

Étude de la cytotoxicité *in vitro* de dérivés du carbazole III. 3-Amino et 3-nitro-1,4-diméthyl-9H-carbazoles diversement substitués en position 6

B Letois¹, JC Lancelot¹, S Rault¹, M Robba¹
T Tabka², P Gauduchon^{2,3}, E Bertreux², JY Le Talaer^{2,3}

¹Laboratoire de chimie thérapeutique, UFR des Sciences pharmaceutiques,
Université de Caen, 1, rue Vaubénard, 14032 Caen Cedex;

²Laboratoire de biochimie clinique et expérimentale, Centre François Baclesse, route de Lion-sur-Mer, 14021 Caen Cedex;

³Laboratoire de toxicologie et biochimie, UFR des Sciences pharmaceutiques,
Université de Caen, 1, rue Vaubénard, 14032 Caen Cedex, France

(Reçu le 2 février 1990; accepté le 29 mai 1990)

Résumé – La synthèse d'une série de 3-nitro et 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazoles diversement substitués en positions 6 et 8 est décrite. Leur activité cytotoxique, évaluée *in vitro* au moyen de la culture clonogénique de la leucémie L1210, dépend fortement de la nature et de la position des substituants. Le plus cytotoxique d'entre eux, le dérivé 3-amino 6-hydroxy, présente une cytotoxicité comparable à celle de l'acétate de N2-méthyl-9-hydroxy ellipticinium (NMHE). Ces résultats et ceux présentés dans les deux publications précédentes, permettent une discussion détaillée des relations structure-activité dans la série du 9H-carbazole et du 1,4-diméthyl 9H-carbazole et suggèrent, pour les dérivés du 3-amino 1,4-diméthyl 9H-carbazole, un mécanisme d'action proche de celui des dérivés de l'ellipticine.

Summary – *In vitro* cytotoxicity study of carbazole III 3-amino and 3-nitro-1,4-dimethyl-9H-carbazoles derivatives, diversely substituted in 6. The synthesis of a series of nitro and amino-1,4-dimethyl-9H-carbazoles is described. Their cytotoxic activities, as assayed *in vitro* using clonogenic cell culture of murine leukemia L1210, vary greatly with the nature and position of substituents. The most cytotoxic derivatives, 3-amino-6-hydroxy 1,4-dimethyl-9H-carbazole, displays an activity similar to that of N2-methyl-9-hydroxy ellipticinium acetate (NMHE). These results, together with those previously published by us, allow a detailed analysis of structure-activity relationships in the 9H-carbazole and 1,4-dimethyl-9H-carbazole series. For the 3-amino-1,4-dimethyl 9H-carbazole derivatives, a mechanism of action similar to that of ellipticine derivatives is proposed.

cytotoxicity / leukemia L1210 / clonogenic assay / 1,4-dimethyl 9H-carbazoles

Introduction

Nous avons décrit [1, 2] la préparation de divers amino et nitro carbazoles et mesuré leur activité cytotoxique *in vitro* en utilisant la culture clonogénique de la lignée leucémique L1210. Les premiers éléments de relation structure-activité soulignent l'importance des substitutions en position 3 et 6. Nous présentons ici la partie de cette étude dévolue à la synthèse et à l'activité cytotoxique de 3-nitro et 3-amino-1,4-diméthyl 9H-carbazoles **1-6** et **7-12** substitués en position 6 par des groupements hydroxy, méthoxy, cyano et

amino (schéma 1). La recherche d'analogie dans les relations structure-activité avec des séries voisines de drogues antitumorales intercalantes permettra de suggérer des mécanismes d'action pour les molécules cytotoxiques de la famille des carbazoles.

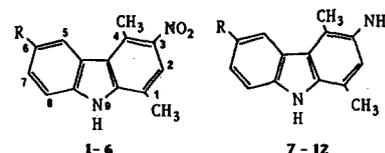


Schéma 1.

*Correspondance et tirés à part

Chimie

Synthèses

Synthèse des 3,6-diamino et 3,6-dinitro-1,4-diméthyl-9H-carbazoles 12 et 6 (schéma II)

La nitration du 1,4-diméthyl-9H-carbazole **13** au moyen d'acide nitrique dans l'anhydride acétique forme dans les proportions 90/10 un mélange de dérivé dinitré en positions 3 et 6, **6** et de mononitré en position 3, **1**. Ce dernier peut subir une seconde nitration en position 6 lorsqu'il est réengagé dans une seconde réaction de nitration. **6** peut également être obtenu par nitration du 1,4-diméthyl-6-nitro 9H-carbazole **14** obtenu selon Cranwell et Saxton [3] à partir du 5-nitroindole et de la hexane-2,5-dione. La réduction des groupements nitrés de **6** au moyen d'hydrogène en présence de charbon palladié conduit à la diamine **12**. Pour former cette dernière, une seconde voie de synthèse peut être utilisée: à partir du 1,4-diméthyl-9H-carbazole **13** en double acétylation au moyen d'anhydride acétique en présence de chlorure de zinc forme le dérivé diacétylé **15** dont la bisoxime **16** peut, dans l'acide sulfurique, subir un réarrangement de Beckmann conduisant au diacétamide **17** qui libère l'amine **12** en milieu alcalin. Cette voie de synthèse a permis d'établir de façon univoque l'orientation d'une double réaction de Friedel-Crafts sur le 1,4-diméthyl-9H-carbazole.

Synthèse des 3-amino et 3-acétylamino-1,4-diméthyl-9H-carbazoles 7 et 25 (schéma III)

Nous avons précédemment décrit cette voie de synthèse [4, 5] nécessitant l'emploi du 6-bromo-1,4-diméthyl-9H-carbazole **18** [6, 7] qui subit d'abord une réaction de nitration en position 3. Si la réduction du dérivé bromonitré **19** par l'hydrogène est conduite en présence de nickel de Raney, elle forme la bromamine **20**, tandis qu'en présence de charbon palladié la réduction s'accompagne d'une déshalogénéation pour conduire au 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7**. Après protection de la fonction amine par un groupement acétyle, **23** peut subir une réaction de nitration en position 6; cette réaction conduite dans l'anhydride acétique s'accompagne d'une seconde acétylation de la fonction amide en 3 et forme le 3-diacétylamino-6-nitro-1,4-diméthyl-9H-carbazole **24**. Ce dernier, qui est fragile, ne se prête en milieu alcalin qu'à une hydrolyse partielle conduisant au nitroacétamide **25**. Les nombreux essais d'hydrolyse totale n'ont pas permis jusqu'ici d'obtenir l'amine libre.

Synthèse des 3-amino et 3-nitro-6-cyano-1,4-diméthyl-9H-carbazoles 11 et 5 (schéma IV)

Effectuée à partir du 5-cyanoindole, cette synthèse est calquée sur celle des 3-amino-6-halogéno-1,4-dimé-

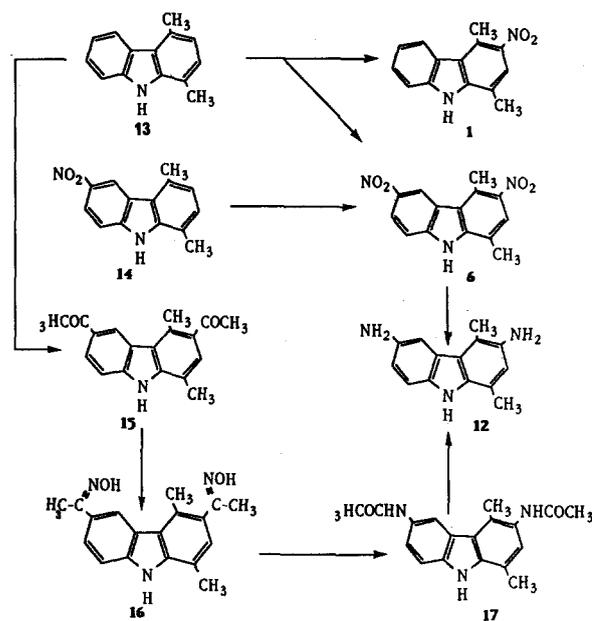


Schéma 2.

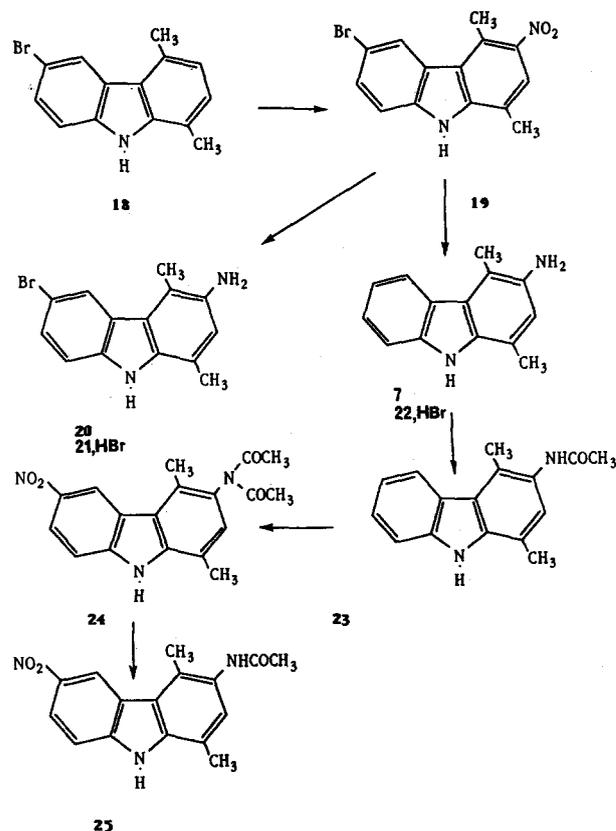


Schéma 3.

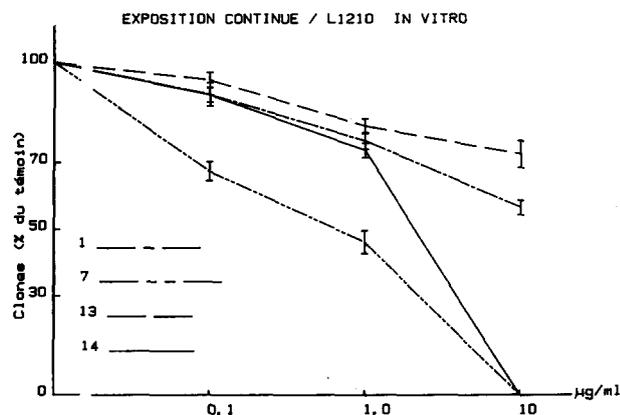


Fig 1. Inhibition de la formation des clones par le 3-nitro **1**, le 3-amino **7** et le 6-nitro-1,4-diméthyl-9H-carbazole **14** en exposition continue. Comparaison avec le 1,4-diméthyl-9H-carbazole **13**.

Parmi les autres dérivés substitués en 6 du 1,4-diméthyl-9H-carbazole, seul le nitrile **26** est actif, avec 100% d'inhibition à 10 µg/ml en exposition continue (tableau I). Le 1,4-diméthyl-6-méthoxy-9H-carbazole **31** ainsi que le dérivé 6-éthoxycarboxyloxy **29** sont inactifs. Aucun de ces produits n'est cytotoxique en exposition brève.

Si la substitution en position 6 du 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** par un groupement aminé ou cyané diminue son activité, par contre la substitution par un groupement hydroxyle conduit à un composé **8** hautement cytotoxique à la fois en exposition continue et en exposition brève (figs 2 et 3). Sur ce composé **8**, le blocage de l'hydroxyle par la mise en place d'un groupement 6-éthoxycarboxyle, **9**, fait disparaître

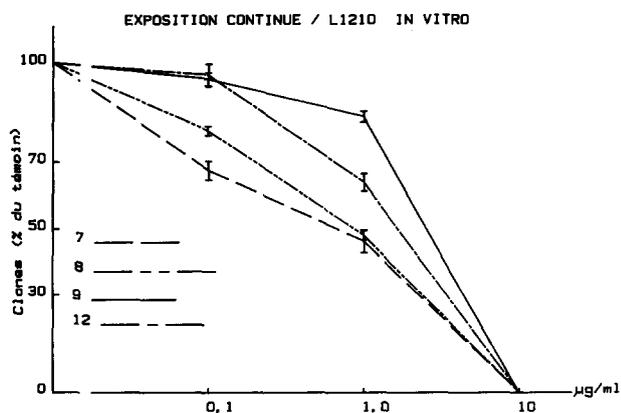


Fig 2. Inhibition de la formation des clones par le 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** et ses dérivés substitués en position 6: 6-hydroxy **8**, 6-éthoxycarboxyloxy **9** et 6-amino **12**. Exposition continue.

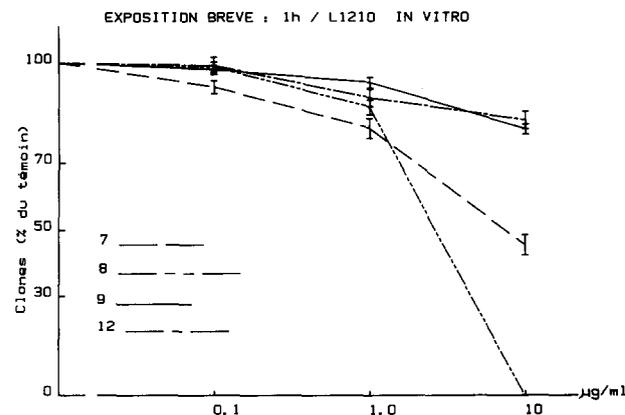


Fig 3. Inhibition de la formation des clones par le 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** et ses dérivés substitués en position 6: 6-hydroxy **8**, 6-éthoxycarboxyloxy **9** et 6-amino **12**. Exposition brève.

l'activité en exposition brève et la diminue en exposition continue (figs 2 et 3).

Parmi les dérivés du 1,4-diméthyl-3-nitro-9H-carbazole **1** substitués en position 6, le 1,4-diméthyl-3,6-dinitro-9H-carbazole **6** s'est révélé le plus actif. Le dérivé 6-hydroxy **2** est moins actif que son homologue aminé **8**; en particulier il ne présente aucune activité en exposition brève (figs 4 et 5). Ce phénomène s'observe également dans le cas des dérivés 3-nitro et 3-amino possédant un groupement 6-éthoxycarboxyloxy: **3** et **9**. Par contre, le 6-cyano 1,4-diméthyl-3-nitro-9H-carbazole **5** s'avère nettement plus cytotoxique que son analogue aminé **11** (tableau I).

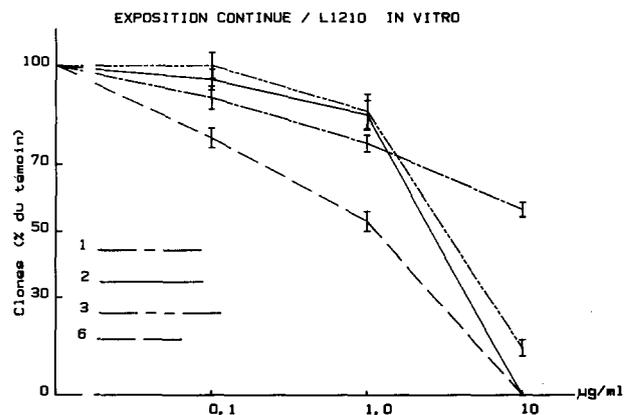


Fig 4. Inhibition de la formation des clones par le 3-nitro-1,4-diméthyl-9H-carbazole **1** et ses dérivés substitués en position 6: 6-hydroxy **2**, 6-éthoxycarboxyloxy **3** et 6-nitro **6**. Exposition continue.

Composé	Clones (% du contrôle)						Activité	
	Exposition continue			Exposition brève 1 h			EC	EB
	0,1 µg/ml	1 µg/ml	10 µg/ml	0,1 µg/ml	1 µg/ml	10 µg/ml		
1	90 ± 4	76 ± 3	56 ± 2	99 ± 2	85 ± 4	74 ± 2	-	-
2	96 ± 3	85 ± 5	0 ± 0	100 ± 3	97 ± 5	89 ± 3	++	-
3	100 ± 4	86 ± 5	15 ± 3	100 ± 4	96 ± 3	93 ± 4	+	-
4	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
5	95 ± 3	75 ± 3	0 ± 0	99 ± 3	89 ± 2	75 ± 3	++	-
6	78 ± 3	53 ± 3	0 ± 0	97 ± 2	86 ± 2	64 ± 3	++	-
7	67 ± 2	46 ± 3	0 ± 0	93 ± 2	80 ± 3	45 ± 3	+++	±
8	79 ± 1	48 ± 1	0 ± 0	99 ± 2	87 ± 2	0 ± 0	+++	++
9	95 ± 2	84 ± 2	0 ± 0	98 ± 1	94 ± 2	80 ± 2	++	-
10	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
11	98 ± 3	99 ± 5	54 ± 3	97 ± 2	98 ± 2	86 ± 3	-	-
12	96 ± 3	64 ± 3	0 ± 0	99 ± 3	89 ± 3	83 ± 3	++	-
13	95 ± 2	81 ± 2	72 ± 4	96 ± 2	83 ± 2	73 ± 3	-	-
14	90 ± 2	74 ± 2	0 ± 0	98 ± 2	83 ± 4	67 ± 2	++	-
15	95 ± 3	87 ± 2	73 ± 3	99 ± 2	95 ± 2	87 ± 2	-	-
16	91 ± 3	71 ± 2	24 ± 1	93 ± 4	87 ± 3	82 ± 2	+	-
17	98 ± 2	95 ± 2	92 ± 2	99 ± 4	96 ± 2	90 ± 2	-	-
22	95 ± 3	68 ± 3	0 ± 0	94 ± 3	69 ± 1	19 ± 1	++	-
23	99 ± 2	97 ± 3	87 ± 3	100 ± 3	99 ± 3	96 ± 2	-	-
24	98 ± 2	90 ± 3	3 ± 1	99 ± 1	93 ± 3	29 ± 3	+	+
25	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
26	92 ± 3	81 ± 1	0 ± 0	95 ± 2	85 ± 2	66 ± 5	++	-
27	96 ± 3	90 ± 1	77 ± 2	99 ± 1	98 ± 2	93 ± 3	-	-
28	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
29	99 ± 2	98 ± 2	93 ± 2	100 ± 2	98 ± 1	98 ± 2	-	-
30	99 ± 1	84 ± 3	0 ± 0	98 ± 2	97 ± 2	92 ± 2	++	-
31	98 ± 3	95 ± 3	83 ± 3	99 ± 2	96 ± 2	96 ± 2	-	-
32	94 ± 3	67 ± 3	0 ± 0	94 ± 3	86 ± 3	69 ± 1	++	-
33	80 ± 4	65 ± 5	0 ± 0	94 ± 2	89 ± 3	71 ± 2	++	-
34	104 ± 4	103 ± 2	102 ± 3	103 ± 3	104 ± 3	103 ± 4	-	-

Tableau I. Effet des dérivés du diméthyl-1,4-9H-carbazole sur la formation de clones par les cellules L1210. -: inactif aux trois concentrations (nombre de clones supérieur à 50% du contrôle); ±: faiblement actif à 10 µg/ml (nombre de clones entre 30 et 50% du contrôle); +: actif à 10 µg/ml (nombre de clones égal ou inférieur à 30% du contrôle); ++: très actif à 10 µg/ml (pas de clones); +++: actif à 1 µg/ml (nombre de clones inférieur à 50% du contrôle). EC: exposition continue. EB: exposition brève. ND: non déterminé. Les résultats concernant les dérivés **18-21** ont été présentés dans le précédent article [2].

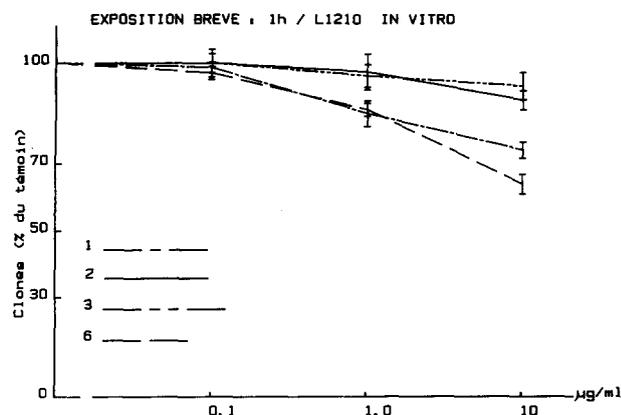


Fig 5. Inhibition de la formation des clones par le 3-nitro-1,4-diméthyl-9H-carbazole **1** et ses dérivés substitués en position 6: 6-hydroxy **2**, 6-éthoxycarboxyloxy **3** et 6-nitro **6**. Exposition brève.

L'introduction d'un groupement nitré en position 8 du dérivé **3** conduit au dérivé **30** plus actif en exposition continue. De même, les dérivés 6-méthoxy **32** et **33** inhibent totalement la formation de clones à 10 µg/ml en exposition continue (tableau I). Il est à signaler que l'acétylation des deux groupements aminés du 3,8-diamino-1,4-diméthyl-6-méthoxy-9H-carbazole **33** supprime complètement son activité **34**.

Discussion

L'étude de l'activité cytotoxique sur la lignée leucémique L1210 de dérivés du carbazole a pour but la recherche de nouvelles molécules antitumorales dans une série proche de celle des pyrido[4,3-*b*]carbazoles (ellipticines). Parmi tous les carbazoles étudiés, les composés les plus actifs sont: le 3-amino-2-nitro-9H-carbazole [1], le 3-amino-6-hydroxy-1,4-diméthyl-9H-carbazole **8** et le 3-diacétylamino-6-bromo-8-nitro-1,4-diméthyl-9H-carbazole [2]. En exposition continue, ils possèdent une activité comparable à celle de la NMHÉ[1] et ils sont plus actifs en exposition brève. Leur activité antitumorale est en cours d'évaluation sur des souris porteuses de diverses tumeurs expérimentales.

L'analyse comparative des résultats publiés antérieurement [1, 2] et de ceux présentés dans cet article permet de préciser les relations structure-activité dans la série du 9H-carbazole et du 1,4-diméthyl-9H-carbazole.

Comme le carbazole [1], le 1,4-diméthyl-9H-carbazole **13** est inactif. Cependant, le 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** est plus cytotoxique vis-à-vis de

la lignée leucémique L1210 que le 3-amino-9H-carbazole [1]; ceci suggère que les deux groupements méthyles en 1 et 4 participent dans ce cas au développement de l'activité cytotoxique. Il en est autrement pour les dérivés mononitrés: la présence des deux méthyles sur le même cycle que le groupement nitré est défavorable à l'activité, le 3-nitro-9H-carbazole [1] et le 6-nitro-1,4-diméthyl-9H-carbazole **14** étant plus actifs que le 3-nitro-1,4-diméthyl-9H-carbazole **1**.

La figure 6 présente un classement des dérivés du 3-amino et du 3-nitro 1,4-diméthyl-9H-carbazole substitués en position 6 en fonction de leur cytotoxicité. On constate que dans les deux séries, les réponses varient différemment en fonction du substituant.

La série du 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole se distingue par le fait que le 3-amino 1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** est d'emblée actif, et que seule son hydroxylation en 6 provoque une augmentation significative de l'activité, en exposition brève; les autres groupements soit ne modifient pas, soit réduisent la cytotoxicité.

Ces résultats rappellent globalement ceux obtenus avec les dérivés de l'ellipticine dans la mesure où l'hydroxy-9 ellipticine est nettement plus cytotoxique que l'ellipticine elle-même ou que ses dérivés aminés et halogéné en position 9 [9]. Ils suggèrent que les 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazoles, analogues tricycliques des ellipticines (pyrido[4,3-*b*] 6H-carbazoles), agissent par des mécanismes voisins. Outre leur possibilité d'intercalation, les dérivés des 9-hydroxy ellipticines peuvent être oxydés en quinone-imines très électrophiles capables d'établir des liaisons covalentes avec les acides nucléiques et les protéines et d'entraîner la mort cellulaire [10]. Ces liaisons covalentes concernent le C₁₀ du cycle pyrido[4,3-*b*] 6H-carbazole, équivalent au C₅ des 1,4-diméthyl-9H-carbazoles. Le fait, mentionné par Meunier *et al* [10], qu'en conditions oxydantes, les amines primaires réagissent préférentiellement avec le C₅ du 1,4-diméthyl-6-hydroxy-9H-carbazole [11], est plutôt en faveur d'un mécanisme d'action similaire pour les deux séries de composés. La protection de la fonction OH en position 6 par la

I	OH	>	H	>	Br	>	OCO ₂ Et	>	CN	>	F
							NH ₂		Cl		
II			NO ₂	>	Br	>	CN	>	OCO ₂ Et	>	H
					OH						F
											Cl

Fig 6. Classement en fonction de leur cytotoxicité sur la lignée L1210 *in vitro* des dérivés du 3-amino (I) et du 3-nitro (II) 1,4-diméthyl-9H-carbazole substitués en position 6.

réalisation du 1,4-diméthyl-6-éthoxycarboxyloxy-9H-carbazole **29** fait disparaître totalement l'activité en exposition brève, tandis que le dérivé reste cytotoxique en exposition continue. On peut admettre que l'allongement du temps de contact avec les cellules favorise l'hydrolyse du groupement éthoxycarboxyloxy en **6**, qui conduit au dérivé 6-hydroxylé actif. D'autre part, le contact continu du 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** avec les cellules le rend aussi actif que son dérivé hydroxylé en **6**, ce qui est compatible avec un processus de métabolisation dont l'une des étapes serait une hydroxylation en position 6.

Par contre, le processus d'« alkylation bioxydante » peut difficilement rendre compte du fait que le 3-amino-6-bromo-1,4-diméthyl-9H-carbazole [**2**] (contrairement à la 9-bromo ellipticine inactive *in vitro* et *in vivo* [**9**]) garde une activité importante. Il est intéressant de rappeler ici que les dérivés 1,4-diméthyl-9H-carbazoles bromés en **6** se révèlent toujours plus actifs que leurs analogues chlorés ou fluorés.

L'acétylation de l'amine en **3** est toujours défavorable à l'activité. Ce résultat met en évidence le rôle important joué par ce groupement aminé.

En règle générale, le groupement nitré en position **3** semble moins favorable à l'activité cytotoxique que le groupement aminé, notamment en exposition brève. Ainsi, le 3-amino 9H-carbazole est plus actif que le 3-nitro 9H-carbazole en exposition brève, leurs activités étant voisines en exposition continue [**1**]. Cette différence d'activité est encore accentuée par l'introduction des deux méthyles en **1** et **4**. L'hydroxy-6-nitro-3-diméthyl-1,4-9H-carbazole **2** est inactif en exposition brève, contrairement à son analogue aminé en **3**. Ces résultats montrent que l'incubation d'une heure avec les cellules est insuffisante au développement de la cytotoxicité des dérivés nitrés en **3**, à l'exception du 6-cyano **5**, à l'inverse des dérivés aminés correspondants: ceci suggère que les premiers doivent, pour être actifs sur la lignée L1210, subir une modification métabolique supplémentaire, qui pourrait être une réduction partielle du groupement nitré [**12**]. On peut proposer également que les dérivés nitrés agiraient plus lentement que leurs analogues aminés du fait d'une plus lente pénétration dans les cellules.

L'activité cytotoxique des drogues antitumorales résulte en général d'effets multiples sur la cellule. Ce travail se poursuit par une étude de l'interaction avec l'ADN, de l'interférence avec l'action de la topoisomérase II [**13**] et de la génotoxicité des 9H-carbazoles et des 1,4-diméthyl-9H-carbazoles les plus actifs. Il devrait contribuer à une meilleure compréhension du mécanisme d'action des carbazoles, des pyridocarbazoles et des autres drogues antitumorales apparentées telles que les azaellipticines [**14**], les bisintercalants [**15**] et les gamma-carbolines [**16**]...

Protocoles expérimentaux

Chimie

Les points de fusion ont été déterminés au banc Köfler. Les analyses élémentaires sont conformes aux formules élémentaires à $\pm 0,3\%$. Les spectres infrarouges (IR) (KBr) sont enregistrés sur Perkin-Elmer 257G. Les spectres de RMN ^1H (DMSO- d_6) ont été enregistrés à 90 MHz sur un spectromètre Varian EM390. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane utilisé comme référence interne. Les constantes de couplage sont exprimées en Hertz.

1,4-Diméthyl-3-nitro-9H-carbazole **1** et 1,4-diméthyl-3,6-dinitro-9H-carbazole **6**

On dissout 10 g (0,044 mole) de 1,4-diméthyl-9H-carbazole **13** dans 60 ml d'anhydride acétique puis on ajoute 2,1 ml (0,051 mole) d' HNO_3 ($d = 1,52$) goutte à goutte à température ordinaire. Après 3 h d'agitation, le précipité formé est essoré, lavé à l'éther éthylique, séché et recristallisé dans l'acétonitrile. Poudre jaune. (Rdt = 25%; F = 265°C). Il s'agit du 1,4-diméthyl-3,6-dinitro-9H-carbazole **6**. Anal $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_4$ (C, H, N). IR (KBr) 3300 (NH), 1330, 1310 (NO_2). RMN ^1H (DMSO- d_6): (1H, s, NH) 12,26; (1H, s, H5) 8,76; (1H, d, H7) 8,23; (1H, s, H2) 7,78; (1H, d, H8) 7,56; (3H, s, CH_3) 2,83; (3H, s, CH_3) 2,50.

Le filtrat est repris par 500 ml d'éther éthylique et laissé 24 h à température ordinaire. Les cristaux formés sont essorés, lavés à l'éther éthylique, séchés et recristallisés dans l'éthanol. Cristaux jaunes. (Rdt = 4%; F = 205°C). Il s'agit du 1,4-diméthyl-3-nitro-9H-carbazole **1**. Anal $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_4$ (C, H, N). IR (KBr) 3340 (NH); 1300 (NO_2). RMN ^1H (DMSO- d_6): (1H, s, NH) 11,72; (1H, d, H5) 8,16; (1H, s, H2) 7,78; (2H, m, H6/8) 7,53; (1H, d, H7) 7,21; (3H, s, CH_3) 2,91; (3H, s, CH_3) 2,50.

1,4-Diméthyl-6-hydroxy-3-nitro-9H-carbazole **2**

On ajoute 2,30 g (0,06 mole) de borohydrure de sodium par petites fractions à une solution contenant 10 g (0,03 mole) de 1,4-diméthyl-6-éthoxycarboxyloxy 3-nitro-9H-carbazole **3** dans 300 ml de méthanol. La solution est portée au reflux 2 h. Après refroidissement, le méthanol est concentré sous pression réduite; le résidu est repris dans 100 ml d'eau puis extrait à l'éther éthylique. La phase étherée est concentrée sous pression réduite et le résidu est recristallisé dans l'éthanol. Poudre jaune. (Rdt = 65%; F = 258°C). Anal $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_3$ (C, H, N). IR (KBr) 3320 (NH); 3460 (OH); 1280 (NO_2). RMN ^1H (DMSO- d_6): (1H, s, NH) 11,33; (1H, s, OH) 9,00; (1H, s, H5) 7,63; (1H, d, H8) 7,46; (1H, s, H2) 7,30; (1H, d, H7) 7,20; (3H, s, CH_3) 2,86; (3H, s, CH_3) 2,50.

1,4-Diméthyl-3-nitro-6-éthoxycarboxyloxy-9H-carbazole **3**

On dissout 10 g (0,035 mole) de 1,4-diméthyl-6-éthoxycarboxyloxy-9H-carbazole **29** dans 100 ml d'anhydride acétique puis on ajoute goutte à goutte 1,45 ml (0,035 mole) d' HNO_3 ($d = 1,52$) et on laisse agiter 3 h à température ordinaire. Le précipité est essoré, lavé à l'éther éthylique, séché et recristallisé dans l'acétonitrile. Poudre jaune. (Rdt = 50%; F = 226°C). Anal $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ (C, H, N). IR (KBr) 3340 (NH); 1760 (C=O); 1310 (NO_2). RMN ^1H (DMSO- d_6): (1H, s, NH) 11,76; (1H, s, H5) 7,96; (1H, s, H2) 7,76; (1H, -d, H8) 7,53; (1H, d, H7) 7,26; (2H, q, CH_2) 4,26; (3H, s, CH_3) 2,90; (3H, s, CH_3) 2,50; (3H, t, CH_3) 1,30.

1,4-diméthyl-6-méthoxy-3-nitro-9H-carbazole 4

On ajoute 50 ml d'une solution saturée de diazométhane dans l'éther éthylique fraîchement préparée à 0°C à 0,5 g (0,0022 mole) de 1,4-diméthyl-6-hydroxy-3-nitro-9H-carbazole **2** en solution dans 100 ml de méthanol puis on agite le mélange réactionnel pendant 12 h. La solution est concentrée sous vide et le résidu est recristallisé dans l'acétonitrile. Poudre jaune. (Rdt = 92%; F = 270°C). Anal C₁₅H₁₄N₂O₃ (C, H, N). IR (KBr) 3300 (NH); 1280 (NO₂). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 9,06; (1H, s, H5) 7,70; (1H, d, H8) 7,53; (1H, s, H2) 7,36; (1H, d, H7) 6,93; (3H, s, CH₃) 3,83; (3H, s, CH₃) 2,96; (3H, s, CH₃) 2,50.

6-Cyano-1,4-diméthyl-3-nitro-9H-carbazole 5

Le même mode expérimental que pour le 1,4-diméthyl-3-nitro-6-éthoxycarbonyloxy-9H-carbazole **3** est utilisé à partir de 2 g (0,0091 mole) de 6-cyano-1,4-diméthyl-9H-carbazole **26** et de 0,37 ml (0,0091 mole) d'HNO₃ (d = 1,52) (acétonitrile). Poudre jaune. (Rdt = 46%; F = 270°C). Anal C₁₅H₁₁N₃O₂ (C, H, N). IR (KBr) 3360 (NH); 2230 (C=N); 1310 (NO₂). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 12,21; (1H, s, H5) 8,58; (1H, s, H2) 7,85; (2H, s, H7/8) 7,73; (3H, s, CH₃) 2,93; (3H, s, CH₃) 2,56.

1,4-diméthyl-3,6-dinitro-9H-carbazole 6

Le même mode expérimental que pour le 1,4-diméthyl-3-nitro-6-éthoxycarbonyloxy-9H-carbazole **3** est utilisé à partir de 10 g (0,041 mole) de 1,4-diméthyl-6-nitro-9H-carbazole **14** et 1,72 ml (0,041 mole) d'HNO₃ (d = 1,52) (acétonitrile). Poudre jaune. (Rdt = 76%; F = 265°C). Le spectre est identique à celui du 1,4-diméthyl-3,6-dinitro-9H-carbazole **6** obtenu par nitration du dérivé 1,4-diméthyl-9H-carbazole **13**.

3-Amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole 7

On agite, à 80°C dans un autoclave sous 80 kg/cm² d'hydrogène pendant 3 h, 600 ml d'éthanol absolu contenant 36 g (0,114 mole) de 6-bromo-1,4-diméthyl-3-nitro-9H-carbazole **19** et 10 g de charbon palladié à 5%. Après refroidissement, l'excès d'hydrogène est évacué, la solution est filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu est agité 1 h dans une solution d'hydroxyde de sodium à 20%, essoré, lavé à l'eau, séché et recristallisé dans l'éthanol. Poudre beige. (Rdt = 95%; F = 198°C). Anal C₁₄H₁₄N₂ (C, H, N). IR (KBr) 3390, 3320, 1600 (NH₂); 3140 (NH). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 10,63; (1H, d, H5) 8,13; (2H, m, H6/8) 7,36; (1H, t, H7) 7,06; (1H, s, H2) 6,66; (2H, s, NH₂) 4,45; (3H, s, CH₃) 2,50; (3H, s, CH₃) 2,43.

3-Amino-1,4-diméthyl-6-hydroxy-9H-carbazole 8

Méthode a. Le même mode expérimental que pour le dérivé 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** est utilisé à partir de 10 g (0,039 mole) de 1,4-diméthyl-6-hydroxy-3-nitro-9H-carbazole **2** et 4 g de charbon palladié à 5%. (éthanol). Cristaux violets. (Rdt = 80%; F = 250°C). Anal C₁₄H₁₄N₂O (C, H, N). IR (KBr) 3380 (OH); 3360, 1600 (NH₂); 3280 (NH). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 10,63; (1H, s, OH) 8,60; (1H, s, H5) 7,40; (1H, d, H8) 7,13; (1H, d, H7) 6,66; (1H, s, H2); 6,50; (2H, s, NH₂) 4,18; (3H, s, CH₃) 2,40; (3H, s, CH₃) 2,23.

Méthode b. On ajoute 5,75 g (0,15 mole) de borohydrure de sodium par petites fractions à 1 g (0,003 mole) de 1,4-diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-3-nitro-9H-carbazole **3** en solution dans 70 ml de méthanol. Le mélange est porté au reflux 2 h. La solution est évaporée sous pression réduite, reprise par 100 ml d'eau et extraite par l'éther éthylique. Après concentration sous pression réduite le résidu obtenu est recristallisé dans l'éthanol. (Rdt = 81%). Le spectre IR est identique à celui obtenu par la méthode a.

3-Amino-1,4-diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-9H-carbazole 9

Le même procédé expérimental que pour le 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** est utilisé à partir de 5 g (0,015 mole) de 1,4-diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-3-nitro-9H-carbazole **3** et de 3 g de charbon palladié à 5%. (éthanol). Poudre marron. (Rdt = 61%; F = 185°C). Anal C₁₇H₁₈N₂O₃ (C, H, N). IR (KBr) 3360, 3290, 1590 (NH₂); 3180 (NH); 1730 (C=O). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 10,83; (1H, s, H5) 8,00; (1H, d, H8) 7,53; (1H, d, H7) 7,20; (1H, s, H2) 6,80; (2H, s, NH₂) 4,33; (2H, q, CH₂) 4,10; (3H, s, CH₃) 2,63; (3H, s, CH₃) 2,50; (3H, s, CH₃) 1,43.

3-Amino-1,4-diméthyl-6-méthoxy-9H-carbazole 10

Méthode a. Le même procédé expérimental que pour le 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** est utilisé à partir de 1 g (0,0037 mole) de 1,4-diméthyl-6-méthoxy-3-nitro-9H-carbazole **4** et 1,5 g de charbon palladié à 5%. (éthanol). Poudre jaune. (Rdt = 78%; F = 200°C). Anal C₁₅H₁₆N₂O (C, H, N). IR (KBr) 3390, 3320, 1605 (NH₂); 3160 (NH). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 10,33; (1H, s, H5) 7,56; (1H, d, H8) 7,30; (1H, d, H7) 6,93; (2H, s, NH₂) 4,26; (3H, s, CH₃) 3,80; (3H, s, CH₃) 2,50; (3H, s, CH₃) 2,38.

Méthode b. On ajoute 50 ml d'une solution saturée de diazométhane dans l'éther éthylique fraîchement préparée à 0°C à 1 g (0,0044 mole) de 3-amino-1,4-diméthyl-6-hydroxy-9H-carbazole **8** en solution dans 60 ml de méthanol puis on agite le mélange réactionnel pendant 1 h. La solution est concentrée sous vide et le résidu est recristallisé dans l'éthanol. Poudre jaune. (Rdt = 45%; F = 200°C). Le spectre IR est identique à celui obtenu par la méthode a.

3-Amino-6-cyano-1,4-diméthyl-9H-carbazole 11

On dissout à 80°C, 5 g (0,019 mole) de 6-cyano-1,4-diméthyl-9H-carbazole **5** dans 30 ml de diméthylformamide; cette solution est additionnée à un mélange chaud de 60 ml d'acide chlorhydrique concentré et de 20 ml d'acide acétique contenant 11,95 g (0,063 mole) de chlorure stanneux. La température est maintenue à 100°C pendant 3 h. Après refroidissement, la solution est versée sous agitation dans 1 l d'hydroxyde de sodium à 20%. Le précipité est essoré, lavé à l'eau, séché et recristallisé dans l'acétonitrile. Cristaux oranges. (Rdt = 20%; F = 248°C). Anal C₁₃H₅N₃ (C, H, N). IR (KBr) 3330, 3270, 1610 (NH₂); 3100 (NH); 2220 (C=N). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 11,29; (1H, s, H5) 8,46; (2H, d, H7/8) 7,55; (1H, s, NH₂) 6,73; (2H, s, NH₂) 4,53; (3H, s, CH₃) 2,53; (3H, s, CH₃) 2,43.

3,6-Diamino-1,4-diméthyl-9H-carbazole 12

Méthode a. Le même procédé que pour le 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** est utilisé à partir de 10 g (0,035 mole) de 1,4-diméthyl-3,6-dinitro-9H-carbazole **6** et de 4 g de charbon palladié à 5%. (éthanol). Poudre violette. (Rdt = 64%; F = 190°C). Anal C₁₄H₁₅N₃ (C, H, N). IR (KBr) 3360, 3280, 1600 (NH₂); 3180 (NH). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 10,03; (1H, s, H5) 7,20; (1H, d, H8) 7,10; (1H, d, H7) 6,63; (1H, s, H2) 6,53; (2H, s, NH₂) 4,76; (2H, s, NH₂) 4,03; (3H, s, CH₃) 2,43; (3H, s, CH₃) 2,33.

Méthode b. On agite à 70°C pendant 1 h une solution de 200 ml d'hydroxyde de sodium à 15% et 7 g (0,022 mole) de 3,6-diacétamido-1,4-diméthyl-9H-carbazole **17**. Après refroidissement la solution est filtrée, le précipité obtenu est séché et recristallisé dans l'éthanol. (Rdt = 54%; F = 190°C). Le spectre IR est identique à celui du dérivé obtenu par la méthode a.

3,6-Diacétyl-1,4-diméthyl-9H-carbazole 15

On porte à 80°C, pendant 1 h, 5 g (0,025 mole) de 1,4-diméthyl-9H-carbazole **13** dans 60 ml d'anhydride acétique en présence de 3 équivalents de chlorure de zinc. Après refroidissement, la solution est concentrée sous pression réduite, reprise par 500 ml d'eau puis extraite par 200 ml d'éther éthylique. La phase étherée est séchée puis concentrée sous pression réduite, le résidu est recristallisé dans l'éthanol. Poudre blanche. (Rdt = 20%; F = 252°C). Anal C₁₈H₁₇NO₂ (C, H, N). IR (KBr) 3260 (NH); 1650 (C=O). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 11,87; (1H, s, H5) 8,70; (1H, d, H7) 8,05; (1H, s, H2) 7,60; (1H, d, H8) 7,50; (3H, s, CH₃) 2,90; (3H, s, CH₃) 2,61; (3H, s, CH₃) 2,55; (3H, s, CH₃) 2,50.

Bisoxime du 3,6-diacétyl-1,4-diméthyl-9H-carbazole 16

On porte au reflux 1 h dans 100 ml d'éthanol 1 g (0,0036 mole) de 3,6-diacétyl-1,4-diméthyl-9H-carbazole **15**, 0,75 g (0,010 mole) de chlorhydrate d'hydroxylamine et 0,83 g (0,010 mole) d'acétate d'ammonium en présence de 2 ml d'eau. Le solvant est concentré sous pression réduite, le résidu est trituré dans 100 ml d'eau, le précipité est essoré, lavé à l'eau, séché et recristallisé dans l'éthanol. Cristaux blancs. (Rdt = 67%; F = 200°C). Anal C₁₈H₁₉N₃O₂ (C, H, N). IR (KBr) 3640 (OH); 3240 (NH). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 11,26; (1H, s, OH) 10,91; (1H, s, OH) 10,83; (1H, s, H5) 8,43; (1H, d, H7) 7,71; (1H, d, H8) 4,80; (1H, s, H2) 7,03; (3H, s, CH₃) 2,76; (3H, s, CH₃) 2,51; (3H, s, CH₃) 2,30; (3H, s, CH₃) 2,21.

3,6-Diacétamido-1,4-diméthyl-9H-carbazole 17

On agite pendant 1 h à 60°C, 15 ml d'acide sulfurique concentré et 2 g (0,0064 mole) de la bisoxime du 3,6-diacétyl-1,4-diméthyl-9H-carbazole **16**. Après refroidissement la solution est versée dans 100 ml d'eau froide. Le précipité est essoré, lavé à l'eau, séché et recristallisé dans l'éthanol. Poudre blanche. (Rdt = 80%; F = 187°C). Anal C₁₈H₁₉N₃O₂ (C, H, N). IR (KBr) 3220, 2950 (NH); 1645, 1620 (C=O). RMN ¹H (DMSO-d₆): (3H, s, NH) 11,43; (1H, s, H5) 7,93; (1H, d, H8) 7,56; (1H, d, H7) 7,25; (1H, s, H2) 7,03; (3H, s, CH₃) 2,60; (3H, s, CH₃) 2,55; (3H, s, CH₃) 1,75; (3H, s, CH₃) 1,61.

3-Acétamido-1,4-diméthyl-9H-carbazole 23

1 g (0,004 mole) de 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** est agité à 80°C, 10 min dans 2 ml d'anhydride acétique. Après refroidissement, les cristaux sont essorés, lavés à l'éther éthylique, séchés et recristallisés dans l'acétonitrile. Cristaux blancs. (Rdt = 80%; F = 234°C). Anal C₁₆H₁₆N₂O (C, H, N). IR (KBr) 3240 (NH); 1655 (C=O). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 11,06; (1H, s, NH) 9,33; (1H, d, H6) 8,06; (3H, m, H5/7/8) 7,28; (1H, s, H2) 6,98; (3H, s, CH₃) 2,56; (3H, s, CH₃) 2,45; (3H, s, CH₃) 2,00.

N,N'-3-diacétylamino-1,4-diméthyl-6-nitro-9H-carbazole 24

On dissout 10 g (0,039 mole) de 3-acétamido 1,4-diméthyl 9H-carbazole **23** dans 50 ml d'anhydride acétique à 100°C. La solution est refroidie vers 30°C et on ajoute doucement 2,45 g d'HNO₃ (d = 1,52). L'agitation est maintenue 2 h. Le précipité est essoré, lavé à l'éther anhydre, séché et recristallisé dans l'acétonitrile. Poudre jaune. (Rdt = 59%; F = 265°C). Anal C₁₈H₁₇N₃O₄ (C, H, N). IR (KBr) 3300 (NH); 1710, 1675 (C=O); 1240 (NO₂). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 12,26; (1H, s, H5) 9,03; (1H, d, H7) 8,36; (1H, d, H8) 7,70; (1H, s, H2) 7,26; (6H, s, CH₃) 2,60; (3H, s, CH₃) 2,23.

3-Acétamido-1,4-diméthyl-6-nitro-9H-carbazole 25

On porte à 80°C pendant 1 h, 1,2 g (0,005 mole) de N,N'-3-diacétylamino-1,4-diméthyl-6-nitro-9H-carbazole **24** en solu-

tion dans 150 ml d'éthanol et 20 ml d'hydroxyde de sodium à 40%. Après refroidissement, la solution est concentrée à demi volume et le précipité est essoré, lavé à l'eau, séché et recristallisé dans l'éthanol. Cristaux jaunes. (Rdt = 40%; F = 265°C). Anal C₁₆H₁₅N₃O₃ (C, H, N). IR (KBr) 3300 (NH); 1650 (C=O); 1310 (NO₂). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 11,70; (1H, s, NH) 9,40; (1H, s, H5) 8,85; (1H, d, H7) 8,20; (1H, d, H8) 7,56; (1H, s, H2) 7,13; (3H, s, CH₃) 2,66; (3H, s, CH₃) 2,63; (3H, s, CH₃) 2,06.

3-Acétamido-6-cyano-1,4-diméthyl-9H-carbazole 27

1 g (0,0036 mole) de 3-amino-6-cyano-1,4-diméthyl-9H-carbazole **11** est agité à 80°C, 10 min dans 25 ml d'anhydride acétique. Après refroidissement, les cristaux sont essorés, lavés à l'éther éthylique, séchés et recristallisés dans l'acétonitrile. Cristaux beiges. (Rdt = 60%; F = 265°C). Anal C₁₇H₁₅N₃O (C, H, N). IR (KBr) 3260 (NH); 2220 (C≡N); 1650 (C=O). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 11,65; (1H, s, NH) 9,40; (1H, s, H5) 8,46; (2H, m, H7/8) 7,63; (1H, s, H2) 7,06; (3H, s, CH₃) 2,60; (3H, s, CH₃) 2,46; (3H, s, CH₃) 2,06.

1,4-Diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-9H-carbazole 29

On porte à reflux pendant 2 h, 10 g (0,045 mole) de 1,4-diméthyl-6-hydroxy-9H-carbazole **28** dans 50 ml de toluène contenant 5,50 ml (0,054 mole) de chloroformiate d'éthyle et 9,50 (0,067 mole) de triéthylamine. Après refroidissement, le mélange réactionnel est versé dans 1 l d'eau, la phase toluénique est décantée, séchée et concentrée sous pression réduite. Le résidu est recristallisé dans l'éther éthylique. Cristaux marrons. (Rdt = 50%; F = 138°C). Anal C₁₇H₁₇NO₃ (C, H, N). IR (KBr) 3240 (NH); 1750, 1620 (C=O). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 11,23; (1H, s, NH) 9,40; (1H, s, H5) 7,90; (1H, d, H8) 7,53; (1H, d, H7) 7,23; (1H, s, H2) 7,06; (2H, q, CH₂) 4,26; (3H, s, CH₃) 2,60; (3H, s, CH₃) 2,46; (3H, s, CH₃) 2,06; (3H, s, CH₃) 1,33.

1,4-Diméthyl-3,8-dinitro-6-éthoxycarbonyloxy-9H-carbazole 30

On dissout 5 g (0,017 mole) de 1,4-diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-9H-carbazole **29** dans 50 ml d'anhydride acétique à 80°C. La solution est ensuite refroidie vers 40°C puis on ajoute doucement 1,48 ml (d = 1,52) d'HNO₃ et on poursuit l'agitation 3 h. Le précipité est essoré, lavé à l'éther éthylique, séché et recristallisé dans l'acétonitrile. Poudre jaune. (Rdt = 70%; F = 220°C). Anal C₁₇H₁₅N₃O₇ (C, H, N). IR (KBr) 3400 (NH); 1760 (C=O); 1290 (NO₂). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 11,43; (1H, s, H5) 8,43; (1H, s, H7) 8,23; (1H, s, H2) 7,80; (2H, q, CH₂) 4,33; (3H, s, CH₃) 2,80; (3H, s, CH₃) 2,66; (3H, s, CH₃) 1,36.

1,4-Diméthyl-3,8-dinitro-6-méthoxy-9H-carbazole 32

Le même mode expérimental que pour le 1,4-diméthyl-3,8-dinitro-6-éthoxycarbonyloxy-9H-carbazole **30** est utilisé à partir de 5 g (0,022 mole) de 1,4-diméthyl 6-méthoxy 9H-carbazole **31** et 1,91 ml d'HNO₃ (d = 1,52). Cristaux oranges. (acétonitrile). (Rdt = 74%; F = 264°C). Anal C₁₅H₁₃N₃O₅ (C, H, N). IR (KBr) 3400 (NH); 1340 (NO₂). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 11,20; (1H, s, H5) 8,10; (1H, s, H7) 7,83; (1H, s, H2) 7,76; (3H, s, CH₃) 3,93; (3H, s, CH₃) 2,90; (3H, s, CH₃) 2,66.

3,8-Diamino-1,4-diméthyl-6-méthoxy-9H-carbazole 33

Le même procédé expérimental que pour le 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole **7** est utilisé à partir de 10 g (0,031 mole) de 1,4-diméthyl-3,8-dinitro-6-méthoxy-9H-carbazole **32** et de 4 g de charbon palladié à 5%. (éthanol). Poudre marron. (Rdt

= 74%; F = 200°C). Anal C₁₅H₁₇N₃O (C, H, N). IR (KBr) 3400, 3220, 3200, 1620 (NH); (NH₂). RMN ¹H (DMSO-d₆): (1H, s, NH) 9,73; (1H, s, H5) 6,83; (1H, s, H7) 6,20; (4H, s, NH₂) 5,10 et 4,16; (3H, s, CH₃) 3,70; (3H, s, CH₃) 2,40; (3H, s, CH₃) 2,30.

3,8-Diacétamido-1,4-diméthyl-6-méthoxy-9H-carbazole 34

On dissout 2 g (0,0078 mole) de 3,8-diamino-1,4-diméthyl-6-méthoxy-9H-carbazole 33 dans 25 ml d'anhydride acétique. Après refroidissement de la solution, le précipité blanc formé est essoré, lavé à l'éther, séché et recristallisé dans l'acétonitrile. Poudre blanche. (Rdt = 77%; F = 265°C). Anal C₁₉H₂₁N₃O₃ (C, H, N). IR (KBr) 3270 (NH); 1630, 1675 (C=O). RMN ¹H (DMSO-d₆): (3H, s, NH) 10,20, 9,46, 9,10; (1H, d, H5) 7,46; (1H, d, H7) 7,13; (1H, s, H2) 6,76; (3H, s, OCH₃) 3,63; (6H, s, CH₃) 2,35; (3H, s, CH₃) 2,00; (3H, s, CH₃) 1,86.

Bromhydrate de 3-amino-6-bromo-1,4-diméthyl-9H-carbazole 21

On agite à température ordinaire pendant 30 min 5 g (0,017 mole) de 3-amino-6-bromo-1,4-diméthyl-9H-carbazole 20 dans 50 ml d'éthanol absolu et 20 ml d'acide bromhydrique à 33% en solution acétique. Le précipité est essoré, lavé avec un minimum d'éthanol, séché et recristallisé dans l'acétonitrile. Poudre beige. (Rdt = 70%; F = 200°C). Anal C₁₄H₁₄N₂Br (C, H, N). IR (KBr) 2600, 2400 et 2600 (NH₃⁺Cl⁻).

Bromhydrate de 3-amino 1,4-diméthyl 9H-carbazole 22

Le même procédé expérimental que pour le dérivé 21 est utilisé à partir de 5 g (0,023 mole) de 3-amino 1,4-diméthyl 9H-carbazole 7 et 20 ml d'HBr à 33% en solution acétique. (éthanol). Poudre grise. (Rdt = 68%; F = 210°C). Anal C₁₄H₁₅N₂Br (C, H, N). IR (KBr) 2740, 2620 et 2400 (NH₃⁺Br⁻).

Étude pharmacologique in vitro

Les protocoles expérimentaux ont été décrits en détail dans un précédent article [1]. Les produits solubilisés dans le DMSO sont dilués dans du RPMI 1640 (concentration finale en DMSO 0,2%) avant d'être essayés à trois concentrations: 0,1, 1 et 10 µg/ml. La culture clonogénique de la lignée leucémique murine L1210 est effectuée sur agar semi-solide. Deux protocoles sont utilisés. Dans un cas, les cellules sont incubées 1 h en présence du produit, rincées, puis clonées sur agar semi-solide (exposition brève). Dans l'autre cas, les incubations des cellules en présence du produit s'effectuent directement dans les plaques de culture multipuits (exposition continue). Le comptage des clones a lieu 5 à 7 jours après la mise en culture et les résultats sont exprimés en pourcentage du nombre de clones formés par rapport aux témoins. Un produit est jugé

actif à une concentration donnée lorsqu'il inhibe la formation d'au moins 50% des clones.

Remerciements

Ce travail a été financé par l'Université de Caen et les Comités départementaux de la ligue contre le cancer du Calvados et de l'Orne. Nous remercions JS Abbattucci et J Robillard, directeur du Centre F Baclesse, pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail. Nous avons particulièrement apprécié la collaboration technique de M Aubert, C Boissart, MC Bon et M Joret.

Références

- 1 Tabka T, Héron JF, Gauduchon P, Le Talaer JY, Lancelot JC, Rault S, Robba M (1988) *Eur J Med Chem* 23, 119
- 2 Tabka T, Letois B, Lancelot JC, Gauduchon P, Héron JF, Le Talaer JY, Rault S, Robba M (1988) *Eur J Med Chem* 24, 605
- 3 Cranwell PA, Saxton JE (1962) *J Chem Soc* 3482
- 4 Lancelot JC, Rault S, Robba M, Nguyen Huy Dung (1987) *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 35, 425
- 5 Viossat B, Nguyen Huy Dung, Lancelot JC, Benazeth S, Rault S, Robba M (1987) *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 35, 1724
- 6 Dalton LK, Demerac S, Elmer BC, Loder JW, Teitei T (1967) *Aust J Chem* 20, 2715
- 7 Dalton LK, Teitei T (1968) *Aust J Chem* 21, 2053
- 8 Lancelot JC, Rault S, Robba M, Tabka T, Gauduchon P, Le Talaer JY (1986) 22^e Rencontres internationales de chimie thérapeutique, Clermont-Ferrand 3-5 septembre, 124
- 9 Paoletti C, Cros S, Dat-Xuong N, Lecoine P, Moisand A (1979) *Chem Biol Interact* 25, 45-58
- 10 Meunier G, de Montauzon D, Bernadou J, Grassy G, Bonnafous M, Cros S, Meunier B (1988) *Mol Pharmacol* 33, 93-102
- 11 Sundaramoorthi R, Kansal VK, Das BC, Potier P (1986) *J Chem Soc Chem Commun* 371-372
- 12 Kappus H (1986) *Biochem Pharmacol* 35, 1-6
- 13 Liu LF (1989) *Ann Rev Biochem* 58, 351-375
- 14 Tourbez-Perrin M, Pochon F, Ducrocq C, Rivalle C, Bisagni E (1980) *Bull Cancer (Paris)* 67, 9-13
- 15 Markovits J, Pommier Y, Mattern MR, Esnault C, Roques BP, Le Pecq JB, Kohn KW (1986) *Cancer Res* 46, 5821-5826
- 16 Bisagni E, Chi-Hung N, Pierré A, Pépin O, de Cointet P, Cros P (1988) *J Med Chem* 31, 398-405