



HAL
open science

Les Benzylidène-thiazolidinediones et -pyrrolidinediones, des synthons à fort potentiel: synthèse, activité biologique et photoisomérisation

Elodie Cortelazzo-Polisini

► To cite this version:

Elodie Cortelazzo-Polisini. Les Benzylidène-thiazolidinediones et -pyrrolidinediones, des synthons à fort potentiel: synthèse, activité biologique et photoisomérisation. Chimie. Université de Lorraine, 2022. Français. NNT: 2022LORR0042 . tel-03780600

HAL Id: tel-03780600

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-03780600>

Submitted on 12 Jun 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact bibliothèque : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



École Doctorale C2MP
(Chimie – Matériaux – Mécanique - Physique)

Thèse

Présentée pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Mention : Chimie

Elodie Cortelazzo-Polisini

**Les Benzylidène-thiazolidinediones et
-pyrrolidinediones, des synthons à fort potentiel :
synthèse, activité biologique et photoisomérisation**

Soutenance publique le 6 mai 2022 devant le jury suivant

<u>Rapporteurs :</u>	Mme Pascale MOREAU	Professeur, Université de Clermont-Ferrand
	M. Lhassane ISMAILI	Professeur, Université de Franche-Comté, Besançon
<u>Examineur :</u>	M. Janos SAPI (Président du jury)	Professeur, Université de Reims-Champagne-Ardennes
Membre invité :	Mme Sabine MAZERBOURG	Maître de Conférences, Université de Lorraine
Directeur :	M. Michel BOISBRUN	Maître de Conférences HDR, Université de Lorraine
Co-directrice :	Mme Corinne COMOY	Maître de Conférences HDR, Université de Lorraine

*L2CM - Laboratoire Lorrain de Chimie Moléculaire – UMR 7053
Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine
B.P. 70239, 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy*

*A mes enfants,
Ne croyez jamais que vos rêves sont trop grands pour vous.*

Remerciements

J'ai obtenu mes diplômes de Master et d'ingénieur il y a presque 12 ans aujourd'hui. Mes choix de vie de l'époque m'ont amenée à devenir enseignante dans le secondaire : j'aimais enseigner et j'avais envie de transmettre ma passion de la science, et surtout de la chimie. Mais il faut reconnaître que, même si l'enseignement était intéressant et que j'essayais de renouveler mes méthodes d'année en année, je n'avais pas cette petite étincelle qui pétillait comme lors de mes précédents stages de recherche. Alors j'ai décidé de retourner là où je m'étais arrêtée : faire une thèse de doctorat.

... Et nous y voilà. Je rédige les dernières pages de ce manuscrit qui clôt quatre années de travail. Difficile de dire quels sont les sentiments qui m'animent aujourd'hui : à la fois un grand soulagement et une grande fierté d'y être arrivée et aussi de la tristesse que ce soit déjà fini. Le temps est passé infiniment vite depuis quatre ans mais une chose est sûre : la petite étincelle est revenue et faire de la recherche est maintenant une évidence pour moi. Durant cette période j'ai eu l'occasion de rencontrer de formidables personnes que je tiens à remercier ici.

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer et de juger mon travail, Pascale Moreau et Lhassane Ismaili en tant que rapporteurs, et Janos Sapi en tant qu'examineur.

J'adresse un remerciement profond et sincère à Michel Boisbrun et Corinne Comoy pour m'avoir donné la chance de reprendre mes études sept années après mes diplômes et pour m'avoir fait confiance. Je suis consciente d'avoir bousculé vos habitudes et je pense que peu de personnes m'auraient accordé ce privilège. Je me sens réellement chanceuse d'avoir eu cette opportunité. Michel, merci pour ta bienveillance et ton accompagnement au quotidien. J'ai toujours pris un grand plaisir à discuter avec toi de nos résultats et de la biologie. Merci à toi Corinne pour ta bienveillance et ta gentillesse pendant toutes ces années. Merci d'avoir répondu à mon mail il y a plusieurs années et de m'avoir ouvert cette porte. Tu auras toujours une place particulière dans mon cœur.

Merci à Katalin Selmeczi pour les nombreuses réservations de créneaux de RMN d'abord, mais aussi et surtout pour toute l'aide apportée pendant ces années, autant pour mes révisions d'agrégation que pour mes analyses physico-chimiques. Tu as su rendre plus

claires des notions complètement floues pour moi. Je garderai longtemps en mémoire ta gentillesse et ta disponibilité.

J'adresse également de sincères remerciements à Stéphane Parant, qui m'a bien aidée et conseillée pour mes analyses, en particulier la partie fluorescence.

Merci à François Dupire pour les (très) nombreuses analyses en spectrométrie de masse. Cela a toujours été un plaisir de venir discuter des résultats avec toi. Merci aussi à Sandrine Adach pour ses bons conseils pour les purifications et l'entretien du matériel (et aussi pour sa merveilleuse recette de galette des rois).

Merci à Arnaud Risler pour son aide apportée lors de nos études de tubuline et pour sa disponibilité. Un grand merci à Stéphanie Philippot pour sa réactivité et les mesures effectuées.

Un merci tout particulier à Sophie Poinignon et Sébastien Leclerc (CRM²) pour leur gentillesse, leur disponibilité et leur aide en RMN.

Merci également à Axel Gansmuller (CRM²) pour son travail et son aide concernant les suivis cinétiques par RMN. Sans son expertise, nous n'aurions pas pu avoir ces jolis résultats.

Je remercie également Abdelatif Doudouh et Emmanuel Wenger (CRM²) pour les diffractions des rayons X et surtout leur grande patience.

J'adresse de profonds remerciements à Sabine Mazerbourg et Elia De Fays pour leur accueil au sein du CRAN et leur accompagnement. Elia, merci de m'avoir formée à la culture cellulaire et merci pour ta patience, surtout au début. Sabine, merci pour votre gentillesse et vos explications toujours très claires. Grâce à vous deux j'ai pris beaucoup de plaisir à entrer dans le monde de la biologie.

Au niveau plus personnel, je remercie tous les membres du L2CM pour leur gentillesse. Hiba, cette dernière année aura été folle et épique et je suis très heureuse d'avoir pu partager cela avec toi. Alexandre, merci pour les fous rires et les grandes discussions pendant la pause de midi. Courage dans un an c'est ton tour ! Mathilde, j'ai toujours eu beaucoup de plaisir à papoter avec toi, de sciences ou non d'ailleurs, alors merci pour ça.

Merci à mon ami Tarak qui m'a souvent bien conseillée à mon arrivée au labo et avec qui j'ai surtout partagé de très bons moments de rire.

Je remercie aussi toutes les personnes qui m'ont encouragée, parfois même sans le savoir, à entreprendre cette folle aventure et à la poursuivre. En particulier mes collègues des lycées Pierre Mendès-France et Louis Laponche à Epinal qui étaient présents pendant mes deux premières années de thèse. Merci aussi à mon ancienne patronne, Mme Kieken qui m'a vivement encouragée à me lancer.

Evidemment, je pense aussi à mes anciens professeurs qui m'ont transmis la passion de la chimie organique ainsi que l'amour de la recherche.

Je tiens également à remercier du fond du cœur mes amies, mes sœurs de cœur, Aurore et Sandra, pour leurs encouragements et leur soutien sans faille. La dernière année a été difficile mais grâce à elles, elle m'a semblé plus douce.

Enfin je remercie ma famille pour son soutien inconditionnel pendant ce périple. Rémi, mon amour, merci de me suivre dans mes idées les plus folles. Soyons honnêtes, ça n'a pas toujours été simple de concilier nos deux vies professionnelles, mais grâce à ta bienveillance, ta patience et ton amour on y est arrivé. Merci surtout à mes trois chouchous, Lucas, Elsa et Charlotte, qui n'ont pas eu d'autre choix que de s'adapter à mon rythme mais qui ont toujours été compréhensifs et adorables. J'ai essayé pendant quatre ans de faire mon travail correctement tout en répondant à leurs besoins, et si je ne suis pas sûre d'y être arrivée tout le temps, je sais que j'ai fait de mon mieux. Un jour on m'a dit « si maman est épanouie alors les enfants le sont aussi », je crois que de ce côté le contrat est rempli.

Sommaire

Sommaire	- 1 -
Index des Figures.....	- 4 -
Index des Schémas	- 7 -
Index des Tableaux.....	- 8 -
Abréviations	- 11 -
Avant-propos.....	- 15 -
Chapitre 1 : Le cancer du sein : Description et traitements actuels	- 19 -
1 Le cancer du sein.....	- 21 -
1.1 Description du sein.....	- 21 -
1.2 Épidémiologie et facteurs de risque	- 21 -
1.3 Généralités sur le cancer.....	- 22 -
1.4 Classification des cancers du sein	- 23 -
1.4.1 Classification histologique.....	- 23 -
1.4.2 Classification anatomopathologique.....	- 23 -
1.4.3 Classification moléculaire.....	- 24 -
2 Traitements généraux	- 26 -
2.1 Traitement local.....	- 26 -
2.2 Chimiothérapie.....	- 27 -
2.2.1 Principe.....	- 27 -
2.2.2 Les agents de chimiothérapie	- 28 -
2.2.3 Effets indésirables.....	- 39 -
3 Traitements ciblés.....	- 40 -
3.1 Cancers hormonaux/ Hormonothérapie	- 40 -
3.1.1 Le cycle hormonal chez la femme ³⁵	- 41 -
3.1.2 Utilisation des antihormones comme agents anti-cancéreux.....	- 42 -
3.1.3 Inhibiteurs de l'aromatase (IA).....	- 42 -
3.1.4 Les analogues de la LH-RH	- 43 -
3.1.5 Résistance aux traitements	- 44 -
3.2 Thérapies ciblées et cancers HER2.....	- 45 -
3.3 Cas des cancers triple négatifs.....	- 47 -
3.4 Recherches en cours	- 49 -
4 Troglitazone et dérivés.....	- 50 -
4.1 Les thiazolidinediones antidiabétiques.....	- 50 -
4.2 Toxicité.....	- 52 -
4.3 Actions anticancéreuses des glitazones	- 54 -
4.3.1 Inhibition du cycle cellulaire et apoptose.....	- 55 -
4.3.2 Inhibition de la migration	- 55 -
4.3.3 Effet PPAR- γ indépendant.....	- 56 -
5 Conclusion du chapitre.....	- 57 -
Chapitre 2 : Benzylidène-thiazolidinediones et -pyrrolidinediones : synthèse et évaluation de leur activité antiproliférative	- 59 -
1 Introduction	- 61 -
1.1 Historique.....	- 61 -

1.2	Objectifs.....	- 64 -
2	Modulation de la position du fragment benzylidène en série oxygénée.....	- 65 -
2.1	Préparation du noyau hydroxyméthylchromane 4	- 65 -
2.2	Obtention des régioisomères <i>ortho</i> et <i>méta</i> en séries soufrée et désoufrée.....	- 68 -
2.3	Modulation du cycle aromatique central.....	- 70 -
2.4	Déprotection de la fonction phénol.....	- 74 -
3	Modulation de l'hétéroatome central : préparation des analogues azotés.....	- 75 -
3.1	Obtention des arylamines primaires.....	- 75 -
3.2	Synthèse des composés cibles.....	- 77 -
3.2.1	Synthèse de l'aldéhyde 15	- 78 -
3.2.2	Amination réductrice.....	- 80 -
3.2.3	Arylaminon Pd catalysée.....	- 83 -
3.2.4	Arylaminon cupro-catalysée.....	- 86 -
3.3	Fonctionnalisation de l'amine secondaire.....	- 88 -
3.4	Déprotection des composés cibles.....	- 88 -
3.5	Préparation de l'analogue de l' EP13	- 89 -
3.6	Préparation de composés hybrides oxygénés et azotés.....	- 91 -
4	Étude de l'activité antiproliférative.....	- 93 -
4.1	Etude de l'influence de la position relative du noyau benzylidène et des hétéroatomes.....	- 95 -
4.2	Influence de la protection Boc.....	- 98 -
4.3	Influence des autres modulations.....	- 100 -
4.4	Détermination des CI ₅₀	- 103 -
4.4.1	Action antiproliférative vis-à-vis des cellules cancéreuses.....	- 103 -
4.4.2	Action antiproliférative sur des cellules non cancéreuses.....	- 106 -
5	Étude du mécanisme d'action.....	- 107 -
5.1	Localisation du composé : suivi par épifluorescence.....	- 108 -
5.1.1	Histoire et principe de la fluorescence.....	- 108 -
5.1.2	Résultats des mesures.....	- 111 -
5.2	Étude de l'interaction avec la tubuline.....	- 123 -
5.2.1	Action sur la polymérisation de la tubuline.....	- 123 -
5.2.2	Fluorescence.....	- 127 -
5.3	Détection de la mort cellulaire par apoptose par cytométrie en flux.....	- 130 -
6	Conclusion.....	- 131 -
Chapitre 3 : Étude de l'isomérisation de fragments benzylidène par photoactivation .		- 133 -
1	Introduction.....	- 135 -
2	Isomérisation de la double liaison.....	- 138 -
2.1	Étude cinétique par photo-RMN <i>in situ</i>	- 143 -
2.2	Etude UV-visible.....	- 146 -
2.3	Sélectivité de l'isomérisation.....	- 151 -
2.3.1	Augmentation du taux d'isomérisation.....	- 151 -
2.3.2	Retour à la forme (<i>Z</i>).....	- 153 -
2.3.3	Identification du produit 56	- 155 -
3	Préparation de composés tricycliques.....	- 158 -
4	Conclusion.....	- 163 -
Conclusion générale.....		- 165 -
Chapitre 4 : Partie expérimentale.....		- 167 -
1	Généralités.....	- 169 -

2 Synthèse organique	- 169 -
Procédure générale pour la préparation des arylaldéhydes 7a et 7b :	- 169 -
Procédure générale pour la préparation des composés benzylidènes 1a et 1b :	- 171 -
Préparation des composés benzylidènes 1d et 1e :	- 173 -
Procédure générale pour la déprotection des composés oxygénés	- 178 -
Procédure générale pour la préparation des composés 18a-c par la réaction de Knoevenagel.....	- 182 -
Procédure générale pour la préparation des dérivés désoufrés 18d-f	- 184 -
Procédure générale pour la préparation des amines 19a-f	- 186 -
Procédure générale pour la préparation des composés 3b-f	- 192 -
Procédure générale pour la déprotection des composés azotés 3b-f	- 201 -
Procédure pour la préparation des composés 47, 48 et 49	- 208 -
Préparation des fragments benzylidène-thiazolidinediones 51-55 et 57-59	- 211 -
Préparation des aminobenzylidènthiazolidine-2,4-diones 60-62	- 215 -
Procédure générale pour la synthèse des thiazolo- ou pyrroloquinolin-2(3 <i>H</i>)-ones 63-67 sous irradiation lumineuse	- 218 -
3 Biologie	- 221 -
Culture cellulaire.....	- 221 -
Suivi de la prolifération cellulaire	- 222 -
Détection de la mort cellulaire par apoptose par cytométrie en flux.....	- 223 -
Immunocytofluorescence.....	- 224 -
Polymérisation de la tubuline	- 225 -
4 Analyses photophysiques	- 225 -
Procédure A pour l'irradiation des composés 18, 19 et 50-55	- 226 -
Procédure B pour l'irradiation du composé 52 et le suivi cinétique par RMN ¹ H	- 226 -
Bibliographie	- 229 -
Annexes	- 255 -
1 Bibliothèque de molécules bioactives	- 257 -
2 Spectres RMN 2D des composés 1d, 1e, 18d, 19e, 3d, 3e, 20, 45 et 56	- 261 -
2.1 Spectre NOESY du composé 1d	- 263 -
2.2 Spectre NOESY du composé 1e	- 264 -
2.3 Spectre NOESY du composé 18d	- 265 -
2.4 Spectre NOESY du composé 19e	- 266 -
2.5 Spectre NOESY du composé 3d	- 267 -
2.6 Spectre NOESY du composé 3e	- 268 -
2.7 Spectre COSY du composé 20	- 269 -
2.8 Spectre HSQC du composé 20	- 270 -
2.9 Spectre HMBC du composé 20	- 271 -
2.10 Spectre COSY du composé 45	- 272 -
2.11 Spectre HSQC du composé 45	- 273 -
2.12 Spectre HMBC du composé 45	- 274 -
2.13 Spectre HSQC du composé 56	- 275 -
2.14 Spectre HMBC du composé 56	- 276 -
3 Analyses par diffraction des rayons X des composés 18a, b, 56 et 63	- 277 -
4 Étude de l'influence des composés sur la cinétique de polymérisation de la tubuline...	- 283 -
5 Spectres UV-visible dans le DMSO	- 299 -
6 Analyses HR-MS et MSMS des composés 52, 56 et 56'	- 305 -

7	Spectres d'absorption UV-visible des amines	- 307 -
8	Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation. Suivi UV-visible.....	- 311 -

Index des Figures

Figure 1 : Représentation en coupe du sein. ²	- 21 -
Figure 2 : Cycle cellulaire.....	- 28 -
Figure 3 : Mitose. ³⁵	- 29 -
Figure 4 : Exemples d'anthracyclines utilisées contre le cancer du sein et structure du Dexrazoxane.	- 30 -
Figure 5 : Structures des vinca alcaloïdes utilisés pour le traitement du cancer du sein.....	- 33 -
Figure 6 : Structure des taxoïdes.....	- 33 -
Figure 7 : Structures du 5-FU, de l'Uracile et de la Capécitabine.....	- 37 -
Figure 8 : Structures du Méthotrexate et de l'acide folique.....	- 38 -
Figure 9 : Fonctionnement des hormones sexuelles chez la femme. LH-RH : Gonadotrophin Releasing Hormone ; LH : Luteinising Hormone ; FSH : Follicle-Stimulating Hormone.....	- 41 -
Figure 10 : Structures du Tamoxifène et de son métabolite utilisés en thérapeutique.....	- 42 -
Figure 11 : Structures des anti-aromatase utilisés dans le traitement du cancer du sein.....	- 43 -
Figure 12 : Structure du Trastuzumab emtansine.....	- 46 -
Figure 13 : Structure du Lapatinib.....	- 47 -
Figure 14 : Structures de deux inhibiteurs de PARP utilisés dans le traitement du cancer du sein. ^{104,103}	- 48 -
Figure 15 : Structures à noyau glitazone.....	- 51 -
Figure 16 : Structures des glitazones et de leurs analogues insaturés.....	- 57 -
Figure 17 : Design de la Troglitazone. ¹⁶⁵	- 61 -
Figure 18 : Analogues de la TGZ à activité antiproliférative.....	- 63 -
Figure 19 : Fonctionnalisation de la position pseudo-vinyle du noyau benzylidène-TZD. ¹⁷²	- 63 -
Figure 20 : Structure des composés cibles.....	- 64 -
Figure 21 : Représentation 3D du naphthaldéhyde 9a. La flèche orange pointe le carbonyle engagé dans la réaction de Wittig.*	- 73 -
Figure 22 : Représentation 3D du chromane activé sous forme de triflate et du cyclohexanol. La flèche jaune pointe l'atome de carbone engagé dans la réaction de SN ₂ .*	- 74 -
Figure 23 : Structures des composés 18a (CCDC : 2151344) et 18b (CCDC : 2151342) après analyse par diffraction des rayons X.....	- 77 -
Figure 24 : Structure du ligand SIPr.....	- 83 -
Figure 25 : Évolution du nombre de cellules en fonction du temps (moyenne normalisée par rapport au nombre de cellules non traitées à t=0).....	- 96 -
Figure 26 : Évolution du nombre de cellules en fonction du temps (moyenne normalisée par rapport au nombre de cellules non traitées à t=0) - influence de la protection Boc. A : dérivés oxygénés ; B : dérivés azotés.....	- 99 -
Figure 27 : Evolution du nombre de cellules en fonction du temps (moyenne normalisée par rapport au nombre de cellules non traitées à t=0)- influence d'autres paramètres.....	- 101 -
Figure 28 : Les trois composés les plus actifs sélectionnés pour la suite de l'étude, ainsi que les composés EP13 et 1f qui seront évalués à titre de comparaison.....	- 102 -

Figure 29 : Représentation du nombre de cellules MDA-MB-231 en fonction de la concentration en composé exprimé en pourcentage par rapport à la condition contrôle (0 μ M) (\pm SEM) après 48 h de traitement. n > 3.....	- 104 -
Figure 30 : Observation de la fluorescence du composé 3d (excitation à 365 nm).	- 108 -
Figure 31 : Diagramme de Perrin-Jablonski.	- 109 -
Figure 32 : Schéma représentant le déplacement de Stokes.	- 110 -
Figure 33 : Structure des composés possédant des propriétés de fluorescence.....	- 111 -
Figure 34 : Représentation des transitions électroniques n- π^* et π - π^*	- 112 -
Figure 35 : Conjugaison du noyau amino-benzylidène-succinimide.....	- 112 -
Figure 36 : Spectres d'absorption et de fluorescence dans l'eau. A : composé <i>ortho</i> 3d ; B : composé <i>mé</i> ta 3e ; C : composé <i>para</i> 3f ; D : composé 45 ; E : composé 46.....	- 113 -
Figure 37 : Représentation de la fluorescence des composés en fonction de leur absorbance dans l'eau.....	- 116 -
Figure 38 : a) Schéma de principe du microscope à fluorescence. ²²¹ b) Observation des cellules MDA-MB-231 par microscopie à fluorescence après 3h de traitement à 100 μ M. En bleu : coloration Hoechst qui marque le noyau des cellules, en rouge : marquage de la tubuline. La flèche montre l'accumulation du composé.....	- 119 -
Figure 39 : Observation des cellules MDA-MB-231 par microscopie à fluorescence après 3 h de traitement avec le composé 3e (100 μ M) sans marquage des noyaux. En rouge : marquage de la tubuline. Les flèches montrent l'accumulation de composé 3e. N : localisation probable du noyau.....	- 120 -
Figure 40 : Observation des cellules MDA-MB-231 traitées avec le composé 46 (6 μ M) pendant une durée de 5 min à 1 h. N : localisation probable du noyau. Les flèches pointent les agrégats de plus gros diamètre et moins fluorescents.....	- 121 -
Figure 41 : Observation des cellules MDA-MB-231 traitées avec le composé 46 (6 μ M) pendant 6 h. En vert : marquage de la tubuline. La flèche pointe le composé (superposition) ou son emplacement (tubuline). N : localisation probable du noyau.....	- 122 -
Figure 42 : Sites d'action des poisons du fuseau sur la tubuline. ⁵⁰	- 124 -
Figure 43 : Composés étudiés pour leur aptitude à modifier la polymérisation de la tubuline... -	124 -
Figure 44 : Polymérisation de la tubuline en fonction du temps en présence de différents composés à différentes concentrations.....	- 125 -
Figure 45 : Détermination graphique du temps de demi-réaction (courbe représentant la tubuline seule).	- 126 -
Figure 46 : Evolution de la fluorescence de la tubuline en fonction de la quantité de composé (excitation à 360 nm).....	- 129 -
Figure 47 : Analyse de l'effet pro-apoptotique des composés EP13 et 46 dans les cellules MDA-MB-231. Les cellules ont été traitées pendant 7 h à la CI ₅₀ de 4.5 μ M pour EP13 et 6 μ M pour le composé 46. Le pourcentage de cellules marquées à l'annexine V a été déterminé par cytométrie en flux (n=1).	- 131 -
Figure 48 : Structures des composés 18a (CCDC : 2151344) et 18b (CCDC : 2151342) obtenus par analyse DRX.	- 135 -
Figure 49 : Dérivés à noyaux arylidènes d'intérêt pharmaceutique.....	- 136 -
Figure 50 : Structure d'analogues du Stilbène. ^{240,241}	- 137 -
Figure 51 : Spectres RMN ¹ H du composé 52 dans le DMSO a) Avant irradiation, configuration (<i>Z</i>). b) Après 24h d'irradiation à 340 nm, mélange 53/47 d'isomères (<i>Z</i>) et (<i>E</i>).	- 140 -

Figure 52 : Cinétique d'isomérisation du composé 52 à 340 nm. A : dans CDCl ₃ ; B : dans le DMSO- <i>d</i> ₆ ; C : dans le méthanol- <i>d</i> ₄ ; D : dans l'acétone- <i>d</i> ₆	- 144 -
Figure 53 : Représentation schématique des procédures mises en œuvre pour l'irradiation des composés.	- 145 -
Figure 54 : Absorbances normalisées des isomères (<i>Z</i>) et (<i>E</i>) du composé 52 dans différents solvants.	- 147 -
Figure 55 : Absorption des isomères (<i>Z</i>) (mesurée) et (<i>E</i>) (estimée) des composés 53 et 55 dans le DMSO	- 150 -
Figure 56 : Cinétique d'isomérisation du composé 52 à 310 nm. A : dans CDCl ₃ ; B : dans DMSO- <i>d</i> ₆ ; C : dans MeOH- <i>d</i> ₄	- 152 -
Figure 57 : Courbes cinétiques A : Disparition de l'isomère (<i>E</i>) ; B : Apparition de l'isomère (<i>Z</i>) ; C : Apparition du sous-produit 56.	- 154 -
Figure 58 : (a) Spectres RMN 1H du dérivé 52 dans CDCl ₃ : isomère (<i>Z</i>) pur (en vert), du mélange d'isomères (<i>Z/E</i>) (en rouge) et du sous-produit 56 (en bleu); (b) Structure du composé 56 (CCDC 2156396) obtenue par analyse DRX.	- 155 -
Figure 59 : Chromatogramme LC du mélange des composés 52, 56 et 56'.	- 156 -
Figure 60 : Spectres « HR-MS » et « MS-MS » des composés a) 52 ; b) 56 ; c) 56'.	- 157 -
Figure 61 : Structure du composé 56 et structure possible pour 56'.	- 158 -
Figure 62 : Structure moléculaire du composé 53 obtenue par DRX et qui cristallise sous forme de dimère (CCDC : 2151345).	- 159 -
Figure 63 : A : Spectres d'absorption UV-visible de l'amine 19a et du tricycle 63 ; B : amine 19a en solution dans EtOH ; C : tricycle 63 en solution dans EtOH ; D : évolution de l'absorbance en fonction du temps pendant l'irradiation de 19a à 405 nm. (<i>Les spectres d'absorption représentent la quantité de lumière absorbée par le composé. Lorsque la LED est allumée pour l'irradiation, la quantité de lumière absorbée détectée par le spectrophotomètre diminue. Ainsi le pic d'absorption diminue et lorsque la bande du composé a complètement disparu, le signal devient négatif.</i>)-	161
-	-
Figure 64 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline seule.....	- 285 -
Figure 65 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour le Paclitaxel... -	286 -
Figure 66 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour AB186 à 5 μM.	- 287 -
Figure 67 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour EP13 à 5 μM.. -	288 -
Figure 68 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 45 à 5 μM..... -	289 -
Figure 69 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 46 à 5 μM..... -	290 -
Figure 70 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour AB186 à 10 μM.	- 291 -
Figure 71 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour EP13 à 10 μM.	- 292 -
Figure 72 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 45 à 10 μM..... -	293 -

Figure 73 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 46 à 10 μM	294 -
Figure 74 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour AB186 à 20 μM	295 -
Figure 75 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour EP13 à 20 μM	296 -
Figure 76 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 45 à 20 μM	297 -
Figure 77 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 46 à 20 μM	298 -
Figure 78 : Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation de l'amine 19a dans l'éthanol...	313 -
Figure 79 : Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation de l'amine 19d dans l'éthanol..	314 -
Figure 80 : Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation de l'amine 60 dans l'éthanol.....	315 -
Figure 81 : Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation de l'amine 61 dans l'éthanol.....	316 -
Figure 82 : Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation de l'amine 62 dans l'éthanol.....	317 -

Index des Schémas

Schéma 1 : Hémisynthèse du Paclitaxel ⁵⁵ et du Docétaxel.....	34 -
Schéma 2 : Structures des agents alkylants utilisés contre le cancer du sein et action des moutardes à l'azote et moutardes phosphoramides sur l'ADN (ici la guanine). ⁶³	36 -
Schéma 3 : Métabolisme de la Troglitazone. En rouge, la formation des quinones qui semble être le processus majeur de toxicité de la Troglitazone.....	53 -
Schéma 4 : Rétrosynthèse des molécules cibles 1.....	65 -
Schéma 5 : Synthèse des esters 5a et 5b.....	66 -
Schéma 6 : Proposition de mécanisme pour la formation de l'ester 5b.....	66 -
Schéma 7 : Protection de la fonction phénol et réduction de l'ester.....	68 -
Schéma 8 : Préparation des composés cibles 1a-b,d-e.....	68 -
Schéma 9 : Préparation des analogues naphtyles 2d,f et cyclohexyle 10.....	71 -
Schéma 10 : Réaction de Wittig entre l'alkylidène 8 et le 2-Naph commercial dans différents solvants.	72 -
Schéma 11 : Déprotection de la fonction phénol des composés 1a,d-e et 2f.....	74 -
Schéma 12 : Voies de synthèse envisagées vers les analogues azotés 3.....	75 -
Schéma 13 : Première voie de synthèse des arylamines.....	76 -
Schéma 14 : Préparation des amino-benzylidènes 19a-f.....	76 -
Schéma 15 : Tentative de réaction de type $\text{S}_{\text{N}}2$ pour la synthèse de l'amine 3f.....	78 -
Schéma 16 : Préparation des composés azotés 3a-f par amination réductrice.....	78 -
Schéma 17 : Préparation de l'aldéhyde 15 selon la méthode de Swern.....	79 -

Schéma 18 : Obtention de l'analogue déméthylé du chromane 5b.	- 79 -
Schéma 19 : Réduction de l'ester 21 en aldéhyde par le DIBAL-H.	- 80 -
Schéma 20 : Réaction d'amination réductrice conduisant aux composés 3b-f.	- 80 -
Schéma 21 : Modèles pour l'amination réductrice.	- 81 -
Schéma 22 : Réaction d'amination réductrice entre l'aldéhyde 22 et l'amine 19c.	- 82 -
Schéma 23 : Voie de synthèse envisagée pour la préparation des amines 3 par réaction d'arylamination palladocatalysée.	- 83 -
Schéma 24 : Préparation du bromure de benzylidène succinimide.	- 84 -
Schéma 25 : Protection du 2-bromobenzylalcool.	- 86 -
Schéma 26 : Cycles catalytiques possibles dans la réaction d'Ullmann. ¹⁹⁷	- 87 -
Schéma 27 : Préparation du ligand dicétone pour la réaction d'arylamination cuprocatalysée.	- 87 -
Schéma 28 : Tentative de réaction d'Ullmann entre l'aniline et le iodobenzylalcool.	- 87 -
Schéma 29 : Acétylation de l'amine 3b.	- 88 -
Schéma 30 : Déprotection des dérivés azotés 3b-e.	- 89 -
Schéma 31 : Préparation des molécules 45-46.	- 90 -
Schéma 32 : Préparation des molécules hybrides 47-49.	- 91 -
Schéma 33 : Structures des composés synthétisés et dont l'activité antiproliférative a été évaluée. ...	92 -
Schéma 34 : Isomérisation de la vitamine A. ²³³	- 136 -
Schéma 35 : Isomérisation d'un analogue de la pioglitazone par photoactivation. ²⁴⁵	- 138 -
Schéma 36 : Isomérisation de dérivés de la rhodanine selon Murata <i>et al.</i> ²⁴⁶	- 138 -
Schéma 37 : Équilibre entre les formes (<i>Z</i>) et (<i>E</i>) sous irradiation lumineuse	- 146 -
Schéma 38 : Préparation de l'amine 19a et formation du sous-produit 63.	- 158 -
Schéma 39 : Isomérisations photoinduites de fragments benzylidènes selon Zimmer. ^{255,256}	- 159 -
Schéma 40 : Isomérisation de double liaison et formation du noyau quinoléine. ²⁵⁷	- 160 -
Schéma 41 : Préparation du tricycle 63 à partir de l'amine 19a par photoactivation.	- 160 -

Index des Tableaux

Tableau 1 : Nomenclature de la classification TNM des tumeurs. ²	- 24 -
Tableau 2 : Classification moléculaire des cancers du sein.	- 25 -
Tableau 3 : Résultats des essais d'arylamination palladocatalysée.	- 85 -
Tableau 4 : Activité antiproliférative des composés sur différentes lignées de cellules cancéreuses et non cancéreuses.	- 104 -
Tableau 5 : Comparaison du nombre de cellules mesuré à 48 h de traitement par les deux méthodes d'analyse (Cytonote et cristal violet).	- 105 -
Tableau 6 : Propriétés physicochimiques des composés dans l'eau.	- 114 -
Tableau 7 : Propriétés physicochimiques des composés 3d-f dans le DMSO.	- 118 -
Tableau 8 : Temps de latence et temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline.	- 127 -
Tableau 9 : Photoisomérisation des benzylidène-TZDs ou-pyrrolidinediones 18c,f, 19b,c,e et 50-55 dans le DMSO- <i>d</i> ₆	- 141 -

Tableau 10 : Paramètres cinétiques de l'isomérisation de 52 dans différents solvants avec la LED 340 nm (intensité lumineuse = 40 ± 3 μ einstein/L.s).....	- 144 -
Tableau 11 : Longueur d'onde d'absorption maximum des isomères (<i>Z</i>) et (<i>E</i>) en fonction du solvant.	- 149 -
Tableau 12 : Paramètres cinétiques de l'isomérisation du composé 52 dans différents solvants à 310 nm (intensité lumineuse de la LED : 11 ± 2 μ einstein/L.s).....	- 152 -
Tableau 13 : Constantes de vitesse mesurées lors de l'irradiation de 52 à 375 nm	- 154 -
Tableau 14 : Résultats de la cyclisation par photoactivation sur divers aminobenzylidènes.....	- 162 -
Tableau 15 : Intensité lumineuse émise par la LED au cours des irradiations in situ.....	- 227 -
Tableau 16 : Paramètres de l'analyse de diffraction des rayons X pour le composé 18a	- 279 -
Tableau 17 : Paramètres de l'analyse de diffraction des rayons X pour le composé 18b.....	- 280 -
Tableau 18 : Paramètres de l'analyse de diffraction des rayons X pour le composé 56.....	- 281 -
Tableau 19 : Paramètres de l'analyse de diffraction des rayons X pour le composé 63.....	- 282 -

Abréviations

Ac₂O : Anhydride acétique

AcOEt : Acétate d'éthyle

AcOH : Acide acétique

APTS : Acide *para*-toluènesulfonique

Boc : *tert*-Butoxycarbonyle

Boc₂O : Dicarbonate de di-*tert*-butyle

BRCA : Breast Cancer

BnNH₂ : Benzylamine

CCM : Chromatographie sur couche mince

CI₅₀ : Concentration inhibitrice médiane

CMR : Cancérigène, Mutagène, Reprotoxique

DIBAL-H : Hydrure de Di*isobutyle* Aluminium

DMAP : 4-Diméthylaminopyridine

DMEM : Dulbecco's Modified Essentiel Medium

DMF : *N,N*-Diméthylformamide

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DRX : Diffraction des rayons X

éq : équivalents

FSH : Follicle Stimulating Hormone

GC : Chromatographie en phase gaz

GC-MS : Spectroscopie de masse couplée à une chromatographie en phase gaz

GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone

GTP : Guanosine Triphosphate

HER : Human Epidermal Growth Factor Receptor

HOMO : Highest Occupied Molecular Orbital

HR-MS : Spectroscopie de masse haute résolution

IA : Inhibiteur de l'aromatase

IP : Iodure de propidium

IR : Infra-rouge

IS : Index de sélectivité

L-Glu : L-Glutamine

LC-MS : Spectroscopie de masse couplée à une chromatographie liquide

LED : Light Emitting Diode (Diode électroluminescente)

LH : Luteinising Hormone

LUMO : Lowest Unoccupied Molecular Orbital

NaBH(OAc)₃ : Triacétoxyborohydrure de sodium

NHC : Carbène *N*-hétérocyclique

NOESY : Spectroscopie de l'effet Overhauser Nucléaire

PBS: Phosphate-Buffered Saline

PPAR- γ : Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

SEM : Standard Error of the Mean

SIPr : 1,3-bis(2,6-diisopropylphenyl)-4,5- dihydroimidazol-2-ylidène

SVF : Sérum de Veau Foetal

TA : Température ambiante

Tf₂O : Anhydride trifluorométhanesulfonique

TFA : Acide trifluoroacétique

TGZ : Troglitazone

THF : Tétrahydrofurane

TIPSCI : Chlorure de Triisopropylsilyle

TMSCI : Chlorure de Triméthylsilyle

TSN : Trosuccinimide

TZD : Thiazolidine-2,4-dione

Avant-propos

Un médicament est une molécule à part conçue pour présenter un effet biologique sur un organisme vivant. Cet effet se produit suite à une interaction entre le médicament et sa cible. C'est la spécificité de cette interaction qui fait d'une molécule un bon médicament. Par exemple, la Pénicilline G est un antibiotique spécifique d'une famille de bactéries (les bactéries à Gram positif), inoffensive pour l'être humain. L'apparition de résistances aux thérapies, comme l'antibiorésistance, l'émergence de nouvelles maladies dues à de nouveaux virus ou à leur mutation par exemple, impliquent, de façon continue, la conception et le développement de nouveaux agents thérapeutiques. Même la plus anodine des molécules bioactives nécessite, de sa conception à sa synthèse et à l'évaluation de son activité, une connaissance fine en termes de structure, réactivité et mécanismes d'action. L'accès à de telles molécules s'appuie sur une recherche pluridisciplinaire impliquant chimistes, biologistes, théoriciens, médecins ou bien encore pharmacologues. Tout cela contribue à expliquer que le chemin de la molécule au médicament est long, que pour 10 000 molécules synthétisées au laboratoire, une seule sera commercialisée sous forme de médicament. Pour autant, le travail fourni au laboratoire est-il vain ? Les molécules qui ne seront pas élues pour devenir un médicament seront-elles oubliées ? Il est certain que la réponse à ces questions est non. D'une part leur méthode de préparation peut être exploitée pour la synthèse d'autres molécules (potentiellement éligibles à cette fabuleuse destinée) et d'autre part, l'étude approfondie de leurs effets biologiques peut permettre aux chercheurs d'élucider de nouveaux mécanismes d'action, d'envisager de nouvelles cibles encore inconnues ou encore de mettre en évidence des effets inattendus, voire insoupçonnés. Tout ceci contribue à mieux comprendre les maladies et donc à mieux les traiter.

C'est dans ce contexte que s'inscrit mon travail de thèse dont l'objectif est la préparation de nouveaux agents à visée anticancéreuse, principalement ciblés vers les cancers du sein. Ce manuscrit est constitué de trois chapitres. Après un rappel des éléments de base des cancers du sein et leurs différents types tumoraux, un état de l'art propose de faire le point sur les traitements actuellement mis en œuvre ainsi que leurs limites. Parmi les agents développés, une attention particulière est portée à la troglitazone, initialement conçue comme agent antidiabétique et que le « drug-reprofiling » a mis sur notre route pour

traiter le cancer du sein. Le second chapitre présente notre stratégie pour la préparation d'analogues de la troglitazone à noyaux benzylidène-thiazolidinedione ou -pyrrolidinedione, en proposant une modulation de la position du fragment benzylidène, de l'hétéroatome central ainsi que de la nature du cycle central. Notre travail ne s'est pas arrêté à la seule synthèse de ces molécules cibles puisque nous avons procédé, en collaboration avec Sabine Mazerbourg, Maître de Conférences à l'UMR 7039 CRAN de l'Université de Lorraine, à l'étude de leur activité antiproliférative sur des lignées cellulaires de carcinomes mammaires. Enfin notre travail reporté dans le dernier chapitre dévoile une étude approfondie de l'isomérisation photoinduite de la double liaison du fragment benzylidène-thiazolidinedione ou -pyrrolidinedione, pour laquelle nous avons mis en place un protocole d'irradiation *in-situ* couplé à un suivi instantané par RMN. L'application de cette séquence de photoisomérisation aux dérivés *o*-aminobenzylidène-hétérocycliques préparés au cours de cette thèse a conduit au développement d'une nouvelle voie d'accès rapide à d'intéressants quinolo-hétérocycles fusionnés.

Chapitre 1 : Le cancer du sein : Description et traitements actuels

1 Le cancer du sein

1.1 Description du sein

Le sein est une glande dont la fonction principale est la production de lait pour nourrir les bébés.

Son développement à la puberté puis son fonctionnement sont liés à la production des hormones sexuelles par les ovaires : les œstrogènes et la progestérone.

Chaque sein ou glande mammaire est constitué de compartiments, entre 15 et 20, séparés par du tissu graisseux. Dans chaque compartiment se trouvent des lobules et des canaux. Les lobules produisent le lait en période d'allaitement et les canaux galactophores le transportent jusqu'au mamelon (Figure 1).^{1,2}

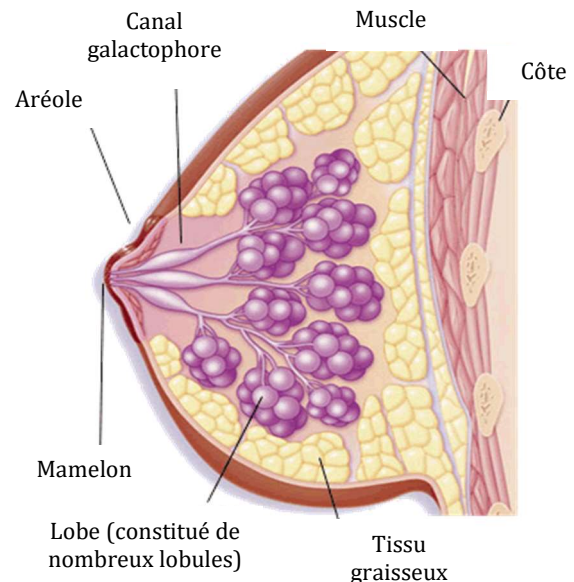


Figure 1 : Représentation en coupe du sein.²

1.2 Épidémiologie et facteurs de risque

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme, avec près de 2 millions de nouveaux cas dans le monde par an, dont 60 000 en France.³ Environ 600 000 femmes par an à travers le monde succombent au cancer du sein dont 14 000 en France en 2020,³ ce qui en fait la première cause de mortalité par cancer chez les femmes. De plus, son incidence est en augmentation constante avec en moyenne 1,1 % de cas supplémentaires par an entre 1990 et 2018.⁴ Le cancer du sein est une maladie multifactorielle, c'est-à-dire que plusieurs facteurs de risques sont responsables de son développement. Il semble que l'exposition à long terme aux hormones sexuelles, naturelles ou artificielles, augmente le risque de cancer.

¹ Anatomie du sein - Institut National du Cancer <https://www.e-cancer.fr> (accessed 2020 - 05 - 19).

² Cancer du sein-Ligue Contre le Cancer www.ligue-cancer.net (accessed 2021 - 06 - 14).

³ World Health Organization. Global Cancer Observatory <https://gco.iarc.fr/> (accessed 2020 - 06 - 12).

⁴ Defossez, G. *et al.* Estimations Nationales de l'Incidence et de la Mortalité par Cancer en France Métropolitaine entre 1990 et 2018. *Santé publique France* **2019**, 1, 201-209.

Ainsi des premières règles précoces, le fait de ne pas avoir d'enfant, une première grossesse ou une ménopause tardives, et la prise de traitements hormonaux (contraceptifs ou substitutifs après la ménopause) accroissent le risque de cancer.^{5,6,7,8} Des facteurs environnementaux sont également responsables de la survenue des cancers du sein. La consommation d'alcool est désormais reconnue responsable du développement de cancers, quel que soit le type de boisson alcoolisée et même pour des quantités ingérées faibles.^{9,10,11} L'âge est également un facteur de risque puisque 80 % des cancers sont détectés après 50 ans. Dans 5 à 10 % des cas, les cancers se développent chez des personnes qui ont une prédisposition génétique, majoritairement liée à la mutation des gènes *BRCA-1* ou *BRCA-2* (Breast Cancer 1 ou 2).^{12,13,14} Enfin, le simple fait d'être une femme est un facteur de risque puisque 99 % des cas de cancer concernent des femmes et environ 1 % touchent les hommes.

1.3 Généralités sur le cancer

Un cancer correspond à la multiplication anarchique et incontrôlée des cellules. Les cellules normales deviennent cancéreuses suite à des séries de mutations de leurs gènes et ce processus peut durer plusieurs années avant de conduire à l'apparition d'un cancer. Les mutations peuvent être héréditaires, comme dans le cas de celles des gènes *BRCA-1* et *BRCA-2*, mais elles peuvent aussi être dues à des facteurs chimiques (exposition à des solvants, à la fumée de cigarette...), des facteurs physiques (rayonnements ionisants, rayonnements UV) ou à une infection par des virus, par exemple par le papillomavirus responsable des cancers

⁵ Breast Cancer and Hormonal Contraceptives: Collaborative Reanalysis of Individual Data on 53 297 Women with Breast Cancer and 100 239 Women without Breast Cancer from 54 Epidemiological Studies. *The Lancet* **1996**, 347 (9017), 1713–1727. doi: 10.1016/S0140-6736(96)90806-5.

⁶ Colditz, G. A. Cumulative Risk of Breast Cancer to Age 70 Years According to Risk Factor Status: Data from the Nurses' Health Study. *American Journal of Epidemiology* **2000**, 152 (10), 950–964. doi: 10.1093/aje/152.10.950.

⁷ Beral, V.; Million Women Study Collaborators. Breast Cancer and Hormone-Replacement Therapy in the Million Women Study. *The Lancet* **2003**, 362 (9382), 419–427. doi: 10.1016/S0140-6736(03)14065-2.

⁸ Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Menarche, Menopause, and Breast Cancer Risk: Individual Participant Meta-Analysis, Including 118 964 Women with Breast Cancer from 117 Epidemiological Studies. *The Lancet Oncology* **2012**, 13 (11), 1141–1151. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70425-4.

⁹ Zhang, S. M. *et al.* Alcohol Consumption and Breast Cancer Risk in the Women's Health Study. *American Journal of Epidemiology* **2007**, 165 (6), 667–676. doi: 10.1093/aje/kwk054.

¹⁰ Allen, N. E. *et al.* on behalf of the Million Women Study Collaborators. Moderate Alcohol Intake and Cancer Incidence in Women. *Journal of the National Cancer Institute* **2009**, 101 (5), 296–305. doi: 10.1093/jnci/djn514.

¹¹ Zhu, J. *et al.* Alcohol Consumption and Risk of Breast and Ovarian Cancer: A Mendelian Randomization Study. *Cancer Genetics* **2020**, 245, 35–41. doi: 10.1016/j.cancergen.2020.06.001.

¹² Miki, Y. *et al.* A Strong Candidate for the Breast and Ovarian Cancer Susceptibility Gene BRCA1. *Science* **1994**, 266 (5182), 66–71. doi: 10.1126/science.7545954.

¹³ Wooster, R. *et al.* Identification of the Breast Cancer Susceptibility Gene BRCA2. *Nature* **1995**, 378, 789–792. doi: 10.1038/378789a0.

¹⁴ Rahman, N. Realizing the Promise of Cancer Predisposition Genes. *Nature* **2014**, 505 (7483), 302–308. doi: 10.1038/nature12981.

du col de l'utérus. Dans la majorité des cas, les mutations induites sont réparées automatiquement par les cellules et il n'y a pas de conséquence. Mais parfois les mutations persistent et conduisent au développement de cellules malignes. Ces cellules cancéreuses ont alors acquis de nouvelles propriétés telles qu'une capacité illimitée à proliférer, un échappement à l'apoptose (elles ne se détruisent plus), une capacité à induire de nouveaux vaisseaux sanguins (angiogenèse) et enfin des capacités d'invasion et de métastases (de nouvelles tumeurs se forment dans d'autres tissus).

Ainsi, les cellules cancéreuses peuvent avoir deux comportements : elles restent dans le tissu d'origine (cancer dit « *in situ* ») ou bien se propagent dans les tissus voisins, les vaisseaux sanguins et lymphatiques et touchent d'autres organes (foie, poumons, os, cerveau, peau) formant ainsi des métastases (cancer dit « infiltrant »).

1.4 Classification des cancers du sein

1.4.1 Classification histologique

La plupart des cancers du sein se développent à partir de cellules épithéliales de la glande mammaire, ce sont des adénocarcinomes (95 % des tumeurs mammaires). 15 % des tumeurs se développent dans les lobules (cancer lobulaire) et 85 % dans les canaux galactophores (cancer canalaire).¹⁵ Par ailleurs, la majorité des cancers mammaires infiltrants sont canaux, seuls 10 % sont lobulaires.¹⁶

1.4.2 Classification anatomopathologique

Afin de codifier l'avancement de la maladie, les médecins s'appuient sur la classification TNM dans laquelle T renseigne sur la taille de la tumeur, N précise l'atteinte ganglionnaire et M révèle la présence ou l'absence de métastases. Aux différentes lettres sont associés des chiffres allant de 0 à 4 qui indiquent le niveau d'avancement (Tableau 1).²

Le score TNM donne une indication de la gravité du cancer, son avancement ainsi qu'une indication sur le pronostic. Par exemple, un cancer M1 présente des métastases, il est en général de mauvais pronostic, et les traitements mis en œuvre sont à visée palliative plutôt que curative. A l'inverse, un cancer T1N0M0 est de bon pronostic.

¹⁵ Fumoleau, P. *et al.* Les Cancers du Sein- Brochure informative. Ligue Contre le Cancer 2017.

¹⁶ Li, C. I. Trends in Incidence Rates of Invasive Lobular and Ductal Breast Carcinoma. *Journal of the American Medical Association* **2003**, 289 (11), 1421-1424. doi: 10.1001/jama.289.11.1421.

Tableau 1 : Nomenclature de la classification TNM des tumeurs.²

	0	1	2	3	4
T		< 2cm	>2cm et <5cm	>5cm	Extension à la paroi thoracique
N	Pas d'envahissement ganglionnaire	Envahissement ganglionnaire dont l'importance est donnée par le chiffre			
M	Absence de métastase	Présence de métastases			

Il existe un deuxième score qui permet quant à lui de déterminer l'agressivité du cancer : le grade. L'agressivité du cancer, définie par le grade I pour le moins agressif au grade III pour le plus agressif, se mesure alors à l'aide de trois critères déterminés pendant l'examen anatomopathologique : l'apparence des cellules cancéreuses, l'aspect de leur noyau ainsi que le nombre de cellules en division.¹⁷

1.4.3 Classification moléculaire

La classification moléculaire des tumeurs mammaires repose principalement sur l'expression de trois récepteurs : le récepteur des œstrogènes (ER), le récepteur de la progestérone (PR) et le récepteur HER2 (« Human Epidermal Growth factor 2 »).¹⁸

Les cellules cancéreuses peuvent exprimer les récepteurs hormonaux et HER2, ou uniquement l'un des trois types. Dans environ 15 % des cas, les cellules n'expriment aucun récepteur, le cancer est dit *triple négatif*.^{19,20} L'expérience semble montrer qu'un cancer dont les cellules expriment des récepteurs hormonaux a un pronostic plutôt favorable, contrairement à ceux pour lesquels les cellules ne présentent aucun récepteur hormonal dont le pronostic est généralement défavorable (Tableau 2).

¹⁷ Les Grades du Cancer - Institut National du Cancer <https://www.e-cancer.fr> (accessed 2020 - 05 - 27).

¹⁸ Malhotra, G. K. *et al.* Histological, Molecular and Functional Subtypes of Breast Cancers. *Cancer Biology & Therapy* **2010**, *10* (10), 955–960. doi: 10.4161/cbt.10.10.13879.

¹⁹ Cancers du Sein Triple Négatifs : Repousser les Frontières de la Lutte | Institut Curie <https://curie.fr> (accessed 2020 - 05 - 19).

²⁰ Gonçalves, A. *et al.* Cancer du Sein Triple-Négatif : Caractéristiques Histocliniques et Moléculaires, Prise en Charge et Perspectives Thérapeutiques. *Bulletin du Cancer* **2013**, *100* (5), 453–464. doi: 10.1684/bdc.2013.1740.

Tableau 2 : Classification moléculaire des cancers du sein.

Type de cancer	Marqueurs	Pronostic	Fréquence (%)	Traitements
Luminal A/B	ER+ PR+ HER2+/-	Bon	40-50	Hormonothérapie : inhibiteurs de l'aromatase ou anti- oestrogènes
HER2 enrichi	ER- PR- HER2+	Moyen	10-15	Anticorps anti HER2 et inhibiteurs de tyrosine kinase
Basal-like	ER- PR- HER2-	Mauvais	15-20	Chimiothérapie et inhibiteurs de PARP
Claudin-low	ER- PR- HER2-	Mauvais	12-14	

Les cancers luminaux expriment ER et PR et plus ou moins HER2. Ils représentent environ 50 % des cancers du sein et sont plutôt de bon pronostic.

Certaines cellules tumorales surexpriment le récepteur de facteur de croissance HER2, ce sont des tumeurs dites « HER2-enriched ». Ces cancers représentent 15 à 20 % des cancers du sein.^{21,22} HER2 fait partie de la famille des récepteurs HER. Ce sont des récepteurs de facteurs de croissance dont l'activation par leur ligand naturel puis leur dimérisation entraînent la multiplication des cellules. Ce sont des récepteurs transmembranaires qui contiennent un domaine extracellulaire capable de se lier à un ligand, un domaine membranaire et un domaine cytoplasmique à activité tyrosine kinase. L'activation de ce domaine après dimérisation déclenche une cascade de phosphorylation conduisant à la prolifération cellulaire.²³ HER2 n'a pas de ligand connu et se comporterait comme un co-récepteur après hétérodimérisation favorisant l'activation de HER1 et HER3.²⁴ Un cancer surexprimant HER2 est souvent lié à une évolution défavorable pour les patientes car ces tumeurs sont habituellement agressives.²¹

²¹ Slamon, D. J. *et al.* Human Breast Cancer: Correlation of Relapse and Survival with Amplification. *Science* **1987**, 235 (4785), 177-182. doi: 10.1126/science.3798106.

²² Slamon, D. *et al.* Studies of the HER-2/Neu Proto-Oncogene in Human Breast and Ovarian Cancer. *Science* **1989**, 244 (4905), 707-712. doi: 10.1126/science.2470152.

²³ Geer, P. V. *et al.* Receptor Protein-Tyrosine Kinases and Their Signal Transduction Pathways. *Annual Review of Cell Biology* **1994**, 10, 251-337. doi: 10.1146/annurev.cb.10.110194.001343.

²⁴ Ferreira, P. M. P. *et al.* Molecular Biology of Human Epidermal Receptors, Signaling Pathways and Targeted Therapy against Cancers: New Evidences and Old Challenges. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2017**, 53 (2). doi: 10.1590/s2175-97902017000216076.

Les tumeurs mammaires des sous-types « basal-like » et « claudin-low » n'expriment ni les récepteurs des œstrogènes et de la progestérone ni le récepteur HER2 : elles sont ainsi qualifiées de tumeurs triple négatives. Ces tumeurs diagnostiquées dans 15 à 20 % des cas sont les plus agressives avec un fort potentiel métastatique présentant ainsi un pronostic défavorable.

2 Traitements généraux

Aujourd'hui 87 % des cancers du sein peuvent être guéris (c'est-à-dire qu'il n'y a pas de récurrence au-delà de 5 ans)²⁵ avec la mise en place de traitements chirurgicaux, en première intention, ayant pour objectif d'enlever la tumeur, ainsi que la chimiothérapie qui permet de traiter l'organisme plus largement et d'éliminer les cellules qui auraient pu migrer mais qui ne sont pas encore visibles. Les traitements actuels tendent à être de plus en plus personnalisés selon le type de tumeur détectée et en accord avec les patientes, l'objectif étant d'utiliser le traitement le plus efficace, le mieux toléré tout en réduisant les risques de rechute.

2.1 Traitement local

Lors du diagnostic de cancer du sein, la première solution proposée aux patientes est, selon le stade et le grade du cancer, la chirurgie. En effet, si la tumeur est de faible taille (moins de 4 cm), il est alors possible de la retirer. Dans ce cas une chirurgie conservatrice est possible, c'est-à-dire que seule la tumeur est retirée. Si la tumeur est très grosse, ou si le rapport de taille entre la tumeur et le sein est défavorable, alors une mastectomie complète est recommandée. Les patientes ont alors la possibilité d'effectuer une reconstruction mammaire un an après l'arrêt des traitements.

Lors de l'opération, le chirurgien retire également les premiers ganglions de la chaîne lymphatique pour vérifier leur éventuelle atteinte : il s'agit de la technique de détection du ganglion sentinelle qui a été développée à partir de 1994.^{26,27} Si ces premiers ganglions, qui constituent la sentinelle, sont atteints, alors il est probable que le reste de la chaîne

²⁵ Cowppli-Bony, A. *et al.* Épidémiologie Descriptive des Cancers en France Métropolitaine : Incidence, Survie et Prévalence. *Bulletin du Cancer* **2019**, 106 (7-8), 617-634. doi: 10.1016/j.bulcan.2018.11.016.

²⁶ Krag, D. N. *et al.* Surgical Resection and Radiolocalization of the Sentinel Lymph Node in Breast Cancer Using a Gamma Probe. *Surgical Oncology* **1993**, 2 (6), 335-340. doi: 10.1016/0960-7404(93)90064-6.

²⁷ Giuliano, A. E. *et al.* Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Breast Cancer. *Annals of Surgery* **1994**, 220 (3), 391-401. doi: 10.1016/j.amjsurg.2003.10.028.

lymphatique le soit. Un curage qui consiste à retirer les ganglions lymphatiques, est alors réalisé sur les patientes.^{28,29,30}

La radiothérapie peut également être proposée, dans un délai inférieur à 8 semaines après la chirurgie. Cette technique, qui utilise des rayonnements ionisants, permet d'irradier la zone atteinte afin d'éliminer les cellules cancéreuses qui persisteraient après l'opération, évitant ainsi une récurrence. Classiquement, 25 séances d'irradiation sont effectuées en 5 semaines.³¹ Un autre traitement par rayonnements, plus local, peut également être proposé aux patientes : la curiethérapie. Une source de rayonnements est placée au contact de la zone tumorale grâce à des cathéters et élimine les cellules cancéreuses. Cette méthode permet d'atteindre préférentiellement la tumeur, tout en diminuant les effets sur les cellules voisines, et donc les effets indésirables.^{32,33}

2.2 Chimiothérapie

2.2.1 Principe

Les cellules cancéreuses ont une vitesse de croissance plus élevée ainsi qu'une résistance à l'apoptose (mort cellulaire programmée) comparé aux cellules saines. La chimiothérapie repose sur l'utilisation de molécules cytotoxiques qui vont agir préférentiellement sur les cellules qui prolifèrent le plus rapidement et en particulier les cellules cancéreuses. Elle bloque la multiplication des cellules et conduit à leur élimination. La plupart du temps, la chimiothérapie est recommandée après la chirurgie : on parle de chimiothérapie adjuvante. Elle permet alors d'éliminer les éventuelles métastases qui auraient commencé à migrer dans l'organisme, et qui sont encore peu nombreuses et indétectables. Elle est également utilisée en cas de cancer métastatique. Les patientes concernées par les chimiothérapies adjuvantes sont celles dont les ganglions sont touchés

²⁸ Haute Autorité de Santé- Cancer du sein <https://www.has-sante.fr> (accessed 2019 -09 -02).

²⁹ Duraes, M. *et al.* Ganglion Sentinelle et Chimiothérapie Néoadjuvante dans le Cancer du Sein. *Bulletin du Cancer* **2017**, *104* (10), 892–901. doi: 10.1016/j.bulcan.2017.08.003.

³⁰ Zeitoun, J. *et al.* Ganglion Sentinelle et Cancer du Sein : où en est-on en 2019 ? *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie* **2019**, *47* (6), 522–526. doi: 10.1016/j.gofs.2019.04.002.

³¹ Haute Autorité de Santé France. Guide Patient- Affection de Longue Durée - La Prise en Charge du Cancer du Sein https://www.has-sante.fr/jcms/c_927251/fr/ald-n-30-cancer-du-sein (accessed 2020 -06 -12).

³² Hannoun-Lévi, J.-M. *et al.* Enquête Nationale sur la Curiothérapie dans le Cancer du Sein : État des Lieux et Perspectives en 2009. *Cancer/Radiothérapie* **2010**, *14* (3), 176–182. doi: 10.1016/j.canrad.2010.01.007.

³³ Chand, M.-È. *et al.* Curiothérapie du Cancer du Sein. *Cancer/Radiothérapie* **2013**, *17* (2), 125–129. doi: 10.1016/j.canrad.2013.01.003.

(N+) ou dont les tumeurs n'expriment pas de récepteurs hormonaux, les patientes de moins de 35 ans, et celles pour lesquelles les tumeurs ont une taille supérieure à 2 cm.

La chimiothérapie peut également être mise en place avant la chirurgie, c'est la chimiothérapie néoadjuvante. Cela est recommandé pour des tumeurs inopérables, la présence de signes inflammatoires, ou encore des tumeurs de grosse taille pour lesquelles la patiente souhaite une chirurgie conservatrice. Aujourd'hui, les patientes ayant un cancer de type HER2 ou triple négatif sont également traitées par chimiothérapie avant d'être opérées.³⁴

2.2.2 Les agents de chimiothérapie

Il existe différents agents de chimiothérapie ayant chacun un mode d'action propre qu'il est possible de regrouper en familles. Nous aborderons ici uniquement les principaux agents utilisés dans le traitement du cancer du sein. Ces différentes molécules vont bloquer le cycle cellulaire, processus à la base de la division et de la prolifération cellulaire.

2.2.2.1 Le cycle cellulaire

Dans un organisme adulte, la plupart des cellules sont en phase G0, c'est-à-dire qu'elles ne se divisent pas. 10 % environ sont renouvelées chaque jour grâce à la division cellulaire, comme les cellules de la peau, de la muqueuse du tube digestif ou les cellules sanguines. La division cellulaire repose sur une succession d'étapes appelé cycle cellulaire (Figure 2).

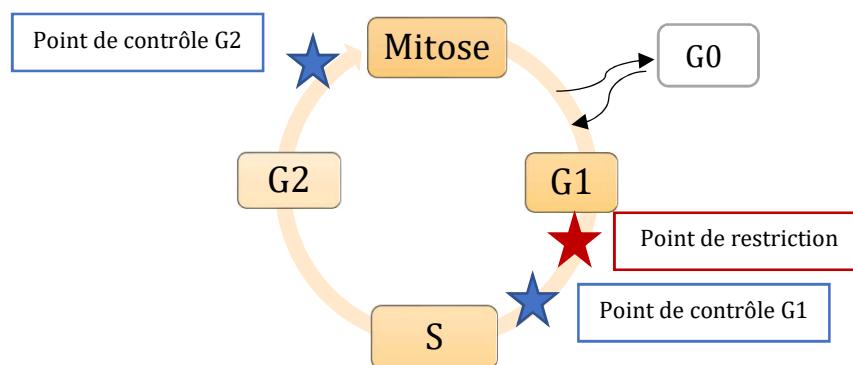


Figure 2 : Cycle cellulaire.³⁵

Lorsque la cellule reçoit les signaux appropriés, elle passe de la phase G0 à la phase G1 de la division cellulaire pendant laquelle la cellule commence la synthèse des éléments

³⁴ Loibl, S. et al. Breast Cancer. *The Lancet* 2021. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32381-3.

³⁵ Moussard, C. et al. *Biologie Moléculaire, Biochimie Des Communications Cellulaires: Cours*, De Boeck.; Bruxelles, 2005.

nécessaires à la division du noyau et du cytoplasme pendant la mitose. La phase S est une phase de réplication de l'ADN (S signifie « Synthèse ») : la cellule contient des chromosomes à deux chromatides (la quantité d'ADN double). Au cours de la phase G2 les protéines du cytosquelette sont synthétisées (préparation du fuseau mitotique) et les centrosomes (points d'ancrage des microtubules) se séparent. L'ensemble des trois phases G1, S et G2 forme l'interphase. Durant chacune de ces phases, des points de contrôle permettent de vérifier que tout le processus s'est bien déroulé et que le cycle cellulaire peut passer à la phase suivante. Ces points permettent par exemple d'identifier des dommages sur l'ADN et donc de bloquer le cycle cellulaire. Le point de restriction R en phase G1 est décisif puisque son passage signifie une entrée irréversible dans le cycle cellulaire. Lorsque la phase G2 est terminée, alors la cellule entre en mitose ce qui conduit à la formation de deux cellules filles.

La mitose est elle-même constituée de quatre étapes (Figure 3) :

- *La prophase* : les chromosomes à deux chromatides se condensent. Il y a alors formation du fuseau mitotique et rupture de l'enveloppe nucléaire.
- *La métaphase* : les chromosomes s'alignent sur le plan équatorial.
- *L'anaphase* : les chromatides sœurs se séparent et migrent vers des pôles opposés grâce au fuseau mitotique.
- *La télophase* : les cellules filles s'individualisent après disparition du fuseau, division du cytoplasme et formation de l'enveloppe nucléaire. Les chromosomes se décondensent.

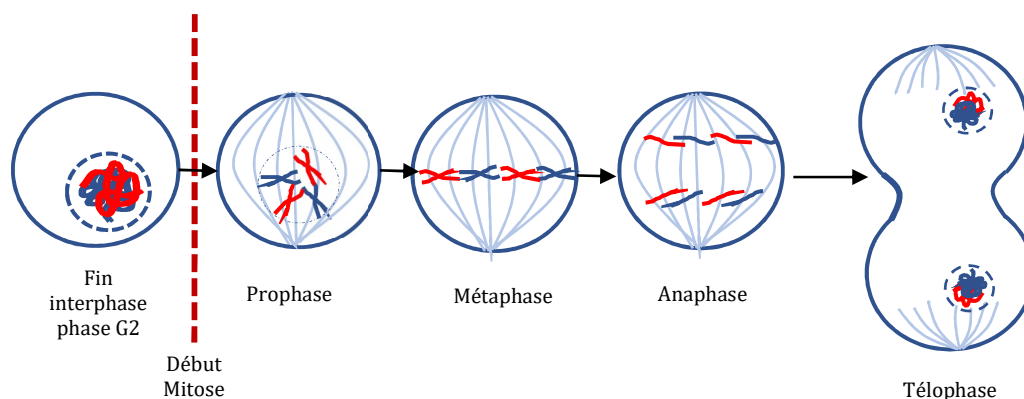


Figure 3 : Mitose.³⁵

Les agents de chimiothérapie usuels interviennent pendant le cycle cellulaire en bloquant certains mécanismes. Ils ciblent donc les cellules en division, parmi lesquelles les cellules cancéreuses. Cependant, bien que la plupart des cellules d'un organisme adulte soient en phase G0, c'est-à-dire qu'elles ne se divisent pas, certaines d'entre elles entrent en division, comme les cellules de la peau, du tube digestif et du système sanguin. C'est pour cette raison

que de nombreux effets indésirables de ces traitements de chimiothérapie sont observés au niveau de ces cellules et se caractérisent par une perte des cheveux, un affaiblissement du système immunitaire et des troubles du système digestif.

2.2.2.2 Les anthracyclines³⁶

Les anthracyclines font partie des agents de chimiothérapie principalement utilisés dans le traitement du cancer du sein. Ils sont administrés par voie intraveineuse et sont sous forme de solution rouge vif le plus souvent, ce qui peut avoir un impact psychologique fort sur les patientes. Ce sont des antibiotiques oncostatiques qui sont produits par fermentation de souches de diverses espèces de *Streptomyces*. Ils ont donc une origine naturelle mais peuvent également être obtenus par hémisynthèse. La première anthracycline, la Daunorubicine, a été isolée dans les années 1960.³⁶ Les anthracyclines principalement utilisées dans le cadre du cancer du sein sont la Doxorubicine (également appelée Adriamycine), qui peut être obtenue soit par fermentation de *Streptomyces peucetius* var. *caesius*,³⁷ soit par hémisynthèse à partir de la Daunorubicine naturelle,³⁸ et l'Epirubicine³⁹ qui est l'épimère de la Doxorubicine (Figure 4).

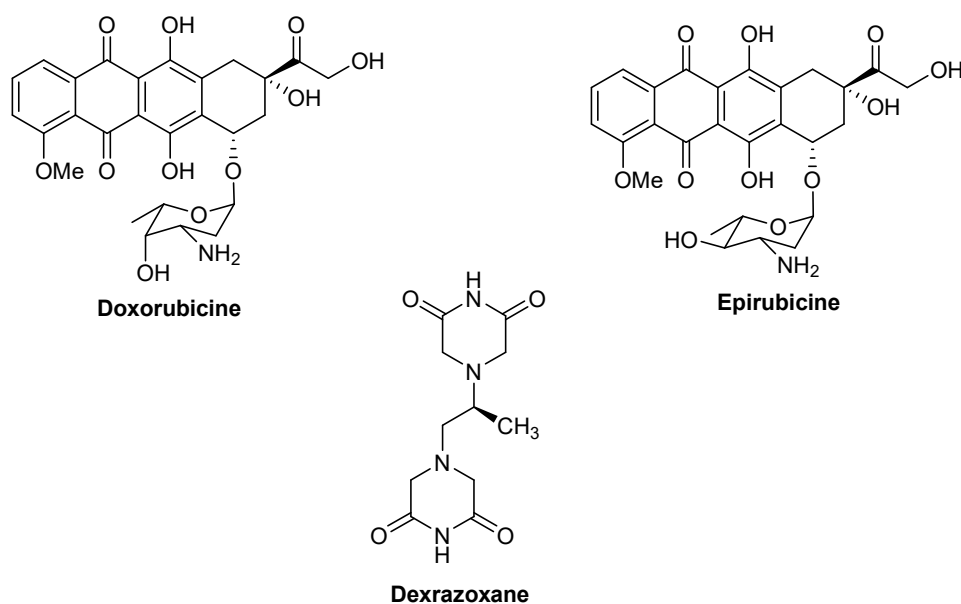


Figure 4 : Exemples d'anthracyclines utilisées contre le cancer du sein et structure du Dexrazoxane.

³⁶ Di Marco, A. *et al.* 'Daunomycin', a New Antibiotic of the Rhodomycin Group. *Nature* **1964**, 201 (4920), 706–707. doi: 10.1038/201706a0.

³⁷ Arcamone, F. *et al.* Adriamycin, 14-Hydroxydaunomycin, a New Antitumor Antibiotic From *S. Peucetius* Var. *Caesius*. *Biotechnology and Bioengineering* **1969**, 11 (6), 1101–1110. doi: 10.1002/bit.260110607.

³⁸ Arcamone, F. *et al.* Conversion of Daunomycin to Adriamycin. *Chimica e l'Industria* **1969**, 51 (8), 834–835.

³⁹ Arcamone, F. *et al.* Synthesis and Antitumor Properties of New Glycosides of Daunomycinone and Adriamycinone. *Journal of Medicinal Chemistry* **1975**, 18 (7), 703–707. doi: 10.1021/jm00241a013.

Les anthracyclines agissent pendant la phase S du cycle cellulaire. Les mécanismes conduisant à leur cytotoxicité sont nombreux, mais il est possible d'en retenir deux.

D'une part, leur structure plane leur permet de s'insérer entre les deux brins d'ADN puis de se lier par liaison hydrogène entre deux paires de bases, de préférence deux paires guanine (G) et cytosine (C) adjacentes.^{40,41} L'ADN voit ainsi sa structure modifiée et ne peut plus être répliqué ; le cycle cellulaire est arrêté et la cellule meurt. Les anthracyclines sont ainsi appelées agents intercalants. Il a également été montré que la Doxorubicine (commercialisée sous le nom Adriamycin® aux Etats-Unis), en plus des liaisons hydrogène, crée des adduits covalents avec l'ADN, ce qui augmente encore la cytotoxicité.⁴²

D'autre part, les anthracyclines agissent sur la topoisomérase II. Cette enzyme nucléaire induit des coupures transitoires dans les brins d'ADN, afin de limiter le surenroulement de celui-ci et d'en faciliter la réplication lors de la mitose, puis elle restaure la structure initiale de l'ADN par re-ligature des brins. L'inhibition de cette enzyme par les anthracyclines l'empêche de relier les brins cassés ce qui provoque l'arrêt du cycle et la mort cellulaire.⁴³

Dans l'organisme, les anthracyclines forment des espèces radicalaires cytotoxiques qui ne sont pas responsables de leur activité anticancéreuse, mais qui induisent une forte toxicité cardiaque de ces composés.

Des solutions sont apportées pour diminuer les effets cardiotoxiques des anthracyclines. En particulier sont utilisés des agents cytoprotecteurs, tels que le Dexrazoxane (Figure 4) qui chélatent les ions Fer III et évitent ainsi la formation de radicaux libres.^{44,45,46} Des traitements à base d'anthracyclines encapsulées dans des liposomes ou

⁴⁰ Wang, A. H. J. *et al.* Interactions between an Anthracycline Antibiotic and DNA: Molecular Structure of Daunomycin Complexed to d(CpGpTpApCpG) at 1.2-Å Resolution. *Biochemistry* **1987**, 26 (4), 1152-1163. doi: 10.1021/bi00378a025.

⁴¹ Chaires, J. B. *et al.* Site and Sequence Specificity of the Daunomycin-DNA Interaction. *Biochemistry* **1987**, 26 (25), 8227-8236. doi: 10.1021/bi00399a031.

⁴² Taatjes, D. J. *et al.* Alkylation of DNA by the Anthracycline, Antitumor Drugs Adriamycin and Daunomycin. *Journal of Medicinal Chemistry* **1996**, 39 (21), 4135-4138. doi: 10.1021/jm960519z.

⁴³ Hande, K. R. Topoisomerase II Inhibitors. *Update on Cancer Therapeutics* **2008**, 3 (1), 13-26. doi: 10.1016/j.uct.2008.02.001.

⁴⁴ Herman, E. H. *et al.* Prevention of the Cardiotoxic Effects of Adriamycin and Daunomycin in the Isolated Dog Heart. *Experimental Biology and Medicine* **1972**, 140 (1), 234-239. doi: 10.3181/00379727-140-36432.

⁴⁵ Herman, E. H. *et al.* Modification of Some of the Toxic Effects of Daunomycin (NSC-82,151) by Pretreatment with the Antineoplastic Agent ICRF 159 (NSC-129,943). *Toxicology and Applied Pharmacology* **1974**, 27 (3), 517-526. doi: 10.1016/0041-008X(74)90031-3.

⁴⁶ Speyer, J. L. *et al.* Protective Effect of the Bispiperazinedione ICRF-187 against Doxorubicin-Induced Cardiac Toxicity in Women with Advanced Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* **1988**, 319 (12), 745-752. doi: 10.1056/NEJM198809223191203.

fixées à des polymères ont également été mis au point afin de mieux cibler les cellules tumorales et d'éviter la cardiotoxicité.^{47,48,49}

Les anthracyclines sont utilisées en chimiothérapie adjuvante ou néoadjuvante, ainsi que dans les cas de cancers métastatiques.

2.2.2.3 Les poisons du fuseau

Les poisons du fuseau sont des molécules qui agissent, comme leur nom l'indique, sur le fuseau mitotique. Le fuseau mitotique est constitué majoritairement de microtubules. Lors de la mitose, il permet aux chromosomes de s'aligner puis de se répartir aux pôles de la cellule. Lors de la prophase, les microtubules polymérisent par ajout d'unités tubuline et les brins du fuseau s'allongent. Lors de la télophase, les microtubules dépolymérisent et forment les sous unités tubuline et le fuseau disparaît.

Les poisons du fuseau peuvent agir de deux manières : soit ils empêchent la polymérisation de la tubuline en microtubules, soit ils bloquent la dépolymérisation des microtubules en tubuline. Dans les deux cas, la mitose est arrêtée et la cellule meurt.⁵⁰

Les alcaloïdes de la Pervenche, ou vinca alcaloïdes, sont des poisons du fuseau. Ils sont issus de la Pervenche de Madagascar, comme la Vinblastine, et des dérivés peuvent être obtenus par hémisynthèse, comme la Vinorelbine (Figure 5).⁵¹ Les vinca alcaloïdes se fixent à l'extrémité des microtubules déjà formés, empêchant ainsi l'addition de sous-unités tubuline supplémentaires : la polymérisation est arrêtée. Ils provoquent également la dépolymérisation des microtubules, bloquant ainsi la mitose en métaphase.^{52,53}

⁴⁷ Ewer, M. S. *et al.* Cardiac Safety of Liposomal Anthracyclines. *Seminars in Oncology* **2004**, *31*, 161–181. doi: 10.1053/j.seminoncol.2004.08.006.

⁴⁸ Gianni, L. *et al.* Anthracycline Cardiotoxicity: From Bench to Bedside. *Journal of Clinical Oncology* **2008**, *26* (22), 3777–3784. doi: 10.1200/JCO.2007.14.9401.

⁴⁹ Al-Batran, S.-E. *et al.* Anthracycline Rechallenge Using Pegylated Liposomal Doxorubicin in Patients with Metastatic Breast Cancer: A Pooled Analysis Using Individual Data from Four Prospective Trials. *British Journal of Cancer* **2010**, *103* (10), 1518–1523. doi: 10.1038/sj.bjc.6605961.

⁵⁰ Steinmetz, M. O. *et al.* Microtubule-Targeting Agents: Strategies To Hijack the Cytoskeleton. *Trends in Cell Biology* **2018**, *28* (10), 776–792. doi: 10.1016/j.tcb.2018.05.001.

⁵¹ Mangeney, P. *et al.* 5'-Nor Anhydrovinblastine. *Tetrahedron* **1979**, *35* (18), 2175–2179. doi: 10.1016/0040-4020(79)87036-2.

⁵² Jordan, M. A. *et al.* Identification of a Distinct Class of Vinblastine Binding Sites on Microtubules. *Journal of Molecular Biology* **1986**, *187* (1), 61–73. doi: 10.1016/0022-2836(86)90406-7.

⁵³ Johnson, S. A. *et al.* Vinorelbine: An Overview. *Cancer Treatment Reviews* **1996**, *22* (2), 127–142. doi: 10.1016/S0305-7372(96)90032-8.

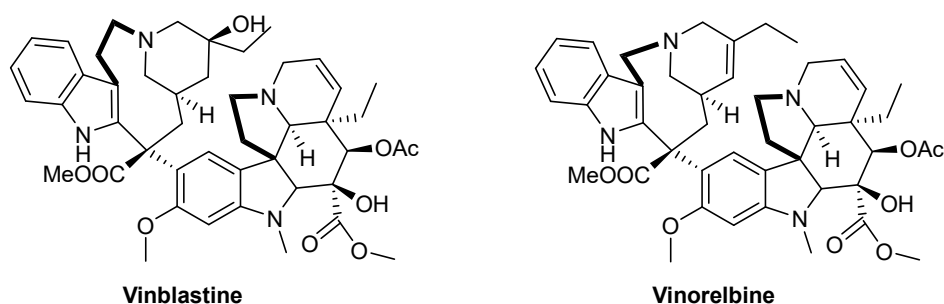


Figure 5 : Structures des vinca alcaloïdes utilisés pour le traitement du cancer du sein.

Le Paclitaxel et le Docétaxel (Figure 6) font également partie de cette catégorie d'agents de chimiothérapie : leur action favorise l'assemblage de la tubuline et inhibe le désassemblage des microtubules, ce qui interrompt la mitose. Leur action est donc complètement opposée à celle des vinca alcaloïdes. Le Paclitaxel (commercialisé sous le nom de Taxol®) a été extrait pour la première fois dans les années 1960 d'écorces d'ifs du Pacifique séchées.⁵⁴ Il présente des propriétés antitumorales et antileucémiques grâce à son noyau caractéristique de la famille des taxanes (en rouge sur la Figure 6).

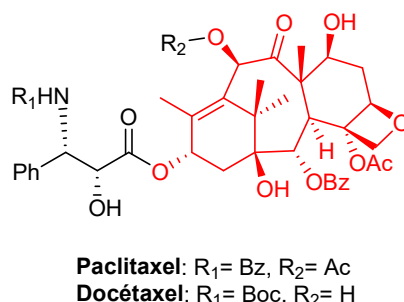


Figure 6 : Structure des taxoïdes.

Le processus d'extraction du Paclitaxel étant coûteux et peu rentable (il faut environ 2500 arbres pour obtenir 1 kg de composé), les scientifiques ont rapidement cherché à obtenir cette molécule ou des analogues par voie synthétique ou héli-synthétique. En particulier l'hémisynthèse du Paclitaxel a été mise au point en 1988 par l'équipe de Pierre Potier à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif-sur-Yvette à partir de la 10-désacétylbaccatine III en trois étapes (protection, couplage et déprotection, Schéma 1), un composé extrait des aiguilles de l'if européen dont l'avantage non négligeable est de posséder la partie terpénique des taxanes.⁵⁵ La synthèse totale du Paclitaxel est également

⁵⁴ Wani, M. C. *et al.* Plant Antitumor Agents. VI. Isolation and Structure of Taxol, a Novel Antileukemic and Antitumor Agent from *Taxus Brevifolia*. *Journal of the American Chemical Society* **1971**, 93 (9), 2325–2327. doi: 10.1021/ja00738a045.

⁵⁵ Denis, J. Noel. *et al.* Highly Efficient, Practical Approach to Natural Taxol. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, 110 (17), 5917–5919. doi: 10.1021/ja00225a063.

possible, mais en raison de sa difficulté elle ne peut être mise en œuvre à l'échelle industrielle (environ 40 étapes pour un rendement très faible de moins de 5 %).^{56,57,58}

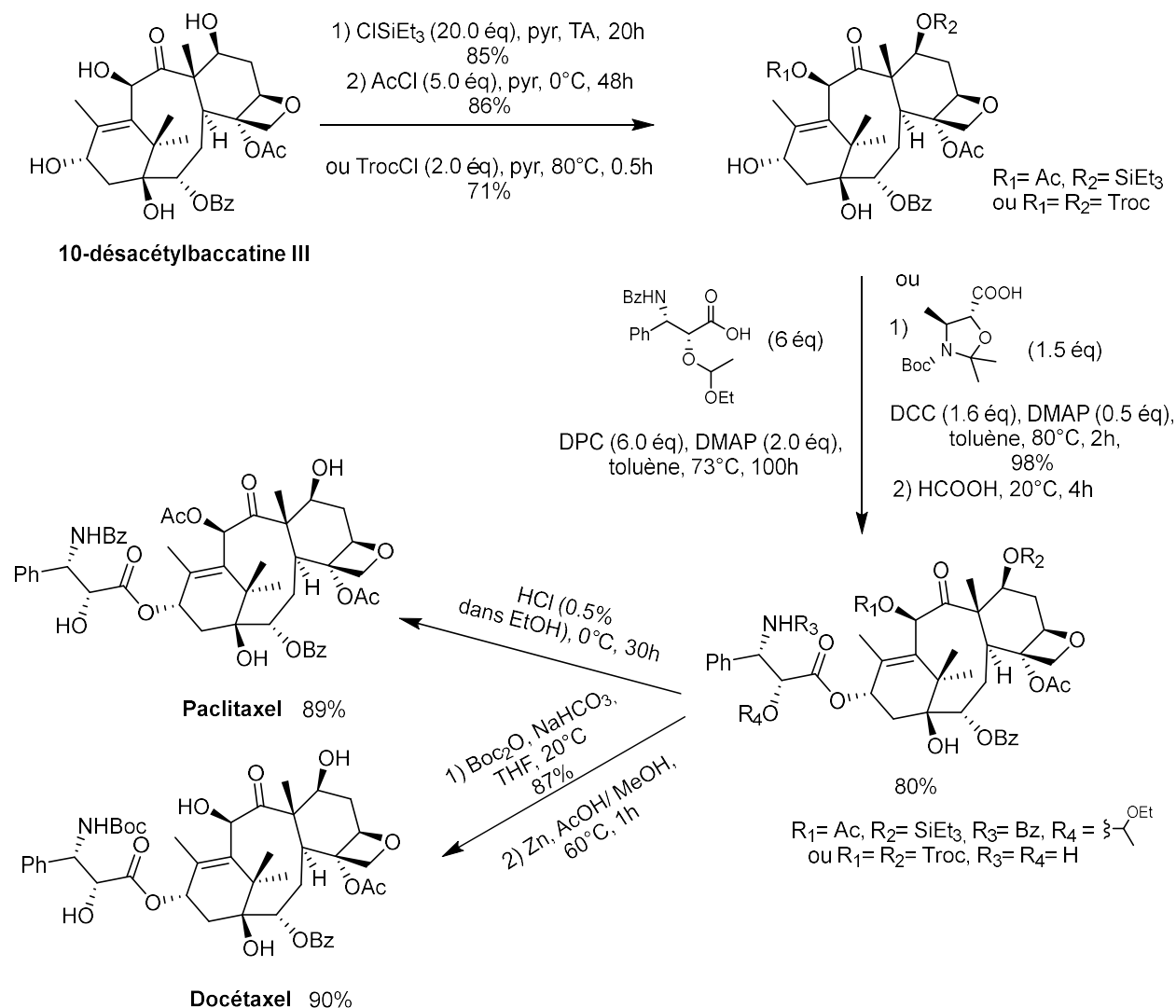


Schéma 1 : Hémisynthèse du Paclitaxel⁵⁵ et du Docétaxel.⁵⁹

Par ailleurs, le Docétaxel, ou Taxotère®, obtenu à la fin des années 1980 par hémisynthèse à partir du même substrat que le Paclitaxel et selon une stratégie en trois étapes identique (Schéma 1), est commercialisé en Europe depuis 1996. Il présente une efficacité supérieure à celle du Paclitaxel.⁶⁰ Sa structure diffère du Paclitaxel par l'absence du groupement

⁵⁶ Holton, R. A. *et al.* First Total Synthesis of Taxol. 2. Completion of the C and D Rings. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, 116 (4), 1599–1600. doi: 10.1021/ja00083a067.

⁵⁷ Holton, R. A. *et al.* First Total Synthesis of Taxol. 1. Functionalization of the B Ring. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, 116 (4), 1597–1598. doi: 10.1021/ja00083a066.

⁵⁸ Nicolaou, K. C. *et al.* Total Synthesis of Taxol. *Nature* **1994**, 367 (6464), 630–634. doi: 10.1038/367630a0.

⁵⁹ Commerçon, A. *et al.* Improved Protection and Esterification of a Precursor of the Taxotere® and Taxol Side Chains. *Tetrahedron Letters* **1992**, 33 (36), 5185–5188. doi: 10.1016/S0040-4039(00)79128-3.

⁶⁰ Guenard, D. *et al.* Taxol and Taxotere: Discovery, Chemistry, and Structure-Activity Relationships. *Accounts of Chemical Research* **1993**, 26 (4), 160–167. doi: 10.1021/ar00028a005.

protecteur en position 10 ainsi que par la présence d'un groupement Boc à la place du groupement benzoyle sur l'amine.

Les taxanes sont utilisés dans le cas de cancers du sein métastatiques en premier traitement ou en cas d'échec d'une première chimiothérapie.

2.2.2.4 Les agents alkylants

Les agents alkylants sont des molécules qui se lient de façon covalente à l'ADN. Parmi eux, les moutardes à l'azote et le cyclophosphamide sont les plus employés dans le traitement du cancer du sein. Leur action cytotoxique vient de leur aptitude à produire *in vivo* des espèces électrophiles très réactives avec les atomes d'oxygène, d'azote ou de soufre nucléophiles, présents sur l'ADN. Ce dernier ainsi alkylé ne peut plus être répliqué ni transcrit, ce qui conduit à la mort de la cellule. Par exemple les moutardes à l'azote, connues sous le nom de gaz moutarde, entraînent la formation de pontages entre les deux brins d'ADN. L'exemple du Melphalan, utilisé dans le cadre du cancer du sein est reporté dans le Schéma 2.⁶¹

Le Cyclophosphamide (commercialisé sous le nom d'Endoxan®) appartient à la famille des oxazaphosphorines qui sont des composés qui libèrent les principes actifs alkylants après bioactivation par le foie : ce sont des prodrogues (Schéma 2).⁶² Le Cyclophosphamide subit une série d'oxydations conduisant au métabolite actif : la « moutarde phosphoramidate » dont l'action cytotoxique est identique aux moutardes à l'azote (Schéma 2).⁶³

Le Cyclophosphamide est utilisé en première intention et dans le cas de cancers métastatiques. Le Melphalan est employé dans des situations avancées de cancers du sein.

⁶¹ AFECT. Moutardes à l'azote. In *Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers*; Traité de chimie thérapeutique; TEC & DOC: Paris; Vol. 6, pp 53–71.

⁶² AFECT. Oxazaphosphorines: Cyclophosphamide et Analogues. In *Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers*; Traité de chimie thérapeutique; TEC & DOC: Paris; Vol. 6, pp 85–115.

⁶³ Rajska, S. R. *et al.* DNA Cross-Linking Agents as Antitumor Drugs. *Chemical Reviews* **1998**, 98 (8), 2723–2796. doi: 10.1021/cr9800199.

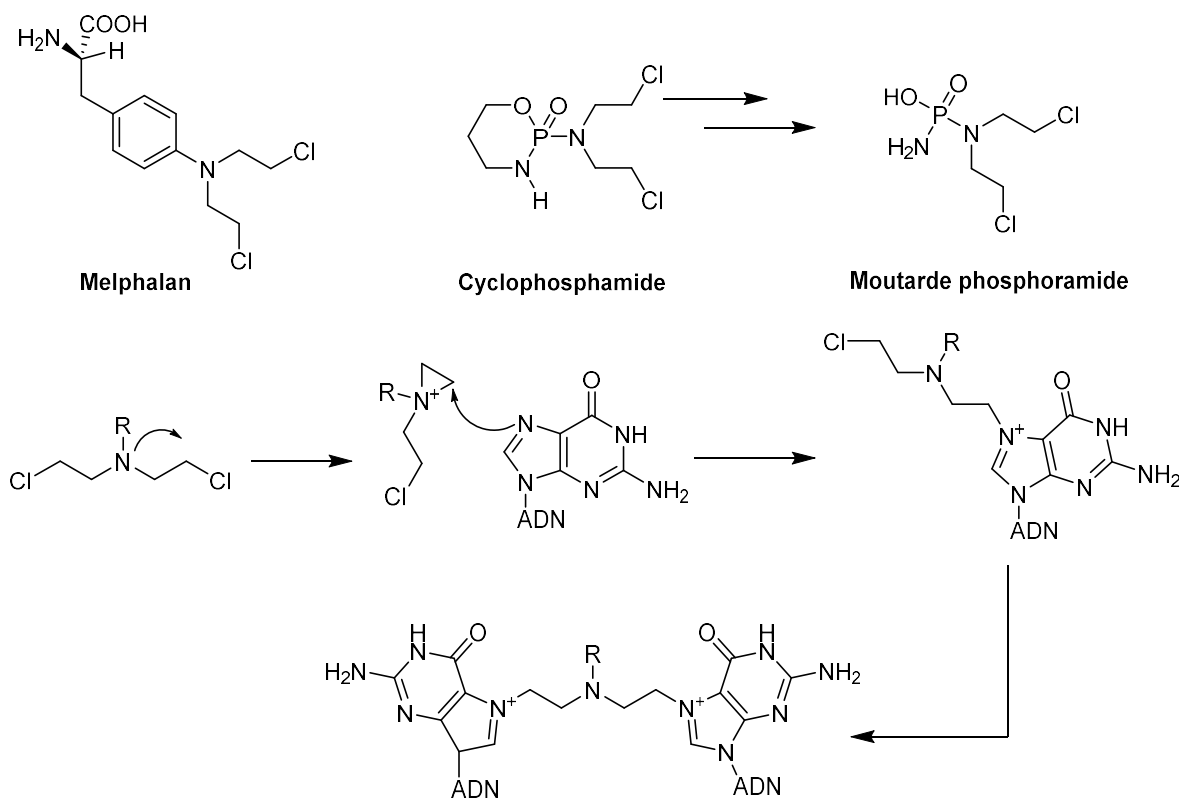


Schéma 2 : Structures des agents alkylants utilisés contre le cancer du sein et action des moutardes à l'azote et moutardes phosphoramides sur l'ADN (ici la guanine).⁶³

2.2.2.5 Les antimétabolites

Les antimétabolites sont des analogues des bases puriques ou pyrimidiques nécessaires à la synthèse de l'ADN et de l'ARN. Ils se substituent aux métabolites naturels mais les différences de structure entraînent des altérations de l'ADN, l'inhibition de certaines enzymes, ..., ce qui perturbe la multiplication cellulaire et donc la progression du cancer.

- *Les antipyrimidiques*

L'antipyrimidique principalement utilisé dans le traitement du cancer du sein est le 5-fluorouracile (5-FU), synthétisé la première fois en 1957.⁶⁴ C'est un analogue de l'uracile dans lequel un atome d'hydrogène est remplacé par un atome de fluor (Figure 7). Son action consiste principalement à inhiber la thymidylate synthétase, une enzyme impliquée dans la méthylation de l'uracile en thymine. Ainsi il provoque une carence en thymine et donc empêche la synthèse de l'ADN, ce qui entraîne la mort cellulaire.⁶⁵ Une autre molécule également employée est la Capécitabine (Figure 7),⁶⁶ qui est un générateur de 5-FU *in vivo*,

⁶⁴ Heidelberger, C. *et al.* Fluorinated Pyrimidines, A New Class of Tumour-Inhibitory Compounds. *Nature* **1957**, 179 (4561), 663–666. doi: 10.1038/179663a0.

⁶⁵ Longley, D. B. *et al.* 5-Fluorouracil: Mechanisms of Action and Clinical Strategies. *Nature Reviews Cancer* **2003**, 3 (5), 330–338. doi: 10.1038/nrc1074.

⁶⁶ Budman, D. R. Capecitabine. *Investigational New Drugs* **2000**, 18 (4), 355–363. doi: 10.1023/A:1006449315650.

autrement dit, une prodrogue. L'intérêt de la Capécitabine est la diminution des effets indésirables liés à l'utilisation du 5-FU.

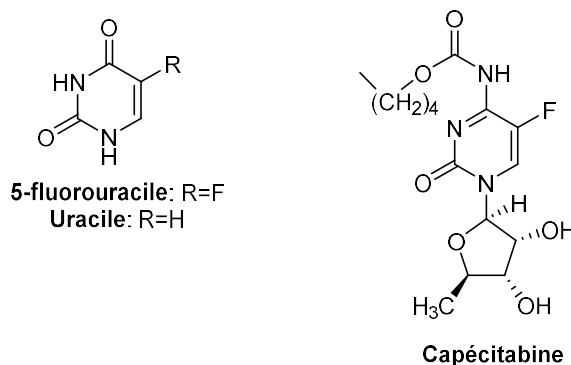


Figure 7 : Structures du 5-FU, de l'Uracile et de la Capécitabine.

Les antipyrimidiques sont utilisés dans le traitement du cancer du sein en seconde intention, en cas d'échec d'un premier traitement ou en cas de rechute après une première chimiothérapie.

Des études récentes⁶⁷ ont montré que le couplage de la Capécitabine et de la radiothérapie donne des bons résultats chez les patientes atteintes de cancer triple négatif, après une chimiothérapie néoadjuvante et une chirurgie. Des effets indésirables, principalement des atteintes de la peau, liés à la synergie entre les deux approches ont toutefois été rapportés.

- Le Méthotrexate

Le Méthotrexate appartient de la famille des antimétabolites, bien que sa structure ne s'apparente pas aux métabolites constituant les acides nucléiques. Il s'agit en fait d'un analogue de l'acide folique dont la cytotoxicité repose sur sa capacité à inhiber la dihydrofolate réductase cellulaire (Figure 8). Cette enzyme est nécessaire à la synthèse de l'ADN : elle convertit l'acide folique en molécules donneuses de méthyles utiles à la biosynthèse des bases puriques et pyrimidiques notamment. Le Méthotrexate agit sur l'enzyme de manière compétitive avec l'acide folique : si la concentration en acide folique augmente, alors le méthotrexate est déplacé et l'enzyme retrouve son activité normale.^{68,69}

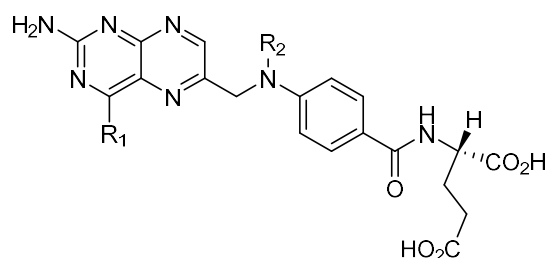
⁶⁷ Sherry, A. D. *et al.* Combining Adjuvant Radiotherapy With Capecitabine in Chemotherapy-Resistant Breast Cancer: Feasibility, Safety, and Toxicity. *Clinical Breast Cancer* **2020**, 20 (4), 344–352. doi: 10.1016/j.clbc.2020.02.010.

⁶⁸ Rajagopalan, P. T. R. *et al.* Interaction of Dihydrofolate Reductase with Methotrexate: Ensemble and Single-Molecule Kinetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, 99 (21), 13481–13486. doi: 10.1073/pnas.172501499.

⁶⁹ Goodsell, D. S. The Molecular Perspective: Methotrexate. *The Oncologist* **1999**, 4 (4), 340–341. doi: 10.1634/theoncologist.4-4-340.

Son activité anticancéreuse sur les tumeurs solides a été démontrée dès 1951 par l'équipe de Jane C. Wright.⁷⁰

Le Méthotrexate est utilisé en traitement adjuvant ou après rechute.



Méthotrexate: R₁= NH₂; R₂= Me
Acide folique: R₁= OH; R₂= H

Figure 8 : Structures du Méthotrexate et de l'acide folique.

2.2.2.6 Protocoles de chimiothérapies mis en œuvre dans le traitement du cancer du sein

Les premières chimiothérapies, mises en place dans les années 1960, reposaient sur l'utilisation de la triade Cyclophosphamide, Méthotrexate et 5-Fluorouracile (appelée protocole CMF). A l'époque, les risques de rechute étaient diminués de 24 % par rapport à une absence de traitement ce qui démontrait l'efficacité de la chimiothérapie sur les cancers du sein.⁷¹

Dans les années 1980, les protocoles ont pu être améliorés grâce à l'apparition des anthracyclines. Les chimiothérapies utilisaient alors des combinaisons d'anthracycline, Cyclophosphamide et 5-FU et les risques de rechute étaient diminués de 11 % par rapport au protocole CMF.⁷²

En 2010, la Haute Autorité de Santé a préconisé l'utilisation des anthracyclines et des taxanes en premier lieu pour une chimiothérapie, en l'absence de contre-indications. En cas de rechute ou de résistance au traitement, les autres molécules présentées sont alors prescrites.

⁷⁰ Wright, J. C. *et al.* An Evaluation of Folic Acid Antagonists in Adults with Neoplastic Diseases: A Study of 93 Patients with Incurable Neoplasms. *Journal of the National Medical Association* **1951**, 43 (4), 211–240.

⁷¹ Bonadonna, G. *et al.* Combination Chemotherapy as an Adjuvant Treatment in Operable Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* **1976**, 294 (8), 405–410. doi: 10.1056/NEJM197602192940801.

⁷² Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Polychemotherapy for Early Breast Cancer: An Overview of the Randomised Trials. *The Lancet* **1998**, 352 (9132), 930–942. doi: 10.1016/S0140-6736(98)03301-7.

2.2.3 Effets indésirables⁷³

La chimiothérapie, par son principe d'action, s'attaque aux cellules à renouvellement rapide. Outre les cellules cancéreuses, elle agit également sur les cellules saines qui se multiplient rapidement, ce qui engendre de nombreux effets indésirables.

2.2.3.1 Alopécie

L'alopécie, perte des cheveux et des poils, apparaît entre 10 et 20 jours après la chimiothérapie et a un effet maximum après 2 mois. A l'arrêt du traitement elle est réversible. Cet effet indésirable a un effet psychologique fort sur les patientes, il est nécessaire de les informer et de les préparer en amont.

Il est possible de limiter cet effet en utilisant un casque réfrigérant lors des séances de chimiothérapie, mais l'efficacité est imprévisible, et il n'est pas indiqué en cas de métastases cérébrales.

2.2.3.2 Nausées, vomissements

Les cellules du tractus digestif sont également affectées par la chimiothérapie. Cela conduit à des nausées et vomissements qui, bien que bénins, altèrent la qualité de vie des patientes. Des médicaments antiémétiques sont donc souvent associés aux protocoles de chimiothérapies afin de limiter ces désagréments.

2.2.3.3 Toxicité hématologique

Les cellules souches hématopoïétiques sont également détruites, ce qui entraîne une diminution des défenses immunitaires, appelée neutropénie, et une anémie.

La neutropénie se traduit par une faible quantité de globules blancs. Le risque d'infection qui augmente en fonction de la durée de la neutropénie et de sa profondeur (quantité de globules blancs) est alors accru. Les infections sont une cause fréquente de mortalité des patients traités par chimiothérapie. Il est possible de limiter cette neutropénie grâce à l'utilisation de facteurs de croissance hématopoïétiques, dans les 24 à 72h après la chimiothérapie. Cela permet de limiter la durée de la neutropénie et de relancer la fabrication des cellules sanguines.

2.2.3.4 Toxicité cardiaque

La toxicité cardiaque qui est spécifique à certains anticancéreux, en particulier aux anthracyclines, peut être aiguë ou chronique et cumulative. La Doxorubicine présente une

⁷³ Cancer du Sein - Effets Secondaires des Chimiothérapies <https://www.e-cancer.fr> (accessed 2022 -01 -22).

très forte toxicité cardiaque cumulative et elle est contre-indiquée pour les patientes souffrant de problèmes cardiaques. L'épirubicine est moins cardiotoxique que la doxorubicine pour des doses équivalentes.⁷⁴

Cette toxicité est probablement due aux radicaux libres formés dans l'organisme qui détruisent les cellules myocardiques et elle est irréversible. Pour la limiter, les cycles de chimiothérapies sont séparés par des intervalles de 3 ou 4 semaines.

3 Traitements ciblés

Les études moléculaires des tumeurs ont permis de mettre en évidence des marqueurs particuliers caractérisant certains sous-types de cancers mammaires.

Des traitements ciblés pour certains sous-types ont ainsi pu être développés.

3.1 Cancers hormonaux/ Hormonothérapie

Les cellules tumorales des cancers hormonodépendants surexpriment les récepteurs aux œstrogènes (ER) et/ou à la progestérone (PR), hormones produites par les ovaires. Les cancers hormonaux représentent environ 50 % des cancers du sein, et parmi eux, les cancers uniquement PR+ (c'est-à-dire exprimant uniquement les récepteurs à progestérone) sont très rares. C'est à la fin des années 1890 que l'hormonothérapie trouve ses origines grâce à Beatson qui remarqua qu'une ablation des ovaires entraîne une régression des cancers du sein chez les patientes non ménopausées.⁷⁵

L'hormonothérapie est utilisée dans le traitement du cancer du sein depuis les années 1970. Son principe repose sur le blocage de l'action des œstrogènes. Pour cela, plusieurs voies sont possibles :

- utiliser des antagonistes compétitifs des hormones naturelles afin de prohiber l'activation de leurs récepteurs,
- bloquer la production d'hormones par l'organisme.

Pour bien comprendre les modes d'action de ces thérapies, il faut s'intéresser au cycle hormonal de la femme, dans lequel de nombreux récepteurs et hormones sont mis en jeu.

⁷⁴ Verrill, M. Anthracyclines in Breast Cancer: Therapy and Issues of Toxicity. *The Breast* **2001**, *10*, 8–15. doi: 10.1016/S0960-9776(01)80002-3.

⁷⁵ Beatson, G. T. On the Treatment of Inoperable Cases of Carcinoma of the Mamma: Suggestions for a New Method of Treatment, with Illustrative Cases. *The Lancet* **1896**, *148*, 104–107. doi: 10.1016/S0140-6736(01)72384-7.

3.1.1 Le cycle hormonal chez la femme³⁵

Le cycle hormonal de la femme se met en place dès la puberté, jusqu'à la ménopause. Les deux principales hormones, l'œstradiol et la progestérone, sont contrôlées par le complexe hypothalamo-hypophysaire situé dans le cerveau et sont produites par les ovaires principalement (Figure 9).

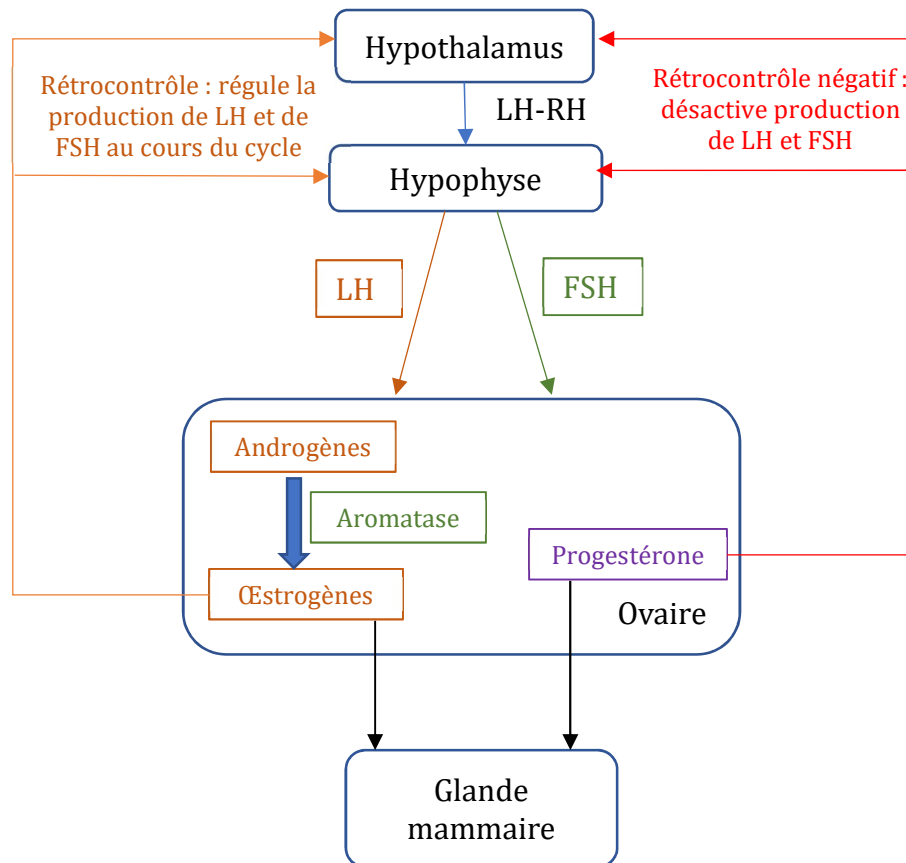


Figure 9 : Fonctionnement des hormones sexuelles chez la femme. LH-RH : Gonadotrophin Releasing Hormone ; LH : Luteinising Hormone ; FSH : Follicle-Stimulating Hormone.

L'hypothalamus sécrète, de façon pulsatile, la LH-RH (aussi appelée GnRH « Gonadotrophin Releasing Hormone ») qui est une hormone qui active la sécrétion de la FSH (« Follicle-Stimulating Hormone ») et de la LH (« Luteinising Hormone ») par l'hypophyse. Ces deux hormones régulent la production d'œstrogènes, issus de la conversion des androgènes par les aromatasés, et de progestérone par les ovaires. Les œstrogènes entrent en jeu dans le développement mammaire et de l'endomètre ainsi que dans le déclenchement de la lactation. La progestérone prépare également la glande mammaire à la lactation.

3.1.2 Utilisation des antihormones comme agents anti-cancéreux

Le Tamoxifène est un anti-œstrogène de synthèse utilisé depuis les années 1980 dans le traitement du cancer du sein qui se lie aux récepteurs œstrogéniques à la place des œstrogènes (Figure 10). Seul l'isomère *trans* a un effet anti-œstrogène, l'isomère *cis* ayant une activité œstrogénique.⁷⁶ A noter qu'un métabolite du Tamoxifène est le 4-hydroxytamoxifène et c'est cette forme qui semble porter l'activité anticancéreuse (Figure 10).⁷⁷ Des essais cliniques ont d'ailleurs été engagés afin de l'administrer aux patientes directement sous forme de gel par voie topique, démontrant une efficacité équivalente au Tamoxifène administré par voie orale mais des effets secondaires moindres.⁷⁸

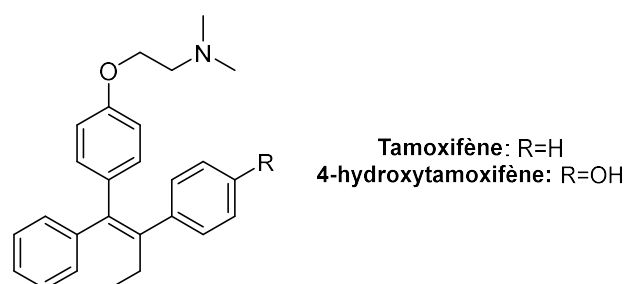


Figure 10 : Structures du Tamoxifène et de son métabolite utilisés en thérapeutique.

Le Tamoxifène peut être utilisé chez toutes les patientes, qu'elles soient ménopausées ou non. Les effets indésirables de ce traitement sont les bouffées de chaleur, un dérèglement du cycle menstruel, des kystes ovariens bénins, une prise de poids et des pertes vaginales. Bien que le bénéfice de ce traitement soit reconnu, il est aujourd'hui admis que le Tamoxifène augmente le risque de développer un cancer de l'endomètre ou de l'utérus.^{79,80}

3.1.3 Inhibiteurs de l'aromatase (IA)

L'aromatase est une enzyme qui convertit les hormones stéroïdiennes en œstrogènes. Elle joue donc un rôle majeur dans les cancers hormonodépendants. Chez les femmes non ménopausées elle se situe dans les ovaires qui est la seule source d'œstrogènes. Chez les

⁷⁶ Harper, M. J. K. *et al.* Contrasting Endocrine Activities of Cis and Trans Isomers in a Series of Substituted Triphenylethylenes. *Nature* **1966**, 212 (5057), 87–87. doi: 10.1038/212087a0.

⁷⁷ Jordan, V. C. *et al.* A Monohydroxylated Metabolite of Tamoxifen with Potent Antioestrogenic Activity. *Journal of Endocrinology* **1977**, 75 (2), 305–316. doi: 10.1677/joe.0.0750305.

⁷⁸ Lee, O. *et al.* A Randomized Phase II Presurgical Trial of Transdermal 4-Hydroxytamoxifen Gel versus Oral Tamoxifen in Women with Ductal Carcinoma *In Situ* of the Breast. *Clinical Cancer Research* **2014**, 20 (14), 3672–3682. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-3045.

⁷⁹ van Leeuwen, F. E. *et al.* Risk of Endometrial Cancer after Tamoxifen Treatment of Breast Cancer. *The Lancet* **1994**, 343 (8895), 448–452. doi: 10.1016/S0140-6736(94)92692-1.

⁸⁰ Swerdlow, A. *et al.* Endometrial Cancer Risk Remained Elevated Years after Stopping Tamoxifen Treatment for Breast Cancer. *Evidence-based Obstetrics & Gynecology* **2005**, 7 (4), 211–212. doi: 10.1016/j.ebobgyn.2005.09.013.

femmes ménopausées, les ovaires n'étant plus fonctionnels, elle continue son action dans les tissus adipeux, les os, la peau et le tissu mammaire, qu'il soit sain ou tumoral.⁸¹

Les inhibiteurs de l'aromatase, ou anti-aromatase, empêchent son action naturelle et ainsi la production des œstrogènes par l'organisme. Il existe deux types d'anti-aromatase : les anti-aromatase de type I, stéroïdiens, et les anti-aromatase de type II, non stéroïdiens. L'Exemestane (Figure 11) est un IA de type I, stéroïdien, compétiteur des substrats naturels de l'aromatase qui se lie de manière irréversible à l'enzyme, provoquant son inactivation et sa dégradation.^{82,83,84} L'Anastrozole et le Létrozole (Figure 11) sont des IA de type II qui inhibent de manière compétitive la conversion des androgènes en œstrogènes.⁸⁵

Les IA sont indiqués uniquement chez les patientes ménopausées. Les effets indésirables de ces traitements sont les bouffées de chaleur, une sécheresse vaginale, des douleurs articulaires et la fatigue. Des risques d'ostéoporose existent également.

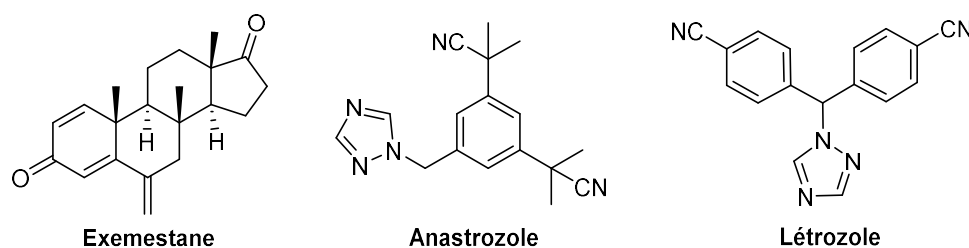


Figure 11 : Structures des anti-aromatase utilisés dans le traitement du cancer du sein.

3.1.4 Les analogues de la LH-RH

Les analogues de LH-RH, qu'ils soient agonistes ou antagonistes, sont des peptides de 9 ou 10 acides aminés également utilisés pour bloquer la synthèse des hormones sexuelles.

Les analogues agonistes se lient aux récepteurs de LH-RH et suppriment le caractère pulsatile de l'activité de l'hypothalamus. A faible dose et sur des courtes durées, ces analogues déclenchent une augmentation de la production hormonale, mais une utilisation

⁸¹ de Cremoux, P. Hormone therapy and breast cancer. *Bulletin du Cancer* **2011**, 98 (11), 1311-1319. doi: 10.1684/bdc.2011.1466.

⁸² Giudici, D. *et al.* 6-Methylenandrosta-1,4-Diene-3,17-Dione (FCE 24304): A New Irreversible Aromatase Inhibitor. *Journal of Steroid Biochemistry* **1988**, 30 (1-6), 391-394. doi: 10.1016/0022-4731(88)90129-X.

⁸³ di Salle, E. *et al.* Exemestane (FCE 24304), A New Steroidal Aromatase Inhibitor. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **1992**, 43 (1-3), 137-143. doi: 10.1016/0960-0760(92)90198-R.

⁸⁴ Lombardi, P. Exemestane, a New Steroidal Aromatase Inhibitor of Clinical Relevance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **2002**, 1587 (2-3), 326-337. doi: 10.1016/S0925-4439(02)00096-0.

⁸⁵ Bhatnagar, A. S. *et al.* Highly Selective Inhibition of Estrogen Biosynthesis by CGS 20267, a New Non-Steroidal Aromatase Inhibitor. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **1990**, 37 (6), 1021-1027. doi: 10.1016/0960-0760(90)90460-3.

prolongée provoque une désensibilisation des récepteurs et donc une suppression de l'activité ovarienne (castration chimique).⁸⁶

Les analogues antagonistes quant à eux, n'ont pas d'activité intrinsèque. Ils se lient aux récepteurs de la LH-RH de manière compétitive avec l'hormone naturelle et les désactivent, déclenchant immédiatement l'hypophysectomie.

Les patientes se retrouvent dans un état post-ménopause, les principaux effets indésirables observés sont des bouffées de chaleur, des troubles du sommeil et de l'humeur.⁸⁷ Les analogues de LH-RH sont principalement indiqués dans le cas de cancers hormonodépendants métastatiques.

3.1.5 Résistance aux traitements

Malgré l'efficacité des traitements des cancers hormonodépendants, des résistances apparaissent chez environ un tiers des patientes traitées. Les mécanismes de résistance sont multiples et complexes car les tumeurs sont hétérogènes, mais il est possible d'en identifier quelques-uns.

Il a été observé que les tumeurs ER positives évoluent vers un phénotype ER négatif ce qui les rend complètement insensibles à l'hormonothérapie. Dans certains cas, les récepteurs aux œstrogènes ne sont plus exprimés car le gène codant pour ces récepteurs est réprimé. Par ailleurs, certaines tumeurs, bien que ER positives, ont des récepteurs inactifs à cause d'une mutation du gène par exemple. Dans tous les cas, la tumeur évolue indépendamment des œstrogènes et les anti-œstrogènes n'ont plus d'effet.⁸⁸ Il semble également qu'il existe une voie de communication entre les récepteurs hormonaux et les récepteurs HER2, ce qui se traduit par une prolifération continue des tumeurs malgré la présence d'anti-œstrogènes.⁸⁸ Il est également possible que les tumeurs, bien que ER positives, prolifèrent *via* une voie de signalisation indépendante des œstrogènes, ce qui rend les traitements inefficaces.⁸⁹

⁸⁶ Limonta, P. *et al.* LHRH Analogues as Anticancer Agents: Pituitary and Extrapituitary Sites of Action. *Expert Opinion on Investigational Drugs* **2001**, 10 (4), 709–720. doi: 10.1517/13543784.10.4.709.

⁸⁷ Daguene, E. *et al.* Analogues de la LH-RH dans le Traitement Hormonal Adjuvant dans les Cancers du Sein Localisés de la Femme Pré-Ménopausée : la Fin d'une Controverse pour de Nouvelles Recommandations ? *Bulletin du Cancer* **2019**, 106 (4), 342–353. doi: 10.1016/j.bulcan.2019.01.012.

⁸⁸ Chang, M. Tamoxifen Resistance in Breast Cancer. *Biomolecules & Therapeutics* **2012**, 20 (3), 256–267. doi: 10.4062/biomolther.2012.20.3.256.

⁸⁹ Miller, W. R. *et al.* Understanding the Mechanisms of Aromatase Inhibitor Resistance. *Breast Cancer Research* **2012**, 14 (1). doi: 10.1186/bcr2931.

3.2 Thérapies ciblées et cancers HER2

Certaines cellules tumorales surexpriment le récepteur du facteur de croissance HER2. Ces cancers représentent 15 à 20 % des cancers du sein.^{21,22}

Une attention particulière a été portée à ce type de cancer à la fin des années 1990 et les recherches ont conduit à l'élaboration d'anticorps monoclonaux dirigés spécifiquement sur ces récepteurs. Lorsque l'anticorps parvient au récepteur, il s'y fixe et empêche ainsi son fonctionnement. La croissance cellulaire ne peut plus avoir lieu puisque la chaîne est bloquée : les cellules ne se multiplient plus.^{90,91}

L'anticorps encore utilisé aujourd'hui pour traiter ces cancers est le Trastuzumab.⁹² Cet anticorps a montré une bonne activité anticancéreuse sur les patientes HER2 positives et a permis de prolonger la durée de vie de celles-ci. Par son action, il empêche la dimérisation du récepteur HER2, ce qui bloque la croissance cellulaire. Il est néanmoins important de noter qu'il est utilisé en association avec des chimiothérapies classiques, comme le Paclitaxel et présente également une certaine cardiotoxicité, ce qui limite l'utilisation des anthracyclines dans le traitement.

Des résistances au Trastuzumab se développent en cours de traitement. Bien que le mécanisme soit encore mal connu, des études ont montré que de nombreuses voies de résistance sont possibles.^{93,94} Le récepteur HER2 est dans certains cas altéré ou internalisé, rendant alors le trastuzumab inactif. Il semblerait également que l'une des voies de signalisation induisant l'apoptose soit inactivée. Ce phénomène de résistance explique pourquoi la survie des patientes traitées par Trastuzumab n'est supérieure que de quelques mois par rapport à une chimiothérapie classique. De plus, il semble que la connaissance seule du type HER2+ soit insuffisante pour prédire l'efficacité du traitement, bien qu'il soit ciblé.

⁹⁰ Molina, M. A. *et al.* Trastuzumab (Herceptin), a Humanized Anti-HER2 Receptor Monoclonal Antibody, Inhibits Basal and Activated HER2 Ectodomain Cleavage in Breast Cancer Cells. *Cancer Research* **2001**, 61 (12), 4744–4749.

⁹¹ Yakes, F. M. *et al.* Herceptin-Induced Inhibition of Phosphatidylinositol-3 Kinase and Akt Is Required for Antibody-Mediated Effects on P27, Cyclin D1, and Antitumor Action. *Cancer Research* **2002**, 62, 4132–4141.

⁹² Smith, I. *et al.* 2-Year Follow-up of Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer: A Randomised Controlled Trial. *The Lancet* **2007**, 369 (9555), 29–36. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60028-2.

⁹³ Cardoso, F. *et al.* Resistance to Trastuzumab: A Necessary Evil or a Temporary Challenge? *Clinical Breast Cancer* **2002**, 3 (4), 247–257. doi: 10.3816/CBC.2002.n.028.

⁹⁴ Beuzeboc, P. Indications de l'Herceptin® dans le Traitement du Cancer du Sein. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* **2004**, 32 (2), 164–172. doi: 10.1016/j.gyobfe.2003.12.006.

Une autre méthode de traitement par anticorps existe : le couplage entre anticorps et chimiothérapie. Le principe est simple : un anticorps dirigé vers HER2 sert de vecteur à un agent de chimiothérapie, les deux étant reliés par une liaison covalente. Lorsqu'il se fixe sur son récepteur à la surface de la cellule, le complexe formé par l'anticorps et l'agent de chimiothérapie est internalisé puis dégradé par les lysosomes ce qui libère l'agent de chimiothérapie au sein de la cellule et conduit à sa mort.⁹⁵ Cette méthode permet d'atteindre préférentiellement les cellules cancéreuses avec la chimiothérapie. Le traitement couramment employé est le Trastuzumab emtansine (Figure 12) qui couple donc l'anticorps et un agent de chimiothérapie antitubuline, la Mertansine.^{96,97} En 2020, la Haute Autorité de Santé a préconisé le recours en deuxième intention (après l'utilisation des taxanes et d'un traitement anti-HER2) du Trastuzumab emtansine dans le cas des cancers précoces ou métastatiques.⁹⁸

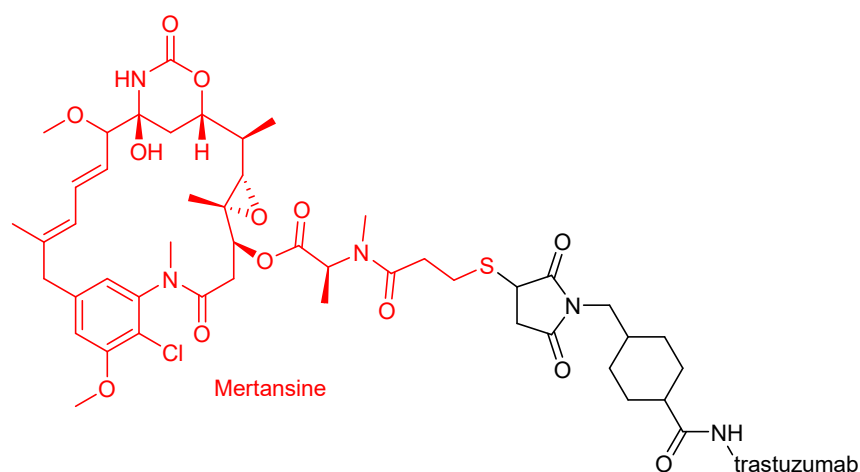


Figure 12 : Structure du Trastuzumab emtansine.

De nombreuses molécules inhibitrices de tyrosine kinase ont également été mises au point. Le Lapatinib (Figure 13) est aujourd'hui utilisé dans le traitement des cancers HER2 en association avec la Capécitabine ou un inhibiteur de l'aromatase.⁹⁹ Alors que le Trastuzumab se lie au récepteur au niveau extracellulaire, le Lapatinib agit dans le domaine

⁹⁵ Guerin, M. *et al.* Autorisation de Mise sur le Marché du Trastuzumab Emtansine (Kadcyla®) dans les Cancers du Sein Métastatiques HER2-Positifs. *Bulletin du Cancer* **2015**, 102 (4), 390–397. doi: 10.1016/j.bulcan.2015.02.007.

⁹⁶ LoRusso, P. M. *et al.* Trastuzumab Emtansine: A Unique Antibody-Drug Conjugate in Development for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive Cancer. *Clin Cancer Res* **2011**, 17 (20), 6437–6447. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0762.

⁹⁷ García-Alonso, S. *et al.* Trastuzumab Emtansine: Mechanisms of Action and Resistance, Clinical Progress, and Beyond. *Trends in Cancer* **2020**, 6 (2), 130–146. doi: 10.1016/j.trecan.2019.12.010.

⁹⁸ Haute Autorité de Santé France. Commission de La Transparence-Trastuzumab Emtansine. May 2020.

⁹⁹ TYVERB (lapatinib), Inhibiteur de la Tyrosine Kinase https://www.has-sante.fr/jcms/c_1756827/fr/tyverb-lapatinib-inhibiteur-de-la-tyrosine-kinase (accessed 2021 -04 -12).

cytoplasmique en se liant de manière réversible au domaine tyrosine kinase, bloquant ainsi la cascade de signalisations et donc la multiplication cellulaire.¹⁰⁰ Le Lapatinib a montré une efficacité chez les patientes résistantes au Trastuzumab, ce qui en fait une thérapie complémentaire de choix.

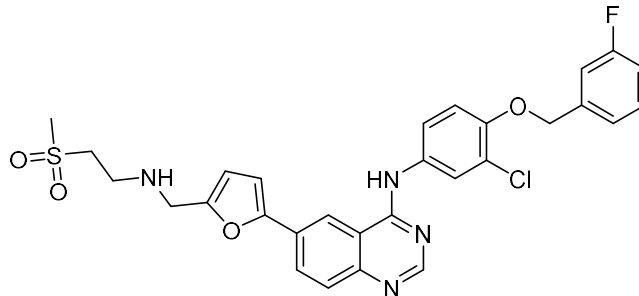


Figure 13 : Structure du Lapatinib.

3.3 Cas des cancers triple négatifs

Les cancers triple négatifs n'expriment aucun des récepteurs précédemment cités. Les patientes atteintes de ce type de cancer sont généralement traitées par chimiothérapie classique. Environ la moitié des patientes répondent bien à ce traitement, alors que l'autre moitié développe des résistances. Dans tous les cas, le taux de récurrence est important après les traitements.

De nombreuses études sont en cours afin de trouver des biomarqueurs permettant un ciblage spécifique des cancers triple négatifs. Il semble que les cancers triple négatifs présentent une grande hétérogénéité tumorale, ce qui rend leur traitement plus complexe.

De récentes études ont montré qu'environ 30 % des cancers triple négatifs surexpriment des récepteurs aux androgènes, ce qui en fait de bons candidats pour les traitements anti-androgènes déjà utilisés par exemple dans le cancer de la prostate.¹⁰¹

Les tumeurs de type basal-like présentent des défauts de réparation de l'ADN. Elles se sont montrées sensibles à de nouveaux traitements associant un agent cytotoxique capable d'endommager l'ADN à un inhibiteur de PARP (Poly(ADP-Ribose)Polymérase), une enzyme

¹⁰⁰ Yamauchi, H. *et al.* Lapatinib in the Treatment of Breast Cancer. *Clinical Medicine. Therapeutics* **2009**, 1, CMT.S52. doi: 10.4137/CMT.S52.

¹⁰¹ Grellety, T. Cancer du Sein Triple Négatif Exprimant le Récepteur aux Androgènes : de la Biologie à la Thérapeutique. *Bull. Cancer* **2020**, No. 107, 506–516. doi: 10.1016/j.bulcan.2019.12.012.

impliquée dans la réparation de l'ADN.¹⁰² Le Talazoparib¹⁰³ (Talzenna®) et l'Olaparib¹⁰⁴ (Lynparza®) sont des inhibiteurs de PARP utilisés depuis 2019 dans ce cadre (Figure 14). Ils sont recommandés pour les patientes atteintes d'un cancer HER2- et présentant les mutations *BRCA1/2*.

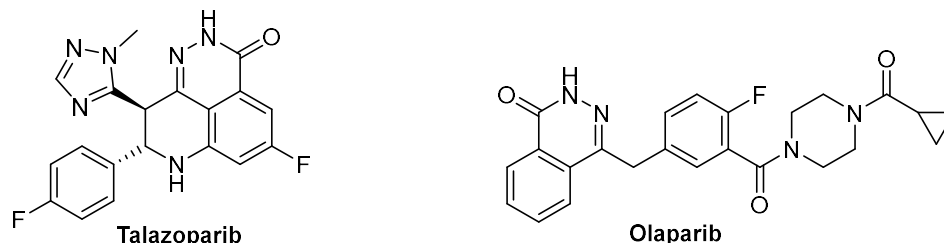


Figure 14 : Structures de deux inhibiteurs de PARP utilisés dans le traitement du cancer du sein.^{104,103}

Il a été montré que les tumeurs triple négatives ont la propriété d'échapper au système immunitaire car les cellules tumorales expriment à leur surface la protéine PD1 (« Programmed Cell Death 1 ») dont le ligand est la protéine PDL1 exprimée par les lymphocytes T.^{105,106} Lorsque PDL1 est reconnue par PD1, cela bloque l'action des cellules du système immunitaire : ce complexe PD1-PDL1 est un point de contrôle du système immunitaire. Une autre voie de traitement s'ouvre alors avec les anticorps monoclonaux dirigés contre ces protéines.^{107,108} Des essais ont été réalisés avec le Pembrolizumab (Keytruda®), anticorps monoclonal dirigé contre les protéines PD1, qui a montré une bonne efficacité pour les patientes dont les cellules cancéreuses surexpriment PD1.^{109,110} Cet

¹⁰² Dalenc, F. *et al.* PARPi, Immunothérapies et Anticorps Monoclonaux Conjugués dans les Cancers du Sein Triple-Négatifs. *Bulletin du Cancer* **2021**, 108 (1), 67–79. doi: 10.1016/j.bulcan.2020.11.007.

¹⁰³ Wang, B. *et al.* Discovery and Characterization of (8*S*,9*R*)-5-Fluoro-8-(4-Fluorophenyl)-9-(1-Methyl-1*H*-1,2,4-Triazol-5-yl)-2,7,8,9-Tetrahydro-3*H*-Pyrido[4,3,2-*de*]Phthalazin-3-One (BMN 673, Talazoparib), a Novel, Highly Potent, and Orally Efficacious Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1/2 Inhibitor, as an Anticancer Agent. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, 59 (1), 335–357. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01498.

¹⁰⁴ Menear, K. A. *et al.* 4-[3-(4-Cyclopropanecarbonylpiperazine-1-Carbonyl)-4-Fluorobenzyl]-2*H*-Phthalazin-1-One: A Novel Bioavailable Inhibitor of Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, 51 (20), 6581–6591. doi: 10.1021/jm8001263.

¹⁰⁵ Sabatier, R. *et al.* Prognostic and Predictive Value of PDL1 Expression in Breast Cancer. *Oncotarget* **2015**, 6 (7), 5449–5464. doi: 10.18632/oncotarget.3216.

¹⁰⁶ Uhercik, M. *et al.* Clinical Significance of PD1 and PDL1 in Human Breast Cancer. *Anticancer Research* **2017**, 37 (8), 4249–4254. doi: 10.21873/anticancer.11817.

¹⁰⁷ Alsaab, H. O. *et al.* PD-1 and PD-L1 Checkpoint Signaling Inhibition for Cancer Immunotherapy: Mechanism, Combinations, and Clinical Outcome. *Frontiers in Pharmacology* **2017**, 8, 561. doi: 10.3389/fphar.2017.00561.

¹⁰⁸ Wei, S. C. *et al.* Fundamental Mechanisms of Immune Checkpoint Blockade Therapy. *Cancer Discovery* **2018**, 8 (9), 1069–1086. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-0367.

¹⁰⁹ Schmid, P. *et al.* Pembrolizumab for Early Triple-Negative Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* **2020**, 382 (9), 810–821. doi: 10.1056/NEJMoa1910549.

¹¹⁰ Winer, E. P. *et al.* Pembrolizumab versus Investigator-Choice Chemotherapy for Metastatic Triple-Negative Breast Cancer (KEYNOTE-119): A Randomised, Open-Label, Phase 3 Trial. *The Lancet Oncology* **2021**, 22 (4), 499–511. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30754-3.

anticorps a été autorisé par la Haute Autorité de Santé en France pour une utilisation chez des patientes atteintes de cancers triple négatifs métastatiques en novembre 2021.¹¹¹

Des essais avec des anticorps monoclonaux conjugués sont également en cours. Le plus important à noter est le Sacituzumab-govitecan (commercialisé sous le nom de Trodelvy®), qui est un anticorps monoclonal dirigé contre Trop-2 associé à un inhibiteur de topoisomérase. Trop-2 est une protéine exprimée dans les tissus sains mais surexprimée dans les cellules cancéreuses, et il semble que sa surexpression soit liée à une croissance accrue des tumeurs. Les cancers surexprimant cette protéine ont un pronostic défavorable.^{102,112,113,114} Ce traitement a reçu l'approbation en avril 2020 de la Food Drug Administration aux Etats-Unis et en septembre 2021 en France¹¹⁵ pour les patientes avec un cancer triple négatif métastatique.

3.4 Recherches en cours

Ainsi, le cancer du sein est une maladie complexe du fait de l'hétérogénéité des tumeurs. Les médecins disposent d'un vaste arsenal thérapeutique pour traiter les patientes, comprenant la chirurgie, la radiothérapie ainsi que les différentes chimiothérapies et thérapies ciblées. Néanmoins, les protocoles de traitements mis en œuvre présentent de nombreux effets indésirables et des résistances, innées ou acquises, sont observées chez les patientes.

Les recherches actuelles tendent à déterminer avec plus de précision le profil des tumeurs, cherchant ainsi des marqueurs prédictifs de l'efficacité des traitements et de l'évolution des cancers (guérison, rechute, apparition de métastases, résistances acquises ou innées aux traitements). La connaissance plus fine des cellules tumorales doit permettre une prise en charge plus personnalisée et des traitements plus sélectifs.

Les thérapies administrées à ce jour démontrent une bonne efficacité puisque 85 % des patientes guérissent. Aussi il est important, pour le confort de vie, de réduire les effets

¹¹¹ Collège de la Haute Autorité de santé. Décision n°2021.0245/DP/SEM du 4 novembre 2021 de la Présidente de la Haute Autorité de Santé prise au nom du collège portant autorisation d'accès précoce de la spécialité Keytruda. November 4, 2021.

¹¹² Trerotola, M. *et al.* Upregulation of Trop-2 Quantitatively Stimulates Human Cancer Growth. *Oncogene* **2013**, 32 (2), 222–233. doi: 10.1038/onc.2012.36.

¹¹³ Stirrups, R. Sacituzumab Govitecan-Hziy for Triple-Negative Breast Cancer. *The Lancet Oncology* **2019**, 20 (4), e194. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30074-9.

¹¹⁴ Dong, W. *et al.* Antibody-Drug Conjugates of 7-Ethyl-10-Hydroxycamptothecin: Sacituzumab Govitecan and Labetuzumab Govitecan. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, 167, 583–593. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.02.017.

¹¹⁵ Collège de la Haute Autorité de santé. Décision n°2021.0228/DC/SEM du 2 septembre 2021 du collège de la Haute Autorité de santé portant autorisation d'accès précoce de la spécialité TRODELVY 180mg (sacituzumab govitecan). September 2, 2021.

indésirables en vectorisant par exemple les chimiothérapies, de manière à ne cibler que les tissus tumoraux et non les tissus sains.

Par ailleurs, les résistances aux chimiothérapies sont un problème majeur dans la prise en charge des patientes. Il est donc nécessaire d'agrandir la bibliothèque de molécules anticancéreuses afin d'offrir une diversité de traitements aux patientes et de multiplier les chances de guérison.

4 Troglitazone et dérivés

4.1 Les thiazolidinediones antidiabétiques

Les thiazolidinediones, aussi appelées glitazones, sont des composés développés dans les années 1990 afin de traiter le diabète de type II. Ces molécules possèdent toutes un noyau thiazolidine-2,4-dione (TZD) qui leur confère leur activité particulière. En effet le noyau TZD comporte deux fonctions carbonyles et un atome de soufre accepteurs de liaisons hydrogène, un groupement NH acide et donneur de liaison hydrogène. La Ciglitazone synthétisée pour la première fois en 1982¹¹⁶ est considérée comme la tête de série historique de cette famille, bien qu'elle n'ait jamais été commercialisée. La Troglitazone (TGZ commercialisée sous le nom Rezulin®)¹¹⁷ est la première à avoir été mise sur le marché en 1997,¹¹⁸ suivie par la Rosiglitazone (Avandia®) et la Pioglitazone (Actos®) en 2000 (Figure 15).^{119,120}

Le diabète est une maladie chronique caractérisée par un taux élevé de glucose dans le sang. Chez les personnes non diabétiques, le pancréas permet de réguler la glycémie en sécrétant des hormones : l'insuline, qui permet une diminution de la glycémie, et le glucagon qui permet de l'augmenter en cas de jeûne prolongé par exemple. Le maintien de l'équilibre glycémique grâce à ces deux hormones est appelé homéostasie du glucose. Il existe deux sortes de diabètes : le diabète de type I qui correspond à une absence de sécrétion d'insuline par le pancréas et le diabète de type II qui correspond à une insulino-résistance. En France 5 % de la population est touchée par le diabète, parmi lesquels 90 % souffre d'un diabète de type II. Les conséquences de cette maladie peuvent être très graves (risques

¹¹⁶ Sohda, T. *et al.* Studies on Antidiabetic Agents. II. Synthesis of 5-(4-(1-Methylcyclohexylmethoxy)-Benzyl)Thiazolidine-2,4-Dione (ADD-3878) and Its Derivatives. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1982**, 30 (10), 3580–3600. doi: 10.1248/cpb.30.3580.

¹¹⁷ Fujiwara, T. *et al.* Characterization of New Oral Antidiabetic Agent CS-045. *Diabetes* **1988**, 37 (11), 1549–1558. doi: 10.2337/diab.37.11.1549.

¹¹⁸ Food Drug Administration. Approval Letter for Rezulin. 1997.

¹¹⁹ European Medicines Agency. European Public Assessment Report for Avandia (Rosiglitazone). 2010.

¹²⁰ European Medicines Agency. European Public Assessment Report for Actos (Pioglitazone).

cardiovasculaires, troubles visuels pouvant aller jusqu'à la cécité, etc) et on estime que 700 millions de personnes à travers le monde seront diabétiques en 2045,¹²¹ ce qui en fait un problème de santé publique majeur.

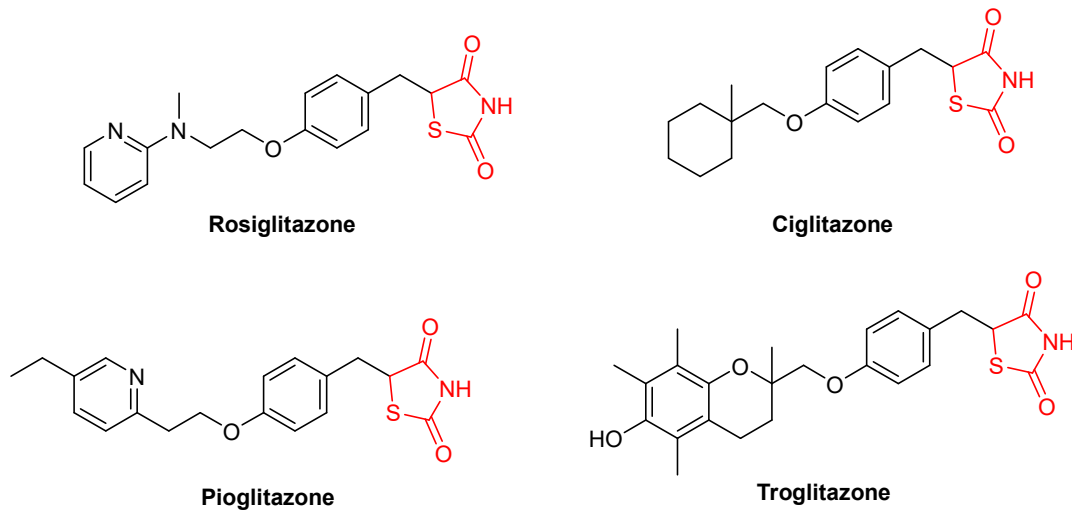


Figure 15 : Structures à noyau glitazone.

Chez les personnes présentant une insulino-résistance, on observe également une hyperinsulinémie qui est une réaction compensatoire à la résistance. De nombreux patients qui sont atteints d'insulino-résistance ne développent pas de diabète de type II car les cellules sécrétrices d'insuline, les cellules β pancréatiques, fonctionnent normalement. Il existe un certain nombre de troubles associés à l'insulino-résistance tels que l'obésité, le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), une tension élevée, etc. Les patients atteints d'un diabète de type II sont ceux pour lesquels les cellules β pancréatiques sont détériorées car elles ont été surexposées au glucose : on parle de glucotoxicité.^{122,123}

Les thiazolidinediones augmentent la sensibilité des tissus à l'insuline, ce qui diminue l'insulino-résistance des patients (sans augmenter la sécrétion d'insuline par le pancréas) et également l'hyperinsulinémie. Il a été montré que les thiazolidinediones sont des agonistes des PPAR- γ (« Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ ») qui sont des récepteurs nucléaires hormonaux qui régulent le stockage des acides gras et du glucose.¹²⁴ Les récepteurs PPAR- γ sont présents principalement dans les tissus adipeux, mais également

¹²¹ Facts & figures <https://www.idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes/facts-figures.html> (accessed 2021 -04 -26).

¹²² Olefsky, J. M. Treatment of Insulin Resistance with Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Agonists. *Journal of Clinical Investigation* **2000**, 106 (4), 467–472. doi: 10.1172/JCI10843.

¹²³ Blicklé, J.-F. Protection Bêta-Cellulaire par les Thiazolidinediones : Quelles Preuves Aujourd'hui ? *Médecine des Maladies Métaboliques* **2007**, 1 (1), 79–85. doi: 10.1016/S1957-2557(07)88665-2.

¹²⁴ Lehmanns, J. M. *et al.* An Antidiabetic Thiazolidinedione Is a High Affinity Ligand for Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (PPAR γ). *Journal of Biological Chemistry* **1995**, 270 (22), 12953–12956. doi: 10.1074/jbc.270.22.12953.

dans une moindre mesure dans le foie et les muscles. Ils permettent la libération ou le stockage des acides gras dans l'organisme.^{125,126} Les tissus adipeux produisent de nombreuses molécules, parmi lesquelles les acides gras libres dont le taux est particulièrement élevé chez les patients atteints d'insulinorésistance. Ces acides gras inhibent la transmission du signal de l'insuline dans les cellules, mais induisent aussi l'apoptose des cellules β : on parle alors de lipotoxicité. Les TZD activent les récepteurs PPAR- γ présents dans les tissus adipeux ce qui diminue la quantité d'acides gras libres dans le sang et améliore la sensibilité à l'insuline des différents tissus, en particulier des muscles squelettiques.^{123,127,128}

4.2 Toxicité

Les thiazolidinediones ont montré de très bons résultats dans le traitement de l'insulinorésistance et du diabète de type II. Néanmoins, elles présentent également des effets indésirables. Parmi eux, on note la prise de poids, une augmentation de la rétention d'eau, des dommages cardiaques ainsi que l'apparition d'ostéoporose.¹²⁹

D'autres effets plus graves ont été observés et ont conduit au retrait du marché des trois TZD dans les années 2000. Ainsi la Rosiglitazone a été retirée du marché en 2010 à cause d'une forte toxicité cardiaque¹³⁰ et la Pioglitazone a été retirée l'année suivante en Europe car elle augmente le risque de cancer de la vessie.¹³¹ Si ces deux molécules ont pu être utilisées pendant une décennie, la Troglitazone a, quant à elle, été retirée du marché en 2000, soit 3 ans seulement après sa commercialisation, car elle provoque des cas, rares mais

¹²⁵ Rangwala, S. M. *et al.* Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ in Diabetes and Metabolism. *Trends in Pharmacological Sciences* **2004**, 25 (6), 331–336. doi: 10.1016/j.tips.2004.03.012.

¹²⁶ Wahli, W. *et al.* Peroxisome Proliferator Activated Receptors: Transcriptional Regulators of Adipogenesis, Lipid Metabolism and More.... *Chemistry & Biology* **1995**, 2 (5), 261–266. doi: 10.1016/1074-5521(95)90045-4.

¹²⁷ Lebovitz, H. E. Rationale for and Role of Thiazolidinediones in Type 2 Diabetes Mellitus. *The American Journal of Cardiology* **2002**, 90 (5A), 34G–41G. doi: 10.1016/s0002-9149(02)02557-2.

¹²⁸ Gaborit, B. *et al.* Mécanismes de l'Action Antidiabétique des Thiazolidinediones. Anti-hyperglycemic effects of thiazolidinediones. *Nutrition clinique et métabolisme* **2008**, 22 (2), 84–87. doi: 10.1016/j.nupar.2007.12.001.

¹²⁹ Debiais, F. Thiazolidinediones: Antidiabetic agents with effects on bone. *Joint Bone Spine* **2009**, 76 (3), 221–223. doi: 10.1016/j.jbspin.2009.01.005.

¹³⁰ Nissen, S. E. *et al.* Rosiglitazone Revisited: An Updated Meta-Analysis of Risk for Myocardial Infarction and Cardiovascular Mortality. *Archives of Internal Medicine* **2010**, 170 (14), 1191–1201. doi: 10.1001/archinternmed.2010.207.

¹³¹ Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé. Suspension de l'Utilisation des Médicaments Contenant de la Pioglitazone (Actos®, Competact®) - Lettre aux Professionnels de Santé <https://archiveansm.integra.fr> (accessed 2021 -05 -17).

néanmoins dramatiques, de décès dus à une très forte hépatotoxicité.^{132,133} Cette toxicité hépatique n'a cependant pas été observée avec les autres glitazones. De nombreuses équipes se sont alors penchées sur la question et il semble que la toxicité de la TGZ soit indépendante de sa liaison avec le récepteur PPAR- γ , d'une part car ces récepteurs sont présents en très faibles quantités dans le foie et d'autre part car la TGZ induit l'apoptose des cellules, ce qui ne dépend pas des PPAR- γ . Un mécanisme envisagé est la formation d'espèces électrophiles réactives, les quinones, lors de la métabolisation de la TGZ (Schéma 3).

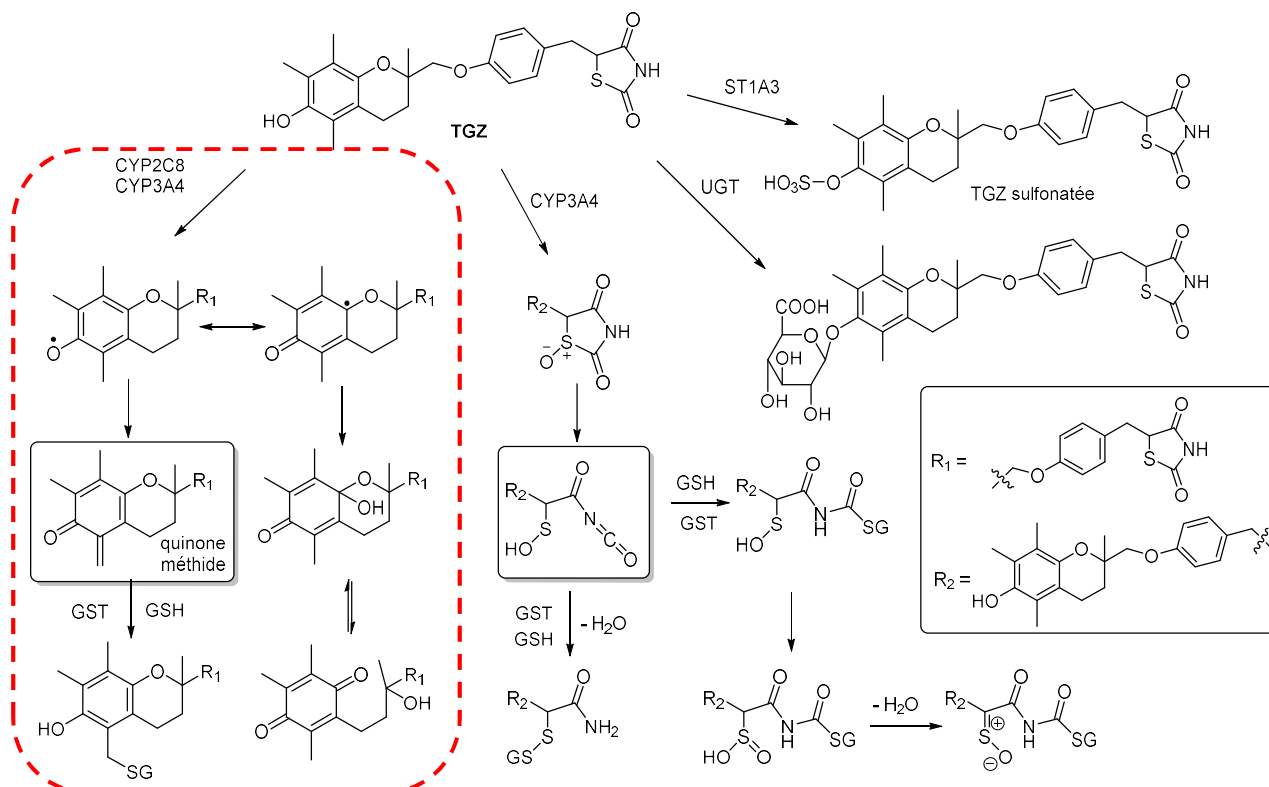


Schéma 3 : Métabolisme de la Troglitazone.¹³⁴En rouge, la formation des quinones qui semble être le processus majeur de toxicité de la Troglitazone.

Cette hypothèse est intéressante car elle permet d'expliquer la différence de toxicité avec les autres glitazones.¹³⁵ Il a été montré qu'un autre métabolite de la TGZ, la Troglitazone

¹³² Ault, A. Troglitazone May Cause Irreversible Liver Damage. *The Lancet* **1997**, 350, 1451. doi: 10.1016/S0140-6736(05)64216-X.

¹³³ Graham, D. J. et al. Troglitazone-Induced Liver Failure: A Case Study. *The American Journal of Medicine* **2003**, 114 (4), 299–306. doi: 10.1016/S0002-9343(02)01529-2.

¹³⁴ Mazerbourg, S. et al. Reprofile of Troglitazone Towards More Active and Less Toxic Derivatives: A New Hope for Cancer Treatment? *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2016**, 16 (19), 2115–2124. doi: 10.2174/1568026616666160216153036.

¹³⁵ Smith, M. T. Mechanisms of Troglitazone Hepatotoxicity. *Chemical Research in Toxicology* **2003**, 16 (6), 679–687. doi: 10.1021/tx034033e.

sulfonatée¹³⁶ ainsi que l'ouverture du noyau thiazolidinedione¹³⁷ (Schéma 3) sont aussi en partie responsables de son hépatotoxicité. D'autres études ont montré que la TGZ, contrairement à ses analogues, induit un dysfonctionnement des mitochondries causant ainsi la mort cellulaire.^{138,139} D'autres voies de toxicité sont également possibles mais à ce jour aucune n'est clairement définie car les mécanismes biologiques sont nombreux et complexes.¹³⁴

4.3 Actions anticancéreuses des glitazones

Les récepteurs PPAR- γ , en plus de leur rôle dans la régulation des acides gras et du glucose, sont impliqués dans la différenciation des adipocytes. Leur activation par leurs ligands (glitazones ou autres) entraîne la différenciation de ces cellules. L'équipe de Spiegelman a montré dès 1997 que la Pioglitazone est capable d'induire la différenciation de cellules de liposarcomes humains *in vitro*.¹⁴⁰ Par la suite, d'autres équipes ont montré que les glitazones, en particulier la Troglitazone, possèdent des propriétés antiprolifératives vis-à-vis des cellules cancéreuses et induisent une meilleure différenciation de ces dernières et ce, sur différentes lignées cellulaires cancéreuses, tels que le cancer colorectal ou les cancers gastriques.^{141,142,143} De nombreuses études ont été réalisées concernant l'activité anticancéreuse des TZD et ont montré qu'elle implique non seulement l'induction de la différenciation cellulaire mais également l'inhibition de la prolifération et de la migration cellulaire ainsi que l'induction de l'apoptose.^{144,145}

¹³⁶ Saha, S. *et al.* Direct Toxicity Effects of Sulfo-Conjugated Troglitazone on Human Hepatocytes. *Toxicology Letters* **2010**, *195* (2-3), 135-141. doi: 10.1016/j.toxlet.2010.03.010.

¹³⁷ Saha, S. *et al.* Investigation of the Role of the Thiazolidinedione Ring of Troglitazone in Inducing Hepatotoxicity. *Toxicology Letters* **2010**, *192* (2), 141-149. doi: 10.1016/j.toxlet.2009.10.014.

¹³⁸ Bova, M. P. *et al.* Troglitazone Induces a Rapid Drop of Mitochondrial Membrane Potential in Liver HepG2 Cells. *Toxicology Letters* **2005**, *155* (1), 41-50. doi: 10.1016/j.toxlet.2004.08.009.

¹³⁹ Rachek, L. I. *et al.* Troglitazone, but Not Rosiglitazone, Damages Mitochondrial DNA and Induces Mitochondrial Dysfunction and Cell Death in Human Hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2009**, *240* (3), 348-354. doi: 10.1016/j.taap.2009.07.021.

¹⁴⁰ Tontonoz, P. *et al.* Terminal Differentiation of Human Liposarcoma Cells Induced by Ligands for Peroxisome Proliferator-Activated Receptor and the Retinoid X Receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1997**, *94* (1), 237-241. doi: 10.1073/pnas.94.1.237.

¹⁴¹ Mueller, E. *et al.* Terminal Differentiation of Human Breast Cancer through PPAR-Gamma. *Molecular Cell* **1998**, *1* (3), 465-470. doi: 10.1016/s1097-2765(00)80047-7.

¹⁴² Elstner, E. *et al.* Ligands for Peroxisome Proliferator-Activated Receptor and Retinoic Acid Receptor Inhibit Growth and Induce Apoptosis of Human Breast Cancer Cells in Vitro and in BXN Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1998**, *95* (15), 8806-8811. doi: 10.1073/pnas.95.15.8806.

¹⁴³ Kim, K. Y. *et al.* Differential Anti-Proliferative Actions of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Agonists in MCF-7 Breast Cancer Cells. *Biochemical Pharmacology* **2006**, *72* (5), 530-540. doi: 10.1016/j.bcp.2006.05.009.

¹⁴⁴ Blanquicett, C. *et al.* Thiazolidinediones as Anti-Cancer Agents. *Cancer Therapy* **2008**, *6A*, 25-34.

¹⁴⁵ Joshi, H. *et al.* A New Dawn for the Use of Thiazolidinediones in Cancer Therapy. *Expert Opinion on Investigational Drugs* **2014**, *23* (4), 501-510. doi: 10.1517/13543784.2014.884708.

4.3.1 Inhibition du cycle cellulaire et apoptose

Des études ont montré que la Troglitazone induit un arrêt du cycle cellulaire en phase G1, notamment pour les kératinocytes,¹⁴⁶ les cellules cancéreuses du foie,¹⁴⁷ mais également les cellules cancéreuses du sein.¹⁴⁸ La cycline D1 est une protéine qui permet aux cellules d'entrer dans le cycle cellulaire : elle fait partie des protéines de régulation positive du cycle. Sa surexpression entraîne une multiplication plus importante des cellules et donc une prolifération excessive. La Troglitazone altère l'expression de cette protéine, diminuant ainsi la prolifération cellulaire.¹⁴⁶

Une autre manière de provoquer l'arrêt du cycle cellulaire est l'induction de l'expression des protéines de régulation négative, en particulier p53. Il a été montré que la Troglitazone induit l'apoptose par l'induction de cette protéine dans les cellules musculaires ainsi que dans les cellules du cancer rénal.^{149,150} Cette dernière caractéristique n'a pas été mise en évidence pour le cancer du sein, mais elle montre néanmoins que les modes d'action de la Troglitazone peuvent être divers et variés.

4.3.2 Inhibition de la migration

Le mécanisme exact par lequel la Troglitazone inhibe la migration des cellules cancéreuses est encore flou, mais de nombreuses pistes sont en cours d'étude. Ainsi, dans le cas du cancer du pancréas, il a été montré que la Troglitazone augmente l'expression de deux protéines d'adhésion : la E-cadhérine et la claudine 4.¹⁵¹ La E-cadhérine est une glycoprotéine transmembranaire qui participe aux jonctions intercellulaires. Lorsqu'elle n'est plus exprimée, les cellules perdent leur adhérence et peuvent ainsi se propager dans l'organisme (par voie sanguine notamment) et envahir d'autres tissus. Une cellule saine ne survit pas à la perte d'adhérence, contrairement à une cellule tumorale. L'expression de la E-cadhérine est diminuée dans les tumeurs indifférenciées telles que le cancer du sein. Son

¹⁴⁶ He, G. *et al.* Troglitazone Inhibits Cyclin D1 Expression and Cell Cycling Independently of PPAR γ in Normal Mouse Skin Keratinocytes. *Journal of Investigative Dermatology* **2004**, 123 (6), 1110–1119. doi: 10.1111/j.0022-202X.2004.23465.x.

¹⁴⁷ Bae, M. Troglitazone but Not Rosiglitazone Induces G1 Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human and Rat Hepatoma Cell Lines. *Toxicology Letters* **2003**, 139 (1), 67–75. doi: 10.1016/S037842740200468X.

¹⁴⁸ Yin, F. *et al.* Troglitazone Inhibits Growth of MCF-7 Breast Carcinoma Cells by Targeting G1 Cell Cycle Regulators. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2001**, 286 (5), 916–922. doi: 10.1006/bbrc.2001.5491.

¹⁴⁹ Okura, T. *et al.* Troglitazone Induces Apoptosis via the P53 and Gadd45 Pathway in Vascular Smooth Muscle Cells. *European Journal of Pharmacology* **2000**, 407 (3), 227–235. doi: 10.1016/S0014-2999(00)00758-5.

¹⁵⁰ Fujita, M. *et al.* Cytotoxicity of Troglitazone through PPAR γ -Independent Pathway and P38 MAPK Pathway in Renal Cell Carcinoma. *Cancer Letters* **2011**, 312 (2), 219–227. doi: 10.1016/j.canlet.2011.08.010.

¹⁵¹ Kumei, S. *et al.* Troglitazone Increases Expression of E-Cadherin and Claudin 4 in Human Pancreatic Cancer Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2009**, 380 (3), 614–619. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.01.134.

absence est associée à un mauvais pronostic.^{152,153,154,155} La claudine 4 est une autre protéine nécessaire aux jonctions intercellulaires, et de son absence d'expression résulte également la perte d'adhérence cellulaire. Un sous-groupe de cancers du sein triple négatifs est par ailleurs appelé « claudin-low » en référence à cette protéine.^{156,157} La Troglitazone permet donc de réactiver l'expression de ces protéines dans les cellules tumorales, ce qui les empêche de se détacher de la tumeur et de migrer vers d'autres tissus.

4.3.3 Effet PPAR- γ indépendant

Bien que les TZD soient des agonistes des récepteurs PPAR- γ , de nombreuses études mécanistiques ont montré que leur action anticancéreuse est, au moins en partie, indépendante de l'activation de ces récepteurs.

En premier lieu, la Cigitazone et la Troglitazone ont une action antiproliférative plus importante que leurs analogues Rosiglitazone et Pioglitazone qui sont pourtant de meilleurs agonistes des récepteurs PPAR- γ .^{158,159} D'autre part il a été montré que les glitazones ont des effets antiprolifératifs indépendants du niveau d'expression des récepteurs PPAR- γ .¹⁶⁰ Ceci a d'ailleurs été montré en 2008 par nos partenaires du laboratoire CRAN (UMR 7035, Université de Lorraine) avec l'utilisation d'antagonistes de PPAR- γ et par la diminution de l'expression de ces récepteurs.¹⁶¹ Par ailleurs, à l'occasion de ces mêmes travaux, notre équipe a préparé un analogue insaturé de la TGZ, la $\Delta 2$ -TGZ, qui comme les autres $\Delta 2$ -glitazones, confère aux molécules une rigidité qui les empêche de se lier au récepteur PPAR-

¹⁵² Berx, G. *et al.* The E-Cadherin/Catenin Complex: An Important Gatekeeper in Breast Cancer Tumorigenesis and Malignant Progression. *Breast Cancer Research* **2001**, 3 (5), 289. doi: 10.1186/bcr309.

¹⁵³ Wijnhoven, B. P. L. *et al.* E-Cadherin—Catenin Cell—Cell Adhesion Complex and Human Cancer. *British Journal of Surgery* **2002**, 87 (8), 992–1005. doi: 10.1046/j.1365-2168.2000.01513.x.

¹⁵⁴ Kowalski, P. J. *et al.* E-Cadherin Expression in Primary Carcinomas of the Breast and Its Distant Metastases. *Breast Cancer Research* **2003**, 5 (6), R217–R222. doi: 10.1186/bcr651.

¹⁵⁵ Paredes, J. *et al.* Epithelial E- and P-Cadherins: Role and Clinical Significance in Cancer. *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* **2012**, 1826 (2), 297–311. doi: 10.1016/j.bbcan.2012.05.002.

¹⁵⁶ Abd-Elazeem, M. A. *et al.* Claudin 4 Expression in Triple-Negative Breast Cancer: Correlation with Androgen Receptors and Ki-67 Expression. *Annals of Diagnostic Pathology* **2015**, 19 (1), 37–42. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2014.10.003.

¹⁵⁷ Duarte, G. M. *et al.* Claudin-4 Expression Is Associated With Disease-Free Survival in Breast Carcinoma-in-Situ: Mean Follow-up of 8.2 Years. *Clinical Breast Cancer* **2018**, 18 (5), e1111–e1116. doi: 10.1016/j.clbc.2018.06.005.

¹⁵⁸ Wei, S. *et al.* PPAR γ -Independent Antitumor Effects of Thiazolidinediones. *Cancer Letters* **2009**, 276 (2), 119–124. doi: 10.1016/j.canlet.2008.08.008.

¹⁵⁹ Wei, S. *et al.* Energy Restriction as an Antitumor Target of Thiazolidinediones. *Journal of Biological Chemistry* **2010**, 285 (13), 9780–9791. doi: 10.1074/jbc.M109.065466.

¹⁶⁰ Huang, J.-W. *et al.* Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ -Independent Ablation of Cyclin D1 by Thiazolidinediones and Their Derivatives in Breast Cancer Cells. *Molecular Pharmacology* **2005**, 67 (4), 1342–1348. doi: 10.1124/mol.104.007732.

¹⁶¹ Lecomte, J. *et al.* Disruption of ER α Signalling Pathway by PPAR γ Agonists: Evidences of PPAR γ -Independent Events in Two Hormone-Dependent Breast Cancer Cell Lines. *Breast Cancer Research and Treatment* **2008**, 112 (3), 437–451. doi: 10.1007/s10549-007-9886-z.

γ et de l'activer (Figure 16). Ces molécules ont d'ailleurs montré des propriétés antiprolifératives plus importantes que leurs analogues saturés.^{160,161,162,163}

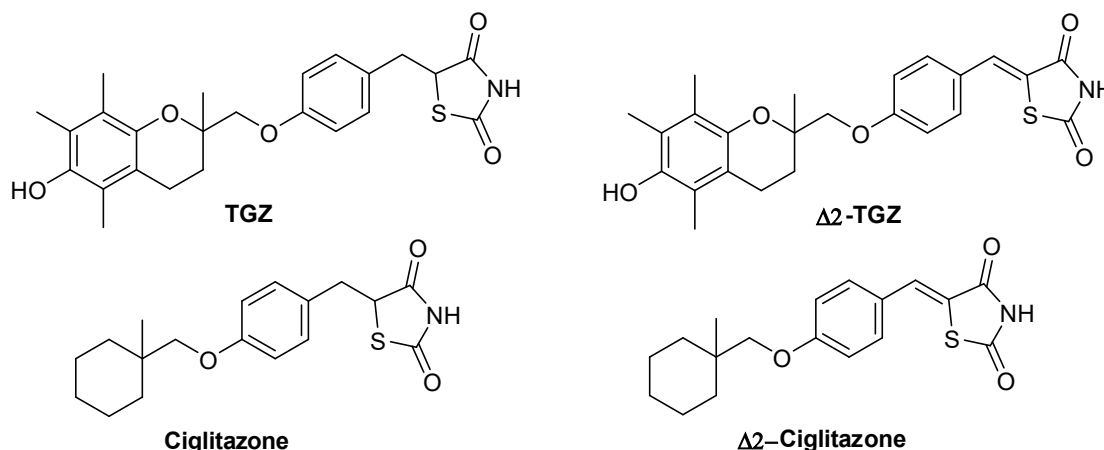


Figure 16 : Structures des glitazones et de leurs analogues insaturés.

Les effets anticancéreux de la Troglitazone sont nombreux et complexes, allant de la différenciation cellulaire à l'apoptose. De nombreuses études mécanistiques montrent une action indépendante des récepteurs PPAR- γ mais le mode d'action exact de ces molécules reste encore à identifier.^{161,158,164}

5 Conclusion du chapitre

Au cours de ce chapitre, nous avons identifié les différents types de tumeurs mammaires cancéreuses et nous avons exploré les traitements actuellement mis en œuvre dans la prise en charge des patientes. Le traitement généralement utilisé est la chimiothérapie, dont le mode d'action repose sur la multiplication rapide des cellules cancéreuses. Depuis le début du XXI^{ème} siècle, de nouveaux agents spécifiques, dont la technologie repose sur la reconnaissance des cellules tumorales, ont été développés élargissant ainsi l'arsenal thérapeutique disponible.

Nous avons vu que la Troglitazone, un ancien antidiabétique, a révélé des propriétés anticancéreuses d'inhibition du cycle cellulaire et de la migration cellulaire, indépendamment de son action antidiabétique.

¹⁶² Colin, C. *et al.* New Troglitazone Derivatives Devoid of PPAR γ Agonist Activity Display an Increased Antiproliferative Effect in Both Hormone-Dependent and Hormone-Independent Breast Cancer Cell Lines. *Breast Cancer Research and Treatment* **2010**, 124 (1), 101-110. doi: 10.1007/s10549-009-0700-y.

¹⁶³ Berthe, A. *et al.* Δ 2-Troglitazone Promotes Cytostatic Rather than pro-Apoptotic Effects in Breast Cancer Cells Cultured in High Serum Conditions. *Cell Cycle* **2016**, 15 (24), 3402-3412. doi: 10.1080/15384101.2016.1245248.

¹⁶⁴ Lee, K.-S. *et al.* Troglitazone Inhibits Endothelial Cell Proliferation through Suppression of Casein Kinase 2 Activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2006**, 346 (1), 83-88. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.05.069.

Chapitre 2 : Benzylidène-thiazolidinediones et
-pyrrolidinediones : synthèse et évaluation de leur
activité antiproliférative

1 Introduction

1.1 Historique

La conception et la synthèse de la Troglitazone au début des années 1980 reposent sur l'observation que la formation de peroxydes lipidiques est inhérente à de nombreuses maladies dont le diabète de type 2. L'idée était d'obtenir de nouveaux composés combinant des propriétés antioxydantes et des propriétés hypoglycémiques afin de mieux traiter le diabète de type 2. La Ciglitazone, aux propriétés antidiabétiques, était déjà connue depuis 1982. Les chercheurs ont alors eu l'idée de l'associer à un antioxydant, l' α -tocophérol : la Troglitazone était née (Figure 17).¹⁶⁵ Néanmoins si elle présente de bonnes propriétés antidiabétiques, celles-ci sont malheureusement associées à une toxicité hépatique importante qui a conduit à son retrait du marché en 2000.

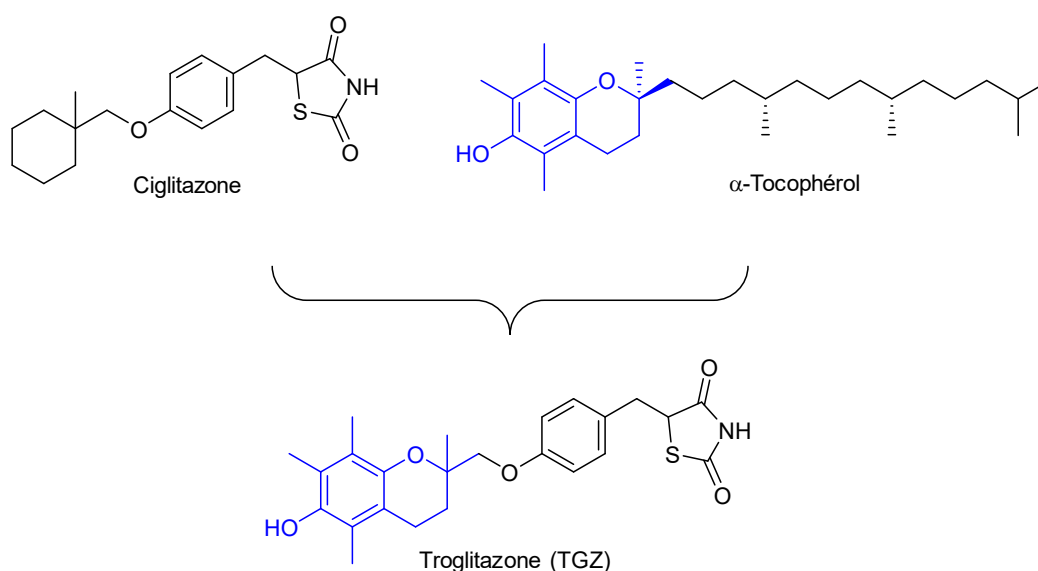


Figure 17 : Design de la Troglitazone.¹⁶⁵

La découverte de nouveaux agents thérapeutiques est indispensable pour étoffer la bibliothèque de traitements disponibles et pallier les phénomènes de résistance. Une stratégie couramment mise en œuvre est la synthèse de nouveaux composés puis l'évaluation de leurs propriétés thérapeutiques, mais ce processus long et coûteux n'est malheureusement pas toujours fructueux. Une autre stratégie utilisée depuis le début des années 2000 consiste à réinvestiguer des molécules connues en tant qu'agent thérapeutique

¹⁶⁵ Horikoshi, H. *et al.* Troglitazone - a Novel Antidiabetic Drug for Treating Insulin Resistance. *Drug Discovery Today* **1998**, 3 (2), 79-88. doi: 10.1016/S1359-6446(97)01115-X.

pour de nouvelles propriétés : il s'agit du « drug-reprofiling » (ou « drug-repositionning » ou « drug-repurposing »).¹⁶⁶

Dans le cadre d'études du « drug-reprofiling »,¹³⁴ les propriétés antiprolifératives de la Troglitazone ont été découvertes sur des lignées de cellules cancéreuses et également *in vivo*.¹⁴¹⁻¹⁴³ Les résultats observés restent cependant inférieurs à ceux obtenus avec des agents de chimiothérapie usuels tels que la Doxorubicine dont la concentration inhibitrice médiane (CI₅₀) est inférieure à 1 µM pour des lignées de cellules cancéreuses représentatives de tumeurs triple négatives, alors que la CI₅₀ de la Troglitazone est comprise entre 15 et 35 µM pour les mêmes lignées cellulaires. Par ailleurs, le mécanisme d'action de la TGZ étant encore mal défini, il est apparu important d'étudier les relations structure-activité afin de déterminer l'influence de divers paramètres sur son action antiproliférative et d'optimiser le design de futures molécules. C'est dans ce contexte que notre équipe s'est concentrée sur la conception et l'élaboration de divers analogues de la Troglitazone dans le but d'augmenter les propriétés antiprolifératives observées à partir de la molécule mère tout en diminuant l'hépatotoxicité.

Ainsi, notre équipe a montré que l'insertion d'une insaturation au voisinage du motif thiazolidinedione (TZD) permet à la fois de diminuer la toxicité sur un modèle d'hépatocytes sains et d'augmenter sensiblement l'activité antiproliférative vis-à-vis des cellules cancéreuses (Δ 2-TGZ Figure 18).¹⁶⁷ De plus, les composés dépourvus d'un groupe phénol libre sur le chromane, c'est-à-dire ayant un groupe protecteur ou désoxygénés, ont montré eux aussi un net gain sur ces deux aspects. En particulier, l'absence de phénol libre empêche la formation de métabolites toxiques.¹⁶⁷ Alors que Saha *et al.* a montré que le Trosuccinimide (TSN), un analogue désoufré de la TGZ, présente une hépatocytotoxicité moindre doublée d'une plus forte activité antiproliférative,¹³⁶ notre équipe a mis en évidence que l'insertion d'une chaîne aminoalkyle en lieu et place de la fonction phénol se traduit par une activité renforcée et une hépatocytotoxicité diminuée, en particulier pour les dérivés **AB186**¹⁶⁸ et

¹⁶⁶ Ashburn, T. T. *et al.* Drug Repositioning: Identifying and Developing New Uses for Existing Drugs. *Nature Reviews Drug Discovery* **2004**, 3 (8), 673–683. doi: 10.1038/nrd1468.

¹⁶⁷ Salamone, S. *et al.* Synthesis of New Troglitazone Derivatives: Anti-Proliferative Activity in Breast Cancer Cell Lines and Preliminary Toxicological Study. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, 51, 206–215. doi: 10.1016/j.ejmech.2012.02.044.

¹⁶⁸ Bordessa, A. *et al.* Optimization of Troglitazone Derivatives as Potent Anti-Proliferative Agents: Towards More Active and Less Toxic Compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, 83, 129–140. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.06.015.

son analogue désoufré **EP13** (Figure 18).^{169,170}

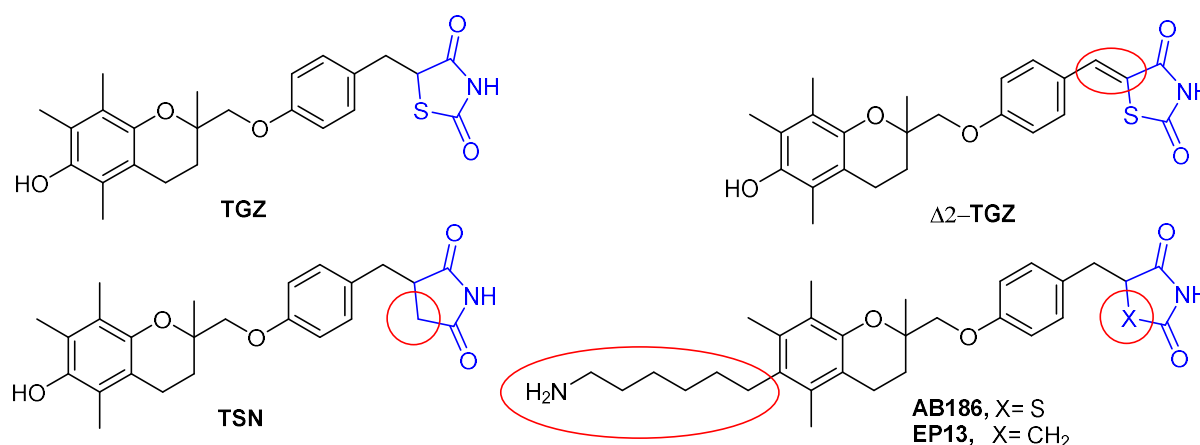


Figure 18 : Analogues de la TGZ à activité antiproliférative.

D'autres modulations ont également été effectuées, parmi lesquelles la fonctionnalisation de l'atome d'azote du cycle TZD. Cet atome joue un rôle important dans l'activation des récepteurs PPAR- γ par l'intermédiaire de liaisons hydrogène,¹⁷¹ mais son rôle n'était pas établi dans le cadre de l'activité antiproliférative sur les cellules cancéreuses, indépendante des récepteurs PPAR- γ . Notre équipe a montré que la *N*-alkylation du noyau TZD par un groupement méthyle ou un benzyle améliore l'activité antiproliférative tout en diminuant l'hépatocytotoxicité.¹⁶⁸ Cependant le manque de stabilité *in vivo* de ces composés n'a pas permis de poursuivre leur développement.

Dans le cadre de la thèse de D. Dupommier,¹⁷² M. Boisbrun et C. Comoy ont travaillé sur la fonctionnalisation de la position pseudo-vinylique du noyau benzylidène (Figure 19) pour proposer une diversité fonctionnelle sur cette position et en étudier l'influence sur les propriétés biologiques des composés visés.

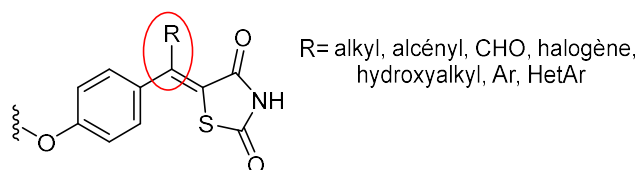


Figure 19 : Fonctionnalisation de la position pseudo-vinylique du noyau benzylidène-TZD.¹⁷²

¹⁶⁹ Boisbrun, M. *et al.* Thiazolidinedione Derivatives, Preparation Thereof and Use Thereof in Cancer Treatment. FR2986231.

¹⁷⁰ Dupommier, D. *et al.* New Desulfured Troglitazone Derivatives: Improved Synthesis and Biological Evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, *187*, 111939. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.111939.

¹⁷¹ Zoete, V. *et al.* Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Structures: Ligand Specificity, Molecular Switch and Interactions with Regulators. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* **2007**, *1771* (8), 915–925. doi: 10.1016/j.bbalip.2007.01.007.

¹⁷² Dupommier, D. Etude de La Fonctionnalisation de 5-Benzylidènethiazolidine-2,4-Diones et Application à La Synthèse de Nouveaux Composés à Visée Anticancéreuse, Université de Lorraine, Ecole Doctorale C2MP, Nancy, 2020.

1.2 Objectifs

Parce que le mode d'action de la Troglitazone et de ses analogues reste à élucider et implique de maîtriser les relations structure-activité de ces structures, nous nous sommes fixés comme objectifs dans cette thèse de préparer des analogues de la $\Delta 2$ -TGZ, en travaillant sur trois modifications structurales majeures (Figure 20) :

- (a) La nature de l'hétéroatome central (oxygène ou azote) et la présence ou non d'un atome de soufre sur le cycle à cinq chaînons.
- (b) La position relative du noyau benzylidène sur le noyau aromatique (*ortho*, *mé*ta, *para*).
- (c) La nature du noyau aromatique central.

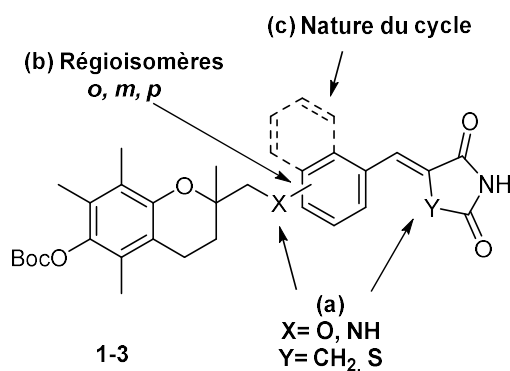


Figure 20 : Structure des composés cibles.

Lors du développement de l'**AB186**, Michel Boisbrun et coll.¹⁶⁷ ont pu montrer que les dérivés pour lesquels le groupement phénol du chromane est protégé par un Boc présentent une meilleure activité antiproliférative que ceux possédant une fonction phénol libre. Forts de ce résultat, nous nous sommes appliqués, dans un premier temps, à l'élaboration de voies d'accès à divers analogues ainsi protégés (OBoc). La déprotection peut être effectuée facilement en fin de synthèse ce qui rend ce groupe intéressant. Par ailleurs, sur la base des composés les plus actifs, nous avons proposé la préparation d'un analogue désoxygéné en position 6 avec l'introduction d'une chaîne aminoalkyle en ce lieu et place. Les propriétés antiprolifératives de chaque composé ont été évaluées sur des lignées de cellules cancéreuses.

2 Modulation de la position du fragment benzylidène en série oxygénée

Le premier objectif de ce travail était la préparation d'isomères de position de la $\Delta 2$ -TGZ. Notre stratégie de synthèse s'appuie sur celle mise en œuvre précédemment au sein de notre équipe pour l'obtention de la $\Delta 2$ -TGZ et de ses analogues déjà étudiés.^{167,168,170}

Le composé clé de notre stratégie est l'hydroxyméthylchromane **4** dont la synthèse peut facilement être envisagée à partir du Trolox® commercial, par réduction de l'acide carboxylique et protection de la fonction phénol. L'activation de cet alcool primaire permettra ensuite l'accès aux molécules cibles par attaque d'un nucléophile approprié (Schéma 4).

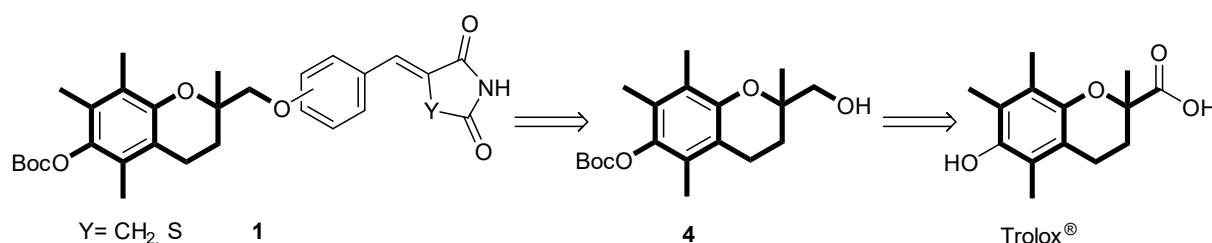


Schéma 4 : Rétrosynthèse des molécules cibles 1.

2.1 Préparation du noyau hydroxyméthylchromane 4

La première étape est l'estérification du Trolox® commercial, en présence d'une quantité catalytique d'acide *para*-toluènesulfonique (APTS) dans l'éthanol (EtOH) à reflux (Schéma 5, Voie a). L'ester **5a** est obtenu avec un excellent rendement de 87 % sans aucune difficulté particulière. Néanmoins, le Trolox® est un substrat coûteux (167 euros pour 5g chez Merck) et, dans un souci d'économie, il nous a semblé opportun de le synthétiser nous-même. S'agissant du précurseur de notre synthèse multi-étapes il est important de l'obtenir simplement, en grande quantité et avec le meilleur rendement possible. Pour cela, nous avons choisi de mettre en œuvre une séquence impliquant une cycloaddition de type hétéro-Diels-Alder entre la 2,3,5-triméthyl-dihydroquinone, le paraformaldéhyde et le méthacrylate de méthyle (Schéma 5 Voies b et c). Lorsque cette réaction est conduite en présence de di-*n*-butylamine *n*-BuNH₂ (10 % mol) dans l'acide acétique AcOH (2.6 éq) à reflux pendant 12 h, seule une très faible quantité du chromane **5b** a été isolée (7 %) après précipitation dans le méthanol (MeOH). Cette séquence, qui conduit en fait à une forte dégradation du substrat,

ne nous a pas permis d'accéder au composé **5b** de façon satisfaisante, bien que décrite dans la littérature avec un rendement de 39 %.¹⁷³

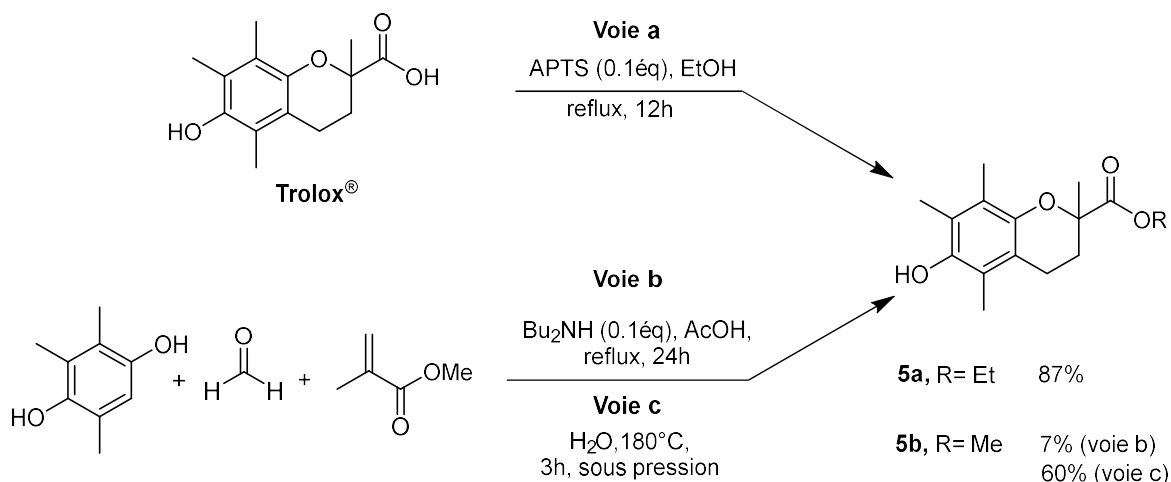


Schéma 5 : Synthèse des esters 5a et 5b.

Nous supposons que cette réaction a lieu selon un mécanisme de type hydroxyméthylation qui permet la formation de la quinone-méthide *in situ*, suivi d'une cycloaddition de type hétéro-Diels Alder (Schéma 6). La réaromatisation du cycle lors de la dernière étape constitue alors la force motrice de cette réaction.

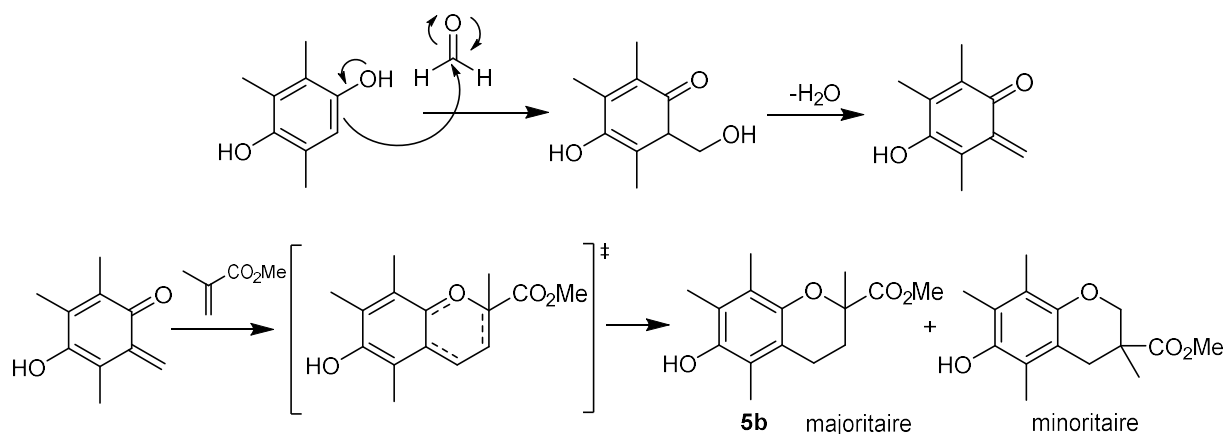


Schéma 6 : Proposition de mécanisme pour la formation de l'ester 5b.

Nous avons alors repris cette méthode de synthèse en mettant en jeu la triméthyl-dihydroquinone en présence de paraformaldéhyde (2.1 éq), d'eau (2.5 éq) et de méthacrylate de méthyle (5.0 éq) dans un réacteur sous pression pendant 3 h (Schéma 5, voie c).¹⁷⁴ A l'issue de cette séquence, l'ester **5b** est obtenu par simple précipitation dans le

¹⁷³ Hyatt, J. A. Convenient Preparation of 2,7,8-Trimethyl-6-hydroxychroman-2-carboxylic Acid (Γ -Trolox). *Synthetic Communications* **2007**, 38 (1), 8–14. doi: 10.1080/00397910701648728.

¹⁷⁴ Ingold, M. *et al.* Green Conditions for Passerini Three-Component Synthesis of Tocopherol Analogues. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* **2014**, 2 (5), 1093–1097. doi: 10.1021/sc5002116.

méthanol (MeOH), ce qui est un véritable gain de temps, avec un rendement de 60 %. Ce protocole nous permet aujourd'hui de préparer rapidement plusieurs dizaines de grammes de l'ester **5b**, en une seule étape et à moindre coût. Cette méthode est basée sur le même mécanisme que précédemment mais l'augmentation de pression dans le milieu réactionnel favorise la formation du produit et diminue le temps de réaction.¹⁷⁵ Le fait d'effectuer cette réaction en milieu fermé permet d'augmenter la température du milieu réactionnel et donc de franchir le gap énergétique entre les orbitales frontières des deux protagonistes, ce qui rend la formation du produit possible. Une analyse rapide du filtrat par chromatographie sur couche mince (CCM) a montré un mélange inextricable de composés que nous n'avons pas identifiés.

Le produit **5b** présente un atome de carbone asymétrique et la réaction de Diels-Alder est normalement stéréosélective. Dans notre cas le substrat est plan ce qui permet une attaque du diénophile par les deux faces de manière équivalente, conduisant ainsi à un racémique.

La fonction phénol de **5b** a ensuite été protégée par un groupement Boc, d'une part pour masquer la fonction acide et simplifier ainsi la réduction de l'ester de **6** en alcool **4** par action de LiAlH₄ et d'autre part pour éviter la coexistence d'un alcool primaire et d'un phénol qui conduirait à des soucis de chimiosélectivité. La protection réalisée en présence de di-*tert*-butyl-dicarbonat (1.1 éq) et de *N,N*-diméthylaminopyridine (DMAP) (0.1 éq) dans le dichlorométhane (CH₂Cl₂) pendant 30 minutes conduit au produit **6** avec un rendement de 85 %, après précipitation dans le *n*-hexane. La réduction de l'ester nécessite un suivi rigoureux par chromatographie sur couche mince (CCM) pour éviter la déprotection du phénol par attaque nucléophile d'un hydrure. Ainsi l'emploi d'un nombre réduit d'équivalents de LiAlH₄ (0.85 éq) et son addition à 0°C ont permis d'isoler l'alcool **4** avec un rendement de 75 % (Schéma 7).¹⁶⁷ Des sous-produits de dégradation ainsi que le diol issu de la déprotection de la fonction phénol ont également été observés.

¹⁷⁵ Tietze, L. F. *et al.* Hetero Diels-Alder Reactions in Organic Chemistry. In *Stereoselective Heterocyclic Synthesis I*; Metz, P., Ed.; de Meijere, A., Houk, K. N., Lehn, J.-M., Ley, S. V., Thiem, J., Trost, B. M., Vögtle, F., Yamamoto, H., Series Eds.; Topics in Current Chemistry; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1997; Vol. 189, pp 1–120. doi: 10.1007/BFb0119240.

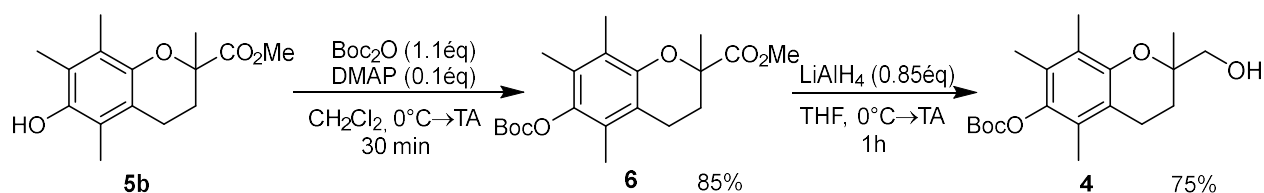


Schéma 7 : Protection de la fonction phénol et réduction de l'ester.

2.2 Obtention des régioisomères *ortho* et *méta* en séries soufrée et désoufrée

L'alcool **4** est le précurseur commun aux différents analogues oxygénés de la $\Delta 2$ -TGZ (série soufrée) et du TSN (série désoufrée) que nous avons choisi de préparer, quelle que soit la position relative (*ortho*, *méta* ou *para*) du motif benzylidène par rapport au noyau hydroxyméthylchromane (Schéma 8).

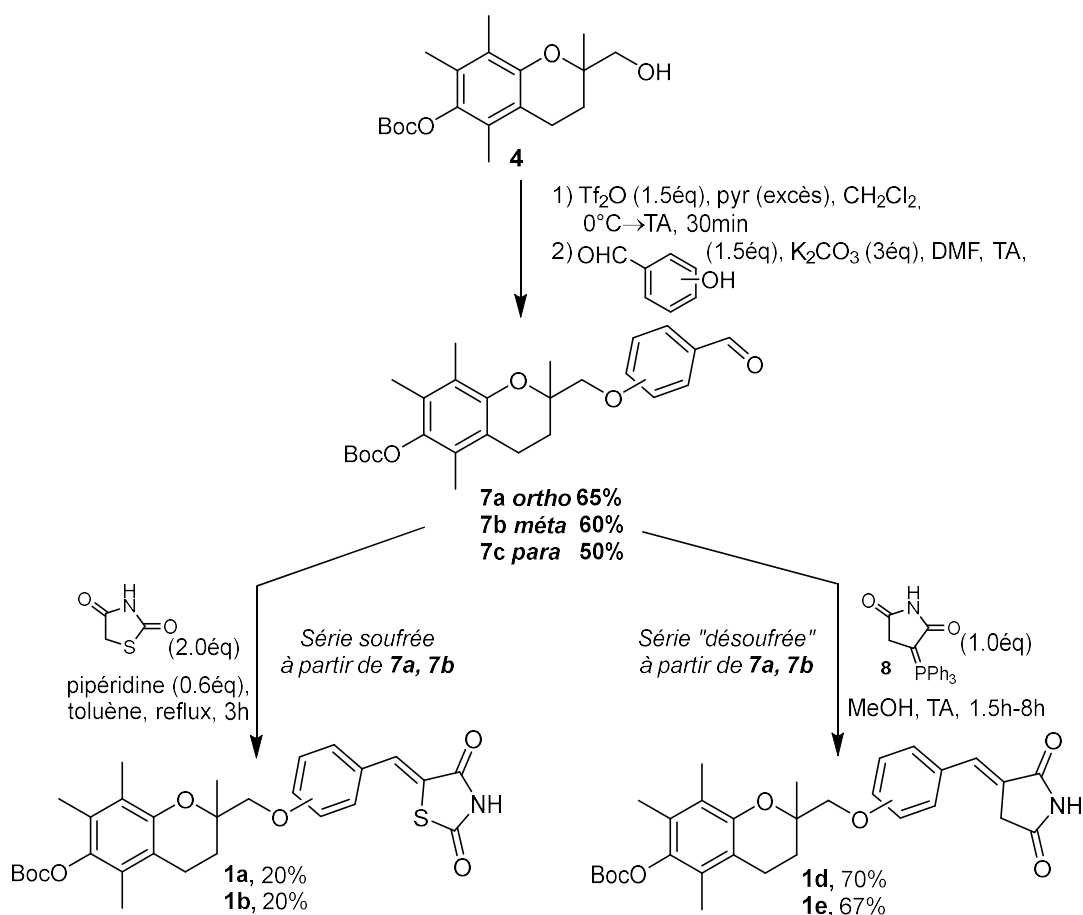


Schéma 8 : Préparation des composés cibles 1a-b,d-e.

Les régioisomères *ortho* et *méta* de la $\Delta 2$ -TGZ et du TSN ont été obtenus selon des séquences de synthèse similaires. Une forme activée de l'alcool **4**, le triflate obtenu quantitativement par action de l'anhydride triflique (Tf_2O) dans CH_2Cl_2 en présence d'un excès de pyridine (pyr.) et non isolé, est mise en jeu dans une réaction de substitution nucléophile, en présence de l'hydroxybenzaldéhyde (1.5 équivalent) comme nucléophile et de

carbonate de potassium (K₂CO₃, 3.0 éq) dans le DMF. L'inconvénient majeur de cette étape est que la réaction de substitution nucléophile est très lente (plusieurs jours) avec un rendement qui reste moyen (environ 60 %). Selon ces conditions, les isomères *ortho* **7a** et *para* **7c** ont été obtenus par précipitation dans le *n*-hexane et le méthanol respectivement avec des rendements de 65 % et de 50 %, alors que l'isomère *mé*ta **7b** qui nécessite une purification par chromatographie, a été isolé avec un rendement de 60 % (Schéma 8).

La construction du motif benzylidène-TZD est ensuite réalisée en mettant en œuvre une réaction de Knoevenagel entre les arylaldéhydes **7a** et **7b** et la TZD (2.0 éq) en présence de pipéridine (0.6 éq) dans le toluène à reflux (Schéma 8).

Cette étape s'est avérée particulièrement difficile, autant pour l'isomère *ortho* que pour l'isomère *mé*ta. En effet, de nombreux sous-produits non identifiés ont été formés rendant leur purification par chromatographie complexe. Par ailleurs, nous avons observé une dégradation des produits lors de l'étape de purification sur silice. Malgré tout, les deux composés **1a** et **1b**, isomères *ortho* et *mé*ta de la Δ²-TGZ, ont été isolés avec des rendements de 20 % et ont finalement été engagés dans des tests biologiques (les résultats sont présentés dans la seconde partie de ce chapitre). L'isomère *para* **1c** a, par ailleurs, déjà été synthétisé au laboratoire à l'occasion des études précédentes¹⁶⁷ et n'a pas été préparé dans le cadre de ce travail.

Les isomères *ortho* **1d** et *mé*ta **1e** du Trosuccinimide ont été obtenus par une réaction de type Wittig entre les arylaldéhydes **7a** et **7b** et l'alkylidène phosphorane **8** (1.0 éq) dans MeOH à température ambiante (Schéma 8).¹³⁶ L'alkylidène **8** est préparé aisément par réaction de la triphénylphosphine (PPh₃) (1.0 éq) sur le maléimide (1.0 éq) dans l'acétone à reflux (91 % de rendement)¹⁷⁶ et peut être conservé plusieurs mois à 4°C. A l'issue de cette condensation, dont la durée varie de quelques heures (composé **1e**) à une journée (composé **1d**), les produits **1d** et **1e** précipitent dans MeOH et ont été isolés après simple filtration avec de bons rendements de 70 % et 67 % respectivement. La configuration de la double liaison a pu être déterminée par étude de l'effet NOE en RMN de l'hydrogène : les deux composés sont de configuration (*E*) (Annexe 2).

Pour conclure sur cette première partie, les isomères de position **1a, b** de la Boc-Δ²-TGZ et **1d, e** du Boc-TSN ont été préparés grâce à une synthèse en quatre étapes à partir de

¹⁷⁶ Brackman, G. *et al.* Synthesis and Evaluation of Thiazolidinedione and Dioxazaborocane Analogues as Inhibitors of AI-2 Quorum Sensing in *Vibrio Harveyi*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2013**, *21* (3), 660–667. doi: 10.1016/j.bmc.2012.11.055.

l'ester chromane **5b**, avec des rendements globaux égaux à 7 % et 6 % pour les composés soufrés, et 22 % et 25 % pour les composés désoufrés. Les synthèses se sont montrées plus délicates qu'attendues en raison de l'encombrement stérique des molécules, du grand nombre d'hétéroatomes et de la fragilité des composés. Malgré les difficultés rencontrées, nous avons réussi à préparer suffisamment de produit pour permettre une étude biologique et donc connaître l'influence de la position relative (*ortho*, *mé*ta, *para*) du noyau benzylidène sur l'activité antiproliférative des composés.

2.3 Modulation du cycle aromatique central

Afin de comprendre les relations structure-activité de la Troglitazone et de ses dérivés, nous avons cherché à modifier le cycle aromatique central en le remplaçant par un cycle de réactivité et d'encombrement différents : un naphthyle ou un cyclohexyle.

La stratégie de synthèse pour l'obtention des dérivés naphthyles est identique à celle mise en œuvre précédemment. Le chromanol **4** est activé sous forme d'un triflate puis ce dernier est déplacé par le 2-hydroxy-1-naphthaldéhyde (noté 2-Naph) ou le 4-hydroxy-1-naphthaldéhyde (noté 4-Naph) (1.5 éq) dans le DMF en présence de K₂CO₃ (3.0 éq) pour conduire, après 24 h de réaction à température ambiante, aux composés **9a** et **9b** avec des rendements de 43 % et 35 % respectivement (Schéma 9). Afin d'améliorer ces rendements nous avons remplacé K₂CO₃ par le carbonate de césium (Cs₂CO₃) pour tenter de diminuer les temps de réaction et donc limiter la formation de sous-produits de décomposition.^{177,178} Le carbonate de césium présente l'avantage d'être plus soluble dans le DMF que le carbonate de potassium ce qui facilite la réaction. Par ailleurs il semblerait que les ions césium soient mieux solvatés par le DMF que les ions potassium, ce qui favorise la dissociation des paires d'ions et conduit ainsi à un anion phénate plus réactif.¹⁷⁹ Dans ces conditions les composés **9a** et **9b** ont été obtenus après 24 h de réaction avec des rendements de 24 % et 35 % respectivement. Ces résultats nous montrent que dans ce cas, la mise en œuvre du carbonate de césium ne permet pas de diminuer le temps de réaction ni d'améliorer les rendements. Sa toxicité étant par ailleurs bien plus importante que celle du carbonate de potassium

¹⁷⁷ Lee, J. C. *et al.* Facile Synthesis of Alkyl Phenyl Ethers Using Cesium Carbonate. *Synthetic Communications* **1995**, 25 (9), 1367–1370. doi: 10.1080/00397919508013838.

¹⁷⁸ Parrish, J. P. *et al.* Improved Cs₂CO₃ Promoted *O*-Alkylation of Phenols. *Synthetic Communications* **1999**, 29 (24), 4423–4431. doi: 10.1080/00397919908086606.

¹⁷⁹ Dijkstra, G. *et al.* An Assessment of the Causes of the "Cesium Effect." *The Journal of Organic Chemistry* **1987**, 52 (19), 4230–4234. doi: 10.1021/jo00228a015.

(composé classé CMR alors que le carbonate de potassium est inoffensif) son utilisation a été abandonnée pour cette synthèse.

Les naphthaldéhydes **9a** et **9b** ont ensuite été engagés uniquement dans une réaction de Wittig avec l'ylure de succinimide dans MeOH à température ambiante comme pour **1d** et **1e** (Schéma 9). Cette étape s'est révélée particulièrement difficile puisque 4.0 équivalents d'ylure et 5 jours de réaction ont été nécessaires, ce qui est probablement dû à la très faible solubilité des aldéhydes **9a** et **9b** dans MeOH. Le composé **2f** a finalement été obtenu après filtration avec un rendement de 30 %, le filtrat ne contenant que des produits de dégradation, alors que le produit **2d** n'a jamais été isolé (aucune conversion observée).

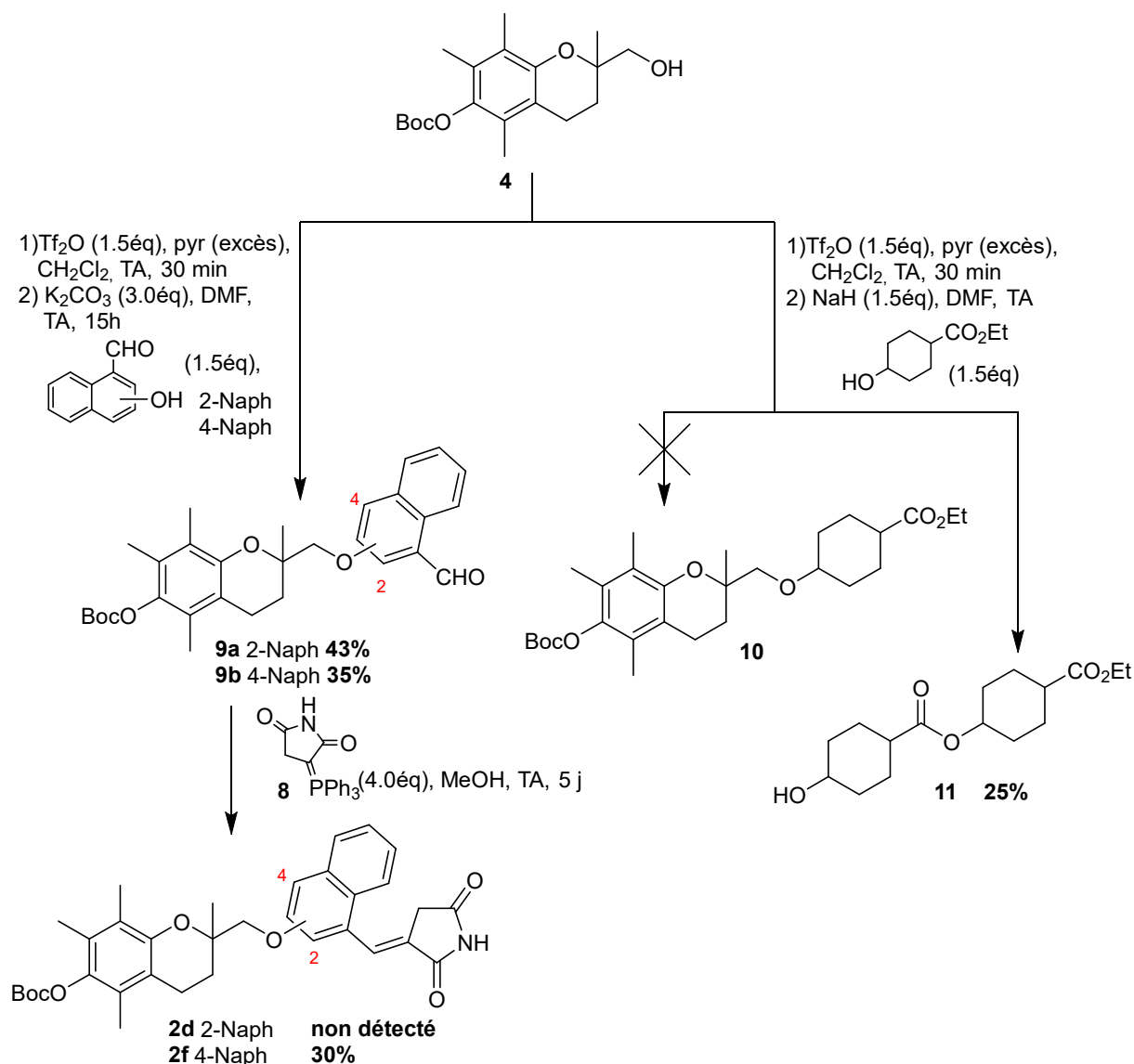


Schéma 9 : Préparation des analogues naphtyles **2d,f** et cyclohexyle **10**.

Le rendement global obtenu pour la préparation de **2f** en quatre étapes à partir de la dihydroquinone est égal à 7 %. L'étude de l'activité antiproliférative des différents composés

synthétisés précédemment ayant montré de meilleurs résultats pour les isomères du $\Delta 2$ -TSN (voir résultats dans la seconde partie du chapitre), les analogues soufrés **2a,c** issus de la réaction de Knoevenagel entre les aldéhydes **9a,b** et la TZD n'ont pas été préparés.

Pour établir un élément de comparaison, nous avons décidé de réaliser cette réaction de Wittig sur le 2-hydroxynaphthaldéhyde commercial (2-Naph) afin de vérifier que les conditions de réaction étaient appropriées (Schéma 10). Dans MeOH, la réaction de Wittig a lieu avec un rendement qui reste moyen de 45 % ce qui peut être expliqué par la faible solubilité du 2-Naph dans MeOH. D'autres essais ont alors été engagés dans le DMF et dans le THF, solvants dans lesquels le 2-Naph est soluble, conduisant à des rendements de 68 % et 61 % respectivement, ce qui vérifie notre hypothèse.

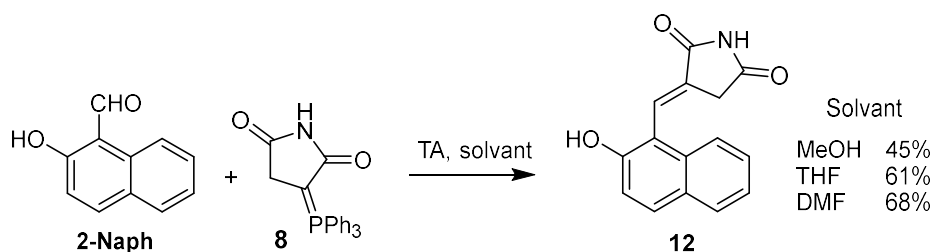


Schéma 10 : Réaction de Wittig entre l'alkylidène 8 et le 2-Naph commercial dans différents solvants.

Le DMF étant un solvant plus difficile à éliminer que le THF et les résultats précédents montrant une faible différence de rendement entre le DMF et le THF, nous avons mis en œuvre la réaction de Wittig impliquant le naphthaldéhyde **9a** dans le THF à température ambiante. Malheureusement bien que la solubilité du substrat soit meilleure, le produit attendu n'a pas été obtenu, le suivi de réaction ne montrant strictement aucune évolution même après plusieurs jours. Une augmentation de la température du milieu réactionnel n'a pas permis d'améliorer le résultat puisque nous avons observé par CCM la dégradation des composés. Il est très probable que la gêne stérique autour du carbonyle empêche le bon déroulement de la réaction, cet encombrement n'étant pas présent lorsque l'hydroxynaphthaldéhyde est libre ou lorsque l'aldéhyde est en position 4 par rapport à l'éther (Figure 21).

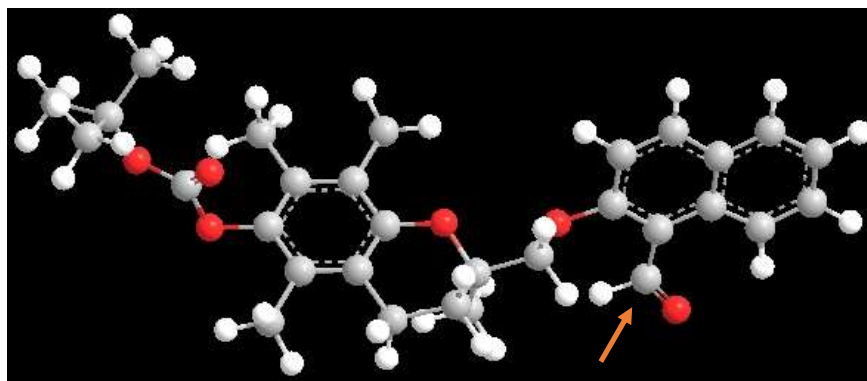


Figure 21 : Représentation 3D du naphthaldéhyde 9a. La flèche orange pointe le carbonyle engagé dans la réaction de Wittig.*

Une stratégie de synthèse identique a été mise en œuvre afin d'obtenir l'analogue non aromatique de la Δ 2-TGZ (Schéma 9). Le cyclohexanol envisagé est obtenu après réduction de la 4-(éthoxycarbonyl)cyclohexanone par NaBH_4 (1.2 éq) dans MeOH pendant 1 h (rendement 90 %).¹⁸⁰ Il est ensuite engagé dans la réaction de substitution nucléophile avec l'alcool **4** activé sous forme de triflate dans le DMF en présence de NaH (1,5 éq). Le pKa du cyclohexanol étant plus élevé que celui d'un phénol l'utilisation d'une base plus forte ici est nécessaire pour déprotonner la fonction hydroxyle. Néanmoins, l'éther **10** attendu n'a jamais été isolé. Il est probable que le carbone du chromane soit trop encombré et donc trop peu réactif. Face à un phénol ou un naphthol, plans, la réaction de substitution nucléophile de type 2 est possible, mais face à un cyclohexanol non plan la substitution n'a plus lieu (Figure 22). Par ailleurs, nous avons observé par analyse « LC-MS » la formation du produit de transestérification **11** du cyclohexanol à hauteur de 25 %.

¹⁸⁰ Rabal, O. *et al.* Design, Synthesis, and Biological Evaluation of First-in-Class Dual Acting Histone Deacetylases (HDACs) and Phosphodiesterase 5 (PDE5) Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, 59 (19), 8967–9004. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00908.

* Représentation établie grâce aux logiciels ChemDraw et Chem3D après minimisation de l'énergie.

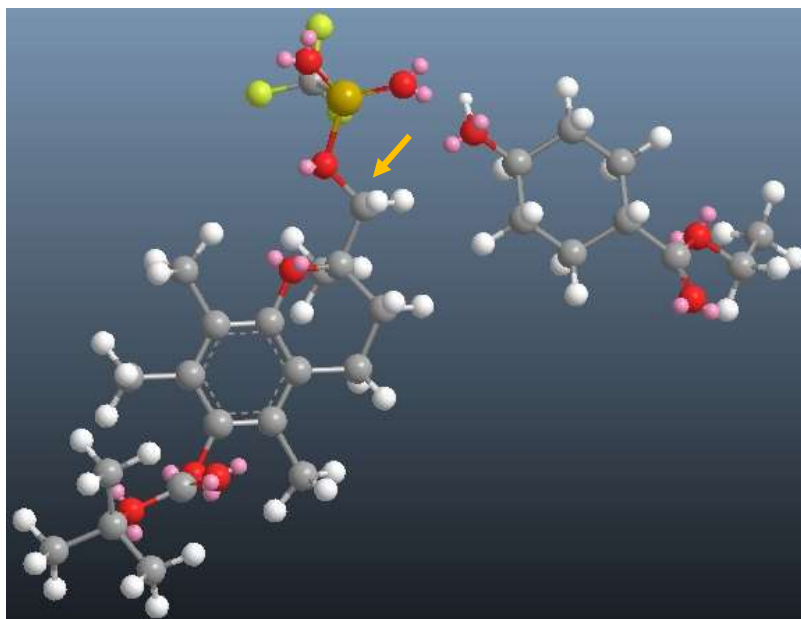


Figure 22 : Représentation 3D du chromane activé sous forme de triflate et du cyclohexanol. La flèche jaune pointe l'atome de carbone engagé dans la réaction de S_N2 .*

2.4 Déprotection de la fonction phénol

Afin de comparer les propriétés antiprolifératives des nouveaux composés **1-2** à la Troglitazone il est indispensable de libérer la fonction phénol du chromane. Après action d'acide trifluoroacétique (TFA) dans CH_2Cl_2 (20 % de TFA) pendant 30 min, à température ambiante (Schéma 11), les composés **13a,d,e** et **14f** ont été obtenus de façon quantitative après évaporation du milieu sans traitement ni purification ultérieurs. Le composé **13b** n'a pas pu être déprotégé en raison de la trop faible quantité obtenue lors de sa synthèse.

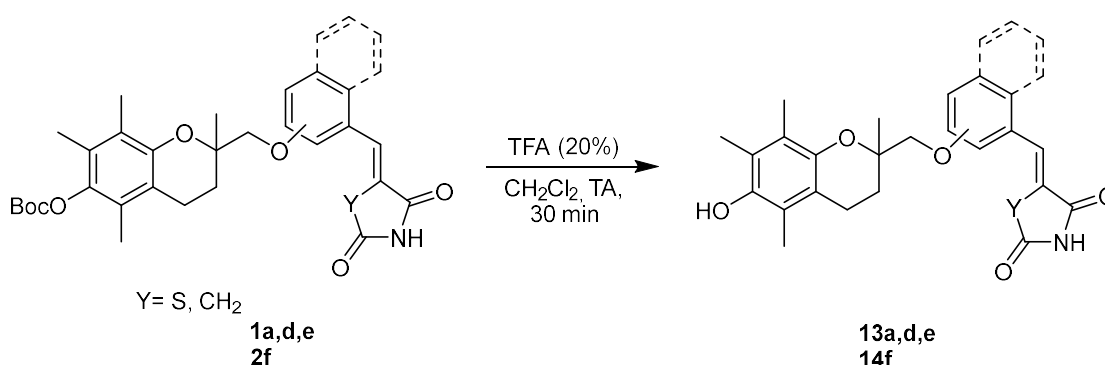


Schéma 11 : Déprotection de la fonction phénol des composés **1a,d-e** et **2f**.

3 Modulation de l'hétéroatome central : préparation des analogues azotés

Le deuxième objectif de ce travail était de substituer l'hétéroatome central, l'atome d'oxygène dans l'**AB186** ou l'**EP13** ou la Δ^2 -TGZ, par un autre. En raison des propriétés nucléophiles et acido-basiques intéressantes des amines, l'atome d'azote a été sélectionné pour cette modulation. Pour obtenir ces composés azotés plusieurs stratégies ont été envisagées. La première s'appuie sur celle décrite précédemment en série oxygénée : l'hydroxyméthylchromane **4** est activé sous forme de triflate puis engagé dans une réaction de substitution nucléophile avec une amine aromatique (Schéma 12 Voie 1). La seconde stratégie est une séquence mettant en œuvre une amination réductrice par condensation d'une arylamine primaire sur l'aldéhyde chromane **15** facilement accessible à partir de l'ester **5b** (Schéma 12 Voie 2).

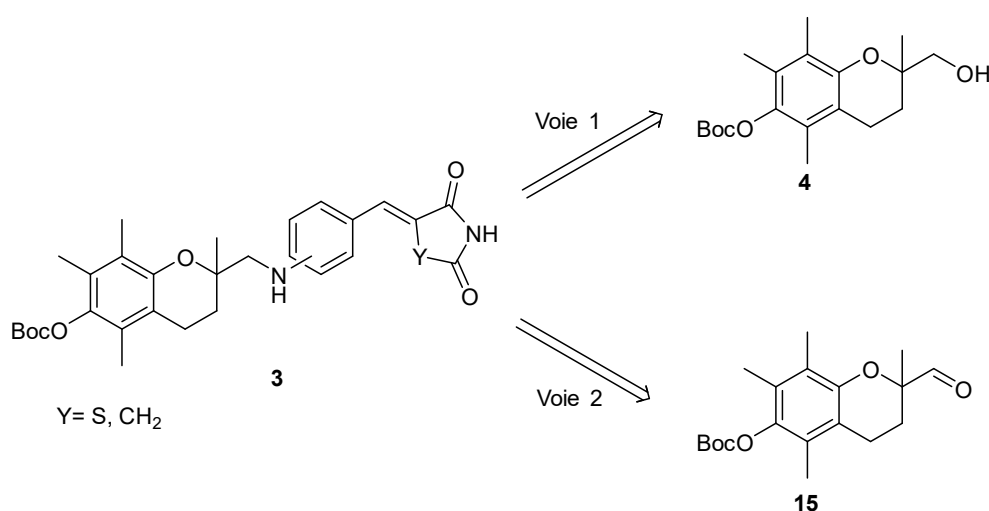


Schéma 12 : Voies de synthèse envisagées vers les analogues azotés 3.

Pour le développement de ces deux voies de synthèse, nous avons besoin de préparer une arylamine primaire comme partenaire nucléophile.

3.1 Obtention des arylamines primaires

Nous avons exploré deux alternatives pour la construction du motif aminobenzylidène : la première envisage l'attaque sur le dérivé chromane d'une formylamine comme nucléophile puis la condensation du cycle à cinq chaînons sur l'aldéhyde ; la seconde prévoit la mise en œuvre d'une amine primaire sur laquelle le motif TZO est déjà greffé. Dans ces deux stratégies les nitrobenzaldéhydes commerciaux sont utilisés comme précurseurs des amines primaires.

La préparation de la formylamine primaire à partir du nitrobenzaldéhyde nécessite en premier lieu la protection du groupement carbonyle sous forme d'un acétal **16**, en présence d'une quantité catalytique d'APTS dans MeOH à reflux (rendement 82 %), puis la réduction sous hydrogène H₂ du groupement nitro en amine **17** (Schéma 13).¹⁸¹ La protection de l'aldéhyde est indispensable ici afin d'éviter la polymérisation de l'aminobenzaldéhyde envisagé. Bien que le produit **17** ait été identifié par RMN ¹H, nous avons rapidement observé une dégradation du composé (changement de couleur du produit et apparition de nombreuses tâches sur la CCM), indiquant que ces amines aromatiques ne sont pas stables.

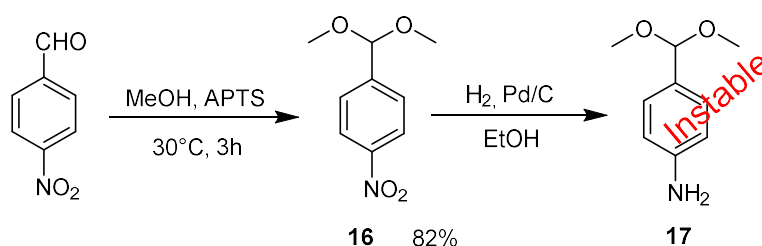


Schéma 13 : Première voie de synthèse des arylamines.

Nous avons donc mis en œuvre la seconde stratégie consistant à préparer des amines primaires déjà pourvues du cycle à cinq chaînons. Pour cela les nitrobenzaldéhydes ont été engagés dans une réaction de Knoevenagel avec la TZD (1.0 éq) en présence de β-alanine (1.3 éq) dans AcOH à reflux, ou dans une réaction de Wittig avec l'alkylidène phosphorane **8** (1.0 éq) dans MeOH à température ambiante, pour conduire après filtration aux nitrobenzylidènes **18a-f** avec de très bons rendements compris entre 65 et 90 % (Schéma 14).

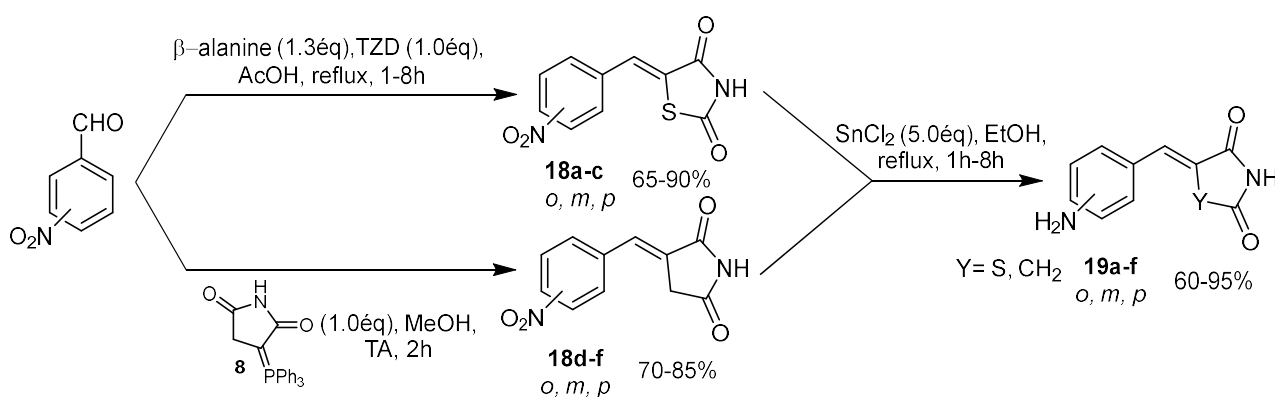


Schéma 14 : Préparation des amino-benzylidènes 19a-f.

¹⁸¹ Via, L. D. *et al.* DNA-Targeting Pyrroloquinoline-Linked Butenone and Chalcones: Synthesis and Biological Evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, 44 (7), 2854–2861. doi: 10.1016/j.ejmech.2008.12.011.

La configuration de la double liaison a été déterminée par diffraction des rayons X pour les composés **18a,b** (configuration (*Z*), Figure 23) et par étude de l'effet NOE en RMN ^1H pour les composés **18d** et **19e** (configuration (*E*), Annexe 2).

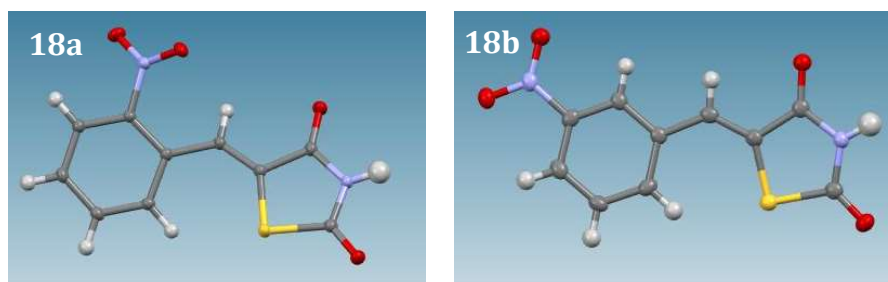


Figure 23 : Structures des composés **18a** (CCDC : 2151344) et **18b** (CCDC : 2151342) après analyse par diffraction des rayons X.

Le groupement nitro a ensuite été réduit de manière sélective en présence d'un excès de SnCl_2 (5.0 éq) dans l'éthanol (EtOH) à reflux pour conduire aux amines **19a-f** sans purification supplémentaire, avec des rendements compris entre 60 et 95 % (Schéma 14).¹⁸² Néanmoins le traitement des amines ainsi préparées est difficile en raison de la présence de sels d'étain en solution qui favorisent la formation d'émulsions lors des lavages aqueux et également en raison de la faible solubilité de certaines amines dans la phase organique.

Lors de la synthèse de l'amine **19a** (*ortho* soufrée), nous avons observé la présence d'un sous-produit (environ 10 %, déterminé par RMN ^1H) qui a été isolé par cristallisation dans MeOH puis identifié et caractérisé par RMN, HR-MS et DRX. Ce sujet sera abordé dans le chapitre 3. La présence persistante de ce sous-produit ne nous a pas permis d'isoler l'amine **19a** avec une pureté supérieure à 90 %.

3.2 Synthèse des composés cibles

La première stratégie que nous avons choisie de développer s'appuie sur celle décrite précédemment en série oxygénée. L'hydroxyméthylchromane **4** est activé sous forme de triflate et engagé dans une réaction de substitution nucléophile avec l'amine aromatique **19f**, dans le DMF en présence de K_2CO_3 (2.0 éq) (Schéma 15). Cette méthode a conduit au composé **20** issu de l'attaque de l'azote du cycle à cinq chaînons sur le triflate avec un rendement de 11 %. L'analyse du brut réactionnel a révélé que l'alcool **4** était majoritaire et

¹⁸² Bellamy, F. D. *et al.* Selective Reduction of Aromatic Nitro Compounds with Stannous Chloride in Non Acidic and Non Aqueous Medium. *Tetrahedron Letters* **1984**, 25 (8), 839–842. doi: 10.1016/S0040-4039(01)80041-1.

n'a pas montré la formation de l'amine **3f**. Le composé **20** a été complètement caractérisé par RMN (Annexe 2).

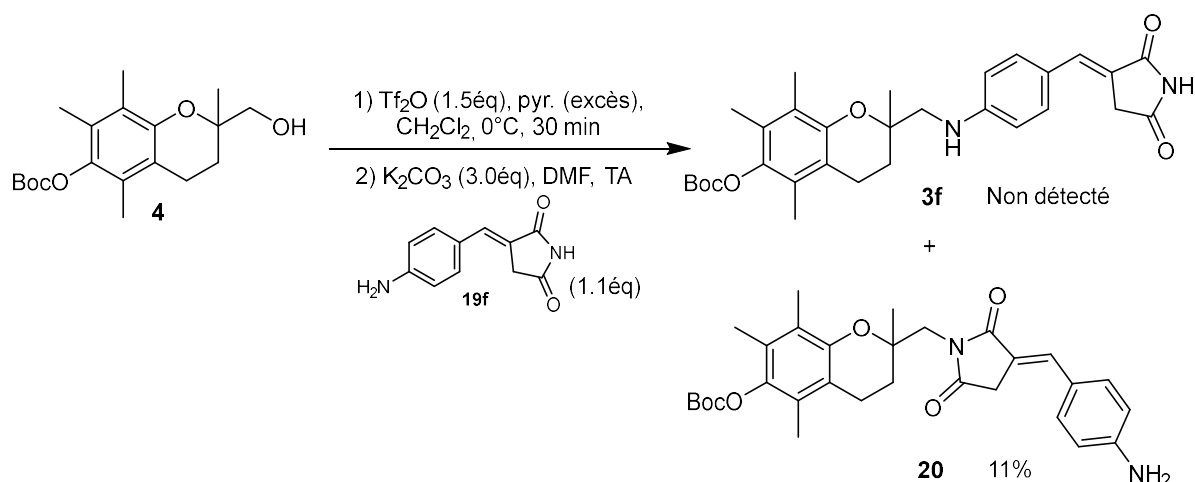


Schéma 15 : Tentative de réaction de type $\text{S}_{\text{N}}2$ pour la synthèse de l'amine **3f**.

Nous avons donc mis en œuvre une autre stratégie : la formation des amines secondaires par réaction d'amination réductrice (Schéma 16).

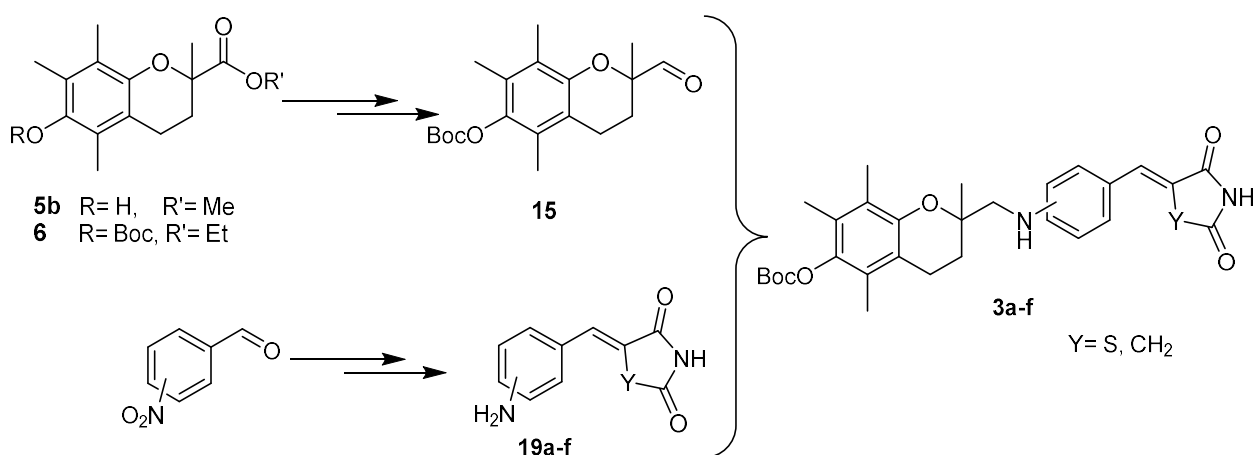


Schéma 16 : Préparation des composés azotés **3a-f** par amination réductrice.

3.2.1 Synthèse de l'aldéhyde **15**

La stratégie choisie pour préparer les amines secondaires (amination réductrice) implique la préparation d'un aldéhyde **15**. Celui-ci peut être obtenu par réduction directe des esters **5b** ou **6** par le DIBAL-H, qui est un hydrure d'aluminium reconnu pour réduire sélectivement les esters en aldéhydes à très basse température (-80°C). La protection de la fonction phénol peut avoir lieu avant ou après cette étape mais est dans tous les cas, nécessaire pour éviter des réactions parasites lors de la réaction d'amination réductrice. Contrairement à ce que nous avons prévu, cette réduction s'est avérée particulièrement

compliquée. En effet malgré de nombreux essais impliquant des modulations de solvants, de substrats, de quantités de DIBAL-H, nous n'avons pas réussi à obtenir l'aldéhyde comme seul produit de réduction, puisque lorsqu'il s'est formé il a été systématiquement récupéré en mélange avec l'ester de départ.

Compte-tenu de ces résultats, nous avons opté pour une autre stratégie consistant en l'oxydation contrôlée de l'alcool **4** par la méthode de Swern mettant en jeu le chlorure d'oxalyle (1.1 éq), le DMSO (2.2 éq) et la triéthylamine Et₃N (5.0 éq) dans CH₂Cl₂ à -60°C (Schéma 17).¹⁸³ Cette étape de synthèse nous a permis d'isoler rapidement l'aldéhyde **15**, avec un rendement de 90 % après purification par chromatographie.

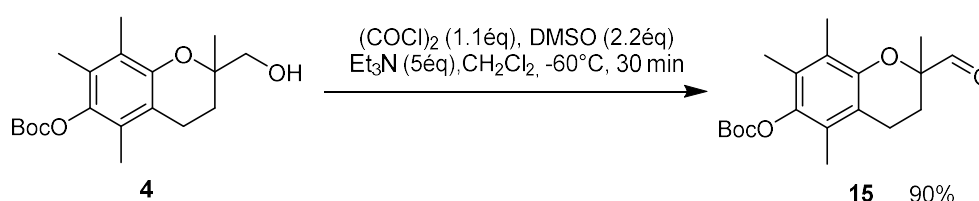


Schéma 17 : Préparation de l'aldéhyde 15 selon la méthode de Swern.

Nous avons cherché à comprendre les raisons pour lesquelles la réduction directe de l'ester **5b** en aldéhyde **15** avec le DIBAL-H fonctionnait difficilement. Nous pensions que cela pouvait être dû à l'encombrement stérique autour de la fonction ester, le DIBAL-H étant lui aussi encombré. C'est pourquoi nous avons synthétisé un analogue déméthylé de l'ester **5b**. Pour cela nous avons repris le protocole mettant en œuvre la 2,3,5-triméthylhydroquinone et le paraformaldéhyde mais cette fois-ci avec l'acrylate de méthyle, à 180°C en réacteur fermé, conduisant à l'ester **21** avec un rendement de 52 % après précipitation dans l'éther diéthylique (Schéma 18).

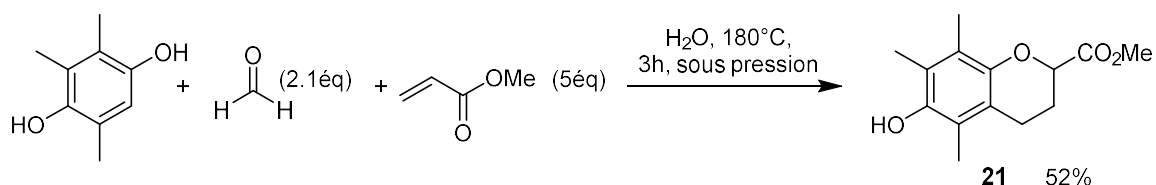


Schéma 18 : Obtention de l'analogue déméthylé du chromane 5b.

La réduction du composé a été effectuée sans protection préalable de la fonction phénol par un groupement Boc, dans le THF à -80°C pendant 2 h ce qui a conduit, après purification sur silice, à l'aldéhyde **22** avec un rendement de 67 % (Schéma 19). Ces résultats nous montrent

¹⁸³ Omura, K. *et al.* Oxidation of Alcohols by "Activated" Dimethyl Sulfoxide. a Preparative, Steric and Mechanistic Study. *Tetrahedron* **1978**, 34 (11), 1651-1660. doi: 10.1016/0040-4020(78)80197-5.

que l'encombrement de l'ester de chromane joue un rôle essentiel dans la réduction de celui-ci en aldéhyde.

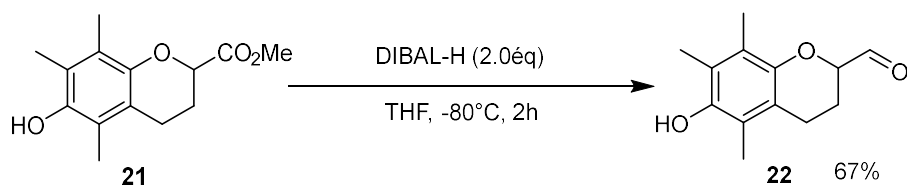


Schéma 19 : Réduction de l'ester 21 en aldéhyde par le DIBAL-H.

3.2.2 Amination réductrice

Après avoir préparé d'une part les amino-benzylidènes **19a-f** et d'autre part l'aldéhyde chromane **15**, la dernière étape de cette synthèse convergente consiste à réaliser la condensation entre ces synthons. Pour cela une amination réductrice, réaction permettant de créer des liaisons carbone-azote, a été mise en œuvre. Elle met en jeu un composé carbonylé (aldéhyde ou cétone), une amine primaire ou secondaire, un agent réducteur (NaBH_3CN) ainsi qu'un donneur de protons (AcOH). L'utilisation d'un aldéhyde, plus électrophile qu'une cétone, et d'une amine primaire nucléophile, devrait créer des conditions favorables pour le succès de cette étape. Le mécanisme de cette réaction implique la formation d'une imine, issue de la condensation de l'aldéhyde et de l'amine, qui est ensuite réduite par l'agent réducteur. L'acide acétique présent ici permet d'activer l'aldéhyde puis favorise le départ de la molécule d'eau pour la formation de l'imine.

L'amine aromatique, le cyanoborohydrure de sodium (NaBH_3CN) et l'acide acétique ont été introduits dans des proportions stœchiométriques par rapport à l'aldéhyde dans le méthanol à température ambiante.¹⁸⁴ La réaction est effectuée de façon monotopie, l'imine formée étant immédiatement réduite en amine secondaire (Schéma 20).

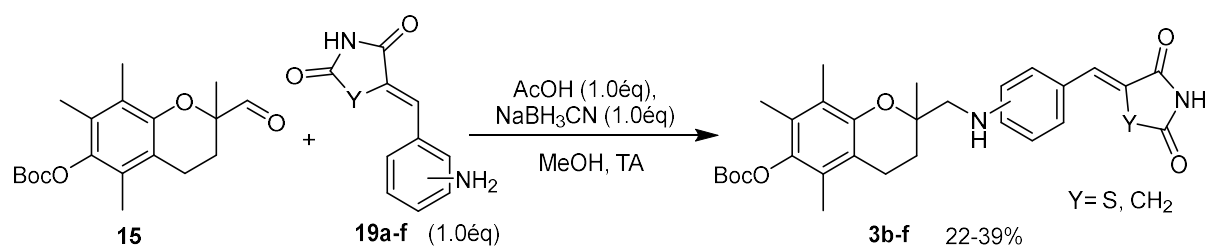


Schéma 20 : Réaction d'amination réductrice conduisant aux composés 3b-f.

¹⁸⁴ Simoni, D. *et al.* Heterocycle-Containing Retinoids. Discovery of a Novel Isoxazole Arotinoid Possessing Potent Apoptotic Activity in Multidrug and Drug-Induced Apoptosis-Resistant Cells. *Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, *44* (14), 2308–2318. doi: 10.1021/jm0010320.

Après un temps de réaction variant de 2h à une nuit, les produits attendus **3b-f** ont été obtenus en mélange avec majoritairement (environ 50 %) l'alcool **4** issu de la réduction directe de l'aldéhyde **15** par NaBH_3CN . L'ajout d'acide acétique dans le milieu n'impacte pas, ou très peu (15 % maximum), la protection de la fonction phénol, mais est indispensable sinon seul l'alcool **4** est obtenu. Malgré les différentes tentatives réalisées pour limiter la formation de l'alcool, les rendements isolés après purification par chromatographie sont voisins de 30 %. Nous pensons que la faible solubilité des amines dans MeOH ainsi que l'encombrement de l'aldéhyde **15** sont responsables de ces rendements médiocres.

Pour comparaison, un essai de réaction dans les mêmes conditions mettant en œuvre un aldéhyde commercial simple, le *para*-méthoxybenzaldéhyde, a été réalisé (Schéma 21a). Dans ce cas, le produit **23** a été isolé avec un rendement de 85 % en moins de 1 h, ce qui montre que bien que l'amine soit peu soluble dans MeOH, la réaction a lieu rapidement et avec de bons rendements. Un autre essai impliquant l'aldéhyde **15** et l'aniline commerciale a permis d'isoler le produit **24** avec un rendement de 39 % (Schéma 21b). Ainsi, l'utilisation de l'aniline non substituée conduit au produit de condensation avec un rendement légèrement meilleur que lorsque l'amine est substituée par le fragment benzylidène. Ce résultat n'est pas surprenant étant donné que ce groupement diminue la nucléophilie de l'amine par son caractère attracteur. D'autre part nous pouvons déduire de ces résultats que la difficulté de cette réaction est surtout due à l'aldéhyde **15**, qui est probablement trop encombré pour pouvoir se condenser sur l'amine.

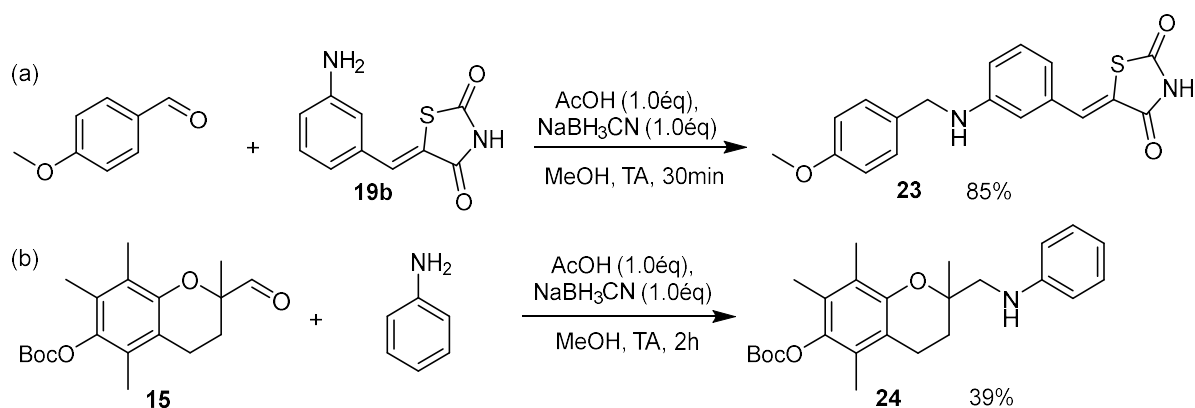


Schéma 21 : Modèles pour l'amination réductrice.

Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons mis en jeu l'aldéhyde **22** obtenu avec l'arylamine **19c** dans les mêmes conditions que précédemment, c'est-à-dire dans MeOH en présence de NaBH_3CN (1.0 éq) et de AcOH (1.0 éq) pendant 2 h. Dans ces conditions le

produit de condensation **25** a été obtenu après traitement par précipitation dans MeOH avec un rendement de 38 % (Schéma 22).

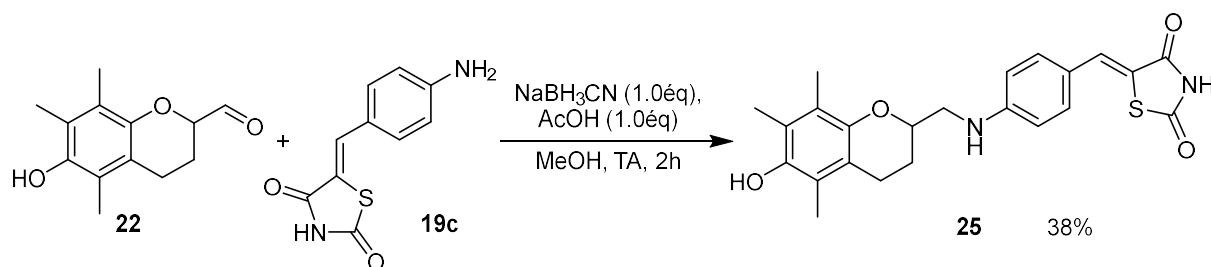


Schéma 22 : Réaction d'amination réductrice entre l'aldéhyde **22 et l'amine **19c**.**

Lorsque la réaction est effectuée avec l'aldéhyde chromane **15**, le produit de réaction correspondant **3c** est obtenu avec un rendement de 27 %, après purification par chromatographie. On observe ainsi que la diminution de l'encombrement permet d'améliorer le rendement de la réaction même si celui-ci reste moyen, la faible nucléophilie de l'amine étant sans doute responsable de ce résultat. De plus, le fait d'utiliser un substrat déprotégé permet de s'affranchir du risque de déprotection par l'acide acétique, ce qui élimine le risque de formation d'un sous-produit supplémentaire et facilite donc la purification du produit.

L'activité antiproliférative du composé **25** a pu être évaluée *in vitro* et les résultats sont présentés dans la seconde partie de ce chapitre.

Malgré toutes ces difficultés nous sommes parvenus à synthétiser les composés **3b-f** selon une méthode simple, en cinq étapes à partir de la triméthylhydroquinone avec des rendements globaux compris entre 3 et 7 %. Le composé **3a** issu de la réaction de l'aldéhyde **15** avec l'amine **19a** (*ortho* soufrée) contenant un sous-produit n'a pas été isolé pur malgré de nombreux essais.

3.2.3 Arylmination Pd catalysée

Une autre méthode de création de liaisons carbone-azote est la réaction d'arylmination palladocatalysée. C'est une réaction qui a été développée par Hartwig et Buchwald^{185,186,187,188} à la fin des années 1990 et qui est très utilisée en synthèse. Cette réaction met en jeu un composé aromatique halogéné et une amine primaire ou secondaire (Schéma 23).

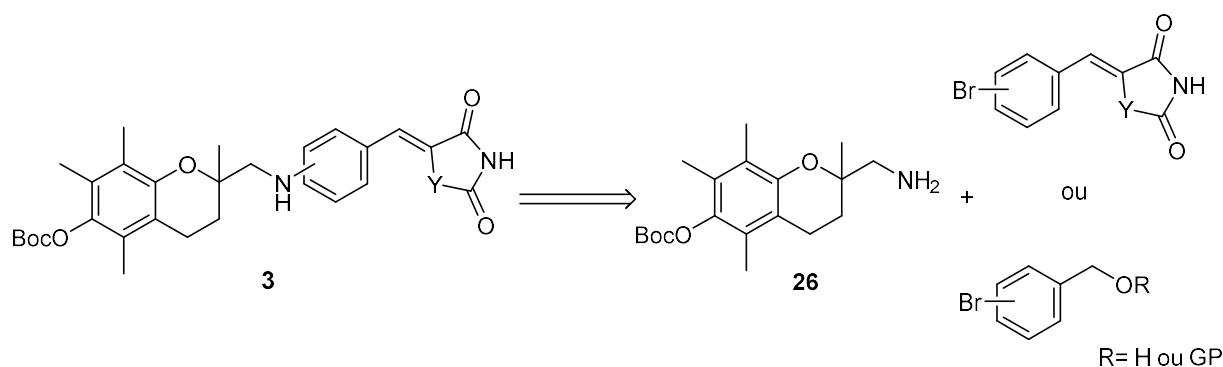


Schéma 23 : Voie de synthèse envisagée pour la préparation des amines 3 par réaction d'arylmination palladocatalysée.

Parmi les nombreuses combinaisons métal-ligand couramment employées dans cette réaction, nous avons choisi d'utiliser le palladium, adapté aux bromoarènes,¹⁸⁹ et le ligand SIPr (Figure 24).

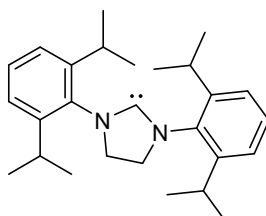


Figure 24 : Structure du ligand SIPr.

¹⁸⁵ Paul, F. *et al.* Palladium-Catalyzed Formation of Carbon-Nitrogen Bonds. Reaction Intermediates and Catalyst Improvements in the Hetero Cross-Coupling of Aryl Halides and Tin Amides. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116* (13), 5969–5970. doi: 10.1021/ja00092a058.

¹⁸⁶ Guram, A. S. *et al.* Palladium-Catalyzed Aromatic Aminations with in Situ Generated Aminostannanes. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116* (17), 7901–7902. doi: 10.1021/ja00096a059.

¹⁸⁷ Louie, J. *et al.* Palladium-Catalyzed Synthesis of Arylamines from Aryl Halides. Mechanistic Studies Lead to Coupling in the Absence of Tin Reagents. *Tetrahedron Letters* **1995**, *36* (21), 3609–3612. doi: 10.1016/0040-4039(95)00605-C.

¹⁸⁸ Guram, A. S. *et al.* A Simple Catalytic Method for the Conversion of Aryl Bromides to Arylamines. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1995**, *34* (12), 1348–1350. doi: 10.1002/anie.199513481.

¹⁸⁹ Yang, B. H. *et al.* Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Halides and Sulfonates. *Journal of Organometallic Chemistry* **1999**, *576*, 125–146. doi: 10.1016/S0022-328X(98)01054-7.

Ce carbène *N*-hétérocyclique est particulièrement efficace pour tous types d'halogénoarènes ainsi que dans le cas d'amines aromatiques primaires et secondaires et préparé selon la méthode de Arduengo.^{190,191,192}

La mise en œuvre de l'arylation implique l'utilisation d'une amine chromane primaire **26** et d'un composé aromatique halogéné déjà fonctionnalisé par la TZD ou le succinimide ou un composé aromatique halogéné qui pourrait être fonctionnalisé *a posteriori*. La préparation de l'amine chromane est réalisable en trois étapes à partir de l'alcool **4** : après activation sous forme de triflate celui-ci peut être déplacé par un azoture puis réduit en amine sous hydrogène. Néanmoins afin d'optimiser les conditions de réaction, nous avons choisi d'essayer la réaction d'arylation sur un substrat commercial, plus facilement accessible : la benzylamine. Celle-ci présente l'avantage d'être peu coûteuse et peut être utilisée comme modèle d'amine primaire pour la réaction d'arylation. Le bromure de benzylidène succinimide **27** a été obtenu avec un très bon rendement de 90 % par réaction de Wittig entre le *para*-bromobenzaldéhyde et l'alkylidène phosphorane **8** dans le méthanol à température ambiante (Schéma 24).

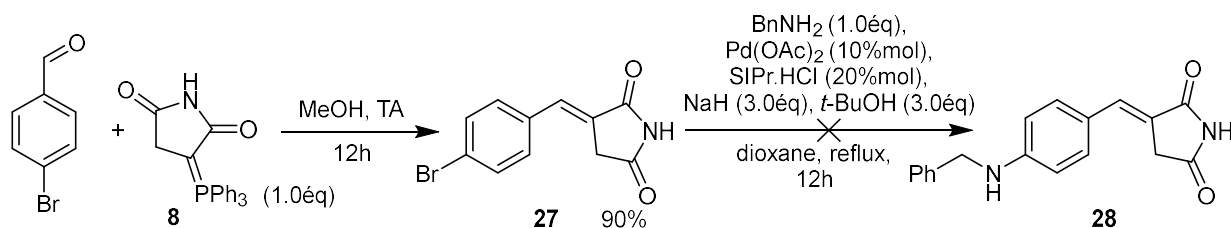


Schéma 24 : Préparation du bromure de benzylidène succinimide.

La réaction dans les conditions d'arylation n'a malheureusement pas conduit au composé **28** attendu. Notre hypothèse est que le cycle succinimide empoisonne le catalyseur en se coordonnant au métal par l'atome d'azote.¹⁹³

Nous avons alors réalisé cette réaction en mettant en jeu le bromobenzylalcool, un précurseur du composé **27** et la benzylamine. Les résultats sont présentés dans le Tableau 3.

¹⁹⁰ Arduengo, A. J. *et al.* Imidazolylidenes, Imidazolinyliidenes and Imidazolidines. *Tetrahedron* **1999**, *55* (51), 14523–14534. doi: 10.1016/S0040-4020(99)00927-8.

¹⁹¹ Huang, J. *et al.* General and Efficient Catalytic Amination of Aryl Chlorides Using a Palladium/Bulky Nucleophilic Carbene System. *Organic Letters* **1999**, *1* (8), 1307–1309. doi: 10.1021/ol990987d.

¹⁹² Scott, N. M. *et al.* Stabilization of Organometallic Species Achieved by the Use of *N*-Heterocyclic Carbene (NHC) Ligands. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2005**, *2005* (10), 1815–1828. doi: 10.1002/ejic.200500030.

¹⁹³ Fairlamb, I. J. S. *et al.* Bis(Triphenylphosphine)Palladium(II)Succinimide as a Precatalyst for Suzuki Cross-Coupling—Subtle Effects Exerted by the Succinimide Ligand. *Tetrahedron* **2004**, *60* (27), 5711–5718. doi: 10.1016/j.tet.2004.05.018.

Tableau 3 : Résultats des essais d'arylamination palladocatalysée

$\text{29a-c} \xrightarrow[\text{dioxane, reflux}]{\text{BnNH}_2 (1.0 \text{ éq}), \text{Pd(OAc)}_2 (6\% \text{ mol}), \text{SiPr.HCl} (12\% \text{ mol}), \text{NaH} (3.0 \text{ éq}), \text{t-BuOH} (3.0 \text{ éq})}$

29a R=H
 29b R=TMS
 29c R=TIPS

Entrée	Substrat aryle	Temps de réaction	Produits formés ^a
1	29a	5h	29a, 30a, 31a, 32a
2	29b	2h	29a, 30a, 31a
3	29c	1 nuit	31a

^a Détection en GC-MS

Lors de l'utilisation de l'*ortho*-bromobenzylalcool **29a**, les analyses GC-MS des milieux réactionnels ont montré la formation du produit attendu **30a** mais également de l'éther **32a** issu du couplage du bromobenzylalcool sur lui-même, ainsi que des traces de substrat réduit **31a**,¹⁹⁴ et de substrat **29a** intact (Tableau 3 entrée 1). Afin d'éviter la formation d'éther et pour favoriser la formation du produit d'arylamination le groupement hydroxyle a été protégé par un groupement triméthylsilyle (TMS) par réaction du TMSCl (1.3 éq) en présence de Et₃N (1.3 éq) dans le THF à température ambiante (Schéma 25). Après la réaction d'arylamination mettant en jeu le composé protégé **29b**, les analyses GC-MS ont montré la formation du produit attendu déprotégé **30a** ainsi que de nombreux autres sous-produits, parmi lesquels le substrat déprotégé **29a** et le produit de réduction déprotégé **31a**, le tout constituant un mélange inextricable que nous n'avons pas jugé judicieux de démêler (Tableau 3 entrée 2). Nous avons alors protégé l'alcool par un groupement triisopropylsilyle (TIPS) plus stable que le TMS, par action d'hydrure de sodium (NaH) (1.3 éq) dans le THF à température ambiante (Schéma 25).¹⁹⁵ Dans ce cas, seul le produit de réduction **31a** et la

¹⁹⁴ Beletskaya, I. P. *et al.* Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Dibromides with Secondary Amines: Synthetic and Mechanistic Aspects. *Tetrahedron Letters* **1999**, *40* (35), 6393–6397. doi: 10.1016/S0040-4039(99)01246-0.

¹⁹⁵ Park, N. H. *et al.* Design of New Ligands for the Palladium-Catalyzed Arylation of α -Branched Secondary Amines. *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54* (28), 8259–8262. doi: 10.1002/anie.201502626.

benzylamine ont pu être identifiés dans le milieu mais aucune trace de produit d'arylation (Tableau 3 entrée 3).

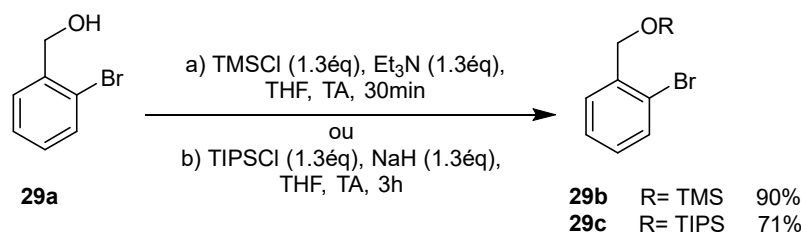


Schéma 25 : Protection du 2-bromobenzylalcool.

3.2.4 Arylation cupro-catalysée

Une autre méthode de formation de liaisons C-N est l'application de la réaction d'arylation d'Ullman élaborée en 1903.¹⁹⁶ Il s'agit d'une réaction catalysée par le cuivre, qui peut être effectuée en milieu homogène ou hétérogène et applicable à une multitude de substrats (amines, phénols, carbamates, amides et méthylènes activés). Si, à sa découverte, cette réaction mettait en jeu des quantités stoechiométriques de cuivre et nécessitait des températures très élevées (> 200°C) ce qui limitait les substrats utilisables, elle a connu un regain d'intérêt dans les années 2000 lorsqu'il a été montré que le cuivre pouvait être employé en quantités catalytiques à une température moindre (100°C). Par ailleurs ce métal est moins coûteux et moins toxique que le palladium qui est largement utilisé dans les réactions de couplage.¹⁹⁷ Le mécanisme de la réaction d'Ullmann est moins bien élucidé que celui des réactions palladocatalysées. Néanmoins des études ont été réalisées et il ressort que deux principaux cycles catalytiques sont possibles (Schéma 26). Dans le premier cas (voie A) l'halogénure d'aryle réalise une addition oxydante sur le cuivre puis est substitué par l'amine nucléophile. Dans le second cas (voie B), la substitution nucléophile a lieu en premier puis est suivie de l'addition oxydante de l'halogénure d'aryle. Ces réactions mettent en jeu le cuivre au degré d'oxydation I, une base et un ligand, bien qu'il soit possible d'effectuer ces réactions en l'absence de ce dernier. Shafir et Buchwald ont montré que l'utilisation de β -dicétones cycliques comme ligand permet d'obtenir le produit de condensation sur une variété de substrats aromatiques à température ambiante en quelques heures seulement.¹⁹⁸ De bons résultats ont été obtenus sur des iodures d'aryles substitués,

¹⁹⁶ Ullmann, F. Ueber eine neue Bildungsweise von Diphenylaminderivaten. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1903**, 36 (2), 2382–2384. doi: 10.1002/cber.190303602174.

¹⁹⁷ Monnier, F. *et al.* Catalytic C-C, C-N, and C-O Ullmann-Type Coupling Reactions. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, 48 (38), 6954–6971. doi: 10.1002/anie.200804497.

¹⁹⁸ Shafir, A. *et al.* Highly Selective Room-Temperature Copper-Catalyzed C–N Coupling Reactions. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128 (27), 8742–8743. doi: 10.1021/ja063063b.

y compris par des groupements hydroxyles et amino, en présence d'amines aliphatiques primaires ou secondaires.

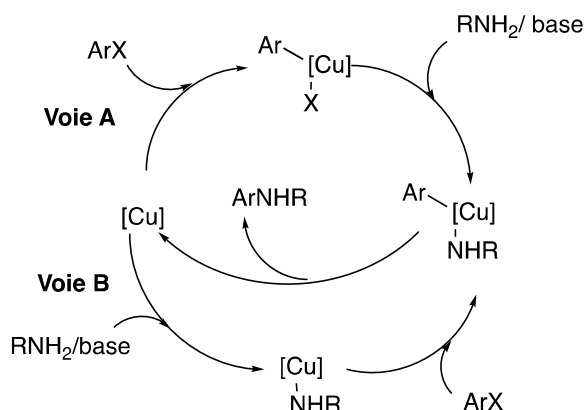


Schéma 26 : Cycles catalytiques possibles dans la réaction d'Ullmann.¹⁹⁷

Les faibles durées de réaction, les conditions douces et la mise en œuvre facile de cette méthode nous ont semblé intéressantes pour l'application à nos substrats. Nous avons choisi d'utiliser le ligand **33** qui semblait le plus efficace, tant en termes de durée de réaction que de rendement. Ce ligand a été obtenu par réaction d'aldolisation de la cyclohexanone sur le chlorure d'isopropyle (1.1 éq) en présence de diisopropyléthylamine (3.6 éq) et de bromure de magnésium (2.8 éq) dans CH₂Cl₂ avec un rendement de 80 % (Schéma 27).¹⁹⁹

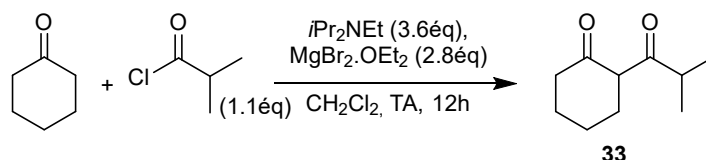


Schéma 27 : Préparation du ligand dicétone pour la réaction d'arylation cuprocatalysée.

Comme dans le cas des réactions palladocatalysées nous avons travaillé avec un iodure de benzylalcool et la benzylamine commerciale comme modèle afin d'établir les conditions de réaction de ce couplage d'Ullmann. Celui-ci a été mis en œuvre dans le DMF en présence de CuI (5 %mol) et de Cs₂CO₃ (3.0 éq) (Schéma 28). Malheureusement, alors que nous avions beaucoup d'espoir, le produit **34** n'a pas été détecté en « GC-MS ».

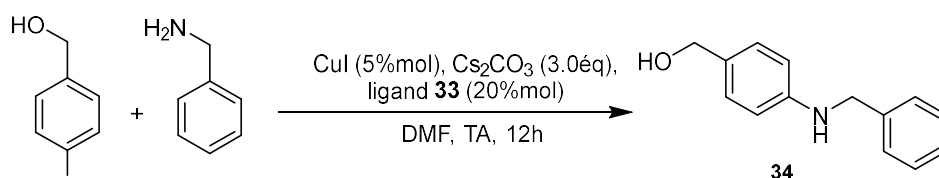


Schéma 28 : Tentative de réaction d'Ullmann entre l'aniline et le iodobenzylalcool.

¹⁹⁹ Aderibigbe, S. O. *et al.* Synthesis of 1,3-Diketones and β -Keto Thioesters via Soft Enolization. *The Journal of Organic Chemistry* **2019**, *84* (15), 9770–9777. doi: 10.1021/acs.joc.9b00397.

Nous souhaitons mettre en œuvre une méthode adaptable à chacun des composés cibles et démontrant une meilleure efficacité que la réaction d'amination réductrice. Alors que nous espérons beaucoup de la réaction d'arylation, nos résultats nous montrent qu'un système métal-ligand peut être efficace sur une famille de substrats mais complètement inactif sur une autre famille. Le travail d'optimisation de cette réaction sur nos substrats nécessiterait un investissement bien plus important, et dans la mesure où nous avons malgré tout réussi à obtenir les composés cibles (même avec des rendements moyens) nous avons choisi de ne pas poursuivre dans cette stratégie de synthèse.

3.3 Fonctionnalisation de l'amine secondaire

Dans le cadre de l'étude des relations structure-activité il nous a semblé essentiel de fonctionnaliser une des amines secondaires **3** obtenues. En effet les amines ainsi fonctionnalisées seront moins nucléophiles qu'une amine secondaire et ne pourront plus établir de liaisons hydrogène, ce qui peut avoir des répercussions sur les propriétés biologiques de ces molécules. L'amine **3b** a ainsi été acétylée en présence d'anhydride acétique (Ac_2O) (1.2 éq) et de Et_3N (2.3 éq) dans le CH_2Cl_2 à température ambiante (Schéma 29).

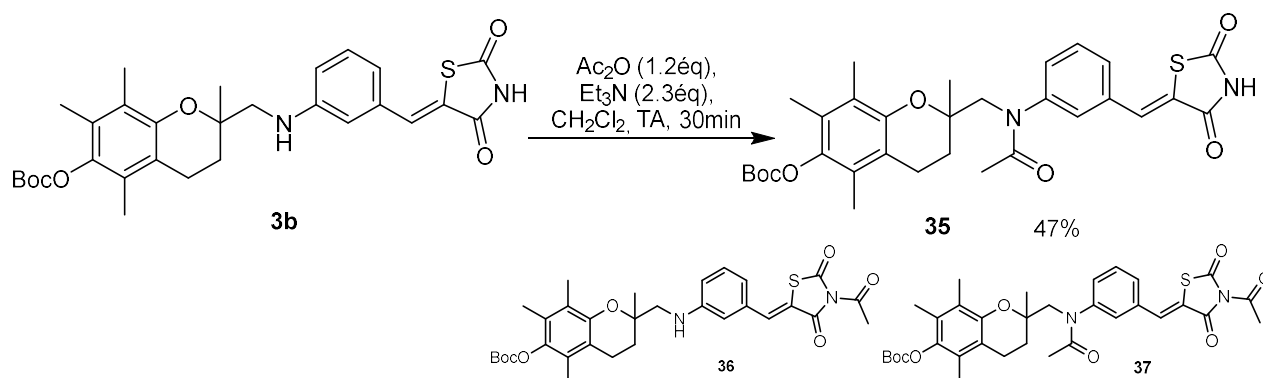


Schéma 29 : Acétylation de l'amine **3b**.

Le produit de réaction désiré **35** a été obtenu avec un rendement de 47 % qui s'explique par l'obtention de deux autres sous-produits issus de l'acétylation de l'azote de la TZD **36** d'une part et des deux positions simultanément **37** d'autre part (Schéma 29). Ces sous-produits ont été identifiés par analyse « LC-MS ».

3.4 Déprotection des composés cibles

De la même manière que pour les composés oxygénés, une étape supplémentaire de déprotection des amines **3b-e** a été réalisée dans CH_2Cl_2 en présence de TFA (20 %). Les

composés cibles **38b-e** ont été obtenus avec d'excellents rendements (entre 94 et 97 %) après un lavage avec une solution saturée de bicarbonate de sodium, nécessaire pour éviter la formation du trifluoroactétate d'ammonium non biocompatible (Schéma 30). Le composé **38f** issu de la déprotection de **3f** n'a pas pu être synthétisé en raison des trop faibles quantités obtenues lors de la préparation de **3f**.

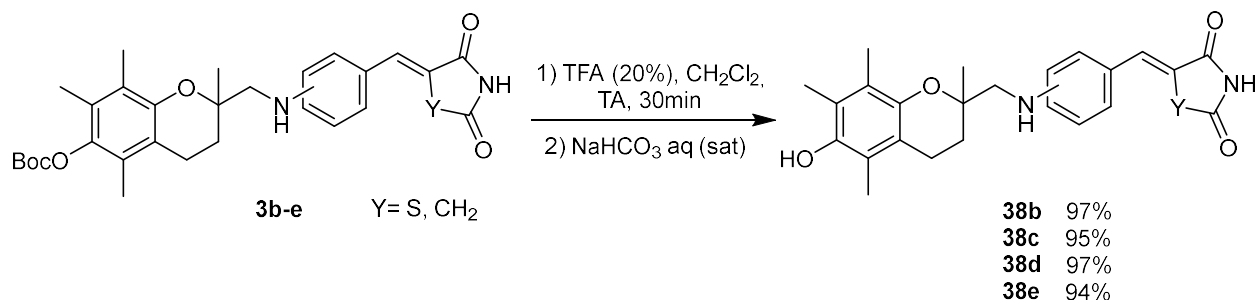


Schéma 30 : Déprotection des dérivés azotés **3b-e**.

Les produits **3b-e** ainsi que leurs analogues déprotégés **38b-e** ont été testés pour leurs propriétés antiprolifératives.

3.5 Préparation de l'analogue de l'EP13

Les composés précédemment obtenus contenaient une fonction phénol, protégée ou non, sur le noyau chromane. L'action antiproliférative de chacun d'entre eux a été mesurée sur une lignée cellulaire non-hormonodépendante du cancer du sein, représentative de tumeurs triple négatives (MDA-MB-231). Ces mesures nous ont permis de faire un tri parmi les différents composés et de déterminer les molécules les plus actives (les résultats sont présentés dans la seconde partie de ce chapitre). D'après ces tests le composé **3f** est le plus actif. Ce composé présente un groupement Boc sur la fonction phénol du chromane, une orientation *para*, un azote comme hétéroatome central et un cycle succinimide. Sachant que les précédents travaux du laboratoire ont montré qu'une chaîne aminoalkyle renforce l'activité par rapport au groupement Boc,^{168,170} nous avons choisi de synthétiser un analogue de **3f** comportant cette chaîne. Pour cela l'alcool chromane **43** a été préparé par Sandrine Adach de la plateforme Synbion du laboratoire L2CM, selon un protocole qui a récemment été optimisé par D. Dupommier et dont la séquence est indiquée dans le Schéma 28.¹⁷⁰ Puis il a été oxydé en aldéhyde **44** dans les conditions de Swern avec un rendement de 90 %. La réaction d'amination réductrice entre **44** et l'amine **19f** en présence de NaBH₃CN (1.0 éq), LiCl (2.0 éq) et AcOH dans le méthanol a conduit au produit **45** avec un rendement de 12 %.

Le composé **46** est ensuite obtenu par action sur **45** de HCl (en solution 1M dans l'acétate d'éthyle) dans le dichlorométhane (Schéma 31).

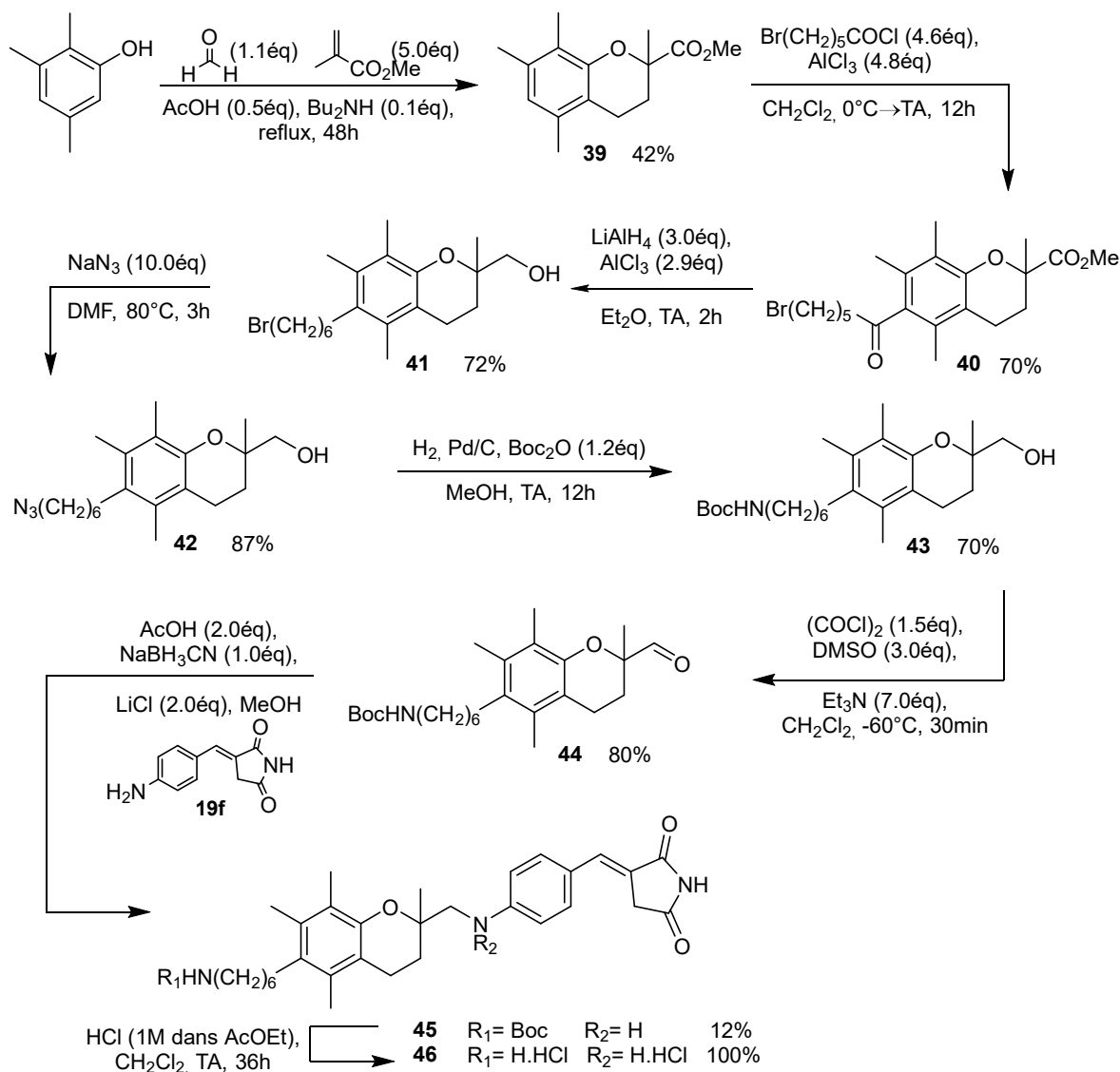


Schéma 31 : Préparation des molécules 45-46.

Le chromanol **43** étant fastidieux à obtenir nous avons souhaité améliorer le rendement de l'étape d'amination réductrice en remplaçant le réducteur NaBH_3CN par $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, qui pourrait donner de meilleurs résultats.²⁰⁰ Néanmoins les essais que nous avons effectués n'ont pas permis de préparer les composés attendus avec de meilleurs rendements. Nous avons donc essayé d'ajouter du chlorure de lithium (LiCl) dans le milieu afin d'activer l'aldéhyde par coordination de l'atome de lithium à l'atome d'oxygène et de le rendre plus réactif vis-à-vis de l'amine (Schéma 31). Cependant dans notre situation cela n'a pas eu l'effet

²⁰⁰ Abdel-Magid, A. F. *et al.* Reductive Amination of Aldehydes and Ketones with Sodium Triacetoxyborohydride. Studies on Direct and Indirect Reductive Amination Procedures ¹. *The Journal of Organic Chemistry* **1996**, 61 (11), 3849-3862. doi: 10.1021/jo960057x.

attendu et l'amine secondaire **45** a été obtenue avec un rendement décevant de 12 %. Le produit formé majoritairement est l'alcool chromane **43**, à hauteur de 60 % et nous avons également observé la formation d'alcool déprotégé (15 %). Nous pouvons en déduire que le chlorure de lithium a bien permis d'activer l'aldéhyde mais celui-ci a malheureusement réagi plus vite avec le réducteur qu'avec l'amine.

Bien qu'obtenus avec des rendements faibles, les composés **45** et **46** ont pu être étudiés pour leurs propriétés antiprolifératives sur des cellules cancéreuses. Le composé **45** a par ailleurs été complètement caractérisé par RMN (Annexe 2).

3.6 Préparation de composés hybrides oxygénés et azotés

D'autres analogues dont la structure diffère un peu de celle présentée en introduction ont pu être synthétisés. Ainsi, des molécules croisées entre les composés azotés et oxygénés ont été obtenues.

A partir des arylaldéhydes **7a-c**, de nouvelles amines secondaires ont été préparées par réaction d'amination réductrice. Ainsi la réaction menée dans MeOH en présence de NaBH₃CN et de AcOH a conduit aux composés **47-49** avec des rendements compris entre 28 % pour les arylaldéhydes *ortho* et 89 % pour l'arylaldéhyde *para* (Schéma 32). Ces résultats prouvent, une fois encore, que l'encombrement de l'aldéhyde mis en jeu dans cette réaction impacte de manière très importante le rendement de réaction.

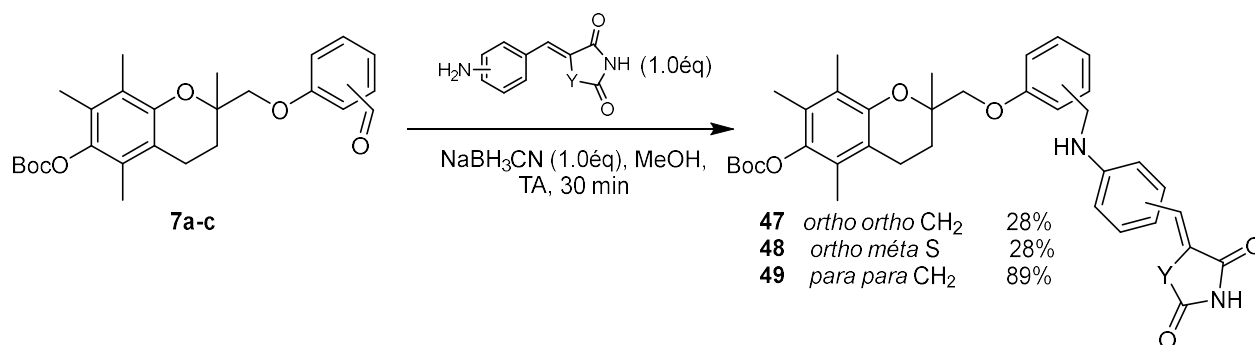


Schéma 32 : Préparation des molécules hybrides **47-49**.

Pour conclure sur ce travail de synthèse, nous avons réussi à obtenir une vingtaine d'analogues de la $\Delta 2$ -TGZ (Schéma 33). La préparation des isomères de position *ortho* et *mé*ta de la $\Delta 2$ -TGZ a été mise en œuvre selon une stratégie de synthèse en cinq étapes avec des rendements globaux de 4 à 15 %. Ces rendements faibles sont principalement dus à la fragilité des composés lors de leur purification sur silice. Un seul composé comportant un noyau naphthyle en lieu et place du noyau phényle central a pu être généré avec un rendement global de 7 %, démontrant une différence de réactivité entre ces deux structures aromatiques. La préparation des analogues azotés de la $\Delta 2$ -TGZ a été particulièrement ardue, malgré une stratégie qui semblait simple. Neuf analogues azotés ont pu être isolés avec des rendements globaux compris entre 3 et 7 %. Des essais d'optimisation de synthèse de ces composés ont été mis en œuvre sans succès. Ces difficultés sont révélatrices de la complexité des molécules envisagées qui contiennent de nombreux hétéroatomes.

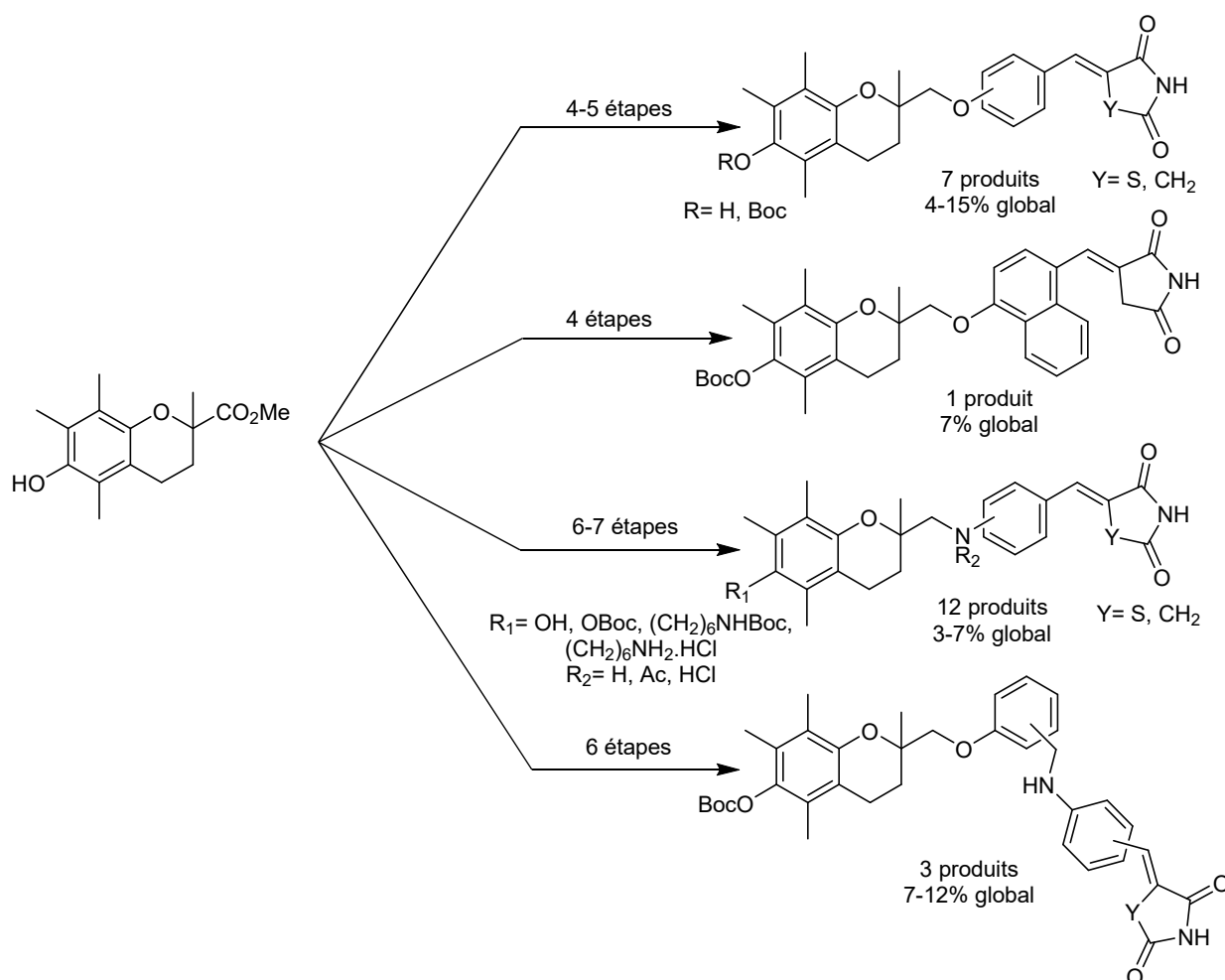


Schéma 33 : Structures des composés synthétisés et dont l'activité antiproliférative a été évaluée.

Afin de déterminer l'activité antiproliférative de ces composés et d'établir les relations structure-activité il est nécessaire d'effectuer des tests *in vitro* sur des lignées cellulaires cancéreuses. Nous nous sommes intéressés au modèle de cellules cancéreuses mammaires triple négatives pour lequel les options thérapeutiques restent limitées. Les objectifs de cette étude sont doubles : d'une part nous cherchons à établir des relations structure-activité et d'autre part nous nous intéressons au mécanisme d'action des composés synthétisés, pour mieux appréhender leur(s) cible(s) au sein des cellules. L'ensemble des résultats recueillis devrait permettre, à plus long terme, d'optimiser les structures des composés cibles afin d'augmenter leur efficacité, leur sélectivité et réduire leur toxicité.

4 Étude de l'activité antiproliférative

L'activité des composés que nous avons préparés a été étudiée *in vitro* au sein du laboratoire CRAN (UMR 7039, Université de Lorraine) dans le cadre d'une collaboration entre notre équipe et l'équipe du Pr. Stéphane Flament. Je me suis initiée à la culture cellulaire avec l'aide de Elia De Fays (technicienne), sous la supervision du Dr. Sabine Mazerbourg, maître de conférences. J'ai effectué la culture de cellules de la lignée triple négative MDA-MB-231, leur traitement ainsi que le suivi de prolifération à 24 h et à 48 h grâce au Cytonote Scan (Iprasense) qui permet de suivre en temps réel l'évolution du nombre de cellules.

Les composés ont été dissous dans du DMSO afin d'obtenir une solution à 25 mM puis cette solution a été diluée dans le milieu de culture jusqu'à l'obtention d'une concentration de 10 μ M. Parallèlement, la prolifération des cellules non traitées a également été étudiée. La concentration d'étude (10 μ M) est largement inférieure à la CI_{50} de la Troglitazone (45 μ M).¹⁷⁰ Ainsi, elle n'aura que très peu d'effet sur la prolifération cellulaire ce qui en fait une bonne référence de composé peu actif. D'autre part, un témoin positif est aussi introduit dans l'étude. Nous avons choisi d'utiliser l'**EP13** dont la CI_{50} est plus faible que la concentration d'étude (6 μ M).¹⁷⁰ Parmi les composés étudiés, le composé **3a** (azoté *ortho* soufré) n'est pas représenté car il n'a pas pu être isolé. Nous avons également inclus dans l'étude les molécules Boc- Δ 2TGZ **1c** et Boc- Δ 2TSN **1f**, qui ont été préparées précédemment au laboratoire,^{167,170} afin de servir de points de comparaison dans les relations structure-activité.

Pour simplifier l'interprétation des résultats, ils ne seront pas tous compilés en un seul graphique. Au lieu de cela, les valeurs de prolifération cellulaire seront données par groupe de molécules, de façon à pouvoir distinguer l'influence de :

Cette page est laissée blanche pour permettre une lecture facilitée, en vis-à-vis, du graphique avec la discussion

- la position relative du noyau benzylidène et des hétéroatomes,
- la protection Boc,
- autres paramètres.

Les graphiques représentent le nombre moyen de cellules en fonction du temps. Le comptage cellulaire a été effectué sur trois séries distinctes de mesures puis la moyenne a été calculée. Enfin, pour plus de lisibilité, les valeurs obtenues ont été normalisées, c'est-à-dire qu'elles sont exprimées par rapport à la valeur initiale ($t = 0$) du nombre de cellules non traitées que l'on a définie comme étant égale à 1. Les résultats sont présentés comme la moyenne des trois expériences \pm SEM (« Standard Error of the Mean »).

La concentration inhibitrice médiane (CI_{50}) des composés les plus actifs a également fait l'objet d'une étude dont les résultats sont présentés dans le paragraphe 5.4.

4.1 Etude de l'influence de la position relative du noyau benzylidène et des hétéroatomes

Dans un premier temps, nous nous intéressons à l'influence de la position relative du noyau benzylidène et des hétéroatomes sur l'activité antiproliférative (Figure 25). Notons les éléments de la légende :

- ✓ Les courbes **vertes** désignent les mesures pour les cellules traitées avec les composés de référence (**EP13** et **TGZ**) ;
- ✓ Les courbes **rouges** représentent les mesures pour les cellules traitées avec les composés dont le noyau benzylidène se trouve en position *ortho* par rapport au chromane ;
- ✓ Les courbes **violettes** celles dont le noyau benzylidène est en position *méta* ;
- ✓ et les courbes **jaunes** celles dont le noyau se trouve en position *para*.
- ✓ Les courbes en pointillés désignent les activités des dérivés oxygénés alors que les courbes en traits pleins représentent les activités des dérivés azotés.
- ✓ Enfin, le marqueur « ● » identifie les composés dont le cycle à cinq chaînons est désoufré et le marqueur « ▲ » les composés comportant un noyau TZD. Enfin, toutes les molécules étudiées ici portent la fonction phénol du chromane protégée par un groupement Boc.

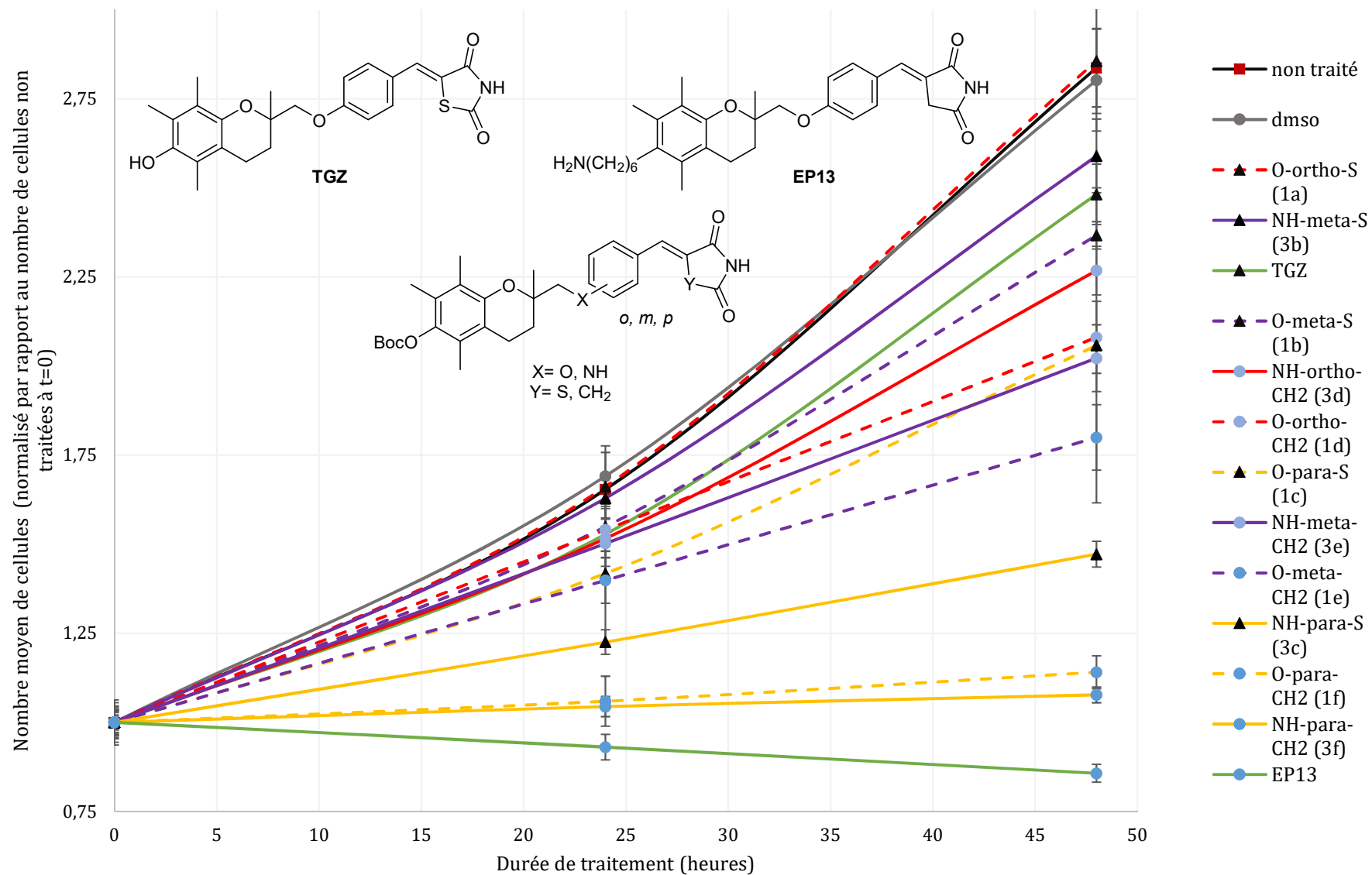


Figure 25 : Évolution du nombre de cellules en fonction du temps (moyenne normalisée par rapport au nombre de cellules non traitées à t=0).

- **Influence de la position relative du noyau benzylidène**

Lorsque le noyau benzylidène se trouve en position *ortho*, l'activité antiproliférative est très faible voire quasi-nulle (Composés **1a**, **1d**, **3d**). Si l'on compare les composés **1a** et **1b**, ou les composés **3d** et **3e**, on observe que les régioisomères *méta* présentent une activité plus importante que leurs analogues *ortho*. Néanmoins la mise en regard des activités des dérivés **3b** et **3c**, ou **1e** et **1f** nous montre que les composés substitués en position *méta* ont une activité inférieure aux composés *para* qui sont les plus actifs.

Les régioisomères *ortho* et *méta* ont, pour la plupart, une meilleure activité que la TGZ (**1b**, **1d,e**, **3e**). Ils sont néanmoins moins actifs que la Boc- Δ 2-TGZ **1c** ce qui nous permet de dire que la position du noyau benzylidène joue un rôle primordial dans l'activité antiproliférative de ces composés.

- **Influence de la nature de l'hétéroatome central**

Nous nous sommes également intéressés à l'influence de la nature de l'hétéroatome central sur l'activité des molécules. Pour cela nous comparons les courbes pointillées aux courbes pleines (Figure 25).

Il est difficile d'établir une règle générale pour ces résultats. Néanmoins les analogues azotés semblent globalement plus actifs que les composés oxygénés, en particulier pour ceux substitués en position *para*. En effet, on observe que **1c** est nettement moins actif que son analogue azoté **3c**. Cette différence d'activité semble beaucoup plus faible dans le cas des composés désoufrés tels que **1f** et son analogue azoté **3f** dont les activités apparaissent très proches.

Pour les dérivés pour lesquels le noyau benzylidène se trouve en position *méta* et *ortho* (dérivés **1b,e**, **3b,e**, **1d** et **3d**), il semble que cet effet soit inversé : les composés possédant un atome d'oxygène **1b** ou **1e** se montrent plus actifs que leurs analogues azotés **3b** ou **3e**.

- **Influence de l'atome de soufre**

De précédents travaux de notre équipe ont montré que, dans le cas de la Troglitazone et de son analogue insaturé Δ 2-TGZ, protégés ou non, le remplacement de l'atome de soufre du cycle à cinq chaînons par un groupement CH₂ augmente l'activité antiproliférative.¹⁷⁰ Nous souhaitons vérifier si cela était toujours le cas quelles que soient la position relative du fragment benzylidène et la nature de l'hétéroatome central.

De manière générale, nous observons que les composés possédant un noyau TZD sont moins actifs que leurs analogues désoufrés (Figure 25), ce qui se vérifie également pour les composés de référence **1c** et **1f**. Nos mesures nous permettent de prouver que les composés

désoufrés ont une meilleure activité que leurs analogues soufrés quelle que soit la nature de l'hétéroatome central (par exemple pour **1b** et **1e** ou **3b** et **3e**) et quelle que soit la position relative du noyau benzylidène (par exemple pour **1a** et **1d** ou **1c** et **1f**). Néanmoins nous remarquons que, bien que le composé **3c** se montre moins actif que ses analogues désoufrés **3f** et **1f**, il présente une activité antiproliférative intéressante. Ceci nous montre que la position relative du noyau benzylidène a une influence plus importante sur l'activité antiproliférative que la nature du noyau TZD ou succinimide.

4.2 Influence de la protection Boc

Les résultats présentés sur la Figure 26 mettent en lumière l'influence du groupement protecteur Boc. Ici, les courbes pointillées désignent les mesures pour les cellules traitées avec les composés dont la fonction phénol est libre et les courbes pleines celles pour les cellules traitées avec les composés dont la fonction phénol est protégée par un groupement Boc. Afin de simplifier la lecture des résultats deux graphiques sont représentés pour la série oxygénée d'une part (Graphique A) et la série azotée d'autre part (Graphique B). Les codes couleur utilisés dans la précédente figure ont été conservés.

Les mesures montrent que, en série oxygénée, les composés protégés sont plus actifs que leurs analogues non protégés que ce soit pour une substitution en position *ortho* (comparer **13a** et **1a**), *méta* (comparer **13e** et **1e**) ou *para* (comparer **13c**, **13f** et **1c**, **1f**). La même observation est faite pour les composés à cycle TZD ou leurs analogues désoufrés (comparer **13a**, **13d** et **1a**, **1d**).

Les résultats en série azotée conduisent aux mêmes conclusions : les composés comportant un groupement Boc sont plus actifs que ceux dont la fonction phénol est libre, quelles que soient les autres modulations présentes : comparer **38c**, **38f** et **3c**, **3f** pour les composés substitués en position *para* soufrés ou non, **38d** et **3d** pour les régioisomères *ortho*, **38b**, **38e** et **3b**, **3e** pour les dérivés substitués en position *méta*.

Finalement, les composés sont plus actifs lorsque la fonction phénol est protégée par un groupement Boc, ce qui a déjà été démontré par notre équipe en 2012¹⁶⁷ en ce qui concerne la fonctionnalisation *para*. Cette tendance est ici confirmée quelle que soit la position relative du fragment benzylidène et quelle que soit la nature du cycle à cinq chaînons.

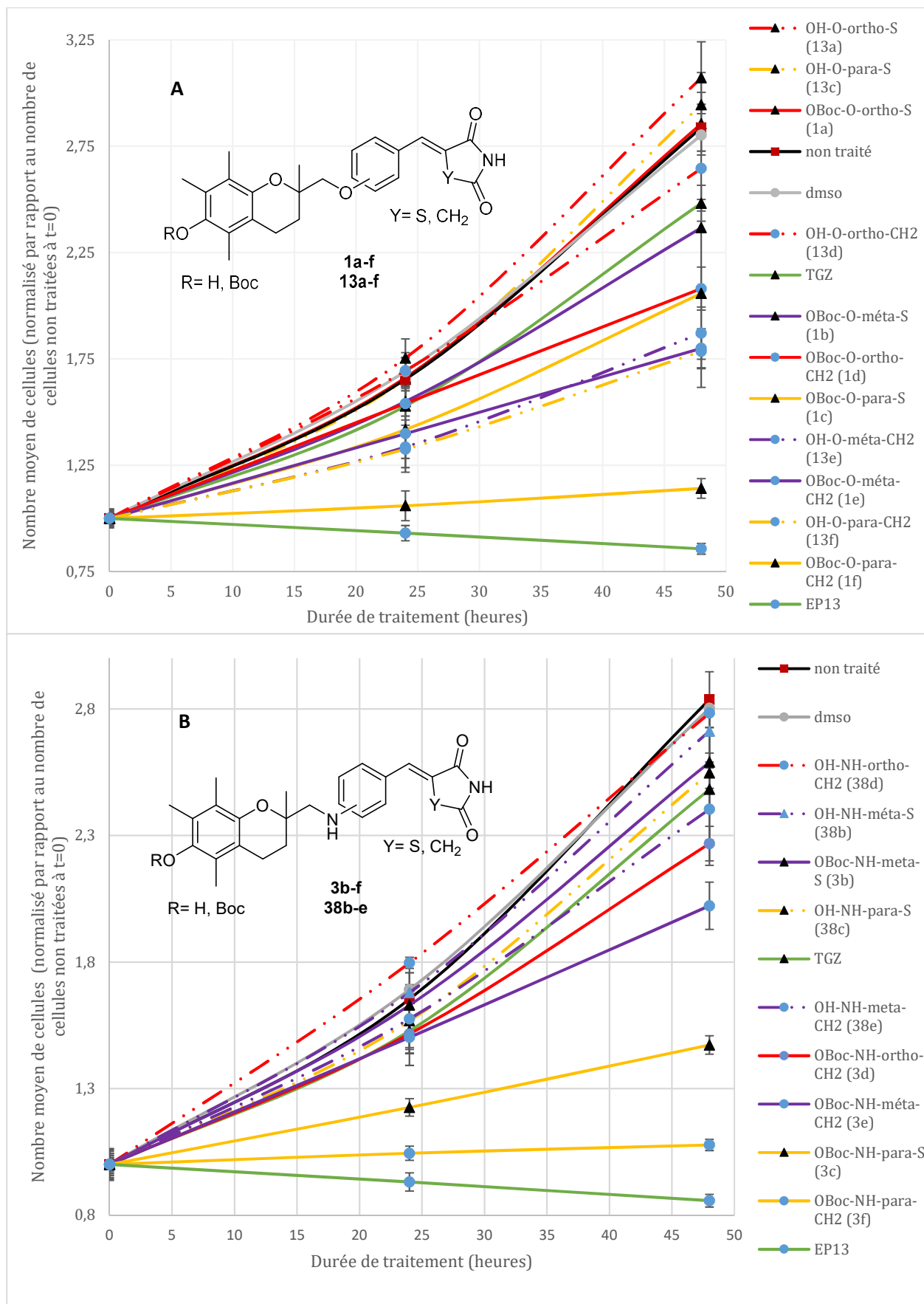


Figure 26 : Évolution du nombre de cellules en fonction du temps (moyenne normalisée par rapport au nombre de cellules non traitées à t=0) - influence de la protection Boc. A : dérivés oxygénés ; B : dérivés azotés.

4.3 Influence des autres modulations

Nos résultats montrent que les molécules substituées en position *para* sont les plus actives. De plus, le remplacement d'un atome de soufre dans le cycle TZD par un groupement CH₂ améliore encore l'activité antiproliférative.

Nous nous sommes intéressés à l'influence de divers autres paramètres sur l'activité antiproliférative. Les résultats sont présentés dans la Figure 27. Etant donné que les composés pour lesquels la fonction phénol est protégée sont les plus actifs nous ne présentons ici que les résultats pour les molécules protégées par un groupement Boc, hormis pour le composé **25** qui n'a pu être préparé que dans sa version déprotégée. Il est intéressant de comparer son activité à son analogue **38c** afin de vérifier si la suppression du groupement méthyle sur le noyau chromane améliore l'activité d'un composé peu actif.

En comparant les résultats pour les dérivés **1f** et **2f** on observe que le remplacement du cycle aromatique central par un cycle naphthyle diminue l'activité antiproliférative. La fonctionnalisation de l'atome d'azote central par un acétate se traduit par la perte d'activité de la molécule (dérivés **35** et **3b**). On peut supposer que cette fonctionnalisation empêche l'atome d'azote d'établir des interactions avec son site d'action cellulaire, ce qui inhibe toute son activité.

La modification de la molécule par l'ajout d'un second cycle aromatique (molécules hybrides oxygénées et azotées **47**, **48** et **49**) influence également l'activité des composés. En effet les deux composés dont le premier cycle est substitué en position *ortho* (dérivés **47** et **48**) ont une activité plus faible que le dérivé **1d**, mais néanmoins plus importante que le dérivé **1a**, ce qui est surprenant. Le composé **49**, dont les deux cycles sont en position relative *para*, présente une meilleure activité que ses analogues **47** et **48** et que le dérivé **1c**. Ceci est cohérent avec les résultats obtenus précédemment : la substitution en position *para* est la plus active et la présence du cycle succinimide améliore l'activité par rapport au cycle TZD. Néanmoins, par rapport aux composés **1f** et **3f** son activité est plus faible.

La suppression du méthyle sur le noyau chromane (composé **25**) semble accélérer la prolifération cellulaire ce qui est tout à fait surprenant.

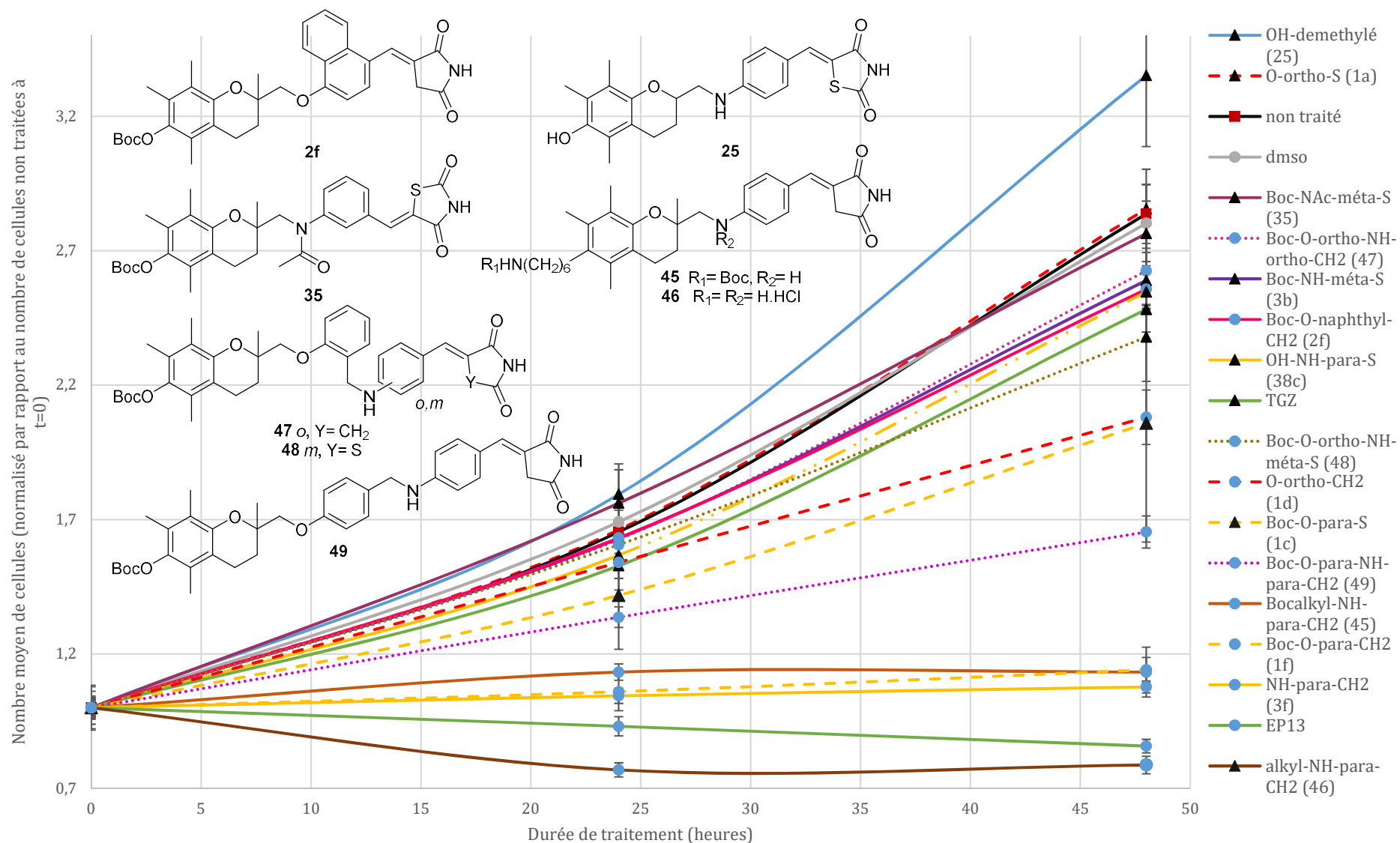


Figure 27 : Evolution du nombre de cellules en fonction du temps (moyenne normalisée par rapport au nombre de cellules non traitées à t=0)- influence d'autres paramètres.

Enfin l'insertion de la chaîne aminoalkyle à la place de la fonction phénol augmente considérablement l'activité des composés. Dans ce cas, la protection de la fonction amine terminale est plutôt défavorable. L'analogue azoté **46** de l'**EP13** paraît plus actif que **EP13** lui-même, ce qui est cohérent avec les résultats précédents bien que la différence semble faible. Seules les mesures de CI_{50} nous permettront de discriminer ces composés.

Nous pouvons donc conclure de cette étude que les paramètres qui augmentent l'activité antiproliférative des composés de la famille de la Troglitazone sont :

- La fonctionnalisation du fragment benzylidène en position *para*.
- La présence d'un cycle succinimide au lieu d'un cycle thiazolidine-2,4-dione.
- La présence d'un atome d'azote central, donneur et accepteur de liaisons hydrogène, plutôt qu'un oxygène, uniquement accepteur de liaisons hydrogène.
- La présence d'une chaîne hydrophobe à la place de la fonction phénol en position 6 sur le fragment chromane.

Cette première étude des activités antiprolifératives a permis d'établir les relations structure-activité et de déterminer quelles sont les molécules les plus actives vis-à-vis des cellules cancéreuses à une concentration de 10 μ M. Nous avons pu en déduire que les nouveaux composés **3f**, **45** et **46** sont les plus actifs et nous les avons ainsi engagés dans des études plus approfondies (Figure 28). La détermination des CI_{50} de ces composés permettra de mieux quantifier leur activité antiproliférative et de les comparer plus précisément aux composés de référence.

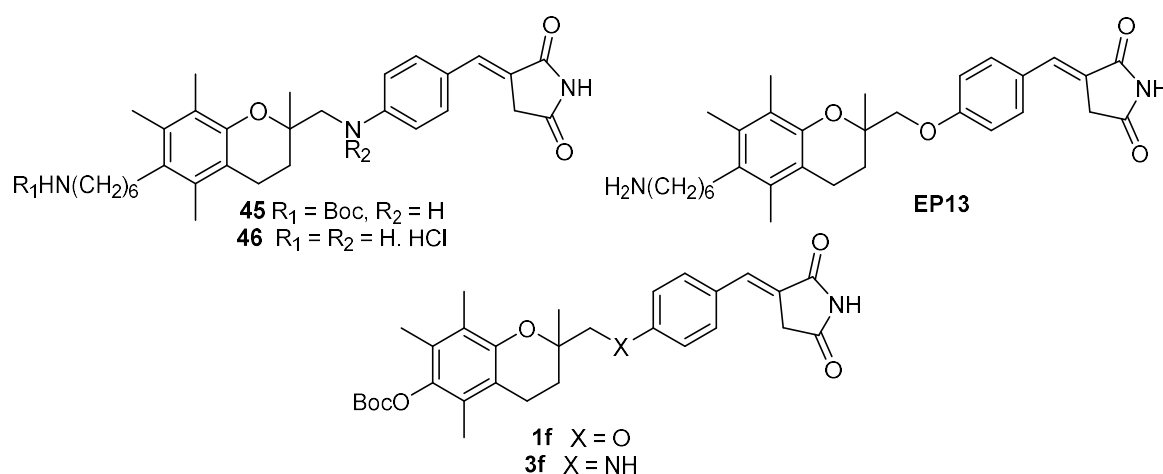


Figure 28 : Les trois composés les plus actifs sélectionnés pour la suite de l'étude, ainsi que les composés EP13 et 1f qui seront évalués à titre de comparaison.

4.4 Détermination des CI_{50}

4.4.1 Action antiproliférative vis-à-vis des cellules cancéreuses

Pour cette étude, le travail expérimental a été réalisé par les membres du laboratoire CRAN. La CI_{50} est la concentration d'un composé pour laquelle il y a une diminution de 50 % du nombre de cellules. Cette valeur a été déterminée grâce à une numération cellulaire par la méthode de coloration des noyaux des cellules adhérentes avec le cristal violet qui se fixe à l'ADN des cellules. Les cellules ont été traitées avec des doses croissantes de molécules cytotoxiques pendant 48 h. Les cellules mortes, non adhérentes, ont été éliminées au cours d'étapes de lavage puis le colorant a été ajouté. La quantité de colorant présente dans chaque puits est mesurée par spectrophotométrie UV-visible (595 nm) et elle est directement liée au nombre de cellules adhérentes majoritairement encore vivantes. La courbe représentant le nombre de cellules en fonction de la concentration a été tracée permettant ainsi la détermination de la CI_{50} (Figure 29). Les résultats de ces mesures sur les lignées cellulaires MDA-MB-231 et Hs578T, représentatives de tumeurs mammaires triple négatives (non hormono-dépendantes), pour les dérivés **EP13**, **3f**, **45** et **46** sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 4).

La substitution de l'atome d'oxygène central (**1f**) par un atome d'azote (**3f**) diminue la valeur de CI_{50} sur la lignée MDA-MB-231 mais la différence n'est pas importante (Entrées 1 et 2). En revanche pour les composés contenant la chaîne aminoalkyle cet effet semble inversé sur cette même lignée cellulaire (Entrées 3, 4 et 5). Par contre dans les cellules Hs578T, l'activité du composé **46**, azoté, est légèrement supérieure à celle de son analogue oxygéné **EP13**.

Ces résultats semblent légèrement discordants par rapport à nos analyses préliminaires de prolifération cellulaire puisque nous avons déterminé que les composés **46** et **EP13** présentaient une activité très proche après 48 h de traitement des cellules MDA-MB-231 (Figure 27, Tableau 4). Il en est de même pour les composés **3f** et **45**. Il est important de noter que les deux méthodes d'analyse sont différentes : l'étude de la prolifération cellulaire a été réalisée pour la seule concentration de 10 μ M alors que la détermination de la CI_{50} est effectuée avec une gamme de concentrations.

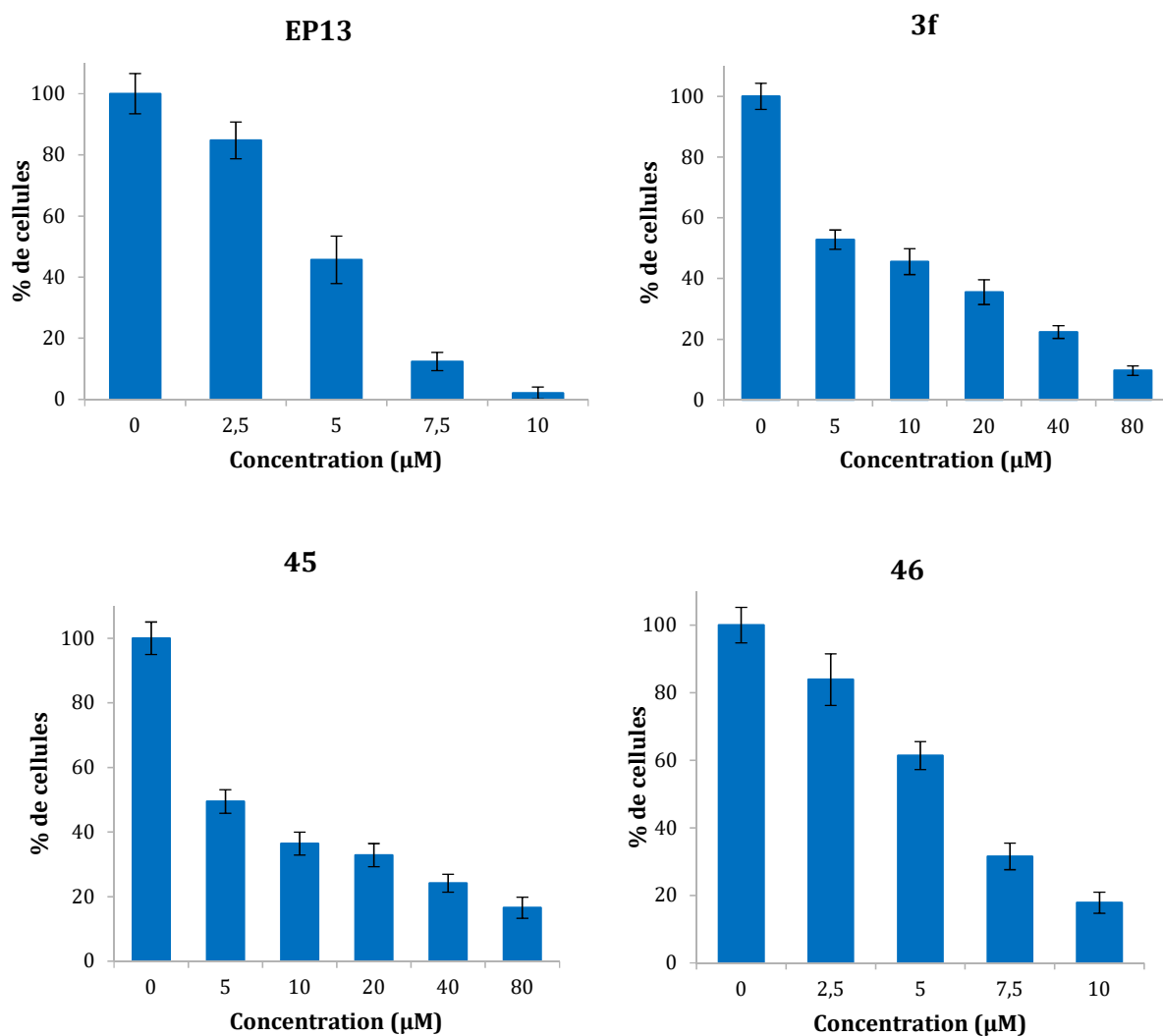


Figure 29 : Représentation du nombre de cellules MDA-MB-231 en fonction de la concentration en composé exprimé en pourcentage par rapport à la condition contrôle (0 µM) (\pm SEM) après 48 h de traitement. $n > 3$.

Tableau 4 : Activité antiproliférative des composés sur différentes lignées de cellules cancéreuses et non cancéreuses.

Entrée	Composé	CI ₅₀ (µM) ^a			Index de sélectivité (MDA-MB-231 vs MRC-5)
		MDA-MB-231	Hs578T	MRC-5 ^c	
1	1f	9.23 \pm 0.96	<i>Nd</i> ^b	9.9	1.07
2	3f	8.41 \pm 2.17	<i>Nd</i> ^b	14.8	1.76
3	EP13	4.61 \pm 0.41	6.03 \pm 0.02	2.93	0.63
4	45	5.10 \pm 0.63	<i>Nd</i> ^b	3.59	0.70
5	46	5.92 \pm 0.22	4.94 \pm 0.53	4.57	0.93

^a Concentration requise pour observer une diminution de 50 % de cellules vivantes \pm SEM. ^b *Nd* : Non déterminé. ^c $n=1$.

Il est intéressant de remarquer que dans les cellules MDA-MB-231, le composé **45** présente une CI_{50} de 5.10 μM couplée à la présence de 36.4 % de cellules à 10 μM . Le composé **46** a une CI_{50} un peu plus faible à 5.92 μM mais couplée à la présence de seulement 17.82 % de cellules avec une concentration de 10 μM . A faible concentration, le composé **45** apparaît légèrement plus efficace que le composé **46** mais cet effet est perdu à forte concentration. Ainsi à 80 μM il reste encore 16.5 % de cellules après 48 h de traitement. Nous retrouvons également 9.6 % de cellules avec 80 μM de composé **3f**. Cet effet inhibiteur qui tend sur un plateau aux fortes concentrations reste à comprendre.

Par ailleurs, les analyses avec le Cytonote montrent de très faibles différences entre les composés qui ont tous une forte activité inhibitrice sur la prolifération. La coloration au cristal violet met en avant de plus fortes amplitudes entre les efficacités à 10 μM avec **EP13** > **46** > **45** > **3f** (Tableau 5). Néanmoins, comme avec l'analyse par le Cytonote, nous retrouvons que **EP13** et **46** sont deux composés plus efficaces que **45** et **3f**.

Tableau 5 : Comparaison du nombre de cellules mesuré à 48 h de traitement par les deux méthodes d'analyse (Cytonote et cristal violet).

Composé à 10 μM à 48 h MDA-MB-231	Cytonote (% par rapport au non traité égal à 100 %)*	Cristal violet (% par rapport au non traité égal à 100 %)	CI_{50} (μM)
EP13	29.9	2.07	4.61
46	27.4	17.82	5.92
45	40.1	36.4	5.10
3f	37.7	45.57	8.41
Classement du plus actif au moins actif	46\approxEP13>3f\approx45	EP13>46>45>3f	EP13>45>46>3f

* Calculé grâce à la formule (nb cellules traitées/nb cellules non traitées) x 100

Ce résultat montre les limites de l'analyse par imagerie (Cytonote) qui ne permet pas d'avoir une bonne sensibilité lorsque le nombre de cellules n'augmente pas et/ ou lorsque les cellules meurent et se décollent. D'autre part, le suivi de prolifération avec le Cytonote nécessite de partir avec une densité cellulaire plus faible qu'en cristal violet pour éviter d'atteindre la confluence car le suivi par imagerie montre à ce moment-là un effet de plateau. Le suivi de prolifération par le Cytonote est parfaitement adapté pour faire une analyse globale d'activité sur un panel de composés comme nous l'avons réalisé. Néanmoins il semble nécessaire de coupler cette technique avec d'autres approches pour obtenir une efficacité d'inhibition de prolifération des composés les plus actifs.

En conclusion, la substitution de l'oxygène central par un atome d'azote n'influence pas ou peu l'activité des composés sur les cellules cancéreuses mammaires triple négatives. La molécule **46** semble malgré tout montrer une activité plus intéressante dans la lignée Hs578T.

4.4.2 Action antiproliférative sur des cellules non cancéreuses

Afin de déterminer la sélectivité de nos composés, une étude préliminaire de même type a pu être réalisée par Stéphanie Philippot (L2CM, UMR 7053, Université de Lorraine) sur les cellules MRC-5, une lignée cellulaire représentative de fibroblastes pulmonaires sains (Tableau 4). Les CI_{50} des composés ont été déterminées par la méthode MTT qui permet de quantifier la viabilité cellulaire. Il s'agit d'une technique colorimétrique utilisant le bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium (MTT) basée sur la mesure de l'activité métabolique cellulaire et la réduction du réactif MTT (jaune) en Formazan (violet). La quantité de Formazan produite est mesurée par spectrophotométrie UV-visible (540 nm). Les composés étudiés ont une activité antiproliférative importante vis-à-vis de cette lignée cellulaire également. Comme dans le cas des lignées cellulaires cancéreuses, la présence de la chaîne aminoalkyle sur le noyau chromane (**EP13**, **45** et **46**) augmente la cytotoxicité des molécules. En revanche, la présence de l'atome d'azote central semble diminuer cette toxicité par rapport à l'atome d'oxygène (**1f** et **3f**, **EP13** et **46**). Le paramètre permettant d'évaluer la balance bénéfice-risque d'un composé est l'index de sélectivité (IS) qui est déterminé par la formule :²⁰¹

$$IS = \frac{CI_{50}^{cellules\ saines}}{CI_{50}^{cellules\ cancéreuses}}$$

Une molécule idéale devrait être très toxique vis-à-vis des cellules cancéreuses (CI_{50} très faible) et très peu toxique vis-à-vis des cellules saines (CI_{50} élevé) : l'index de sélectivité doit donc être le plus élevé possible et il est généralement admis qu'un index supérieur à 10 est suffisamment important pour poursuivre le développement des composés à visée thérapeutique.^{201,202} Néanmoins concernant les composés à visée anticancéreuse, un IS

²⁰¹ Indrayanto, G. *et al.* Validation of In-Vitro Bioassay Methods: Application in Herbal Drug Research. In *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*; Elsevier, 2021; Vol. 46, pp 273–307. doi: 10.1016/bs.podrm.2020.07.005.

²⁰² Peña-Morán, O. *et al.* Cytotoxicity, Post-Treatment Recovery, and Selectivity Analysis of Naturally Occurring Podophyllotoxins from *Bursera Fagaroides* Var. *Fagaroides* on Breast Cancer Cell Lines. *Molecules* **2016**, *21* (8), 1013. doi: 10.3390/molecules21081013.

supérieur à 3 est déjà suffisant.²⁰³ Les résultats sont présentés dans le Tableau 4. Les IS de **EP13**, **45** et **46** sont inférieurs à 1, ce qui indique que ces composés ont une activité antiproliférative plus importante vis-à-vis des cellules MRC-5 que des cellules MDA-MB-231. Par contre, les composés **1f** et **3f** présentent un IS supérieur à 1 qui indique une meilleure activité antiproliférative vis-à-vis des cellules cancéreuses. Il semble donc que la présence de la chaîne aminoalkyle sur le fragment chromane joue un rôle déterminant dans la sélectivité des composés. Par ailleurs nous observons que l'atome d'azote central permet d'améliorer sensiblement les index de sélectivité passant de 0.63 à 0.93 pour **EP13** et **46**, et de 1.07 à 1.76 pour les composés **1f** et **3f**.

Pour conclure, malgré des activités antiprolifératives intéressantes vis-à-vis des cellules cancéreuses, nos composés ne sont pas assez sélectifs. Cependant, le composé **3f** semble intéressant avec la meilleure sélectivité de la série.

5 Étude du mécanisme d'action

Nous avons étudié l'activité antiproliférative des composés synthétisés et l'avons comparée aux composés de référence tels que la Troglitazone et l'**EP13**, ce qui nous a conduit à tirer des conclusions quant aux caractéristiques structurales des molécules qui permettent d'optimiser leur activité antiproliférative.

Néanmoins il est nécessaire de rappeler que la cible de ces composés est encore inconnue. Alors que la Troglitazone est un agoniste des récepteurs PPAR- γ et que c'est par ce biais qu'elle exerce son activité antidiabétique, ses propriétés antiprolifératives font encore débat et sembleraient, au moins en partie, PPAR- γ indépendantes.^{161,204,205} Nous avons donc effectué certaines études afin d'améliorer notre connaissance du mécanisme d'action des analogues de la TGZ sur les cellules cancéreuses :

- localisation intracellulaire du composé par épifluorescence,
- étude de l'action sur la tubuline,
- détection de la mort cellulaire par apoptose.

²⁰³ Weerapreeyakul, N. *et al.* Evaluation of the Anticancer Potential of Six Herbs against a Hepatoma Cell Line. *Chinese Medicine* **2012**, 7 (1), 15. doi: 10.1186/1749-8546-7-15.

²⁰⁴ Chbicheb, S. *et al.* The PPARgamma-Independent Antiproliferative Effects of Thiazolidinediones in Breast Cancer Cells Are Partially Mediated by an ER-Stress-Related Induction of EGR1. *European Journal of Cancer Supplements* **2010**, 8 (5), 188. doi: 10.1016/S1359-6349(10)71542-1.

²⁰⁵ Colin-Cassin, C. *et al.* PPAR γ -Inactive $\Delta 2$ -Troglitazone Independently Triggers ER Stress and Apoptosis in Breast Cancer Cells: PPAR γ -Independent Effects in Breast Cancer Cells. *Molecular Carcinogenesis* **2015**, 54 (5), 393–404. doi: 10.1002/mc.22109.

5.1 Localisation du composé : suivi par épifluorescence

Nous avons observé que certains des composés que nous avons synthétisés possèdent des propriétés de fluorescence (Figure 30). Nous avons donc souhaité mettre cette propriété à profit afin de les localiser au sein des cellules. Les paramètres que nous avons pris en compte afin d'effectuer cette étude sont :

- le déplacement de Stokes observé,
- le rendement quantique mesuré pour les molécules,
- l'activité antiproliférative des composés.



Figure 30 : Observation de la fluorescence du composé 3d (excitation à 365 nm).

5.1.1 Histoire et principe de la fluorescence

Le phénomène de fluorescence a été observé la première fois en 1565 par Nicolas Monardes qui remarqua une pellicule bleue à la surface d'une infusion de bois appelé *Lignum Nephriticum*. En 1845 John Herschel observa ce phénomène sur des solutions de sulfate de quinine et le nomma « dispersion épipolique » (terme qui vient du grec et signifie surface).^{206,207} Les solutions qu'il étudiait à l'époque étaient très concentrées, donc la majeure partie de la lumière était absorbée et la couleur n'apparaissait qu'en surface. En 1852 Stokes a repris ces résultats et a démontré que la fluorescence consiste en une émission de lumière consécutive à une absorption de lumière.²⁰⁸ Il a également noté que la longueur d'onde de la lumière émise est toujours supérieure à la longueur

²⁰⁶ Herschel, J. Formula No. I.— on a Case of Superficial Colour Presented by a Homogeneous Liquid Internally Colourless. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1845**, 135, 143–145. doi: 10.1098/rstl.1845.0004.

²⁰⁷ Herschel, J. Formula No. II.— on the Epipolic Dispersion of Light, Being a Supplement to a Paper Entitled, "On a Case of Superficial Colour Presented by a Homogeneous Liquid Internally Colourless.". *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1845**, 135, 147–153. doi: 10.1098/rstl.1845.0005.

²⁰⁸ Stokes, G. G. XXX. On the Change of Refrangibility of Light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1852**, 142, 463–562. doi: 10.1098/rstl.1852.0022.

d'onde de la lumière absorbée. Dans une seconde publication le terme « fluorescence » est posé par Stokes et c'est celui qui est encore utilisé aujourd'hui.²⁰⁹ Au cours du XX^{ème} siècle, avec l'avènement de la physique quantique, de nombreuses avancées dans ce domaine ont pu être réalisées et aujourd'hui il est assez bien compris. Le diagramme de Perrin-Jablonski (Figure 31) permet de visualiser simplement les différents processus possibles au niveau électronique. Sur ce diagramme, les niveaux d'énergie notés S_i représentent des états singulets alors que les niveaux d'énergie notés T_i représentent des états triplets.

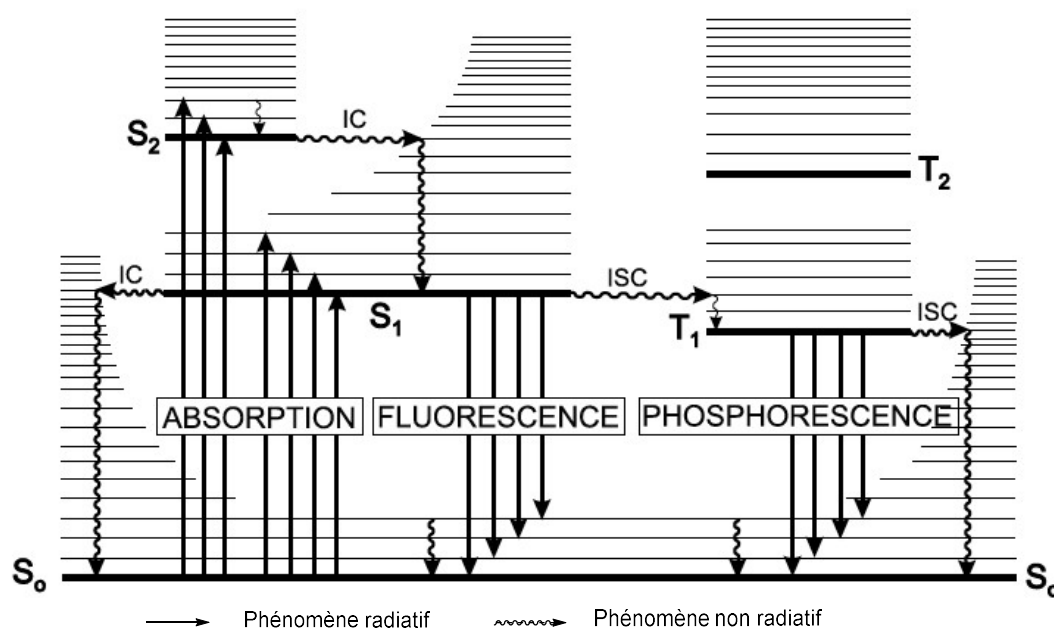


Figure 31 : Diagramme de Perrin-Jablonski.²¹⁰

Dans leur état fondamental, les molécules se trouvent au niveau d'énergie S_0 . L'absorption d'un photon d'énergie suffisante par la molécule la fait passer de l'état fondamental à un état excité au niveau d'énergie S_1 par exemple. Chaque niveau d'énergie peut être subdivisé en sous-niveaux énergétiques qui sont des niveaux vibrationnels. Lorsque la molécule passe à l'état excité, elle peut être au niveau S_1 ou à l'un de ses niveaux vibrationnels. Le retour à l'état fondamental, c'est-à-dire le retour à S_0 , peut se faire par fluorescence et peut avoir lieu vers un niveau vibrationnel qui n'est pas nécessairement l'état fondamental. La différence d'énergie entre les états S_1 et S_0 correspond à la

²⁰⁹ Stokes, G. G. XVI. On the Change of Refrangibility of Light.—No. II. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1853**, 143, 385–396. doi: 10.1098/rstl.1853.0016.

²¹⁰ Valeur, B. *Molecular Fluorescence Principles and Applications*; Wiley-VCH: Weinheim, 2001.

différence entre la longueur d'onde d'absorption et la longueur d'onde d'émission observées : c'est le déplacement de Stokes (Figure 32).

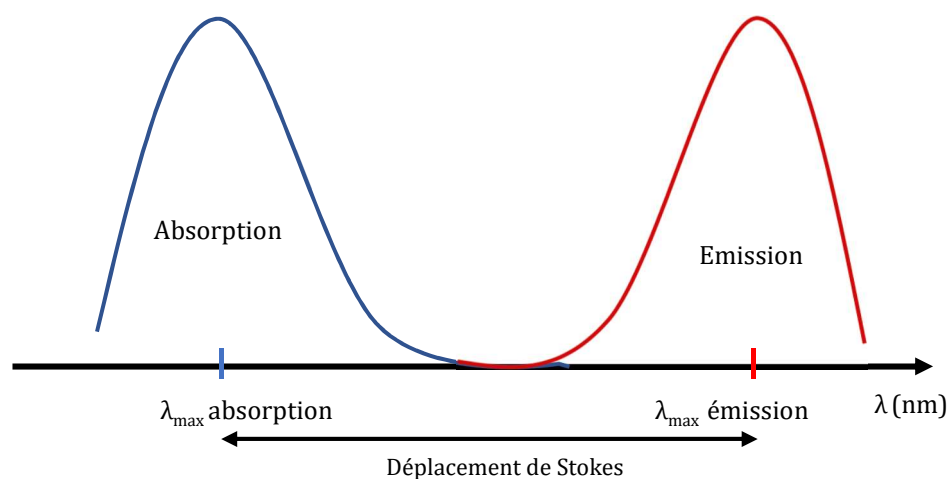


Figure 32 : Schéma représentant le déplacement de Stokes.

Une autre voie de désexcitation possible est la phosphorescence. Dans ce cas l'électron qui est au niveau excité S_1 passe à l'état excité T_1 , dont le niveau d'énergie est assez proche de celui de S_1 , par croisement intersystème (ISC : « Intersystem crossing »). Ce phénomène est normalement interdit par les règles de sélection (les transitions entre états de spin différents singulet-triplet sont interdites alors que les transitions singulet-singulet ou triplet-triplet sont autorisées) mais peut avoir lieu malgré tout lorsqu'il existe couplage spin-orbite au sein de la molécule et que l'état T_1 est assez proche de l'état S_1 . La phosphorescence et la fluorescence diffèrent par leur longueur d'onde d'émission mais également par la durée de vie de leur état d'excitation (de 10^{-10} s à 10^{-7} s pour l'état S_1 conduisant à la fluorescence contre 10^{-6} s à 1 s pour l'état T_1 conduisant à la phosphorescence). La désexcitation de la molécule peut aussi avoir lieu à travers un phénomène de conversion interne (IC : « Internal conversion »), un processus non radiatif qui a lieu entre deux états électroniques de même multiplicité.

5.1.2 Résultats des mesures

5.1.2.1 Spectres d'absorption et de fluorescence

Les composés pour lesquels nous avons observé de la fluorescence sont les analogues azotés de la Boc- Δ^2 -TGZ et, en particulier, ceux porteurs du noyau succinimide (Figure 33).

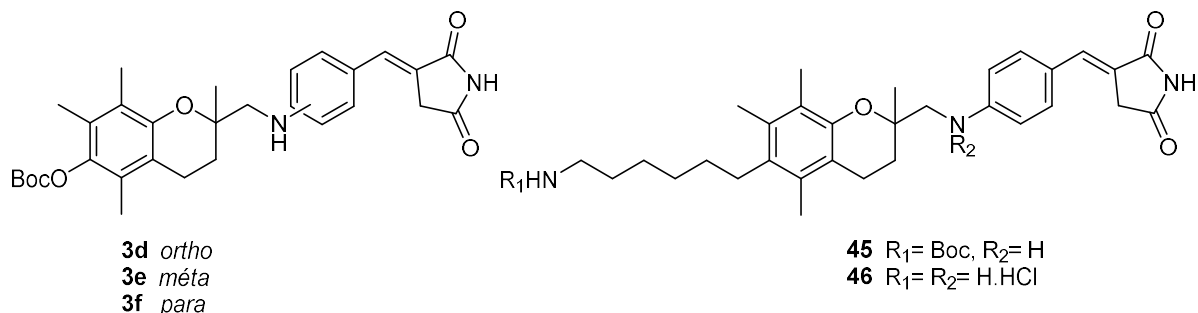


Figure 33 : Structure des composés possédant des propriétés de fluorescence.

Comme nous l'avons vu précédemment, c'est l'absorption d'un photon par la molécule qui lui permet ensuite d'émettre de la lumière par fluorescence. Il est donc indispensable de connaître les spectres d'absorption des composés. Ces derniers peuvent être expliqués par l'étude des orbitales moléculaires impliquées dans les transitions électroniques. Les orbitales intéressantes sont la HOMO et la LUMO de la molécule. Il est reconnu que les systèmes présentant un système électronique π très étendu, c'est-à-dire ayant un degré de conjugaison important, sont plus fluorescents que les systèmes non conjugués.²¹⁰ Les orbitales impliquées sont alors les orbitales π et π^* . Lorsque le système possède un hétéroatome porteur d'un doublet non liant, tel qu'un azote par exemple, alors une orbitale n , associée à ce doublet non liant, est également prise en compte. Les transitions qui peuvent être observées lors de l'absorption d'un photon par la molécule sont les transitions π - π^* ou n - π^* ($200 \text{ nm} < \lambda < 700 \text{ nm}$). Les transitions σ - π^* et σ - σ^* ne sont pas considérées ici car elles nécessitent trop d'énergie ($\lambda < 200 \text{ nm}$) (Figure 34). Par ailleurs, les transitions n - π^* sont habituellement d'intensité plus faible que les transitions π - π^* .

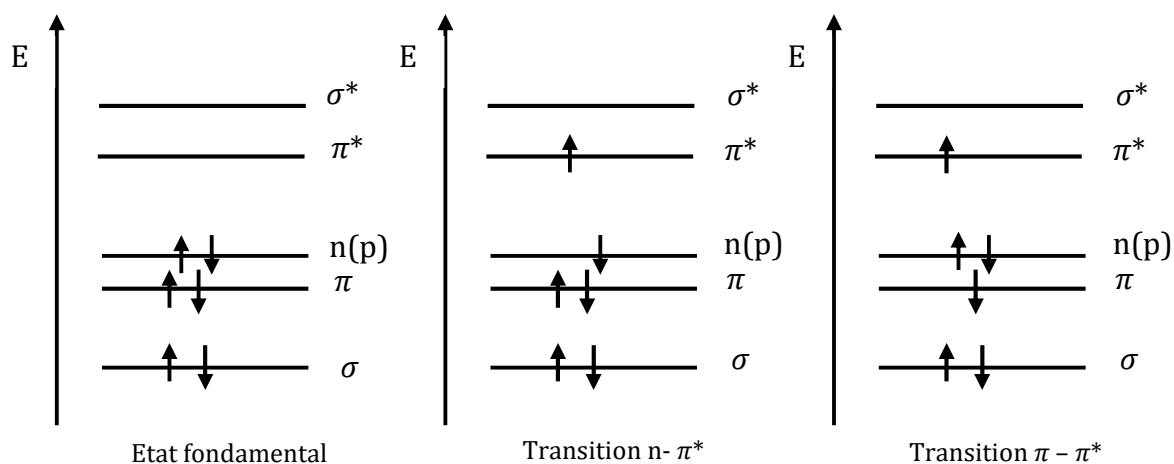


Figure 34 : Représentation des transitions électroniques $n-\pi^*$ et $\pi-\pi^*$.

Les composés que nous avons synthétisés possèdent un système de conjugaison étendu, allant de l'hétéroatome central à l'extrémité de l'hétérocycle à cinq chaînons (Figure 35), ce qui permet de diminuer l'écart énergétique entre les orbitales π et π^* et n et π^* .

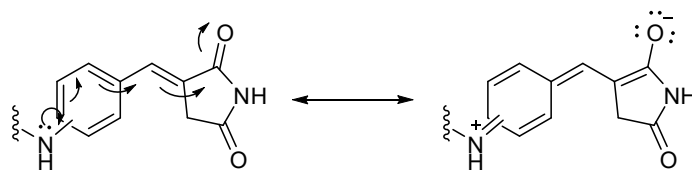


Figure 35 : Conjugaison du noyau amino-benzylidène-succinimide.

Nous avons réalisé les spectres d'absorption et de fluorescence des composés **3d** *ortho*, **3e** *méta* et **3f** *para* ainsi que **45** et **46** qui contiennent la chaîne aminoalkyle afin de déterminer leurs propriétés photophysiques. Etant donné que nous souhaitons exploiter ces résultats dans le cadre de l'observation au microscope de cellules traitées, nous avons effectué les mesures dans les mêmes conditions que les conditions de traitement des cellules. Ainsi les composés ont été dissous dans le DMSO pour atteindre une concentration de 25 mM puis la solution a été diluée dans l'eau. Les spectres de fluorescence ont été obtenus par excitation à la longueur d'onde correspondant à leur maximum d'absorption (Figure 36). Les spectres d'absorption des composés **3d** et **3e** comportent une bande de faible intensité à 400 nm et 375 nm respectivement, ce qui pourrait correspondre à la transition $n-\pi^*$, alors que dans le cas des autres composés celle-ci n'est pas observée, probablement car elle est confondue avec la bande $\pi-\pi^*$ de plus haute intensité.

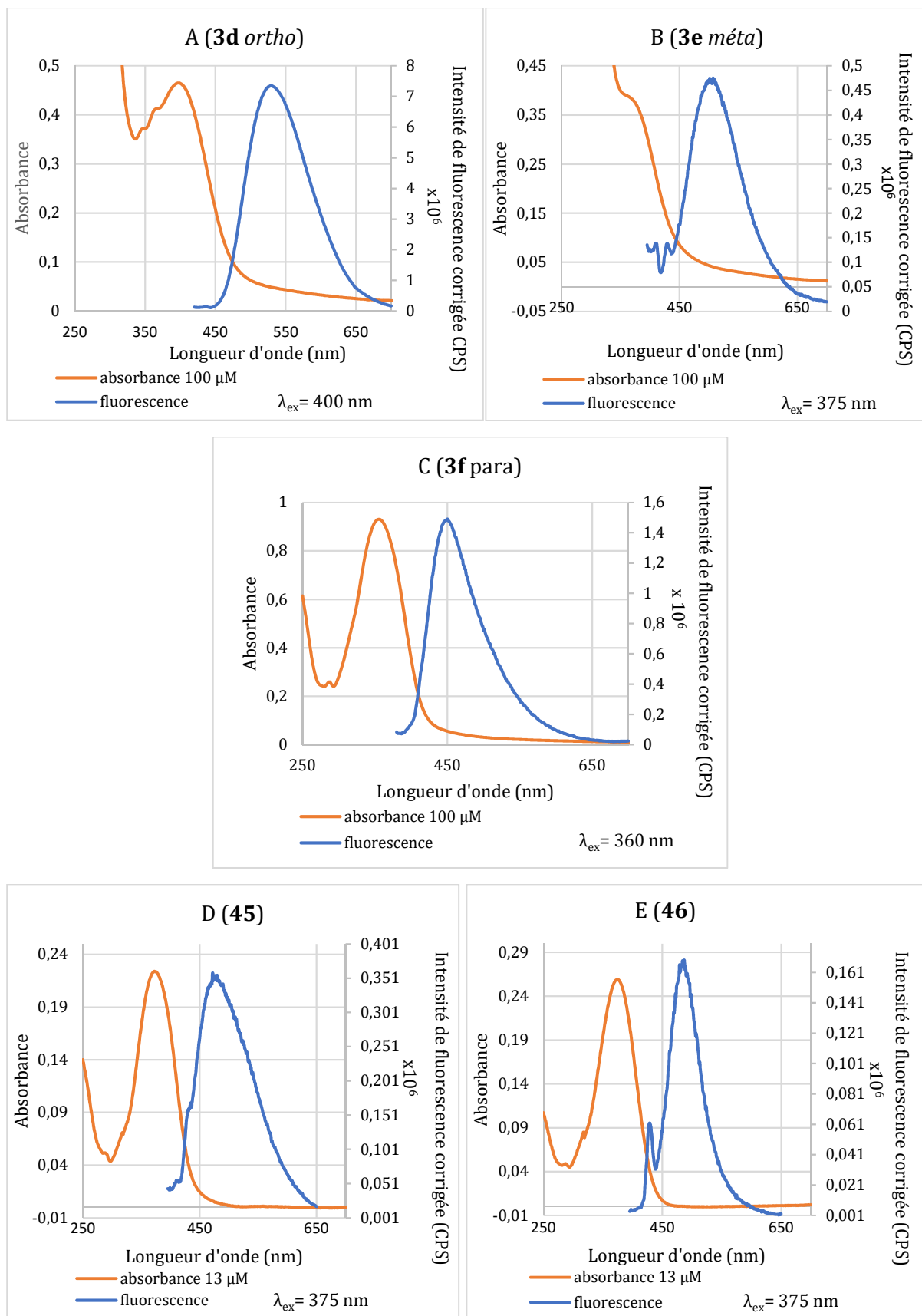


Figure 36 : Spectres d'absorption et de fluorescence dans l'eau. A : composé *ortho* 3d ; B : composé *méta* 3e ; C : composé *para* 3f ; D : composé 45 ; E : composé 46.

Les caractéristiques physicochimiques des composés sont résumées dans le Tableau 6. Les composés présentent un déplacement de Stokes important, de l'ordre de 100 à 140 nm, ce qui est une propriété intéressante pour un fluorophore puisque cela permet d'éviter que la lumière émise ne soit réabsorbée par la molécule. Par ailleurs, les longueurs d'onde d'émission des molécules sont différentes : les dérivés **3d** et **3e** émettent à plus de 500 nm (Entrées 1 et 2), ce qui se traduit par une lumière observée verte, et les autres ont des longueurs d'onde d'émission comprises entre 450 et 485 nm (lumière bleue) (Entrées 3-5).

Tableau 6 : Propriétés physicochimiques des composés dans l'eau.

Entrée	Composé	λ_{\max} (abs) (nm)	λ_{\max} (ém) (nm)	ϵ (L. mol ⁻¹ .cm ⁻¹) ^a	ϕ (%)	B (L. mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
1	3d (<i>ortho</i>)	400	529	4578	1.46	67
2	3e (<i>méta</i>)	370	507	3705	0.63	23
3	3f (<i>para</i>)	355	450	9656	0.69	67
4	45	370	474	1.98E+04	0.88	175
5	46	378	483	2.23E+04	0.47	104
6	Hoechst 33342 ²¹¹	360	455	3.1E+04 ²¹¹	30 ²¹¹	9300

^a Valeurs mesurées pour le λ_{\max} d'absorption

5.1.2.2 Mesures du rendement quantique de fluorescence par la méthode relative

Le rendement quantique de fluorescence est un paramètre caractéristique des fluorophores qui représente le nombre de photons émis par rapport au nombre de photons absorbés par la molécule dans des conditions données (température, solvant). Il peut être déterminé par la méthode relative qui consiste à comparer le composé à un fluorophore de référence dont le rendement quantique est connu. Pour cela, il est

²¹¹ La littérature décrit surtout les propriétés du fluorophore Hoechst 33258 qui diffère du Hoechst 33342 par le remplacement d'une fonction éther par un hydroxyle. Néanmoins il a été montré que leurs propriétés physicochimiques sont très similaires. Görner, H. Direct and Sensitized Photoprocesses of Bis-Benzimidazole Dyes and the Effects of Surfactants and DNA. *Photochemistry and Photobiology* **2001**, 73 (4), 339-348. doi: 10.1562/0031-8655(2001)0730339DASPOB2.0.CO2.

nécessaire de mesurer l'absorbance et l'intensité de fluorescence du composé et de la référence. Le rendement quantique φ se calcule alors grâce à la formule (2).^{212,213}

$$\varphi_{\text{composé}} = \varphi_{\text{référence}} \times \frac{Abs_{\text{référence}}}{Abs_{\text{composé}}} \times \frac{fluo_{\text{composé}}}{fluo_{\text{référence}}} \times \frac{n_{\text{composé}}^2}{n_{\text{référence}}^2} \quad (2)$$

Avec :

- $Abs = 1 - 10^{-A}$;
- $fluo_x$ est l'aire sous le pic d'émission de x ;
- n est l'indice de réfraction du solvant.

Etant donné que toutes les corrections instrumentales et les paramètres de mesures du fluorimètre et du spectromètre UV-visible sont identiques (cuve, ouverture de fente, corrections du photomultiplicateur, etc.), cette formule peut être simplifiée en ne tenant compte que de la pente de la droite représentant l'intensité de fluorescence en fonction de l'absorbance (équation 3). Dans ce cas, plusieurs solutions de concentrations différentes de composé et de fluorophore de référence sont préparées et les droites représentant l'intensité de fluorescence en fonction de l'absorbance sont tracées.

$$\varphi_{\text{composé}} = \varphi_{\text{référence}} \times \frac{pente_{\text{composé}}}{pente_{\text{référence}}} \times \frac{n_{\text{composé}}^2}{n_{\text{référence}}^2} \quad (3)$$

Si les solvants de mesure de la référence et du composé sont différents, alors leur indice de réfraction n entre en compte dans la formule. Le composé de référence est choisi par rapport à sa longueur d'onde d'absorption qui doit être dans la même gamme que celle du composé étudié. La mesure du rendement quantique s'effectue aux très faibles concentrations (telles que $A < 0.1$) ce qui permet d'éviter les phénomènes de réabsorption et de conserver une relation linéaire entre la fluorescence et l'absorbance.²¹⁰

Nous avons mesuré les rendements quantiques de fluorescence de nos composés **3d-f**, **45** et **46**. Les analogues soufrés **3a-c** n'ont pas été étudiés car ils présentaient des propriétés de fluorescence moins importantes. En effet, l'introduction d'un atome de numéro atomique plus important (ici le soufre) favorise le couplage spin-orbite et donc le

²¹² Würth, C. *et al.* Relative and Absolute Determination of Fluorescence Quantum Yields of Transparent Samples. *Nature Protocols* **2013**, 8 (8), 1535–1550. doi: 10.1038/nprot.2013.087.

²¹³ Nawara, K. *et al.* Improved Method of Fluorescence Quantum Yield Determination. *Analytical Chemistry* **2017**, 89 (17), 8650–8655. doi: 10.1021/acs.analchem.7b02013.

croisement intersystème entre les états singulet S_1 et triplet T_1 .^{214,215,216} Ainsi la désexcitation n'a plus lieu par fluorescence mais par d'autres voies telles que la phosphorescence ou la conversion interne, ce qui a pour effet de supprimer ou de diminuer fortement le phénomène de fluorescence.²¹⁰

Plusieurs mesures à différentes concentrations ont été effectuées, avec le sulfate de quinine en solution dans H_2SO_4 à 0,1 M choisi comme référence et dans ces conditions son rendement quantique est égal à 54 % ($\lambda_{abs}= 345$ nm, $\lambda_{ém}= 445$ nm).²¹⁷ Nous faisons l'approximation que le solvant est uniquement l'eau dans les deux cas. Les résultats de ces mesures sont présentés dans la Figure 37. Nous n'avons pas représenté ici la droite correspondant au sulfate de quinine car sa pente est beaucoup plus importante que celle des composés étudiés (ce qui signifie un rendement quantique beaucoup plus élevé), ce qui ne permet pas une lecture optimale des résultats.

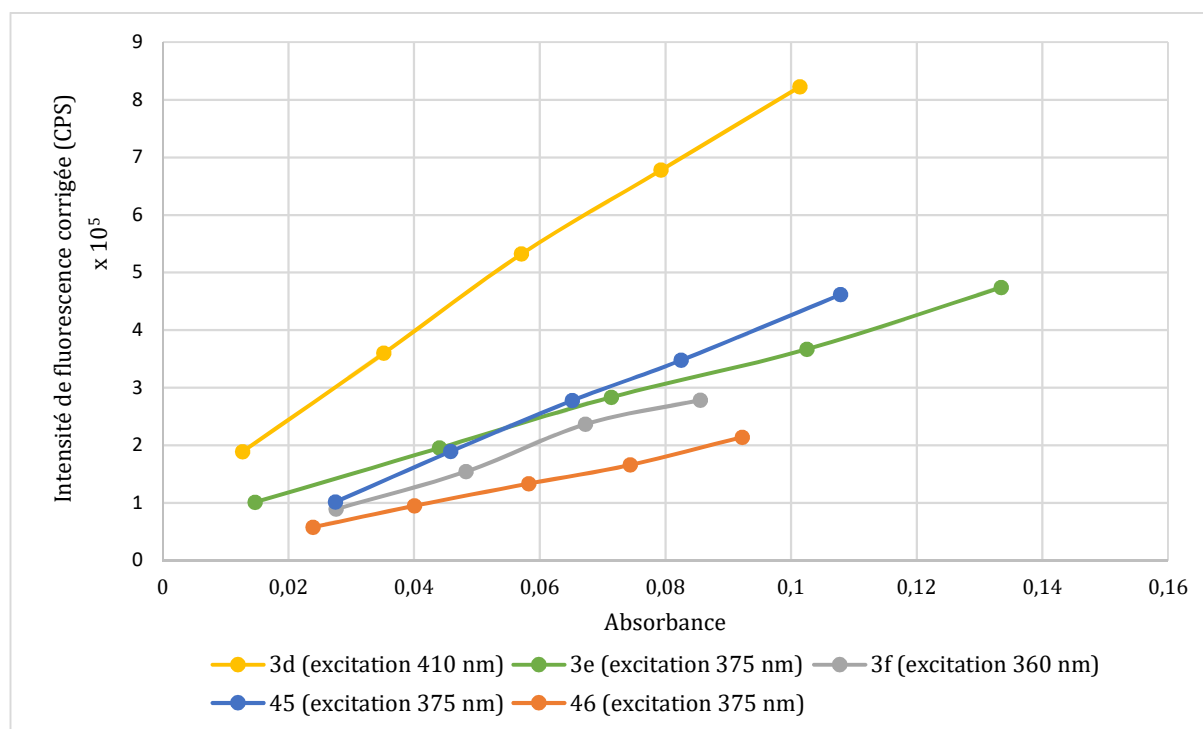


Figure 37 : Représentation de la fluorescence des composés en fonction de leur absorbance dans l'eau.

²¹⁴ Lancelot, G. The Role of Sulphur 3 *d* Orbitals in Spin-Orbit Coupling of Thiopurines and Thiopyrimidines. *Molecular Physics* **1976**, 31 (1), 241–254. doi: 10.1080/00268977600100191.

²¹⁵ Haubitz, T. *et al.* Investigating the Sulfur “Twist” on the Photophysics of DBD Dyes. *The Journal of Physical Chemistry A* **2020**, 124 (22), 4345–4353. doi: 10.1021/acs.jpca.0c01880.

²¹⁶ Wessig, P. *et al.* Sulfur Tuning of [1,3]-Dioxolo[4.5-*f*]Benzodioxole (DBD) Fluorescent Dyes. *European Journal of Organic Chemistry* **2021**, 2021 (3), 499–511. doi: 10.1002/ejoc.202001418.

²¹⁷ Melhuish, B. H. Quantum Efficiencies of Fluorescence of Organic Substances: Effect of Solvent and Concentration of the Fluorescent Solute. *The Journal of Physical Chemistry* **1961**, 65 (2), 229–235. doi: 10.1021/j100820a009.

Les composés ont des rendements quantiques équivalents globalement inférieurs à 1 % (Tableau 6). Pour comparaison le rendement quantique de fluorescence du fluorophore utilisé pour le marquage du noyau des cellules, le Hoechst 33342, est égal à 30 % dans l'eau en présence d'ADN.²¹¹

Un autre paramètre pris en compte pour les études par microscopie de fluorescence est la brillance B . Celle-ci nous permet de comparer la visibilité des composés entre eux et de déterminer s'ils seront bien visibles ou non au microscope. La brillance se calcule grâce au produit du rendement quantique de fluorescence (qui traduit le rayonnement émis) par le coefficient d'absorption molaire (qui traduit le rayonnement absorbé).²¹⁸ Elle a été déterminée pour chacun des composés précédents par mesure de leur coefficient d'extinction molaire ϵ et pour le colorant Hoechst 33342 à partir des données de la littérature (Tableau 6). Les valeurs obtenues ne montrent encore une fois pas de différence significative entre les composés, à part pour **45** et **46** qui, en raison de leur fort coefficient d'absorption molaire, ont une brillance plus élevée que les autres. La brillance du colorant Hoechst 33342, utilisé pour marquer les noyaux des cellules, est beaucoup plus importante que celles des composés étudiés, ce qui signifie qu'il est plus visible que ces derniers (entre 50 et 400 fois plus visible).

La littérature décrit un effet délétère de l'eau sur les rendements quantiques de fluorescence des molécules.^{219,220} En effet il a été montré que l'utilisation de solvant contenant un groupement hydroxyle, en particulier l'eau, diminue les rendements quantiques des fluorophores. Il semble que l'état excité S_1 des molécules est proche en énergie des états vibrationnels du solvant, ce qui permet un croisement intersystème entre la molécule excitée et le solvant. Ainsi la désexcitation se produit selon un processus non radiatif, et la fluorescence n'est plus observée. Aussi nous avons déterminé les rendements quantiques des composés **3d**, **3e**, et **3f** dans le DMSO, solvant dans lequel leur solubilité est assurée, selon un procédé identique. Nous avons conservé le sulfate de quinine pour référence et les indices de réfraction des solvants ont été pris en compte

²¹⁸ Wong, K.-L. *et al.* Quantum Yield and Brightness. *Journal of Luminescence* **2020**, *224*, 117256. doi: 10.1016/j.jlumin.2020.117256.

²¹⁹ Fürstenberg, A. Water in Biomolecular Fluorescence Spectroscopy and Imaging: Side Effects and Remedies. *CHIMIA International Journal for Chemistry* **2017**, *71* (1), 26–31. doi: 10.2533/chimia.2017.26.

²²⁰ Maillard, J. *et al.* Universal Quenching of Common Fluorescent Probes by Water and Alcohols. *Chemical Science* **2021**, *12* (4), 1352–1362. doi: 10.1039/D0SC05431C.

dans le calcul des rendements quantiques. Les résultats sont présentés ci-dessous (Tableau 7).

Tableau 7 : Propriétés physicochimiques des composés 3d-f dans le DMSO.

Entrée	Composé	λ_{\max} (abs) (nm)	λ_{\max} (ém) (nm)	ϵ (L. mol ⁻¹ .cm ⁻¹) ^a	ϕ (%)	B (L. mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
1	3d (<i>ortho</i>)	395	515	3824	54	2060
2	3e (<i>mé</i> ta)	375	531	1 940	37	710
3	3f (<i>para</i>)	365	448	16 647	5	817

^a Valeurs mesurées pour le λ_{\max} d'absorption

Alors que dans un solvant aqueux les rendements quantiques des composés **3d** et **3e** avoisinaient 1 %, (Tableau 6 Entrées 1 et 2), dans le DMSO, ils ont ici une valeur de plus de 30 %. Le composé **3f** para voit également son rendement quantique modifié, passant de 0.69 % dans l'eau à 5 % dans le DMSO. Ceci confirme que le solvant dans lequel sont effectuées les mesures joue un rôle primordial dans le résultat.

Nos composés ont des propriétés physicochimiques intrinsèques intéressantes qui vont permettre leur observation directe par microscopie à fluorescence.

5.1.2.3 Observations par épifluorescence

Nous souhaitons localiser les molécules au sein des cellules par microscopie à fluorescence. A cette fin, leurs noyaux sont marqués avec un fluorophore, le Hoechst 33342, dont la longueur d'onde d'émission est égale à 460 nm lorsqu'il est lié à l'ADN. Ce marquage permet de repérer les cellules mais également de localiser les molécules étudiées par comparaison des images obtenues. La tubuline, une protéine du cytosquelette présente dans le cytoplasme, peut également être marquée avec un anticorps porteur d'un fluorophore rouge ou vert.

D'après les études de propriétés antiprolifératives que nous avons effectuées, le dérivé **3d** *ortho* n'est pas actif et nous avons choisi d'étudier les composés qui présentent une certaine activité.

La brillance du composé **3e** *mé*ta est plus faible que celle de ses analogues, ce qui signifie qu'il sera moins visible. Aussi nous avons choisi de traiter les cellules avec une concentration en **3e** égale à 100 μ M afin d'augmenter sa visibilité. Ce choix implique une durée de traitement faibles afin de conserver des cellules pour l'observation. Par ailleurs,

sa longueur d'onde d'émission est égale à 530 nm, ce qui correspond à une couleur verte et peut permettre de le différencier du marquage des noyaux et le rend donc intéressant pour cette étude. Un marquage rouge de la tubuline a également été réalisé pour confirmer la position du cytoplasme.

Les cellules MDA-MB-231 ont été traitées avec une solution de composé **3e** à 100 μM pendant des durées allant de 10 min à 3h, puis elles ont été fixées avec du paraformaldéhyde et marquées avec le colorant Hoechst 33342 et/ou le marquage tubuline avant d'être observées au microscope. Une lampe à vapeur de mercure permet d'éclairer la lame au microscope et d'exciter les molécules présentes dans le milieu. Des filtres dichroïques permettent de choisir les gammes de longueurs d'onde excitatrices (émises par la lampe) et observées (émises par les molécules) (Figure 38a).²²¹ Les images obtenues pour le composé **3e** sont présentées ci-dessous (Figure 38b).

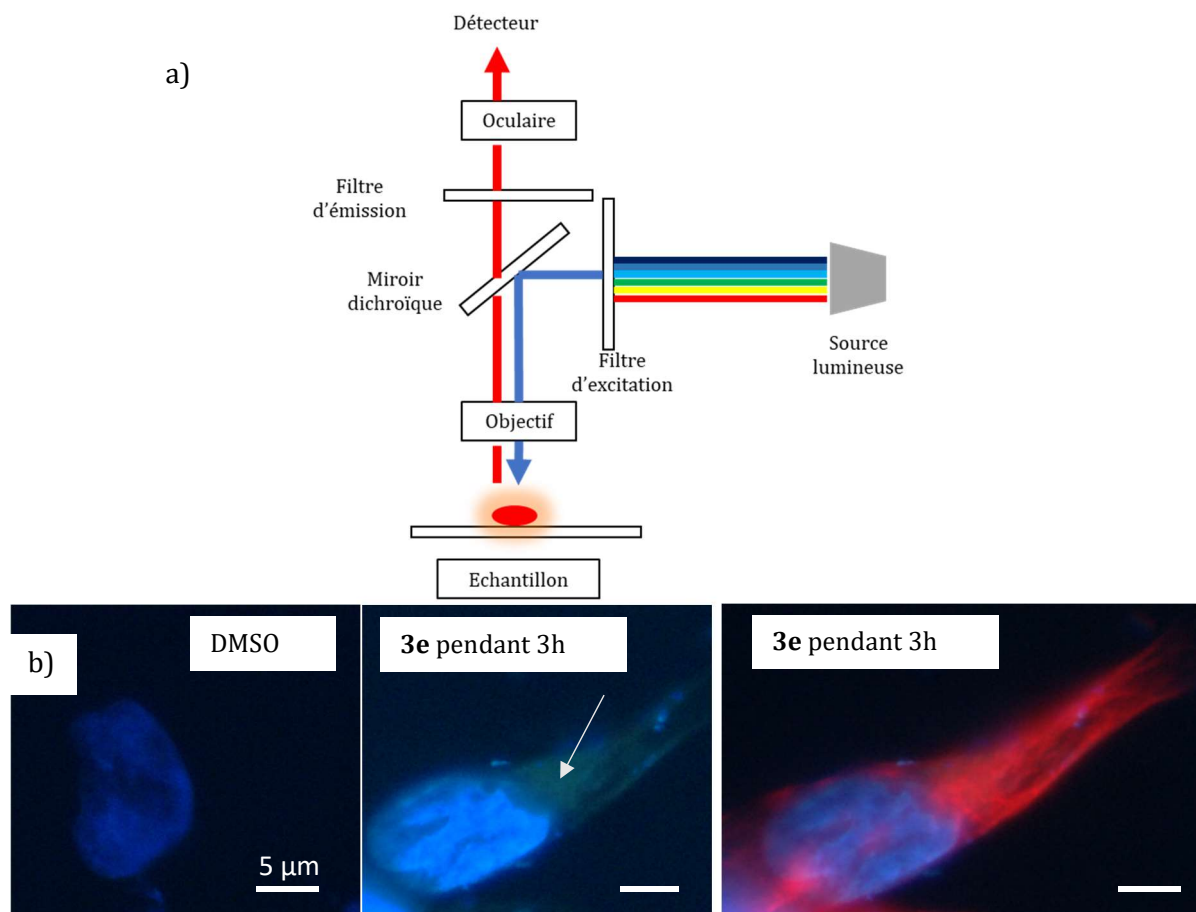


Figure 38 : a) Schéma de principe du microscope à fluorescence.²²¹ b) Observation des cellules MDA-MB-231 par microscopie à fluorescence après 3h de traitement à 100 μM . En bleu : coloration Hoechst qui marque le noyau des cellules, en rouge : marquage de la tubuline. La flèche montre l'accumulation du composé.

²²¹ Bhakdi, S. *et al.* Easy Employment and Crosstalk-Free Detection of Seven Fluorophores in a Widefield Fluorescence Microscope. *Methods and Protocols* **2018**, 1 (2), 20. doi: 10.3390/mps1020020.

Le filtre que nous avons utilisé pour nos observations permet une excitation des échantillons entre 330 et 380 nm et une observation de la lumière émise de longueur d'onde supérieure à 420 nm. Le noyau est identifié par sa coloration bleue due au fluorophore Hoechst 33342. On observe une faible coloration verte qui semble se situer à un pôle du noyau dans le cytoplasme. La tubuline nous permet de visualiser le cytoplasme de la cellule. En l'absence de traitement, cette coloration verte n'est pas visible. Il est néanmoins très difficile de conclure compte-tenu de la très faible intensité de la lumière émise par notre composé, d'autant plus que le noyau est particulièrement lumineux. Ces observations sont cohérentes avec les résultats précédents de brillance et de fluorescence. Les composés, dans un milieu aqueux, sont nettement moins visibles que le marqueur des noyaux.

Nous avons complété cette observation par une visualisation du composé en absence de Hoechst 33342 (Figure 39). Nous pouvons deviner la position du noyau et nous retrouvons l'accumulation du composé à un pôle du noyau dans le cytoplasme. Cette image nous permet de conclure que le composé ne semble pas se localiser dans le noyau.

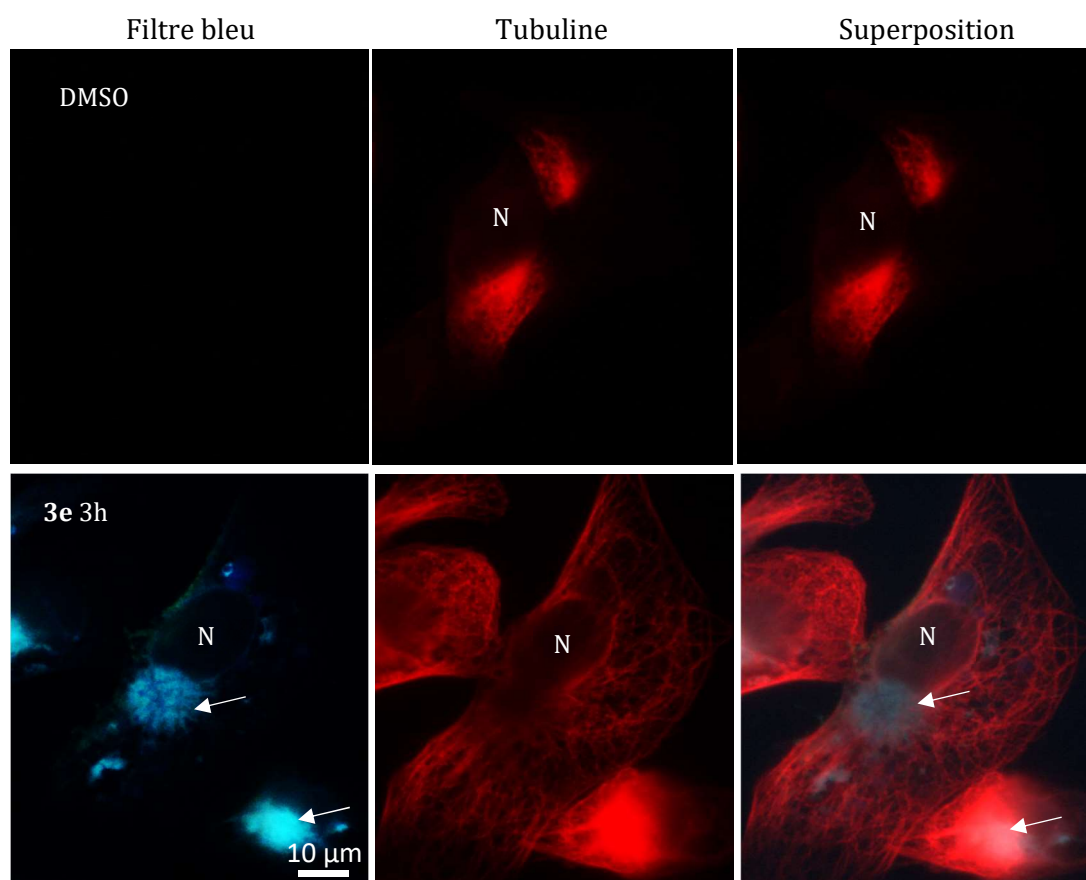


Figure 39 : Observation des cellules MDA-MB-231 par microscopie à fluorescence après 3 h de traitement avec le composé 3e (100 µM) sans marquage des noyaux. En rouge : marquage de la tubuline. Les flèches montrent l'accumulation de composé 3e. N : localisation probable du noyau.

Nous avons également cherché à visualiser le composé **46** qui est le plus actif et dont la brillance est plus intéressante que le composé **3e**. Nous avons ainsi traité les cellules à une concentrations de 6 μM (CI_{50} mesurée) pendant une durée variant de 5 min à 1 h. Néanmoins, la longueur d'onde d'émission étant proche de la longueur d'onde du Hoechst 33342 (483 nm), les noyaux des cellules n'ont pas été marqués afin de ne pas interférer avec nos composés (Figure 40).

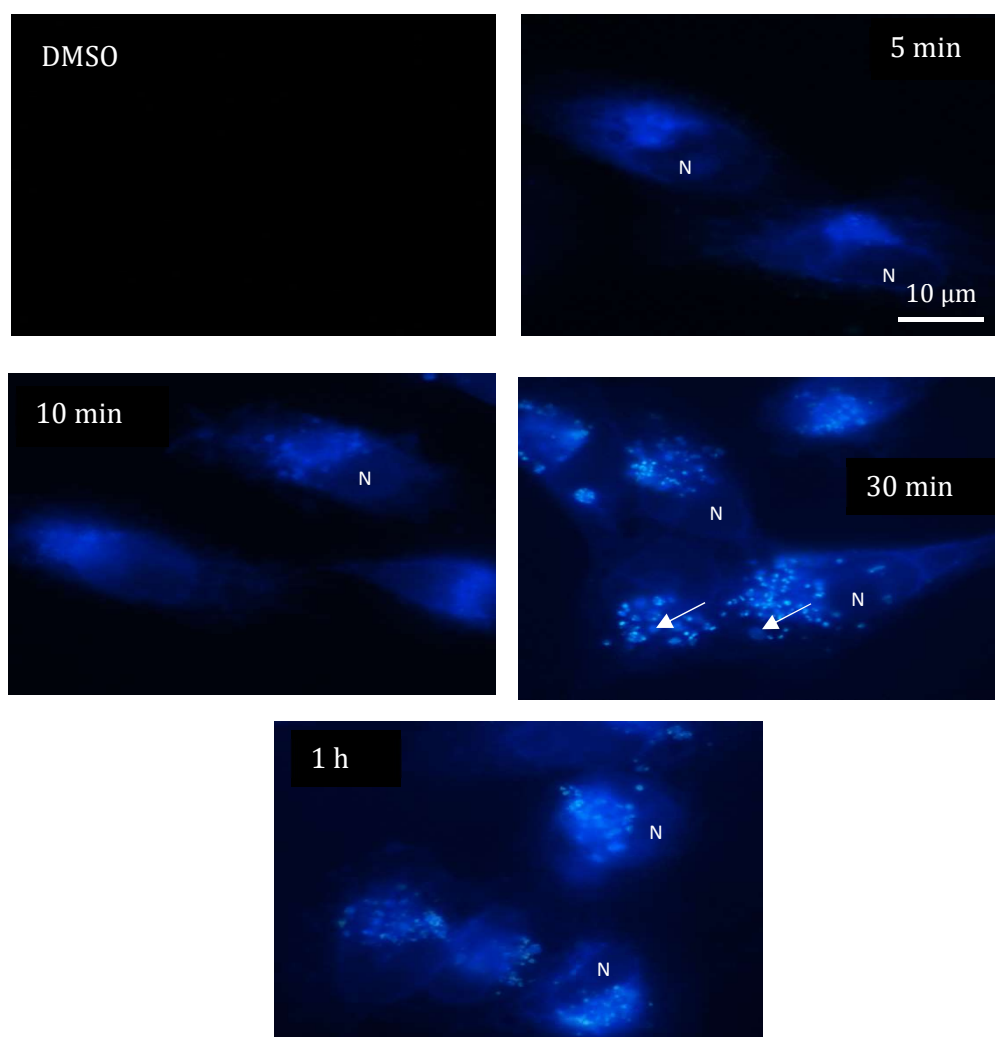


Figure 40 : Observation des cellules MDA-MB-231 traitées avec le composé 46 (6 μM) pendant une durée de 5 min à 1 h. N : localisation probable du noyau. Les flèches pointent les agrégats de plus gros diamètre et moins fluorescents.

Comme nous l'attendions, la molécule **46** émet une couleur bleue très proche de ce que l'on a observé pour le marquage Hoechst 33342. Ce composé apparaît également très visible en comparaison avec **3e** ce qui est cohérent avec nos mesures (Tableau 6). Cette série d'images est très intéressante puisqu'elle montre que le composé pénètre

effectivement dans les cellules et qu'il semble y avoir une accumulation avec le temps. Nous pouvons distinguer l'emplacement probable des noyaux (identifiés par la lettre N) grâce à l'absence de marquage dans certaines zones du cytoplasme. Le marquage est visible dans le cytoplasme dès 5 min de traitement avec une accumulation dans le cytoplasme à proximité du noyau. L'accumulation semble plus forte à 30 min avec la présence de petits points très fluorescentes et accompagnés d'agrégats de diamètre supérieur moins visibles et marqués par une flèche. Après 1 h de traitement, le composé semble rester dans le cytoplasme sous forme d'agrégats près du noyau et non à l'intérieur. Ceci peut être le signe d'agrégation du composé ou d'interaction de celui-ci avec des organelles du cytoplasme.

Une étude complémentaire a été réalisée après 6 h de traitement avec le composé **46** à la même concentration (6 μM) couplé à un marquage vert de la tubuline qui permet d'identifier le cytoplasme des cellules (Figure 41).

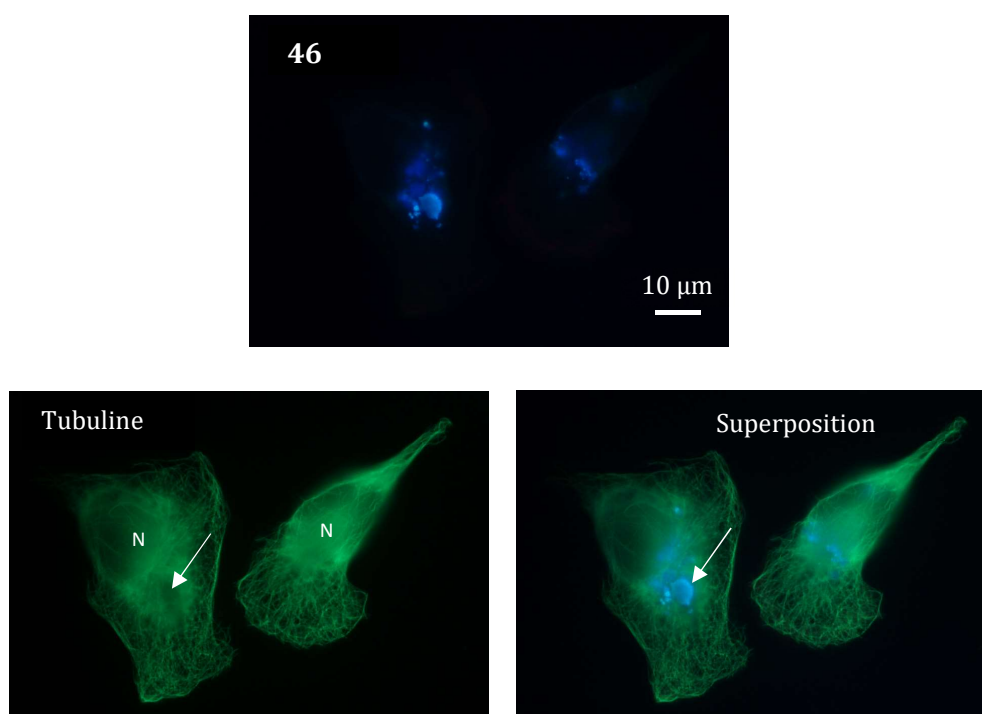


Figure 41 : Observation des cellules MDA-MB-231 traitées avec le composé 46 (6 μM) pendant 6 h. En vert : marquage de la tubuline. La flèche pointe le composé (superposition) ou son emplacement (tubuline). N : localisation probable du noyau.

Les images montrent que le composé **46** se trouve effectivement dans le cytoplasme sous forme d'agrégats à un pôle du noyau. La présence de ces agrégats modifie l'organisation

du cytosquelette de tubuline et il est parfois possible de deviner l'emplacement du composé (flèche blanche avec le marquage tubuline).

Nous avons montré qu'il est possible de visualiser nos composés au sein des cellules par épifluorescence. Nous pouvons ainsi affirmer que les composés actifs pénètrent effectivement au sein des cellules mais pas dans leur noyau. Ces résultats vont dans le sens d'une action directe non nucléaire et notamment effet PPAR- γ indépendante (ces récepteurs sont transloqués avec leur ligand dans le noyau et se comportent comme des facteurs de transcription). Néanmoins il est encore difficile de donner davantage de précisions quant à leur cible au sein de la cellule.

5.2 Étude de l'interaction avec la tubuline

5.2.1 Action sur la polymérisation de la tubuline

Des études de protéomique effectuées sur l'**AB186** dans le cadre de son développement ont montré que cette molécule interagit avec des protéines du cytosquelette (résultats non encore publiés).

La tubuline est une protéine présente dans le cytoplasme des cellules, constitutive du squelette de la cellule, qui existe sous deux formes : la tubuline α et la tubuline β . Au cours de la mitose, elle polymérise en alternant les formes α et β pour conduire aux microtubules qui forment le fuseau mitotique nécessaire à la division cellulaire. Elle est la cible des agents de chimiothérapie appelés « poisons du fuseau » comme les anticancéreux vinca-alcaloïdes et les taxoïdes. Plusieurs sites de liaison ont été identifiés sur la tubuline : le site des taxanes, le site des vinca-alcaloïdes, le site de la Colchicine, le site du Laulimalide et du Péloruside, le site de la Maytansine et le site de la Pironetine (Figure 42).^{50,222,223} Ces différents composés agissent sur la tubuline soit en empêchant sa polymérisation en microtubules, comme c'est le cas pour la vinblastine et la colchicine, soit en empêchant la dépolymérisation comme dans le cas du Taxol®.

²²² Naaz, F. *et al.* Anti-Tubulin Agents of Natural Origin: Targeting Taxol, Vinca, and Colchicine Binding Domains. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, 171, 310–331. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.03.025.

²²³ Xiao, Q. *et al.* High-Resolution X-Ray Structure of Three Microtubule-Stabilizing Agents in Complex with Tubulin Provide a Rationale for Drug Design. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2021**, 534, 330–336. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.11.082.

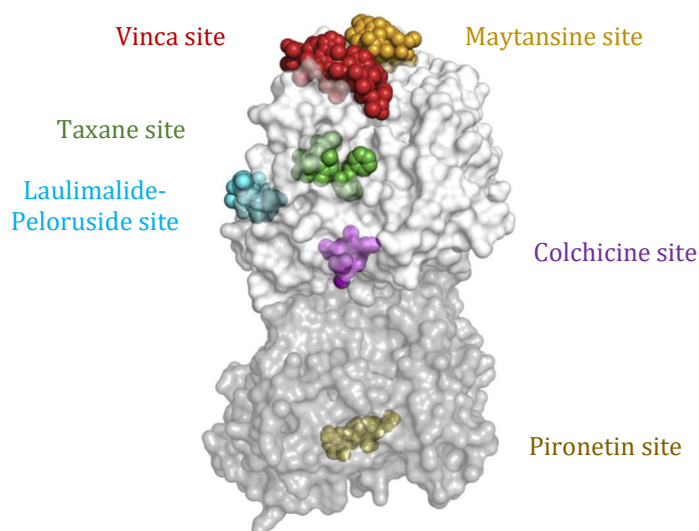


Figure 42 : Sites d'action des poisons du fuseau sur la tubuline.⁵⁰

Il est possible d'étudier l'action de composés sur la polymérisation de la tubuline grâce à une mesure de turbidité du milieu. Nous avons pour cela utilisé un kit commercialisé par la société Merck. La tubuline dans son état libre se trouve en solution dans le milieu. A 37°C et en présence de GTP (Guanosine Triphosphate) elle polymérise spontanément sous forme de microtubules insolubles, ce qui modifie l'absorbance du milieu. Nous avons donc effectué des mesures d'absorbance pour des milieux contenant de la tubuline et différents dérivés afin de vérifier leur influence sur la polymérisation de celle-ci. Ces mesures ont été réalisées au sein de notre laboratoire avec l'aide de Arnaud Risler (Plateforme Biologie, L2CM). Nous avons choisi les deux molécules les plus actives que nous ayons synthétisées, c'est-à-dire les analogues azotés de l'EP13 protégé **45** et déprotégé **46**, ainsi que l'**AB186** et l'**EP13** utilisés comme références (Figure 43).

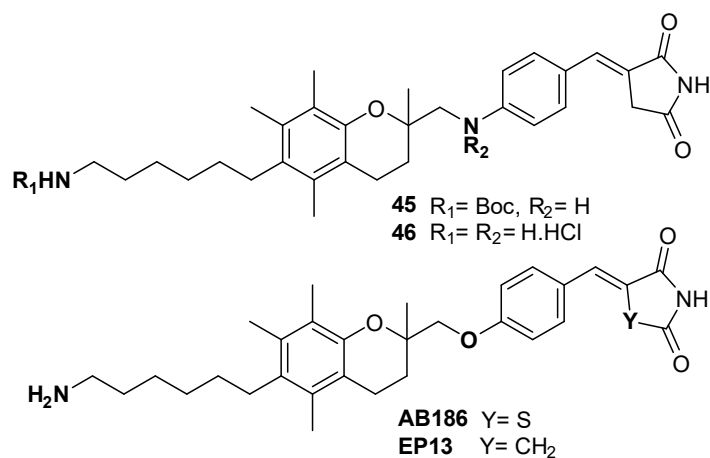


Figure 43 : Composés étudiés pour leur aptitude à modifier la polymérisation de la tubuline.

Le Paclitaxel est utilisé comme témoin positif (solution de concentration égale à 10 μM), accélérateur de polymérisation. La tubuline seule avec GTP est un témoin négatif. Les mesures ont été effectuées pour différentes concentrations des composés (5, 10 et 20 μM) à 37°C. Les résultats de ces mesures ont été normalisés et sont présentés ci-dessous (Figure 44).

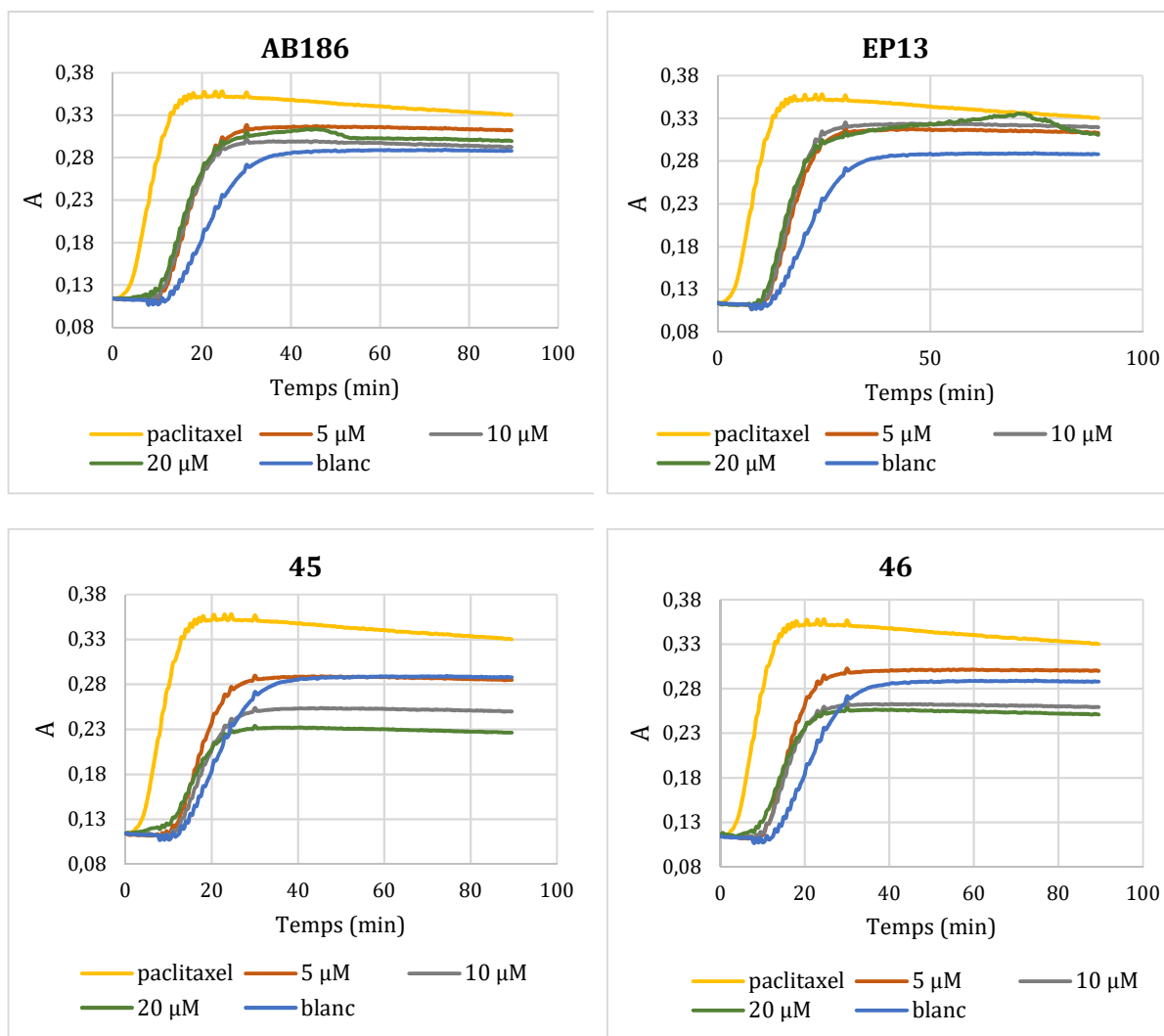


Figure 44 : Polymérisation de la tubuline en fonction du temps en présence de différents composés à différentes concentrations.

Les composés étudiés ont effectivement une influence sur la polymérisation de la tubuline. Dans un premier temps nous observons que **AB186** et **EP13** atteignent des paliers situés entre les deux témoins. Leurs comportements sont très peu influencés par leur concentration, les courbes sont quasi-identiques. *A contrario* l'influence des composés **45** et **46** est modifiée selon leur concentration. Les paliers atteints semblent dose-dépendants et il apparaît que plus la concentration en molécule augmente, plus le

maximum atteint diminue atteignant même des valeurs inférieures à celle atteinte par la tubuline non traitée, ce qui indiquerait que le taux de polymérisation est plus faible. Il semble donc que ces dérivés azotés aient un mode d'action différent de leurs homologues oxygénés que sont l'**AB186** et l'**EP13**.

Un autre paramètre pris en compte pour cette étude est le temps de demi-réaction (noté $t_{1/2}$). Celui-ci correspond au temps nécessaire pour atteindre 50 % de la valeur d'absorbance finale. Pour le déterminer il faut également prendre en considération le temps de latence (noté t_l) qui est la durée écoulée avant que la polymérisation ne débute. Le temps de demi-réaction se détermine graphiquement et par soustraction du temps de latence. Sur la Figure 45 ci-dessous, le temps de latence vaut 10 min alors que le temps nécessaire pour atteindre la moitié de la valeur d'absorbance finale est égal à 21.5 min. On en déduit que le temps de demi-réaction vaut 11.5 min.

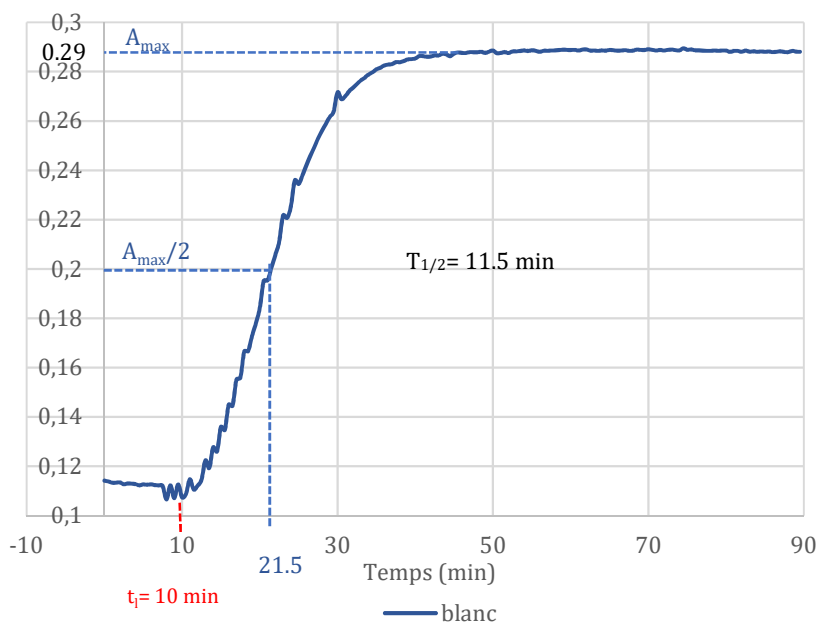


Figure 45 : Détermination graphique du temps de demi-réaction (courbe représentant la tubuline seule).

Les temps de demi-réaction ont été déterminés graphiquement pour chacun des composés (Annexe 4) et les résultats sont résumés dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Temps de latence et temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline.

Entrée	Composé	t_l (min)	$t_{1/2}$ (min)
1	tubuline seule	10	11.5
2	Paclitaxel	1	7.5
3	AB186	9	8
4	EP13	8.5	9
5	45	7.5	9.5
6	46	8	8

Nous constatons que les temps de demi-réaction des composés étudiés sont tous plus faibles que dans le cas de la tubuline seule (moins de 10 min pour nos composés contre 11.5 min pour la tubuline), ce qui indique que leur action est en faveur de la polymérisation de la tubuline.

Ces résultats sont très intéressants puisqu'ils nous révèlent que nos dérivés ont une action sur la tubuline qui semble se rapprocher de l'effet des taxoïdes dans le sens où ils induisent une accélération de la polymérisation de la tubuline. De plus, une nette différence est observée entre les molécules azotées et oxygénées concernant l'intensité du palier atteint en fin de polymérisation, ce qui indiquerait que leur mode d'interaction avec la tubuline est différent, bien que leurs activités antiprolifératives soient très proches. D'autres études seront nécessaires afin de mieux comprendre ces différences. Des études plus théoriques de docking pourraient également être utiles afin d'évaluer la possibilité d'interactions de ces molécules avec les différents sites connus de la tubuline. Les résultats ici obtenus incitent à penser que **AB186** et **EP13** pourraient avoir un site d'interaction identique à celui du Paclitaxel, alors que **45** et **46** pourraient interagir avec un autre site.

5.2.2 Fluorescence

Des effets sur la fluorescence de composés suite à leur interaction avec la tubuline ont été décrits dans la littérature. Ainsi les spectres des molécules peuvent être modifiés

(décalage de la longueur d'onde émise, intensité de fluorescence),^{224,225,226} mais le spectre de la tubuline peut également être impacté (diminution de fluorescence).^{227,228}

Nous nous sommes intéressés à ce phénomène concernant les composés **45** et **46**. Pour cela, suite aux études *in vitro* de polymérisation de la tubuline, nous avons réalisé les spectres de fluorescence des échantillons contenant la tubuline polymérisée seule ainsi que la tubuline et les composés **45** et **46** aux différentes concentrations de l'étude. Nous avons choisi d'exciter les échantillons à la longueur d'onde de 360 nm qui correspond à la longueur d'onde d'excitation des molécules **45** et **46** seules. Les résultats sont présentés ci-après (Figure 46). La présence de composé dans le milieu induit une modification du spectre de fluorescence de la tubuline : l'intensité de fluorescence est diminuée de 50 à 75 % environ. Il semble que cet effet soit dose-dépendant, équivalent pour les concentrations de 5 et 10 μM , et plus important lorsque les composés sont à une concentration de 20 μM .

Ces éléments sont en faveur d'interactions entre la tubuline et les composés même si nous ne savons pas quelle est leur nature.

²²⁴ Bhattacharyya, B. *et al.* Promotion of Fluorescence upon Binding of Colchicine to Tubulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1974**, *71* (7), 2627–2631. doi: 10.1073/pnas.71.7.2627.

²²⁵ Mazumdar, M. *et al.* Interaction of Prodan with Tubulin. A Fluorescence Spectroscopic Study. *European Journal of Biochemistry* **1992**, *204* (1), 127–132. doi: 10.1111/j.1432-1033.1992.tb16614.x.

²²⁶ Bhattacharyya, B. *et al.* Fluorescence Spectroscopic Methods to Analyze Drug–Tubulin Interactions. In *Methods in Cell Biology*; Elsevier, 2010; Vol. 95, pp 301–329. doi: 10.1016/S0091-679X(10)95017-6.

²²⁷ Karr, T. L. *et al.* Examination of Tubulin-Nucleotide Interactions by Protein Fluorescence Quenching Measurements. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **1978**, *84* (4), 5. doi: 10.1016/0006-291x(78)91676-5.

²²⁸ Dadras, A. *et al.* In Vitro Study on the Alterations of Brain Tubulin Structure and Assembly Affected by Magnetite Nanoparticles. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2013**, *18* (3), 357–369. doi: 10.1007/s00775-013-0980-x.

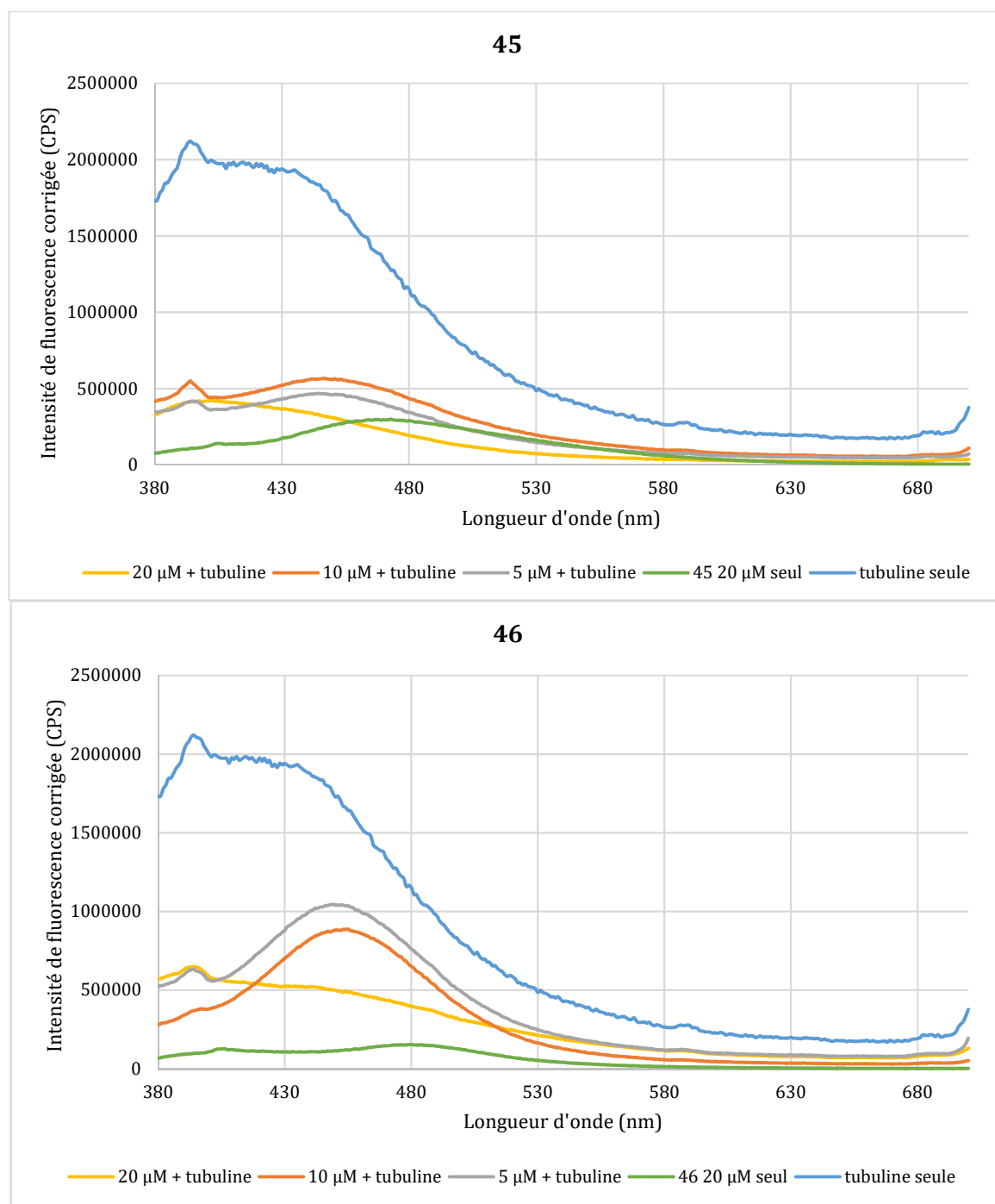


Figure 46 : Evolution de la fluorescence de la tubuline en fonction de la quantité de composé (excitation à 360 nm).

5.3 Détection de la mort cellulaire par apoptose par cytométrie en flux

L'apoptose est le phénomène de mort cellulaire programmée (ou suicide cellulaire). Divers facteurs, comme un agent cytotoxique, peuvent entraîner l'apoptose. Lorsque celle-ci a lieu, une réorganisation de la membrane cellulaire se produit : la phosphatidylsérine, qui est un phospholipide de la membrane cellulaire, subit une translocation de la face intracellulaire vers la face extracellulaire. Afin de détecter ce phénomène, les cellules sont marquées à l'Annexine V couplée à un fluorophore. Cette protéine possède une très forte affinité pour les phosphatidylsérines exposées à la surface de la cellule. Par ailleurs d'autres mécanismes de mort cellulaire existent comme la nécrose qui est une mort cellulaire non programmée. Aussi, afin de différencier les deux mécanismes, un deuxième marquage des cellules est réalisé à l'iodure de propidium (IP). Ce marqueur est un agent intercalant qui ne peut pénétrer dans les cellules que lorsque leur membrane est altérée, en cas de nécrose ou d'apoptose avancée.

L'analyse par cytométrie en flux est une technique qui consiste à faire passer un flux de cellules dans le faisceau d'une source lumineuse (un laser par exemple) et à les compter. Un détecteur mesure la fluorescence des cellules marquées par l'IP et par l'annexine V. L'ensemble des données recueillies permet de caractériser les cellules à l'instant de la mesure, ainsi que leur nombre. Grâce au double marquage Annexine V et IP plusieurs catégories de cellules peuvent être détectées :

- les cellules saines pour lesquelles les marquages Annexine V et IP sont négatifs,
- les cellules en état de nécrose pour lesquelles le marquage Annexine V est négatif mais le marquage IP est positif,
- les cellules en apoptose précoce pour lesquelles le marquage Annexine V est positif mais le marquage IP est négatif,
- les cellules en apoptose tardive (avancée) pour lesquelles les deux marquages sont positifs.

Une première expérience d'analyse par cytométrie en flux pour la détection de la mort cellulaire a été réalisée dans le cadre de la collaboration de notre équipe avec le laboratoire CRAN. Ce premier résultat montre que **EP13** et **46** (à la CI₅₀) induisent une augmentation du pourcentage de cellules marquées à l'annexine V (Figure 47). La population présentée correspond aux cellules annexine positives et IP positives ou négatives. Ces données suggèrent une activité pro-apoptotique pour le composé **46**,

comme cela avait été montré pour **EP13**.¹⁷⁰ Des expériences complémentaires devront être menées pour confirmer ce résultat préliminaire.

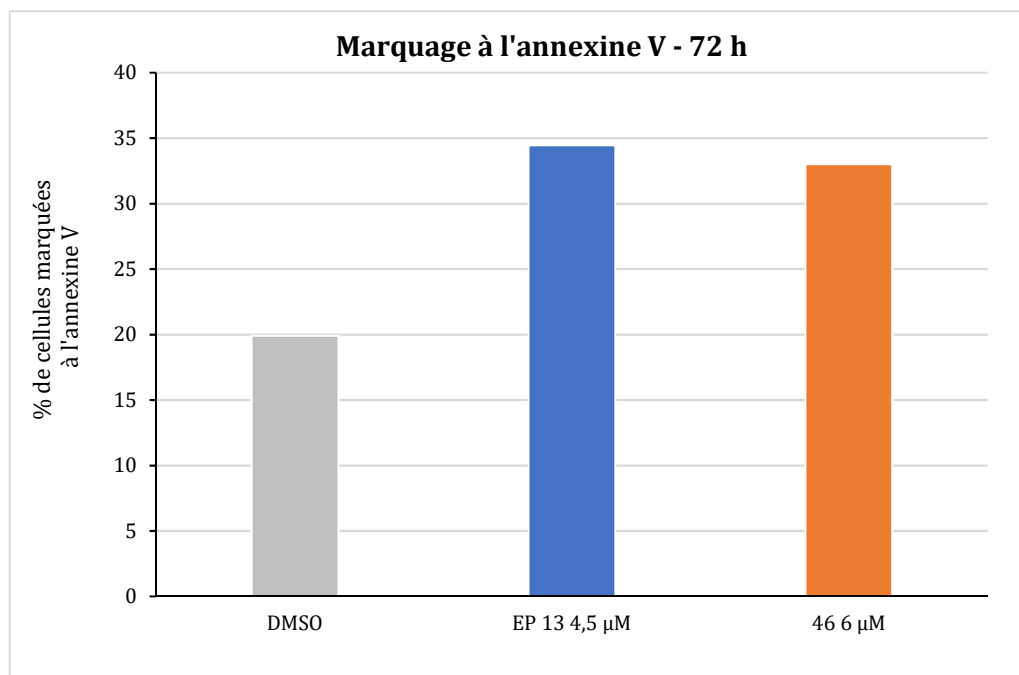


Figure 47 : Analyse de l'effet pro-apoptotique des composés EP13 et 46 dans les cellules MDA-MB-231. Les cellules ont été traitées pendant 7 h à la CI₅₀ de 4.5 µM pour EP13 et 6 µM pour le composé 46. Le pourcentage de cellules marquées à l'annexine V a été déterminé par cytométrie en flux (n=1).

6 Conclusion

Les activités antiprolifératives des composés synthétisés ont été évaluées par deux méthodes d'analyse et ont révélé des propriétés intéressantes de nos molécules vis-à-vis des cellules cancéreuses malgré une sélectivité perfectible. Ces études ont permis de travailler sur les relations structure-activité et nous avons ainsi montré que la position relative des fragments benzylidène et chromane joue un rôle essentiel dans la cytotoxicité de nos composés. Par ailleurs le remplacement de l'atome d'oxygène central par un atome d'azote semble bénéfique, pour l'amélioration tant de l'activité anticancéreuse que de la sélectivité.

Nous avons également mis en évidence les propriétés de fluorescence intrinsèques de nos composés azotés, ce qui nous a permis de les localiser au sein des cellules. Nous pouvons d'ores et déjà dire que les composés étudiés ne pénètrent pas dans le noyau cellulaire et semblent s'accumuler dans le cytoplasme. Une étude de l'effet de nos composés sur la polymérisation de la tubuline a été menée révélant d'une part un effet

accélérateur de chacun des composés et d'autre part, en ce qui concerne les molécules azotées, une action dose-dépendante sur le palier atteint. Enfin il apparaît que ces composés ont une activité pro-apoptotique vis-à-vis des cellules cancéreuses.

Toutes ces observations nous conduisent ainsi à penser que bien que les dérivés oxygénés et azotés que nous avons préparés possèdent une activité antiproliférative d'intensité similaire vis-à-vis des cellules cancéreuses, leur mode d'action semble différent. Des études supplémentaires devront alors être menées afin d'identifier leurs cibles, que ce soit par des essais *in vitro* (western-blot, analyse du cycle cellulaire par cytométrie en flux, etc...) ou *in vitro* et *in silico* pour la détermination du site d'action de ces composés sur la tubuline.

Chapitre 3 : Étude de l'isomérisation de fragments
benzylidène par photoactivation

1 Introduction

Lors de notre étude nous avons été amenés à préparer différents synthons de type benzylidène-TZD. Nous avons observé que la stéréosélectivité de ces synthèses conduit spécifiquement aux stéréoisomères (*Z*) de ces arylidènes, ce qui a pu être mis en évidence par DRX pour les dérivés nitrobenzylidènes **18a** et **18b** (Figure 48) ainsi que dans les travaux antérieurs de notre équipe¹⁷⁰ et dans la littérature.^{229,230,231,232}

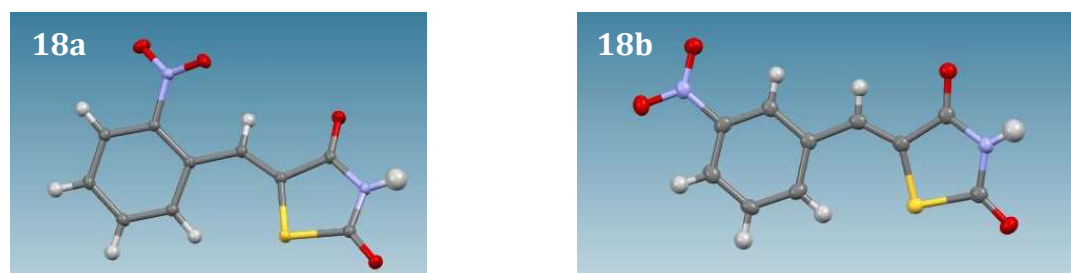


Figure 48 : Structures des composés 18a (CCDC : 2151344) et 18b (CCDC : 2151342) obtenus par analyse DRX.

Ce sont donc les stéréoisomères (*Z*) des benzylidène-thiazolidinediones qui ont fait l'objet d'études biologiques. Or de nombreuses molécules naturelles ou synthétiques montrent des activités biologiques différentes selon la configuration de leur(s) double(s) liaison(s). C'est le cas par exemple de la Vitamine A (ou Rétinal) qui joue un rôle important dans la vision. Cette molécule contient quatre doubles liaisons dont l'une est de configuration *Z* à l'état naturel (on l'appelle alors 11-*cis* Rétinal selon une nomenclature qui n'est plus utilisée aujourd'hui). L'absorption d'un photon par celle-ci conduit au Rétinal « all-*trans* » ce qui entraîne une cascade de signaux chimiques et permet finalement la perception des images et la lumière par le cerveau (Schéma 34).²³³

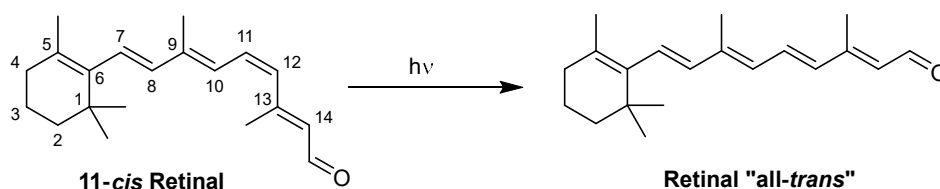
²²⁹ Bruno, G. *et al.* Synthesis and Aldose Reductase Inhibitory Activity of 5-Arylidene-2,4-Thiazolidinediones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2002**, *10* (4), 1077–1084. doi: 10.1016/s0968-0896(01)00366-2.

²³⁰ Popov-Pergal, K. M. *et al.* Synthesis and Structure of New 5-(Arylidene)-3-(4-Methylbenzoyl)Thiazolidine-2,4-Diones. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2010**, *47*, 224–228. doi: 10.1002/jhet.288.

²³¹ Ponnuchamy, S. *et al.* Antimycobacterial Evaluation of Novel Hybrid Arylidene Thiazolidine-2,4-Diones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2014**, *24* (4), 1089–1093. doi: 10.1016/j.bmcl.2014.01.007.

²³² Shinde, D. N. *et al.* 2,4-Thiazolidinedione as a Bioactive Linker for Ferrocenyl Sugar-Triazole Conjugates: Synthesis, Characterization and Biological Properties. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2018**, *2018* (14), 1571–1580. doi: 10.1002/ejic.201800006.

²³³ Hubbard, R.; Wald, G. Cis-Trans Isomers of Vitamin A and Retinene in the Rhodopsin System. *Journal of General Physiology* **1952**, *36* (2), 269–315. doi: 10.1085/jgp.36.2.269.

Schéma 34 : Isomérisation de la vitamine A.²³³

Par ailleurs une inversion de configuration de la double liaison dans les molécules d'intérêt pharmaceutique peut modifier complètement leur activité biologique comme c'est le cas par exemple pour le Tamoxifène, utilisé dans le cadre du cancer du sein hormonodépendant, dont seul l'isomère *trans* a un effet anti-oestrogène.⁷⁶ La Combrétastatine et le Resvératrol, deux molécules de la famille des stilbènes possédant des propriétés anticancéreuses, sont également sensibles à l'isomérisation de leur double liaison (Figure 49). Dans le cas de la Combrétastatine, inhibitrice de polymérisation de la tubuline, seule sa forme (*Z*) possède des propriétés anticancéreuses intéressantes : l'isomérisation de la double liaison induit un changement de configuration spatiale de la molécule, l'empêchant ainsi de se lier à la tubuline.^{234,235} Le *trans*-Resvératrol, produit naturellement par certains fruits, peut s'isomériser en *cis*-Resvératrol par simple action de la lumière, le rendant moins stable et inactif.^{236,237,238}

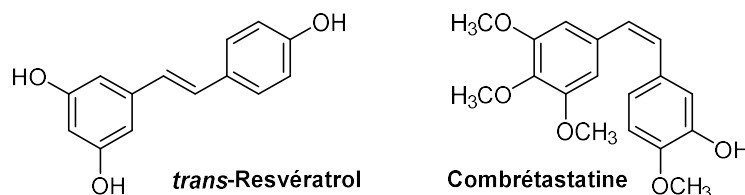


Figure 49 : Dérivés à noyaux arylidènes d'intérêt pharmaceutique.

En 1991, Cushman *et al.* ont montré que les isomères (*Z*) d'analogues du Stilbène, un synthon d'intérêt thérapeutique majeur en raison de sa vaste gamme d'activité biologique (anticancéreux, anti-inflammatoire, anti-infectieux, etc...),²³⁹ ont une meilleure activité cytotoxique que leurs analogues (*E*) et ce, sur une large variété de lignées cellulaires

²³⁴ Jaroch, K. *et al.* Combretastatins: In Vitro Structure-Activity Relationship, Mode of Action and Current Clinical Status. *Pharmacological Reports* **2016**, 68 (6), 1266–1275. doi: 10.1016/j.pharep.2016.08.007.

²³⁵ Hamze, A. *et al.* Developments of IsoCombretastatin A-4 Derivatives as Highly Cytotoxic Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, 190, 112110. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112110.

²³⁶ Roberti, M. *et al.* Synthesis and Biological Evaluation of Resveratrol and Analogues as Apoptosis-Inducing Agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, 46 (16), 3546–3554. doi: 10.1021/jm030785u.

²³⁷ Anisimova, N. Y. *et al.* Trans-, Cis-, and Dihydro-Resveratrol: A Comparative Study. *Chemistry Central Journal* **2011**, 5 (1), 88–93. doi: 10.1186/1752-153X-5-88.

²³⁸ Ahmadi, R. *et al.* Resveratrol – A Comprehensive Review of Recent Advances in Anticancer Drug Design and Development. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, 200, 112356. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112356.

²³⁹ Pecyna, P. *et al.* More Than Resveratrol: New Insights into Stilbene-Based Compounds. *Biomolecules* **2020**, 10 (8), 1111–1151. doi: 10.3390/biom10081111.

(Figure 50a).²⁴⁰ Paul *et al.* ont fait le même constat en 2010 sur des lignées cellulaires du cancer du côlon (Figure 50b).²⁴¹

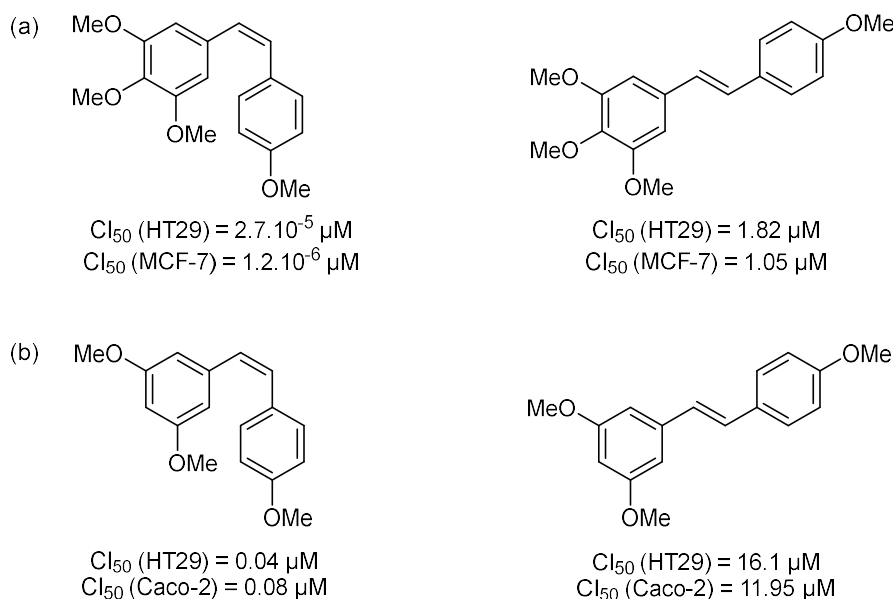


Figure 50 : Structure d'analogues du Stilbène.^{240,241}

Dans le cadre de notre travail de pharmacomodulation, il nous a semblé important de développer une séquence d'accès aux isomères (*E*) de nos dérivés. Alors qu'*in vivo* les inversions de configuration sont souvent dues à l'action d'enzymes spécifiques ou de la lumière,²⁴² il existe différentes options en synthèse organique. Parmi celles-ci, nous avons choisi d'explorer la voie photochimique dont les avantages majeurs sont la facilité de mise en œuvre ainsi que la propreté des réactions.

Cette technique est connue depuis de nombreuses années et a permis par exemple l'isomérisation du Stilbène.²⁴³ Au sein de notre laboratoire, de récents travaux ont mis en évidence l'isomérisation (*Z/E*) photoinduite d'un analogue de la Cyclocurcumine.²⁴⁴ En 1991, Momose *et al.* ont réussi à préparer, par irradiation avec une lampe à mercure dans l'acétonitrile, l'isomère (*E*) d'un analogue de la Pioglitazone (mélange (*Z/E*) : 3/2 obtenu)

²⁴⁰ Cushman, M. *et al.* Synthesis and Evaluation of Stilbene and Dihydrostilbene Derivatives as Potential Anticancer Agents That Inhibit Tubulin Polymerization. *Journal of Medicinal Chemistry* **1991**, 34 (8), 2579–2588. doi: 10.1021/jm00112a036.

²⁴¹ Paul, S. *et al.* In Vitro and in Vivo Studies on Stilbene Analogs as Potential Treatment Agents for Colon Cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, 45 (9), 3702–3708. doi: 10.1016/j.ejmech.2010.05.019.

²⁴² Seltzer, S. Cis-Trans Isomerization. *The enzymes* **1972**, 381–406. doi: 10.1016/S1874-6047(08)60046-3.

²⁴³ Waldeck, D. H. Photoisomerization Dynamics of Stilbenes. *Chemical Reviews* **1991**, 91 (3), 415–436. doi: 10.1021/cr00003a007.

²⁴⁴ Pecourneau, J. *et al.* Synthesis and Photoswitching Properties of Bioinspired Dissymmetric γ -Pyrone, an Analogue of Cyclocurcumin. *The Journal of Organic Chemistry* **2021**, 86 (12), 8112–8126. doi: 10.1021/acs.joc.1c00598.

et à l'isoler grâce à une purification sur silice, mais n'ont pas noté de différence d'activité hypoglycémique significative entre les deux composés (Schéma 36).²⁴⁵

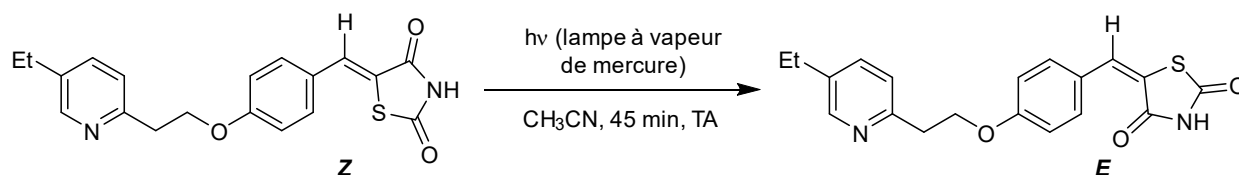


Schéma 35 : Isomérisation d'un analogue de la pioglitazone par photoactivation.²⁴⁵

Murata *et al.* ont quant à eux réussi à isomériser des dérivés de la rhodanine, une famille très proche de la TZD dont un atome d'oxygène est remplacé par un atome de soufre, par photoinduction dans MeOH, alors que l'isomérisation inverse a lieu lors de la purification sur silice (Schéma 37).²⁴⁶

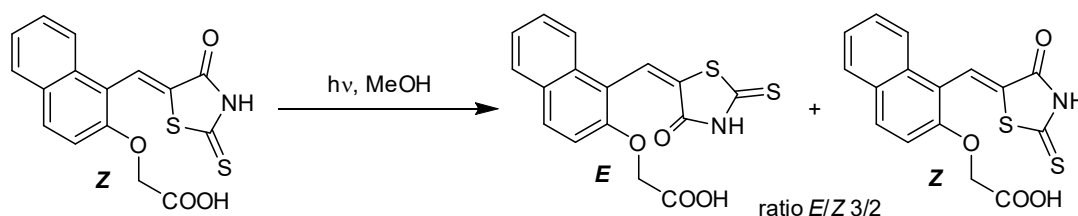


Schéma 36 : Isomérisation de dérivés de la rhodanine selon Murata *et al.*²⁴⁶

Dans ce chapitre nous verrons comment nous avons réussi à isomériser la double liaison du fragment benzylidène-thiazolidinedione grâce à la photoinduction puis comment nous l'avons appliquée à la préparation de noyaux de type quinoléine tricycliques.

Ce travail a été effectué en collaboration avec le Dr. Axel Gansmüller (laboratoire CRM2, Université de Lorraine, UMR 7036) pour tout ce qui concerne le suivi cinétique par RMN ainsi que le traitement des données.

2 Isomérisation de la double liaison

Nous avons souhaité mettre en œuvre l'isomérisation de fragments benzylidène-thiazolidinedione par photoactivation. Pour cela nous avons préparé divers substrats selon la procédure décrite dans le chapitre précédent : les composés **18c,f** et **50-55** ont ainsi été obtenus grâce à une condensation de Knoevenagel et les composés **19b,c, e** ont été synthétisés en deux étapes, une condensation puis une réduction du groupement nitro

²⁴⁵ Momose, Y. *et al.* Studies on Antidiabetic Agents. X. Synthesis and Biological Activities of Pioglitazone and Related Compounds. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1991**, 39 (6), 1440–1445. doi: 10.1248/cpb.39.1440.

²⁴⁶ Murata, M. *et al.* Synthesis and Aldose Reductase Inhibitory Activity of a New Series of 5-[[2-(ω-Carboxyalkoxy)Aryl]Methylene]-4-Oxo-2-Thioxothiazolidine Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* **1999**, 34 (12), 1061–1070. doi: 10.1016/S0223-5234(99)00128-2.

(cf partie expérimentale). Le composé **50** a par ailleurs déjà été décrit dans la littérature.^{168,247}

Afin d'irradier ces substrats, nous avons enregistré leur spectre d'absorption, ce qui nous a permis de connaître leurs bandes d'énergie et donc d'en déduire la longueur d'onde la plus appropriée pour l'irradiation. Ainsi, les spectres d'absorption UV-visible de chacun des composés ont été réalisés avant irradiation à une concentration de $4.0 \cdot 10^{-5}$ M dans le DMSO (Annexe 5). Le maximum d'absorption correspond à la longueur d'onde à laquelle l'irradiation est normalement la plus rapide et efficace.

L'irradiation a été effectuée avec une diode électroluminescente (LED) de longueur d'onde la plus proche des λ_{\max} . L'isomérisation de la double liaison a été étudiée par RMN ^1H dans le DMSO- d_6 , solvant dans lequel tous les composés sont solubles, pour chacun des substrats **50-55** ainsi que pour les dérivés nitrobenzylidènes **18c,f** et aminobenzylidènes **19b,c,e** préparés précédemment. Pour cela, les échantillons ont été préparés directement dans un tube RMN en borosilicate et le tube a été placé sous la diode électroluminescente de longueur d'onde la plus proche de λ_{\max} pendant une durée qui varie de 3.5 h à 24 h (cf Partie expérimentale procédure A). Les spectres obtenus montrent une différence importante de déplacement chimique entre les deux isomères, ce qui nous a permis de quantifier l'isomérisation pour chacun d'eux (la Figure 51 montre un exemple de spectre RMN avant et après irradiation pour le composé **52**). Les résultats sont présentés dans le Tableau 9.

²⁴⁷ Luo, Y. *et al.* Discovery of (Z)-5-(4-Methoxybenzylidene)Thiazolidine-2,4-Dione, a Readily Available and Orally Active Glitazone for the Treatment of Concanavalin A-Induced Acute Liver Injury of BALB/c Mice. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, 53 (1), 273–281. doi: 10.1021/jm901183d.

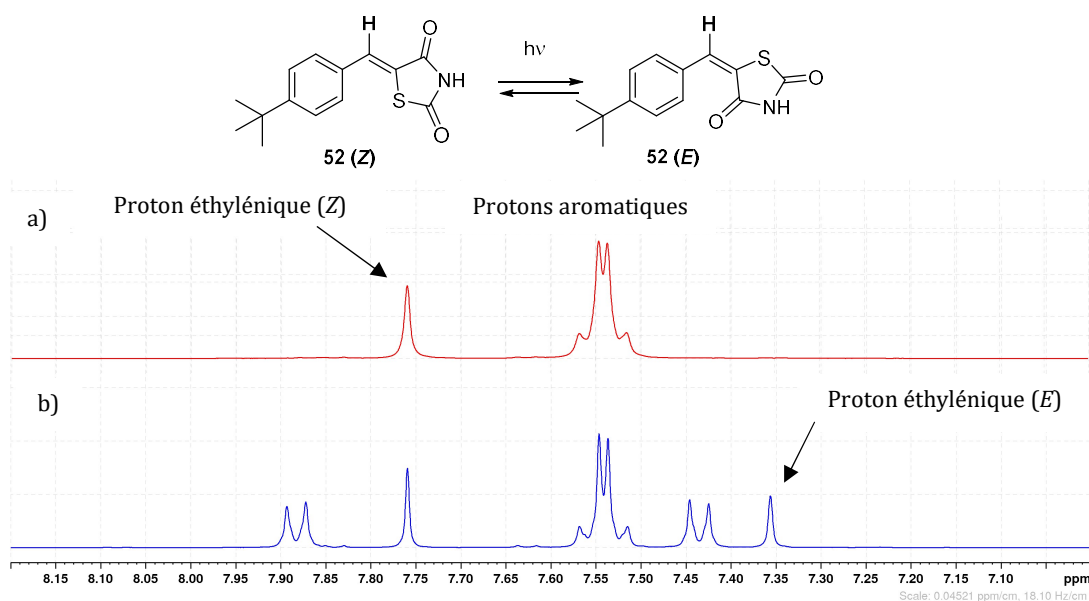
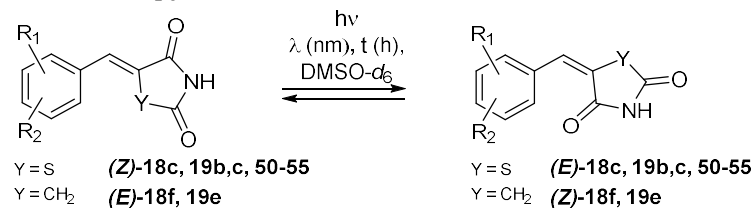


Figure 51 : Spectres RMN ^1H du composé 52 dans le DMSO a) Avant irradiation, configuration (Z). b) Après 24h d'irradiation à 340 nm, mélange 53/47 d'isomères (Z) et (E).

Le proton éthylénique de la forme (*E*) est fortement blindé par rapport à celui de la forme *Z* (7.35 ppm pour la forme (*E*) et 7.75 ppm pour la forme (*Z*)). Ceci s'explique par la présence ou non de celui-ci dans l'environnement du groupement carbonyle de la TZD : dans l'isomère (*Z*), ce proton est situé dans le cône d'anisotropie du carbonyle qui engendre un déblindage, alors que dans l'isomère (*E*) il ne s'y trouve plus.

Tableau 9 : Photoisomérisation des benzylidène-TZDs ou-pyrrolidinediones 18c,f, 19b,c,e et 50-55 dans le DMSO-*d*₆

Entrée	Composé	λ (nm)	Durée (h)	ratio Z : E ^(a)	Entrée	Composé	λ (nm)	Durée (h)	ratio Z : E ^(a)
1		340	3.5	49 : 51	7		340	5.5	50 : 50
			24	46 : 54				24	43 : 57
2		340	24	50 : 50	8		340	5.5	53 : 47
								24	53 : 47
3		405	5.5	50 : 50	9		340	5.5	72 : 28
								24	70 : 30
4		405	5.5	63 : 37	10		340	5.5	61 : 39
			60	55 : 45				24	50 : 50
5		340	24	28 : 72	11		340	5.5	28 : 72
								24	28 : 72
6		340	3.5	39 : 61					

^(a) Déterminé par RMN ¹H ; ^(b) Décrit dans la littérature ^{168,247}

Il apparaît que l'isomérisation est incomplète pour chacun des composés. Si certains ont un taux d'isomérisation plutôt faible, comme les composés **19e** et **53** (Tableau 9 entrées 5 et 9), d'autres comme les dérivés **51** et **55** conduisent majoritairement à l'isomère (*E*) (Entrées 7 et 11). Pour les autres composés, l'isomérisation conduit à un mélange quasi-équimolaire des deux isomères.

Le composé **19e** a un taux de conversion (*E* → *Z*) de seulement 28 % après 24 h d'exposition (Entrée 5). Cette molécule possède des propriétés de fluorescence, avec un rendement quantique de 22 % dans le DMSO, ce qui pourrait expliquer en partie le faible taux d'isomérisation observé.

Nous n'observons pas d'effet direct des substituants en fonction de leur caractère électrodonneur ou électroaccepteur sur les taux d'isomérisation : par exemple, les composés **18c** et **53** ont des taux d'isomérisation très différents alors que les groupements CF₃ et NO₂ sont deux groupements très électroattracteurs. De la même manière, une importante différence d'isomérisation apparaît entre les composés **19c** et **50** bien que les groupements substituants le cycle aromatique soient donneurs tous les deux (OH et NH₂).

Nous avons étudié la stabilité de l'isomère (*E*) dans le cas du composé **19c** : deux échantillons ont été irradiés pendant la même durée (24h), conduisant au mélange 55/45 d'isomères (*Z/E*). L'un des tubes a été placé dans le noir alors que l'autre est resté exposé à la lumière naturelle. Après une semaine, nous avons observé par RMN ¹H une diminution de 90% du taux d'isomère (*E*) dans le tube exposé à la lumière alors qu'une diminution de 10% seulement a été observée dans le tube conservé dans le noir. Ceci montre une stabilité relative des isomères (*E*) dans le noir alors que l'exposition à la lumière provoque un retour à la forme (*Z*).

Etant donné qu'il est difficile d'établir un lien direct entre les substituants du noyau aromatique et les taux d'isomérisation obtenus, nous avons choisi de mener une étude sur un composé modèle, le composé **52**, afin d'expliquer les différences observées. Celui-ci a été sélectionné pour sa solubilité dans une grande variété de solvants, contrairement à ses analogues qui sont surtout solubles dans le DMSO.

2.1 Étude cinétique par photo-RMN *in situ*

Dans un premier temps, nous avons étudié l'effet du solvant sur le taux d'isomérisation. Étant donné que les spectres UV-visible des deux formes considérées se superposent largement, nous avons choisi de réaliser une étude cinétique par photo-RMN ^1H avec irradiation *in situ*^{248,249} dans quatre solvants (acétone- d_6 , CDCl_3 , DMSO- d_6 et méthanol- d_4). Dans ce cas, la LED est liée à une fibre optique qui plonge directement dans le tube RMN *via* un insert capillaire en verre : l'irradiation est effectuée *in situ* et son suivi est réalisé par RMN en temps réel (cf Partie expérimentale procédure B). De cette façon, il est possible de quantifier les isomères (*Z*) et (*E*) (et d'éventuels sous-produits) à chaque instant du processus d'isomérisation. Nous avons choisi d'intégrer le signal de l'atome d'hydrogène éthylénique des formes (*Z*) et (*E*) ; la proportion d'isomère (*E*) formé, et donc le taux d'isomérisation obtenu, a été calculé selon la formule (1) :

$$\%E = \frac{E}{Z+E} \quad (1)$$

Les graphiques présentés ci-après représentent les courbes expérimentales obtenues dans le cadre de cette étude ainsi que les courbes correspondant au lissage de celles-ci (Figure 52).

L'étude de la cinétique d'isomérisation nous montre qu'il s'agit d'une réaction d'ordre 1 par rapport à la concentration de l'isomère (*Z*) (allure exponentielle de la courbe). L'équation cinétique correspondant à cette réaction est :

$$[E] = A + be^{-k}$$

Le lissage nous permet de déterminer l'équation de la courbe théorique qui correspond aux données expérimentales afin d'identifier les paramètres cinétiques de cette réaction (constante de vitesse k , isomérisation maximum possible A) (logiciel OriginPro 9.0 OriginLab). Le temps de demi-réaction $t_{1/2}$ a été calculé grâce à l'équation obtenue par le lissage. Les résultats de ces mesures sont présentés dans le Tableau 10. Les constantes de vitesse et les temps de demi-réaction mesurés ne présentent pas de différence très importante hormis lorsque le solvant est le DMSO, dans lequel la réaction semble plus

²⁴⁸ Feldmeier, C. *et al.* LED-Illuminated NMR Studies of Flavin-Catalyzed Photooxidations Reveal Solvent Control of the Electron-Transfer Mechanism. *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54* (4), 1347–1351. doi: 10.1002/anie.201409146.

²⁴⁹ Seegerer, A. *et al.* Combined In Situ Illumination-NMR-UV/Vis Spectroscopy: A New Mechanistic Tool in Photochemistry. *Angewandte Chemie International Edition* **2018**, *57* (25), 7493–7497. doi: 10.1002/anie.201801250.

lente. Ceci peut être expliqué par la viscosité du DMSO qui est plus élevée que celle des autres solvants²⁵⁰ et limite l'inversion de configuration de la double liaison.

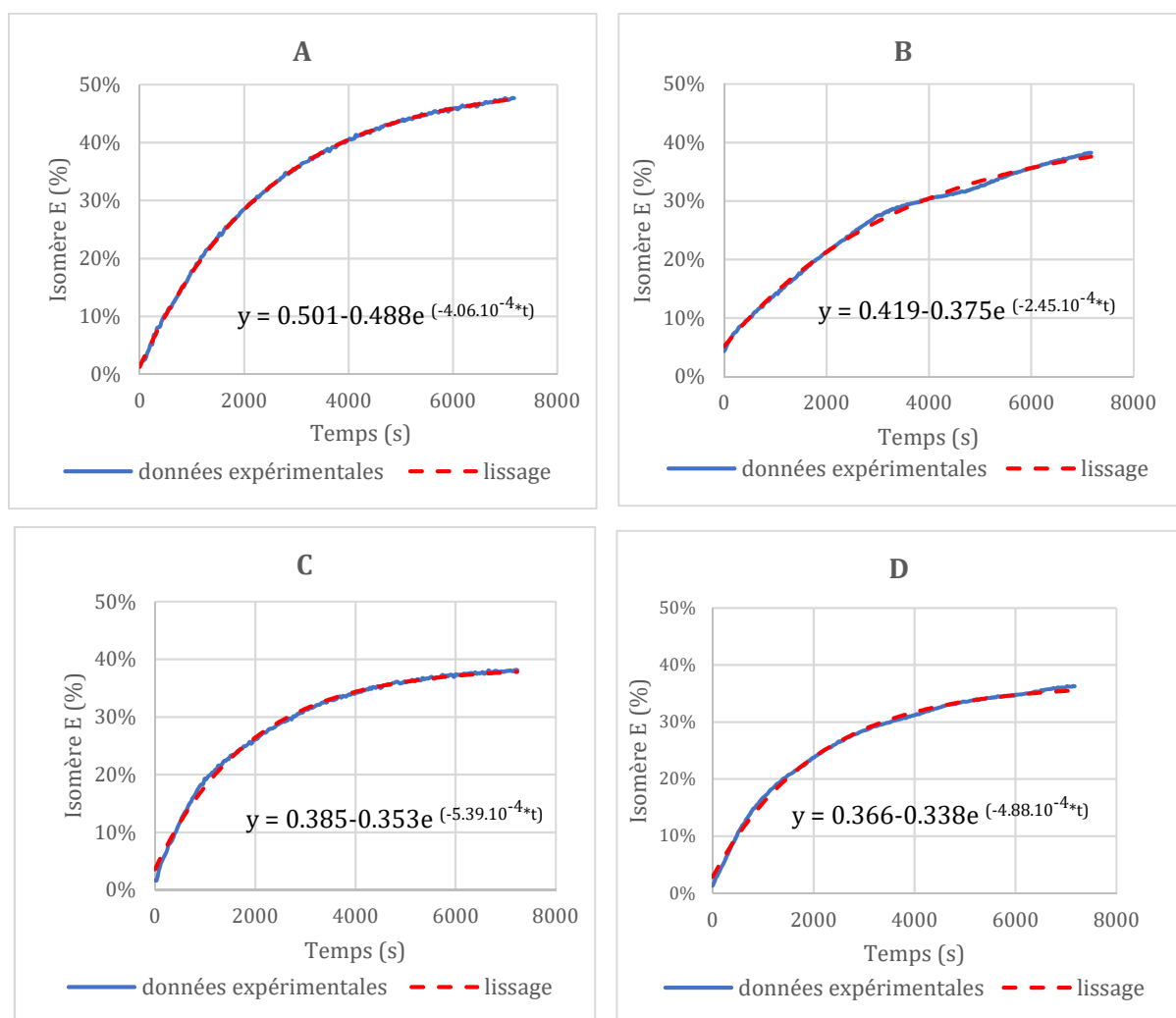


Figure 52 : Cinétique d'isomérisation du composé 52 à 340 nm. A : dans CDCl₃ ; B : dans le DMSO-*d*₆; C : dans le méthanol-*d*₄ ; D : dans l'acétone-*d*₆.

Tableau 10 : Paramètres cinétiques de l'isomérisation de 52 dans différents solvants avec la LED 340 nm (intensité lumineuse = 40 ± 3 µeinstein/L.s)

Entrée	Solvant ^a	Constante de vitesse ($\cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$) ^b	Isomérisation max (%) ^b	$t_{1/2}$ (h)
1	CDCl ₃	4.1 ± 0.1	50.1 ± 0.2	0.46
2	DMSO- <i>d</i> ₆	2.5 ± 0.2	41.9 ± 1.5	0.63
3	Méthanol- <i>d</i> ₄	5.4 ± 0.2	38.5 ± 0.3	0.39
4	Acétone- <i>d</i> ₆	4.9 ± 0.2	36.6 ± 0.3	0.41

^a Viscosité des solvants : Acétone : 0.306 mCP à 25°C, Chloroforme : 0.514 mCP à 30°C, DMSO : 2.47 mCP à 20°C, Méthanol : 0.544 mCP à 25°C.²⁵⁰

^b ± Incertitude. Déterminés à l'aide du logiciel OriginPro.

²⁵⁰ Dean, J.A., Lange's Handbook of Chemistry, McGraw-Hill, New York, 1992.

Le solvant dans lequel le taux d'isomérisation atteint à l'état photostationnaire est le plus important est le chloroforme avec 50.1 % (Entrée 1) alors que le solvant dans lequel ce taux est le plus faible est l'acétone avec 36.6 % (Entrée 2). Les taux d'isomérisation maximum obtenus dans l'acétone et le méthanol sont équivalents (Entrées 2 et 3).

Par ailleurs le taux d'isomérisation maximum dans le DMSO semble un peu plus faible que celui observé précédemment (Tableau 9 Entrée 8 et Tableau 10 Entrée 2). Ceci peut s'expliquer par la différence de procédure pour la mise en œuvre de l'irradiation : les résultats du Tableau 9 sont issus de mesures effectuées *ex-situ*, c'est-à-dire que la LED se trouve à l'extérieur du tube et irradie de manière homogène l'intégralité de la solution contenant le substrat (Figure 53 procédure A). Les résultats du Tableau 10 proviennent des mesures réalisées *in situ*, ce qui signifie que la source lumineuse plonge directement dans la solution (Figure 53 procédure B). Dans ce cas, deux paramètres supplémentaires entrent en jeu : d'une part la jonction entre la LED et la fibre optique entraîne une perte d'intensité lumineuse émise à la sortie de la fibre. D'autre part l'irradiation se produit dans une zone plus restreinte de la solution donc de manière hétérogène à l'échelle du tube RMN, ce qui limite la quantité de molécules irradiées.

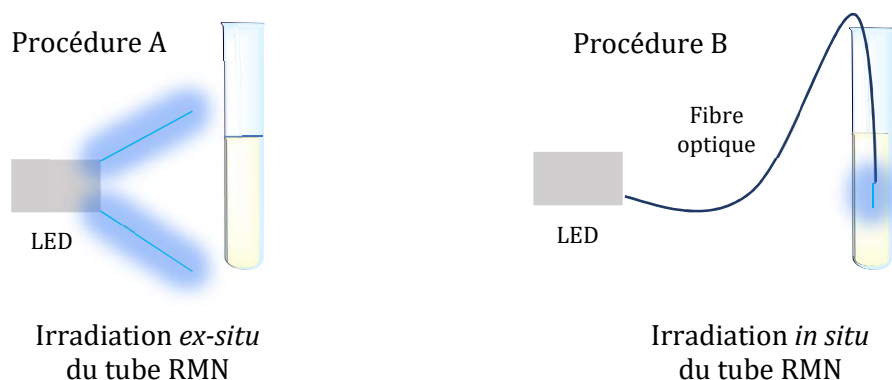


Figure 53 : Représentation schématique des procédures mises en œuvre pour l'irradiation des composés.

D'après ces résultats (Tableau 10), quel que soit le solvant mis en œuvre, aucune séquence de photoisomérisation n'a excédé 50%. L'hypothèse que nous avançons ici pour justifier ces résultats est qu'à la longueur d'onde utilisée (340 nm), le taux maximum d'isomérisation est limité par l'absorption de l'isomère nouvellement généré dans le milieu, soit le (*E*)-benzylidène-TZD ou le (*Z*)-benzylidène-pyrrolidinedione respectivement, qui retourne probablement à la forme initiale (*Z*) ou (*E*) sous irradiation.

2.2 Etude UV-visible

Pour confirmer ou invalider cette idée que le taux d'isomérisation maximum est limité par l'absorption des deux formes à la longueur d'onde d'irradiation, ce qui provoque un équilibre (Schéma 37), nous nous sommes intéressés aux spectres d'absorption UV-visible du composé **52** dans les différents solvants utilisés.

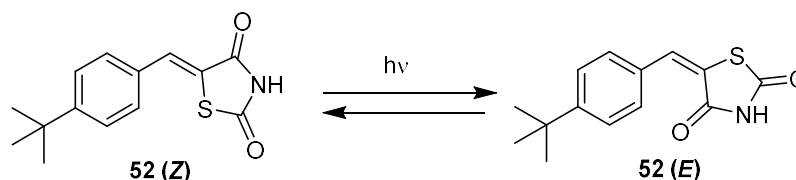


Schéma 37 : Équilibre entre les formes (*Z*) et (*E*) sous irradiation lumineuse

Il ne nous a pas été possible de différencier les spectres UV-visible des deux formes, ni de préparer de l'isomère (*E*) pur. Nous avons alors décidé de combiner les informations issues des spectres RMN ^1H à l'état photostationnaire avec les spectres UV-visible de l'isomère (*Z*) avant irradiation (pur) et après irradiation (mélange) pour en déduire la contribution de l'isomère (*E*) au spectre UV-visible après irradiation.

Pour chacun des solvant, les spectres d'absorption du composé **52** (*Z*) pur ont été enregistrés afin d'obtenir le profil spectral de cet isomère. Dans un deuxième temps, l'échantillon a été irradié à 340 nm pendant une durée de 5h (permettant d'atteindre l'état photostationnaire) et le spectre UV-visible du mélange a été enregistré. Un spectre RMN ^1H effectué sur l'échantillon après irradiation nous a permis de connaître précisément le ratio *Z/E* dans la solution. La contribution de l'isomère (*E*) au spectre d'absorption du mélange a ensuite été obtenue par soustraction de la contribution de l'isomère **52** (*Z*) au spectre enregistré après irradiation selon la formule :

$$A_E = A_{\text{après isomérisation}} - A_{\text{avant isomérisation}} \times \frac{C_Z \text{ après isomérisation}}{C_Z \text{ avant isomérisation}}$$

Les résultats sont présentés dans la Figure 54. Pour mieux comparer les résultats, les courbes ont été normalisées pour une concentration de $3.6 \cdot 10^{-5}$ M, qui est la concentration en **52** (*Z*) avant irradiation. Cette étude n'a pas pu être effectuée dans l'acétone : en raison du « cut-off » de ce solvant situé à 330 nm les spectres UV-visible n'étaient pas exploitables.

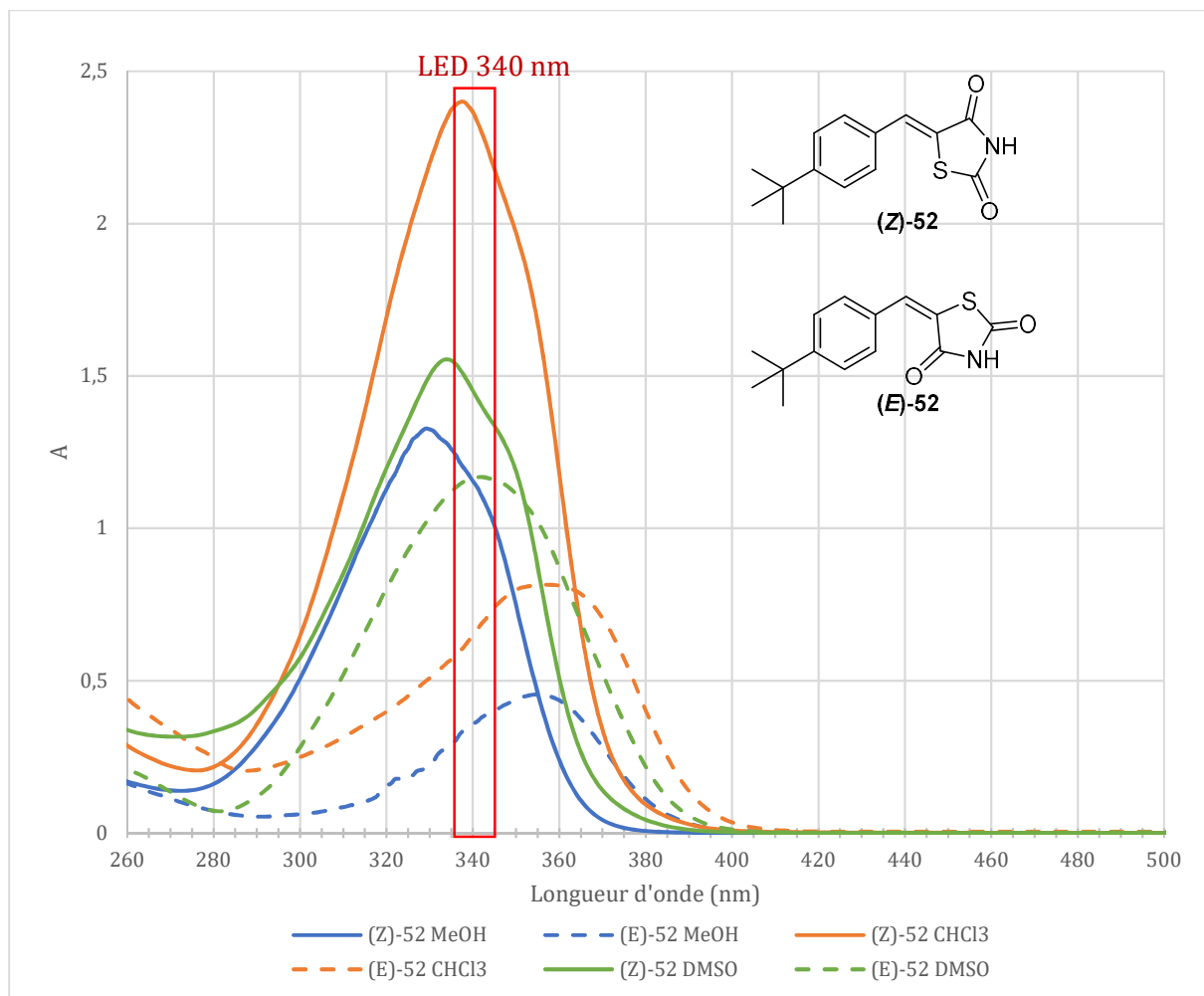


Figure 54 : Absorbances normalisées des isomères (Z) et (E) du composé 52 dans différents solvants.

Il n'est pas possible ici de comparer de manière quantitative les intensités d'absorbance mesurées, puisque les spectres RMN et UV-visible n'ont pas été réalisés dans des conditions strictement identiques. Néanmoins, nous pouvons comparer qualitativement les profils d'absorbance des deux isomères par analyse des longueurs d'onde des maxima d'absorption.

Bien que les spectres ne soient pas résolus, nous observons que λ_{\max} (E) est toujours supérieur à λ_{\max} (Z) (Tableau 11) : il s'agit de l'effet photochromique.²⁵¹ Par ailleurs, on remarque que les différences de longueurs d'onde $\lambda_{\max}^E - \lambda_{\max}^Z$ pour les deux formes sont différentes selon le solvant : c'est l'effet solvatochromique (Tableau 11). Cette différence est la plus faible dans le DMSO (9 nm) alors que dans MeOH et le chloroforme elles sont

²⁵¹ Irie, M. Photochromism: Memories and Switches Introduction. *Chemical Reviews* **2000**, *100* (5), 1683–1684. doi: 10.1021/cr980068l.

proches (26 et 22 nm respectivement). Le solvatochromisme est lié aux différentes propriétés du solvant (polarisabilité, moment dipolaire, acidité, basicité).^{252,253,254}

Pour comprendre les différences observées selon les solvants quant à l'efficacité de l'isomérisation, la longueur d'onde d'irradiation doit être comparée aux différents profils d'absorbance. D'après les résultats obtenus, les deux isomères semblent absorber la lumière dans chacun des solvants, mais les efficacités relatives $Z \rightarrow E$ et $E \rightarrow Z$ doivent être différentes au regard de l'effet des solvants sur λ_{\max} . La LED utilisée pour l'irradiation est centrée sur 344 nm avec une largeur spectrale de 11 nm. Dans le chloroforme (50.1 % d'isomérisation observée à l'état photostationnaire), la forme (Z) absorbe la lumière au maximum à 338 nm, ce qui se situe exactement dans la fenêtre d'irradiation de la LED, alors que l'absorption maximum de la forme (E) se situe à 360 nm, soit en-dehors de la fenêtre d'irradiation. Au contraire, lorsque nous travaillons dans le DMSO, le maximum d'absorption de l'isomère (E) est plus proche de la fenêtre d'irradiation de la LED. Ainsi, l'isomère (E) absorbe davantage de lumière dans le DMSO en comparaison avec le chloroforme, ce qui explique un plus faible taux d'isomérisation observé. Nous pouvons effectuer le même raisonnement dans MeOH : le maximum d'absorption de l'isomère (Z) est plus éloigné de la fenêtre d'irradiation que dans le chloroforme. L'isomère (Z) absorbe donc moins de lumière dans MeOH, ce qui limite l'isomérisation. La faible différence de taux d'isomérisation entre MeOH et le DMSO (38.5 % et 41.9 % respectivement) peut être expliquée par un effet de compensation : la fenêtre d'irradiation est plus proche de λ_{\max} (Z) mais également de λ_{\max} (E) dans le DMSO alors que dans MeOH elle est plus proche de λ_{\max} (E) et plus éloignée de λ_{\max} (Z). Néanmoins une étude quantitative serait nécessaire pour expliquer cette différence de façon plus précise.

Il apparaît donc que l'optimisation de la réaction d'isomérisation par photoinduction dépend fortement du solvant : il s'agit alors de trouver un solvant dans lequel le composé est soluble bien sûr et qui ait un effet photochromique important, c'est-

²⁵² Catalán, J. Toward a Generalized Treatment of the Solvent Effect Based on Four Empirical Scales: Dipolarity (SdP, a New Scale), Polarizability (SP), Acidity (SA), and Basicity (SB) of the Medium. *The Journal of Physical Chemistry B* **2009**, *113* (17), 5951–5960. doi: 10.1021/jp8095727.

²⁵³ Marini, A. *et al.* What Is Solvatochromism? *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114* (51), 17128–17135. doi: 10.1021/jp1097487.

²⁵⁴ Homocianu, M. Optical Properties of Solute Molecules: Environmental Effects, Challenges, and Their Practical Implications. *Microchemical Journal* **2021**, *161*, 105797. doi: 10.1016/j.microc.2020.105797.

à-dire une séparation significative des maximums d'absorption des deux formes (*Z*) et (*E*). Par ailleurs l'utilisation d'une longueur d'onde d'irradiation au plus proche du maximum d'absorption de la forme (*Z*) permet une meilleure conversion.

Ainsi il semble que la compréhension de l'isomérisation par photoactivation soit intimement liée aux spectres d'absorption UV-visible des isomères.

Tableau 11 : Longueur d'onde d'absorption maximum des isomères (*Z*) et (*E*) en fonction du solvant.

	λ_{max}^Z (nm)	λ_{max}^E (nm)	$\lambda_{max}^E - \lambda_{max}^Z$ (nm)
Chloroforme	338	360	22
Méthanol	330	356	26
DMSO	334	343	9

Forts de ce résultat, nous avons voulu vérifier si cet effet s'appliquait également aux autres composés étudiés et en particulier ceux dont l'isomérisation était très faible (comme le dérivé **53**) ou au contraire très élevée (comme le dérivé **55**). Les spectres UV-visible de ces deux dérivés **53** et **55** ont donc été effectués dans le DMSO, solvant dans lequel les deux composés sont solubles, avant et après irradiation à 340 nm (état photostationnaire atteint après 5 h) puis les courbes représentant les absorbances des deux formes ont été tracées (Figure 55) (l'absorbance de l'isomère (*E*) a été estimée pour une concentration identique à la concentration de la solution utilisée pour tracer l'absorbance de l'isomère (*Z*)).

Le composé **53** a un taux d'isomérisation plus faible que ses analogues (30% observé au bout de 24 h d'irradiation). Ses spectres montrent que les deux isomères absorbent dans la même gamme de longueurs d'onde et que le maximum d'absorption de l'isomère (*Z*) se situe en-dehors de la fenêtre d'irradiation de la LED : ces deux facteurs limitent l'isomérisation.

Concernant le composé **55** (dont le taux d'isomérisation mesuré est égal à 72% après 5 h d'exposition), l'irradiation est réalisée à des longueurs d'onde inférieures au maximum d'absorption de l'isomère (*Z*), et d'autant plus inférieures au maximum d'absorption de l'isomère (*E*). Dans ces conditions, la conversion (*Z*) \rightarrow (*E*) est largement favorisée.

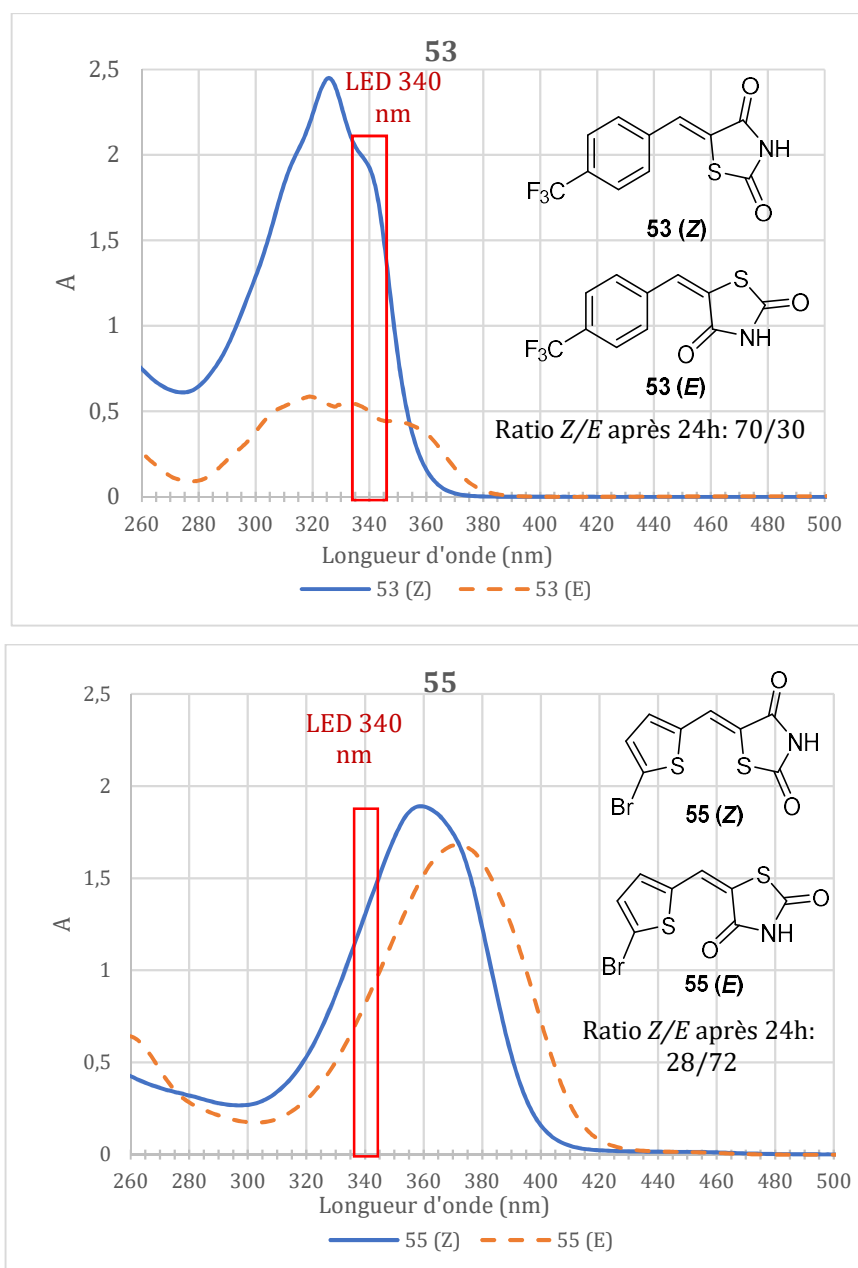


Figure 55 : Absorption des isomères (Z) (mesurée) et (E) (estimée) des composés 53 et 55 dans le DMSO

Nous avons mis en évidence le fait que la réaction d'isomérisation des noyaux benzylidène-thiazolidinedione est possible par photoactivation, conduisant dans chacun des cas à un mélange d'isomères (Z) et (E). Une étude cinétique par RMN ^1H sur un composé modèle nous a montré que le solvant a une influence sur le taux d'isomérisation obtenu, ce qui peut être expliqué par l'analyse des spectres UV-visible. Nos résultats mettent en évidence que le choix de la longueur d'onde d'irradiation est primordial pour optimiser l'efficacité de l'isomérisation. Ceci suggère qu'il est possible de contrôler cette réaction en améliorant le taux d'isomérisation ou en provoquant l'isomérisation inverse

($E \rightarrow Z$) grâce à la connaissance des spectres d'absorption des composés. C'est ce que nous avons choisi de montrer dans le paragraphe suivant.

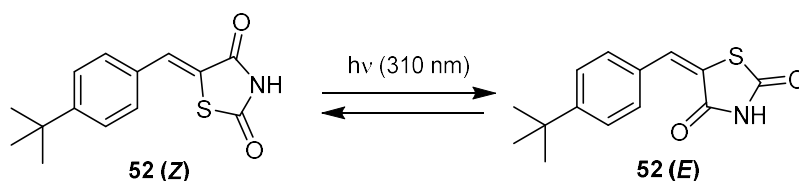
2.3 Sélectivité de l'isomérisation

Compte-tenu des résultats obtenus, nous nous sommes intéressés à la sélectivité de la réaction en fonction de la longueur d'onde. En effet, comme nous avons interprété les taux d'isomérisation obtenus grâce aux spectres d'absorption des isomères (Z) et (E), nous nous sommes demandé s'il était possible d'augmenter le taux d'isomérisation ou alors d'effectuer l'isomérisation inverse ($E \rightarrow Z$) en choisissant des longueurs d'onde adaptées. Nous avons travaillé pour cela sur le composé modèle **52**, dont les spectres d'absorption sont présentés sur la Figure 53.

2.3.1 Augmentation du taux d'isomérisation

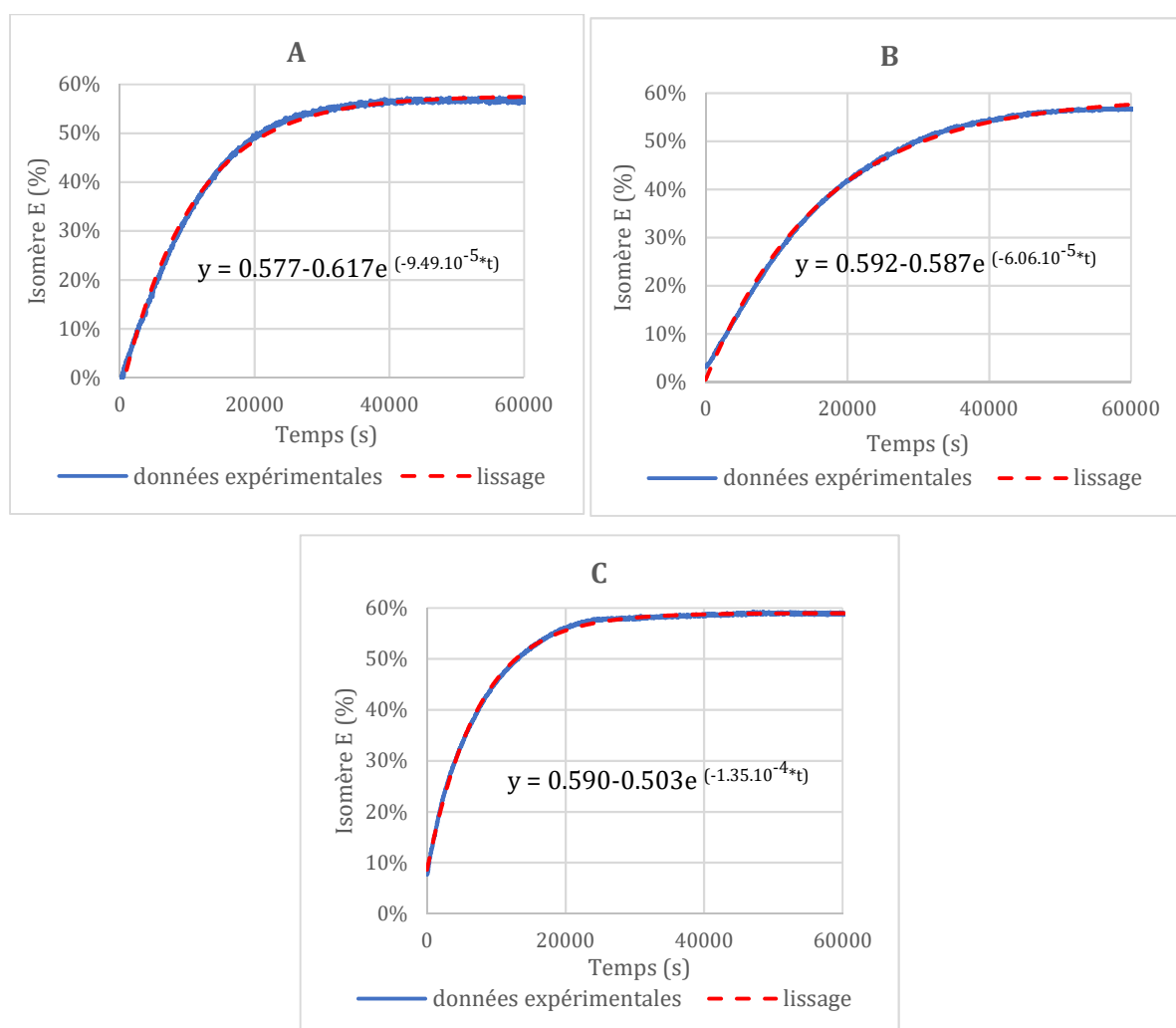
Nous avons vu que l'isomérisation de **52** à 340 nm conduit à un mélange (Z/E) car les deux formes absorbent la lumière à cette longueur d'onde. Nous avons alors choisi une longueur d'onde pour laquelle la forme (E) n'absorbe pas ou très peu afin de vérifier s'il était possible d'augmenter le taux d'isomérisation de ce composé. L'irradiation a donc été menée à 310 nm dans chacun des trois solvants précédents (DMSO- d_6 , méthanol- d_4 et $CDCl_3$) et un suivi cinétique par RMN 1H a été réalisé (irradiation effectuée selon la procédure B d'irradiation *in situ* décrite précédemment). Les résultats sont présentés ci-dessous (Tableau 12 et Figure 56).

Comme nous l'attendions, le taux d'isomérisation maximum est plus important lorsque l'irradiation a lieu à 310 nm avoisinant 60 % dans chacun des solvants, alors que précédemment il oscillait entre 36 et 50 %. Ceci a également été vérifié lors de l'irradiation d'une solution de **52** dans le DMSO selon la procédure A pendant 5h (60% d'isomère (E) obtenu).

Tableau 12 : Paramètres cinétiques de l'isomérisation du composé 52 dans différents solvants à 310 nm (intensité lumineuse de la LED : $11 \pm 2 \mu\text{einstein/L.s}$)


Entrée	Solvant	Constante de vitesse ($\cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$)*	Isomérisation max (%)*	$t_{1/2}$ (h)
1	CDCl_3	0.949 ± 0.008	57.7 ± 0.1	2.25
2	$\text{DMSO-}d_6$	0.606 ± 0.004	59.2 ± 0.1	3.22
3	Méthanol- d_4	1.35 ± 0.006	59.0 ± 0.03	1.41

* \pm Incertitude. Déterminés à l'aide du logiciel Origin


Figure 56 : Cinétique d'isomérisation du composé 52 à 310 nm. A : dans CDCl_3 ; B : dans $\text{DMSO-}d_6$; C : dans $\text{MeOH-}d_4$

Par ailleurs, dans chacun des solvants la vitesse de réaction est beaucoup plus lente que lors de l'irradiation à 340 nm : les constantes de vitesse ont été divisées par un facteur quatre environ. Ceci peut s'expliquer de plusieurs façons : d'une part, l'isomère (*Z*) absorbe beaucoup moins de lumière à 310 nm qu'à 340 nm ce qui impacte, de fait, la cinétique. D'autre part, les deux LED utilisées pour les irradiations n'ont pas la même puissance effective, ce qui signifie qu'elles n'émettent pas la même quantité de lumière, la LED à 310 nm étant environ trois fois moins puissante que la LED à 340 nm (Tableaux 10 et 12).

Comme précédemment nous avons observé que la réaction est plus lente dans le DMSO-*d*₆ que dans les autres solvants (Tableau 12 entrée 2). Dans le méthanol-*d*₄ et dans le chloroforme les constantes de vitesse sont plus élevées.

2.3.2 Retour à la forme (*Z*)

Nous avons montré qu'il est possible de déplacer l'équilibre d'isomérisation en faveur de l'isomère (*E*) en utilisant une longueur d'onde d'irradiation plus adaptée. Nous nous sommes alors demandé si nous pouvions observer le retour à la forme (*Z*) à partir d'un mélange d'isomères (*Z/E*).

Pour cela, à partir d'un mélange (*Z/E*) du composé modèle **52** obtenu par irradiation à 340 nm, nous avons procédé à une irradiation supplémentaire à 375 nm. Nous avons choisi cette longueur d'onde car d'après la Figure 53, il semble que quel que soit le solvant l'isomère (*Z*) n'absorbe que très peu à cette longueur d'onde, contrairement à l'isomère (*E*). Les résultats sont présentés ci-dessous (Figure 57). Les courbes expérimentales ont été lissées à l'aide du logiciel OriginPro.

La courbe rouge de la Figure 57 montre que la disparition de l'isomère (*E*) est effectivement observée lorsque la solution contenant le mélange est irradiée à 375 nm et ce de manière très rapide puisqu'en quelques minutes l'isomère (*E*) a complètement disparu du milieu. D'autre part la courbe bleue de la Figure 57, représentant la proportion d'isomère (*Z*) au cours du temps, met en évidence que deux phénomènes consécutifs se produisent. Dans un premier temps, la quantité d'isomère (*Z*) augmente jusqu'à atteindre près de 90% de manière concomitante à la transformation précédente. La corrélation entre les deux courbes (rouge et bleue) nous indique que la disparition de l'isomère (*E*) s'effectue au profit de la formation de l'isomère (*Z*), d'une part car les durées de ces deux

phénomènes sont concordantes, et d'autre part car les constantes de vitesse calculées grâce aux lissages sont également en accord (Tableau 13).

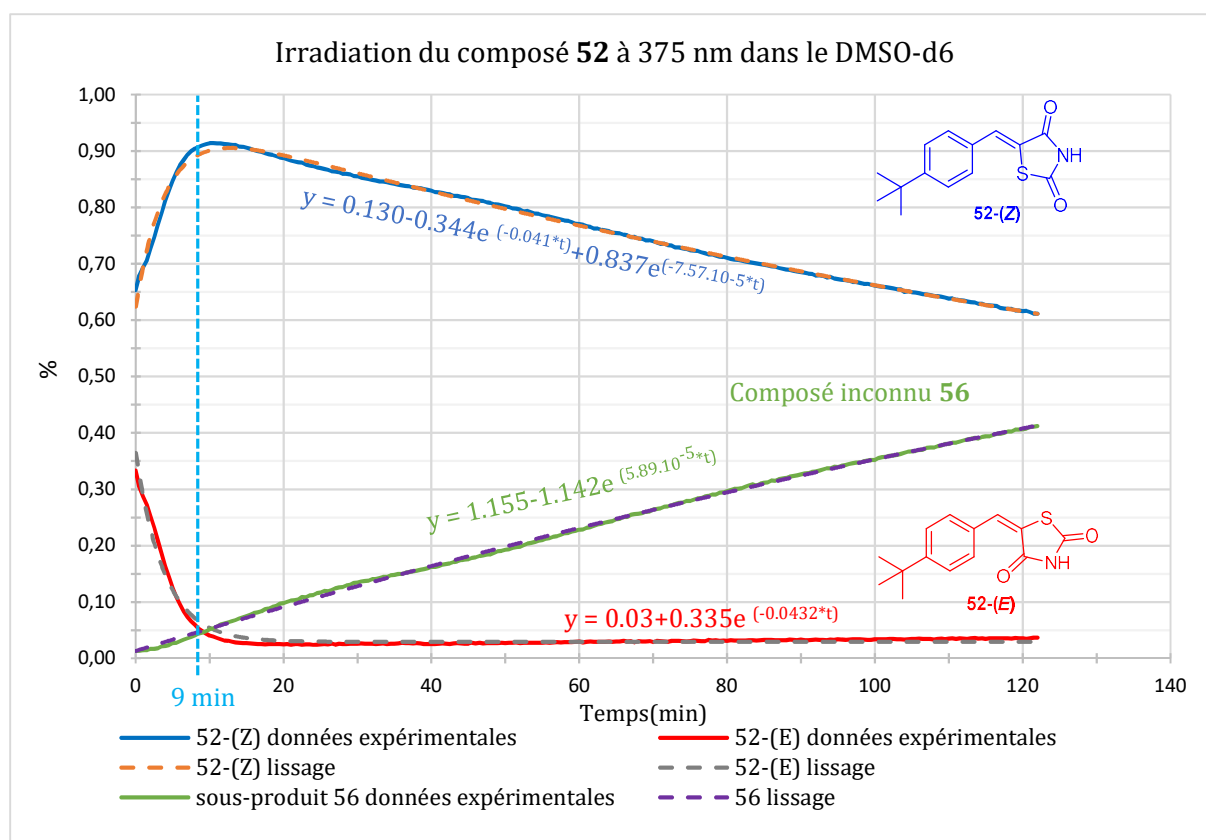


Figure 57 : Courbes cinétiques A : Disparition de l'isomère (E) ; B : Apparition de l'isomère (Z) ; C : Apparition du sous-produit 56.

Dans un deuxième temps, il apparaît que la quantité d'isomère Z diminue de nouveau et de façon beaucoup plus lente.

Par ailleurs, l'analyse des spectres RMN montre l'apparition au cours du temps d'un nouveau composé **56**, dont l'évolution de la quantité est représentée sur la courbe verte de la Figure 57. La formation de ce composé **56** semble coïncider avec la disparition de l'isomère (Z) observée, ce qui est confirmé par la concordance des constantes de vitesse calculées (Tableau 13).

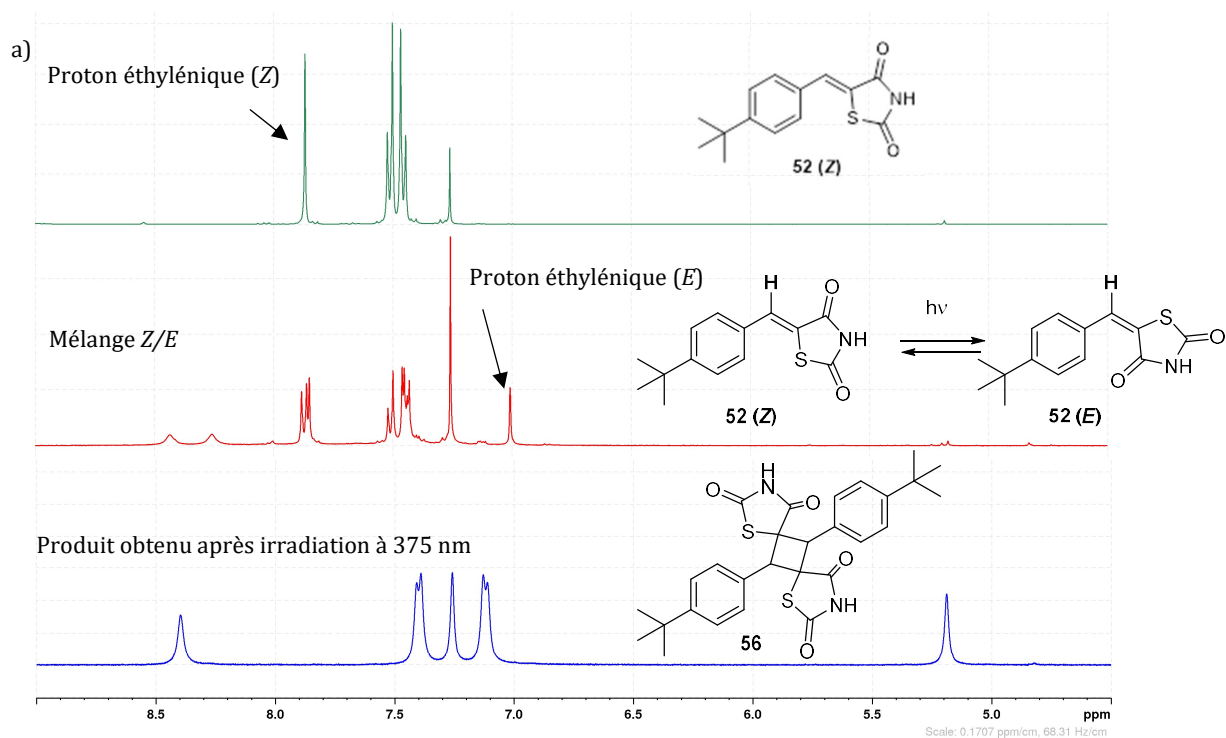
Tableau 13 : Constantes de vitesse mesurées lors de l'irradiation de 52 à 375 nm

	Constante de vitesse 1 ($\cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$)*	Constante de vitesse 2 ($\cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$)*
Isomère (Z)	4.1 ± 0.4	7.6 ± 2.2
Isomère (E)	4.3 ± 0.3	-
Sous-produit	-	5.9 ± 0.7

* \pm Incertitude. Déterminés grâce au logiciel Origin

2.3.3 Identification du produit **56**

Nous avons isolé le sous-produit **56** formé par précipitation dans MeOH et son identification a été réalisée par RMN ^1H et ^{13}C ainsi que par « HR-MS » et DRX. Ce produit est issu d'une cycloaddition [2+2] de l'isomère (*Z*) sur lui-même (Figure 58). Le spectre RMN ^1H du produit obtenu **56** montre la disparition du proton éthylénique à 7.75 ppm au profit d'un signal vers 5.2 ppm, ce qui semble valider notre hypothèse et qui est confirmé de manière irrévocable par l'analyse par diffraction des rayons X (Figure 58).



b)

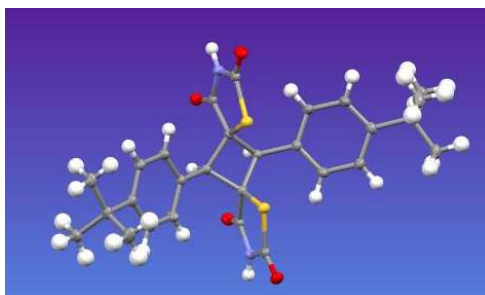


Figure 58 : (a) Spectres RMN ^1H du dérivé **52** dans CDCl_3 : isomère (*Z*) pur (en vert), du mélange d'isomères (*Z/E*) (en rouge) et du sous-produit **56** (en bleu); (b) Structure du composé **56** (CCDC 2156396) obtenue par analyse DRX.

La Figure 59 présente le chromatogramme d'un mélange de **52** et **56** et montre que les temps de rétention mesurés pour le composé **52** et le produit **56** (issu de l'irradiation à 375 nm) sont très différents, ce qui indique que leur structure est différente

(contrairement à deux isomères qui ont des temps de rétention très proches dans ces conditions). D'autre part, si les analyses « HR-MS » et « MS-MS » des produits **52** et **56** (Figure 60) montrent un signal identique à 262 (correspondant à $[M+H]^+$ pour **52**), leurs spectres sont différents. En effet le composé **56** possède un signal à 523 correspondant à $[M_2+H]^+$ qui est en faveur d'un « dimère » de **52**, signal qui n'apparaît pas dans le spectre original du composé **52**. Par ailleurs la fragmentation du pic à 523 conduit au pic à 262. Les interprétations des spectres de masse sont données en Annexe 6. Tous ces éléments confirment une structure « dimérique » de **52**, correspondant au produit de cycloaddition [2+2] représenté Figure 58.

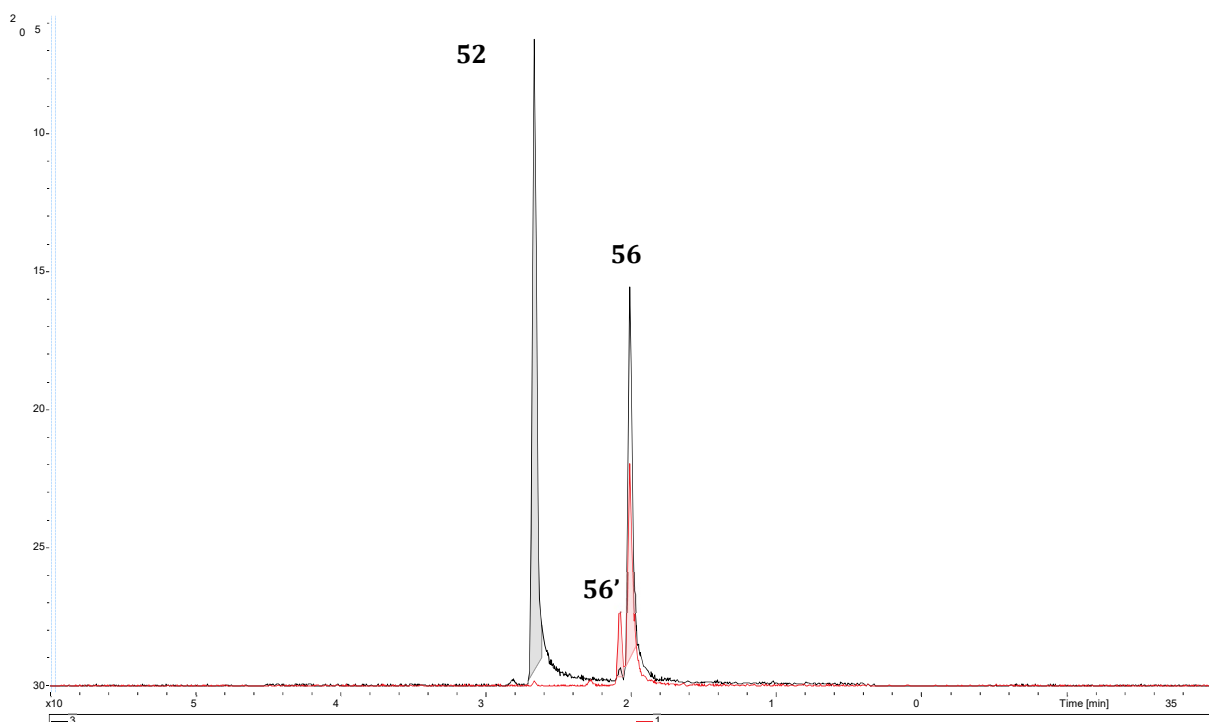


Figure 59 : Chromatogramme LC du mélange des composés **52**, **56** et **56'**.

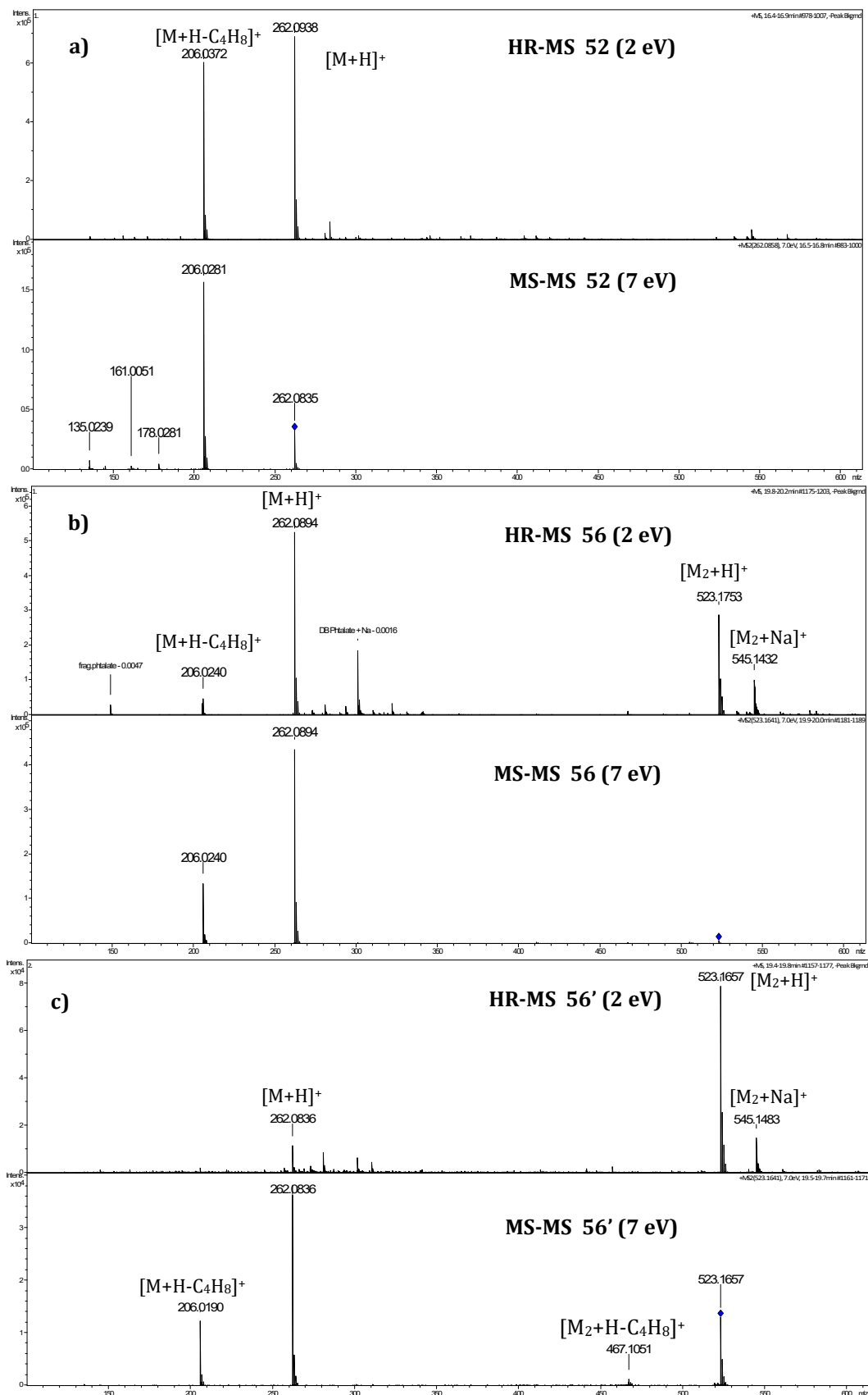


Figure 60 : Spectres « HR-MS » et « MS-MS » des composés a) 52 ; b) 56 ; c) 56'.

Lors de l'analyse « LC-MS » du composé **52** seul, nous avons également constaté la présence en faible quantité d'un autre composé **56'** de ce type, non observé par analyse RMN ^1H , qui semble différent de **56** (Figure 59). En effet son temps de rétention en chromatographie est légèrement inférieur à celui de **56** et les spectres MS-MS des deux composés sont différents (Figure 60b et c). Les fragments obtenus lors de l'analyse MS-MS sont identiques, mais néanmoins il apparaît que le composé **56** se fragmente davantage que le composé **56'**. En effet, l'analyse « HR-MS » montre une plus grande quantité de fragment à 262 pour le composé **56**, et lors de l'analyse « MS-MS » le signal à 523 a complètement disparu. A l'inverse, le composé **56'** semble peu se fragmenter lors l'analyse « HR-MS » et l'analyse « MS-MS » révèle la présence persistante du signal à 523 qui indique qu'il n'est pas complètement fragmenté. Nous supposons ainsi que le composé **56'** est très probablement un régioisomère de **56** (Figure 61). Néanmoins nous ignorons s'il est formé lors de la synthèse de **52** par réaction de Knoevenagel ou s'il est dû au vieillissement de **52** (exposition à la lumière lors du stockage par exemple).

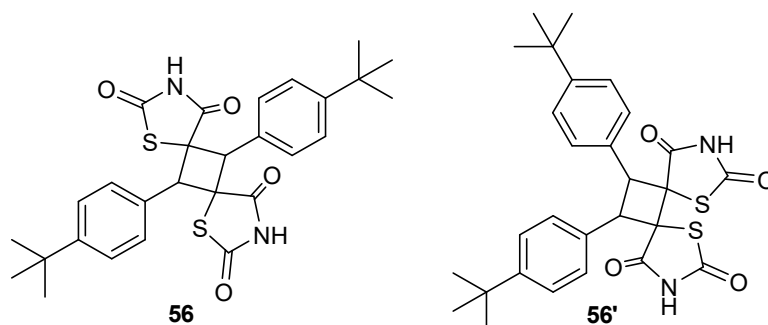


Figure 61 : Structure du composé **56** et structure possible pour **56'**.

3 Préparation de composés tricycliques

Lors de la préparation des analogues aminés **19a-f** (cf. Chapitre 2) nous avons observé la formation d'un sous-produit dans le cas de la synthèse de l'aminobenzylidène **19a** (Schéma 39). Celui-ci a pu être identifié par RMN ^1H et ^{13}C , ainsi que par HR-MS et DRX (Figure 62) comme étant le composé tricyclique **63** issu de l'attaque nucléophile de l'azote sur un carbonyle de la TZD.

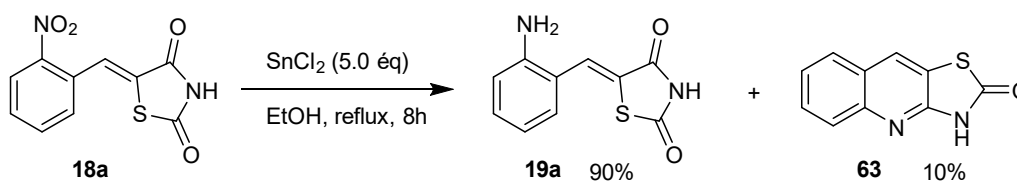


Schéma 38 : Préparation de l'amine **19a** et formation du sous-produit **63**.

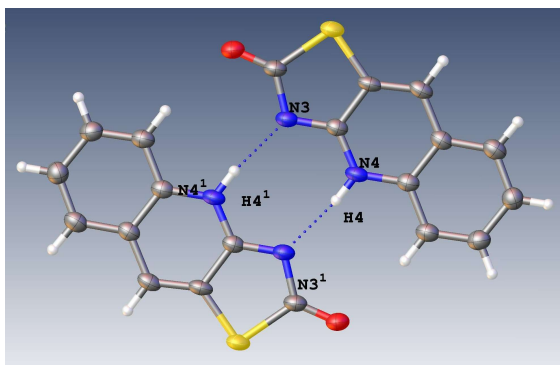


Figure 62 : Structure moléculaire du composé 53 obtenue par DRX et qui cristallise sous forme de dimère (CCDC : 2151345).

Dès 1969, Zimmer *et al.* ont montré que la photoinduction permet d'isomériser un fragment benzylidène-pyrrolidone dont l'atome d'azote du cycle à cinq chaînons est substitué par un groupement acétate (Schéma 40).²⁵⁵ L'année suivante, l'isomérisation d'un fragment benzylidène-succinimide par photoactivation a également été démontrée par la même équipe (Schéma 40).²⁵⁶ Dans les deux cas, la présence d'un atome nucléophile en position *ortho* par rapport à la double liaison a conduit à la cyclisation du produit par attaque nucléophile sur le groupement carbonyle (Schéma 40).

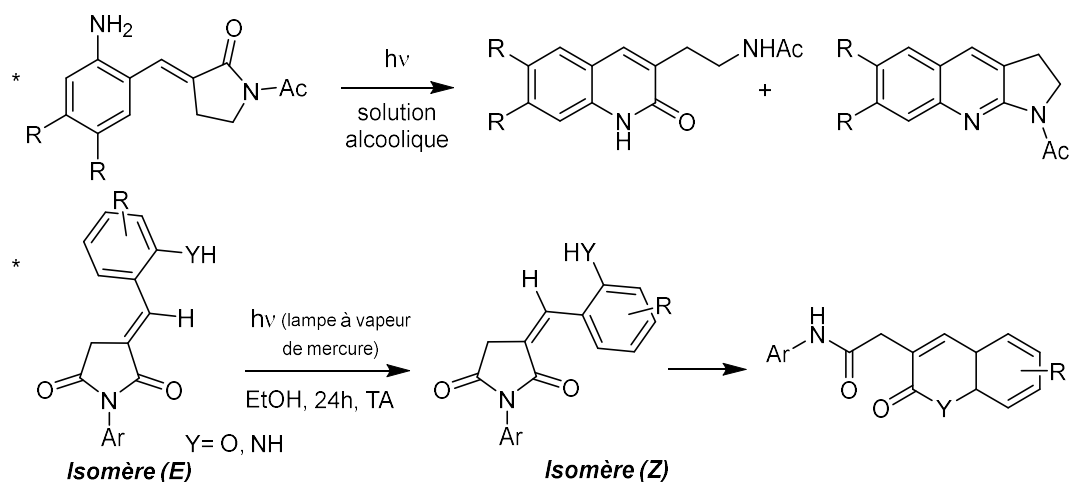


Schéma 39 : Isomérisations photoinduites de fragments benzylidènes selon Zimmer.^{255,256}

En 2017, Chen *et al.* ont montré que l'utilisation de lumière bleue permet l'isomérisation de doubles liaisons carbone-carbone ainsi que la préparation de noyaux quinoléine (Schéma 41).²⁵⁷

²⁵⁵ Zimmer, H. *et al.* Lichtinduzierte Synthese von 2,3-dihydropyrrolo[2,3-b] chinolinen und carbostyrylen aus 1-acetyl-trans-3-(2-aminobenzyliden)-pyrrolidon-(2). *Tetrahedron Letters* **1969**, 10 (46), 4053–4054. doi: 10.1016/S0040-4039(01)88612-3.

²⁵⁶ Gailey, R. G. *et al.* Lichtinduzierte Synthese von cumarinen und carbostyrylen aus N-phenylsuccinimiden. *Tetrahedron Letters* **1970**, 11 (32), 2839–2844. doi: 10.1016/S0040-4039(01)98354-6.

²⁵⁷ Chen, X. *et al.* Blue-Light-Promoted Carbon–Carbon Double Bond Isomerization and Its Application in the Syntheses of Quinolines. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2017**, 15 (30), 6349–6352. doi: 10.1039/C7OB00558J.

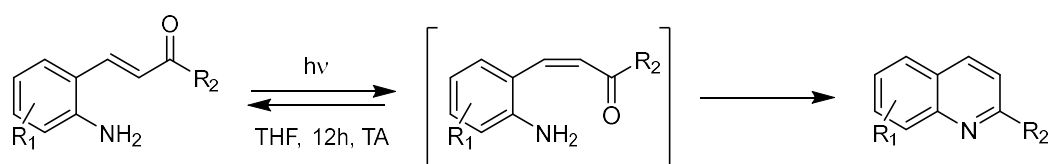


Schéma 40 : Isomérisation de double liaison et formation du noyau quinoléine.²⁵⁷

Forts de ce constat et de notre expérience d'isomérisation photoinduite, nous avons choisi d'appliquer cette méthode pour obtenir de manière quantitative les composés tricycliques à noyau quinoléine.

Nous avons alors préparé les composés précurseurs de tricycles **19a, d** et **60-62** à partir des nitrobenzaldéhydes commerciaux selon la procédure décrite dans le chapitre 2 (condensation de Knoevenagel puis réduction du groupement nitro en amine). Il est intéressant de noter que si les amino-arylidènes **19a,d** et **60-62** ont été isolées avec de très bons rendements, la plupart d'entre elles comportaient un sous-produit détecté en spectroscopie RMN ainsi qu'en spectrométrie de masse correspondant aux produits de cyclisation attendus après irradiation. Notre objectif était donc de rendre la formation des tricycles quantitative.

Nous avons choisi de travailler dans un premier temps sur l'isomérisation d'une amine modèle afin d'optimiser les conditions de réaction et d'obtenir le composé tricyclique **63** de façon quantitative. Pour cela nous avons choisi d'étudier l'isomérisation de l'amine **19a** déjà synthétisée précédemment (cf Chap. 2) (Schéma 42).

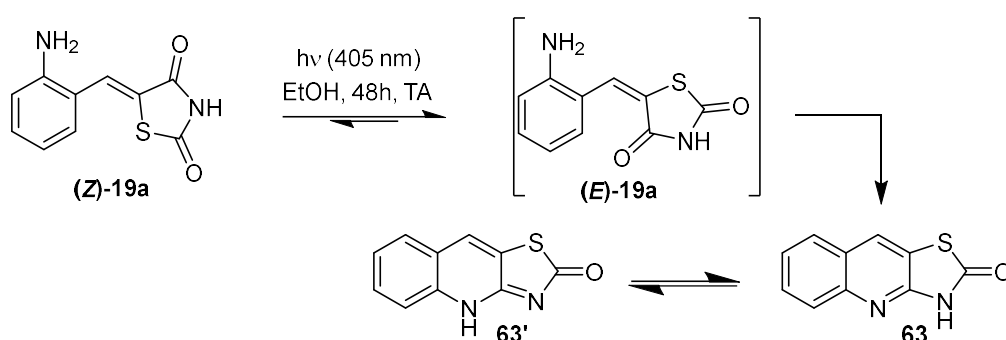


Schéma 41 : Préparation du tricycle **63** à partir de l'amine **19a** par photoactivation

Afin de choisir la longueur d'onde d'irradiation appropriée, nous avons réalisé le spectre d'absorption UV-visible de l'amine **19a** et du tricycle **63** (Figure 63A). L'amine **19a** présente deux bandes d'absorption à 317 nm et 400 nm. La cyclisation du composé en tricycle **63** entraîne la disparition de la bande d'absorption à 400 nm de l'amine, ce qui peut également être constaté par la variation de couleur entre les deux espèces (Figure

63B et C). C'est pourquoi nous avons choisi d'utiliser pour l'irradiation *ex-situ* une lampe de longueur d'onde 405 nm, la plus proche de 400 nm.

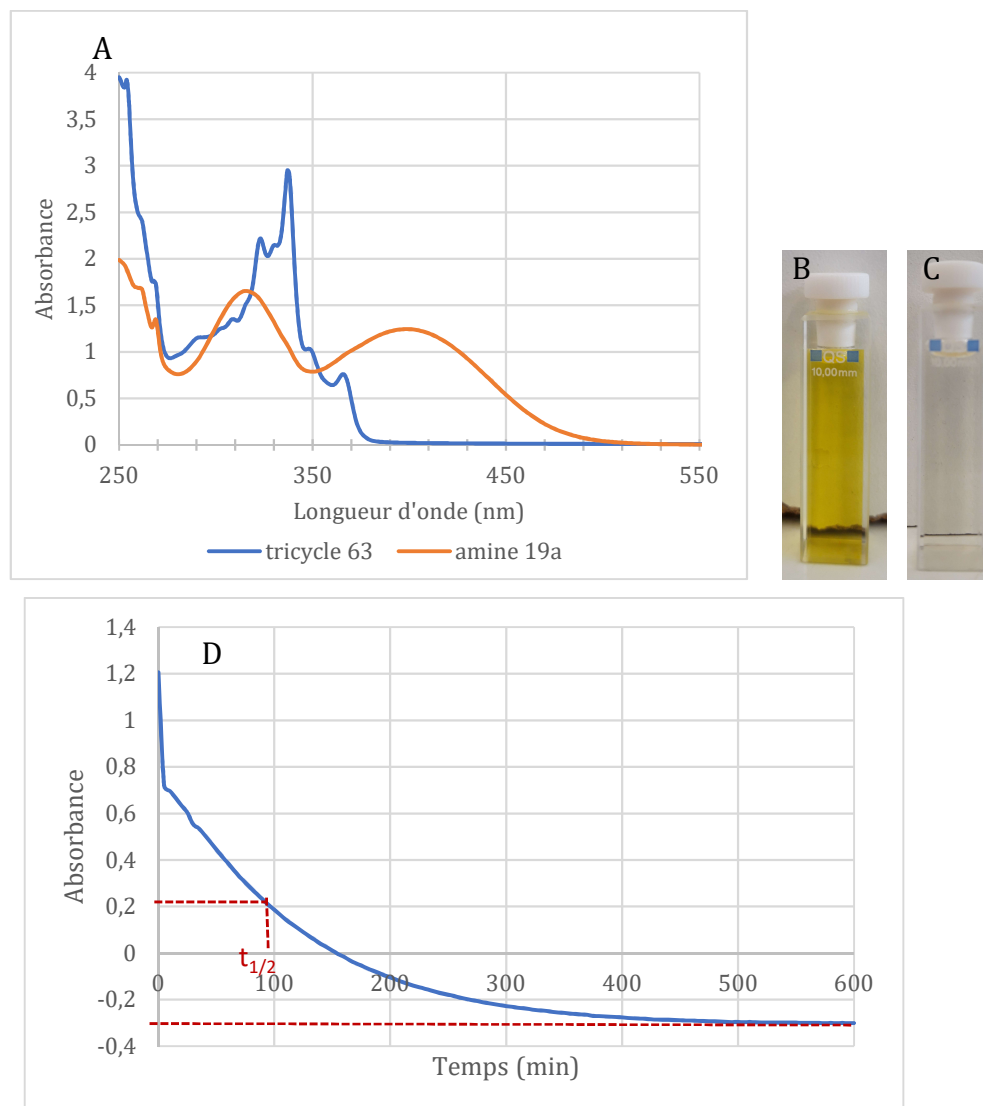


Figure 63 : A : Spectres d'absorption UV-visible de l'amine 19a et du tricycle 63 ; B : amine 19a en solution dans EtOH ; C : tricycle 63 en solution dans EtOH ; D : évolution de l'absorbance en fonction du temps pendant l'irradiation de 19a à 405 nm. (Les spectres d'absorption représentent la quantité de lumière absorbée par le composé. Lorsque la LED est allumée pour l'irradiation, la quantité de lumière absorbée détectée par le spectrophotomètre diminue. Ainsi le pic d'absorption diminue et lorsque la bande du composé a complètement disparu, le signal devient négatif.)

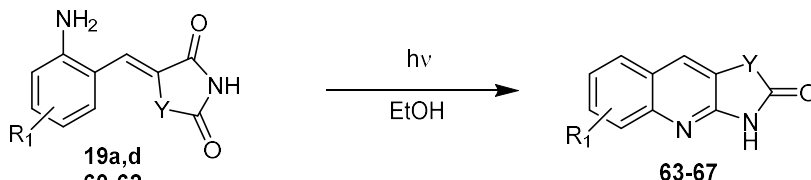
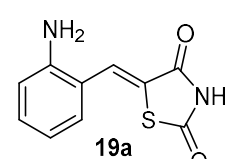
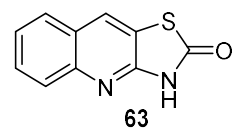
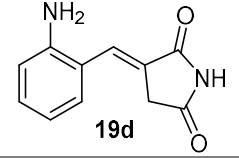
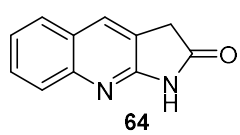
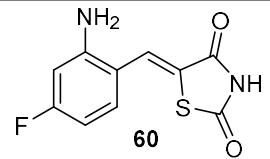
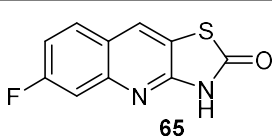
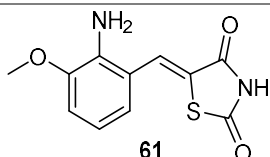
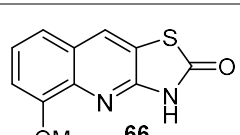
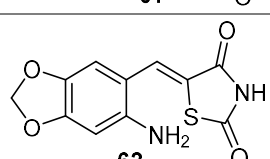
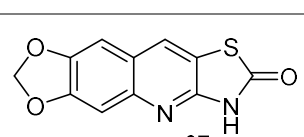
L'irradiation de l'amine a ainsi été mise en œuvre dans EtOH à température ambiante, ce solvant étant très intéressant puisqu'il solubilise l'amine mais pas le tricycle ce qui nous permet de l'obtenir par simple précipitation. Après 48 h d'exposition à 405 nm, une filtration du milieu réactionnel nous a permis d'obtenir le composé **63**. Grâce à cette méthode, nous avons réussi à préparer ce tricycle à l'échelle de 2 g avec un rendement de 84 %. La disparition de la bande d'absorption à 400 nm lors de la cyclisation rend possible le suivi cinétique de la réaction par spectrophotométrie UV-visible. L'évolution de

l'absorbance en fonction du temps suit une courbe exponentielle, indiquant une cinétique d'ordre 1 par rapport à la concentration de l'amine **19a** (Figure 63D). Le temps de demi-réaction a par ailleurs pu être mesuré graphiquement (Annexe 8).

Nous avons souhaité extrapoler nos résultats aux autres aminobenzylidènes **19d** et **60-62**. Les spectres UV-visible de ces amines, dans EtOH, avant irradiation ainsi que les études cinétiques par spectroscopie UV-visible sont présentés en Annexe 7. Par analogie avec l'amine **19a**, nous avons choisi d'utiliser pour l'irradiation une LED de longueur d'onde proche du λ_{\max} mesuré le plus élevé.

Les amines en solution dans EtOH ont été irradiées et les produits **64-67** ont été obtenus après filtration du milieu réactionnel. Les résultats sont présentés dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Résultats de la cyclisation par photoactivation sur divers aminobenzylidènes

Entrée	Amine	λ (nm)	Produits	Rendement*
				
1	 19a	405	 63	84 %
2	 19d	375	 64	48 %
3	 60	405	 65	68 %
4	 61	405	 66	77 %
5	 62	430	 67	71 %

* Rendement isolé après purification par précipitation et lavages successifs dans EtOH

Nous avons pu isoler les produits de cyclisation **63-67** avec de bons à très bons rendements. Une analyse rapide des filtrats par « LC-MS » et CCM nous a indiqué la présence de sous-produits de dégradation. Lorsque l'hétérocycle ne comporte pas d'atome de soufre (amino-benzylidène-pyrrolidinedione **19d** comme substrat), la cyclisation a lieu avec un rendement faible de 48 %. Ceci s'explique probablement par le fait que l'amine **19d** possède des propriétés fluorescentes, comme nous l'avons vu précédemment.

4 Conclusion

Nous avons démontré que l'isomérisation de fragments benzylidène-thiazolidinedione est possible sous irradiation lumineuse. Grâce à l'étude des spectres d'absorption UV-visible des composés, nous avons mis en évidence que l'interconversion de la double liaison peut être effectuée de façon sélective en utilisant une longueur d'onde d'irradiation adaptée. Les études cinétiques réalisées par RMN ont montré que cette réaction se produit rapidement mais qu'il n'est pas possible d'obtenir uniquement l'isomère (*E*). Lors d'une tentative de régénération de l'isomère (*Z*) à partir d'un mélange (*Z/E*) par irradiation, nous avons observé la formation d'un composé original issu d'une cycloaddition [2+2].

Par ailleurs, nous avons appliqué cette méthode aux ortho-aminobenzylidène-TZDs ou -pyrrolidinediones pour accéder facilement à des composés tricycliques à noyau quinoléine. Dans ce cas, nous observons une isomérisation complète de l'isomère de départ. En effet, l'isomère généré après irradiation présente un enchaînement idéal pour conduire à une attaque rapide du groupement amine sur le C=O du motif TZD ou pyrrolidinedione. La cyclisation qui en découle permet de déplacer l'équilibre entre les deux isomères et *in fine*, conduit à une isomérisation complète. Cette séquence rapide et facile à mettre en œuvre est efficace puisqu'elle permet d'obtenir des produits complexes à partir de nitrobenzaldéhydes, en trois étapes avec de bons rendements globaux compris entre 16 % et 49 %. Qui plus est, nous avons réussi à préparer le tricycle **63** à l'échelle de 2 g, ce qui est très satisfaisant. Cette stratégie ouvre la voie à la préparation de nouveaux squelettes de type arylquinoléine fusionnés fonctionnalisés et fonctionnalisables.

Enfin, nous pouvons envisager d'appliquer cette méthode d'isomérisation à nos composés préparés dans le chapitre précédent afin d'étudier l'effet de l'inversion de configuration de la double liaison sur leur activité biologique.

Conclusion générale

Les travaux présentés dans ce travail de thèse s'articulaient autour du fragment benzylidène-hétérocycle de la Δ^2 -troglitazone, une molécule phare de notre équipe qui présente des propriétés antiprolifératives intéressantes vis-à-vis de cellules cancéreuses.

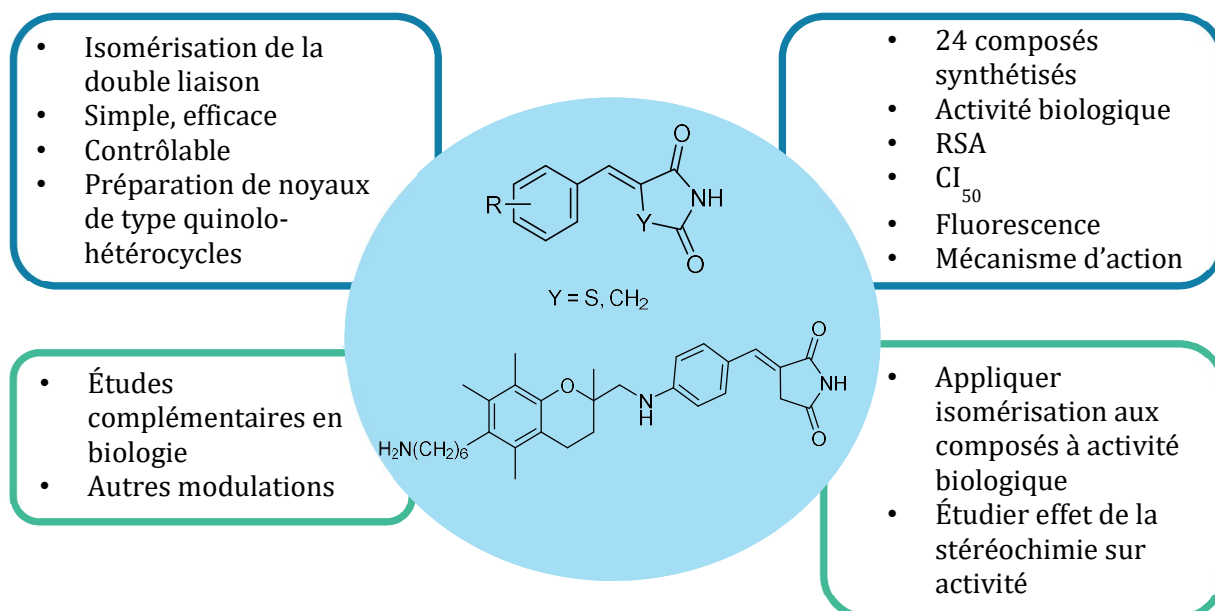
Ainsi nous avons effectué un travail important de pharmacomodulation de cette structure en modifiant la nature de l'hétéroatome central et/ou du cycle aromatique, ainsi que la position relative du noyau chromane sur ce fragment. Les analogues soufrés et désoufrés ont été préparés. Les synthèses ont été menées à bien en quatre à sept étapes avec des rendements globaux compris entre 3 et 15%, rendements faibles dûs à la fragilité des composés qui se dégradent lors des étapes de purification et à la complexité des structures envisagées qui rendent les synthèses plus délicates qu'attendues.

Plus de vingt composés ont ainsi été obtenus et leur activité antiproliférative a pu être évaluée. Les relations structure-activité ont ainsi pu être établies ce qui a permis de mettre en évidence les éléments structuraux favorisant l'activité antiproliférative recherchée. Des mesures plus précises de concentration inhibitrice médiane sur les composés les plus actifs de la série ont montré une faible différence d'activité entre les composés azotés et oxygénés, mais ont néanmoins révélé une meilleure sélectivité des composés azotés vis-à-vis des cellules cancéreuses. Les propriétés de fluorescence intrinsèques de certains composés ont été mises à profit pour les localiser au sein des cellules traitées. Ainsi il est apparu que les molécules de cette famille se localisent dans le cytoplasme des cellules sans atteindre le noyau. Par ailleurs, ces molécules semblent avoir une action sur la polymérisation de la tubuline ainsi qu'un effet pro-apoptotique. Tout ceci constitue un début de compréhension du mécanisme d'action antiprolifératif des molécules de cette famille.

Les résultats obtenus méritent d'être consolidés et approfondis afin de déterminer plus précisément les cibles biologiques de ces molécules. Par ailleurs il est possible d'envisager de nouvelles pharmacomodulations comme par exemple le remplacement du cycle aromatique par un cycle hétéroaromatique ou l'abstraction de l'hétéroatome central au profit d'un groupement méthylène. Les résultats d'activité antiproliférative obtenus montrent que cette famille de composés peut être intéressante pour un développement à

plus long terme en thérapie du cancer. Il est toujours intéressant de diversifier l'arsenal thérapeutique disponible : par exemple, des synergies peuvent exister avec les composés déjà utilisés et cela permettrait également de pallier les phénomènes de résistance aux chimiothérapies déjà existantes.

Dans une seconde partie nous avons montré qu'il est possible d'isomériser la double liaison de différents fragments benzylidène-hétérocycles par photoinduction, une méthode simple et efficace. Nous avons observé que le solvant utilisé joue un rôle important dans la proportion d'isomère obtenu. Par ailleurs nous avons montré que le choix de la longueur d'onde d'irradiation influence la sélectivité de la réaction. Un composé de structure originale, issu d'une réaction de cycloaddition [2+2] a été isolé et caractérisé. L'application de cette méthode à des composés *ortho*-aminobenzylidènes a conduit à l'obtention de thiazoloquinoléines fonctionnalisées avec de bons rendements. Dans la continuité du travail de pharmacomodulation effectué précédemment, nous envisageons d'appliquer la méthode développée dans cette partie pour préparer les stéréoisomères des analogues les plus actifs de la Δ^2 -TGZ afin d'étudier l'effet de l'inversion de configuration de la double liaison sur l'activité antiproliférative de ces composés.



Chapitre 4 : Partie expérimentale

1 Généralités

Les solvants ont été purifiés et séchés selon les procédures standard. Les réactifs chimiques ont été achetés chez Sigma-Aldrich, Alfa Aesar ou Acros Organics et utilisés tels quels. Les chromatographies sur couche mince analytiques (CCM) ont été effectuées sur plaques pré-enduites de 0.25 mm de gel de silice 60 F254 (Merck). Les composés ont été visualisés grâce à une lampe UV (254 nm) et une solution d'acide phosphomolybdique dans une solution d'acide sulfurique à 10% a été utilisée comme révélateur. Les chromatographies sur colonne ont été effectuées sur un Puriflash PF215+ DEDL (Interchim) à l'aide de colonnes SiHP 30 μ M. Les spectres RMN ont été réalisés à 303 K sur un spectromètre Bruker DRX400 (400 MHz pour les analyses ^1H et 100.6 MHz pour les analyses ^{13}C) à la plateforme RMN du laboratoire CRM² (UMR 7036, Université de Lorraine). Les déplacements chimiques sont reportés en ppm (δ) relativement au déplacement chimique des pics résiduels de solvant.²⁵⁸ Les spectres de masse ont été enregistrés sur un spectromètre micrOTOFq (Bruker) ESI/QqTOF au sein de la plateforme MassLor du laboratoire L2CM. Les points de fusion (M.p.) ont été mesurés sur un banc Koeffler et ne sont pas corrigés. Les spectres infra-rouge (IR) ont été réalisés sur un spectromètre Perkin-Elmer avec un appareil Shimadzu IRAffinity-1 équipé d'un diamant ATR PIKE gladiATR. Les analyses élémentaires ont été effectuées sur un appareil Thermofinnigan Flash EA 1112 au sein de la plateforme Synbion du laboratoire L2CM. Nous avons choisi de décrire les caractérisations des molécules en anglais.

2 Synthèse organique

Procédure générale pour la préparation des arylaldéhydes **7a** et **7b** :

A une solution de pyridine (7.0 éq) dans CH_2Cl_2 anhydre (15 mL) à 0°C sont ajoutés l'anhydride trifluoré Tf_2O (1.4 éq), puis l'alcool **4**¹⁶⁷ (1.0 éq) en solution dans CH_2Cl_2 anhydre (15 mL). Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, le résidu obtenu après évaporation des solvants est dissous dans l'acétate d'éthyle (AcOEt, 30 mL), puis lavé avec une solution aqueuse à 5% d'hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO_3 , 2 x 20 mL), puis avec une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium (NaCl , 30 mL). Les phases organiques sont séchées avec du sulfate de magnésium (MgSO_4). Après

²⁵⁸ Gottlieb, H. E. *et al.* NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *The Journal of organic chemistry* **1997**, 62 (21), 7512–7515.

évaporation du solvant, le triflate attendu est obtenu avec un rendement quantitatif (CCM : *n*-hexane/AcOEt : 8/2), et est mis en jeu dans la réaction suivante sans purification ultérieure. A la solution de ce triflate (1.0 éq) dans le DMF anhydre (7 mL) sont ajoutés le carbonate de potassium K₂CO₃ (2.0 éq) et le 2- ou 3-hydroxybenzaldéhyde (1.5 éq). Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante (TA) pendant 4 jours. La réaction est suivie par CCM (*n*-hexane/AcOEt : 9/1). Après hydrolyse (20 mL) et extraction avec AcOEt (3 x 20 mL), la phase organique est lavée avec une solution aqueuse à 5% de NaHCO₃ (2 x 20 mL), puis une solution aqueuse saturée de NaCl (20 mL), puis avec H₂O (20 mL). La phase organique est ensuite séchée (MgSO₄) et les solvants sont évaporés pour conduire aux produits bruts attendus **7a** et **7b**.

Carbonate de tert-butyle et de (2-((2-formylphénoxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (7a)

L'aldéhyde **7a** est préparé selon la procédure générale décrite ci-dessus à partir du 2-hydroxybenzaldéhyde commercial (0.222 g, 1.8 mmol) et est obtenu pur après précipitation dans le *n*-hexane.

Rendement isolé = 64 %.

Aspect : solide beige.

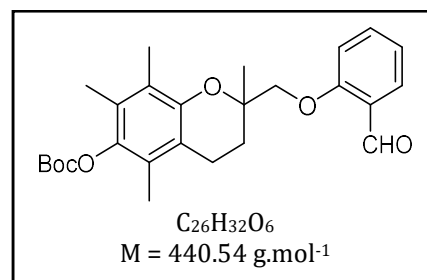
M.p. = 122-124°C.

FTIR ν (cm⁻¹): 2987, 2900, 1753, 1683, 1599, 1242.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.47 (s, 3H, CH₃), 1.56 (s, 9H, *t*-Bu), 1.91-1.97 (m, 1H, CH₂), 2.05 (s, 3H, CH₃), 2.08 (s, 6H, CH₃), 2.11-2.16 (m, 1H, CH₂), 2.58-2.74 (m, 2H, CH₂), 4.02, 4.10 (AB system, ²*J* = 9.3 Hz, 2H, OCH₂), 6.99 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 1H, H_{arom}), 7.04 (t, ³*J* = 7.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.53 (td, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H, H_{arom}), 7.84 (dd, ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H, H_{arom}), 10.55 (d, *J* = 0.6 Hz, 1H, CHO).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.9 (CH₃), 12.0 (CH₃), 12.8 (CH₃), 20.2(CH₂), 23.0 (CH₃), 27.8 ((CH₃)₃C), 28.7 (CH₂), 73.0 (CH₂), 74.4 (C_{quat}), 82.9 (C_{quat}), 112.9 (CH_{arom}), 117.2 (C_{quat}), 121.1 (CH_{arom}), 123.3 (C_{quat}), 125.1 (C_{quat}), 125.6 (C_{quat}), 127.6 (C_{quat}), 128.5 (CH_{arom}), 136.1 (CH_{arom}), 141.5 (C_{quat}), 148.7 (C_{quat}), 152.4 (C_{quat}), 161.4 (C=O), 189.6 (CHO).

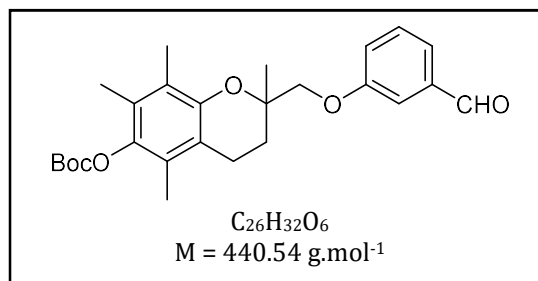
Elemental analysis calculated for C₂₆H₃₂O₆: C 70.89 %, H 7.32 %; measured: C 70.76 %, H 7.39 %.



HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{26}H_{32}O_6$: 441.2272 $[M+H]^+$, 463.2091 $[M+Na]^+$, found: 441.2290, 463.2117.

Carbonate de tert-butyle et de (2-((3-formylphénoxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (7b)

L'aldéhyde **7b** est préparé selon la procédure générale décrite ci-dessus à partir du 3-hydroxybenzaldéhyde commercial (0.222 g, 1.8 mmol) et est obtenu pur après purification par chromatographie sur colonne de silice (éluant : *c*-hexane/AcOEt : 100/0 à 90/10 en 50 minutes).



Rendement isolé = 60 %.

Aspect : gomme blanche.

FTIR ν (cm⁻¹): 3387, 2935, 2912, 1739, 1681, 1516, 1242.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.43 (s, 3H, CH₃), 1.55 (s, 9H, *t*-Bu), 1.86-1.96 (m, 1H, CH₂), 2.04 (s, 3H, CH₃), 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.08 (s, 3H, CH₃), 2.13-2.23 (m, 1H, CH₂), 2.65 (t, ³*J* = 6.2 Hz, 2H, CH₂), 3.96, 4.06 (AB system, ²*J* = 9.3 Hz, 2H, OCH₂), 7.17-7.22 (m, 1H, H_{arom}), 7.41-7.46 (m, 3H, H_{arom}), 9.97 (s, 1H, CHO).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 11.9 (CH₃), 12.0 (CH₃), 12.8 (CH₃), 20.3 (CH₂), 22.9 (CH₃), 27.8 ((CH₃)₃C), 28.5 (CH₂), 73.0 (CH₂), 74.6 (C_{quat}), 82.9 (C_{quat}), 113.6 (CH_{arom}), 117.3 (C_{quat}), 122.1 (CH_{arom}), 123.3 (C_{quat}), 123.5 (CH_{arom}), 125.5 (C_{quat}), 127.5 (C_{quat}), 130.2 (CH_{arom}), 137.9 (C_{quat}), 141.5 (C_{quat}), 148.9 (C_{quat}), 152.4 (C_{quat}), 159.8 (C=O), 192.2 (CHO).

Elemental analysis calculated for $C_{26}H_{32}O_6$, 2/3 H₂O: C 69.01 %, H 7.42 %; measured: C 69.03 %, H 7.19 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{26}H_{32}O_6$: 463.2091 $[M+Na]^+$, found: 463.2173.

Procédure générale pour la préparation des composés benzylidènes 1a et 1b :

L'arylaldehyde **7a** ou **7b** (1.0 éq), la pipéridine (1.0 éq) et la TZD (2.0 éq) sont mis en solution dans le toluène (7 mL). Après agitation pendant 3 h à reflux, le mélange est refroidi puis le toluène est évaporé. Le produit brut (CCM *c*-hexane/AcOEt : 8/2) est

immédiatement purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant : *n*-hexane/ AcOEt : 100/0 à 70/30 en 50 min).

Carbonate de tert-butyle et de (Z)-(2-((2-((2,4-dioxothiazolidin-5-ylidène)méthyl)phénoxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (1a)

Le dérivé **1a** est préparé selon la procédure décrite ci-dessus à partir de **7a** (0.176 g, 0.4 mmol).

Rendement isolé = 61 %.

Aspect : solide jaune pâle.

M.p. = 146-148 °C.

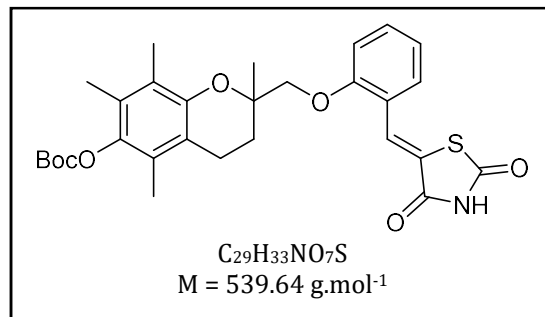
FTIR ν (cm⁻¹): 2926, 1745, 1699, 1595, 1454.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.43 (s, 3H, CH₃), 1.56 (s, 9H, *t*-Bu), 1.91-1.96 (m, 1H, CH₂), 2.02 (s, 3H, CH₃), 2.04 (s, 3H, CH₃), 2.06 (s, 3H, CH₃), 2.13-2.20 (m, 1H, CH₂), 2.66 (t, ³*J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂), 4.00, 4.05 (AB system, ²*J* = 9.4 Hz, 2H, OCH₂), 6.95 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 1H, H_{arom}), 7.06 (t, ³*J* = 7.6 Hz, 1H, H_{arom}), 7.35-7.42 (m, 2H, H_{arom}), 8.26 (s, 1H, CH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.9 (CH₃), 12.0 (CH₃), 12.8 (CH₃), 20.2 (CH₂), 22.9 (CH₃), 27.8 ((CH₃)₃C), 28.6 (CH₂), 74.1 (C_{quat}), 74.8 (CH₂), 83.1 (C_{quat}), 117.4 (C_{quat}), 121.1 (CH_{arom}), 121.5 (CH_{arom}), 122.7 (C_{quat}), 122.9 (C_{quat}), 123.3 (C_{quat}), 125.6 (C_{quat}), 127.6 (C_{quat}), 128.7 (CH_{arom}), 129.3 (CH), 132.4 (CH_{arom}), 141.4 (C_{quat}), 148.8 (C_{quat}), 152.6 (C_{quat}), 158.5 (C=O), 166.2 (C=O), 167.4 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₂₉H₃₃NO₇S: C 64.55 %, H 6.16 %, N 2.60 %; measured: C 65.66 %, H 6.76 %, N 2.53 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₂₉H₃₃NO₇S: 540.2050 [M+H]⁺, 562.1870[M+Na]⁺, found: 540.2045, 526.1860.



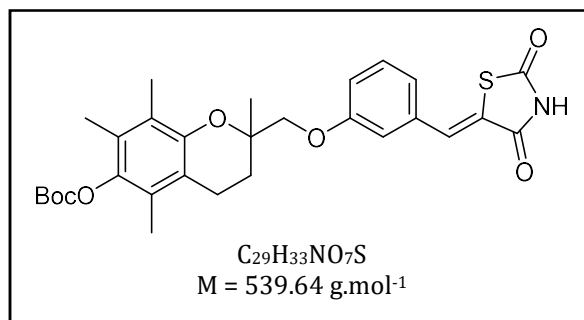
Carbonate de tert-butyle et de (Z)-(2-((3-((2,4-dioxothiazolidin-5-ylidène)méthyl)phénoxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (1b)

Le dérivé **1b** est préparé selon la procédure décrite ci-dessus à partir de **7b** (0.388 g, 0.9 mmol).

Rendement isolé = 20 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 90-92 °C.



FTIR ν (cm⁻¹): 2978, 2926, 1745, 1703, 1606, 1573.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.43 (s, 3H, CH₃), 1.55 (s, 9H, CH₃ *t*-Bu), 1.88-1.92 (m, 1H, CH₂), 2.04 (s, 3H, CH₃), 2.06 (s, 3H, CH₃), 2.08 (s, 3H, CH₃), 2.11-2.14 (m, 1H, CH₂), 2.60-2.69 (m, 2H, CH₂), 3.94, 4.01 (AB system, ²*J* = 9.1 Hz, 2H, OCH₂), 6.99-7.03 (m, 2H, *H*_{arom}), 7.09 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.37 (t, ³*J* = 7.9 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.80 (s, 1H, CH), 8.50 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.8 (CH₃), 11.9 (CH₃), 12.7 (CH₃), 20.1 (CH₂), 22.7 (CH₃), 27.7 ((CH₃)₃C), 28.4 (CH₂), 72.9 (CH₂), 74.5 (C_{quat}), 82.8 (C_{quat}), 116.3 (CH_{arom}), 117.2 (C_{quat}), 117.3 (CH_{arom}), 122.8 (CH_{arom}), 122.9 (C_{quat}), 123.2 (C_{quat}), 125.4 (C_{quat}), 127.4 (C_{quat}), 130.3 (CH_{arom}), 134.2 (CH), 134.3 (C_{quat}), 141.3 (C_{quat}), 148.8 (C_{quat}), 152.3 (C_{quat}), 159.5 (C=O), 166.3 (C=O), 167.0 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₂₉H₃₃NO₇S, 1/3 H₂O: C 63.84 %, H 6.22 %, N 2.57 %; measured: C 63.89 %, H 6.31 %, N 2.48 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₂₉H₃₃NO₇S: 540.2050 [M+H]⁺, 562.1870 [M+Na]⁺, found: 540.2024, 562.1884.

Préparation des composés benzylidènes **1d** et **1e** :

Un mélange réactionnel constitué de l'aldéhyde **7a** ou **7b** (1.0 éq) et de l'alkylidène phosphorane **8** (1.0 éq) dans MeOH (10 mL) est agité 2 h à température ambiante (CCM *c*-hexane/AcOEt : 6/4). Le précipité formé est ensuite filtré, lavé avec MeOH et séché sous vide pour conduite aux composés **1d-e** sans purification ultérieure.

Carbonate de tert-butyle et de (E)-((2-((2,5-dioxopyrrolidin-3-ylidène)méthyl)phénoxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (**1d**)

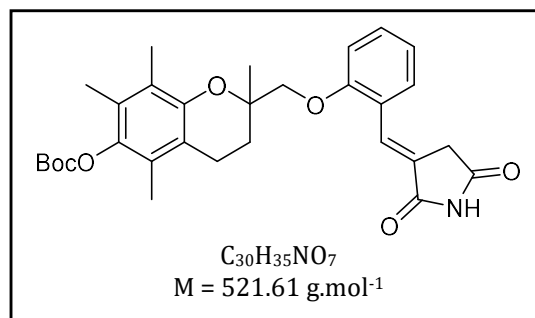
Le dérivé **1d** est préparé selon la procédure décrite ci-dessus à partir de l'aldéhyde **7a** (0.400 g, 0.9 mmol).

Rendement isolé = 72 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 210-212 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3666, 2972, 2900, 1755, 1705, 1654, 1240.



¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.45 (s, 3H, CH₃), 1.55 (s, 9H, *t*-Bu), 1.93-1.96 (m, 1H, CH₂), 2.04 (s, 3H, CH₃), 2.05 (s, 3H, CH₃), 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.13-2.16 (m, 1H, CH₂), 2.64 (m, 2H, CH₂), 3.53 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 2H, CH₂CO), 3.98, 4.05 (AB system, ²*J* = 9.2 Hz, 2H, OCH₂), 6.96 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H, H_{arom}), 7.02 (t, ³*J* = 7.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.33-7.38 (m, 2H, H_{arom}), 8.04 (t, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H, CH), 8.74 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 11.9 (CH₃), 12.0 (CH₃), 12.8 (CH₃), 20.2 (CH₂), 23.1 (CH₃), 27.8 ((CH₃)₃C), 28.7 (CH₂), 35.1 (CH₂), 73.6 (C_{quat}), 74.7 (CH₂), 83.0 (C_{quat}), 113.1 (CH_{arom}), 117.4 (C_{quat}), 121.2 (CH_{arom}), 123.2 (C_{quat}), 123.5 (C_{quat}), 124.5 (C_{quat}), 125.6 (C_{quat}), 127.6 (C_{quat}), 129.0 (CH_{arom}), 129.7 (CH), 131.8 (CH_{arom}), 136.1, 141.4 (C_{quat}), 148.8 (C_{quat}), 152.5 (C_{quat}), 158.2 (C=O), 171.0 (C=O), 174.5 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₃₀H₃₅NO₇: C 69.08 %, H 6.76 %, N 2.69 %; measured: C 69.34 %, H 6.74 %, N 2.74 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₃₀H₃₅NO₇: 522.2486 [M+H]⁺, 544.2306 [M+K]⁺, found: 522.2506, 544.2318.

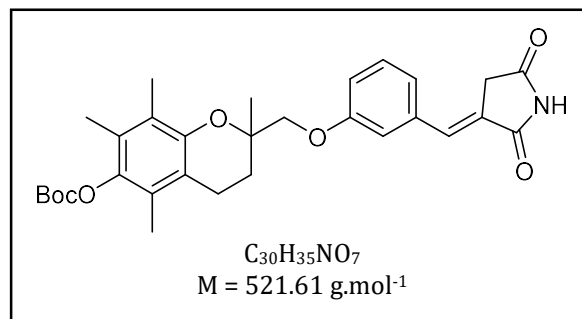
Carbonate de tert-butyle et de (Z)-(2-((3-((2,5-dioxopyrrolidin-3-ylidène)méthyl)phénoxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (1e)

Le dérivé **1e** est préparé selon la procédure décrite ci-dessus à partir de l'aldéhyde **7b** (0.400 g, 0.9 mmol).

Rendement isolé = 67 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 175-177 °C.



FTIR ν (cm⁻¹): 3151, 3037, 2980, 2873, 1749, 1714, 1651, 1577.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.43 (s, 3H, CH₃), 1.55 (s, 9H, *t*-Bu), 1.86-1.93 (m, 1H, CH₂), 2.04 (s, 3H, CH₃), 2.05 (s, 3H, CH₃), 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.11-2.15 (m, 1H, CH₂), 2.62-2.69 (m, 2H, CH₂), 3.58 (br s, 2H, CH₂CO), 3.94, 4.00 (AB system, ²*J* = 9.5 Hz, 2H, OCH₂), 6.96-7.02 (m, 2H, H_{arom}), 7.07 (d, ³*J* = 7.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.35 (t, ³*J* = 7.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.55 (t, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H, CH), 8.85 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 11.8 (CH₃), 11.9 (CH₃), 12.7 (CH₃), 20.2 (CH₂), 22.8 (CH₃), 27.7 ((CH₃)₃C), 28.4 (CH₂), 35.1 (CH₂), 72.7 (C_{quat}), 74.6 (CH₂), 82.8 (C_{quat}), 116.5 (CH_{arom}), 116.7 (CH_{arom}), 117.3 (C_{quat}), 122.9 (CH_{arom}), 123.3 (C_{quat}), 124.6 (C_{quat}), 125.5

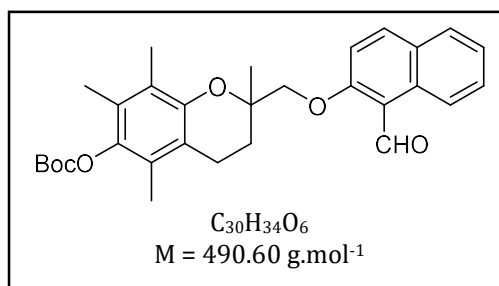
(C_{quat}), 127.6 (C_{quat}), 130.2 (CH_{arom}), 135.0 (CH), 135.2 (C_{quat}), 141.4 (C_{quat}), 148.9 (C_{quat}), 152.4 (C_{quat}), 159.5 (C=O), 171.1 (C=O), 174.3 (C=O).

Elemental analysis: calculated for C₃₀H₃₅NO₇: C 69.08 %, H 6.76 %, N 2.69 %; measured: C 69.09 %, H 6.71 %, N 2.72%.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₃₀H₃₅NO₇: 522.2486 [M+H]⁺, 544.2306 [M+Na]⁺, found : 522.2498, 544.2315.

Carbonate de tert-butyle et de (2-(((1-formylnaphthalén-2-yl)oxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (9a)

Le dérivé **9a** est préparé selon la procédure décrite pour la préparation des arylaldéhydes **7a** et **7b** à partir de l'alcool **4** activé sous forme de triflate (1.27 g, 2.7 mmol) et du 2-hydroxynaphthaldéhyde (0.697 g, 4.1 mmol). Il est obtenu après précipitation dans MeOH, sans purification ultérieure.



Rendement isolé = 43 %.

Aspect : solide jaune amorphe.

FTIR ν (cm⁻¹): 2976, 2929, 2873, 1747, 1670, 1508.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.50 (s, 3H, CH₃), 1.55 (s, 9H, *t*-Bu), 1.93-1.98 (m, 1H, CH₂), 2.05 (s, 3H, CH₃), 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.08 (s, 3H, CH₃), 2.12-2.18 (m, 1H, CH₂), 2.64-2.72 (m, 2H, CH₂), 4.18, 4.25 (AB system, ²J = 9.1 Hz, 2H, OCH₂), 7.29 (d, ³J = 9.0 Hz, 1H, H_{arom}), 7.43 (td, ³J = 7.4 Hz, ⁴J = 1.1 Hz, 1H, H_{arom}), 7.63 (td, ³J = 7.4 Hz, ⁴J = 1.1 Hz, 1H, H_{arom}), 7.77 (d, ³J = 8.2 Hz, 1H, H_{arom}), 8.04 (d, ³J = 9.0 Hz, 1H, H_{arom}), 9.28 (d, ³J = 8.2 Hz, 1H, H_{arom}), 10.98 (s, 1H, CHO).

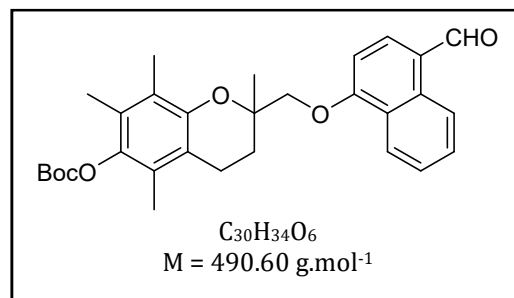
¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.9 (CH₃), 12.0 (CH₃), 12.8 (CH₃), 20.3 (CH₂), 23.0 (CH₃), 27.8 ((CH₃)₃C), 28.7 (CH₂), 74.1 (CH₂), 74.6 (C_{quat}), 82.9 (C_{quat}), 113.9 (CH_{arom}), 117.1 (2 x C_{quat}), 123.3 (C_{quat}), 125.0 (CH_{arom}), 125.1 (CH_{arom}), 125.6 (C_{quat}), 127.7 (C_{quat}), 128.4 (CH_{arom}), 128.8 (C_{quat}), 130.1 (CH_{arom}), 131.7 (C_{quat}), 137.7 (CH_{arom}), 141.6 (C_{quat}), 148.7 (C_{quat}), 152.4 (C_{quat}), 163.6 (C=O), 191.8 (CHO).

Elemental analysis calculated for C₃₀H₃₄O₆: C 73.45 %, H 6.99 %; measured: C 73.19 %, H 6.95 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{30}H_{34}O_6$: 491.2428 $[M+H]^+$, 513.2248 $[M+Na]^+$, found: 491.2554, 513.2360.

Carbonate de tert-butyle et de (2-(((4-formylnaphthalén-1-yl)oxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (9b)

Le dérivé **9b** est préparé selon la procédure décrite pour la préparation des arylaldéhydes **7a** et **7b** à partir de l'alcool **4** activé sous forme de triflate (1.27 g, 2.7 mmol) et du 4-hydroxynaphthalaldéhyde (0.697 g, 4.1 mmol). Il est obtenu après précipitation dans MeOH, sans purification ultérieure.



Rendement isolé = 35 %.

Aspect : solide beige.

M.p. = 188-190 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3080, 1653, 1620, 1558, 1516, 1217.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.56 (s, 12H, CH₃, *t*-Bu), 2.00-2.04 (m, 1H, CH₂), 2.06 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃), 2.23-2.29 (m, 1H, CH₂), 2.66-2.75 (m, 2H, CH₂), 4.18, 4.27 (AB system, ²*J* = 9.1 Hz, 2H, OCH₂), 6.93 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 1H, H_{arom}), 7.59 (td, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, 1H, H_{arom}), 7.71 (td, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, 1H, H_{arom}), 7.90 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 1H, H_{arom}), 8.32 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 0.7 Hz, 1H, H_{arom}), 9.31 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 0.7 Hz, H, H_{arom}), 10.21 (s, 1H, CHO).

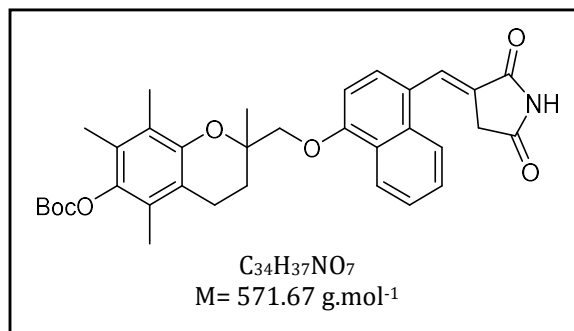
¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 11.9 (CH₃), 12.0 (CH₃), 12.8 (CH₃), 20.3 (CH₂), 23.3 (CH₃), 27.8 ((CH₃)₃C), 28.9 (CH₂), 73.1 (C_{quat}), 74.5 (CH₂), 82.9 (C_{quat}), 104.0 (CH_{arom}), 117.3 (C_{quat}), 122.4 (CH_{arom}), 123.3 (C_{quat}), 125.1 (CH_{arom}), 125.3 (C_{quat}), 125.6 (C_{quat}), 125.7 (C_{quat}), 126.6 (CH_{arom}), 127.7 (C_{quat}), 129.7 (CH_{arom}), 132.1 (C_{quat}), 139.6 (CH_{arom}), 141.6 (C_{quat}), 148.9 (C_{quat}), 152.4 (C_{quat}), 160.1 (C=O), 192.4 (CHO).

Elemental analysis calculated for $C_{30}H_{34}O_6$, $\frac{1}{4}$ H₂O: C 72.78 %, H 7.02 %; measured: C 72.74 %, H 6.97 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{30}H_{34}O_6$: 491.2428 $[M+H]^+$, 513.2248 $[M+Na]^+$, found: 491.2568, 513.2312.

Carbonate de tert-butyle et de (E)-2-(((4-((2,5-dioxopyrrolidin-3-ylidène)méthyl)naphthalén-1-yl)oxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (2f)

Un mélange réactionnel constitué de l'aldéhyde **9b** (0.200 g, 0.4 mmol, 1.0 éq) et de l'alkylidène phosphorane **8** (0.586 g, 1.6 mmol 1.0 éq) dans MeOH (10 mL) est agité 72 h à TA (CCM *c*-hexane/AcOEt : 7/3). Le précipité formé est filtré, lavé avec MeOH, et séché sous vide donnant le composés **2f** sans purification ultérieure.



Rendement isolé = 30 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 160-162 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 2972, 2927, 1749, 1716, 1670, 1508, 1232, 1149.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.56 (s, 12H, *t*-Bu, CH₃), 1.98-2.03 (m, 1H, CH₂), 2.05 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃), 2.23-2.30 (m, 1H, CH₂), 2.65-2.75 (m, 2H, CH₂), 3.59 (d, ⁴*J* = 2.6 Hz, 2H, CH₂CO), 4.13, 4.22 (AB system, ²*J* = 9.3 Hz, 2H, OCH₂), 6.86 (d, ³*J* = 8.1 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.51 (d, ³*J* = 8.1 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.56 (td, ³*J* = 8.1 Hz, ⁴*J* = 1.5 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.63 (td, ³*J* = 8.1 Hz, ⁴*J* = 1.5 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.10 (br s, 1H, NH), 8.13 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.33 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.34 (br t, 1H, CH).

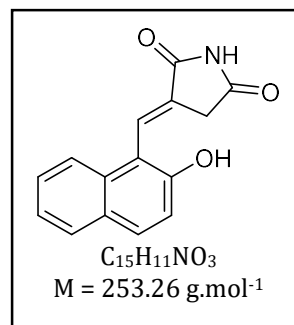
¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 11.9 (CH₃), 12.0 (CH₃), 12.8 (CH₃), 20.4 (CH₂), 23.3 (CH₃), 27.9 ((CH₃)₃C), 35.3 (CH₂), 73.0 (C_{quat}), 74.6 (CH₂), 82.9 (C_{quat}), 104.7 (CH_{arom}), 117.4 (C_{quat}), 122.9 (CH_{arom}), 123.2 (C_{quat}), 123.3 (C_{quat}), 123.4 (CH_{arom}), 124.0 (C_{quat}), 125.6 (C_{quat}), 125.9 (C_{quat}), 126.2 (CH_{arom}), 127.7 (C_{quat}), 127.9 (CH_{arom}), 127.9 (CH_{arom}), 132.1 (CH), 133.3 (C_{quat}), 141.5 (C_{quat}), 148.9 (C_{quat}), 152.4 (C_{quat}), 156.8 (C=O), 170.7 (C=O), 174.1 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₃₄H₃₇NO₇, H₂O: C 69.25 %, H 6.67 %, N 2.38 %; measured: C 69.45 %, H 6.69 %, N 2.27 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₃₄H₃₇NO₇: 572.2643 [M+H]⁺, 594.2462 [M+Na]⁺, found: 572.271, 594.2486.

(E)-3-((2-hydroxynaphtalén-1-yl)méthylène)pyrrolidine-2,5-dione (**12**)

Un mélange réactionnel constitué du 2-hydroxynaphtaldéhyde (0.300 g, 1.7 mmol 1.0 éq) et de l'alkylidène phosphorane **8** (2.5 g, 7.0 mmol 4.0 éq) dans MeOH (10 mL) est agité 4h à TA (CCM *c*-hexane/AcOEt : 8/2). Après filtration du milieu réactionnel, MeOH est évaporé sous pression réduite et le produit **12** est obtenu par précipitation dans CH₂Cl₂ sans purification ultérieure.



Rendement isolé = 45%.

Aspect : solide jaune.

¹H NMR (DMSO, 400 MHz): δ_H (ppm) 3.18 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 2H, CH₂), 7.24 (d, ³J = 8.7 Hz, 1H, H_{arom}), 7.34 (t, ³J = 7.4 Hz, 1H, H_{arom}), 7.49 (t, ³J = 7.4 Hz, 1H, H_{arom}), 7.70 (d, ³J = 8.7 Hz, 1H, H_{arom}), 7.78 (t, ⁴J = 2.1 Hz, CH), 7.84 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, H_{arom}), 10.33 (br s, 1H, OH), 11.38 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 35.3 (CH₂), 113.1 (C_{quat}), 118.4 (CH_{arom}), 123.1 (CH_{arom}), 123.3 (CH_{arom}), 127.0 (CH_{arom}), 127.2 (CH_{arom}), 127.7 (C_{quat}), 128.4 (CH_{arom}), 130.4 (C_{quat}), 130.8 (CH), 132.1 (C_{quat}), 153.1 (C_{quat}), 171.3 (C=O), 175.6 (C=O).

HR-ESI-MS (pos.mode) *m/z* calculated for C₁₅H₁₁NO₃: 254.0812 [M+H]⁺, 276.0631 [M+Na]⁺, 292.0371 [M+K]⁺, found: 254.0884, 276.0611, 292.0307.

Procédure générale pour la déprotection des composés oxygénés

Le substrat protégé **1a,b,d,e** (1.0 éq) est dissous dans CH₂Cl₂ (8 mL) et l'acide trifluoroacétique (2 mL, 20% vol) est ajouté. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 30 min puis le solvant est évaporé. Le produit **13a-b,d-e** est obtenu sans traitement ni purification ultérieure.

(Z)-5-(2-(((6-Hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-yl)méthyl)amino)benzylidène)thiazolidine-2,4-dione (13a)

Le produit **13a** est préparé selon la procédure décrite à partir du composé protégé **1a** (0.050 g, 0.09 mmol).

Rendement isolé = 88 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 134-136 °C.

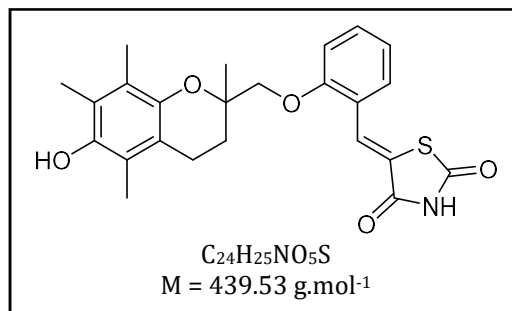
FTIR ν (cm⁻¹): 3520, 2918, 1737, 1680, 1585, 1236, 1159.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.34 (s, 3H, CH₃), 1.82-1.88 (m, 2H, CH₂), 1.93 (s, 3H, CH₃), 2.02 (s, 6H, CH₃), 2.56-2.63 (m, 2H, CH₂), 4.06, 4.12 (AB system, ²*J* = 9.8 Hz, 2H, OCH₂), 7.09 (t, ³*J* = 7.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.18 (d, ³*J* = 7.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.40 (m, 2H, H_{arom}), 8.14 (s, 1H, CH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.7 (CH₃), 11.8 (CH₃), 12.7 (CH₃), 19.7 (CH₂), 21.7 (CH₃), 28.5 (CH₂), 73.0 (C_{quat}), 73.7 (CH₂), 113.3 (CH_{arom}), 116.7 (C_{quat}), 120.3 (C_{quat}), 121.1 (CH_{arom}), 121.2 (C_{quat}), 121.9 (C_{quat}), 122.7 (C_{quat}), 123.4 (C_{quat}), 125.9 (CH_{arom}), 128.0 (CH_{arom}), 132.3 (CH), 143.9 (C_{quat}), 145.5 (C_{quat}), 157.8 (C_{quat}), 167.2 (C=O), 167.9 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₂₄H₂₅NO₅S, ½ H₂O: C 64.27 %, H 5.84 %, N 3.12 %; measured: C 64.19 %, H 6.07 %, N 2.99 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₂₄H₂₅NO₅S: 462.1346 [M+Na]⁺, found: 462.1380.



(E)-3-(2-(((6-Hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-yl)méthoxy)benzylidène)pyrrolidine-2,5-dione (13d)

Le produit **13d** est préparé selon la procédure décrite à partir du composé protégé **1d** (0.130 g, 0.25 mmol).

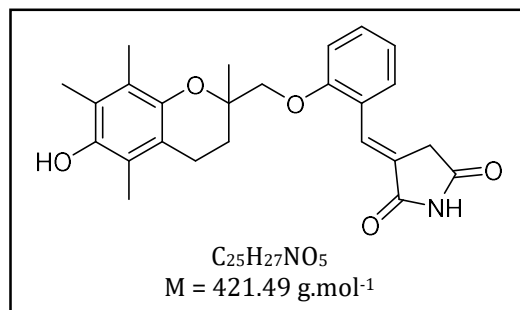
Rendement isolé = 91 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. >250 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3520, 3429, 3143, 3030, 1761, 1710, 1651.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.35 (s, 3H, CH₃), 1.82-1.89 (m, 1H, CH₂), 1.95 (s, 3H, CH₃), 2.02 (s, 3H, CH₃), 1.96-2.00 (m, 1H, CH₂), 2.03 (s, 3H, CH₃), 2.59 (t, ³*J* = 6.9 Hz,



$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_{H} (ppm) 2.15 (s, 3H, CH₃), 2.20 (s, 3H, CH₃), 2.30 (s, 3H, CH₃), 2.59 (t, $^3J = 7.16$ Hz, 2H, CH₂), 3.59-3.64 (m, 2H, CH₂CO), 4.04 (s, 2H, OCH₂), 7.04 (dd, $^3J = 8.3$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.16 (br s, 1H, OH), 7.18 (d, $^3J = 8.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.33-7.37 (m, 2H, H_{arom}), 7.42 (br t, 1H, CH), 11.42 (br s, 1H, NH).

$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.7 (CH₃), 11.8 (CH₃), 12.7 (CH₃), 19.7 (CH₂), 21.8 (CH₃), 28.5 (CH₂), 34.6 (CH₂), 72.9 (C_{quat}), 73.7 (CH₂), 112.9 (CH_{arom}), 116.7 (C_{quat}), 120.3 (C_{quat}), 120.9 (CH_{arom}), 121.2 (C_{quat}), 122.7 (C_{quat}), 122.9 (C_{quat}), 125.4 (CH_{arom}), 126.5 (C_{quat}), 128.9 (CH), 131.3 (CH_{arom}), 143.9 (C_{quat}), 145.5 (C_{quat}), 157.6 (C_{quat}), 171.9 (C=O), 175.8 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₂₅H₂₇NO₅, ¼ H₂O: C 71.24 %, H 6.46 %, N 3.32 %; measured: C 70.93 %, H 6.55 %, N 3.27 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for C₂₅H₂₇NO₅: 444.1781 [M+Na]⁺, found: 444.1701.

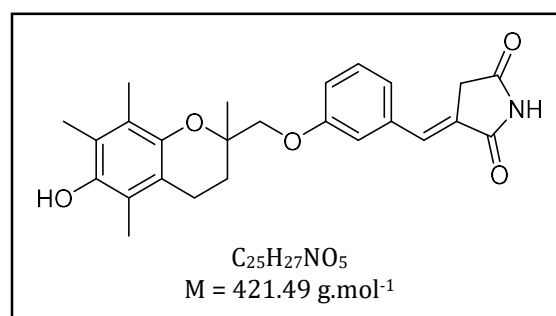
(E)-3-(3-((6-Hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-yl)méthoxy)benzylidène)pyrrolidine-2,5-dione (13e)

Le produit **13e** est préparé selon la procédure décrite à partir du composé protégé **1e** (0.095 g, 0.18 mmol).

Rendement isolé = 74 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 210-212 °C.



FTIR ν (cm⁻¹): 3429, 3167, 3070, 2926, 1759, 1707, 1654, 1598, 1585.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.31 (s, 3H, CH₃), 1.78-1.85 (m, 1H, CH₂), 1.92 (s, 3H, CH₃), 1.97-2.00 (m, 1H, CH₂), 2.03 (s, 6H, CH₃), 2.59 (t, $^3J = 7.16$ Hz, 2H, CH₂), 3.59-3.64 (m, 2H, CH₂CO), 4.04 (s, 2H, OCH₂), 7.04 (dd, $^3J = 8.3$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.16 (br s, 1H, OH), 7.18 (d, $^3J = 8.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.33-7.37 (m, 2H, H_{arom}), 7.42 (br t, 1H, CH), 11.42 (br s, 1H, NH).

$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.7 (CH₃), 11.8 (CH₃), 12.7 (CH₃), 19.8 (CH₂), 21.8 (CH₃), 28.3 (CH₂), 34.7 (CH₂), 72.4 (C_{quat}), 73.8 (CH₂), 115.9 (CH_{arom}), 116.6 (CH_{arom}), 116.7 (C_{quat}), 120.3 (C_{quat}), 121.1 (C_{quat}), 122.6 (CH_{arom}), 122.7 (C_{quat}), 127.2 (C_{quat}), 129.9 (CH_{arom}), 131.5 (CH), 135.5 (C_{quat}), 144.1 (C_{quat}), 145.4 (C_{quat}), 159.1 (C_{quat}), 171.9 (C=O), 175.7 (C=O).

Elemental analysis calculated for $C_{25}H_{27}NO_5$, $\frac{1}{4} H_2O$: C 69.75 %, H 6.56 %, N 3.25 %; measured: C 69.81 %, H 6.42 %, N 3.11 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{25}H_{27}NO_5$: 444.1781 $[M+Na]^+$, found: 444.1830.

(E)-3-((4-((6-Hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-yl)méthoxy)naphthalén-1-yl)méthylène)pyrrolidine-2,5-dione (**14f**)

Le produit **14f** est préparé selon la procédure décrite à partir du composé protégé **2f** (0.036 g, 0.06 mmol).

Rendement isolé = quantitatif.

Aspect : solide jaune amorphe.

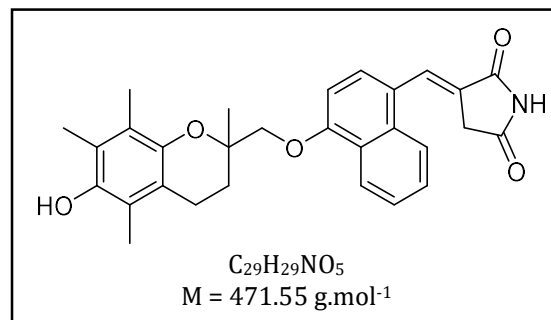
FTIR ν (cm^{-1}): 3197, 2972, 2924, 1749, 1699, 1575, 1508.

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.55 (s, 3H, CH_3), 2.01-2.07 (m, 1H, CH_2), 2.13 (s, 6H, CH_3), 2.17 (s, 3H, CH_3), 2.22-2.29 (m, 1H, CH_2), 2.69-2.74 (m, 2H, CH_2), 3.59 (d, $^4J = 3.1$ Hz, 2H, CH_2CO), 4.15, 4.22 (AB system, $^2J = 9.1$ Hz, 1H, OCH_2), 6.88 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.51 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.57 (td, $^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.64 (td, $^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.12 (br s, 1H, OH), 8.14 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.33-8.37 (m, 2H, CH, H_{arom}).

^{13}C NMR ($DMSO-d_6$, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 11.7 (CH_3), 11.8 (CH_3), 12.7 (CH_3), 19.9 (CH_2), 22.2 (CH_3), 28.7 (CH_2), 34.7 (CH_2), 72.8 (C_{quat}), 73.8 (CH_2), 105.4 (CH_{arom}), 116.9 (C_{quat}), 120.4 (C_{quat}), 121.1 (C_{quat}), 122.2 (CH_{arom}), 122.8 (2 x C_{quat}), 123.1 (CH_{arom}), 125.1 (C_{quat}), 125.9 (CH_{arom}), 126.8 (C_{quat}), 127.7 (2 peaks, CH_{arom}), 128.2 (CH), 132.5 (C_{quat}), 144.2 (C_{quat}), 145.5 (C_{quat}), 155.6 (C_{quat}), 171.9 (C=O), 175.9 (C=O).

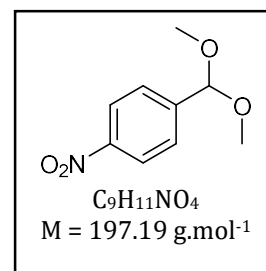
Elemental analysis calculated for $C_{29}H_{29}NO_5$: C 71.91 %, H 9.41 %, N 3.35 %; measured: C 67.04 %, H 6.00 %, N 2.57 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{29}H_{29}NO_5$: 472.2118 $[M+H]^+$, 494.1938 $[M+Na]^+$, found: 472.2142, 494.1933.



1-(Diméthoxyméthyl)-4-nitrobenzène (16)

A une solution de 4-nitrobenzaldéhyde (0.300 g, 2.0 mmol, 1.0 éq) dans MeOH (15 mL) est ajoutée l'APTS (0.040 g, 0.2 mmol, 0.1 éq). Après 3h d'agitation à 30°C, 30 mL de solution saturée de NaHCO₃ sont ajoutés au milieu réactionnel. La phase organique est extraite avec AcOEt (3 x 30 mL) puis séchée avec MgSO₄. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le produit **16** est obtenu sans purification ultérieure.



Rendement isolé = 82%.

Aspect : huile jaune.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ_H (ppm) 3.32 (s, 6H, CH₃), 5.45 (s, 1H, CH), 7.62 (d, ³J = 8.8 Hz, 2H, H_{arom}), 8.20 (d, ³J = 8.8 Hz, 2H, H_{arom}).

Les autres analyses de **16** sont conformes à la littérature.¹⁸¹

Procédure générale pour la préparation des composés **18a-c par la réaction de Knoevenagel**

Un mélange réactionnel constitué du nitrobenzaldéhyde (1.0 éq), de la TZD (1.0 éq) et de β-alanine (1.3 éq) dans l'acide acétique glacial (40 mL) est porté à reflux de 1h à 8h. Après refroidissement, le mélange réactionnel est hydrolysé par ajout d'eau (15 mL), le précipité est alors filtré, lavé à l'eau distillée et séché sous vide. Les composé **18a-c** sont ainsi obtenus sans purification ultérieure (CCM *c*-hexane/AcOEt : 7/3).

(Z)-5-(2-Nitrobenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (18a)

Le produit **18a** est préparé selon la procédure décrite à partir du 2-nitrobenzaldéhyde (1.000 g, 6.6 mmol).

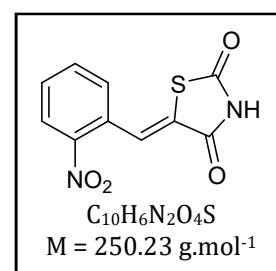
Rendement isolé = 65 %.

Aspect : solide blanc-jaune.

M.p. = 200-202 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3558, 1737, 1705, 1678, 1608, 1556, 1519.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_H (ppm): 7.66-7.76 (m, 2H, H_{arom}), 7.87 (t, ³J = 7.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.99 (s, 1H, CH), 8.19 (d, ³J = 7.5 Hz, 1H, H_{arom}), 12.72 (br s, 1H, NH).



^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_{C} (ppm): 125.4 (CH_{arom}), 128.3 (C_{quat}), 128.4 (CH_{arom}), 128.9 (C_{quat}), 129.2 (CH_{arom}), 131.0 (CH), 134.5 (CH_{arom}), 147.9 (C_{quat}), 166.7 (C=O), 167.6 (C=O).

Elemental analysis calculated for $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C 48.00 %, H 2.42 %, N 11.20 %; measured: C 48.39 %, H 2.48 %, N 11.40 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: 272.9940 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, found: 272.9944.

(Z)-5-(3-Nitrobenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (18b)^{259,260,261}

Le produit **18b** est préparé selon la procédure décrite à partir du 3-nitrobenzaldéhyde (1.500 g, 9.9 mmol).

Rendement isolé = 86 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 208-210 °C.

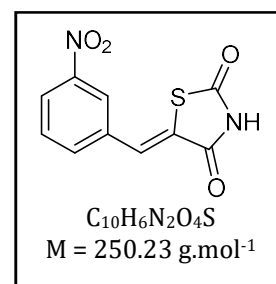
FTIR ν (cm^{-1}): 3672, 1745, 1687, 1606, 1533.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_{H} (ppm): 7.82 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.95 (s, 1H, H_{arom}), 8.02 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.29 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.44 (s, 1H, CH), 12.78 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_{C} (ppm): 124.2 (CH_{arom}), 124.3 (CH_{arom}), 126.5 (C_{quat}), 129.3 (CH_{arom}), 130.8 (CH), 134.7 (C_{quat}), 135.4 (CH_{arom}), 148.1 (C_{quat}), 166.9 (C=O), 167.1 (C=O).

Elemental analysis calculated for $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C 48.00 %, H 2.42 %, N 11.20 %; measured: C 48.46 %, H 2.43 %, N 11.39 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: 251.0121 $[\text{M}+\text{H}]^+$, found: 251.0112.



²⁵⁹ Tomašić, T. *et al.* Structure-Based Design of a New Series of D-Glutamic Acid Based Inhibitors of Bacterial UDP- N -Acetylmuramoyl- L -Alanine: D -Glutamate Ligase (MurD). *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, 54 (13), 4600–4610. doi: 10.1021/jm2002525.

²⁶⁰ Maccari, R. *et al.* Structure–Activity Relationships and Molecular Modelling of New 5-Arylidene-4-Thiazolidinone Derivatives as Aldose Reductase Inhibitors and Potential Anti-Inflammatory Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, 81, 1–14. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.05.003.

²⁶¹ da Silva, I. M. *et al.* Synthesis and Antimicrobial Activities of 5-Arylidene-Thiazolidine-2,4-Dione Derivatives. *BioMed Research International* **2014**, 2014, 1–8. doi: 10.1155/2014/316082.

(Z)-5-(4-Nitrobenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (18c)²⁵⁸⁻²⁶⁰

Le produit **18c** est préparé selon la procédure décrite à partir du 4-nitrobenzaldéhyde (1.500 g, 9.9 mmol).

Rendement isolé = 84 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. >250 °C.

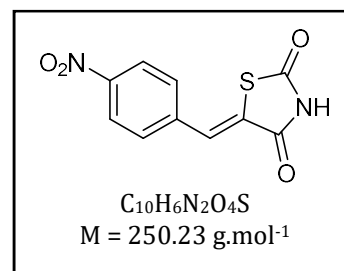
FTIR ν (cm⁻¹): 3667, 2987, 1749, 1714, 1668, 1591.

¹H NMR (DMSO, 400 MHz): δ_{H} (ppm): 7.81 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, H_{arom}), 7.85 (s, 1H, CH), 8.30 (d, ³J = 8.9 Hz 2H, H_{arom}), 12.79 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm): 124.2 (2 x CH_{arom}), 127.9 (C_{quat}), 129.1 (CH), 130.9 (2 x CH_{arom}), 139.3 (C_{quat}), 147.4 (C_{quat}), 166.9 (C=O), 167.3 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₁₀H₆N₂O₄S: C 48.00 %, H 2.42 %, N 11.20 %; measured: C 48.43 %, H 2.43 %, N 11.42 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₀H₆N₂O₄S: 251.0121 [M+H]⁺, found: 251.0115.



Procédure générale pour la préparation des dérivés désoufrés 18d-f

Un mélange réactionnel de nitrobenzaldéhyde (1.0 éq) et d'alkylidène phosphorane **8** (1.0 éq) dans MeOH (10 mL) est agité 2 h à température ambiante. Le précipité formé est filtré et séché sous vide sans purification ultérieure (CCM *c*-hexane/AcOEt : 6/4).

(E)-3-(2-Nitrobenzylidène)pyrrolidine-2,5-dione (18d)

Le produit **18d** est préparé selon la procédure décrite à partir du 2-nitrobenzaldéhyde (1.190 g, 3.3 mmol).

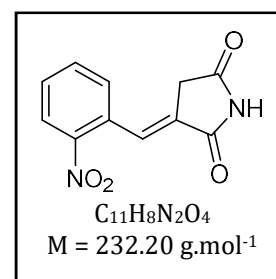
Rendement isolé = 65 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 184-186 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3181, 1752, 1706, 1647, 1509, 1337.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 3.58 (d, ⁴J = 1.5 Hz, 2H, CH₂), 7.61 (br t, 1H, CH), 7.64-7.70 (m, 1H, H_{arom}), 7.78-7.83 (m, 2H, H_{arom}), 8.13 (d, ³J = 7.8 Hz, 1H, H_{arom}), 11.57 (br s, 1H, NH).



^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_c (ppm) 33.8 (CH_2), 124.9 (CH_{arom}), 127.2 (CH_{arom}), 129.1 (C_{quat}), 130.3 (CH), 130.3 (CH_{arom}), 130.7 (C_{quat}), 133.9 (CH_{arom}), 148.4 (C_{quat}), 171.2 ($\text{C}=\text{O}$), 175.5 ($\text{C}=\text{O}$).

Elemental analysis calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4$: C 56.90 %, H 3.47 %, N 12.06 %; measured: C 56.91 %, H 3.42 %, N 12.10 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4$: 255.0376 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, found: 255.0393.

***(E)*-3-(3-Nitrobenzylidène)pyrrolidine-2,5-dione (**18e**)**

Le produit **18e** est préparé selon la procédure décrite à partir du 3-nitrobenzaldéhyde (5.000 g, 33.1 mmol).

Rendement isolé = 95%.

Aspect : solide blanc.

M.p. > 250 °C.

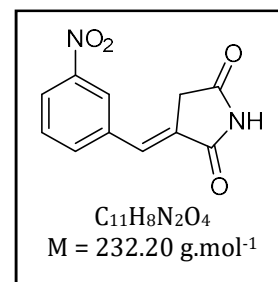
FTIR ν (cm^{-1}): 3124, 3028, 1770, 1699, 1645, 1519.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_{H} (ppm): 3.73 (br d, 2H, CH_2), 7.51 (br t, 1H, CH), 7.74 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.06 (d, $^3J = 7.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.24 (d, $^3J = 7.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.41 (s, 1H, H_{arom}), 11.56 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_c 34.7 (CH_2), 123.9 (CH_{arom}), 124.4 (CH_{arom}), 129.2 (CH_{arom}), 130.1 (C_{quat}), 130.5 (CH), 135.8 (CH_{arom}), 135.9 (C_{quat}), 148.2 (C_{quat}), 171.5 ($\text{C}=\text{O}$), 175.5 ($\text{C}=\text{O}$).

Elemental analysis calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4$: C 56.90 %, H 3.47 %, N 12.06 %; measured: C 56.61 %, H 3.49 %, N 11.96%.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4$: 233.0557 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 255.0376 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, found: 233.0585, 255.0398.



***(E)*-3-(4-Nitrobenzylidène)pyrrolidine-2,5-dione (**18f**)**

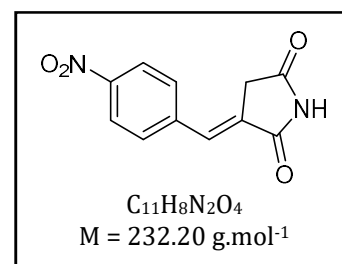
Le produit **18f** est préparé selon la procédure décrite à partir du 4-nitrobenzaldéhyde (2.003 g, 13.2 mmol).

Rendement isolé = 96 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. > 250 °C.

FTIR ν (cm^{-1}): 3184, 1772, 1693, 1651, 1604, 1531, 1340.



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_H (ppm): 3.70 (d, ⁴J = 1.8 Hz, 2H, CH₂), 7.46 (br t, 1H, CH), 7.87 (d, ³J = 8.4 Hz, 2H, H_{arom}), 8.24 (d, ³J = 8.4 Hz, 2H, H_{arom}), 11.59 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_C 34.9 (CH₂), 123.8 (2 x CH_{arom}), 128.9 (CH), 131.1 (2 x CH_{arom}), 131.4 (C_{quat}), 140.6 (C_{quat}), 147.3 (C_{quat}), 171.5 (C=O), 175.5 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₁₁H₈N₂O₄: C 56.90 %, H 3.47 %, N 12.06 %; measured: C 56.91 %, H 3.51 %, N 12.03 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₁H₈N₂O₄: 233.0557 [M+H]⁺, found: 233.0534.

Procédure générale pour la préparation des amines **19a-f**

Le nitrobenzylidène **18a-f** (1.0 éq) et SnCl₂ (5.0 éq) sont mis en suspension dans EtOH absolu (15 mL). Après agitation pendant 1-8h à reflux, 20 mL de NaHCO₃ sont ajoutés au mélange refroidi, et le mélange est laissé sous agitation 1h supplémentaire. Après évaporation de EtOH sous pression réduite, le résidu est extrait avec AcOEt (6 x 20 mL). La phase organique est lavée successivement avec une solution saturée de NaHCO₃ (6 x 30 mL), une solution à 5% d'acide citrique (2 x 20 mL), et une solution saturée de NaCl (20 mL). La phase organique est séchée avec MgSO₄ et le solvant est évaporé sous pression réduite. (CCM *c*-hexane/AcOEt : 6/4). Les produits **19a-f** sont utilisés sans purification ultérieure.

(Z)-5-(2-Aminobenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (**19a**)

Le produit **19a** est préparé selon la procédure décrite à partir du nitrobenzylidène **18a** (0.700 g, 2.8 mmol).

Rendement isolé = 90 %.

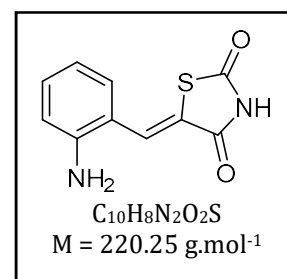
Aspect : solide jaune.

M.p. = 212-214 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3460, 3379, 1726, 1668, 1641.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_H (ppm): 5.78 (br s, 2H, NH₂), 6.63 (t, ³J = 7.4 Hz, 1H, H_{arom}), 6.75 (d, ³J = 8.0 Hz, 1H, H_{arom}), 7.13 (td, ³J = 7.4 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1H, H_{arom}), 7.18 (dd, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1H, H_{arom}), 7.87 (s, 1H, CH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_C (ppm): 116.4 (2 x CH_{arom}), 116.8 (C_{quat}), 121.3 (C_{quat}), 127.7 (CH_{arom}), 128.8 (CH_{arom}), 131.7 (CH), 149.4 (C_{quat}), 167.6 (C=O), 168.5 (C=O).



HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{10}H_8N_2O_2S$: 203.0274 $[M-H_2O+H]^+$, 221.0379 $[M+H]^+$, found: 203.0267, 221.0360.

(Z)-5-(3-Aminobenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (19b)²⁵⁹

Le produit **19b** est préparé selon la procédure décrite à partir du nitrobenzylidène **18b** (0.500 g, 2.0 mmol).

Rendement isolé = 84 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. >250 °C.

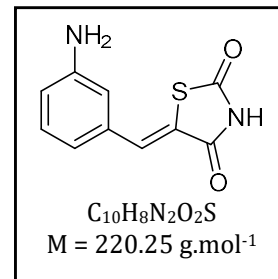
FTIR ν (cm^{-1}): 3458, 3371, 3045, 3012, 1732, 1674, 1633, 1593.

1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_H (ppm) 3.62 (br s, 2H, NH_2), 6.67 (d, $^3J = 7.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.70-6.76 (m, 2H, H_{arom}), 7.15 (t, $^3J = 7.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.58 (s, 1H, CH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_C (ppm) 113.9 (CH_{arom}), 116.2 (CH_{arom}), 118.2 (CH_{arom}), 122.7 (C_{quat}), 129.7 (CH), 132.5 (CH_{arom}), 133.5 (C_{quat}), 149.4 (C_{quat}), 167.9 (C=O), 168.4 (C=O).

Elemental analysis calculated for $C_{10}H_8N_2O_2S$: C 54.53 %, H 3.66 %, N 12.72 %; measured: C 54.86 %, H 3.76 %, N 12.64 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{10}H_8N_2O_2S$: 221.0379 $[M+H]^+$, found: 221.0372.



(Z)-5-(4-Aminobenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (19c)²⁵⁹

Le produit **19c** est préparé selon la procédure décrite à partir du nitrobenzylidène **18c** (0.500 g, 2.0 mmol).

Rendement isolé = 60 %.

Aspect : solide orange.

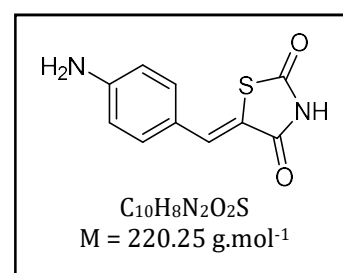
M.p. > 250 °C.

FTIR ν (cm^{-1}): 3466, 3367, 2978, 2945, 1710, 1678, 1626, 1556, 1514.

1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_H (ppm) 6.08 (br s, 2H, NH_2), 6.66 (d, $^3J = 7.8$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.29 (d, $^3J = 7.8$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.59 (s, 1H, CH), 12.27 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_C (ppm) 113.9 (2 x CH_{arom}), 114.9 (C_{quat}), 119.8 (C_{quat}), 132.5 (2 x CH_{arom}), 133.3 (CH), 151.8 (C_{quat}), 167.7 (C=O), 168.3 (C=O).

Elemental analysis calculated for $C_{10}H_8N_2O_2S$: C 54.53 %, H 3.66 %, N 12.72 %; measured: C 54.90 %, H 3.79 %, N 12.62 %.



HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{10}H_8N_2O_2S$: 221.0379 $[M+H]^+$, 243.0199 $[M+Na]^+$, found: 221.0411, 243.0229.

***(E)*-3-(2-Aminobenzylidène)pyrrolidine-2,5-dione (19d)**

Le produit **19d** est préparé selon la procédure décrite à partir du nitrobenzylidène **18d** (0.300 g, 1.3 mmol).

Rendement isolé = 96 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. > 250 °C.

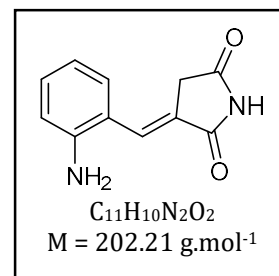
FTIR ν (cm^{-1}): 3446, 3361, 3163, 3061, 1755, 1693, 1633.

1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_H (ppm): δ_H (ppm): 3.54 (d, $^4J = 2.3$ Hz, 2H, CH_2CO), 5.53 (br s, 2H, NH_2), 6.58 (t, $^3J = 7.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.71 (dd, $^3J = 8.0$ Hz, $^4J = 1.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.07 (td, $^3J = 7.7$ Hz, $^4J = 1.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.27 (dd, $^3J = 8.0$ Hz, $^4J = 1.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.52 (t, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, CH), 11.29 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_C 34.9 (CH_2), 116.0 (CH_{arom}), 116.1 (CH_{arom}), 117.8 (C_{quat}), 124.5 (C_{quat}), 128.0 (CH_{arom}), 128.8 (CH_{arom}), 130.7 (CH), 148.8 (C_{quat}), 172.0 (C=O), 175.9 (C=O).

Elemental analysis calculated for $C_{11}H_{10}N_2O_2$, $\frac{1}{4} H_2O$: C 63.91 %, H 5.12 %, N 13.55 %; measured: C 64.12 %, H 5.11 %, N 13.18%.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{11}H_{10}N_2O_2$: 203.0815 $[M+H]^+$, found: 203.0798.



***(E)*-3-(3-Aminobenzylidène)pyrrolidine-2,5-dione (19e)**

Le produit **19e** est préparé selon la procédure décrite à partir du nitrobenzylidène **18e** (2.000 g, 8.6 mmol).

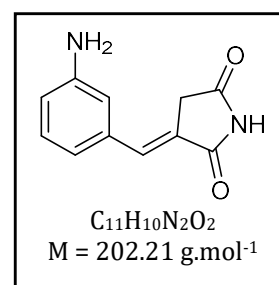
Rendement isolé = 79 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. > 250 °C.

FTIR ν (cm^{-1}): 3456, 3369, 3018, 1759, 1693, 1633, 1599, 1573.

1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_H (ppm): 3.56 (d, $^4J = 2.4$ Hz, 2H, CH_2CO), 5.21 (br s, 2H, NH_2), 6.63 (dd, $^3J = 8.0$ Hz, $^4J = 1.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.73 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.80 (t, $^4J = 1.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.10 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.19 (t, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, CH), 11.37 (br s, 1H, NH).



^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_c 35.0 (CH_2), 114.7 (CH_{arom}), 115.6 (CH_{arom}), 118.4 (CH_{arom}), 125.8 (C_{quat}), 129.4 (CH), 132.4 (CH_{arom}), 134.6 (C_{quat}), 149.1 (C_{quat}), 172.1 ($\text{C}=\text{O}$), 175.8 ($\text{C}=\text{O}$).

Elemental analysis calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \frac{1}{4} \text{H}_2\text{O}$: C 63.91 %, H 5.12 %, N 13.55 %; measured: C 64.12 %, H 5.11 %, N 13.18 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$: 203.0815 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 225.0634 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, found: 203.0810, 225.0623.

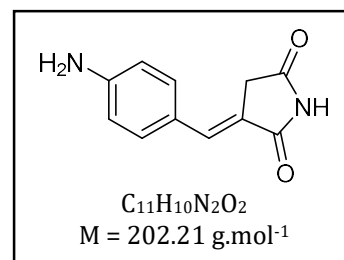
***(E)*-3-(4-Aminobenzylidène)pyrrolidine-2,5-dione (**19f**)**

Le produit **19f** est préparé selon la procédure décrite à partir du nitrobenzylidène **18f** (0.300 g, 1.3 mmol).

Rendement isolé = 47%.

Aspect : solide orange.

M.p. > 250 °C.



FTIR ν (cm^{-1}): 3466, 3367, 3034, 1741, 1689, 1625, 1589, 1512.

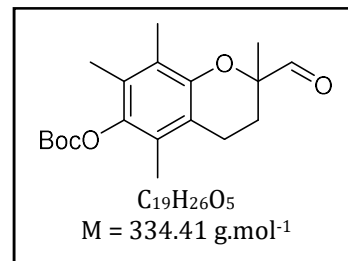
^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_{H} (ppm) 3.52 (d, $^4J = 2.0$ Hz, 2H, CH_2CO), 5.81 (br s, 2H, NH_2), 6.61 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.20 (t, $^4J = 2.0$ Hz, 1H, CH), 7.30 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 2H, H_{arom}), 11.16 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_c (ppm) 34.9 (CH_2), 113.7 (2 x CH_{arom}), 119.4 (C_{quat}), 121.5 (C_{quat}), 132.2 (2 x CH_{arom}), 132.8 (CH), 150.9 (C_{quat}), 172.4 ($\text{C}=\text{O}$), 176.0 ($\text{C}=\text{O}$).

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$: 203.0815 $[\text{M}+\text{H}]^+$, found: 203.0816.

Carbonate de tert-butyle et de (2-formyl-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (15)

A une solution de chlorure d'oxalyle (0.47 mL, 5.5 mmol, 1.1 éq) dans CH_2Cl_2 anhydre (20 mL), à -60°C , sont ajoutés le DMSO (0.78 mL, 11.0 mmol, 2.2 éq) puis l'alcool **4** (1.180 g, 5.0 mmol, 1.0 éq) en solution dans CH_2Cl_2 . Après 15 min d'agitation à -60°C , Et_3N (3.5 mL, 25.0 mmol, 5.0 éq) est



ajoutée et le mélange est laissé sous agitation 10 min supplémentaires à -60°C . 20 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel à température ambiante. La phase aqueuse est extraite avec CH_2Cl_2 (3 x 20 mL) et la phase organique est successivement lavée avec une solution aqueuse saturée de NH_4Cl (2 x 30 mL), de l'eau (2 x 30 mL), une solution aqueuse

de Na₂CO₃ 1M (2 x 20 mL) et de l'eau (2 x 20 mL). Enfin la phase organique est séchée avec MgSO₄ et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit **15** est obtenu après purification par chromatographie sur colonne de silice (éluant : *n*-hexane/ AcOEt : 9/1).

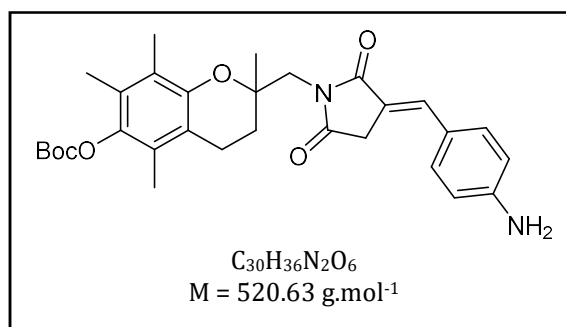
Rendement isolé = 90%

Aspect : solide blanc

Les analyses de **15** sont conformes à celles reportées dans la littérature.¹⁶⁸

Cabonate de tert-butyle et de (E)-(2-((3-(4-aminobenzylidène)-2,5-dioxopyrrolidin-1-yle)méthyle)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (20)

A une solution de pyridine (0.57 mL, 7.0 mmol, 7.0 éq) dans CH₂Cl₂ anhydre (15 mL) à 0°C sont ajoutés l'anhydride triflique (0.25 mL, 1.5 mmol, 1.5 éq), puis l'alcool **4** (0.336 g, 1.0 mmol, 1.0 éq) en solution dans CH₂Cl₂ anhydre (15 mL). Après 30 minutes



d'agitation à température ambiante, le résidu obtenu après évaporation des solvants est dissous dans AcOEt (30 mL), puis lavé avec une solution aqueuse à 5% de NaHCO₃ (2 x 20 mL), puis avec une solution aqueuse saturée de NaCl (30 mL). Les phases organiques sont séchées avec MgSO₄. Après évaporation du solvant, le triflate attendu est obtenu avec un rendement quantitatif (CCM : *n*-hexane/AcOEt : 8/2), et est mis en jeu dans la réaction suivante sans purification ultérieure. A la solution de ce triflate (1.0 éq) dans le DMF anhydre (7 mL) sont ajoutés K₂CO₃ (0.276 g, 2.0 mmol, 2.0 éq) et l'aminobenzaldéhyde **19f** (0.222 g, 1.1 mmol, 1.1 éq). Le mélange est laissé sous agitation à TA, 2 jours. La réaction est suivie par CCM (*n*-hexane/AcOEt : 6/4). Après hydrolyse (20 mL) et extraction avec AcOEt (3 x 20 mL), la phase organique est lavée avec une solution aqueuse à 5% de NaHCO₃ (2 x 20 mL), puis une solution aqueuse saturée de NaCl (20 mL), puis avec H₂O (20 mL). La phase organique est ensuite séchée (MgSO₄) et les solvants sont évaporés sous vide. Le produit **20** est obtenu après purification par chromatographie sur colonne de silice (éluant *c*-hexane/AcOEt 9/1 et augmentation AcOEt jusqu'à 7/3 en 1h).

Rendement isolé = 11%.

Aspect : solide orangé.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.26 (s, 3H, CH₃), 1.54 (s, 9H, *t*-Bu), 1.82-1.85 (m, 2H, CH₂), 2.02 (s, 3H, CH₃), 2.06 (s, 3H, CH₃), 2.08 (s, 3H, CH₃), 2.55-2.64 (m, 1H, CH₂), 2.71-

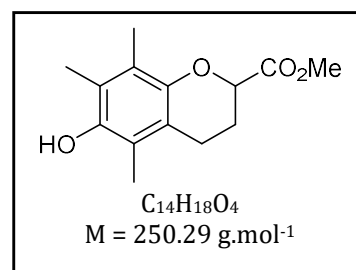
2.77 (m, 1H, CH₂), 3.53 (d, ⁴J = 1.7 Hz, 2H, CH₂CO), 3.82, 3.92 (AB system, ²J = 13.6 Hz, 2H, CH₂N), 6.85 (d, ³J = 8.4 Hz, 2H, H_{arom}), 7.35 (d, ³J = 8.4 Hz, 2H, H_{arom}), 7.53 (br t, 1H, CH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_c (ppm) 12.0 (2 x CH₃), 12.8 (CH₃), 20.3 (CH₂), 22.5 (CH₃), 27.8 ((CH₃)₃C), 29.7 (CH₂), 34.4 (CH₂), 46.8 (CH₂), 75.6 (C_{quat}), 82.9 (C_{quat}), 116.3 (2 x CH_{arom}), 116.9 (C_{quat}), 120.0 (C_{quat}), 123.6 (C_{quat}), 125.4 (C_{quat}), 127.4 (C_{quat}), 132.3 (2 x CH_{arom}), 134.6 (CH), 141.4 (C_{quat}), 146.1 (C_{quat}), 148.9 (C_{quat}), 152.5 (C=O), 171.7 (C=O), 174.5 (C=O).

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₃₀H₃₆N₂O₆: 521.2646 [M+H]⁺, 543.2466 [M+Na]⁺, 559.2205 [M+K]⁺ found: 521.2608, 543.2515, 559.2175.

6-Hydroxy-5,7,8-triméthylchromane-2-carboxylate de méthyle (21)

Un mélange constitué de 1,4-dihydroxy-2,3,5-triméthylbenzène (10.0 g, 66 mmol, 1.0 éq), de formaldéhyde (4.14 g, 138 mmol, 2.1 éq), d'acrylate de méthyle (30.0 mL, 28.3 g, 330 mmol, 5.0 éq) et d'eau distillée (3.0 mL, 0.2 mmol, 0.003 éq) dans un réacteur fermé (en acier résistant à la



pression) est agité à 180°C pendant 3h. Après être revenu à température ambiante, le mélange réactionnel est transféré dans un ballon et le réacteur est lavé avec AcOEt (100 mL). Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit **21** est obtenu par précipitation dans Et₂O. (CCM *c*-hexane/ AcOEt : 9/1).

Rendement isolé = 52 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 144-146 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3502, 2939, 1741, 1436.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.15 (s, 3H, CH₃), 2.16 (s, 3H, CH₃), 2.24-2.29 (m, 2H, CH₂), 2.62-2.68 (m, 2H, CH₂), 3.65 (br s, 1H, OH), 3.76 (s, 3H, COOCH₃), 4.60-4.63 (m, 1H, CH).

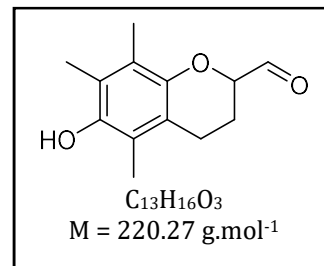
¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_c (ppm) 11.3 (CH₃), 11.9 (CH₃), 12.3 (CH₃), 21.9 (CH₂), 25.1 (CH₂), 52.3 (CH₃), 73.3 (CH), 117.6 (C_{quat}), 118.8 (C_{quat}), 121.5 (C_{quat}), 122.7 (C_{quat}), 145.5 (C_{quat}), 145.6 (C_{quat}), 171.9 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₁₄H₁₈O₄, ½ H₂O: C 64.85 %, H 7.39 %; measured: C 65.00 %, H 7.18 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{14}H_{18}O_4$: 251.1278 $[M+H]^+$, 268.1543 $[M+NH_4]^+$, 273.1097 $[M+Na]^+$ found: 251.1276, 268.1547, 273.1173.

6-Hydroxy-5,7,8-triméthylchromane-2-carbaldéhyde (22)

A une solution d'ester **21** (0.500 g, 2.0 mmol, 1.0 éq) dans le THF (10 mL) à -80°C est ajouté goutte à goutte le DIBAL-H en solution dans le toluène (1.0 M, 4.0 mL, 2.0 éq). Après 2h d'agitation à -80°C , la réaction est arrêtée par ajout d'eau (20 mL). Le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu



est repris dans AcOEt (20 mL). La phase organique est lavée successivement avec une solution de HCl 1M (20 mL) et une solution saturée de NaCl (20 mL). La phase organique est séchée avec $MgSO_4$ et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit **22** est obtenu après purification par chromatographie sur colonne de silice (éluant *c*-hexane/AcOEt : 10/0 et augmentation AcOEt jusqu'à 8/2 en 1 h).

Rendement isolé = 67 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 114-116 $^\circ\text{C}$.

FTIR ν (cm^{-1}): 3321, 2922, 2850, 1741, 1456.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ_{H} (ppm) 2.01-2.07 (m, 1H, CH_2), 2.09 (s, 3H, CH_3), 2.19 (s, 3H, CH_3), 2.21 (s, 3H, CH_3), 2.23-2.24 (m, 1H, CH_2), 2.67 (t, $^3J = 6.7 \text{ Hz}$, 2H, CH_2), 4.33 (br s, 1H, OH), 4.35-4.40 (m, 1H, CH), 9.84 (s, 1H, CHO).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.3 (CH_3), 11.9 (CH_3), 12.3 (CH_3), 21.8 (CH_2), 23.1 (CH_2), 78.9 (CH), 118.1 (C_{quat}), 118.9 (C_{quat}), 121.7 (C_{quat}), 122.8 (C_{quat}), 145.5 (C_{quat}), 145.9 (C_{quat}), 202.8 (CHO).

Elemental analysis calculated for $C_{13}H_{16}O_3$: C 70.89 %, H 7.32 %; measured: C 70.55 %, H 7.67 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{13}H_{16}O_3$: 221.1172 $[M+H]^+$, 243.0992 $[M+Na]^+$, found: 221.1184, 243.0973.

Procédure générale pour la préparation des composés 3b-f

A une solution d'aldéhyde **15** (1.0 éq) dans le méthanol (10 mL) sont ajoutés l'amine primaire **19b-f** (1.0 éq), AcOH (1.0 éq) et NaBH_3CN (1.0 éq). Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante jusqu'à disparition complète du substrat. Puis MeOH

est évaporé et le résidu est dissous dans AcOEt (20 mL). La phase organique est lavée successivement avec une solution saturée de NaHCO₃ (3 x 20 mL) et une solution saturée de NaCl (20 mL), puis séchée avec MgSO₄ et le solvant est évaporé sous pression réduite (CCM *c*-hexane/AcOEt : 6/4). Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant *c*-hexane/AcOEt : 9 / 1 et augmentation progressive de AcOEt jusqu'à 6/4 en 1h).

Carbonate de tert-butyle et de (Z)-2-(((3-((2,4-dioxothiazolidin-5-ylidène)méthyl)phényl)amino)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (3b)

Le produit **3b** est obtenu selon la procédure décrite à partir de l'aldéhyde **15** (0.500 g, 1.5 mmol) et de l'amine **19b** (0.330 g, 1.5 mmol).

Rendement isolé = 37 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 108-110 °C.

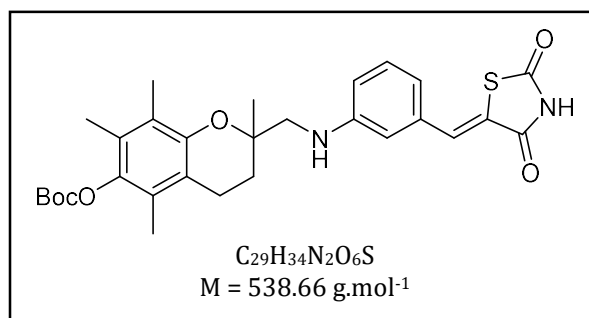
FTIR ν (cm⁻¹): 3392, 2976, 2926, 1743, 1699, 1600, 1577.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.32 (s, 3H, CH₃), 1.56 (s, 9H, *t*-Bu), 1.77-1.86 (m, 1H, CH₂), 1.96-2.03 (m, 1H, CH₂), 2.05 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 6H, CH₃), 2.63-2.73 (m, 2H, CH₂), 3.29 (s, 2H, NCH₂), 4.20 (br s, 1H, NH), 6.65-6.73 (m, 2H, H_{arom}), 6.82 (d, ³J = 7.4 Hz, 1H, H_{arom}), 7.23 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H_{arom}), 7.69 (s, 1H, CH), 8.97 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 12.0 (CH₃), 12.1 (CH₃), 12.8 (CH₃), 20.3 (CH₂), 22.4 (CH₃), 27.8 ((CH₃)₃C), 29.3 (CH₂), 52.3 (CH₂), 75.2 (C_{quat}), 83.0 (C_{quat}), 113.7 (CH_{arom}), 116.0 (CH_{arom}), 117.3 (C_{quat}), 119.5 (CH_{arom}), 121.9 (C_{quat}), 123.2 (C_{quat}), 125.8 (C_{quat}), 127.6 (C_{quat}), 130.1 (CH), 133.9 (C_{quat}), 135.4 (CH_{arom}), 141.5 (C_{quat}), 148.7 (C_{quat}), 149.3 (C_{quat}), 152.5 (C=O), 166.9 (C=O), 167.6 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₂₉H₃₄N₂O₆S. ¼ H₂O: C 64.13 %, H 6.40 %, N 5.16 %; measured: C 64.12 %, H 6.55 %, N 4.79 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₂₉H₃₄N₂O₆S: 539.2210 [M+H]⁺, 561.2030 [M+Na]⁺, found: 539.2187, 561.2082.



Carbonate de tert-butyle et de (Z)- (2-(((4-((2,4-dioxothiazolidin-5-ylidène)méthyl)phényl)amino)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (3c)

Le produit **3c** est obtenu selon la procédure décrite à partir de l'aldéhyde **15** (0.500 g, 1.5 mmol) et de l'amine **19c** (0.330 g, 1.5 mmol).

Rendement isolé = 27 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. > 250 °C.

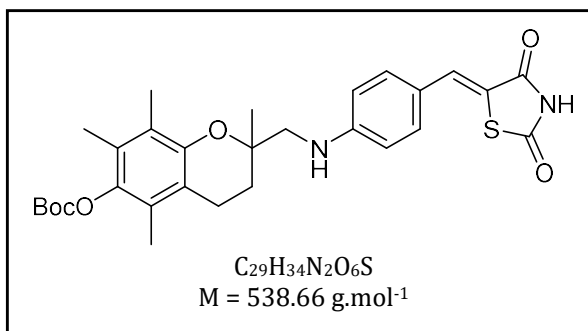
FTIR ν (cm⁻¹): 3365, 2922, 1716, 1681, 1610, 1552, 1525.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.23 (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 1.77-1.86 (m, 1H, CH₂), 1.94 (s, 10H, CH₃, CH₂), 2.55-2.72 (m, 2H, CH₂), 3.33 (s, 2H, NCH₂), 6.69 (br s, 1H, NH), 6.79 (d, ³*J* = 8.9 Hz, 2H, *H*_{arom}), 7.29 (d, ³*J* = 8.9 Hz, 2H, *H*_{arom}), 7.60 (s, 1H, CH), 12.26 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.6 (CH₃), 11.7 (CH₃), 12.4 (CH₃), 19.6 (CH₂), 21.8 (CH₃), 27.2 ((CH₃)₃C), 28.3 (CH₂), 50.1 (CH₂), 75.9 (C_{quat}), 82.4 (C_{quat}), 112.5 (2 x CH_{arom}), 114.8 (C_{quat}), 117.3 (C_{quat}), 119.8 (C_{quat}), 122.3 (C_{quat}), 124.9 (C_{quat}), 126.5 (C_{quat}), 132.2 (CH), 133.2 (2 x CH_{arom}), 140.6 (C_{quat}), 148.5 (C_{quat}), 151.5 (C_{quat}), 151.7 (C=O), 167.6 (C=O), 168.2 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₂₉H₃₄N₂O₆S, 2/3 H₂O: C 63.25 %, H 6.47 %, N 5.09 %; measured: C 63.17 %, H 6.22 %, N 5.29 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₂₉H₃₄N₂O₆S: 539.2210 [M+H]⁺, found: 539.2211.



Carbonate de tert-butyle et de (E)- (2-(((2-((2,5-dioxopyrrolidin-3-ylidène)méthyl)phényl)amino)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (3d)

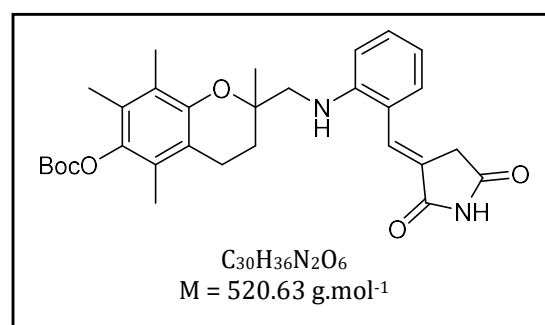
Le produit **3d** est obtenu selon la procédure décrite à partir de l'aldéhyde **15** (0.250 g, 0.7 mmol) et de l'amine **19d** (0.150 g, 0.7 mmol).

Rendement isolé = 36%.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 140-142 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3439, 3413, 2923, 1752, 1702, 1459.



¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.35 (s, 3H, CH₃), 1.55 (s, 9H, *t*-Bu), 1.65-1.71 (m, 1H, CH₂), 1.81-1.90 (m, 1H, CH₂), 2.04 (s, 3H, CH₃), 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃), 2.64-2.72 (m, 2H, CH₂), 3.33 (br d, ³*J* = 4.3 Hz, 2H, CH₂N), 3.47, 3.54 (AB part of an ABX system, ²*J* = 21.9 Hz, ⁴*J* = 2.3 Hz, 2H, CH₂CO), 3.51 (d, ⁴*J* = 2.3 Hz, 1H, CH₂CO), 4.38 (br s, 1H, NH), 6.75 (m, 2H, *H*_{arom}), 7.19 (dd, ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.26 (td, ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.67 (X part of an ABX system, ⁴*J* = 2.3 Hz, 1H, CH), 8.49 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 11.9 (CH₃), 12.0 (CH₃), 12.8 (CH₃), 20.3 (CH₂), 22.6 (CH₃), 27.8 ((CH₃)₃C), 29.8 (CH₂), 34.9 (CH₂), 52.3 (CH₂), 75.1 (C_{quat}), 83.0 (C_{quat}), 112.1 (CH_{arom}), 117.2 (C_{quat}), 117.3 (CH_{arom}), 119.3 (C_{quat}), 123.3 (C_{quat}), 125.6 (2 x C_{quat}), 127.7 (C_{quat}), 128.8 (CH_{arom}), 130.1 (CH_{arom}), 131.6 (CH), 141.6 (C_{quat}), 147.6 (C_{quat}), 148.6 (C_{quat}), 152.4 (C=O), 170.5 (C=O), 174.3 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₃₀H₃₆N₂O₆, ¼ H₂O: C 68.62 %, H 7.01 %, N 5.33%; measured: C 68.55 %, H 7.13 %, N 5.06 % (0.25 H₂O).

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₃₀H₃₆N₂O₆: 521.2646 [M+H]⁺, 543.2466 [M+Na]⁺, found: 521.2636, 543.2467.

Carbonate de tert-butyle et de (E)-(2-(((3-((2,5-dioxopyrrolidin-3-ylidène)méthyl)phényl)amino)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (3e)

Le produit **3e** est obtenu selon la procédure décrite à partir de l'aldéhyde **15** (0.500 g, 1.5 mmol) et de l'amine **19e** (0.300 g, 1.5 mmol).

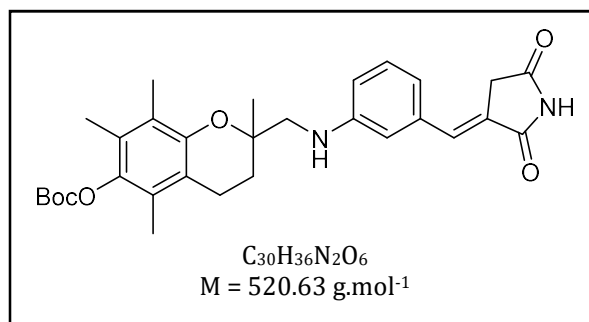
Rendement isolé = 23 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 134-136 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3394, 2974, 2926, 1749, 1699, 1633, 1600, 1579.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.33 (s, 3H, CH₃), 1.55 (s, 9H, *t*-Bu), 1.78-1.84 (m, 1H, CH₂), 1.99-2.04 (m, 1H, CH₂), 2.05 (s, 3H, CH₃), 2.08 (s, 6H, CH₃), 2.66-2.72 (m, 2H, CH₂), 3.30 (br s, 2H, CH₂N), 3.55, 3.62 (AB part of an ABX system, ²*J* = 21.8 Hz, ⁴*J* = 2.3 Hz, 2H, CH₂CO), 4.15 (br s, 1H, NH), 6.67-6.69 (m, 1H, *H*_{arom}), 6.70 (dd, ³*J* = 7.8 Hz, ⁴*J* = 1.8 Hz, 1H, *H*_{arom}), 6.81 (d, ³*J* = 7.8 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.23 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.52 (X part of an ABX system, ⁴*J* = 2.3 Hz, 1H, CH), 8.07 (br s, 1H, NH).



^{13}C NMR (CDCl_3 , 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 12.0 (CH_3), 12.1 (CH_3), 12.8 (CH_3), 20.3 (CH_2), 22.5 (CH_3), 27.8 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 29.4 (CH_2), 35.3 (CH_2), 52.2 (CH_2), 75.2 (C_{quat}), 82.9 (C_{quat}), 114.2 (CH_{arom}), 115.5 (CH_{arom}), 117.2 (2 x C_{quat}), 119.3 (CH_{arom}), 123.2 (C_{quat}), 123.7 (C_{quat}), 125.7 (C_{quat}), 130.0 (CH), 134.9 (2 x C_{quat}), 136.2 (CH_{arom}), 148.8 (C_{quat}), 149.2 (C_{quat}), 152.4 ($\text{C}=\text{O}$), 170.9 ($\text{C}=\text{O}$), 174.0 ($\text{C}=\text{O}$).

Elemental analysis calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6$, $\frac{1}{4} \text{H}_2\text{O}$: C 68.62 %, H 7.01 %, N 5.33 %; measured: C 68.59 %, H 6.97 %, N 5.49 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6$: 543.2466 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, found: 543.2430.

Carbonate de tert-butyle et de (E)- (2-(((4-((2,5-dioxopyrrolidin-3-ylidène)méthyl)phényl)amino)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (3f)

Le produit **3f** est obtenu selon la procédure décrite à partir de l'aldéhyde **15** (0.165 g, 0.5 mmol) et de l'amine **19f** (0.100 g, 0.5 mmol).

Rendement isolé = 22 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 220-222 °C.

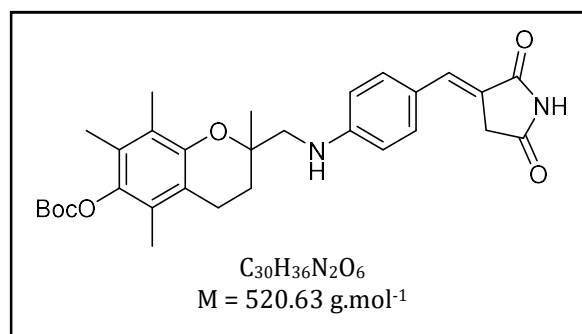
FTIR ν (cm^{-1}): 3369, 2918, 1749, 1710, 1639, 1587, 1523.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.31 (s, 3H, CH_3), 1.55 (s, 9H, $t\text{-Bu}$), 1.77-1.83 (m, 1H, CH_2), 1.96-2.02 (m, 1H, CH_2), 2.04 (s, 3H, CH_3), 2.09 (s, 6H, CH_3), 2.68 (m, 2H, CH_2), 3.35 (s, 2H, CH_2N), 3.54 (d, $^4J = 1.9$ Hz, 2H, CH_2CO), 4.52 (br s, 1H, NH), 6.65 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.31 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.49 (br t, 1H, CH), 8.42 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 12.0 (CH_3), 12.1 (CH_3), 12.8 (CH_3), 20.3 (CH_2), 22.3 (CH_3), 27.8 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 29.2 (CH_2), 35.5 (CH_2), 51.8 (CH_2), 75.1 (C_{quat}), 83.0 (C_{quat}), 113.0 (2 x CH_{arom}), 117.2 (C_{quat}), 118.3 (C_{quat}), 123.0 (C_{quat}), 123.2 (C_{quat}), 125.7 (C_{quat}), 127.7 (C_{quat}), 132.6 (2 x CH_{arom}), 135.7 (CH), 141.6 (C_{quat}), 148.7 (C_{quat}), 150.5 (C_{quat}), 152.4 ($\text{C}=\text{O}$), 171.8 ($\text{C}=\text{O}$), 174.8 ($\text{C}=\text{O}$).

Elemental analysis calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6$: C 69.21 %, H 6.97 %, N 5.38 %; measured: C 69.02 %, H 6.61 %, N 5.27%.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6$: 521.2646 $[\text{M}+\text{H}]^+$, found: 521.2628.



(Z)-5-(3-((4-Méthoxybenzyl)amino)benzylidène)thiazolidine-2,4-dione (23)

Le produit **23** est obtenu selon la procédure décrite à partir du *p*-méthoxybenzaldéhyde (0.067 g, 0.5 mmol) et de l'amine **19b** (0.100 g, 0.5 mmol). Il est isolé par précipitation dans CH₂Cl₂.

Rendement isolé = 79 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 210-212 °C.

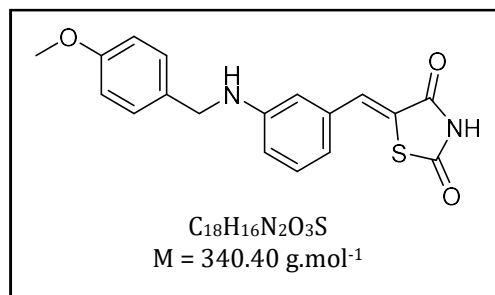
FTIR ν (cm⁻¹): 3337, 3124, 3014, 2954, 2833, 2763, 1739, 1681, 1597, 1573.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 3.72 (s, 3H, CH₃), 4.23 (d, ³*J* = 5.4 Hz, 2H, CH₂), 6.53 (t, ³*J* = 5.4 Hz, 1H, NH), 6.69-6.74 (m, 3H, H_{arom}, NH), 6.89 (d, ³*J* = 8.7 Hz, 2H, H_{arom}), 7.18 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H, H_{arom}), 7.28 (d, ³*J* = 8.7 Hz, 2H, H_{arom}), 7.59 (s, 1H, CH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} 45.7 (CH₂), 55.0 (CH₃), 112.4 (CH_{arom}), 113.8 (2 x CH_{arom}), 115.0 (CH_{arom}), 118.1 (CH_{arom}), 122.6 (C_{quat}), 128.1 (2 x CH_{arom}), 129.7 (CH), 131.4 (C_{quat}), 132.8 (CH_{arom}), 133.5 (C_{quat}), 149.2 (C_{quat}), 158.2 (C_{quat}), 167.5 (C=O), 168.2 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₁₈H₁₆N₂O₃S: C 63.51 %, H 4.74 %, N 8.23 %; measured: C 63.67 %, H 4.82 %, N 8.15 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₈H₁₆N₂O₃S: 341.0954 [M+H]⁺, 363.0774 [M+Na]⁺, 379.0513 [M+K]⁺, found: 341.0909, 363.0765, 379.0491.

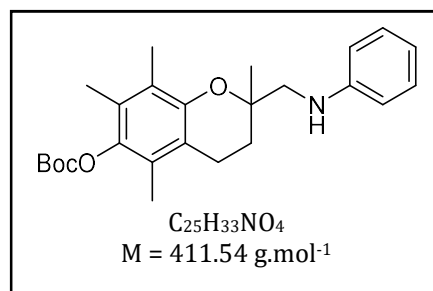
**Carbonate de tert-butyle et de (2,5,7,8-tétraméthyl-2-((phénylamino)méthyl)chroman-6-yle) (24)**

Le produit **24** est obtenu selon la procédure décrite à partir de l'aldéhyde **15** (0.200 g, 0.6 mmol) et de l'aniline (0.06 mL, 0.06 g, 0.6 mmol).

Rendement isolé = 39 %.

Aspect : huile marron.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.32 (s, 3H, CH₃), 1.56 (s, 9H, *t*-Bu), 1.77-1.83 (m, 1H, CH₂), 1.99-2.02 (m, 1H, CH₂), 2.05 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃), 2.67 (m, 2H, CH₂), 3.30 (d, ³*J* = 2.7 Hz, 2H, NCH₂), 4.27 (br s, 1H, NH), 6.67 (d, ³*J* = 7.1 Hz, 2H, H_{arom}), 6.71 (t, ³*J* = 7.1 Hz, 1H, H_{arom}), 7.18 (t, ³*J* = 7.1 Hz, 2H, H_{arom}).



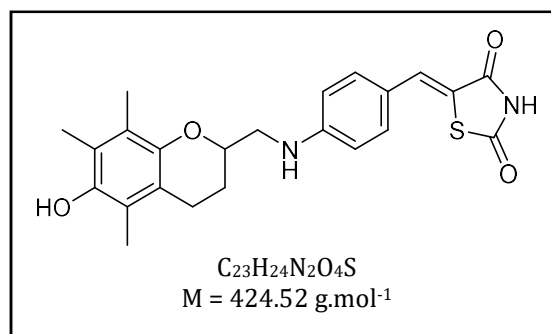
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_{C} 11.9 (CH₃), 12.0 (CH₃), 12.8 (CH₃), 20.4 (CH₂), 22.4 (CH₃), 27.8 ((CH₃)₃C), 29.3 (CH₂), 52.8 (CH₂), 75.3 (C_{quat}), 82.9 (C_{quat}), 113.3 (2 x CH_{arom}), 117.3 (C_{quat}), 117.7 (CH_{arom}), 123.1 (C_{quat}), 125.6 (C_{quat}), 127.4 (C_{quat}), 129.4 (2 x CH_{arom}), 141.4 (C_{quat}), 148.6 (C_{quat}), 148.8 (C_{quat}), 152.4 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₂₅H₃₃N₄O₄: C 72.96 %, H 8.08 %, N 3.40 %; measured: C 73.18 %, H 8.24 %, N 3.20 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for C₂₅H₃₃N₄O₄: 412.2482 [M+H]⁺, 434.2302 [M+Na]⁺, found: 412.2491, 434.2314.

(Z)-5-(4-(((6-Hydroxy-5,7,8-triméthylchroman-2-yl)méthyl)amino)benzylidène)thiazolidine-2,4-dione (25)

A une solution d'aldéhyde **22** (0.080 g, 0.4 mmol, 1.0 éq) dans MeOH (10 mL) sont ajoutés l'amine primaire **19d** (0.073 g, 0.4 mmol, 1.0 éq), AcOH (0.05 mL, 0.9 mmol, 2.0 éq) et NaBH₃CN (0.025 g, 0.4 mmol, 1.0 éq). Après 1h sous agitation à TA, le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est dissous dans



AcOEt (20 mL). La phase organique est lavée successivement avec une solution saturée de NaHCO₃ (3 x 20 mL) et une solution saturée de NaCl (20 mL), puis séchée avec MgSO₄ et le solvant est évaporé sous pression réduite (CCM *c*-hexane/AcOEt : 6/4). Le produit **25** est obtenu après purification par chromatographie sur colonne de silice (éluant *c*-hexane/AcOEt : 9/1 et augmentation progressive de AcOEt jusqu'à 6/4 en 1h).

Rendement isolé = 38 %.

Aspect : solide orange.

M.p. > 250 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3381, 2999, 2918, 2791, 1722, 1687, 1614, 1564, 1533.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.63-1.68 (m, 1H, CH₂), 1.97 (s, 3H, CH₃), 1.99 (s, 3H, CH₃), 2.03 (s, 3H, CH₃), 2.07 (br s, 1H, OH), 2.56-2.62 (m, 1H, CH₂), 3.30-3.42 (m, 4H, CH₂, CH₂N), 3.91-3.99 (m, 1H, OCH), 6.79 (d, 3J = 8.7 Hz, 2H, H_{arom}), 7.33 (d, 3J = 8.7 Hz, 2H, H_{arom}), 7.43 (br s, 1H, NH), 7.61 (s, 1H, CH), 12.29 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.8 (2 x CH₃), 12.7 (CH₃), 22.3 (CH₂), 25.2 (CH₂), 46.6 (CH₂), 73.3 (OCH), 112.4 (2 x CH_{arom}), 115.1 (C_{quat}), 117.5 (C_{quat}), 119.9 (C_{quat}),

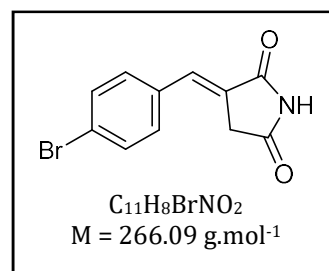
120.5 (C_{quat}), 120.8 (C_{quat}), 122.5 (C_{quat}), 132.4 (CH), 133.1 (2 x CH_{arom}), 145.6 (C_{quat}), 145.7 (C_{quat}), 151.3 (C_{quat}) 167.8 (C=O), 168.3 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₂₃H₂₄N₂O₄S, 1/3 H₂O: C 64.17 %, H 5.78 %, N 6.51%; measured: C 64.07 %, H 5.60 %, N 6.58 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₂₃H₂₄N₂O₄S: 425.1530 [M+H]⁺, found: 425.1546.

(E)-3-(4-Bromobenzylidène)pyrrolidine-2,5-dione (27)

Un mélange réactionnel de 4-bromobenzaldéhyde (0.500 g, 2.7 mmol, 1.0 éq) et d'alkylidène phosphorane **8** (0.972 g, 2.7 mmol, 1.0 éq) dans MeOH (10 mL) est agité 2 h à TA. Le produit **27** précipité est filtré et séché sous vide sans purification ultérieure (CCM : *c*-hexane/AcOEt : 8/2).



Rendement isolé = 90 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. > 250 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3068, 1755, 1693, 1651, 1581, 1487.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ _H (ppm) 3.62 (d, ⁴*J* = 2.3 Hz, 2H, CH₂), 7.35 (t, ⁴*J* = 2.3 Hz, 1H, CH), 7.57 (d, ³*J* = 8.3 Hz, 2H, H_{arom}), 7.66 (d, ³*J* = 8.3 Hz, 2H, H_{arom}), 11.46 (br s, 1H, NH).

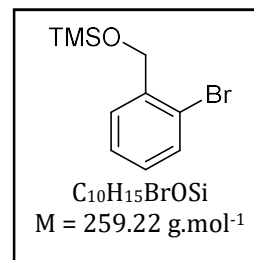
¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ _C 34.7 (CH₂), 123.1 (C_{quat}), 127.9 (C_{quat}), 130.2 (CH), 131.8 (2 x CH_{arom}), 132.0 (2 x CH_{arom}), 133.4 (C_{quat}), 171.8 (C=O), 175.6 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₁₁H₈BrNO₂: C 49.65 %, H 3.03 %, N 5.26 %; measured: C 49.82 %, H 3.05 %, N 5.18 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₁H₈BrNO₂: 265.9811 [M+H]⁺, 287.9631 [M+Na]⁺, found: 265.9785, 287.9581.

((2-Bromobenzyl)oxy)triméthylsilane (29b)

A une solution d'alcool 2-bromobenzyle (2.000 g, 10.7 mmol, 1.0 éq) et de Et₃N (1.94 mL, 13.9 mmol, 1.3 éq) dans le THF sec (40 mL) est ajouté goutte à goutte le chlorure de triméthylsilane (TMSCl, 1.76 mL, 13.9 mmol, 1.3 éq). Après 30 min d'agitation à TA, 20 mL d'eau sont ajoutés. La phase aqueuse est extraite avec AcOEt (3 x 20 mL) et la phase organique est séchée avec MgSO₄. Le solvant est évaporé sous pression réduite



pour conduire au produit attendu **29b** sans purification ultérieure (CCM *c*-hexane/AcOEt : 98/2).

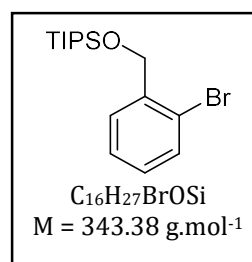
Rendement isolé = 90%.

Aspect : huile jaune.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 0.19 (s, 9H, CH₃), 4.73 (s, 2H, CH₂), 7.12 (t, ³J = 7.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.33 (t, ³J = 7.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.48-7.56 (m, 2H, H_{arom}).

((2-Bromobenzyl)oxy)triisopropylsilane (29c)

A une solution d'alcool 2-bromobenzyle (1.14 g, 6.1 mmol, 1.0 éq) et de NaH (0.200 g, 8.3 mmol, 1.3 éq) dans le THF sec (20 mL) est ajouté goutte à goutte le chlorure de triisopropylsilane (TIPSCl, 1.70 mL, 7.9 mmol, 1.3 éq). Après agitation à TA pendant 3h, 20 mL d'eau sont ajoutés. La phase aqueuse est extraite avec AcOEt (3x 20 mL) et la phase organique est séchée avec MgSO₄. Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit **29c** est obtenu après purification sur colonne de silice (éluant *c*-hexane/AcOEt : 95/5).



Rendement isolé = 71%.

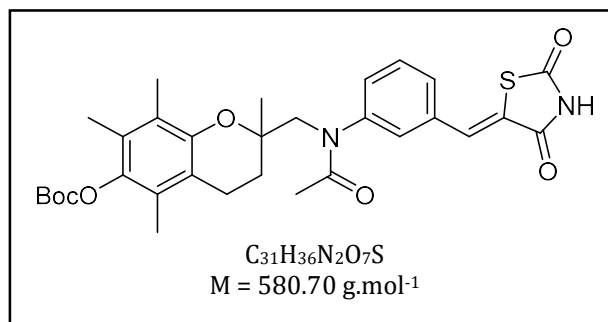
Aspect : huile incolore.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.11 (d, ³J = 6.9 Hz, 18H, CH₃), 1.20-1.28 (m, 3H, CH), 4.83 (s, 2H, CH₂), 7.11 (t, ³J = 7.7 Hz, 1H, H_{arom}), 7.34 (t, ³J = 7.7 Hz, 1H, H_{arom}), 7.49 (d, ³J = 7.9 Hz, 1H, H_{arom}), 7.64 (d, ³J = 7.9 Hz, 1H, H_{arom}).

Les autres analyses de **29c** sont conformes à la littérature.¹⁹⁵

Carbonate de tert-butyle et de (Z)-((N-(3-((2,4-dioxothiazolidin-5-ylidène)méthyl)phényl)acétamido)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (35)

A une solution d'amine **3b** (0.050 g, 0.1 mmol, 1.0 éq) dans CH₂Cl₂ anhydre (10 mL) sont ajoutés Et₃N (30 μL, 0.23 mmol, 2.3 éq) puis Ac₂O (10 μL, 0.12 mmol, 1.2 éq) lentement. Après une nuit d'agitation à TA, CH₂Cl₂ est évaporé, le résidu est



repris dans AcOEt (20 mL). La phase organique est lavée successivement avec une solution aqueuse à 5% de NaHCO₃ (2 x 20 mL) et une solution aqueuse saturée de NH₄Cl

(2 x 20 mL). La phase organique est séchée avec MgSO₄ et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit **35** est obtenu après purification par chromatographie sur plaque de silice (éluant *c*-hexane/AcOEt : 6/4).

Rendement isolé = 47 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 142-144 °C.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.22 (s, 3H, CH₃), 1.32 (s, 3H, CH₃), 1.53 (s, 9H, *t*-Bu), 1.89-1.94 (m, 2H, CH₂), 1.92 (s, 3H, CH₃), 1.93 (s, 3H, CH₃), 2.01 (s, 3H, CH₃), 2.59-2.66 (m, 2H, CH₂), 3.88, 4.32 (AB system, ²*J* = 14.1 Hz, 1H, NCH₂), 7.28-7.30 (m, 2H, H_{arom}), 7.41-7.46 (m, 2H, H_{arom}), 7.77 (s, 1H, CH), 8.91 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 11.4 (CH₃), 11.9 (CH₃), 12.7 (CH₃), 20.2 (CH₂), 21.7 (CH₃), 23.0 (CH₃), 27.0 ((CH₃)₃C), 28.7 (CH₂), 57.3 (CH₂), 77.0 (C_{quat}), 82.8 (C_{quat}), 117.0 (C_{quat}), 122.8 (C_{quat}), 124.1 (C_{quat}), 125.5 (C_{quat}), 127.3 (C_{quat}), 128.9 (CH_{arom}), 129.6 (CH), 130.4 (2 x CH_{arom}), 132.7 (CH_{arom}), 134.5 (C_{quat}), 141.3 (C_{quat}), 145.7 (C_{quat}), 148.4 (C_{quat}), 152.4 (C=O), 166.1 (C=O), 166.5 (C=O), 171.4 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₃₁H₃₆N₂O₇S, 5/3H₂O: C 60.97 %, H 6.49 %, N 4.59 %; measured: C 60.71 %, H 6.17 %, N 4.32 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₃₁H₃₆N₂O₇S: 581.2316 [M+H]⁺, 603.2135 [M+Na]⁺, 619.1875 [M+K]⁺, found: 581.2265, 603.2109, 619.1830.

Procédure générale pour la déprotection des composés azotés **3b-f**

A une solution de substrat **3b-f** (1.0 éq) dans CH₂Cl₂ (8 mL) est ajouté l'acide trifluoroacétique (2 mL, 25% vol.). Après 30 min sous agitation à TA, le solvant est évaporé. Le résidu est repris dans AcOEt (10 mL) et lavé successivement avec une solution saturée de NaHCO₃ (2 x 20 mL), une solution saturée de NH₄Cl (20 mL) et une solution saturée de NaCl (20 mL). La phase organique est séchée avec MgSO₄ et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit **38b-f** est obtenu sans purification ultérieure (CCM *c*-hexane/ AcOEt : 6/4).

(Z)-5-(3-(((6-Hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-yl)méthyl)amino)benzylidène)thiazolidine-2,4-dione (38b)

Le produit **38b** est obtenu selon la procédure décrite à partir du produit **3b** (0.100 g, 0.2 mmol).

Rendement isolé = 94 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 174-176 °C.

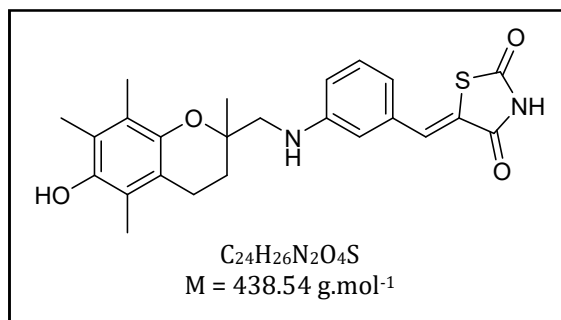
FTIR ν (cm⁻¹): 3400, 2922, 1743, 1693, 1606, 1575.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ _H (ppm) 1.21 (s, 3H, CH₃), 1.73-1.78 (m, 1H, CH₂), 1.87-1.93 (m, 1H, CH₂), 1.91 (s, 3H, CH₃), 2.02 (s, 6H, CH₃), 2.54-2.59 (m, 2H, CH₂), 3.24 (AB system, ²*J* = 13.9 Hz, 2H, CH₂N), 4.54 (br s, 1H, OH), 6.71 (d, ³*J* = 7.7 Hz, 1H, H_{arom}), 6.78-6.82 (m, 2H, H_{arom}), 7.17 (t, ³*J* = 7.7 Hz, 1H, H_{arom}), 7.61 (s, 1H, CH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ _C (ppm) 11.8 (CH₃), 11.9 (CH₃), 12.7 (CH₃), 20.0 (CH₂), 22.1 (CH₃), 28.9 (CH₂), 50.7 (CH₂), 75.0 (C_{quat}), 112.6 (CH_{arom}), 114.9 (CH_{arom}), 116.6 (C_{quat}), 117.4 (CH_{arom}), 120.3 (C_{quat}), 121.2 (C_{quat}), 122.4 (C_{quat}), 122.7 (C_{quat}), 129.5 (CH), 133.0 (CH_{arom}), 133.4 (C_{quat}), 144.4 (C_{quat}), 145.3 (C_{quat}), 149.9 (C_{quat}), 167.4 (C=O), 168.2 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₂₄H₂₆N₂O₄S: C 65.73 %, H 5.98 %, N 6.39 %; measured: C 56.53 %, H 5.27 %, N 4.73 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₂₄H₂₆N₂O₄S: 439.1686 [M+H]⁺, 461.1505 [M+Na]⁺, found: 439.1752, 461.1515.



(Z)-5-(4-(((6-Hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-yl)méthyl)amino)benzylidène)thiazolidine-2,4-dione (38c)

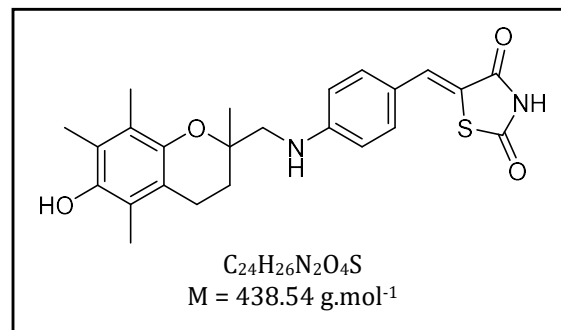
Le produit **38c** est obtenu selon la procédure décrite à partir du produit **3c** (0.100 g, 0.2 mmol).

Rendement isolé = 95 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 196-198 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3493, 3421, 2974, 2926, 1714, 1681, 1612, 1568, 1519.



^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.19 (s, 3H, CH₃), 1.70-1.78 (m, 1H, CH₂), 1.82-1.89 (m, 1H, CH₂), 1.92 (s, 3H, CH₃), 2.02 (s, 3H, CH₃), 2.03 (s, 3H, CH₃), 2.52-2.59 (m, 2H, CH₂), 3.30 (s, 2H, CH₂N), 3.39 (br s, 1H, OH), 6.65 (br s, 1H, NH), 6.79 (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.33 (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.75 (s, 1H, CH), 12.26 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.8 (CH₃), 11.9 (CH₃), 12.8 (CH₃), 19.9 (CH₂), 21.8 (CH₃), 28.9 (CH₂), 50.3 (CH₂), 75.0 (C_{quat}), 112.5 (2 x CH_{arom}), 114.7 (C_{quat}), 116.6 (C_{quat}), 119.7 (C_{quat}), 120.3 (C_{quat}), 121.2 (C_{quat}), 122.7 (C_{quat}), 132.3 (CH), 133.3 (2 x CH_{arom}), 144.3 (C_{quat}), 145.3 (C_{quat}), 151.8 (C_{quat}), 167.6 (C=O), 168.2 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₂₄H₂₆N₂O₄S: C 65.73 %, H 5.98 %, N 6.39 %; measured: C 64.09 %, H 6.52 %, N 5.55 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for C₂₄H₂₆N₂O₄S: 439.1686 [M+H]⁺, found: 439.1722.

(E)-3-(2-(((6-Hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-yl)méthyl)amino)benzylidène)pyrrolidine-2,5-dione (**38d**)

Le produit **38d** est obtenu selon la procédure décrite à partir du produit **3d** (0.100 g, 0.2 mmol).

Rendement isolé = 97 %.

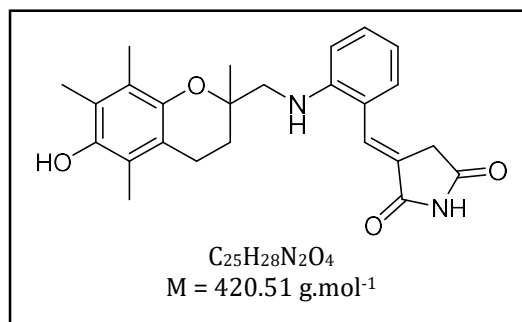
Aspect : solide jaune.

M.p. = 114-116 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3417, 2929, 1699, 1651, 1600, 1504.

^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.35 (s, 3H, CH₃), 1.83-1.90 (m, 1H, CH₂), 1.96-2.00 (m, 1H, CH₂), 2.10 (s, 6H, CH₃), 2.14 (s, 3H, CH₃), 2.69 (m, 2H, CH₂), 3.33 (s, 2H, CH₂N), 3.46, 3.54 (AB part of an ABX system, $^2J = 21.8$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz, 2H, CH₂CO), 5.19 (br s, 2H, NH, OH), 6.74-6.79 (m, 2H, H_{arom}), 7.20 (d, $^3J = 7.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.29 (d, $^3J = 7.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.70 (X part of an ABX system, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, CH), 8.62 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 11.4 (CH₃), 11.9 (CH₃), 12.3 (CH₃), 20.5 (CH₂), 22.5 (CH₃), 30.2 (CH₂), 34.9 (CH₂), 52.4 (CH₂), 74.5 (C_{quat}), 112.4 (CH_{arom}), 117.3 (C_{quat}), 117.5 (CH_{arom}), 118.9 (C_{quat}), 119.2 (C_{quat}), 121.7 (C_{quat}), 122.8 (C_{quat}), 124.7 (C_{quat}), 128.9 (CH_{arom}), 130.6 (CH_{arom}), 131.9 (CH), 144.8 (C_{quat}), 145.3 (C_{quat}), 147.7 (C_{quat}), 171.1 (C=O), 174.6 (C=O).



Elemental analysis calculated for C₂₅H₂₈N₂O₄: C 71.41 %, H 6.71 %, N 6.66 %; measured: C 59.71 %, H 5.70 %, N 5.17 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₂₅H₂₈N₂O₄: 421.2122 [M+H]⁺, 443.1941 [M+Na]⁺, found: 421.2095, 443.1860.

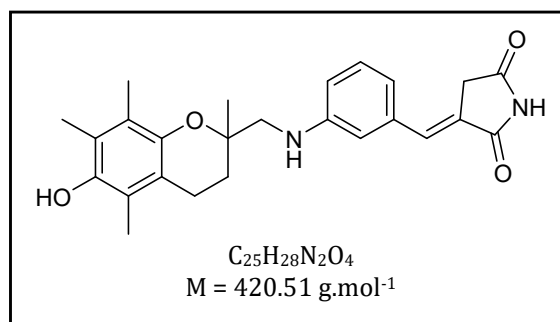
(E)-3-(3-(((6-Hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-yl)méthyl)amino)benzylidène)pyrrolidine-2,5-dione (**38e**)

Le produit **38e** est obtenu selon la procédure décrite à partir du produit **3e** (0.100 g, 0.2 mmol).

Rendement isolé = 94%.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 164-166 °C.



FTIR ν (cm⁻¹): 3516, 2924, 1755, 1705, 1651, 1587.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ _H (ppm) 1.22 (s, 3H, CH₃), 1.73-1.77 (m, 1H, CH₂), 1.86-1.92 (m, 1H, CH₂), 1.92 (s, 3H, CH₃), 2.02 (s, 6H, CH₃), 2.53-2.64 (m, 2H, CH₂), 3.21, 3.27 (AB system, ²*J* = 13.1 Hz, 2H, CH₂N), 3.47, 3.55 (AB part of an ABX system, ²*J* = 21.5 Hz, ⁴*J* = 2.3 Hz, 2H, CH₂CO), 4.55 (br s, 2H, NH, OH), 6.74 (d, ³*J* = 8.1 Hz, 2H, H_{arom}), 6.85 (s, 1H, H_{arom}), 7.12 (t, ³*J* = 8.1 Hz, 1H, H_{arom}), 7.21 (X part of an ABX system, ⁴*J* = 2.3 Hz, 1H, CH), 11.36 (s, 1H, NH).

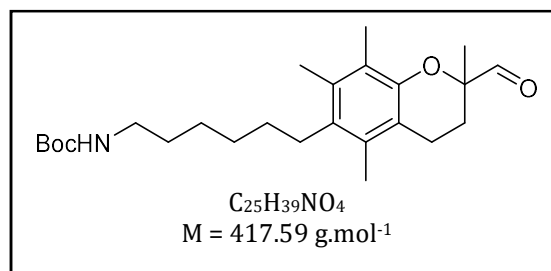
¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ _C (ppm) 11.8 (CH₃), 11.9 (CH₃), 12.7 (CH₃), 20.0 (CH₂), 22.2 (CH₃), 29.1 (CH₂), 34.9 (CH₂), 50.7 (CH₂), 75.0 (C_{quat}), 113.4 (CH_{arom}), 113.9 (CH_{arom}), 116.6 (C_{quat}), 118.1 (CH_{arom}), 120.3 (C_{quat}), 121.2 (C_{quat}), 122.7 (C_{quat}), 125.8 (C_{quat}), 129.3 (CH), 132.6 (CH_{arom}), 134.5 (C_{quat}), 144.4 (C_{quat}), 145.3 (C_{quat}), 149.6 (C_{quat}), 172.1 (C=O), 175.8 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₂₅H₂₈N₂O₄: C 71.41 %, H 6.71 %, N 6.66 %; measured: C 59.71 %, H 5.70 %, N 5.17 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₂₅H₂₈N₂O₄: 421.2122 [M+H]⁺, 443.1941 [M+Na]⁺, found: 421.2121, 443.1924.

tert-Butyl carbamate de (6-(2-formyl-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yl)hexyle) (44)

A une solution de chlorure d'oxalyle (0.15 mL, 1.7 mmol, 1.5 éq) dans CH₂Cl₂ anhydre (10 mL), à -60°C, sont ajoutés le DMSO (0.27 mL, 3.8 mmol, 3.0 éq) puis l'alcool **43** (0.500 g, 1.2 mmol, 1.0 éq) en solution dans CH₂Cl₂. Après



15 min d'agitation à -60°C, Et₃N (1.2 mL, 8.6 mmol, 7.0 éq) est ajoutée et le mélange est laissé sous agitation 10 min supplémentaires à -60°C. 10 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel à TA. La phase aqueuse est extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 20 mL) et la phase organique est successivement lavée avec une solution aqueuse saturée de NH₄Cl (2 x 30 mL), de l'eau (2 x 30 mL), une solution aqueuse de Na₂CO₃ 1M (2 x 20 mL) et de l'eau (2 x 20 mL). Enfin la phase organique est séchée avec MgSO₄ et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit **44** est obtenu après purification par chromatographie sur colonne de silice (éluant *c*-hexane/AcOEt : 10/0 jusque 9/1 en 40 min).

Rendement isolé = 80 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 82-84 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3387, 2935, 2912, 1737, 1681, 1514.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ _H (ppm) 1.39 (s, 3H, CH₃), 1.37-1.43 (m, 6H, (CH₂)₂), 1.45 (s, 9H, *t*-Bu), 1.48-1.53 (m, 2H, CH₂), 1.79-1.85 (m, 1H, CH₂), 2.11 (s, 3H, CH₃), 2.21 (s, 3H, CH₃), 2.22 (s, 3H, CH₃), 2.24-2.29 (m, 1H, CH₂), 2.57-2.61 (m, 4H, (CH₂)₂), 3.06-3.16 (m, 2H, NCH₂), 4.50 (br s, 1H, NH), 9.64 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, CHO).

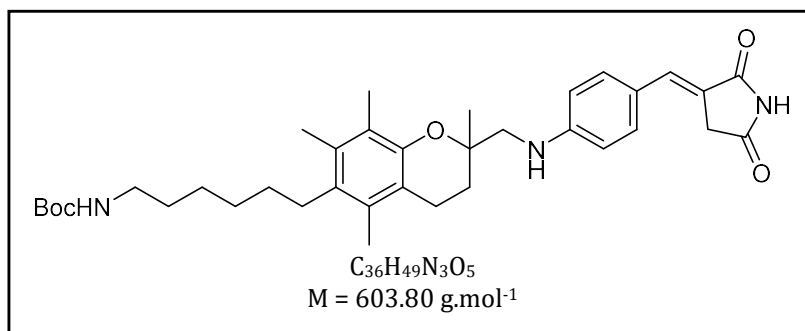
¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ _C (ppm) 12.2 (CH₃), 15.0 (CH₃), 15.9 (CH₃), 20.8 (CH₂), 21.7 (CH₃), 26.8 (CH₂), 28.1 (CH₂), 28.6 ((CH₃)₃C), 29.7 (CH₂), 29.9 (CH₂), 30.1 (CH₂), 30.2 (CH₂), 30.3 (CH₂), 40.7 (C_{quat}), 80.4 (C_{quat}), 117.1 (C_{quat}), 122.4 (C_{quat}), 131.8 (2 x C_{quat}), 133.7 (C_{quat}), 149.2 (C_{quat}), 156.1 (C=O), 204.7 (CHO).

Elemental analysis calculated for C₂₅H₃₉NO₄: C 71.91 %, H 9.41 %, N 3.35 %; measured: C 71.64 %, H 9.53 %, N 3.23 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₂₅H₃₉NO₄: 418.2952 [M+H]⁺, 440.2771 [M+Na]⁺, found: 418.2885, 440.2806.

tert-Butyl carbamate de (*E*)-(6-(2-(((4-((2,5-dioxopyrrolidin-3-ylidène)méthyl)phényl)amino)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yl)hexyle) (45)

A une solution de l'aldéhyde **44** (0.973 g, 2.3 mmol, 1.0 éq), de l'amine **19f** (0.469 g, 2.3 mmol, 1.0 éq) et du chlorure de lithium LiCl (0.197 g, 4.6 mmol, 2.0 éq) dans MeOH



(10 mL) est ajouté AcOH (0.17 mL, 0.02 mmol, 0.01 éq). Le mélange réactionnel est refroidi à 0°C avant l'addition de NaBH₃CN (0.146 g, 2.3 mmol, 1.0 éq) puis il est agité à TA pendant une nuit (CCM *c*-hexane/AcOEt : 6/4). Après évaporation de MeOH, le résidu est repris dans AcOEt (20 mL) puis lavé successivement avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (3 x 20 mL), une solution aqueuse saturée de NH₄Cl (20 mL) et une solution aqueuse saturée de NaCl (20 mL). La phase organique est séchée avec MgSO₄ puis évaporée. Le produit **45** attendu est isolé après purification sur colonne de silice (éluant : *c*-hexane/ AcOEt : 9/1 jusque 6/4 pendant 50 min).

Rendement isolé = 12 %.

Aspect : solide orange.

M.p. = 200-202 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3383, 2972, 2926, 1757, 1695, 1595, 1525.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.34 (s, 3H, CH₃), 1.40-1.47 (m, 6H, (CH₂)₃), 1.44 (s, 9H, *t*-Bu), 1.47-1.51 (m, 2H, CH₂), 1.81-1.87 (m, 1H, CH₂), 2.02-2.05 (m, 1H, CH₂), 2.11 (s, 3H, CH₃), 2.15 (s, 3H, CH₃), 2.19 (s, 3H, CH₃), 2.57-2.61 (m, 2H, CH₂), 2.67-2.71 (m, 2H, CH₂), 3.11 (br t, 2H, CH₂NHBoc), 3.38 (s, 2H, NCH₂), 3.55 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 2H, CH₂CO), 6.81 (d, ³*J* = 8.7 Hz, 2H, H_{arom}), 7.33 (d, ³*J* = 8.7 Hz, 2H, H_{arom}), 7.49 (t, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H, CH), 8.01 (br s, 1H, NH).

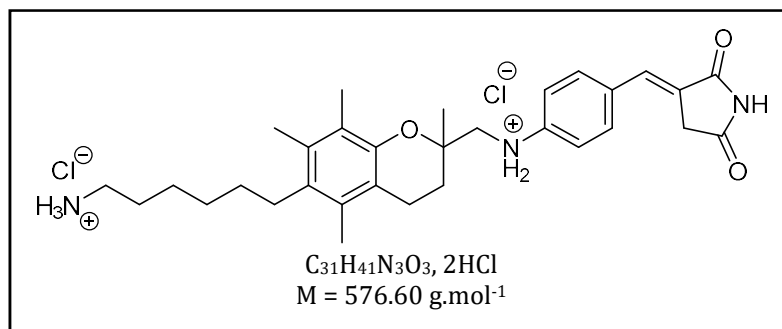
¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 12.3 (CH₃), 15.1 (CH₃), 16.0 (CH₃), 20.8 (CH₂), 22.4 (CH₃), 26.9 (CH₂), 28.6 ((CH₃)₃C), 29.6 (CH₂), 29.9 (CH₂), 30.1 (CH₂), 30.2 (CH₂), 30.3 (CH₂), 35.5 (CH₂), 40.8 (CH₂), 51.8 (CH₂), 74.7 (C_{quat}), 77.4 (C_{quat}), 113.0 (2 x CH_{arom}), 116.7 (C_{quat}), 118.1 (C_{quat}), 122.3 (C_{quat}), 122.9 (C_{quat}), 131.4 (C_{quat}), 131.9 (C_{quat}), 132.6 (2 x, CH_{arom}), 133.6 (C_{quat}), 135.9 (CH), 148.9 (C_{quat}), 150.7 (C_{quat}), 156.1 (C=O), 171.3 (C=O), 174.4 (C=O).

Elemental analysis calculated for $C_{36}H_{49}N_3O_5$: C 71.61 %, H 8.18 %, N 6.96 %; measured: C 71.44 %, H 8.03 %, N 6.80 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{36}H_{49}N_3O_5$: 604.3745 $[M+H]^+$, 626.3564 $[M+Na]^+$, found: 604.3754, 626.3545.

Dichlorure de (E)-N-((6-(6-ammoniohexyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-yl)méthyl)-4-((2,5-dioxopyrrolidine-3-ylidène)méthyl)benzénaminium (46)

A une solution de substrat **45** (0.108 g, 0.2 mmol, 1.0 éq) dans CH_2Cl_2 (2 mL) est ajouté l'acide chlorhydrique en solution dans AcOEt (solution à 1M, 2.0 mL, 2.0 mmol, 10.0 éq). Après 24h



sous agitation à TA, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit **46** est obtenu sans purification ultérieure (CCM *c*-hexane/ AcOEt : 6/4).

Rendement isolé = quantitatif.

Aspect : solide orange.

M.p. = 176-178 °C.

FTIR ν (cm^{-1}): 3350, 2918, 1705, 1716, 1593, 1161.

1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_H (ppm) 1.20 (s, 3H, CH_3), 1.30-1.39 (m, 6H, $(CH_2)_3$), 1.51-1.59 (m, 2H, CH_2), 1.73-1.80 (m, 1H, CH_2), 1.85-1.90 (m, 1H, CH_2), 1.98 (s, 3H, CH_3), 2.09 (s, 3H, CH_3), 2.10 (s, 3H, CH_3), 2.51-2.62 (m, 4H, $(CH_2)_2$), 2.73-2.80 (m, 2H, CH_2), 3.30 (s, 2H, NCH_2), 3.51 (d, $^4J = 1.5$ Hz, 2H, CH_2CO), 6.38 (br t, $^3J = 5.5$ Hz, 2H, NH_2^+), 6.74 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.20 (br t, $^4J = 1.5$ Hz, 1H, CH), 7.31 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.79 (br s, 3H, NH_3^+), 11.15 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_C (ppm) 12.1 (CH_3), 14.6 (CH_3), 15.5 (CH_3), 20.1 (CH_2), 21.8 (CH_3), 25.6 (CH_2), 26.9 (CH_2), 28.7 (CH_2), 28.9 (CH_2), 29.2 (CH_2), 29.5 (CH_2), 34.9 (CH_2), 38.7 (CH_2), 50.4 (CH_2), 75.2 (C_{quat}), 112.2 (2 x CH_{arom}), 116.4 (C_{quat}), 119.4 (C_{quat}), 121.1 (C_{quat}), 121.3 (C_{quat}), 129.8 (C_{quat}), 130.9 (C_{quat}), 131.9 (2 x CH_{arom}), 132.3 (C_{quat}), 132.7 (CH), 148.7 (C_{quat}), 150.9 (C_{quat}), 172.3 (C=O), 175.9 (C=O).

Elemental analysis calculated for $C_{31}H_{41}N_3O_3, 2HCl, 4/3 H_2O$: C 61.99 %, H 7.66 %, N 7.00 %; measured: C 62.16 %, H 7.52 %, N 6.53 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{31}H_{41}N_3O_3$: 504.3221 $[M+H]^+$, 252.6647 $[M+2H]^{2+}$, found: 504.3206, 252.6626.

Procédure pour la préparation des composés **47**, **48** et **49**

A une solution d'aldéhyde **7a,c** (1.0 éq) dans MeOH (10 mL) sont ajoutés l'amine primaire **19a-f** (1.0 éq), AcOH (1.0 éq) et $NaBH_3CN$ (1.0 éq). Le mélange est laissé sous agitation à TA jusqu'à disparition complète du substrat. Puis MeOH est évaporé et le résidu est dissous dans AcOEt (20 mL). La phase organique est lavée successivement avec une solution saturée de $NaHCO_3$ (3 x 20 mL) et une solution saturée de NaCl (20 mL), puis séchée avec $MgSO_4$ et le solvant est évaporé sous pression réduite (CCM *c*-hexane/AcOEt : 6/4). Les produits **47**, **48** et **49** sont purifiés par chromatographie sur colonne de silice (éluant *c*-hexane/AcOEt : 9 / 1 et augmentation progressive de AcOEt jusqu'à 6/4 en 1h).

Carbonate de (*E*)-tert-butyl (2-((2-(((2,5-dioxopyrrolidin-3-ylidène)méthyl)phényl)amino)méthyl)phénoxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (**47**)

Le produit **47** est obtenu selon la procédure décrite à partir de l'aldéhyde **7a** (0.500 g, 1.5 mmol) et de l'amine **19d** (0.300 g, 1.5 mmol).

Rendement isolé = 28 %.

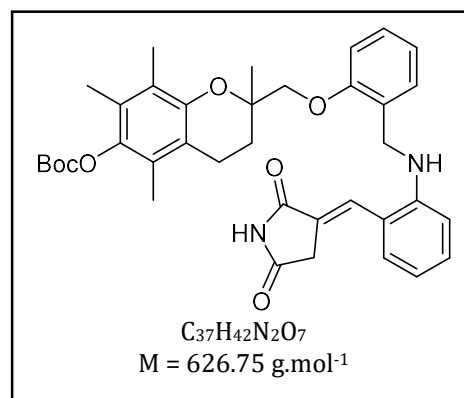
Aspect : solide jaune.

M.p. = 126-128 °C.

FTIR ν (cm^{-1}): 3394, 2976, 2924, 1749, 1703, 1645, 1600, 1573.

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.36 (s, 3H, CH_3), 1.56 (s, 9H, *t*-Bu), 1.59-1.65 (m, 1H, CH_2), 1.84-1.88 (m, 1H, CH_2), 2.02 (s, 3H, CH_3), 2.03 (s, 3H, CH_3), 2.06 (s, 3H, CH_3), 2.63 (t, $^3J = 6.5$ Hz, 2H, CH_2), 3.44 (br s, 2H, NCH_2), 3.98, 4.06 (AB system, $^2J = 9.3$ Hz, 2H, OCH_2), 4.43 (s, 2H, CH_2CO), 4.47 (br s, 1H, NH), 6.68-6.76 (m, 2H, H_{arom}), 6.89-6.97 (m, 2H, H_{arom}), 7.14-31 (m, 4H, H_{arom}), 7.62 (br t, 1H, CH), 8.42 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 11.8 (CH_3), 11.9 (CH_3), 12.8 (CH_3), 20.3 (CH_2), 22.4 (CH_3), 27.8 ($(CH_3)_3C$), 28.7 (CH_2), 35.0 (CH_2), 43.9 (CH_2), 73.5 (CH_2), 74.7 (C_{quat}), 83.1 (C_{quat}), 112.2 (CH_{arom}), 117.2 (CH_{arom}), 117.6 (C_{quat}), 119.3 (C_{quat}), 121.1 (CH_{arom}), 123.3



(C_{quat}), 124.9 (C_{quat}), 125.7 (C_{quat}), 126.9 (C_{quat}), 127.7 (C_{quat}), 128.8 (2 x CH_{arom}), 128.9 (CH_{arom}), 129.2 (CH_{arom}), 130.4 (CH_{arom}), 131.7 (CH), 141.4 (C_{quat}), 147.3 (C_{quat}), 148.9 (C_{quat}), 152.7 (C_{quat}), 156.9 (C=O), 170.7 (C=O), 174.2 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₃₇H₄₂N₂O₇ · 2/3 H₂O: C 69.57 %, H 6.84 %, N 4.39 %; measured: C 69.54 %, H 6.71 %, N 4.46 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₃₇H₄₂N₂O₇: 627.3065 [M+H]⁺, 649.2884 [M+Na]⁺, found: 627.3005, 649.2823.

Carbonate de (Z)-tert-butyl (2-((2-(((3-((2,4-dioxothiazolidin-5-ylidène)méthyl)phényl)amino)méthyl)phénoxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (48)

Le produit **48** est obtenu selon la procédure décrite à partir de l'aldéhyde **7a** (0.200 g, 0.5 mmol) et de l'amine **19b** (0.100 g, 0.5 mmol).

Rendement isolé = 28 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 110-112 °C.

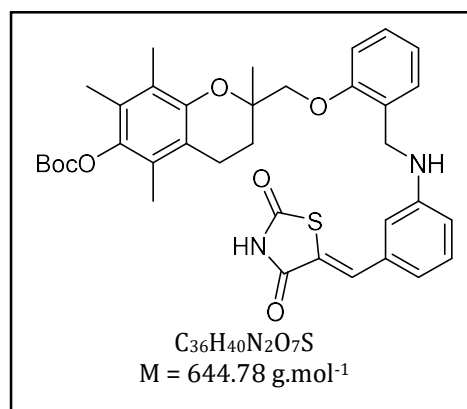
FTIR ν (cm⁻¹): 3401, 2919, 1693, 1600, 1453, 1231.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.43 (s, 3H,

CH₃), 1.56 (s, 9H, *t*-Bu), 1.86-1.89 (m, 1H, CH₂), 2.01 (s, 3H, CH₃), 2.03 (s, 3H, CH₃), 2.04 (s, 3H, CH₃), 2.07-2.12 (m, 1H, CH₂), 2.60-2.67 (m, 2H, CH₂), 4.04, 4.01 (AB system, ²*J* = 9.8 Hz, 2H, NCH₂), 4.34, 4.43 (AB system, ²*J* = 15.2 Hz, 2H, OCH₂), 4.37 (br s, 1H, NH), 6.68-6.71 (m, 2H, H_{arom}), 6.83 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H, H_{arom}), 6.88-6.94 (m, 2H, H_{arom}), 7.18-7.24 (m, 2H, H_{arom}), 7.33 (d, ³*J* = 7.1 Hz, 1H, H_{arom}), 7.70 (s, 1H, CH), 8.83 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 12.0 (2 x CH₃), 12.8 (CH₃), 20.3 (CH₂), 23.1 (CH₃), 27.8 ((CH₃)₃C), 29.0 (CH₂), 43.3 (CH₂), 72.9 (CH₂), 74.6 (C_{quat}), 83.1 (C_{quat}), 111.6 (CH_{arom}), 113.1 (CH_{arom}), 116.2 (CH_{arom}), 117.4 (C_{quat}), 119.9 (CH_{arom}), 121.0 (CH_{arom}), 122.1 (C_{quat}), 123.2 (C_{quat}), 125.6 (C_{quat}), 126.8 (C_{quat}), 127.6 (C_{quat}), 128.6 (CH_{arom}), 128.7 (CH_{arom}), 129.9 (CH), 134.0 (C_{quat}), 135.1 (CH_{arom}), 141.4 (C_{quat}), 148.8 (C_{quat}), 149.0 (C_{quat}), 152.6 (C_{quat}), 156.7 (C=O), 166.6 (C=O), 167.5 (C=O).

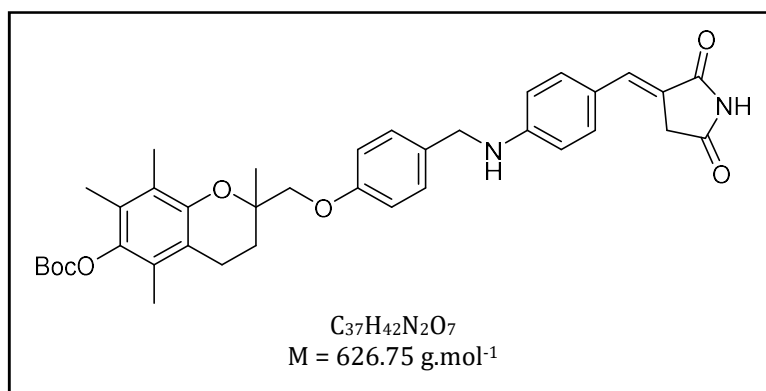
Elemental analysis calculated for C₃₆H₄₀N₂O₇S, H₂O: C 65.24 %, H 6.39 %, N 4.23 %; measured: C 65.07 %, H 6.21 %, N 4.00 %.



HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{36}H_{40}N_2O_7S$: 645.2630 $[M+H]^+$, 667.2408 $[M+Na]^+$, found: 645.2629, 667.2448.

Carbonate de (E)-tert-butyl (2-((4-(((4-((2,5-dioxopyrrolidin-3-ylidène)méthyl)phényl)amino)méthyl)phénoxy)méthyl)-2,5,7,8-tétraméthylchroman-6-yle) (49)

Le produit **49** est obtenu selon la procédure décrite à partir de l'aldéhyde **7c** (0.250 g, 0.6 mmol) et de l'amine **19f** (0.140 g, 0.6 mmol). Il est obtenu après filtration du milieu réactionnel et lavage avec MeOH, sans traitement ni purification.



Rendement isolé = 89 %.

Aspect : solide orange.

M.p. = 220-222 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3340, 2972, 2912, 1749, 1705, 1589, 1238.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H (ppm) 1.41 (s, 3H, CH₃), 1.55 (s, 9H, *t*-Bu), 1.84-1.91 (m, 1H, CH₂), 2.03 (s, 3H, CH₃), 2.07 (s, 6H, CH₃), 2.09-2.17 (m, 1H, CH₂), 2.59-2.66 (m, 2H, CH₂), 3.55 (d, ⁴*J* = 2.1 Hz, 2H, CH₂CO), 3.87, 3.98 (AB system, ²*J* = 9.0 Hz, 2H, OCH₂), 4.31 (s, 2H, NCH₂), 4.46 (br s, 1H, NH), 6.64 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 2H, *H*_{arom}), 6.90 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 2H, *H*_{arom}), 7.25 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 2H, *H*_{arom}), 7.32 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 2H, *H*_{arom}), 7.49 (t, ⁴*J* = 2.1 Hz, 1H, CH), 8.07 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ_C (ppm) 11.9 (CH₃), 12.0 (CH₃), 12.8 (CH₃), 20.3 (CH₂), 23.1 (CH₃), 27.9 ((CH₃)₃C), 28.5 (CH₂), 35.5 (CH₂), 47.3 (CH₂), 72.8 (CH₂), 74.7 (C_{quat}), 82.9 (C_{quat}), 112.9 (2 x CH_{arom}), 115.2 (2 x CH_{arom}), 117.4 (C_{quat}), 118.3 (C_{quat}), 123.1 (C_{quat}), 123.2 (C_{quat}), 125.5 (C_{quat}), 127.5 (C_{quat}), 128.8 (2 x CH_{arom}), 130.5 (C_{quat}), 132.6 (2 x CH_{arom}), 135.9 (CH), 141.4 (C_{quat}), 149.0 (C_{quat}), 150.0 (C_{quat}), 152.4 (C_{quat}), 158.8 (C=O), 171.5 (C=O), 174.5 (C=O).

Elemental analysis calculated for $C_{37}H_{42}N_2O_7 \cdot \frac{1}{4} H_2O$: C 70.40 %, H 6.79 %, N 4.44 %; measured: C 70.45 %, H 6.74 %, N 4.61 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{37}H_{42}N_2O_7$: 627.3065 $[M+H]^+$, 649.2884 $[M+Na]^+$, found: 627.3029, 649.2843.

Préparation des fragments benzylidène-thiazolidinediones **51-55** et **57-59**

Un mélange réactionnel constitué du nitrobenzaldéhyde (1.0 éq), de la TZD (1.0 éq) et de β -alanine (1.3 éq) dans l'acide acétique glacial (40 mL) est porté à reflux 24h. Après refroidissement, 15 mL d'eau sont ajoutés au mélange réactionnel, le produit précipité est alors filtré, lavé à l'eau distillée et séché sous vide. Les composé **51-55** et **57-59** sont ainsi obtenus sans purification ultérieure (CCM *c*-hexane/AcOEt : 7/3).

(Z)-5-(3-Hydroxy-4-méthoxybenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (**51**)^{262,263}

Le produit **51** est préparé selon la procédure décrite à partir du 3-hydroxy-4-méthoxybenzaldéhyde (0.500 g, 3.3 mmol).

Rendement isolé = 77 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. > 250°C.

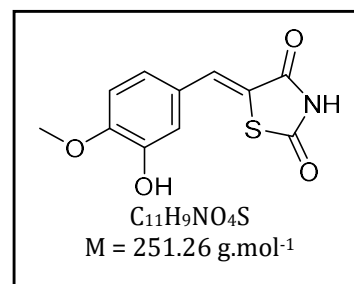
FTIR ν (cm^{-1}): 3323, 2972, 1737, 1674, 1591, 1502, 1249.

1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_H (ppm) 3.82 (s, 3H, CH_3), 6.98-7.06 (m, 3H, H_{arom}), 7.64 (s, 1H, CH), 9.47 (br s, 1H, OH), 12.46 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_C (ppm) 55.7 (CH_3), 112.4 (CH_{arom}), 116.1 (CH_{arom}), 120.1 (C_{quat}), 123.5 (CH_{arom}), 125.8 (C_{quat}), 132.3 (CH), 147.0 (C_{quat}), 150.1 (C_{quat}), 167.5 (C=O), 168.1 (C=O).

Elemental analysis calculated for $C_{11}H_9NO_4S$: C 52.58 %, H 3.61 %, N 5.57 %; measured: C 53.03 %, H 3.64 %, N 5.53 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{11}H_9NO_4S$: 252.0325 $[M+H]^+$, 274.0144 $[M+Na]^+$, found: 252.0317, 274.0076.



²⁶² Ha, Y. M. *et al.* Design and Synthesis of 5-(Substituted Benzylidene)Thiazolidine-2,4-Dione Derivatives as Novel Tyrosinase Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, 49, 245–252. doi: 10.1016/j.ejmech.2012.01.019.

²⁶³ Touaibia, M. *et al.* 5-Benzylidene, 5-Benzyl, and 3-Benzylthiazolidine-2,4-Diones as Potential Inhibitors of the Mitochondrial Pyruvate Carrier: Effects on Mitochondrial Functions and Survival in *Drosophila Melanogaster*. *European Journal of Pharmacology* **2021**, 913, 174627. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174627.

(Z)-5-(4-(tert-Butyl)benzylidène)thiazolidine-2,4-dione (52)

Le produit **52** est préparé selon la procédure décrite à partir du 4-*tert*-butylbenzaldéhyde (0.500 g, 3.1 mmol).

Rendement isolé = 79 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. = 194-196 °C.

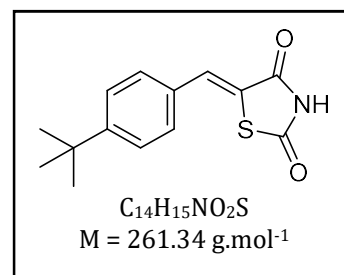
FTIR ν (cm⁻¹): 3196, 2951, 1749, 1681, 1600.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.29 (s, 9H, *t*-Bu), 7.48-7.59 (m, 4H, *H*_{arom}), 7.76 (s, 1H, CH), 12.57 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 30.8 ((CH₃)₃C), 34.7 (C_{quat}), 122.5 (C_{quat}), 126.1 (2 x CH_{arom}), 129.9 (2 x CH_{arom}), 130.3 (C_{quat}), 131.7 (CH), 153.4 (C_{quat}), 167.3 (C=O), 167.9 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₁₄H₁₅NO₂S: C 64.34 %, H 5.79 %, N 5.36 %; measured: C 65.01 %, H 5.83 %, N 5.19 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₄H₁₅NO₂S: 262.0896 [M+H]⁺, 284.0716 [M+Na]⁺, found: 262.0896, 284.0666.



(Z)-5-(4-(Trifluorométhyl)benzylidène)thiazolidine-2,4-dione (53)

Le produit **53** est préparé selon la procédure décrite à partir du 4-trifluorométhylbenzaldéhyde (0.500 g, 2.8 mmol).

Rendement isolé = 79 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 210-212 °C.

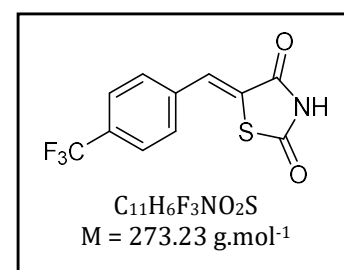
FTIR ν (cm⁻¹): 3199, 1749, 1712, 1674, 1614.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 7.81 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 2H, *H*_{arom}), 7.86 (s, 1H, CH), 7.89 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 2H, *H*_{arom}), 12.74 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 126.0 (q, ²*J* = 3.8 Hz, 2 x CH_{arom}), 123.9 (q, ¹*J* = 271.6 Hz, CF₃), 126.7 (C_{quat}), 129.7 (q, ²*J* = 32.6 Hz, C_{quat}), 129.8 (CH), 130.4 (2 x CH_{arom}), 137.0 (C_{quat}), 167.1 (C=O), 167.5 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₁₁H₆F₃NO₂S: C 48.36 %, H 2.21 %, N 5.13 %; measured: C 48.89 %, H 2.31 %, N 4.98 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₁H₆F₃NO₂S: 274.0144 [M+H]⁺, found: 274.0168.



(Z)-5-(4-Bromobenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (54)²⁶⁴

Le produit **54** est préparé selon la procédure décrite à partir du 4-bromobenzaldéhyde (0.500 g, 2.7 mmol).

Rendement isolé = 86 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. > 250 °C.

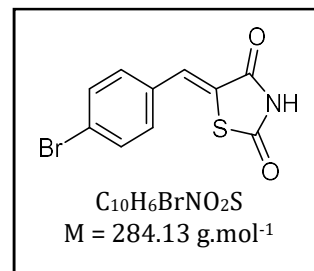
FTIR ν (cm⁻¹): 3140, 1714, 1697, 1606, 1483.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 7.52 (d, ³J = 8.1 Hz, 2H, H_{arom}), 7.67-7.79 (m, 3H, H_{arom}, CH), 12.62 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 124.2 (C_{quat}), 124.7 (C_{quat}), 130.8 (CH), 132.0 (2 x CH_{arom}), 132.4 (C_{quat}), 132.5 (2 x CH_{arom}), 167.5 (C=O), 167.9 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₁₀H₆BrNO₂S: C 42.27 %, H 2.13 %, N 4.93 %; measured: C 42.80 %, H 2.17 %, N 4.84 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₀H₆BrNO₂S: 283.9375 [M+H]⁺, found: 283.9428.

(Z)-5-((5-Bromothiophén-2-yl)méthylène)thiazolidine-2,4-dione (55)

Le produit **55** est préparé selon la procédure décrite à partir du 5-bromo-2-thiophénecarboxaldéhyde (0.500 g, 2.6 mmol).

Rendement isolé = 79 %.

Aspect : solide jaune.

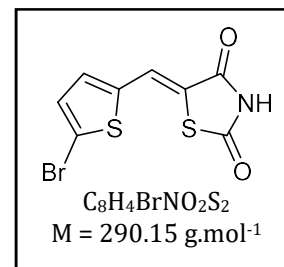
M.p. > 250 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 1737, 1672, 1593, 1415.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 7.44 (s, 1H, H_{Hetar}), 7.50 (s, 1H, H_{Hetar}), 7.98 (s, 1H, CH), 12.62 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 118.7 (C_{quat}), 121.8 (C_{quat}), 124.2 (CH_{Hetar}), 132.3 (CH), 134.8 (CH_{Hetar}), 139.0 (C_{quat}), 166.7 (C=O), 166.8 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₈H₄BrNO₂S₂: C 33.12 %, H 1.39 %, N 4.83 %; measured: C 33.64 %, H 1.41 %, N 4.69 %.



²⁶⁴ Giles, R. G. *et al.* Regiospecific Reduction of 5-Benzylidene-2,4-Thiazolidinediones and 4-Oxo-2-Thiazolidinethiones Using Lithium Borohydride in Pyridine and Tetrahydrofuran. *Tetrahedron* **2000**, 56 (26), 4531-4537. doi: 10.1016/S0040-4020(00)00361-6.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_8H_4BrNO_2S_2$: 289.8940 $[M+H]^+$, found: 289.8950.

(Z)-5-(4-Fluoro-2-nitrobenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (57)

Le produit **57** est préparé selon la procédure décrite à partir du 2-nitro-4-fluorobenzaldéhyde (0.500 g, 3.0 mmol).

Rendement isolé = 60 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. = 180-182 °C.

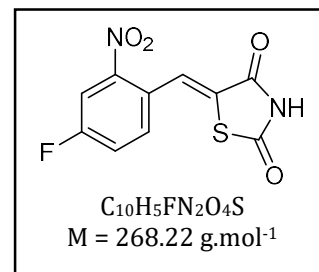
FTIR ν (cm^{-1}): 3190, 1772, 1697, 1610, 1523, 1494, 1246.

1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_H (ppm) 7.74-7.85 (m, 2H, H_{arom}), 7.94 (s, 1H, CH), 8.16 (dd, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 12.77 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_C (ppm) 113.4 (d, $^2J = 27.3$ Hz, CH_{arom}), 121.7 (d, $^2J = 21.8$ Hz, CH_{arom}), 125.5 (d, $^4J = 3.5$ Hz, C_{quat}), 127.4 (CH), 128.5 (C_{quat}), 131.4 (d, $^3J = 8.8$ Hz, CH_{arom}), 148.8 (d, $^3J = 8.9$ Hz, C_{quat}), 161.6 (d, $^1J = 253.1$ Hz, CF), 166.6 (C=O), 167.5 (C=O).

Elemental analysis calculated for $C_{10}H_5FN_2O_4S$: C 44.78 %, H 1.88 %, N 10.44 %; measured: C 45.73 %, H 1.89 %, N 10.49 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{10}H_5FN_2O_4S$: 269.0027 $[M+H]^+$, 290.9846 $[M+Na]^+$, found: 269.0001, 290.9777.



(Z)-5-(3-Méthoxy-2-nitrobenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (58)

Le produit **58** est préparé selon la procédure décrite à partir du 2-nitro-3-méthoxybenzaldéhyde (0.500 g, 2.8 mmol).

Rendement isolé = 73 %.

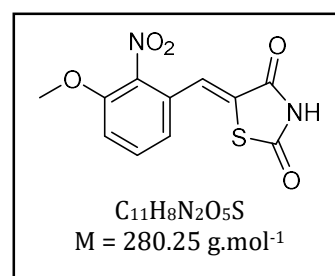
Aspect : solide beige.

M.p. > 250 °C.

FTIR ν (cm^{-1}): 3047, 1737, 1710, 1606, 1519, 1473, 1278.

1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_H (ppm) 3.94 (s, 3H, CH_3), 7.23 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.32 (s, 1H, CH), 7.49 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.73 (t, $^3J = 8.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 12.85 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_C (ppm) 56.9 (CH_3), 115.5 (CH_{arom}), 119.3 (CH_{arom}), 122.1 (CH_{arom}), 125.9 (C_{quat}), 130.2 (C_{quat}), 132.5 (CH), 140.4 (C_{quat}), 150.7 (C_{quat}), 166.5 (C=O), 167.2 (C=O).



Elemental analysis calculated for $C_{11}H_8N_2O_5S$: C 47.14 %, H 2.88 %, N 10.00 %; measured: C 47.46 %, H 2.86 %, N 10.03 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{11}H_8N_2O_5S$: 281.0227 $[M+H]^+$, 303.0046 $[M+Na]^+$, found: 281.0175, 302.9989.

***(Z)*-5-((6-Nitrobenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)méthylène)thiazolidine-2,4-dione (**59**)**

Le produit **59** est préparé selon la procédure décrite à partir du 6-nitropipéronal (0.500 g, 2.6 mmol).

Rendement isolé = 70 %.

Aspect : solide jaune.

M.p. > 250 °C.

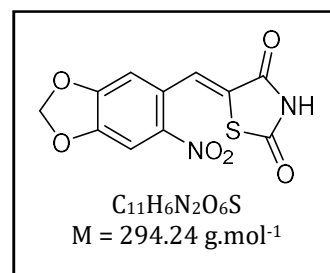
FTIR ν (cm^{-1}): 2993, 1766, 1707, 1597, 1506, 1323, 1276.

1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_H (ppm) 6.32 (s, 2H, CH_2), 7.17 (s, 1H, H_{arom}), 7.81 (s, 1H, H_{arom}), 7.94 (s, 1H, CH), 12.71 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_C (ppm) 104.3 (CH_2), 105.9 (CH_{arom}), 107.3 (CH_{arom}), 125.4 (C_{quat}), 127.4 (C_{quat}), 129.3 (CH), 142.6 (C_{quat}), 148.9 (C_{quat}), 152.3 (C_{quat}), 166.7 (C=O), 167.6 (C=O).

Elemental analysis calculated for $C_{11}H_6N_2O_6S$, 1/3 H_2O : C 44.00 %, H 2.24 %, N 9.33 %; measured: C 43.97 %, H 2.09 %, N 9.12 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $C_{11}H_6N_2O_6S$: 295.0019 $[M+H]^+$, 316.9839 $[M+Na]^+$, found: 294.9985, 316.9794.



Préparation des aminobenzylidènthiazolidine-2,4-diones **60-62**

Le nitrobenzylidène **57-59** (1.0 éq) et $SnCl_2$ (5.0 éq) sont mis en suspension dans EtOH absolu (15 mL). Après agitation pendant 3h à reflux, 20 mL de $NaHCO_3$ sont ajoutés au mélange refroidi, et le mélange est laissé sous agitation 1h supplémentaire. Après évaporation de EtOH sous pression réduite, le résidu est extrait avec AcOEt (6 x 20 mL). La phase organique est lavée successivement avec une solution saturée de $NaHCO_3$ (6 x 30 mL), une solution à 5% d'acide citrique (2 x 20 mL), et une solution saturée de NaCl (20 mL). La phase organique est séchée avec $MgSO_4$ et le solvant est évaporé sous pression réduite. (CCM *c*-hexane/AcOEt : 6/4). Les produits **60-62** sont utilisés sans purification ultérieure.

(Z)-5-(2-Amino-4-fluorobenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (60)

Le produit **60** est préparé selon la procédure décrite à partir du nitrobenzylidène **57** (0.400 g, 1.5 mmol).

Rendement isolé = 81 %.

Aspect : solide jaune.

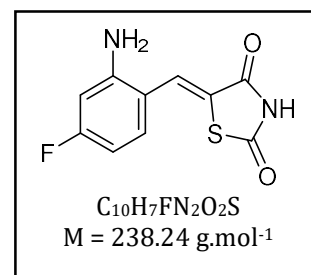
M.p. > 250 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3448, 3371, 3037, 1720, 1687, 1645, 1583.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 6.11 (br s, 2H, NH₂), 6.45 (td, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 2.5 Hz, 1H, H_{arom}), 6.51 (dd, ³*J* = 11.5 Hz, ⁴*J* = 2.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.19 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 6.6 Hz, 1H, H_{arom}), 7.79 (s, 1H, CH), 12.45 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 101.7 (d, ²*J* = 24.7 Hz, CH_{arom}), 103.6 (d, ²*J* = 24.7 Hz, CH_{arom}), 113.6 (d, ⁴*J* = 2.3 Hz, C_{quat}), 121.5 (C_{quat}), 127.5 (CH), 130.0 (d, ³*J* = 11.7 Hz, CH_{arom}), 151.5 (d, ³*J* = 11.8 Hz, C_{quat}), 164.3 (d, ¹*J* = 251.4 Hz, CF), 167.8 (C=O), 168.5 (C=O).

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₀H₇FN₂O₂S: 239.0285 [M+H]⁺, found: 239.0268.



(Z)-5-(2-Amino-3-méthoxybenzylidène)thiazolidine-2,4-dione (61)

Le produit **61** est préparé selon la procédure décrite à partir du nitrobenzylidène **58** (0.300 g, 1.1 mmol).

Rendement isolé = 79 %.

Aspect : solide rouge.

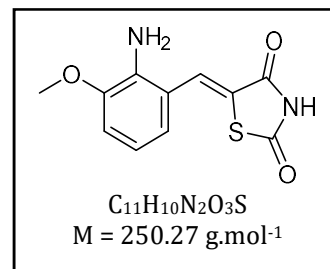
M.p. = 196-198 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3363, 1720, 1681, 1625, 1573, 1240.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 3.80 (s, 3H, CH₃), 5.42 (br s, 2H, NH₂), 6.65 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H, H_{arom}), 6.81-6.91 (m, 2H, H_{arom}), 7.91 (s, 1H, CH), 12.45 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 55.7 (CH₃), 111.8 (CH_{arom}), 116.2 (CH_{arom}), 116.9 (C_{quat}), 119.3 (CH_{arom}), 122.1 (C_{quat}), 128.5 (CH), 138.9 (C_{quat}), 147.1 (C_{quat}), 167.9 (C=O), 168.7 (C=O).

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₁H₁₀N₂O₃S: 251.0485 [M+H]⁺, found: 251.0500.



(Z)-5-((6-Aminobenzodioxol-5-yl)méthylène)thiazolidine-2,4-dione (62)

Le produit **62** est préparé selon la procédure décrite à partir du nitrobenzylidène **59** (0.300 g, 1.0 mmol).

Rendement isolé = 33 %.

Aspect : solide rouge.

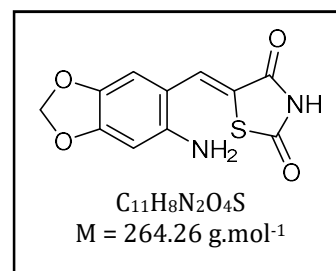
M.p. > 250 °C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3390, 3346, 1730, 1681, 1556, 1481.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 5.75 (br s, 2H, NH₂), 5.94 (s, 2H, CH₂), 6.40 (s, 1H, H_{arom}), 6.66 (s, 1H, H_{arom}), 7.79 (s, 1H, CH), 12.34 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 97.2 (CH₂), 101.2 (CH_{arom}), 105.0 (C_{quat}), 108.5 (CH_{arom}), 117.2 (C_{quat}), 128.6 (CH), 139.6 (C_{quat}), 147.7 (C_{quat}), 150.9 (C_{quat}), 167.9 (C=O), 168.4 (C=O).

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₁H₈N₂O₄S: 265.0278 [M+H]⁺, found: 265.0283.

(5s,6s,7s,12s)-6,12-bis(4-(tert-Butyl)phényl)-1,8-dithia-3,10-diazadispiro[4.1.4.7.15]dodécane-2,4,9,11-tétraone 5 (56)

Le produit **56** est obtenu par irradiation du composé **52** (50 mg, 0.2 mmol) dans MeOH (2 mL) à 375 nm pendant 24h. Il est isolé par filtration du milieu réactionnel.

Rendement isolé = 20%.

Aspect : solide blanc.

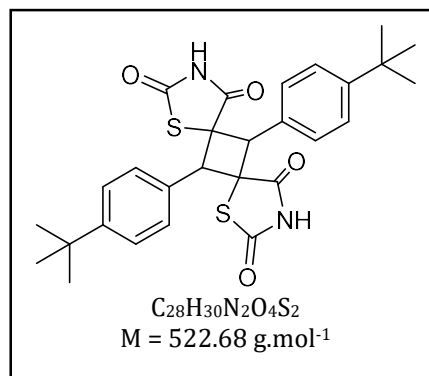
M.p. > 250°C.

FTIR ν (cm⁻¹): 3479, 3061, 2958, 1756, 1693, 1515.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 1.32 (s, 18H, *t*-Bu), 5.19 (s, 2H, CH), 7.12 (d, ³*J* = 6.1 Hz, 4H, H_{arom}), 7.40 (d, ³*J* = 6.1 Hz, H_{arom}), 8.07 (br s, 2H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 31.3 ((CH₃)₃C), 34.8 (C_{quat}), 53.5 (CH), 68.1 (C_{quat}), 125.9 (CH_{arom}), 127.5 (C_{quat})*, 128.9 (CH_{arom}), 152.0 (C_{quat}), 167.3 (C=O), 173.5 (C=O).

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₂₈H₃₀N₂O₄S₂: 523.1725 [M+H]⁺, 545.1545 [M+Na]⁺, found: 523.1753, 545.1432.



* Non visible sur le spectre ¹³C mais déduit du spectre HSQC.

Procédure générale pour la synthèse des thiazolo- ou pyrroloquinolin-2(3H)-ones **63-67** sous irradiation lumineuse

Une solution du substrat aminé **19a,d, 60-62** dans EtOH (10 mg/mL) est placée sous irradiation (conditions détaillées ci-dessous) jusqu'à disparition complète du substrat (avancement de la réaction réalisé par CCM, éluant : *c*-hexane/AcOEt : 6/4). Le produit cyclisé attendu **63-67** est obtenu sous forme d'un solide après filtration et lavage avec EtOH, sans purification ultérieure, puis est séché sous vide.

Thiazolo[4,5-*b*]quinolin-2(3H)-one (**63**)

Le produit **63** est obtenu par irradiation à 405 nm de l'aminobenzylidène **19a** (2.490 g, 11.3 mmol) pendant 24h.

Rendement isolé = 84 %.

Aspect : solide beige.

M.p. > 250 °C.

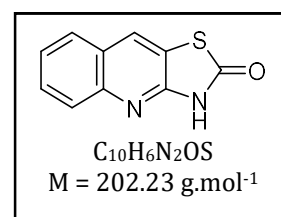
FTIR ν (cm⁻¹): 3017, 1632, 1470.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 7.47 (td, ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.69 (td, ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.83 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.88 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.50 (s, 1H, *H*_{arom}), 12.94 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 121.4 (C_{quat}), 124.7 (CH_{arom}), 124.8 (C_{quat}), 125.8 (CH_{arom}), 127.3 (CH_{arom}), 129.6 (CH_{arom}), 129.8 (CH_{arom}), 143.5 (C_{quat}), 152.3 (C_{quat}), 170.1 (C=O).

Elemental analysis: calculated for C₁₀H₆N₂OS: C 59.39 %, H 2.99 %, N 13.85 %; measured: C 59.83 %, H 3.03 %, N 14.01 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₀H₆N₂OS: 203.0274 [M+H]⁺, found: 203.0295.



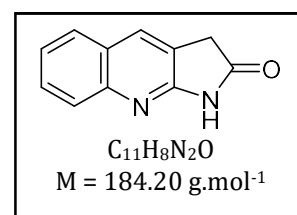
1,3-Dihydro-2H-pyrrolo[2,3-*b*]quinolin-2-one (**64**)

Le produit **64** est obtenu par irradiation à 375 nm de l'aminobenzylidène **19d** (0.100 g, 0.5 mmol) pendant 24h.

Rendement isolé = 48 %.

Aspect : solide marron.

M.p. > 250 °C.



FTIR ν (cm^{-1}): 1714, 1597, 1417.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_{H} (ppm) 3.67 (s, 2H, CH_2), 7.39 (t, $^3J = 7.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.61 (t, $^3J = 7.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.75 (d, $^3J = 7.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.83 (d, $^3J = 7.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.01 (s, 1H, H_{arom}), 11.27 (s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 34.6 (CH_2), 121.9 (C_{quat}), 123.9 (CH_{arom}), 125.5 (C_{quat}), 126.8 (CH_{arom}), 127.9 (CH_{arom}), 128.9 (CH_{arom}), 130.6 (CH_{arom}), 146.2 (C_{quat}), 158.1 (C_{quat}), 175.9 (C=O).

Elemental analysis calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$: C 71.73 %, H 4.38 %, N 15.21 %; measured: C 71.37 %, H 4.81 %, N 14.37 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$: 185.0709 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 207.0529 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, found: 185.0681, 207.0497.

6-Fluorothiazolo[4,5-b]quinolin-2(3H)-one (65)

Le produit **65** est obtenu par irradiation à 405 nm de l'aminobenzylidène **60** (0.080 g, 0.3 mmol) pendant 36h.

Rendement isolé = 68 %.

Aspect : solide blanc.

M.p. > 250 °C.

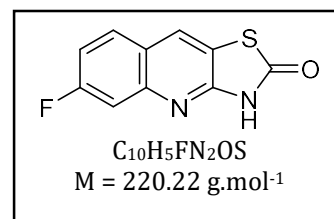
FTIR ν (cm^{-1}): 3057, 1699, 1583.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ_{H} (ppm) 7.42 (td, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 2.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.58 (dd, $^3J = 10.7$ Hz, $^4J = 2.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.98 (dd, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 6.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.55 (s, 1H, CH_{arom}), 12.89 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 110.5 (d, $^2J = 22.3$ Hz, CH_{arom}), 114.6 (d, $^2J = 24.6$ Hz, CH_{arom}), 120.2 (d, $^4J = 2.4$ Hz, C_{quat}), 122.3 (CH_{arom}), 129.8 (d, $^3J = 10.3$ Hz, CH_{arom}), 129.8 (2 x C_{quat}), 152.6 (C_{quat}), 162.4 (d, $^1J = 246.4$, CF), 169.7 (C=O).

Elemental analysis calculated for $\text{C}_{10}\text{H}_5\text{FN}_2\text{OS}$: C 54.54 %, H 2.29 %, N 12.72 %; measured: C 54.30 %, H 2.54 %, N 12.36 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) m/z calculated for $\text{C}_{10}\text{H}_5\text{FN}_2\text{OS}$: 221.0179 $[\text{M}+\text{H}]^+$, found: 221.0146.



5-Méthoxythiazolo[4,5-b]quinolin-2(3H)-one (66)

Le produit **66** est obtenu par irradiation à 405 nm de l'aminobenzylidène **61** (0.080 g, 0.3 mmol) pendant 48h.

Rendement isolé = 77 %.

Aspect : solide marron.

M.p. > 250 °C.

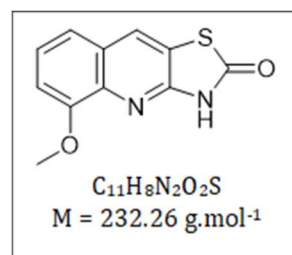
FTIR ν (cm⁻¹): 1696, 1513, 1417, 1263.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 3.93 (s, 3H, CH₃), 7.15-7.17 (m, 1H, H_{arom}), 7.37-7.41 (m, 2H, H_{arom}), 8.45 (s, 1H, H_{arom}).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 55.7 (CH₃), 108.8 (CH_{arom}), 119.0 (CH_{arom}), 120.8 (C_{quat}), 125.1 (CH_{arom}), 126.3 (C_{quat}), 129.9 (CH_{arom}), 136.2 (C_{quat}), 150.3 (C_{quat}), 154.1 (C_{quat}), 169.3 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₁₁H₈N₂O₂S.2/3 H₂O: C 54.09 %, H 3.85 %, N 11.47 %; measured: C 53.98 %, H 3.58 %, N 10.63 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₁H₈N₂O₂S: 233.0379 [M+H]⁺, found: 233.0431.



[1,3]Dioxolo[4,5-g]thiazolo[4,5-b]quinolin-2(3H)-one (67)

Le produit **67** est obtenu par irradiation à 430 nm de l'aminobenzylidène **62** (0.050 g, 0.2 mmol) pendant 24h.

Rendement isolé = 71 %.

Aspect : solide marron.

M.p. > 250 °C.

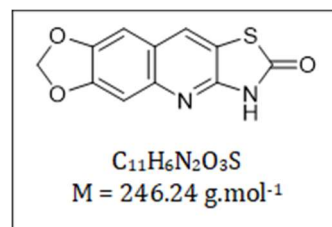
FTIR ν (cm⁻¹): 3050, 1694, 1468, 1237.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ_{H} (ppm) 6.18 (s, 2H, CH₂), 7.22 (s, 1H, H_{arom}), 7.30 (s, 1H, H_{arom}), 8.31 (s, 1H, H_{arom}), 12.50 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ_{C} (ppm) 102.1 (CH₂), 102.9 (CH_{arom}), 103.7 (CH_{arom}), 117.4 (C_{quat}), 121.8 (C_{quat}), 129.1 (CH_{arom}), 142.7 (C_{quat}), 146.3 (C_{quat}), 149.4 (C_{quat}), 150.5 (C_{quat}), 169.4 (C=O).

Elemental analysis calculated for C₁₁H₆N₂O₃S.2H₂O: C 48.35%, H 3.32 %, N 10.25 %; measured: C 46.58 %, H 3.36 %, N 9.17 %.

HR-ESI-MS (pos. mode) *m/z* calculated for C₁₁H₆N₂O₃S: 247.0172 [M+H]⁺, found: 247.0180.



3 Biologie

Les études biologiques ont été effectuées au laboratoire CRAN (UMR 7039, Université de Lorraine) ou au sein de la plateforme de biologie du laboratoire L2CM.

Culture cellulaire

Les lignées cellulaires cancéreuses mammaires MDA-MB-231 et Hs578T utilisées pour les études biologiques proviennent de l'organisation ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, Etats-Unis). La lignée MDA-MB-231 est issue d'une effusion pleurale d'un adénocarcinome mammaire survenu chez une femme âgée de 51 ans. La lignée cancéreuse mammaire Hs578T a été établie à partir d'un carcinome mammaire survenu chez une femme âgée de 74 ans. Ces deux types cellulaires appartiennent au sous-type « claudin-low » et n'expriment ni les récepteurs hormonaux à l'oestradiol et à la progestérone, ni le récepteur HER2 : elles sont triple négatives et hormono-indépendantes.

La lignée cellulaire non cancéreuse MRC5 utilisée pour les études provient de l'organisation ECACC (European Collection of Authenticated Cell Culture, Royaume-Uni). Il s'agit d'une lignée de fibroblastes embryonnaires normaux de poumons issue d'un fœtus mâle âgé de 14 semaines.

Les cellules MDA-MB-231 et Hs578T ont été cultivées dans le milieu DMEM (Dulbecco's Modified Essential Medium, Sigma-Aldrich) contenant du rouge de phénol et additionné de 2 mM de L-glutamine (L-glu, Merck) et de 10 % de sérum de veau fœtal (SVF, Merck) et éventuellement 0,1 % insuline pour les cellules Hs578T. Les cellules MRC5 ont été cultivées dans le milieu MEM (Minimum Essential Medium, Sigma-Aldrich) additionnée de 2 mM de L-glutamine, 1% d'acides aminés non essentiels et 10 % de SVF (Eurobio S34139-1087). Les cellules prolifèrent en monocouche dans des flacons de culture de 75 cm² placés dans un incubateur à 37°C, sous une atmosphère contenant 5 % de CO₂ avec 90 % d'humidité. Les cellules étaient repiquées deux fois par semaine.

- Ensemencement et conditions de traitement

L'ensemencement des cellules a été effectué à partir de cellules cultivées à 80 % de confluence. Dans un premier temps, les cellules ont été rincées avec 5 mL de PBS (Phosphate-buffered saline) puis décollées avec 1 mL de trypsine pendant 1 minute à 37°C (solution de trypsine-EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) diluée à 0.05% dans

du PBS (Gibco®). 8 mL de milieu de culture DMEM contenant du SVF ont été ajoutés afin d'arrêter l'action de la trypsine. Les cellules en suspension ont été centrifugées à 1000 rpm pendant 5 min. Le surnageant a été retiré et les cellules sont remises en suspension dans 5 mL de milieu de culture. Les cellules ont été comptées grâce à une cellule de Malassez. Le nombre de cellules ensemencées dans leur milieu contenant 10 % de SVF et 2 mM de L-Glu sera précisé pour chaque protocole. 24 h après l'ensemencement, les cellules ont été traitées avec les différents composés, aux concentrations et temps mentionnés ultérieurement, Les solutions de molécules utilisées pour le traitement des cellules ont été préparées à partir d'une solution mère à 25 mM (dans le DMSO) diluée dans du milieu de culture à la concentration attendue. Les cellules témoins ont été mises en présence de DMSO à un pourcentage équivalent à la concentration maximale du composé utilisé.

Suivi de la prolifération cellulaire

- Analyse comparative des 21 molécules à 10 μ M

Les cellules MDA-MB-231 ont été ensemencées dans une plaque de culture 24 puits à 20 000 cellules par puits dans un volume final de 1 mL. 24 h après l'ensemencement, les cellules ont été traitées en triplicat avec les différentes molécules à la concentration de 10 μ M. Les cellules témoins ont été cultivées dans le milieu de culture seul ou en présence de DMSO (0.04%). Le suivi de la cinétique de prolifération des cellules a été réalisée par imagerie cellulaire en temps réel grâce à l'appareil Cytonote Scan et au logiciel Horus (Iprasense) pour le traitement des données. La lecture de plaque a été réalisée au moment du traitement ($t = 0$), après 24 h de traitement ($t = 24$ h) et après 48 h de traitement ($t = 48$ h). Chaque expérience a été répétée trois fois.

- Numération cellulaire par coloration au cristal violet

Les cellules MDA-MB-231 et Hs578T ont été ensemencées dans une plaque de culture 96 puits à 15 000 cellules par puits dans un volume final de 200 μ L. 24 h après l'ensemencement, les cellules ont été traitées en triplicat avec les différentes molécules à concentrations croissantes. A la fin du traitement, les cellules ont été rincées avec 200 μ L par puits de PBS 1X à température ambiante. Les cellules adhérentes ont été fixées et le noyau coloré pendant 20 min à température ambiante avec une solution de cristal violet 0,2 % (w/v) (Sigma-Aldrich, C6158) et 2 % (v/v) éthanol. Cette solution a

été filtrée extemporanément avec une unité de filtrage (pores de 0,22 μm , Millipore, SLGP033RS) afin d'éliminer les précipités. Les cellules ont ensuite été lavées à l'eau distillée afin d'éliminer l'excès de colorant jusqu'à écoulement incolore. Les plaques 96 puits ont été séchées par retournement sur papier absorbant. Les noyaux colorés ont été dissous dans de l'acide acétique à 10 %. L'intensité de coloration a été quantifiée par lecture de l'absorbance à 595 nm avec un lecteur de plaque multilabel VICTOR X3 (PerkinElmer, Courtaboeuf, France). L'absorbance est proportionnelle au nombre de cellules adhérentes en fin de traitement.

- Numération cellulaire par la méthode colorimétrique MTT

Les cellules MRC5 ont étéensemencées dans une plaque de culture 96 puits à 15000 cellules par puits dans un volume final de 100 μL . 24 h après l'ensemencement, les cellules ont été traitées en quadruplicat avec les différentes molécules à concentrations croissantes. L'analyse de la viabilité cellulaire a été réalisée après 48 h d'incubation : le milieu a été remplacé par du milieu neuf contenant 0.5 mg/mL de MTT. Après 2 h d'incubation à 37°C, le surnageant a été retiré et les cristaux de Formazan ont été dissous dans 100 μL de DMSO. L'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie à 540 nm et la CI_{50} a été déterminée par le logiciel GraphPAD Prism. L'expérience a été réalisée une fois.

Détection de la mort cellulaire par apoptose par cytométrie en flux

Les cellules MDA-MB-231 ont étéensemencées dans des boîtes de culture de 60 mm de diamètre à raison de 8×10^5 cellules par puits dans 4 mL de milieu de culture. 24 h après l'ensemencement, les cellules ont été traitées avec 4.5 μM **EP13** et 6 μM de **46**. Les cellules témoins ont été cultivées dans le milieu de culture seul ou en présence de DMSO (0.024%). A la fin du traitement, le milieu de culture contenant les cellules non adhérentes est collecté. Les cellules adhérentes sont rincées avec du PBS, trypsinisées et resuspendues dans le milieu de culture. Les cellules non adhérentes et adhérentes sont centrifugées à 200 g pendant 10 minutes à température ambiante. Les cellules sont rincées avec du PBS puis comptées grâce à un compteur de cellules automatique (TC20™ Automated Cell Counter, Bio-Rad). 1×10^6 cellules sont centrifugées à 200 g pendant 10 minutes à température ambiante puis les cellules sont reprises dans le tampon de liaison (binding buffer : 0,1 M HEPES pH 7.4 ; 1.4 M NaCl ; 25 mM CaCl_2 ; pH 7.4) afin de faciliter

la fixation de l'annexine V aux phosphatidylsérines. Les cellules sont ensuite mises en contact avec 2.5 μL d'annexine V couplée au FITC (BD Biosciences) et 2 μg d'iodure de propidium (Life TechnologiesTM, Thermo Fisher Scientific) puis incubées à l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante. 10 000 événements sont analysés et le pourcentage de cellules marquées à l'annexine V et/ou à l'iodure de propidium est déterminé par cytométrie en flux (CytoFLEX, Beckman Coulter). Les données sont traitées grâce au logiciel Cytexpert (Beckman Coulter).

Immunocytofluorescence

Les cellules MDA-MB-231 ont étéensemencées sur des lamelles de verre déposées sur le fond des boîtes de culture 35 mm, à raison de 200 000 cellules par puits dans un volume final de 1 mL. 24 h après l'ensemencement, les cellules ont été traitées avec 100 μM de **3e**, 6 μM de **46**, 4.5 μM d'**EP13** et 8.5 μM de **3f** pendant des temps variables allant de 5 minutes à 24 h. A l'issue du traitement, les cellules ont été fixées avec du paraformaldéhyde 4 % pendant 20 min à température ambiante. Les cellules ont ensuite été rincées 3 fois au PBS 1X pendant 5 minutes à température ambiante. Les lamelles ont été transférées en chambre humide à température ambiante pour l'ensemble de l'immunodétection. La perméabilisation et la saturation des cellules ont été réalisées simultanément avec une solution composée de PBS 1X, triton X100 à 0,2 % (v/v), BSA à 4 % (w/v) pendant 30 min à raison de 30 μL par lamelle pour chaque dépôt. L'anticorps primaire anti-tubuline (Abcam, dilution 1/300) et/ou la phalloïdine (détection de l'actine, dilution au 1/20) ont été déposés sur la lamelle pendant 1 h. La lamelle a alors été rincée 3 fois avec du PBS 1X, triton 0,2 % pendant 5 min et l'anticorps secondaire (Anticorps anti-lapin de chèvre couplé à Alexa Fluor 555 (rouge) ou 488 (vert)) dilué au 1/200^{ème} a été déposé sur la lamelle et incubé 45 minutes. Après rinçage au PBS 1X, une solution de Hoechst 33342 au 1/10 000^{ème} a été déposée sur la lamelle pendant 5 minutes et a permis une coloration des noyaux en bleu. Cette dernière étape n'a pas toujours été réalisée afin de ne pas interférer avec la fluorescence endogène des composés visible dans le bleu. Les lamelles ont été retournées et fixées sur une lame de verre grâce au milieu de montage. Les lames ont été observées à l'objectif x100 avec de l'huile à immersion à l'aide du microscope à fluorescence Eclipse 80i (Nikon, Champigny-sur-Marne, France). Les images ont été recueillies en utilisant le logiciel NIS Element (Nikon).

Polymérisation de la tubuline

Les études de polymérisation de la tubuline ont été effectuées grâce à un kit (*In Vitro* Tubulin Polymerization Assay Kit, Merck) et en suivant les instructions du fournisseur. Ainsi, la préparation des échantillons a été réalisée à 4°C. La tubuline a été diluée avec une solution tampon contenant 1 mM de guanosine triphosphate (GTP) pour conduire à une solution de tubuline à 60 µM.

Les solutions contenant les composés à étudier ont été préparées par dilution d'une solution mère dans le DMSO. 1 µL de solution ainsi préparée a été ajouté à 9 µL de solution tampon contenant 1 mM de GTP. Les mesures ont été réalisées sur une plaque 96 puits. 60 µL de solution de tubuline ont été mis en présence de 10 µL de solution de composé. Les mesures de turbidité ont été effectuées dans un spectrophotomètre Multiskan GO (Thermo Scientific), dont la température est fixée à 37°C, à 390 nm toutes les 30 secondes pendant 90 min. Le logiciel utilisé pour l'acquisition des données est SkanIt RE for Multiskan GO (Thermo Scientific), et le traitement des données a été réalisé à l'aide de Microsoft Office Excel.

4 Analyses photophysiques

Les analyses photophysiques ont été effectuées au sein de la plateforme PhotoNS du laboratoire L2CM. Les spectres d'absorption UV-visible ont été réalisés sur un spectromètre Lambda 1050 UV-vis-NIR (Perkin Elmer) dans une cuve en quartz de 1 cm avec ouverture de fente égale à 2 nm. Les suivis cinétiques UV-visible ont été effectués sur un spectromètre Ocean Optics USB2000 + capteur XR CCD. Les spectres de fluorescence ont été mesurés à l'aide d'un Fluorolog 3 Jobin Yvon (Horiba Scientific) et le programme FluorEssence. La source d'excitation était une lampe au xénon de 450 W et le détecteur utilisé R-928 opérationnel à 950 V. Les ouvertures de fente d'émission et de détection étaient égales à 2 nm.

Les coefficients d'absorption molaire ont été déterminés grâce à des solutions aqueuses de 12.5 µM, 25 µM, 50 µM, 75 µM et 100 µM en composés préparées à partir d'une solution mère à 25 mM dans le DMSO. Les rendements quantiques des composés ont été déterminés grâce à des solutions préparées par dilution à partir d'une solution mère à 25 mM dans le DMSO. La solution mère de sulfate de quinine, utilisé comme référence, a été préparée le jour de la mesure par dissolution de sulfate de quinine dans

une solution aqueuse d'acide sulfurique (0.1 M). Les échantillons de sulfate de quinine utilisés pour les mesures ont été préparés par dilution de la solution mère et ont été excités à une longueur d'onde de 350 nm. Les données ont été traitées sur Microsoft Office Excel.

L'irradiation des composés a été réalisée avec des diodes électroluminescentes (LED) M310L1 (longueur d'onde nominale 308 nm, largeur de bande 30 nm), M340L4 (longueur d'onde nominale 340 nm, largeur de bande 11 nm), M375L4 (longueur d'onde nominale 375 nm, largeur de bande 9 nm), M405L4 (longueur d'onde nominale 405 nm, largeur spectrale 12.5 nm) et M430L5 (longueur d'onde nominale 430 nm, largeur de bande 17 nm) commercialisées par ThorLabs. Toutes les informations concernant la distribution spectrale des lampes sont disponibles sur le site de ThorLabs www.thorlabs.com.

Procédure A pour l'irradiation des composés **18**, **19** et **50-55**

Un tube RMN contenant le composé (0.010 g) dans le DMSO- d_6 (0.5 mL) a été placé sous la LED pendant une durée variant de 3.5 h à 24 h. Les spectres RMN ^1H ont été enregistrés avant et après irradiation et le taux d'isomérisation a été déterminé par intégration des signaux des protons éthyléniques des formes (*Z*) et (*E*).

Procédure B pour l'irradiation du composé **52** et le suivi cinétique par RMN ^1H

Une fibre optique multimode 1000 μM (FP1000URT, 0.50 NA de 5 m commercialisée par ThorLabs, l'extrémité de la fibre a été passée au papier de verre sur 1.5 cm afin d'avoir une irradiation radiale) liée à la LED a été placée *via* un insert en verre contenant D_2O dans un tube RMN contenant le composé **52** (0.010 g) dans le DMSO- d_6 (0.5 mL). Les spectres RMN ^1H ont été enregistrés pendant l'irradiation sur un appareil Bruker Avance III HD 300MHz et le taux d'isomérisation a été déterminé par intégration des signaux des protons éthyléniques des formes (*Z*) et (*E*) (logiciel TopSpin, Bruker). L'irradiation à 310 nm a été effectuée de la même façon, la fibre optique plongeant directement dans le tube

RMN sans insert. La quantité de lumière émise par la LED au sein de l'échantillon a été déterminée par actinométrie (Tableau 15).²⁶⁵

Tableau 15 : Intensité lumineuse émise par la LED au cours des irradiations in situ

Solvant	Longueur d'onde irradiation (nm)	Intensité lumineuse LED ($\mu\text{einstein/L*s}$)
Acétone- <i>d</i> ₆	340	42.9
CDCl ₃	340	42.9
MeOH- <i>d</i> ₄	340	36.1
DMSO- <i>d</i> ₆	340	36.1
DMSO- <i>d</i> ₆	375	121.7
DMSO- <i>d</i> ₆	310	13.1
CDCl ₃	310	9.7
MeOH- <i>d</i> ₄	310	13.1

²⁶⁵ Ji, Y. *et al.* Facile Quantum Yield Determination via NMR Actinometry. *Organic Letters* **2018**, *20* (8), 2156–2159. doi : 10.1021/acs.orglett.8b00391.

Bibliographie

- (1) Anatomie du sein - Institut National du Cancer <https://www.e-cancer.fr> (accessed 2020 -05 -19).
- (2) Cancer du sein-Ligue Contre le Cancer www.ligue-cancer.net (accessed 2021 -06 -14).
- (3) World Health Organization. Global Cancer Observatory <https://gco.iarc.fr/> (accessed 2020 -06 -12).
- (4) Defossez, G.; Le Guyader-Peyrou, S.; Uhry, Z.; Grosclaude, P.; Colonna, M.; Dantony, E.; et al. Estimations Nationales de l'Incidence et de la Mortalité par Cancer en France Métropolitaine entre 1990 et 2018. *Santé publique France* **2019**, *1*, 201–209.
- (5) Breast Cancer and Hormonal Contraceptives: Collaborative Reanalysis of Individual Data on 53 297 Women with Breast Cancer and 100 239 Women without Breast Cancer from 54 Epidemiological Studies. *The Lancet* **1996**, *347* (9017), 1713–1727. doi: 10.1016/S0140-6736(96)90806-5.
- (6) Colditz, G. A. Cumulative Risk of Breast Cancer to Age 70 Years According to Risk Factor Status: Data from the Nurses' Health Study. *American Journal of Epidemiology* **2000**, *152* (10), 950–964. doi: 10.1093/aje/152.10.950.
- (7) Beral, V.; Million Women Study Collaborators. Breast Cancer and Hormone-Replacement Therapy in the Million Women Study. *The Lancet* **2003**, *362* (9382), 419–427. doi: 10.1016/S0140-6736(03)14065-2.
- (8) Menarche, Menopause, and Breast Cancer Risk: Individual Participant Meta-Analysis, Including 118 964 Women with Breast Cancer from 117 Epidemiological Studies. *The Lancet Oncology* **2012**, *13* (11), 1141–1151. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70425-4.
- (9) Zhang, S. M.; Lee, I.-M.; Manson, J. E.; Cook, N. R.; Willett, W. C.; Buring, J. E. Alcohol Consumption and Breast Cancer Risk in the Women's Health Study. *American Journal of Epidemiology* **2007**, *165* (6), 667–676. doi: 10.1093/aje/kwk054.
- (10) Allen, N. E.; Beral, V.; Casabonne, D.; Kan, S. W.; Reeves, G. K.; Brown, A.; Green, J.; on behalf of the Million Women Study Collaborators. Moderate Alcohol Intake and Cancer Incidence in Women. *Journal of the National Cancer Institute* **2009**, *101* (5), 296–305. doi: 10.1093/jnci/djn514.
- (11) Zhu, J.; Jiang, X.; Niu, Z. Alcohol Consumption and Risk of Breast and Ovarian Cancer: A Mendelian Randomization Study. *Cancer Genetics* **2020**, *245*, 35–41. doi: 10.1016/j.cancergen.2020.06.001.

- (12) Miki, Y.; Swensen, J.; Shattuck-Eidens, D.; Futreal, P.; Harshman, K.; Tavtigian, S.; Liu, Q.; Cochran, C.; Bennett, L.; Ding, W.; et al. A Strong Candidate for the Breast and Ovarian Cancer Susceptibility Gene BRCA1. *Science* **1994**, *266* (5182), 66–71. doi: 10.1126/science.7545954.
- (13) Wooster, R.; Bignell, G.; Lancaster, J.; Swift, S.; Seal, S.; Mangion, J.; Collins, N.; Gregory, S.; Gumbs, C.; Michlem, G.; Barfoot, R.; Hamoudi, R.; Patel, S.; Rice, C.; Biggs, P.; Hashim, Y.; Smith, A.; Connor, F.; Arason, A.; Gudmundsson, J.; Ficenc, D.; Kelsell, D.; Ford, D.; Tonin, P.; Bishop, D. T.; Spurr, N. K.; Ponder, B. A. J.; Eeles, R.; Peto, J.; Devilee, P.; Cornelisse, C.; Lynch, H.; Narod, S.; Lenoir, G.; Egilsson, V.; Barkadottir, R. B.; Easton, D. F.; Bentley, D. R.; Futreal, P. A.; Ashworth, A.; Maricq, A. V.; Peckol, E.; Driscoll, M.; Bargmann, C. I. Identification of the Breast Cancer Susceptibility Gene BRCA2. *Nature* **1995**, *378*, 789–792. doi: 10.1038/378789a0.
- (14) Rahman, N. Realizing the Promise of Cancer Predisposition Genes. *Nature* **2014**, *505* (7483), 302–308. doi : 10.1038/nature12981.
- (15) Fumoleau, P.; Mignard, D.; Lanta, M. Les Cancers du Sein- Brochure informative. Ligue Contre le Cancer 2017.
- (16) Li, C. I. Trends in Incidence Rates of Invasive Lobular and Ductal Breast Carcinoma. *Journal of the American Medical Association* **2003**, *289* (11), 1421–1424. doi: 10.1001/jama.289.11.1421.
- (17) Les Grades du Cancer - Institut National du Cancer <https://www.e-cancer.fr> (accessed 2020 -05 -27).
- (18) Malhotra, G. K.; Zhao, X.; Band, H.; Band, V. Histological, Molecular and Functional Subtypes of Breast Cancers. *Cancer Biology & Therapy* **2010**, *10* (10), 955–960. doi : 10.4161/cbt.10.10.13879.
- (19) Cancers du Sein Triple Négatifs : Repousser les Frontières de la Lutte | Institut Curie <https://curie.fr> (accessed 2020 -05 -19).
- (20) Gonçalves, A.; Sabatier, R.; Charafe-Jauffret, E.; Gilabert, M.; Provansal, M.; Tarpin, C.; Extra, J.-M.; Viens, P.; Bertucci, F. Cancer du Sein Triple-Négatif : Caractéristiques Histocliniques et Moléculaires, Prise en Charge et Perspectives Thérapeutiques. *Bulletin du Cancer* **2013**, *100* (5), 453–464. doi: 10.1684/bdc.2013.1740.
- (21) Slamon, D. J.; Clark, G. M.; Wong, S. G. Human Breast Cancer: Correlation of Relapse and Survival with Amplification. *Science* **1987**, *235* (4785), 177–182. doi: 10.1126/science.3798106.
- (22) Slamon, D.; Godolphin, W.; Jones, L.; Holt, J.; Wong, S.; Keith, D.; Levin, W.; Stuart, S.; Udove, J.; Ullrich, A.; et al. Studies of the HER-2/Neu Proto-Oncogene in Human Breast and Ovarian Cancer. *Science* **1989**, *244* (4905), 707–712. doi: 10.1126/science.2470152.

-
- (23) Geer, P. V.; Hunter, T.; Lindberg, R. A. Receptor Protein-Tyrosine Kinases and Their Signal Transduction Pathways. *Annual Review of Cell Biology* **1994**, *10*, 251–337. doi: 10.1146/annurev.cb.10.110194.001343.
- (24) Ferreira, P. M. P.; Pessoa, C. Molecular Biology of Human Epidermal Receptors, Signaling Pathways and Targeted Therapy against Cancers: New Evidences and Old Challenges. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2017**, *53* (2). doi : 10.1590/s2175-97902017000216076.
- (25) Cowppli-Bony, A.; Colonna, M.; Ligier, K.; Jooste, V.; Defossez, G.; Monnereau, A.; Amadeo, B.; Arveux, P.; Baldi, I.; Bara, S.; Bouvier, A.-M.; Bouvier, V.; Clavel, J.; Colonna, M.; Coureau, G.; Cowppli-Bony, A.; Dalmeida, T.; Daubisse-Marliac, L.; Defossez, G.; Delafosse, P.; Deloumeaux, J.; Grosclaude, P.; Guizard, A.-V.; Joachim, C.; Lacour, B.; Lapôtre-Ledoux, B.; Marrer, E.; Maynadié, M.; Molinié, F.; Monnereau, A.; Nousbaum, J.-B.; Plenet, J.; Plouvier, S.; Pouchieu, C.; Robaszkiewicz, M.; Schwartz, C.; Trétarre, B.; Troussard, X.; Velten, M.; Woronoff, A.-S. Épidémiologie Descriptive des Cancers en France Métropolitaine : Incidence, Survie et Prévalence. *Bulletin du Cancer* **2019**, *106* (7–8), 617–634. doi: 10.1016/j.bulcan.2018.11.016.
- (26) Krag, D. N.; Weaver, D. L.; Alex, J. C.; Fairbank, J. T. Surgical Resection and Radiolocalization of the Sentinel Lymph Node in Breast Cancer Using a Gamma Probe. *Surgical Oncology* **1993**, *2* (6), 335–340. doi: 10.1016/0960-7404(93)90064-6.
- (27) Giuliano, A. E.; Kirgan, D. M.; Guenther, J. M.; Morton, D. L. Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Breast Cancer. *Annals of Surgery* **1994**, *220* (3), 391–401. doi : 10.1016/j.amjsurg.2003.10.028.
- (28) Haute Autorité de Santé- Cancer du sein <https://www.has-sante.fr> (accessed 2019 -09 -02).
- (29) Duraes, M.; Guillot, E.; Seror, J.; Pouget, N.; Rouzier, R. Ganglion Sentinelle et Chimiothérapie Néoadjuvante dans le Cancer du Sein. *Bulletin du Cancer* **2017**, *104* (10), 892–901. doi : 10.1016/j.bulcan.2017.08.003.
- (30) Zeitoun, J.; Babin, G.; Lebrun, J. F. Ganglion Sentinelle et Cancer du Sein : où en est-on en 2019 ? *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie* **2019**, *47* (6), 522–526. doi : 10.1016/j.gofs.2019.04.002.
- (31) Haute Autorité de Santé France. Guide Patient- Affection de Longue Durée - La Prise en Charge du Cancer du Sein https://www.has-sante.fr/jcms/c_927251/fr/ald-n-30-cancer-du-sein (accessed 2020 -06 -12).
- (32) Hannoun-Lévi, J.-M.; Hennequin, C.; Pommier, P.; Izar, F.; Thomas, L.; Le Scodan, R.; Lesaunier, F.; Nguyen, T.; Heymann, S.; Truc, G.; Peiffert, D. Enquête Nationale sur la Curiothérapie dans le Cancer du Sein : État des Lieux et Perspectives en 2009. *Cancer/Radiothérapie* **2010**, *14* (3), 176–182. doi : 10.1016/j.canrad.2010.01.007.
-

- (33) Chand, M.-È.; Rivera, S.; Hennequin, C.; Hannoun-Lévi, J.-M.; Quero, L. Curiethérapie du Cancer du Sein. *Cancer/Radiothérapie* **2013**, *17* (2), 125–129. doi: 10.1016/j.canrad.2013.01.003.
- (34) Loibl, S.; Poortmans, P.; Morrow, M.; Denkert, C.; Curigliano, G. Breast Cancer. *The Lancet* **2021**. doi : 10.1016/S0140-6736(20)32381-3.
- (35) Moussard, C.; Mouglin, C.; Oudet, P. *Biologie Moléculaire, Biochimie Des Communications Cellulaires: Cours*, De Boeck.; Bruxelles, 2005.
- (36) Di Marco, A.; Gaetani, M.; Orezzi, P.; Scarpinato, B. M.; Silvestrini, R.; Soldati, M.; Dasdia, T.; Valentini, L. 'Daunomycin', a New Antibiotic of the Rhodomycin Group. *Nature* **1964**, *201* (4920), 706–707. doi: 10.1038/201706a0.
- (37) Arcamone, F.; Cassinelli, G.; Fantini, G.; Grein, A.; Orezzi, P.; Pol, C.; Spalla, C. Adriamycin, 14-Hydroxydaunomycin, a New Antitumor Antibiotic From *S. Peuceetii* Var. *Caesius*. *Biotechnology and Bioengineering* **1969**, *11* (6), 1101–1110. doi: 10.1002/bit.260110607.
- (38) Arcamone, F.; Barbieri, W.; Franceschi, G.; Penco, S. Conversion of Daunomycin to Adriamycin. *Chimica e l'Industria* **1969**, *51* (8), 834–835.
- (39) Arcamone, F.; Penco, S.; Vigevani, A.; Redaelli, S.; Franchi, G.; Di Marco, A.; Casazza, A. M.; Dasdia, T.; Formelli, F. Synthesis and Antitumor Properties of New Glycosides of Daunomycinone and Adriamycinone. *Journal of Medicinal Chemistry* **1975**, *18* (7), 703–707. doi: 10.1021/jm00241a013.
- (40) Wang, A. H. J.; Ughetto, G.; Quigley, G. J.; Rich, A. Interactions between an Anthracycline Antibiotic and DNA: Molecular Structure of Daunomycin Complexed to d(CpGpTpApCpG) at 1.2-Å Resolution. *Biochemistry* **1987**, *26* (4), 1152–1163. doi: 10.1021/bi00378a025.
- (41) Chaires, J. B.; Fox, K. R.; Herrera, J. E.; Britt, M.; Waring, M. J. Site and Sequence Specificity of the Daunomycin-DNA Interaction. *Biochemistry* **1987**, *26* (25), 8227–8236. doi: 10.1021/bi00399a031.
- (42) Taatjes, D. J.; Gaudiano, G.; Resing, K.; Koch, T. H. Alkylation of DNA by the Anthracycline, Antitumor Drugs Adriamycin and Daunomycin. *Journal of Medicinal Chemistry* **1996**, *39* (21), 4135–4138. doi: 10.1021/jm960519z.
- (43) Hande, K. R. Topoisomerase II Inhibitors. *Update on Cancer Therapeutics* **2008**, *3* (1), 13–26. doi: 10.1016/j.uct.2008.02.001.
- (44) Herman, E. H.; Mhatre, R. M.; Lee, I. P.; Waravdekar, V. S. Prevention of the Cardiotoxic Effects of Adriamycin and Daunomycin in the Isolated Dog Heart. *Experimental Biology and Medicine* **1972**, *140* (1), 234–239. doi: 10.3181/00379727-140-36432.
- (45) Herman, E. H.; Mhatre, R. M.; Chadwick, D. P. Modification of Some of the Toxic Effects of Daunomycin (NSC-82,151) by Pretreatment with the Antineoplastic
-

- Agent ICRF 159 (NSC-129,943). *Toxicology and Applied Pharmacology* **1974**, *27* (3), 517–526. doi: 10.1016/0041-008X(74)90031-3.
- (46) Speyer, J. L.; Green, M. D.; Kramer, E.; Rey, M.; Sanger, J.; Ward, C.; Dubin, N.; Ferrans, V.; Stecy, P.; Zeleniuch-Jacquotte, A.; Wernz, J.; Feit, F.; Slater, W.; Blum, R.; Muggia, F. Protective Effect of the Bispiperazinedione ICRF-187 against Doxorubicin-Induced Cardiac Toxicity in Women with Advanced Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* **1988**, *319* (12), 745–752. doi: 10.1056/NEJM198809223191203.
- (47) Ewer, M. S.; Martin, F. J.; Henderson, I. C.; Shapiro, C. L.; Benjamin, R. S.; Gabizon, A. A. Cardiac Safety of Liposomal Anthracyclines. *Seminars in Oncology* **2004**, *31*, 161–181. doi: 10.1053/j.seminoncol.2004.08.006.
- (48) Gianni, L.; Herman, E. H.; Lipshultz, S. E.; Minotti, G.; Sarvazyan, N.; Sawyer, D. B. Anthracycline Cardiotoxicity: From Bench to Bedside. *Journal of Clinical Oncology* **2008**, *26* (22), 3777–3784. doi: 10.1200/JCO.2007.14.9401.
- (49) Al-Batran, S.-E.; Güntner, M.; Pauligk, C.; Scholz, M.; Chen, R.; Beiss, B.; Stopatschinskaja, S.; Lerbs, W.; Harbeck, N.; Jäger, E. Anthracycline Rechallenge Using Pegylated Liposomal Doxorubicin in Patients with Metastatic Breast Cancer: A Pooled Analysis Using Individual Data from Four Prospective Trials. *British Journal of Cancer* **2010**, *103* (10), 1518–1523. doi: 10.1038/sj.bjc.6605961.
- (50) Steinmetz, M. O.; Prota, A. E. Microtubule-Targeting Agents: Strategies To Hijack the Cytoskeleton. *Trends in Cell Biology* **2018**, *28* (10), 776–792. doi: 10.1016/j.tcb.2018.05.001.
- (51) Mangeney, P.; Andriamialisoa, R. Z.; Lallemand, J.-Y.; Langlois, N.; Langlois, Y.; Potier, P. 5'-Nor Anhydrovinblastine. *Tetrahedron* **1979**, *35* (18), 2175–2179. doi: 10.1016/0040-4020(79)87036-2.
- (52) Jordan, M. A.; Margolis, R. L.; Himes, R. H.; Wilson, L. Identification of a Distinct Class of Vinblastine Binding Sites on Microtubules. *Journal of Molecular Biology* **1986**, *187* (1), 61–73. doi: 10.1016/0022-2836(86)90406-7.
- (53) Johnson, S. A.; Harper, P.; Hortobagyi, G. N.; Pouillart, P. Vinorelbine: An Overview. *Cancer Treatment Reviews* **1996**, *22* (2), 127–142. doi: 10.1016/S0305-7372(96)90032-8.
- (54) Wani, M. C.; Taylor, H. L.; Wall, M. E.; Coggon, P.; McPhail, A. T. Plant Antitumor Agents. VI. Isolation and Structure of Taxol, a Novel Antileukemic and Antitumor Agent from *Taxus Brevifolia*. *Journal of the American Chemical Society* **1971**, *93* (9), 2325–2327. doi: 10.1021/ja00738a045.
- (55) Denis, J. Noel.; Greene, A. E.; Guenard, Daniel.; Gueritte-Voegelein, Françoise.; Mangatal, Lydie.; Potier, Pierre. Highly Efficient, Practical Approach to Natural Taxol. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, *110* (17), 5917–5919. doi: 10.1021/ja00225a063.

- (56) Holton, R. A.; Kim, H. B.; Somoza, C.; Liang, F.; Biediger, R. J.; Boatman, P. D.; Shindo, M.; Smith, C. C.; Kim, S. First Total Synthesis of Taxol. 2. Completion of the C and D Rings. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116* (4), 1599–1600. doi: 10.1021/ja00083a067.
- (57) Holton, R. A.; Somoza, C.; Kim, H. B.; Liang, F.; Biediger, R. J.; Boatman, P. D.; Shindo, M.; Smith, C. C.; Kim, S. First Total Synthesis of Taxol. 1. Functionalization of the B Ring. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116* (4), 1597–1598. doi: 10.1021/ja00083a066.
- (58) Nicolaou, K. C.; Yang, Z.; Liu, J. J.; Ueno, H.; Nantermet, P. G.; Guy, R. K.; Claiborne, C. F.; Renaud, J.; Couladouros, E. A.; Paulvannan, K.; Sorensen, E. J. Total Synthesis of Taxol. *Nature* **1994**, *367* (6464), 630–634. doi: 10.1038/367630a0.
- (59) Commerçon, A.; Bézard, D.; Bernard, F.; Bourzat, J. D. Improved Protection and Esterification of a Precursor of the Taxotere® and Taxol Side Chains. *Tetrahedron Letters* **1992**, *33* (36), 5185–5188. doi: 10.1016/S0040-4039(00)79128-3.
- (60) Guenard, D.; Gueritte-Voegelein, F.; Potier, P. Taxol and Taxotere: Discovery, Chemistry, and Structure-Activity Relationships. *Accounts of Chemical Research* **1993**, *26* (4), 160–167. doi: 10.1021/ar00028a005.
- (61) AFECT. Moutardes à l'azote. In *Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers*; Traité de chimie thérapeutique; TEC & DOC: Paris; Vol. 6, pp 53–71.
- (62) AFECT. Oxazophorines: Cyclophosphamide et Analogues. In *Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers*; Traité de chimie thérapeutique; TEC & DOC: Paris; Vol. 6, pp 85–115.
- (63) Rajski, S. R.; Williams, R. M. DNA Cross-Linking Agents as Antitumor Drugs. *Chemical Reviews* **1998**, *98* (8), 2723–2796. doi: 10.1021/cr9800199.
- (64) Heidelberger, C.; Chaudhuri, N. K.; Danneberg, P.; Mooren, D.; Griesbach, L.; Duschinsky, R.; Schnitzer, R. J.; Plevin, E.; Scheiner, J. Fluorinated Pyrimidines, A New Class of Tumour-Inhibitory Compounds. *Nature* **1957**, *179* (4561), 663–666. doi: 10.1038/179663a0.
- (65) Longley, D. B.; Harkin, D. P.; Johnston, P. G. 5-Fluorouracil: Mechanisms of Action and Clinical Strategies. *Nature Reviews Cancer* **2003**, *3* (5), 330–338. doi: 10.1038/nrc1074.
- (66) Budman, D. R. Capécitabine. *Investigational New Drugs* **2000**, *18* (4), 355–363. doi: 10.1023/A:1006449315650.
- (67) Sherry, A. D.; Mayer, I. A.; Ayala-Peacock, D. N.; Abramson, V. G.; Rexer, B. N.; Chakravarthy, A. B. Combining Adjuvant Radiotherapy With Capecitabine in Chemotherapy-Resistant Breast Cancer: Feasibility, Safety, and Toxicity. *Clinical Breast Cancer* **2020**, *20* (4), 344–352. doi: 10.1016/j.clbc.2020.02.010.

-
- (68) Rajagopalan, P. T. R.; Zhang, Z.; McCourt, L.; Dwyer, M.; Benkovic, S. J.; Hammes, G. G. Interaction of Dihydrofolate Reductase with Methotrexate: Ensemble and Single-Molecule Kinetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, *99* (21), 13481–13486. doi: 10.1073/pnas.172501499.
- (69) Goodsell, D. S. The Molecular Perspective: Methotrexate. *The Oncologist* **1999**, *4* (4), 340–341. doi: 10.1634/theoncologist.4-4-340.
- (70) Wright, J. C.; Weintraub, S. An Evaluation of Folic Acid Antagonists in Adults with Neoplastic Diseases: A Study of 93 Patients with Incurable Neoplasms. *Journal of the National Medical Association* **1951**, *43* (4), 211–240.
- (71) Bonadonna, G.; Brusamolino, E.; Valagussa, P.; Rossi, A.; Brugnattelli, L.; Brambilla, C.; De Lena, M.; Tancini, G.; Bajetta, E.; Musumeci, R.; Veronesi, U. Combination Chemotherapy as an Adjuvant Treatment in Operable Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* **1976**, *294* (8), 405–410. doi: 10.1056/NEJM197602192940801.
- (72) Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Polychemotherapy for Early Breast Cancer: An Overview of the Randomised Trials. *The Lancet* **1998**, *352* (9132), 930–942. doi : 10.1016/S0140-6736(98)03301-7.
- (73) Cancer du Sein- Effets Secondaires des Chimiothérapies <https://www.e-cancer.fr> (accessed 2022 -01 -22).
- (74) Verrill, M. Anthracyclines in Breast Cancer: Therapy and Issues of Toxicity. *The Breast* **2001**, *10*, 8–15. doi: 10.1016/S0960-9776(01)80002-3.
- (75) Beatson, G. T. On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: suggestions for a new method of treatment, with illustrative cases. *The Lancet* **1896**, *148*, 104–107. doi: 10.1016/S0140-6736(01)72384-7.
- (76) Harper, M. J. K.; Walpole, A. L. Contrasting Endocrine Activities of Cis and Trans Isomers in a Series of Substituted Triphenylethylenes. *Nature* **1966**, *212* (5057), 87–87. doi: 10.1038/212087a0.
- (77) Jordan, V. C.; Collins, M. M.; Rowsby, L.; Prestwich, G. A Monohydroxylated Metabolite of Tamoxifen with Potent Antioestrogenic Activity. *Journal of Endocrinology* **1977**, *75* (2), 305–316. doi: 10.1677/joe.0.0750305.
- (78) Lee, O.; Page, K.; Ivancic, D.; Helenowski, I.; Parini, V.; Sullivan, M. E.; Margenthaler, J. A.; Chatterton, R. T.; Jovanovic, B.; Dunn, B. K.; Heckman-Stoddard, B. M.; Foster, K.; Muzzio, M.; Shklovskaya, J.; Skripkauskas, S.; Kulesza, P.; Green, D.; Hansen, N. M.; Bethke, K. P.; Jeruss, J. S.; Bergan, R.; Khan, S. A. A Randomized Phase II Presurgical Trial of Transdermal 4-Hydroxytamoxifen Gel versus Oral Tamoxifen in Women with Ductal Carcinoma *In Situ* of the Breast. *Clinical Cancer Research* **2014**, *20* (14), 3672–3682. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-3045.
- (79) van Leeuwen, F. E.; van den Belt-Dusebout, A. W.; van Leeuwen, F. E.; Benraadt, J.; Diepenhorst, F. W.; van Tinteren, H.; Coebergh, J. W. W.; Kiemeneij, L. A. L. M.;
-

- Gimbrère, C. H. F.; Otter, R.; Schouten, L. J.; Damhuis, R. A. M.; Benraadt, J.; Bontenbal, M. Risk of Endometrial Cancer after Tamoxifen Treatment of Breast Cancer. *The Lancet* **1994**, *343* (8895), 448–452. doi: 10.1016/S0140-6736(94)92692-1.
- (80) Swerdlow, A.; Jones, M. Endometrial Cancer Risk Remained Elevated Years after Stopping Tamoxifen Treatment for Breast Cancer. *Evidence-based Obstetrics & Gynecology* **2005**, *7* (4), 211–212. doi: 10.1016/j.ebobgyn.2005.09.013.
- (81) de Cremoux, P. Hormone therapy and breast cancer. *Bulletin du Cancer* **2011**, *98* (11), 1311–1319. doi : 10.1684/bdc.2011.1466.
- (82) Giudici, D.; Ornati, G.; Briatico, G.; Buzzetti, F.; Lombardi, P.; di Salle, E. 6-Methylenandrosta-1,4-Diene-3,17-Dione (FCE 24304): A New Irreversible Aromatase Inhibitor. *Journal of Steroid Biochemistry* **1988**, *30* (1–6), 391–394. doi: 10.1016/0022-4731(88)90129-X.
- (83) di Salle, E.; Ornati, G.; Giudici, D.; Lassus, M.; Evans, T. R. J.; Coombes, R. C. Exemestane (FCE 24304), A New Steroidal Aromatase Inhibitor. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **1992**, *43* (1–3), 137–143. doi: 10.1016/0960-0760(92)90198-R.
- (84) Lombardi, P. Exemestane, a New Steroidal Aromatase Inhibitor of Clinical Relevance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **2002**, *1587* (2–3), 326–337. doi: 10.1016/S0925-4439(02)00096-0.
- (85) Bhatnagar, A. S.; Häusler, A.; Schieweck, K.; Lang, M.; Bowman, R. Highly Selective Inhibition of Estrogen Biosynthesis by CGS 20267, a New Non-Steroidal Aromatase Inhibitor. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **1990**, *37* (6), 1021–1027. doi: 10.1016/0960-0760(90)90460-3.
- (86) Limonta, P.; Marelli, M. M.; Moretti, R. M. LHRH Analogues as Anticancer Agents: Pituitary and Extrapituitary Sites of Action. *Expert Opinion on Investigational Drugs* **2001**, *10* (4), 709–720. doi: 10.1517/13543784.10.4.709.
- (87) Daguene, E.; Jmour, O.; Vallard, A.; Guy, J.-B.; Jacquin, J.-P.; Méry, B.; Magné, N. Analogues de la LH-RH dans le Traitement Hormonal Adjuvant dans les Cancers du Sein Localisés de la Femme Pré-Ménopausée : la Fin d'une Controverse pour de Nouvelles Recommandations ? *Bulletin du Cancer* **2019**, *106* (4), 342–353. doi: 10.1016/j.bulcan.2019.01.012.
- (88) Chang, M. Tamoxifen Resistance in Breast Cancer. *Biomolecules & Therapeutics* **2012**, *20* (3), 256–267. doi: 10.4062/biomolther.2012.20.3.256.
- (89) Miller, W. R.; Larionov, A. A. Understanding the Mechanisms of Aromatase Inhibitor Resistance. *Breast Cancer Research* **2012**, *14* (1). doi: 10.1186/bcr2931.
- (90) Molina, M. A.; Codony-Servat, J.; Albanell, J.; Rojo, F.; Arribas, J.; Baselga, J. Trastuzumab (Herceptin), a Humanized Anti-HER2 Receptor Monoclonal
-

-
- Antibody, Inhibits Basal and Activated HER2 Ectodomain Cleavage in Breast Cancer Cells. *Cancer Research* **2001**, *61* (12), 4744–4749.
- (91) Yakes, F. M.; Chinratanalab, W.; Ritter, C. A.; King, W.; Seelig, S.; Arteaga, C. L. Herceptin-Induced Inhibition of Phosphatidylinositol-3 Kinase and Akt Is Required for Antibody-Mediated Effects on P27, Cyclin D1, and Antitumor Action. *Cancer Research* **2002**, *62*, 4132–4141.
- (92) Smith, I.; Procter, M.; Gelber, R. D.; Guillaume, S.; Feyereislova, A.; Dowsett, M.; Goldhirsch, A.; Untch, M.; Mariani, G.; Baselga, J.; Kaufmann, M.; Cameron, D.; Bell, R.; Bergh, J.; Coleman, R.; Wardley, A.; Harbeck, N.; Lopez, R. I.; Mallmann, P.; Gelmon, K.; Wilcken, N.; Wist, E.; Sánchez Rovira, P.; Piccart-Gebhart, M. J. 2-Year Follow-up of Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer: A Randomised Controlled Trial. *The Lancet* **2007**, *369* (9555), 29–36. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60028-2.
- (93) Cardoso, F.; Piccart, M. J.; Durbecq, V.; Di Leo, A. Resistance to Trastuzumab: A Necessary Evil or a Temporary Challenge? *Clinical Breast Cancer* **2002**, *3* (4), 247–257. doi: 10.3816/CBC.2002.n.028.
- (94) Beuzeboc, P. Indications de l’Herceptin® dans le Traitement du Cancer du Sein. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* **2004**, *32* (2), 164–172. doi: 10.1016/j.gyobfe.2003.12.006.
- (95) Guerin, M.; Sabatier, R.; Gonçalves, A. Autorisation de Mise sur le Marché du Trastuzumab Emtansine (Kadcyla®) dans les Cancers du Sein Métastatiques HER2-positifs. *Bulletin du Cancer* **2015**, *102* (4), 390–397. doi: 10.1016/j.bulcan.2015.02.007.
- (96) LoRusso, P. M.; Weiss, D.; Guardino, E.; Girish, S.; Sliwkowski, M. X. Trastuzumab Emtansine: A Unique Antibody-Drug Conjugate in Development for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Cancer. *Clin Cancer Res* **2011**, *17* (20), 6437–6447. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0762.
- (97) García-Alonso, S.; Ocaña, A.; Pandiella, A. Trastuzumab Emtansine: Mechanisms of Action and Resistance, Clinical Progress, and Beyond. *Trends in Cancer* **2020**, *6* (2), 130–146. doi : 10.1016/j.trecan.2019.12.010.
- (98) Haute Autorité de Santé France. Commission de La Transparence-Trastuzumab Emtansine. May 2020.
- (99) TYVERB (lapatinib), Inhibiteur de la Tyrosine Kinase https://www.has-sante.fr/jcms/c_1756827/fr/tyverb-lapatinib-inhibiteur-de-la-tyrosine-kinase (accessed 2021 -04 -12).
- (100) Yamauchi, H.; LaFortune, T.; Ueno, N. T. Lapatinib in the Treatment of Breast Cancer. *Clinical Medicine. Therapeutics* **2009**, *1*, CMT.S52. doi: 10.4137/CMT.S52.
-

- (101) Grellety, T. Cancer du Sein Triple Négatif Exprimant le Récepteur aux Androgènes : de la Biologie à la Thérapeutique. *Bull. Cancer* **2020**, No. 107, 506–516. doi: 10.1016/j.bulcan.2019.12.012.
- (102) Dalenc, F.; Sarradin, V.; Nicolai, V.; Franchet, C.; Ung, M. PARPi, Immunothérapies et Anticorps Monoclonaux Conjugués dans les Cancers du Sein Triple-Négatifs. *Bulletin du Cancer* **2021**, *108* (1), 67–79. doi: 10.1016/j.bulcan.2020.11.007.
- (103) Wang, B.; Chu, D.; Feng, Y.; Shen, Y.; Aoyagi-Scharber, M.; Post, L. E. Discovery and Characterization of (8*S*,9*R*)-5-Fluoro-8-(4-Fluorophenyl)-9-(1-Methyl-1*H*-1,2,4-Triazol-5-yl)-2,7,8,9-Tetrahydro-3*H*-Pyrido[4,3,2-de]Phthalazin-3-One (BMN 673, Talazoparib), a Novel, Highly Potent, and Orally Efficacious Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1/2 Inhibitor, as an Anticancer Agent. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *59* (1), 335–357. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01498.
- (104) Menear, K. A.; Adcock, C.; Boulter, R.; Cockcroft, X.; Copsey, L.; Cranston, A.; Dillon, K. J.; Drzewiecki, J.; Garman, S.; Gomez, S.; Javid, H.; Kerrigan, F.; Knights, C.; Lau, A.; Loh, V. M.; Matthews, I. T. W.; Moore, S.; O'Connor, M. J.; Smith, G. C. M.; Martin, N. M. B. 4-[3-(4-Cyclopropanecarbonylpiperazine-1-Carbonyl)-4-Fluorobenzyl]-2*H*-Phthalazin-1-One: A Novel Bioavailable Inhibitor of Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, *51* (20), 6581–6591. doi: 10.1021/jm8001263.
- (105) Sabatier, R.; Finetti, P.; Mamessier, E.; Adelaide, J.; Chaffanet, M.; Ali, H. R.; Viens, P.; Caldas, C.; Birnbaum, D.; Bertucci, F. Prognostic and Predictive Value of PDL1 Expression in Breast Cancer. *Oncotarget* **2015**, *6* (7), 5449–5464. doi: 10.18632/oncotarget.3216.
- (106) Uhercik, M.; Sanders, A. J.; Owen, S.; Davies, E. L.; Sharma, A. K.; Jiang, W. G.; Mokbel, K. Clinical Significance of PD1 and PDL1 in Human Breast Cancer. *Anticancer Research* **2017**, *37* (8), 4249–4254. doi: 10.21873/anticancer.11817.
- (107) Alsaab, H. O.; Sau, S.; Alzhrani, R.; Tatiparti, K.; Bhise, K.; Kashaw, S. K.; Iyer, A. K. PD-1 and PD-L1 Checkpoint Signaling Inhibition for Cancer Immunotherapy: Mechanism, Combinations, and Clinical Outcome. *Frontiers in Pharmacology* **2017**, *8*, 561. doi: 10.3389/fphar.2017.00561.
- (108) Wei, S. C.; Duffy, C. R.; Allison, J. P. Fundamental Mechanisms of Immune Checkpoint Blockade Therapy. *Cancer Discovery* **2018**, *8* (9), 1069–1086. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-0367.
- (109) Schmid, P.; Cortes, J.; Pusztai, L.; McArthur, H.; Kümmel, S.; Bergh, J.; Denkert, C.; Park, Y. H.; Hui, R.; Harbeck, N.; Takahashi, M.; Foukakis, T.; Fasching, P. A.; Cardoso, F.; Untch, M.; Jia, L.; Karantza, V.; Zhao, J.; Aktan, G.; Dent, R.; O'Shaughnessy, J. Pembrolizumab for Early Triple-Negative Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* **2020**, *382* (9), 810–821. doi: 10.1056/NEJMoa1910549.

-
- (110) Winer, E. P.; Lipatov, O.; Im, S.-A.; Goncalves, A.; Muñoz-Couselo, E.; Lee, K. S.; Schmid, P.; Tamura, K.; Testa, L.; Witzel, I.; Ohtani, S.; Turner, N.; Zambelli, S.; Harbeck, N.; Andre, F.; Dent, R.; Zhou, X.; Karantza, V.; Mejia, J.; Cortes, J. Pembrolizumab versus Investigator-Choice Chemotherapy for Metastatic Triple-Negative Breast Cancer (KEYNOTE-119): A Randomised, Open-Label, Phase 3 Trial. *The Lancet Oncology* **2021**, *22* (4), 499–511. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30754-3.
- (111) Collège de la Haute Autorité de santé. Décision n°2021.0245/DP/SEM du 4 novembre 2021 de la Présidente de la Haute Autorité de Santé prise au nom du collège portant autorisation d'accès précoce de la spécialité Keytruda. November 4, 2021.
- (112) Trerotola, M.; Cantanelli, P.; Guerra, E.; Tripaldi, R.; Aloisi, A. L.; Bonasera, V.; Lattanzio, R.; Lange, R. de; Weidle, U. H.; Piantelli, M.; Alberti, S. Upregulation of Trop-2 Quantitatively Stimulates Human Cancer Growth. *Oncogene* **2013**, *32* (2), 222–233. doi: 10.1038/onc.2012.36.
- (113) Stirrups, R. Sacituzumab Govitecan-Hziy for Triple-Negative Breast Cancer. *The Lancet Oncology* **2019**, *20* (4), e194. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30074-9.
- (114) Dong, W.; Shi, J.; Yuan, T.; Qi, B.; Yu, J.; Dai, J.; He, L. Antibody-Drug Conjugates of 7-Ethyl-10-Hydroxycamptothecin: Sacituzumab Govitecan and Labetuzumab Govitecan. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *167*, 583–593. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.02.017.
- (115) Collège de la Haute Autorité de santé. Décision n°2021.0228/DC/SEM du 2 septembre 2021 du collège de la Haute Autorité de santé portant autorisation d'accès précoce de la spécialité TRODELVY 180mg (sacituzumab govitecan). September 2, 2021.
- (116) Sohda, T.; Mizuno, K.; Imamiya, E.; Sugiyama, Y.; Fujita, T.; Kawamatsu, Y. Studies on Antidiabetic Agents. II. Synthesis of 5-(4-(1-Methylcyclohexylmethoxy)-Benzyl)Thiazolidine-2,4-Dione (ADD-3878) and Its Derivatives. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1982**, *30* (10), 3580–3600. doi: 10.1248/cpb.30.3580.
- (117) Fujiwara, T.; Yoshioka, S.; Yoshioka, T.; Ushiyama, I.; Horikoshi, H. Characterization of New Oral Antidiabetic Agent CS-045. *Diabetes* **1988**, *37* (11), 1549–1558. doi: 10.2337/diab.37.11.1549.
- (118) Food Drug Administration. Approval Letter for Rezulin. 1997.
- (119) European Medicines Agency. European Public Assessment Report for Avandia (Rosiglitazone). 2010.
- (120) European Medicines Agency. European Public Assessment Report for Actos (Pioglitazone).
- (121) Facts & figures <https://www.idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes/facts-figures.html> (accessed 2021 -04 -26).
-

- (122) Olefsky, J. M. Treatment of Insulin Resistance with Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Agonists. *Journal of Clinical Investigation* **2000**, *106* (4), 467–472. doi : 10.1172/JCI10843.
- (123) Blicklé, J.-F. Protection Bêta-cellulaire par les Thiazolidinediones : Quelles Preuves Aujourd’hui ? *Médecine des Maladies Métaboliques* **2007**, *1* (1), 79–85. doi: 10.1016/S1957-2557(07)88665-2.
- (124) Lehmanns, J. M.; Moore, L. B.; Smith-Oliver, T. A.; Willsonll, T. M.; Kliewer-t, S. A. An Antidiabetic Thiazolidinedione Is a High Affinity Ligand for Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (PPAR γ). *Journal of Biological Chemistry* **1995**, *270* (22), 12953–12956. doi: 10.1074/jbc.270.22.12953.
- (125) Rangwala, S. M.; Lazar, M. A. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ in Diabetes and Metabolism. *Trends in Pharmacological Sciences* **2004**, *25* (6), 331–336. doi: 10.1016/j.tips.2004.03.012.
- (126) Wahli, W.; Braissant, O.; Desvergne, B. Peroxisome Proliferator Activated Receptors: Transcriptional Regulators of Adipogenesis, Lipid Metabolism and More.... *Chemistry & Biology* **1995**, *2* (5), 261–266. doi: 10.1016/1074-5521(95)90045-4.
- (127) Lebovitz, H. E. Rationale for and Role of Thiazolidinediones in Type 2 Diabetes Mellitus. *The American Journal of Cardiology* **2002**, *90* (5A), 34G–41G. doi: 10.1016/s0002-9149(02)02557-2.
- (128) Gaborit, B.; Andreelli, F. Mécanismes de l’Action Antidiabétique des Thiazolidinediones. Anti-hyperglycemic effects of thiazolidinediones. *Nutrition clinique et métabolisme* **2008**, *22* (2), 84–87. doi : 10.1016/j.nupar.2007.12.001.
- (129) Debais, F. Thiazolidinediones: Antidiabetic agents with effects on bone. *Joint Bone Spine* **2009**, *76* (3), 221–223. doi: 10.1016/j.jbspin.2009.01.005.
- (130) Nissen, S. E.; Wolski, K. Rosiglitazone Revisited: An Updated Meta-Analysis of Risk for Myocardial Infarction and Cardiovascular Mortality. *Archives of Internal Medicine* **2010**, *170* (14), 1191–1201. doi : 10.1001/archinternmed.2010.207.
- (131) Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé. Suspension de l’Utilisation des Médicaments Contenant de la Pioglitazone (Actos®, Competact®) - Lettre aux professionnels de santé <https://archiveansm.integra.fr> (accessed 2021 -05 -17).
- (132) Ault, A. Troglitazone May Cause Irreversible Liver Damage. *The Lancet* **1997**, *350*, 1451. doi: 10.1016/S0140-6736(05)64216-X.
- (133) Graham, D. J.; Green, L.; Senior, J. R.; Nourjah, P. Troglitazone-Induced Liver Failure: A Case Study. *The American Journal of Medicine* **2003**, *114* (4), 299–306. doi: 10.1016/S0002-9343(02)01529-2.

-
- (134) Smith, M. T. Mechanisms of Troglitazone Hepatotoxicity. *Chemical Research in Toxicology* **2003**, *16* (6), 679–687. doi: 10.1021/tx034033e.
- (135) Saha, S.; New, L. S.; Ho, H. K.; Chui, W. K.; Chan, E. C. Y. Direct Toxicity Effects of Sulfo-Conjugated Troglitazone on Human Hepatocytes. *Toxicology Letters* **2010**, *195* (2–3), 135–141. doi: 10.1016/j.toxlet.2010.03.010.
- (136) Saha, S.; New, L. S.; Ho, H. K.; Chui, W. K.; Chan, E. C. Y. Investigation of the Role of the Thiazolidinedione Ring of Troglitazone in Inducing Hepatotoxicity. *Toxicology Letters* **2010**, *192* (2), 141–149. doi: 10.1016/j.toxlet.2009.10.014.
- (137) Bova, M. P.; Tam, D.; McMahon, G.; Mattson, M. N. Troglitazone Induces a Rapid Drop of Mitochondrial Membrane Potential in Liver HepG2 Cells. *Toxicology Letters* **2005**, *155* (1), 41–50. doi: 10.1016/j.toxlet.2004.08.009.
- (138) Rachek, L. I.; Yuzefovych, L. V.; LeDoux, S. P.; Julie, N. L.; Wilson, G. L. Troglitazone, but Not Rosiglitazone, Damages Mitochondrial DNA and Induces Mitochondrial Dysfunction and Cell Death in Human Hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2009**, *240* (3), 348–354. doi: 10.1016/j.taap.2009.07.021.
- (139) Mazerbourg, S.; Kuntz, S.; Grillier-Vuissoz, I.; Berthe, A.; Geoffroy, M.; Flament, S.; Bordessa, A.; Boisbrun, M. Reprofilng of Troglitazone Towards More Active and Less Toxic Derivatives: A New Hope for Cancer Treatment? *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2016**, *16* (19), 2115–2124. doi: 10.2174/15680266166666160216153036.
- (140) Tontonoz, P.; Singer, S.; Forman, B. M.; Sarraf, P.; Fletcher, J. A.; Fletcher, C. D. M.; Brun, R. P.; Mueller, E.; Altiock, S.; Oppenheim, H.; Evans, R. M.; Spiegelman, B. M. Terminal Differentiation of Human Liposarcoma Cells Induced by Ligands for Peroxisome Proliferator-Activated Receptor and the Retinoid X Receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1997**, *94* (1), 237–241. doi: 10.1073/pnas.94.1.237.
- (141) Mueller, E.; Sarraf, P.; Tontonoz, P.; Evans, R. M.; Martin, K. J.; Zhang, M.; Fletcher, C.; Singer, S.; Spiegelman, B. M. Terminal Differentiation of Human Breast Cancer through PPAR-Gamma. *Molecular Cell* **1998**, *1* (3), 465–470. doi: 10.1016/s1097-2765(00)80047-7.
- (142) Elstner, E.; Muller, C.; Koshizuka, K.; Williamson, E. A.; Park, D.; Asou, H.; Shintaku, P.; Said, J. W.; Heber, D.; Koeffler, H. P. Ligands for Peroxisome Proliferator-Activated Receptor and Retinoic Acid Receptor Inhibit Growth and Induce Apoptosis of Human Breast Cancer Cells in Vitro and in BNX Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1998**, *95* (15), 8806–8811. doi: 10.1073/pnas.95.15.8806.
- (143) Kim, K. Y.; Kim, S. S.; Cheon, H. G. Differential Anti-Proliferative Actions of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Agonists in MCF-7 Breast Cancer Cells. *Biochemical Pharmacology* **2006**, *72* (5), 530–540. doi: 10.1016/j.bcp.2006.05.009.
-

- (144) Blanquicett, C.; Roman, J.; Hart, C. M. Thiazolidinediones as Anti-Cancer Agents. *Cancer Therapy* **2008**, *6A*, 25–34.
- (145) Joshi, H.; Pal, T.; Ramaa, C. A New Dawn for the Use of Thiazolidinediones in Cancer Therapy. *Expert Opinion on Investigational Drugs* **2014**, *23* (4), 501–510. doi: 10.1517/13543784.2014.884708.
- (146) He, G.; Thuillier, P.; Fischer, S. M. Troglitazone Inhibits Cyclin D1 Expression and Cell Cycling Independently of PPAR γ in Normal Mouse Skin Keratinocytes. *Journal of Investigative Dermatology* **2004**, *123* (6), 1110–1119. doi: 10.1111/j.0022-202X.2004.23465.x.
- (147) Bae, M. Troglitazone but Not Rosiglitazone Induces G1 Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human and Rat Hepatoma Cell Lines. *Toxicology Letters* **2003**, *139* (1), 67–75. doi: 10.1016/S037842740200468X.
- (148) Yin, F.; Wakino, S.; Liu, Z.; Kim, S.; Hsueh, W. A.; Collins, A. R.; Herle, A. J. V.; Law, R. E. Troglitazone Inhibits Growth of MCF-7 Breast Carcinoma Cells by Targeting G1 Cell Cycle Regulators. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2001**, *286* (5), 916–922. doi: 10.1006/bbrc.2001.5491.
- (149) Okura, T.; Nakamura, M.; Takata, Y.; Watanabe, S.; Kitami, Y.; Hiwada, K. Troglitazone Induces Apoptosis via the P53 and Gadd45 Pathway in Vascular Smooth Muscle Cells. *European Journal of Pharmacology* **2000**, *407* (3), 227–235. doi: 10.1016/S0014-2999(00)00758-5.
- (150) Fujita, M.; Yagami, T.; Fujio, M.; Tohji, C.; Takase, K.; Yamamoto, Y.; Sawada, K.; Yamamori, M.; Okamura, N. Cytotoxicity of Troglitazone through PPAR γ -Independent Pathway and P38 MAPK Pathway in Renal Cell Carcinoma. *Cancer Letters* **2011**, *312* (2), 219–227. doi: 10.1016/j.canlet.2011.08.010.
- (151) Kumei, S.; Motomura, W.; Yoshizaki, T.; Takakusaki, K.; Okumura, T. Troglitazone Increases Expression of E-Cadherin and Claudin 4 in Human Pancreatic Cancer Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2009**, *380* (3), 614–619. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.01.134.
- (152) Berx, G.; Roy, F. V. The E-Cadherin/Catenin Complex: An Important Gatekeeper in Breast Cancer Tumorigenesis and Malignant Progression. *Breast Cancer Research* **2001**, *3* (5), 289. doi: 10.1186/bcr309.
- (153) Wijnhoven, B. P. L.; Dinjens, W. N. M.; Pignatelli, M. E-Cadherin—Catenin Cell—Cell Adhesion Complex and Human Cancer. *British Journal of Surgery* **2002**, *87* (8), 992–1005. doi: 10.1046/j.1365-2168.2000.01513.x.
- (154) Kowalski, P. J.; Rubin, M. A.; Kleer, C. G. E-Cadherin Expression in Primary Carcinomas of the Breast and Its Distant Metastases. *Breast Cancer Research* **2003**, *5* (6), R217–R222. doi: 10.1186/bcr651.
- (155) Paredes, J.; Figueiredo, J.; Albergaria, A.; Oliveira, P.; Carvalho, J.; Ribeiro, A. S.; Caldeira, J.; Costa, Â. M.; Simões-Correia, J.; Oliveira, M. J.; Pinheiro, H.; Pinho, S. S.;
-

- Mateus, R.; Reis, C. A.; Leite, M.; Fernandes, M. S.; Schmitt, F.; Carneiro, F.; Figueiredo, C.; Oliveira, C.; Seruca, R. Epithelial E- and P-Cadherins: Role and Clinical Significance in Cancer. *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* **2012**, *1826* (2), 297–311. doi: 10.1016/j.bbcan.2012.05.002.
- (156) Abd-Elazeem, M. A.; Abd-Elazeem, M. A. Claudin 4 Expression in Triple-Negative Breast Cancer: Correlation with Androgen Receptors and Ki-67 Expression. *Annals of Diagnostic Pathology* **2015**, *19* (1), 37–42. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2014.10.003.
- (157) Duarte, G. M.; Almeida, N. R.; Tocchet, F.; Espinola, J.; Barreto, C. T. de R.; Pinto, G. A.; Soares, F. A.; Marshall, P.; Russano de Paiva Silva, G. Claudin-4 Expression Is Associated With Disease-Free Survival in Breast Carcinoma-in-Situ: Mean Follow-up of 8.2 Years. *Clinical Breast Cancer* **2018**, *18* (5), e1111–e1116. doi: 10.1016/j.clbc.2018.06.005.
- (158) Wei, S.; Yang, J.; Lee, S.-L.; Kulp, S. K.; Chen, C.-S. PPAR γ -Independent Antitumor Effects of Thiazolidinediones. *Cancer Letters* **2009**, *276* (2), 119–124. doi: 10.1016/j.canlet.2008.08.008.
- (159) Wei, S.; Kulp, S. K.; Chen, C.-S. Energy Restriction as an Antitumor Target of Thiazolidinediones. *Journal of Biological Chemistry* **2010**, *285* (13), 9780–9791. doi: 10.1074/jbc.M109.065466.
- (160) Huang, J.-W.; Shiau, C.-W.; Yang, Y.-T.; Kulp, S. K.; Chen, K.-F.; Brueggemeier, R. W.; Shapiro, C. L.; Chen, C.-S. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ -Independent Ablation of Cyclin D1 by Thiazolidinediones and Their Derivatives in Breast Cancer Cells. *Molecular Pharmacology* **2005**, *67* (4), 1342–1348. doi: 10.1124/mol.104.007732.
- (161) Lecomte, J.; Flament, S.; Salamone, S.; Boisbrun, M.; Mazerbourg, S.; Chapleur, Y.; Grillier-Vuissoz, I. Disruption of ER α Signalling Pathway by PPAR γ Agonists: Evidences of PPAR γ -Independent Events in Two Hormone-Dependent Breast Cancer Cell Lines. *Breast Cancer Research and Treatment* **2008**, *112* (3), 437–451. doi: 10.1007/s10549-007-9886-z.
- (162) Colin, C.; Salamone, S.; Grillier-Vuissoz, I.; Boisbrun, M.; Kuntz, S.; Lecomte, J.; Chapleur, Y.; Flament, S. New Troglitazone Derivatives Devoid of PPAR γ Agonist Activity Display an Increased Antiproliferative Effect in Both Hormone-Dependent and Hormone-Independent Breast Cancer Cell Lines. *Breast Cancer Research and Treatment* **2010**, *124* (1), 101–110. doi: 10.1007/s10549-009-0700-y.
- (163) Berthe, A.; Flament, S.; Grandemange, S.; Zaffino, M.; Boisbrun, M.; Mazerbourg, S. Δ 2-Troglitazone Promotes Cytostatic Rather than pro-Apoptotic Effects in Breast Cancer Cells Cultured in High Serum Conditions. *Cell Cycle* **2016**, *15* (24), 3402–3412. doi: 10.1080/15384101.2016.1245248.
- (164) Lee, K.-S.; Park, J.-H.; Lee, S.; Lim, H.-J.; Jang, Y.; Park, H.-Y. Troglitazone Inhibits Endothelial Cell Proliferation through Suppression of Casein Kinase 2 Activity.

- Biochemical and Biophysical Research Communications* **2006**, 346 (1), 83–88. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.05.069.
- (165) Horikoshi, H.; Yoshioka, T. Troglitazone - a Novel Antidiabetic Drug for Treating Insulin Resistance. *Drug Discovery Today* **1998**, 3 (2), 79–88. doi: 10.1016/S1359-6446(97)01115-X.
- (166) Ashburn, T. T.; Thor, K. B. Drug Repositioning: Identifying and Developing New Uses for Existing Drugs. *Nature Reviews Drug Discovery* **2004**, 3 (8), 673–683. doi: 10.1038/nrd1468.
- (167) Salamone, S.; Colin, C.; Grillier-Vuissoz, I.; Kuntz, S.; Mazerbourg, S.; Flament, S.; Martin, H.; Richert, L.; Chapleur, Y.; Boisbrun, M. Synthesis of New Troglitazone Derivatives: Anti-Proliferative Activity in Breast Cancer Cell Lines and Preliminary Toxicological Study. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, 51, 206–215. doi: 10.1016/j.ejmech.2012.02.044.
- (168) Bordessa, A.; Colin-Cassin, C.; Grillier-Vuissoz, I.; Kuntz, S.; Mazerbourg, S.; Husson, G.; Vo, M.; Flament, S.; Martin, H.; Chapleur, Y.; Boisbrun, M. Optimization of Troglitazone Derivatives as Potent Anti-Proliferative Agents: Towards More Active and Less Toxic Compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, 83, 129–140. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.06.015.
- (169) Boisbrun, M.; Chapleur, Y.; Bordessa, A.; Flament, S.; Grillier-Vuissoz, I.; Kuntz, S. Thiazolidinedione Derivatives, Preparation Thereof and Use Thereof in Cancer Treatment. FR2986231.
- (170) Dupommier, D.; Muller, C.; Comoy, C.; Mazerbourg, S.; Bordessa, A.; Piquard, E.; Pawlak, M.; Piquard, F.; Martin, H.; De Fays, E.; Grandemange, S.; Flament, S.; Boisbrun, M. New Desulfured Troglitazone Derivatives: Improved Synthesis and Biological Evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, 187, 111939. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.111939.
- (171) Zoete, V.; Grosdidier, A.; Michielin, O. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Structures: Ligand Specificity, Molecular Switch and Interactions with Regulators. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* **2007**, 1771 (8), 915–925. doi: 10.1016/j.bbalip.2007.01.007.
- (172) Dupommier, D. Etude de La Fonctionnalisation de 5-Benzylidèthiazolidine-2,4-Diones et Application à La Synthèse de Nouveaux Composés à Visée Anticancéreuse, Université de Lorraine, Ecole Doctorale C2MP, Nancy, 2020.
- (173) Hyatt, J. A. Convenient Preparation of 2,7,8-Trimethyl-6-hydroxychroman-2-carboxylic Acid (Γ -Trolox). *Synthetic Communications* **2007**, 38 (1), 8–14. doi: 10.1080/00397910701648728.
- (174) Ingold, M.; López, G. V.; Porcal, W. Green Conditions for Passerini Three-Component Synthesis of Tocopherol Analogues. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* **2014**, 2 (5), 1093–1097. doi: 10.1021/sc5002116.
-

- (175) Tietze, L. F.; Ketschau, G. Hetero Diels-Alder Reactions in Organic Chemistry. In *Stereoselective Heterocyclic Synthesis I*; Metz, P., Ed.; de Meijere, A., Houk, K. N., Lehn, J.-M., Ley, S. V., Thiem, J., Trost, B. M., Vögtle, F., Yamamoto, H., Series Eds.; Topics in Current Chemistry; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1997; Vol. 189, pp 1–120. doi: 10.1007/BFb0119240.
- (176) Brackman, G.; Al Quntar, A. A. A.; Enk, C. D.; Karalic, I.; Nelis, H. J.; Van Calenbergh, S.; Srebnik, M.; Coenye, T. Synthesis and Evaluation of Thiazolidinedione and Dioxazaborocane Analogues as Inhibitors of AI-2 Quorum Sensing in *Vibrio Harveyi*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2013**, *21* (3), 660–667. doi: 10.1016/j.bmc.2012.11.055.
- (177) Lee, J. C.; Yuk, J. Y.; Cho, S. H. Facile Synthesis of Alkyl Phenyl Ethers Using Cesium Carbonate. *Synthetic Communications* **1995**, *25* (9), 1367–1370. doi: 10.1080/00397919508013838.
- (178) Parrish, J. P.; Sudaresan, B.; Jung, K. W. Improved Cs₂CO₃ Promoted *O*-Alkylation of Phenols. *Synthetic Communications* **1999**, *29* (24), 4423–4431. doi: 10.1080/00397919908086606.
- (179) Dijkstra, G.; Kruizinga, W. H.; Kellogg, R. M. An Assessment of the Causes of the “Cesium Effect.” *The Journal of Organic Chemistry* **1987**, *52* (19), 4230–4234. doi: 10.1021/jo00228a015.
- (180) Rabal, O.; Sánchez-Arias, J. A.; Cuadrado-Tejedor, M.; de Miguel, I.; Pérez-González, M.; García-Barroso, C.; Ugarte, A.; Estella-Hermoso de Mendoza, A.; Sáez, E.; Espelosin, M.; Ursua, S.; Haizhong, T.; Wei, W.; Musheng, X.; Garcia-Osta, A.; Oyarzabal, J. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of First-in-Class Dual Acting Histone Deacetylases (HDACs) and Phosphodiesterase 5 (PDE5) Inhibitors for the Treatment of Alzheimer’s Disease. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *59* (19), 8967–9004. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00908.
- (181) Via, L. D.; Gia, O.; Chiarello, G.; Ferlin, M. G. DNA-Targeting Pyrroloquinoline-Linked Butenone and Chalcones: Synthesis and Biological Evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *44* (7), 2854–2861. doi: 10.1016/j.ejmech.2008.12.011.
- (182) Bellamy, F. D.; Ou, K. Selective Reduction of Aromatic Nitro Compounds with Stannous Chloride in Non Acidic and Non Aqueous Medium. *Tetrahedron Letters* **1984**, *25* (8), 839–842. doi: 10.1016/S0040-4039(01)80041-1.
- (183) Omura, K.; Swern, D. Oxidation of Alcohols by “Activated” Dimethyl Sulfoxide. a Preparative, Steric and Mechanistic Study. *Tetrahedron* **1978**, *34* (11), 1651–1660. doi: 10.1016/0040-4020(78)80197-5.
- (184) Simoni, D.; Roberti, M.; Invidiata, F. P.; Rondanin, R.; Baruchello, R.; Malagutti, C.; Mazzali, A.; Rossi, M.; Grimaudo, S.; Capone, F.; Dusonchet, L.; Meli, M.; Raimondi, M. V.; Landino, M.; D’Alessandro, N.; Tolomeo, M.; Arindam, D.; Lu, S.; Benbrook, D. M. Heterocycle-Containing Retinoids. Discovery of a Novel Isoxazole Arotinoid

- Possessing Potent Apoptotic Activity in Multidrug and Drug-Induced Apoptosis-Resistant Cells. *Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, *44* (14), 2308–2318. doi: 10.1021/jm0010320.
- (185) Paul, F.; Patt, J.; Hartwig, J. F. Palladium-Catalyzed Formation of Carbon-Nitrogen Bonds. Reaction Intermediates and Catalyst Improvements in the Hetero Cross-Coupling of Aryl Halides and Tin Amides. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116* (13), 5969–5970. doi: 10.1021/ja00092a058.
- (186) Guram, A. S.; Buchwald, S. L. Palladium-Catalyzed Aromatic Aminations with in Situ Generated Aminostannanes. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116* (17), 7901–7902. doi: 10.1021/ja00096a059.
- (187) Louie, J.; Hartwig, J. F. Palladium-Catalyzed Synthesis of Arylamines from Aryl Halides. Mechanistic Studies Lead to Coupling in the Absence of Tin Reagents. *Tetrahedron Letters* **1995**, *36* (21), 3609–3612. doi: 10.1016/0040-4039(95)00605-C.
- (188) Guram, A. S.; Rennels, R. A.; Buchwald, S. L. A Simple Catalytic Method for the Conversion of Aryl Bromides to Arylamines. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1995**, *34* (12), 1348–1350. doi: 10.1002/anie.199513481.
- (189) Yang, B. H.; Buchwald, S. L. Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Halides and Sulfonates. *Journal of Organometallic Chemistry* **1999**, *576*, 125–146. doi: 10.1016/S0022-328X(98)01054-7.
- (190) Arduengo, A. J.; Krafczyk, R.; Schmutzler, R.; Craig, H. A.; Goerlich, J. R.; Marshall, W. J.; Unverzagt, M. Imidazolylidenes, Imidazolinyliidenes and Imidazolidines. *Tetrahedron* **1999**, *55* (51), 14523–14534. doi: 10.1016/S0040-4020(99)00927-8.
- (191) Huang, J.; Grasa, G.; Nolan, S. P. General and Efficient Catalytic Amination of Aryl Chlorides Using a Palladium/Bulky Nucleophilic Carbene System. *Organic Letters* **1999**, *1* (8), 1307–1309. doi: 10.1021/ol990987d.
- (192) Scott, N. M.; Nolan, S. P. Stabilization of Organometallic Species Achieved by the Use of N-Heterocyclic Carbene (NHC) Ligands. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2005**, *2005* (10), 1815–1828. doi: 10.1002/ejic.200500030.
- (193) Fairlamb, I. J. S.; Kapdi, A. R.; Lynam, J. M.; Taylor, R. J. K.; Whitwood, A. C. Bis(Triphenylphosphine)Palladium(II)Succinimide as a Precatalyst for Suzuki Cross-Coupling—Subtle Effects Exerted by the Succinimide Ligand. *Tetrahedron* **2004**, *60* (27), 5711–5718. doi: 10.1016/j.tet.2004.05.018.
- (194) Beletskaya, I. P.; Bessmertnykh, A. G.; Guillard, R. Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Dibromides with Secondary Amines: Synthetic and Mechanistic Aspects. *Tetrahedron Letters* **1999**, *40* (35), 6393–6397. doi: 10.1016/S0040-4039(99)01246-0.
-

-
- (195) Park, N. H.; Vinogradova, E. V.; Surry, D. S.; Buchwald, S. L. Design of New Ligands for the Palladium-Catalyzed Arylation of α -Branched Secondary Amines. *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54* (28), 8259–8262. doi: 10.1002/anie.201502626.
- (196) Ullmann, F. Ueber eine neue Bildungsweise von Diphenylaminderivaten. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1903**, *36* (2), 2382–2384. doi: 10.1002/cber.190303602174.
- (197) Monnier, F.; Taillefer, M. Catalytic C-C, C-N, and C-O Ullmann-Type Coupling Reactions. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48* (38), 6954–6971. doi: 10.1002/anie.200804497.
- (198) Shafir, A.; Buchwald, S. L. Highly Selective Room-Temperature Copper-Catalyzed C–N Coupling Reactions. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (27), 8742–8743. doi: 10.1021/ja063063b.
- (199) Aderibigbe, S. O.; Coltart, D. M. Synthesis of 1,3-Diketones and β -Keto Thioesters via Soft Enolization. *The Journal of Organic Chemistry* **2019**, *84* (15), 9770–9777. doi: 10.1021/acs.joc.9b00397.
- (200) Abdel-Magid, A. F.; Carson, K. G.; Harris, B. D.; Maryanoff, C. A.; Shah, R. D. Reductive Amination of Aldehydes and Ketones with Sodium Triacetoxyborohydride. Studies on Direct and Indirect Reductive Amination Procedures ¹. *The Journal of Organic Chemistry* **1996**, *61* (11), 3849–3862. doi: 10.1021/jo960057x.
- (201) Indrayanto, G.; Putra, G. S.; Suhud, F. Validation of In-Vitro Bioassay Methods: Application in Herbal Drug Research. In *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*; Elsevier, 2021; Vol. 46, pp 273–307. doi: 10.1016/bs.podrm.2020.07.005.
- (202) Peña-Morán, O.; Villarreal, M.; Álvarez-Berber, L.; Meneses-Acosta, A.; Rodríguez-López, V. Cytotoxicity, Post-Treatment Recovery, and Selectivity Analysis of Naturally Occurring Podophyllotoxins from *Bursera Fagaroides* Var. *Fagaroides* on Breast Cancer Cell Lines. *Molecules* **2016**, *21* (8), 1013. doi: 10.3390/molecules21081013.
- (203) Weerapreeyakul, N.; Nonpunya, A.; Barusrux, S.; Thitimetharoch, T.; Sripanidkulchai, B. Evaluation of the Anticancer Potential of Six Herbs against a Hepatoma Cell Line. *Chinese Medicine* **2012**, *7* (1), 15. doi: 10.1186/1749-8546-7-15.
- (204) Chbicheb, S.; Yao, X.; Grillier-Vuissoz, I.; Rodeau, J. L.; Boisbrun, M.; Chapleur, Y.; Mazerbourg, S.; Flament, S. The PPAR γ -Independent Antiproliferative Effects of Thiazolidinediones in Breast Cancer Cells Are Partially Mediated by an ER-Stress-Related Induction of EGR1. *European Journal of Cancer Supplements* **2010**, *8* (5), 188. doi: 10.1016/S1359-6349(10)71542-1.
-

- (205) Colin-Cassin, C.; Yao, X.; Cerella, C.; Chbicheb, S.; Kuntz, S.; Mazerbourg, S.; Boisbrun, M.; Chapleur, Y.; Diederich, M.; Flament, S.; Grillier-Vuissoz, I. PPAR γ -Inactive Δ 2-Troglitazone Independently Triggers ER Stress and Apoptosis in Breast Cancer Cells: PPAR γ -Independent Effects in Breast Cancer Cells. *Molecular Carcinogenesis* **2015**, *54* (5), 393–404. doi: 10.1002/mc.22109.
- (206) Herschel, J. Formula No. I.— on a Case of Superficial Colour Presented by a Homogeneous Liquid Internally Colourless. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1845**, *135*, 143–145. doi: 10.1098/rstl.1845.0004.
- (207) Herschel, J. Formula No. II.— on the Epipolic Dispersion of Light, Being a Supplement to a Paper Entitled, “On a Case of Superficial Colour Presented by a Homogeneous Liquid Internally Colourless.”. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1845**, *135*, 147–153. doi: 10.1098/rstl.1845.0005.
- (208) Stokes, G. G. XXX. On the Change of Refrangibility of Light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1852**, *142*, 463–562. doi: 10.1098/rstl.1852.0022.
- (209) Stokes, G. G. XVI. On the Change of Refrangibility of Light.—No. II. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1853**, *143*, 385–396. doi: 10.1098/rstl.1853.0016.
- (210) Valeur, B. *Molecular Fluorescence Principles and Applications*; Wiley-VCH: Weinheim, 2001.
- (211) Görner, H. Direct and Sensitized Photoprocesses of Bis-Benzimidazole Dyes and the Effects of Surfactants and DNA. *Photochemistry and Photobiology* **2001**, *73* (4), 339–348. doi: 10.1562/0031-8655(2001)0730339DASPOB2.0.CO2.
- (212) Würth, C.; Grabolle, M.; Pauli, J.; Spieles, M.; Resch-Genger, U. Relative and Absolute Determination of Fluorescence Quantum Yields of Transparent Samples. *Nature Protocols* **2013**, *8* (8), 1535–1550. doi: 10.1038/nprot.2013.087.
- (213) Nawara, K.; Waluk, J. Improved Method of Fluorescence Quantum Yield Determination. *Analytical Chemistry* **2017**, *89* (17), 8650–8655. doi: 10.1021/acs.analchem.7b02013.
- (214) Lancelot, G. The Role of Sulphur 3 *d* Orbitals in Spin-Orbit Coupling of Thiopurines and Thiopyrimidines. *Molecular Physics* **1976**, *31* (1), 241–254. doi: 10.1080/00268977600100191.
- (215) Haubitz, T.; John, L.; Freyse, D.; Wessig, P.; Kumke, M. U. Investigating the Sulfur “Twist” on the Photophysics of DBD Dyes. *The Journal of Physical Chemistry A* **2020**, *124* (22), 4345–4353. doi: 10.1021/acs.jpca.0c01880.
- (216) Wessig, P.; John, L.; Sperlich, E.; Kelling, A. Sulfur Tuning of [1,3]-Dioxolo[4.5-*f*]Benzodioxole (DBD) Fluorescent Dyes. *European Journal of Organic Chemistry* **2021**, *2021* (3), 499–511. doi: 10.1002/ejoc.202001418.

-
- (217) Melhuish, B. H. Quantum Efficiencies of Fluorescence of Organic Substances: Effect of Solvent and Concentration of the Fluorescent Solute. *The Journal of Physical Chemistry* **1961**, *65* (2), 229–235. doi: 10.1021/j100820a009.
- (218) Wong, K.-L.; Bünzli, J.-C. G.; Tanner, P. A. Quantum Yield and Brightness. *Journal of Luminescence* **2020**, *224*, 117256. doi: 10.1016/j.jlumin.2020.117256.
- (219) Fürstenberg, A. Water in Biomolecular Fluorescence Spectroscopy and Imaging: Side Effects and Remedies. *CHIMIA International Journal for Chemistry* **2017**, *71* (1), 26–31. doi: 10.2533/chimia.2017.26.
- (220) Maillard, J.; Klehs, K.; Rumble, C.; Vauthey, E.; Heilemann, M.; Fürstenberg, A. Universal Quenching of Common Fluorescent Probes by Water and Alcohols. *Chemical Science* **2021**, *12* (4), 1352–1362. doi: 10.1039/D0SC05431C.
- (221) Bhakdi, S.; Thaicharoen, P. Easy Employment and Crosstalk-Free Detection of Seven Fluorophores in a Widefield Fluorescence Microscope. *Methods and Protocols* **2018**, *1* (2), 20. doi: 10.3390/mps1020020.
- (222) Naaz, F.; Haider, M. R.; Shafi, S.; Yar, M. S. Anti-Tubulin Agents of Natural Origin: Targeting Taxol, Vinca, and Colchicine Binding Domains. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *171*, 310–331. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.03.025.
- (223) Xiao, Q.; Xue, T.; Shuai, W.; Wu, C.; Zhang, Z.; Zhang, T.; Zeng, S.; Sun, B.; Wang, Y. High-Resolution X-Ray Structure of Three Microtubule-Stabilizing Agents in Complex with Tubulin Provide a Rationale for Drug Design. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2021**, *534*, 330–336. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.11.082.
- (224) Bhattacharyya, B.; Wolff, J. Promotion of Fluorescence upon Binding of Colchicine to Tubulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1974**, *71* (7), 2627–2631. doi: 10.1073/pnas.71.7.2627.
- (225) Mazumdar, M.; Parrack, P. K.; Bhattacharyya, B. Interaction of Prodan with Tubulin. A Fluorescence Spectroscopic Study. *European Journal of Biochemistry* **1992**, *204* (1), 127–132. doi: 10.1111/j.1432-1033.1992.tb16614.x.
- (226) Bhattacharyya, B.; Kapoor, S.; Panda, D. Fluorescence Spectroscopic Methods to Analyze Drug–Tubulin Interactions. In *Methods in Cell Biology*; Elsevier, 2010; Vol. 95, pp 301–329. doi: 10.1016/S0091-679X(10)95017-6.
- (227) Karr, T. L.; Puricht, D. L. Examination of Tubulin-Nucleotide Interactions by Protein Fluorescence Quenching Measurements. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **1978**, *84* (4), 5. doi: 10.1016/0006-291x(78)91676-5.
- (228) Dadras, A.; Riazi, G. H.; Afrasiabi, A.; Naghshineh, A.; Ghalandari, B.; Mokhtari, F. In Vitro Study on the Alterations of Brain Tubulin Structure and Assembly Affected by Magnetite Nanoparticles. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2013**, *18* (3), 357–369. doi: 10.1007/s00775-013-0980-x.
-

- (229) Bruno, G.; Costantino, L.; Curinga, C.; Maccari, R.; Monforte, F.; Nicolo, F.; Ottana, R.; Vigorita, M. G. Synthesis and Aldose Reductase Inhibitory Activity of 5-Arylidene-2,4-Thiazolidinediones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2002**, *10* (4), 1077–1084. doi: 10.1016/s0968-0896(01)00366-2.
- (230) Popov-Pergal, K. M.; Poleti, D.; Rancic, M. P.; Meden, A.; Pergal, M. V. Synthesis and Structure of New 5-(Arylidene)-3-(4-Methylbenzoyl)Thiazolidine-2,4-Diones. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2010**, *47*, 224–228. doi: 10.1002/jhet.288.
- (231) Ponnuchamy, S.; Kanchithalaivan, S.; Ranjith Kumar, R.; Ashraf Ali, M.; Soo Choon, T. Antimycobacterial Evaluation of Novel Hybrid Arylidene Thiazolidine-2,4-Diones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2014**, *24* (4), 1089–1093. doi: 10.1016/j.bmcl.2014.01.007.
- (232) Shinde, D. N.; Trivedi, R.; Vamsi Krishna, N.; Lingamallu, G.; Sridhar, B.; Khursade, P. S.; Reddy Shetty, P. 2,4-Thiazolidinedione as a Bioactive Linker for Ferrocenyl Sugar-Triazole Conjugates: Synthesis, Characterization and Biological Properties. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2018**, *2018* (14), 1571–1580. doi: 10.1002/ejic.201800006.
- (233) Hubbard, R.; Wald, G. Cis-Trans Isomers of Vitamin A and Retinene in the Rhodopsin System. *Journal of General Physiology* **1952**, *36* (2), 269–315. doi: 10.1085/jgp.36.2.269.
- (234) Jaroch, K.; Karolak, M.; Górski, P.; Jaroch, A.; Krajewski, A.; Ilnicka, A.; Sloderbach, A.; Stefański, T.; Sobiak, S. Combretastatins: In Vitro Structure-Activity Relationship, Mode of Action and Current Clinical Status. *Pharmacological Reports* **2016**, *68* (6), 1266–1275. doi: 10.1016/j.pharep.2016.08.007.
- (235) Hamze, A.; Alami, M.; Provot, O. Developments of IsoCombretastatin A-4 Derivatives as Highly Cytotoxic Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, *190*, 112110. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112110.
- (236) Roberti, M.; Pizzirani, D.; Simoni, D.; Rondanin, R.; Baruchello, R.; Bonora, C.; Buscemi, F.; Grimaudo, S.; Tolomeo, M. Synthesis and Biological Evaluation of Resveratrol and Analogues as Apoptosis-Inducing Agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, *46* (16), 3546–3554. doi: 10.1021/jm030785u.
- (237) Anisimova, N. Y.; Kiselevsky, M. V.; Sosnov, A. V.; Sadovnikov, S. V.; Stankov, I. N.; Gakh, A. A. Trans-, Cis-, and Dihydro-Resveratrol: A Comparative Study. *Chemistry Central Journal* **2011**, *5* (1), 88–93. doi: 10.1186/1752-153X-5-88.
- (238) Ahmadi, R.; Ebrahimzadeh, M. A. Resveratrol – A Comprehensive Review of Recent Advances in Anticancer Drug Design and Development. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, *200*, 112356. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112356.
- (239) Pecyna, P.; Wargula, J.; Murias, M.; Kucinska, M. More Than Resveratrol: New Insights into Stilbene-Based Compounds. *Biomolecules* **2020**, *10* (8), 1111–1151. doi: 10.3390/biom10081111.
-

- (240) Cushman, M.; Nagarathnam, D.; Gopal, D.; Chakraborti, A. K.; Lin, C. M.; Hamel, E. Synthesis and Evaluation of Stilbene and Dihydrostilbene Derivatives as Potential Anticancer Agents That Inhibit Tubulin Polymerization. *Journal of Medicinal Chemistry* **1991**, *34* (8), 2579–2588. doi: 10.1021/jm00112a036.
- (241) Paul, S.; Mizuno, C. S.; Lee, H. J.; Zheng, X.; Chajkowisk, S.; Rimoldi, J. M.; Conney, A.; Suh, N.; Rimando, A. M. In Vitro and in Vivo Studies on Stilbene Analogs as Potential Treatment Agents for Colon Cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *45* (9), 3702–3708. doi: 10.1016/j.ejmech.2010.05.019.
- (242) Seltzer, S. Cis-Trans Isomerization. *The enzymes* **1972**, 381–406. doi: 10.1016/S1874-6047(08)60046-3.
- (243) Waldeck, D. H. Photoisomerization Dynamics of Stilbenes. *Chemical Reviews* **1991**, *91* (3), 415–436. doi: 10.1021/cr00003a007.
- (244) Pecourneau, J.; Losantos, R.; Monari, A.; Parant, S.; Pasc, A.; Mourer, M. Synthesis and Photoswitching Properties of Bioinspired Dissymmetric γ -Pyrone, an Analogue of Cyclocurcumin. *The Journal of Organic Chemistry* **2021**, *86* (12), 8112–8126. doi: 10.1021/acs.joc.1c00598.
- (245) Momose, Y.; Meguro, K.; Ikeda, H.; Hatanaka, C.; Oi, S.; Sohda, T. Studies on Antidiabetic Agents. X. Synthesis and Biological Activities of Pioglitazone and Related Compounds. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1991**, *39* (6), 1440–1445. doi: 10.1248/cpb.39.1440.
- (246) Murata, M.; Fujitani, B.; Mizuta, H. Synthesis and Aldose Reductase Inhibitory Activity of a New Series of 5-[[2-(ω -Carboxyalkoxy)Aryl]Methylene]-4-Oxo-2-Thioxothiazolidine Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* **1999**, *34* (12), 1061–1070. doi: 10.1016/S0223-5234(99)00128-2.
- (247) Luo, Y.; Ma, L.; Zheng, H.; Chen, L.; Li, R.; He, C.; Yang, S.; Ye, X.; Chen, Z.; Li, Z.; Gao, Y.; Han, J.; He, G.; Yang, L.; Wei, Y. Discovery of (Z)-5-(4-Methoxybenzylidene)Thiazolidine-2,4-Dione, a Readily Available and Orally Active Glitazone for the Treatment of Concanavalin A-Induced Acute Liver Injury of BALB/c Mice. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *53* (1), 273–281. doi: 10.1021/jm901183d.
- (248) Feldmeier, C.; Bartling, H.; Magerl, K.; Gschwind, R. M. LED-Illuminated NMR Studies of Flavin-Catalyzed Photooxidations Reveal Solvent Control of the Electron-Transfer Mechanism. *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54* (4), 1347–1351. doi: 10.1002/anie.201409146.
- (249) Seegerer, A.; Nitschke, P.; Gschwind, R. M. Combined In Situ Illumination-NMR-UV/Vis Spectroscopy: A New Mechanistic Tool in Photochemistry. *Angewandte Chemie International Edition* **2018**, *57* (25), 7493–7497. doi: 10.1002/anie.201801250.
- (250) Dean, J.A., Lange's Handbook of Chemistry, McGraw-Hill, New York, 1992.

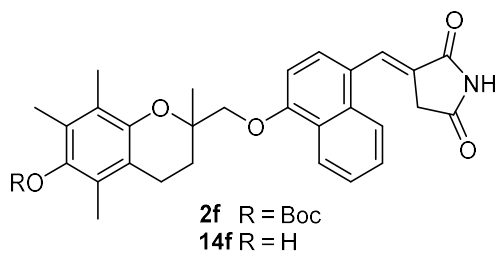
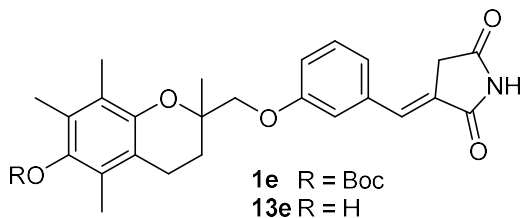
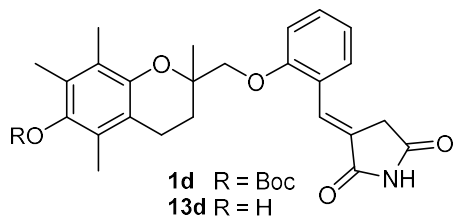
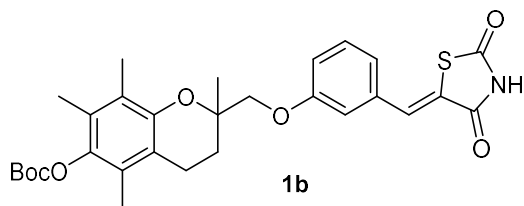
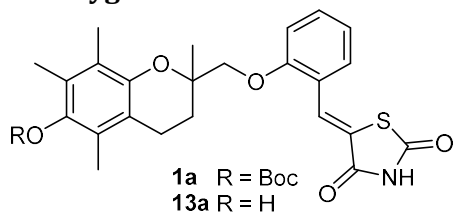
- (251) Irie, M. Photochromism: Memories and Switches Introduction. *Chemical Reviews* **2000**, *100* (5), 1683–1684. doi: 10.1021/cr980068l.
- (252) Catalán, J. Toward a Generalized Treatment of the Solvent Effect Based on Four Empirical Scales: Dipolarity (SdP, a New Scale), Polarizability (SP), Acidity (SA), and Basicity (SB) of the Medium. *The Journal of Physical Chemistry B* **2009**, *113* (17), 5951–5960. doi: 10.1021/jp8095727.
- (253) Marini, A.; Muñoz-Losa, A.; Biancardi, A.; Mennucci, B. What Is Solvatochromism? *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114* (51), 17128–17135. doi: 10.1021/jp1097487.
- (254) Homocianu, M. Optical Properties of Solute Molecules: Environmental Effects, Challenges, and Their Practical Implications. *Microchemical Journal* **2021**, *161*, 105797. doi: 10.1016/j.microc.2020.105797.
- (255) Zimmer, H.; Armbruster, D. C.; Kharidia, S. P.; Lankin, D. C. Lichtinduzierte synthese von 2,3-dihydropyrrolo[2,3-b] chinolinen und carbostyriolen aus 1-acetyl-trans-3-(2-aminobenzyliden)-pyrrolidon-(2). *Tetrahedron Letters* **1969**, *10* (46), 4053–4054. doi: 10.1016/S0040-4039(01)88612-3.
- (256) Gailey, R. G.; Zimmer, H. Lichtinduzierte synthese von cumarinen und carbostyriolen aus N-phenylsuccinimiden. *Tetrahedron Letters* **1970**, *11* (32), 2839–2844. doi: 10.1016/S0040-4039(01)98354-6.
- (257) Chen, X.; Qiu, S.; Wang, S.; Wang, H.; Zhai, H. Blue-Light-Promoted Carbon–Carbon Double Bond Isomerization and Its Application in the Syntheses of Quinolines. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2017**, *15* (30), 6349–6352. doi: 10.1039/C7OB00558J.
- (258) Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *The Journal of organic chemistry* **1997**, *62* (21), 7512–7515.
- (259) Tomašić, T.; Zidar, N.; Šink, R.; Kovač, A.; Blanot, D.; Contreras-Martel, C.; Dessen, A.; Müller-Premru, M.; Zega, A.; Gobec, S.; Kikelj, D.; Peterlin Mašič, L. Structure-Based Design of a New Series of D -Glutamic Acid Based Inhibitors of Bacterial UDP- N -Acetylmuramoyl- L -Alanine: D -Glutamate Ligase (MurD). *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *54* (13), 4600–4610. doi: 10.1021/jm2002525.
- (260) Maccari, R.; Vitale, R. M.; Ottanà, R.; Rocchiccioli, M.; Marrazzo, A.; Cardile, V.; Graziano, A. C. E.; Amodeo, P.; Mura, U.; Del Corso, A. Structure–Activity Relationships and Molecular Modelling of New 5-Arylidene-4-Thiazolidinone Derivatives as Aldose Reductase Inhibitors and Potential Anti-Inflammatory Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *81*, 1–14. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.05.003.
- (261) da Silva, I. M.; da Silva Filho, J.; Santiago, P. B. G. da S.; do Egito, M. S.; de Souza, C. A.; Gouveia, F. L.; Ximenes, R. M.; de Sena, K. X. da F. R.; de Faria, A. R.; Brondani, D.
-

-
- J.; de Albuquerque, J. F. C. Synthesis and Antimicrobial Activities of 5-Arylidene-Thiazolidine-2,4-Dione Derivatives. *BioMed Research International* **2014**, *2014*, 1–8. doi: 10.1155/2014/316082.
- (262) Ha, Y. M.; Park, Y. J.; Kim, J.-A.; Park, D.; Park, J. Y.; Lee, H. J.; Lee, J. Y.; Moon, H. R.; Chung, H. Y. Design and Synthesis of 5-(Substituted Benzylidene)Thiazolidine-2,4-Dione Derivatives as Novel Tyrosinase Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *49*, 245–252. doi: 10.1016/j.ejmech.2012.01.019.
- (263) Touaibia, M.; St-Coeur, P.-D.; Duff, P.; Faye, D. C.; Pichaud, N. 5-Benzylidene, 5-Benzyl, and 3-Benzylthiazolidine-2,4-Diones as Potential Inhibitors of the Mitochondrial Pyruvate Carrier: Effects on Mitochondrial Functions and Survival in *Drosophila Melanogaster*. *European Journal of Pharmacology* **2021**, *913*, 174627. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174627.
- (264) Giles, R. G.; Lewis, N. J.; Quick, J. K.; Sasse, M. J.; Urquhart, M. W. J.; Youssef, L. Regiospecific Reduction of 5-Benzylidene-2,4-Thiazolidinediones and 4-Oxo-2-Thiazolidinethiones Using Lithium Borohydride in Pyridine and Tetrahydrofuran. *Tetrahedron* **2000**, *56* (26), 4531–4537. doi: 10.1016/S0040-4020(00)00361-6.
- (265) Ji, Y.; DiRocco, D. A.; Hong, C. M.; Wismer, M. K.; Reibarkh, M. Facile Quantum Yield Determination via NMR Actinometry. *Organic Letters* **2018**, *20* (8), 2156–2159. doi: 10.1021/acs.orglett.8b00391.

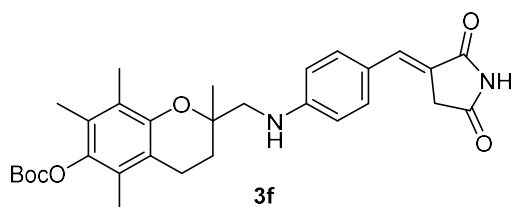
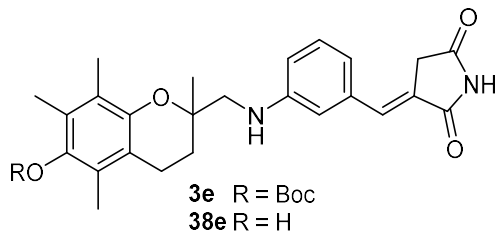
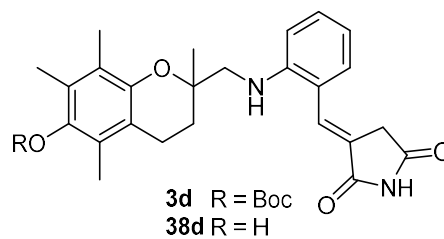
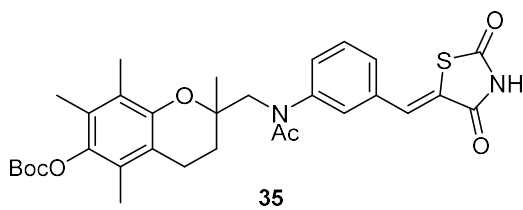
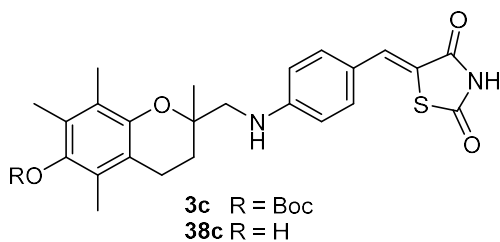
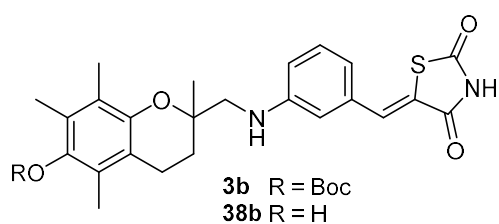
Annexes

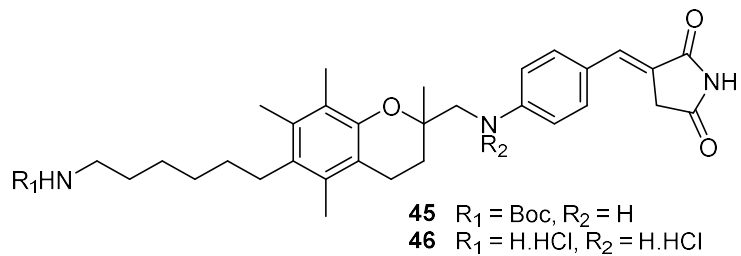
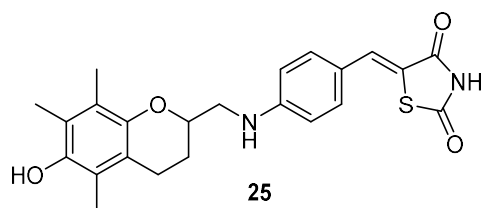
1 Bibliothèque de molécules bioactives

Composés oxygénés

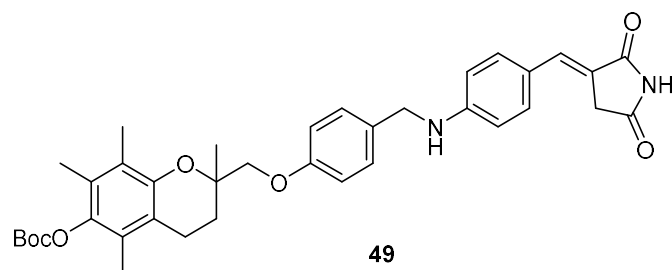
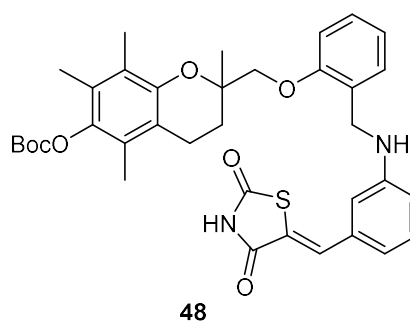
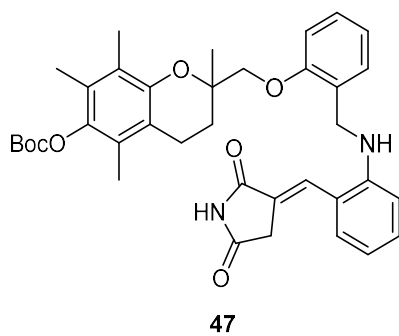


Composés azotés

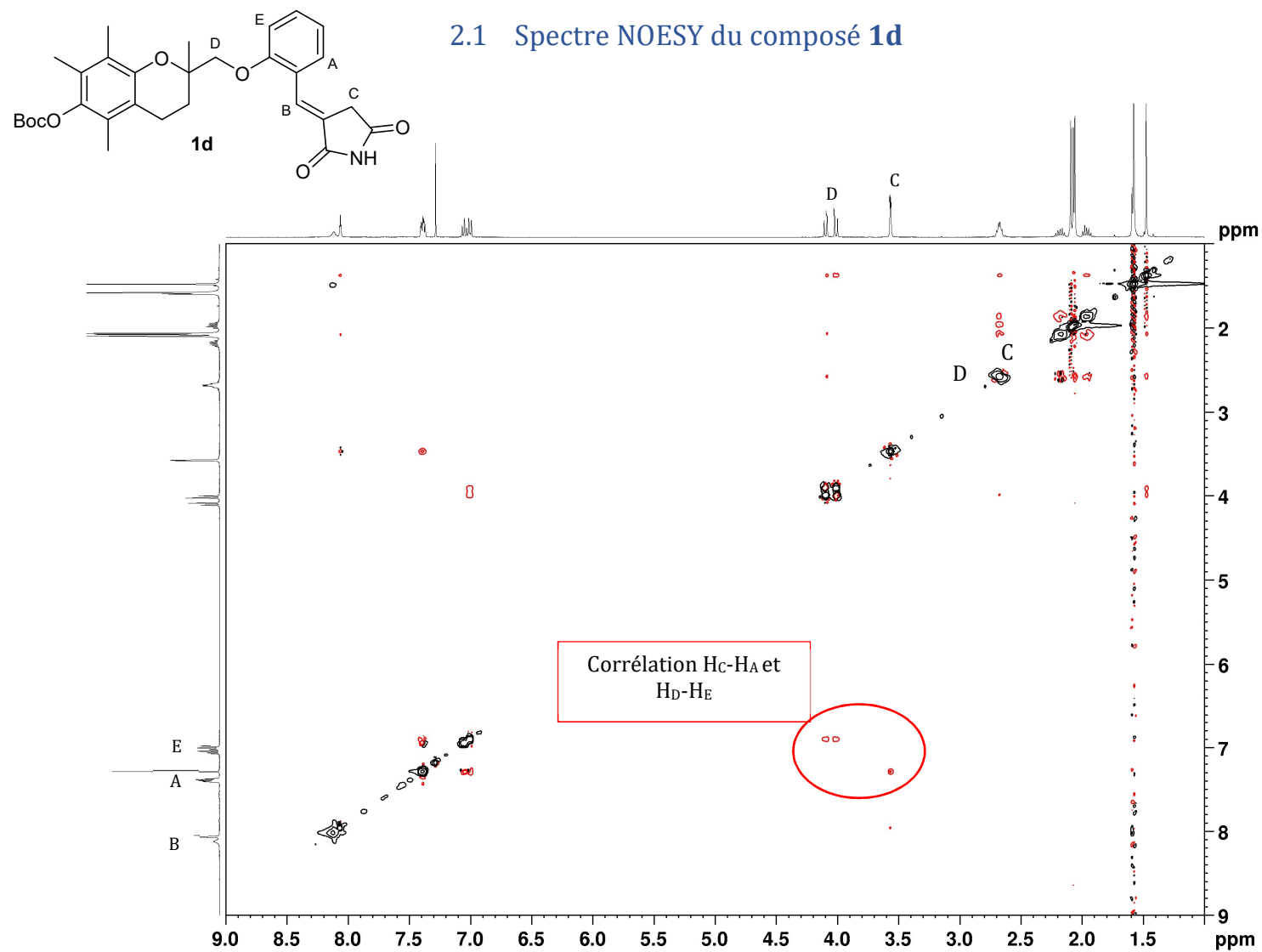


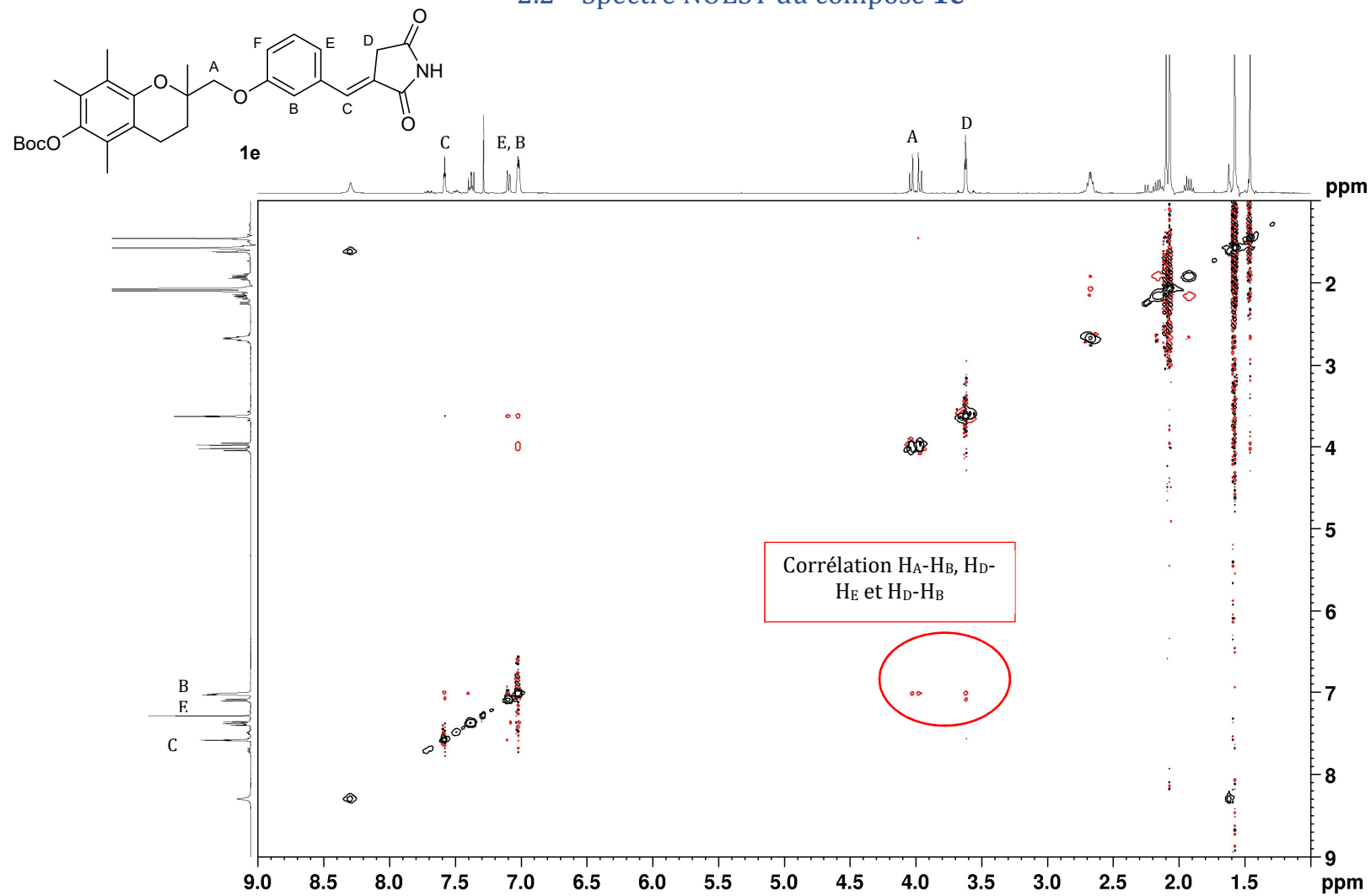


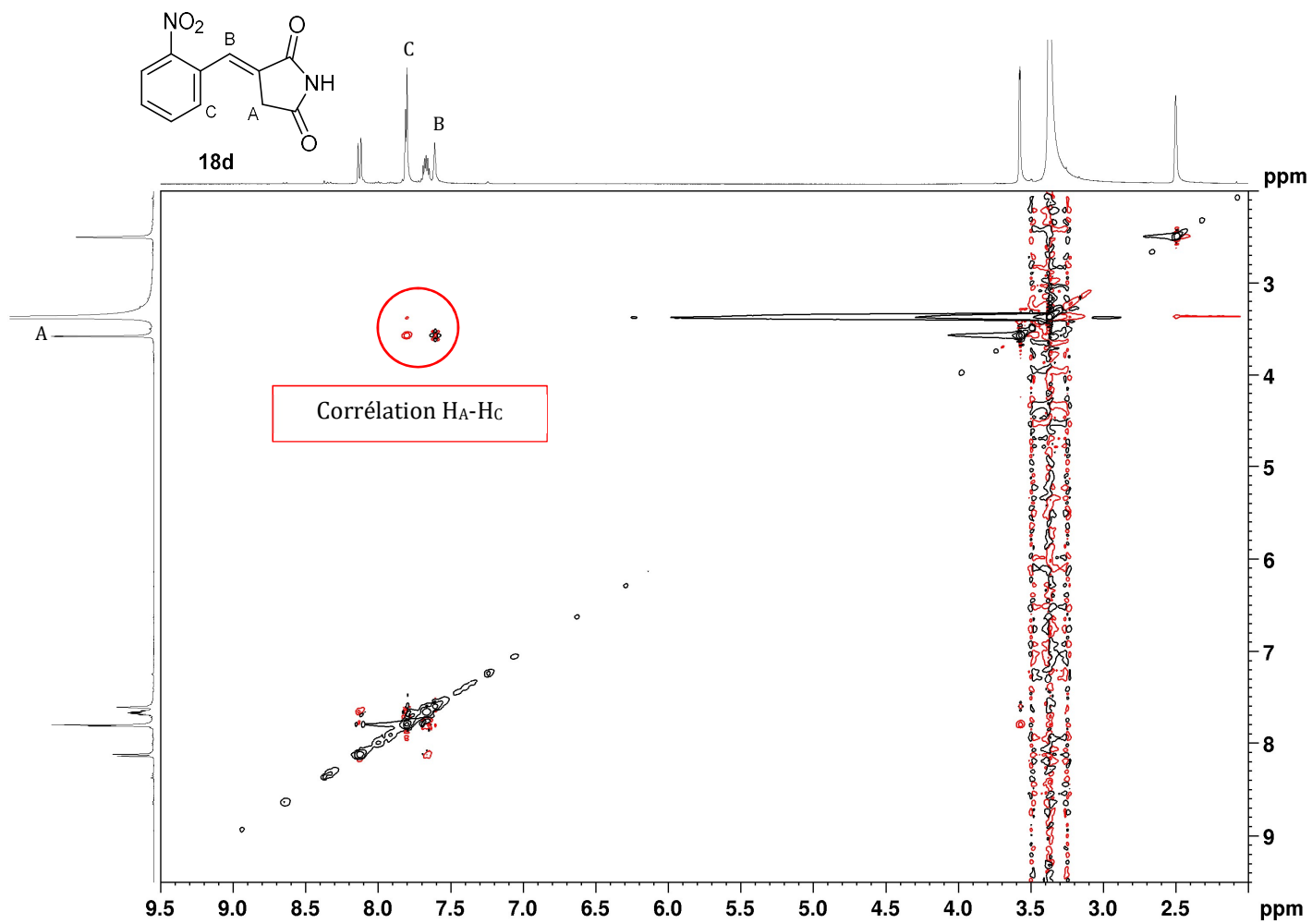
Composés hybrides

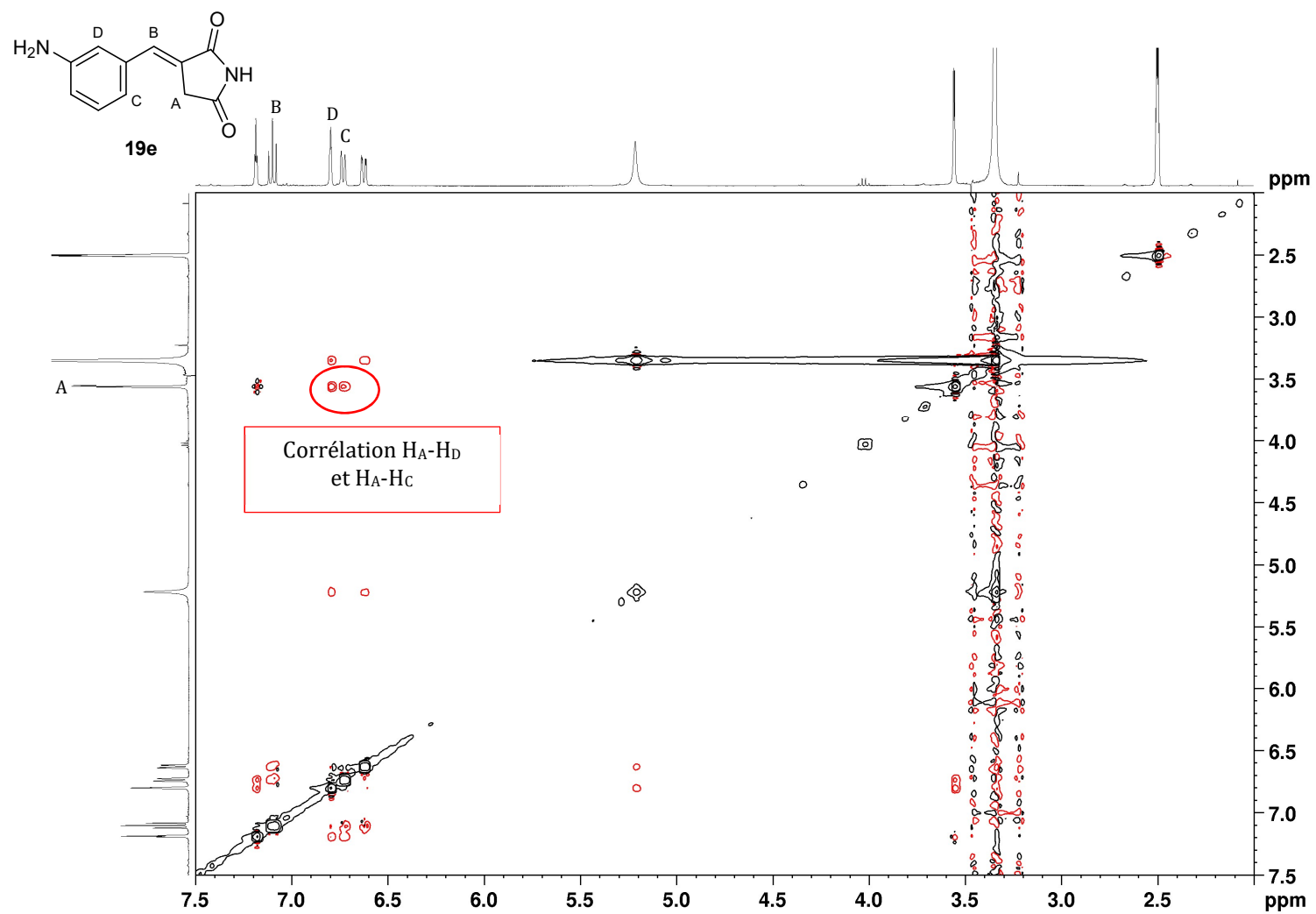


2 Spectres RMN 2D des composés 1d, 1e, 18d, 19e, 3d, 3e, 20, 45 et 56

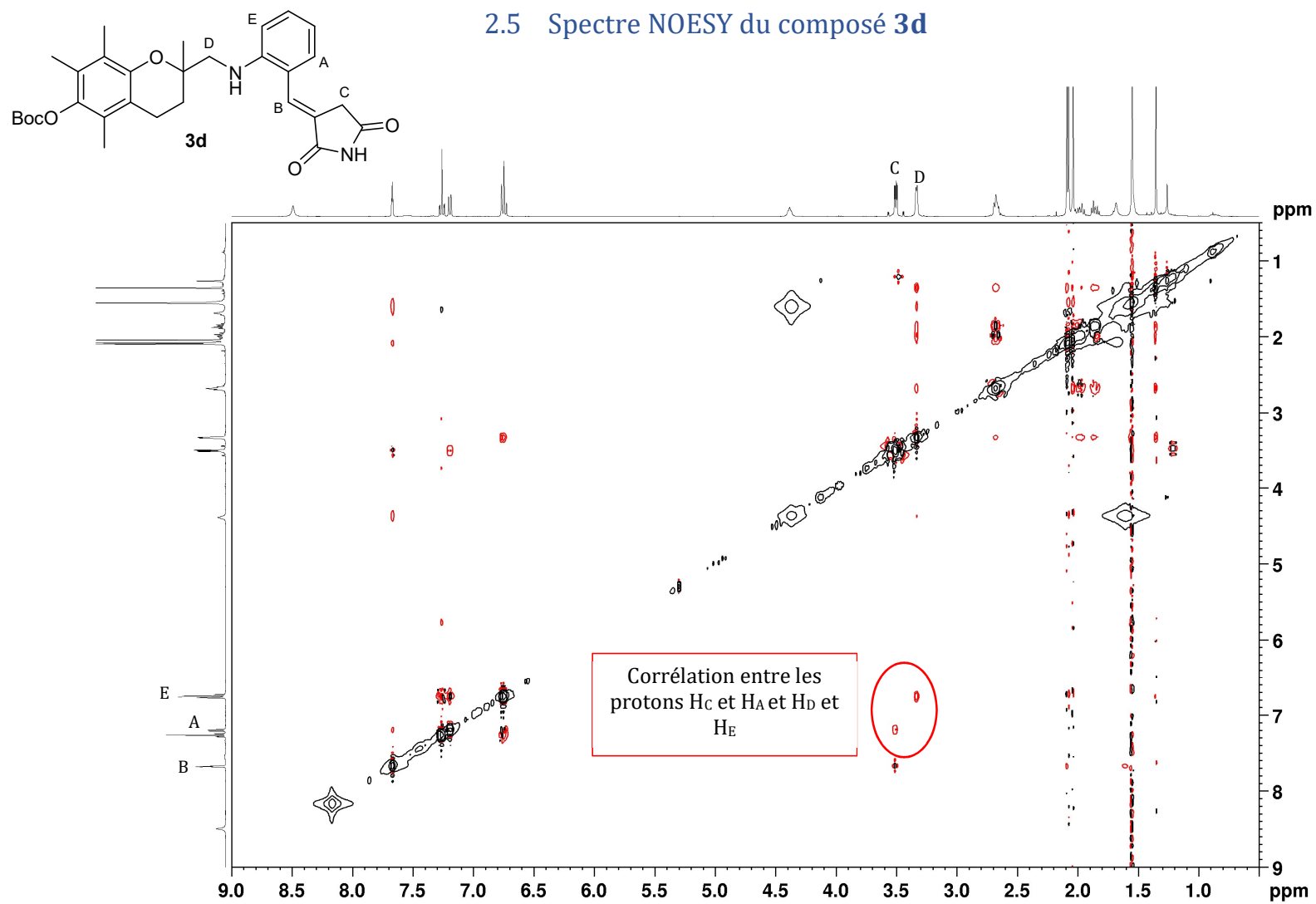


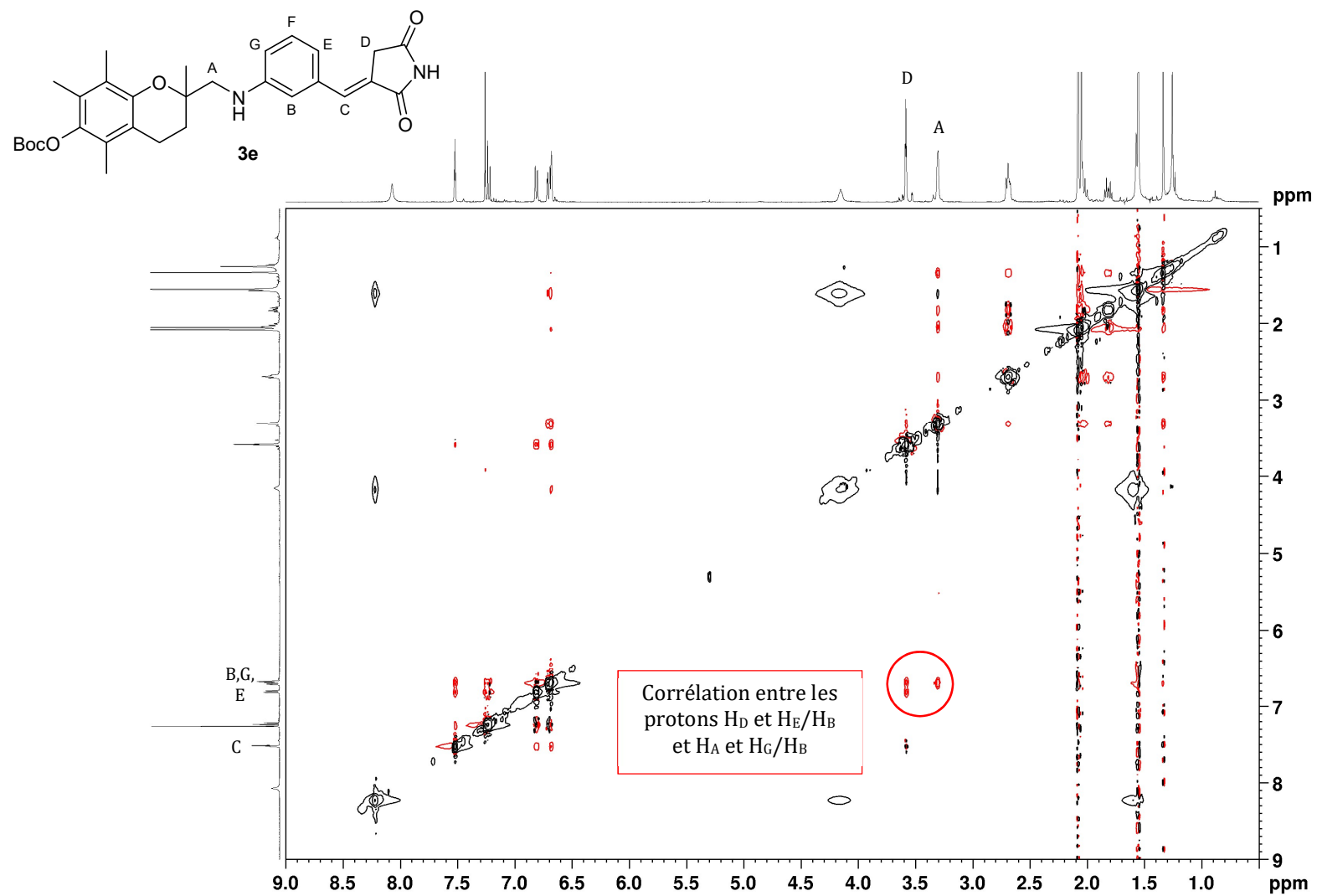
2.2 Spectre NOESY du composé **1e**

2.3 Spectre NOESY du composé **18d**

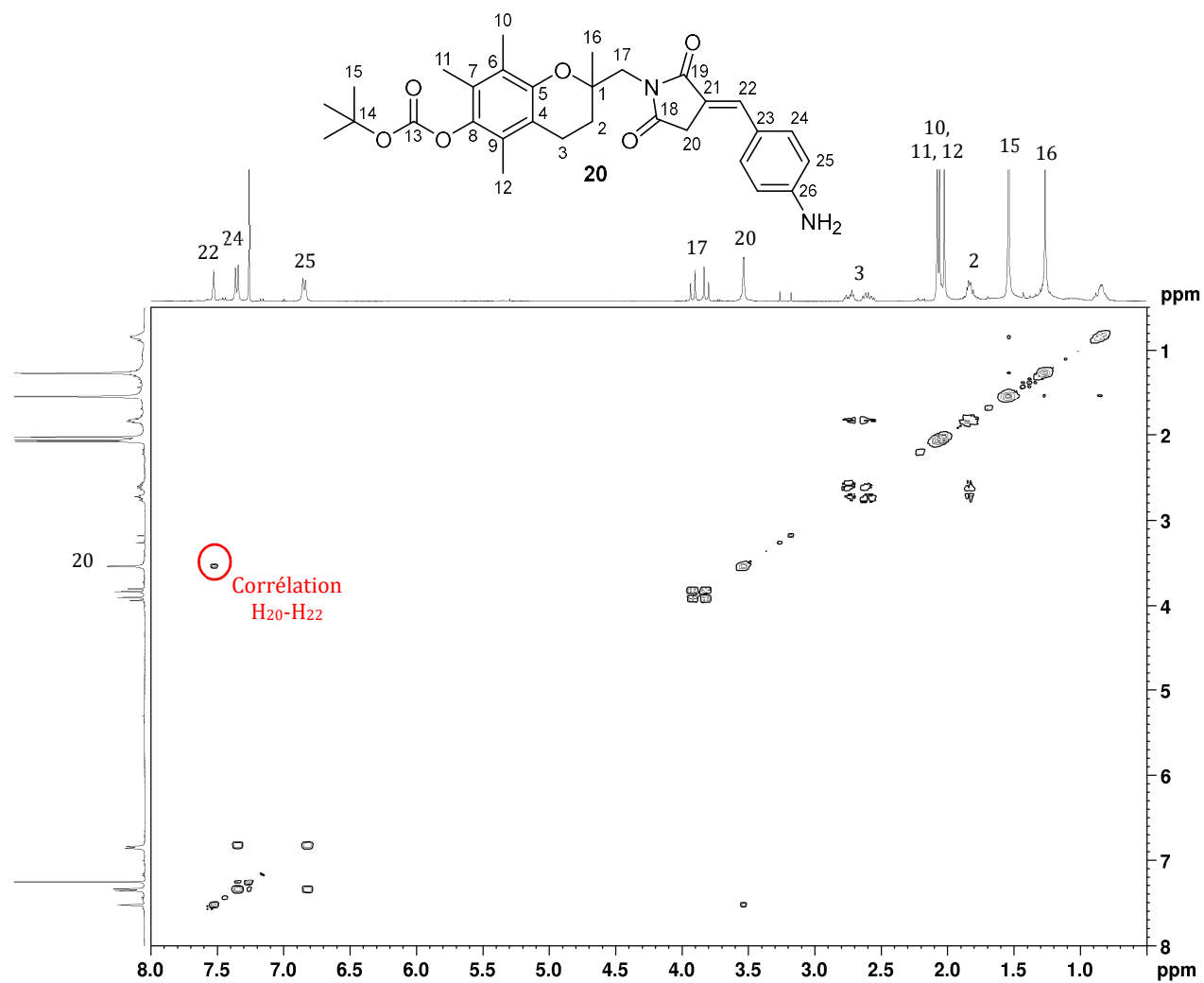
2.4 Spectre NOESY du composé **19e**

2.5 Spectre NOESY du composé 3d

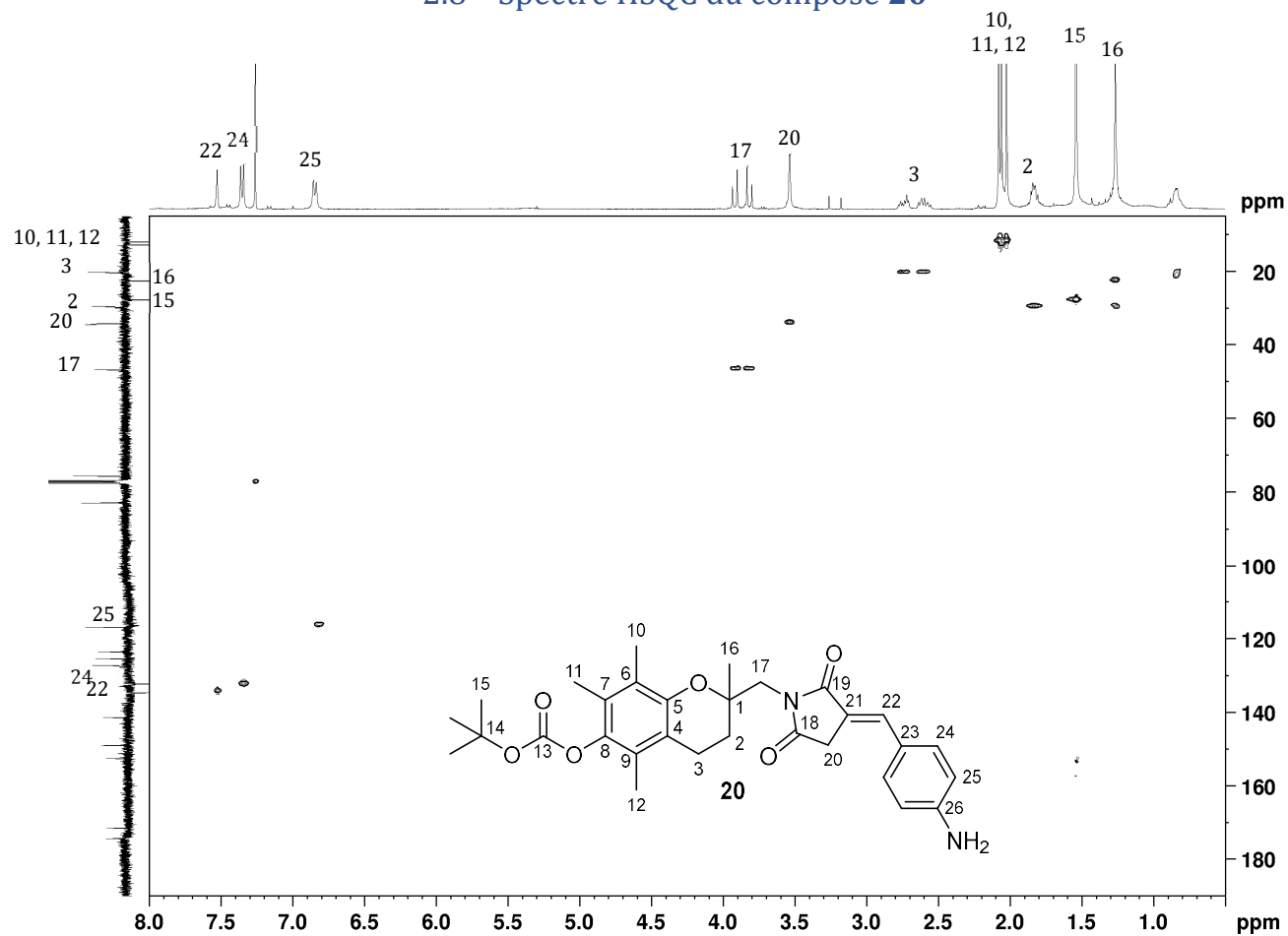


2.6 Spectre NOESY du composé **3e**

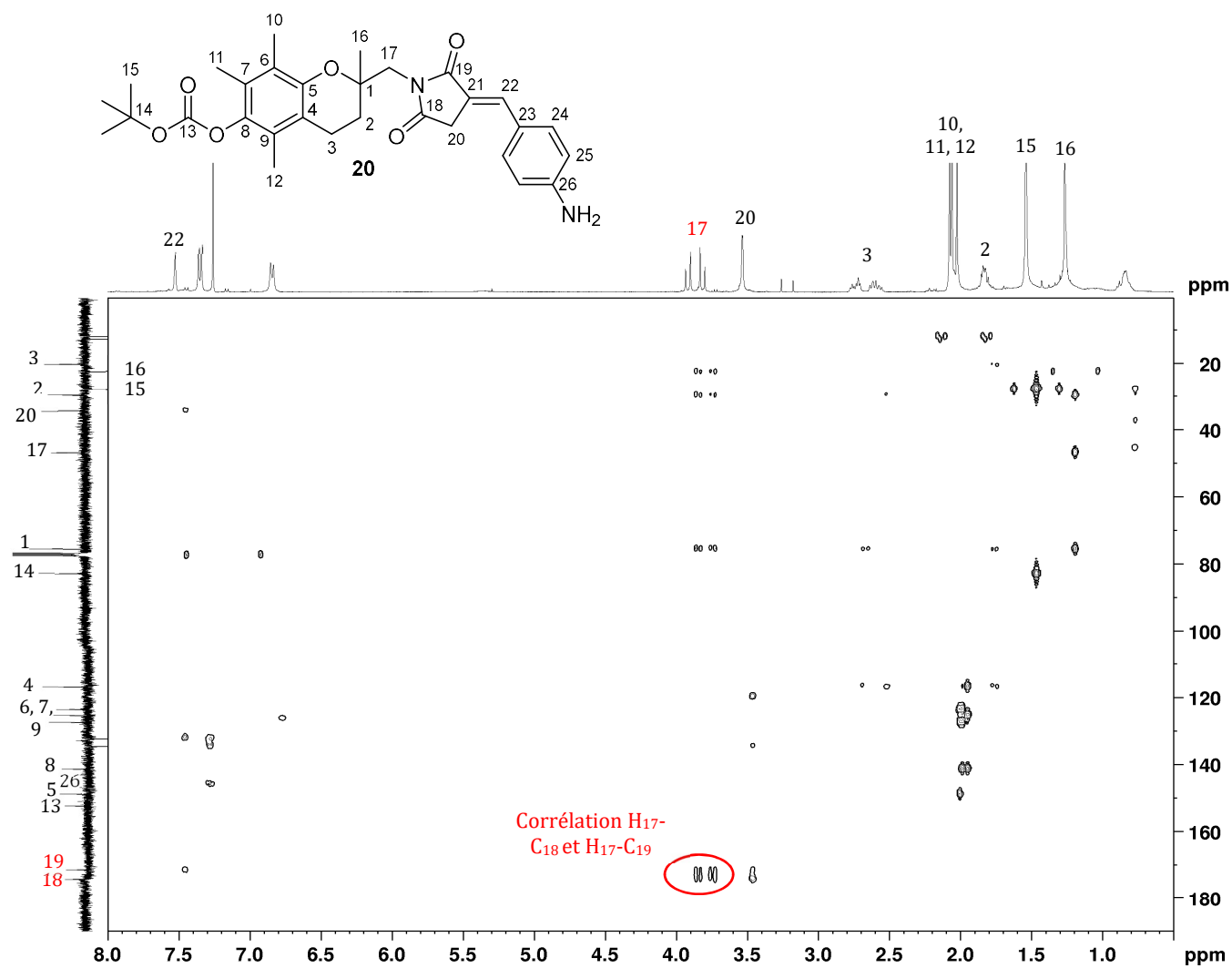
2.7 Spectre COSY du composé 20



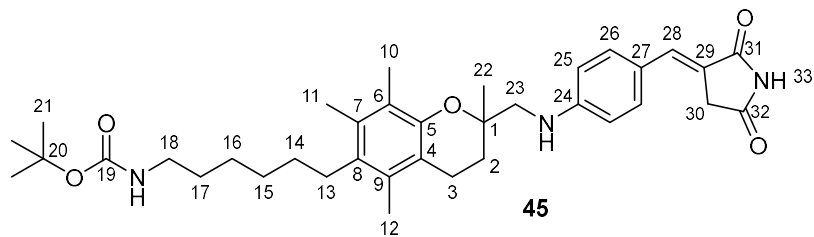
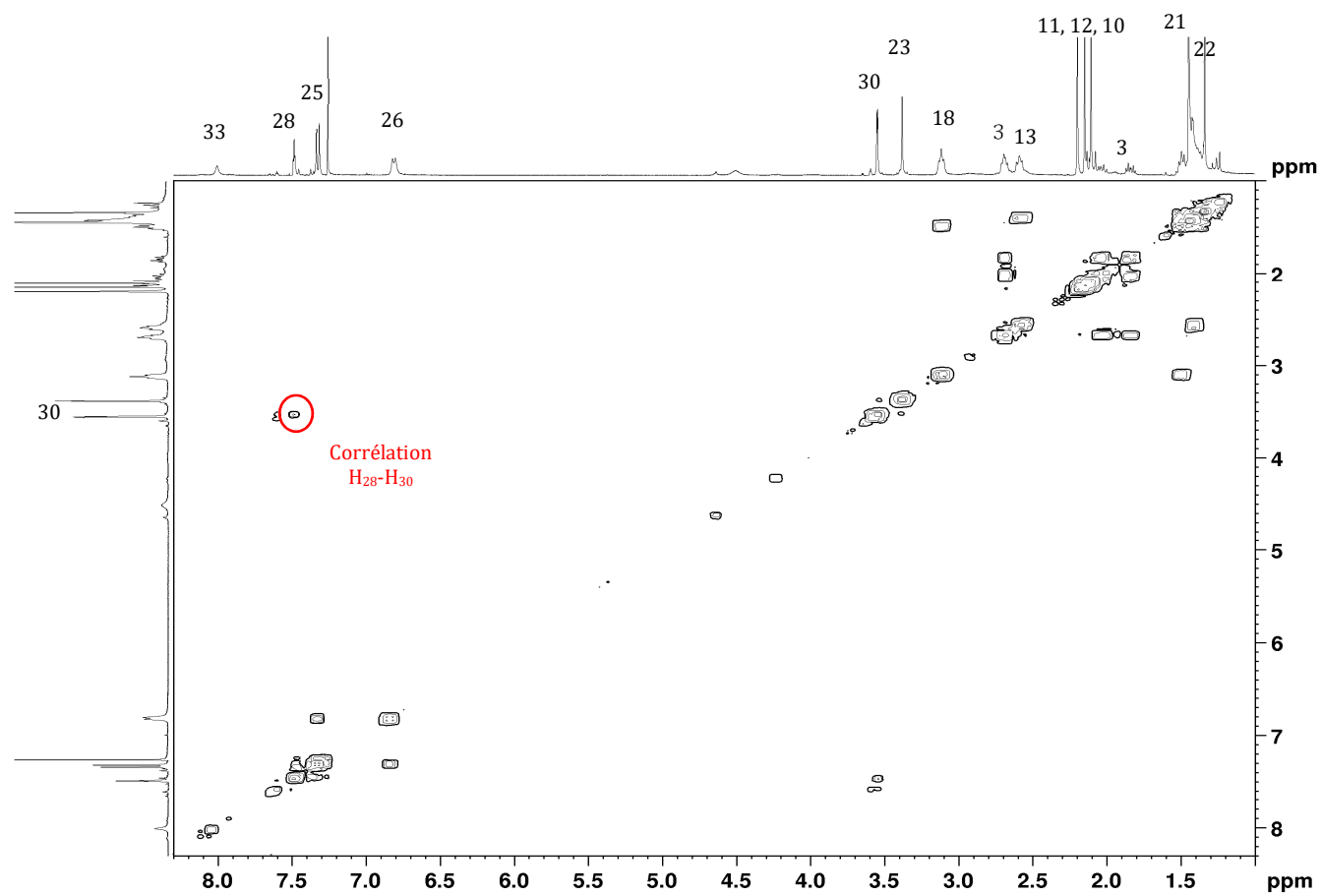
2.8 Spectre HSQC du composé 20



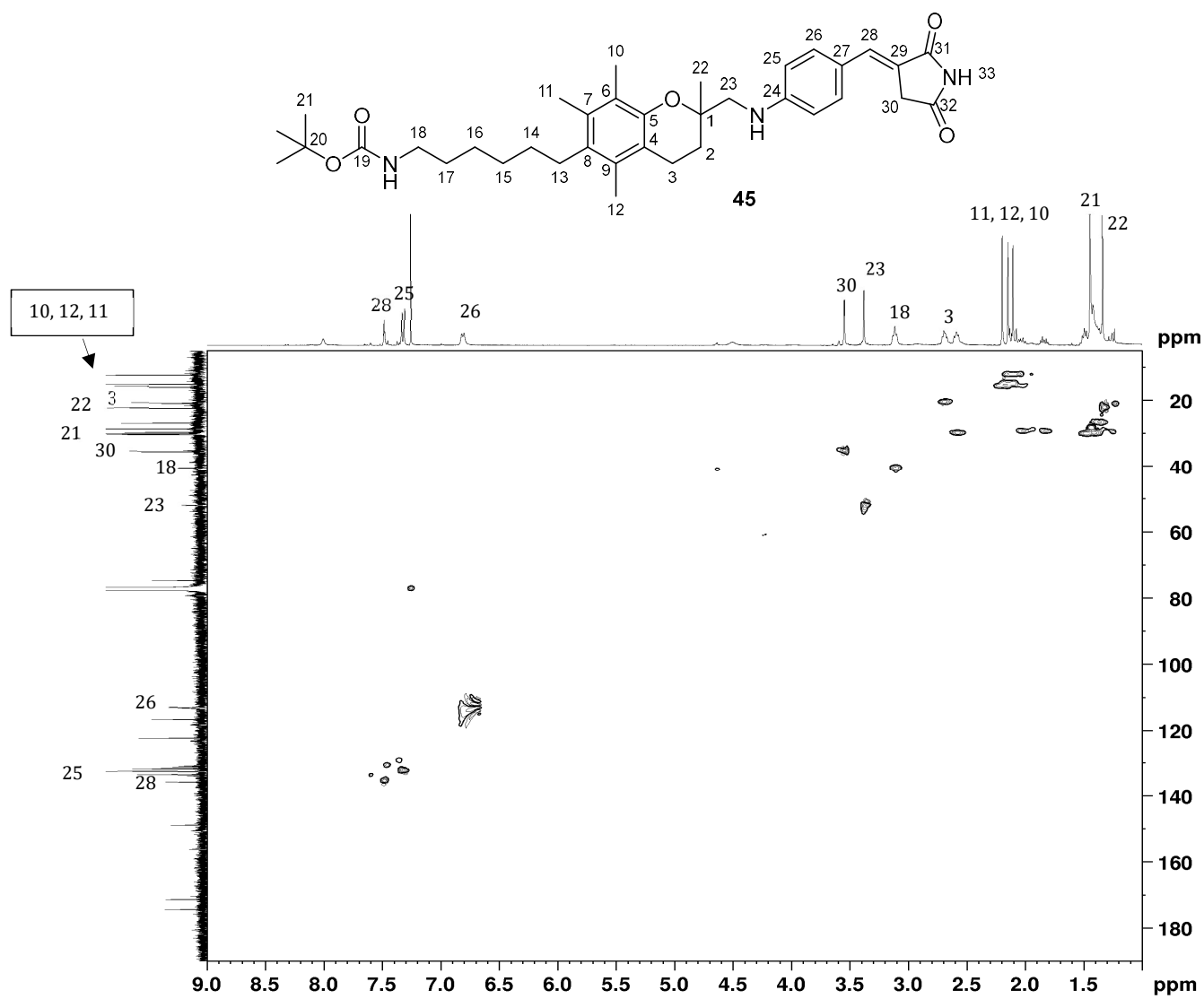
2.9 Spectre HMBC du composé 20



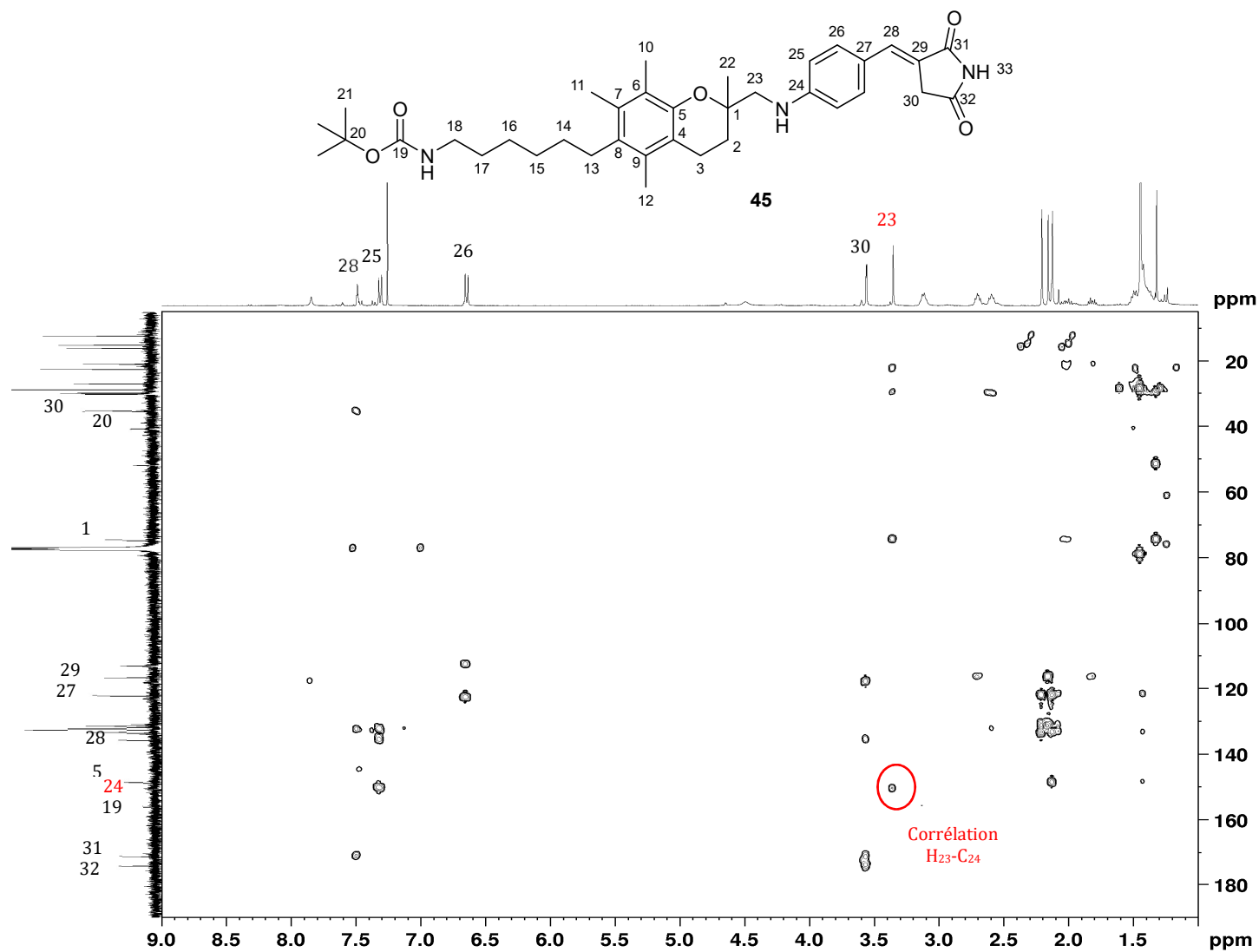
2.10 Spectre COSY du composé 45



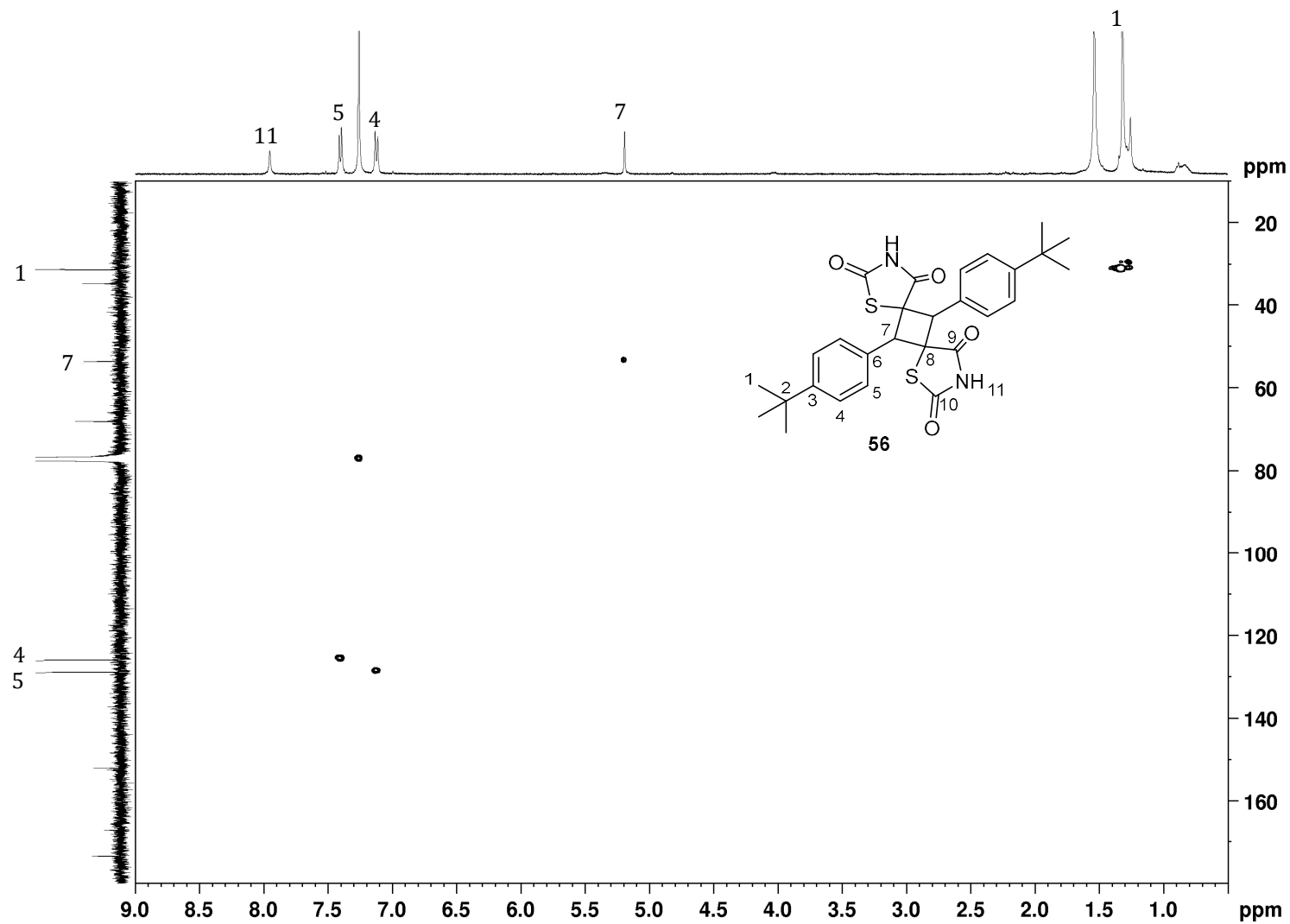
2.11 Spectre HSQC du composé 45



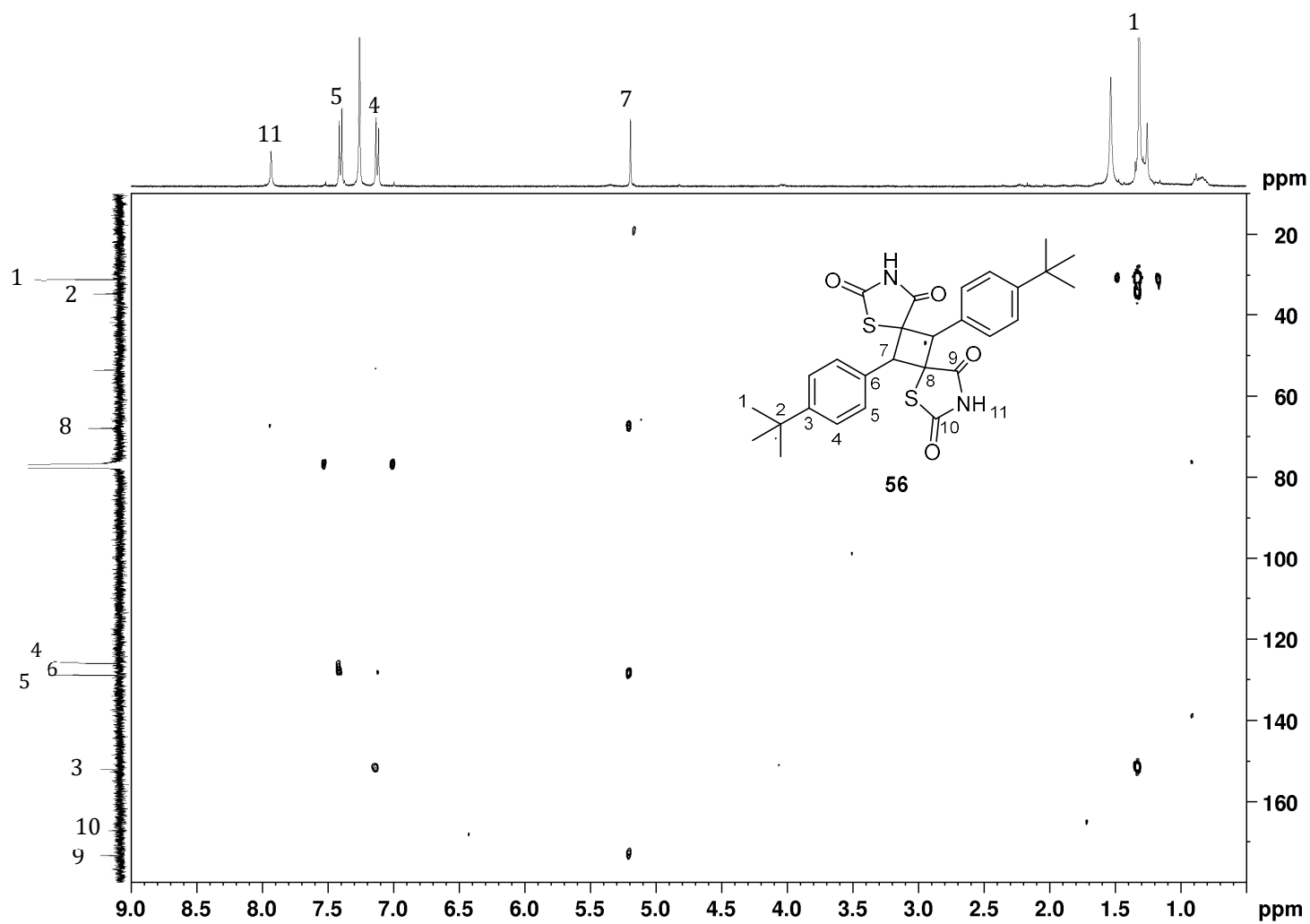
2.12 Spectre HMBC du composé 45



2.13 Spectre HSQC du composé 56



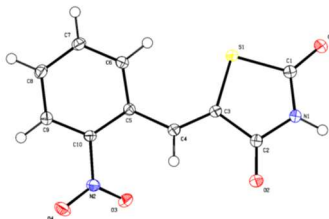
2.14 Spectre HMBC du composé 56



3 Analyses par diffraction des rayons X des composés 18a, b, 56 et 63

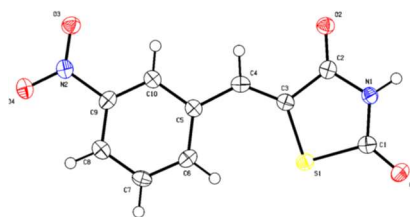
Les analyses par diffraction des rayons X ont toutes été réalisées au sein de la plateforme du CRM² (UMR 7036, Université de Lorraine). Toutes les ellipsoïdes thermiques ont été déterminées avec une probabilité de 50%.

Tableau 16 : Paramètres de l'analyse de diffraction des rayons X pour le composé 18a.



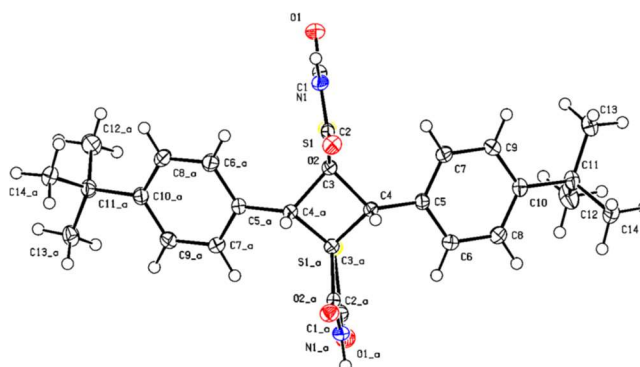
Crystal Parameters	18a
Identification Code	2151344
Empirical Formula	C ₁₀ H ₆ N ₂ O ₄ S
Formula Weight	250.23
Temperature (K)	100.0 (1)
Crystal System	monoclinic
Space Group	P2 ₁ /c
a (Å)	18.1123(5)
b (Å)	7.6980(6)
c (Å)	7.1649(14)
α (°)	90
β (°)	90.884(3)
γ (°)	90
Volume (Å ³)	998.9(2)
Z	4
ρ _{calc} (g/cm ³)	1.664
μ (mm ⁻¹)	0.328
F(000)	512.0
Crystal size (mm ³)	0.494 × 0.367 × 0.132
Radiation	MoKα (λ = 0.71073)
2θ range for data collection (°)	5.75 to 61.14
Index ranges	-25 ≤ h ≤ 25, -11 ≤ k ≤ 11, -10 ≤ l ≤ 10
Reflections collected	17478
Independent reflections	3041 [R _{int} = 0.0324, R _{sigma} = 0.0234]
Data/restraints/parameters	3041/1/158
Goodness-of-fit on F ²	1.049
Final R indexes (I ≥ 2σ (I))	R ₁ = 0.0329, wR ₂ = 0.0857
Final R indexes (all data)	R ₁ = 0.0378, wR ₂ = 0.0906
Largest diff. peak/hole (e Å ⁻³)	0.52/-0.26

Tableau 17 : Paramètres de l'analyse de diffraction des rayons X pour le composé 18b.



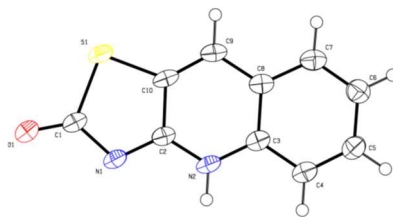
Crystal Parameters	18b
Identification Code	2151342
Empirical Formula	C ₁₀ H ₆ N ₂ O ₄ S
Formula Weight	250.23
Temperature (K)	100.00 (10)
Crystal System	triclinic
Space Group	P-1
a (Å)	4.7126(4)
b (Å)	10.8719(11)
c (Å)	11.1076(12)
α (°)	117.060(11)
β (°)	99.615(8)
γ (°)	92.423(7)
Volume (Å ³)	495.13(10)
Z	2
ρ _{calc} (g/cm ³)	1.678
μ (mm ⁻¹)	0.331
F(000)	256.0
Crystal size (mm ³)	0.468 × 0.146 × 0.032
Radiation	Mo Kα (λ = 0.71073)
2θ range for data collection (°)	4.358 to 56.552
Index ranges	-6 ≤ h ≤ 6, -14 ≤ k ≤ 14, -14 ≤ l ≤ 14
Reflections collected	9134
Independent reflections	2446 [R _{int} = 0.0734, R _{sigma} = 0.0733]
Data/restraints/parameters	2446/0/158
Goodness-of-fit on F ²	1.049
Final R indexes (I ≥ 2σ (I))	R ₁ = 0.0649, wR ₂ = 0.1521
Final R indexes (all data)	R ₁ = 0.0904, wR ₂ = 0.1737
Largest diff. peak/hole (e Å ⁻³)	0.88/-0.52

Tableau 18 : Paramètres de l'analyse de diffraction des rayons X pour le composé 56.



Crystal Parameters	56
Identification Code	2156396
Empirical Formula	C ₂₈ H ₃₂ N ₂ O ₅ S ₂
Formula Weight	540.67
Temperature (K)	100.0(1)
Crystal System	orthorhombic
Space Group	Pnna
a (Å)	10.62820(10)
b (Å)	11.9251(2)
c (Å)	21.6822(3)
α (°)	90
β (°)	90
γ (°)	90
Volume (Å³)	2748.05(7)
Z	4
ρ_{calc} (g/cm³)	1.307
μ (mm⁻¹)	2.088
F(000)	1144.0
Crystal size (mm³)	0.302 × 0.121 × 0.065
Radiation	Cu Kα (λ = 1.54184)
2θ range for data collection (°)	8.156 to 153.312
Index ranges	-13 ≤ h ≤ 12, -15 ≤ k ≤ 14, -27 ≤ l ≤ 27
Reflections collected	44265
Independent reflections	2900 [R _{int} = 0.0425, R _{sigma} = 0.0140]
Data/restraints/parameters	2900/0/175
Goodness-of-fit on F²	1.073
Final R indexes (I ≥ 2σ (I))	R ₁ = 0.0361, wR ₂ = 0.0990
Final R indexes (all data)	R ₁ = 0.0385, wR ₂ = 0.1023
Largest diff. peak/hole (e Å⁻³)	0.44/-0.35

Tableau 19 : Paramètres de l'analyse de diffraction des rayons X pour le composé 63



Crystal Parameters	63
Identification Code	2151345
Empirical Formula	C ₁₀ H ₆ N ₂ O ₂ S
Formula Weight	202.23
Temperature (K)	100.0 (1)
Crystal System	monoclinic
Space Group	P2 ₁ /c
a (Å)	4.4160(4)
b (Å)	16.6994(6)
c (Å)	11.7544(8)
α (°)	90
β (°)	100.701(7)
γ (°)	90
Volume (Å³)	851.75(10)
Z	4
ρ_{calc} (g/cm³)	1.577
μ (mm⁻¹)	3.063
F(000)	416.0
Crystal size (mm³)	0.418 × 0.047 × 0.042
Radiation	Cu Kα (λ = 1.54184)
2θ range for data collection (°)	5.292 to 149.004
Index ranges	-5 ≤ h ≤ 4, -20 ≤ k ≤ 20, -14 ≤ l ≤ 14
Reflections collected	17886
Independent reflections	1735 [R _{int} = 0.0771, R _{sigma} = 0.0291]
Data/restraints/parameters	1735/0/128
Goodness-of-fit on F²	1.054
Final R indexes (I ≥ 2σ (I))	R ₁ = 0.0513, wR ₂ = 0.1395
Final R indexes (all data)	R ₁ = 0.0601, wR ₂ = 0.1486
Largest diff. peak/hole (e Å⁻³)	0.44/-0.28

4 Étude de l'influence des composés sur la cinétique de polymérisation de la tubuline

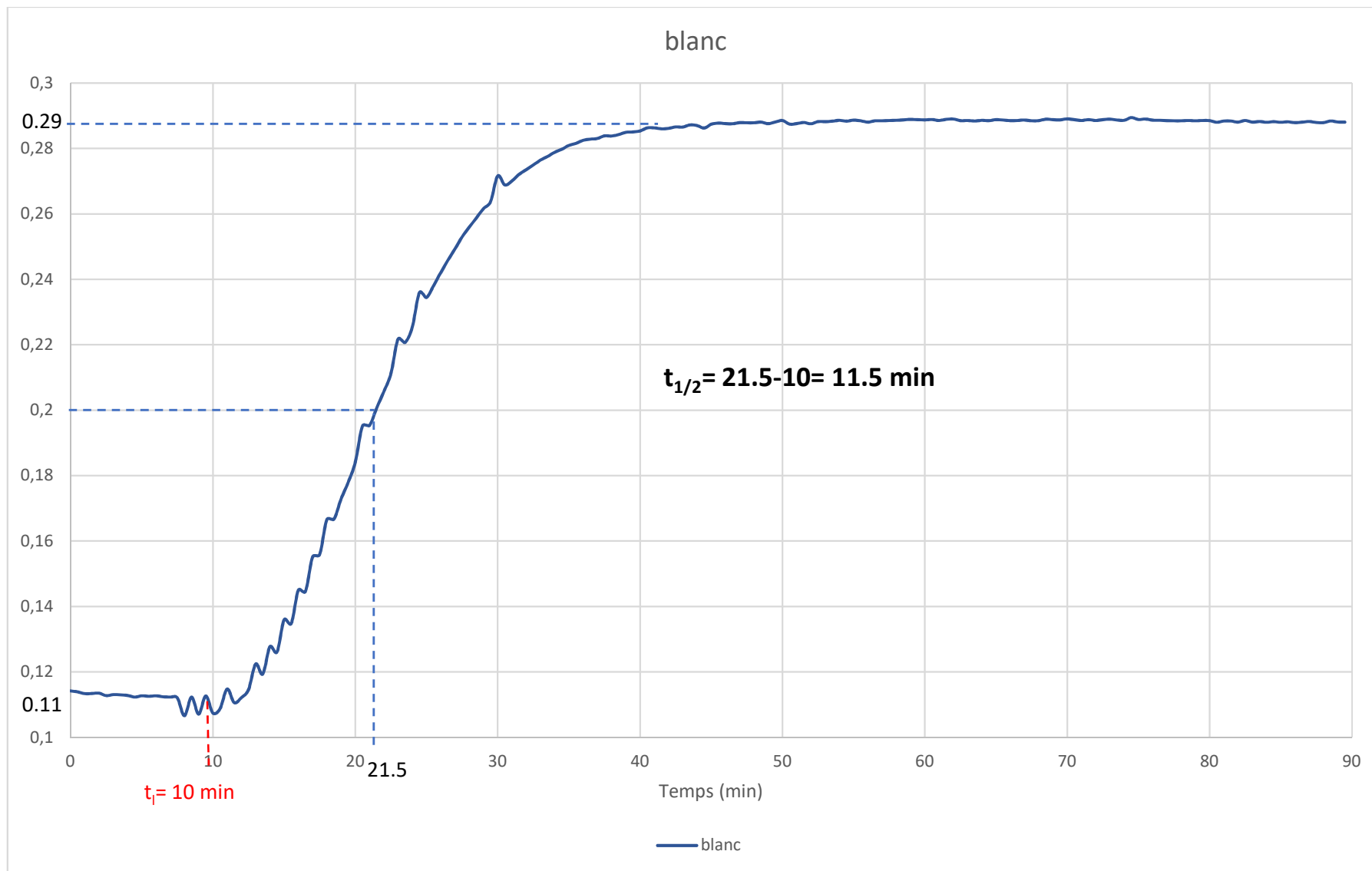


Figure 64 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline seule.

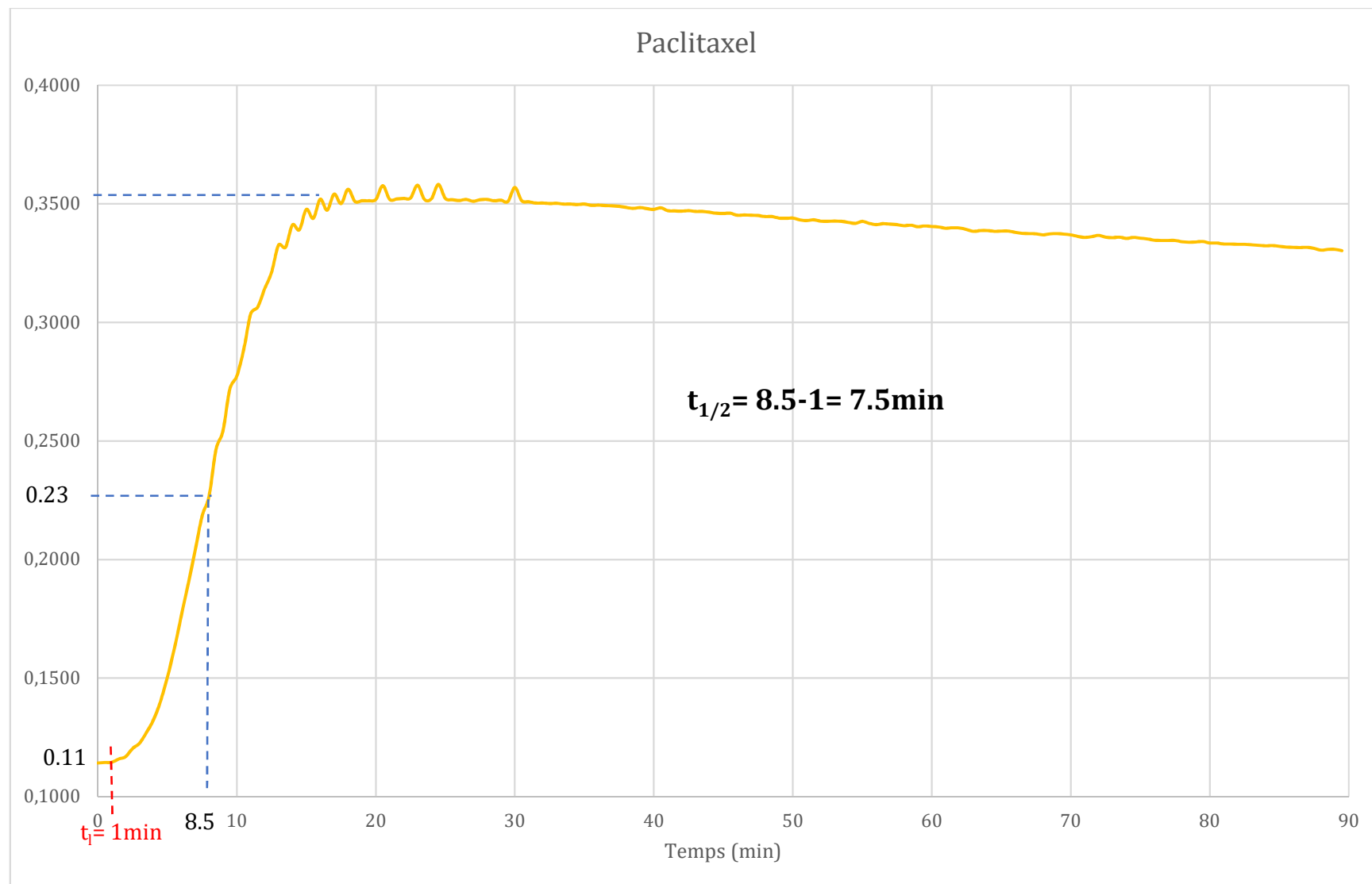


Figure 65 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour le Paclitaxel.

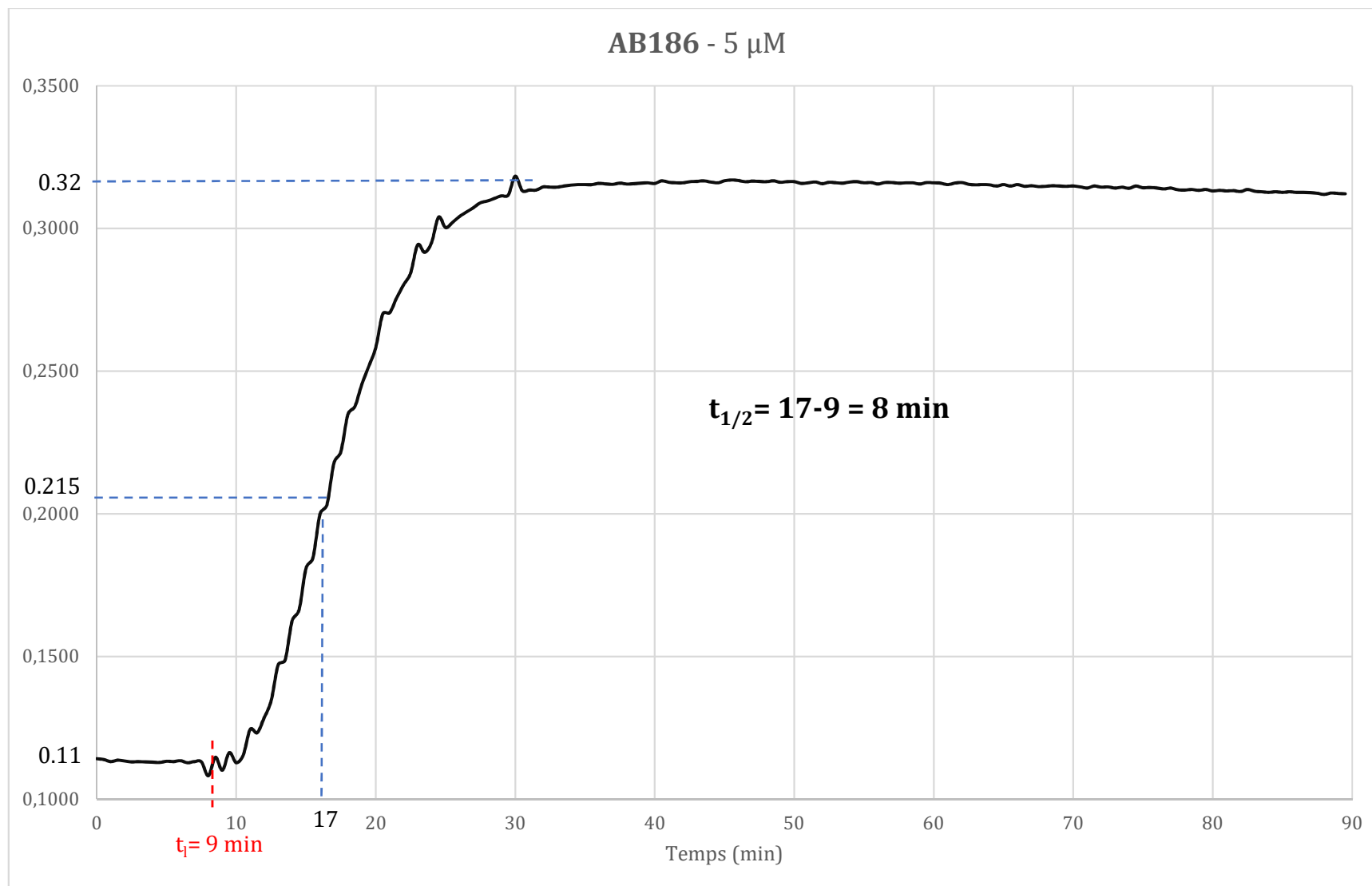


Figure 66 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour AB186 à 5 μM .

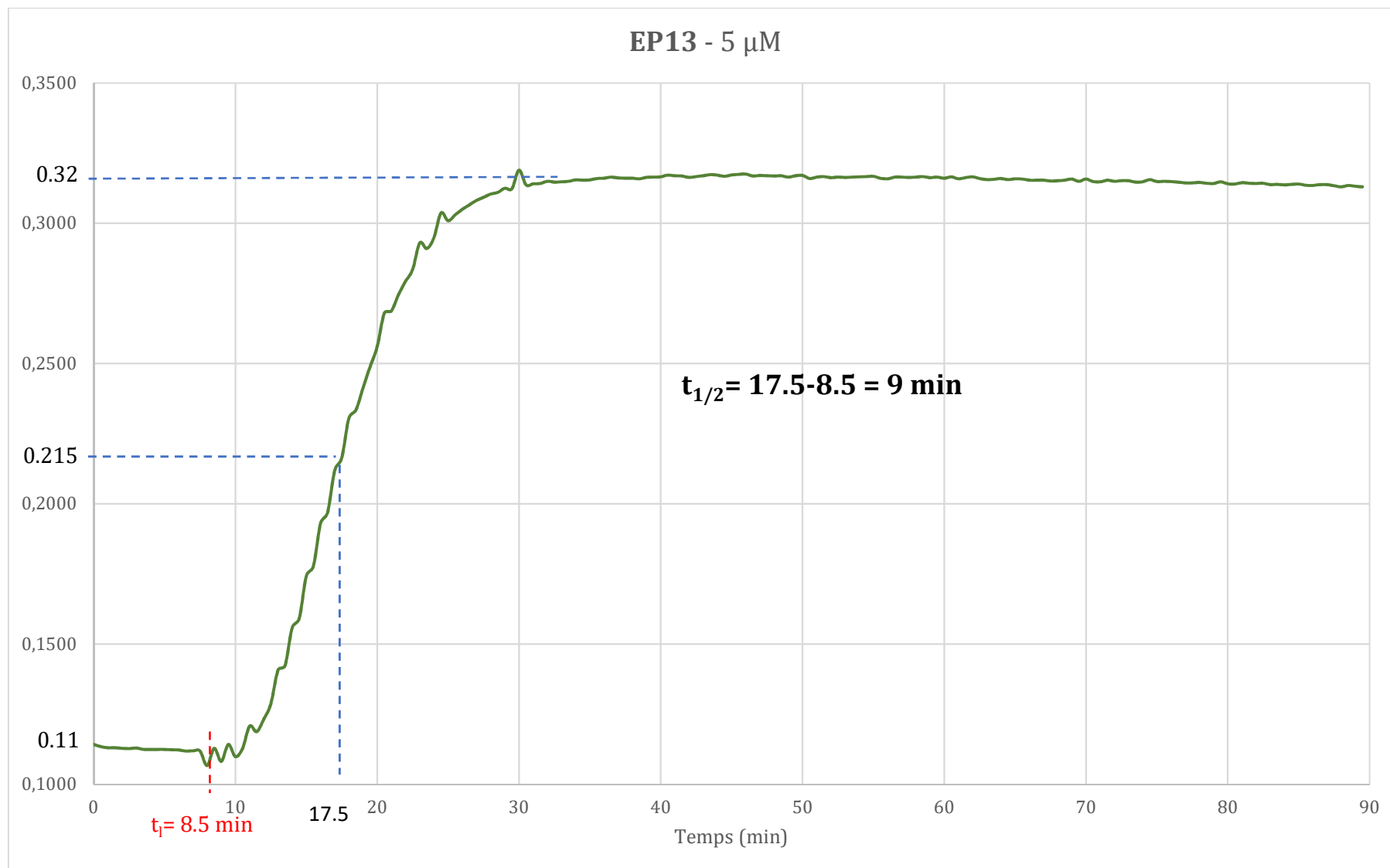


Figure 67 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour EP13 à 5 μ M.

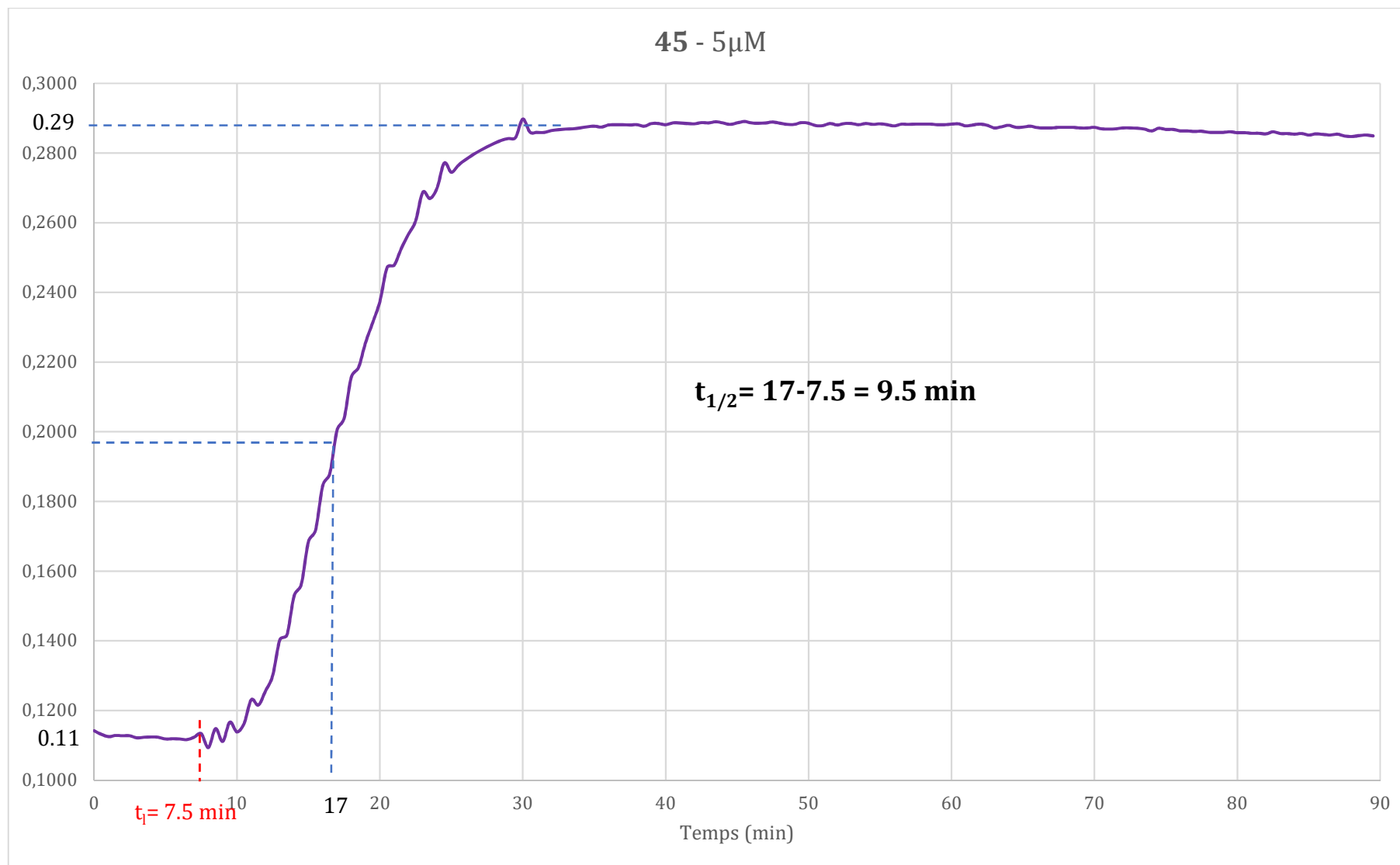


Figure 68 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 45 à 5 μ M.

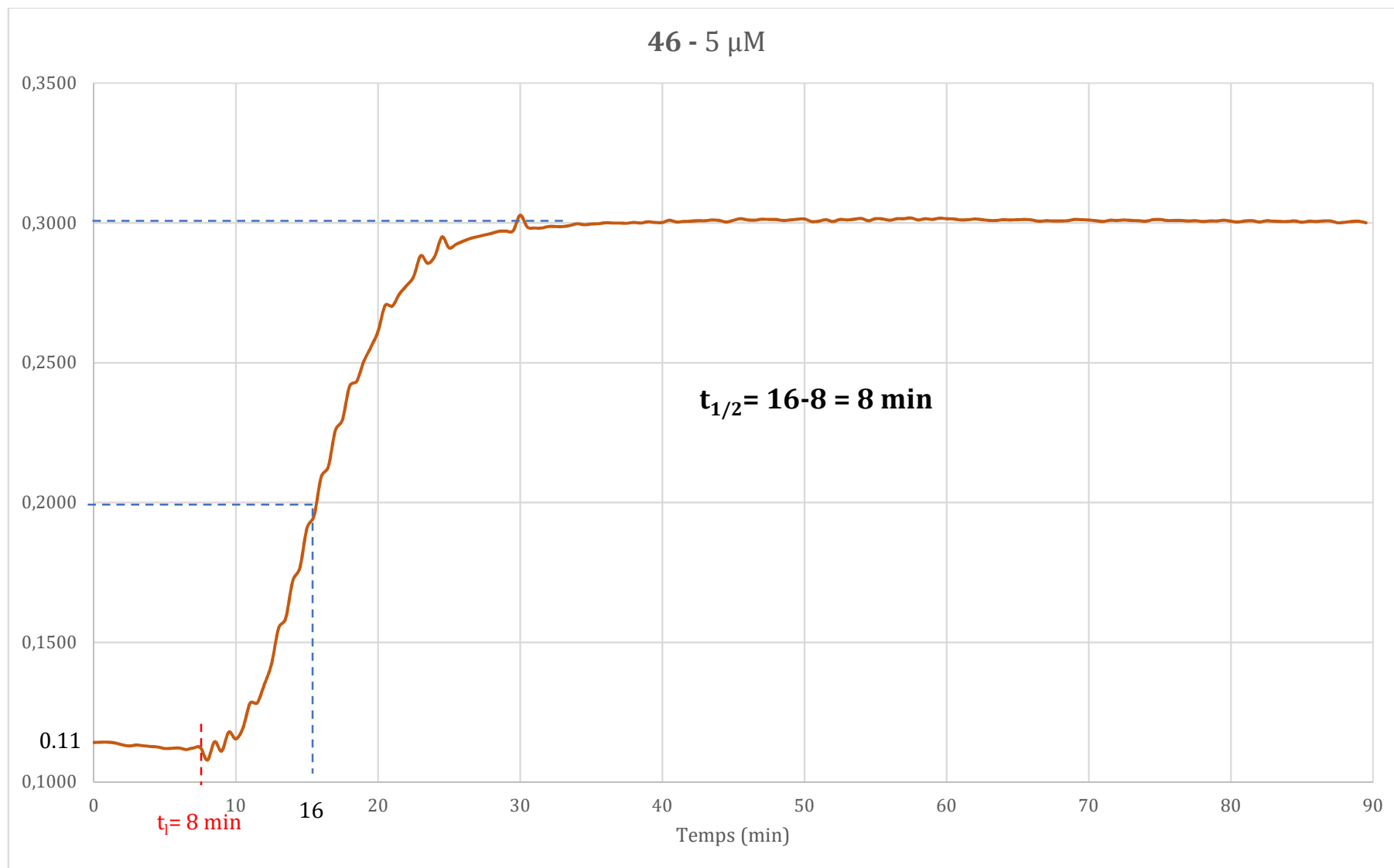


Figure 69 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 46 à 5 μ M.

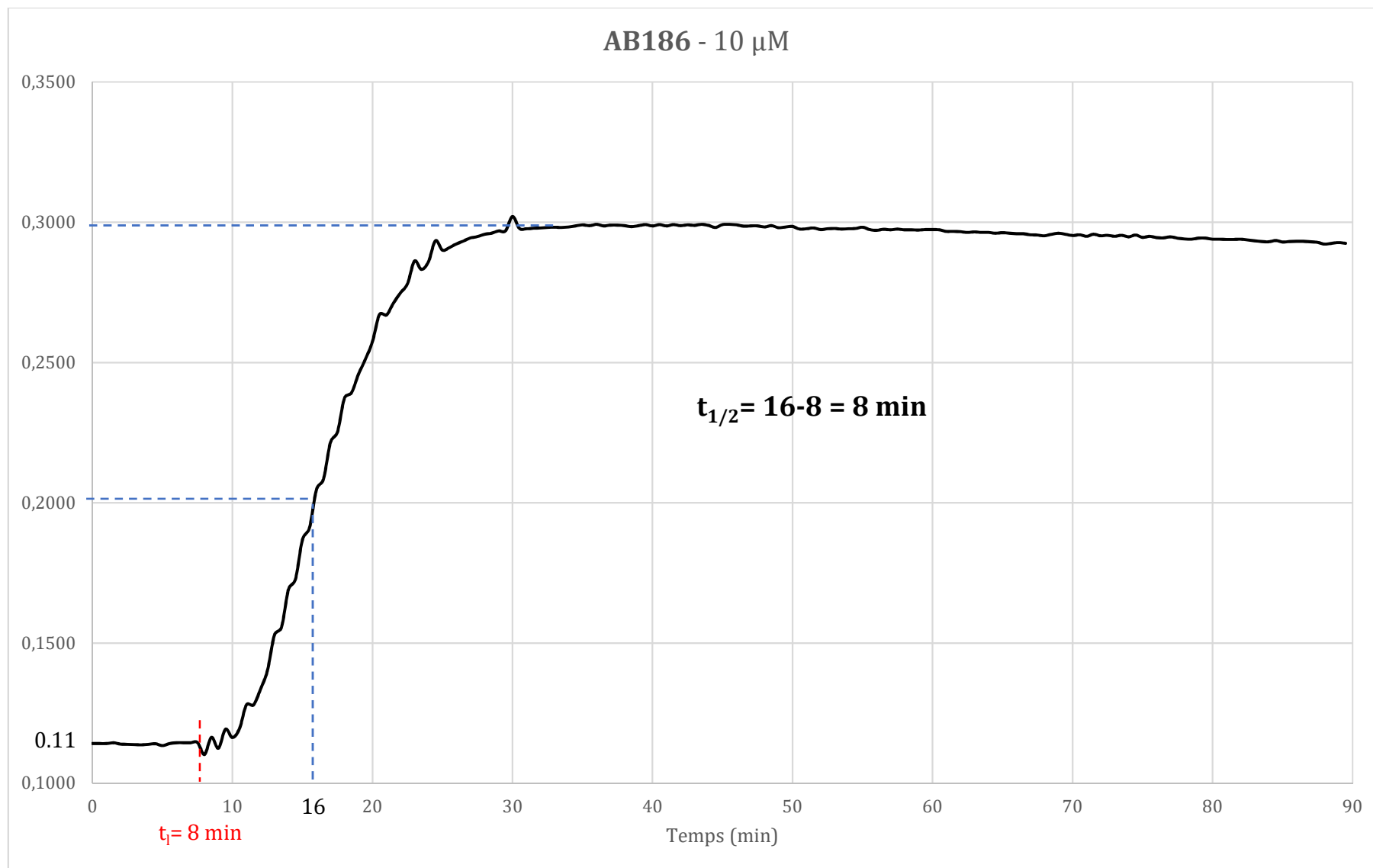


Figure 70 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour AB186 à 10 μ M.

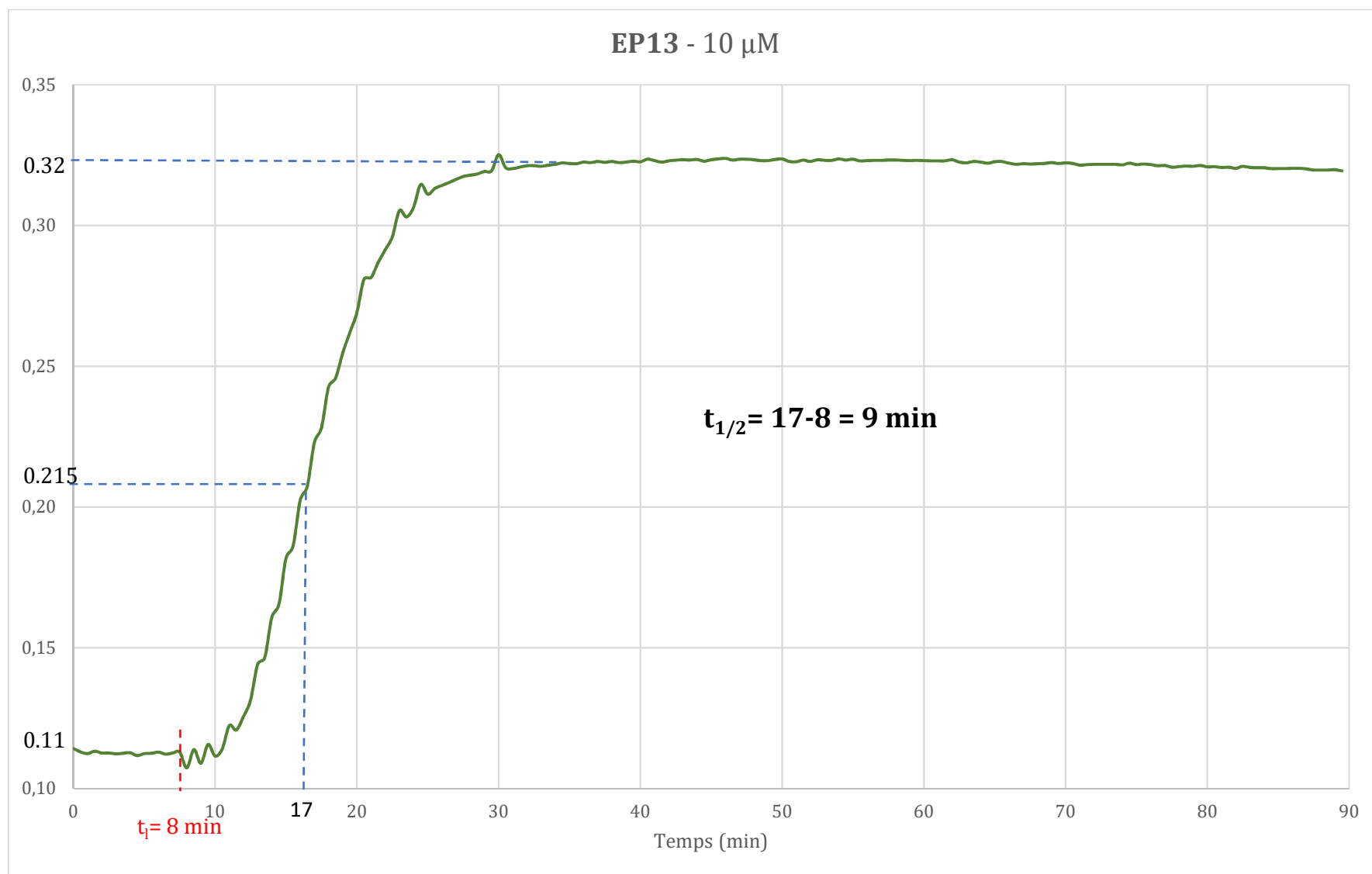


Figure 71 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour EP13 à 10 μ M.

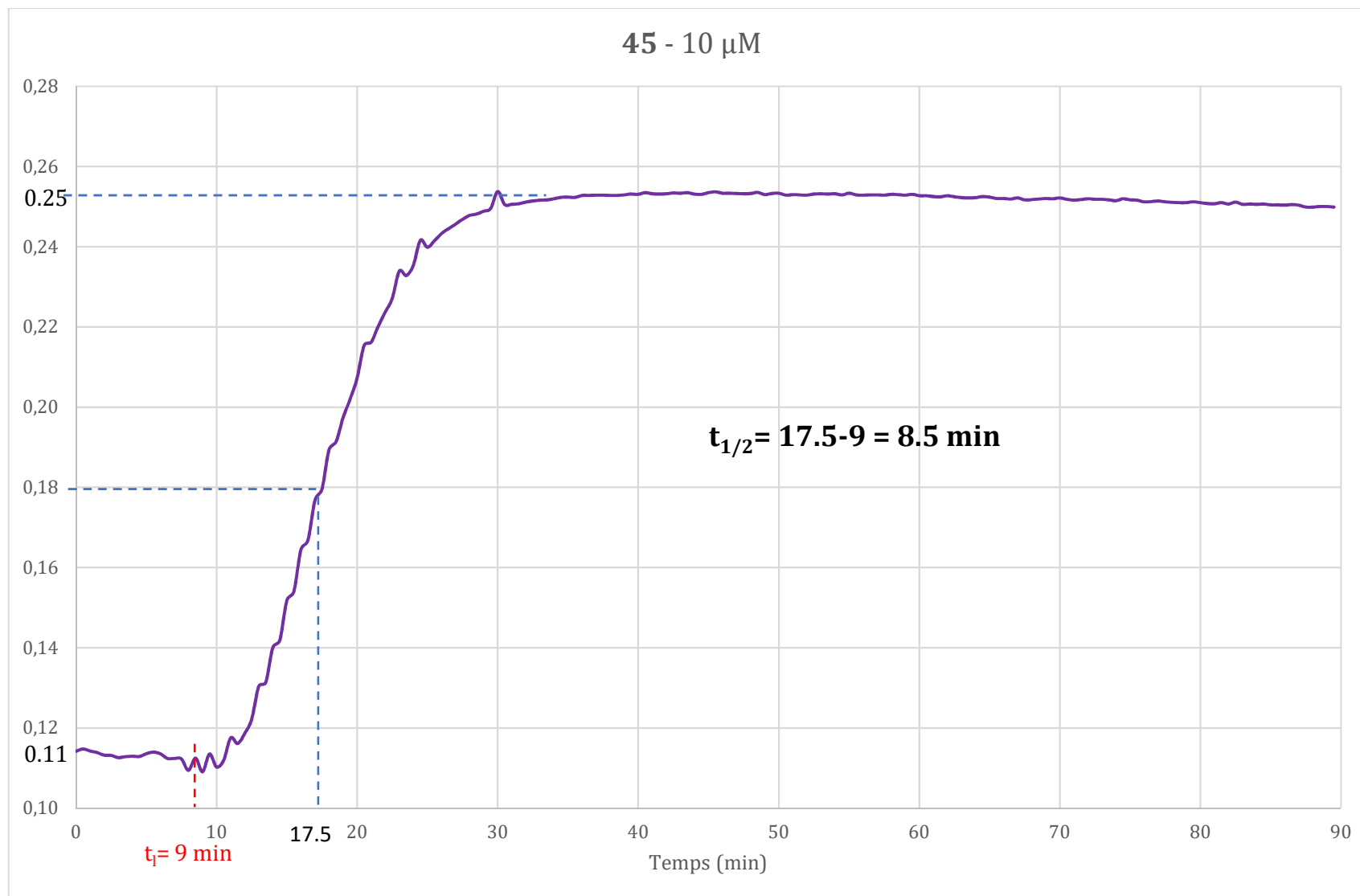


Figure 72 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 45 à 10 μM .

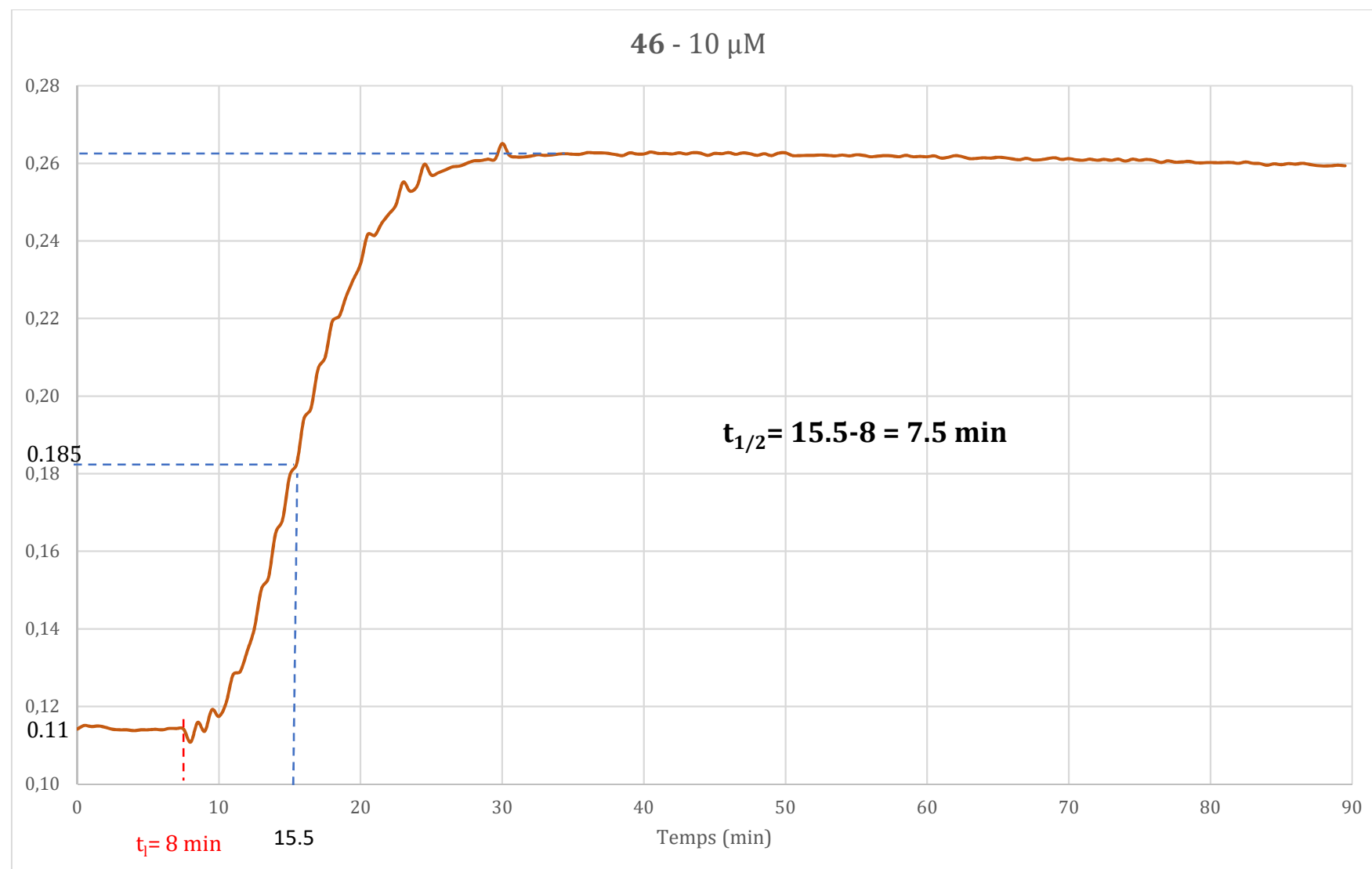


Figure 73 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 46 à 10 μM .

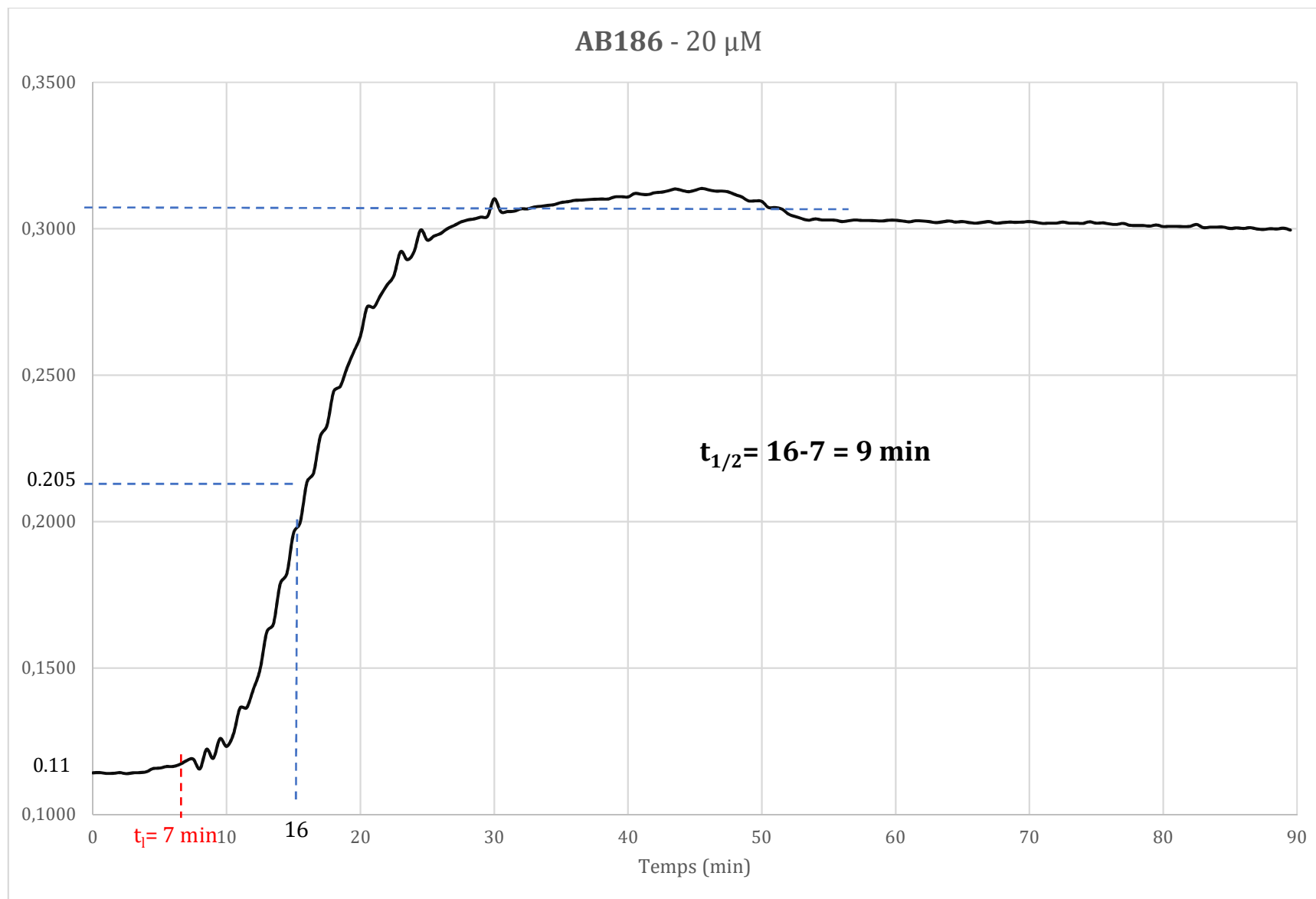


Figure 74 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour AB186 à 20 μ M.

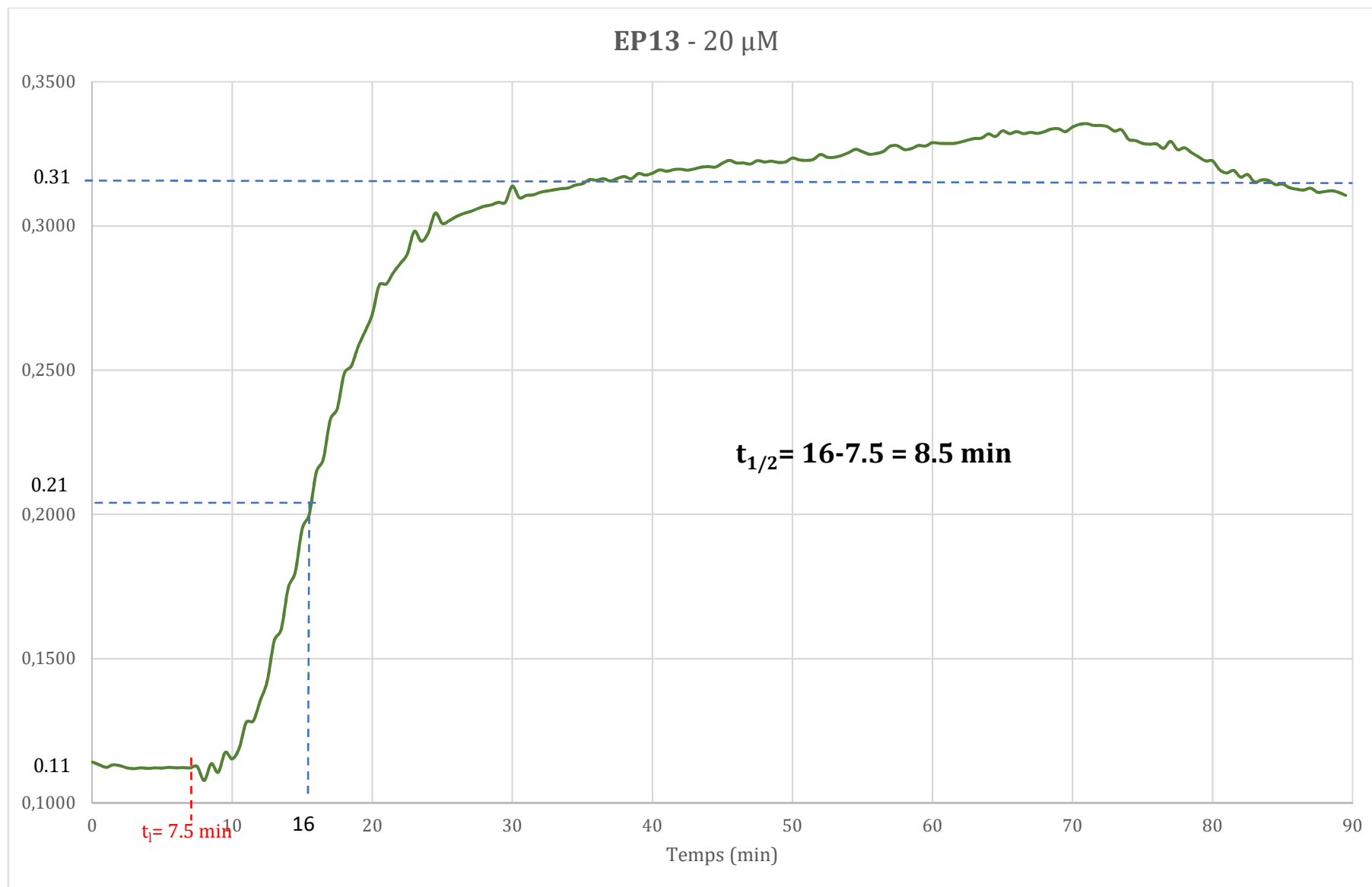


Figure 75 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour EP13 à 20 μM .

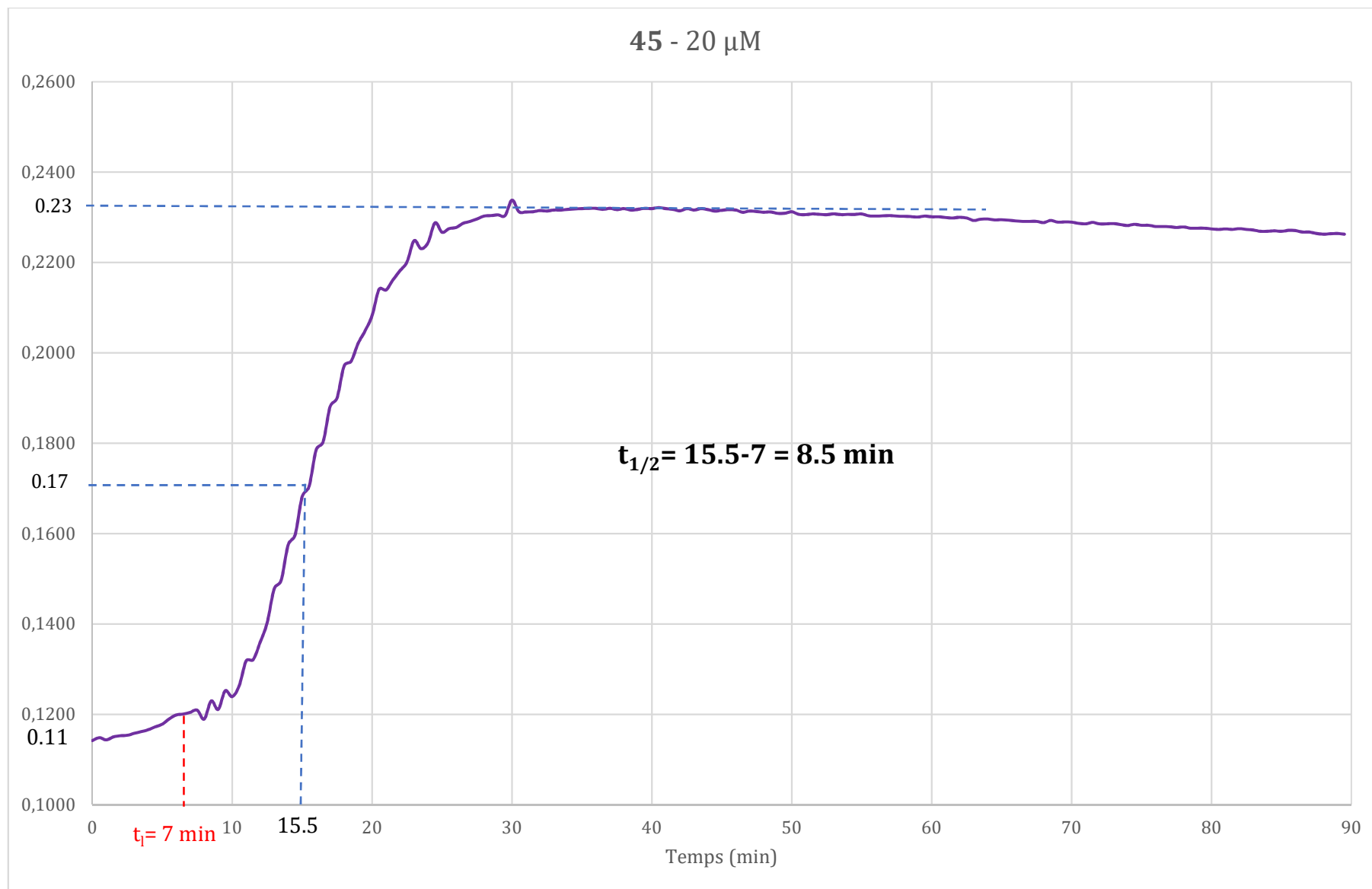


Figure 76 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 45 à 20 μM .

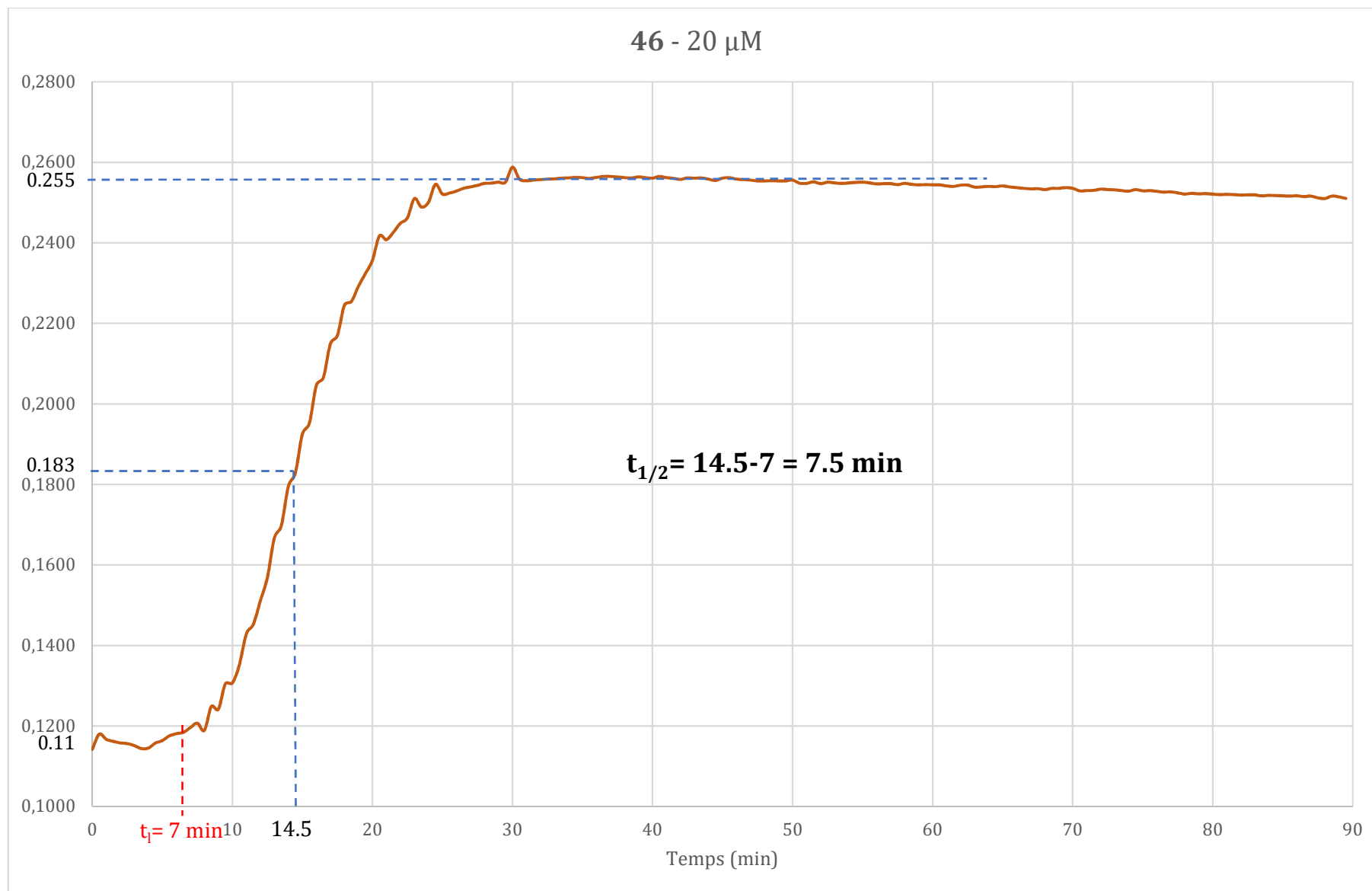
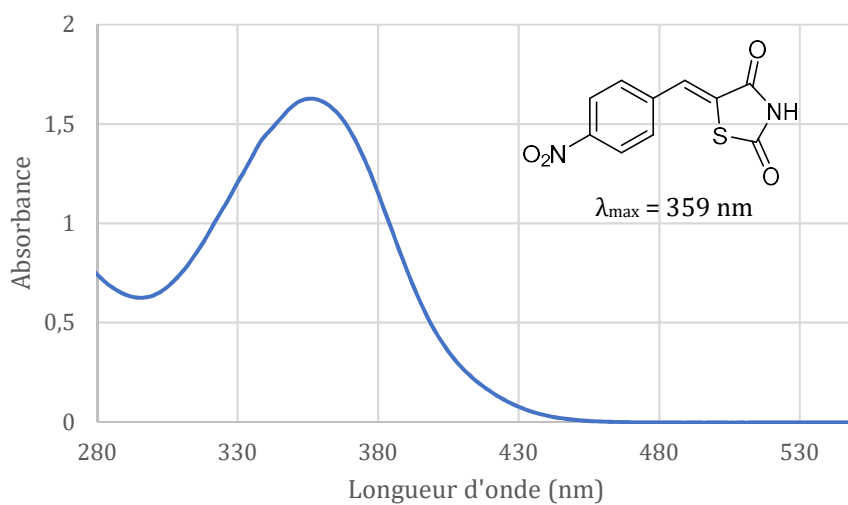
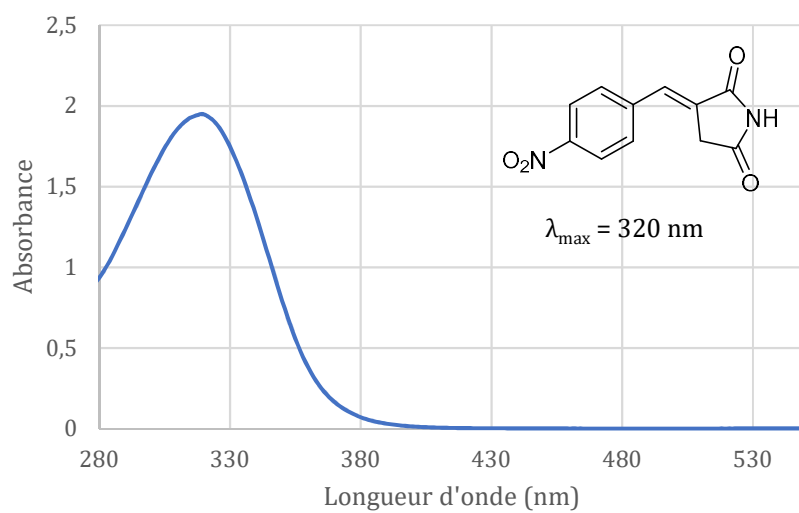
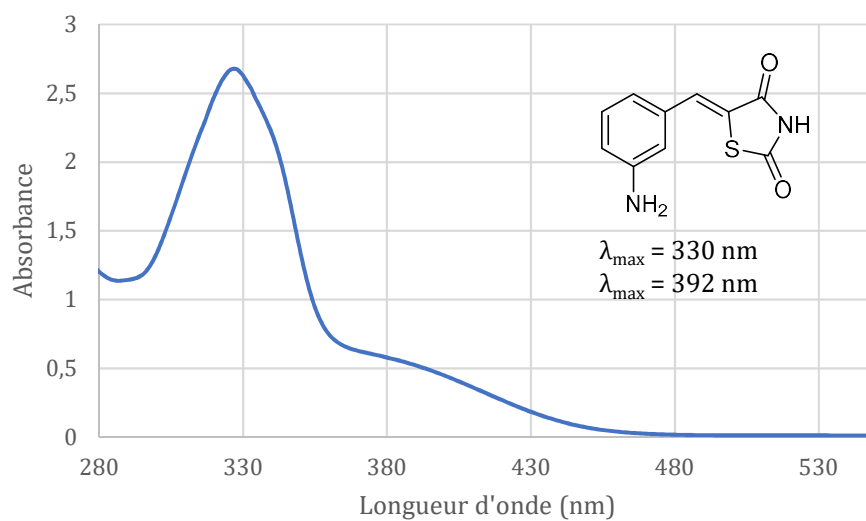
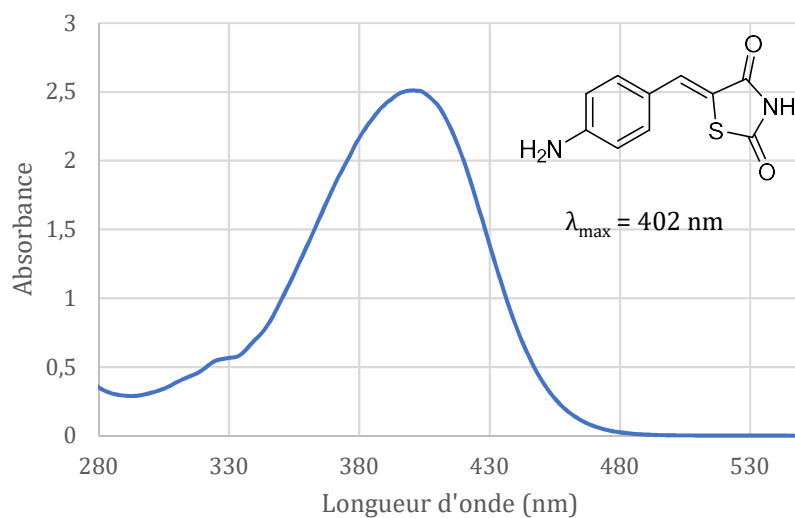
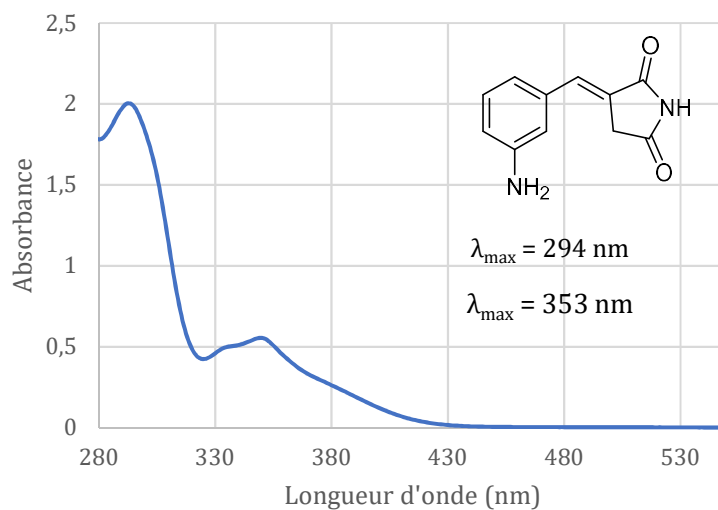
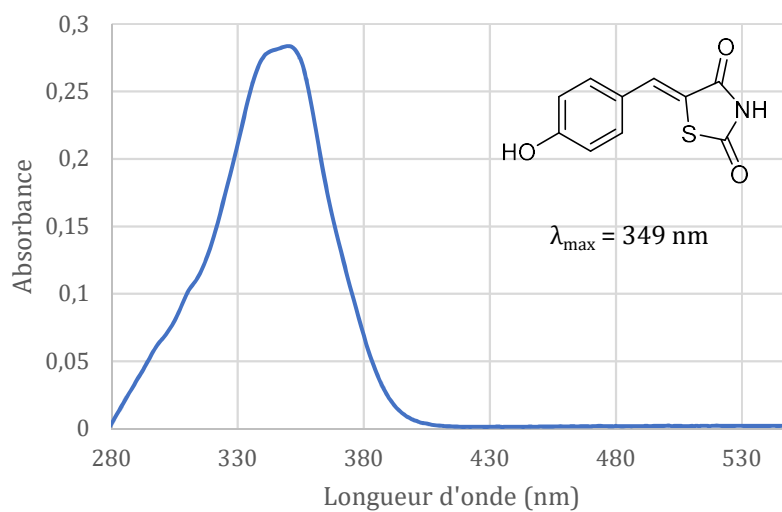


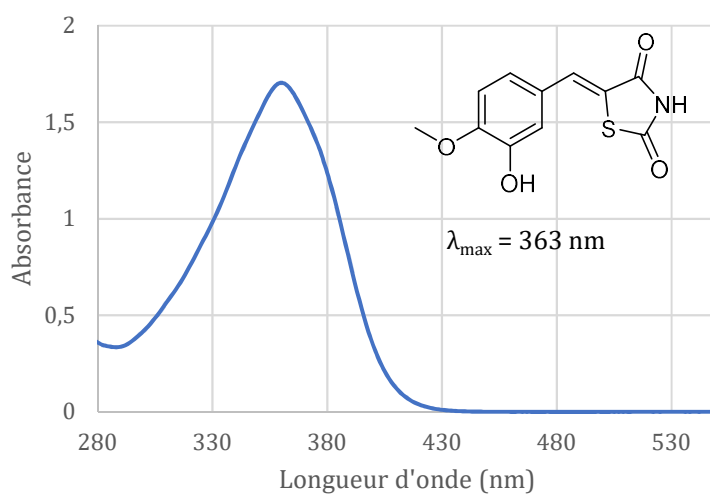
Figure 77 : Mesure du temps de demi-réaction de polymérisation de la tubuline pour 46 à 20 μM .

5 Spectres UV-visible dans le DMSO

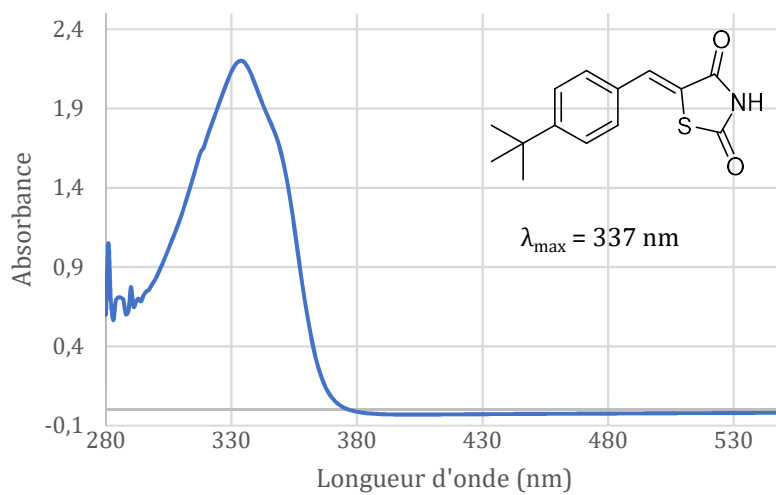
18c- DMSO**18f- DMSO****19b- DMSO**

19c- DMSO**19e- DMSO****50-DMSO**

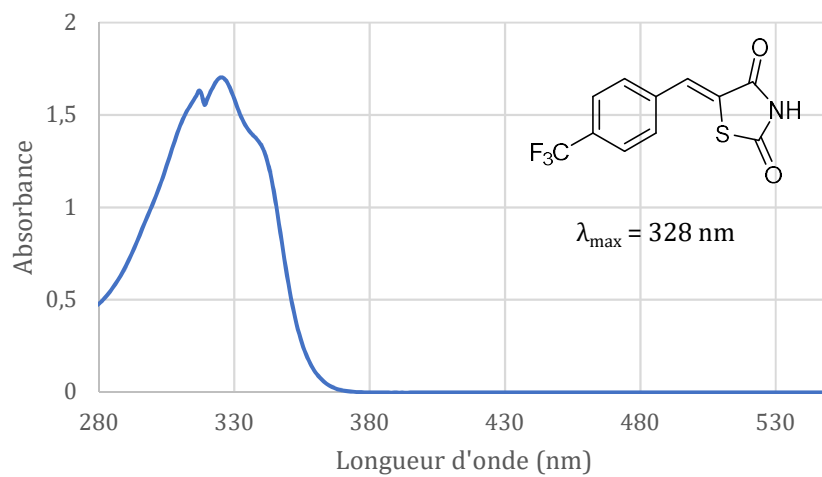
51-DMSO



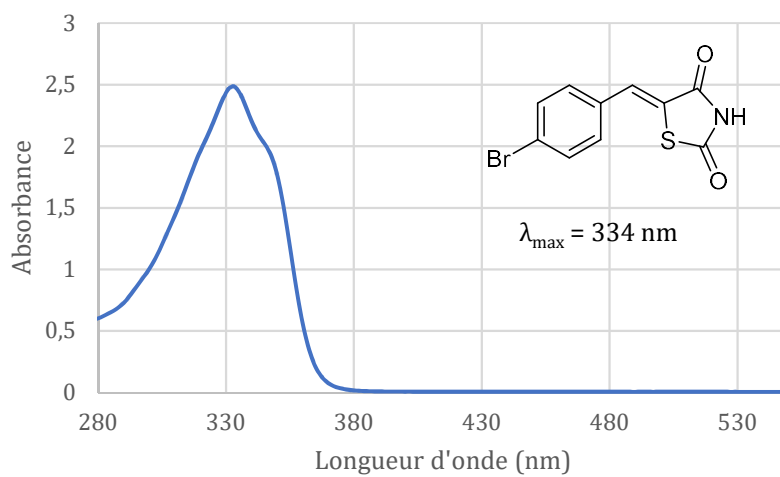
52-DMSO



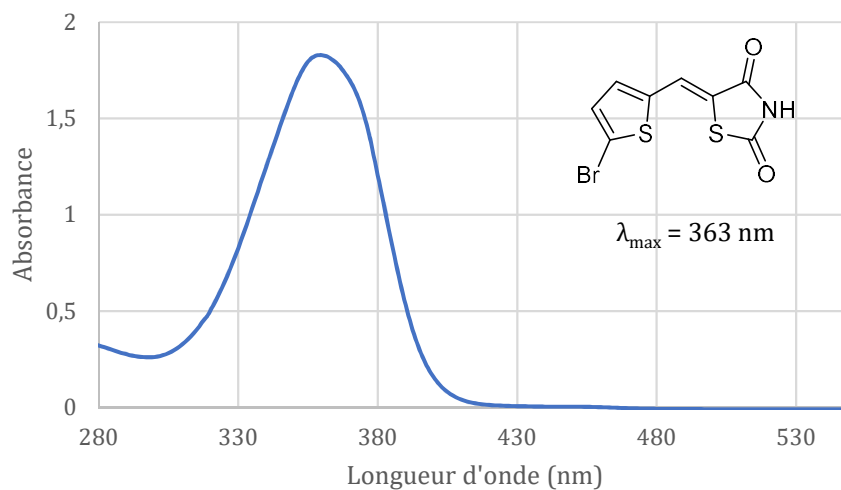
53-DMSO



54-DMSO



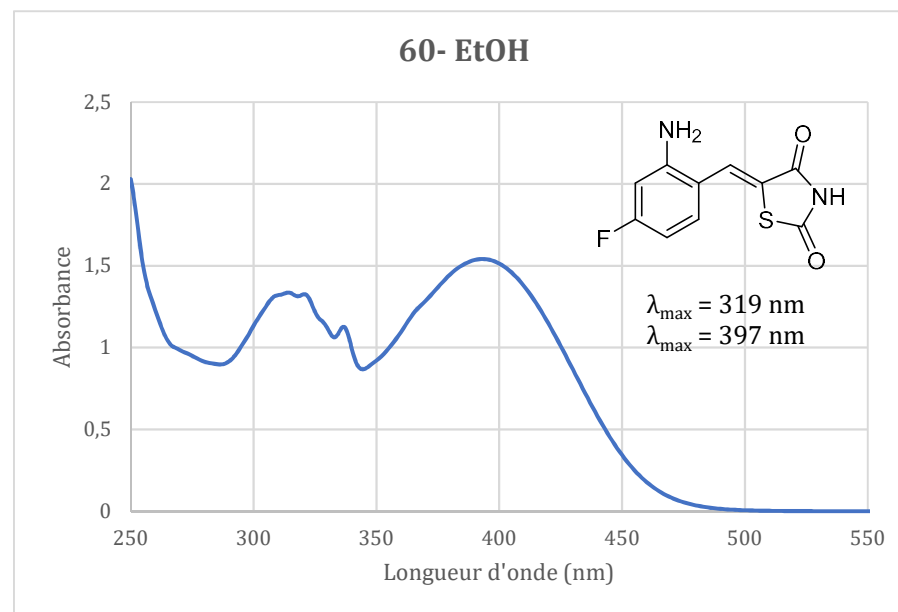
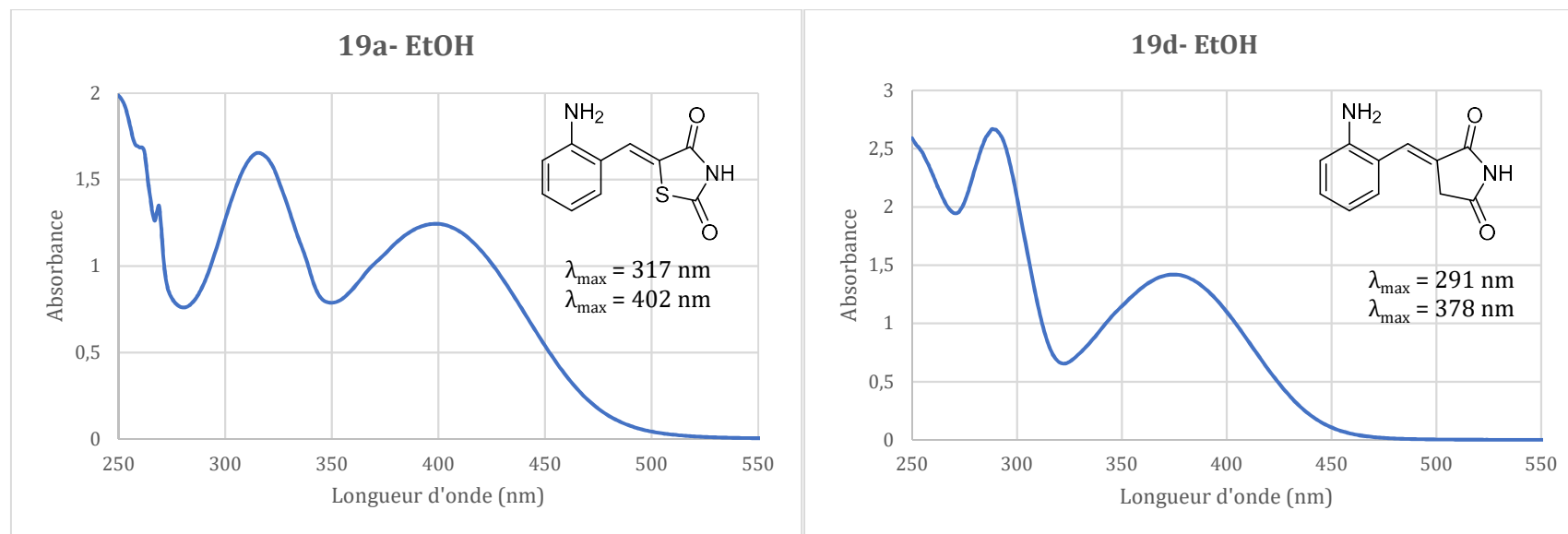
55- DMSO

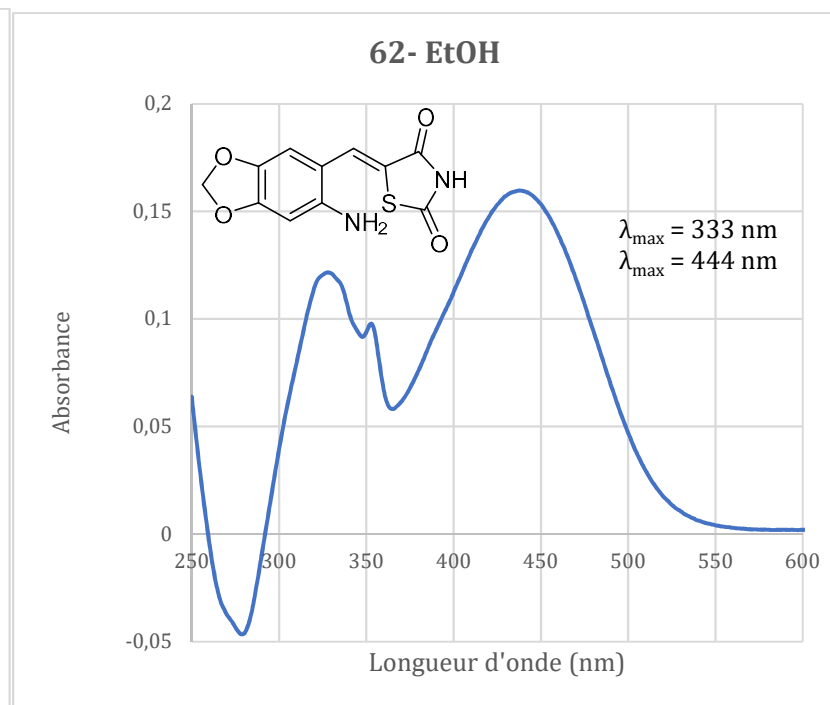
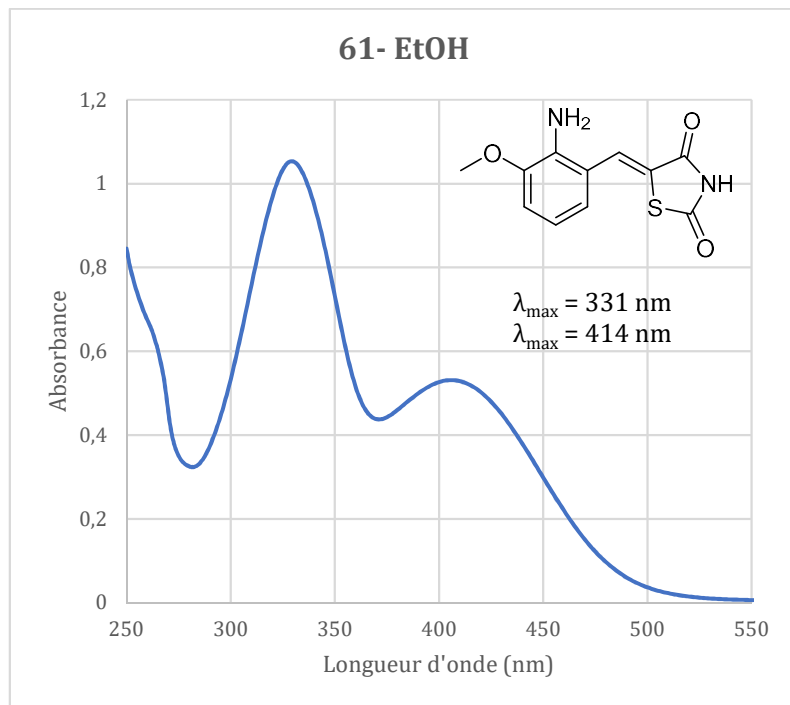


6 Analyses HR-MS et MSMS des composés 52, 56 et 56'

Composé	Temps de rétention (min)	m/z	Fragment	Formule brute	Masse calculée
52	16.4-16.9	262.0938	[M+H] ⁺	C ₁₄ H ₁₆ NO ₂ S	262.0896
		206.0372	[M+H-C ₄ H ₈] ⁺	C ₁₀ H ₈ NO ₂ S	206.0276
		178.0281	[M+H-C ₄ H ₈ -CO] ⁺	C ₉ H ₈ NOS	178.0327
		135.0239	[M+H-C ₄ H ₈ -CO-HNCO] ⁺	C ₈ H ₇ S	135.0268
56	19.8-20.2	545.1432	[M ₂ +Na] ⁺	C ₂₈ H ₃₀ NaN ₂ O ₄ S ₂	545.1545
		523.1753	[M ₂ +H] ⁺	C ₂₈ H ₃₁ N ₂ O ₄ S ₂	523.1725
		262.0894	[M+H] ⁺	C ₁₄ H ₁₆ NO ₂ S	262.0896
		206.0240	[M+H-C ₄ H ₈] ⁺	C ₁₀ H ₈ NO ₂ S	206.0276
56'	19.4-19.8	545.1483	[M ₂ +Na] ⁺	C ₂₈ H ₃₀ NaN ₂ O ₄ S ₂	545.1545
		523.1657	[M ₂ +H] ⁺	C ₂₈ H ₃₁ N ₂ O ₄ S ₂	523.1725
		467.1051	[M ₂ +H-C ₄ H ₈] ⁺	C ₂₄ H ₂₃ N ₂ O ₄ S ₂	467.1099
		262.0836	[M+H] ⁺	C ₁₄ H ₁₆ NO ₂ S	262.0896
		206.0190	[M+H-C ₄ H ₈] ⁺	C ₁₀ H ₈ NO ₂ S	206.0276

7 Spectres d'absorption UV-visible des amines





8 Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation. Suivi UV-visible

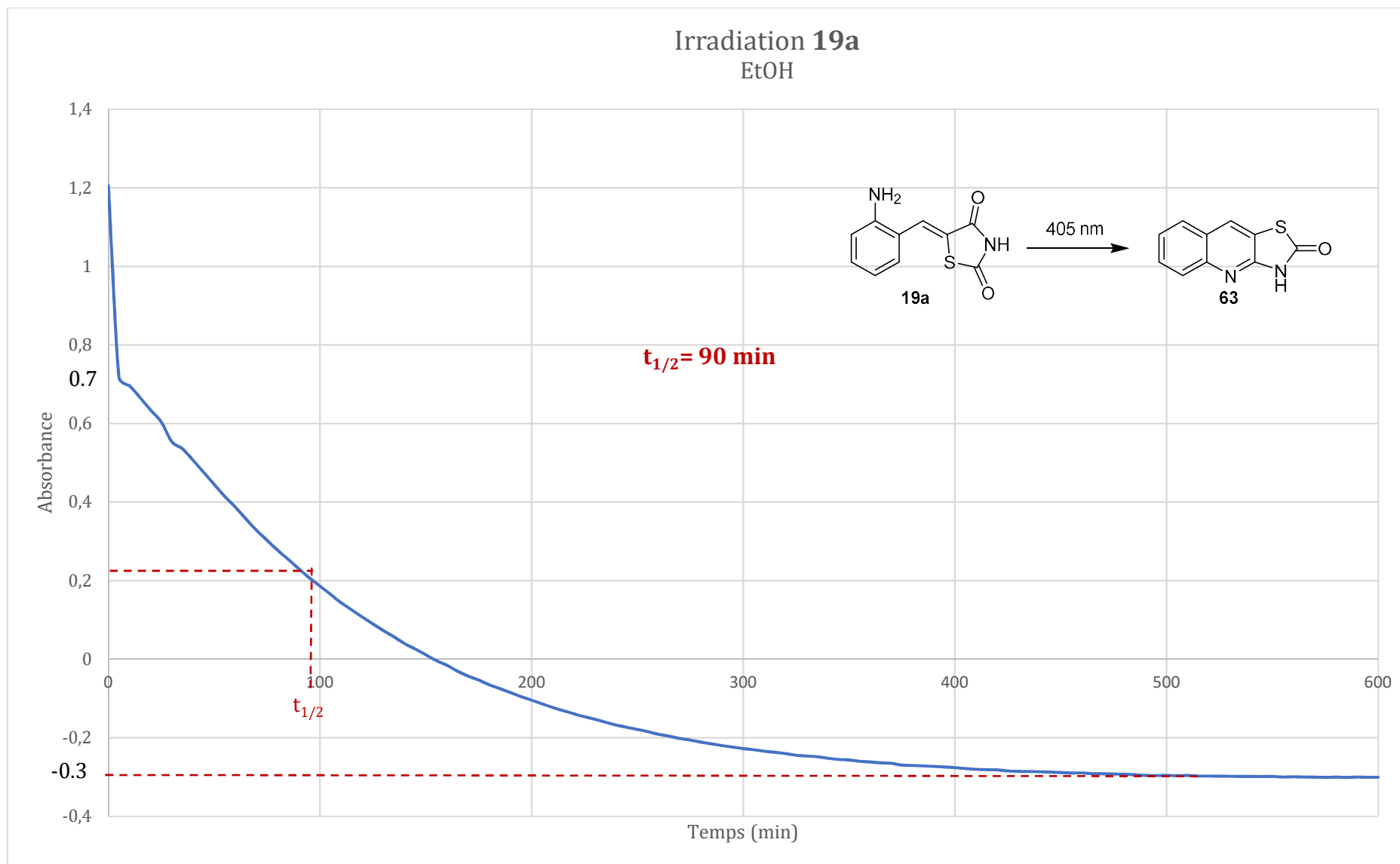


Figure 78 : Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation de l'amine 19a dans l'éthanol.

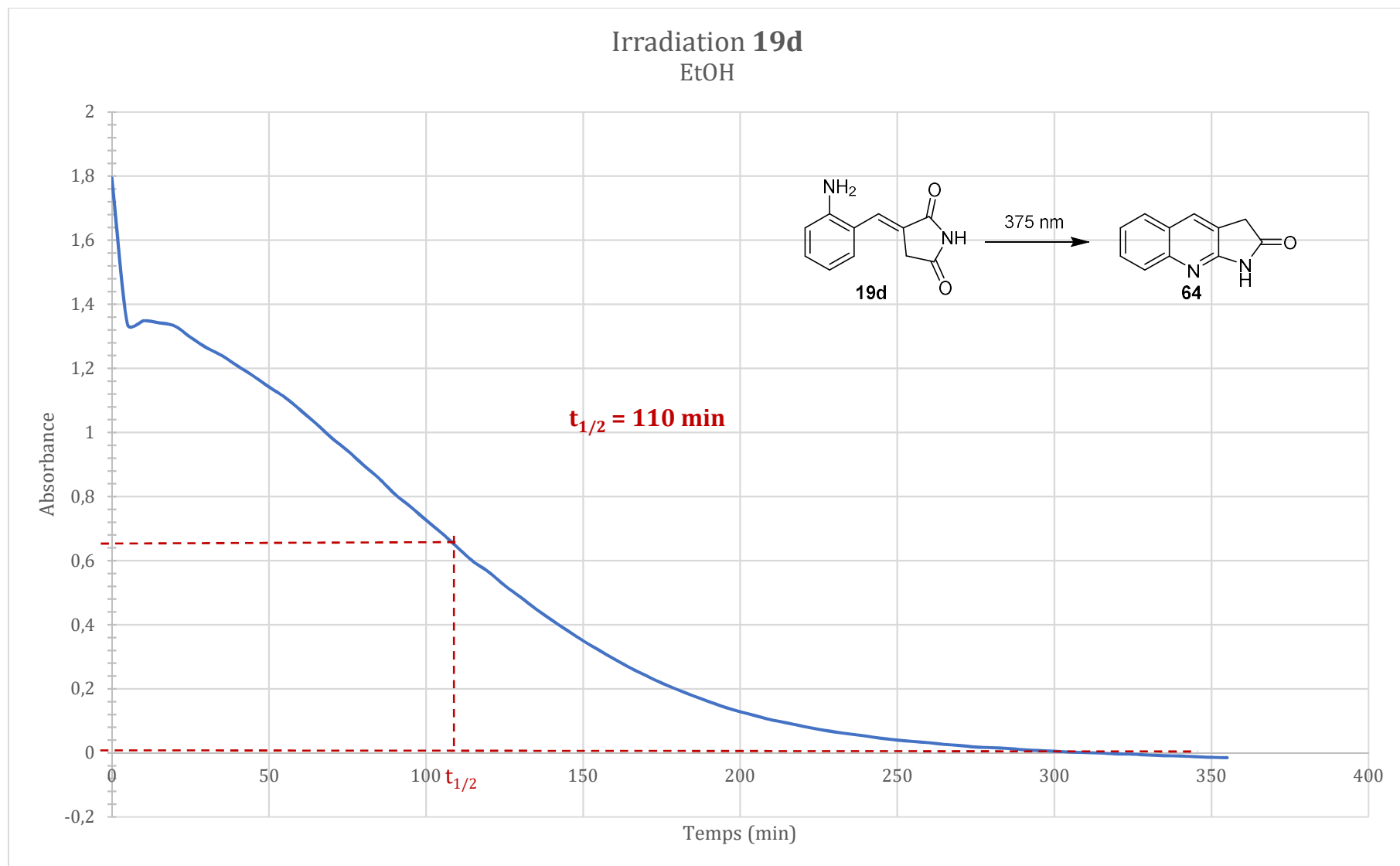


Figure 79 : Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation de l'amine 19d dans l'éthanol.

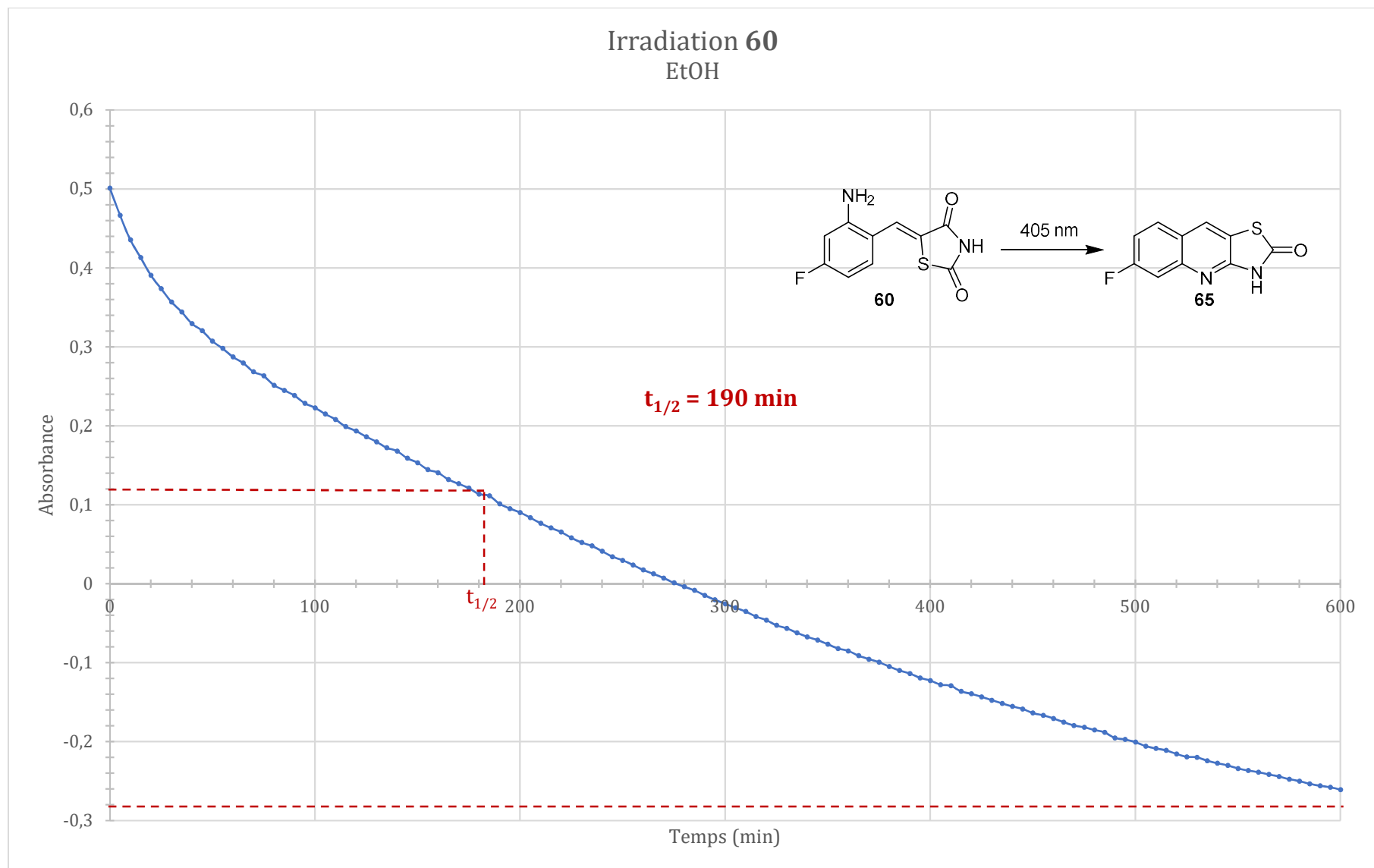


Figure 80 : Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation de l'amine 60 dans l'éthanol.

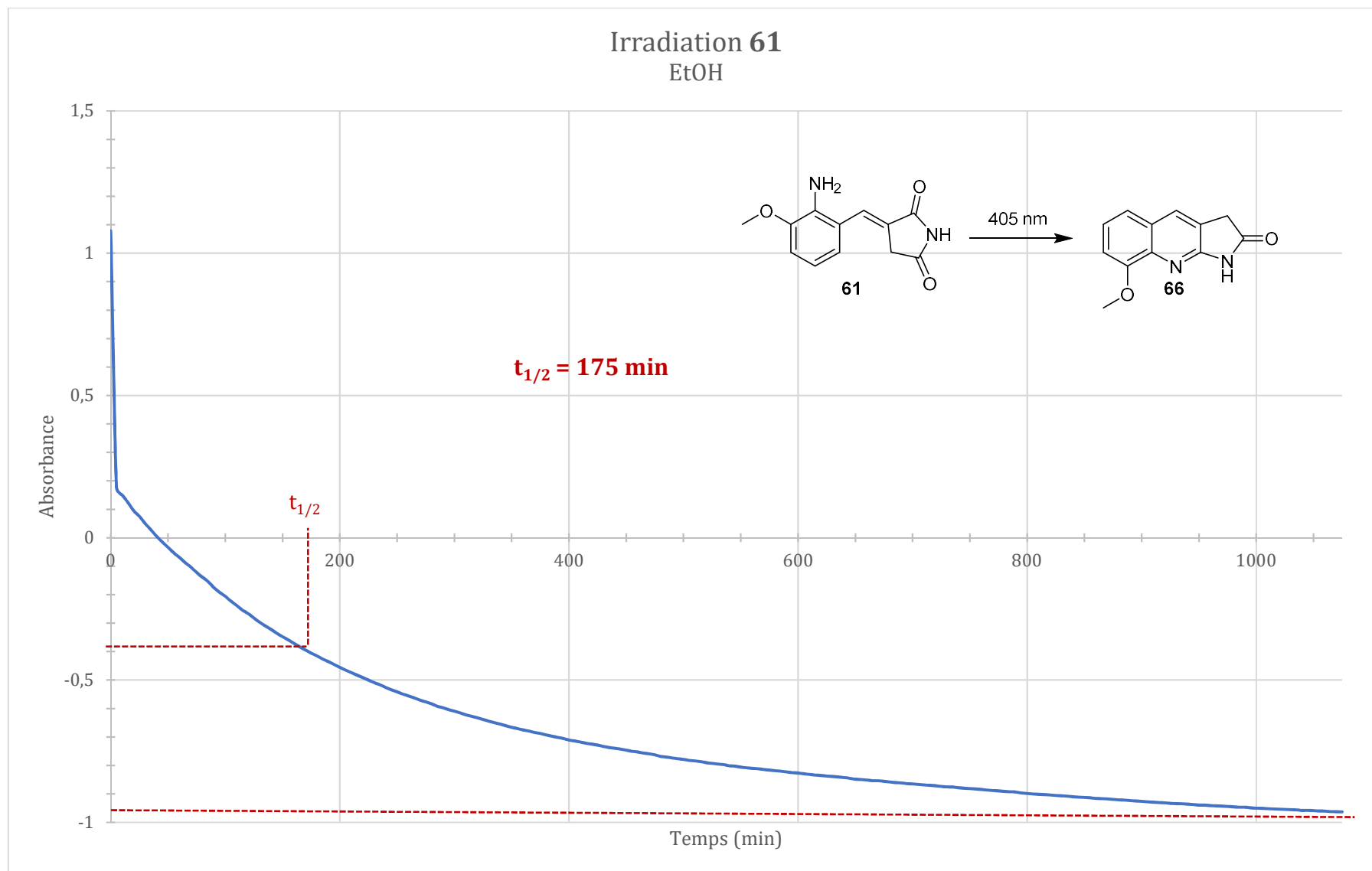


Figure 81 : Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation de l'amine 61 dans l'éthanol.

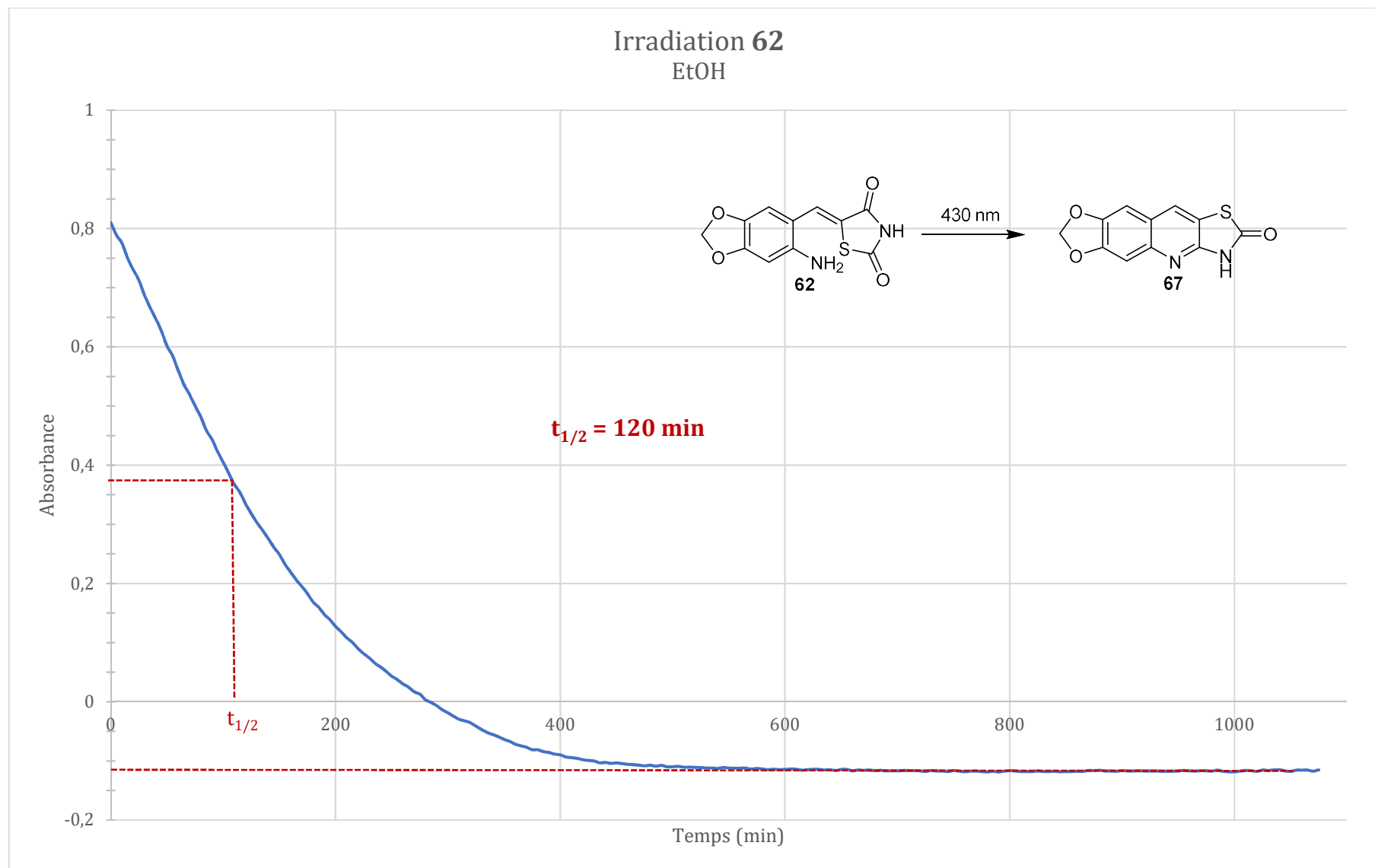


Figure 82 : Détermination du temps de demi-réaction de cyclisation de l'amine 62 dans l'éthanol.

Titre : Les Benzylidène-thiazolidinediones et -pyrrolidinediones, des synthons à fort potentiel : synthèse, activité biologique et photoisomérisation

Résumé : Ce travail de thèse concerne la synthèse de nouveaux dérivés de benzylidène-thiazolidinedione et benzylidène-pyrrolidinedione à visée anticancéreuse. Afin d'améliorer la sélectivité de ces composés vis-à-vis des cellules cancéreuses, nous nous sommes attachés à préparer de nouveaux analogues de notre précédente molécule tête de série impliquant la modulation de la position du fragment benzylidène, la modulation de l'hétéroatome central ainsi que la nature du cycle central. Une stratégie de synthèse multi-étapes a été développée et malgré les difficultés rencontrées dues à la complexité des structures envisagées, plus de vingt molécules ont été obtenues. Les propriétés antiprolifératives de ces molécules cibles ont été évaluées sur plusieurs lignées cellulaires, permettant une étude des relations structure-activité. Les propriétés de fluorescence intrinsèques de certains de nos composés ont permis leur suivi dans le milieu cellulaire, et des études ont été menées pour comprendre leur mécanisme d'action. Dans une seconde partie nous nous sommes intéressés à l'isomérisation de la double liaison du fragment benzylidène-thiazolidinedione par photoinduction. Une étude poussée combinant la synthèse organique et les spectroscopies UV-visible et RMN nous a permis de comprendre cette réaction de photoisomérisation. En particulier, grâce à un protocole d'irradiation *in-situ* couplé à un suivi par UV-visible et RMN, les éléments cinétiques de la réaction ainsi que les facteurs à moduler pour orienter cette isomérisation ont été déterminés. Enfin, l'application de cette séquence de photoisomérisation aux dérivés *o*-aminobenzylidène-hétérocycliques a conduit au développement d'une voie d'accès rapide et originale à de nouveaux quinolo-hétérocycles fusionnés.

Mots-clés : Benzylidène-hétérocycles, Pharmacomodulation, Cancer, Fluorescence, Photoisomérisation

Title : High valuable Benzylidene-thiazolidinedione and -pyrrolidinedione moieties : synthesis, biological activity and photoisomerization.

Abstract : This PhD work deals with the preparation of new benzylidene-heterocycle derivatives for anti-cancer therapy. In order to improve their selectivity towards cancer cell lines, we synthesized new analogs of our previous lead compound by modulating the relative position of the benzylidene-heterocycle moiety, changing the central heteroatom and the nature of the central cycle. A multistep synthesis was developed, and in spite of the encountered difficulties, due to the high complexity of the structures of the target compounds, more than 20 molecules were obtained. Antiproliferative properties of these compounds were evaluated on several cell lines leading to a structure-activity relationship study. Intrinsic fluorescent properties of our molecules allowed us to follow them inside the cells and further studies were achieved in order to understand their mechanism of action. In a second part, we explored the photoisomerization of the double bond of the benzylidene-thiazolidinedione moiety. An important in-depth study combining organic synthesis and UV-visible and NMR spectroscopies allowed us to understand this reaction. Thanks to an *in-situ* irradiation procedure monitored by NMR and UV-visible spectroscopy, we could determine kinetic parameters of this reaction as well as determinant factors to control the isomerization. Eventually, the extension of this sequence to *o*-aminobenzylidene-heterocycles led to the development of a fast and original synthesis pathway to new fused heterocyclic quinoline.

Key-words: Benzylidene-heterocycle, Pharmacomodulation, Cancer, Fluorescence, Photoisomerization.