer du sein résistant à l'adriamycine, HL-60 : leucémie aigüe à promyélocyte, HL-60/R10 : leucémie aigüe à promyélocyte résistant à la doxorubicine, HT29 : adénocarcinome du colon, Mia Paca2 : tumeur du pancréas, Panc-1 : tumeur du pancréas exocrine, SK-OV-3 : tumeur de l'ovaire résistante au cis-platine et à l'adriamycine). Les cellules cancéreuses utilisées pour cette étude ont été incubées à 37°C en présence de l'un des composés de l'invention ajouté dans le milieu de culture à différentes concentrations.

Les lignées cellulaires cancéreuses proviennent de l'ATCC (American Type Culture Collection) dans le cas de MCF-7, de l'Hôpital de la Pitié Salpetrière pour MCF-7/adr et d'Oncodesign (Dijon, France) pour HL-60, HL-60/R10, HT29, MiaPaCa2, Panc-1 et SK-OV-3. Elles ont été cultivées en milieu RPMI 1640 contenant 2 mM L-Glutamine et supplémenté avec 10 % de sérum de veau fœtal (Lonza ; Verviers, Belgique). Toutes les lignées cellulaires ont été maintenues en culture à 37°C dans une atmosphère humide contenant 5 % de CO_2. La prolifération cellulaire a été évaluée en utilisant le réactif ViaLight® Plus Assay Kit (Lonza ; Verviers, Belgique) en respectant les instructions du fabriquant. Les cellules ont été ensemencées dans des plaques de culture de 96 puits compatibles à la lecture de la luminescence (plaques blanches à fond transparent) à raison de 5 000 à 10 000 cellules par puits dans 100 µl de milieu de culture. Après 24 heures de préincubation à 37°C, les composés de l'invention dissous dans du

diméthylsulfoxyde (DMSO) ont été ajoutés individuellement dans chacun des puits à raison de 0,5 µl par puits. Après 72 heures d'incubation à 37°C dans une atmosphère humide contenant 5 % de CO_2, 50µl de tampon de lyse sont ajoutés dans chaque puits, 15 minutes après, 100 µl d'agent de mesure d'ATP ont été ajoutés. Les plaques ont été lues au luminomètre afin d'évaluer la viabilité cellulaire. Les données obtenues ont été traitées par ordinateur afin d'obtenir l'EC_{50}, c'est à dire la valeur de la concentration de chacun des composés qui induit 50 % de viabilité cellulaire en comparaison du control (0,5 % DMSO seul).

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux 1 et 2 suivants.

Tableau 1 : Résultats obtenus avec les lignées cellulaires HL-60, HL60/R10, MCF-7 et MCF-7/adr (EC_{50} exprimées en nM)

Exemple N°	EC_{50} (nM)			
	HL-60	HL60/R10	MCF-7	MCF-7 /adr
I-1 dia1	1799	-219	-2500	338
I-1 dia2	824	23	1304	39
I-2 dia1	728	40	2091	49
I-2 dia2	2061	472	2500	645
I-3 dia1	1311	15	927	55
I-3 dia2	504	2	301	9
I-4 dia1	648	4	315	13
I-4 dia2	1321	62	863	166
I-7 dia1	2500	604	2500	618
I-7 dia2	1938	26	1954	98
I-8 dia1	2029	54	1740	148
I-8 dia2	1737	312	2410	477
I-9	771	99	2500	108
I-10	641	131	2500	151
I-11	939	68	2500	102
I-12	2321	82	1787	421
I-13	1989	88	2500	532
I-14	1848	95	2500	232
I-16 dia1	1478	450	2500	527

Exemple N°	EC_{50} (nM)			
	HL-60	HL60/R10	MCF-7	MCF-7 /adr
I-16 dia2	1913	317	2500	443
I-17 dia1	2313	353	2500	898
I-17 dia2	1604	49	1994	152
I-18 dia1	1596	140	2500	485
I-18 dia2	352	44	591	152
I-19 dia1	516	97	2500	128
I-19 dia2	453	24	2500	35
I-20 dia1	196	80	1571	73
I-20 dia2	1478	139	2500	165
I-21 dia1	2447	13	1950	93
I-21 dia2	630	8	869	10
I-22 dia1	1995	17	569	131
I-22 dia2	1149	18	430	34
I-23	559	12	nd	nd
I-24	626	15	nd	nd
I-25 dia1	1122	43	nd	nd
I-25 dia2	819	103	nd	nd
I-26 dia1	2447	13	1950	93
I-26 dia2	630	8	869	10
I-27 dia1	1995	17	569	131
I-27 dia2	1149	18	430	34
I-28	623	206	nd	nd
I-29	939	38	1032	54
I-30	202	10	1006	44
I-31	766	64	2500	89
I-32	175	78	2500	58
I-33	2500	157	2500	394
I-34	1123	30	1775	100
I-35	300	249	632	863
I-36	372	28	2500	24
I-37	967	154	2500	156
I-38	2500	189	2500	851
I-39	1814	9	776	52

Exemple N°	EC_{50} (nM)			
	HL-60	HL60/R10	MCF-7	MCF-7 /adr
I-40 dia1	2129	248	2500	371
I-40 dia2	2500	487	2500	827
I-43 dia2	1886	20	1424	126
I-44	215	7	nd	nd
I-45	2136	17	nd	nd
I-46 dia1	2500	318	2500	544
I-46 dia2	449	10	1184	58
I-47 dia1	936	54	nd	nd
I-47 dia2	849	8	nd	nd
I-48	1991	10	nd	nd
I-49	1166	321	nd	nd
I-50 dia1	2102	259	nd	Nd
I-50 dia2	841	8	nd	nd
I-51 dia1	145	96	nd	nd
I-51 dia2	3	1	nd	nd
I-52 dia1	2500	194	nd	nd
I-52 dia2	223	24	nd	nd
I-53 dia1	1981	645	2064	462
I-53 dia2	547	305	nd	nd
I-58	1058	11	870	88
I-59	956	16	745	106

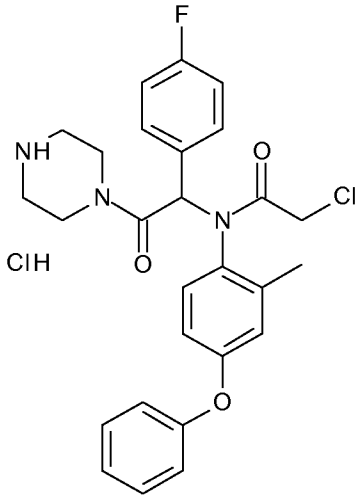
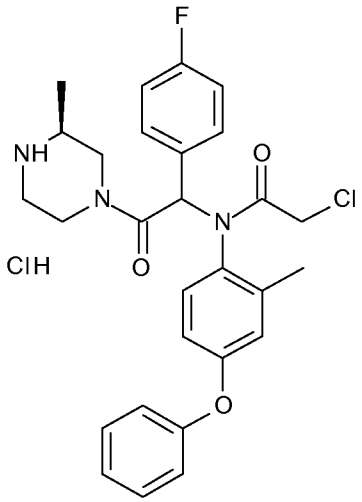
nd = non déterminé

Tableau 2 : Résultats obtenus avec d'autres lignées cellulaires (EC_{50} exprimées en nM)

Exemple N°	EC_{50} (nM)			
	HT29	Mia PaCa2	Panc-1	SK-OV-3
I-3 dia2	1	2	1	1
I-7 dia2	8	13	5	7
I-43 dia2	10	18	7	9
I-46 dia2	6	10	4	6
I-50 dia2	9	2200	9	11

Les tableaux 3 et 4 suivants illustrent le gain d'activité cytotoxique sur la lignée résistante HL60/R10 obtenu avec les composés possédant une pipérazine substituée en position alpha de l'azote 4 de la pipérazine par rapport à une pipérazine non substituée et/ou à une autre position de la pipérazine. La meilleure activité cytotoxique est obtenue par la configuration absolue (S) de cette substitution.

Tableau 3 : Résultats obtenus avec différentes substitutions de la pipérazine

Exemple	**EC_{50} (nM)**	
	HL-60	**HL-60/R10**
 Ex. comparatif	1627	226
 I-12	2321	82

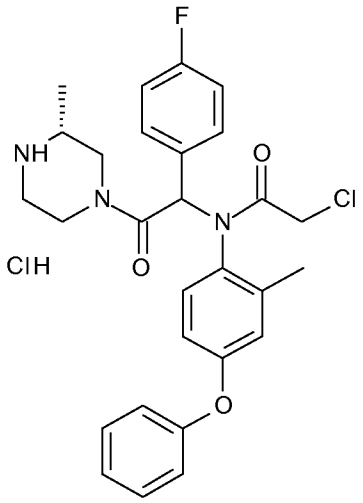
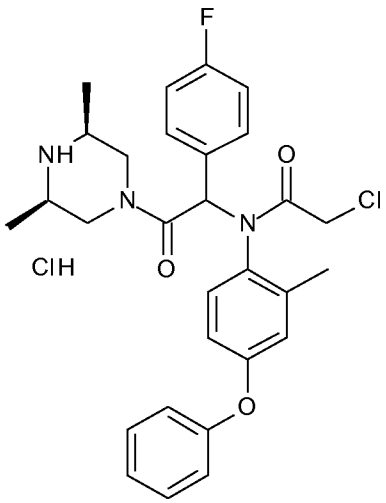
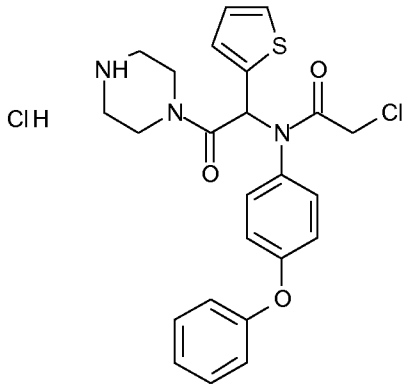
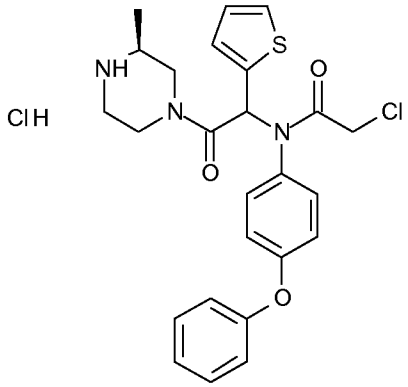
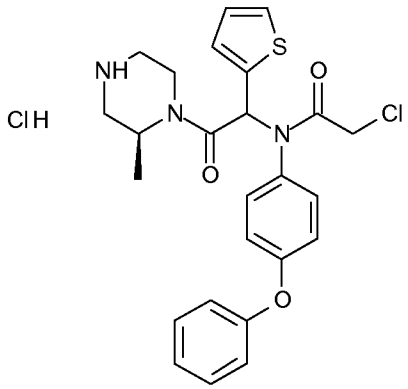
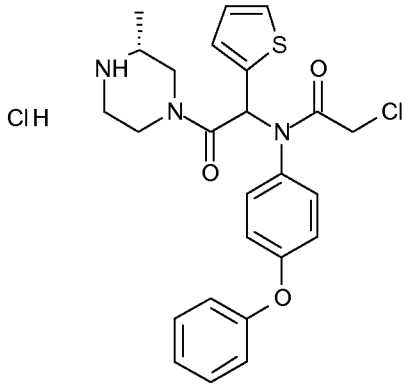
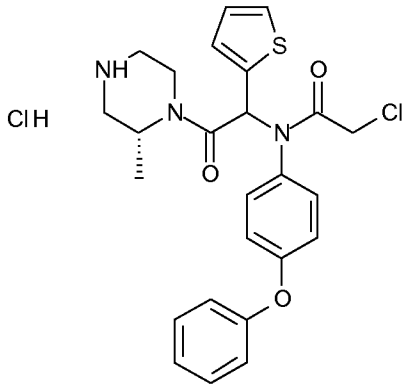
Exemple	EC_{50} (nM)	
	HL-60	HL-60/R10
 I-14	1989	88
 I-13	1848	95

Tableau 4 : Résultats obtenus avec différentes substitutions de la pipérazine

Exemple	EC_{50} (nM)	
	HL-60	HL-60/R10
 Ex. comparatif	579	21
 I-58	1058	11
 Ex. comparatif	662	65

Exemple	EC_{50} (nM)	
	HL-60	HL-60/R10
 I-59	966	16
 Ex. comparatif	311	38

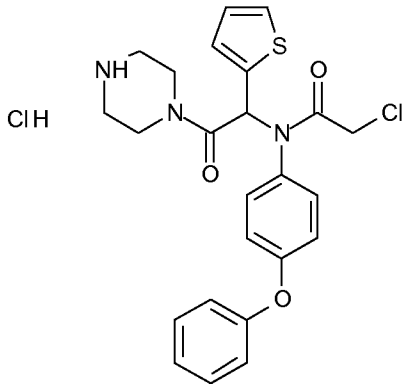
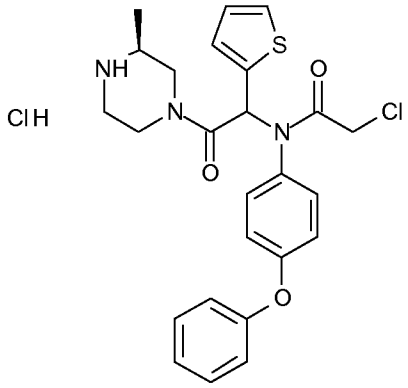
2) Détermination de la solubilité aqueuse

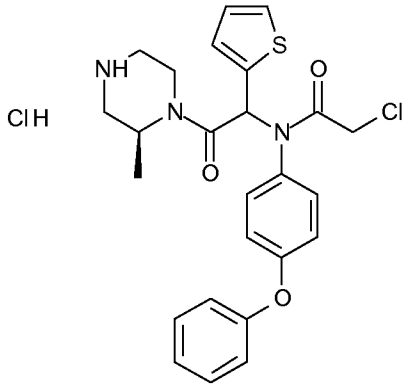
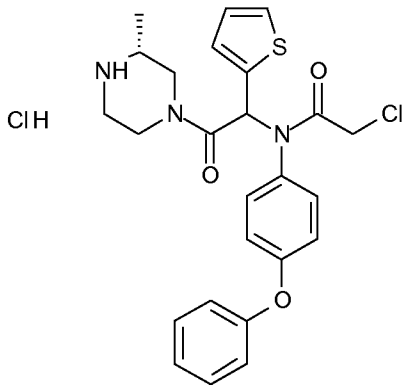
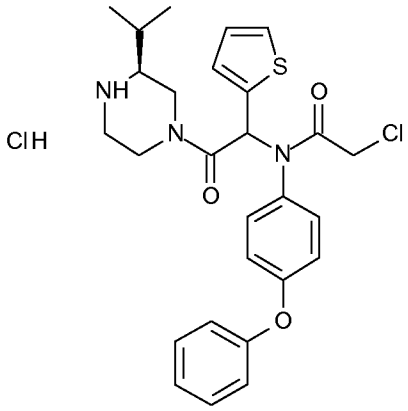
La solubilité aqueuse est un paramètre physicochimique important pour améliorer les propriétés ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion) des molécules (Drug-like properties: concepts, structure design and methods, Edward Harvel Kerns, Li Di ; Academic Press, 2008).

La solubilité aqueuse de chaque composé a été mesurée à pH 7,4. Elle a été mesurée par HPLC sur les surnageants obtenus par centrifugation après saturation des milieux par un excès de composé après 24 h d'agitation et à une température de 20°C. La préparation et le traitement des échantillons sont réalisés par un robot.

Le tableau 5 montre le gain de solubilité aqueuse obtenu pour un composé selon l'invention I-58 par rapport à une pipérazine non substituée ou substituée sur une autre position.

Tableau 5 : Solubilité aqueuse obtenus avec différentes substitutions de la pipérazine

Exemple	**Solubilité (µg/mL)**
 Ex. comparatif	68
 I-58	203

Exemple	Solubilité (µg/mL)
 Ex. comparatif	105
 I-59	152
 I-62	50

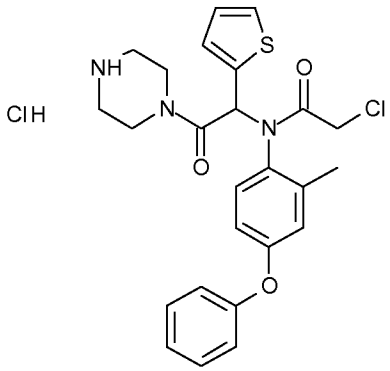
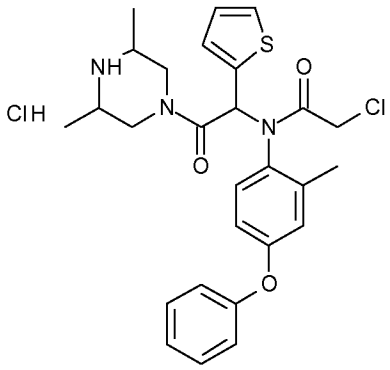
3) Paramètres pharmacocinétiques chez la souris

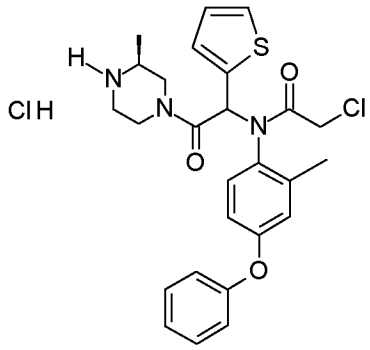
Le comportement pharmacocinétique des composés est un pré-requis nécessaire à son utilisation raisonnée en expérimentation *in vivo*. Les composés sont administrés en

solution DMSO par voie intraveineuse (IV) ou voie orale (PO) chez des souris balb/c. Des échantillons de sang sont prélevés à des temps allant de 5 minutes à 6 heures, les plasmas sont récupérés et la concentration des composés dans chaque échantillon est dosée par LC/MS/MS. Les données obtenues permettent l'élaboration de courbes temps-concentration et la détermination des paramètres fondamentaux tels que le temps de ½ vie plasmatique du composé (T½), l'aire sous la courbe à un temps donné (AUCt) et la concentration maximale obtenue (Cmax). Le tableau 6 montre le gain apporté par une substitution de la pipérazine sur les paramètres pharmacocinétiques des composés administrés par voie intraveineuse à la dose de 10 mg/kg.

Sur la figure 1, sont données les courbes temps-concentration plasmatique pour une souris suite à l'administration de I-43 dia2 par voie IV et PO. Le composé I-43 dia2 présente ainsi une bonne biodisponiblité chez la souris, particulièrement par voie orale.

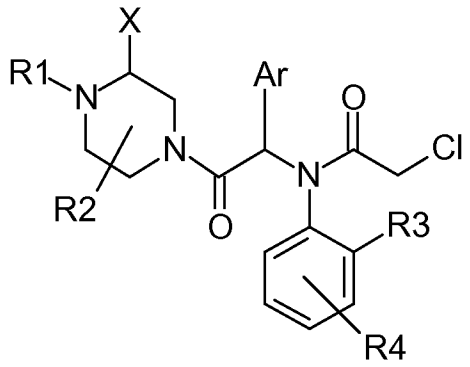
Tableau 6 : Paramètres pharmacocinétiques obtenus avec diverses substitutions de la pipérazine

Exemple	**Cmax (ng/mL)**	**AUCt (ng/mL*h)**	**AUCinf (ng/mL*h)**	**$t_{1/2}$ (h)**
 Ex. comparatif	1469,50	1278,25	1321,68	1,38
 I-63	3797,6	3287,08	3837,61	2,64

 I-43 dia 2	1424,37	1677,94	2057,38	2,47

REVENDICATIONS

1. Composé de formule générale (I) suivante :



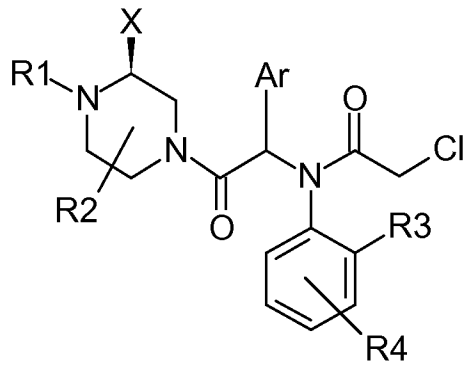
(I)

ainsi que ses sels pharmaceutiquement acceptables, ses stéréoisomères ou mélanges de stéréoisomères en toutes proportions, en particulier un mélange d'énantiomère, et notamment un mélange racémique,

pour laquelle :

- X représente un groupement (C_1-C_6)alkyle, phényle, benzyle, C(O)OR5, ou C(O)NHR5,
- R1 représente un atome d'hydrogène ou un groupement C(O)H, C(O)R6, ou C(O)OR6,
- R2 représente un atome d'hydrogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, ou R2 forme avec R1 ou X une chaîne hydrocarbonée saturée de manière à former un cycle à 5 ou 6 chaînons, notamment à 5 chaînons,
- R3 représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, ou (C_1-C_6)alkoxy,
- R4 représente un atome d'hydrogène ou d'halogène, CN, NO_2, ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, (C_1-C_6)alkoxy, aryloxy, benzyloxy, ou hétéroaryloxy, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène,
- Ar représente un groupement thiophényle ou un groupement phényle éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène, et
- R5 et R6 représentent, indépendamment l'un de l'autre, un groupement (C_1-C_6)alkyle, aryl-(C_1-C_6)alkyle ou aryle, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène.

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (I-bis) suivante :



(I-bis).

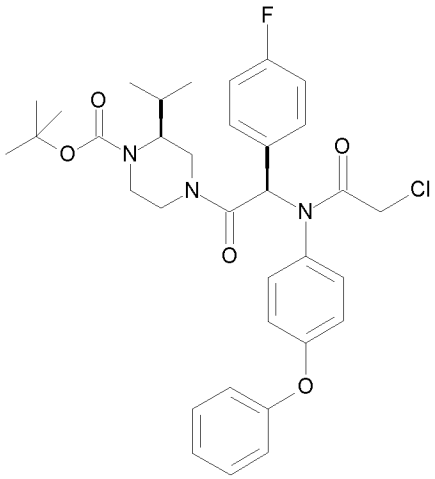
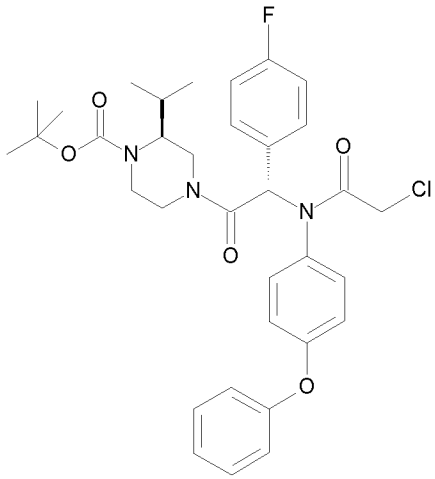
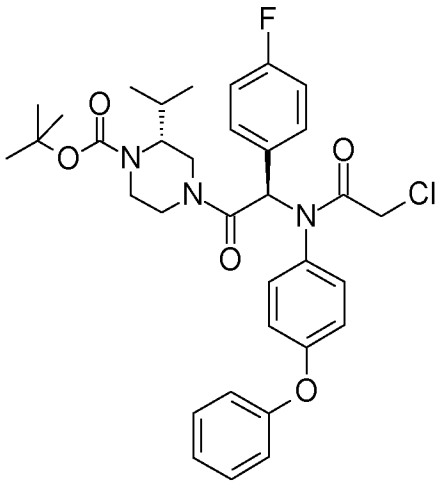
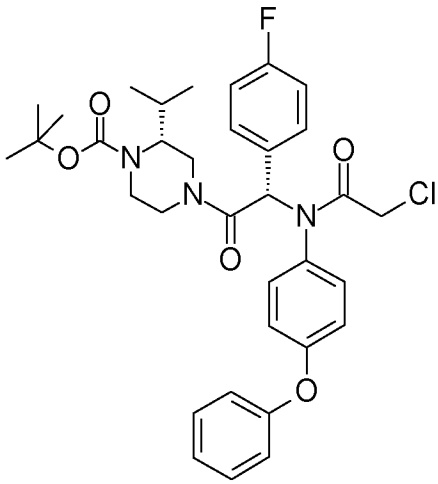
3. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que Ar représente un groupement thiophényle ou un groupement phényle substitué par un ou plusieurs atomes de fluor tel que le 4-fluoro-phényle.

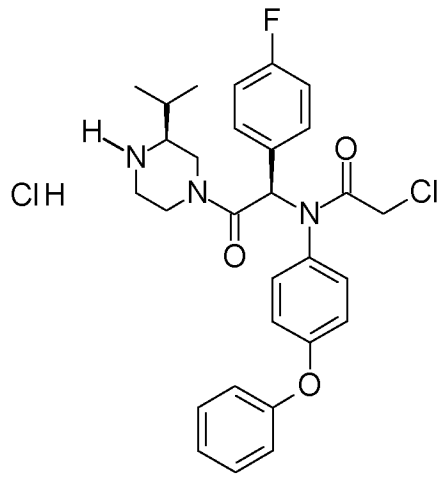
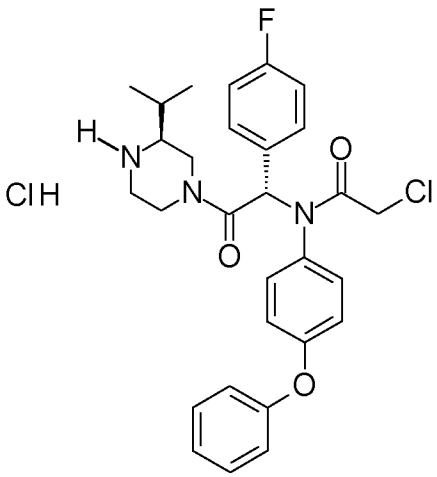
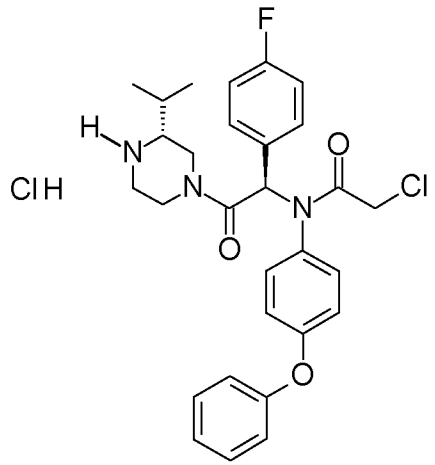
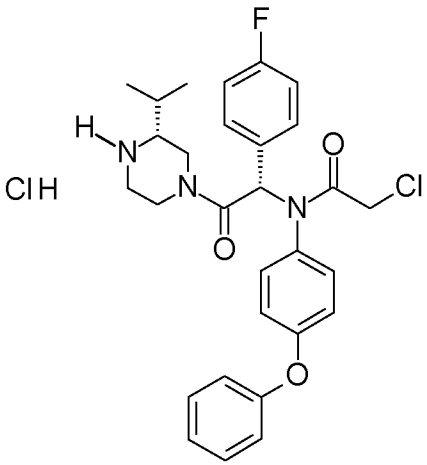
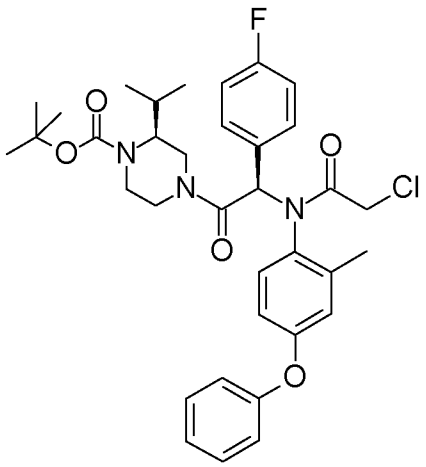
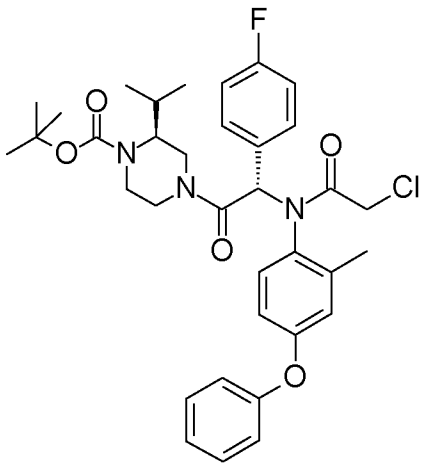
4. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que R4 représente un atome d'hydrogène ou d'halogène, ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, (C_1-C_6)alkoxy, ou aryloxy, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène, en particulier de fluor.

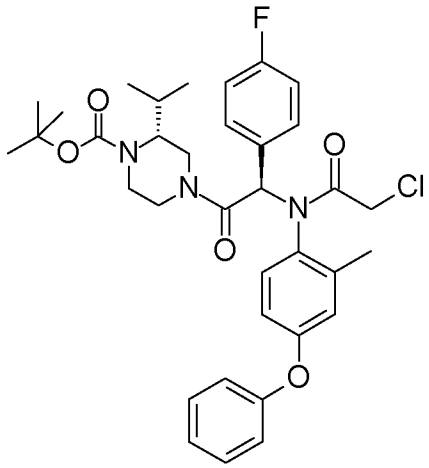
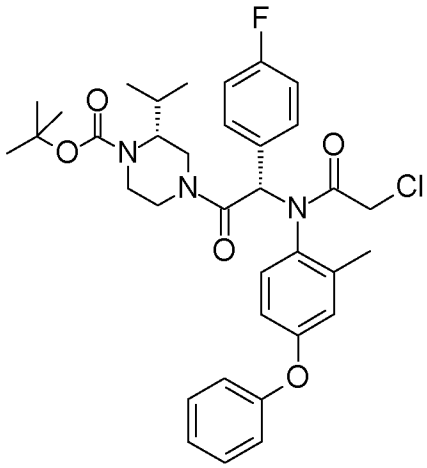
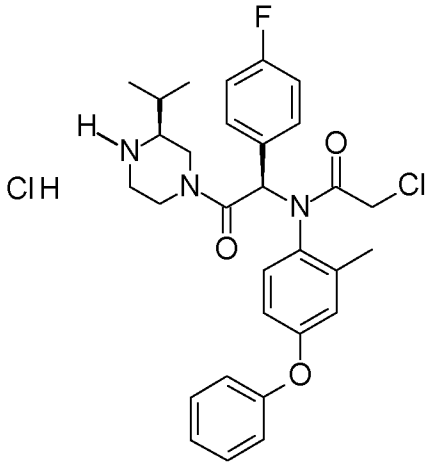
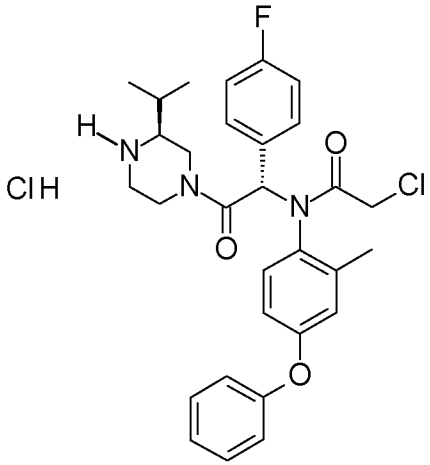
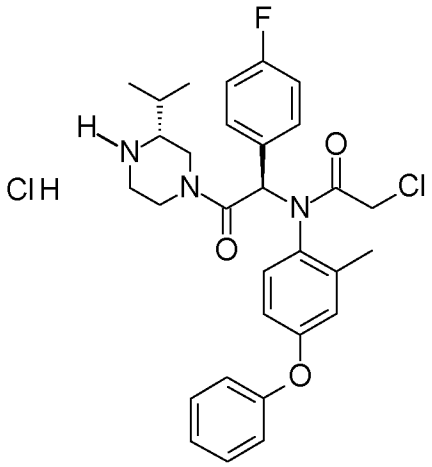
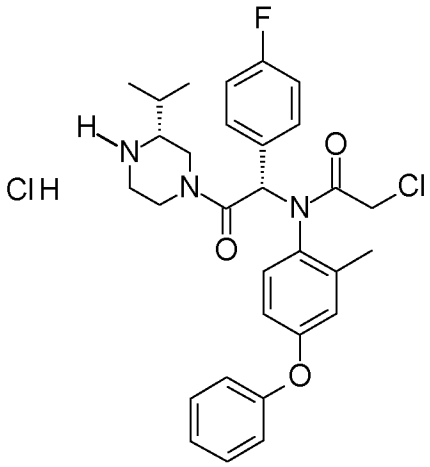
5. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que R3 représente un atome d'hydrogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, tel que méthyle.

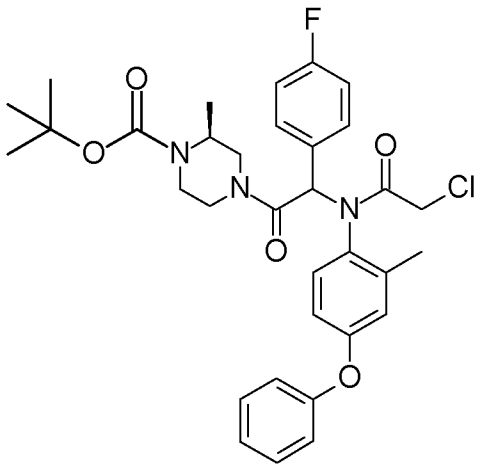
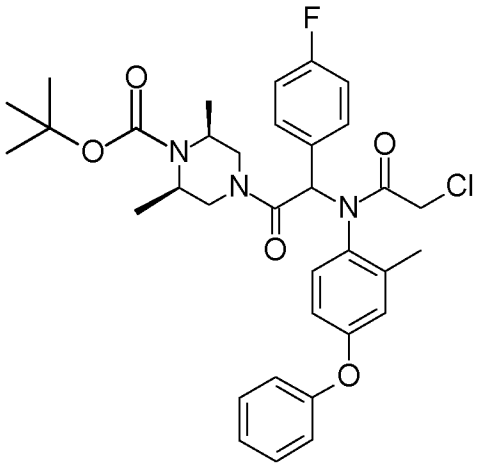
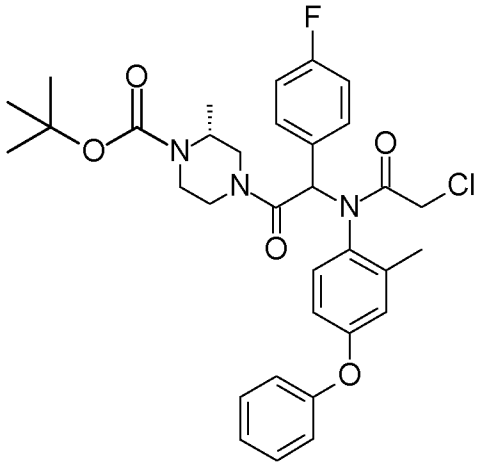
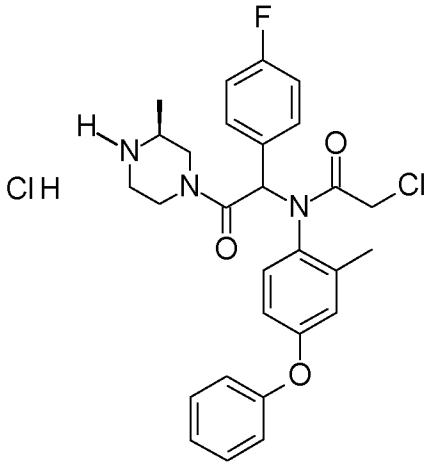
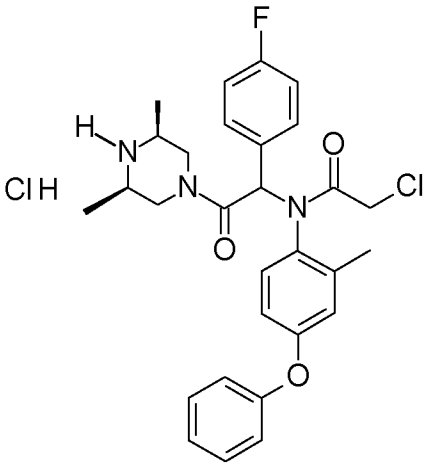
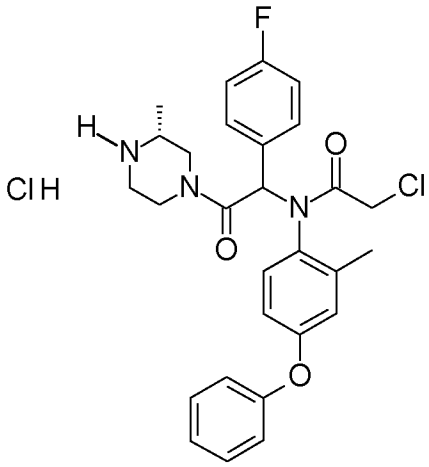
6. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que X représente un groupement (C_1-C_6)alkyle, phényle, ou benzyle ; R1 et R2 représentent un atome d'hydrogène ; R3 représente un atome d'hydrogène ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, en particulier (C_1-C_3)alkyle ; R4 représente un atome d'halogène, ou un groupement (C_1-C_6)alkyle, (C_1-C_6)alkoxy, aryloxy, ou benzyloxy, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène ; Ar représente un groupement thiophényle ou un groupement phényle éventuellement substitué par un atome de fluor tel que le 4-fluoro-phényle ; et R5 et R6 représentent, indépendamment l'un de l'autre, un groupement (C_1-C_6)alkyle, aryl-(C_1-C_6)alkyle, ou aryle, ledit groupement étant éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes de fluor.

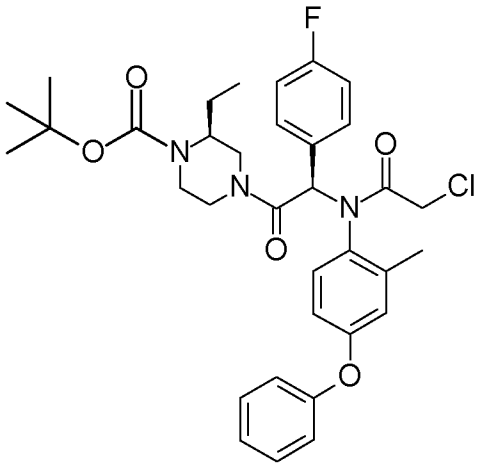
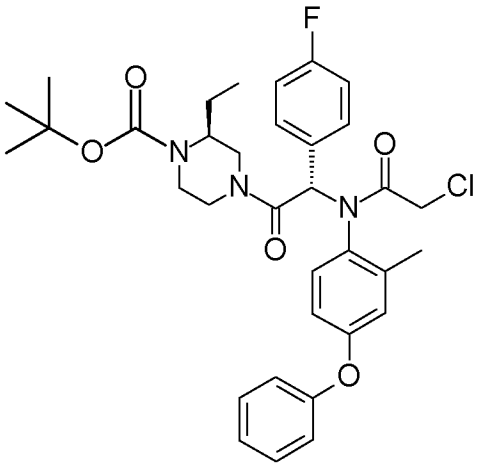
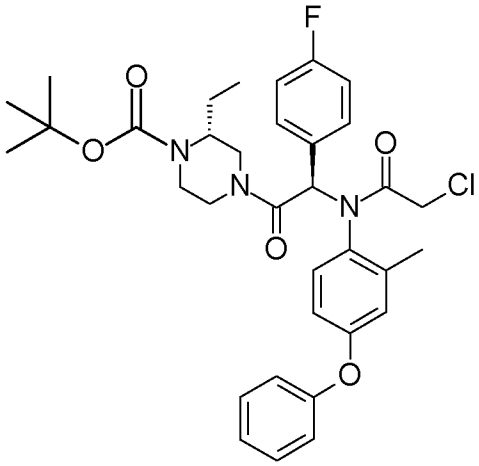
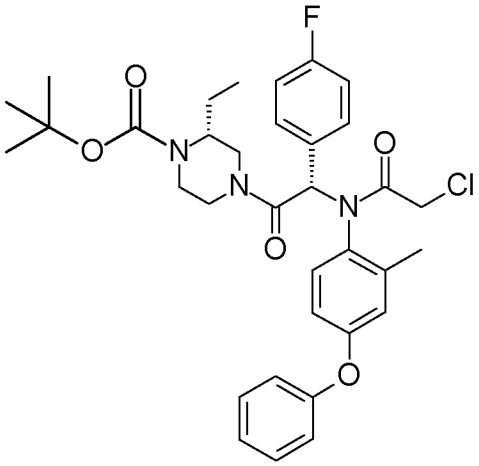
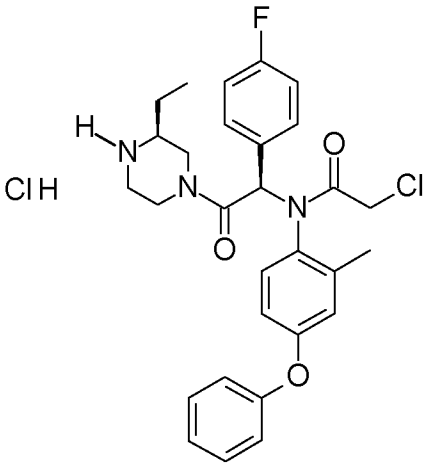
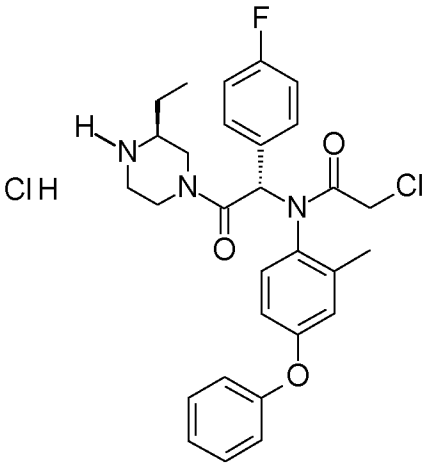
7. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le composé est choisi parmi :

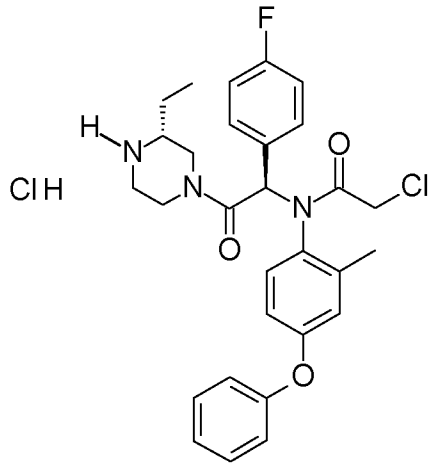
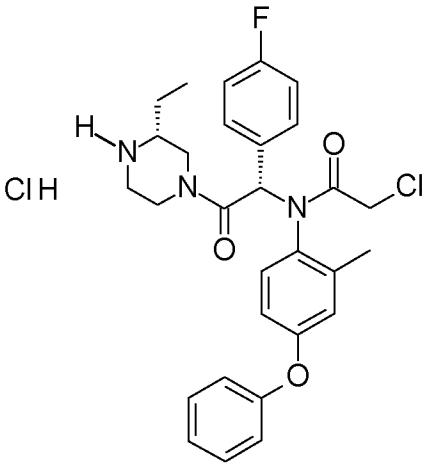
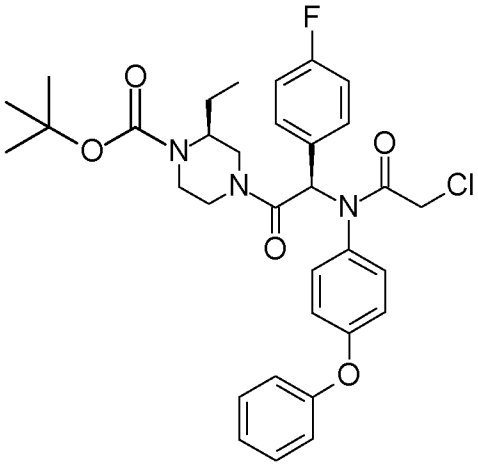
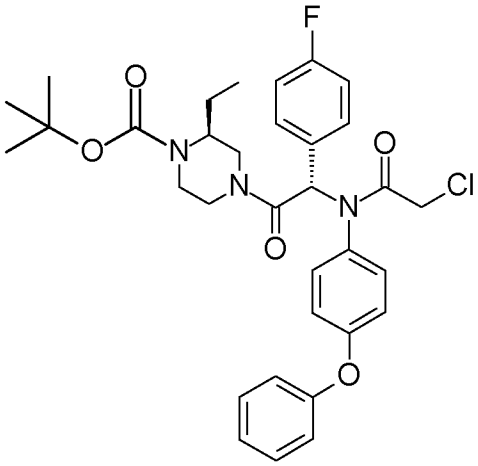
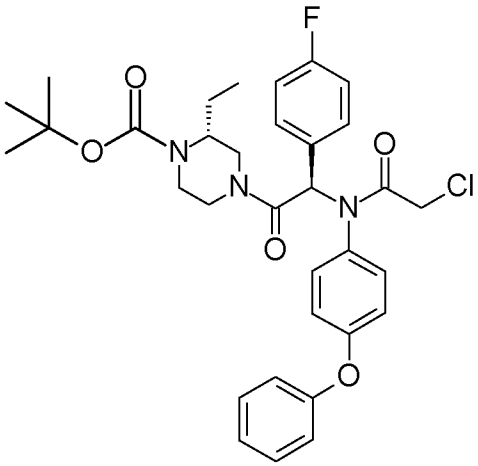
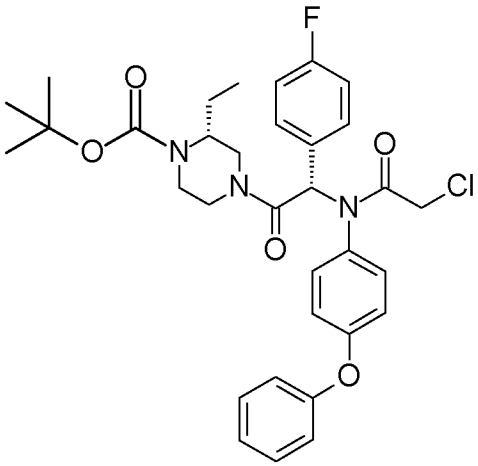
 I-1a	 I-1b
 I-2a	 I-2b

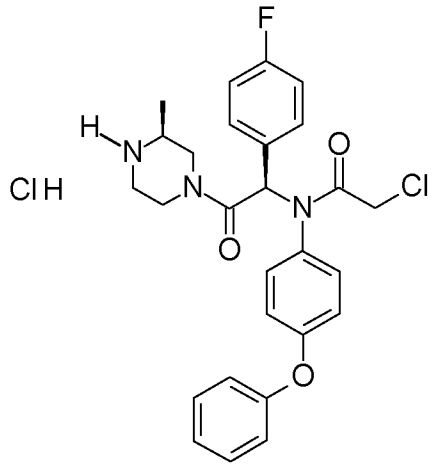
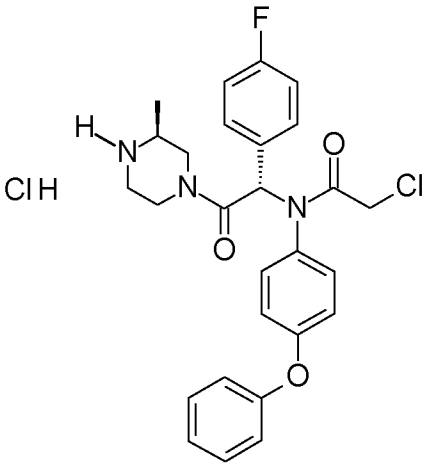
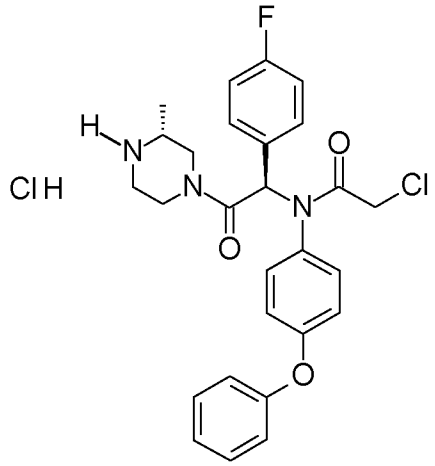
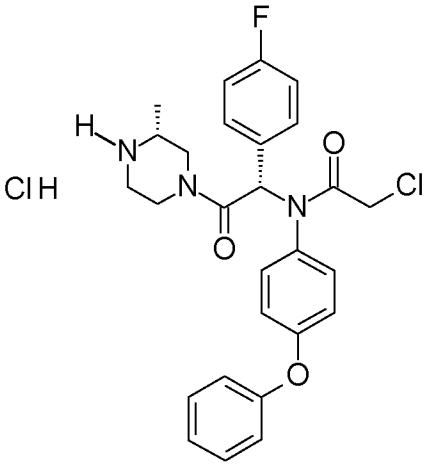
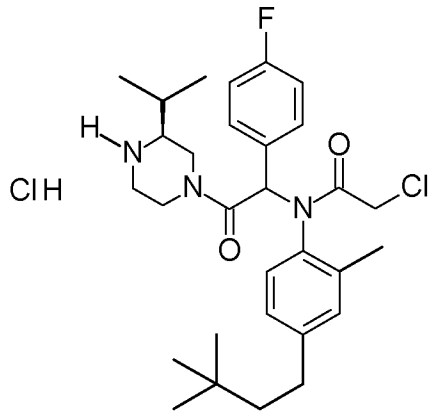
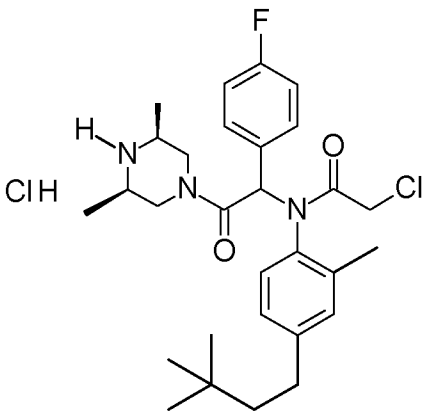
 I-3a	 I-3b
 I-4a	 I-4b
 I-5a	 I-5b

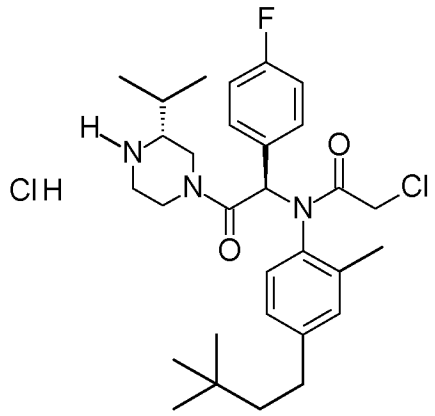
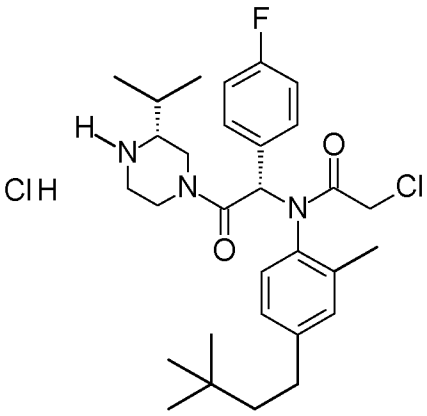
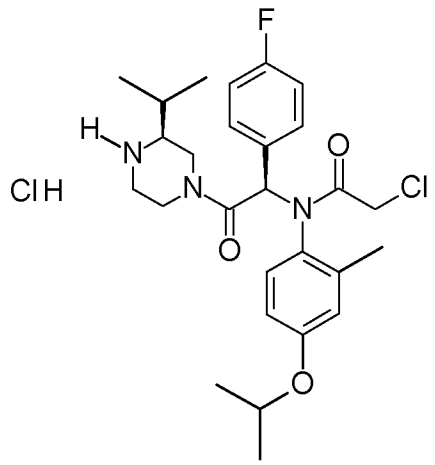
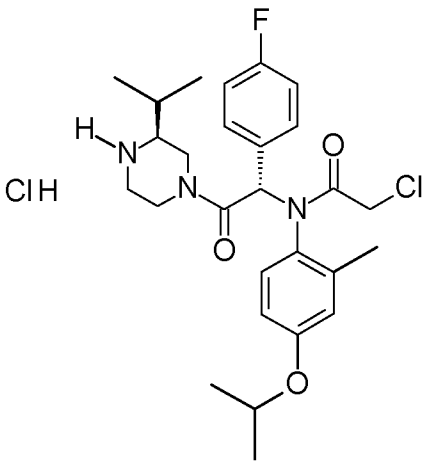
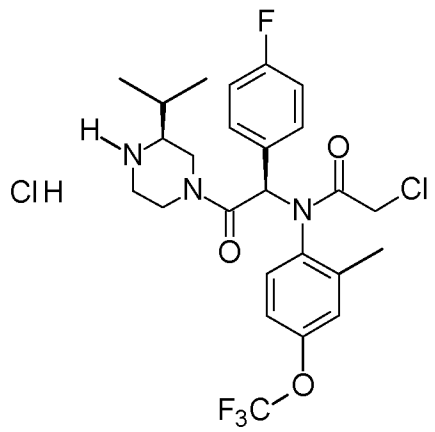
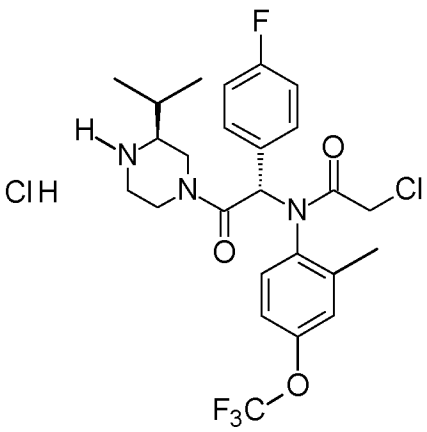
 I-6a	 I-6b
 I-7a	 I-7b
 I-8a	 I-8b

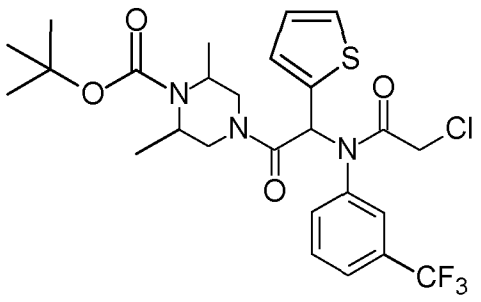
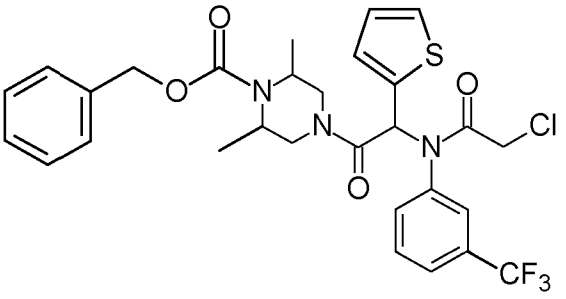
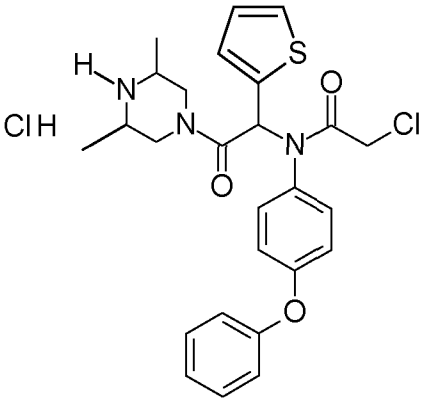
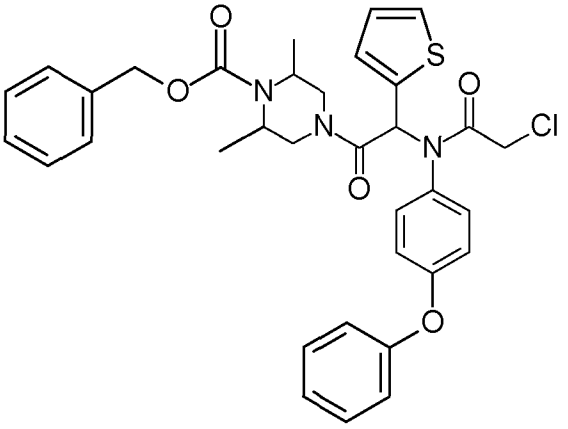
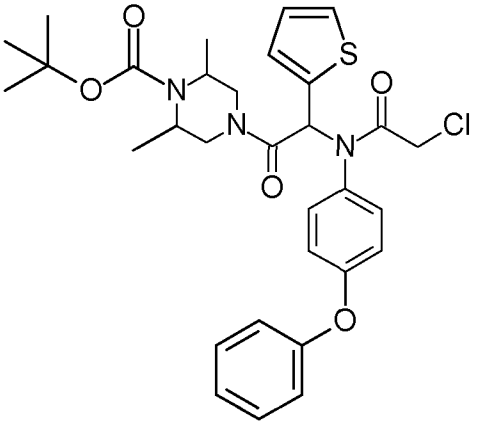
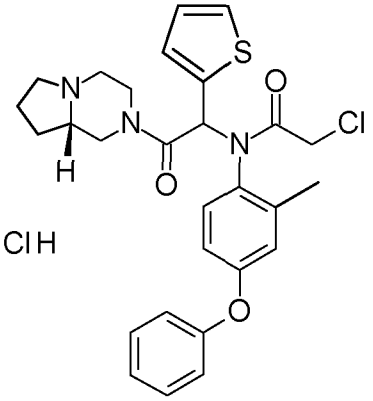
 I-9	 I-10
 I-11	 I-12
 I-13	 I-14

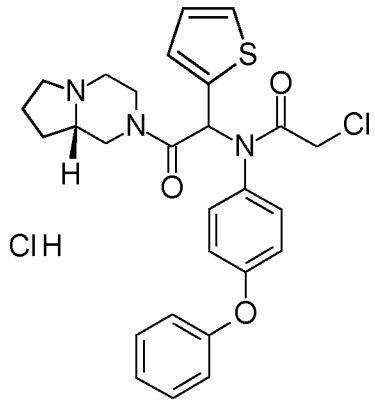
 I-15a	 I-15b
 I-16a	 I-16b
 I-17a	 I-17b

 I-18a	 I-18b
 I-19a	 I-19b
 I-20a	 I-20b

 I-21a	 I-21b
 I-22a	 I-22b
 I-23	 I-24

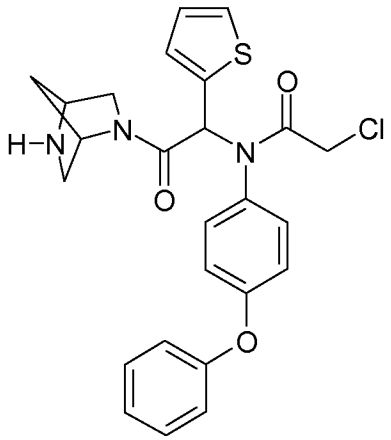
 I-25a	 I-25b
 I-26a	 I-26b
 I-27a	 I-27b

 I-28	 I-29
 I-30	 I-31
 I-32	 I-33

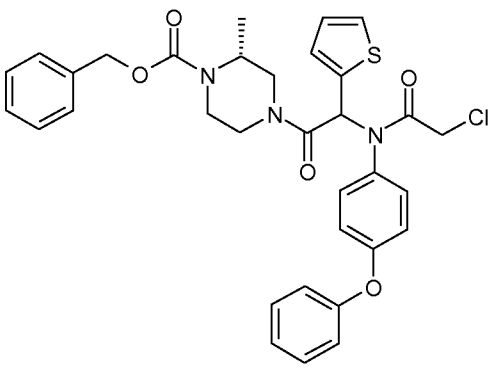


ClH

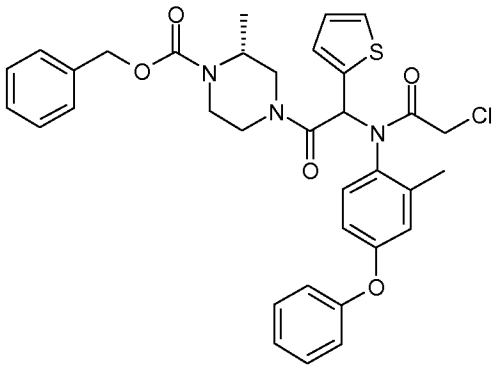
I-34



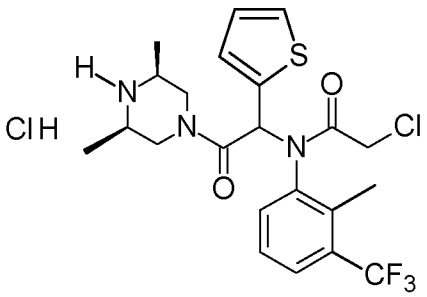
I-35



I-36

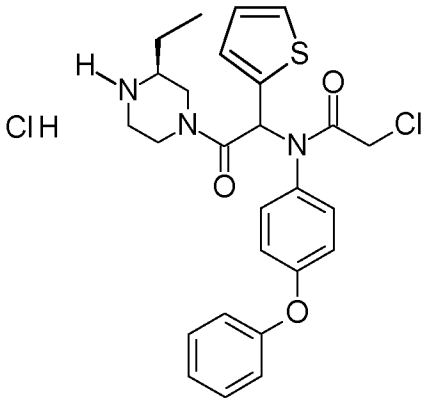


I-37



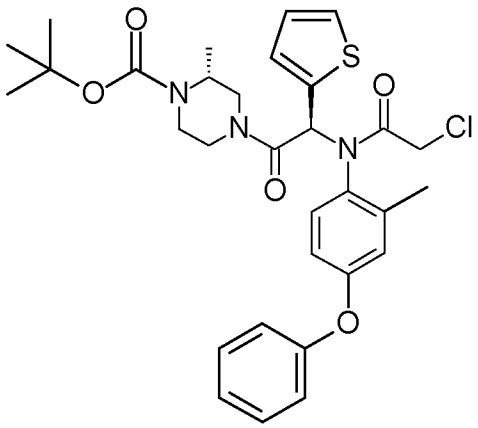
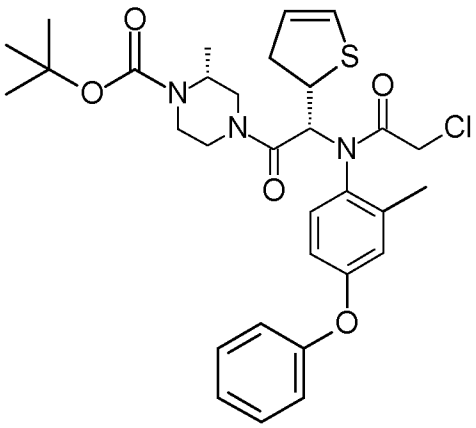
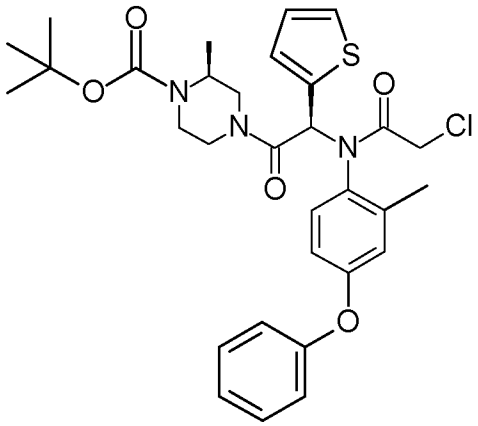
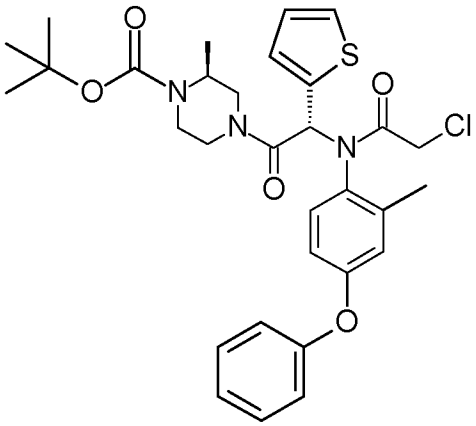
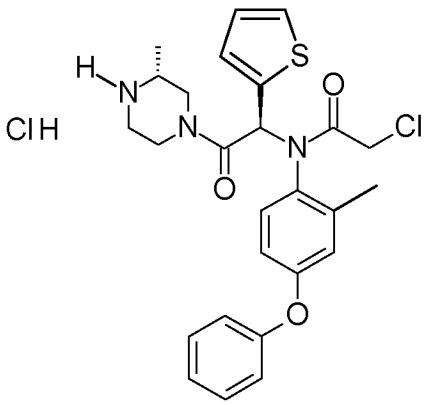
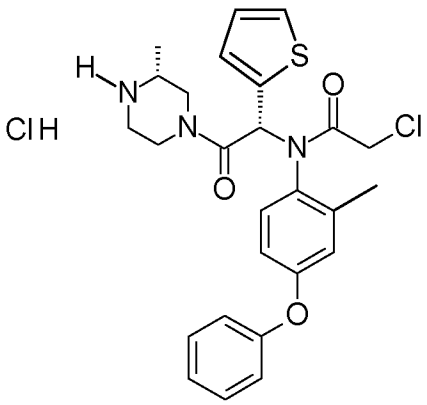
ClH

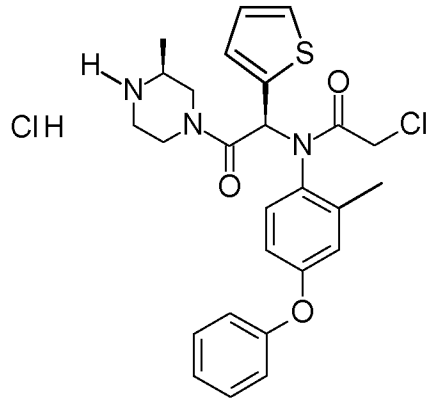
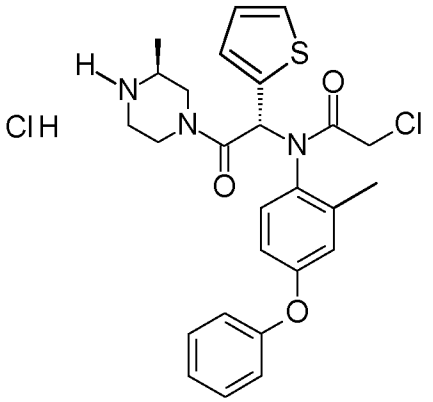
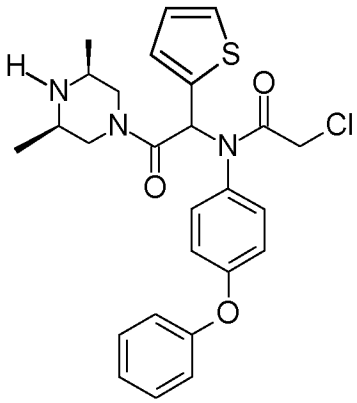
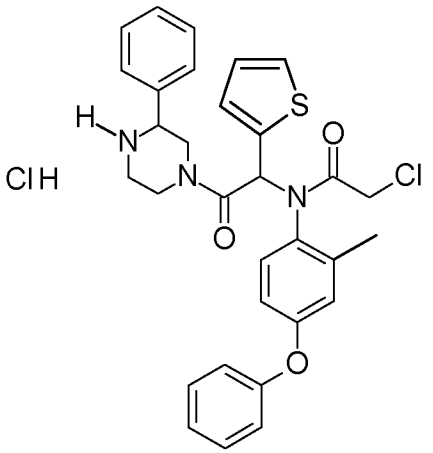
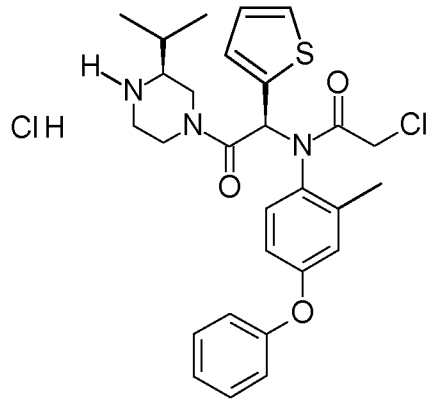
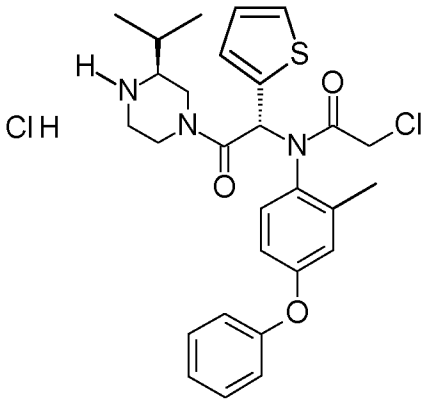
I-38

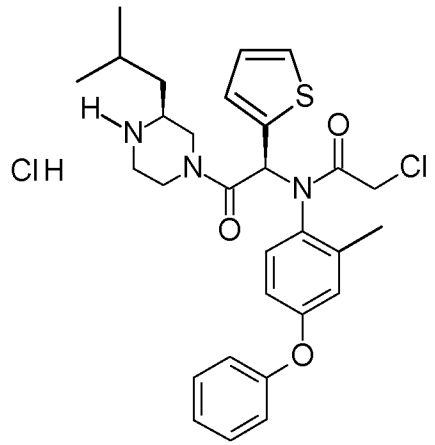
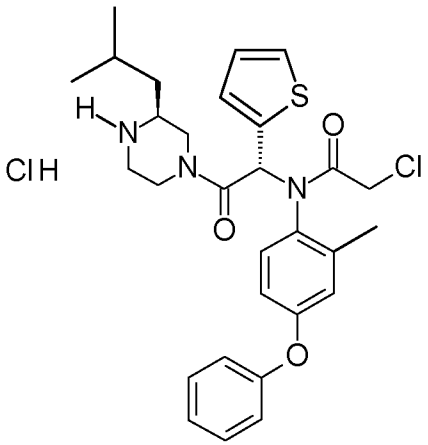
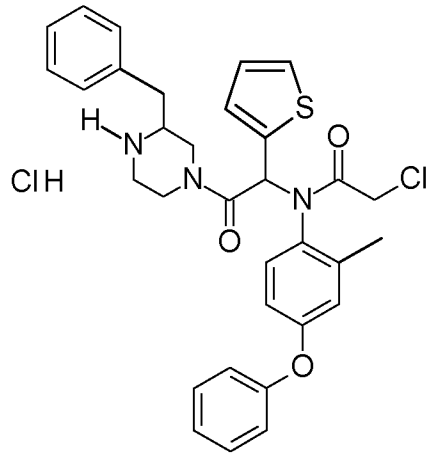
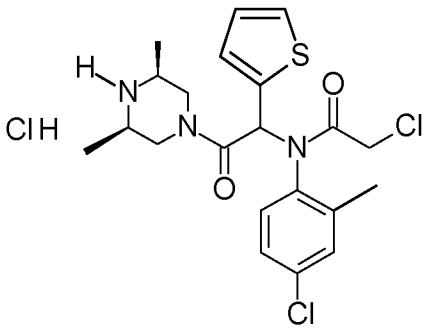
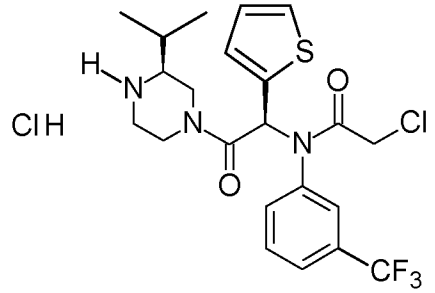
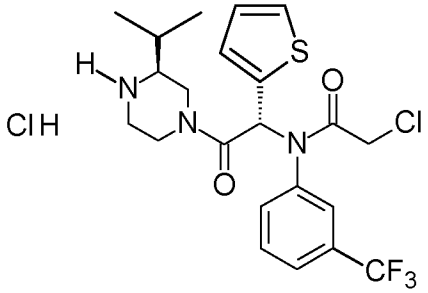


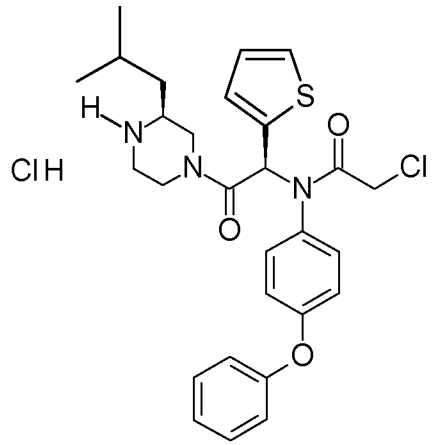
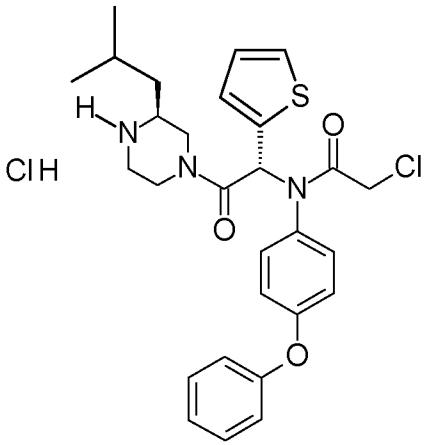
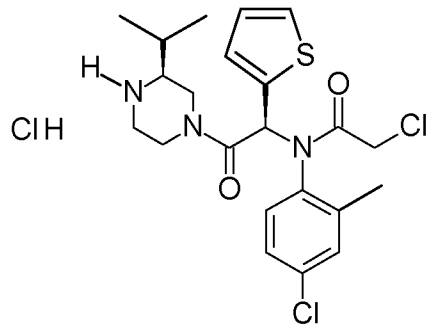
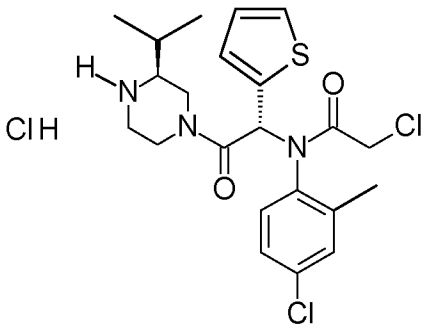
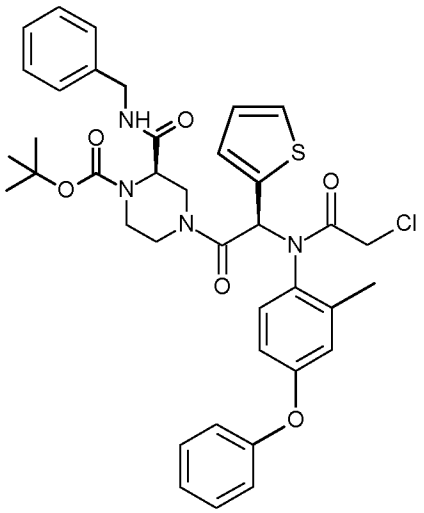
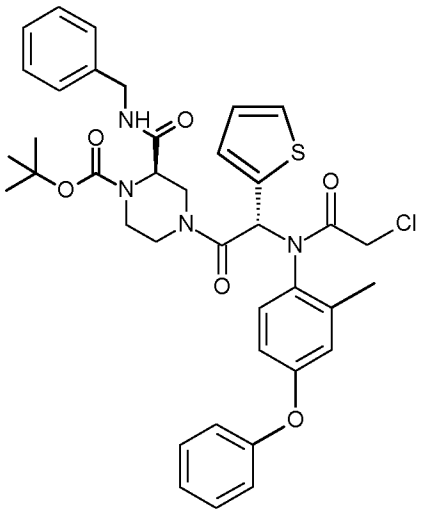
ClH

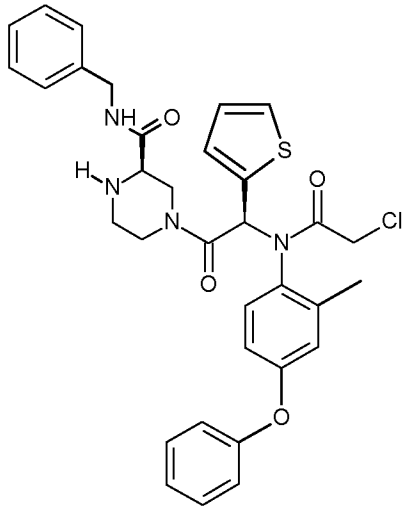
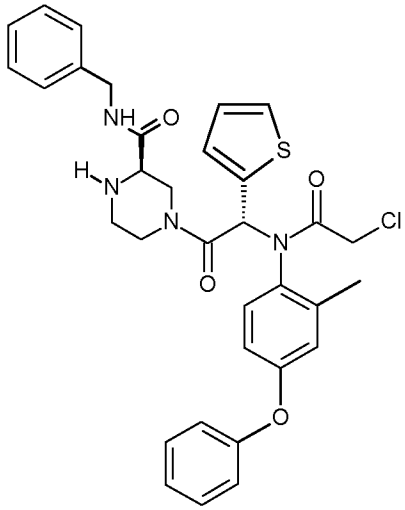
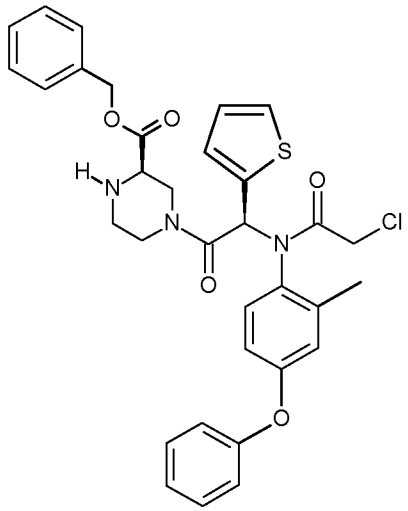
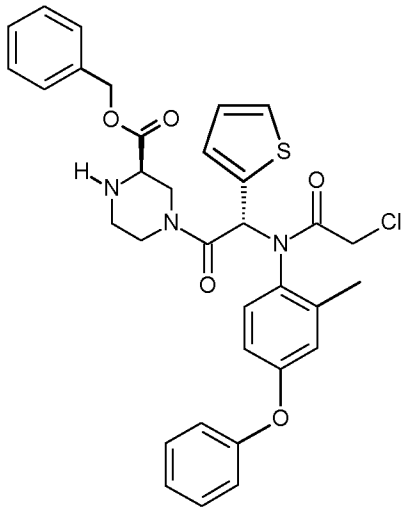
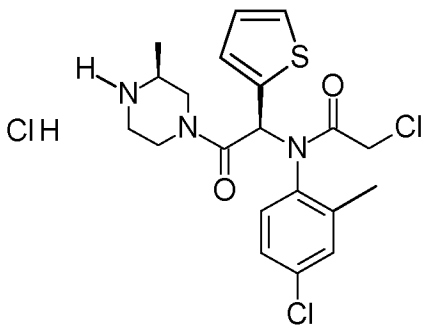
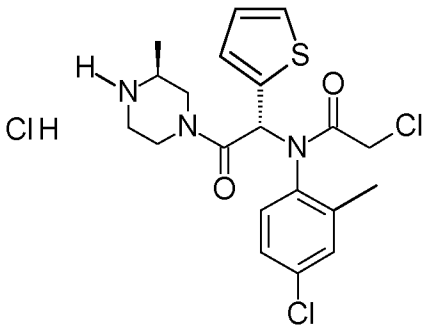
I-39

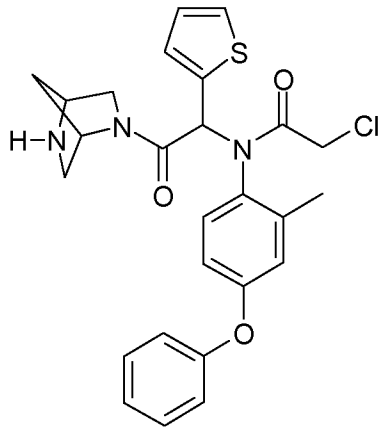
 I-40a	 I-40b
 I-41a	 I-41b
 I-42a	 I-42b

 I-43a	 I-43b
 I-44	 I-45
 I-46a	 I-46b

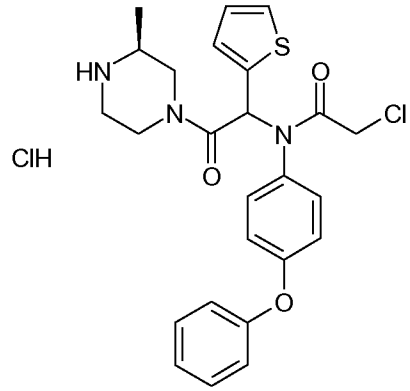
 I-47a	 I-47b
 I-48	 I-49
 I-50a	 I-50b

 I-51a	 I-51b
 I-52a	 I-52b
 I-53a	 I-53b

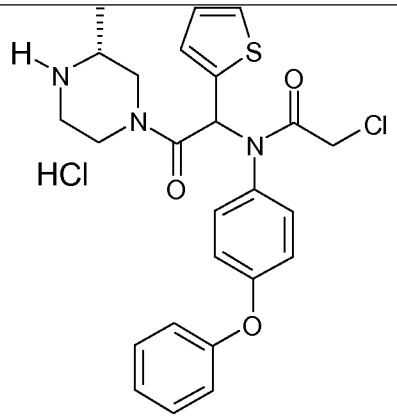
 I-54a	 I-54b
 I-55a	 I-55b
 I-56a	 I-56b



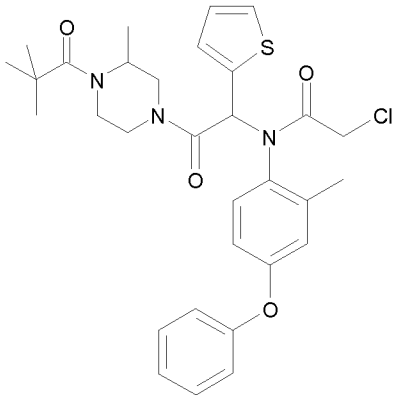
I-57



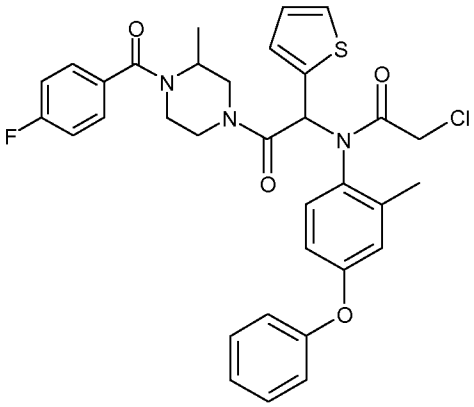
I-58



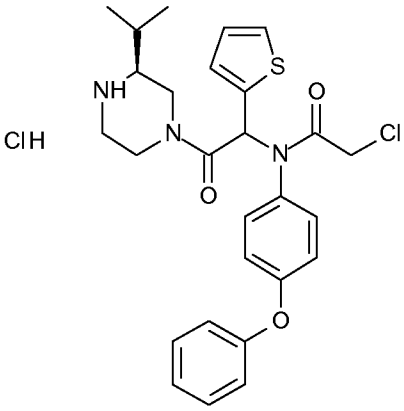
I-59



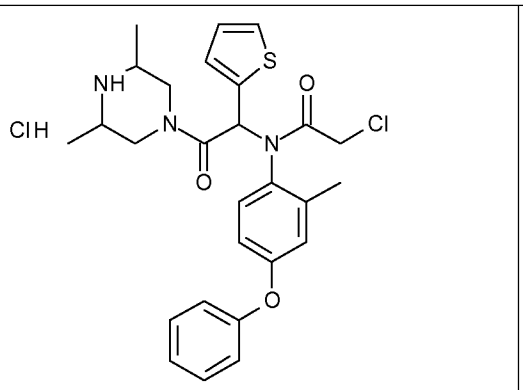
I-60



I-61



I-62



I-63

8. Composé de formule générale (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, pour son utilisation à titre de médicament.

9. Composé de formule générale (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, pour son utilisation dans le traitement ou la prévention d'un cancer et en d'un cancer résistant à une chimiothérapie.

10. Composition pharmaceutique comprenant au moins un composé de formule générale (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, en association avec un ou plusieurs excipients pharmaceutiquement acceptables.

11. Composition pharmaceutique selon la revendication 10, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un autre principe actif, tel qu'un agent anticancéreux.

12. Composition pharmaceutique selon la revendication 11, caractérisée en ce que le(s) principe(s) actif(s) est(sont) choisi(s) parmi le cisplatine et ses dérivés tels que le carboplatine et l'oxalyplatine ; des taxanes tels que le taxol, le taxotère, le paclitaxel et le docétaxel ; des alcaloïdes de vinca tels que la vinblastine, la vincristine et la vinorelbine ; des analogues de purine tels que la mercaptopurine, la thioguanine, la pentostatine et la 2-chlorodésoxyadénosine ; des inhibiteurs de topoisomerase I tels que des composés de la camptothécine comme l'irinotecan et le topotecan ; des inhibiteurs de topoisomerase II tels que l'épipodophyllotoxine, la podophyllotoxine et leurs dérivés comme l'étoposide et le téniposide ; des dérivés nucléosides antitumoraux tels que le 5-

fluorouracile, la leucovorine, la gemcitabine ou la capécitabine ; des agents alkylants tels que des moutardes à l'azote comme la cyclophosphamide, la mechloréthamine, la chlorambucile et le melphalan, des nitroso-urées comme la carmustine, la lomustine et la streptozocine, des alkylsulfonates comme le busulfan, des éthylènimines et des méthylmélamines comme la thiotépa et l'hexaméthylmélamine, et des tétrazines comme la dacarbazine ; des dérivés d'antracyclines anti-tumoraux tels que la daunorubicine, l'adriamycine, le doxil, l'idarubicine et la mitoxantrone ; des molécules ciblant le récepteur IGF-I telles que la picropodophylline ; des dérivés de tetracarcin tels que le tetrocarcin A ; des corticostéroïdes tels que la prednisone ; des anticorps tels que le trastuzumab (anticorps anti-HER2), le rituximab (anticorps anti-CD20), le gemtuzamab, le cetuximab, le pertuzumab et le bevacizumab; des antagonistes ou des modulateurs sélectifs des récepteurs des oestrogènes tels que le tamoxifen, le fulvestrant, le toremifène, le droloxifène, le faslodex et le raloxifène ; des inhibiteurs d'aromatase tels que l'exémestane, l'anastrozole, le letrozole et le vorozole ; des agents de différenciation tels que les rétinoïdes comme l'acide rétinoïque et la vitamine D et des agents bloquant le métabolisme de l'acide rétinoïque tels que l'accutane ; des inhibiteurs d'ADN méthyle-transférase tels que l'azacytidine et le decitabine ; des antifolates tels que le permetrexed disodique ; des antibiotiques tels que l'antinomycine D, la bléomycine, la mitomycine C, l'actinomycine D, la carminomycine, la daunomycine et la plicamycine ; des antimétabolites tels que la chlofarabine, l'aminoptérine, la cytosine arabinoside, la floxuridine et le méthotrexate ; des agents induisant l'apoptose et des agents antiangiogéniques des inhibiteurs de Bcl-2 tels que YC 137, BH 312, ABT 737, le gossypol, HA 14-1, TW 37 et l'acide décanoïque ; des agents se liant à la tubuline tels que la combrestatine, des dérivés de colchicine et le nocodazole ; des inhibiteurs de kinase tels que le flavoperidol, le mésylate d'imatinib, l'erlotinib et le gefitinib ; des inhibiteurs de farnésyl transférase tels que le tipifarnib ; des inhibiteurs des histone-désacétylases tels que le butyrate de sodium, l'acide suberoylanilide hydroxamique, le depsipeptide, NVP- LAQ824, R306465, JNJ-26481585 et la trichostatine A ; des inhibiteurs du système ubiquitine-protéasome tels que MLN .41, le bortezomib et l'yondelis ; et des inhibiteurs de télomérase tels que la telomestatine.

13. Composition pharmaceutique comprenant :

(i) au moins un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, et

(ii) au moins un autre principe actif, tel qu'un agent anticancéreux,

en tant que produits de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps.

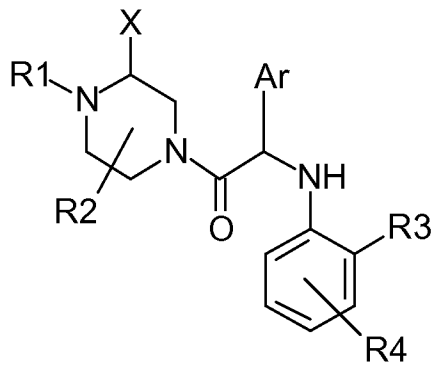
14. Composition pharmaceutique selon la revendication 13, caractérisée en ce que le(s) principe(s) actif(s) est(sont) choisi(s) parmi le cisplatine et ses dérivés tels que le carboplatine et l'oxalyplatine ; des taxanes tels que le taxol, le taxotère, le paclitaxel et le docétaxel ; des alcaloïdes de vinca tels que la vinblastine, la vincristine et la vinorelbine ; des analogues de purine tels que la mercaptopurine, la thioguanine, la pentostatine et la 2-chlorodésoxyadénosine ; des inhibiteurs de topoisomerase I tels que des composés de la camptothécine comme l'irinotecan et le topotecan ; des inhibiteurs de topoisomerase II tels que l'épipodophyllotoxine, la podophyllotoxine et leurs dérivés comme l'étoposide et le téniposide ; des dérivés nucléosides antitumoraux tels que le 5-fluorouracile, la leucovorine, la gemcitabine ou la capécitabine ; des agents alkylants tels que des moutardes à l'azote comme la cyclophosphamide, la mechloréthamine, la chlorambucile et le melphalan, des nitroso-urées comme la carmustine, la lomustine et la streptozocine, des alkylsulfonates comme le busulfan, des éthylènimines et des méthylmélamines comme la thiotépa et l'hexaméthylmélamine, et des tétrazines comme la dacarbazine ; des dérivés d'antracyclines anti-tumoraux tels que la daunorubicine, l'adriamycine, le doxil, l'idarubicine et la mitoxantrone ; des molécules ciblant le récepteur IGF-I telles que la picropodophylline ; des dérivés de tetracarcin tels que le tetrocarcin A ; des corticostéroïdes tels que la prednisone ; des anticorps tels que le trastuzumab (anticorps anti-HER2), le rituximab (anticorps anti-CD20), le gemtuzamab, le cetuximab, le pertuzumab et le bevacizumab; des antagonistes ou des modulateurs sélectifs des récepteurs des oestrogènes tels que le tamoxifen, le fulvestrant, le toremifène, le droloxifène, le faslodex et le raloxifène ; des inhibiteurs d'aromatase tels que l'exémestane, l'anastrozole, le letrozole et le vorozole ;des agents de différenciation tels que les retinoïdes comme l'acide rétinoïque et la vitamine D et des agents bloquant le métabolisme de l'acide rétinoïque tels que l'accutane ; des inhibiteurs d'ADN méthyle-transférase tels que l'azacytidine et le decitabine ; des antifolates tels que le

permetrexed disodique ; des antibiotiques tels que l'antinomycine D, la bléomycine, la mitomycine C, l'actinomycine D, la carminomycine, la daunomycine et la plicamycine ; des antimétabolites tels que la chlofarabine, l'aminoptérine, la cytosine arabinoside, la floxuridine et le méthotrexate ; des agents induisant l'apoptose et des agents antiangiogéniques des inhibiteurs de Bcl-2 tels que YC 137, BH 312, ABT 737, le gossypol, HA 14-1, TW 37 et l'acide décanoïque ; des agents se liant à la tubuline tels que la combrestatine, des dérivés de colchicine et le nocodazole ; des inhibiteurs de kinase tels que le flavoperidol, le mésylate d'imatinib, l'erlotinib et le gefitinib ; des inhibiteurs de farnésyl transférase tels que le tipifarnib ; des inhibiteurs des histone-désacétylases tels que le butyrate de sodium, l'acide suberoylanilide hydroxamique, le depsipeptide, NVP- LAQ824, R306465, JNJ-26481585 et la trichostatine A ; des inhibiteurs du système ubiquitine-protéasome tels que MLN .41, le bortezomib et l'yondelis ; et des inhibiteurs de télomérase tels que la telomestatine.

15. Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 10 à 14, pour son utilisation à titre de médicament destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer, et en particulier au traitement d'un cancer résistant à une chimiothérapie.

16. Procédé de préparation d'un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 comprenant les étapes successives suivantes :

a) réaction d'une amine de formule (II) suivante :



(II)

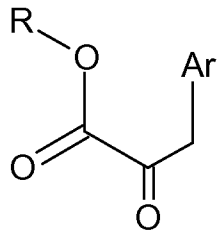
avec X, R1, R2, R3, R4 et Ar tels que définis à la revendication 1, R1 ne représentant pas un atome d'hydrogène,

avec du chlorure de chloroacétyle en présence d'une base pour donner un composé de formule (I) avec R1 ≠ H, et

b) éventuellement déprotection de l'atome d'azote portant le groupement R1 ≠ H pour donner un composé de formule (I) avec R1 = H.

17. Procédé selon la revendication 16 comprenant les étapes successives suivantes :

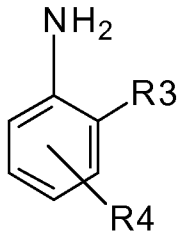
i) réaction d'un cétoester de formule (V) suivante :



(V)

avec Ar tel que défini à la revendication 1 et R représentant un groupe (C_1-C_6)alkyle, tel qu'éthyle,

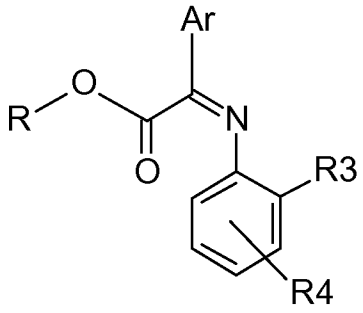
avec une aniline de formule (VI) suivante :



(VI)

avec R3 et R4 tels que définis à la revendication 1,

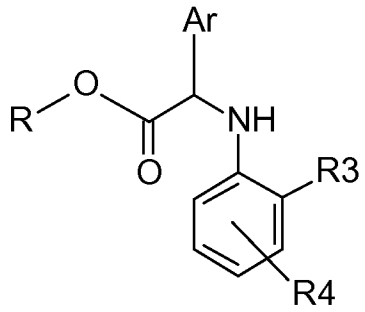
pour donner une imine de formule (VII) suivante :



(VII)

avec R, R3, R4 et Ar tels que définis à la revendication 1,

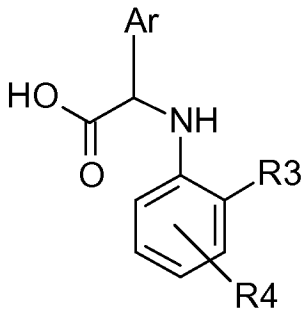
ii) réduction de l'imine de formule (VII) obtenue à l'étape précédente pour donner une amine de formule (VIII) suivante :



(VII)

avec R, R3, R4 et Ar tels que définis à la revendication 1,

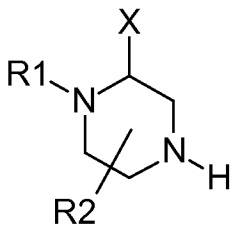
iii) saponification de la fonction ester du composé de formule (VIII) obtenu à l'étape précédent pour donner un acide de formule (IV) suivante :



(IV)

avec R3, R4 et Ar tels que définis à la revendication 1,

iv) réaction de l'acide de formule (IV) obtenu à l'étape précédente avec une pipérazine de formule (III) suivante :



(III)

avec X, R1 et R2 tels que définis à la revendication 1, R1 ne représentant pas un atome d'hydrogène,

pour donner une amine de formule (II) selon la revendication 16,

v) réaction de l'amine de formule (II) obtenue à l'étape précédente avec du chlorure de chloroacétyle en présence d'une base pour donner un composé de formule (I) avec R1 ≠ H, et

vi) éventuellement déprotection de l'atome d'azote portant le groupement R1 ≠ H pour donner un composé de formule (I) avec R1 = H.