

Synthèse et vectorisation de biomolécules type Chalcone en vue d'une application anticancéreuse

Benjamin Rioux

▶ **To cite this version:**

Benjamin Rioux. Synthèse et vectorisation de biomolécules type Chalcone en vue d'une application anticancéreuse. Autre. Université de Limoges, 2016. Français. NNT : 2016LIMO0104 . tel-01508557

HAL Id: tel-01508557

https://theses.hal.science/tel-01508557

Submitted on 14 Apr 2017

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.

Thèse de doctorat

Université de Limoges

Université de Limoges

École Doctorale Gay Lussac - Sciences pour l'Environnement (ED 523)

EA1069 - Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles
Faculté de Pharmacie de Limoges

Thèse pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Limoges

Discipline / Spécialité : Chimie Appliquée / Chimie des Substances Naturelles

Présentée et soutenue publiquement par

Benjamin Rioux

Le 15 décembre 2016

Synthèse et vectorisation de biomolécules de type chalcones en vue d'une application anti-cancéreuse.

Thèse dirigée par : Pr. Vincent SOL, Pr. Catherine FAGNERE et Dr. Christelle POUGET

Jury :

Rapporteurs

Mme. Sylvie DUCKI, Professeur des Universités, SIGMA-Clermont, Clermont-Ferrand.
M. Vincent ROY, Maître de conférences, Université d'Orléans.

Examinateurs

M. Ahcène BOUMENDJEL, Professeur des Universités, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
M. Vincent SOL, Professeur des Universités, Université de Limoges.
Mme Catherine FAGNERE, Professeur des Universités, Université de Limoges.
Mme Christelle POUGET, Maître de conférences, Université de Limoges.

Dédicace

A ma famille,

A mes ami(e)s,

BY-NC-ND

« Savoir s'étonner à propos est le premier pas fait sur la route de la découverte. »

Louis Pasteur

« Le fer se rouille, faute de s'en servir, l'eau stagnante perd de sa pureté et se glace par le froid. De même, l'inaction sape la vigueur de l'esprit. »

Léonardo Da Vinci

« Ce sont nos choix, Harry, qui montrent ce que nous sommes vraiment, beaucoup plus que nos aptitudes. »

Albus Perceval W.B. Dumbledore

« A mind needs books as a sword needs a whetstone, if it is to keep its edge. »

Tyrion Lannister

BY-NC-ND

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur le Professeur Ahcène Boumendjel ; merci de l'honneur que vous me faites en acceptant d'être examinateur de mon travail de thèse et d'être Président du jury lors de la soutenance. Je remercie également Madame le Professeur Sylvie Ducki et Monsieur le Docteur Vincent Roy de me faire l'honneur de juger ce travail, et d'en être les rapporteurs. Je vous exprime, à tous les trois, ma profonde reconnaissance et tout mon respect.

Je remercie Monsieur le Professeur Vincent Sol, directeur du Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, et d'avoir dirigé cette thèse. Merci pour les discussions scientifiques, les critiques et conseils qui ont toujours été constructifs et pertinents, et qui ont permis de faire avancer ce travail. Je souhaite également vous remercier pour la confiance que vous m'avez témoignée en m'autorisant à présenter mes travaux lors de différents congrès, j'espère avoir pu donner une bonne image de notre laboratoire. Soyez assuré, Vincent, de ma profonde reconnaissance et de mon très grand respect.

Je tiens à remercier vivement mes deux co-encadrantes, le Professeur Catherine Fagnère et le Docteur Christelle Pouget.

Catherine, je vous remercie pour votre disponibilité, votre gentillesse, votre bonne humeur, ou encore pour votre pertinence scientifique que ce soit durant les réunions ou pendant les corrections. Merci pour le soutien que vous m'avez accordé afin de terminer ce travail. Je vous remercie également pour les aides matérielles et financières que le service de Chimie Organique et Thérapeutique a accordées à mon égard lors de cette thèse. Je vous exprime à vous aussi Catherine, mon profond respect et toute ma reconnaissance.

Christelle, un seul merci, ou même mille, ne suffiraient pas à vous exprimer toute ma reconnaissance, mon respect et ma gratitude. Depuis notre rencontre, un jour de mars 2011, vous n'avez cessé de m'épauler. Merci pour votre présence quotidienne, pour votre bonne humeur ; merci pour vos conseils, critiques et idées scientifiques toujours très pertinents ; merci de m'avoir fait partager vos petits trucs de paillasse, vos astuces, vos connaissances en synthèse, en RMN, en chimie des flavonoïdes, en thérapeutique ou encore en

BY-NC-ND

pharmacognosie. Merci pour votre clairvoyance et votre bon sens rédactionnel. Merci de m'avoir donné l'opportunité de découvrir l'enseignement avec les P2 et P3, en ED ou TP. Enfin, merci pour tous les petits moments non scientifiques, les discussions sur nos quotidiens, nos soucis, nos joies, le foot, le hand ou encore les slogans publicitaires. Merci de m'avoir soutenu dans mes différentes démarches professionnelles et personnelles et merci d'avoir accepté ces choix. Bref, je peux vous dire que vous êtes bien plus qu'une encadrante de thèse, vous comptez énormément pour moi et j'espère que nous garderons contact. Pour finir, je reprendrai une de vos phrases, « quand j'étais petit je n'étais pas un Jedi » ; mais si j'avais eu la chance de l'être, j'aurais tout d'abord commencé par être un padawan ; aussi, je sais que vous auriez été mon Obi-Wan Kenobi.

Je souhaite remercier vivement la Région Limousin pour le soutien financier accordé à ces travaux de recherche.

Merci à Monsieur le Professeur Jean-Luc Duroux, doyen de la Faculté de Pharmacie, de m'avoir accueilli en son établissement et d'avoir suivi, de près ou de loin, mon travail. Merci de m'avoir autorisé à dispenser quelques enseignements aux étudiants de la faculté. Je vous remercie également pour cette découverte, au retour d'Avignon, du Plan de l'Homme et pour cette dégustation.

J'aimerais remercier les Professeurs Rachida Zerrouki et Vincent Chaleix pour l'aide qu'ils m'ont apportée au cours de ma formation universitaire. Merci à vous de m'avoir boosté et donné les coups de fouets nécessaires dans les moments où j'en avais le plus besoin ; merci pour la carte postale du Maroc. Vincent merci de m'avoir fait découvrir la Recherche, merci pour les coups de pouce et les idées suggérées lors de ma thèse et merci pour m'avoir « refilé » quelques enseignements, j'ai pris beaucoup de plaisir à les dispenser. Rachida, merci pour votre implication et vos multiples attentions que ce soit lors de ma vie d'étudiant ou de jeune chercheur. Merci pour le soutien affiché dans les moments délicats et surtout merci pour votre bonne humeur, votre humour et votre franchise. Soyez tous deux assurés de ma reconnaissance éternelle et de mon profond respect.

Je souhaite remercier tous les membres du LCSN que j'ai pu côtoyer et qui se sont intéressés de près ou de loin à ce travail. Merci Sylvie pour ton travail administratif !! Merci à Guillaume Marchand, Lucien Lavaud, Lubna Goulamaly, Cédric Baudin et Lukas Novotny,

BY-NC-ND

stagiaires que j'ai pu encadrer et qui ont permis de faire avancer mes recherches. Merci également à Adeline Rigaud, de l'école doctorale Gay-Lussac, pour tout ton travail administratif, ta bonne humeur et ta réactivité !

Merci à mes collègues et « connaissances » – parce qu'on n'est pas collègue ;) – du 5ème : Aurélie Gamond, Aurélie Laurent, Aline Pinon, Frédérique Martin, Caroline Rouger, Yves Champavier & Laëtitia Vignaud-Dodier. Merci à vous pour votre implication dans mon travail ; que ce soit en synthèse, en bio, en RMN, en gnosie ou en anglais. Merci pour les petits moments passés ensemble au café, le midi, en terrasse, au resto ou tout simplement dans nos bureaux. Merci d'avoir participé, de près ou de loin, à l'élaboration ce travail ; sans vous cela n'aurait pas été la même histoire… je vous en suis extrêmement reconnaissant. Ma team café/mocres, Caro-Yves-Laëtitia-Caro, merci d'avoir été là dans les bons moments comme dans ceux plus compliqués ; merci pour toutes les engueulades, louanges, insultes, blagounettes et calembredaines que nous nous sommes dites, merci pour la vaisselle et le café. Caro, grosses pensées pour toi et ta nouvelle aventure allemande – limite danoise – ; j'espère que tout se passera bien et que tu trouveras ton bonheur professionnel rapidement :). Yves, merci également pour ton immense contribution professionnelle à ce travail que ce soit pour la réalisation des spectres, ton aide pour leur interprétation et pour les schémas du manuscrit. Vous avez été mon rayon de soleil quotidien (et Dieu sait qu'on a eu de la pluie cette année !!!) et avez illuminé mes journées, merci les copains !! *#friends #coffee #petitelarme*.

Je souhaite remercier vivement les biochimistes : le Professeur Bertrand Liagre, le Docteur Alain Simon et Aline Pinon (again !!) pour l'aide apportée au cours de ma thèse. Merci de m'avoir formé à la culture cellulaire et merci d'avoir travaillé sur mes molécules. Bertrand, merci également pour les moments « off », mais aussi pour vos connaissances, vos conseils, votre bonne humeur, votre réactivité et pour vos recherches sur Wikipédia. Quand je remercie les biochimistes, je ne peux oublier le futur Docteur Chloë Fidanzi-Dugas. Chloë, merci pour tes idées et ta collaboration ; ton implication a vraiment permis à mon travail de rentrer dans une autre dimension… celle des résultats intéressants !! Merci également pour ton implication dans mes projets personnels, et surtout je te souhaite bonne chance et une grande réussite pour tes projets futurs !!

BY-NC-ND

Merci aux copains de promo et du labo : Tom Boucherle, Amaury Lepetit, Daniel Ohin, Jérémy Duclerjou, Romain Duroux, Florent Leguern, Guillaume Marchand, Henri MBakidi, Aurélie Lagarde, Zineb Khaldi, Docteur Amandine Dieu, Docteur Amandine Bonnet, Docteur Nicolas Genevois, Docteur Mark-Arthur Ndong Ntoutoume (énorme merci pour toutes les manips, sans toi ça n'aurait pas été possible, merci beaucoup « Le Mak »), Docteur Shihong Qiu, Docteur Olivier Diebolt, Docteur Julien Vergnaud, Docteur Olivier Rezazgui, Docteur Florent Di Meo, Docteur Jean-Jean Nzambe-Takeki, Monseigneur-le-Docteur Cédric Astier, Christelle Gady, Dorothée Moine, Docteur Idelette Plazanet, Docteur Emmanuel Renault, et Aurélien Glomot, avec qui j'ai pu partager – lors des barbecues, restos et TRG – l'amour du gras, des bières, du vin, des pâtés, rillettes, grillons, jambons, saucissons, fromages et donuts ; et avec qui on oublie pendant quelques instants les tracas du labo. Il n'y a pas que la bouffe dans la vie, donc merci pour les moments de partages footballistiques, rugbystiques, Fifallistiques ou encore les discussions et débats sur les choses essentielles de la vie à n'importe quelle heure ~~du jour~~ de la nuit (c'est bien plus drôle)… Idelette et Florent, votre amitié m'est chère, merci pour votre soutien à toutes épreuves. Manu et Aurélien, merci d'être présents dans toutes les situations, à Brive à Limoges à Orléans ou à Saint-Priest.

Magister Lukas Novotny, je te remercie très chaleureusement pour tous ces moments passés avec toi. Merci pour ton excellent travail, mais aussi pour ta bonne humeur et ta gentillesse. J'espère que tu garderas un bon souvenir de la France et tout particulièrement de Limoges, du basket et de notre cuisine locale. J'espère que nous nous reverrons et que je pourrais visiter Prague ;) Merci pour tout mon ami !!

Mgr. Lukáš Novotný, děkuji vám srdečně za všechny tyto chvíle s vámi. Děkuji vám za vaši vynikající práci, ale i pro vaši dobrou náladu a laskavostí. Doufám, že si udrží dobré vzpomínky Francii a zejména Limoges, CSP a naše místní kuchyně. Doufám, že se znovu setkáme a mohu navštívit Praze. děkuji za všechno, kamaráde !!

BY-NC-ND

J’aimerais remercier tous mes amis qui m’ont soutenu durant ces 40 mois, qui se sont intéressés (un peu ou énormément) à mon travail ou qui m’ont juste permis « de couper un peu » et de penser à tout autre chose : mes copains de l’Amicale-Saint-Hilaire-Venarsal, Loïc&Célia, Ludo&Kaka, Matt&Mag ; du FC-Saint-Priest-sous-Aixe ; Flo&Doudou, Lulu, Alice, Keke, Cluz, Max ; cœurs et paillettes sur vous tous !! Petite mention spéciale à Brice&Alexia, Nifer&Soussou et Greg&Amélie, j’vous love so much !!

Pour terminer, merci à toute ma famille et tout spécialement à mes parents et ma sœur pour leur soutien de chaque instant ; Papa Maman, merci de m’avoir permis de faire ces études et merci pour tout le reste, je vous aime tous les trois. Merci également à ma belle-famille pour son soutien et sa gratitude à mon égard.

Enfin, merci à Anne-Lise. Merci pour tes sacrifices, ta présence, ton soutien quotidien et ton amour (et ton caractère…). Merci de m’avoir boosté et poussé dans les derniers mois de ce travail et d’avoir tout fait pour que je puisse travailler dans de bonnes conditions. Merci de partager ma vie, d’être ma moitié et j’espère plus encore dans le futur à venir, je t’aime !

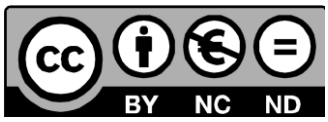
BY-NC-ND

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : *http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/*



BY-NC-ND

Table des matières

Introduction générale 21
1. Le cancer 24
1.1. Généralités 24
1.2. Epidémiologie 25
1.3. Cancer colorectal 26
1.3.1. Épidémiologie et risques 26
1.3.2. Classification et développement 27
1.3.3. Traitements du CCR 28
1.4. Cancer de la prostate 30
1.4.1. Epidémiologie et risques 30
1.4.2. Classification et développement 31
1.4.3. Traitements du cancer de la prostate. 33
1.5. Les anticancéreux utilisés en chimiothérapie et en thérapies ciblées 35
1.5.1. La chimiothérapie 35
1.5.1.1. Généralités 35
1.5.1.2. Cytotoxiques ciblant l'ADN 36
1.5.1.2.a. Les agents alkylants 36
1.5.1.2.b. Les inhibiteurs de la topoisomérase 38
1.5.1.3. Les anti-métabolites 39
1.5.1.3.a. Les anti-foliques 39
1.5.1.3.b. Les anti-pyrimidiques 40
1.5.1.3.c. Les anti-puriques 40
1.5.1.4. Les agents du fuseau 40
1.5.2. Les thérapies ciblées 42
1.5.2.1. Les anticorps monoclonaux 42
1.5.2.2. Les inhibiteurs de protéines kinases 42
2. Les flavonoïdes 44
2.1. Généralités 44
2.2. Répartition dans le monde végétal et dans notre alimentation 46
2.3. Biosynthèses des flavonoïdes 47
2.4. Propriétés biologiques 51
2.4.1. Propriétés antioxydantes 51
2.4.2. Propriétés anti-inflammatoires 52
2.4.3. Propriétés anticancéreuses 53
3. Les chalcones 55
3.1. Synthèses 55
3.1.1. La condensation de Claisen-Schmidt 55
3.1.2. Le couplage de Heck 56
3.1.3. Le couplage de Suzuki-Miyaura 56
3.1.4. Le couplage de Sonogashira 57
3.1.5. La réaction de Friedel et Crafts 57
3.2. Les chalcones, intermédiaires réactionnels 58
3.3. Propriétés biologiques des chalcones 60

BY-NC-ND

3.3.1. Inhibition de la prolifération cellulaire 60
3.3.1.1. Inhibition de la cathepsine-K 61
3.3.1.2. Action au niveau de la tubuline 61
3.3.1.3. Inhibition de la topoisomérase 64
3.3.1.4. Inhibition de protéines kinases 65
3.3.1.5. Inhibition du facteur NF-κB 67
3.3.1.6. Autres cibles 68
3.3.2. Inhibition de l'angiogenèse 69
3.3.3. Inhibition de la dégradation de p53 71
3.3.4. Interactions avec les hormones sexuelles 72
4. Vectorisation de principes actifs 75
4.1. Généralités 75
4.2. Les nanovecteurs 76
4.3. Méthodes de ciblage 77
4.4. Les polyamines 79
4.4.1. Généralités 79
4.4.2. Biosynthèse et métabolisme 79
4.4.3. Approche thérapeutique 81
4.5. Nanocristaux de cellulose 83
4.5.1. La cellulose 83
4.5.2. Synthèse des nanocristaux de cellulose 85
5. But du travail 88
Partie II. Résultats et discussion 90
1. Synthèse 91
1.1. Introduction 91
1.2. Synthèse de conjugués chalcone-polyamine 91
1.2.1. Synthèse *via* un linker amide 91
1.2.1.1. Stratégie de synthèse 91
1.2.1.2. Synthèses des motifs polyaminés ramifiés 94
1.2.1.2.a. Schéma général 94
1.2.1.2.b. Synthèses de la N^1,N^8-bis-Boc-spermidine (3) et de la N^1,N^8,N^{12}-tris-Boc-spermine (4) 95
1.2.1.2.c. Fixation du groupement phtalimide 96
1.2.1.2.d. Elimination du groupement phtalimide 96
1.2.1.3. Synthèses des chalcones 1 et 2 98
1.2.1.3.a. Synthèse de la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone 1 100
1.2.1.3.b. Synthèse de la 3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone 2 103
1.2.1.4. Synthèse de la carboxychalcone 10 103
1.2.1.4.a. O-alkylation de la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone 1 103
1.2.1.4.b. Saponification de la fonction ester 104
1.2.1.5. Synthèse de la carboxychalcone 15 105
1.2.1.5.a. Première voie de synthèse 106
1.2.1.5.b. Deuxième voie de synthèse 109
1.2.1.6. Couplages entre les chalcones et les polyamines 110
1.2.1.7. Déprotection des fonctions amines 113

BY-NC-ND

1.2.2. Synthèses *via* un linker amine 117
1.2.2.1. Stratégie de synthèse 118
1.2.2.2. Première voie de synthèse de la chalcone 22 119
1.2.2.2.a. Alkylation du 4-hydroxybenzaldéhyde 119
1.2.2.2.b. Condensation de Claisen-Schmidt 119
1.2.2.3. Deuxième voie de synthèse de la chalcone 22 120
1.2.2.4. Couplage avec la spermidine N^8 et la spermine linéaires 121
1.2.2.5. Déprotection des fonctions amines 122
1.2.2.6. Travaux préliminaires à la synthèse de nouveaux conjugués « amino-alcane » 123
1.3. Vectorisation de chalcones par des nanoobjets de type complexes β-cyclodextrines – nanocristaux de cellulose 125
1.3.1. Les cyclodextrines, rappels bibliographiques 125
1.3.2. Synthèses des principes actifs 128
1.3.3. Préparation des nanocristaux de cellulose 129
1.3.4. Fonctionnalisation de la β-CD 132
1.3.5. Couplage électrostatique β-CD/CNCx 134
1.3.6. Inclusion des principes actifs 135
1.3.7. Dosage UV indirect des chalcones 136
1.4. Conception d'une bis-chalcone *via* le couplage de Suzuki 137
1.4.1. Rappels bibliographiques 137
1.4.1.1. Bis-flavonoïdes et bis-chalcones 137
1.4.1.2. Le couplage de Suzuki 138
1.4.2. Rétrosynthèse 140
1.4.3. Première voie de synthèse 142
1.4.3.1. Synthèse de la chalcone bromée 37 142
1.4.3.2. Synthèse de la chalcone boronique 38 142
1.4.3.3. Couplage de Suzuki entre les deux chalcones 143
1.4.4. Deuxième voie de synthèse 146
1.4.4.1. Couplage de Suzuki entre les deux benzaldéhydes 146
1.4.4.2. Double condensation de Claisen-Schmidt 147
2. Evaluations biologiques 148
2.1. Evaluation de la viabilité cellulaire par test MTT 148
2.2. Evaluation des chalcones de référence 148
2.3. Conjugués chalcone-polyamine, linker amide 150
2.3.1. Conjugués chalcone-polyamine dérivés de la chalcone 1 (série 19) 151
2.3.2. Conjugués chalcone-polyamine dérivés de la chalcone 2 (série 20) 154
2.4. Evaluations des carboxychalcones 157
2.5. Conjugué chalcone-polyamine, linker amine 159
2.6. Chalcones triméthoxylées : relation structure-activité sur le noyau B 162
2.7. Chalcones encapsulées 165
2.8. Bis-chalcones 168
3. Conclusion et perspectives 171
3.1. Conclusion 171
3.2. Perspectives 175
Partie III. Partie expérimentale 177

BY-NC-ND

1. Réactifs et solvants 178
2. Analyses physico-chimiques 178
2.1. Spectroscopie RMN 178
2.2. Spectroscopie de Masse Haute Résolution (HRMS) 178
2.3. Spectroscopie Infrarouge (IR) 179
2.4. Spectroscopie Ultraviolet-Visible 179
3. Chromatographie 179
4. Synthèses 180
5. Evaluations biologiques 236
Références bibliographiques 238
Annexes 250
Valorisation des travaux de thèse 252
Résumé / Abstract 254

BY-NC-ND

Table des figures

Figure 1. Principaux mécanismes de l'oncogenèse [1]. 25
Figure 2. Evolution des stades du CCR, d'après « Guide de traitement personnalisé à l'intention des patients, le cancer colorectal » [9]. 28
Figure 3. Panel des évolutions, « échelle de Gleason ». 32
Figure 4. Illustration de l'action des antinéoplasiques selon Richard [17]. 36
Figure 5. Structures du chlorambucil (A) et du cyclophosphamide (B). 37
Figure 6. Structure de la lomustine. 37
Figure 7. Structures du cisplatine (A), du carboplatine (B) et de l'oxaliplatine (C). 38
Figure 8. Structures du topotécan (A), de la camptothécine (B), du daunorubicine (C), de l'étoposide (D) et de la podophyllotoxine (E). 39
Figure 9. Structure du méthotrexate. 40
Figure 10. Structures du 5-fluorouracile (A), de la capécitabine (B). 40
Figure 11. Structures de la thioguanine (A), de la mercaptopurine (B). 40
Figure 12. Représentations structurales de la vinblastine (A) [21], de la vinorelbine (B) [21], du paclitaxel (C) [22] et du docétaxel (D) [22]. 41
Figure 13. Structures de l'erlotinib (A) et du régorafénib (B). 43
Figure 14. Enchainements 1,3-diarylpropane (A) et 2-phénylchromane (B). 44
Figure 15. Biosynthèse de la 2',4,4',6'-tétrahydroxychalcone. 47
Figure 16. Biosynthèse de la naringénine. 48
Figure 17. Biosynthèse de la génistéine. 48
Figure 18. Voies de biosynthèse PPO et PRX des aurones, structures de l'auréusidine (A) et de l'hispidol (B). 49
Figure 19. Biosynthèse de l'apigénine (A) et de l'aromadédrine (B). 49
Figure 20. Biosynthèse du kaempférol (A) et la leucopélargonidine (B). 50
Figure 21. Structure de l'ion flavylium (ion 2-phénylchrométnylium). 50
Figure 22. Biosynthèse de la pélargonidine. 50
Figure 23. Structure du 3-glucoside de pélargonidine. 51
Figure 24. Structure de la quercétine (A) ; schématisation de la capture de radicaux libres de l'oxygène par un flavonoïde, R = flavonoïde (B). 52
Figure 25. Structure du célécoxib (A), de l'étoricoxib (B), de la 2'-hydroxy-4'-méthyl-4-méthylsulfonylchalcone (C), de la 4'-chloro-2'-hydroxy-4-sulfamoylchalcone (D) et du 7-chloroflavonol (E). 53
Figure 26. Structure du flavopiridol. 54
Figure 27. Condensation de Claisen-Schmidt catalysée par la soude dans l'éthanol. 55
Figure 28. Synthèse de chalcone par le couplage de Heck. 56
Figure 29. Exemple de deux voies de synthèse des chalcones par le couplage de Suzuki. 56
Figure 30. Exemple de la synthèse de chalcone par le couplage de Sonogashira. 57
Figure 31. Exemple de la synthèse de chalcones par la réaction de Friedel et Crafts (A), synthèse de l'hélilandine B (B). 58
Figure 32. Voies de synthèse des autres flavonoïdes (A) et de dérivés hétérocycliques (B) à partir des chalcones. 59
Figure 33. Chalcones inhibitrices de la cathepsine-K, R = OMe, Cl ou F. 61

BY-NC-ND

Figure 34. Structures des agents pouvant se lier au site de la colchicine sur la tubuline : la colchicine (A), la podophyllotoxine (B) et la combretastatine A-4 (C). 62
Figure 35. Structure des chalcones décrites par Ducki et al. 62
Figure 36. Structures de chalcones décrites par Kamal (A) [173] et par Salum (B) [174]. 63
Figure 37. Structure des chalcones décrites par Kerr (A), Kong (B) et Boumendjel (C). 64
Figure 38. Blocage du cycle cellulaire via une inhibition des topoisomérases par des chalcones. Source : [181]. 64
Figure 39. Structures de la 4'-méthoxychalcone (A) et des N-4-piperazinyl-ciprofloxacinchalcones (R_1 = H, R_2 = OCH_3 ; R_1=R_2=O-CH_2-O) (B). 65
Figure 40. Structures de l'isoliquiritigénine (A) et de l'ON-III (B). 66
Figure 41. Structures d'une chroménylchalcone (A) et d'une pyrazoline (B). 67
Figure 42. Chalcones décrites par Orlikova et al. : 68
Figure 43. Structures de la flavokawaïne A (A), de la flavokawaïne B (B), du xanthohumol (C) et de la licochalcone A (D). 68
Figure 44. Structures de la licochalcone B (A), de la WJ9708011 (B) et de la cardamonine (C). 69
Figure 45. Schématisation de l'angiogenèse selon Tobelem [206]. 69
Figure 46. Structures de la 2'-hydroxy-4'-méthoxychalcone (A), de l'ON-III (B) et de la 4-hydroxychalcone (C). 70
Figure 47. Structure du conjugué chalcone-phthalocyanine décrit par Tuncel [212] 71
Figure 48. Structures des 3',4'-dichlorochalcones. 72
Figure 49. Biosynthèse des hormones sexuelles humaines. 73
Figure 50. Structures des chalcones inhibitrices de la 5α-réductase. 73
Figure 51. Structures de la naringénine (A) et de l'ériodictyol-chalcone (B). 74
Figure 52. Gamme de tailles des nanoobjets, en comparaison avec quelques structures chimiques et biologiques. 76
Figure 53. Principaux nanoobjets utilisés en tant que vecteurs. 76
Figure 54. Modélisation de l'effet EPR [236]. 77
Figure 55. Ciblage actif et ciblage passif (source : Wicki et al. 2015 [238]). 78
Figure 56. Structures de la putrescine (A), cadavérine (B), spermidine (C) et spermine (D). 79
Figure 57. Biosynthèse des polyamines. 80
Figure 58. Structure du F14512 (A), d'un conjugué naphthalimide-N^8spermidine (B) et d'un conjugué anthracène-spermine (C). 82
Figure 59. Structure chimique de la cellulose. 83
Figure 60. Représentation de la composition des fibres de cellulose, d'après Renault [263]. 84
Figure 61. Représentation des zones cristalline et amorphe de la cellulose [264]. 84
*Figure 62. **A** Hydrolyse acide de la cellulose. **B** Estérification de cellulose à l'acide sulfurique. D'après Ndong Ntoutoume [265 p33].* 86
Figure 63. Obtention et fonctionnalisation des nanocristaux de cellulose [237]. 87
*Figure 64. Structure des chalcones **1** (A) et **2** (B).* 88
Figure 65. Structures des composés à synthétiser dans ce travail. 89
Figure 66. Schémas rétrosynthétiques des conjugués chalcone-polyamine via un linker amide. 92
Figure 67. Structure de la spermidine. 93
Figure 68. Schéma général de la préparation des motifs polyaminés ramifiés. 94
Figure 69. Protection de la spermidine et de la spermine par le Boc-ON. 95
Figure 70. Introduction d'un groupement phtalimide sur les polyamines protégées. 96

BY-NC-ND

Figure 71. Élimination du groupement phtalimide. 97
Figure 72. Mécanisme d'action de l'hydrazine sur le groupement phtalimide, R = polyamine. 98
Figure 73. Schéma général de la condensation de Claisen-Schmidt, ... 98
Figure 74. Mécanisme de la condensation de Claisen-Schmidt. 99
Figure 75. Mécanisme de la réaction de Cannizzaro selon Milcent [270]. 100
*Figure 76. Schéma de synthèse de la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone **1** (A), spectre RMN ^{1}H de la chalcone **1** (B).* 102
Figure 77. Schéma de synthèse de la 3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone. 103
*Figure 78. O-alkylation de la chalcone **1** par le 4-bromobutyrate d'éthyle.* 104
Figure 79. Saponification de la fonction ester par l'hydroxyde de lithium. 105
*Figure 80. Structure de la carboxychalcone **15**.* 105
Figure 81. Protection du 4-hydroxybenzaldéhyde. 106
*Figure 82. Condensation de Claisen-Schmidt pour la chalcone **12**.* 106
Figure 83. Déprotection de la fonction phénol. 107
*Figure 84. Alkylation de la 4-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone **13**.* 107
*Figure 85. Saponification de la fonction ester de la chalcone **14**.* 107
*Figure 86. Superposition des spectres RMN ^{1}H des chalcones **13**, **14** et **15** (partie aromatique).* 108
*Figure 87. Superposition des spectres RMN ^{1}H des chalcones **13**, **14** et **15** (partie aliphatique)* 108
Figure 88. Alkylation du 4-hydroxybenzaldéhyde. 109
Figure 89. Synthèse de la 4-carboxychalcone. 109
Figure 90. Structures des deux carboxychalcones. 110
Figure 91. Structures du DCC (A) et de l'HOBt (B). 110
*Figure 92. Illustration du couplage chalcone-polyamine par le système DCC/HOBt : Synthèse du conjugué **17a**.* 112
Figure 93. Mécanisme d'activation par le système DCC/HOBt, R = chalcone. 112
*Figure 94. Synthèse du conjugué **20a** (A) ; illustration de la déprotection de **18a** : disparition des signaux des CH_3 Boc (B).* 115
*Figure 95. Structure des composés **20d** (A) et **26** (B).* 117
*Figure 96. Schéma rétrosynthétique du composé **26**.* 118
Figure 97. Alkylation du 4-hydroxybenzaldéhyde par le 1,3-dibromopropane. 119
*Figure 98. Chalcone **22'** formée lors du premier essai de condensation de Claisen-Schmidt.* 119
Figure 99. Synthèse de la chalcone bromée par condensation de Claisen-Schmidt. 120
Figure 100. Alkylation de la 4-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone. 120
Figure 101. Couplage chalcone-spermidine N^{8} (A) et chalcone-spermine (B) 121
*Figure 102. Synthèse du conjugué **26** par déprotection des fonctions amines.* 122
*Figure 103. Synthèse de la chalcone **27**.* 123
*Figure 104. Synthèse du benzaldéhyde **28**.* 124
Figure 105. Structures des cyclodextrines. 126
Figure 106. Représentation spatiale de la γ-CD (A) et de l'α-CD (B et C). 126
Figure 107. Schématisation des complexes d'inclusion (1-6) et d'association (7) selon Decottignies [278 p45]. 127
Figure 108. Structures des chalcones pour l'étude relation structure-activité. 128
*Figure 109. Schématisation de l'hydrolyse acide de la cellulose (A), photo de la suspension colloïdale dans l'eau des **CNCx 31** (B).* 130
*Figure 110. Caractérisations des **CNCx 31** :* 131

BY-NC-ND

Figure 111. Synthèse de la **β-*CD*** *cationique* ***32***. 132
Figure 112. Spectres IR (A) et RMN ^{1}*H dans* D_2O *(B) de la* **β-*CD*** *cationique* ***32***. 133
Figure 113. (A) Schématisation du couplage électrostatique entre la **β-*CD*** *cationique et les nanocristaux de cellulose anioniques ; formation du complexe* **β-*CD/CNCx*** ***33***. *(B) Autre schématisation du complexe* ***33***. 134
Figure 114. Schématisation de l'inclusion d'une chalcone dans le complexe **β-*CD/CNCx***. 135
Figure 115. Hydrosolubilisation de la chalcone ***1*** *via le complexe* **β-*CD/CNCx***. 135
Figure 116. Structures de l'hinokiflavone (A), de l'agathisflavone (B) et de l'ochnaflavone (C). 137
Figure 117. Structure de la rhuschalcone I. 138
Figure 118. Exemple d'un couplage de Suzuki, catalysé au palladium. 139
Figure 119. Cycle catalytique du couplage de Suzuki. 139
Figure 120. Structure de la bis-chalcone ***39***. 140
Figure 121. Schéma rétrosynthétique de la bis-chalcone via le coupage de deux chalcones. 140
Figure 122. Schéma rétrosynthétique de la bis-chalcone via le bis-benzaldéhyde. 141
Figure 123. Synthèse de la chalcone bromée ***37***. 142
Figure 124. Synthèse de la chalcone boronique ***38***. 142
Figure 125. Couplage de Suzuki entre deux chalcones (A), structure de la chalcone ***40*** *(B).* 144
Figure 126. Spectre et analyse RMN ^{1}*H de la bis-chalcone* ***39***. 145
Figure 127. Couplage de Suzuki entre les deux benzaldéhydes. 146
Figure 128. Double condensation de Claisen-Schmidt entre le bis-benzaldéhyde et la triméthoxyacétophénone. 147
Figure 129. Activité antiproliférative de ***1*** *et* ***2***. 149
Figure 130. Evaluation antiproliférative de la série « ***19*** *».* 152
Figure 131. Evaluation antiproliférative de la série « ***20*** *».* 155
Figure 132. Evaluation antiproliférative des carboxychalcones. 158
Figure 133. Evaluation antiproliférative des chalcones ***26*** *et* ***2***. 160
Figure 134. Evaluation antiproliférative des chalcones ***30***, ***13***, ***29***, ***1*** *et* ***2***. 163
Figure 135. Evaluation antiproliférative des chalcones ***1***, ***2***, *et* ***30*** *encapsulées.* 166
Figure 136. Evaluation antiproliférative des chalcones ***39*** *et* ***2***. 169

BY-NC-ND

Table des tableaux

Tableau 1. Les stades du CCR selon la classification TNM. 27
Tableau 2. Stades du cancer de la prostate selon la classification TNM. 31
Tableau 3. Classification de d'Amico. 33
Tableau 4. Structures des principaux groupes de flavonoïdes. 45
Tableau 5. Structures des cinq motifs polyaminés. 93
Tableau 6. Conditions expérimentales pour l'optimisation de la synthèse de **1**. 101
Tableau 7. Conditions expérimentales pour l'alkylation de la chalcone **1**. 104
Tableau 8. Mise au point du protocole de la saponification de la fonction ester. 104
Tableau 9. Structures et rendements des conjugués chalcone-polyamine protégés. 111
Tableau 10. Différentes conditions de déprotections testées pour le composé **17c**. 113
Tableau 11. Structures des conjugués chalcone-polyamine possédant un linker amide. 116
Tableau 12. Conditions opératoires pour la synthèse de la chalcone **22**. 120
Tableau 13. Conditions opératoires pour la synthèse des conjugués **23** et **24**. 121
Tableau 14. Conditions opératoires pour la synthèse des chalcones. 129
Tableau 15. Concentrations, masses et pourcentages de fixation des chalcones encapsulées. 136
Tableau 16. Conditions opératoires du couplage de Suzuki entre les chalcones **37** et **38**. 143
Tableau 17. Conditions opératoires du couplage de Suzuki entre les benzaldéhydes. 146
Tableau 18. Conditions opératoires pour la « double condensation de Claisen-Schmidt ». 147
Tableau 19. CI_{50} et structures des chalcones **1** et **2**. 148
Tableau 20. CI_{50} et structures des chalcones de la série **19**. 151
Tableau 21. CI_{50} et structures des chalcones de la série **20**. 154
Tableau 22. CI_{50} et structures des carboxychalcones **10** et **15**. 157
Tableau 23. CI_{50} et structures des chalcones **26** et **2**. 159
Tableau 24. CI_{50} et structures des chalcones **30**, **13**, **29**, **1** et **2**. 162
Tableau 25. CI_{50} des complexes **β-CD/CNCx/chalcones** et des chalcones **1**, **2**, et **30**. 165
Tableau 26. CI_{50} et structures des chalcones **39** et **2**. 168

BY-NC-ND

Liste des abréviations

β-CD : β-cyclodextrine

β-CD/CNCx : complexe β-cyclodextrine/nanocristaux de cellulose

Δ : chauffage à reflux

δ : déplacement chimique

ε : coefficient d'absorption molaire

λ : longueur d'onde

ADN : acide désoxyribonucléique

APTS : acide *para*-toluène sulfonique

ATP : adénosine-5'-triphosphate

Boc : *tert*-butyloxycarbonyle

Boc-ON : 2-(*tert*-butyloxycarbonyloxyimide)-2-phénylacétonitrile

CCM : chromatographie sur Couche Mince

CCR : cancer colorectal

CI_{50} : concentration nécessaire pour inhiber de 50 % de la population cellulaire

CNCx : nanocristaux de cellulose

COX : cyclooxygénase

d : doublet

Da : dalton

dd : doublet de doublet

DDQ : 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-*p*-benzoquinone

DLS (Dynamic Light Scattering) : diffusion dynamique de la lumière

DP : degré de polymérisation

DRX : diffraction des rayons X

DS : degré de substitution

él : figure élargie

eq : équivalent

HRMS (High Resolution Mass Spectrometry) : spectrométrie de masse haute résolution

INCa : Institut National du Cancer

IR : infrarouge

J : constante de couplage

BY-NC-ND

LCSN : Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles

m : masse

m : multiplet

M : masse molaire

m/z : rapport masse sur charge

MET : microscopie électronique à transmission

MICI : maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

MO : microondes

MTT : bromure de 3-(4,5-diméthylythiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium

nm : nanomètre

NO : monoxyde d'azote

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PDT : photothérapie dynamique

ppm : partie par millions

PTS (Polyamine Transport System) : système de transport des polyamines

PPTS : pyridinium *para*-toluène sulfonate

PSA (Prostate Specific Antigen) : antigène spécifique prostatique

quint : quintuplet

R : rendement

Rf : rapport frontal

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

s : singulet

SN2 : Substitution Nucléophile bi-moléculaire

t : triplet

TA : Température Ambiante

UV : Ultra-Violet

X : halogène

BY-NC-ND

Introduction générale

Le cancer est aujourd'hui un problème de santé publique majeur. Chaque année, dans le monde, près de 14 millions de nouveaux cas de cancer sont diagnostiqués et près de 8 millions de décès sont recensés. En France, les cancers les plus répandus sont ceux de la prostate, du sein, du côlon-rectum et du poumon (ces deux derniers touchant aussi bien les hommes que les femmes). L'objectif de ces travaux de thèse est le développement de composés anticancéreux originaux actifs vis-à-vis du cancer du côlon-rectum et du cancer de la prostate, deux néoplasies qui font l'objet de nombreuses études au sein du Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles (LCSN). Pour le cancer colorectal, même si les taux d'incidence et de mortalité diminuent régulièrement en France depuis 2005, cette néoplasie reste préoccupante car les tumeurs du côlon sont agressives et ont tendance à développer des métastases, imposant aux patients des médications lourdes. Concernant le cancer de la prostate, le taux d'incidence est en forte augmentation depuis ces dix dernières années, cependant le taux de mortalité évolue de manière inverse suite à l'amélioration de l'efficacité des traitements. Le terme cancer recouvre en réalité plusieurs pathologies, chacune étant spécifique de l'organe atteint. Cette constatation explique les difficultés rencontrées pour élaborer des traitements efficaces, et la grande diversité des traitements antinéoplasiques. Les principales approches thérapeutiques existant aujourd'hui sont la chirurgie, la radiothérapie ou encore la chimiothérapie. Les agents de chimiothérapie, qu'ils soient synthétiques ou d'origine naturelle, présentent des limites telles que les phénomènes de résistance des cellules vis-à-vis de ces composés et leur manque de spécificité entraînant un nombre important d'effets indésirables pour le patient. Aussi, le développement de nouveaux composés anticancéreux reste un défi de taille ; cette recherche peut toujours s'inspirer de squelettes d'origine naturelle. Ainsi, les flavonoïdes, et plus particulièrement les chalcones, font l'objet de nombreuses études qui démontrent des activités anticancéreuses importantes. Néanmoins, ces molécules, naturelles ou issues de travaux de pharmacomodulation, possèdent, elles aussi, un manque de sélectivité vis-à-vis des cellules cancéreuses, et également une faible biodisponibilité en général.

Afin de pallier la problématique de sélectivité des anticancéreux en général, les travaux du LCSN s'orientent depuis plus de dix ans vers la vectorisation de molécules actives. Cette

BY-NC-ND

approche consiste à amener sélectivement les principes actifs aux cellules cancéreuses grâce à l'emploi de vecteurs, développés au sein du LCSN, tels que des polyamines ou des nanoobjets de type nanocristaux de cellulose. De plus, l'utilisation de certains de ces vecteurs permet également d'accroitre la solubilité aqueuse des composés en milieu physiologique, améliorant ainsi leur biodisponibilité. Ces méthodes de vectorisation peuvent donc résoudre les deux problématiques majeures concernant l'élaboration de nouveaux agents anticancéreux. L'objectif de ce travail consiste donc à synthétiser plusieurs chalcones de référence, afin de procéder à leur vectorisation *via* des méthodes développées par le LCSN. Deux chalcones ont particulièrement attiré notre attention quant à leur activité antiproliférative sur plusieurs lignées cellulaires : la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone et la 3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone. Elles ont donc été sélectionnées dans le but de développer de nouveaux agents anticancéreux vectorisés.

La première partie de ce travail consistera en une étude bibliographique portant tout d'abord sur le cancer, plus particulièrement sur les cancers du côlon-rectum et de la prostate, et ses traitements. Ensuite, sera développée une présentation des flavonoïdes, en insistant notamment sur les chalcones et leurs propriétés biologiques. Cette étude bibliographique exposera finalement les principales méthodes de vectorisation de molécules actives utilisées au LCSN. La seconde partie de cette thèse sera consacrée à la présentation des travaux personnels, qui sont divisés en deux volets : d'une part l'aspect chimique avec la synthèse de chalcones et leur vectorisation, d'autre part, l'étude biologique correspondant à l'évaluation de l'effet antiprolifératif des molécules élaborées. Les travaux de synthèse sont orientés selon trois axes ; dans un premier temps, les chalcones sélectionnées sont couplées à des polyamines de manière covalente. Dans un second temps, ces chalcones sont vectorisées *via* des nanoobjets de type nanocristaux de cellulose. Des travaux préliminaires concernant l'élaboration d'une nouvelle bis-chalcone sont également présentés dans le but de découvrir de nouveaux potentiels agents anticancéreux. L'ensemble de ces molécules d'intérêt sera finalement évalué sur plusieurs lignées cancéreuses (deux lignées colorectales et deux lignées prostatiques) et les relations structure-activité seront discutées.

BY-NC-ND

PARTIE I.

Cancer – Flavonoïdes – Chalcones – Vectorisation : Etat de la question

BY-NC-ND

1. Le cancer

1.1. Généralités

Les premières descriptions du cancer apparaissent chez les Egyptiens (3000 et 2500 ans av. J.C.) mais les premières avancées majeures sont apportées par Hippocrate (460-370 av. J.C.), médecin grec. Il est le premier à comparer le cancer à un crabe (*cancer* en latin, apparenté à *karkinos*, « écrevisse » en grec). En effet, le cancer possède des petites veines qui s'échappent de son centre arrondi, semblables aux pattes d'un crabe. Hippocrate en donne la première définition vers 400 av. J.C. ; il décrit alors une tumeur comme « *un gonflement dur, non inflammatoire, ayant tendance à récidiver et à se généraliser jusqu'à la mort* ». Les différentes études menées au cours des derniers siècles ont permis d'améliorer les connaissances sur le cancer. Le cancer peut se définir comme une prolifération cellulaire anormale, importante, anarchique et incessante au sein d'un tissu normal de l'organisme. Cette prolifération forme un amas cellulaire nommé tumeur. Cette dernière se développe, dans un premier temps, dans un organe précis (tumeur primitive), grandit, grossit, puis peut se propager à d'autres organes en passant par les voies lymphatiques ou sanguines. Ces tumeurs secondaires, qui reproduisent la structure de la tumeur mère, sont appelées des métastases.

Le cancer est en fait une maladie génétique des cellules somatiques. Une caractéristique des cellules cancéreuses est l'instabilité génétique, dont les origines sont en majorité liées à un dysfonctionnement dans les mécanismes cellulaires fondamentaux, comme le cycle cellulaire, la réplication ou la réparation de l'ADN. Ces mécanismes sont, en temps normal, connectés entre eux, formant ainsi de nombreux points de contrôle dont les cellules tumorales s'affranchissent. Aussi, le cancer n'est pas « une seule maladie » ; le terme cancer recouvre en fait un vaste ensemble de maladies, parfois très différentes les unes des autres, cataloguées selon les cellules, les tissus, les organes à partir desquels les cancers se forment ; il existe donc presque un cancer pour chaque organe ou tissu. Cette grande diversité pathologique peut expliquer la difficulté à trouver des traitements efficaces et systématiques. Les mécanismes de l'oncogenèse peuvent être schématisés selon la figure ci-dessous :

BY-NC-ND

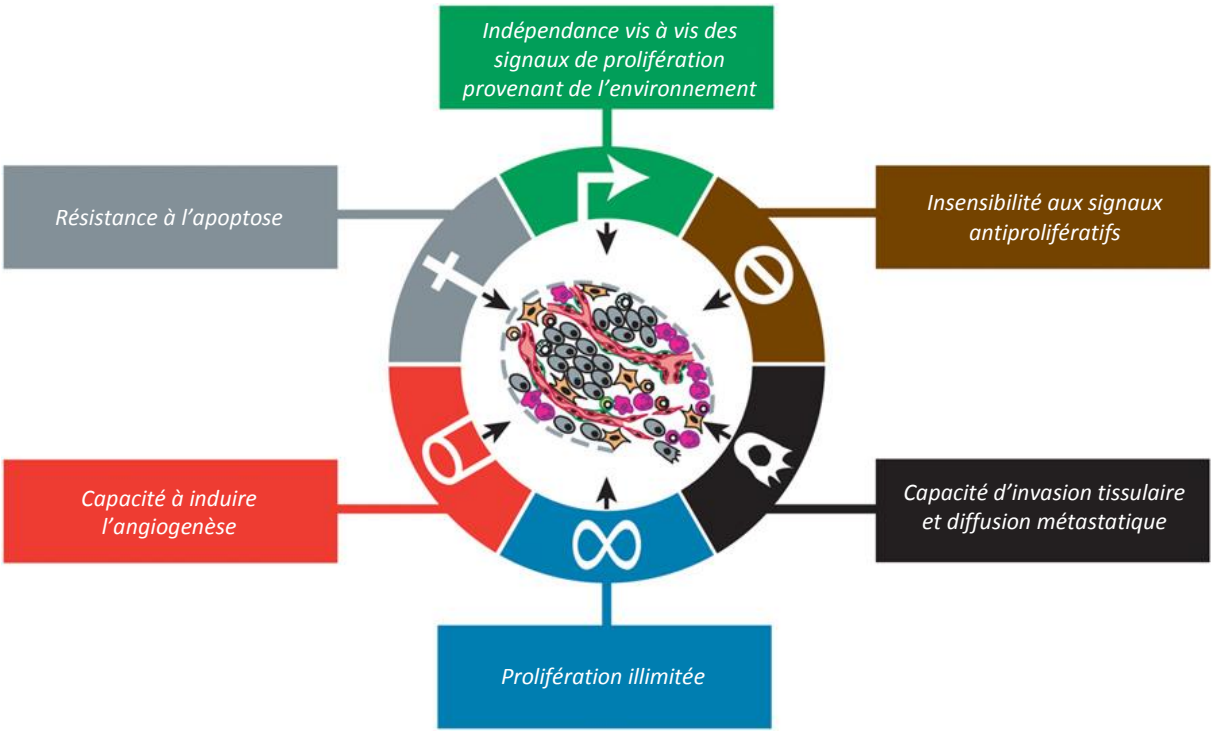


Figure 1. Principaux mécanismes de l'oncogenèse [1].

En résumé, la cancérisation est souvent liée aux phénomènes suivants :

- altération des systèmes de réparation de l'ADN qui favorise la survenue de lésions génétiques.

- altération des gènes impliqués dans la surveillance du génome et la régulation de l'apoptose (mort cellulaire programmée) qui autorise la survie de cellules anormales.

Enfin, la cancérogenèse est influencée par des facteurs de risque qui peuvent être internes (prédispositions et mutations génétiques, facteurs hormonaux…) ou externes (exposition à des substances cancérigènes, risques environnementaux…) ; mais ces risques ne sont pas toujours bien définis ou bien identifiables.

1.2. Epidémiologie

Aujourd'hui, il est évident que le cancer est un problème de santé publique majeur. En effet, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a estimé qu'en 2012, 14 millions de nouveaux cas de cancer ont été diagnostiqués au niveau mondial, 32,6 millions de personnes vivaient avec un cancer et 8,2 millions de personnes en sont décédées [2, 3]. L'OMS estime que le nombre de cas de cancer par an devrait augmenter (de 14 millions en 2012) à 22 millions au cours des deux prochaines décennies [3]. D'après les projections de l'American

BY-NC-ND

Cancer Society, le nombre de cancers augmentera à 27 millions en 2050 et la mortalité due au cancer dépassera les 17 millions de décès dans le monde [4]. Depuis 2004, le cancer est la première cause de décès en France [5]. Pour 2015, l'Institut National du Cancer (INCa) a estimé à 385 000 le nombre de nouveaux cas de cancers en France, dont 211 000 hommes et 174 000 femmes. Chez l'homme, les trois cancers les plus fréquents sont le cancer de la prostate, puis le cancer du poumon et enfin le cancer colorectal. Néanmoins, le cancer du poumon reste de loin le cancer le plus meurtrier (25% des décès par cancer), devant celui du côlon-rectum (11%) et de la prostate (10%). Chez la femme, les trois cancers les plus fréquents sont le cancer du sein qui est aussi le plus meurtrier (18% des décès par cancer), le cancer colorectal et le cancer du poumon. Ces deux derniers représentent par ailleurs 13 et 15% des décès par cancer respectivement [6]. Au final, le nombre de décès estimés en 2015 est de 150 000, 85 000 hommes et 65 000 femmes.

Dans cette étude, nous nous intéresserons plus particulièrement au cancer colorectal et à celui de la prostate, puisque ce sont non seulement deux néoplasies très fréquentes mais aussi des thèmes de recherche du LCSN.

1.3. Cancer colorectal

1.3.1. Épidémiologie et risques

Le cancer du côlon-rectum (CCR, ou cancer colorectal) est la deuxième cause de décès chez les hommes et la troisième chez la femme. D'après les estimations de l'INCa, 2015 a vu l'apparition de 43 000 nouveaux cas de cancer du côlon-rectum en France métropolitaine, avec 23 500 cas chez les hommes et 19 500 chez les femmes ; cela représente un cancer sur six. Concernant la mortalité, 17 800 décès sont rapportés avec 9 400 décès masculins et 8 400 féminins. L'âge médian au diagnostic est de 71 ans pour les hommes et 75 ans pour les femmes ; celui au décès est de 77 et 81 ans respectivement [7].

Les risques de développement du CCR sont répartis selon trois niveaux de risque. Tout d'abord, les sujets à risques moyens sont les individus de plus de 50 ans (des deux sexes) ; ensuite, les sujets à risques élevés se répartissent selon les antécédents familiaux et personnels ; enfin, les sujets à risques très élevés présentent des syndromes héréditaires.

BY-NC-ND

1.3.2. Classification et développement

Il existe différents types de CCR. Tout d'abord, la majorité des cas (88 à 94%), sont des cancers sporadiques [8]. Ensuite, les formes héréditaires représentent 5 à 10% des cas. Enfin, le cancer peut faire suite à des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) dans 1 à 2% des cas.

Plusieurs classifications existent mais la référence internationale est la classification TNM, « Tumor, Nodes, Metastasis », où chacune de ces lettres est suivie d'un indice indiquant l'avancée du cancer. Le « T » désigne donc la tumeur primitive : cela peut aller du carcinome *in situ* (Tis) jusqu'au niveau T4, où la tumeur a perforé le péritoine viscéral. Le « N » définit l'invasion des ganglions voisins (du niveau N0 : ganglions non atteints jusqu'au niveau N2 : au moins quatre ganglions envahis). Le « M » désigne la formation éventuelle de métastases (M0 : absence de métastase, M1 : présence de métastases). Cette classification, qui décrit le degré d'envahissement de la paroi colique et des ganglions régionaux par les cellules tumorales (figure 2), permet de définir différents stades du CCR, répertoriés dans le tableau 1.

Tableau 1. Les stades du CCR selon la classification TNM.

Stades	Tumeur primitive (T)	Ganglions régionaux (N)	Métastases (M)
0	Tis	N0	M0
1	T1 T2	N0	M0
2	T3 T4	N0	M0
3	Tout T	N1	M0
4	Tout T	Tout N	M1

BY-NC-ND

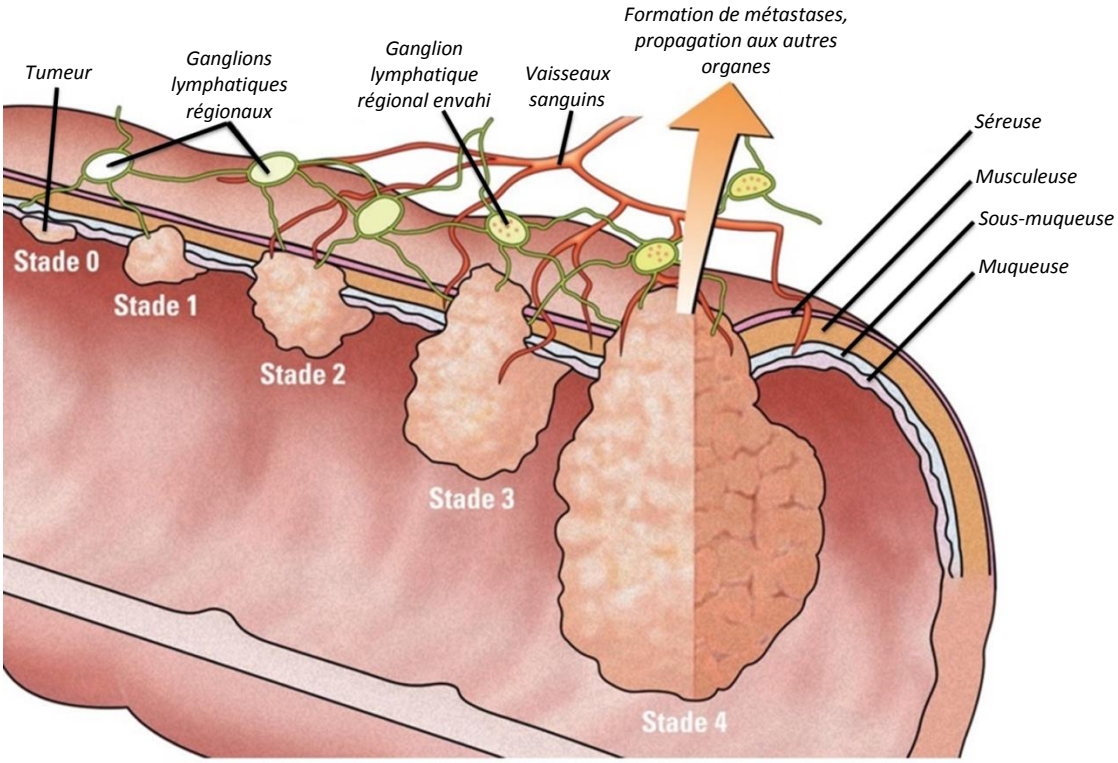


Figure 2. Evolution des stades du CCR, d'après « Guide de traitement personnalisé à l'intention des patients, le cancer colorectal » [9].

1.3.3. Traitements du CCR

La chirurgie est l'option presque incontournable dans le traitement du CCR. A celle-ci est généralement combinée une radiothérapie, une chimiothérapie ou une thérapie ciblée. Ce genre de traitement complémentaire est appelé traitement adjuvant. Son objectif est de compléter l'action du traitement principal, ici la chirurgie, afin de renforcer son efficacité.

La chirurgie est utilisée de différentes façons selon le stade du CCR et surtout selon la taille et l'emplacement de la (des) tumeur(s). Si la tumeur est à un stade précoce, elle peut être retirée grâce à une coloscopie. Pour une tumeur de taille plus importante, une laparoscopie, ou une vidéo-laparoscopie, est mise en place. Enfin, pour des tumeurs étendues, une ablation (ou colectomie) peut être pratiquée. Cela peut aller d'une colectomie partielle à une colectomie totale impliquant la mise en place d'une colostomie temporaire ou permanente. Il faut préciser que le côlon n'étant pas un organe vital, il est possible de vivre normalement même si une grande partie, voire sa totalité, est retirée. Dans les cas de cancer très avancés (cancers incurables), une chirurgie palliative est pratiquée par le

BY-NC-ND

chirurgien aux fins de soulager le patient des symptômes de la maladie, sans pour autant éradiquer complétement la tumeur.

La radiothérapie consiste en une exposition de la tumeur à des rayonnements puissants qui viennent détruire les cellules cancéreuses. Il existe deux types de radiothérapie : la radiothérapie externe, où le rayonnement est dirigé sur la tumeur, et la curiethérapie, où les éléments radioactifs sont introduits dans la tumeur. La radiothérapie détruit les cellules exposées, cancéreuses ou saines. Elle est employée pour un traitement très localisé des tumeurs du CCR.

La radio-chimiothérapie, aussi appelée chimio-radiation, est une combinaison entre chimiothérapie et une radiothérapie. Ce traitement est utilisé avant la chirurgie afin d'améliorer les chances de contrôle de la tumeur (réduction ou stagnation de la taille tumorale) et de réduire les récidives ou propagations locales.

La chimiothérapie peut être adjuvante ou palliative. En chimiothérapie adjuvante, le principe actif est administré après la chirurgie dans le but de détruire les cellules cancéreuses restantes après l'opération et de limiter le risque de récidives. Les principales molécules utilisées dans le traitement du CCR sont le 5-fluoro-uracile, la capécitabine, l'oxaliplatine et l'irinotécan. Dans le cadre d'une chirurgie palliative, une chimiothérapie palliative est souvent proposée pour améliorer l'état du patient, en réduisant les symptômes et en prolongeant la vie de ce dernier, bien que malheureusement le cancer soit déclaré incurable.

La thérapie ciblée utilise de nouveaux médicaments qui vont atteindre de manière plus spécifique les cellules cancéreuses ou l'environnement tumoral ; elle est le plus souvent employée lors des stades avancés de la maladie. Les agents employés sont des anticorps monoclonaux tels que le bévacizumab et le cétuximab.

Une description des agents de chimiothérapie et de thérapie ciblée sera faite dans la partie «1.5. Les anticancéreux».

BY-NC-ND

1.4. Cancer de la prostate

1.4.1. Epidémiologie et risques

Les données présentées ici datent de 2011. En effet, l'Institut National du Cancer annonce que « Suite à l'évolution de l'incidence du cancer de la prostate depuis les années 2000, il est très difficile de prédire son évolution entre 2011 et 2015, par conséquent les projections d'incidence de cette localisation ne sont pas fournies pour l'année 2015 » [10]. Le cancer de la prostate est le cancer le plus répandu chez les français avec une estimation de 53 900 nouveaux cas en 2011 par l'INCa, soit un cancer sur quatre. Son incidence est en très forte augmentation depuis plus de trente ans en raison de l'effet combiné du vieillissement de la population, de l'amélioration des techniques de diagnostic et de la généralisation du dépistage par dosage de l'antigène prostatique spécifique (PSA, Prostate Specific Antigen). L'incidence est la plus élevée pour la tranche d'âge 65-74 ans (30%) ; ainsi, l'âge médian au diagnostic est légèrement inférieur à 70 ans [10].

En 2011, le nombre de décès estimés est d'environ 8 900 [10], mais le taux de mortalité évolue de manière inverse par rapport au taux d'incidence. La survie des patients 5 ans après le diagnostic est passée de 72% pour les cas diagnostiqués sur la période 1989-1993 à 94% pour ceux diagnostiqués entre 2005 et 2010 [11]. La diminution du taux de mortalité s'explique notamment grâce au dépistage individuel par le dosage du PSA et grâce aux bénéfices d'une prise en charge précoce.

En plus de l'âge, qui reste le facteur de risque le plus important, d'autres facteurs de risques sont à prendre en compte. Les antécédents familiaux ne doivent pas être négligés (cas de cancers de la prostate dans la famille). Il faut noter que les formes génétiques de cancer de la prostate sont assez rares mais un dépistage précoce (à partir de 40 ans) peut être proposé. Il semblerait que les origines ethniques et géographiques puissent jouer un rôle ; en France, l'origine antillaise ou africaine apparaît comme un facteur favorisant. Un taux de testostérone élevé augmente le risque. Certains pesticides sont mis en cause dans les facteurs aggravants, comme le chlordécone qui se trouve dans les pesticides employés pour traiter les bananiers aux Antilles, ou le bromure de méthyle utilisé dans les insecticides et fongicides. Enfin, les conditions de vie peuvent avoir un impact ; la consommation

BY-NC-ND

excessive de viande rouge et de graisses saturées animales peut modifier le risque de développer un cancer de la prostate. L'arrêt du tabac est aussi fortement recommandé [11].

1.4.2. Classification et développement

La très grande majorité (90%) des cancers est constituée par des adénocarcinomes, c'est-à-dire des cancers glandulaires, qui se développent dans la partie périphérique de la prostate. Un adénocarcinome est une masse dure alors que la prostate est un organe souple et élastique, c'est pourquoi le toucher rectal permet de détecter la présence de masses tumorales. Les autres types de cancers peuvent être des carcinomes à cellules transitionnelles (CCT, prenant naissance le plus souvent dans la vessie puis se propageant à la prostate) ou des sarcomes (tumeurs prenant naissance dans les tissus mous des organes).

La classification du cancer de la prostate, selon l'INCa, repose sur le même principe que celui décrit pour le CCR, à savoir la classification TNM qui permet de définir différents stades répertoriés dans le tableau 2.

Tableau 2. Stades du cancer de la prostate selon la classification TNM.

Stades	Tumeur primitive (T)	Ganglions régionaux (N)	Métastases (M)
1	T1 T2	N0	M0
2	T3 T4	N0	M0
3	Tout T	N1	M0
4	Tout T	Tout N	M1

Au stade 1, le cancer de la prostate est localisé. Au stade 2, le cancer est localement avancé : la tumeur s'est étendue hors de la capsule prostatique mais sans atteinte des ganglions lymphatiques et sans métastase à distance. Au stade 3, le cancer a atteint les ganglions lymphatiques régionaux mais il n'y a pas de métastase dans les organes à distance. Au stade 4, le cancer a métastasé dans l'organisme du patient.

Néanmoins, il existe d'autres classifications qui prennent en compte des critères supplémentaires. Ainsi, la classification de d'Amico combine trois critères : la classification anatomopathologique de Gleason (ou score de Gleason), la taille de la tumeur (selon la classification TNM) et le dosage du PSA ; elle permet de classer les cancers selon leur risque évolutif et de rechute [12].

BY-NC-ND

Le score de Gleason est un score histopronostique exprimant les résultats obtenus sur les tissus réséqués (biopsies prostatiques, copeaux de résection endoscopique, pièces de prostatectomie) par comparaison avec un panel des évolutions des cancers les plus fréquents (figure 3). Ce score traduit le degré de différenciation (degré d'agressivité) de la tumeur.

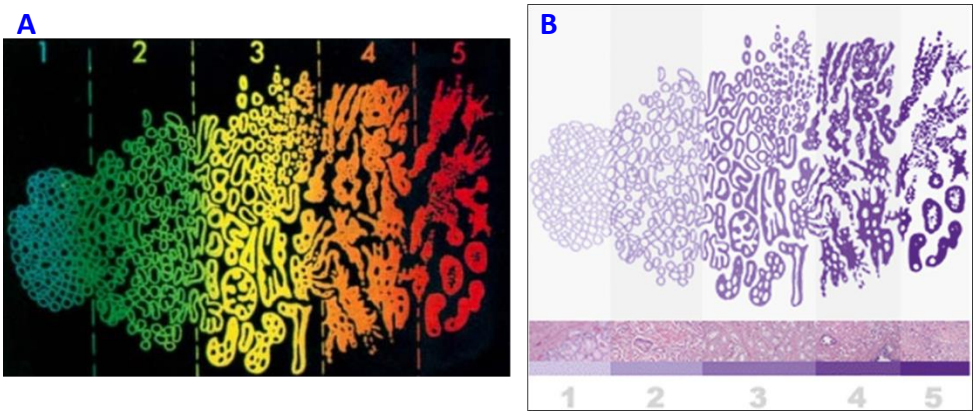


Figure 3. Panel des évolutions, « échelle de Gleason ».
Source A : « Diagnostic du cancer de la prostate » [13].
Source B : « Aspect de glande prostatique selon sa différenciation » [14].

Le PSA est une protéine sécrétée par la prostate et qui se retrouve dans le sang, sa concentration variant selon l'activité de la prostate. Une augmentation de cette concentration peut être la traduction d'une présence tumorale. Néanmoins, la quantité du PSA pouvant varier selon d'autres éléments, le dosage sanguin est toujours couplé à d'autres examens pour confirmer ou infirmer la présence d'un cancer. Bien qu'une valeur seuil de normalité soit établie (4 $ng.mL^{-1}$), il n'y a pas de valeur seuil du PSA en deçà de laquelle il n'y a aucun risque de cancer. C'est pourquoi il est très important pour un homme de savoir si la valeur de son PSA évolue plutôt que de connaître la valeur elle-même. Pour cela, il est préférable de faire des dosages régulièrement en gardant la même technique pour pouvoir comparer les valeurs du PSA et ainsi éveiller les soupçons de présence tumorale. S'il est constaté une valeur importante, ou une augmentation régulière du PSA, une biopsie de la prostate est effectuée. Le dosage est également effectué après traitement pour suivre l'évolution de la pathologie. L'ensemble des données permet de mettre en place la classification de d'Amico détaillée sur le tableau 3. Cette classification établit trois sous-groupes de cancers de la prostate localisés (tumeurs de niveau T2, correspondant à un stade 1 de la classification TNM) selon le risque de rechute, c'est-à-dire trois niveaux de risque de progression du cancer : un risque faible, un risque intermédiaire et un risque élevé.

BY-NC-ND

Tableau 3. Classification de d'Amico.

TNM*	Score de Gleason	PSA	Taux de survie sans récidive à 5 ans	Risque de rechute
≤ T2a	≤ 6	< 10	90 %	Faible
T2b	7	10 < PSA < 20	70 %	Intermédiaire
≥ T2c	≥ 8	> 20	50 %	Elevé

* Le niveau T2 est divisé ainsi : T2a : tumeur atteignant la moitié d'un lobe ou moins ; T2b : tumeur atteignant plus de la moitié d'un lobe mais sans atteindre en totalité les 2 lobes ; T2c : tumeur atteignant les 2 lobes.

1.4.3. Traitements du cancer de la prostate.

Parmi les traitements curatifs, la chirurgie ou plus exactement la prostatectomie totale, est un des traitements de référence pour les cancers localisés à risques faible et intermédiaire ; néanmoins, la prostatectomie est également proposée pour les cancers localisés à risque élevé ou localement avancés. Elle concerne les patients de moins de 70 ans et dont l'espérance de vie est supérieure ou égale à 10 ans. Elle consiste en une ablation totale de la prostate ainsi que des vésicules séminales.

Un autre traitement de référence pour les cancers localisés à risques faible et intermédiaire est la radiothérapie externe. Elle est aussi fortement utilisée en association avec une hormonothérapie, dans le cas d'un cancer à haut risque et localement avancé.

La curiethérapie utilise des grains d'iode 125 radioactifs qui émettent sur une faible distance. Une fois implantés dans le tissu prostatique, les grains vont lyser les cellules cancéreuses et du fait de leur faible émission, la destruction de cellules saines est limitée voire évitée. La curiethérapie est employée pour le traitement de cancers localisés à faible risque.

Une alternative à la radiothérapie et à la curiethérapie, est la photothérapie dynamique qui peut être appliquée pour des tumeurs localisées, de petit volume et peu agressives [15]. Déjà utilisée pour traiter les cancers des bronches, de l'œsophage ou du pancréas, la photothérapie dynamique est une technique mini-invasive et peu agressive ciblant la zone tumorale. Elle consiste en l'administration par voie intraveineuse d'une molécule photosensibilisante, comme certaines porphyrines (porfimère disodique Photofrin II®, témoporfine Foscan®) suivie d'une illumination par fibres optiques au niveau de la

BY-NC-ND

tumeur. Celle-ci déclenche alors une réaction photodynamique qui permet la destruction des cellules cancéreuses de la zone ciblée. Le LCSN est un des laboratoires spécialisés dans le développement d'agents photosensibilisants pour des applications notamment anticancéreuses.

Dans le cas de cancers plus agressifs où les traitements curatifs ne peuvent pas être efficaces, ce sont les traitements palliatifs qui sont employés, tels que l'hormonothérapie et la chimiothérapie. L'hormonothérapie, qui peut être chimique (administration de médicaments) ou physique (ablation des testicules), est principalement utilisée afin d'agir sur la production de la testostérone. En effet, le cancer de la prostate peut-être hormono-sensible, cela signifie que la prolifération cellulaire cancéreuse est stimulée par cette hormone androgène. En limitant ou stoppant la production de celle-ci, la croissance tumorale et celle des éventuelles métastases sont affaiblies. L'hormonothérapie est, d'après l'INCa, le traitement de référence des cancers avec atteintes ganglionnaires et des cancers métastatiques [16]. Elle peut être couplée à la radiothérapie pour des traitements allant de six mois à trois ans, selon le risque de récidive, pour des cancers localisés à haut risque et des cancers localement avancés. Une chimiothérapie est mise en place dans le cas de cancers métastatiques résistant à la castration ; elle est aussi indiscutablement imposée dans le cas de maladie symptomatique [11]. Le docétaxel constitue le fer de lance de la chimiothérapie du cancer de la prostate.

La chimiothérapie anticancéreuse s'appuie sur une grande diversité de molécules ; aussi, le paragraphe suivant s'attache à décrire les principales classes médicamenteuses utilisées. De nouveaux agents anticancéreux, correspondant aux thérapies ciblées, sont également présentés ; ces molécules, plus sélectives des cellules cancéreuses, viennent compléter l'action des agents de chimiothérapie qui eux, présentent un manque de sélectivité.

BY-NC-ND

1.5. Les anticancéreux utilisés en chimiothérapie et en thérapies ciblées

Les antinéoplasiques (ou anticancéreux) regroupaient classiquement les agents d'hormonothérapie et ceux de chimiothérapie, classe qui occupe la place la plus importante. Néanmoins, l'arsenal des antinéoplasiques s'est enrichi de nouveaux produits capables d'interagir spécifiquement avec différentes cibles moléculaires nécessaires à la croissance tumorale ; ils correspondent aux thérapies ciblées.

1.5.1. La chimiothérapie

1.5.1.1. Généralités

La chimiothérapie est l'administration de traitements médicamenteux dans le but de combattre le cancer en éliminant les cellules cancéreuses, ou en les empêchant de se multiplier. Dans la majorité des cas, les cellules ciblées sont celles à division rapide, car il s'agit d'une caractéristique des cellules cancéreuses. Néanmoins, la chimiothérapie est souvent non spécifique. En effet, les cellules saines à division rapide sont également touchées, entraînant l'apparition d'effets secondaires tels que alopécie, troubles digestifs, fatigue, anémies, infections ou encore hémorragies.

Il existe plusieurs types de chimiothérapie selon les objectifs définis : la chimiothérapie curative, la chimiothérapie adjuvante, la chimiothérapie néo-adjuvante et la chimiothérapie palliative. La chimiothérapie curative est employée dans le but d'obtenir la guérison complète du patient. Elle peut être associée à la chirurgie, la radiothérapie ou encore l'hormonothérapie mais elle est, dans ce cas, considérée comme le traitement principal. La chimiothérapie adjuvante se définit comme le traitement administré après une chirurgie ou une radiothérapie afin de compléter l'efficacité du protocole principal. La chimiothérapie néo-adjuvante, quant à elle, est donnée avant tout autre traitement, et a pour objectif de réduire la taille de la tumeur avant une exérèse chirurgicale par exemple, comme dans le cas du cancer du sein. A défaut de pouvoir guérir le patient, la chimiothérapie palliative est prescrite pour améliorer son confort de vie, en diminuant la douleur par exemple, voire tenter d'augmenter sa survie.

Lors d'une chimiothérapie, ce n'est généralement pas un seul principe actif qui est administré mais plusieurs molécules ayant des mécanismes d'action différents, provoquant

BY-NC-ND

parfois un effet synergique sur l'efficacité du traitement. La figure 4 illustre la diversité d'action de ces agents de chimiothérapie [17], qui sont répertoriés selon les classes ci-après.

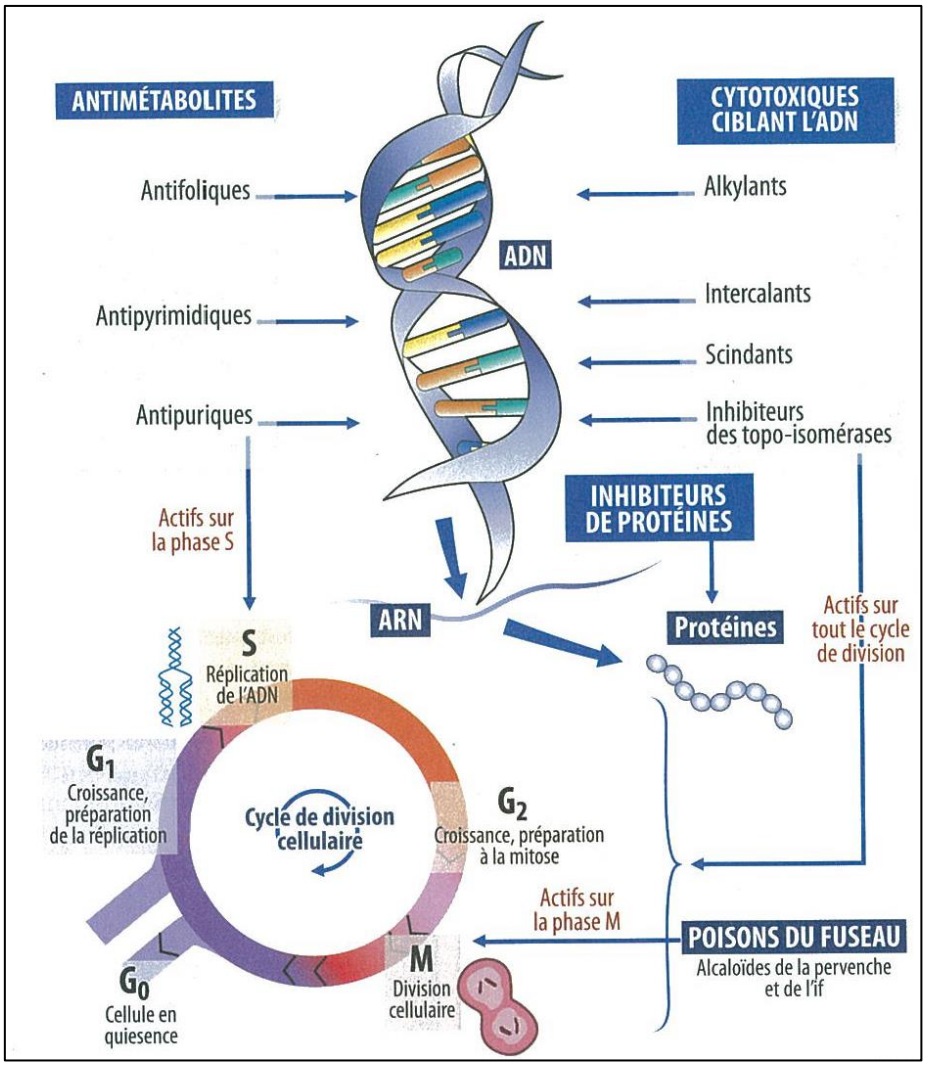


Figure 4. Illustration de l'action des antinéoplasiques selon Richard [17].

1.5.1.2. Cytotoxiques ciblant l'ADN

1.5.1.2.a. Les agents alkylants

Les agents alkylants font partie des chimiothérapies dites cytotoxiques. Ce sont des composés électrophiles qui vont interagir avec les bases de l'ADN, telles que l'adénine, la cytosine, la guanine et la thymine. Leur mode d'action est la création d'une liaison covalente avec un ou plusieurs groupements d'un acide nucléique ; la plupart des agents sont dits bi-alkylants car ils réalisent alors des ponts entre deux acides nucléiques. L'alkylation rendant l'ADN non réparable provoque donc inévitablement la mort cellulaire. Cependant, cette

BY-NC-ND

alkylation est non-spécifique, et agit donc sur les cellules tumorales comme sur les cellules saines ce qui entraîne de nombreux effets secondaires pour le patient. Les principaux groupes d'agents alkylants sont présentés dans les paragraphes suivants.

➢ **Les moutardes azotées**

Les moutardes azotées sont indiquées dans le traitement de plusieurs cancers. Parmi les plus connues, nous pouvons citer le chlorambucil et le cyclophosphamide (figure 5 A et B).

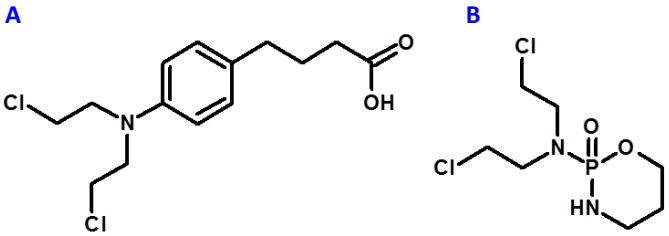


Figure 5. Structures du chlorambucil (A) et du cyclophosphamide (B).

➢ **Les nitroso-urées**

Les nitroso-urées sont caractérisées par leur grande lipo-solubilité et leur facilité à traverser la barrière hémato-encéphalique. En plus d'effectuer l'alkylation de l'ADN, elles peuvent alkyler également l'ARN. Un exemple de substance active est la lomustine (figure 6).

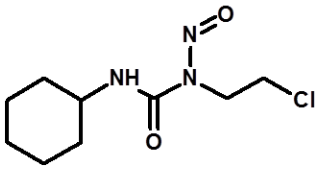


Figure 6. Structure de la lomustine.

➢ **Les organoplatinés**

Les organoplatinés sont des sels de platine qui agissent en formant des ponts entre les brins d'ADN, de manière intra et inter-brin. Le dérivé le plus connu est sans doute le cisplatine (figure 7 A), dont les propriétés anti-cancéreuses ont été découvertes dans les années 60 et qui a obtenu son autorisation de mise sur le marché en 1983. Il existe des dérivés du cisplatine tels que le carboplatine (figure 7 B) ou encore l'oxaliplatine (figure 7 C).

BY-NC-ND

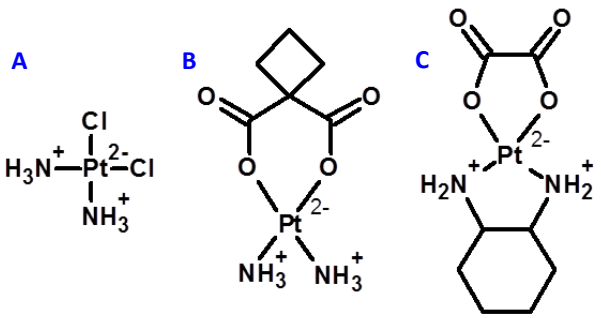


Figure 7. Structures du cisplatine (A), du carboplatine (B) et de l'oxaliplatine (C).

1.5.1.2.b. Les inhibiteurs de la topoisomérase

Les ADN topoisomérases sont des enzymes permettant, lors du cycle cellulaire, de cliver les brins d'ADN, de catalyser l'introduction de segments d'ADN et de les refermer. Selon le mode de coupure employé, elles sont réparties en différentes classes : les ADN topoisomérases de type I sont monomériques et quasiment toutes ATP-indépendantes, elles vont cliver un seul brin de la double hélice d'ADN. Les topoisomérases de type II sont polymériques, ATP-dépendantes et vont, quant à elles, cliver les deux brins de la double hélice.

Les inhibiteurs des topoisomérases I et II bloquent la recombinaison des brins de l'ADN lorsque celui-ci est sous forme clivée. Cela a pour conséquence de stopper la prolifération cellulaire et entraîne la mort de la cellule par apoptose. Un exemple d'inhibiteur de la topoisomérase I est le topotécan (figure 8 A), dérivé de la camptothécine (figure 8 B). Concernant la topoisomérase II, il existe différents inhibiteurs comme la daunorubicine et l'étoposide. La daunorubicine (figure 8 C) est un antibiotique cytotoxique de la famille des anthracyclines, qui sont également considérés comme des agents intercalants, c'est-à-dire capables de s'intercaler entre les deux brins de l'ADN pour bloquer sa transcription. De manière générale, les anthracyclines, grâce à leur conformation, favorisent la déspiralisation de l'ADN, provoquant ainsi une inhibition des enzymes ADN et ARN polymérases. L'étoposide (figure 8 D) est, quant à lui, un dérivé de la podophyllotoxine (figure 8 E), composé naturel extrait de certaines espèces de *Podophyllum*.

BY-NC-ND

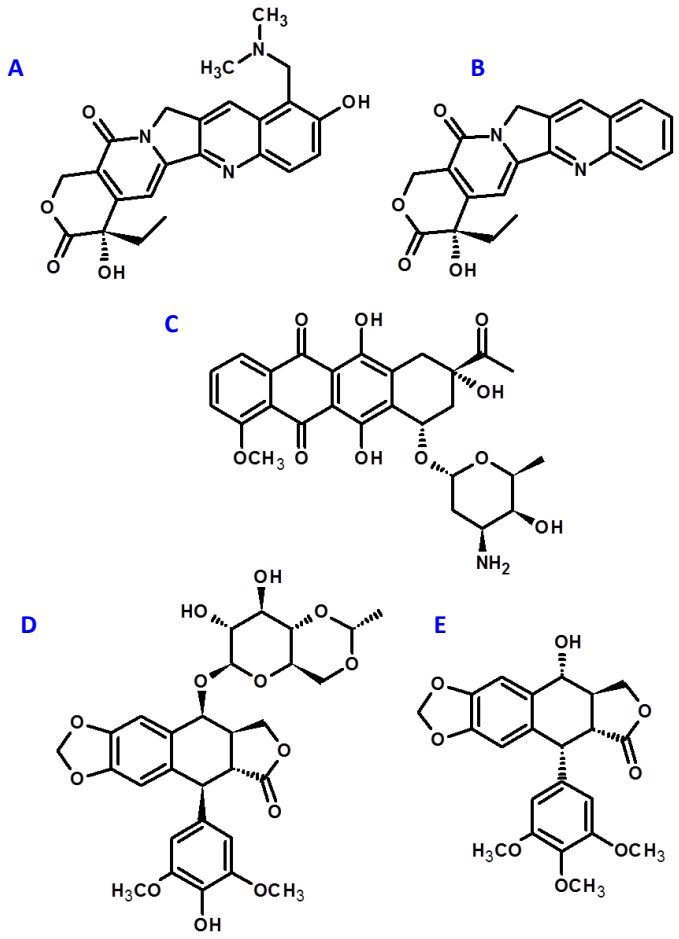


Figure 8. Structures du topotécan (A), de la camptothécine (B), du daunorubicine (C), de l'étoposide (D) et de la podophyllotoxine (E).

1.5.1.3. Les anti-métabolites

Les anti-métabolites sont des analogues des molécules nécessaires à la biosynthèse des acides nucléiques. Ils se substituent à ces molécules et ainsi inhibent la synthèse de l'ADN mais aussi celle de l'ARN. Ils peuvent aussi inhiber les enzymes nécessaires à cette synthèse. La famille des anti-métabolites se découpe en trois groupes : les anti-foliques, les anti-pyrimidiques et les anti-puriques.

1.5.1.3.a. Les anti-foliques

Les anti-foliques inhibent différentes enzymes impliquées dans la transformation de l'acide folique en acide tétrahydrofolique, un cofacteur indispensable à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques [17]. Ainsi, le méthotrexate (figure 9) chef de file des anti-foliques, bloque la dihydrofolate réductase, une enzyme permettant la biosynthèse de l'acide tétrahydrofolique.

BY-NC-ND

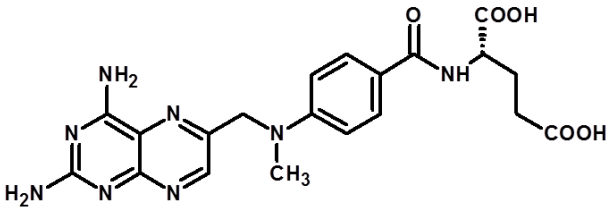


Figure 9. Structure du méthotrexate.

1.5.1.3.b. Les anti-pyrimidiques

Les anti-pyrimidiques sont des analogues structuraux des bases pyrimidiques (la cytosine, l'uracile et la thymine). Ils se substituent à ces bases bloquant ainsi la synthèse de l'ADN et de l'ARN. Ils inhibent également l'activité d'enzymes impliquées dans cette synthèse. Le 5-fluorouracile (figure 10 A) et la capécitabine (figure 10 B) sont les chefs de file de cette classe de composés.

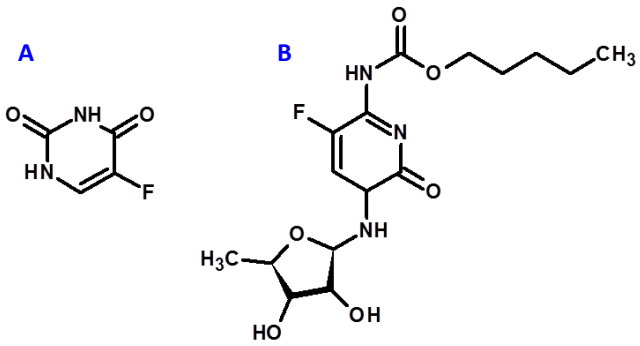


Figure 10. Structures du 5-fluorouracile (A), de la capécitabine (B).

1.5.1.3.c. Les anti-puriques

Les anti-puriques perturbent la biosynthèse de la guanine et de l'adénine. Ils sont principalement prescrits dans les traitements de leucémies. Nous pouvons donner comme exemple de substances actives la thioguanine et la mercaptopurine (figure 11).

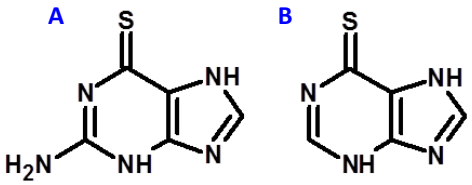


Figure 11. Structures de la thioguanine (A), de la mercaptopurine (B).

1.5.1.4. Les agents du fuseau

Les agents du fuseau sont également appelés agents antimitotiques. La mitose est un processus de division cellulaire qui permet d'obtenir deux cellules filles identiques à partir

BY-NC-ND

d'une cellule mère. Le fuseau mitotique est un système mis en place pour permettre la migration des chromosomes vers les pôles opposés de la cellule lors de la mitose. Ce fuseau est constitué de microtubules formés par la polymérisation de la tubuline qui est le composant structural majeur des microtubules. La tubuline est une protéine dimère composée de deux unités α et β non identiques toutes deux d'environ 50 kDa. La dynamique des microtubules est régie par la concentration de la tubuline dans la cellule. Une concentration élevée conduit à la formation des microtubules par polymérisation de la tubuline ; inversement, une concentration faible entraîne une dépolymérisation des microtubules. [18-20].

Au sein des agents du fuseau, une distinction est faite entre les composés dits « poisons du fuseau » et ceux dits « stabilisants du fuseau ». Les poisons, parmi lesquels les « vinca-alcaloïdes », vont inhiber la polymérisation de la tubuline en microtubules. Les vinca-alcaloïdes sont initialement issus de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*). La vinblastine (figure 12 A) et la vinorelbine (figure 12 B) sont des exemples de vinca-alcaloïdes. Les stabilisants, ou « taxanes », vont quant à eux bloquer la dépolymérisation des microtubules en tubuline. Le premier représentant de cette famille est le paclitaxel (figure 12 C), qui a initialement été isolé dans l'if du pacifique (*Taxus brevifolia*). Le docétaxel (figure 12 D) est, lui, un dérivé hémi-synthétique.

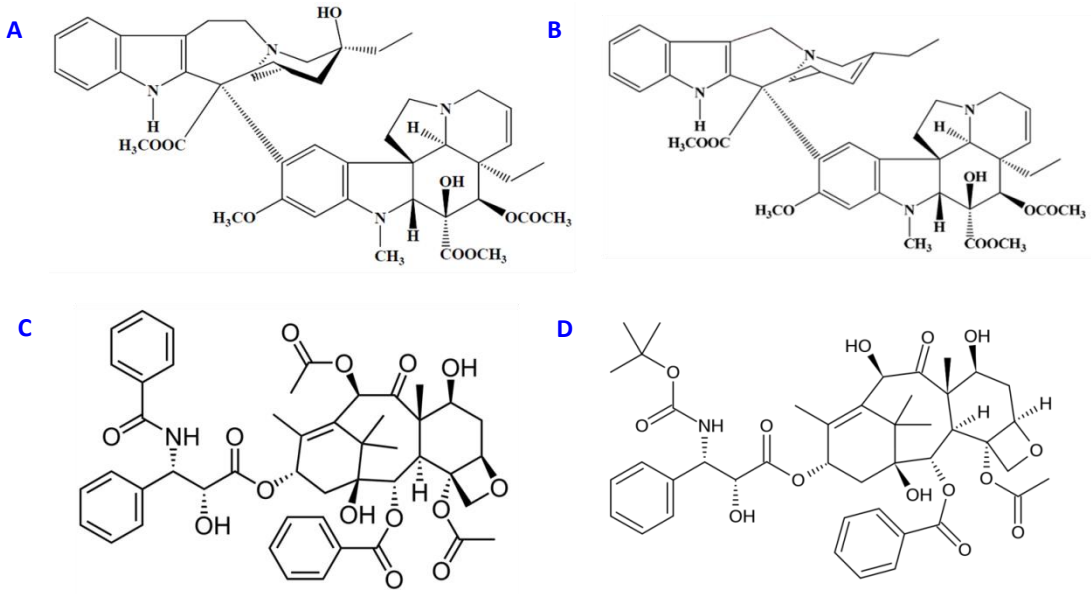


Figure 12. Représentations structurales de la vinblastine (A) [21], de la vinorelbine (B) [21], du paclitaxel (C) [22] et du docétaxel (D) [22].

BY-NC-ND

1.5.2. Les thérapies ciblées

Les traitements par « thérapies ciblées » sont orientés vers des cibles moléculaires précises, impliquées dans la tumorigenèse. Parmi ces cibles, nous pouvons notamment citer les protéines membranaires à activité tyrosine kinase. Deux types de médicaments sont principalement développés : les anticorps monoclonaux (suffixe –mab) et les inhibiteurs de protéines kinases (suffixes –tinib, –fénib…).

1.5.2.1. Les anticorps monoclonaux

Les anticorps monoclonaux peuvent être prescrits seuls, c'est-à-dire en monothérapie, ou en association à une chimiothérapie. Ils s'administrent par voie intraveineuse et se lient à l'antigène qui est visé, puis le néo-complexe est évacué ou détruit par le système immunitaire du patient. A la différence des composés cytotoxiques, les anticorps monoclonaux sont spécifiques des cellules cancéreuses et ne les détruisent pas, ils inhibent uniquement leur prolifération. Ils sont utilisés dans le traitement de nombreux cancers : cancer colorectal métastatique, leucémie lymphoïde chronique, cancer du sein métastatique, cancer du rein métastatique, mélanome avancé ou métastatique... Ainsi, le bevacizumab, anticorps monoclonal qui cible le facteur de croissance vasculaire endothélial (vascular endothelial growth factor, VEGF) est utilisé dans le traitement du cancer colorectal métastatique. Associé notamment au 5-fluorouracile, il améliore grandement les chances de rémission du patient [23].

1.5.2.2. Les inhibiteurs de protéines kinases

Les inhibiteurs de protéines kinases sont administrés par voie orale. Leur mode d'action est l'interaction avec le site de liaison à l'ATP de la protéine membranaire à activité tyrosine kinase. Ainsi, l'enzyme est privée de sa source de substrat ce qui a pour conséquence d'endiguer la phosphorylation et donc empêcher sa voie de signalisation. Par exemple, l'utilisation de l'erlotinib (figure 13 A) dans un traitement contre le cancer bronchique métastatique (en échec après au moins une ligne de chimiothérapie) a permis d'augmenter la survie des patients traités. Combiné avec une chimiothérapie à base de gemcitabine, l'erlotinib provoque une augmentation modeste de la survie des patients atteints de cancer du pancréas (localement avancé ou métastatique) par rapport à la

BY-NC-ND

chimiothérapie seule (la survie à un an augmente de 17 à 24%) [24, 25]. Pour illustrer l'intérêt de ces molécules dans le traitement du cancer colorectal métastatique, nous pouvons citer le régorafénib (figure 13 B), également utilisé dans le traitement de tumeurs stromales gastro-intestinales [26, 27].

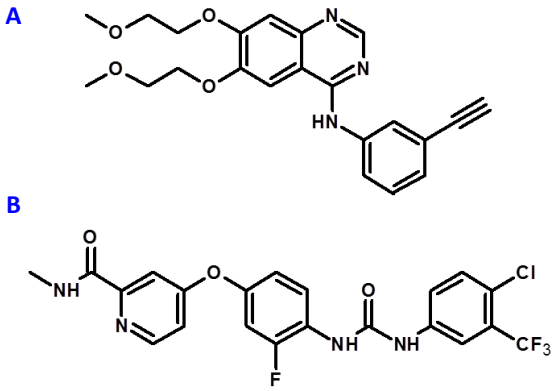


Figure 13. Structures de l'erlotinib (A) et du régorafénib (B).

En résumé, l'arsenal thérapeutique anticancéreux comporte de nombreuses molécules synthétiques telles que les agents alkylants et les anti-métabolites ; néanmoins de nombreux composés naturels ont apporté une contribution dans l'amélioration du traitement de certaines néoplasies. Ainsi, la vinblastine extraite de la pervenche de Madagascar a révolutionné l'approche thérapeutique de la maladie de Hodgkin et a permis le développement d'autres poisons du fuseau tels que la vinorelbine. La famille des taxanes est également un bon exemple pour illustrer l'intérêt des molécules naturelles : le paclitaxel, initialement extrait de l'if du pacifique, a apporté de nouvelles perspectives dans le traitement des cancers du poumon, du sein et de l'ovaire.

La recherche de composés anticancéreux originaux en se basant sur les ressources naturelles est donc toujours d'actualité ; à ce titre, le LCSN s'intéresse plus particulièrement aux flavonoïdes, molécules à fort potentiel thérapeutique. Celles-ci peuvent être issues du milieu naturel ou bien être élaborées de manière synthétique. Ainsi, le chapitre suivant leur est consacré.

BY-NC-ND

2. Les flavonoïdes

2.1. Généralités

Le terme flavonoïde regroupe un vaste ensemble de composés naturels. Ce sont des métabolites secondaires faisant partie de la famille des polyphénols.

Plus de 9 000 composés sont répertoriés [28] et classés dans différents groupes selon la nature du squelette. Néanmoins, ils ont tous une origine biosynthétique commune qui aboutit dans un premier temps à la formation d'une chalcone, décrivant l'enchainement 1,3-diarylpropane (figure 14 A). Les flavonoïdes qui découlent ensuite de la cyclisation d'une chalcone présentent, eux, un squelette 2-phénylchromane (figure 14 B).

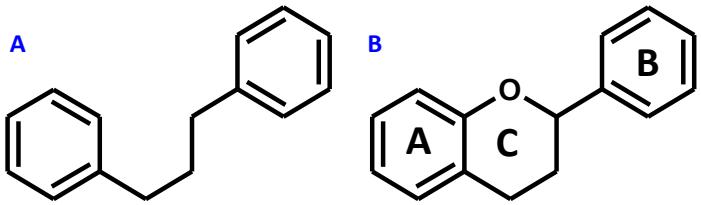
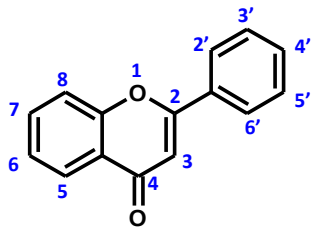
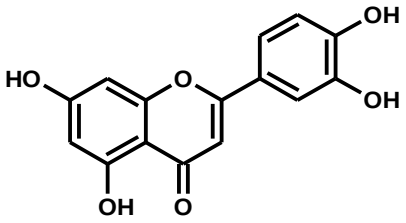
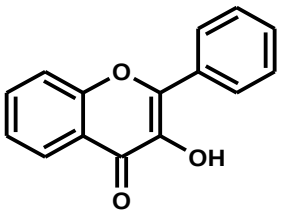
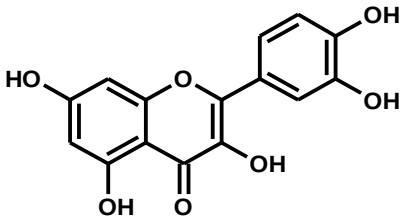
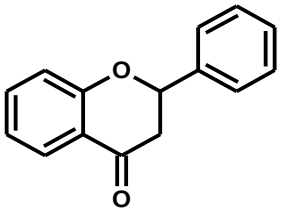
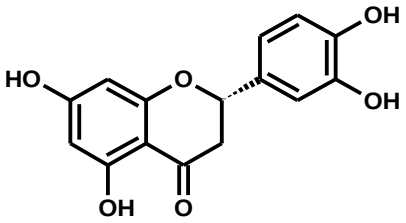
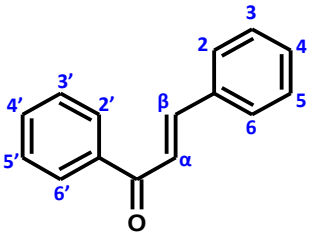
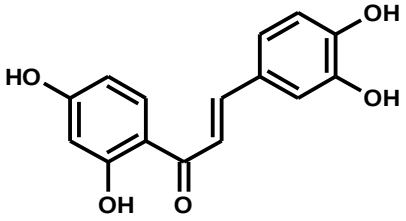
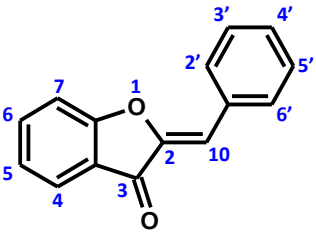
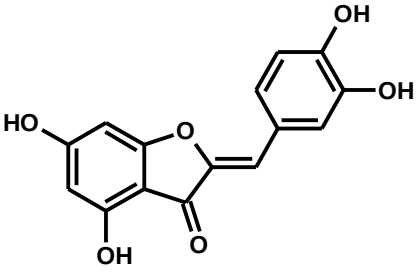
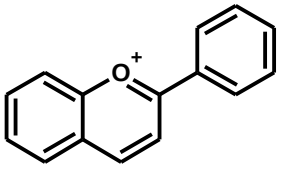
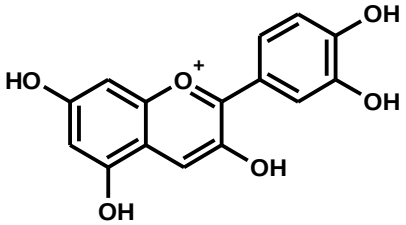


Figure 14. Enchainements 1,3-diarylpropane (A) et 2-phénylchromane (B).

Ainsi, les principaux flavonoïdes sont les chalcones, les flavones, les flavanones, les flavonols, et les anthocyanidols (ou anthocyanidines) (tableau 4) [28-31]. Néanmoins, certains composés ne présentent pas les squelettes décrits ci-dessus ; c'est le cas des aurones dont la structure repose sur un motif 2-benzylidène-coumaranone. Quant aux isoflavonoïdes, leur squelette est basé sur l'enchaînement 3-phénylchromane, et sont considérés comme des flavonoïdes au sens large.

BY-NC-ND

Tableau 4. Structures des principaux groupes de flavonoïdes.

Structure de base	Exemple de composés naturels
 Flavone	 Lutéol (Lutéoline)
 Flavonol	 Quercétol (Quercétine)
 Flavanone	 Eriodictyol (Eriodictiol)
 Chalcone	 Butéine
 Aurone	 Aureusidine
 Anthocyanidol	 Cyanidol (Cyanidine)

BY-NC-ND

Le nom « flavonoïde » provient du mot latin « *flavus* » : blond/jaune, évoquant la pigmentation naturelle de ces composés. Ils sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits avec des teintes passant par le jaune, le rouge, le bleu ou encore le violet [32, 33]. Les anthocyanes (ou anthocyanosides) sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune-orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge. Les flavones, aurones et chalcones, appelés flavonoïdes jaunes, donnent plutôt des couleurs jaune, beige, blanche et participent aux nuances produites par les anthocyanosides et les caroténoïdes.

Une des fonctions des flavonoïdes au sein des plantes consiste en la protection contre les éléments pathogènes, les herbivores ou encore contre les rayonnements ultraviolets [29, 34]. En effet, ils absorbent généralement dans la gamme de spectre comprise entre 280 et 315 nm, et permettent donc une protection contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet B [29]. Ils peuvent également contribuer à l'attraction des insectes pollinisateurs grâce à leur rôle de co-pigments en exprimant des « colorations » dans le proche ultraviolet [29].

2.2. Répartition dans le monde végétal et dans notre alimentation

Les flavonoïdes sont les composés phénoliques les plus abondamment retrouvés dans les végétaux. La plus grande diversité de structures flavonoïdiques se retrouve chez les Angiospermes [35]. Néanmoins, des flavonoïdes se retrouvent chez certaines micro-algues, cyanobactéries et mousses mais en très faibles quantités. Les flavonoïdes sont largement répartis dans toutes les parties des végétaux supérieurs (trachéophytes) : racines, bois, écorces, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines... Néanmoins, ils ont une présence maximale dans les organes jeunes tels que les feuilles ou les boutons floraux. Selon leur classe, ils ont tendance à s'accumuler dans des parties spécifiques des végétaux. Par exemple, les anthocyanes se concentrent plutôt dans les parties externes des feuilles, fleurs et fruits ; les chalcones sont plus fréquemment trouvées dans les pétales des fleurs [36].

Les flavonoïdes occupent une place importante dans notre alimentation [37, 38]. Selon notre régime alimentaire, notre consommation journalière de flavonoïdes peut varier entre 20 et 1000 mg [39]. Les principales sources de flavonoïdes sont les fruits et légumes, et particulièrement les agrumes, le thé, le café, le cacao, l'oignon ou encore le vin rouge [40,

BY-NC-ND

41]. Les flavanones se retrouvent principalement dans les agrumes, les flavones dans les céréales, dans des herbes telles que le romarin ou le thym et dans certains légumes tels que les pois ou les haricots. Les flavonols sont présents dans les fruits et légumes, un des plus connus est la quercétine, qui se trouve abondamment dans la peau des pommes. Les anthocyanes sont fortement présents dans les cerises, le raisin noir et le vin rouge [35]. Des chalcones ont été isolées par Li *et al.* dans la peau d'orange (*Citrus sinensis*) [42] et également dans la peau de tomates (*Lycopersicon esculentum*) [43].

2.3. Biosynthèses des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune. Leur structure résulte de la condensation, catalysée par l'enzyme *chalcone synthase*, de trois molécules de malonyl-coenzyme A (CoA) avec, en règle générale, le 4-coumaroyl-CoA (4-hydroxycinnamoyl-CoA). Le malonyl-CoA découle de la biosynthèse des poly-acétates alors que le 4-coumaroyl-CoA dérive quant à lui de la voie de synthèse de l'acide shikimique [44, 45]. Cette condensation conduit à la 2',4,4',6'-tétrahydroxychalcone, précurseur des flavonoïdes [44] (figure 15).

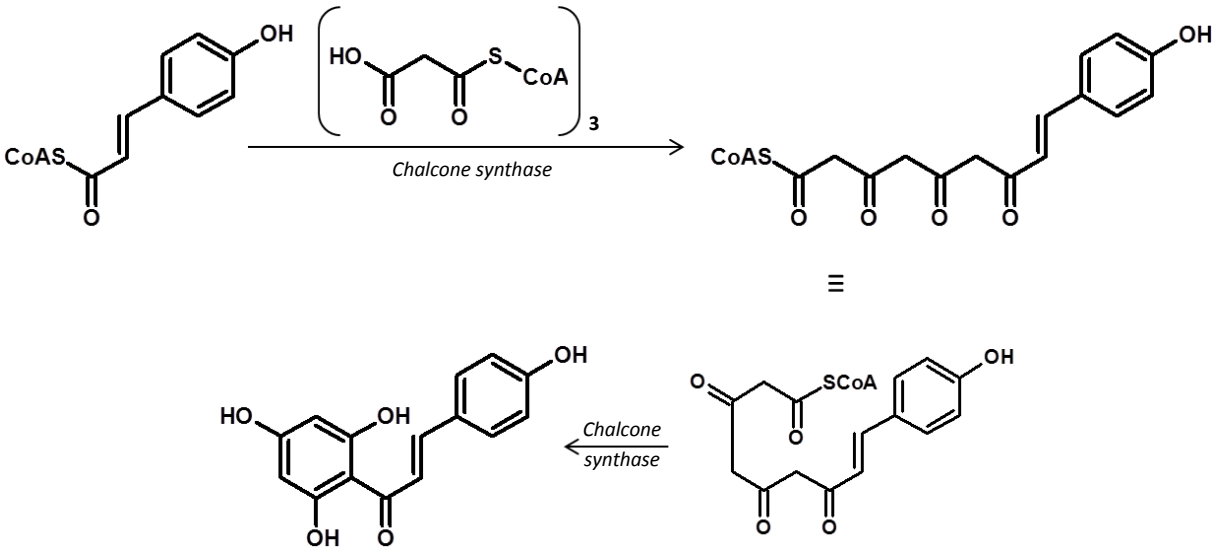


Figure 15. Biosynthèse de la 2',4,4',6'-tétrahydroxychalcone.

Le noyau C des flavonoïdes résulte de l'action de la *chalcone isomérase*. Cette dernière provoque une fermeture stéréospécifique du cycle : une addition *syn* sur la double liaison *E* [45]. Elle donne ainsi naissance aux (2*S*)-flavanones ; par exemple, la 4',5,7-trihydroxyflavanone, appelée naringénine (ou naringétol), provient de la cyclisation de la 2',4,4',6'-tétrahydroxychalcone (figure 16) [45, 46].

BY-NC-ND

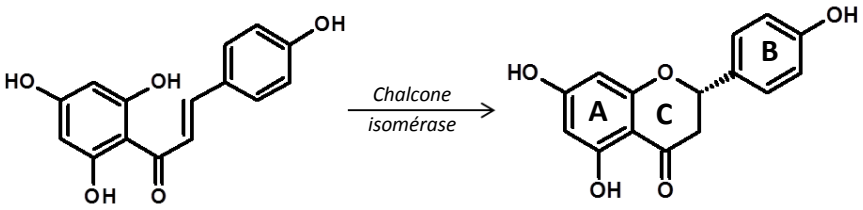


Figure 16. Biosynthèse de la naringénine.

Notons que chez les flavonoïdes, le noyau B est en position 2 ; les molécules pour lesquelles le noyau B est en position 3, sont appelées isoflavonoïdes [47]. Leur biosynthèse fait intervenir successivement l'*isoflavone synthase* (IFS), une migration d'aryle radicalaire et la *2-hydroxyisoflavanone déshydratase* (HID) [48] conduisant ainsi à une isoflavone, par exemple la génistéine, ou 4',5,7-trihydroxyisoflavone (figure 17).

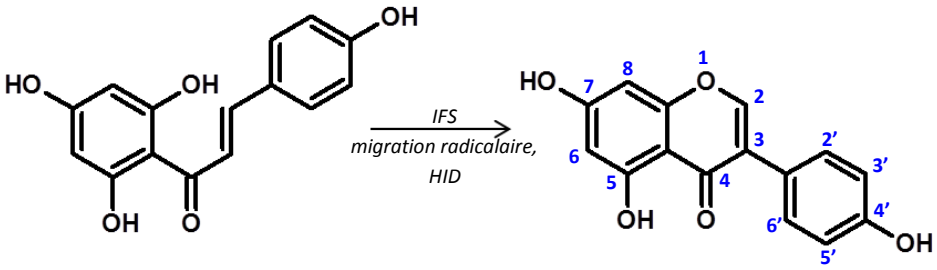


Figure 17. Biosynthèse de la génistéine.

La biosynthèse des autres flavonoïdes découle des flavanones sauf pour les aurones dont la biosynthèse emprunte une voie différente puisqu'elle se fait en parallèle de celle des flavanones. Une étude récente fait part de deux voies distinctes de biosynthèse pour les aurones [49]. La première voie de biosynthèse donne lieu aux aurones poly-hydroxylées sur le cycle B (voie de biosynthèse « Plant Polyphenol Oxidase », PPO) telles que l'auréusidine [50] (figure 18 A), alors que la seconde conduit aux aurones mono-hydroxylées sur le cycle A (voie de biosynthèse « PRX », *via* les peroxydases MtPRX1 et MtPRX2) comme l'hispidol [51] (figure 18 B).

BY-NC-ND

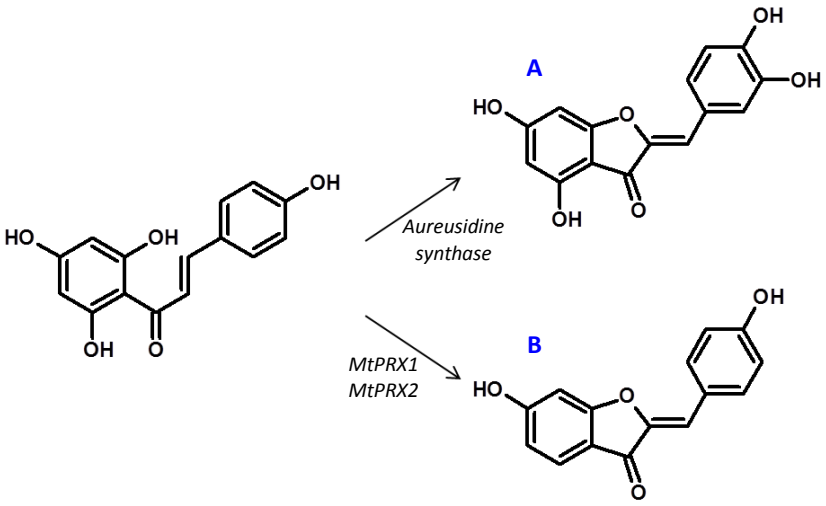


Figure 18. Voies de biosynthèse PPO et PRX des aurones, structures de l'auréusidine (A) et de l'hispidol (B).

Concernant la biosynthèse des autres flavonoïdes, les flavanones peuvent mener aux flavones (étape oxydative) par action de deux enzymes différentes : la *flavone synthase type I* (FST I) et la *flavone synthase type II* (FST II) [45]. Elles peuvent également conduire aux dihydroflavonols à travers l'action de la *flavanone 3-hydroxylase* (F3H) [45]. La naringénine peut ainsi conduire à l'apigénine (apigénol, figure 19 A) ou à l'aromadédrine (dihydrokaempférol, figure 19 B).

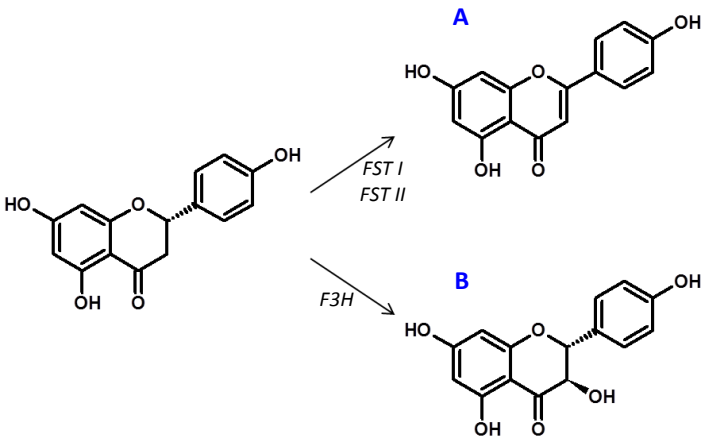


Figure 19. Biosynthèse de l'apigénine (A) et de l'aromadédrine (B).

Ensuite, les dihydroflavonols peuvent conduire aux flavonols grâce à l'action oxydante de la *flavonol synthase* [45], mais aussi aux flavane-3,4-diols *via* l'intervention d'une autre enzyme, la *dihydroflavonol 4-réductase* (DF4R), engendrant une séquence réductrice cette fois-ci. Ainsi, selon les enzymes en action, le dihydrokaempférol se convertit soit en kaempférol (figure 20 A) soit en leucopélargonidine (leucopélargonidol) (figure 20 B).

BY-NC-ND

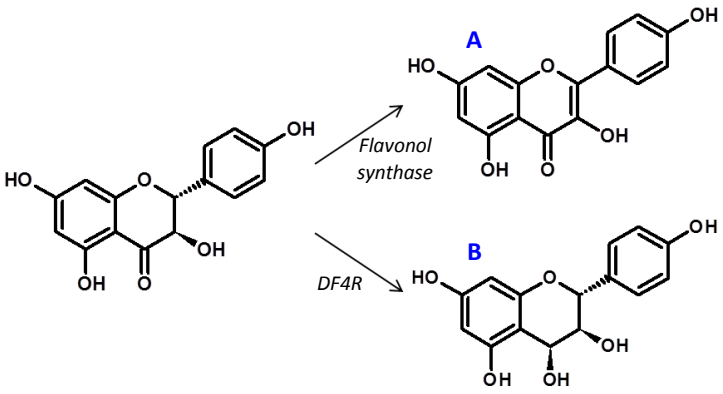


Figure 20. Biosynthèse du kaempférol (A) et la leucopélargonidine (B).

Les anthocyanidols diffèrent des autres flavonoïdes de par leur charge cationique. En effet, leur structure est basée sur l'ion flavylium (ion 2-phénylchroménylium, figure 21). Le contre-ion du flavylium est la plupart du temps l'anion chlorure [52].

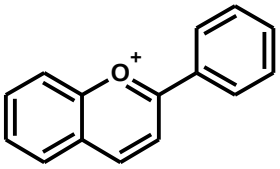


Figure 21. Structure de l'ion flavylium (ion 2-phénylchroménylium).

La biosynthèse des anthocyanidols découle de l'action oxydante de l'enzyme *anthocyanidine synthase* sur un flavane-3,4-diol [53] avec une perte de deux molécules d'eau. Par exemple, la pélargonidine, ou pélargonidol, provient du leucopélargonidol (figure 22).

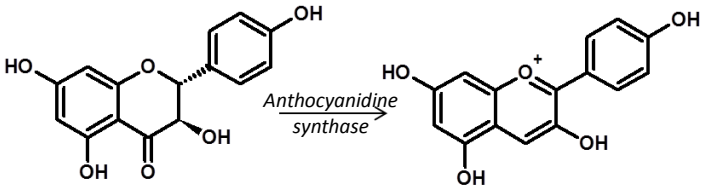


Figure 22. Biosynthèse de la pélargonidine.

Les dérivés hétérosidiques des anthocyanidols, appelés anthocyanes ou anthocyanosides, sont beaucoup plus fréquemment rencontrés car la glycosylation, le plus souvent en position 3, permet d'augmenter la stabilité des génines. Ainsi, le 3-glucoside de pélargonidine (figure 23) est un dérivé très présent dans la fraise (38,9 mg / 100 g, *Fragaria x ananassa*) [54, 55].

BY-NC-ND

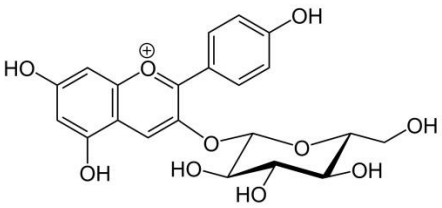


Figure 23. Structure du 3-glucoside de pélargonidine.

Un fort intérêt est porté à toutes ces molécules naturelles que sont les flavonoïdes car ils possèdent de nombreuses propriétés biologiques décrites ci-dessous.

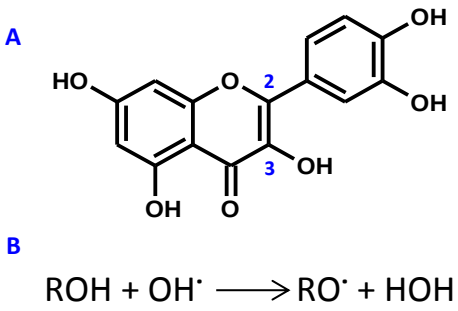
2.4. Propriétés biologiques

Au sein des plantes, les fonctions premières des flavonoïdes sont les suivantes : attraction des insectes pollinisateurs, protection contre les rayonnements UV [29, 56], protection contre les éléments pathogènes (rôles antimicrobiens et antifongiques) [56] et contre les insectes phytophages ou les herbivores [34]. L'attrait porté aux flavonoïdes depuis plusieurs années est dû à leurs multiples propriétés biologiques applicables à la santé humaine. Ainsi, plusieurs travaux ont démontré des propriétés anti-spasmodiques [57], anti-ostéoporotiques [58], anti-hépatotoxiques [59], anti-allergiques [57, 60], anti-bactériennes [61], anti-artériosclérose [62, 63], ou encore antioxydantes, anti-inflammatoires [64] et anticancéreuses. Ces trois dernières seront détaillées dans les paragraphes suivants.

2.4.1. Propriétés antioxydantes

De nombreux travaux ont démontré le potentiel antioxydant des composés phénoliques naturels et il s'avère que les flavonoïdes constituent la classe la plus importante en termes de molécules antioxydantes. Une condition essentielle pour un fort potentiel antioxydant est la présence d'un groupement catéchol sur le noyau B, alors que l'influence des hydroxyles sur le noyau A semble moins importante ; la présence d'une double liaison en 2-3 et d'un groupement hydroxyle en 3 permet d'augmenter le pouvoir antioxydant des composés [65, 66]. Ainsi, un très bon exemple d'antioxydant est la quercétine (figure 24 A), un flavonol naturel qui a fait l'objet de très nombreuses publications [67-69]. Cette activité antioxydante est liée à la capacité de la quercétine, et de certains flavonoïdes de manière plus générale, à capter les radicaux libres de l'oxygène tels que $O_2^{\bullet -}$, $OH^{\bullet}$, $ONOO^{-}$ ou encore $NO^{\bullet}$ [70-72].

BY-NC-ND



$$ROH + OH^{\cdot} \longrightarrow RO^{\cdot} + HOH$$

Figure 24. Structure de la quercétine (A) ; schématisation de la capture de radicaux libres de l'oxygène par un flavonoïde, R = flavonoïde (B).

2.4.2. Propriétés anti-inflammatoires

Certains flavonoïdes présentent une activité anti-inflammatoire qui peut s'exercer *via* plusieurs mécanismes tels que l'inhibition des cyclooxygénases 1 et 2 (COX-1/2) [73], ou encore l'inhibition de la production de la prostaglandine E_2 (PGE_2) [74] et du monoxyde d'azote (NO) [75, 76]. Cette propriété anti-inflammatoire peut aussi s'effectuer par le biais d'une activité antioxydante liée à l'inactivation des radicaux libres de l'oxygène comme vu précédemment [77]. Plusieurs classes de flavonoïdes sont décrites comme agents anti-inflammatoires : les flavones [78], les flavanones [79], les chalcones [61, 80-82] ou encore les flavonols [83] ; pour ces derniers, nous pouvons notamment citer en exemple, une fois de plus, la quercétine [84].

Les travaux de thèse menés par Rokhaya Gueye au sein du Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles ont concerné l'introduction, sur le squelette flavonoïdique, de pharmacophores présents sur des molécules anti-inflammatoires de référence telles que le célécoxib (Célébrex®, figure 25 A) ou l'étoricoxib (Arcoxia®, figure 25 B). Ils ont permis la synthèse de nouveaux dérivés qui ont ensuite été évalués sur le plan biologique. Les tests d'activité reposaient sur la mise en évidence de l'inhibition de la production de la prostaglandine E2, production catalysée par la COX-2.

Trois composés, la 2'-hydroxy-4'-méthyl-4-méthylsulfonylchalcone (figure 25 C), la 4'-chloro-2'-hydroxy-4-sulfamoylchalcone (figure 25 D) et le 7-chloroflavonol (figure 25 E), ont révélé les meilleures activités inhibitrices sur la production de PGE2, se rapprochant du résultat obtenu pour le NS-398, un inhibiteur sélectif de la COX-2 utilisé comme composé de référence [85].

BY-NC-ND

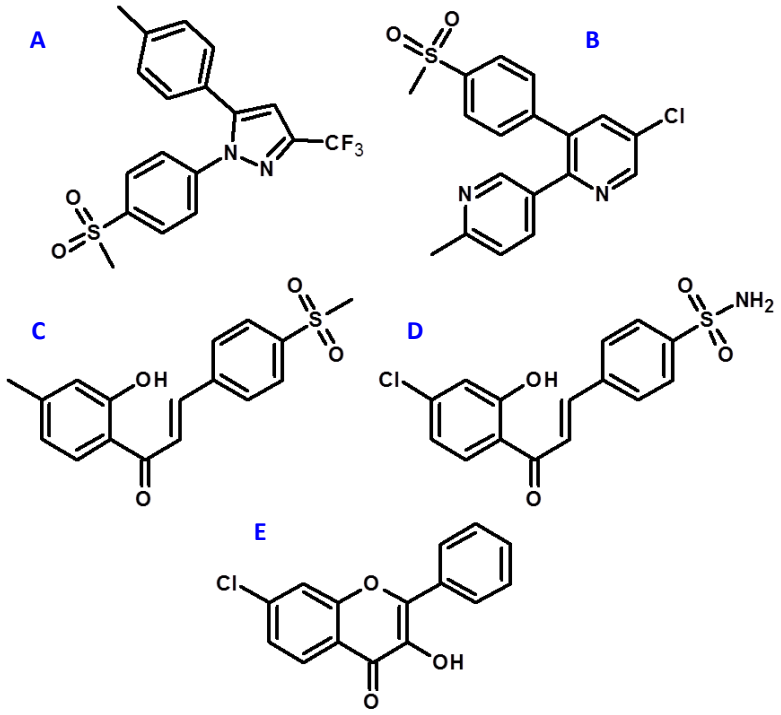


Figure 25. Structure du célécoxib (A), de l'étoricoxib (B), de la 2'-hydroxy-4'-méthyl-4-méthylsulfonylchalcone (C), de la 4'-chloro-2'-hydroxy-4-sulfamoylchalcone (D) et du 7-chloroflavonol (E).

2.4.3. Propriétés anticancéreuses

Certains flavonoïdes présentent des effets antiprolifératifs, s'exerçant de manière préférentielle sur les cellules cancéreuses, ce qui conduirait à un éventuel rôle préventif vis-à-vis de certains cancers [82, 86-89]. Par exemple, les populations asiatiques, qui ont une consommation plus importante de flavonoïdes que les populations occidentales, ont moins de risque de développer des cancers du côlon, de la prostate ou encore du sein [90]. Aussi, plusieurs travaux se sont portés sur l'intérêt des flavonoïdes en tant qu'agents naturels de chimio-prévention ou de chimiothérapie [82, 91]. Plusieurs molécules flavonoïdiques, qu'elles soient naturelles ou synthétiques, ont été étudiées et ont démontré *in vitro* et *in vivo* une activité anticancéreuse [92, 93] avec notamment des propriétés anti-prolifératives sur différentes lignées cellulaires cancéreuses [87].

Par exemple, la quercétine a montré son efficacité en tant qu'inhibiteur de différentes kinases impliquées dans la propagation cancéreuse, telles que les récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor), les cyclines kinases dépendantes et l'Aurora-A kinase [94, 95]. La quercétine a également fait l'objet d'essais

BY-NC-ND

cliniques, notamment d'un essai de phase I qui a mis en évidence l'inhibition *in vivo* de tyrosine kinase [96].

Une flavone hémi-synthétique, le flavopiridol (Alvocidib® ou HMR-1275, figure 26), a été le premier inhibiteur de kinase cycline-dépendante en essais cliniques pour le traitement de patients atteints de lymphomes ou de tumeurs solides (cancers de la prostate, du rein et du côlon) [97, 98].

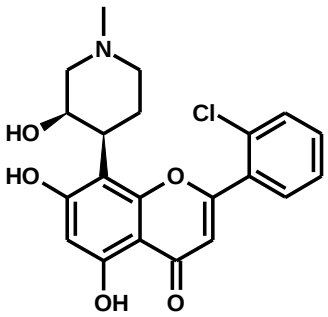


Figure 26. Structure du flavopiridol.

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets sur des phénomènes biologiques impliqués dans les cancers hormonodépendants (cancers du sein), notamment *via* une activité anti-aromatasique [99, 100] ou encore une activité anti-oestrogénique [86, 101].

Au sein de la famille des flavonoïdes, les chalcones sont sans doute les molécules qui présentent le plus grand intérêt vis à vis des phénomènes de cancérisation. C'est pourquoi ce travail de thèse portera essentiellement sur la conception, la synthèse et la pharmacomodulation de chalcones, dans un intérêt thérapeutique anticancéreux. Le chapitre suivant détaille donc les principales voies de synthèse des chalcones ainsi que leurs propriétés biologiques.

BY-NC-ND

3. Les chalcones

3.1. Synthèses

Nous avons vu précédemment que tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune. Cette voie de biosynthèse passe d'abord par l'obtention des chalcones pour ensuite conduire aux autres classes de flavonoïdes [102]. S'il n'y a qu'une seule voie de biosynthèse pour les chalcones, il y a en revanche une plus grande diversité quant à leur mode de synthèse ; en voici quelques exemples.

3.1.1. La condensation de Claisen-Schmidt

La condensation de Claisen-Schmidt est probablement la plus simple et la plus couramment utilisée des méthodes de synthèse des chalcones [103]. Il s'agit d'une réaction d'aldolisation-crotonisation, entre une acétophénone et un benzaldéhyde, qui peut être catalysée par une base ou un acide, dans un solvant polaire [104] (figure 27). Etant donné la variété des acétophénones et des benzaldéhydes disponibles dans le commerce, il est aisé d'obtenir un large panel de chalcones substituées. Les rendements de ce type de réaction varient selon les substitutions présentes sur les réactifs de départ (20-90%).

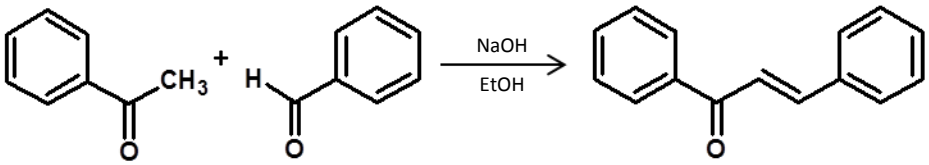


Figure 27. Condensation de Claisen-Schmidt catalysée par la soude dans l'éthanol.

Des variantes des conditions expérimentales classiques de la condensation de Claisen Schmidt ont été décrites : réactions par activation microondes, réactions sur phase solide ou également « solvent-free ». Encore une fois, les rendements de ces synthèses diffèrent selon les éventuels substituants présents sur les réactifs (40-99%). Ces variantes permettent d'obtenir des chalcones *via* des méthodes économiques en atomes et/ou nécessitant un temps de réaction plus court [105, 106]. Néanmoins, les réactions sur phase solide peuvent parfois présenter un inconvénient : le réactif en solution doit être introduit en excès par rapport à celui couplé à la phase solide. Bowman *et al.* rapporte une série de synthèses par activation microondes où les acétophénones sont greffées sur une phase solide. Les chalcones sont obtenues après 20 minutes de réaction (réactions nécessitant entre 2 et 48h

BY-NC-ND

dans les conditions classiques) avec des taux de conversion variant entre 60 et 98% [106]. Les travaux de Fringuelli *et al.* mettent en avant l'obtention d'une chalcone avec un rendement de 97% *via* une synthèse sans solvant catalysée par une phase solide basique, alors que cette réaction n'aboutit pas dans l'acétonitrile [107].

3.1.2. Le couplage de Heck

Dans le cadre du couplage de Heck, la réaction, catalysée au palladium, se déroule entre un halogénure d'aryle et un styrène en présence de monoxyde de carbone.

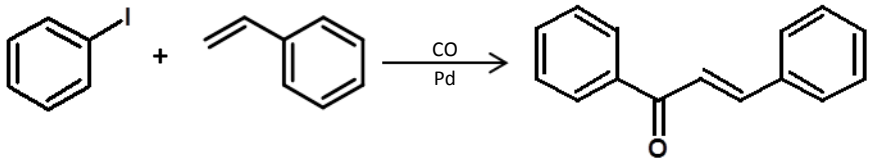


Figure 28. Synthèse de chalcone par le couplage de Heck.

Cette réaction est notamment décrite dans les travaux de Wu *et al.* où elle est employée pour la synthèse d'une trentaine de chalcones [108]. Le catalyseur au palladium employé est le $[(Cinnamyl)PdCl]_2$ couplé à un ligand de type imidazolylphosphine. Les rendements varient entre 41 et 90% selon les différents substituants présents sur les réactifs de départ.

3.1.3. Le couplage de Suzuki-Miyaura

La synthèse de chalcones par le couplage Suzuki-Miyaura est notamment raportée par Selepe *et al.* [109]. Le couplage est une réaction catalysée par le palladium, entre un dérivé d'acide boronique et un dérivé chloré, en présence de base dans le toluène anhydre. Cela peut impliquer un acide aryl-boronique et le chlorure de cinnamoyle ou inversement le chlorure de benzoyle et l'acide styryl-boronique (figure 29).

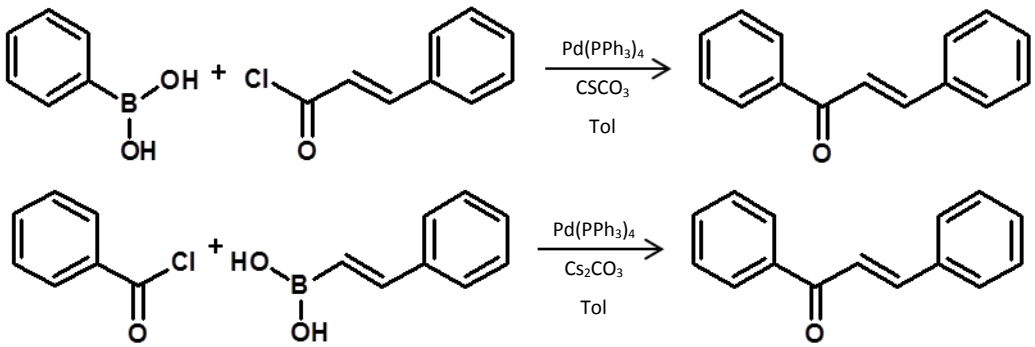


Figure 29. Exemple de deux voies de synthèse des chalcones par le couplage de Suzuki.

BY-NC-ND

Dans les travaux d'Eddarir *et al.,* la première voie de synthèse décrite à la figure 29 conduit à des rendements compris entre 41 et 51 %, selon les substituants présents sur les cycles aromatiques. La deuxième voie de synthèse permet d'augmenter nettement les rendements puisqu'ils sont compris entre 68 et 93% [110]. Cette seconde méthode est alors employée pour synthétiser des chalcones méthoxylées d'origine naturelle.

3.1.4. Le couplage de Sonogashira

Les travaux de Schramm *et al.* rapportent la synthèse de chalcones *via* le couplage de Sonogashira. La réaction s'effectue entre un halogénure d'aryle et un alcool propargylique (1-phénylprop-2-yn-1-ol). La réaction est catalysée par le palladium et est activée par irradiations microondes, en présence de triéthylamine et d'iodure de cuivre (I) [111] (figure 30).

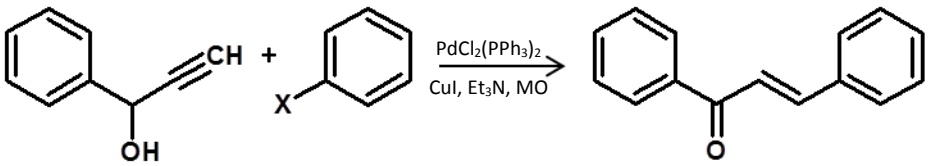


Figure 30. Exemple de la synthèse de chalcone par le couplage de Sonogashira.

Les temps d'activation varient entre 15 et 30 minutes et les rendements oscillent entre 62 et 96% selon les substituants présents sur le cycle B. Cette méthode de synthèse permet également de synthétiser des dérivés de chalcones tels que des pyridylchalcones ou des pyrimidylchalcones avec des rendements de 78 et 84% respectivement.

3.1.5. La réaction de Friedel et Crafts

Les chalcones peuvent aussi être synthétisées grâce à l'acylation d'un dérivé phénolique selon la réaction de Friedel et Crafts [112]. De manière générale, la réaction a lieu entre le phénol et le chlorure de cinnamoyle. L'acylation se fait en position *ortho* ou *para* dans le cas d'une réaction sur le phénol suite à l'effet mésomère donneur de l'hydroxyle et peut donc conduire à deux chalcones différentes (figure 31 A). Néanmoins, le site d'acylation dépend de la présence éventuelle d'autres substituants sur le dérivé phénolique. Un bon exemple d'utilisation de cette méthode est la synthèse de l'hélilandine B (figure 31 B), décrite par Ichino *et al.* ; celle-ci emploie le chlorure de cinnamoyle et le 3,4,5-triméthoxyphénol dans le nitrobenzène anhydre. Elle est catalysée par le chlorure

BY-NC-ND

d'aluminium et est menée à température ambiante pendant 3h. La chalcone est alors obtenue avec un rendement de 22% [113].

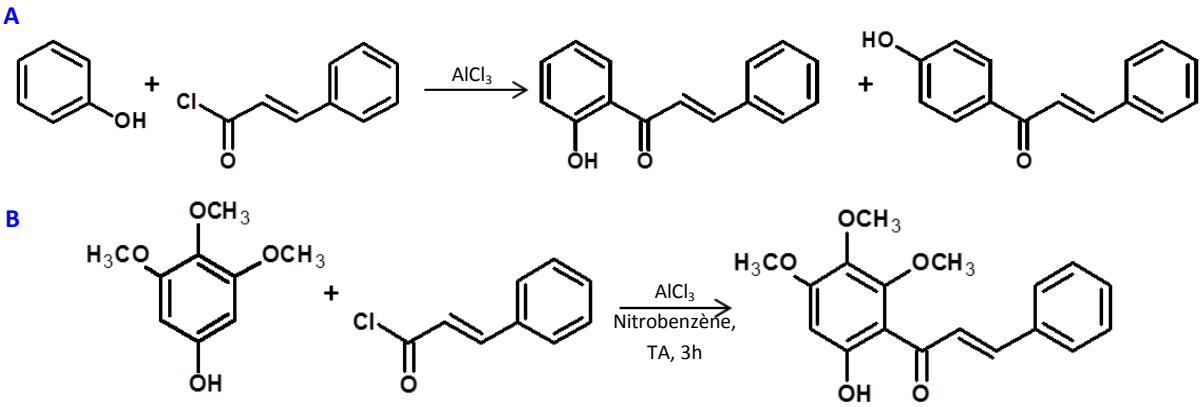
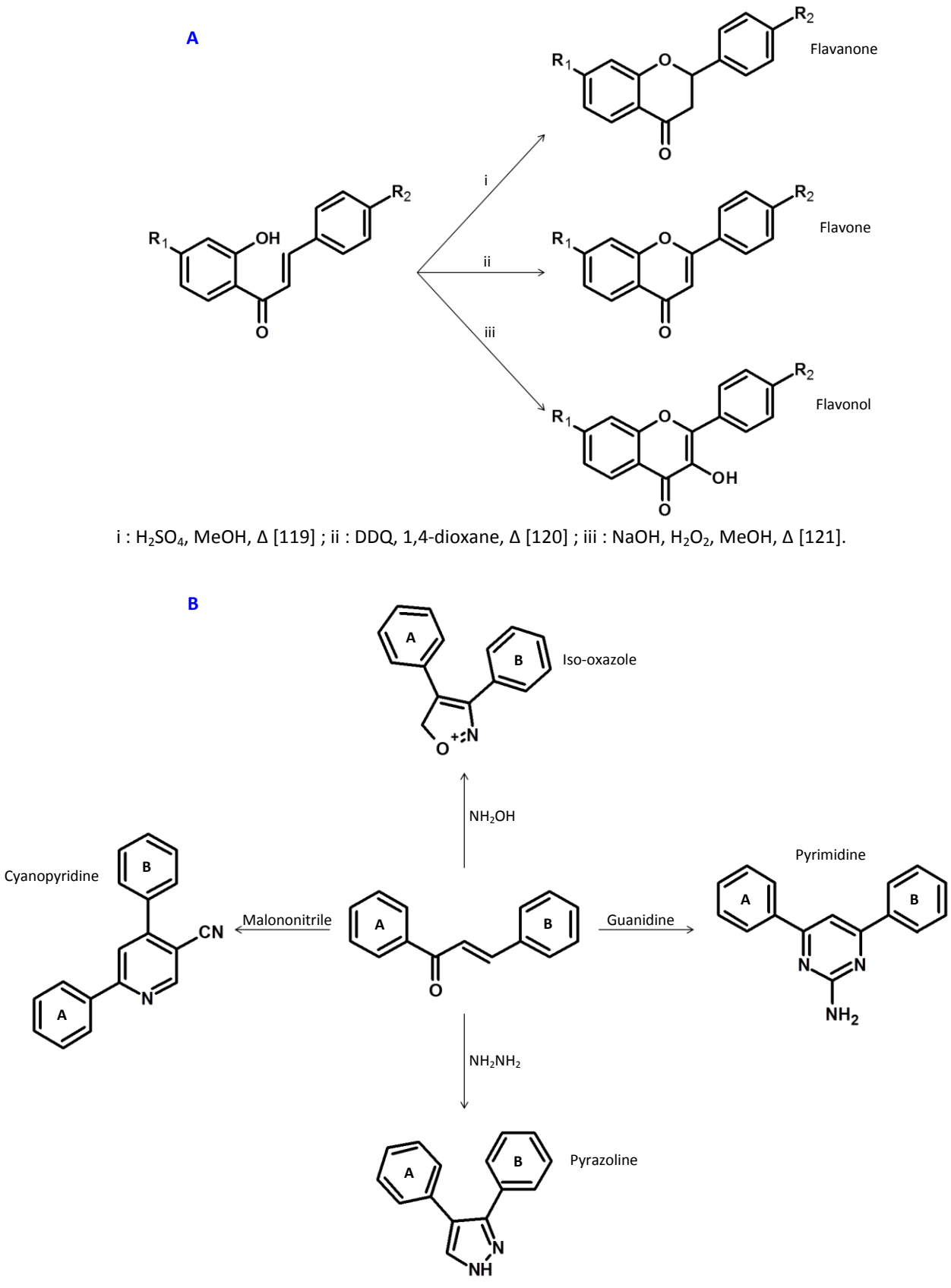


Figure 31. Exemple de la synthèse de chalcones par la réaction de Friedel et Crafts (A), synthèse de l'hélilandine B (B).

3.2. Les chalcones, intermédiaires réactionnels

La grande diversité des voies de synthèse des chalcones permet d'obtenir aisément un large éventail de ces molécules. Par ailleurs, celles-ci peuvent servir d'intermédiaires dans la synthèse de nombreux dérivés. Les 2'-hydroxychalcones peuvent notamment conduire aux autres flavonoïdes (figure 32 A) [114]. De plus, grâce à la réactivité du motif carbonylé α-β insaturé, les chalcones permettent de synthétiser des composés hétérocycliques tels que des cyanopyridines [115], des iso-oxazoles [116], des pyrazolines [117] ou des pyrimidines [118] (figure 32 B).

BY-NC-ND



i : H_2SO_4, MeOH, Δ [119] ; ii : DDQ, 1,4-dioxane, Δ [120] ; iii : NaOH, H_2O_2, MeOH, Δ [121].

Figure 32. Voies de synthèse des autres flavonoïdes (A) et de dérivés hétérocycliques (B) à partir des chalcones.

BY-NC-ND

3.3. Propriétés biologiques des chalcones

Outre la grande diversité des chalcones naturelles, il existe aussi une grande variété de structures synthétisées de par le mode de synthèse relativement aisé et le large panel de réactifs de départ. Les chalcones sont donc très largement décrites dans la littérature et montrent des potentiels pharmacologiques multiples. Nous pouvons ainsi citer des effets sur différents systèmes de l'organisme :

- effets sur le système nerveux central : activités hypnotique [122], anxiolytique [123] et anti-nociceptive [124].

- effets sur le système cardiovasculaire : activités anti-hypertensive [125], anti-arythmique [126] et antiplaquettaire [127].

- effets métaboliques : activités antidiabétique [128] et hypolipémique [129].

Les chalcones démontrent aussi de nombreuses propriétés anti-infectieuses : antirétrovirale [130], antivirale (anti HIV [131, 132], anti polio [133, 134]), antituberculeuse [135], anti-filariose [136, 137], antipaludéenne [138-140], antiparasitaire [141-144], antibactérienne [145-148] ou encore antifongique [149-151]. Des propriétés diverses peuvent être également citées : ostéogénique [152], antispasmodique [153], anti-goutte [154], antihistaminique [155], antiulcéreux [156], immunosuppressive [157]. De nombreux travaux, dont certains effectués au sein du LCSN (Chapitre 2. « Les flavonoïdes », 2.4.1 et 2.4.2.), ont démontré les activités antioxydantes [158] et anti-inflammatoires [159, 160] des chalcones.

Dans le cadre de cette thèse, nous allons plus particulièrement nous intéresser à l'étude de l'action des chalcones vis à vis des phénomènes de cancérisation.

3.3.1. Inhibition de la prolifération cellulaire

Il a été démontré que les chalcones peuvent être considérées comme des inhibiteurs de la prolifération cellulaire. Plus précisément, elles vont inhiber l'action d'entités particulières, impliquées dans le développement cellulaire cancéreux. De nombreuses cibles biologiques sont concernées, nous allons en détailler quelques-unes.

BY-NC-ND

3.3.1.1. Inhibition de la cathepsine-K

La cathepsine est une protéase lysosomale, c'est-à-dire qu'elle agit principalement pour la dégradation des peptides dans le lysosome. Elle fait partie d'une famille d'au moins onze membres appelés cathepsines A, C, D, F, H, J, K, L, L2, S et Z. La cathepsine K est principalement connue pour être sécrétée par les ostéoclastes et pour son rôle dans le remodelage et/ou dégradation osseuse [161]. Une étude immunohistochimique a montré qu'elle intervient également dans certains cancers du sein où elle contribue à la propagation métastatique [162]. Des travaux théoriques [163] et expérimentaux [164] ont montré le potentiel des chalcones et de leurs dérivés en tant qu'inhibiteurs de la cathepsine-K. Les relations structure-activité (RSA) qui en découlent suggèrent que les chalcones monosubstituées en position 4 sur le noyau B par un substituant électro-donneur (OMe, Cl ou F, figure 33) sont les plus actives pour l'inhibition de la cathepsine-K [164].

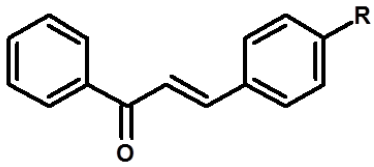


Figure 33. Chalcones inhibitrices de la cathepsine-K, R = OMe, Cl ou F.

3.3.1.2. Action au niveau de la tubuline

Les agents du fuseau ainsi que leur mécanisme d'action sur la tubuline ont été décrits précédemment. Il convient néanmoins de préciser que la tubuline possède trois sites de liaison connus qui sont les cibles des agents thérapeutiques. Il s'agit des sites du paclitaxel, de la vinblastine et de la colchicine. Ces deux dernières molécules se lient à la tubuline et inhibent sa polymérisation alors que le paclitaxel inhibe la dépolymérisation des microtubules. Outre la colchicine (figure 34 A), d'autres molécules naturelles peuvent interagir avec le site de liaison à la colchicine, par exemple la podophyllotoxine (figure 34 B) et la combretastatine A4 (figure 34 C).

BY-NC-ND

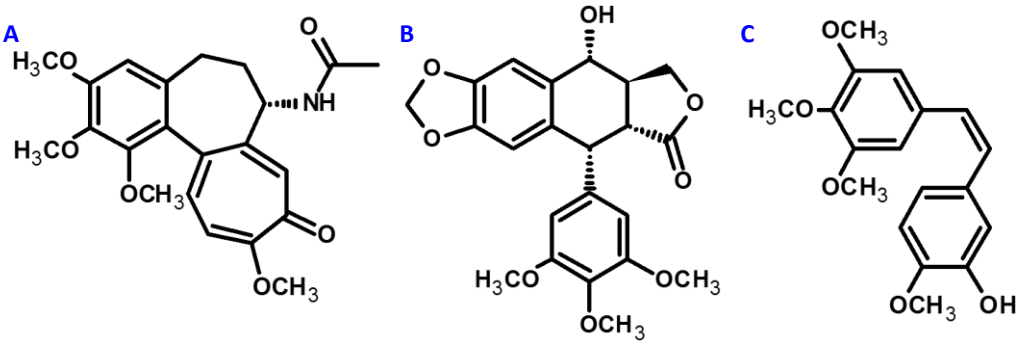


Figure 34. Structures des agents pouvant se lier au site de la colchicine sur la tubuline : la colchicine (A), la podophyllotoxine (B) et la combretastatine A-4 (C).

Plusieurs auteurs ont montré que des chalcones peuvent se lier aux sites de la tubuline et ainsi bloquer sa polymérisation en microtubules, entrainant l'arrêt de la mitose et donc du cycle cellulaire pour finalement provoquer la mort cellulaire, et ce sur différentes lignées cancéreuses [165-167]. La présence du groupement 3,4,5-triméthoxyphényl (noyau A) semble fortement bénéfique pour l'interaction de ces chalcones avec la tubuline, *via* le site de liaison à la colchicine, ainsi que pour les effets antiprolifératifs et antimitotiques [168-179]. Les molécules synthétisées par Ducki *et al*. possédant cet enchaînement 3,4,5-triméthoxy sur le noyau A, ont été développées par analogie structurale avec la combretastatine A4. Ces travaux mettent notamment en évidence deux chalcones : la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone et la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxy-α-méthylchalcone (figure 35).

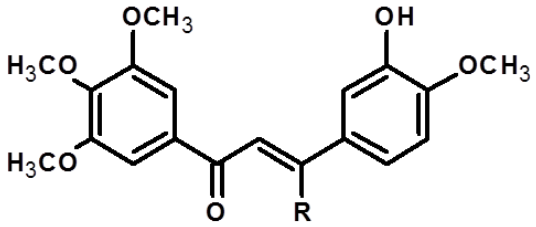


Figure 35. Structure des chalcones décrites par Ducki et al.
R = H : 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone
R = CH_3 : 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxy-α-méthylchalcone

Ces deux chalcones ont montré une activité antiproliférative très intéressante sur la lignée leucémique K562 avec des CI_{50} de l'ordre du nanomolaire [169, 170]. Elles ont également montré leur capacité d'inhibition de la β-tubuline par liaison au site de la colchicine avec une grande affinité, provoquant ainsi un arrêt du cycle cellulaire avec une accumulation des cellules en phase G2/M [171]. Ces chalcones provoquent également une inhibition de la prolifération cellulaire sur les lignées P388 (murin, leucémie), L1210 (humain,

BY-NC-ND

lymphome), A549 (humain, poumon), et A2780 (humain, ovaire) [172]. Les travaux de Kamal *et al.* se sont focalisés sur la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone, à la fois pour son activité antiproliférative vis-à-vis de plusieurs lignées cellulaires cancéreuses (A549, MCF-7, HT-29, etc.) et en tant qu'intermédiaire de synthèse pour une étude de pharmacomodulation du noyau B. Celle-ci a conduit à l'obtention de conjugués chalcone-amidobenzothiazole (figure 36 A) présentant une activité antiproliférative *via* un effet inhibiteur sur la polymérisation de la tubuline [173]. Salum *et al*. a synthétisé et évalué plusieurs 3,4,5-triméthoxychalcones et a montré que les composés obtenus inhibent la croissance de cellules leucémiques humaines à des concentrations de l'ordre du nanomolaire. Ils provoquent une perturbation des microtubules et semblent même spécifiques aux cellules cancéreuses [174].

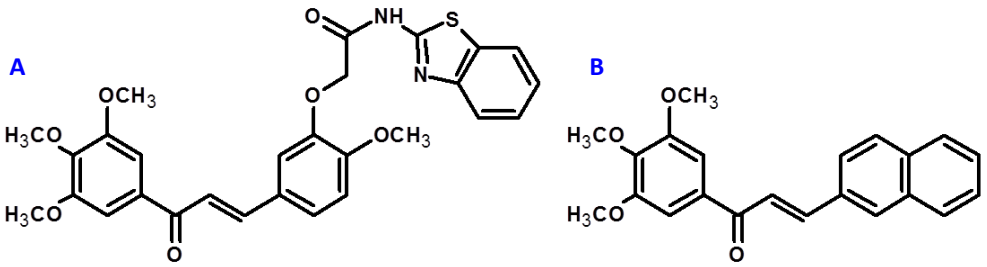


Figure 36. Structures de chalcones décrites par Kamal (A) [173] et par Salum (B) [174].

L'article de Kerr *et al.* présente la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone, α-substituée par un 4-méthoxy-phényl (figure 37 A), comme la chalcone la plus efficace de son étude en termes d'inhibition de la polymérisation de la tubuline [175]. Les travaux de Kong *et al.* montrent également une 3',4',5'-triméthoxychalcone, analogue de la combrétastatine A4, présentant sur le noyau B une fonction acide boronique et un groupement méthoxy (figure 37 B) [176]. Bien que diminuant l'activité sur la tubuline, la fonction acide boronique permet d'obtenir une cytotoxicité de l'ordre du nanomolaire sur plusieurs lignées cancéreuses. En 2008, Boumendjel *et al.* décrit la synthèse et les activités antimitotique et antiproliférative de 59 chalcones, dont plusieurs possèdent des groupements triméthoxy [177]. Une étude plus approfondie de 2009 montre l'activité inhibitrice, vis-à-vis de la polymérisation de la tubuline, de la chalcone JAI-51 (figure 37 C) [178]. Sur le plan structural, elle possède un groupement triméthoxy sur le noyau A, mais cette fois-ci en position 2',4',6', et un groupement 1-méthylindole sur le noyau B. Elle a montré son potentiel lors d'une étude sur les tumeurs cérébrales chez le rat [179].

BY-NC-ND

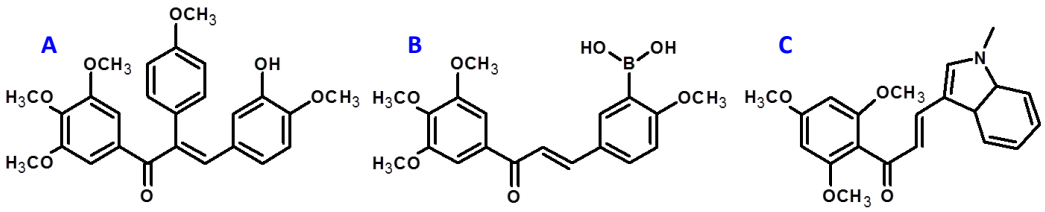


Figure 37. Structure des chalcones décrites par Kerr (A), Kong (B) et Boumendjel (C).

Enfin, récemment, une revue répertorie une centaine de chalcones et dérivés dont la cytotoxicité s'exerce *via* une inhibition de la polymérisation de la tubuline [180].

3.3.1.3. Inhibition de la topoisomérase

Une des cibles potentielles des chalcones au sein des cellules cancéreuses est la topoisomérase, dont il existe deux types (I et II) décrits dans le chapitre « 1. Le cancer ». Plusieurs travaux démontrent l'activité inhibitrice de chalcones aussi bien vis-à-vis de la topoisomérase I que de la topoisomérase II. Cette activité est schématisée sur la figure 38.

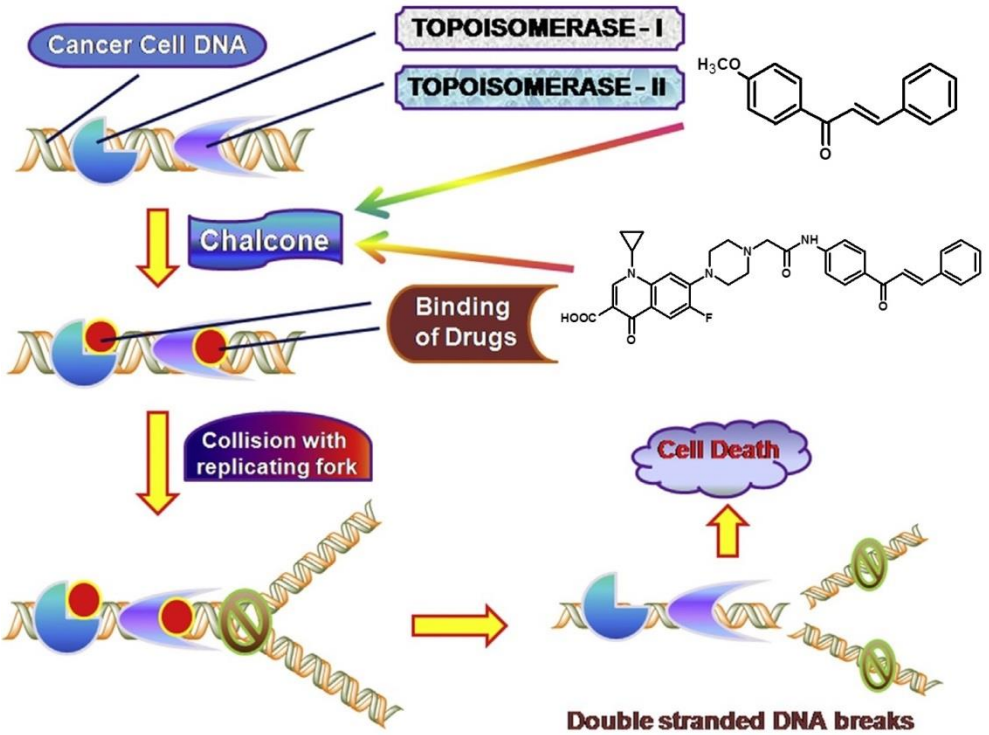


Figure 38. Blocage du cycle cellulaire via une inhibition des topoisomérases par des chalcones. Source : [181].

BY-NC-ND

La figure 38 présente deux chalcones qui bloquent les sites de liaison des topoisomérases avec l'ADN au sein d'une cellule cancéreuse, empêchant ainsi la réplication et conduisant finalement à la mort cellulaire. Les composés décrits dans l'étude de Silva *et al.* entraînent une inhibition de la topoisomérase II ; la 4'-méthoxychalcone (figure 39 A) est le composé possédant l'effet le plus important [182]. Dans l'article d'Abdel-Aziz *et al.*, les auteurs montrent l'inhibition des topoisomérases I et II par deux chalcones, dont une conjuguée à une fluoroquinolone (N-4-piperazinyl-ciprofloxacin-chalcone, figure 39 B). Elles expriment des activités inhibitrices supérieures à celle de l'étoposide à des concentrations de 100 et 20 µM [183].

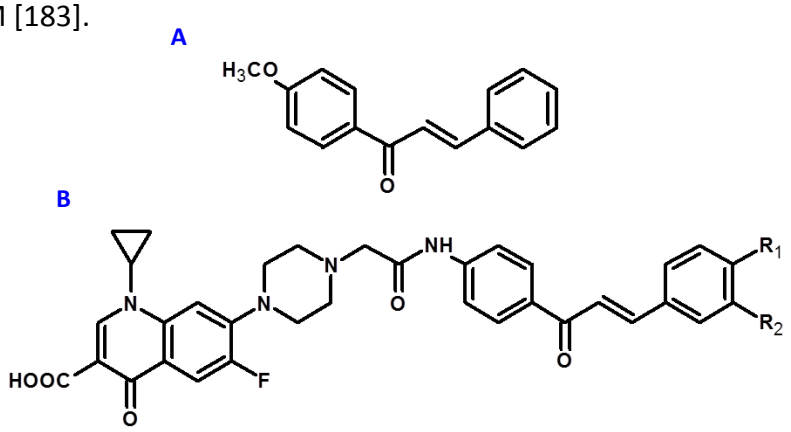


Figure 39. Structures de la 4'-méthoxychalcone (A) et des N-4-piperazinyl-ciprofloxacinchalcones (R_1 = H, R_2 = OCH_3 ; R_1=R_2=O-CH_2-O) (B).

3.3.1.4. Inhibition de protéines kinases

Les protéines kinases font l'objet de nombreuses études depuis plusieurs années car ces enzymes, qui phosphorylent d'autres protéines, ont un rôle fondamental dans le contrôle de la prolifération et de la différenciation cellulaire [184]. Les protéines kinases peuvent être divisées en deux catégories : les sérine/thréonine-kinases et les tyrosine-kinases. Au sein des tyrosine-kinases, deux groupes peuvent être définis :

- les récepteurs transmembranaires à activité tyrosine-kinase, comme par exemple les récepteurs des facteurs de croissance.
- les enzymes cytosoliques.

Ainsi, les récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGFR) appartiennent à la famille des protéines ErbB. Ces récepteurs à activité tyrosine-kinase sont au nombre de quatre et sont nommés ErbB1, ErbB2, ErbB3, et ErbB4. Ces récepteurs transmembranaires résident et agissent principalement au sein de la membrane plasmique de la cellule. Comme

BY-NC-ND

ils sont situés à la jonction entre l'environnement et la machinerie cellulaire, les récepteurs ErbB doivent être correctement régulés et précisément coordonnés. En vertu de leur capacité à promouvoir de nombreux résultats biologiques, l'aberration de la fonction ErbB, donnant lieu à une expression excessive ou déficiente, est impliquée dans certaines maladies humaines [185]. En effet, une expression ErbB déficiente est corrélée aux maladies neurodégénératives (scléroses, Alzheimer) [186] alors qu'une surexpression est associée au développement d'un grand nombre de tumeurs solides [187]. La surexpression de membres de la famille des récepteurs d'ErbB est un événement fréquemment observé dans plusieurs cancers humains. Par exemple, la surexpression d'ErbB2 est impliquée dans la résistance aux thérapies endocriniennes du cancer du sein [188]. Les récepteurs ErbB peuvent donc constituer des cibles potentielles de stratégies anticancéreuses [189] et en particulier des chalcones. Ainsi, l'isoliquiritigénine (figure 40 A), en plus d'avoir une action antiproliférative induisant l'apoptose sur les cellules DU-145 (humain, prostate) et MAT-Lyly (rat, prostate), diminue l'expression d'ARNm et de la protéine ErbB3 [190]. La chalcone ON-III (figure 40 B), extraite des fleurs séchées de *Cleistocalyx operculatus* (employées dans la médecine traditionnelle chinoise) par Li *et al.*, a montré sa capacité d'inhibition de la tyrosine kinase ErbB2 [191].

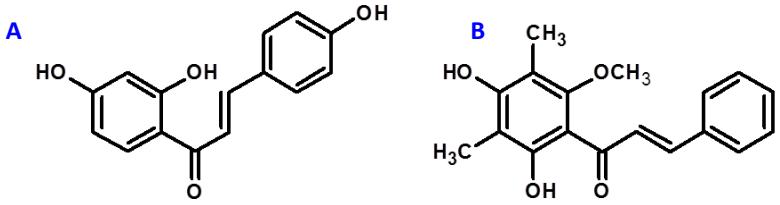


Figure 40. Structures de l'isoliquiritigénine (A) et de l'ON-III (B).

D'autres types de kinases ont plus récemment été étudiées comme les Aurora-kinases, qui elles, sont des sérine/thréonine-kinases impliquées dans le contrôle de la prolifération cellulaire. Elles jouent un rôle crucial dans la division cellulaire en régulant la ségrégation des chromatides, et un défaut de cette étape entraîne un échec de la séparation du centrosome, provoquant une instabilité génétique, phénomène fortement associé à la tumorigenèse [192]. Il existe trois membres d'Aurora kinases dans le génome humain : Aurora-A, Aurora-B et Aurora-C ; les formes A et B sont fréquemment surexprimées dans les cancers du poumon, du sein, de la vessie ou encore du pancréas [193]. Ainsi, utiliser ces kinases comme cibles thérapeutiques semble être une stratégie anticancéreuse pertinente

BY-NC-ND

[194]. Shin et al. a montré l'efficacité de dérivés de chalcones tels que des chroménylchalcones [195] (figure 41 A) et des pyrazolines issues de benzochalcones [196] (figure 41 B) sur l'inhibition *in vitro* des kinases Aurora-A et Aurora-B.

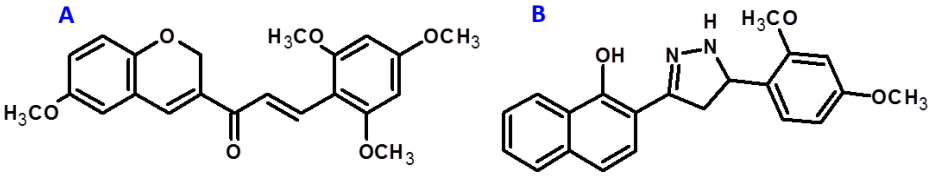


Figure 41. Structures d'une chroménylchalcone (A) et d'une pyrazoline (B).

3.3.1.5. Inhibition du facteur NF-κB

Le facteur NF-κB est une protéine qui est utilisée par les cellules eucaryotes afin de réguler la prolifération et la survie cellulaire [197]. Etant associée aux facteurs anti-apoptotiques, elle est donc considérée comme un rétrocontrôle négatif de l'apoptose. En temps normal, elle est régulée dans le cytoplasme de la cellule par un complexe protéique composé des protéines IKKα, IKKβ et de la protéine NEMO (IKKg) ; lorsqu'il est « sous contrôle » de ce complexe, le facteur NF-κB est dit inactif. La dégradation des protéines régulatrices entraine un dérèglement de NF-κB. Ainsi, de nombreuses tumeurs cancéreuses humaines présentent une sur-activation de NF-κB, où elle est considérée comme active. Elle régule aussi la réponse inflammatoire et la réaction immunitaire. C'est pourquoi une surexpression de NF-κB se rencontre également dans des cas tels que l'inflammation, les maladies auto-immunes ou encore les chocs septiques [198]. L'inhibition de NF-κB peut permettre de stopper la prolifération des cellules cancéreuses, d'induire leur mort et/ou de les rendre plus sensibles aux agents anti-tumoraux. C'est pourquoi, cibler NF-κB dans une approche thérapeutique peut être considéré comme une stratégie anticancéreuse [199]. Quelques exemples basés sur cette stratégie sont décrits ci-après. Après avoir synthétisé une série de chalcones, Orlikova *et al.* a montré que trois de ces composés (la 4-hydroxy-chalcone (figure 42 A) ; la 2',6'-dihydroxy-4,4'-diméthoxychalcone (figure 42 B) et la 2',4-dihydroxy-4',6'-diméthoxychalcone (figure 42 C) induisent une inhibition de NF-κB dans une gamme de CI_{50} comprises entre 8 et 41 µM [200].

BY-NC-ND

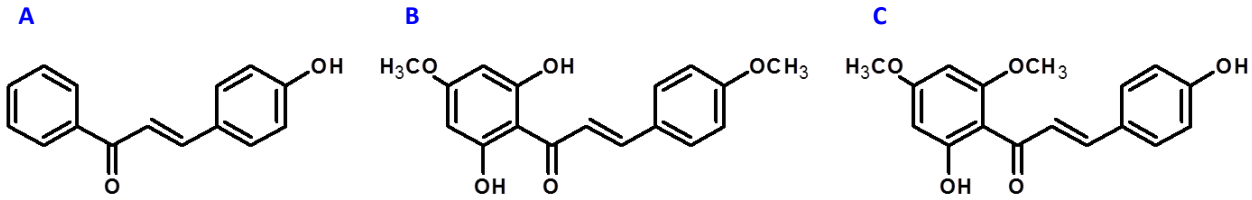


Figure 42. Chalcones décrites par Orlikova et al. : 4-hydroxychalcone (A) ; 2',6'-dihydroxy-4,4'-diméthoxychalcone (B) ; 2',4-dihydroxy-4',6'-diméthoxychalcone (C).

Harikumar *et al.* rapporte les propriétés intéressantes du xanthohumol (figure 43 C) en tant qu'inhibiteur de l'action de NF-κB *via* l'inhibition de la phosphorylation et de la dégradation de l'IκBα kinase (IKKα) [201]. D'autres chalcones telles que la flavokawaïne A (figure 43 A), la flavokawaïne B (figure 43 B), la licochalcone A (figure 43 D) ou encore l'isoliquiritigénine, sont de candidats potentiels au ciblage thérapeutique de NF-κB [202].

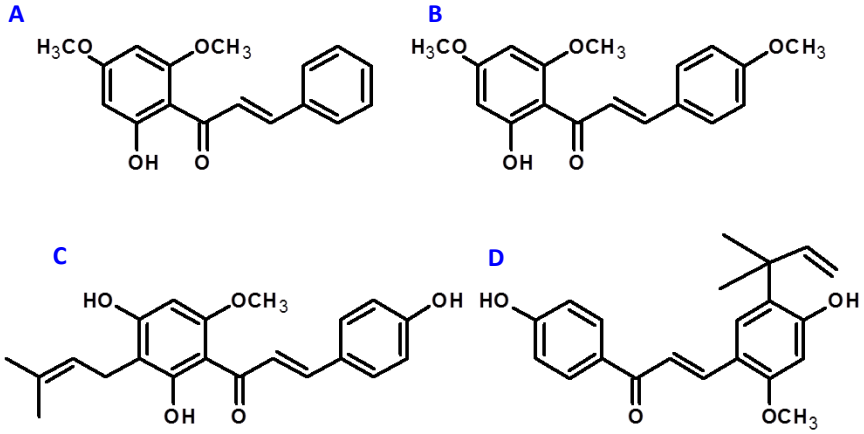


Figure 43. Structures de la flavokawaïne A (A), de la flavokawaïne B (B), du xanthohumol (C) et de la licochalcone A (D).

3.3.1.6. Autres cibles

En plus des enzymes et protéines décrites précédemment, les chalcones peuvent viser d'autres cibles thérapeutiques. Parmi celles-ci, nous pouvons citer la phosphatase CDC25B, l'enzyme mTOR, ou encore les glycoprotéines Wnt car elles sont toutes impliquées dans la prolifération cellulaire ou l'embryogénèse. Ainsi, la licochalcone B (figure 44 A) est considérée comme un inhibiteur de la phosphatase CDC25B conduisant à un effet antiprolifératif sur les lignées cancéreuses T24 et EJ (humain, vessie, étude *in vitro*) et également un effet anti-tumoral sur la lignée MB49 (murin, vessie, étude *in vivo*) [203]. Sun *et al.* a montré que la chalcone WJ9708011 (figure 44 B) inhibe la voie de signalisation de mTOR [204] provoquant ainsi un arrêt du cycle cellulaire en phase G1 puis l'apoptose sur les lignées LNCaP, PC-3 et DU-145 (humain, prostate). Une étude concernant la cardamonine

BY-NC-ND

(figure 44 C), chalcone extraite de *Alpinia katsumadai*, démontre son effet antiprolifératif sur les cellules cancéreuses SW480 (humain, côlon), *via* l'inhibition de la voie de signalisation Wnt/β-caténine par la dégradation de la β-caténine [205].

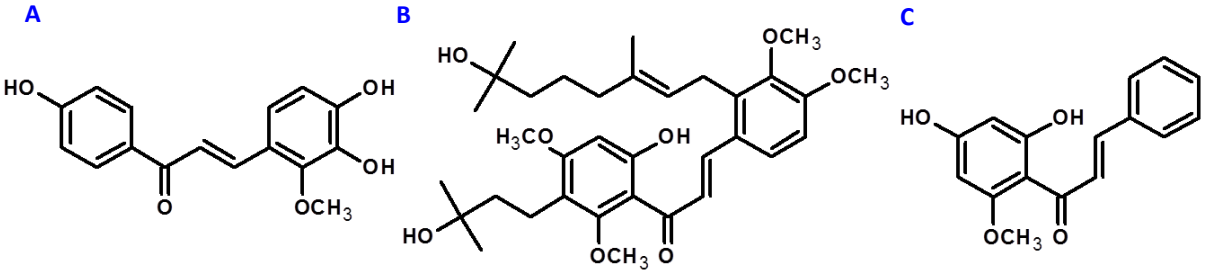


Figure 44. Structures de la licochalcone B (A), de la WJ9708011 (B) et de la cardamonine (C).

3.3.2. Inhibition de l'angiogenèse

L'angiogenèse est un phénomène physiologique pendant lequel de nouveaux vaisseaux sanguins se forment à partir de vaisseaux existants ; elle est illustrée en figure 45 [206]. Tobelem décrit alors les principales étapes de l'angiogenèse : tout d'abord, les capillaires sanguins sont soumis à une stimulation angiogénique (1). Ensuite, débute la migration des cellules endothéliales à travers la membrane basale (2). La migration se poursuit et elle est accompagnée de l'élongation et de la différenciation des cellules endothéliales (3). Enfin, la formation des tubes capillaires dans l'espace et leur prolifération sont observées (4).

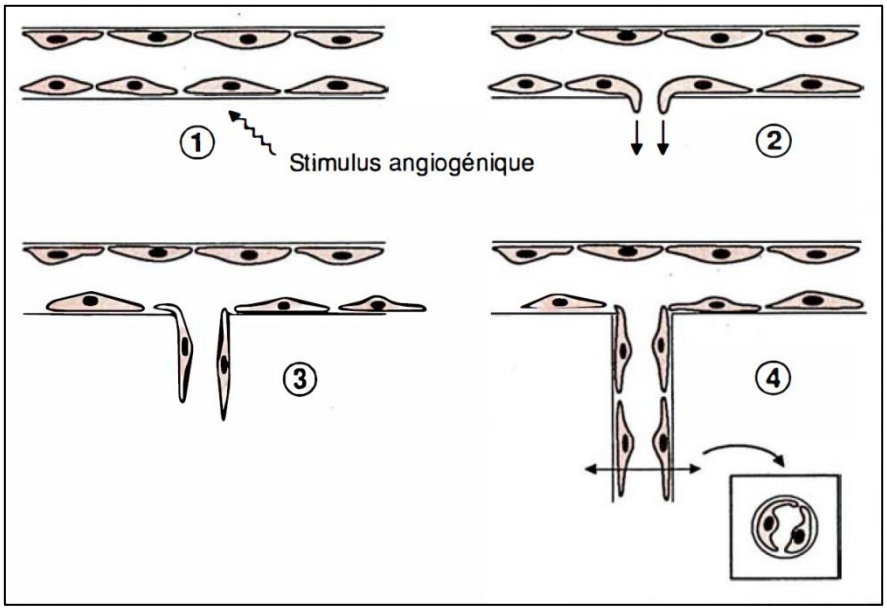


Figure 45. Schématisation de l'angiogenèse selon Tobelem [206].

BY-NC-ND

L'angiogenèse est régulée par un équilibre complexe entre des facteurs pro-et-anti-angiogéniques ; ainsi, le facteur de croissance vasculaire endothélial (VEGF), est un élément essentiel dans la vasculogenèse et l'angiogenèse lors de la vie embryonnaire. Certains cancers sont dits angiogéniques, comme certaines tumeurs cérébrales et les carcinomes, car ils sont caractérisés par une forte densité de micro-vaisseaux et des taux élevés de VEGF au sein de la tumeur. En fait, l'angiogenèse tumorale est marquée par le phénomène de « switch angiogénique », c'est-à-dire une rupture de l'équilibre entre l'activation et l'inhibition de la croissance des vaisseaux. Lors de l'angiogenèse, les facteurs de croissance tels que VEGF se lient à des récepteurs membranaires à activité tyrosine-kinase stimulant ainsi les cellules endothéliales. L'inhibition de l'angiogenèse apparaît donc comme un moyen pertinent pour stopper la progression tumorale. Ainsi, plusieurs agents anti-angiogéniques ont déjà été développés, parmi lesquels des inhibiteurs de tyrosine-kinase anti-VEGF [207, 208]. Concernant les chalcones, Lee *et al.* rapporte l'activité anti-angiogénique, *in vitro* et *in vivo*, de la 2'-hydroxy-4'-méthoxychalcone (figure 46 A) *via* une inhibition de l'induction de COX-2 [209]. Zhu met en évidence que la chalcone ON-III (figure 46 B), en plus de son activité inhibitrice de la tyrosine kinase ErbB2 (*cf* « 3.3.1.4. Inhibition de protéines kinases » p67), réduit l'angiogenèse en inhibant la tyrosine kinase KDR, connue également sous le nom de « vascular endothelial growth factor receptor 2 » (VEGFR-2), un récepteur de VEGF [210]. Enfin, l'étude de Varinska *et al.* sur la 4-hydroxychalcone (figure 46 C) a montré qu'elle possède une activité anti-angiogénique, *in vitro* et *in vivo*, en supprimant des étapes clés de l'angiogenèse telles que la prolifération cellulaire des cellules endothéliales, à des concentrations non cytotoxiques pour les cellules endothéliales quiescentes [211].

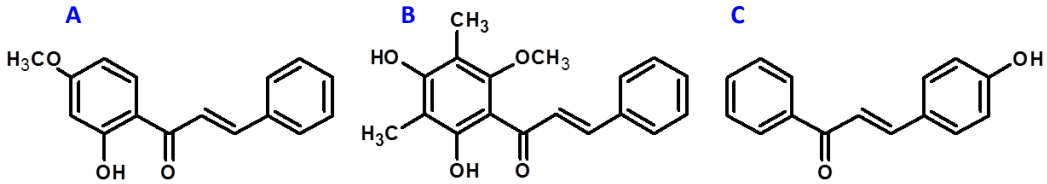


Figure 46. Structures de la 2'-hydroxy-4'-méthoxychalcone (A), de l'ON-III (B) et de la 4-hydroxychalcone (C).

Il est également intéressant de souligner les travaux de synthèse de conjugués chalcone-phthalocyanine (figure 47) dans le but d'obtenir une dualité d'action, à savoir un effet anti-angiogénique amené par la partie chalcone, et des propriétés photodynamiques apportées par le motif phthalocyanine [212].

BY-NC-ND

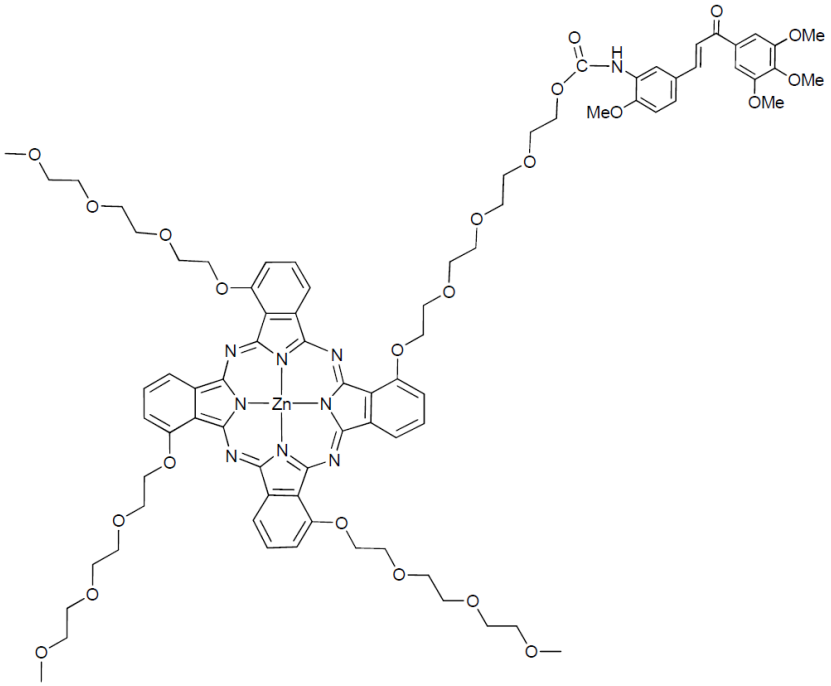


Figure 47. Structure du conjugué chalcone-phthalocyanine décrit par Tuncel [212]

3.3.3. Inhibition de la dégradation de p53

p53 est une protéine essentielle au contrôle et à la régulation du cycle cellulaire, de la réparation de l'ADN et de l'apoptose ; elle fait partie des gènes suppresseurs de tumeurs. Dans une cellule saine, lorsque l'ADN est endommagé, p53 met en jeu deux possibilités pour pallier cette problématique. Elle peut coder pour la protéine p21 qui, une fois activée, arrête la progression du cycle cellulaire en phase G1 favorisant ainsi la réparation de l'ADN [213]. Une fois l'ADN réparé, p53 est régulée négativement, sa quantité diminue et le cycle peut reprendre son cours normal. Si les dommages de l'ADN sont trop importants, p53 enclenche une autre voie de régulation où elle induit l'apoptose intrinsèque de la cellule. Lorsqu'une cellule saine ne subit aucun stress, p53 est régulée négativement par l'enzyme MDM2 qui se fixe à elle *via* l'action de l'ubiquitine ; p53 est alors clivée sous forme de fragments peptidiques. Dans près de 50% des cancers [214], l'activité de p53 est annihilée, ce qui entraîne une prolifération anarchique des cellules. La perturbation du complexe p53-MDM2 est ainsi une étape clé pour l'activation de p53 et la remise en marche de la réponse biologique. Stoll *et al.* a montré que les chalcones synthétisées dans son étude se lient à un site de liaison de p53 et de MDM2 (site du tryptophane) ce qui entraine une antagonisation dans l'interaction de p53 avec MDM2 [215] ; le composé donnant les meilleurs résultats est

BY-NC-ND

une 3',4'-dichlorochalcone (figure 48 A). Kumar *et al.* a élaboré des chalcones boroniques dans le but de cibler spécifiquement MDM2. Ses travaux montrent le potentiel anti-tumoral de ces chalcones et suggèrent là encore une inhibition de la formation du complexe p53-MDM2 comme mécanisme d'action. La chalcone présentant les meilleurs résultats est aussi une 3',4'-dichlorochalcone, possédant la fonction acide boronique en position 4 (figure 48 B) [216].

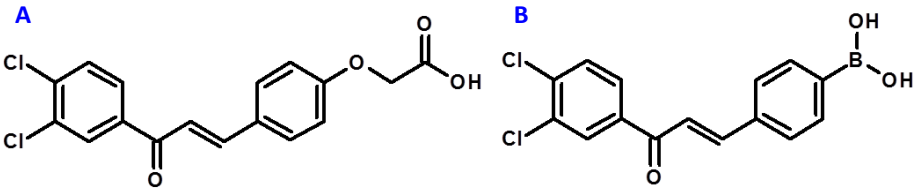


Figure 48. Structures des 3',4'-dichlorochalcones.

3.3.4. Interactions avec les hormones sexuelles

Certains cancers sont dits hormonodépendants car le développement des cellules tumorales est hautement influencé par les hormones stéroïdiennes, telles que la testostérone ou les œstrogènes. Ces hormones ont la même origine biosynthétique, à savoir l'androstènedione. Celle-ci conduit à la testostérone et à l'estrone, grâce à l'action de la 17β-hydroxysteroïde-déhydrogénase (17β-HSD) et à l'aromatase respectivement (figure 49). Cette dernière, agissant sur la testostérone, donne l'estradiol. Enfin, l'estradiol et l'estrone se convertissent en estriol (figure 49) dans le placenta et/ou le foie, ces trois hormones constituant les œstrogènes naturels féminins. La testostérone est un facteur primordial dans la croissance et la prolifération tumorale du cancer de la prostate. Elle est rapidement convertie, par la 5α-réductase (5α-R), en sa forme dite active, la dihydrotestostérone (figure 49). Dans le cas du cancer de la prostate, la présence de cette hormone permet une croissance accrue de la masse tumorale. Le ciblage de la 5α-réductase est une stratégie thérapeutique dite « androgen-free » [217]. Les estrogènes sont, quant à eux, fortement impliqués dans le développement des cancers hormonodépendants du sein ou de l'utérus. Le ciblage de l'aromatase est ainsi un moyen de lutte thérapeutique contre le cancer du sein par exemple [99, 119, 218, 219].

BY-NC-ND

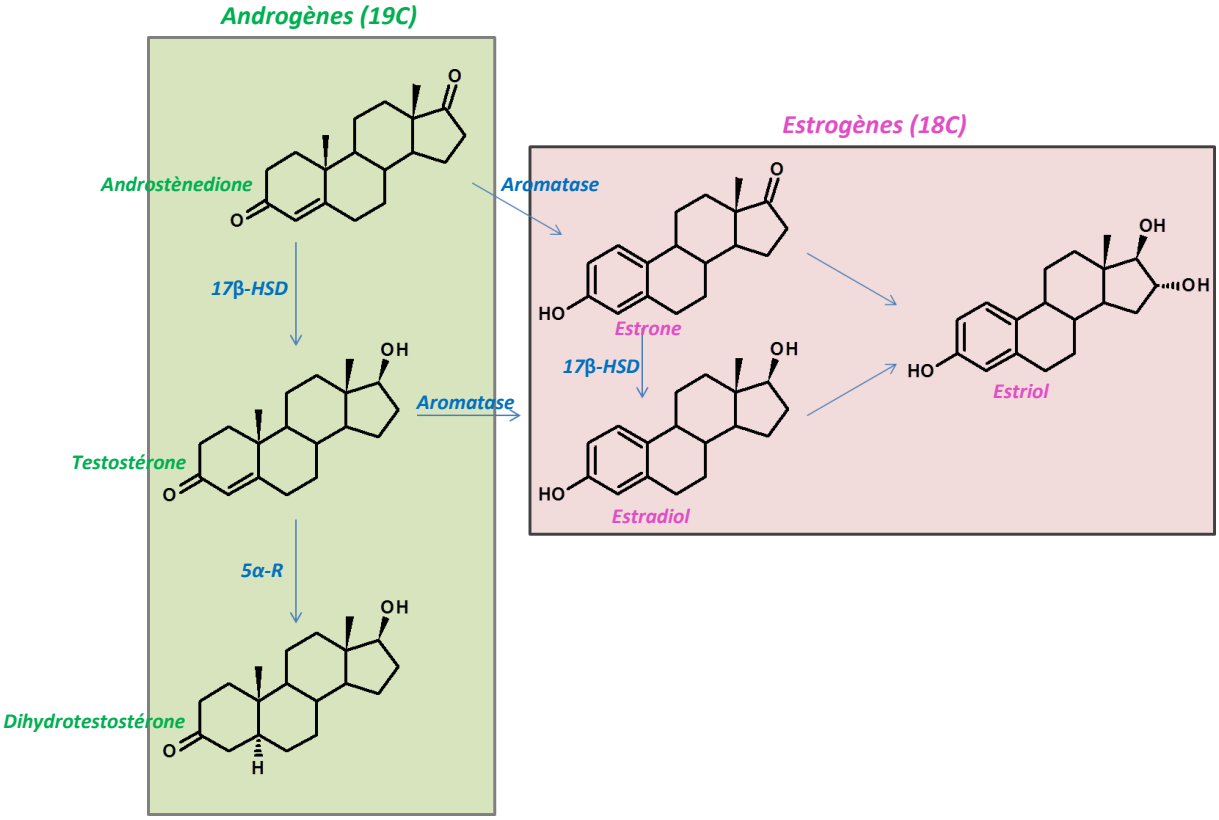


Figure 49. Biosynthèse des hormones sexuelles humaines.

Shimizu *et al.* rapporte l'extraction de deux géranyl-chalcones (figure 50 A et B) ainsi que leur évaluation biologique. Elles inhibent toutes deux la 5α-réductase et peuvent jouer un rôle dans le traitement de pathologies androgéno-dépendantes, telles que le cancer de la prostate [220, 221]. Un effet inhibiteur de la 5α-réductase est également décrit par Hussein *et al.* pour une chalcone β-hydroxylée (figure 50 C) [222].

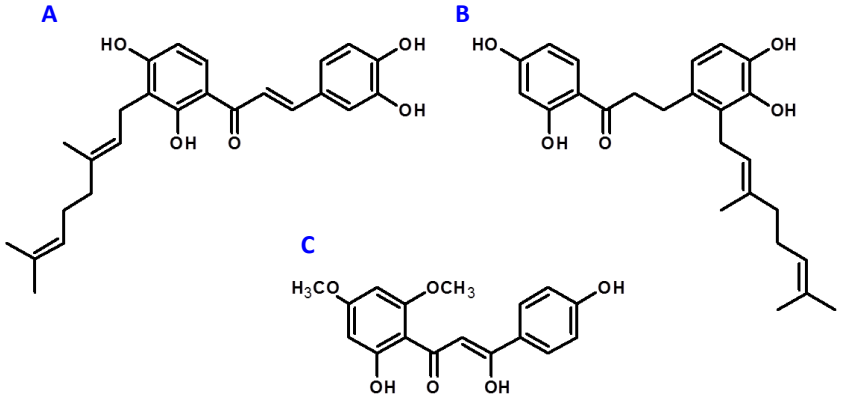


Figure 50. Structures des chalcones inhibitrices de la 5α-réductase.

BY-NC-ND

Les travaux de Le Bail *et al.* ont montré l'efficacité de la naringénine-chalcone (figure 51 A) et de l'ériodictyol-chalcone (figure 51 B) sur l'inhibition de l'aromatase ainsi que l'activité anti-17β-HSD de la 4-hydroxy-chalcone [223].

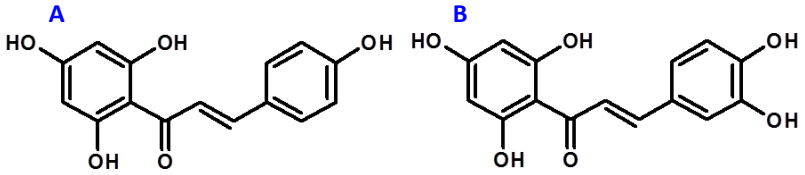


Figure 51. Structures de la naringénine (A) et de l'ériodictyol-chalcone (B).

Les chalcones présentent un intérêt évident dans la lutte anticancéreuse. En revanche, une des limitations de leur emploi est leur manque de sélectivité vis-à-vis des cellules malignes, mais également leur faible solubilité en milieu biologique. L'utilisation d'entités capables d'augmenter l'hydro-solubilité des principes actifs et de les diriger spécifiquement vers les cellules cancéreuses semble être une solution afin de répondre favorablement à ces deux problématiques. Cela correspond à la vectorisation de molécules actives, qui est un des axes de recherche du LCSN et qui fera l'objet du prochain chapitre.

BY-NC-ND

4. Vectorisation de principes actifs

4.1. Généralités

Un des éléments essentiels dans la recherche de nouveaux agents anticancéreux est l'élaboration de composés dont la sélectivité envers les cellules cancéreuses est accrue, afin de pouvoir cibler spécifiquement ces dernières et tenter de diminuer les effets secondaires du traitement. La vectorisation de ces composés permet également de diminuer la quantité de principe actif administrée, puisqu'il y a très peu « d'égarement » de la molécule dans l'organisme, ce qui est un atout pour le patient mais aussi d'un point de vue économique. De plus, nombreux sont les composés potentiellement actifs mais dont les caractéristiques physico-chimiques, comme une lipophilie élevée, vont impacter négativement leur biodisponibilité. Diminuer l'hydrophobicité d'une molécule, voire la rendre hydrosoluble, est un enjeu important par rapport à son administration notamment. Obtenir des composés actifs originaux, sélectifs des cellules cancéreuses et hydrosolubles est donc un défi de taille. Depuis une dizaine d'années, le LCSN développe de nombreux travaux quant à la vectorisation et/ou l'hydro-solubilisation de principes actifs que ce soit par l'utilisation de sucres [224-226], de petits peptides [227], de polyamines [228-231], de complexes organométalliques [232] ou encore de nanovecteurs tels que des nanoparticules de silice [233] ou d'or [234] ou des nanocristaux de cellulose [235].

Dans cette étude, nous nous sommes particulièrement intéressés à l'utilisation de polyamines pour un ciblage actif, mais aussi de nanocristaux de cellulose, pour un ciblage passif, afin de réaliser la vectorisation de chalcones.

BY-NC-ND

4.2. Les nanovecteurs

Les nanovecteurs, également appelés nanoobjets, sont des particules organiques ou inorganiques, dont au moins une des trois dimensions est inférieure à 100 nm (généralement de taille similaire à une protéine).

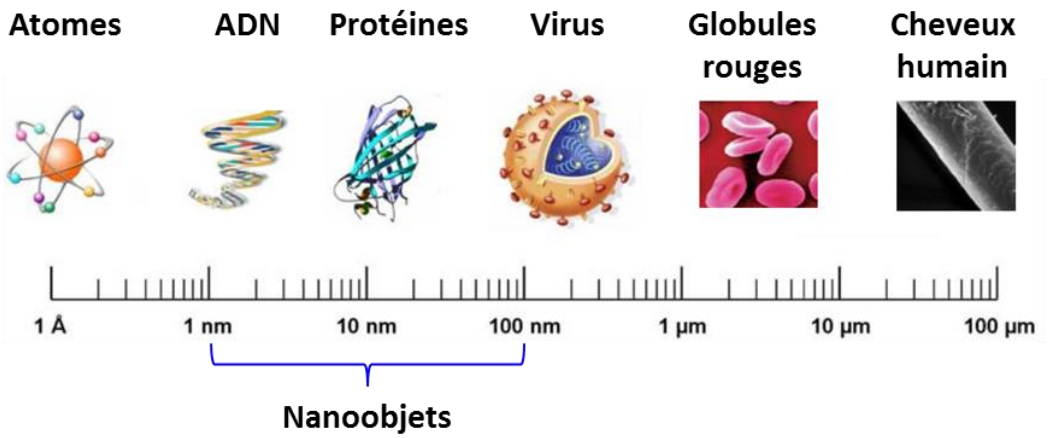


Figure 52. Gamme de tailles des nanoobjets, en comparaison avec quelques structures chimiques et biologiques.

Parmi les nanoobjets les plus représentatifs, nous pouvons citer de manière non exhaustive les nanoparticules d'or, ferromagnétiques, de silice, les liposomes, les micelles, les dendrimères, les nanocristaux de cellulose, les boîtes quantiques (quantum dots) ou encore les nanotubes de carbone (figure 53).

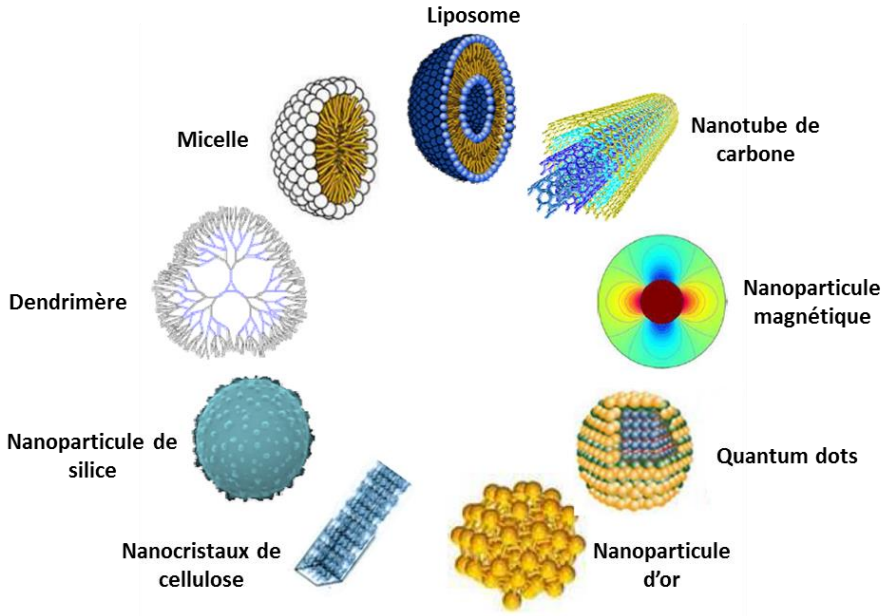


Figure 53. Principaux nanoobjets utilisés en tant que vecteurs.

BY-NC-ND

4.3. Méthodes de ciblage

Deux méthodes de ciblage existent afin de pouvoir atteindre spécifiquement les cellules cancéreuses : le ciblage passif et le ciblage actif.

Le ciblage passif (ou « vectorisation passive »), s'appuie sur l'effet EPR (« Enhanced Permeability and Retention »), qui est un effet de perméabilité et de rétention tissulaire présent au niveau de l'endothélium vasculaire. Ce dernier est rendu plus perméable à cause de la réaction inflammatoire associée à une tumeur par exemple. Ainsi, les nano-médicaments ne peuvent pas traverser l'endothélium vasculaire sain mais uniquement celui au contact de la tumeur. Les nanoparticules « médicamenteuses », dont la taille est de l'ordre de plusieurs nanomètres, sont donc adaptées à ce ciblage passif. De plus, dans la tumeur, le système de drainage lymphatique est déficient, ce qui entraine l'accumulation des molécules d'intérêt dans les tissus cancéreux. La figure 54 illustre cet effet *via* un exemple de molécules anticancéreuses (triangles rouges) couplées à un polymère (micelles bleues), où elles sont internalisées par pinocytose, et traitées par les endosomes et les lysosomes [236].

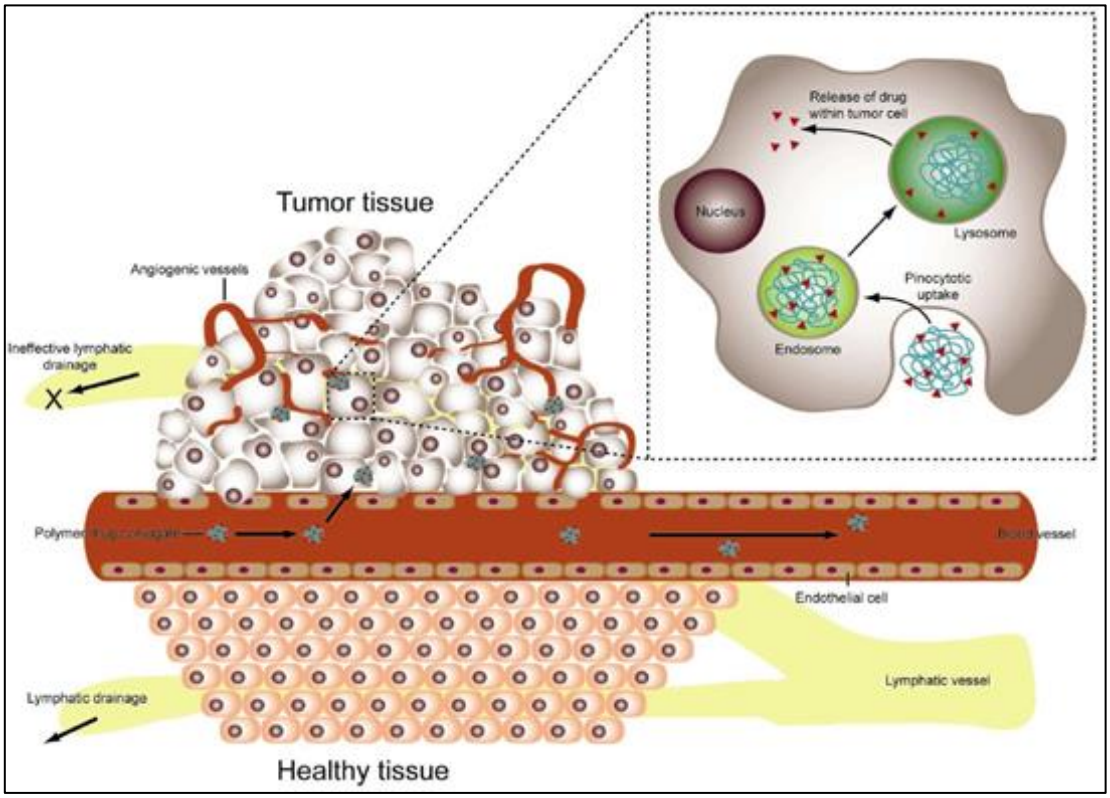


Figure 54. Modélisation de l'effet EPR [236].

BY-NC-ND

Le ciblage actif est une stratégie consistant à utiliser un vecteur, ou ligand, capable de se lier spécifiquement à des antigènes, ou à des récepteurs, uniquement exprimés à la surface des cellules tumorales. Le ligand peut être couplé de manière covalente [237] ou ionique [235] au principe actif ; le plus souvent, le ligand est une biomolécule hydrophile qui va permettre d'augmenter la biodisponibilité du principe actif, souvent hydrophobe. Les ligands les plus utilisés sont des anticorps monoclonaux, des peptides (RGD, ATWLPPR), l'acide folique, des sucres ou encore des polyamines. La figure 55 schématise la différence entre les ciblages passif et actif, où ce dernier utilise la reconnaissance d'antigènes (ou de récepteurs spécifiques) à la surface des cellules tumorales ① ou endothéliales ②.

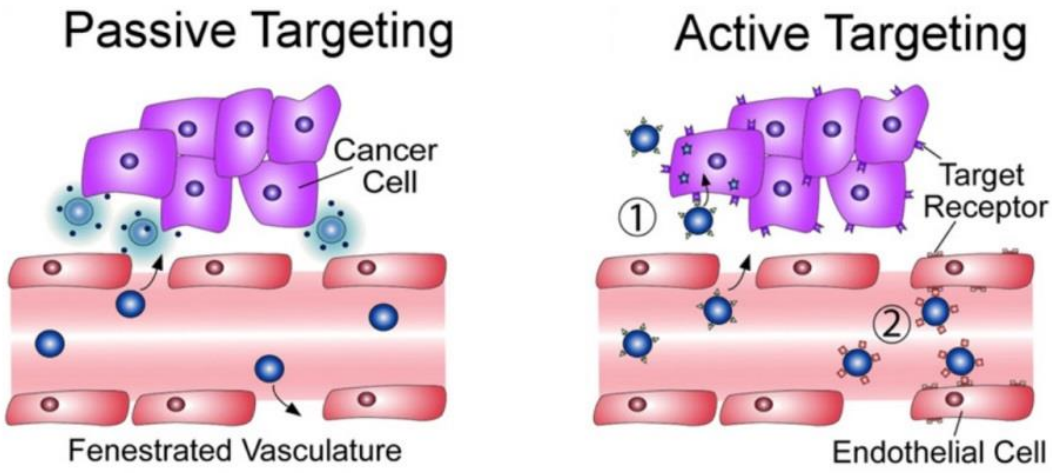


Figure 55. Ciblage actif et ciblage passif (source : Wicki et al. 2015 [238]).

Les prochains paragraphes développeront les polyamines, en tant que vecteurs par ciblage actif, et les nanocristaux de cellulose, en tant que vecteurs par ciblage passif.

BY-NC-ND

4.4. Les polyamines

4.4.1. Généralités

Les polyamines linéaires telles que la spermine, la spermidine, la putrescine ou la cadavérine sont des molécules présentes dans toutes les cellules vivantes qu'elles soient procaryotes comme les bactéries ou eucaryotes comme les cellules végétales et animales. Elles possèdent une chaîne carbonée aliphatique comportant au moins deux fonctions amine et sont essentielles pour la croissance et le fonctionnement des cellules vivantes [239-240]. La découverte de la spermidine et de la spermine (figure 56 C et D) date de 1678 ; Antoine van Leeuwenhoek les a isolées, sous forme de cristaux, du liquide séminal humain. Il fallut cependant attendre 1924 pour que leur structure chimique soit clairement établie et 1926 pour leur première synthèse [241]. La putrescine et la cadavérine (figure 56 A et B) ont longtemps été considérées comme des composés terminaux de la dégradation tissulaire, d'où leur nom peu attrayant.

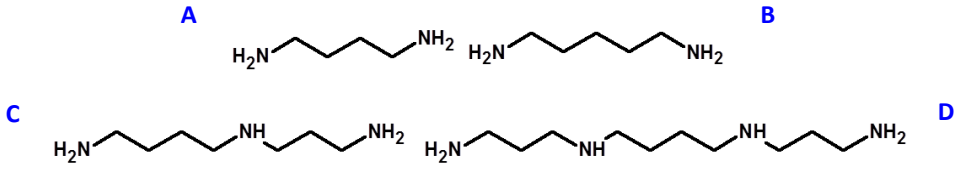


Figure 56. Structures de la putrescine (A), cadavérine (B), spermidine (C) et spermine (D).

4.4.2. Biosynthèse et métabolisme

Il a été montré que les différentes polyamines interviennent au cours des étapes de prolifération et de différenciation cellulaires et qu'elles sont indispensables à la division des cellules [242, 243]. Leur présence au sein de l'organisme est principalement le résultat de la dégradation bactérienne au sein de la flore intestinale [244], d'un apport exogène *via* l'alimentation [245], et du métabolisme intracellulaire. La biosynthèse intracellulaire des polyamines découle principalement de la décarboxylation de l'ornithine (figure 57) [246].

BY-NC-ND

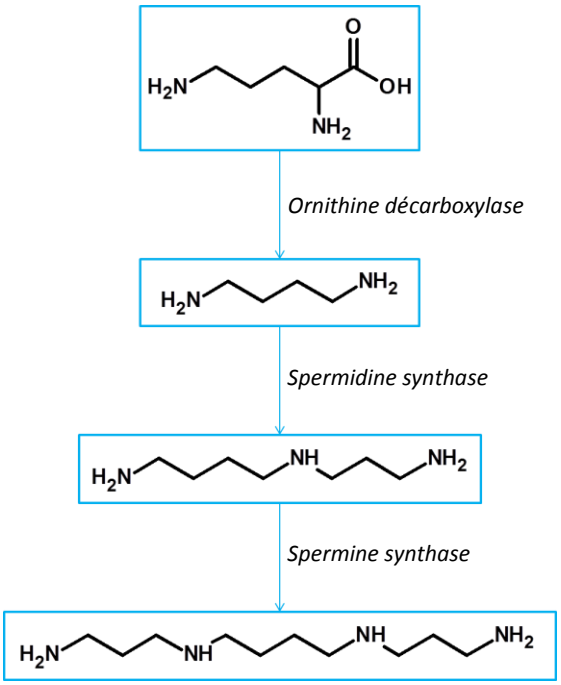


Figure 57. Biosynthèse des polyamines.

Les travaux de Catros-Quemener *et al.* ont montré que le métabolisme est fortement amplifié dans les cellules cancéreuses [247]. En effet, le gène codant pour l'ornithine décarboxylase est surexprimé et les enzymes impliquées dans la dégradation des polyamines inhibées. Ainsi, les cellules cancéreuses possèdent des polyamines en quantité beaucoup plus importante que les cellules saines [248]. La prolifération des cellules cancéreuses étant beaucoup plus rapide que celle des cellules saines, elles ont donc besoin de plus de substrat pour se développer. La quantité accrue de polyamines dont elles disposent ne suffit pas à subvenir à leurs besoins pour une division rapide car ces derniers dépassent leur capacité biosynthétique. Elles se trouvent alors dans la nécessité de trouver un apport en polyamines plus important. Ainsi, dans ces cellules, le système de transport de polyamines (« polyamines transport system », PTS) est hyper activé afin de capter, avec une haute affinité et une faible spécificité, des polyamines exogènes et/ou des analogues de polyamines qui vont être accumulés dans les tissus néoplasiques [249-251].

BY-NC-ND

4.4.3. Approche thérapeutique

Compte tenu du métabolisme accru des polyamines dans les cellules cancéreuses, mettre à profit ces molécules dans une approche thérapeutique peut s'avérer intéressant. Cibler seulement la diminution de la biosynthèse est insuffisant car les cellules vont pouvoir, grâce au PTS, capter les polyamines circulant dans le sang. La thérapie anticancéreuse doit donc s'orienter vers une carence presque totale du patient en polyamines, à savoir réduire ou supprimer les sources endogènes et exogènes de polyamines simultanément afin de couper l'apport de polyamines à la tumeur. Il faut donc pour cela :

- viser la destruction partielle de la flore microbienne intestinale, le tractus gastro-intestinal étant une source prépondérante des polyamines exogènes

- réduire les apports de polyamines *via* l'alimentation

- inhiber la biosynthèse cellulaire.

Cette stratégie de carence en polyamines est décrite par Castro-Quemener *et al.* qui a montré qu'elle entrainait une inhibition de la croissance tumorale [247].

Pour augmenter l'efficacité de cette carence, celle-ci peut être associée à l'administration de molécules anticancéreuses porteuses de motifs polyaminés. C'est la stratégie « du cheval de Troie » [252]. Grâce au PTS exogène hyper-activé, les polyamines couplées au principe actif sont reconnues comme des polyamines naturelles et sont alors internalisées. Une fois dans la cellule, la molécule anticancéreuse peut jouer son rôle d'agent thérapeutique. Ainsi, de nombreux travaux, autres que ceux du LCSN, se sont attachés à fixer des motifs polyaminés sur des composés anticancéreux afin d'améliorer leur efficacité, par exemple des conjugués naphthalimide-polyamine (figure 58 B) [253] ou des conjugués anthracène-polyamine (figure 58 C) [254]. Un très bon exemple est également le composé F14512, un dérivé de l'étoposide fonctionnalisé par un motif spermine (figure 58 A) et développé par l'Institut de Recherche Pierre Fabre. Ce composé a fait l'objet de nombreuses publications [255-257] et même d'essais cliniques [258, 259], notamment chez des patients atteints de leucémie myéloïde aiguë [260].

BY-NC-ND

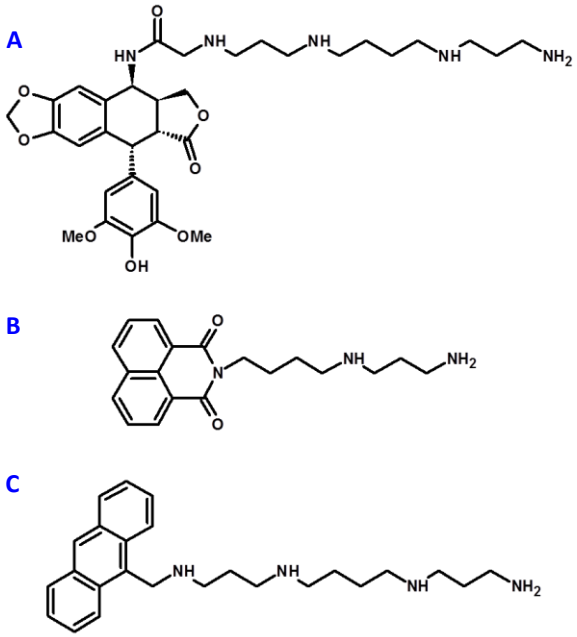


Figure 58. Structure du F14512 (A), d'un conjugué naphthalimide-N^8spermidine (B) et d'un conjugué anthracène-spermine (C).

Par ailleurs, à pH physiologique, les polyamines se retrouvent sous une forme protonée, leur permettant ainsi d'interagir spécifiquement avec les composés biologiques chargés négativement, tels que l'ADN [261]. Enfin, la protonation de la polyamine liée de manière covalente au composé augmente la solubilité en milieux aqueux et physiologique [262].

BY-NC-ND

4.5. Nanocristaux de cellulose

Dans le cadre de la vectorisation de principes actifs, le LCSN utilise plusieurs moyens de ciblage et d'hydro-solubilisation. En plus des polyamines, nous présenterons et utiliserons dans cette étude, les nanocristaux de cellulose pour effectuer la vectorisation passive de nos principes actifs.

4.5.1. La cellulose

La cellulose est le biopolymère naturel le plus abondant sur Terre. Sa production annuelle est estimée à 7,5 milliards de tonnes, ce qui en fait une ressource naturelle non négligeable. Elle rentre dans les composants majoritaires (avec les hémicelluloses, les pectines et la lignine) de nombreux végétaux tels que le bois, la paille de blé ou encore le coton. C'est un homopolymère dont l'unité de base est le dimère cellobiose, constitué de deux unités D-glucopyranose liées en β-1,4 et appelées unité anhydroglucose (AGU, figure 59). Une AGU possède trois groupements hydroxyles libres en position équatoriales (C-2, C-3 et C-6) et deux atomes d'oxygène engagés dans des liaisons glucosidiques (C-1 et C-4).

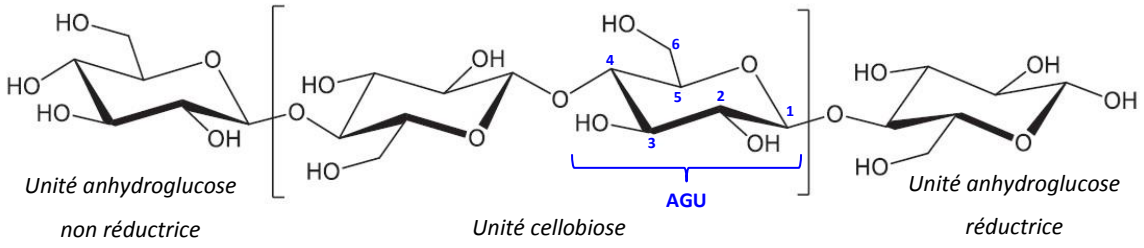


Figure 59. Structure chimique de la cellulose.

Chaque extrémité de la cellulose est occupée par une unité anhydroglucose réductrice ou non. Dans l'unité réductrice, l'hydroxyle anomérique est libre et il en résulte un équilibre entre les formes hémiacétale et aldéhyde (minoritaire). L'hydroxyle anomérique de l'unité non réductrice est quant à lui engagé dans une liaison glucosidique avec une AGU.

La cellulose se caractérise notamment par son degré de polymérisation (DP), qui correspond au nombre moyen d'AGU par chaîne de cellulose. Ce nombre est toujours relativement élevé mais peut varier fortement d'une espèce végétale à une autre ; par exemple, le DP moyen pour l'épicéa est de 8 000 alors que celui pour le coton est de 20 000 [263].

BY-NC-ND

Les fonctions hydroxyles sont en position équatoriale, cela favorise l'établissement des liaisons hydrogènes, de type forces de Van-der-Walls, de manière intra et intermoléculaire. Elles confèrent à la cellulose sa forte résistance mécanique ainsi que son caractère insoluble dans la plupart des solvants. Ces liaisons permettent alors une forte cohésion des chaînes de glucose. Cela engendre l'agencement de micro-fibrilles, qui formeront les macro-fibrilles pour ensuite constituer les fibres de cellulose, composants de la paroi cellulaire végétale (figure 60).

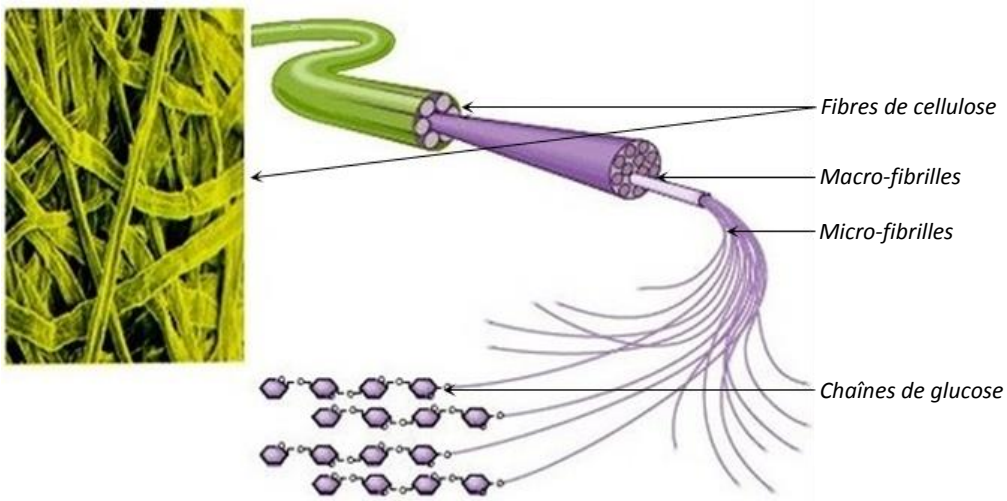


Figure 60. Représentation de la composition des fibres de cellulose, d'après Renault [263].

Les micro-fibrilles de cellulose sont agencées en zones cristallines parfaitement ordonnées et zones amorphes ou para-cristallines, qui sont au contraire, désordonnées (figure 61). Les conditions de la biosynthèse de la cellulose varient selon l'espèce végétale, c'est pourquoi ces zones ne sont pas les mêmes dans tous les végétaux.

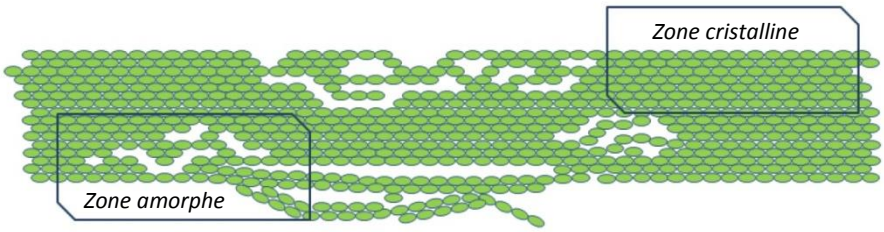


Figure 61. Représentation des zones cristalline et amorphe de la cellulose [264].

Les zones amorphes sont les zones les plus accessibles et les plus exposées aux attaques chimiques. Ainsi, au contact de l'acide sulfurique concentré (64%), les fibres se dégradent. Les différentes analyses (microscopie électronique à transmissions, MET ; diffraction de rayons X, DRX ; diffraction de neutrons ; diffusion dynamique de la lumière,

BY-NC-ND

DLS) permettent de révéler que cette dégradation conduit à des structures nanométriques (en forme de bâtonnets) d'où leur dénomination : nanocristaux de cellulose. L'utilisation de l'acide sulfurique permet donc d'hydrolyser les zones amorphes pour obtenir des nanocristaux de cellulose qui sont en fait une suspension colloïdale des zones cristallines [265 p68]. La conséquence immédiate de cette hydrolyse est la diminution du DP.

4.5.2. Synthèse des nanocristaux de cellulose

Les nanocristaux de cellulose sont donc le résultat de l'hydrolyse acide de la cellulose et constituent alors une suspension colloïdale des zones cristallines. Leur synthèse est influencée par les conditions opératoires que sont la nature de l'acide, la température de réaction ainsi que sa durée. Néanmoins, c'est surtout la source végétale, donc cellulosique, qui détermine le type de nanocristaux obtenus. L'utilisation d'acide sulfurique est généralement privilégiée. Elle permet l'obtention de groupements sulfates anioniques (OSO_3^-) qui vont induire des répulsions électrostatiques entre les différents nanocristaux et ainsi les maintenir en suspension, notamment dans l'eau. Dans ses travaux de thèse de doctorat, Ndong-Ntoutoume propose la voie mécanistique présentée à la figure 62.

BY-NC-ND

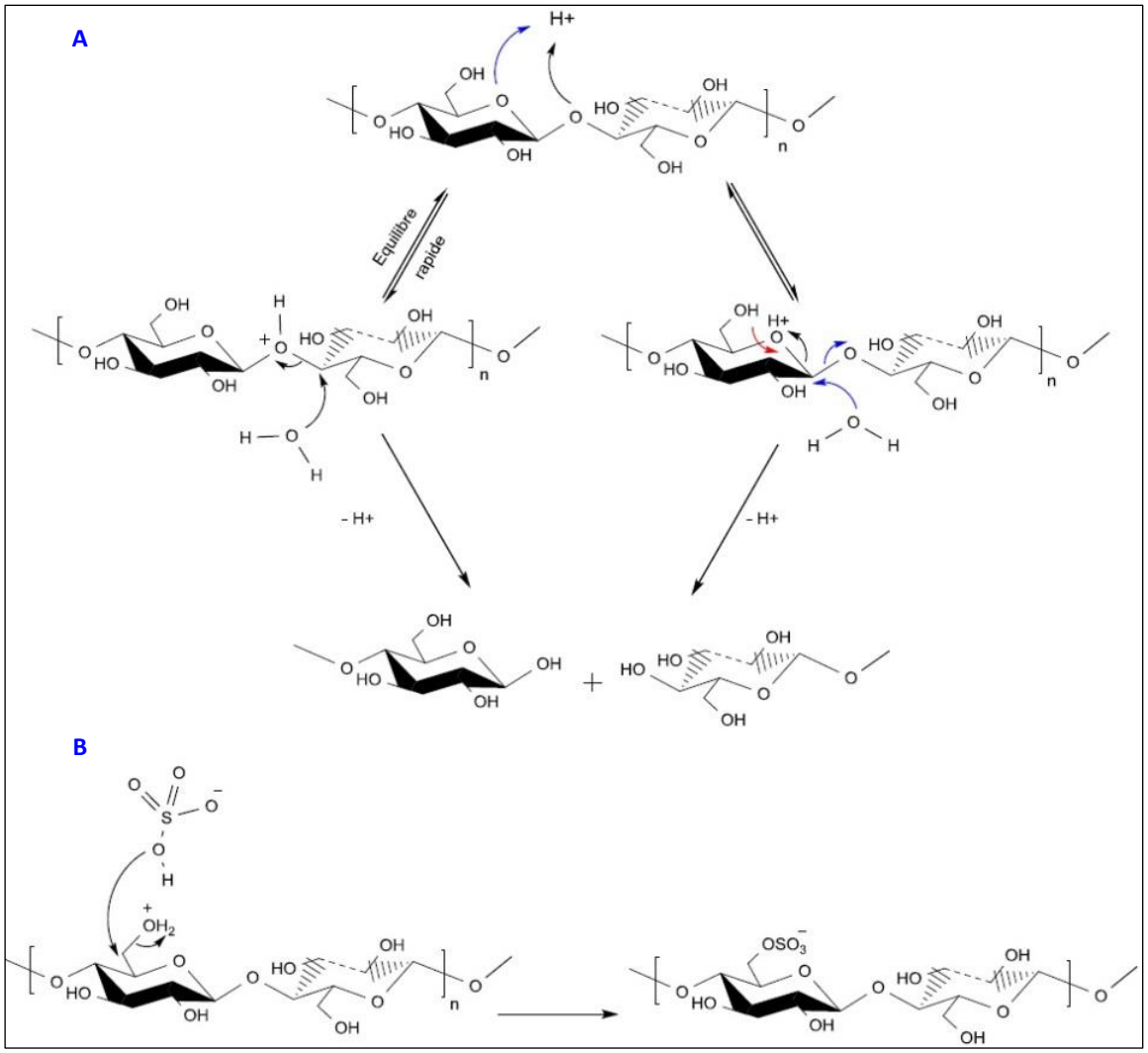


*Figure 62. **A** Hydrolyse acide de la cellulose. **B** Estérification de cellulose à l'acide sulfurique. D'après Ndong Ntoutoume [265 p33].*

L'action de l'acide sulfurique sur la cellulose de coton conduit à des nanocristaux en forme d'aiguilles, d'une longueur comprise entre 100 et 200 nm, d'une largeur allant de 10 à 20 nm et d'une épaisseur variant de 5 à 10 nm [266]. Les nanocristaux de cellulose subissent ensuite un traitement chimique afin de leur conférer les fonctions chimiques voulues dans le but de pouvoir ensuite les coupler au principe actif choisi. Par exemple, la figure 63 illustre les travaux de Drogat *et al.* où cette méthode est employée afin de greffer des photo-sensibilisateurs (notés **1a-c** sur la figure 63) sur des nanocristaux de cellulose (notés **CNCs** sur la figure 63) pour une utilisation en photothérapie dynamique [237]. Cette méthode est de nouveau mise en œuvre dans le but d'obtenir des complexes nanocristaux de cellulose / curcuminoïdes capables de cibler les cellules cancéreuses *via* l'effet EPR [235].

BY-NC-ND

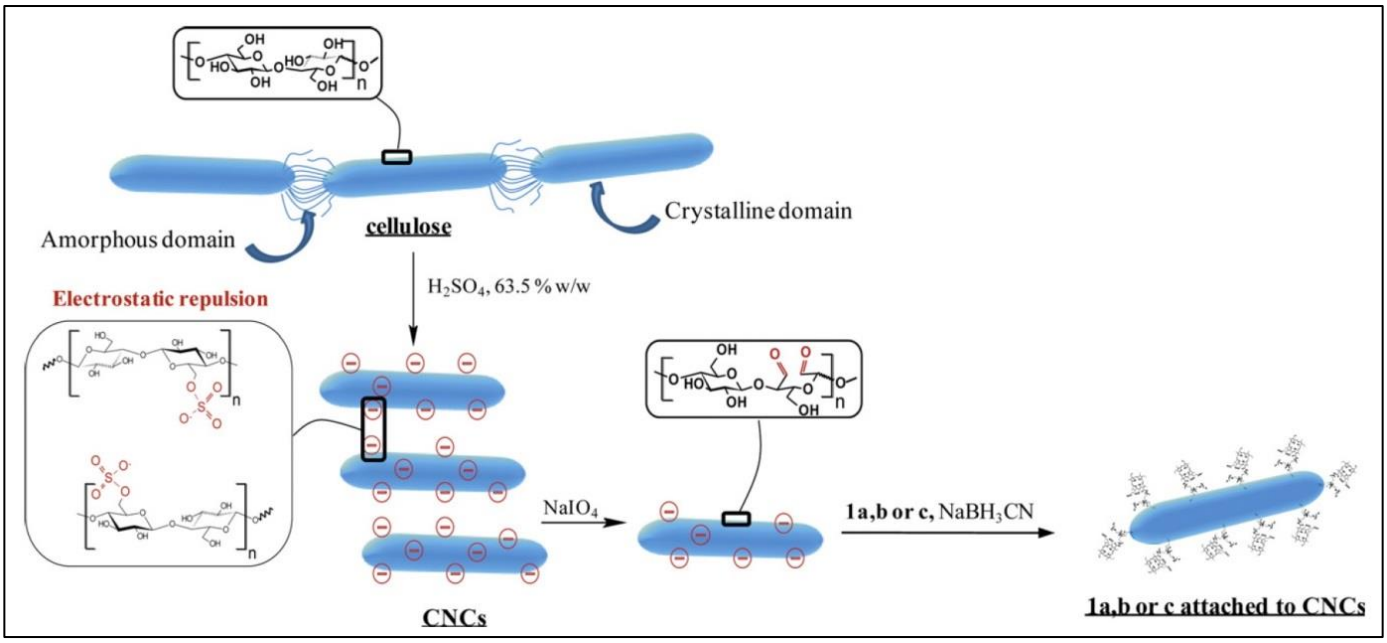


Figure 63. Obtention et fonctionnalisation des nanocristaux de cellulose [237].

BY-NC-ND

5. But du travail

L'objectif de ce travail est l'obtention de nouvelles molécules, dérivées de chalcones, exerçant un effet antiprolifératif sur différentes lignées cellulaires cancéreuses. Deux chalcones, la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (**1**) et la 3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (**2**) sont à la base de nos investigations (figure 64). Ces deux molécules sont décrites dans la littérature comme agents antiprolifératifs sur des lignées leucémiques (K562) [170], des lignées cellulaires cancéreuses du poumon (A549) [173] et des ovaires (A2780) [316]. Elles vont constituer les chefs de file de cette étude à partir desquelles des travaux de vectorisation seront réalisés ; elles seront également utilisées comme références lors des différentes évaluations biologiques.

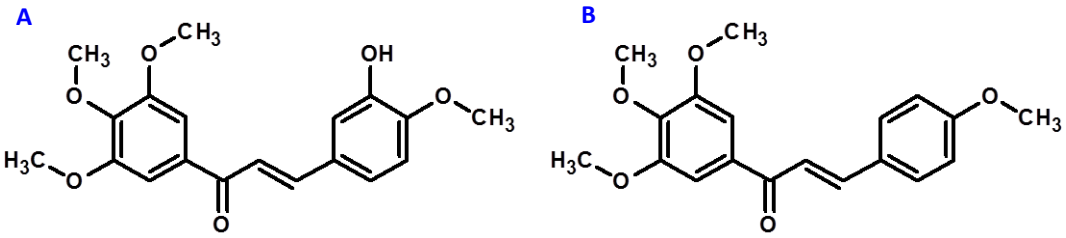


*Figure 64. Structure des chalcones **1** (A) et **2** (B).*

Une première partie concernera le couplage covalent des chalcones à des motifs polyaminés (*via* deux types de linker : un amide, figure 65 A, et un amino-alcane figure 65 B) pour une vectorisation par ciblage actif ; une seconde partie s'orientera vers un couplage électrostatique entre ces chalcones et des nanoobjets de type nanocristaux de cellulose / β-cyclodextrines (figure 65 C) en vue d'un ciblage passif. Enfin, un travail préliminaire sur la synthèse de bis-chalcones (figure 65 D) dans le but de concevoir de nouveaux chefs de file dans l'arsenal thérapeutique des agents antiprolifératifs sera décrit.

BY-NC-ND

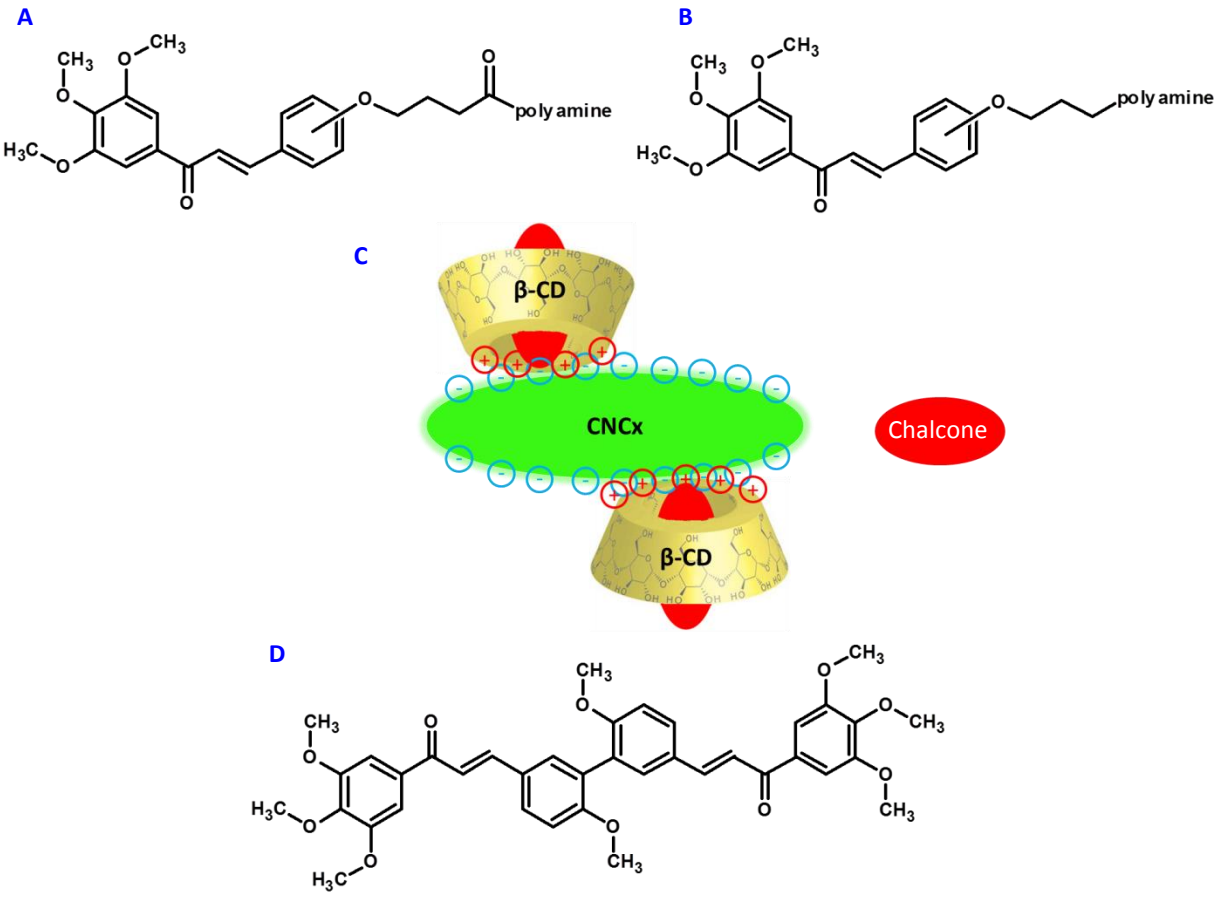


Figure 65. Structures des composés à synthétiser dans ce travail.

Nous développerons dans un premier temps les travaux de synthèse correspondant aux différentes parties définies précédemment. Puis nous nous attacherons à décrire les évaluations biologiques effectuées sur les molécules synthétisées.

BY-NC-ND

PARTIE II.

Résultats et discussion

BY-NC-ND

1. Synthèse

1.1. Introduction

Tout d'abord, nous développerons les synthèses des conjugués chalcone-polyamine, où deux stratégies seront mises en place : une première concernera l'utilisation d'un linker de nature amide, la seconde impliquera un linker de type amine. Ensuite, nous étudierons l'encapsulation de chalcones par des complexes nanocristaux de cellulose / β-cyclodextrines. Nous présenterons enfin la synthèse d'une nouvelle bis-chalcone *via* le couplage de Suzuki-Miyaura.

1.2. Synthèse de conjugués chalcone-polyamine

1.2.1. Synthèse *via* un linker amide

1.2.1.1. Stratégie de synthèse

La synthèse des conjugués chalcone-polyamine présentant un linker amide consiste à faire réagir une chalcone possédant une fonction acide carboxylique et une polyamine avec une fonction amine primaire libre (les autres fonctions amines étant protégées). La stratégie est décrite sur le schéma rétrosynthétique suivant (figure 66), schéma qui comporte deux voies (A et B) correspondant aux deux séries de conjugués envisagées. La synthèse des chalcones est basée sur la condensation de Claisen-Schmidt entre une acétophénone et un benzaldéhyde.

BY-NC-ND

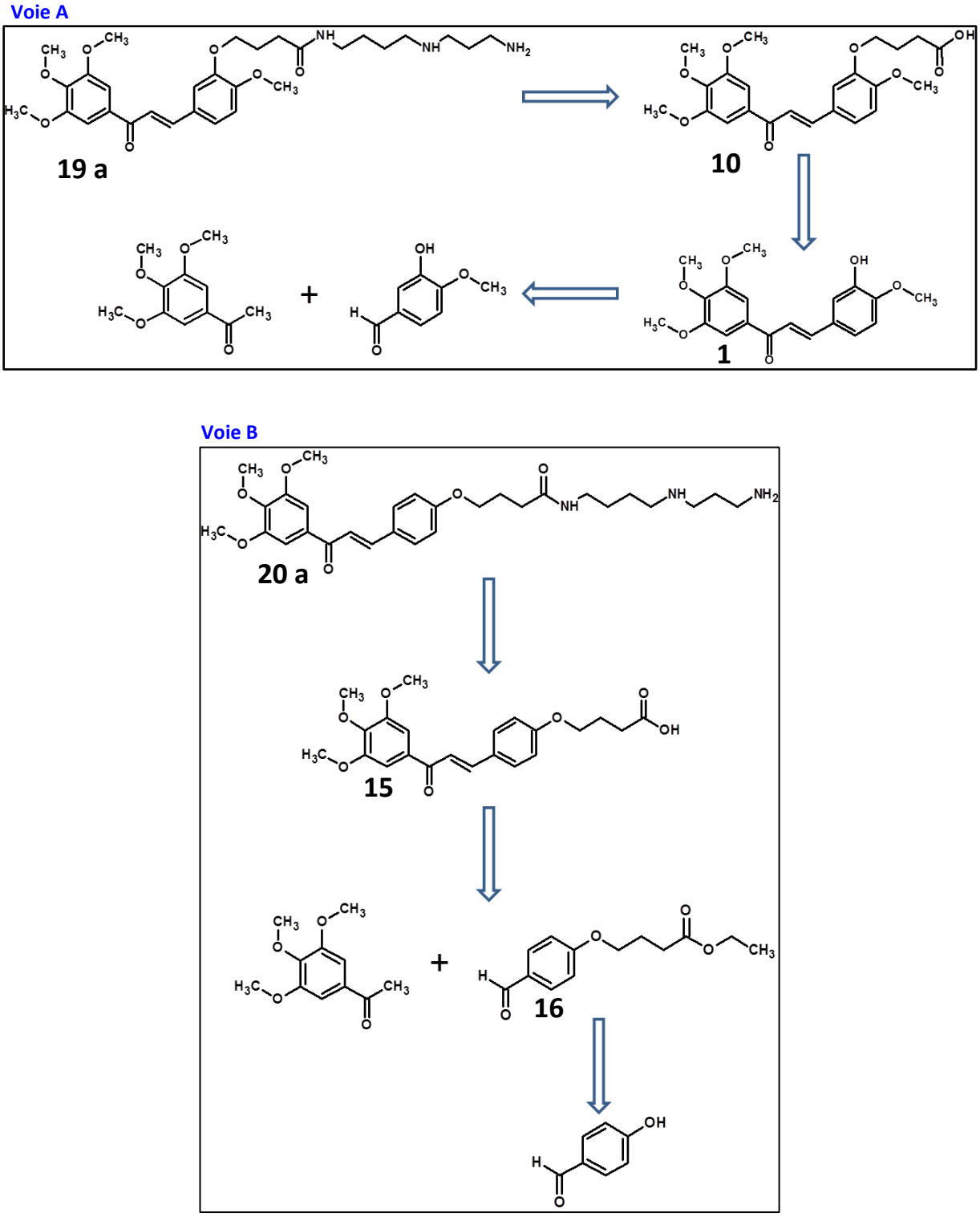
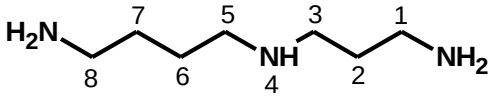
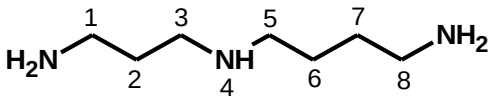
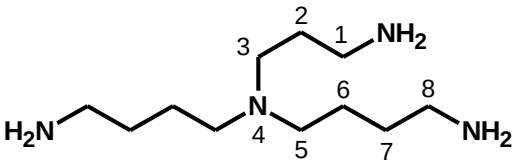
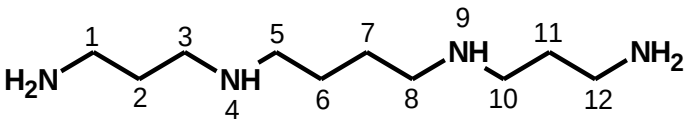
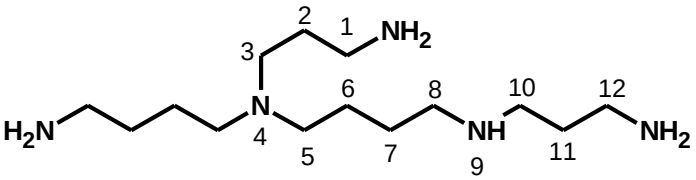


*Figure 66. Schémas rétrosynthétiques des conjugués chalcone-polyamine via un linker amide. Voie A : série **19**, voie B : série **20**.*

Dans notre étude, nous disposerons de cinq motifs polyaminés, schématisés dans le tableau 5.

BY-NC-ND

Tableau 5. Structures des cinq motifs polyaminés.

Motif		R
a	Spermidine N^8	
b	Spermidine N^1	
c	Spermidine ramifiée	
d	Spermine	
e	Spermine ramifiée	

Les synthons linéaires sont disponibles commercialement. La spermidine n'étant pas symétrique (figure 67), le couplage peut s'effectuer sur l'azote N^8 ou sur le N^1, donnant naissance à deux motifs spermidine différents. Ils correspondent aux motifs a et b du tableau 5 et sont appelés spermidine N^8 et spermidine N^1. La spermine étant symétrique, un seul type de motif spermine linéaire peut être obtenu. Quant aux polyamines ramifiées, elles sont préparées selon un protocole élaboré au sein du LCSN. Les deux motifs ramifiés sont obtenus *via* l'introduction d'un bras espaceur à quatre carbones, terminé par une fonction amine primaire, sur l'azote secondaire N^4 de la spermidine et de la spermine.

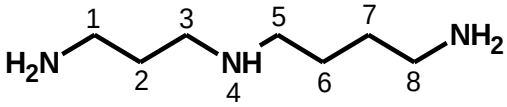


Figure 67. Structure de la spermidine.

BY-NC-ND

1.2.1.2. Synthèses des motifs polyaminés ramifiés

1.2.1.2.a. Schéma général

Les motifs polyaminés sont obtenus grâce à une stratégie de synthèse se déroulant en trois étapes à partir de la spermidine et de la spermine (figure 68) [226, 228-230].

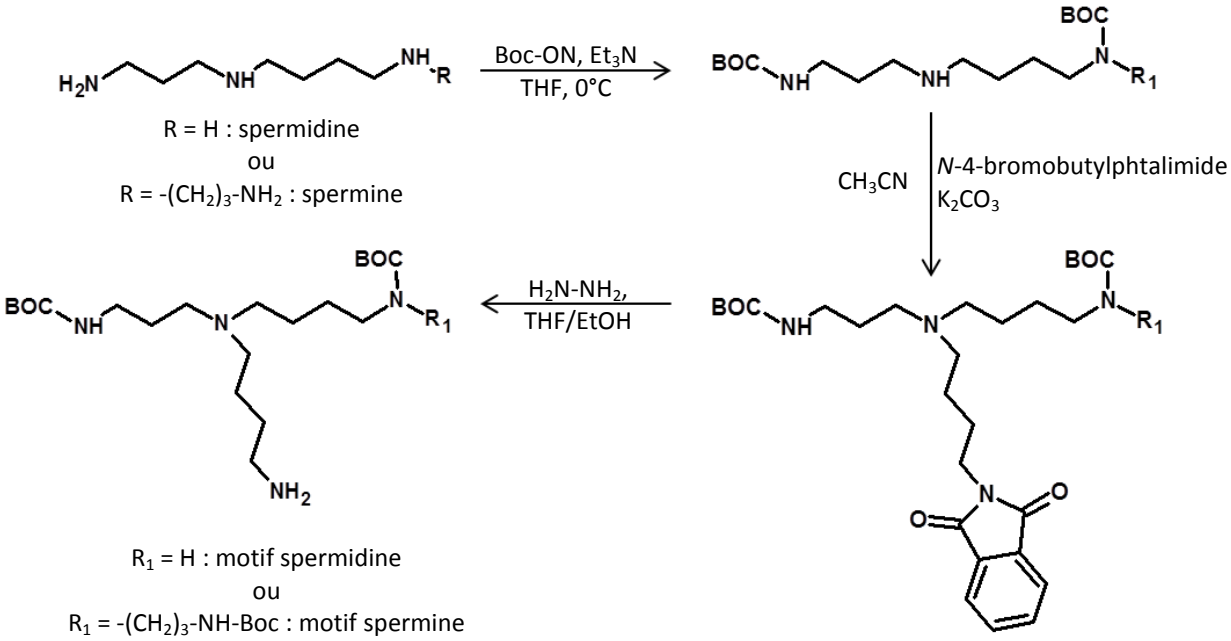


Figure 68. Schéma général de la préparation des motifs polyaminés ramifiés.

BY-NC-ND

1.2.1.2.b. Synthèses de la N^1,N^8-bis-Boc-spermidine (3) et de la N^1,N^8,N^{12}-tris-Boc-spermine (4)

La protection des amines primaires se fait grâce au groupement tert-butyloxycarbonyle (Boc), en utilisant comme réactif le 2-(tert-butyloxycarbonyloxyimine)-2-phénylacétonitrile (Boc-ON). Ce groupement Boc présente la particularité de résister aux conditions basiques, conditions retrouvées tout au long de ce travail, et de se cliver en milieu acide pour ainsi libérer les fonctions amines protégées. Ce groupement protecteur sera donc conservé jusqu'à la dernière étape de cette synthèse multi-étapes.

Le nombre d'équivalents de Boc-On introduits est égal au nombre de fonctions amines à protéger. La réaction se déroule dans le THF anhydre à 0°C pendant 16h en présence de triéthylamine (Et_3N) (figure 69). L'avancement de la réaction est contrôlé par CCM. Les composés polyaminés étant incolores et n'absorbant pas dans l'UV, l'utilisation de la ninhydrine (vaporisation puis chauffage à 150°C) permet de révéler l'emplacement des composés sur la plaque CCM, où ceux-ci prennent une teinte violette.

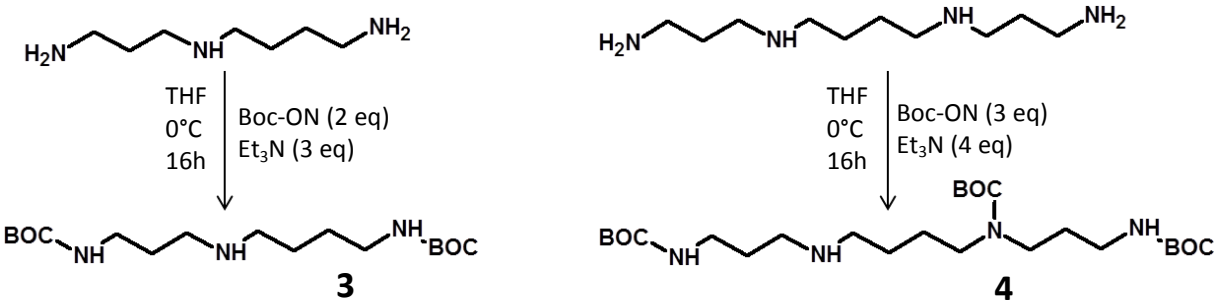


Figure 69. Protection de la spermidine et de la spermine par le Boc-ON.

Après un lavage avec une phase aqueuse permettant d'éliminer les impuretés hydrosolubles, les composés sont purifiés sur une colonne ouverte de gel de silice. La spermidine **3** et la spermine **4** protégées sont obtenues avec des rendements de 83% et 72% respectivement. Les analyses RMN ^1H confirment la réaction de protection grâce à la présence de singulets aux alentours de 1,40 ppm, intégrant pour 18 ou 27 hydrogènes ; ces singulets correspondent aux CH_3 des Boc.

BY-NC-ND

1.2.1.2.c. Fixation du groupement phtalimide

Le but de cette étape est de fixer une chaîne carbonée, possédant une fonction amine primaire protégée par le groupement phtalimide, sur l'azote secondaire disponible des composés précédents. L'alkylation est effectuée grâce au N-(4-bromobutyl)-phtalimide (1,25 eq) *via* une substitution nucléophile dans l'acétonitrile, à reflux, et en présence de carbonate de potassium (5 eq) (figure 70). Cette base faible permet de neutraliser l'acide bromhydrique formé en fin de réaction. La réaction est suivie par CCM, les composés sont révélés à la ninhydrine mais également sous la lampe UV puisque le groupement phtalimide est aromatique.

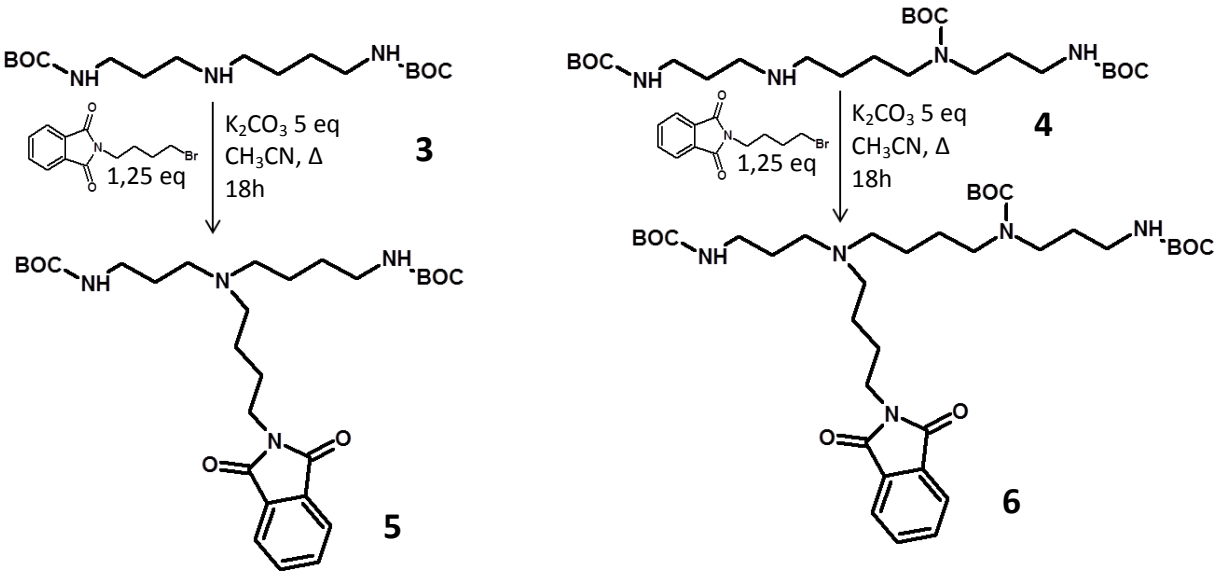


Figure 70. Introduction d'un groupement phtalimide sur les polyamines protégées.

Après lavage avec une phase aqueuse et purification sur colonne de gel de silice, les composés **5** et **6** sont obtenus avec un rendement de 96 et 95% respectivement. Les analyses RMN ^{1}H indiquent la présence d'hydrogènes aromatiques (7,80-7,70 ppm) et de nouveaux hydrogènes aliphatiques, ce qui indique que la chaîne avec le groupement phtalimide a bien été greffée.

1.2.1.2.d. Elimination du groupement phtalimide

L'élimination du groupement phtalimide est réalisée en présence d'hydrazine monohydrate, introduite en large excès (figure 71) [230, 267]. La réaction est conduite pendant 5h à 90°C. Afin de consommer entièrement le produit de départ, le chauffage est poursuivi mais dans le but d'éviter la formation de produits secondaires, la température est

BY-NC-ND

abaissée à 50°C ; les analyses CCM (révélées à la ninhydrine) indiquent que la réaction est totale après 18h de chauffage.

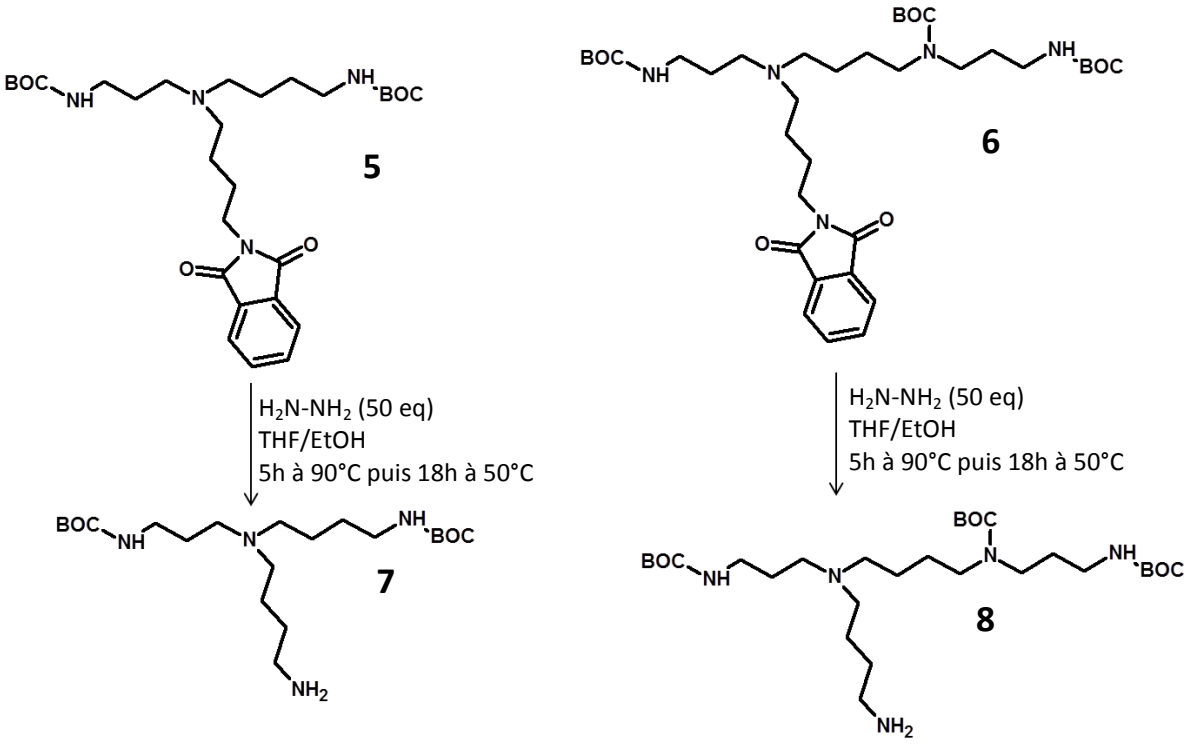


Figure 71. Élimination du groupement phtalimide.

Après lavage avec une phase aqueuse, les composés **7** et **8** sont obtenus sans purification, avec un rendement quasi quantitatif. Les structures sont confirmées par RMN ^{1}H (disparition des hydrogènes aromatiques) et par HRMS.

L'hydrazine agit selon un mécanisme en deux étapes : tout d'abord, la molécule d'hydrazine réagit sur l'un des deux carbonyles du phtalimide. Ensuite, une élimination intramoléculaire conduit à l'amine primaire et au phtalhydrazine. Le mécanisme d'action de l'hydrazine monohydrate sur le groupement phtalimide est détaillé sur la figure 72 ci-dessous.

BY-NC-ND

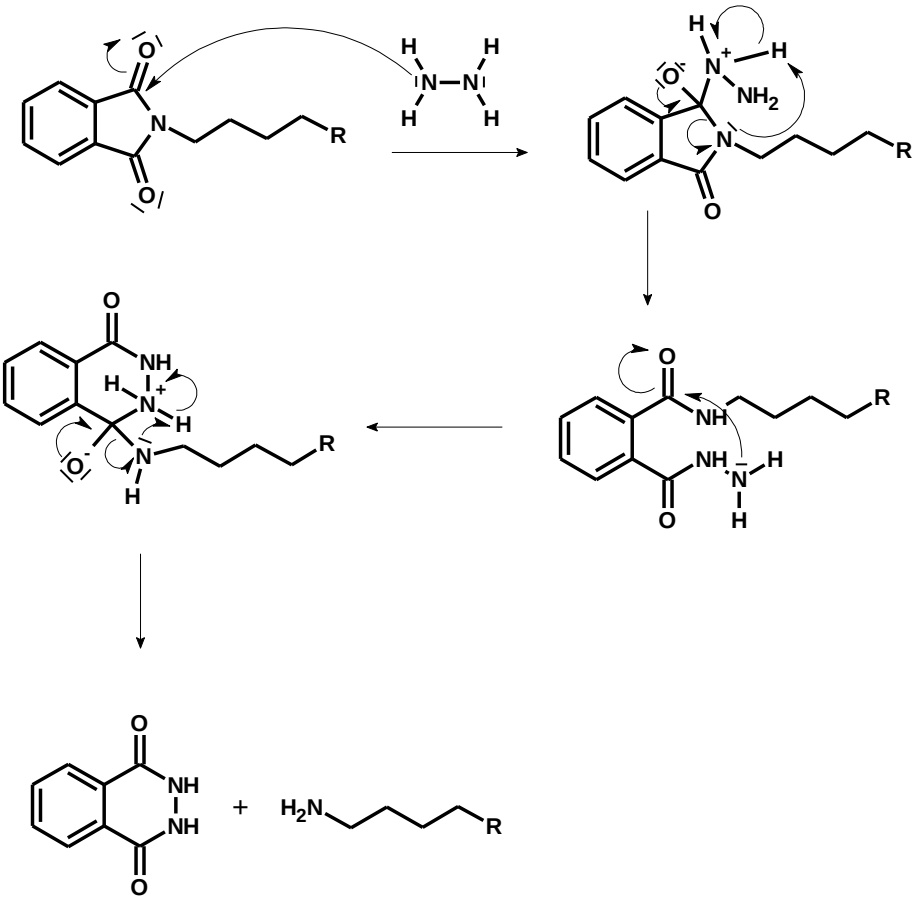


Figure 72. Mécanisme d'action de l'hydrazine sur le groupement phtalimide, R = polyamine.

Outre les synthons linéaires protégés commerciaux, deux nouveaux motifs polyaminés ramifiés sont donc à présent disponibles.

1.2.1.3. Synthèses des chalcones 1 et 2

La synthèse des chalcones **1** et **2** est effectuée *via* une condensation de Claisen-Schmidt à partir de la 3',4',5'-triméthoxyacétophénone. Celle-ci réagit, en présence d'une base, avec le 3-hydroxy-4-méthoxybenzaldéhyde et le 4-méthoxybenzaldéhyde pour conduire aux chalcones **1** et **2** respectivement (figure 73).

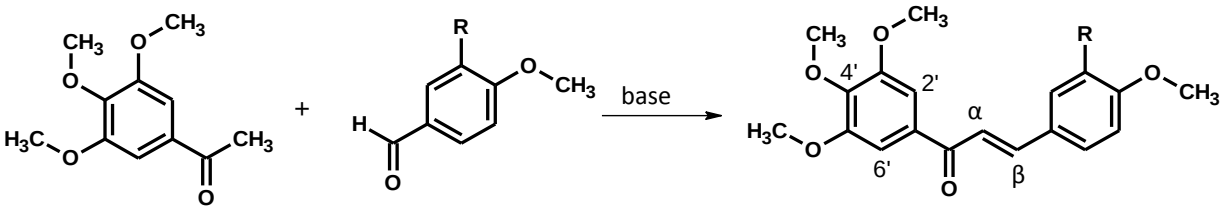


Figure 73. Schéma général de la condensation de Claisen-Schmidt,
***1 :** R = OH, **2 :** R = H.*

BY-NC-ND

L'analyse par résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^{1}H) indique que les chalcones obtenues sont de configuration (*E*) puisque la constante de couplage entre H-α et H-β est comprise entre 15 et 16 Hz, caractéristique d'un couplage de protons *trans*-éthyléniques [268]. Ces chalcones, comme toutes celles synthétisées ultérieurement, présentent un noyau A triméthoxylé caractérisé par :

- un singulet résonnant aux alentours de 7,30 ppm et intégrant pour deux protons, il correspond aux hydrogènes équivalents H-2' et H-6'.

- deux singulets résonnant aux alentours de 3,90 ppm et intégrant l'un pour six protons et l'autre pour trois. Ces deux singulets correspondent respectivement aux méthoxy équivalents portés par les carbones 3' et 5' et à celui porté par le carbone 4'.

Le mécanisme de la condensation est décrit en figure 74. Lors de cette condensation, l'anion hydroxyde vient réagir sur une molécule d'acétophénone pour former un ion énolate. Ce dernier va ensuite réagir sur une molécule de benzaldéhyde pour donner un aldol. Enfin, la déshydratation de cet aldol conduit à la chalcone.

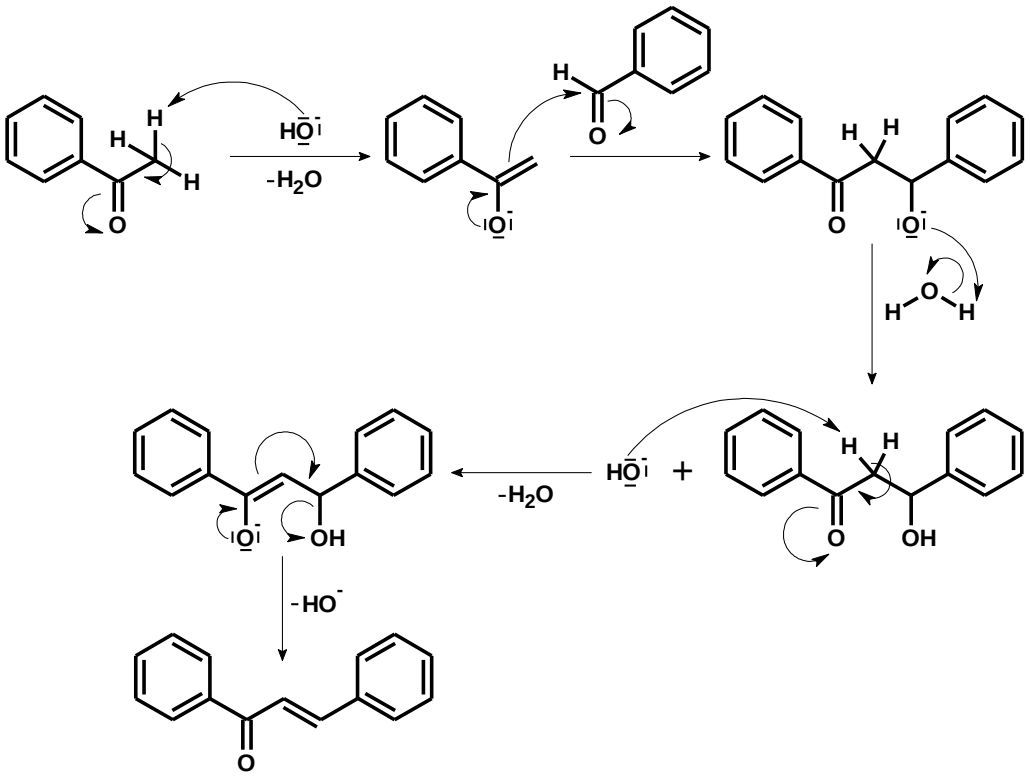


Figure 74. Mécanisme de la condensation de Claisen-Schmidt.

La présence du benzaldéhyde et d'une base peut également donner lieu à la réaction de Cannizzaro [269, 270], considérée ici comme une « réaction parasite » (figure 75).

BY-NC-ND

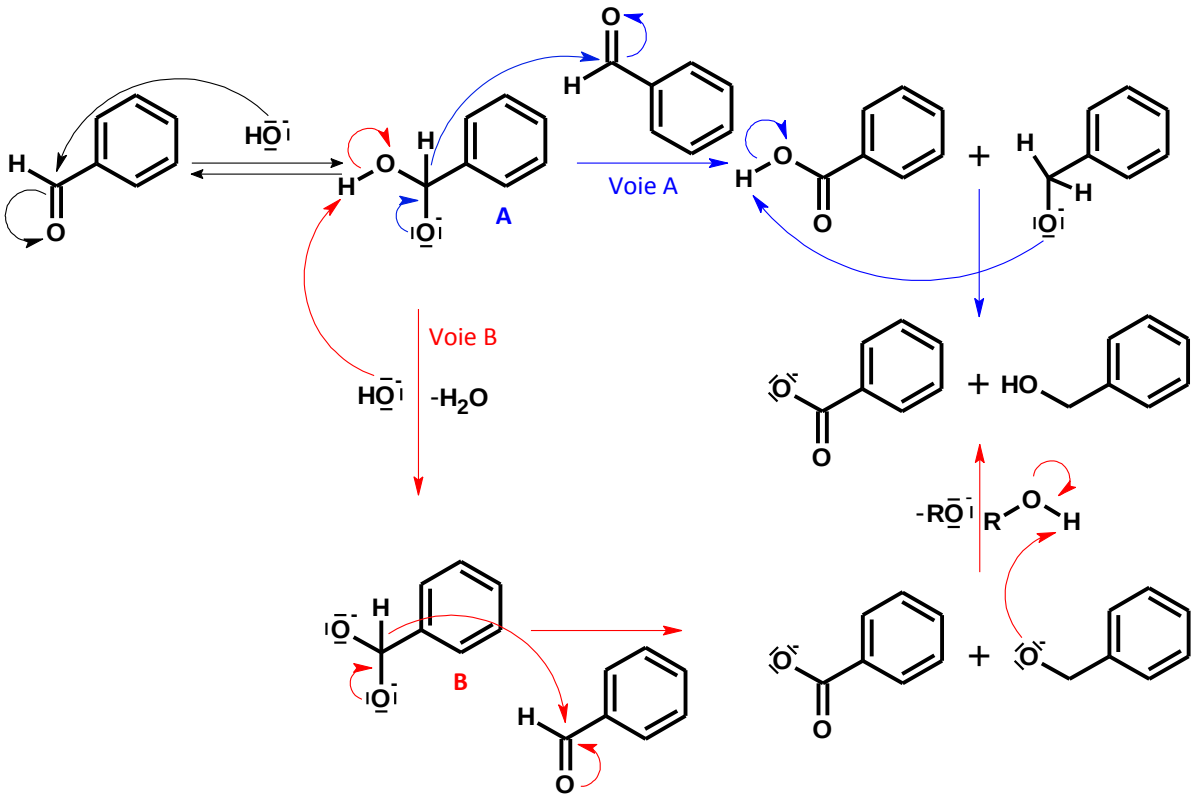


Figure 75. Mécanisme de la réaction de Cannizzaro selon Milcent [270].

Dans les deux voies décrites, il y a un transfert d'un ion hydrure, de l'anion **A** ou du di-anion **B**, sur une nouvelle molécule de benzaldéhyde. Dans la voie A, l'alcoolate formé récupère le proton de l'acide carboxylique pour donner l'alcool et l'ion benzoate. Dans la voie B, deux ions sont obtenus : l'ion benzoate et l'ion alcoolate. Ce dernier récupère un proton d'une molécule de solvant protique du milieu réactionnel pour conduire à l'alcool.

1.2.1.3.a. Synthèse de la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone 1

Les différentes conditions expérimentales explorées dans ce travail afin d'optimiser la réaction entre la 3',4',5'-triméthoxyacétophénone (1 eq) et le 3-hydroxy-4-méthoxybenzaldéhyde (1,2 eq) sont répertoriées dans le tableau 6. La réaction est suivie par CCM où la formation de la chalcone est facilement observée puisque celle-ci est de couleur jaune (comme toutes les chalcones de notre étude) ; de plus les réactifs et les chalcones sont observables sous lampe UV (254 et/ou 365 nm).

BY-NC-ND

Tableau 6. Conditions expérimentales pour l'optimisation de la synthèse de **1**.

Essais	Base	Quantité (eq)	Solvant	Température (°C)	Temps de réaction	R (%)
1	KOH	9	EtOH/H_2O 9/1	TA	8h	39
2	KOH	10	EtOH	Δ	2h	14
3	KOH	10	EtOH	120 (MO)	14 min	21
4	KOH	5	EtOH/H_2O 9/1	120 (MO)	25 min	29
5	$Ba(OH)_2$	10	EtOH	Δ	1h30	24
6	$Ba(OH)_2$	5	EtOH	Δ	2h	29
7	$Ba(OH)_2$	5	EtOH	120 (MO)	10 min	39
8	NaOH	5	EtOH	120 (MO)	45 min	34
9	NaOH	5	MeOH	Δ	1h30	54
10	NaOH	5	MeOH	Δ	2h	69

Les quatre premiers essais utilisent KOH comme base : le premier essai mené à TA conduit à un rendement correct de 39% mais après un temps de réaction élevé (8h). Afin de réduire ce temps de réaction, deux systèmes de chauffage sont employés : un chauffage à reflux (Δ) et un chauffage par irradiations microondes. Néanmoins, ces essais entraînent la formation de produit secondaires, malgré un temps de réaction relativement court pour les essais microondes. Des résultats identiques sont observés en utilisant $Ba(OH)_2$. Cependant, dans l'essai 8 mené en présence de soude, les conditions semblent limiter la formation de produits secondaires. Le chauffage par irradiation microondes ne conduisant pas à un rendement satisfaisant, les essais suivants (9 et 10) sont menés dans le méthanol à reflux. Ainsi, les conditions optimales de la réaction sont les suivantes : NaOH (5 eq), dans le méthanol à reflux pendant 2h ; elles conduisent à un rendement maximal de 69% (figure 76 A). La figure 76 B illustre le spectre RMN ^1H ($CDCl_3$) de la chalcone **1**.

BY-NC-ND

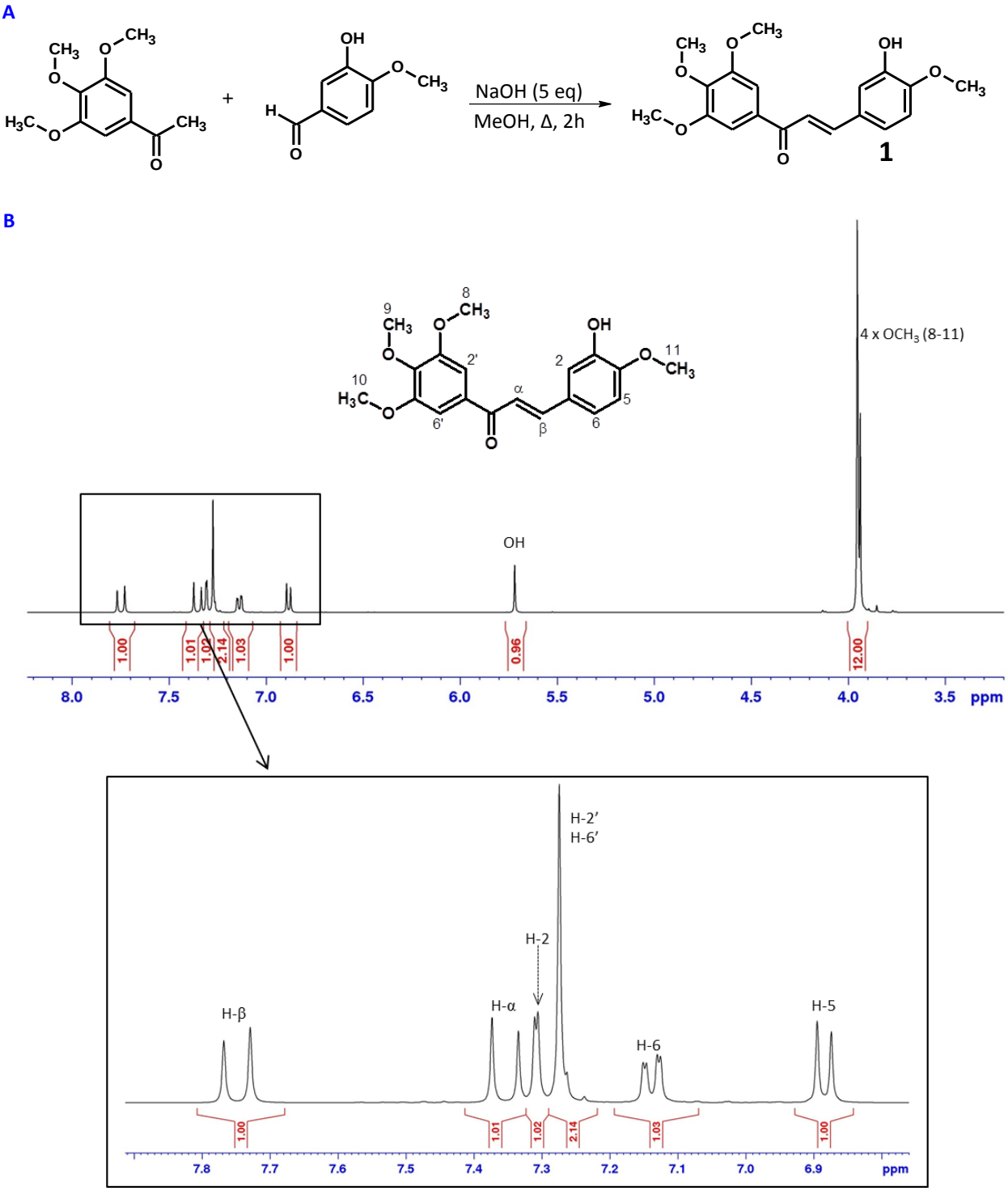


*Figure 76. Schéma de synthèse de la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone **1** (A), spectre RMN ^{1}H de la chalcone **1** (B).*

Les deux protons *trans*-éthyléniques (H-α et H-β) résonnent sous forme de doublet et possèdent bien une constante de couplage *J* comprise entre 15 et 16 Hz. La figure intégrant pour le proton H-2 est un doublet méta, celle pour le proton H-6 est un doublet de doublet ortho/méta et le proton H-5 résonne sous la forme d'un doublet ortho. Les deux protons équivalents H-2' et H-6' sont représentés sous la forme d'un singulet.

BY-NC-ND

1.2.1.3.b. Synthèse de la 3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone 2

La synthèse de la 3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone implique cette fois ci le 4-méthoxybenzaldéhyde (1,5 eq) ; la réaction se déroule dans les mêmes conditions que pour la chalcone **1** (figure 77) et conduit à un rendement de 55% (la poursuite du chauffage au-delà de 1h30 ne permet pas d'améliorer le rendement).

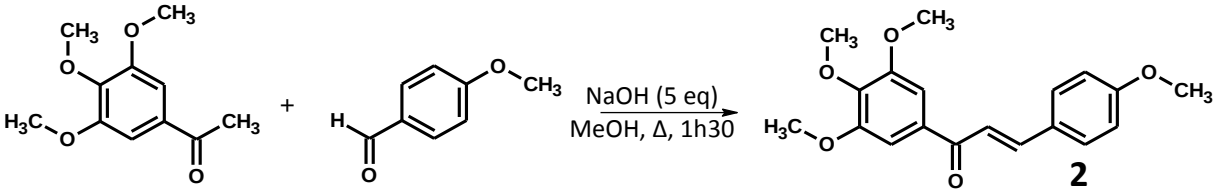


Figure 77. Schéma de synthèse de la 3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone.

1.2.1.4. Synthèse de la carboxychalcone 10

La synthèse de la carboxychalcone **10** est réalisée à partir de la chalcone **1**. Une première étape implique une *O*-alkylation afin d'introduire un bras espaceur possédant une fonction ester. Celle-ci est ensuite saponifiée pour donner une fonction acide carboxylique nécessaire au couplage avec une polyamine.

1.2.1.4.a. O-alkylation de la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone 1

Dans le cas présent, l'alkylation est réalisée selon la méthode de Williamson avec le 4-bromobutyrate d'éthyle (4BE). Cette substitution nucléophile (SN2) s'effectue dans le DMF, en présence d'un large excès de carbonate de potassium. Les différentes conditions expérimentales pour l'optimisation du protocole sont répertoriées dans le tableau 7. L'avancement de la réaction est contrôlé par un suivi CCM où la formation du composé **9** s'observe facilement puisque celui-ci est beaucoup plus apolaire que la chalcone **1**.

BY-NC-ND

Tableau 7. Conditions expérimentales pour l'alkylation de la chalcone **1**.

Essai	K_2CO_3 (eq)	$Br(CH_2)_3Br$ (eq)	Température (°C)	Temps de réaction	R (%)
1	20	10	TA	18h	100
2	20	10	TA	2h	100
3	10	2	120 (MO)	5 min	70

Les conditions de l'essai 2 sont optimales pour l'obtention de la chalcone **9**, de manière quantitative et sans purification (figure 78). L'essai 3, conduisant à la formation de produits secondaires après seulement 5 minutes de chauffage par irradiations microondes, n'est pas poursuivi. L'analyse RMN indique la présence d'hydrogènes aliphatiques correspondant à ceux de la chaîne butyrate.

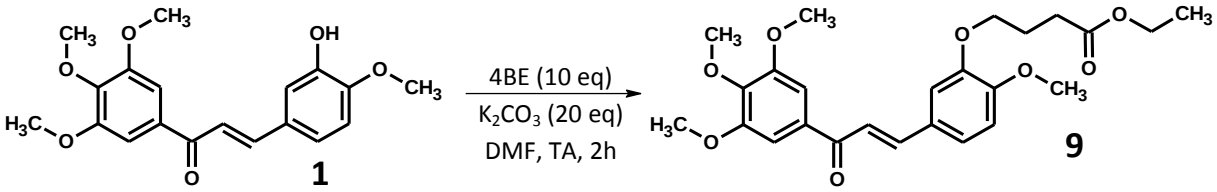


*Figure 78. O-alkylation de la chalcone **1** par le 4-bromobutyrate d'éthyle.*

1.2.1.4.b. Saponification de la fonction ester

La fonction acide carboxylique est obtenue par saponification de la fonction ester en présence d'une base. La réaction est optimisée en effectuant plusieurs essais selon les conditions expérimentales décrites dans le tableau 8.

Tableau 8. Mise au point du protocole de la saponification de la fonction ester.

Essais	Base	Quantité (eq)	Solvant	Température (°C)	Temps de réaction	R (%)
1	KOH	36	MeCN	Δ	1h	/
2	KOH	10	MeCN	Δ	1h	/
3	KOH	2	THF	TA	24h	92
4	KOH	5	THF	TA	6h	94
5	LiOH	2	THF/H_2O 8/2	TA	24h	70
6	LiOH	5	THF/H_2O 8/2	TA	6h	98

BY-NC-ND

Les deux premiers essais, menés avec KOH dans l'acétonitrile à reflux, conduisent à la dégradation du produit de départ. Le rendement optimal est obtenu en utilisant de l'hydroxyde de lithium (LiOH, 5 eq) dans un mélange THF/H_2O (8/2) avec un temps de réaction de 6h à température ambiante (figure 79). La saponification est confirmée par RMN ^1H avec la disparition des protons de la chaîne éthyle et par une analyse HRMS.

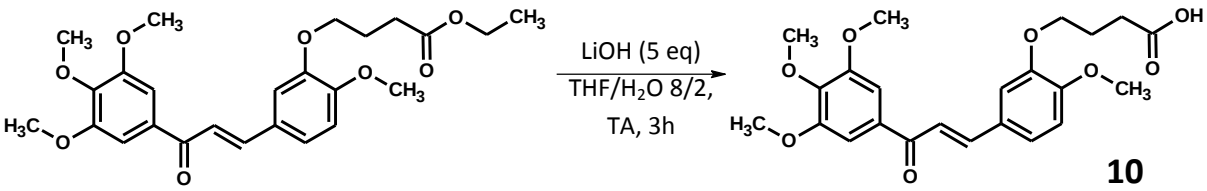


Figure 79. Saponification de la fonction ester par l'hydroxyde de lithium.

1.2.1.5. Synthèse de la carboxychalcone 15

Afin de pouvoir obtenir des conjugués chalcone-polyamine présentant un couplage en position 4, la carboxychalcone **15** doit être synthétisée (figure 80). Contrairement à la chalcone **1** qui est le réactif de départ pour l'obtention de la carboxychalcone **10**, la chalcone **2** n'est pas utilisée dans la voie de synthèse de la carboxychalcone **15**. Celle-ci peut être obtenue *via* deux voies de synthèse différentes.

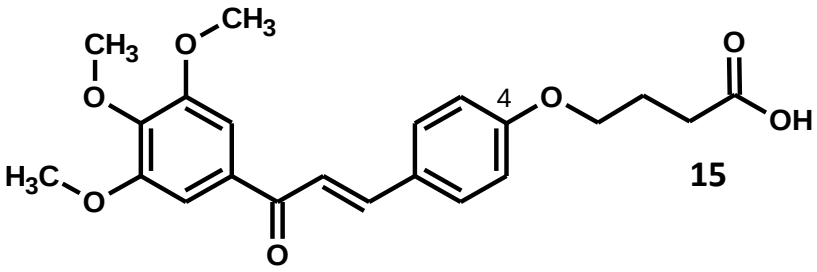


*Figure 80. Structure de la carboxychalcone **15**.*

BY-NC-ND

1.2.1.5.a. Première voie de synthèse

Une première stratégie consiste à utiliser la 4-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone **13** comme intermédiaire de synthèse. Comme les chalcones **1** et **2**, elle peut être obtenue par condensation de Claisen-Schmidt. Cependant, avant de réaliser cette condensation, le 4-hydroxybenzaldéhyde doit être protégé. En effet, l'effet mésomère donneur de l'hydroxyle en position 4 diminue le caractère électrophile du carbone de la fonction aldéhyde, limitant ainsi sa réactivité. La protection du 4-hydroxybenzaldéhyde se fait à l'aide du 3,4-dihydro-*2H*-pyrane (3,4-DHP) en présence d'un catalyseur, le pyridinium *p*-toluènesulfonate (PPTS), à température ambiante pendant 22h (figure 81).

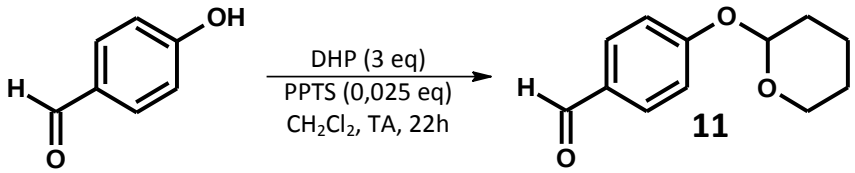


Figure 81. Protection du 4-hydroxybenzaldéhyde.

La réaction est suivie par CCM qui montre la consommation totale du 4-hydroxybenzaldéhyde et la formation du benzaldéhyde protégé **11** ; celui-ci est obtenu avec un rendement quantitatif et sans purification (structure confirmée par HRMS). Ce benzaldéhyde est alors condensé avec la 3',4',5'-triméthoxyacétophénone (figure 82). Les conditions opératoires sont les mêmes que celles utilisées précédemment à l'exception de la base qui est ici l'hydroxyde de baryum.

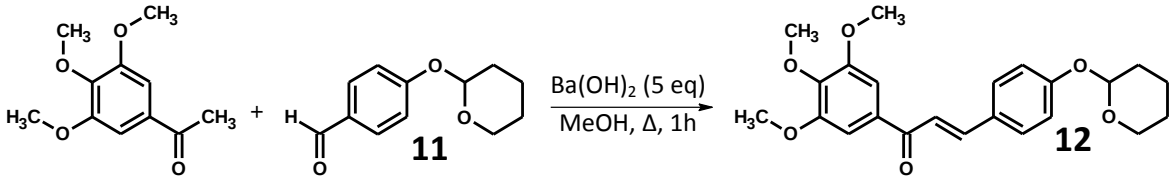


*Figure 82. Condensation de Claisen-Schmidt pour la chalcone **12**.*

La chalcone est obtenue, après purification, avec un rendement de 77% ; sa structure est confirmée par HRMS. Elle est alors mise à réagir avec l'acide *para*-toluène sulfonique (APTS) afin de libérer la fonction phénol (figure 83). La chalcone **13** est alors obtenu avec un rendement de 88% après purification sur plaques préparatives de silice. La structure est confirmée par RMN ^{1}H et par HRMS.

BY-NC-ND

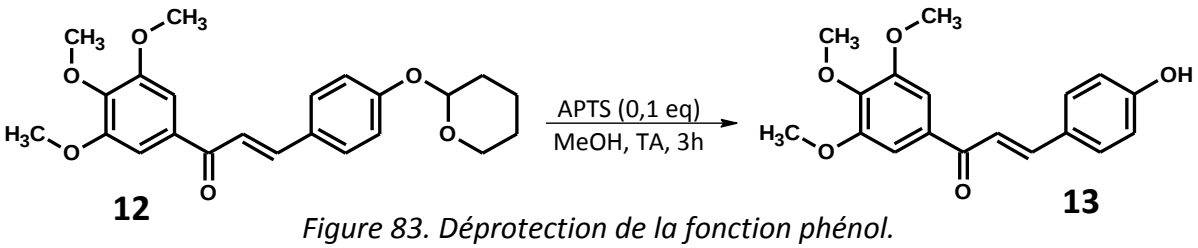


Figure 83. Déprotection de la fonction phénol.

Ainsi, la synthèse de la 4-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone **13** nécessite donc trois étapes avec un rendement global de 67%. Elle est ensuite mise à réagir en présence de 4-bromobutyrate d'éthyle (4BE, figure 84).

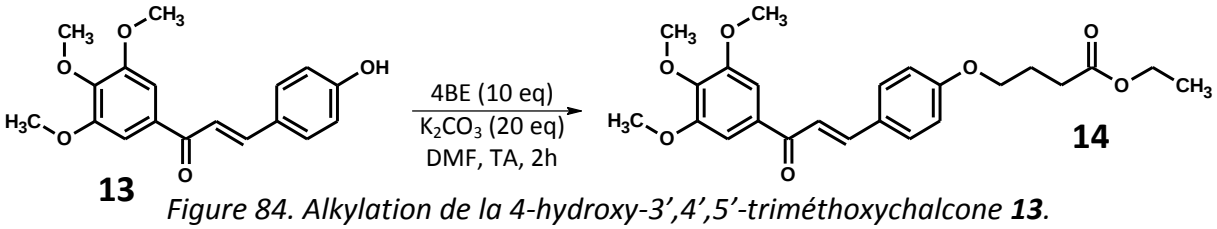


*Figure 84. Alkylation de la 4-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone **13**.*

La chalcone **14** est obtenue avec un rendement quantitatif (99%) sans purification, l'analyse RMN ^{1}H indique la présence de protons aliphatiques correspondant aux hydrogènes de la chaîne butyrate. La dernière étape de la synthèse de la carboxychalcone **15** correspond à la saponification de la fonction ester par l'hydroxyde de lithium (figure 85). Le rendement de cette dernière étape est de 68% et n'a pas été optimisé.

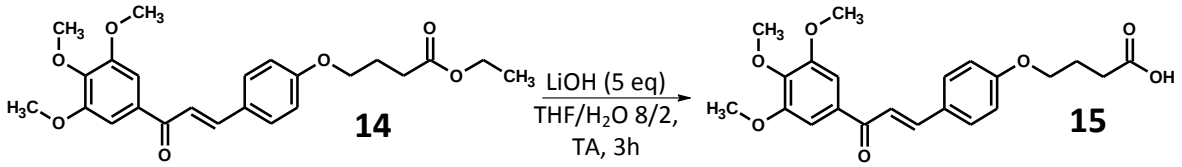


*Figure 85. Saponification de la fonction ester de la chalcone **14**.*

Le spectre RMN ^{1}H indique que la réaction de saponification a bien eu lieu puisque les protons de la chaîne éthyle sont absents. La structure est également confirmée par HRMS.

La synthèse de la carboxychalcone **15** implique donc cinq étapes réactionnelles pour un rendement global de 45%. Aussi, une deuxième voie de synthèse est explorée afin de réduire le nombre d'étapes. Avant de décrire cette autre voie, nous allons préciser certaines données de RMN pour les chalcones **13**, **14** et **15**.

BY-NC-ND

Les figures 86 et 87 illustrent la superposition des spectres RMN ^{1}H ($CDCl_3$) des chalcones **13** (vert), **14** (rouge) et **15** (bleu) ; la figure 86 présente la zone des hydrogènes aromatiques, nous pouvons constater que ces trois spectres sont globalement identiques (l'hydroxyle de **13** n'est pas visible car son déplacement est à 5,75 ppm, sous forme de singulet intégrant pour 0,98 H).

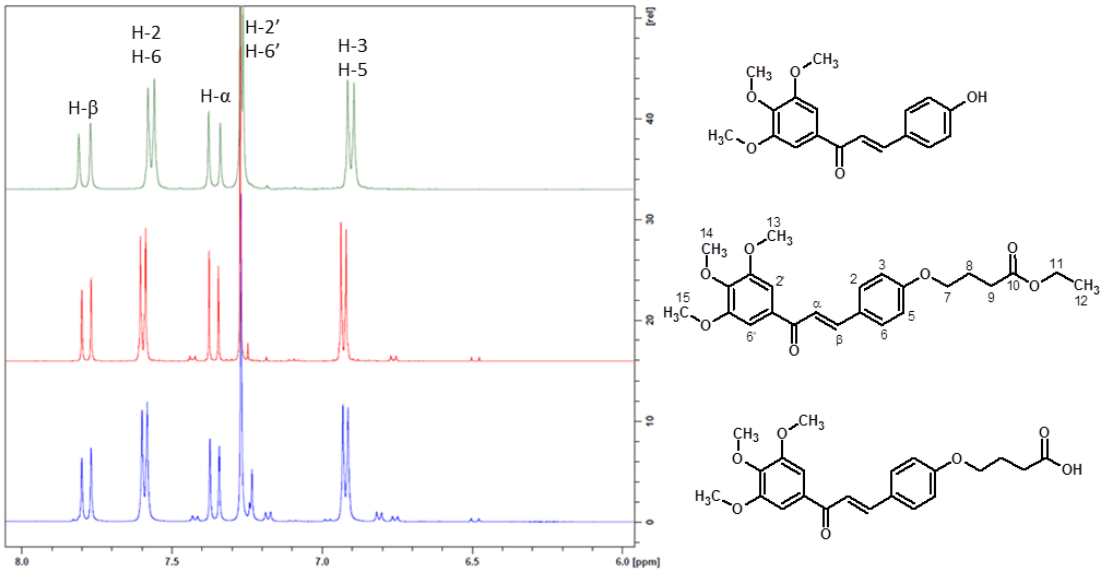


*Figure 86. Superposition des spectres RMN ^{1}H des chalcones **13**, **14** et **15** (partie aromatique)*

Sur la figure 87, nous pouvons voir que le spectre de **13** ne comporte aucun signal dans la partie aliphatique ; les spectres de **14** et **15** sont identiques à l'exception des signaux de la chaîne éthyle de **14** : le quadruplet à 4,16 ppm et le triplet à 1,26 ppm correspondent au CH_2 (H-11) et au CH_3 (H-12) respectivement.

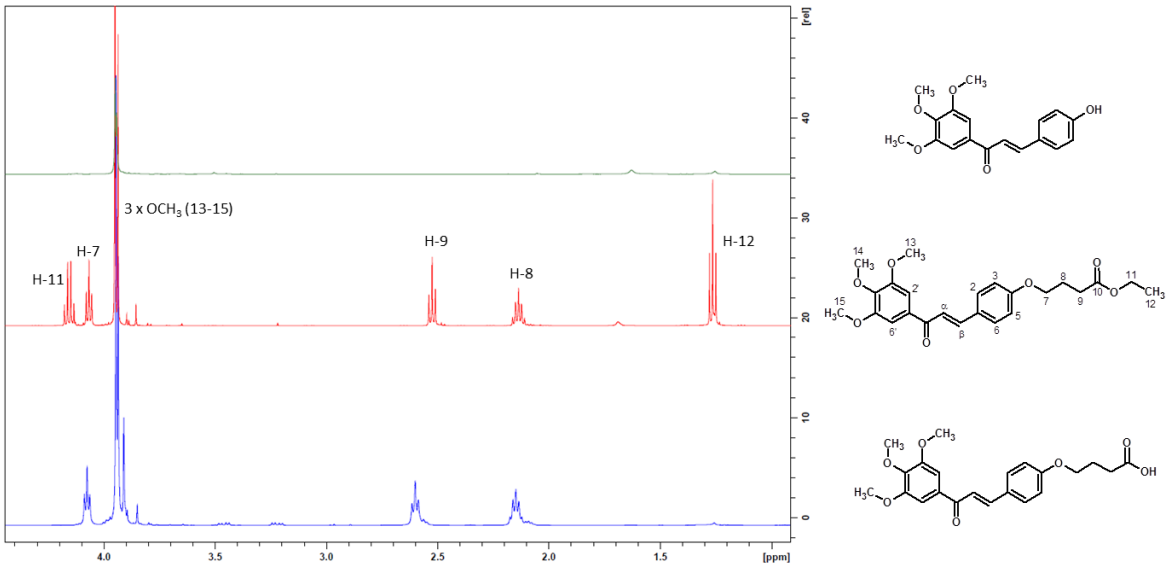


*Figure 87. Superposition des spectres RMN ^{1}H des chalcones **13**, **14** et **15** (partie aliphatique)*

BY-NC-ND

1.2.1.5.b. Deuxième voie de synthèse

Cette seconde voie de synthèse consiste à effectuer tout d'abord l'alkylation du 4-hydroxybenzaldéhyde, puis la condensation de Claisen-Schmidt et enfin la saponification de la fonction ester. L'alkylation du 4-hydroxybenzaldéhyde se déroule à température ambiante avec le 4BE, en présence de carbonate de potassium (figure 88), et est suivie par CCM.

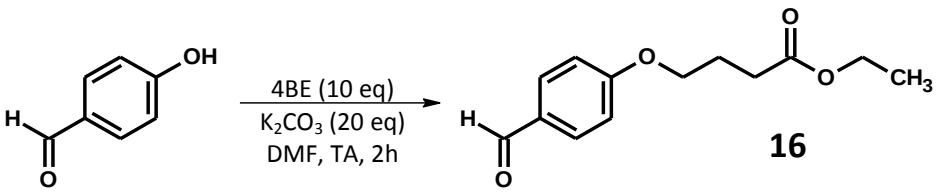


Figure 88. Alkylation du 4-hydroxybenzaldéhyde.

Le benzaldéhyde *O*-alkylé **16**, obtenu avec un rendement quasi quantitatif (98%, sans purification, structure confirmée par RMN ^{1}H et HRMS), est condensé avec la 3',4',5'-triméthoxyacétophénone en présence de NaOH (5 eq), dans le méthanol à reflux. Après une heure de réaction et purification sur plaques préparatives de silice, la chalcone **15** est directement obtenue avec un rendement de 58%. En effet, les conditions alcalines permettent de réaliser la condensation de Claisen-Schmidt mais également la saponification de la fonction ester (figure 89). La structure de la carboxychalcone **15** est confirmée par analyse RMN ^{1}H.

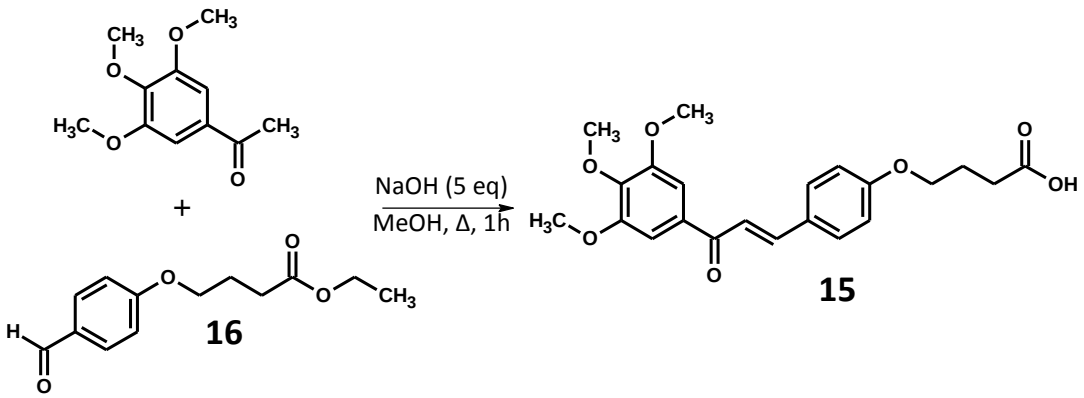


Figure 89. Synthèse de la 4-carboxychalcone.

En résumé, la carboxychalcone **15** est obtenue avec un rendement global de 57% à l'issue d'une synthèse impliquant seulement deux étapes.

BY-NC-ND

Deux carboxychalcones (figure 90) sont à présent disponibles pour réaliser les couplages avec les motifs polyaminés.

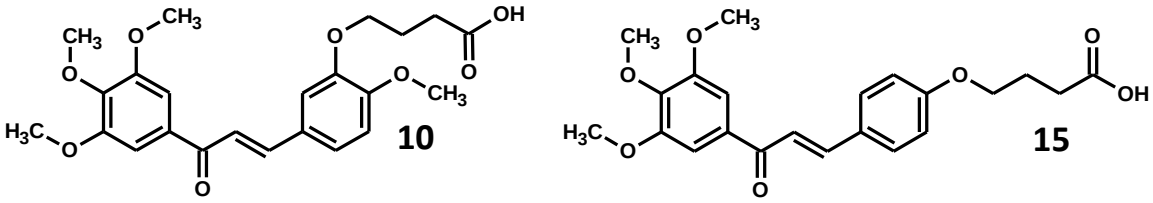


Figure 90. Structures des deux carboxychalcones.

1.2.1.6. Couplages entre les chalcones et les polyamines

Un couplage de type « peptidique » entre une fonction acide carboxylique et une fonction amine primaire est réalisé. Pour cela, deux agents de couplage classiquement décrits sont employés : le N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et l'hydroxybenzotriazole (HOBt) [250] (figure 91). Ils vont permettre le couplage entre une carboxychalcone et une polyamine.

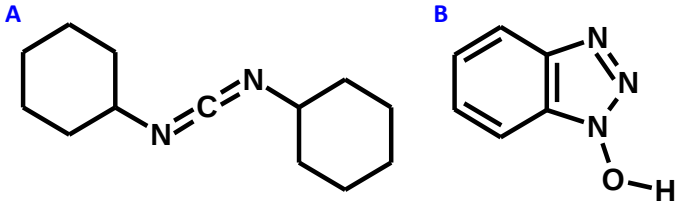
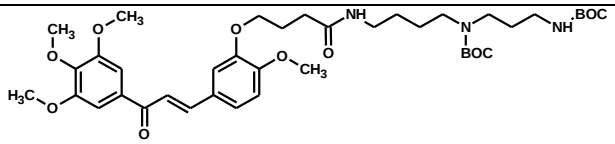
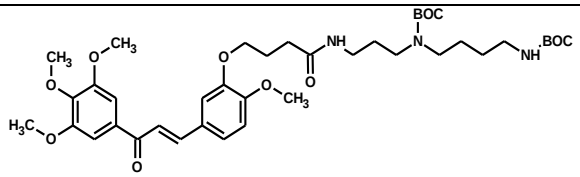
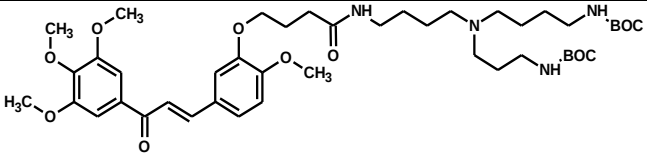
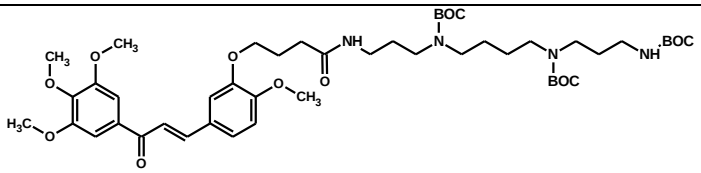
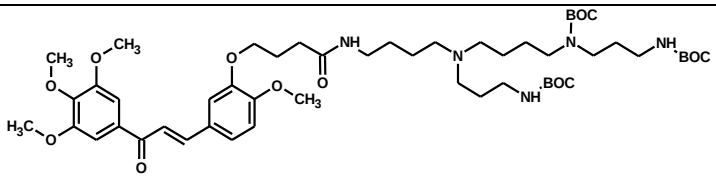
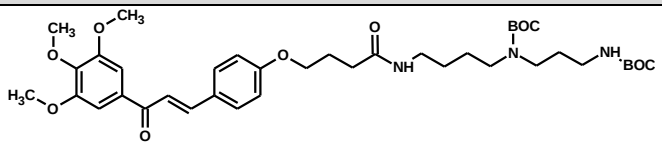
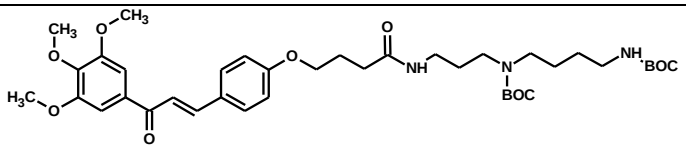
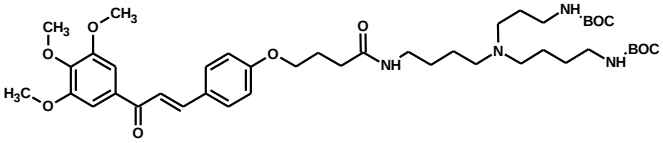
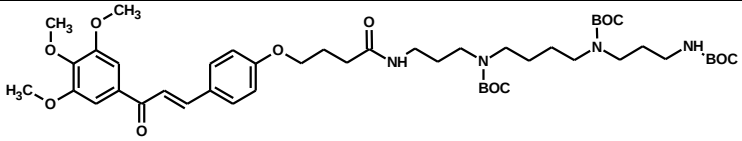
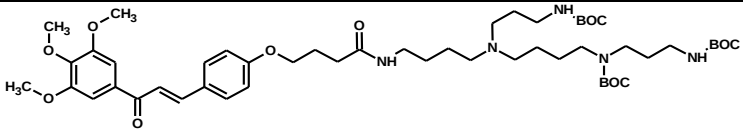


Figure 91. Structures du DCC (A) et de l'HOBt (B).

Le couplage se déroule à température ambiante, dans un mélange CH_2Cl_2/MeOH (9/1) et nécessite plusieurs heures de réaction (de 4 à 8h selon les motifs polyaminés). La polyamine protégée, le DCC et l'HOBt sont introduits en léger excès (1,1eq de manière générale) par rapport à la chalcone. L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant comme phase mobile un mélange $CHCl_3$/MeOH associé ou non à de l'ammoniaque (NH_4OH). Le couplage est confirmé, dans un premier temps, par la révélation à la ninhydrine sur CCM des composés formés, puis dans un second temps et après purification sur plaques préparatives de silice, par les analyses RMN ^1H. Celles-ci indiquent l'apparition de signaux (multiplets en général), correspondant à des protons aliphatiques (chaîne polyaminée), et de singulets, aux alentours de 1,40 ppm, intégrant au total pour 18 ou 27 protons. Ces singulets correspondent aux CH_3 des Boc. Les structures sont également confirmées par HRMS. Les dix conjugués protégés obtenus sont décrits dans le tableau 9. La figure 92 illustre un exemple de cette réaction à travers la synthèse du conjugué **17a**.

BY-NC-ND

Tableau 9. Structures et rendements des conjugués chalcone-polyamine protégés.

Série	Motif	Composé	R (%)
17	**a**		77
	b		88
	c		88
	d		96
	e		87
18	**a**		68
	b		64
	c		64
	d		32*
	e		68

*Le rendement du couplage conduisant au conjugué **18d** n'a pas été optimisé car une masse suffisante de ce composé a néanmoins été obtenue.

BY-NC-ND

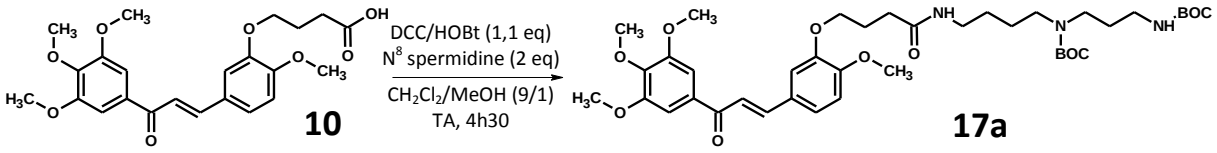


*Figure 92. Illustration du couplage chalcone-polyamine par le système DCC/HOBt : Synthèse du conjugué **17a**.*

Le DCC et l'HOBt permettent l'activation du couplage *via* la création de complexes successifs (complexes A et B, figure 93). Le mécanisme d'activation par le système DCC/HOBt est décrit à la figure 93. Le DCC agit sur l'acide carboxylique de la chalcone pour former le complexe A : une *O*-acyl-isourée. Ce complexe réagit ensuite rapidement avec le HOBt, qui est un très bon nucléophile, pour former un ester très réactif : le complexe B. Celui-ci peut finalement réagir avec la fonction amine primaire d'un dérivé polyaminé pour former le conjugué chalcone-polyamine. La dicyclohexylurée, formée simultanément avec le complexe B, est éliminée par filtration après une précipitation dans l'EtOAc à froid.

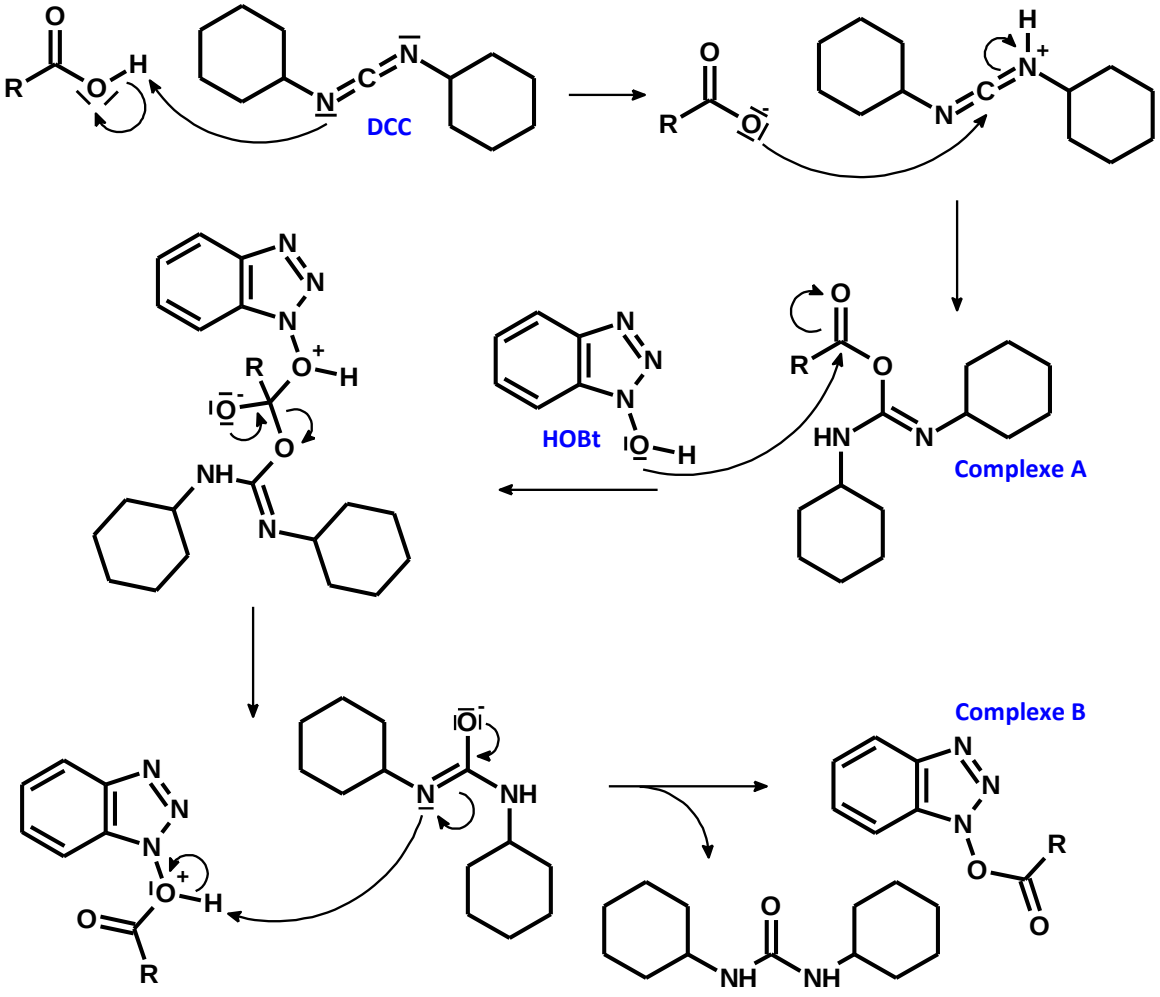


Figure 93. Mécanisme d'activation par le système DCC/HOBt, R = chalcone.

BY-NC-ND

1.2.1.7. Déprotection des fonctions amines

Afin d'obtenir des fonctions amines libres, les groupements Boc doivent être éliminés. Le premier conjugué sur lequel la déprotection est mise au point est le composé **17c**. Les conditions de déprotection les plus courantes emploient généralement l'acide trifluoroacétique (TFA) [230]. Néanmoins, les premiers essais utilisant le TFA ont abouti à la dégradation du produit de départ. De nouvelles conditions ont été explorées (tableau 10) : le nitrate de cérium et d'ammonium (CAN) [271] dans différents solvants, ou encore l'acide chlorhydrique (HCl) [272].

Tableau 10. Différentes conditions de déprotections testées pour le composé **17c**.

Essais	Acide	Quantité (eq)	Solvant	Température (°C)	Résultat
1	TFA [230]	1220	CH_2Cl_2	TA	Dégradation
2	TFA	25,5	CH_2Cl_2	TA	Dégradation
3	TFA	12	CH_2Cl_2	0°C-TA	Dégradation
4	TFA	2	CH_2Cl_2	0°C-TA	Dégradation
5	TFA	2	CH_2Cl_2	Δ	Dégradation
6	CAN [271]	0,2	MeOH	Δ	Dégradation
7	CAN	1	MeCN	Δ	Dégradation
8	CAN	0,2	Dioxane	0°C-TA	Pas de réaction
9	HCl [272]	80	Dioxane	0°C	Pas de réaction
10	HCl	2	EtOH	0°C-TA	Pas de réaction
11	HCl	10	EtOH	TA	Pas de réaction
12	HCl	2	EtOH	Δ	Produit impur
13	HCl	4	EtOH	Δ	Produit impur
14	HCl	10	EtOH	Δ	Produit impur
15	HCl	13	EtOH	Δ	R =82%

BY-NC-ND

Tous les essais avec le TFA ont conduit à la dégradation du produit de départ, quels que soient la température ou le nombre d'équivalents employés. L'utilisation de CAN a entraîné la dégradation du composé protégé lors des essais à reflux ; une absence de réaction est à noter dans l'essai 8 réalisé à 0°C puis à TA. L'emploi d'HCl sans chauffage (essais 9-11) n'entraîne pas la consommation du conjugué chalcone-polyamine. En revanche, un chauffage à reflux permet la déprotection du conjugué ; une optimisation quant au nombre d'équivalents est menée ; les conditions optimales sont les suivantes : HCl 13 eq, EtOH à reflux.

Ces conditions optimales ont été appliquées à l'ensemble des réactions de déprotection des conjugués chalcone-polyamine protégés (**17a-e** et **18a-e**), la figure 94 A présente la synthèse du conjugué **20a** par déprotection du conjugué **18a** ; la figure 94 B illustre la déprotection de **18a** grâce à la superposition des spectres RMN ^{1}H (parties aliphatiques) des conjugués **18a** et **20a** : nous observons la disparition des signaux des groupements Boc. Les dix conjugués (**19a-e** et **20a-e**, tableau 11) sont obtenus après une heure de réaction avec des rendements variant entre 33 et 95%, ces variations s'expliquant par les éléments suivants. Un temps de chauffage supérieur à une heure entraîne la dégradation des conjugués déprotégés ; la réaction est donc parfois arrêtée avant la consommation totale du composé protégé afin de limiter cette dégradation. Par ailleurs, les produits sont purifiés sur plaques préparatives de silice avec une phase mobile composée d'un mélange $CHCl_3$/MeOH/NH_4OH (45/45/10 dans la majorité des cas). Les conjugués déprotégés étant particulièrement polaires (ils sont notamment solubles dans l'eau), un système d'élution à base de MeOH/NH_4OH (5/5) est nécessaire pour éluer une majorité de produit purifié. Les analyses RMN ^{1}H indiquent la disparition des singulets des CH_3 des groupements Boc ; les structures sont également confirmées par HRMS.

BY-NC-ND

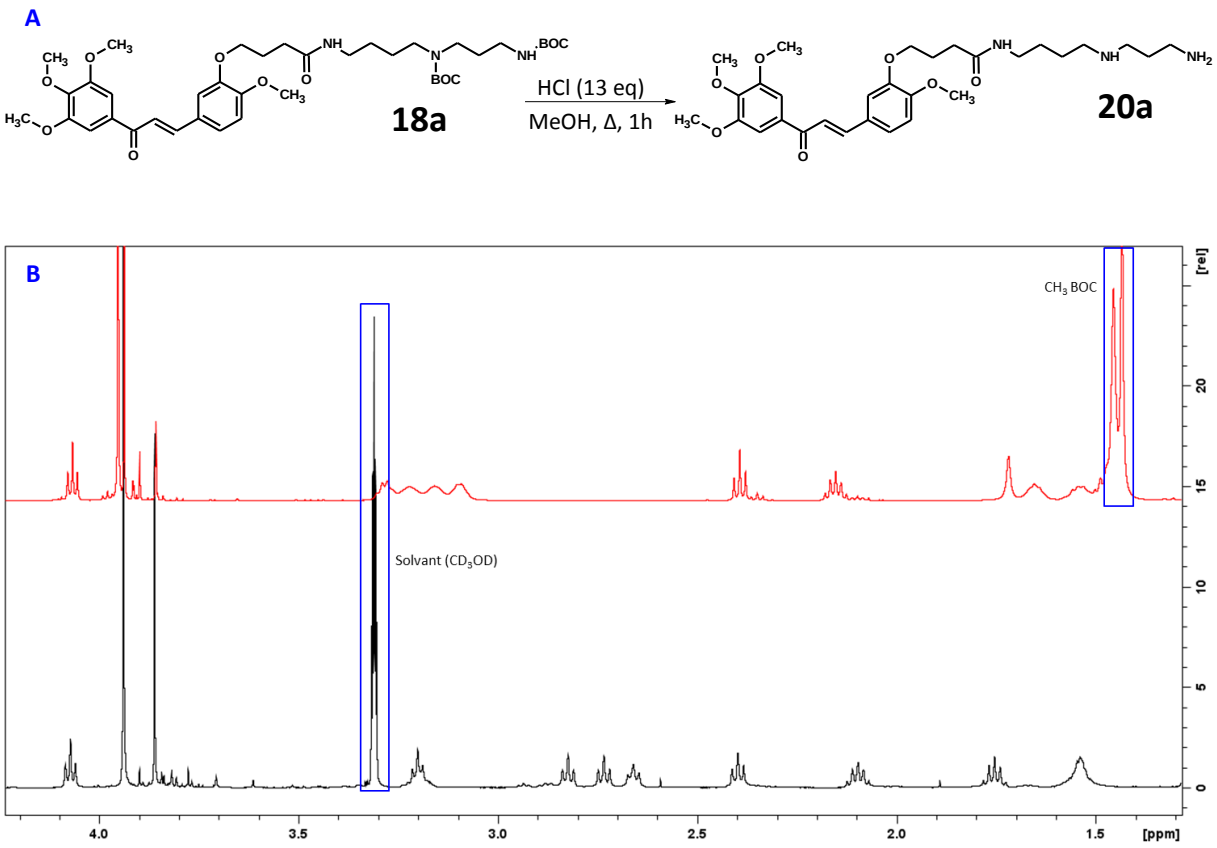
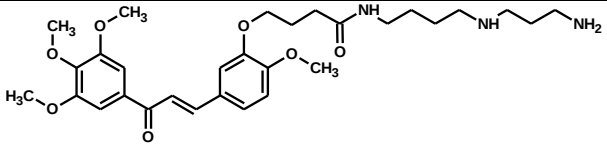
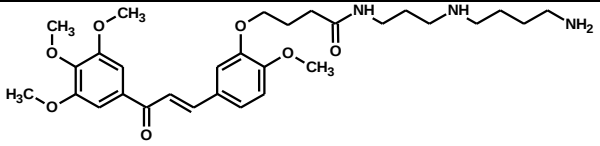
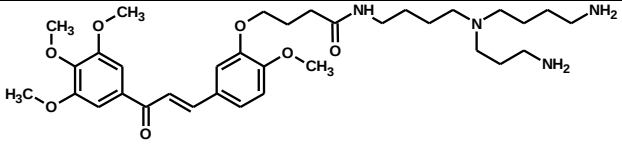
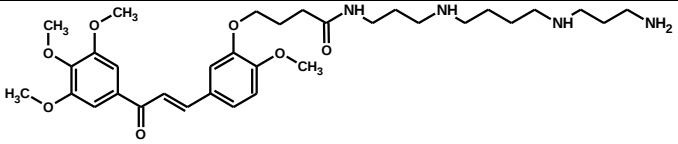
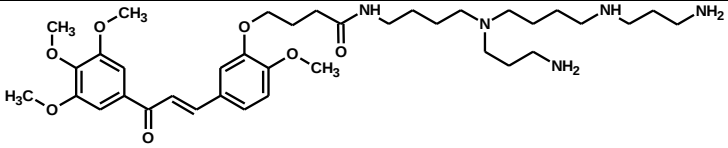
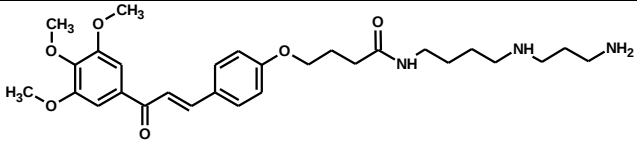
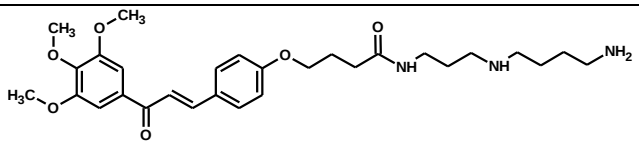
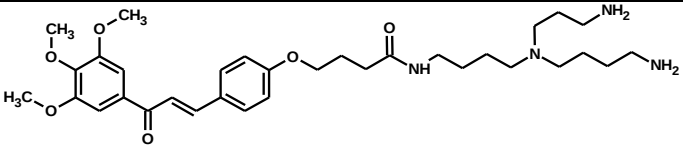
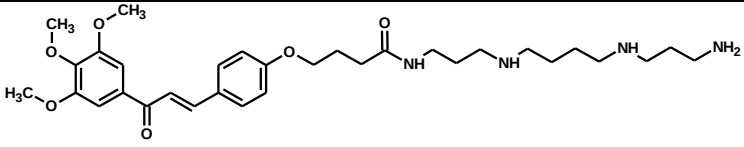
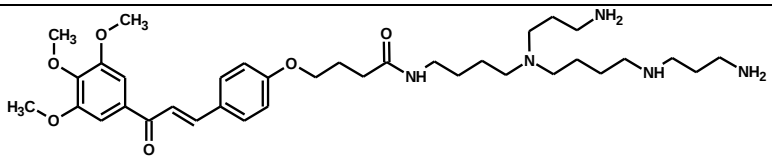


*Figure 94. Synthèse du conjugué **20a** (A) ; illustration de la déprotection de **18a** : disparition des signaux des CH_3 Boc (B).*

BY-NC-ND

Tableau 11. Structures des conjugués chalcone-polyamine possédant un linker amide.

Série	Motif	Composé	R (%)
19	a		74
	b		95
	c		82
	d		54
	e		49
20	a		56
	b		54
	c		38
	d		45
	e		33

BY-NC-ND

1.2.2. Synthèses *via* un linker amine

Dans le but de déterminer l'influence de la nature du linker, la liaison amide est remplacée par un couplage amino-alcane (figure 95). Les synthèses développées dans ce cadre concernent deux motifs polyaminés : la spermine linéaire et la spermidine linéaire N[8].

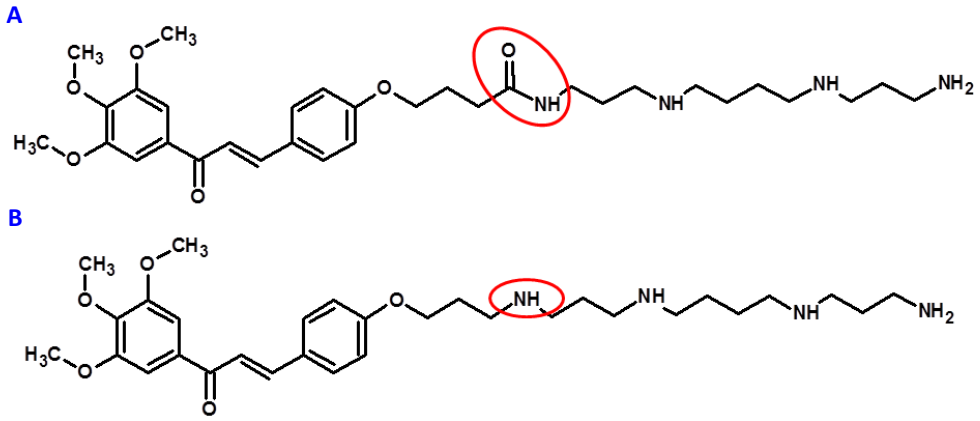


*Figure 95. Structure des composés **20d** (A) et **26** (B).*

La synthèse de ces conjugués est basée sur le schéma rétrosynthétique ci-dessous (figure 96). Ce schéma correspond au conjugué chalcone-spermine (composé **26**).

BY-NC-ND

1.2.2.1. Stratégie de synthèse

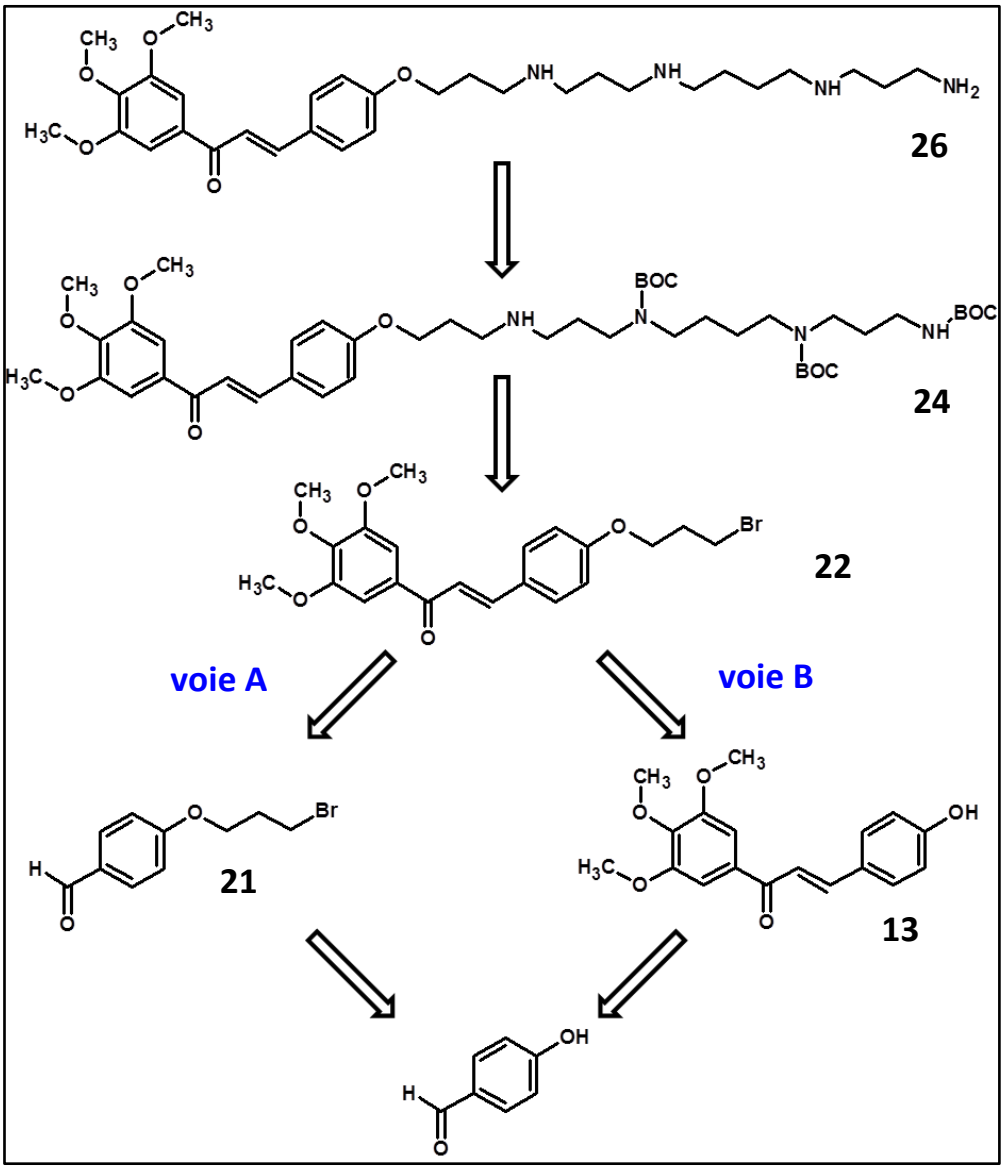


*Figure 96. Schéma rétrosynthétique du composé **26**.*

Notre stratégie repose sur l'utilisation du 1,3-dibromopropane ; elle permet d'obtenir la chalcone **22**, qui présente donc un bras espaceur à trois carbones et un atome de brome terminal. Ce dernier peut alors être substitué par une fonction amine d'un motif polyaminé *via* une réaction de SN2. Comme pour la synthèse de la carboxychalcone **15**, deux voies sont possibles pour obtenir la chalcone **22**. La première (voie A) concerne l'alkylation du 4-hydroxybenzaldhéyde avant d'effectuer la condensation de Claisen-Schmidt, la seconde (voie B) implique une *O*-alkylation de la chalcone **13** par le 1,3-dibromopropane.

BY-NC-ND

1.2.2.2. Première voie de synthèse de la chalcone 22

1.2.2.2.a. Alkylation du 4-hydroxybenzaldéhyde

Le 4-hydroxybenzaldéhyde est mis à réagir avec le 1,3-dibromopropane (10 eq) et du carbonate de potassium (2 eq) dans le DMF (figure 97). La réaction, suivie par CCM, est conduite durant deux heures à température ambiante. Après purification par chromatographie flash, le benzaldéhyde *O*-alkylé est obtenu avec un rendement de 49%.

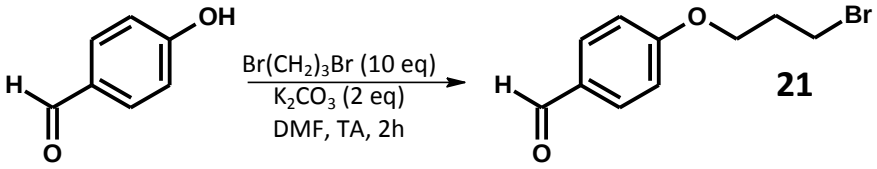


Figure 97. Alkylation du 4-hydroxybenzaldéhyde par le 1,3-dibromopropane.

1.2.2.2.b. Condensation de Claisen-Schmidt

La 3',4',5'-triméthoxyacétophénone est mise à réagir avec le benzaldéhyde *O*-alkylé (1,2 eq) selon les conditions optimales définies précédemment, à savoir : la soude (5 eq) dans le méthanol à reflux. La réaction est menée pendant 2h30 et après purification, un nouveau composé est obtenu avec un rendement de 21%. Les analyses RMN ^{1}H, ^{13}C et HSQC révèlent que le composé obtenu n'est pas la chalcone attendue. En réalité, les conditions alcalines ont provoqué la substitution de l'atome de brome par un groupement méthoxy issu d'une molécule de méthanol (figure 98).

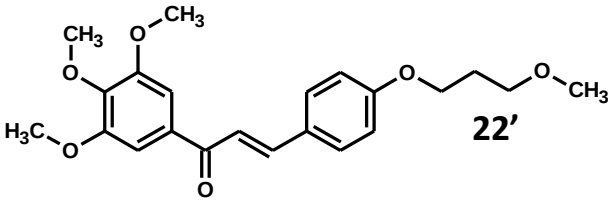


*Figure 98. Chalcone **22'** formée lors du premier essai de condensation de Claisen-Schmidt.*

Afin d'éviter cette substitution, le solvant de la réaction est modifié : l'acétone, solvant non protique, est utilisée mais une dégradation totale du milieu réactionnel est observée. De nouveaux essais (tableau 12) utilisant d'autres solvants (H_2O, THF/H_2O) sont menés. L'utilisation du mélange THF/H_2O (8/2) permet d'obtenir le produit attendu (figure 99) mais avec un faible rendement (R = 12%, structure confirmée par HRMS). En effet, l'acétophénone n'est pas entièrement consommée ; de plus, la purification est délicate car la chalcone finale et l'acétophénone ont le même comportement chromatographique.

BY-NC-ND

Tableau 12. Conditions opératoires pour la synthèse de la chalcone **22**.

Essais	Acétophénone (eq)	Benzaldéhyde (eq)	Base (eq)	Solvant	R (%)
1	1	1,2	5	MeOH	/
2	1	1,2	5	Acétone	/
3	1	1,2	5	H_2O	/
4	1	1,2	5	THF/H_2O	12

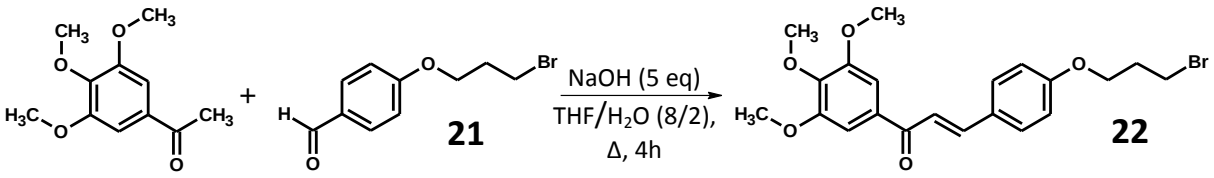


Figure 99. Synthèse de la chalcone bromée par condensation de Claisen-Schmidt.

Les difficultés rencontrées dans cette synthèse justifient la mise au point d'une autre stratégie.

1.2.2.3. Deuxième voie de synthèse de la chalcone 22

Cette voie de synthèse implique l'utilisation de la 4-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone **13** en tant qu'intermédiaire réactionnel. La synthèse de cette chalcone a été décrite précédemment (figure 83 p107). La chalcone **22** est obtenue après *O*-alkylation de la chalcone **13**, avec un très bon rendement (96%). Cette alkylation se déroule à température ambiante dans le DMF pendant 2h en présence de 1,3-dibromopropane (10 eq) et de carbonate de potassium (2 eq, figure 100) et est suivie par CCM.

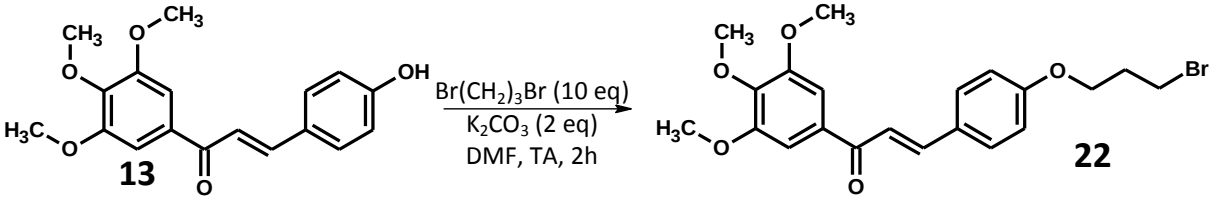


Figure 100. Alkylation de la 4-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone.

La synthèse de la chalcone bromée comporte certes un nombre important d'étapes mais le rendement reste satisfaisant. Les couplages entre cette chalcone bromée et les motifs polyaminés retenus, à savoir la spermine et la spermidine N[8], peuvent donc être effectués.

BY-NC-ND

1.2.2.4. Couplage avec la spermidine N^8 et la spermine linéaires

Pour réaliser la substitution nucléophile, la chalcone bromée est mise à réagir avec la polyamine correspondante en présence de K_2CO_3 (4 eq) (figure 101) ; la réaction est suivie par CCM et les conjugués aminés sont révélés à la ninhydrine.

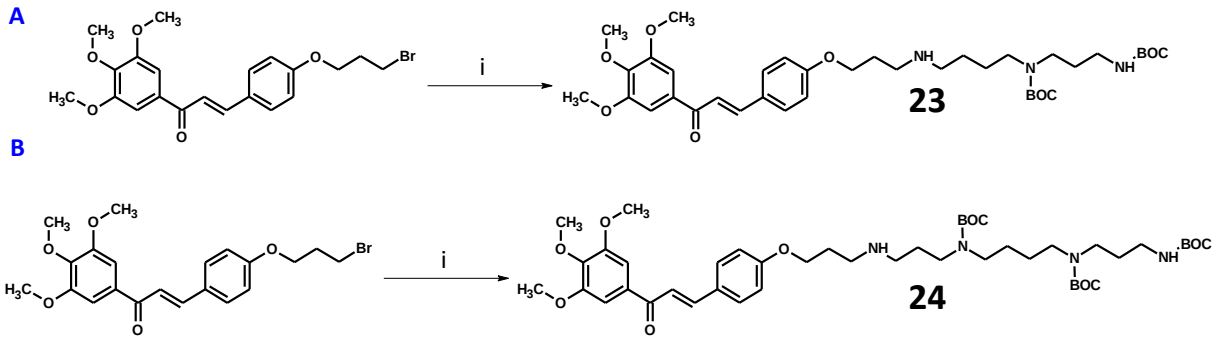


Figure 101. Couplage chalcone-spermidine N^8 (A) et chalcone-spermine (B)
i : polyamine correspondante (2 eq), K_2CO_3 (4 eq), MeCN, 90°C MO, 1h.

Parmi les différents essais de couplage effectués avec la spermidine N^8, le meilleur rendement obtenu est de 50%. Dans le cas de la spermine, le rendement optimal est de 45%. Les différentes conditions opératoires employées sont détaillées dans le tableau 13.

Tableau 13. Conditions opératoires pour la synthèse des conjugués **23** et **24**.

Molécule	Essai	Polyamine (eq)	Solvant	Température (°C)	Temps de réaction	R (%)
23	1	3	DMF	Δ	6h	/
	2	1,1	MeCN	90 (MO)	40 min (20 x 2 min)	18
	3	2	MeCN	90 (MO)	40 min (5 x 8 min)	50
	4	2	MeCN	90 (MO)	56 min (7 x 8 min)	50
24	1	1,1	MeCN	90 (MO)	48 min (7 x 8 min)	16
	2	2	MeCN	90 (MO)	64 min (8 x 8 min)	45

Les conditions dans le DMF n'entraînent pas la consommation de la chalcone de départ. Les essais suivants sont conduits par irradiation microondes dans MeCN ; les rendements modérés de cette substitution s'expliquent par le fait que la chalcone bromée n'est pas entièrement consommée. L'augmentation du temps de chauffage n'a pas d'incidence sur l'évolution de la réaction (essai 3 *vs* 4 pour le conjugué **23**). En revanche, un excès de polyamine (2 eq minimum) est nécessaire à la réalisation du couplage (essai 2 *vs* 3

BY-NC-ND

pour le conjugué **23** ; essai 1 *vs* 2 pour le conjugué **24**). Les conjugués sont purifiés sur plaques préparatives de silice employant comme éluant un mélange $CHCl_3$/MeOH associé ou non à de l'ammoniaque (NH_4OH). Les structures des conjugués **23** et **24** sont confirmées par analyses RMN ^1H et par HRMS. La RMN du proton indique la présence de singulets aux alentours de 1,44 ppm ; ces signaux correspondent aux CH_3 des groupements Boc.

1.2.2.5. Déprotection des fonctions amines

Afin d'obtenir les conjugués finaux, la déprotection des fonctions amines à l'aide de l'acide chlorhydrique (13 eq), dans l'éthanol à reflux pendant une heure est réalisée (figure 102). A l'issue de la réaction, les conjugués sont purifiés sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 40/45/15). Néanmoins, le composé **25** ne peut être isolé : un produit formé semble correspondre au comportement chromatographique attendu mais l'élution lors de la purification ne permet pas de récupérer le conjugué. La forte polarité du composé peut expliquer ces difficultés d'élution. Le conjugué **26** est quant à lui synthétisé avec un rendement maximal de 16% ; des difficultés d'élution semblables sont également rencontrées pour ce composé. Afin de remédier à ce problème, l'utilisation d'une chromatographie par phase inverse pourrait être envisagée. L'analyse RMN ^1H indique bien la disparition des groupements Boc, une analyse HRMS confirme également la structure du conjugué **26**.

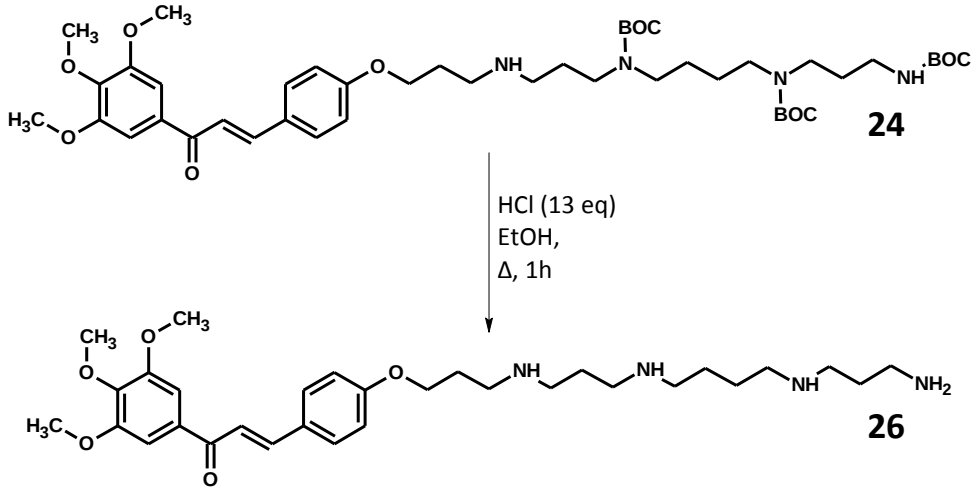


*Figure 102. Synthèse du conjugué **26** par déprotection des fonctions amines.*

BY-NC-ND

1.2.2.6. Travaux préliminaires à la synthèse de nouveaux conjugués « amino-alcane »

Dans le but de poursuivre la synthèse de conjugués de type « amino-alcane »selon la stratégie précédente, la chalcone **1** est utilisée comme intermédiaire réactionnel. L'alkylation de cette chalcone par le 1,3-dibromopropane (5 eq) dans le DMF en présence de K_2CO_3 pendant 3h conduit à la chalcone **27** (R=64%, figure 103) mais également à un produit secondaire dont le comportement chromatographique est très semblable. La purification est donc rendue délicate et la chalcone **27** n'est pas obtenue avec une pureté satisfaisante, le rendement précédent est ainsi faussé. L'analyse des spectres RMN ^1H a néanmoins permis d'identifier le produit secondaire : il s'agit du composé **27'**, issu de la déshydrohalogénation de la chalcone **27** (figure 103). Plusieurs essais sont menés afin de limiter, voire prévenir la formation de la chalcone **27'**. La réduction de la quantité de K_2CO_3 à 2 eq augmente le temps de réaction mais diminue la quantité de chalcone secondaire **27'** formée. La chalcone **27** peut alors être obtenue avec une meilleure pureté, avec un rendement de 57%.

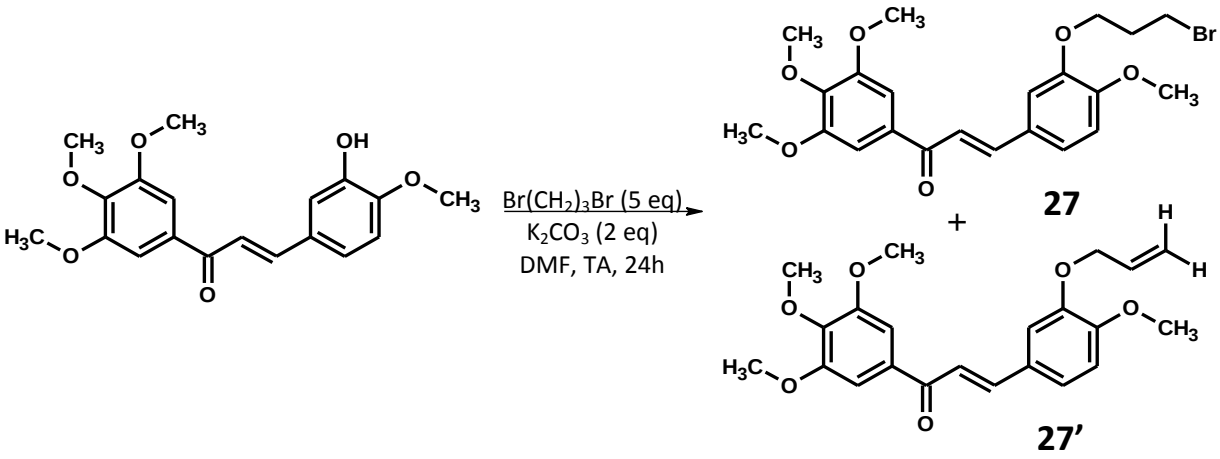


*Figure 103. Synthèse de la chalcone **27**.*

Pour contourner ce problème, une autre stratégie est envisagée : l'alkylation du 3-hydroxy-4-méthoxybenzaldéhyde par le 1,3-dibromopropane avant d'effectuer la condensation de Claisen-Schmidt sur la 3',4',5'-triméthoxyacétophénone. Malheureusement, la réaction de déshydrohalogénation se produit également sur le benzaldéhyde attendu **28**. Il n'est donc pas pertinent de poursuivre cette voie de synthèse.

BY-NC-ND

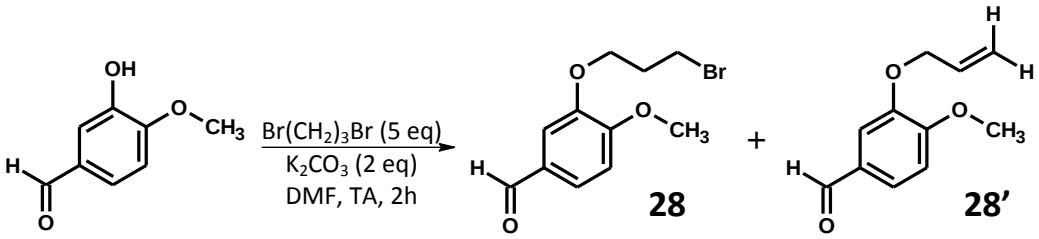


*Figure 104. Synthèse du benzaldéhyde **28**.*

La synthèse de la chalcone **27** par *O*-alkylation de la chalcone **1** reste à optimiser avant d'envisager un couplage avec des motifs polyaminés, de manière analogue au composé **22** ; ainsi, de nouveaux conjugués chalcone-polyamine de type « amino-alcane » pourront être obtenus.

BY-NC-ND

1.3. Vectorisation de chalcones par des nanoobjets de type complexes β-cyclodextrines – nanocristaux de cellulose

L'objectif de ce travail est la vectorisation de chalcones préalablement synthétisées, à l'aide d'un nanovecteur d'origine naturelle constitué de nanocristaux de cellulose. Cette stratégie de vectorisation, dite passive, se base sur l'effet EPR ; elle diffère donc du principe de ciblage actif par des polyamines utilisé précédemment. L'étude présentée dans cette partie a été réalisée en collaboration avec le Docteur Ndong Ntoutoume, dont les travaux de thèse ont porté essentiellement sur la vectorisation de curcuminoïdes [235, 265]. Après avoir détaillé le choix de nos principes actifs, nous décrirons la préparation des nanocristaux de cellulose (**CNCx**), leur fonctionnalisation par la β-cyclodextrine (**β-CD**), puis l'encapsulation des chalcones dans le complexe **β-CD/CNCx**.

1.3.1. Les cyclodextrines, rappels bibliographiques

Les cyclodextrines, notées CD(s), sont des oligomères cycliques naturels issus de la dégradation de l'amidon (sous-produits minoritaires), notamment par la bactérie *Bacillus amylobacter*. La première description d'une cyclodextrine date de 1891 [273]. Les cyclodextrines les plus connues et utilisées sont les α, β et γ-cyclodextrines (figure 105). Elles sont composées d'unités glucopyranoses $C_6H_{10}O_5$ liées en α-1,4 et comportent respectivement 6, 7 et 8 unités. Du fait de cet arrangement cyclique elles sont couramment appelées « molécules cages ». Certaines cyclodextrines sont constituées d'un nombre plus élevé d'unités glucopyranoses, pouvant aller de 10 jusqu'à 32 ; elles sont considérées comme des cyclodextrines géantes mais perdent alors leur propriétés de molécules cages [274].

BY-NC-ND

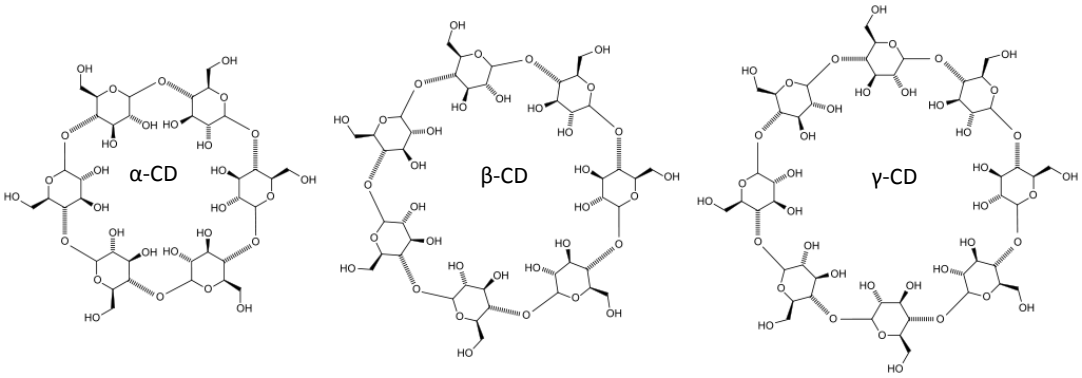


Figure 105. Structures des cyclodextrines.

La structure tridimensionnelle des cyclodextrines est un cône, ou un tore, tronqué (figure 106 A) où les unités glucopyranoses sont en conformation chaise $^4C_1$ (figure 106 B, C) [275, 276]. Les unités glucopyranoses sont agencées de façon à ce que les fonctions hydroxyles libres, portées par les carbones C6, C3 et C2 soient orientées vers l'extérieur (figure 106 A, B) et confèrent ainsi un caractère hydrophile à la surface du cône. Les hydrogènes portés par les carbones C3 et C5 sont quant à eux orientés vers l'intérieur de la cage. Du fait du squelette carboné et des oxygènes éthériques (figure 106 C), la cavité du cône possède un caractère plutôt hydrophobe. Cette cavité peut être représentée par un hexagone, dont les sommets sont occupés par les oxygènes éthériques (figure 106 C) [276].

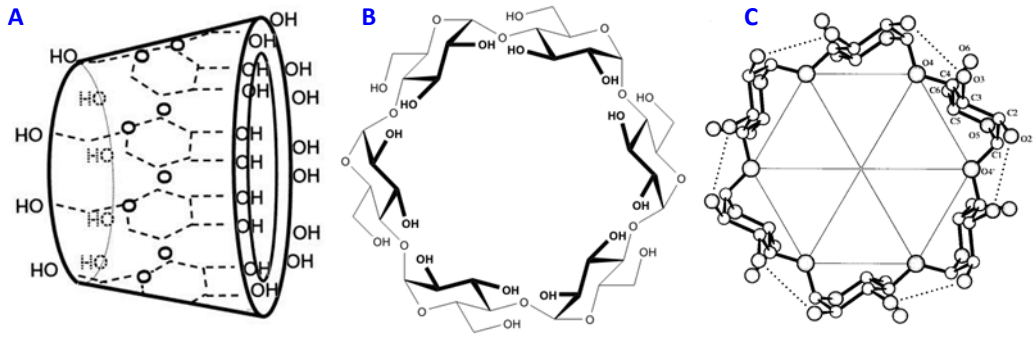


Figure 106. Représentation spatiale de la γ-CD (A) et de l'α-CD (B et C).

D'après les travaux de Szejtli, la solubilité aqueuse des cyclodextrines naturelles est relativement variable et la valeur de la solubilité de la **β-CD** est presque dix fois inférieure à celles des deux autres : 145 pour l'α, 18,5 pour la β et 232 pour la γ [277]. En effet, les cyclodextrines présentent toutes trois de véritables ceintures de liaisons hydrogènes, entre les OH-2 d'une unité et les OH-3 de l'unité suivante, tout autour du tore qui viennent stabiliser leur structure. Mais cette ceinture n'est complète que pour la **β-CD**, ce qui vient rigidifier sa structure et ce qui limite la formation d'autres liaisons hydrogènes avec les

BY-NC-ND

molécules d'eau. En revanche, la ceinture de l'α-CD est incomplète et celle de la γ-CD est assez lâche ce qui les autorisent à créer des interactions avec l'eau [277, 278 p42]. Le caractère hydrophile de la surface extérieure permet la solubilisation de la cyclodextrine en milieu polaire et surtout en milieu aqueux. La cavité, quant à elle, peut accueillir des molécules hydrophobes dites « invitées » ; c'est pourquoi les cyclodextrines sont aussi appelées molécules « hôtes », et qu'une fois complexées avec une molécule apolaire ou partiellement apolaire, on parle de complexe « hôte-invité ». L'invité est lié de manière non covalente grâce à des liaisons hydrogène, ou à des interactions électroniques de type « Van der Waals » [278 p44]. La formation du complexe « hôte-invité » est régie, en solution aqueuse, par un équilibre réversible et déplacé vers la formation du complexe avec plusieurs stœchiométries possibles : 1:1, 1:2, 2:1 ou encore 2:2 (figure 107). La stœchiométrie est fonction de la taille de la molécule « invitée » mais la majorité des complexes est de stœchiométrie 1:1 [279]. Enfin, ces complexes peuvent être de deux types : des complexes dits « d'inclusion » ou « d'association » (figure 107).

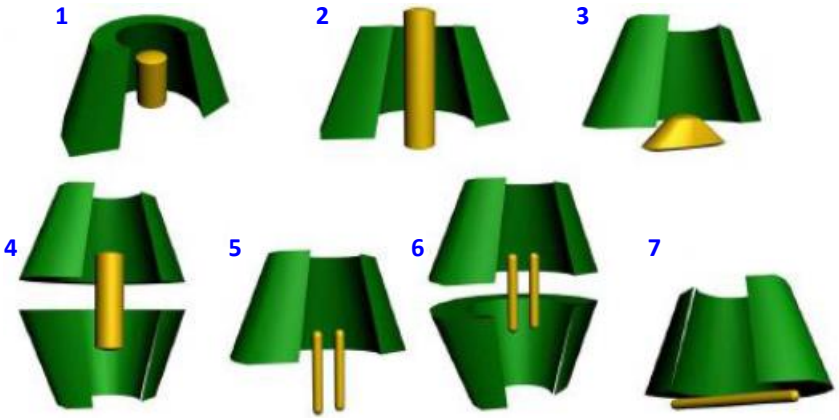


Figure 107. Schématisation des complexes d'inclusion (1-6) et d'association (7) selon Decottignies [278 p45].

Du fait de cette capacité à encapsuler des molécules hydrophobes, les cyclodextrines sont utilisées dans un vaste panel industriel : dans l'industrie pharmaceutique (principalement la **β-CD**, sous forme d'excipient [280]), dans l'industrie agroalimentaire (**β-CD**, exhausteur de goût [281], piégeur de cholestérol, stabilisant de couleur dans le thé vert ou encore stabilisant d'émulsion dans des barres chocolatées ; code référence E459 [282]), ou encore dans l'industrie cosmétique (stabilisant des molécules actives contre les effets de la lumière ou de la chaleur [283]).

BY-NC-ND

Enfin, l'utilisation des cyclodextrines dans la lutte contre le cancer est une application directe de leur propriété de complexation. Cela a notamment fait l'objet d'une thèse de doctorat, au sein de notre laboratoire, menée par Ndong Ntoutoume *et al.* [265]. Le but de ce travail était la vectorisation d'agents anticancéreux naturels (curcuminoïdes) *via* des complexes nanocristaux de cellulose / cyclodextrines.

1.3.2. Synthèses des principes actifs

Comme précisé au début de ce travail, les chalones **1** et **2** (figure 108 A et B) constituent des références biologiques quant à l'activité antiproliférative. Aussi, elles feront l'objet d'une vectorisation par le complexe **β-CD/CNCx**. Une étude de relation structure-activité sur le noyau B a été réalisée afin de dégager d'autres chefs de file quant à une activité antiproliférative. Ainsi, trois nouvelles chalcones viennent compléter la série : la 3-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone **29** (figure 108 C), la 4-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone **13** (figure 108 D) et la 3',4',5'-triméthoxychalcone **30** (figure 108 E).

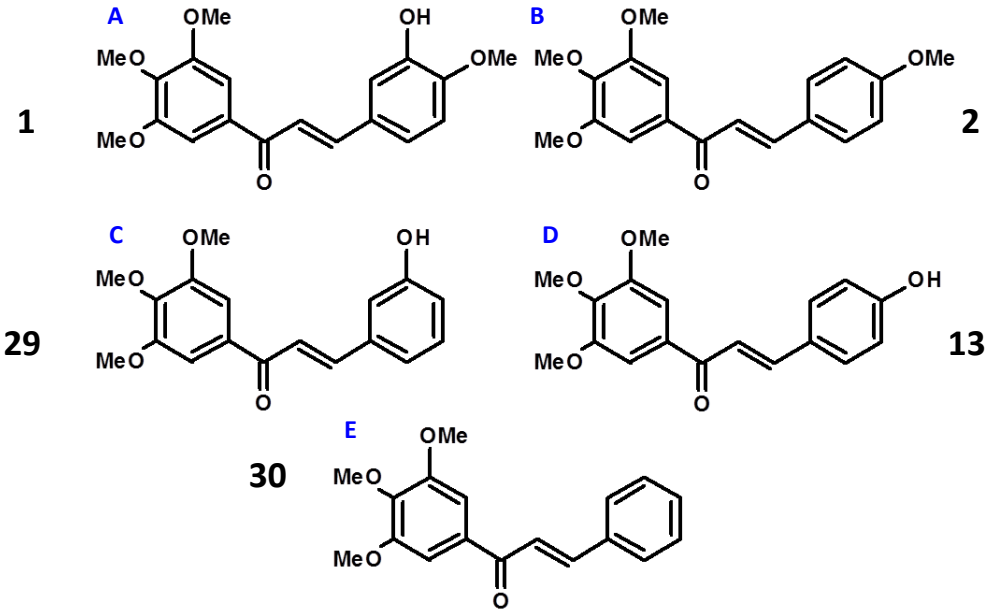


Figure 108. Structures des chalcones pour l'étude relation structure-activité.

Toutes les chalcones ont été obtenues selon la condensation de Claisen-Schmidt, en utilisant la soude (5 eq) dans le méthanol à reflux. Les conditions opératoires ainsi que les rendements de réaction sont décrits dans le tableau 14.

BY-NC-ND

Tableau 14. Conditions opératoires pour la synthèse des chalcones.

Molécule	Benzaldéhyde (eq)	Temps de réaction	R (%)
1	1,2	2h	69
2	1,2	1h30	55
29	1,2	5h	23
13	1,2	1h	67*
30	1	1h30	84

*rendement global des trois étapes vues en figure 83, page 107.

Comme pour les chalcones de référence **1** et **2**, les trois nouvelles chalcones (**29**, **13** et **30**) ont fait l'objet d'une évaluation d'activité antiproliférative sur quatre lignées cancéreuses (« 2.6. Chalcones triméthoxylées : relation structure-activité sur le noyau B »). Au vu des résultats, seule une molécule supplémentaire est retenue pour ce travail d'encapsulation : il s'agit de la 3',4',5'-triméthoxychalcone **30** (figure 108 E).

Trois principes actifs sont donc concernés par la vectorisation à l'aide de complexes **β-CD/CNCx**. A présent, il convient de détailler l'obtention de ces complexes.

1.3.3. Préparation des nanocristaux de cellulose

Le protocole utilisé pour élaborer les nanocristaux de cellulose **CNCx 31** est celui développé au laboratoire. Ces nanocristaux sont obtenus par hydrolyse acide (H_2SO_4 64%) des zones amorphes des fibres de cellulose (ici du coton). Ces nanoparticules sont constituées par la zone cristalline de la cellulose. Elles sont obtenues sous la forme d'une suspension colloïdale stable dans l'eau [235, 237] (figure 109 A et B).

BY-NC-ND

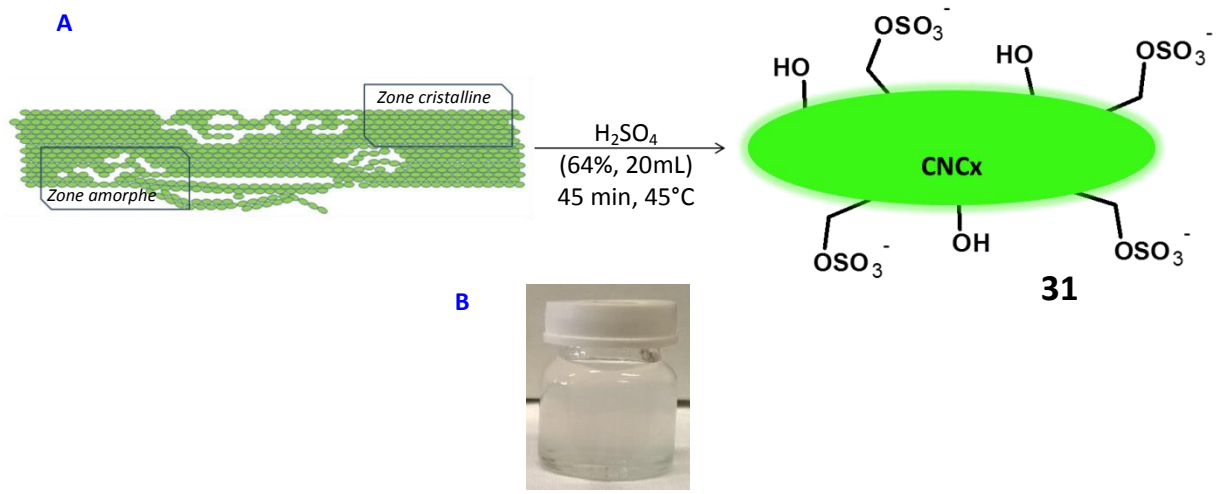


*Figure 109. Schématisation de l'hydrolyse acide de la cellulose (A), photo de la suspension colloïdale dans l'eau des **CNCx 31** (B).*

Après centrifugations et dialyses, le rendement massique de cette étape s'élève à 60%. La stabilité de cette suspension résulte du mouvement brownien et est assurée par des répulsions électrostatiques entre les groupements sulfates présents sur certaines unités anhydroglucoses. Les **CNCx** obtenus ont été caractérisés par infrarouge (IR), par microscopie électronique à transmission (MET) et par mesure du potentiel zêta et du DLS. Le spectre IR obtenu est similaire à celui de la cellulose microcristalline mais il comporte également deux bandes de faible intensité, aux valeurs 1280 et 825 cm^{-1}, qui correspondent aux bandes d'élongation des fonctions sulfates (figure 110 A). Les clichés obtenus par analyse MET indiquent que les **CNCx** obtenus sont en forme de bâtonnets ayant une longueur comprise entre 100 et 200 nm, une largeur allant de 10 à 20 nm et une épaisseur variant de 5 à 10 nm (acétate d'uranyle à 2%, coloration inverse (figure 110 B). Le DLS est une technique d'analyse spectroscopique non destructive permettant de déterminer la distribution en taille de particules en suspension dans un solvant (particules comprises entre 1 nm et plusieurs centaines de nanomètres de diamètre) ; celle-ci indique que la taille moyenne des **CNCx** est d'environ 141 nm (figure 110 C), ce qui est en accord avec l'analyse MET. Enfin, le potentiel zêta est la charge globale de surface d'une nanoparticule en suspension. Une valeur négative indique la présence de charges anioniques et inversement, une valeur positive signale une charge cationique. Le potentiel zêta moyen des **CNCx** est de -51,0 ± 0,7 mV, ce qui confirme la présence des charges sulfates (figure 110 D).

BY-NC-ND

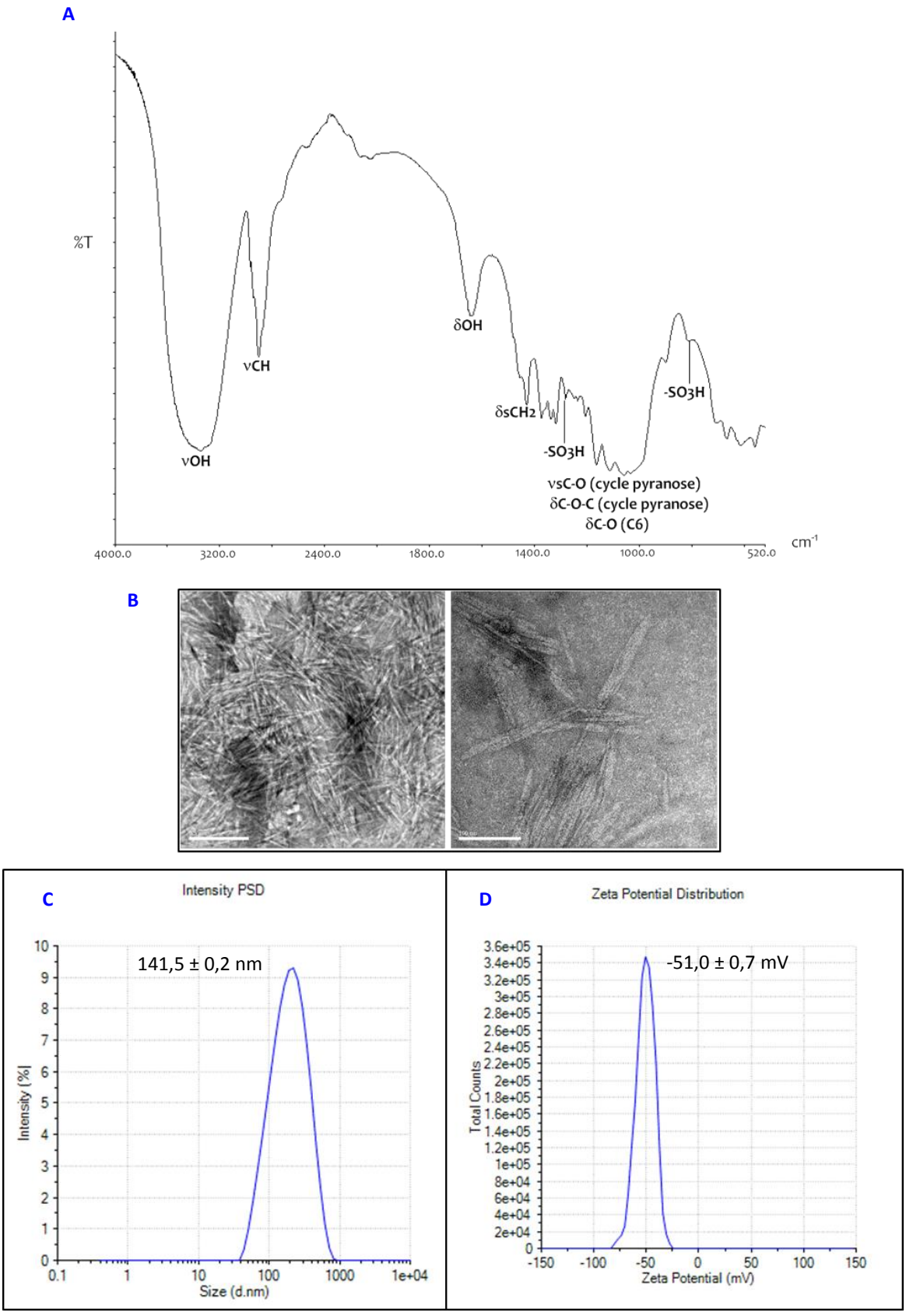


*Figure 110. Caractérisations des **CNCx 31** :*
A : Spectre IR ; B : Photographies obtenues par MET (la barre d'échelle représente 500 nm à gauche et 100 nm à droite) ; C : Distribution en taille par DLS ; D : potentiel zêta.

BY-NC-ND

1.3.4. Fonctionnalisation de la β-CD

Afin d'augmenter le caractère hydrophile de la β-cyclodextrine et également de créer des interactions électrostatiques avec les CNCx, nous avons réalisé la fixation covalente de charge cationique sur l'oligosaccharide en utilisant la méthode décrite par Chisholm & Wenzel [318]. Ainsi, le chlorure de 2,3-époxypropyl-triméthyl-ammonium (glycidyl-trimethyl-ammonium-chloride, GTAC) est mis à réagir avec la **β-CD**, préalablement alcalinisée à l'aide d'une solution de soude 2M (figure 110). Les alcoolates ainsi formés vont entrainer l'ouverture, par une attaque nucléophile, de l'époxyde du coté le moins encombré (sur le CH_2). Après neutralisation, purification par dialyse et lyophilisation, le composé **32** est obtenu avec un rendement 55%.

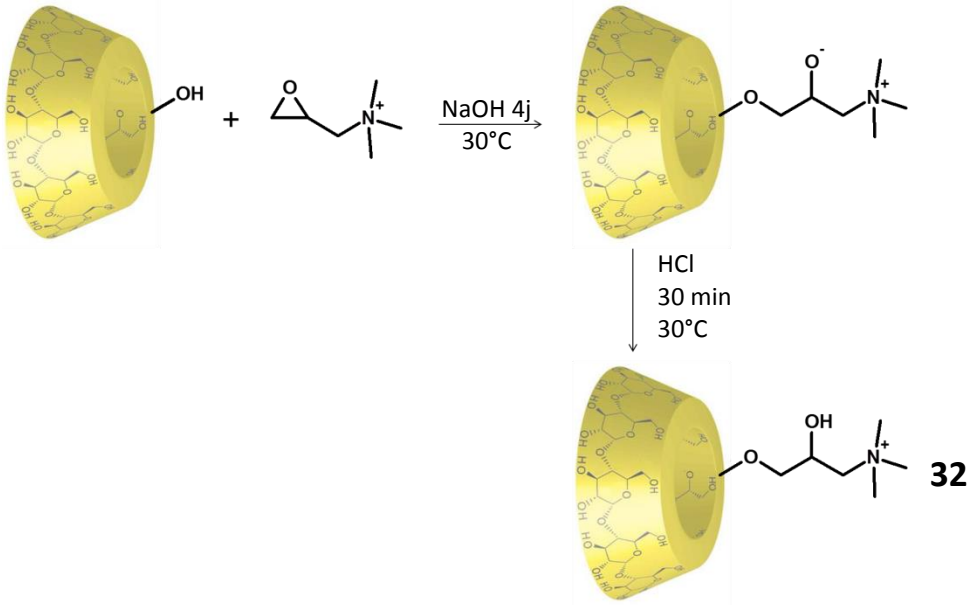


Figure 111. Synthèse de la ***β-CD*** *cationique* ***32****.*

La cyclodextrine cationique a été caractérisée par la spectrométrie IR qui a permis de mettre en évidence les bandes caractéristiques de la cyclodextrine native à 3406 cm^{-1}. Sur le spectre IR de la **β-CD 32**, l'apparition d'un nouveau pic à 1478 cm^{-1} est caractéristique des vibrations d'élongation de l'ammonium quaternaire (figure 112 A). L'analyse par RMN ^1H nous a permis de confirmer ce résultat grâce à l'apparition de trois nouveaux massifs compris entre 4,30 et 3,40 ppm, correspondant aux protons de la nouvelle chaîne introduite, notamment le pic à 4,28 ppm attribué au proton H-8 porteur de la fonction alcool. De plus, un singulet à 3,20 ppm indique la présence des groupements méthyles liés à l'azote (figure 112 B). A partir de cette analyse par RMN ^1H, nous avons déterminé un degré de substitution

BY-NC-ND

(DS) de 1,7 grâce au rapport des intégrations des protons H-1 et H-8. L'analyse élémentaire réalisée sur ce composé confirme ce résultat en indiquant un DS de 1,6.

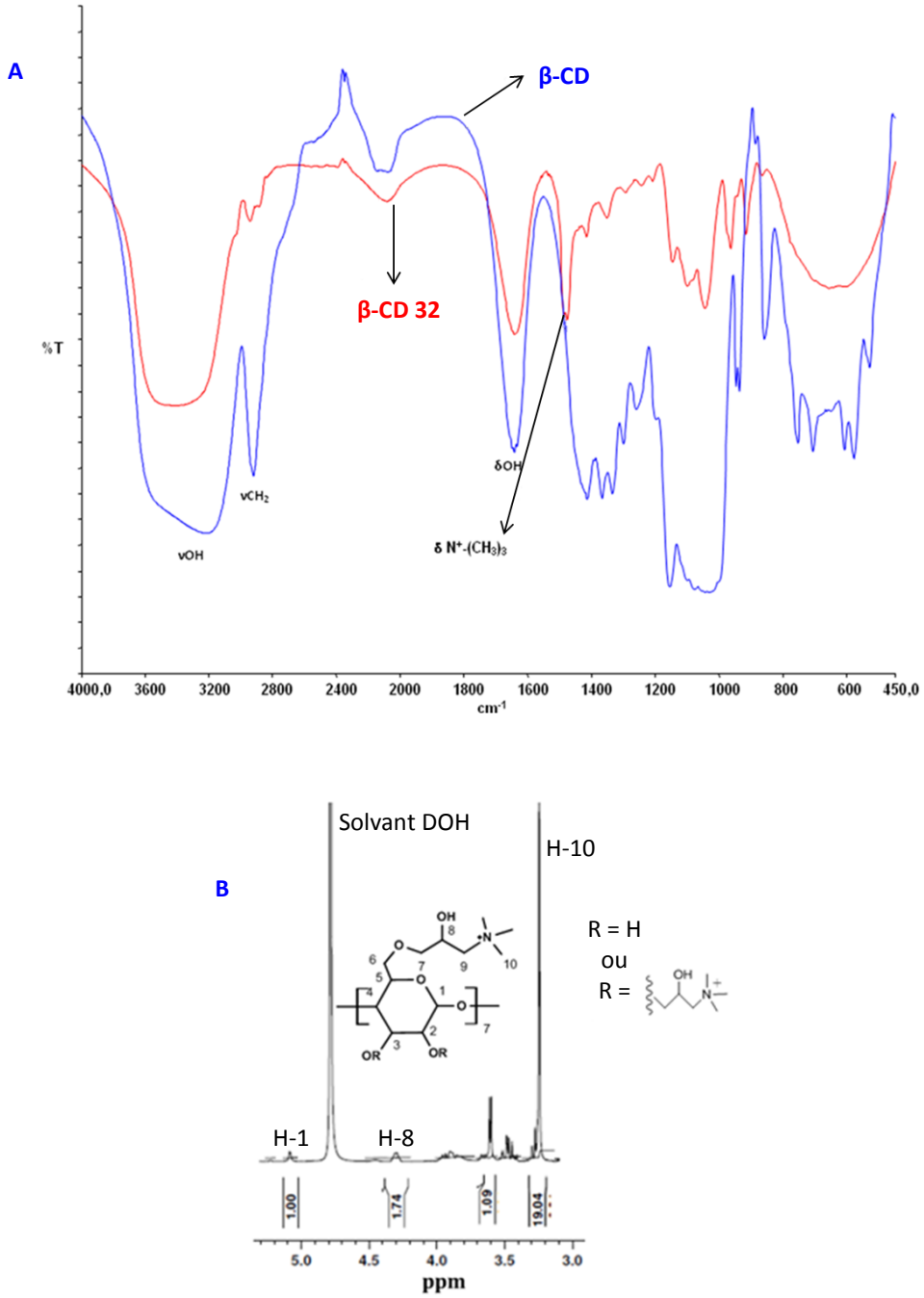


Figure 112. Spectres IR (A) et RMN ^1H dans D_2O (B) de la ***β-CD*** *cationique* ***32****.*

BY-NC-ND

1.3.5. Couplage électrostatique β-CD/CNCx

Le couplage électrostatique, entre la β-CD cationique et les nanocristaux de cellulose anioniques, est réalisé dans l'eau, à température ambiante, sous ultrasons pendant une heure. Une schématisation de la réaction est proposée en figure 113. Une fois purifiés par dialyse, les complexes **β-CD/CNCx 33** peuvent accueillir les principes actifs.

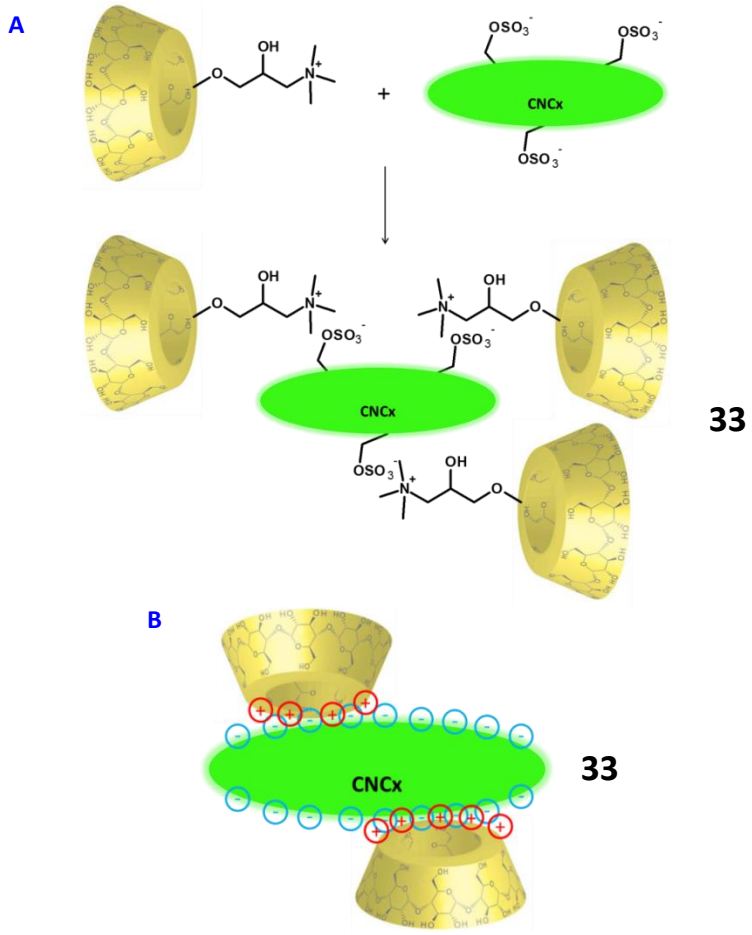


Figure 113.
(A) Schématisation du couplage électrostatique entre la ***β-CD*** *cationique et les nanocristaux de cellulose anioniques ; formation du complexe* ***β-CD/CNCx 33****.*
(B) Autre schématisation du complexe ***33****.*

La caractérisation par mesure du potentiel zêta indique une augmentation de ce dernier, passant de -51mV à -41mV. Une modification du potentiel zêta indique une évolution de la charge électrostatique de la surface des nanocristaux ; une augmentation de ce potentiel indique donc que des charges positives ont été ajoutées, et confirme le couplage électrostatique entre les **CNCx** et la **β-CD**. L'analyse par DLS indique une augmentation de la taille moyenne des particules, passant de 141,5 nm pour les **CNCx** à 198 nm pour le complexe **β-CD/CNCx**.

BY-NC-ND

1.3.6. Inclusion des principes actifs

L'inclusion se fait par ajout, au goutte-à-goutte, de la chalcone dissoute dans l'acétone, à la suspension de complexe **β-CD/CNCx** (figure 114). Le complexe final, **β-CD/CNCx/chalone**, est purifié par centrifugation. La concentration de principe actif encapsulé est déterminée par un dosage UV.

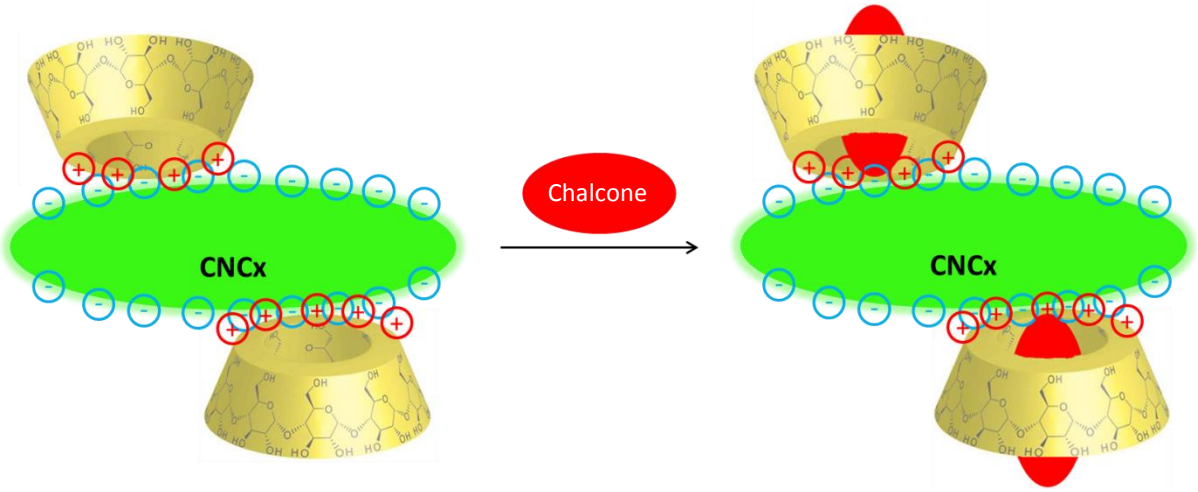


Figure 114. Schématisation de l'inclusion d'une chalcone dans le complexe **β-*CD/CNCx***.

Une illustration de l'hydrosolubilisation de la chalcone **1** par encapsulation est présentée sur la figure 115. Dans le tube de gauche (A) contenant de l'eau, la chalcone **1** a précipité au fond du tube, des particules de chalcone sont également présentes sur les parois du tube ; le tube de droite (B) contient une suspension colloïdale de complexe **β-CD/CNCx/1** dans l'eau ; la suspension est homogène dans le tube.

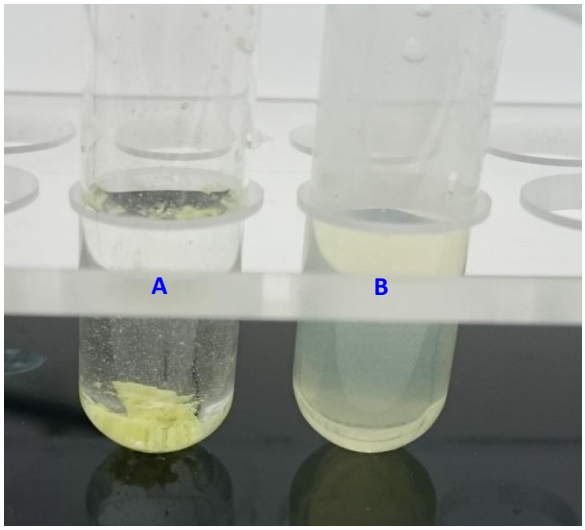


Figure 115. Hydrosolubilisation de la chalcone ***1*** *via le complexe* **β-*CD/CNCx***.

BY-NC-ND

1.3.7. Dosage UV indirect des chalcones

Le spectre d'absorption UV du complexe **β-CD/CNCx 33** étant similaire à celui des chalcones, la détermination de la concentration en chalcone par dosage direct est impossible. Afin de pallier ce problème, une extraction des principes actifs des complexes est réalisée dans le but d'effectuer un dosage UV indirect.

Ainsi, pour chaque molécule encapsulée dans un complexe **β-CD/CNCx**, une simple extraction liquide-liquide, à l'aide du chloroforme, permet de récupérer le principe actif. La concentration de ce dernier est ensuite déterminée par un dosage UV ; elle permet également de déterminer le pourcentage de fixation massique des chalcones dans le complexe **β-CD/CNCx**. Les valeurs de ces pourcentages et des concentrations sont rapportées dans le tableau 15.

Tableau 15. Concentrations, masses et pourcentages de fixation des chalcones encapsulées.

Plateforme	**34 β-CD/CNCx/1**	**35 β-CD/CNCx/2**	**36 β-CD/CNCx/30**
[chalcone] dans la solution β-CD/CNCx ($mol.L^{-1}$)	$7,84.10^{-4}$	$1,413.10^{-3}$	$1,234.10^{-3}$
Masse de chalcone encapsulée (mg)	0,54	0,93	0,74
Pourcentage de fixation (g/g)	13,5 %	23,3 %	18,5 %

Les évaluations biologiques des trois complexes **β-CD/CNCx/chalcones** peuvent alors être effectuées ; les résultats sont présentés dans la partie « 2.7. Chalcones encapsulées ».

BY-NC-ND

1.4. Conception d'une bis-chalcone *via* le couplage de Suzuki

Dans l'idée d'obtenir de nouveaux chefs de file dans l'arsenal thérapeutique des agents antiprolifératifs, nous avons souhaité concevoir de nouvelles bis-chalcones car certaines de ces molécules, issues du règne végétal, sont décrites pour leur activité anticancéreuse. Les travaux préliminaires entrepris ont permis la synthèse d'une bis-chalcone, obtenue *via* le couplage de Suzuki.

1.4.1. Rappels bibliographiques

1.4.1.1. Bis-flavonoïdes et bis-chalcones

La majorité des bis-flavonoïdes naturels sont des dimères de flavones ou de flavanones, mais l'on rencontre également des composés flavone-flavanone ou encore flavanone-chalcone [284]. La liaison peut se faire entre les cycles A, B ou C, elle peut alors être notée AA, BB, AB, etc. Les cas les plus fréquents sont des bis-flavonoïdes de type AA et AB. Ils peuvent être liés *via* des liaisons carbone-carbone, notamment entre les carbones C-6 et C-8, ou *via* une fonction éther. Nous pouvons donner quelques exemples de bis-flavonoïdes :

- l'hinokiflavone, isolée à partir de la drupe de *Rhus succedanea* [285], de type AB ; les monomères sont liés grâce à une liaison éther entre les positions 4'-6'' (notée AB, 4'-O-6'' ; figure 116 A).
- l'agathisflavone (AA, 8-6'' ; figure 116 B), une bis-apigénine extraite des feuilles de *Caesalpinia pyramidalis* [286].
- l'ochnaflavone (BB, 3'-O-3''' ; figure 116 C), obtenue à partir de plusieurs espèces de *Garcinia* [287].

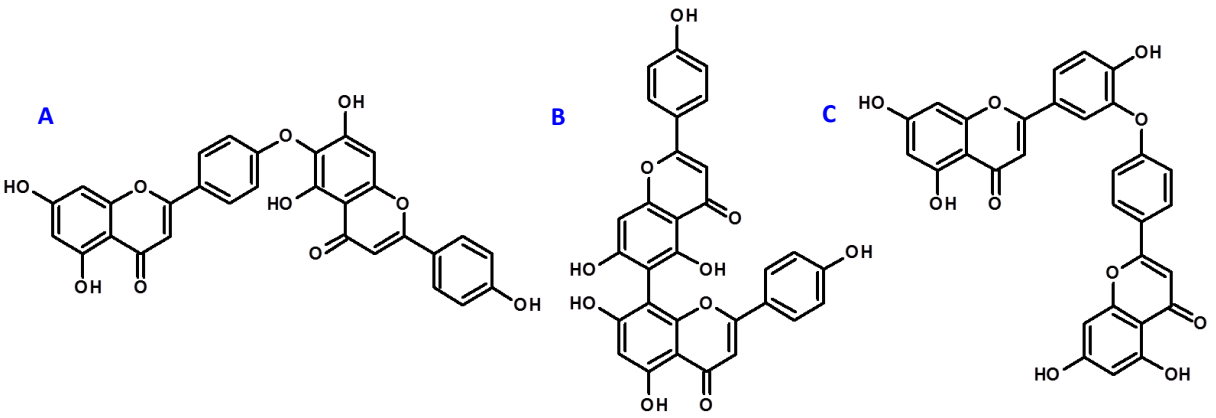


Figure 116. Structures de l'hinokiflavone (A), de l'agathisflavone (B) et de l'ochnaflavone (C).

BY-NC-ND

Structuralement proche des flavonoïdes, les bis-flavonoïdes sont connus pour des activités antifongique [287], antituberculeuse [288], anti-inflammatoire [289-291], antioxydante [292], antimicrobienne [293] ou encore anticancéreuse [294, 295]. Les bis-chalcones naturelles sont plus rares, mais nous pouvons citer les rhuschalcones I-VI (figure 117), composés extraits des racines de *Rhus pyroides* et connus pour exercer une activité cytotoxique sur les lignées colorectales cancéreuses HT-29 et HCT-116 [296].

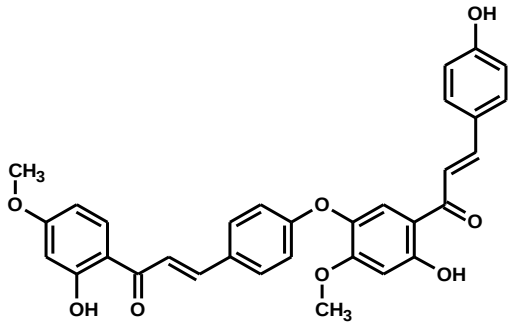


Figure 117. Structure de la rhuschalcone I.

La très grande majorité des bis-flavonoïdes décrits dans la littérature sont des composés naturels obtenus par extraction à partir de végétaux [289, 290, 292-296]. Néanmoins, quelques synthèses de bis-flavonoïdes sont décrites ; elles emploient un couplage phénolique en phase solide (« the solid state phenol coupling reaction », formation d'un bis-benzaldéhyde) [297], la condensation d'Ullmann [287, 288, 298], et également le couplage de Suzuki [299, 300]. La synthèse de bis-chalcones décrite par Escobar *et al.*, *via* le couplage de Suzuki, est basée sur le couplage entre deux benzaldéhydes suivi d'une double condensation de Claisen-Schmidt sur le bis-benzaldéhyde obtenu [300]. En 2010, Mihigo *et al.* tentent, pour la première fois, la synthèse de bis-chalcones grâce au couplage de Suzuki entre une chalcone bromée et un ester « boronate de chalconyle » [299]. Cet ester n'ayant pu être obtenu, une autre stratégie, basée également sur le couplage de Suzuki, a été mise en place pour conduire à la bis-chalcone. Des rappels bibliographiques sur ce couplage de Suzuki sont rapportés dans le prochain paragraphe.

1.4.1.2. Le couplage de Suzuki

Le couplage de Suzuki, également appelé « réaction de Suzuki-Miyaura », est une réaction catalysée par le palladium qui permet de créer une liaison carbone-carbone, entre deux cycles aromatiques ou entre un cycle aromatique et une chaîne alkyle ou encore entre deux chaînes alkyle [301]. Un des motifs doit comporter un atome de bore et l'autre un

BY-NC-ND

dérivé halogéné. L'atome de bore peut être engagé dans une fonction acide boronique $B(OH)_2$ [302-304], ester boronique $B(OR)_2$ [305-307], ou encore un groupement trifluoroborate BF_3 [308-310]. Ce couplage de Suzuki est schématisé sur la figure 118 ci-dessous.

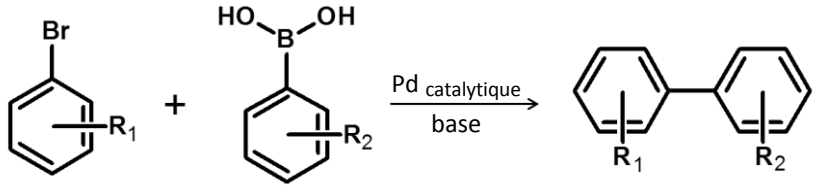


Figure 118. Exemple d'un couplage de Suzuki, catalysé au palladium.

Plusieurs catalyseurs au palladium ont été décrits dans la littérature, parmi les plus courants : $PdCl_2(PPh_3)_2$, $Pd(PPh_3)_4$, $PdCl_2(dppf)$, $Pd(OAc)_4PPh_3$, Na_2PdCl_4 [301] ; $Pd(OAc)_2$ [310]. Le cycle catalytique de ce couplage est représenté sur la figure 119.

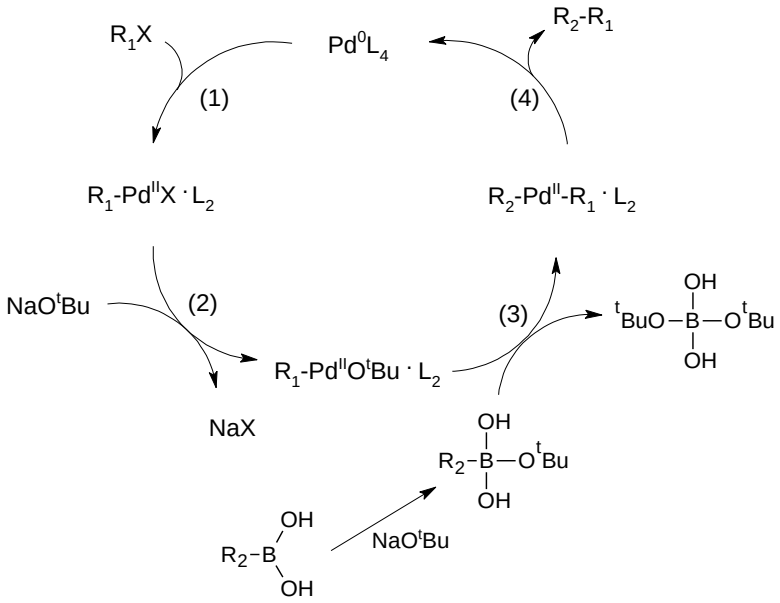


Figure 119. Cycle catalytique du couplage de Suzuki.

La première étape de ce cycle est l'addition oxydante du dérivé halogéné sur le catalyseur au palladium afin de former un complexe halogène-organopalladium. Lors de cette étape (1), le palladium (0) de départ est oxydé en palladium (II). Ensuite, la base attaque le complexe et prend la place de l'halogénure, c'est un échange d'anion, aussi connu sous le nom de métathèse (2). Parallèlement, le dérivé boré est activé par l'anion de la base. La troisième étape est la transmétallation (3) qui donne naissance au complexe bis-organopalladium (II). Enfin, ce complexe palladium (II) élimine le produit R1-R2 par la formation d'une liaison covalente σ entre les deux groupements organiques ; le catalyseur de départ est alors régénéré.

BY-NC-ND

1.4.2. Rétrosynthèse

Dans le but de concevoir de nouvelles bis-chalcones à visée antiproliférative, la chalcone **2** est utilisée comme monomère de référence. En effet, celle-ci possède des CI_{50} intéressantes (environ 10 µM) sur les quatre lignées cellulaires cancéreuses étudiées. Ainsi, la bis-chalcone envisagée (BB, 3-3'') est représentée ci-dessous (figure 120).

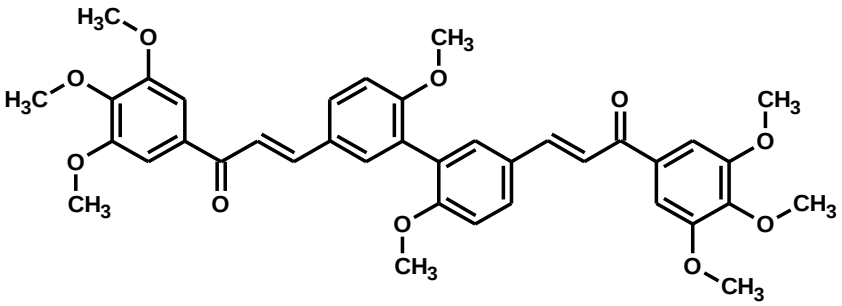


*Figure 120. Structure de la bis-chalcone **39**.*

Les stratégies explorées pour la synthèse de cette bis-chalcone sont décrites dans les schémas rétrosynthétiques des figures 121 et 122.

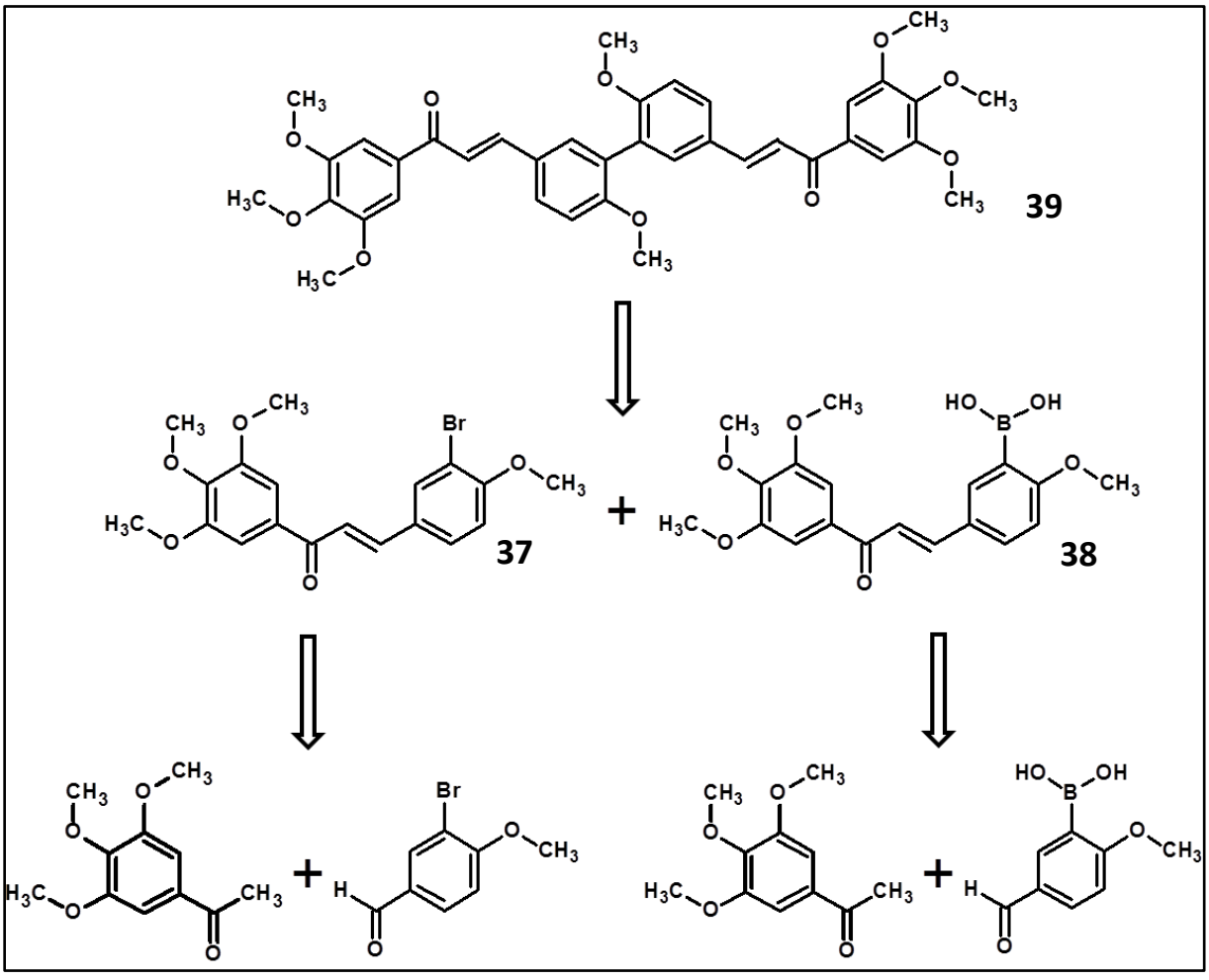


Figure 121. Schéma rétrosynthétique de la bis-chalcone via le coupage de deux chalcones.

BY-NC-ND

La bis-chalcone **39** peut être obtenue *via* le couplage entre une chalcone bromée (**37**) et une chalcone boronique (**38**), chacune d'elle étant obtenue par condensation de Claisen-Schmidt entre la 3',4',5'-triméthoxyacétophénone et le benzaldéhyde approprié (figure 121). La deuxième voie de synthèse implique le couplage entre un benzaldéhyde boronique et un benzaldéhyde bromé afin d'obtenir un bis-benzaldéhyde qui peut alors être condensé avec deux équivalents de 3',4',5'-triméthoxyacétophénone (figure 122).

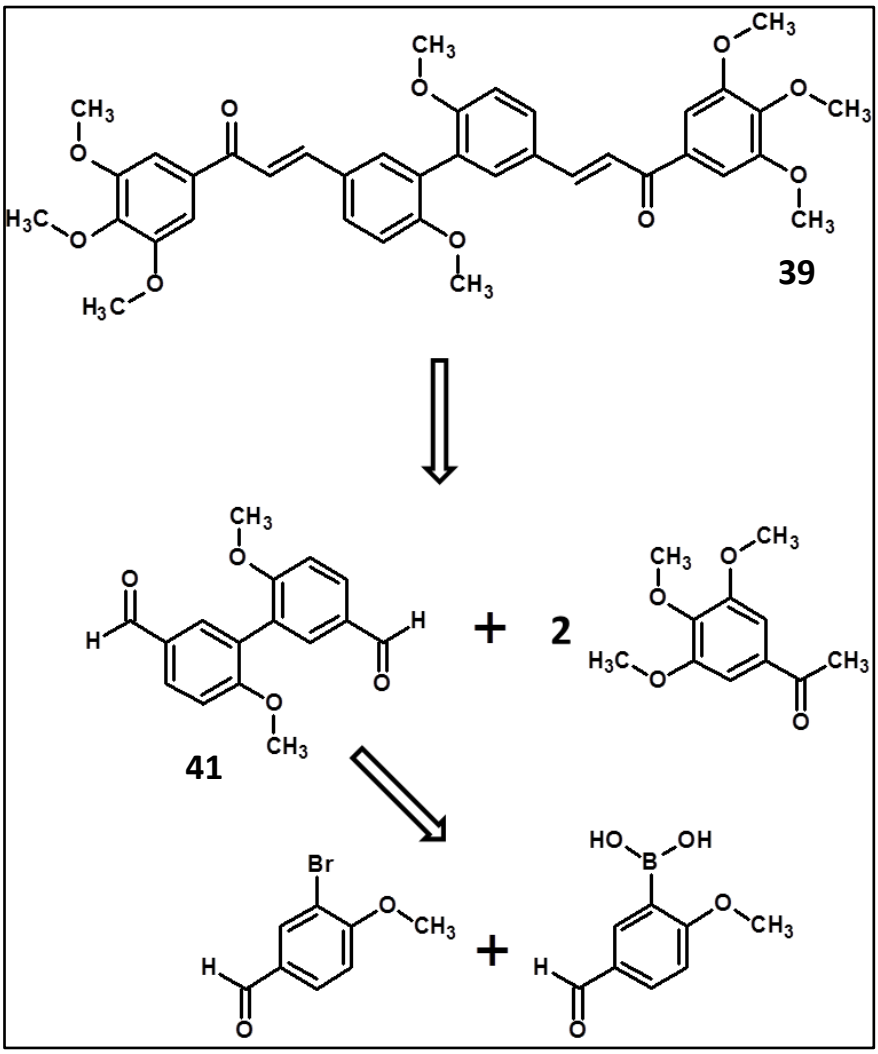


Figure 122. Schéma rétrosynthétique de la bis-chalcone via le bis-benzaldéhyde.

BY-NC-ND

1.4.3. Première voie de synthèse

1.4.3.1. Synthèse de la chalcone bromée 37

La condensation de Claisen-Schmidt entre la 3',4',5'-triméthoxyacétophénone et le 3-bromo-4-méthoxybenzaldéhyde (1,2 eq) se fait classiquement en milieu alcalin (NaOH, 5 eq, figure 123) et est suivie par CCM. La chalcone **37** est obtenue avec un rendement de 61% et sa structure est notamment confirmée par HRMS.

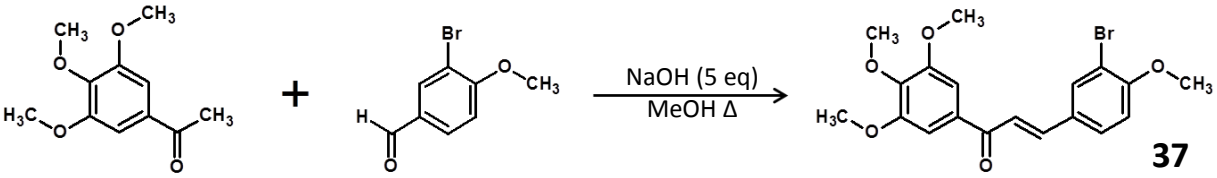


*Figure 123. Synthèse de la chalcone bromée **37**.*

1.4.3.2. Synthèse de la chalcone boronique 38

Comme pour la chalcone bromée, la 3',4',5'-triméthoxyacétophénone est condensée (NaOH, 5 eq) avec un benzaldéhyde substitué en 3 par une fonction acide boronique, à savoir l'acide 5-formyl-2-méthoxybenzène-boronique (1,2 eq). La chalcone boronique **38** est initialement obtenue avec un rendement de 86% ; mais ce dernier est faussé puisqu'une masse résiduelle du benzaldéhyde de départ est présente malgré les purifications successives. Une diminution du nombre d'équivalents de benzaldéhyde (0,8 eq) permet d'obtenir, cette fois, la chalcone **38** pure, avec un rendement de 50%.

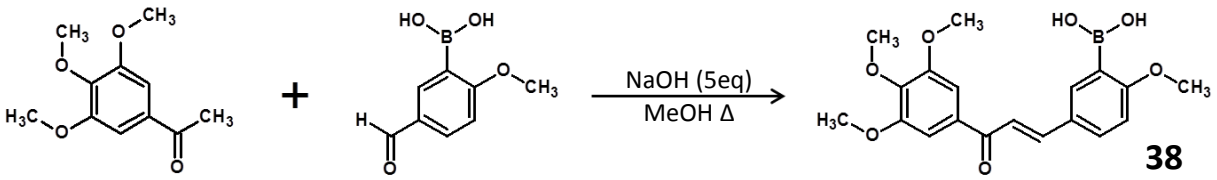


*Figure 124. Synthèse de la chalcone boronique **38**.*

Les spectres RMN des chalcones **37** et **38** sont très semblables à ceux de la chalcone **1**, puisque seule la nature du substituant en position 3 varie. L'analyse HRMS est donc essentielle pour confirmer la structure de chaque chalcone. Il est néanmoins intéressant de comparer la valeur du déplacement chimique du proton H-2 (dans $CDCl_3$) : elle est de 7,31 ppm pour **1**, 8,05 ppm pour **37** et 8,20 ppm pour **38**. Cette variation est logique au vu de la nature du groupement en position 3 : le brome a un effet mésomère donneur plus faible que

BY-NC-ND

l'hydroxyle ; donc l'influence électronique principale est l'effet mésomère attracteur du carbonyle, le proton H-2 de la chalcone **37** est donc plus déblindé que celui de la chalcone **1**. Concernant **38**, le proton H-2 est encore plus déblindé ; en effet, le bore exerce un fort effet inductif attracteur du fait de la présence des deux hydroxyles, ce qui renforce le déblindage lié à l'effet mésomère attracteur du carbonyle.

1.4.3.3. Couplage de Suzuki entre les deux chalcones

Pour ce couplage, le [1,1'-bis-(diphenylphosphino)-ferrocene]-dichloropalladium(II)-dichlorométhane ($PdCl_2$-dppf·CH_2Cl_2) est utilisé comme catalyseur. Plusieurs essais sont effectués afin d'obtenir la bis-chalcone. La réaction se déroule sous irradiations microondes (120°C, 150 W), dans le THF, en présence des deux chalcones **37** et **38** ainsi que d'une base (figure 125 A). L'avancement de la réaction et la consommation des chalcones **37** et **38** sont suivis par CCM. Les différentes conditions opératoires employées sont répertoriées dans le tableau 16.

Tableau 16. Conditions opératoires du couplage de Suzuki entre les chalcones **37** et **38**.

Essais	Chalcone 70 (eq)	Chalcone 71 (eq)	Base (eq)	$PdCl_2$-dppf (eq)	Temps de réaction	R (%)
1	1	1,1	K_2CO_3 (3)	0,1	5x10min	/
2	1	1,1	NaOH (3)	0,1	2x10min	/
3	1	2	NaOH (3)	0,2	2x10min	/
4	1,1	1	NaOH (3)	0,2	5x10min	41

La chalcone **39** est donc obtenue avec un rendement maximal de 41% lors de l'essai 4, employant 3 eq de soude et 0,2 eq de $PdCl_2$-dppf. Dans les trois premiers essais, le réactif en excès est la chalcone **38** alors que dans le dernier, celle-ci est mise en défaut par rapport à la chalcone bromée **37**, permettant ainsi l'obtention de la bis-chalcone **39**. En fait, les essais 2 et 3 conduisent à la formation d'un composé inattendu, la chalcone **40** (figure 125 B), avec des rendements de 7 et 22% respectivement.

BY-NC-ND

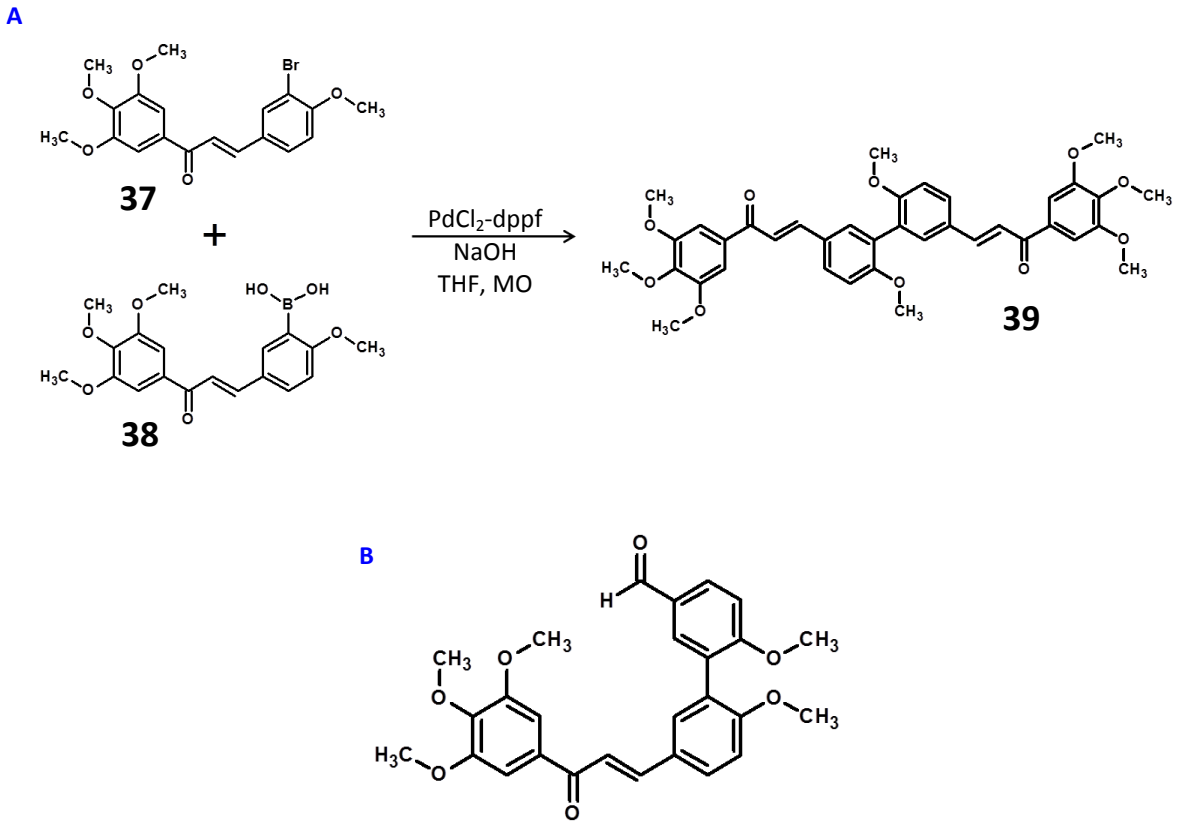


*Figure 125. Couplage de Suzuki entre deux chalcones (A), structure de la chalcone **40** (B).*

Une explication possible quant à l'obtention de ce produit secondaire est la suivante : la purification de la chalcone **38** est difficile car le benzaldéhyde de départ présente le même comportement chromatographique que cette chalcone ; de ce fait, ce benzaldéhyde est encore présent avec la chalcone **38** lors du couplage de Suzuki avec la chalcone bromée **37**. Il peut donc réagir avec la chalcone bromée pour former la chalcone **40**. Le fait de mettre en défaut la chalcone **38** limite la présence du benzaldéhyde « parasite » et permet d'obtenir la bis-chalcone **39**. Au vu de ces résultats, et afin de tenter d'améliorer le rendement global de cette réaction, nous avons décidé de réaliser la synthèse de la bis-chalcone **39** *via* le couplage de Suzuki entre les deux benzaldéhydes selon la stratégie décrite sur le schéma rétrosynthétique 122.

La figure 126 illustre le spectre RMN ^{1}H de la bis-chalcone **39** ; ce dernier indique la présence d'une chalcone possédant un substituant en position 3. En réalité, il s'agit bien de la bis-chalcone **39** avec deux motifs symétriques reliés par le carbone 3.

BY-NC-ND

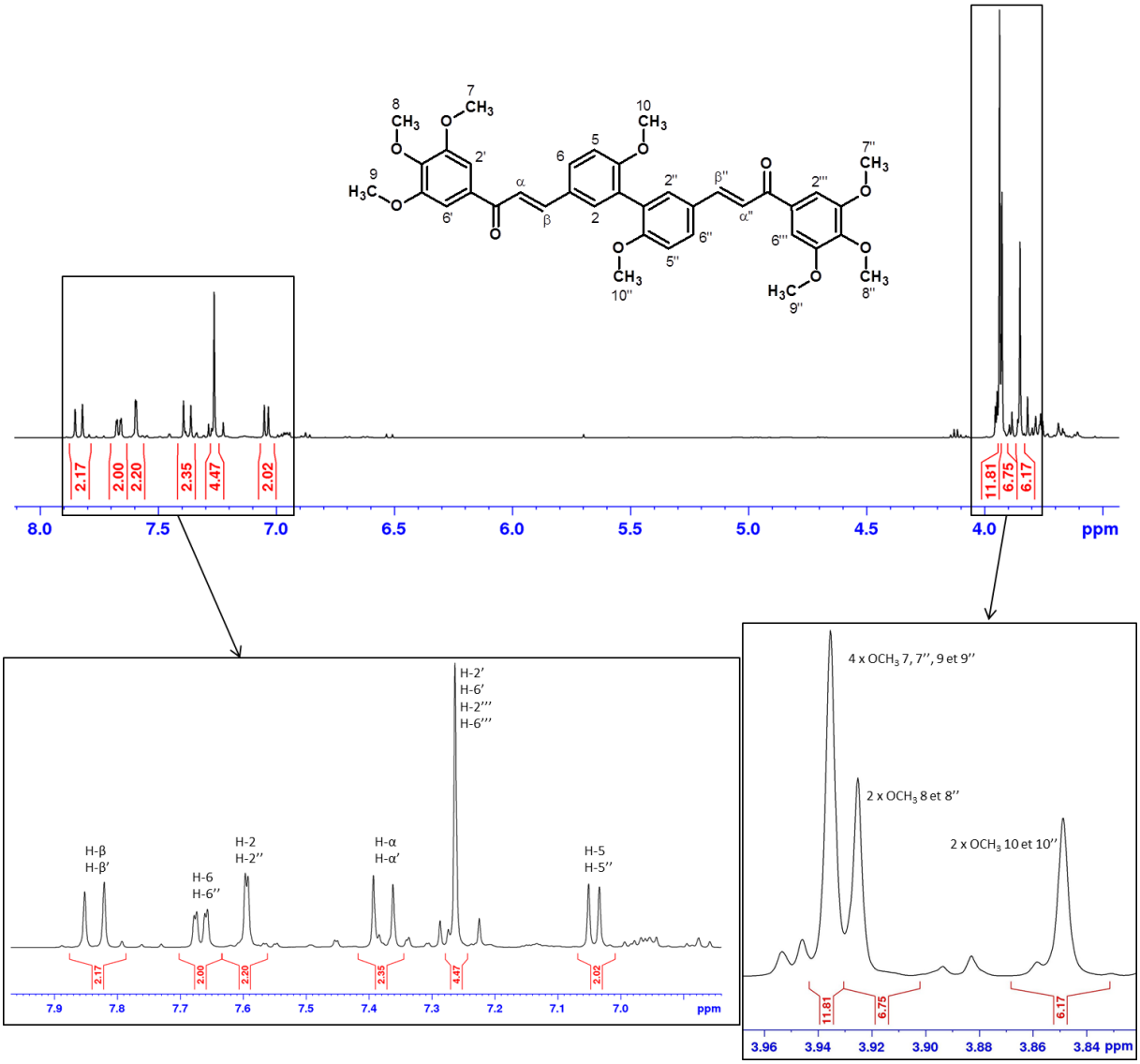


*Figure 126. Spectre et analyse RMN ^{1}H de la bis-chalcone **39**.*

BY-NC-ND

1.4.4. Deuxième voie de synthèse

1.4.4.1. Couplage de Suzuki entre les deux benzaldéhydes

L'idée est de réaliser un couplage entre les deux benzaldéhydes (figure 127), pour ensuite pouvoir effectuer « une double condensation de Claisen-Schmidt » sur ce bis-benzaldéhyde **41**. Le benzaldéhyde bromé constitue la référence en termes de stœchiométrie (1 eq) ; la soude est ici la base employée (3 eq) et l'avancement de la réaction est contrôlé par CCM.

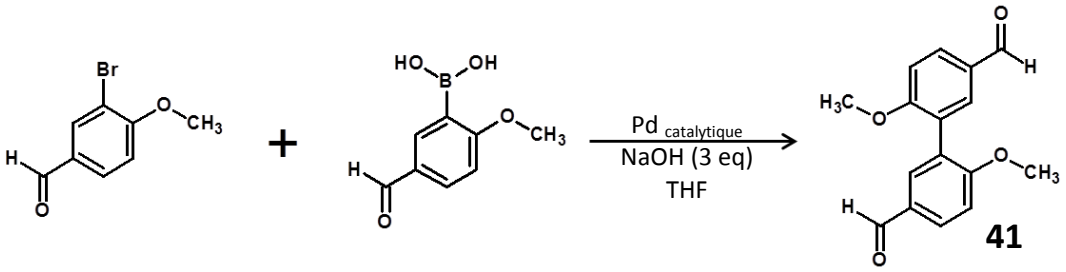


Figure 127. Couplage de Suzuki entre les deux benzaldéhydes.

Les différentes conditions opératoires employées pour ce couplage de Suzuki sont présentées dans le tableau 17.

Tableau 17. Conditions opératoires du couplage de Suzuki entre les benzaldéhydes.

Essais	Benzaldéhyde $B(OH)_2$ (eq)	Pd $_{catalytique}$ (eq)	Temps de réaction	R (%)
1	1,1	$PdCl_2$-dppf (0,1)	3x10min	55
2	3	$PdCl_2$-dppf (0,1)	2x10min	63
3	2,5	$PdCl_2$-dppf (0,2)	10min	78
4	2,5	$Pd(PPh_3)_4$ (0,2)	2x10min	50

Le bis-benzaldéhyde **41** est donc obtenu avec de bons rendements ; en effet, l'optimisation de cette synthèse permet d'augmenter le rendement à 78% dans l'essai 3. La structure est confirmée par RMN ^1H et HRMS. Notons que pour ce couplage entre les deux benzaldéhydes, un essai est effectué avec un autre type de catalyseur au palladium : le tétrakis(triphenylphosphine)palladium(0), noté $Pd(PPh_3)_4$. Cet essai n'est pas convaincant puisque le produit **41** est obtenu avec un rendement de 50% alors que dans l'essai 3, pour

BY-NC-ND

lequel les conditions stœchiométriques sont identiques, le rendement est de 78%, avec un temps réduit de moitié (10 minutes au lieu de 20).

1.4.4.2. Double condensation de Claisen-Schmidt

Pour cette double condensation, les conditions classiquement utilisées sont maintenues : la soude est la base employée (5 eq) et la réaction se déroule dans le méthanol à reflux (figure 128). Néanmoins, le nombre d'équivalents d'acétophénone doit être modifié puisque deux fonctions aldéhyde sont susceptibles de réagir.

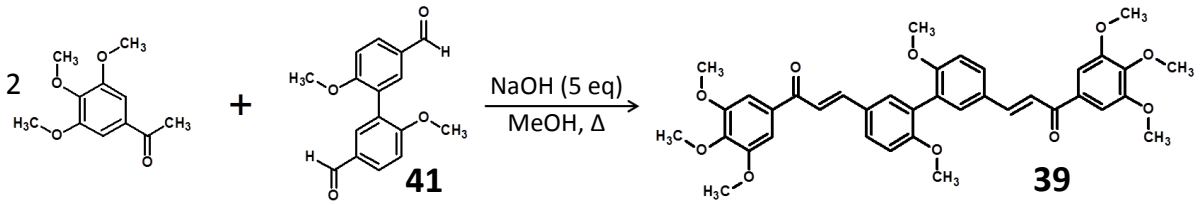


Figure 128. Double condensation de Claisen-Schmidt entre le bis-benzaldéhyde et la triméthoxyacétophénone.

L'ensemble des différentes conditions opératoires employées sont détaillées dans le tableau 18.

Tableau 18. Conditions opératoires pour la « double condensation de Claisen-Schmidt ».

Essais	Acétophénone (eq)	Bis-benzaldéhyde (eq)	Temps de réaction	Système de purification (nombre de migrations)	R (%)
1	2	1	4h	Résidu brut insoluble	/
2	4	1	5h	$CHCl_3$/EtOAc 19/1 (2)	Produit impur

La présence de la bis-chalcone **39** est confirmée par analyse RMN ^1H, mais malheureusement les différentes purifications n'ont pas permis d'isoler cette bis-chalcone avec une pureté satisfaisante. Finalement, le protocole le plus approprié pour la synthèse de la bis-chalcone **39** est celui impliquant le couplage de Suzuki entre la chalcone bromée **37** et la chalcone boronique **38**.

BY-NC-ND

2. Evaluations biologiques

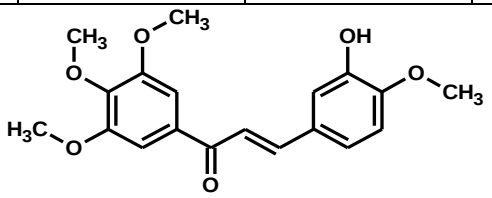
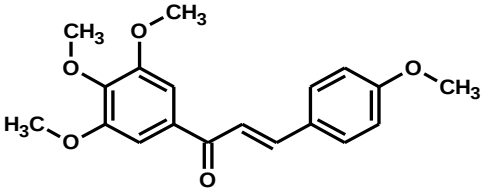
2.1. Evaluation de la viabilité cellulaire par test MTT

L'ensemble des évaluations biologiques est réalisé dans le but d'estimer le potentiel antiprolifératif de chaque composé *via* un test de viabilité cellulaire : le test MTT [311, 312]. L'activité antiproliférative est mesurée sur quatre lignées cellulaires cancéreuses : deux lignées cancéreuses colorectales (HT-29 et HCT-116) et deux lignées cancéreuses prostatiques (PC-3 et DU-145). Toutes les évaluations sont effectuées sur une durée de 48h. Nous présenterons dans les paragraphes suivants les CI_{50} des composés évalués ainsi que les histogrammes exprimant les pourcentages de viabilité cellulaire en fonction de la concentration en principe actif. Toutes les CI_{50} de ce travail sont exprimées en µM.

2.2. Evaluation des chalcones de référence

Les chalcones de référence sont la 3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone **1** et la 3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone **2**. Leurs CI_{50} sont rapportées dans le tableau 19 et les activités antiprolifératives sont présentées sous forme d'histogrammes dans la figure 129.

Tableau 19. CI_{50} (µM) et structures des chalcones **1** et **2**.

Molécules	HT-29	HCT-116	PC-3	DU-145
1	27,8 ± 1,7	0,83 ± 0,11	0,099 ± 0,002	6,3 ± 1,2
2	7,4 ± 0,6	10,7 ± 0,6	7,8 ± 0,5	13,8 ± 1,7
1				
2				

BY-NC-ND

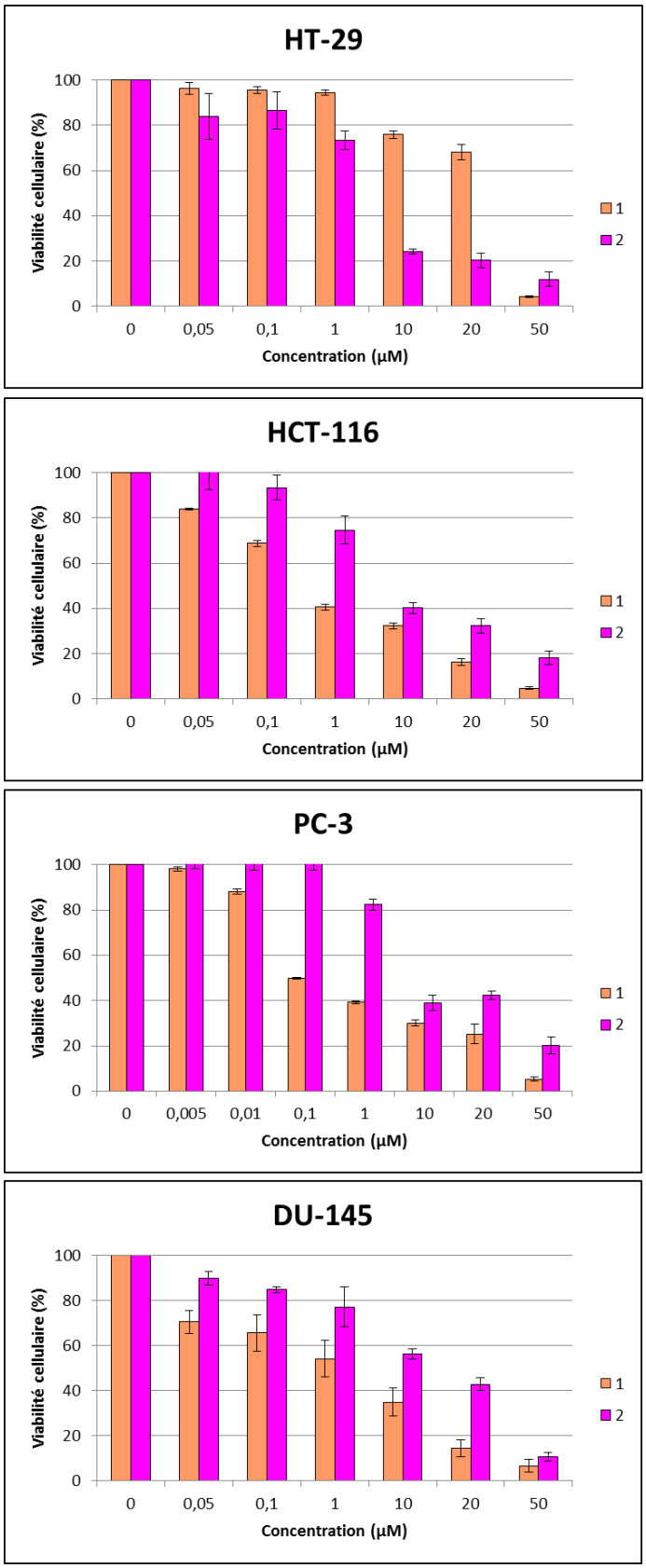


*Figure 129. Activité antiproliférative de **1** et **2**.*

BY-NC-ND

Tout d'abord, les deux chalcones diminuent la viabilité cellulaire, pour les quatre lignées étudiées, de manière dose-dépendante. La chalcone **1** est plus active que la chalcone **2** sur trois des quatre lignées. En effet, seule la CI_{50} sur la lignée HT-29 est plus élevée (27,8 ± 1,7 µM *vs* 7,4 ± 0,6 µM). Il convient de préciser que la lignée HT-29 exprime la cyclooxygénase-II (COX-2), enzyme catalysant la biosynthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique lors de phénomènes inflammatoires. Il est également démontré que la surexpression de la COX-2 est liée à une résistance des cellules à l'apoptose [313]. Un travail de thèse au sein du LCSN a ainsi étudié les effets de la chalcone **1** sur la prolifération, le cycle cellulaire et l'apoptose vis-à-vis des cellules HT-29 et HCT-116 (COX-2 déficiente) ainsi que son mécanisme d'action [314]. Ce travail confirme que la surexpression de COX-2 dans les cellules HT-29 contribue à la résistance à l'apoptose, expliquant ainsi la différence de sensibilité entre les deux lignées colorectales vis-à-vis du principe actif.

De manière générale, la chalcone **2** possède des CI_{50} aux alentours de 10 µM ; elle est donc relativement active sur l'ensemble des lignées étudiées. Les valeurs des CI_{50} de **1** sont plus variables puisqu'elles sont comprises entre 0,099 et 27,8 µM ; néanmoins, elle semble plus intéressante que **2** car elle présente des CI_{50} inférieures à 1 µM sur les lignées HCT-116 et PC-3 (0,83 ± 0,11 et 0,099 ± 0,002 µM respectivement).

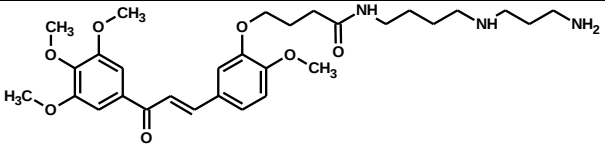
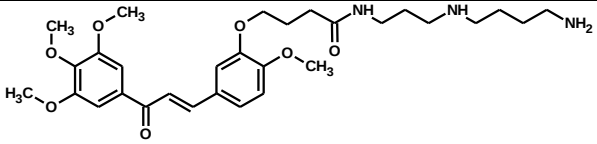
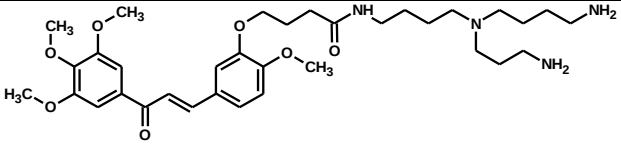
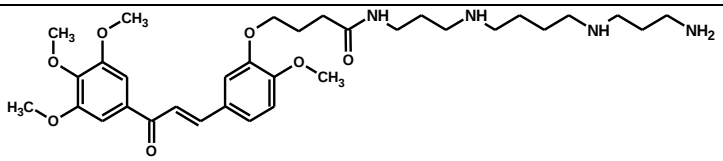
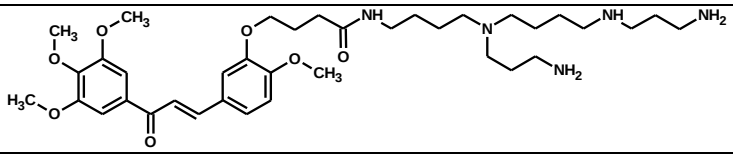
2.3. Conjugués chalcone-polyamine, linker amide

Les évaluations des conjugués chalcone-polyamine sont présentées en deux parties. La première est consacrée aux dérivés de la chalcone **1** (série **19**) et la seconde à ceux de la chalcone **2** (série **20**). Les CI_{50} sont indiquées dans les tableaux 20 et 21 ; les activités antiprolifératives sont présentées dans la figure 130 pour la série **19** et dans la figure 131 pour la série **20**.

BY-NC-ND

2.3.1. Conjugués chalcone-polyamine dérivés de la chalcone 1 (série 19)

Tableau 20. CI_{50} et structures des chalcones de la série **19**.

Molécules	HT-29	HCT-116	PC-3	DU-145
19a	167,0 ± 5,0	44,8 ± 3,1	51,8 ± 8,5	98,1 ± 5,6
19b	160,7 ± 4,1	112,0 ± 7,0	82,3 ± 9,3	145,9 ± 3,9
19c	74,7 ± 2,9	73,6 ± 4,2	60,6 ± 9,0	82,3 ± 5,3
19d	137,9 ± 5,2	47,6 ± 5,4	31,8 ± 4,8	25,7± 1,5
19e	95,5 ± 6,4	29,5 ± 9,7	48,1 ± 2,9	84,9 ± 1,3
1	27,8 ± 1,7	0,83 ± 0,11	0,099 ± 0,002	6,3 ± 1,2
19a				
19b				
19c				
19d				
19e				

BY-NC-ND

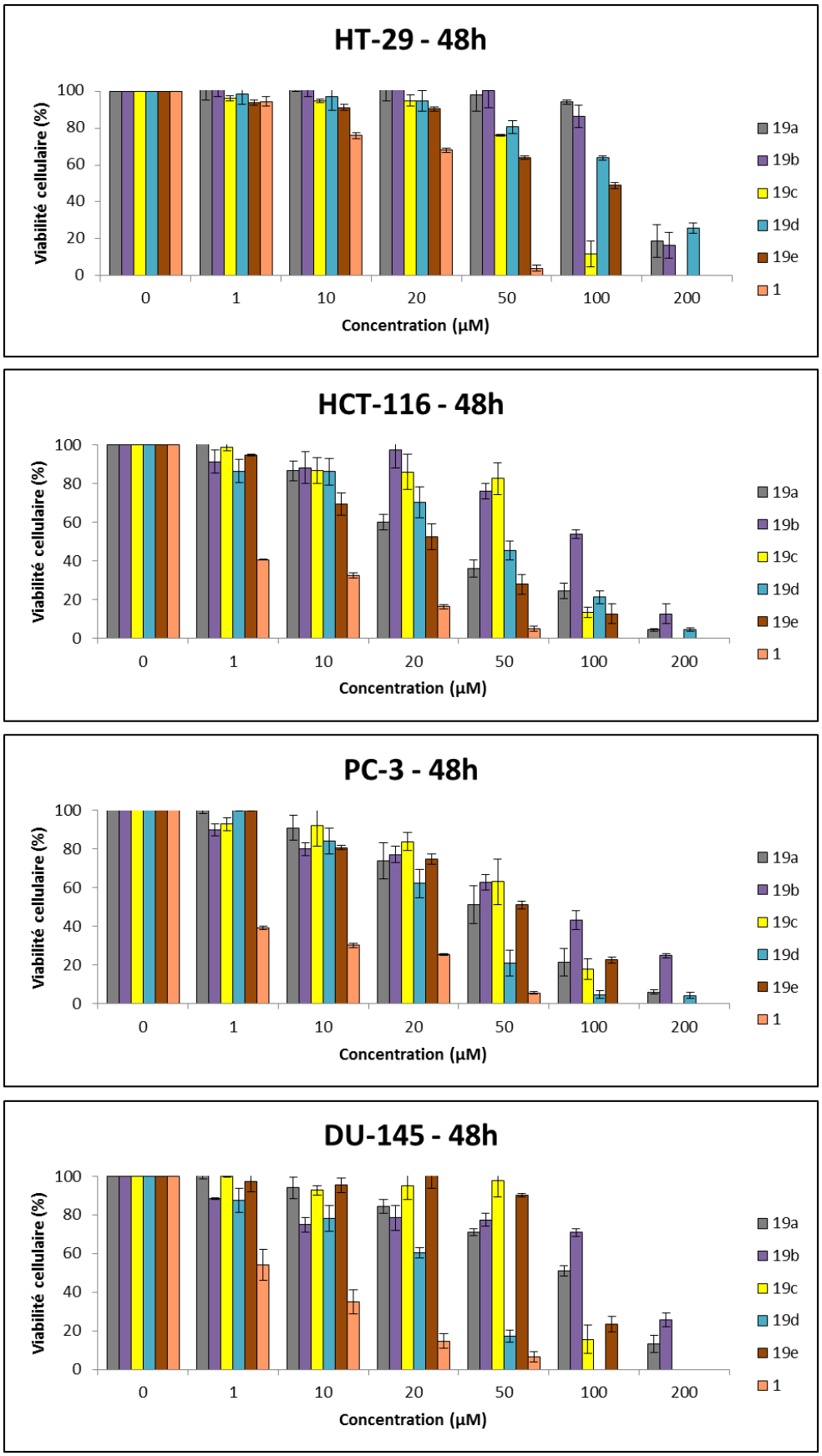


*Figure 130. Evaluation antiproliférative de la série « **19** ».*

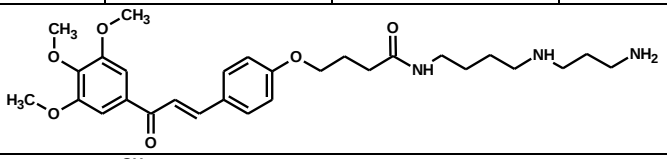
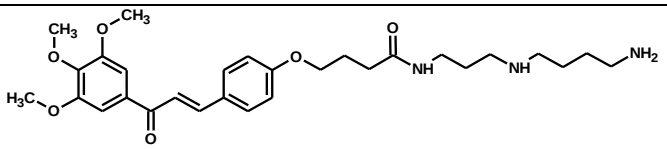
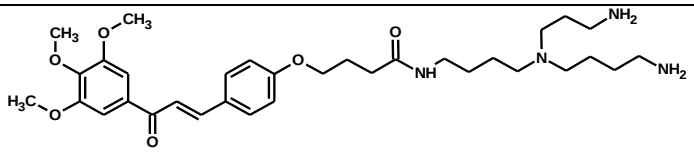
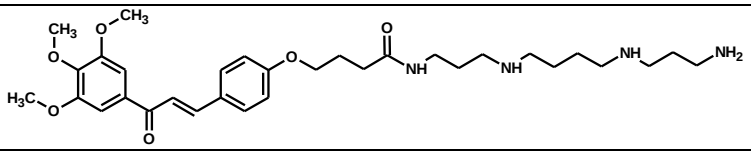
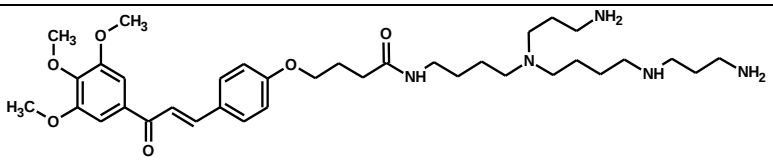
BY-NC-ND

Les cinq conjugués évalués présentent des CI_{50} supérieures à celles de **1**. La lignée la plus résistante est, une fois de plus, HT-29, et les plus sensibles sont HCT-116 et PC-3. Les composés **19b** et **19c** ont des CI_{50} supérieures à 60 µM ; ils ne présentent donc pas d'activité antiproliférative significative. Les composés **19a** et **19e** ont des CI_{50} encourageantes sur les lignées HCT-116 et PC-3 puisque les valeurs varient entre 29,5 et 51,8 µM (**19a** : 44,8 ± 3,1 µM sur HCT-116 et 51,8 ± 8,5 µM sur PC-3 ; **19e** : 29,5 ± 9,7 µM sur HCT-116 et 48,1 ± 2,9µM sur PC-3). En considérant le motif spermidine linéaire, il est évident que le couplage sur l'azote N^8 (**19a**) entraine une activité notable alors que le couplage sur l'azote N^1 (**19b**) annule tout effet antiprolifératif. Le conjugué **19d** (spermine linéaire) présente les CI_{50} les plus intéressantes de la série sur les lignées prostatiques (**19d** : 31,8 ± 4,8 µM sur PC-3 et 25,7± 1,5 µM sur DU-145) ; la CI_{50} sur HCT-116 est un peu élevée (47,6 ± 5,4 µM) mais reste néanmoins encourageante. En conclusion, les conjugués les plus intéressants sont **19a**, **19d** et **19e** ; cependant ils ne présentent pas la moindre activité sur la lignée HT-29.

BY-NC-ND

2.3.2. Conjugués chalcone-polyamine dérivés de la chalcone 2 (série 20)

Tableau 21. CI_{50} et structures des chalcones de la série **20**.

Molécules	HT-29	HCT-116	PC-3	DU-145
20a	115,7 ± 6,9	18,4 ± 1,2	42,2 ± 4,1	50,8 ± 3,3
20b	95,5 ± 6,4	121,8 ± 6,7	106,9 ± 6,4	153,9 ± 7,1
20c	80,0 ± 3,2	26,7 ± 6,4	55,4 ± 6,4	79,4 ± 0,2
20d	93,5 ± 4,8	23,2 ± 3,3	34,0 ± 4,5	27,4 ± 5,2
20e	91,7 ± 5,3	> 200	81,6 ± 9,9	92,5 ± 5,7
2	7,4 ± 0,6	10,7 ± 0,6	7,8 ± 0,5	13,8 ± 1,7
20a				
20b				
20c				
20d				
20e				

BY-NC-ND

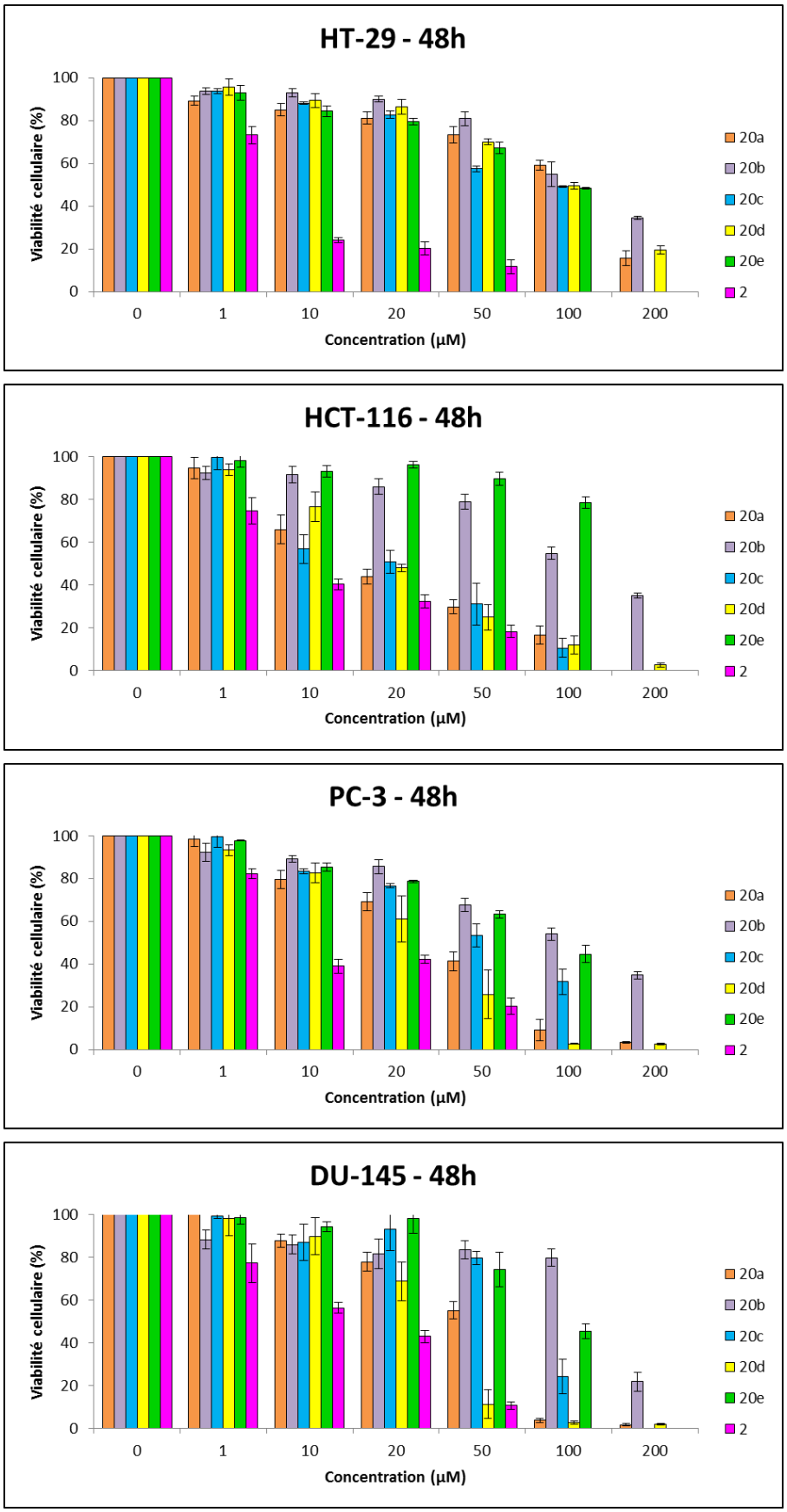


*Figure 131. Evaluation antiprolifératives de la série « **20** ».*

BY-NC-ND

Comme pour la série 19, les cinq conjugués évalués présentent des CI_{50} supérieures à celles de **2**. La lignée la plus résistante est encore HT-29, et la plus sensible est HCT-116. Les composés **20b** et **20e** ont des CI_{50} supérieures à 80 µM et sont donc considérés comme dépourvus d'activité significative. Le conjugué **20c** présente des CI_{50} plutôt satisfaisantes sur les lignées HCT-116 (26,7 ± 6,4 µM) et PC-3 (55,4 ± 6,4 µM), tout comme le composé **20a** sur les lignées PC-3 (42,2 ± 4,1 µM) et DU-145 (50,8 ± 3,3 µM) ; sur HCT-116, ce composé possède même la meilleure CI_{50} des séries 19 et 20 réunies (18,4 ± 1,2 µM). Enfin, le conjugué **20d** est le conjugué le plus intéressant de cette série avec des valeurs de CI_{50} aux alentours de 30 µM sur les lignées prostatiques (34,0 ± 4,5 µM sur PC-3 et 27,4 ± 5,2 µM sur DU-145) et une valeur très intéressante sur la lignée HCT-116 (23,2 ± 3,3 µM). Finalement, les conjugués les plus intéressants de cette série sont **20a**, **20c** et **20d**. Néanmoins, comme pour la série **19**, ces conjugués sont dépourvus d'activité sur la lignée HT-29.

En conclusion, les séries 19 et 20 n'ont pas permis de trouver de conjugué ayant une activité antiproliférative semblable aux chalcones de référence. Néanmoins, deux motifs polyaminés semblent conférer un effet sur la viabilité cellulaire : il s'agit des motifs spermidine N^8 (a) et spermine linéaire (d). Ces deux motifs sont donc retrouvés dans la structure des conjugués chalcone-polyamine « amino-alcane ».

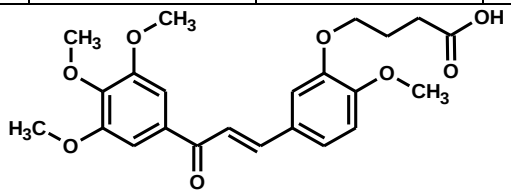
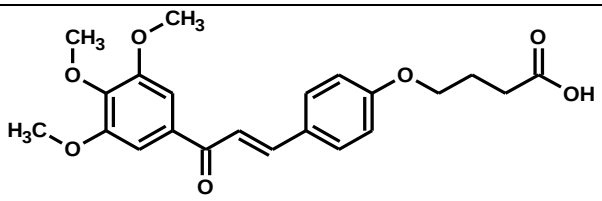
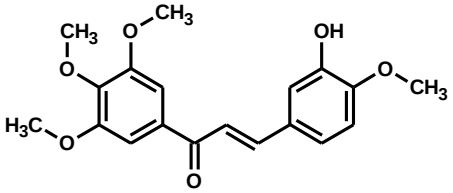
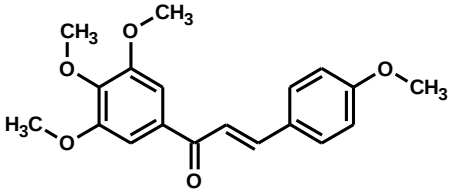
Au vu des résultats précédents, une question se pose : la diminution d'activité est-elle liée au couplage avec les polyamines ? Pour tenter d'y répondre, une évaluation des carboxychalcones **10** et **15** est effectuée.

BY-NC-ND

2.4. Evaluations des carboxychalcones

Les CI_{50} sont reportées dans le tableau 22 et les activités antiprolifératives sont présentées dans la figure 132.

Tableau 22. CI_{50} et structures des carboxychalcones **10** et **15**.

Molécules	HT-29	HCT-116	PC-3	DU-145
10	46,7 ± 0,7	23,2 ± 1,0	58,3 ± 0,6	35,6 ± 2,1
15	45,9 ± 4,3	19,5 ± 1,5	39,3 ± 1,9	24,7 ± 5,2
1	27,8 ± 1,7	0,83 ± 0,11	0,099 ± 0,002	6,3 ± 1,2
2	7,4 ± 0,6	10,7 ± 0,6	7,8 ± 0,5	13,8 ± 1,7
10				
15				
1				
2				

BY-NC-ND

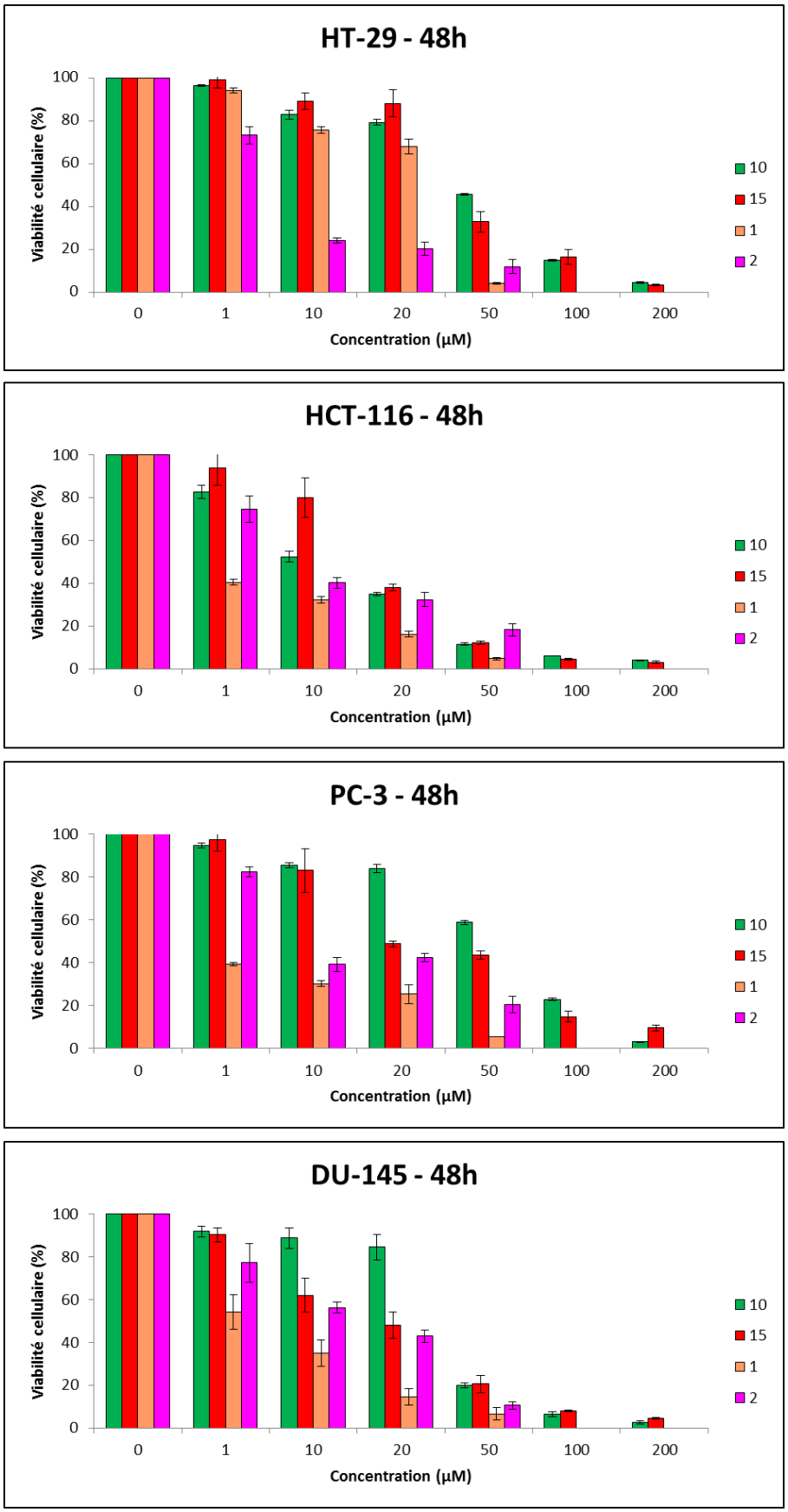


Figure 132. Evaluation antiproliférative des carboxychalcones.

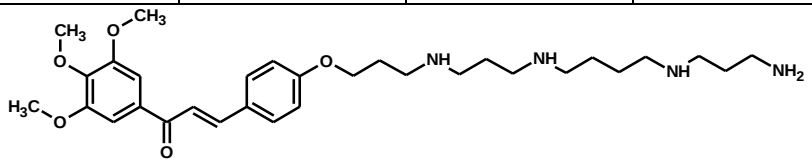
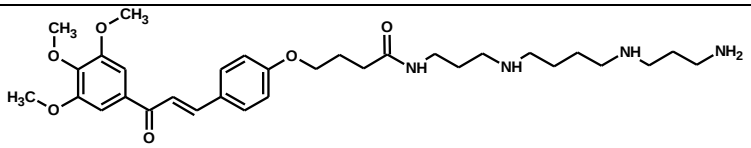
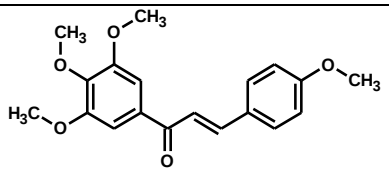
BY-NC-ND

Les résultats montrent ici que la présence d'une chaîne carbonée (bras espaceur), avec une fonction acide carboxylique terminale, diminue l'activité antiproliférative puisque les CI_{50} de **10** et **15** sont supérieures à celles des chalcones **1** et **2** respectivement. Néanmoins, les valeurs des CI_{50} sont meilleures que celles des conjugués des séries **19** et **20**. Il semblerait que l'ajout d'une polyamine ne soit donc pas favorable à l'activité antiproliférative. Cela ne remet pas en cause l'intérêt des polyamines mais signifie peut-être simplement que le linker amide n'est pas approprié dans le cas présent. Les résultats concernant les conjugués de type « amino-alcane » permettront de confirmer ou non ces hypothèses.

2.5. Conjugué chalcone-polyamine, linker amine

La chalcone **26** est le seul conjugué chalcone-polyamine en linker « amino-alcane » qui a pu être obtenu avec une pureté satisfaisante pour envisager les évaluations biologiques. Les CI_{50} de **26** sont donc indiquées dans le tableau 23, et comparées à celles des chalcones **2** et **20d** (linker amide, spermine linéaire) ; les activités antiprolifératives sont présentées dans la figure 133. Les composés **20d** et **26** diffèrent seulement de par la présence d'un groupement carbonyle supplémentaire sur **20d** (carbonyle de la liaison amide).

Tableau 23. CI_{50} et structures des chalcones **26** et **2**.

Molécules	HT-29	HCT-116	PC-3	DU-145
26	9,07 ± 0,02	9,8 ± 0,5	14,9 ± 0,7	13,7 ± 2,0
20d	93,5 ± 4,8	23,2 ± 3,3	34,0 ± 4,5	27,4 ± 5,2
2	7,4 ± 0,6	10,7 ± 0,6	7,8 ± 0,5	13,8 ± 1,7
26				
20d				
2				

BY-NC-ND

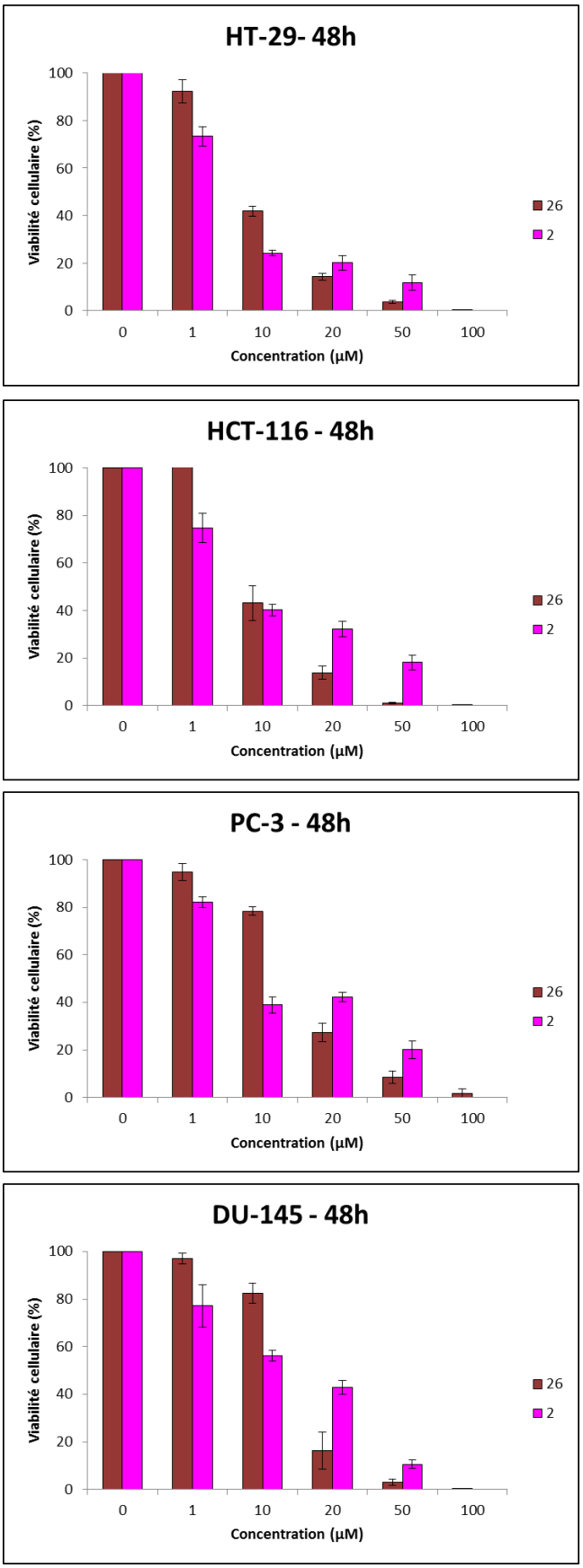


*Figure 133. Evaluation antiproliférative des chalcones **26** et **2**.*

BY-NC-ND

Comparées aux résultats de **20d**, les CI_{50} de **26** sont très encourageantes. En effet, sur HT-29, l'activité de **26** est 10 fois plus élevée que celle de **20d** ; sur les trois autres lignées, son activité est deux fois plus importante. Le conjugué **26** présente des CI_{50} du même ordre de grandeur que la chalcone de référence **2** : environ 10 µM sur les lignées colorectales et environ 14 µM sur les lignées prostatiques. Il n'y a pas de différence significative d'activité entre ces deux chalcones sur les lignées HCT-116 (9,8 ± 0,5 µM pour **26** *vs* 10,7 ± 0,6 µM pour **2**), DU-145 (13,7 ± 2,0 µM pour **26** *vs* 13,8 ± 1,7 µM pour **2**) et HT-29 (9,07 ± 0,02 µM pour **26** *vs* 7,4 ± 0,6 µM pour **2**). Sur la lignée PC-3, **26** est un peu moins active que **2** (14,9 ± 0,7 µM *vs* 7,8 ± 0,5 µM).

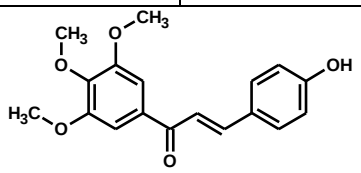
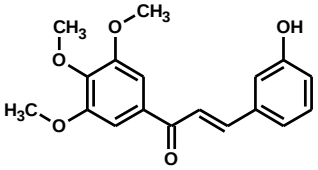
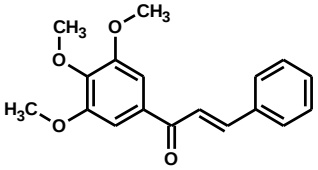
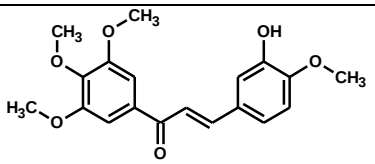
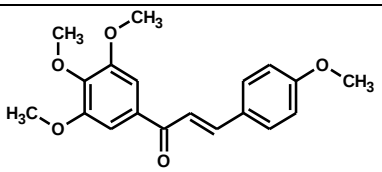
En conclusion, nous pouvons dans un premier temps dire que le linker « amino-alcane » est, d'un point de vu biologique, plus approprié au couplage entre une chalcone et une polyamine. En effet, les valeurs de CI_{50} du conjugué **26** sont extrêmement proches de celles de la chalcone de référence **2**. Ces résultats montrent que l'effet d'une polyamine sur l'activité antiproliférative dépend en fait de la manière dont elle est couplée au motif chalcone. Finalement, nous mettons en évidence que la présence d'un groupement carbonyle sur la chaîne aliphatique est préjudiciable à l'activité antiproliférative de nos chalcones. Il est important de noter que pour la première fois, nous avons un conjugué polyaminé qui a une activité notable et comparable aux chalcone de référence, notamment sur la lignée HT-29.

BY-NC-ND

2.6. Chalcones triméthoxylées : relation structure-activité sur le noyau B

Les chalcones **1** et **2** constituent les références biologiques de notre étude, et vont faire l'objet de travaux d'encapsulation. Néanmoins, afin d'identifier de nouvelles chalcones intéressantes à vectoriser, une étude de relation structure-activité concernant le noyau B, est effectuée. Les évaluations de trois chalcones (**30**, **13** et **29**) sont ici présentées et comparées à celles des chalcones de référence. Les CI_{50} sont répertoriées dans le tableau 24 et les activités antiprolifératives sont présentées dans la figure 134.

Tableau 24. CI_{50} et structures des chalcones **30**, **13**, **29**, **1** et **2**.

Molécules	HT-29	HCT-116	PC-3	DU-145
13	24,3 ± 3,6	17,6 ± 2,7	20,6 ± 0,5	15,3 ± 3,4
29	22,1 ± 4,4	8,2 ± 0,2	10,2 ± 0,9	8,3 ± 0,9
30	3,3 ± 0,3	5,6 ± 0,6	2,8 ± 0,2	4,1 ± 0,2
1	27,8 ± 1,7	0,83 ± 0,11	0,099 ± 0,002	6,3 ± 1,2
2	7,4 ± 0,6	10,7 ± 0,6	7,8 ± 0,5	13,8 ± 1,7
13				
29				
30				
1				
2				

BY-NC-ND

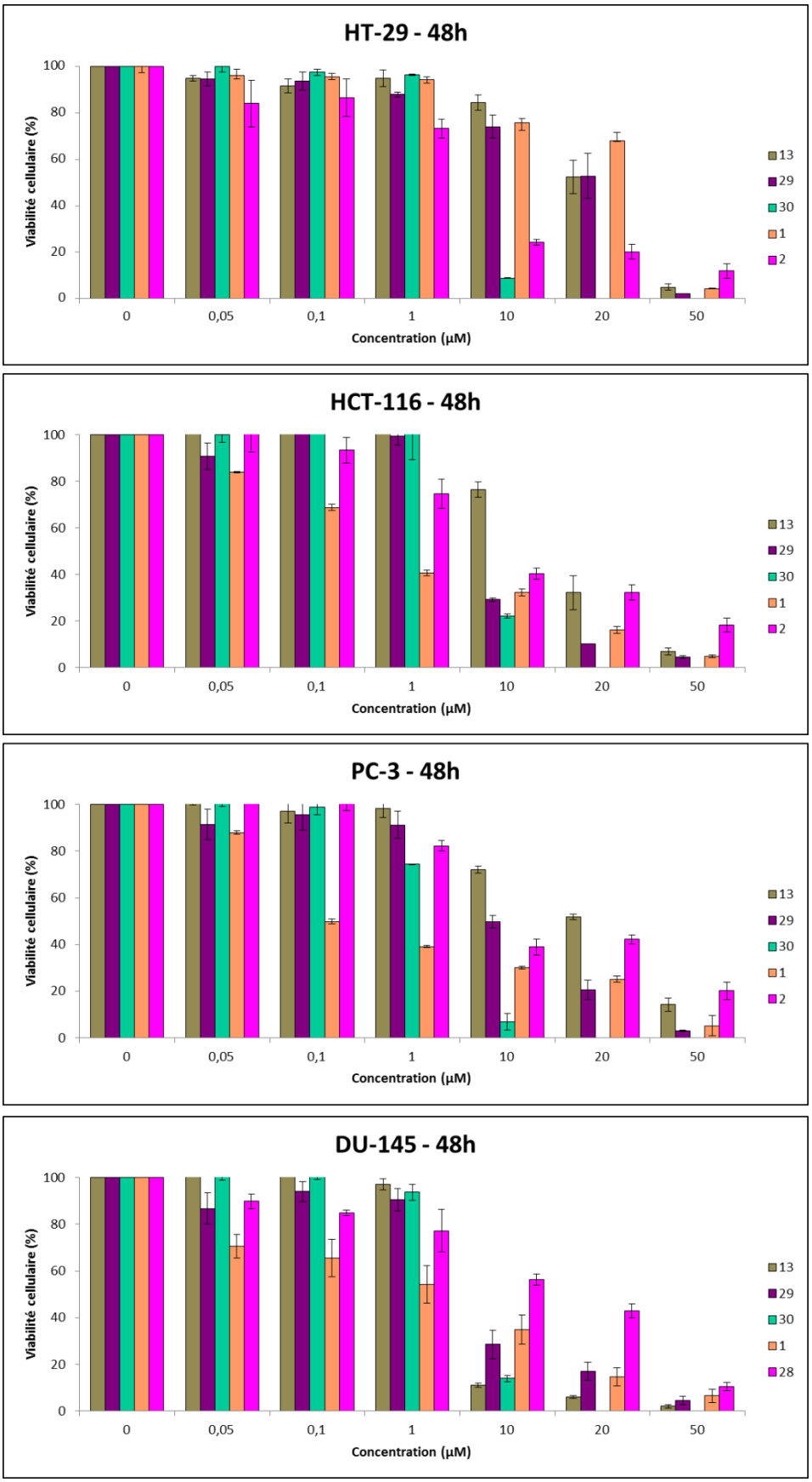


*Figure 134. Evaluation antiproliférative des chalcones **30**, **13**, **29**, **1** et **2**.*

BY-NC-ND

Le composé **13** (4-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone) présente les CI_{50} les plus élevées de cette série avec une moyenne d'environ 20 µM ; il ne sera donc pas retenu pour la suite des travaux d'encapsulation. Le composé **29** (3-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone) possède des CI_{50} semblables à la chalcone **2** sauf concernant la lignée HT-29, où la CI_{50} de **29** est presque 3 fois plus élevée que celle de **2** ; aussi la chalcone **29** ne sera pas conservée pour le travail d'encapsulation. Les CI_{50} de **30** (3',4',5'-triméthoxychalcone) sont de l'ordre de 4 µM en moyenne, et cela sur chacune des lignées, ce qui en fait un potentiel nouveau chef de file dans notre étude ; cette chalcone est donc sélectionnée pour les travaux d'encapsulations.

A l'issue de ce travail, des relations structure-activité peuvent être établies. Tout d'abord ces cinq chalcones triméthoxylées sur le noyau A, présentent une activité antiproliférative sur les quatre lignées étudiées. Ces résultats confirment ceux de la littérature qui démontrent l'intérêt d'un noyau triméthoxylé vis-à-vis de l'activité anti-cancéreuse des chalcones [170, 172, 178]. La 3',4',5'-triméthoxychalcone (**30**) ne possède pas de substituant sur le noyau B, elle est pourtant une des molécules les plus actives de la série ; un substituant sur le noyau B n'est donc pas essentiel à l'effet antiprolifératif. La comparaison des résultats des chalcones **29** et **13** à ceux de **30** montre que l'addition d'un hydroxyle sur les positions 3 (**29**) ou 4 (**13**), provoque une diminution de l'activité, plus marquée pour la position 4. L'influence d'un méthoxy en position 4 dépend de la présence ou non d'un hydroxyle en 3. Ainsi, en comparant les activités de **30** et **2**, il semble que l'addition d'un méthoxy est délétère alors qu'en confrontant les effets de **29** et **1**, l'ajout du méthoxy est bénéfique à l'activité sauf pour la lignée HT-29. Au final, il est intéressant de noter que les trois molécules possédant un hydroxyle sur le noyau B (position 3 ou 4) présentent un effet moins important sur les cellules HT-29. Cet effet négatif, sur HT-29, de l'hydroxyle en 3 est confirmé en comparant les activités des chalcones **1** et **2** ; néanmoins, ce substituant, en présence d'un méthoxy en 4, entraîne une augmentation de l'effet antiprolifératif sur les autres lignées.

BY-NC-ND

2.7. Chalcones encapsulées

Nous présentons ici les évaluations biologiques des chalcones encapsulées dans le complexe **β-CD/CNCx**, ainsi que l'évaluation de ce dernier afin de montrer sa non-toxicité. Les CI_{50} sont reportées dans le tableau 25 et les activités antiprolifératives sont présentées dans la figure 135.

Tableau 25. CI_{50} des complexes **β-CD/CNCx/chalcones** et des chalcones **1**, **2**, et **30**.

Molécules	HT-29	HCT-116	PC-3	DU-145
β-CD/CNCx/1	13,98 ± 0,74	0,83 ± 0 01	0,77 ± 0,05	0,72 ± 0,02
β-CD/CNCx/2	4,5 ± 0,5	8,9 ± 1,0	6,3 ± 1,5	7,9 ± 0,4
β-CD/CNCx/30	9,2 ± 0,4	6,9 ± 0,8	11,4 ± 0,4	7,3 ± 0,2
1	27,8 ± 1,7	0,83 ± 0,11	0,099 ± 0,002	6,3 ± 1,2
2	7,4 ± 0,6	10,7 ± 0,6	7,8 ± 0,5	13,8 ± 1,7
30	3,3 ± 0,3	5,6 ± 0,6	2,8 ± 0,2	4,1 ± 0,2

BY-NC-ND

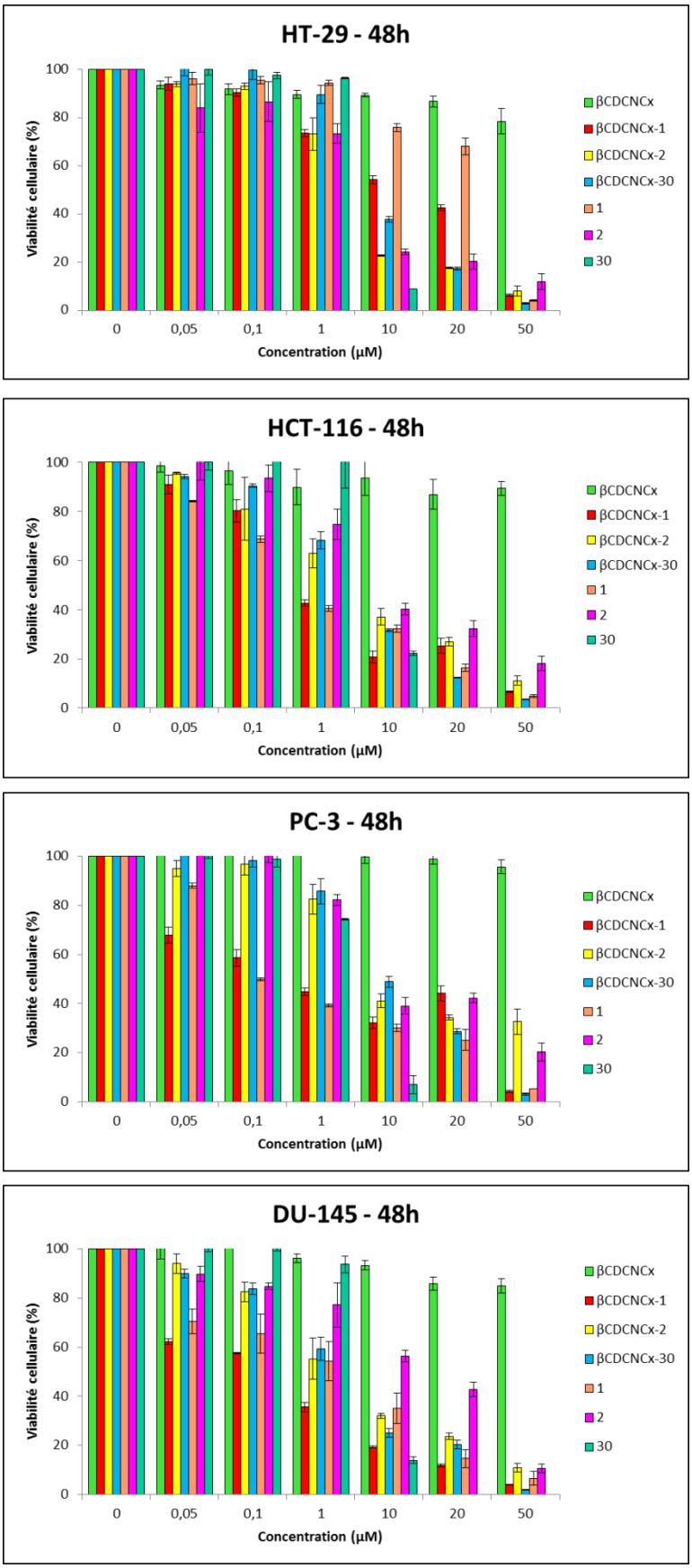


*Figure 135. Evaluation antiproliférative des chalcones **1**, **2**, et **30** encapsulées.*

BY-NC-ND

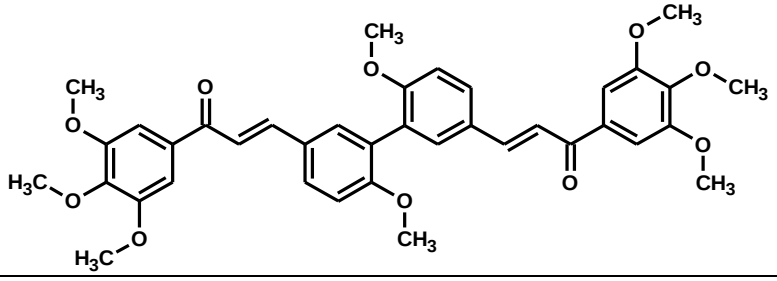
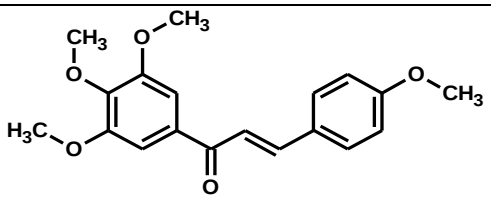
Les CI_{50} du complexe **β-CD/CNCx** ne peuvent pas être déterminées puisque le pourcentage de viabilité cellulaire est, de manière générale, supérieur à 90% quelle que soit la concentration utilisée (0,05-50 µM) ; cela prouve bien la non-toxicité du complexe **β-CD/CNCx** envers les cellules étudiées. A présent, les résultats biologiques des complexes **β-CD/CNCx/chalcones** sont comparés à ceux des chalcones libres correspondantes afin de montrer l'intérêt de l'encapsulation. Seul le complexe **β-CD/CNCx/30** a des CI_{50} supérieures à celles de la chalcone correspondante (**30**) ; l'encapsulation n'est donc dans ce cas, pas pertinente. Concernant le complexe **β-CD/CNCx/2**, les CI_{50} sont légèrement inférieures à celles de **2** sur les quatre lignées étudiées. Nous pouvons donc dire que l'encapsulation de cette chalcone par le complexe **β-CD/CNCx** est une stratégie pertinente pour améliorer l'effet antiprolifératif. Enfin, le complexe **β-CD/CNCx/1** est celui qui présente les meilleures CI_{50} de cette série. Sur HT-29, la valeur de la CI_{50} est quasiment divisée par 2 (13,98 ± 0,74 µM pour **β-CD/CNCx/1** *vs* 27,8 ± 1,7 µM pour **1**). Sur DU-145, la CI_{50} est environ 9 fois plus faible que pour **1** (0,72 ± 0,02 µM *vs* 6,3 ± 1,2 µM). Concernant HCT-116, les valeurs entre le complexe et la chalcone seule sont identiques (0,83 µM). Seule la CI_{50} sur PC-3 n'est pas améliorée, mais reste néanmoins inférieure à 1 µM (0,77 ± 0,05 µM *vs* 0,099 ± 0,002 µM). Comme pour la chalcone **2**, l'encapsulation de la chalcone **1** par le complexe **β-CD/CNCx** s'avère être un choix pertinent puisqu'elle permet d'améliorer nettement son potentiel antiprolifératif sur HT-29 et DU-145. Des essais *in vivo* pourraient confirmer l'intérêt de ces encapsulations en démontrant une capacité de vectorisation des chalcones **1** et **2**.

BY-NC-ND

2.8. Bis-chalcones

Ce dernier paragraphe est consacré à l'évaluation antiproliférative de la bis-chalcone **39**. Les résultats sont comparés à ceux de la chalcone **2**, qui est ici la molécule de référence. Les CI_{50} sont reportées dans le tableau 26 et les activités antiprolifératives sont présentées dans la figure 136.

Tableau 26. CI_{50} et structures des chalcones **39** et **2**.

Molécules	HT-29	HCT-116	PC-3	DU-145
39	2,1 ± 0,1	2,5 ± 0,1	0,37 ± 0,03	0,75 ± 0,05
2	7,4 ± 0,6	10,7 ± 0,6	7,8 ± 0,5	13,8 ± 1,7
39				
2				

BY-NC-ND

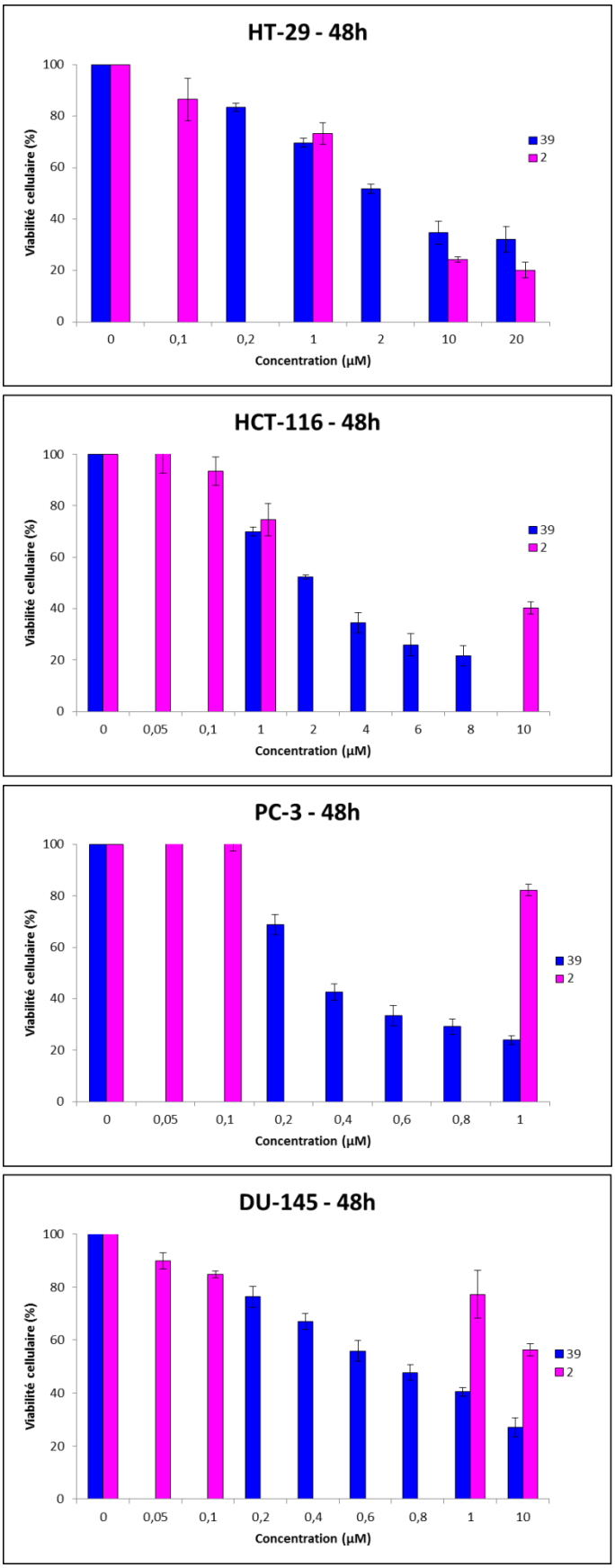


*Figure 136. Evaluation antiproliférative des chalcones **39** et **2**.*

BY-NC-ND

Sur les lignées colorectales HT-29 et HCT-116, les CI_{50} de la bis-chalcone sont de 2,1 et 2,5 µM respectivement, contre 7,4 et 10,7 µM pour **2**. Sur les lignées prostatiques, les CI_{50} de la bis-chalcone **39** sont très inférieures à celles de **2** : 0,37 ± 0,03 µM *vs* 7,8 ± 0,5 µM sur PC-3 ; 0,75 ± 0,05 µM *vs* 13,8 ± 1,7 µM sur DU-145. Cette nouvelle bis-chalcone, inspirée de la structure de la chalcone **2**, démontre des activités antiprolifératives très intéressantes, notamment sur les lignées prostatiques, où les CI_{50} sont inférieures à 1 µM. La bis-chalcone **39** peut être considérée comme un sérieux candidat en tant que nouvel agent antiprolifératif. Il convient tout de même de préciser que cette bis-chalcone présente une solubilité limitée dans de nombreux solvants, y compris dans le DMSO utilisé lors des tests biologiques. Aussi, pour réaliser ces évaluations, la solution de **39** est passée au vortex et au bain ultrasonique avant traitement des cellules. Cette faible solubilité nous conduit à envisager l'encapsulation de cette bis-chalcone afin de pallier ce problème qui peut influer très négativement sur la biodisponibilité de la molécule.

BY-NC-ND

3. Conclusion et perspectives

3.1. Conclusion

Au cours de ce travail, la synthèse de chalcones a été réalisée grâce à la condensation de Claisen–Schmidt entre la 3',4',5'-triméthoxyacétophénone et différents benzaldéhydes. Afin d'améliorer le ciblage et la vectorisation de ces chalcones, certaines d'entre elles ont été couplées avec des polyamines en utilisant deux types de linker : le premier correspond à une liaison amide et le second à une liaison amino-alcane. L'obtention des conjugués « linker amide » implique la synthèse de carboxychalcones. Les différentes voies de synthèse explorées dans ce travail ont permis d'obtenir ces carboxychalcones avec des rendements satisfaisants. Les réactions de couplage entre les carboxychalcones et les motifs polyaminés ont été réalisées grâce aux agents de couplage DCC et HOBt ; après optimisation des protocoles, les conjugués chalcone-polyamine protégés ont été obtenus avec d'excellents rendements, proches de 80%. Concernant l'obtention des conjugués chalcone-polyamine déprotégés, des difficultés ont été rencontrées : les conditions habituelles de déprotection des fonctions Boc (utilisation de l'acide trifluoroacétique en excès dans le dichlorométhane) conduisent à la dégradation des composés de départ. Plusieurs essais ont été menés dans des mélanges EtOH/HCl, et après une optimisation de la réaction, les composés ont pu être déprotégés. Cependant, le caractère particulièrement polaire des fonctions amines libres confère aux conjugués déprotégés une très forte affinité avec la silice. Leur élution, lors de la purification, est donc très délicate et une importante quantité de produit final est parfois impossible à récupérer ; cela explique, en partie, les valeurs parfois très différentes, selon les composés et pour un même protocole, des rendements finaux (33-95%). De plus, la formation de produits de dégradation participe parfois à la diminution de ces rendements. L'obtention des conjugués « amino-alcane » implique la synthèse de la chalcone bromée **22** en tant qu'intermédiaire ; deux voies ont été explorées pour cette synthèse, la voie optimale conduit à la chalcone **22** avec un rendement de 65%. La substitution nucléophile a été réalisée par activation microondes, le chauffage conventionnel ne permettant pas à la chalcone **22** de réagir. Une optimisation des conditions opératoires a permis d'obtenir les conjugués **23** et **24** avec des rendements d'environ 50% ; ces rendements moyens s'expliquent par le fait que la chalcone bromée semble moins réactive dans les conditions

BY-NC-ND

utilisées. En ce qui concerne la déprotection des conjugués **23** et **24**, nous avons rencontré les mêmes problématiques que pour les conjugués « en linker amide » lors de la purification. Aussi, le conjugué **25** n'a pas été isolé et le **26** a été obtenu avec un rendement maximal de 16%.

Afin d'améliorer la biodisponibilité et le ciblage des chalcones, nous avons également envisagé de les encapsuler dans des cyclodextrines (**β-CD**) fixées sur des nanocristaux de cellulose (**CNCx**). Ces travaux nous ont permis d'encapsuler les trois chalcones sélectionnées pour cette étude avec des rendements similaires à ceux déjà décrits au sein du LCSN sur d'autres molécules actives. Cette encapsulation est un travail original puisque les chalcones n'avaient jusque-là pas fait l'objet d'une telle méthode de vectorisation.

Enfin, au cours de ce travail, nous avons effectué la synthèse d'une bis-chalcone *via* la réaction de Suzuki-Miyaura. L'objectif était double : concevoir un nouveau composé en vue d'une application antiproliférative et explorer une voie de synthèse de bis-chalcones originale. La bis-chalcone **39** a été obtenue suite au couplage entre la chalcone bromée **37** et la chalcone boronique **38**, avec un rendement de 41%. Cette méthode pourrait donc être extrapolée à la synthèse d'autres bis-chalcones, voire à des bis-flavonoïdes.

Sur le plan de l'évaluation biologique, l'ensemble des molécules a été testé sur quatre lignées cancéreuses : deux lignées colorectales (HT-29 et HCT-116) et deux lignées prostatiques (PC-3 et DU-145). Les chalcones **1** et **2**, connues pour leurs activités anticancéreuses sur des lignées pulmonaire (A549) leucémique (K562) ou encore ovarienne (A2780), montrent des activités antiprolifératives intéressantes sur les lignées cancéreuses colorectales (HT-29 et HCT-116) et prostatiques (PC-3 et DU-145). Excepté pour HT-29, la chalcone **1** présente de meilleures CI_{50} que la chalcone **2**.

Les effets antiprolifératifs des conjugués **19a-e** et **20a-e** (possédant un linker amide) sont plus faibles que ceux des chalcones **1** et **2**. Ainsi, les composés **19b**, **20b** et **20e** ne présentent aucune activité antiproliférative ($CI_{50} \geq 100$ µM). Concernant les lignées cellulaires, HT-29 (COX-2 positive) apparaît comme la plus résistante de l'étude : les CI_{50} des 10 conjugués sont supérieures à 70 µM ; HCT-116 (COX-2 déficiente) est quant à elle, la lignée présentant la plus grande sensibilité à ces conjugués. En revanche, aucune tendance n'est mise en évidence concernant les lignées PC-3 et DU-145.

BY-NC-ND

D'une manière générale, la série **19** (dérivés de la chalcone **1**) présente des CI_{50} supérieures à celles de la série **20** (dérivés de la chalcone **2**). Les résultats obtenus mettent en évidence l'influence du motif polyaminé et particulièrement le « sens de couplage » des motifs spermidine linéaires (**a** et **b**). En effet, les conjugués **19a** et **20a** (motif spermidine N^8) présentent des CI_{50} intéressantes (**19a** : 44,8 et 51,8 µM sur HCT-116 et PC-3 respectivement ; **20a** : 18,4 ; 42,2 et 50,8 µM sur HCT-116, PC-3 et DU-145 respectivement) alors que celles des conjugués **19b** et **20b** (motif spermidine N^1) sont en général supérieures à 100 µM. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude de Chadwick *et al.* qui concerne le couplage de l'artémisinine à des motifs spermidine : les composés liés par l'azote N^8 expriment une meilleure activité que ceux couplés en N^1 [315]. Les composés aux motifs ramifiés (**19c**, **19e**, **20c** et **20e**) ne présentent, globalement, pas d'activité antiproliférative exploitable : **19e** et **20c** possèdent, certes, des CI_{50} intéressantes sur deux lignées (HCT-116 et PC-3), mais aussi des valeurs relativement élevées pour HT-29 et DU-145 ; quant aux composés **19c** et **20e**, leurs CI_{50} sont très élevées, et cela sur les quatre lignées étudiées. Les conjugués avec un motif spermine linéaire (**19d** et **20d**) présentent les CI_{50} les plus intéressantes de ces deux séries, notamment sur les lignées prostatiques (**19d** : 47,6 ; 31,8 et 25,7 µM sur HCT-116, PC-3 et DU-145 respectivement ; **20d** : 23,2 ; 34,0 et 27,4 µM sur HCT-116, PC-3 et DU-145 respectivement). Concernant PC-3 et DU-145, il faut noter que parmi les deux séries, seuls les conjugués possédant un motif spermine linéaire (**d**) expriment une activité intéressante (CI_{50} proches de 30 µM) ; tous les autres conjugués ont des CI_{50} supérieures à 50 µM. En conclusion, bien que les motifs spermidine N^8 (**a**) et spermine linéaire (**d**) n'améliorent pas l'effet antiprolifératif, ils permettent néanmoins de conserver des activités significatives qui demandent à être confirmées par des études *in vivo* afin de mettre en évidence la capacité de vectorisation de ces motifs polyaminés.

Le couplage à des motifs polyaminés réduisant l'effet antiprolifératif, une évaluation des carboxychalcones **10** et **15** nous a semblé pertinente pour répondre à l'interrogation suivante : la diminution d'activité est-elle simplement liée à l'ajout d'un bras espaceur ?

Les résultats biologiques des carboxychalcones **10** et **15** indiquent effectivement que l'introduction de ce bras espaceur, avec une fonction acide carboxylique, induit une réduction de l'activité. Néanmoins, leur effet antiprolifératif est plus élevé que celui des conjugués polyaminés **19a-e** et **20a-e**. Ces résultats nous ont donc confortés dans notre

BY-NC-ND

volonté d'obtenir de nouveaux conjugués possédant un linker différent afin de déterminer si la perte d'activité est liée à l'introduction d'une polyamine ou à la nature du linker.

Un linker amino-alcane a été envisagé afin de coupler une chalcone aux motifs spermidine N^8 (**a**) et spermine linéaire (**d**), qui sont les plus intéressants au vu des résultats biologiques précédents. Le motif chalcone retenu est celui de la chalcone **2** puisque ses dérivés polyaminés (série **20**) présentent une activité supérieure à celle des conjugués dérivés de la chalcone **1** (série **19**). En réalité, un seul conjugué « amino-alcane » a été obtenu en quantité suffisante et pureté satisfaisante pour effectuer les évaluations biologiques. Comparé à la chalcone de référence **2**, le composé **26** présente des CI_{50} très encourageantes puisqu'elles sont comparables à celles de **2** sur l'ensemble des lignées cellulaires testées. Nous avons donc mis en évidence l'influence de la nature du linker sur l'activité antiproliférative et obtenu un composé au potentiel très encourageant quant à notre stratégie de vectorisation de principes actifs anticancéreux.

Concernant les chalcones encapsulées dans les complexes **β-CD/CNCx**, leurs évaluations ont été effectuées sur les quatre lignées à notre disposition. Tout d'abord, il faut souligner que les complexes **β-CD/CNCx/chalcones** sont utilisés en milieu aqueux ce qui permettra une application potentielle *in vivo* plus intéressante des chalcones. De plus, l'activité des complexes **34** (**β-CD/CNCx/1**) et **35** (**β-CD/CNCx/2**) est, de manière générale, supérieure ou égale à celle des chalcones de référence. Concernant **35**, les CI_{50} sont à chaque fois améliorées sauf sur PC-3 ou elle est égale à celle de **2**. Dans le cas de **34**, les CI_{50} sont améliorées sur HT-29 et DU-145 ; elle est inchangée sur HCT-116 et légèrement supérieure à celle de **1** sur PC-3. L'emploi de ces complexes (**β-CD/CNCx/chalcones**) peut donc être une stratégie pertinente dans les thérapies anticancéreuses *in vivo* ; la poursuite de ces travaux est en cours au sein du LCSN.

Enfin, l'activité antiproliférative de la bis-chalcone **39** est comparée à celle de la chalcone de référence **2**. Sur les quatre lignées cancéreuses étudiées, **39** présente dans chaque cas des CI_{50} plus faibles que **2**, et cela de manière vraiment significative excepté sur HT-29 (2,08 ± 0,07 µM pour **39** *vs* 7,4 ± 0,6 µM pour **2**). Sur HCT-116, **39** marque un peu plus son potentiel antiprolifératif avec une CI_{50} quatre fois plus faible que celle de **2** (2,5 ± 0,1 µM *vs* 10,7 ± 0,6 µM). Sur les lignées prostatiques, la différence est encore plus marquante ; en

BY-NC-ND

effet, sur PC-3, la CI_{50} de la bis-chalcone est 21 fois plus faible que celle de **2** (0,37 ± 0,03 µM *vs* 7,8 ± 0,5 µM) et sur DU-145, elle est 18 fois moins importante (0,75 ± 0,05 µM *vs* 13,8 ± 1,7 µM). Cette nouvelle bis-chalcone peut sérieusement être considérée comme un potentiel agent antiprolifératif dans la thérapie anticancéreuse, et plus particulièrement dans le traitement du cancer de la prostate.

3.2. Perspectives

Afin de compléter cette étude, nous envisageons dans un premier temps d'optimiser la synthèse du conjugué de type « amino-alcane » **26** et de développer un protocole permettant d'obtenir le conjugué **25**. Cela permettrait, en comparant les activités biologiques des conjugués **25** et **20a**, de confirmer ou non l'intérêt d'un linker de type amino-alcane par rapport à une liaison amide. Si cet intérêt est confirmé, il conviendra de synthétiser des conjugués « amino-alcane » dérivés de la chalcone **1**, grâce à un couplage avec la chalcone bromée **27**, dont la synthèse est à optimiser.

Cependant, il faut noter que jusqu'à présent, nos résultats montrent que le couplage d'une polyamine à une chalcone n'entraîne pas d'amélioration de l'activité antiproliférative. Ce constat est peut-être lié au mécanisme d'action des chalcones. Il est en effet démontré que l'activité anticancéreuse de la chalcone **1** repose sur un effet inhibiteur vis-à-vis de la polymérisation de la tubuline [169]. Or, il est également mis en évidence que les polyamines, *in vitro*, ont un rôle promoteur sur l'assemblage des microtubules [317]. Pour autant, dans la littérature, certains conjugués polyaminés ont montré une activité anticancéreuse significative comme le composé F14512 [255]. Une hypothèse peut alors être émise : le couplage d'une polyamine à un agent anticancéreux est peut-être défavorable quand cet agent exerce son activité *via* une inhibition de la polymérisation de la tubuline. La chalcone **2**, elle, selon Qi *et al.*, ne présente pas un tel mécanisme d'action [316] ; cela pourrait expliquer que les conjugués de la série **20**, dont la structure dérive de celle de **2**, soit légèrement plus actifs que les conjugués de la série **19** (dérivés de **1**). En tenant compte de tout cela, il serait alors intéressant de concevoir de nouveaux conjugués chalcone-polyamine, à partir d'une chalcone qui présente par exemple une activité inhibitrice de topoisomérase, à l'image du dérivé F14512.

BY-NC-ND

En ce qui concerne les bis-chalcones, nous envisageons d'optimiser la synthèse du composé **39**. Nous prévoyons de modifier la position de couplage et la nature des substituants présents sur les cycles afin de pouvoir réaliser des études de relation structure-activité concernant l'effet antiprolifératif. Il serait également pertinent de tenter d'utiliser ces bis-chalcones comme intermédiaires de synthèse pour obtenir de nouveaux bis-flavonoïdes et d'en étudier les propriétés biologiques. La vectorisation de la bis-chalcone **39**, notamment par le complexe **β-CD/CNCx**, est aussi une perspective fortement envisagée afin de contourner les problèmes liés à sa faible solubilité.

Enfin, d'un point de vue biologique, il serait pertinent d'une part de compléter les évaluations *in vitro* par des études sur le mécanisme d'action, notamment sur le cycle cellulaire. D'autre part, il serait intéressant d'effectuer des évaluations *in vivo* des conjugués chalcone-polyamine **19a**, **19d**, **20a**, **20d** et **26** afin de démontrer la capacité de vectorisation de motifs spermidine et spermine. De même, les complexes **β-CD/CNCx/chalcones** (ou bis-chalcones) pourraient faire l'objet de telles évaluations pour mettre en évidence la capacité de ces complexes à vectoriser et hydrosolubiliser des chalcones, ou bis-chalcones, en milieu physiologique.

BY-NC-ND

PARTIE III.

Partie expérimentale

BY-NC-ND

1. Réactifs et solvants

Tous les réactifs et solvants sont disponibles chez les fournisseurs suivants : Aldrich (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), Alfa Aesar (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Zepppelinstrasse 7b, 76185 Karlsruhe, Allemagne), Acros Organics (New Jersey, USA) et Iris Biotech (Iris Biotech GmbH, Waldershofer Str.49-51, D-95615 Marktredwitz, Allemagne) ; ils ont été utilisés sans purification supplémentaire.

2. Analyses physico-chimiques

2.1. Spectroscopie RMN

Les analyses RMN ont été réalisées par le Docteur Yves Champavier, à la plate-forme du « Service Commun de Recherche et d'Analyse de Biomolécules de Limoges » (SCRABL) de l'institut « Génomique, Environnement, Immunité, Santé et Thérapeutiques » (GEIST) de l'Université de Limoges, sur deux appareils suite à un changement d'équipement courant 2015 : dans un premier temps, sur un appareil Bruker 400 MHz Avance DPX (sondes de mesure Dual & BBi) à une fréquence de 400,13 MHz pour le proton (^{1}H) et 100,62 MHz pour le carbone (^{13}C) ; ensuite, sur un appareil Bruker 500 MHz Avance III HD (passeur d'échantillons refroidi 24 positions, sonde de mesure BBFO) à une fréquence de 500,15 MHz pour le proton (^{1}H) et 125,78 MHz pour le carbone (^{13}C).

Les déplacements chimiques δ sont exprimés en ppm ; le tétraméthylsilane (TMS) est pris comme référence interne (δ = 0 ppm), les constantes de couplages *J* sont exprimées en Hz.

Les abréviations retenues sont : s (singulet), $s_{él}$ (singulet élargi), d (doublet), $d_{él}$ (doublet élargi), dd (double doublet), t (triplet), q (quadruplet), quint (quintuplet), m (mulitplet).

2.2. Spectrométrie de Masse Haute Résolution (HRMS)

Les spectres d'HRMS sont réalisés par le Docteur Cyril Colas, de la plate-forme « Spectrométrie de Masse Haute Résolution de la Fédération de Recherche Physique et Chimie du Vivant » de « l'Institut de Chimie Organique et Analytique » (ICOA) de l'Université d'Orléans (UMR 7311), sur un spectromètre de masse Bruker maXis UHR-Q-TOF.

BY-NC-ND

2.3. Spectroscopie Infrarouge (IR)

Les spectres IR sont réalisés sur un appareil MIRacle10 (SHIMADZU, N° de série A219652 00360), l'échantillon est déposé sur le module ATR de l'appareil. Les nombres d'ondes sont exprimés en cm^{-1}.

2.4. Spectroscopie Ultraviolet-Visible

Les spectres sont effectués sur un spectrophotomètre GENESYS 10S UV-Vis (Thermo Fisher Scientific, N° de série 2L9N169001). Les spectres des chalcones sont réalisés à l'aide de cellules en quartz de 1 cm de trajet optique. Les longueurs d'onde correspondant aux absorbances maximales λ_{MAX} sont exprimées en nm et les coefficients d'absorption molaire en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$.

3. Chromatographie

Les réactions sont suivies par chromatographie sur couche mince (CCM), utilisant des plaques d'aluminium recouvertes d'un gel de silice pour CCM 60 F-254 (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Allemagne). La révélation est effectuée par observation directe des composés colorés (les chalcones sont colorées en jaune), sous la lampe UV dans le cas des composés conjugués (254 et 365 nm) et par vaporisation à la ninhydrine suivie d'un chauffage à 150°C dans le cas des composés aminés.

Les purifications sur plaques préparatives sont réalisées sur des plaques de verre (20 x 20 cm) recouvertes d'une couche de silice 60 HF-254 (gel de silice 60 HF-254, Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Allemagne).

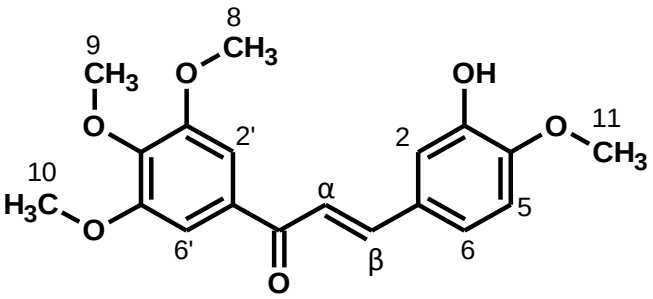
Les purifications sur colonnes ouvertes emploient un gel de silice 60 (gel de silice 60, 0,040-0,063 mm, Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Allemagne).

Les purifications par chromatographie flash ont été effectuées sur un appareil CombiFlash® Companion®.

BY-NC-ND

4. Synthèses

3-hydroxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (1)



$C_{19}H_{20}O_6$ M = 344,359 g.mol^{-1}

1,05 g de 3',4',5'-triméthoxyacétophénone (M = 210,23 g.mol^{-1}, n = 5.10^{-3} mol) sont dissous dans 15 mL de MeOH puis y sont ajoutés 1,02 g de NaOH (M = 39,997 g.mol^{-1}, n = 2,5.10^{-2} mol = 5 eq) préalablement dissous dans 3 mL d'H_2O. L'ensemble est laissé sous agitation à température ambiante pendant 15 minutes. 760,7 mg de 3-hydroxy-4-méthoxy-benzaldéhyde (M = 152,15 g.mol^{-1}, n = 5.10^{-3} mol = 1 eq), préalablement dissous dans 10 mL de MeOH, sont ajoutés. La réaction est conduite à reflux pendant 2h puis le milieu réactionnel est évaporé. Le résidu est repris dans 20 mL d'eau et la solution est acidifiée jusqu'à pH 3 à l'aide d'une solution d'HCl 3M. Une extraction est réalisée avec 3x20 mL de $CHCl_3$. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée à l'évaporateur rotatif. Le résidu est ensuite purifié sur chromatographie flash (Hex/EtOAc 60/40 puis 50/50). 1,185 g de produit pur sont obtenus (M = 344,36 g.mol^{-1}, n = 3,44.10^{-3} mol, R = 69 %).

Rf = 0,25 (Hex/EtOAc 60/40).

IR ν(cm^{-1}) : 3399, 1651, 1580, 1505, 1337, 1266, 1156, 1127.

RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,75 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β), 7,36 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α), 7,31 (1H, d, *J*=1,8Hz, H-2), 7,28 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,13 (1H, dd, *J*=1,8Hz et *J*=8,3Hz, H-6), 6,88 (1H, d, *J*=8,3Hz, H-5), 5,82 (1H, s, OH), 3,94 (12H, 1s, 4xOCH_3).

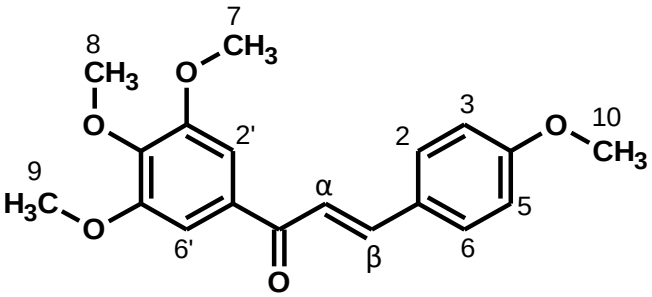
RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,1 (CO), 153,1 (C-3' et C-5'), 148,9 (C-4), 145,9 (C-3), 144,7 (C-β), 142,4 (C-4'), 133,8 (C-1'), 128,6 (C-1), 123,0 (C-6), 119,9 (C-α), 112,9 (C-2), 110,6 (C-5), 106,0 (C-2' et C-6'), 61,0 (C-9), 56,4 (C-8 et C-10), 56,1 (C-11).

TOF MS ES+ : $[M+Na]^+$ pour $C_{19}H_{20}O_6Na$: m/z 367,1158 ; trouvé : m/z 367,1158.

N° CAS : 181644-49-5.

BY-NC-ND

3’,4,4’,5’-tétraméthoxychalcone (2)



$C_{19}H_{20}O_5$ M = 328,359 g.mol^{-1}

100 mg de 3’,4’,5’-triméthoxyacétophénone (M = 210,23 g.mol^{-1}, n = 4,76.10^{-4} mol) sont mis en solution dans 15 mL de MeOH puis y sont ajoutés 95 mg de NaOH (M = 39,997 g.mol^{-1}, n = 2,38.10^{-3} mol = 5 eq) préalablement dissous dans 2 mL d’eau. L’ensemble est laissé sous agitation à température ambiante pendant 15 minutes. Puis 97 mg de 4-méthoxybenzaldéhyde (M = 136,15 g.mol^{-1}, n = 7,135.10^{-4} mol = 1,5 eq), sont ajoutés. La réaction est conduite à reflux pendant 1h30. Ensuite, le milieu réactionnel est évaporé. Le résidu est repris dans 20 mL d’eau puis la solution est acidifiée jusqu'à pH 3 à l’aide d’une solution d’HCl 3M. Une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée à l’évaporateur rotatif. Le résidu est ensuite purifié sur plaques préparatives de silice (Hex/EtOAc 80/20, 2 migrations). 86 mg de produit pur sont obtenus (M = 298,33 g.mol^{-1}, n = 2,619.10^{-4} mol, R = 55 %).

Rf : 0,50 (Hex/EtOAc 70/30).

RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,80 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-β), 7,62 (2H, d, *J*=8,7Hz, H-2 et H-6), 7,36 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-α), 7,27 (2H, s, H-2’ et H-6’), 6,95 (2H, d, *J*=8,7Hz, H-3 et H-5), 3,95 (6H, s, OCH_3-7 et OCH_3-9), 3,94 (3H, s, OCH_3-10), 3,87 (3H, s, OCH_3-8).

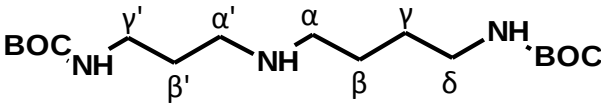
RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (CO), 161,7 (C-4), 153,2 (C-3’ et C-5’), 144,6 (C-β), 142,4 (C-4’), 133,9 (C-1’), 130,2 (C-2 et C-6), 127,7 (C-1), 119,5 (C-α), 114,5 (C-3 et C-5), 106,1 (C-2’ et C-6’), 61,0 (C-10), 56,4 (C-7 et C-9), 55,5 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{19}H_{21}O_5$: m/z 329,1384 ; trouvé : m/z 329,1382.

N° CAS : 110048-17-4.

BY-NC-ND

N^1,N^8-bis-*tert*-butoxycarbonylspermidine (3)



$C_{17}H_{35}N_3O_4$ M = 345,48 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol de 100 mL, 10,173 g (M = 246,242 g.mol^{-1}, n = 4,13.10^{-2} mol = 2 eq) de Boc-ON sont dissous dans 20 mL de THF anhydre ; sont ajoutés, au goutte à goutte, 3 g de spermidine (2,065.10^{-2} mol, M = 145,246 g.mol^{-1}) dissous dans 30 mL de THF anhydre. A ce mélange est ajouté 8,35 mL de Et_3N (M = 101.19 g.mol^{-1}, n = 6,19.10^{-2} mol = 3 eq, d = 0,75). Le milieu réactionnel est maintenu sous atmosphère d'azote durant 16h à 0°C. A la fin de la réaction, le THF est évaporé et l'huile jaune obtenue est reprise dans 80 mL de $CHCl_3$; elle est ensuite lavée avec 100 mL de soude à 1% massique puis avec 3x150 mL d'eau, séchée sur MgSO4, filtrée sur Büchner et évaporée sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié sur colonne de gel de silice (EtOH + 1% NH_4OH) et 11,85 g de produit pur sont obtenus (M = 345,48 g.mol^{-1}, n = 3.43.10^{-2} mol, R = 83%).

Rf = 0,56 (EtOAc/acétone/eau/CH_3COOH 5/3/1/1).

IR ν(cm^{-1}) : 3373, 2977, 2929, 1685, 1165.

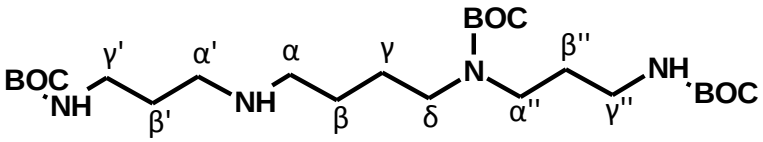
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 5,26 (s, 1H, NH-Boc), 4,90 (s, 1H, NH-Boc), 3,19 (q, *J*=6,0 Hz, 2H, H-γ'), 3,12 (q, *J*=5,9 Hz, 2H, H-δ), 2,65 (t, *J*=6,6 Hz, 2H, H-α'), 2,60 (t, *J*=6,6 Hz, 2H, H-α), 1,65 (quint., *J*=6,6 Hz, 2H, H-β'), 1,52 (quint., *J*=6,5 Hz, 2H, H-γ), 1,50 (quint., *J*=6,5 Hz, 2H, H-β), 1,44 (s, 18H, 6xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 156,1 (2xCO-Boc), 78,9 (C-tBu), 49,4 (C-α), 47,7 (C-α'), 40,4 (C-δ), 39,2 (C-γ'), 29,9 (C-β'), 28,4 (6xCH_3-Boc), 27,8 (C-β), 27,4 (C-γ).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{17}H_{36}N_3O_4$: m/z 346,2700 ; trouvé : m/z 346,2702.

BY-NC-ND

N^1,N^8,N^{12}-tris-*tert*-butoxycarbonylspermine (4)



$C_{25}H_{50}N_4O_6$ M = 502,69 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol de 100 mL, 7,303 g (M = 246,242 g.mol^{-1}, n = 2.966.10^{-2} mol = 3 eq) de Boc-ON sont dissous dans 20 mL de THF anhydre ; sont ajoutés, au goutte à goutte, 2 g de spermine (M = 202,34 g.mol^{-1}, n= 9,887.10^{-3} mol) dissous dans 30 mL de THF anhydre. A ce mélange est ajouté 5,36 mL de Et_3N (M = 101.19 g.mol^{-1}, n = 3,955.10^{-2} mol = 4 eq, m = 4,002 g, d = 0,75). Le milieu réactionnel est maintenu sous atmosphère d'azote durant 16h à 0°C. A la fin de la réaction, le THF est évaporé et l'huile jaune obtenue est reprise dans 80 mL de $CHCl_3$; elle est ensuite lavée avec 100 mL de soude à 1% massique puis avec 3x150 mL d'eau, séchée sur MgSO4, filtrée sur Büchner et évaporée sous pression réduite. Le brut réactionnel est alors purifié sur colonne de gel de silice (EtOH + 1% NH_4OH) et 10,74 g (M = 502,69 g.mol^{-1}, n = 2,21.10^{-2} mol, R = 72%) de produit pur sont obtenus.

Rf = 0,58 (EtOAc/acétone/eau/CH_3COOH 5/3/1/1).

IR ν(cm^{-1}) : 3348, 2976, 2932, 1693, 1520, 1172).

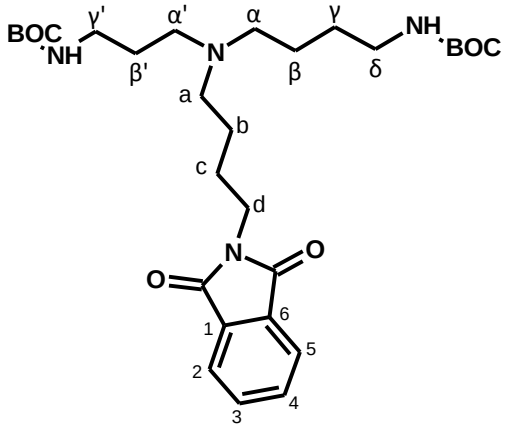
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 5,31 (1H, s, NH-Boc), 5,11 (1H, s, NH-Boc), 3,24 (2H, m, H-α''), 3,20 (2H, m, H-γ''), 3,14 (2H, m, H-δ), 3,10 (2H, m, H-γ'), 2,66 (2H, t, *J*=6,8 Hz, H-α'), 2,60 (2H, t, *J*=6,9 Hz, H-α), 1,65 (4H,m, H-β' et H-β''), 1,55-1,46 (4H, m, H-β et H-γ), 1,44 (27H,s, 9xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 156,1 (CO-Boc), 155,98 (CO-Boc), 155,4 (CO-Boc), 79,7 (C-tBu), 79,4 (C-tBu), 78,9 (C-tBu), 49,6 (C-α), 47,7 (C-α'), 46,8 (C-δ), 43,9 (C-α''), 39,2 (C-γ''), 37,4 (C-γ'), 29,9-29,2 (C-β' et C-β''), 28,4 (9xCH_3-Boc) ,27,8-26,4 (C-β et C-γ).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{25}H_{51}N_4O_6$: m/z 503,3803 ; trouvé : m/z 503,3811.

BY-NC-ND

N^4-(4-phtalimidobutyl)-N^1,N^8-bis-*tert*-butoxycarbonylspermidine (5)



$C_{29}H_{46}N_4O_6$ M = 546,699 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 835 mg (M = 345,48 g.mol^{-1}, n = 2,42.10^{-3} mol) du composé **3** sont dissous dans 20 mL d'acétonitrile (CH_3CN) en présence de 852 mg (M = 282,133 g.mol^{-1}, n = 3,02.10^{-3} mol = 1,25 eq) de N-(4-bromobutyl)phtalimide et de 1,67 g (M = 138,21 g.mol^{-1}, n = 1,21.10^{-2} mol = 5 eq) de K_2CO_3. Le mélange est porté à reflux pendant 18h puis l'acétonitrile est évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris dans 50 mL de CH_2Cl_2 et la phase organique est lavée avec une solution saturée de $NaHCO_3$ (2x50 mL) puis avec de l'eau (2x50 mL), séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner et évaporée. Le résidu est ensuite purifié sur colonne de gel de silice ($CHCl_3$/EtOH 100/0 - 85/15) et 1,27 g de produit pur sont isolés (M = 546,699 g.mol^{-1}, n = 2,32.10^{-3} mol, R = 96%).

Rf = 0,46 ($CHCl_3$/MeOH 94/6).

IR ν(cm^{-1}) : 3354, 2975, 2932, 1772, 1713, 1170.

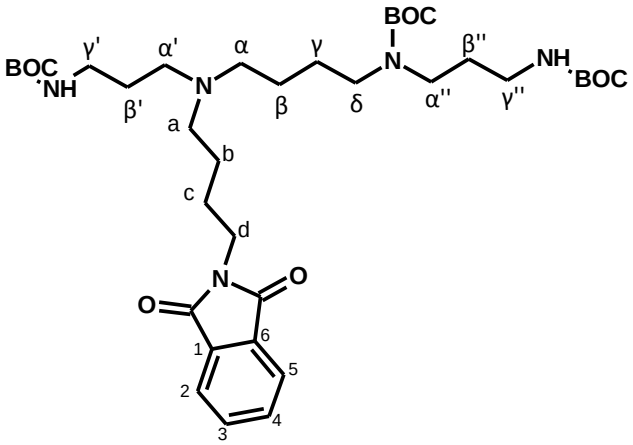
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,84 (2H, dd, *J*=3,1 et *J*=5,1, H-3 et H-4), 7,71 (2H, dd, *J*=3,1 et *J*=5,1, H-2 et H-5), 5,34 (1H, s, NH-Boc), 4,91 (1H, s, NH-Boc), 3,70 (2H, t, *J*=7,2 Hz, H-d), 3,14 (4H, m, H-γ' et H-δ), 2,44 (6H, m, H-α, H-α' et H-a), 1,71 (2H, quint., *J*=7,2 Hz, H-c), 1,63 (2H, quint., *J*=7,2 Hz, H-b), 1,48 (6H, m, H-β, H-γ et H-β'), 1,44 (18H, s, 6xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 168,4 (2xCON), 156,0 (2xCO-Boc), 133,4 (C-5), 132,1 (C-1 et C-6), 123,7 (C-3 et C-4), 79,4 (C-tBu), 78,7 (C-tBu), 53,6-52,2 (C-α, C-α' et C-a), 40,5 (C-δ), 39,8 (C-γ'), 37,8 (C-d), 29,7 (C-β'), 28,4 (6xCH_3-Boc), 26,9 (C-b), 26,4 (C-c), 24,4 (C-β), 23,9 (C-γ).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{29}H_{47}N_4O_6$: m/z 547,3496 ; trouvé : m/z 547,3496.

BY-NC-ND

N^4-(4-phtalimidobutyl)-N^1,N^8,N^{12}-tris-*tert*-butoxycarbonylspermine (6)



$C_{37}H_{61}N_5O_8$ M = 703,909 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 4,859 g (M = 502,69 g.mol^{-}1, n = 9,667.10^{-3} mol) du composé **4** sont dissous dans 20 mL d'acétonitrile (CH_3CN) en présence de 3,409 g (M = 282,133 g.mol^{-1}, n = 1,208.10^{-2} mol = 1,25 eq) de N-(4-bromobutyl)phtalimide et de 6,68 g (M = 138,21 g.mol^{-1}, n = 4,833.10^{-2} mol, 5 eq) de K_2CO_3. Le mélange est porté à reflux pendant 18h puis l'acétonitrile est évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris dans 50 mL de CH_2Cl_2 et la phase organique est lavée avec une solution saturée de $NaHCO_3$ (2x50 mL) puis avec de l'eau (2x50 mL), séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner et évaporée. Le résidu est ensuite purifié sur colonne de gel de silice ($CHCl_3$/EtOH 100/0 - 85/15) et 6,46 g de produit pur sont obtenus (M = 703,909 g.mol^{-1}, n = 9,18.10^{-3} mol, R = 95%).

Rf = 0,48 ($CHCl_3$/MeOH 93/7).

IR ν(cm^{-1}) : 3356, 2974, 2935, 1771, 1711, 1171 cm^{-1}.

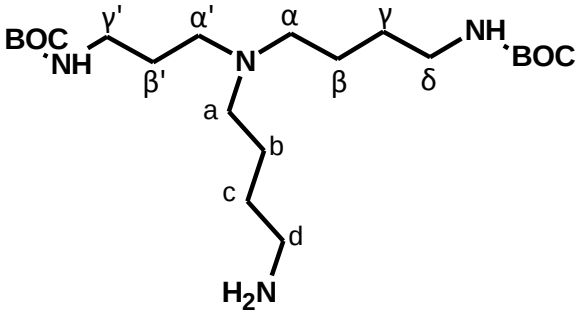
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,84 (2H, dd, *J*=3,1 et *J*=5,4Hz, H-3 et H-4), 7,71 (2H, dd, *J*=3,1 et *J*=5,4Hz, H-2 et H-5), 5,40 (1H, s, NH-Boc), 4,91 (1H, s, NH-Boc), 3,70 (2H, t, *J*=7,2Hz, H-d), 3,24 (2H, m, H-α''), 3,15 (2H, m, H-γ''), 3,12 (2H, m, H-γ'), 3,10 (2H, m, H-δ), 2,39 (6H, m, H-α, H-α' et H-a), 1,68 (4H, m, H-b et H-c), 1,59 (2H, m, H-β''), 1,48 (6H, m, H-β, H-γ et H-β'), 1,44 (27H, s, 9xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 168,4 (2xCON), 156,0 (3xCO-Boc), 133,9 (C-5), 132,1 (C-1 et C-6), 123,2 (C-4), 79,4 (C-tBu), 78,7 (C-tBu), 77,2 (C-tBu), 53,7-52,5 (C-α, C-α' et C-a), 46,9 (C-δ), 43,9 (C-α''), 43,1 (C-γ''), 39,8 (C-γ'), 37,8 (C-d), 28,4 (9xCH_3-Boc), 28,3-28,2 (C-b et C-c), 27,0-24,3 (C-β, C-β', C-β'' et C-γ).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{37}H_{62}N_5O_8$: m/z 704,4598 ; trouvé : m/z 704,4592.

BY-NC-ND

N^4-(4-aminobutyl)-N^1,N^8-bis-*tert*-butoxycarbonylspermidine (7)



$C_{21}H_{44}N_4O_4$ M = 416,599 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 1,078 g de **5** (M = 546,699 g.mol^{-1}, n= 1,97.10^{-3} mol) sont dissous dans 30 mL d'un mélange THF/EtOH (8/2) auquel sont ajoutés 4,78 mL d'hydrazine monohydrate (M = 50,06 g.mol^{-1}, n= 9,86.10^{-2} mol, 50 eq, m = 4,936 g, d = 1,032). Ce mélange est porté à 90°C pendant 5h puis à 50°C pendant 18h et le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est repris dans 50 mL de CH_2Cl_2 et la phase organique est lavée avec de la soude (2x50 mL à 5%) puis avec de l'eau (3x50 mL), séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner et évaporée. Le produit obtenu étant pur, il n'est pas nécessaire d'effectuer de purification (m = 817mg, M = 416,599 g.mol^{-1}, n = 1,96.10^{-3} mol, R = 99,5%).

Rf = 0,35 (MeOH + 5% NH_4OH).

IR ν(cm^{-1}) : 3347, 2974, 2933, 1693, 1173.

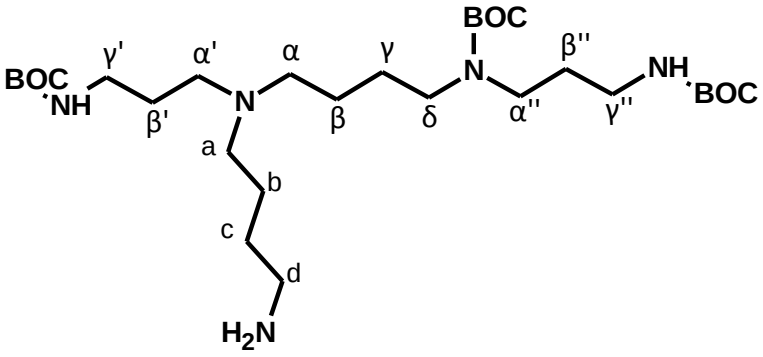
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 5,53 (1H, s, NH-Boc), 4,87 (1H, s, NH-Boc), 3,16 (2H, m, H-γ'), 3,12 (2H, m, H-δ), 2,70 (2H, t, *J*=6,4Hz, H-d), 2,44 (2H, t, *J*=6,5Hz, H-α'), 2,38 (4H, m, H-α et H-a), 1,60 (2H, quint., *J*=6,5Hz, H-β'), 1,47 (8H, m, H-β, H-γ, H-b et H-c), 1,44 (18H, s, 6xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 156,0 (2xCO-Boc), 79,4 (C-tBu), 78,7 (C-tBu), 53,8-52,0 (C-α, C-α' et C-a), 42,1 (C-δ), 40,4 (C-γ'), 40,4 (C-d), 29,6 (C-β'), 28,4 (6xCH_3-Boc), 27,9 (C-b), 26,7 (C-c), 24,4 (C-β), 24,3 (C-γ).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{21}H_{45}N_4O_4$: m/z 417,3441 ; trouvé : m/z 417,3440.

BY-NC-ND

N^4-(4-aminobutyl)-N^1,N^8,N^{12}-tris-tert-butoxycarbonylspermine (8)



$C_{29}H_{59}N_5O_6$ M = 573,81 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 2,218 g de **6** (M = 703,909 g.mol^{-1}, n = 3,151.10^{-3} mol) sont dissous dans 30 mL d'un mélange THF/EtOH (8/2) auquel sont ajoutés 7,64 mL d'hydrazine monohydrate (M = 50,06 g.mol^{-1}, n= 1,576.10^{-1} mol, 50 eq, m = 7,887 g, d = 1,032). Ce mélange est porté à 90°C pendant 5h puis à 50°C pendant 18h et le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est repris dans 50 mL de CH_2Cl_2, la phase organique est alors lavée avec de la soude (2x50 mL à 5%) puis avec de l'eau (3x50 mL), séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner et évaporée. Le résidu est purifié sur colonne (MeOH/NH_4OH 100/0 - 95/5). Ainsi, 1,76 g de produit pur sont obtenus (M = 573,81 g.mol^{-1}, n = 3,067.10^{-3} mol, R = 98%).

Rf = 0,42 (MeOH + 5% NH_4OH).

IR ν(cm^{-1}) : 3353, 2974, 2932, 1693, 1172.

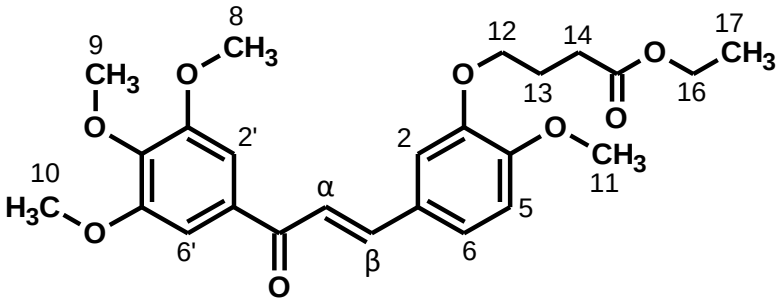
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 5,32 (1H, s, NH-Boc), 4,83 (1H, s, NH-Boc), 3,24 (2H, m, H-α''), 3,16 (2H, m, H-γ''), 3,14 (2H, m, H-γ'), 3,10 (2H, m, H-δ), 2,70 (2H, t, *J*=6,4Hz, H-d), 2,44 (2H, m, H-α'), 2,38 (4H, m, H-α et H-a), 1,65 (2H, m, H-β''), 1,60 (2H, quint., *J*=6,4Hz, H-β'), 1,50 (4H, m, H-b et H-c), 1,44 (27H, s, 9xCH_3-Boc), 1,39 (4H, m, H-β et H-γ).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 156,0 (3xCO-Boc), 79,4 (C-tBu), 78,7 (C-tBu), 77,3 (C-tBu), 53,9-53,7 (C-α et C-a), 52,7 (C-α'), 46,9 (C-γ'), 43,6 (C-α''), 42,1 (C-d), 40,0 (C-γ''), 37,4 (C-δ), 31,6-24,3 (C-β, C-β', C-β'', C-γ, C-b et C-c), 28,4 (9xCH_3-Boc).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{29}H_{60}N_5O_6$: m/z 574,4544 ; trouvé : m/z 574,4544.

BY-NC-ND

3-(3-éthoxycarbonylpropyloxy)-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (9)



$C_{25}H_{30}O_8$ M = 458,501 g.mol^{-1}

320 mg de chalcone **1** (M = 344,359 g.mol^{-1}, n = 9,29.10^{-4} mol) sont dissous dans 12 mL de DMF en présence de 1,812 g de 4-bromobutyrate d'éthyle (M = 195,05 g.mol^{-1}, n = 9,29.10^{-3} mol = 10 eq) et de 2,569 g de K_2CO_3 (M = 138,21 g.mol^{-1}, n = 1,86.10^{-2} mol = 20 eq). La réaction se déroule à température ambiante pendant 2h. Le DMF est ensuite évaporé sous pression réduite, le résidu est repris dans 20 mL d'eau et la phase aqueuse est acidifiée à l'aide d'HCl 3M (pH 3-4). Une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2 puis la phase organique est séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner et évaporée. 425 mg de produit pur sont récupérés sans purification (M = 458,501 g.mol^{-1}, n = 9,269.10^{-4} mol, R = 99,8%).

Rf = 0,2 (Hex/EtOAc 65/35).

IR ν(cm^{-1}) : 2939, 1730, 1579, 1512, 1338, 1261, 1157, 1127.

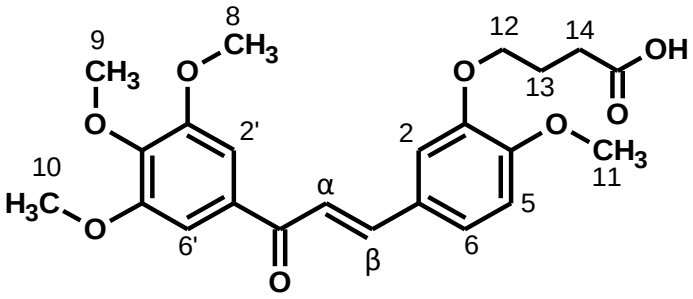
RMN ^{1}H (400,13 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,74 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β), 7,63 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α), 7,42 (1H, d, *J*=1,6Hz, H-2), 7,40 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,33 (1H, dd, *J*=1,7Hz et *J*=8,3Hz, H-6), 7,01 (1H, d, *J*=8,3Hz, H-5), 4,14 (2H, q, *J*=7,2Hz, H-16), 4,12 (2H, t, *J*=6,2Hz, H-12), 3,94 (6H, 1s, (OCH_3)-8 et (OCH_3)-10), 3,89 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,86 (3H, s, (OCH_3)-9), 2,55 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-14), 2,11 (2H, quint, *J*=6,6Hz, H-13), 1,24 (3H, t, *J*=7,1Hz, H-17).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 191,4 (CO), 175,3 (COO), 154,8 (C-3' et C-5'), 153,9 (C-4), 150,2 (C-3), 146,8 (C-β), 144,0 (C-4'), 135,2 (C-1'), 129,5 (C-1), 125,4 (C-6), 120,7 (C-α), 114,2 (C-2), 113,1 (C-5), 107,7 (C-2' et C-6'), 69,5 (C-12), 61,7 (C-16), 61,4 (C-9), 57,1 (C-8 et C-10), 56,6 (C-11), 31,8 (C-14), 25,9 (C-13), 14,7 (C-17).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{25}H_{31}O_8$: m/z 459,2013 ; trouvé : m/z 459,2012.

BY-NC-ND

3-(3-carboxypropyloxy)-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (10)



$C_{23}H_{26}O_8$ M = 430,448 g.mol^{-1}

84 mg de **9** (M = 458,501 g.mol^{-1}, n = 1,83.10^{-4} mol) sont dissous dans un mélange THF/H_2O (8/2) 8 mL puis 38,4 mg de LiOH (M = 41,96 g.mol^{-1}, n = 9,16.10^{-4} mol = 5 eq.) sont ajoutés au milieu réactionnel. La réaction se déroule à température ambiante pendant 6h, puis le milieu réactionnel est évaporé. Le résidu est repris dans 20 mL d'H_2O et la solution est acidifiée (pH 2) par ajout d'HCl (3M). La chalcone est extraite par 3x20 mL de CH_2Cl_2 et la phase organique est séchée sur Na_2SO_4 ,filtrée sur Büchner puis évaporée. Le résidu est ensuite purifié sur plaques préparatives de silice et 77 mg de produit pur sont obtenus (M = 430,448 g.mol^{-1}, n = 1,79.10^{-4} mol, R = 98%).

R_f = 0,35 ($CHCl_3$/MeOH 95/5).

IR ν(cm^{-1}) : 3454, 2934, 1713, 1649, 1574, 1504, 1413, 1337, 1261, 1157, 1126.

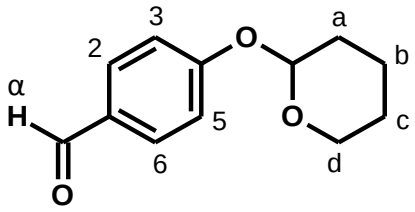
RMN ^{1}H (400,13 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,73 (1H, d, *J*=15,4Hz, H-β), 7,61 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α), 7,42 (1H, d, *J*=1,2Hz, H-2), 7,38 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,30 (1H, dd, *J*=1,2Hz et *J*=8,2Hz, H-6), 6,99 (1H, d, *J*=8,4Hz, H-5), 4,12 (2H, t, *J*=6,2Hz, H-12), 3,93 (6H, s, (OCH_3)-3' et (OCH_3)-5'), 3,90 (3H, s, (OCH_3)-4), 3,88 (3H, s, (OCH_3)-4'), 2,53 (2H, t, *J*=6,9Hz, H-14), 2,09 (2H, quint, *J*=6,7Hz, H-13).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 191,1 (CO), 177,9 (COO), 154,5 (C-3' et C-5'), 153,6 (C-4), 150,0 (C-3), 146,5 (C-β), 143,7 (C-4'), 135,0 (C-1'), 129,3 (C-1), 125,2 (C-6), 120,4 (C-α), 113,9 (C-2), 112,8 (C-5), 107,4 (C-2' et C-6'), 69,4 (C-12), 61,1 (C-9), 56,8 (C-8 et C-10), 56,4 (C-11), 31,6 (C-14), 25,8 (C-13).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{23}H_{27}O_8$: m/z 431,1700 ; trouvé : m/z 431,1699.

BY-NC-ND

4-tétrahydropyran-2-yloxybenzaldehyde (11)



$C_{12}H_{14}O_3$ M = 206,238 g.mol^{-1}

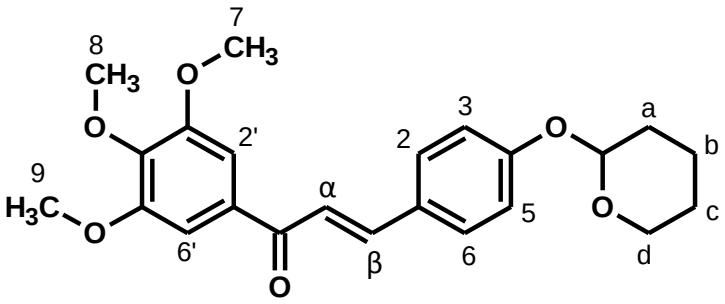
Dans un ballon de réaction, 1g de 4-hydroxy-benzaldéhyde (M = 122,12 g.mol^{-1}, n = 8,19.10^{-3} mol) ainsi que 51,4 mg de *p*PTS (n = 0,025 eq = 2,05.10^{-4} mol, M = 251,31 g.mol^{-1}) sont mis sous agitation pendant 30 min à température ambiante dans 15 mL de CH_2Cl_2. Ensuite, 2,24 mL de DHP (n = 3 eq = 2,73.10^{-3} mol, M = 84,12 g.mol^{-1}, m = 2,07 g, d = 0,926) sont ajoutés et la réaction est laissée sous agitation pendant 24h à température ambiante. 5 mL de CH_2Cl_2 sont ajoutés et un lavage (3x20 mL) à l'eau ($NaHCO_3$ 5%) est effectué. La phase organique est alors séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner et enfin évaporée sous pression réduite. Un contrôle CCM est ensuite effectué et révèle que le benzaldéhyde de départ a été entièrement consommé et que seul le produit attendu est présent, aucune purification n'est alors nécessaire (m = 1,688 g, M = 206,238 g.mol^{-1}, n = 8,185.10^{-3} mol, R = 99%).

Rf = 0,66 (Hex/EtOAc 70/30).

TOF MS ES+ : $[M+Na]^+$ pour $C_{12}H_{14}NaO_3$: m/z 229,0835 ; trouvé : m/z 229,0837.

BY-NC-ND

4-tétrahydropyran-2-yloxy-3',4',5'-triméthoxychalcone (12)



$C_{23}H_{26}O_6$ M = 398,449 g.mol^{-1}

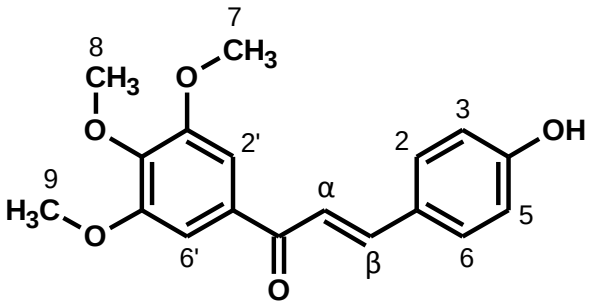
100 mg de 3',4',5'-triméthoxyacétophénone (M = 210,23 g.mol^{-1}, n = 4,76.10^{-4} mol) sont mis en solution dans 15 mL de MeOH puis y sont ajoutés 407 mg de $Ba(OH)_2$ anhydre (M = 171 g.mol^{-1}, n = 5 eq = 2,38.10^{-3} mol). Le $Ba(OH)_2$ commercial étant octahydraté, 1 g est placé une nuit à l'étuve (120°C) avant utilisation. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 20 minutes puis 117,7 mg de benzaldéhyde **11** (M = 206,238 g.mol^{-1}, n = 5,71.10^{-4} mol= 1,2 eq), préalablement dissous dans 5 mL de MeOH, sont ajoutés. La réaction est conduite à reflux pendant 1h. Ensuite, le milieu réactionnel est évaporé, le résidu est repris dans 20 mL d'eau puis la phase aqueuse est acidifiée jusqu'à pH 3 à l'aide d'une solution d'HCl 3M. Une extraction est réalisée avec 3x20 mL de $CHCl_3$. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée à l'évaporateur rotatif. Le résidu est ensuite purifié sur plaques préparatives de silice (Hex/EtOAc 70/30). 145,2 mg de produit pur sont obtenus (M = 398,45 g.mol^{-1}, n = 3,64.10^{-4} mol, R = 77%).

Rf = 0,66 (Hex/EtOAc 70/30).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{23}H_{27}O_6$: m/z 399,1802 ; trouvé : m/z 399,1801.

BY-NC-ND

4-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone (13)



$C_{18}H_{18}O_5$ M = 314,332 g.mol^{-1}

La déprotection de la fonction phénol est effectuée sur la totalité de chalcone **12** (145,2 mg, M = 398,45 g.mol^{-1}, n = 3,64.10^{-4} mol). Pour cela, la chalcone 42 est dissoute dans 10 mL de MeOH et 6,3 mg d'APTS sont ajoutés (n = 0,1 eq = 3,64.10^{-5} mol, M = 172,202 g.mol^{-1}), la réaction est conduite durant 3h à température ambiante. Le milieu réactionnel est ensuite évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris dans 20 mL d'eau puis une extraction est réalisée avec 3x20 mL de $CHCl_3$. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée à l'évaporateur rotatif. Le résidu est ensuite purifié sur plaques préparatives de silice et 100,7 mg de produit pur sont obtenus (M = 314,332 g.mol^{-1}, n = 3,204.10^{-4} mol, R = 88%).

Rf = 0,72 (Hex/EtOAc 60/40).

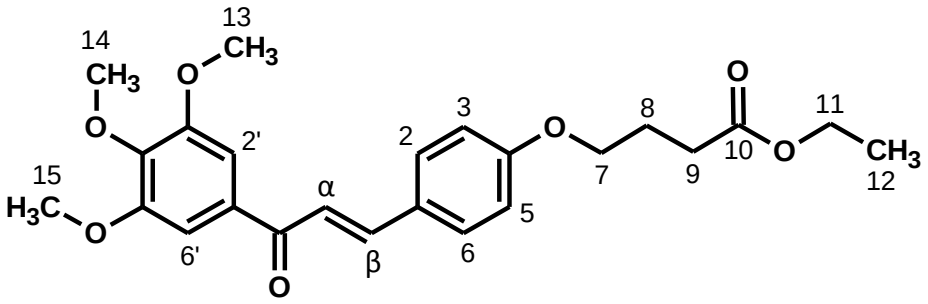
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,79 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-β), 7,57 (2H, d, *J*=8,6Hz, H-2 et H-6), 7,36 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-α), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,90 (2H, d, *J*=8,6Hz, H-3 et H-5), 5,60 (1H, s, OH), 3,95 (6H, s, OCH_3-7 et OCH_3-9), 3,94 (3H, s, OCH_3-8).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,5 (CO), 158,1 (C-4), 153,1 (C-3' et C-5'), 144,8 (C-β), 142,4 (C-4'), 133,8 (C-1'), 130,5 (C-2 et C-6), 127,7 (C-1), 119,4 (C-α), 116,0 (C-3 et C-5), 106,1 (C-2' et C-6'), 61,0 (C-8), 56,4 (C-7 et C-9).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{18}H_{18}O_5$: m/z 315,1227 ; trouvé : m/z 315,2227.

BY-NC-ND

4-(3-éthoxycarbonylpropyloxy)-3',4',5'-triméthoxychalcone (14)



$C_{24}H_{28}O_7$ M = 428,475 g.mol^{-1}

264 mg de chalcone **13** (M = 314,322 g.mol^{-1}, n = 8,4.10^{-4} mol) sont dissous dans 10 mL de DMF en présence de 1,202 mL de 4-bromobutyrate d'éthyle (n = 10 eq = 8,4.10^{-3} mol, M = 195,05 g.mol^{-1}, m = 1,64 g, d = 1,363) et de 2,32 g de K_2CO_3 (M = 138,21 g.mol^{-1}, n = 1,68.10^{-2} mol = 20 eq). La réaction se déroule à température ambiante pendant 2h et est suivie par CCM (Hex/EtOAc 6/4). Après 2h, le DMF est évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris dans 20 mL d'eau puis le K_2CO_3 est neutralisé à l'aide d'une solution aqueuse d'HCL (3M). Une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée à l'évaporateur rotatif. L'analyse CCM indique que le produit obtenu est pur et ne nécessite pas de purification. La réaction présente donc un rendement quantitatif (m = 359,9 mg, M = 428,475 g.mol^{-1}, n = 8,3996.10^{-4} mol, R = 99%).

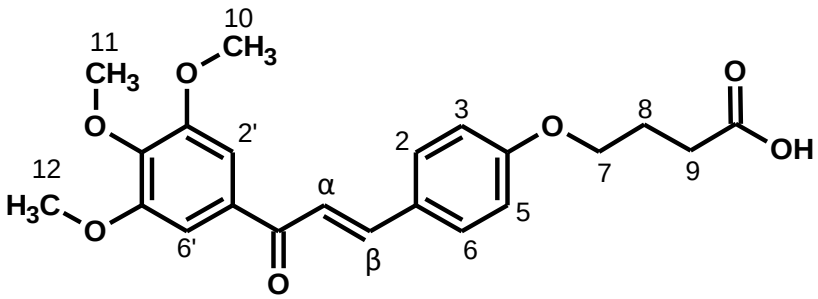
Rf = 0,60 (Hex/EtOAc 60/40).

RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,78 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-β), 7,59 (2H, d, *J*=8,7Hz, H-2 et H-6), 7,36 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-α), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,93 (2H, d, *J*=8,8Hz, H-3 et H-5), 4,16 (2H, q, *J*=7,2Hz, H-11), 4,07 (2H, t, *J*=6,2Hz, H-7), 3,95 (6H, s, 2 x OCH_3-13 et OCH_3-15), 3,94 (3H, s, OCH_3-14), 2,52 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-9), 2,14 (2H, quint, *J*=7,1Hz, H-8), 1,26 (3H, t, *J*=7,2Hz, H-12).

RMN ^{13}C (125,78 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (CO), 173,1 (COO-10), 161,0 (C-4), 153,2 (C-3' et C-5'), 144,6 (C-β), 142,4 (C-4'), 133,9 (C-1'), 130,2 (C-2 et C-6), 127,7 (C-1), 119,5 (C-α), 114,9 (C-3 et C-5), 106,1 (C-2' et C-6'), 67,0 (C-7), 61,0 (C-11), 60,5 (C-14), 56,4 (C-13 et C-15), 30,7 (C-9), 24,5 (C-8), 14,2 (C-12).

BY-NC-ND

4-(3-carboxypropyloxy)-3',4',5'-triméthoxychalcone (15)



$C_{22}H_{24}O_7$ M = 400,422 g.mol^{-1}

1ère méthode :

359,92 mg de **14** (M = 428,475 g.mol^{-1}, n = 8,4.10^{-4} mol) sont dissous dans 8 mL de THF et 2mL d'eau puis 176,2 mg de LiOH (M = 41,96 g.mol^{-1}, n = 4,2.10^{-3} mol = 5 eq.) sont ajoutés au milieu réactionnel. La réaction se déroule à température ambiante pendant 18h. Ensuite, le milieu réactionnel est évaporé et le résidu est repris dans 20 mL d'eau ; la solution est acidifiée (pH 3-4) par ajout d'HCl (3M). La chalcone est extraite par 3x20 mL de CH_2Cl_2 et la phase organique est séchée sur Na_2SO_4 puis évaporée. Le résidu est ensuite purifié sur plaques préparatives ($CHCl_3$/MeOH 95/5) et 225,9 mg de produit pur sont obtenus (M = 400,422 g.mol^{-1}, n = 5,64.10^{-4} mol, R = 68%).

2ème méthode :

50 mg de 3',4',5'-triméthoxyacétophénone (M = 210,23 g.mol^{-1}, n = 2,378.10^{-4} mol) sont mis en solution dans 10 mL de MeOH puis y sont ajoutés 47,6 mg de NaOH (M = 39,997 g.mol^{-1}, n = 5 eq = 1,189.10^{-3} mol) préalablement dissous dans 1 mL d'H_2O. L'ensemble est laissé sous agitation à température ambiante pendant 30 minutes puis 67,4 mg de benzaldéhyde **16** (M = 236,264 g.mol^{-1}, n = 1,2 eq = 2,854.10^{-4} mol), sont ajoutés. La réaction est conduite à reflux pendant 1h. Après consommation totale du benzaldéhyde, le milieu réactionnel est évaporé. Le résidu est repris dans 20 mL d'eau puis la solution est acidifiée jusqu'à pH 3 à l'aide d'une solution d'HCl 3M. Une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée à l'évaporateur rotatif. Le résidu (m = 141,2 mg) est ensuite purifié sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH 95/5) et 55,2 mg de produit pur sont obtenus (M = 400,422 g.mol^{-1}, n = 1,379.10^{-4} mol, R = 58 %).

Rf = 0,55 ($CHCl_3$/MeOH 95/5).

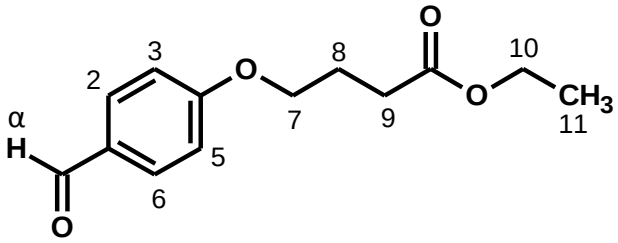
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,79 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-β), 7,60 (2H, d, *J*=8,6Hz, H-2 et H-6), 7,36 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-α), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,92 (2H, d, *J*=8,7Hz, H-3 et H-5), 4,08 (2H, t, *J*=5,8Hz, H-7), 3,95 (6H, s, 2 x OCH_3-10 et OCH_3-12), 3,94 (3H, s, OCH_3-11), 2,61 (2H, $s_{él}$, H-9), 2,15 (2H, $t_{él}$, *J*=6,0Hz, H-8).

BY-NC-ND

RMN ^{13}C (125,04 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,4 (CO), 173,6 (COO-10), 160,9 (C-4), 153,1 (C-3' et C-5'), 144,7 (C-β), 142,4 (C-4'), 133,8 (C-1'), 130,3 (C-2 et C-6), 127,8 (C-1), 119,5 (C-α), 114,9 (C-3 et C-5), 106,2 (C-2' et C-6'), 66,7 (C-7), 61,0 (C-12), 56,4 (C-11 et C-13), 30,4 (C-9), 24,3 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{22}H_{25}O_7$: m/z 401,1595 ; trouvé : m/z 401,1595.

4-(3-éthoxycarbonylpropyloxy)-benzaldéhyde (16)



$C_{13}H_{16}O_4$ M = 236,264 $g.mol^{-1}$

Dans un ballon de réaction, sont introduits : 100 mg de 4-hydroxy-benzaldéhyde (M = 122,12 $g.mol^{-1}$, n = $8,19.10^{-4}$ mol), 2,264 g de K_2CO_3 (n = 20 eq = $1,64.10^{-2}$ mol, M = 138,214 $g.mol^{-1}$), 1,17 mL de 4-bromo-butyrate d'éthyle (n = 10 eq = $8,19.10^{-3}$ mol, M = 195,05 $g.mol^{-1}$, m = 1,5972 g, d = 1,363) et 7 mL de DMF. Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante pendant une heure puis le DMF est évaporé grâce à la pompe à palettes. Le résidu est repris dans 20 mL d'eau, acidifié avec HCl (3M) à pH 4 puis une extraction avec 3x20 mL de CH_2Cl_2 est réalisée. La phase organique est récupérée, séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner et enfin évaporée sous pression réduite. 189,7 mg de produit brut sont obtenus et après contrôle CCM, il s'avère que la réaction est totale, le produit obtenu est pur (m = 189,4 mg, M = 236,264 $g.mol^{-1}$, n = $8,017.10^{-4}$ mol, R = 98%).

Rf = 0,5 (Hex/EtOAc 70/30)

RMN ^{1}H (400,13 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 9,88 (1H, s, H-α), 7,83 (2H, d, *J*=8,7Hz, H-2 et H-6), 6,99 (2H, d, *J*=8,7Hz, H-3 et H-5), 4,16 (2H, q, *J*=7,1Hz, H-10), 4,11 (2H, t, *J*=6,1Hz, H-7), 2,53 (2H, t, *J*=7,2Hz, H-9), 2,15 (2H, quint, *J*=6,9Hz, H-8), 1,26 (3H, t, *J*=7,1Hz, H-11).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 190,8 (CO), 173,0 (COO), 163,9 (C-4), 132,0 (C-2 et C-6), 130,0 (C-1), 114,8 (C-3 et C-5), 67,2 (C-7), 60,6 (C-10), 30,6 (C-9), 24,4 (C-8), 14,2 (C-11).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{13}H_{17}O_4$: m/z 237,1121 ; trouvé : m/z 237,1119.

BY-NC-ND

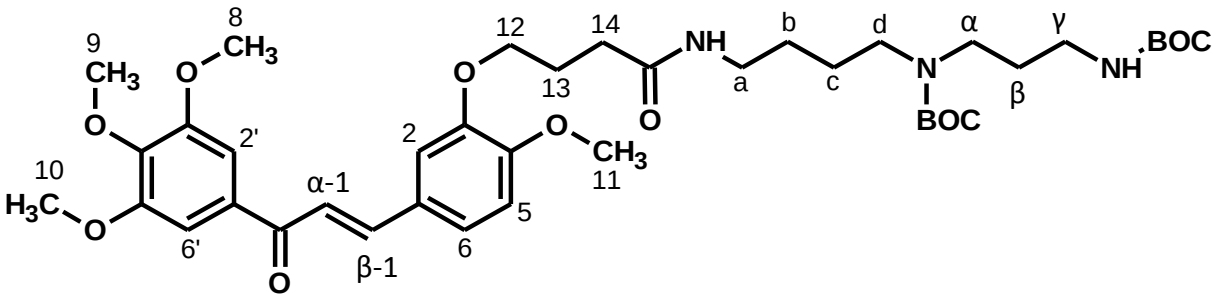
Méthode de synthèse générale des conjugués chalcone-polyamine possédant un linker amide.

La synthèse des différents conjugués chalcone-polyamine possédant un linker amide se déroule selon le mode opératoire suivant.

Dans un ballon de réaction, la carboxy-chalcone (**10** ou **15**) est introduite, ainsi que 1,1 eq de DCC, 1,1 eq de HOBt dans une dizaine de mL de CH_2Cl_2. Le mélange est laissé sous agitation jusqu'à ce que la chalcone de départ soit entièrement consommée (formation des complexes intermédiaires chalcone-DCC et chalcone HOBt, contrôlée par CCM, temps de réaction : environ 1 h). Le motif polyaminé correspondant est alors ajouté et l'avancement de la réaction est contrôlé par CCM. Lorsque celle-ci est terminée, le milieu réactionnel est lavé (3x15 mL H_2O), séché sur Na_2SO_4, filtré sur Büchner puis évaporé. Le résidu est ensuite repris avec quelques gouttes d'EtOAc dans un bain de glace, afin de faire précipiter la dicyclohexylurée ; la phase est filtrée sur fritté et évaporée. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice, l'éluant employé est un mélange $CHCl_3$/MeOH nécessitant parfois de l'ammoniaque (NH_4OH).

BY-NC-ND

3-[N^8(N^1,N^4-bis–tert-butyloxycarbonyl)-spermidine-3-amidopropyloxy]-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (17a)



$C_{40}H_{59}N_3O_{11}$ M = 757,710 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, 50 mg de chalcone **10** sont introduits (M = 430,45 g.mol^{-1}, n = 1,16.10^{-4} mol), ainsi que 26,4 mg de DCC (n = 1,1 eq = 1,278.10^{-4} mol, M = 206,33 g.mol^{-1}) et 17,3 mg de HOBt (n = 1,1 eq = 1,278.10^{-4} mol, M = 135,12 g.mol^{-1}), dans 15 mL de CH_2Cl_2. Le mélange est laissé sous agitation pendant 1h30, et la formation des complexes intermédiaires (chalcone-DCC, chalcone HOBt) est contrôlée par CCM ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 19/1/0,4). Lorsque l'analyse CCM indique la disparition totale du produit de départ, 80,3 mg de N^1-N^4-bis-boc-spermidine (n = 2 eq = 2,32.10^{-4} mol, M = 345,48 g.mol^{-1}) sont ajoutés au mélange. L'analyse CCM indique qu'au bout de 3h la réaction est terminée. Le milieu réactionnel est alors lavé (3x15 mL H_2O), séché sur Na_2SO_4, filtré sur Büchner puis évaporé. Le résidu est ensuite repris avec quelques gouttes d'EtOAc dans un bain de glace, afin de faire précipiter la dicyclohexylurée, puis filtré sur fritté et évaporé. Le brut réactionnel est alors purifié sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 95/5/2) et 67 mg de produit pur sont obtenus (M = 757,91 g.mol^{-1}, n = 8,84.10^{-5} mol, R = 77%).

Rf = 0,5 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 95/5/2).

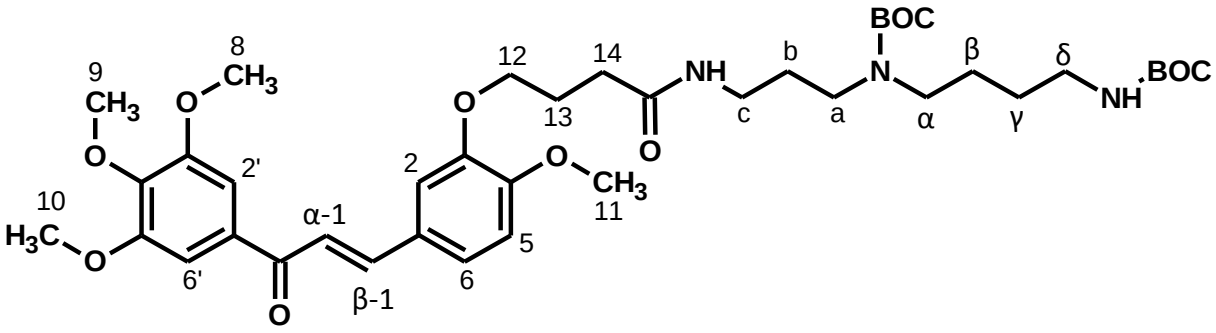
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,75 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-β), 7,39 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-α), 7,30 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,24 (2H, m, H-2 et H-6), 6,91 (1H, d, *J*=8,6Hz, H-5), 5,30 (2H, s, NH et NH-Boc), 4,14 (2H, t, *J*=6,2Hz, H-12), 3,96 (6H, s, (OCH_3)-8 et (OCH_3)-10), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,92 (3H, s, (OCH_3)-9), 3,25 (4H, m, H-d et H-γ'), 3,10 (4H, m, H-α' et H-a), 2,43 (2H, t, *J*=7,0Hz, H-14), 2,20 (2H, quint, *J*=6,6Hz, H-13) 1,85 (2H, m, H-β'), 1,67 (4H, m, H-b et H-c,), 1,43 (18H, s, 6xCH_3).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,4 (CO), 172,4 (CON), 156,8 (CO-Boc), 156,0 (CO-Boc), 153,2 (C-3' et C-5'), 151,8 (C-4), 148,5 (C-3), 144,9 (C-β), 142,4 (C-4'), 133,8 (C-1'), 128,0 (C-1), 123,5 (C-6), 119,9 (C-α), 112,3 (C-2), 111,5 (C-5), 106,2 (C-2' et C-6'), 79,6 (C-tBu), 79,0 (C-tBu), 68,3 (C-12), 60,9 (C-11), 56,5 (C-8 et C-10), 56,0 (C-9), 46,4 (C-γ'), 44,1 (C-d), 39,1 (C-α'), 37,6 (C-a), 34,0 (C-β'), 32,8 (C-14), 28,5 (6xCH_3), 25,6 (C-c), 25,0 (C-b), 24,9 (C-13).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{40}H_{60}N_3O_{11}$: m/z 758,4222 ; trouvé : m/z 758,4222.

BY-NC-ND

3-[N^1(N^4,N^8-bis–tert-butyloxycarbonyl)-spermidine-3-amidopropyloxy]-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (17b)



$C_{40}H_{59}N_3O_{11}$ M = 757,710 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, 50 mg de chalcone **10** sont introduits (M = 430,45 g.mol^{-1}, n = 1,16.10^{-4} mol), ainsi que 26,4 mg de DCC (n = 1,1 eq = 1,278.10^{-4} mol, M = 206,33 g.mol^{-1}) et 17,3 mg de HOBt (n = 1,1 eq = 1,278.10^{-4} mol, M = 135,12 g.mol^{-1}), dans 15mL de CH_2Cl_2. Le mélange est laissé sous agitation pendant une heure, et la formation des complexes intermédiaires (chalcone-DCC chalcone HOBt) est contrôlée par CCM ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 19/1/0,4). Lorsque l'analyse CCM indique la disparition totale du produit de départ, 80,3 mg de N^1-N^5-bis-boc-spermidine (n = 2 eq = 2,32.10^{-4} mol, M = 345,48 g.mol^{-1}) sont ajoutés au mélange. L'analyse CCM indique qu'au bout de 3h la réaction est terminée. Au milieu réactionnel est alors ajouté 15mL de CH_2Cl_2 puis il est lavé avec 3x30mL d'eau, séché sur Na_2SO_4, filtré sur Büchner puis évaporé. Le résidu est ensuite repris avec quelques mL d'EtOAc dans un bain de glace pour faire précipiter la dicyclohexylurée. Il est ensuite filtré sur fritté puis évaporé. Le brut réactionnel est alors purifié sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 97,5/2,5/2) et 76,6 mg de produit pur sont obtenus (M = 757,91 g.mol^{-1}, n = 1,011.10^{-4} mol, R = 88%).

Rf = 0,37 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 97,5/2,5/2).

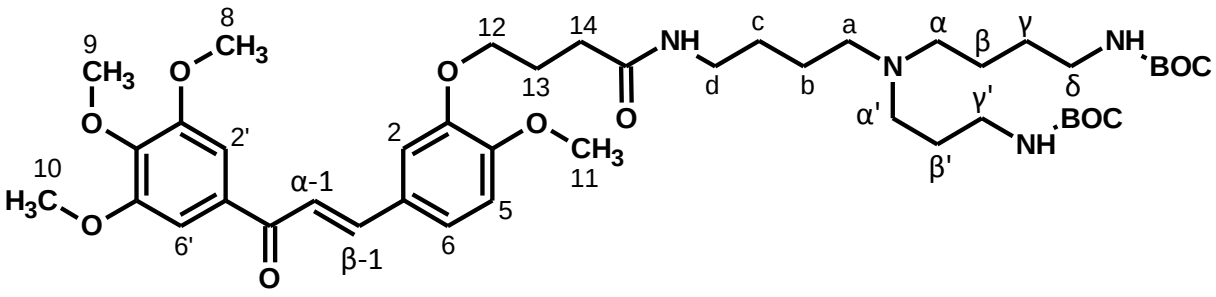
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,75 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-β-1), 7,39 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,30 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,23 (2H, m, H-2 et H-6), 6,90 (1H, d, *J*=8,4Hz, H-5), 4,15 (2H, t, *J*=6,2Hz, H-12), 3,96 (6H, s, (OCH_3)-8 et (OCH_3)-10), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,92 (3H, s, (OCH_3)-9), 3,21 (4H, m, H-c et H-δ'), 3,11 (4H, m, H-a et H-α'), 2,43 (2H, t, *J*=7,0Hz, H-14), 2,21 (2H, quint, *J*=6,6Hz, H-13), 1,69 (4H, m, H-β' et H-γ'), 1,61 (2H, m, H-b), 1,44 (18H, s, 6xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,5 (CO), 172,3 (CON), 156,5 (CO-Boc), 156,0 (CO-Boc), 153,1 (C-3' et C-5'), 151,9 (C-4), 148,6 (C-3), 145,0 (C-β-1), 142,3 (C-4'), 133,9 (C-1'), 128,0 (C-1), 123,5 (C-6), 119,8 (C-α-1), 112,1 (C-2), 111,5 (C-5), 106,2 (C-2' et C-6'), 79,8 (C-tBu), 79,2 (C-tBu), 68,3 (C-12), 61,0 (C-11), 56,5 (C-8 et C-10), 56,0 (C-9), 50,9-40,1 (C-c, C-a, C-α et C-δ), 34,0 (C-14), 32,8-25,6 (C-b, C-b et C-c), 28,4 (6xCH_3-Boc), 24,9 (C-13).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{40}H_{60}N_3O_{11}$: m/z 758,4222 ; trouvé : m/z 758,4222.

BY-NC-ND

3-[N^4-(4-aminobutyl)-N^1,N^8-bis-tert-butyloxycarbonylspermidine-3-amidopropyloxy]-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (17c)



$C_{44}H_{68}N_4O_{11}$ M = 829,031 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, 60 mg de chalcone **10** sont introduits (M = 430,45 g.mol^{-1}, n = 1,39.10^{-4} mol) dans 8 mL de CH_2Cl_2 ainsi que 31,6 mg de DCC (n = 1,1 eq = 1,53.10^{-4} mol, M = 206,33 g.mol^{-1}) et 20,7 mg de HOBt (n = 1,1 eq = 1,53.10^{-4} mol, M = 135,12 g.mol^{-1}). Ce mélange est laissé sous agitation pendant 30 minutes environ. Ensuite, 116 mg de spermidine 6 (M = 416,599 g.mol^{-1}, n = 2,8.10^{-4} mol = 2 eq) dissous dans 8 mL de CH_2Cl_2 sont ajoutés. Après 4h, 20 mL de CH_2Cl_2 sont rajoutés et la phase organique est lavée avec de l'eau (3x20 mL) puis séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner et enfin évaporée sous pression réduite. Le résidu est ensuite repris avec quelques mL d'EtOAc dans un bain de glace pour faire précipiter la dicyclohexylurée. Après une nouvelle filtration et évaporation, le résidu est purifié sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 95/5/2). Finalement, 102 mg de produit pur sont obtenus (M = 829,031 g.mol^{-1}, n = 1,23.10^{-4} mol, R = 88%).

Rf=0,6 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 95/5/2).

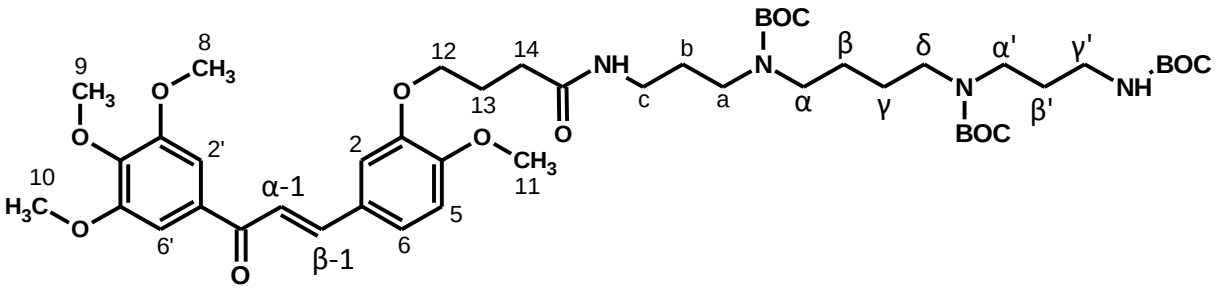
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,75 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β), 7,42 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α), 7,31 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,29 (1H, s *él*, H-2), 7,23 (1H, d *él*, *J*=8,7Hz, H-6), 6,91 (1H, d, *J*=8,4Hz, H-5), 5,30 (1H, s, NH-Boc), 4,85 (1H, s, NH-Boc), 4,15 (2H, t, *J*=6,3Hz, H-12), 3,96 (6H, s, (OCH_3)-8 et (OCH_3)-10), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,88 (3H, s, (OCH_3)-9), 3,25 (2H, m, H-d), 3,13 (4H, m, H-γ' et H-δ), 2,48 (6H, m, H-α', H-α et H-a), 2,43 (2H, t, *J*=6,7Hz, H-14), 2,20 (2H, quint, *J*=6,6Hz, H-13) 1,68 (2H, m, H-β'), 1,47 (8H, m, H-β, H-γ, H-b et H-c,), 1,43 (18H, s, 6xCH_3).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 190,7 (CO), 177,9 (CON), 157,4 (2xCO-Boc), 154,5 (C-3' et C-5'), 153,1 (C-4), 149,9 (C-3), 146,2 (C-β), 143,7 (C-4'), 135,2 (C-1'), 129,4 (C-1), 124,9 (C-6), 121,2 (C-α), 113,6 (C-2), 112,8 (C-5), 107,6 (C-2' et C-6'), 80,4 (C-tBu), 80,3 (C-tBu), 69,7 (C-12), 62,3 (C-11), 57,8 (C-8 et C-10), 57,4 (C-9), 53,4 (C-a, C-α et C-α'), 41,6 (C-δ), 40,8 (C-γ'), 40,4 (C-d), 34,1 (C-14), 29,8 (6xCH_3), 29,2 (C-β, C-γ, C-b et C-c), 28,7 (C-β'), 26,3 (C-13).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{44}H_{69}N_4O_{11}$: m/z 829,4957 ; trouvé : m/z 829,4952.

BY-NC-ND

3-[N^1-(N^4,N^9,N^{12}-ter-tert-butyloxycarbonyl)-spermine-3-amidopropyloxy]-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (17d)



$C_{48}H_{74}N_4O_{13}$ M = 915,12 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, 64 mg de chalcone **10** sont introduits (M = 430,45 g.mol^{-1}, n = 1,49.10^{-4} mol), ainsi que 46 mg de DCC (n = 1,5 eq = 2,23.10^{-4} mol, M = 206,33 g.mol^{-1}) et 30,1 mg de HOBt (n = 1,5 eq = 2,23.10^{-4} mol, M = 135,12 g.mol^{-1}), dans 15mL de CH_2Cl_2. Le mélange est laissé sous agitation pendant une heure puis 149,5 mg de N^1-N^5-N^{10}-tri-boc-spermine (n = 2 eq = 2,974.10^{-4} mol, M = 502,688 g.mol^{-1}) sont ajoutés au mélange. L'analyse CCM indique qu'au bout de 4h la réaction est terminée. 15 mL de CH_2Cl_2 sont ajoutés au milieu réactionnel puis celui-ci est lavé avec 3x30 mL d'eau, séché sur Na_2SO_4, filtré sur Büchner puis évaporé. Le résidu est ensuite repris avec quelques mL d'EtOAc dans un bain de glace pour faire précipiter la dicyclohexylurée. Il est ensuite filtré sur fritté puis évaporé. Le brut réactionnel est alors purifié sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH 98,5/1,5) et 130,6 mg de produit pur sont obtenus (M = 915,12 g.mol^{-1}, n = 1,427.10^{-4} mol, R = 96%).

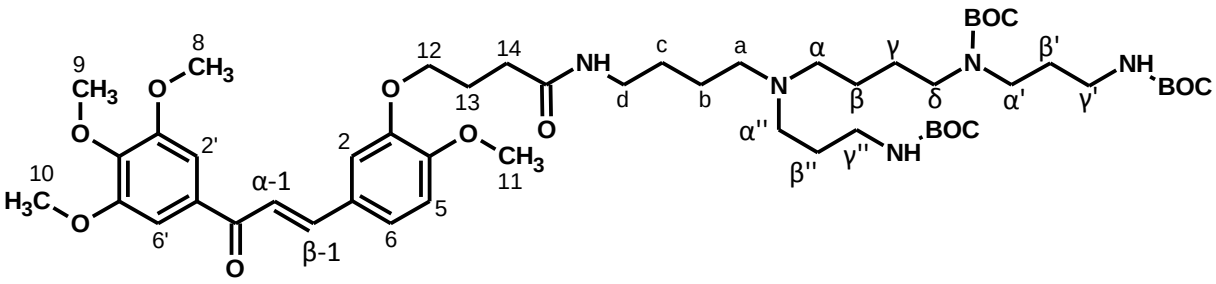
Rf = 0,32 ($CHCl_3$/MeOH 98,5/1,5).

RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,75 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,39 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,30 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,26 (2H, m, H-2 et H-6), 6,90 (1H, d, *J*=8,4Hz, H-5), 4,15 (2H, t, *J*=6,2Hz, H-12), 3,96 (6H, s, (OCH_3)-8 et (OCH_3)-10), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,92 (3H, s, (OCH_3)-9), 3,30-3,05 (12H, m, H-c, H-a, H-α, H-δ, H-α' et H-γ'), 2,44 (2H, t, *J*=6,9Hz, H-14), 2,21 (2H, quint, *J*=6,4Hz, H-13), 1,75-1,57 (8H, m, H-b, H-β, H-γ et H-β'), 1,43 (18H, s, 9xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,5 (CO), 172,3 (CON), 156,5 (CO-Boc), 156,0 (CO-Boc), 155,4 (CO-Boc), 153,1 (C-3' et C-5'), 151,9 (C-4), 148,6 (C-3), 145,0 (C-β-1), 142,4 (C-4'), 133,9 (C-1'), 128,0 (C-1), 123,5 (C-6), 119,8 (C-α-1), 112,1 (C-2), 111,5 (C-5), 106,2 (C-2' et C-6'), 79,8 (2xC-tBu), 79,0 (C-tBu), 68,3 (C-12), 61,0 (C-11), 56,5 (C-8 et C-10), 56,0 (C-9), 46,7-35,6 (C-c, C-a, C-α, C-δ, C-α' et C-γ'), 32,3 (C-9), 28,5 (9xCH_3-Boc), 29,7-27,7 (C-b, C-β, C-γ et C-β'), 25,0 (C-8).
TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{48}H_{75}N_4O_{13}$: m/z 915,5325 ; trouvé : m/z 915,5326.

BY-NC-ND

3-[N^4-(4-aminobutyl)-N^1,N^9,N^{12}-ter-tert-butyloxycarbonyl-spermine-3-amidopropyloxy]-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (17e)



$C_{52}H_{83}N_5O_{13}$ M = 986,241 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, 50 mg de chalcone **10** sont introduits (M = 430,45 g.mol^{-1}, n = 1,16.10^{-4} mol), ainsi que 26,4 mg de DCC (n = 1,1 eq = 1,278.10^{-4} mol, M = 206,33 g.mol^{-1}) et 17,3 mg de HOBt (n = 1,1 eq = 1,278.10^{-4} mol, M = 135,12 g.mol^{-1}), dans 15 mL de CH_2Cl_2. Le mélange est laissé sous agitation pendant une heure puis 133,1 mg de spermine 19 (n = 2 eq = 2,32.10^{-4} mol, M = 573,809 g.mol^{-1}) sont ajoutés au mélange. Après 3 h de réaction, 15mL de CH_2Cl_2 sont ajoutés au milieu réactionnel et ce dernier est lavé avec 3x30 mL d'eau, séché sur Na_2SO_4, filtré sur Büchner puis évaporé. Le résidu est ensuite repris avec quelques mL d'EtOAc dans un bain de glace pour faire précipiter la dicyclohexylurée. Il est ensuite filtré sur fritté puis évaporé. Le brut réactionnel est alors purifié sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH 97,5/2,5) et 99 mg de produit pur sont obtenus (M = 986,241 g.mol^{-1}, n = 1,004.10^{-4} mol, R = 87%).

Rf = 0,34 ($CHCl_3$/MeOH 92,5/7,5).

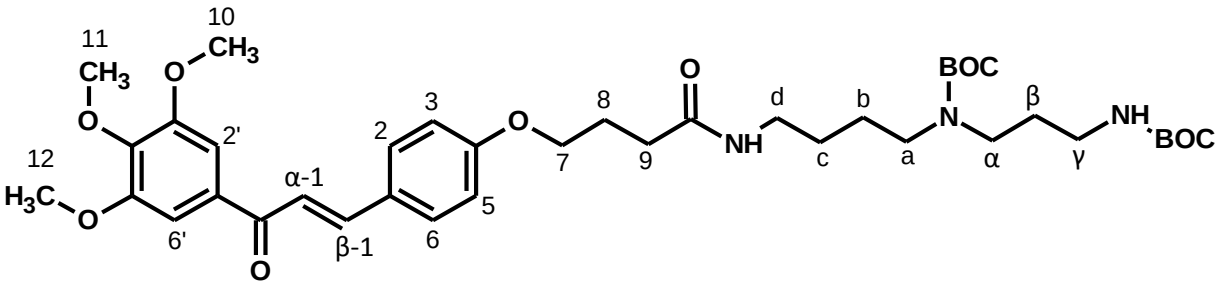
RMN ^{1}H (400,13 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,75 (1H, d, *J*=16,0Hz, H-β-1), 7,41 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,31 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,25 (2H, m, H-2 et H-6), 6,91 (1H, d, *J*=8,3Hz, H-5), 4,15 (2H, t, *J*=6,2Hz, H-12), 3,96 (6H, s, (OCH_3)-8 et (OCH_3)-10), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,92 (3H, s, (OCH_3)-9), 3,30-3,06 (10H, m, H-d, H-δ, H-γ', H-α'' et H-γ''), 2,55-2,30 (8H, m, H-14, H-a, H-α et H-α'), 2,20 (2H, quint, *J*=6,6Hz, H-13), 1,70-1,55 (4H, m, H-β' et H-β''), 1,50-1,35 (35H, m, H-c, H-b, H-β, H-γ et 9xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 189,4 (CO), 172,4 (CON), 156,1 (3xCO-Boc), 153,2 (C-3' et C-5'), 151,8 (C-4), 148,6 (C-3), 144,9 (C-β), 142,4 (C-4'), 133,8 (C-1'), 128,1 (C-1), 123,5 (C-6), 119,9 (C-α), 112,3 (C-2), 111,5 (C-5), 106,3 (C-2' et C-6'), 79,5 (C-tBu), 79,0 (2xC-tBu), 68,4 (C-12), 61,0 (C-11), 56,5 (C-8 et C-10), 56,0 (C-9), 53,4-52,1 (C-a, C-α et C-α'), 46,9-37,7 (C-d, C-δ, C-γ', C-α'' et C-γ''), 32,8 (C-14), 29,7-24,1 (C-c, C-b, C-β, C-γ, C-β' et C-β''), 28,5 (9xCH_3-Boc), 25,0 (C-13).

TOF MS ES+ : [M+H]+ pour $C_{52}H_{84}N_5O_{13}$: m/z 986,6060 ; trouvé : m/z 986,6052.

BY-NC-ND

4-[N^8(N^1,N^4-bis–tert-butyloxycarbonyl)-spermidine-3-amidopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (18a)



$C_{39}H_{57}N_3O_{10}$ M = 727,884 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, 83,5 mg de chalcone **15** (M = 400,422 g.mol^{-1}, n = 2,085.10^{-4} mol), ainsi que 47,3 mg de DCC (n = 1,1 eq = 2,294.10^{-4} mol, M = 206,33 g.mol^{-1}) et 31 mg de HOBt (n = 1,1 eq = 2,294.10^{-4} mol, M = 135,12 g.mol^{-1}), dans 10 mL de CH_2Cl_2. Le mélange est laissé sous agitation pendant deux heures, puis 79,2 mg de N^1-N^4-bis-boc-spermidine (n = 1,1 eq = 2,294.10^{-4} mol, M = 345,48 g.mol^{-1}) sont ajoutés au mélange. L'analyse CCM indique qu'au bout de 2h30 la réaction est terminée. Au milieu réactionnel sont ajoutés 15mL de CH_2Cl_2 puis un lavage est effectué avec 3x20 mL d'eau. La phase organique est ensuite séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner puis évaporée. Le résidu est ensuite repris avec quelques mL d'EtOAc dans un bain de glace pour faire précipiter la dicyclohexylurée. Il est ensuite filtré sur fritté puis évaporé. Le brut réactionnel est alors purifié sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH 97,5/2,5) et 102 mg de produit pur sont obtenus (M = 727,884 g.mol^{-1}, n = 1,401.10^{-4} mol, R = 68%).

Rf = 0,51 ($CHCl_3$/MeOH 97,5/2,5).

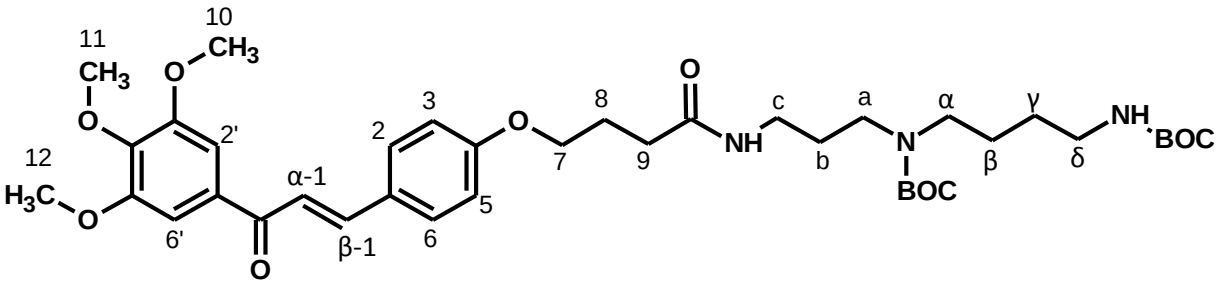
RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,78 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,59 (2H, d, *J*=9,0Hz, H-2 et H-6), 7,36 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,93 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-3 et H-5), 4,07 (2H, t, *J*=6,0Hz, H-7), 3,95 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,30-3,09 (8H, m, H-d, H-a, H-α et H-γ), 2,39 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-9), 2,15 (2H, quint, *J*=6,6Hz, H-8), 1,72-1,54 (6H, m, H-c, H-b et H-β), 1,46 (9H, s, 3xCH_3-Boc), 1,43 (9H, s, 3xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (125,76 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (CO), 172,2 (CON), 161,0 (C-4), 156,2 (CO-Boc), 155,8 (CO-Boc), 153,2 (C-3' et C-5'), 144,6 (C-β-1), 142,4 (C-4'), 133,8 (C-1'), 130,3 (C-2 et C-6), 127,7 (C-1), 119,5 (C-α-1), 115,0 (C-3 et C-5), 106,1 (C-2' et C-6'), 79,8 (C-tBu), 79,1 (C-tBu), 67,2 (C-7), 61,0 (C-11), 56,4 (C-10 et C-12), 46,6-37,7 (C-d, C-a, C-α et C-γ), 32,8 (C-9), 29,1 (6xCH_3-Boc), 29,1-25,6 (C-b, C-c et C-β), 25,1 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{39}H_{58}N_3O_{10}$: m/z 728,4117 ; trouvé : m/z 728,4114.

BY-NC-ND

4-[N^1(N^4,N^8-bis–tert-butyloxycarbonyl)-spermidine-3-amidopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (18b)



$C_{39}H_{57}N_3O_{10}$ M = 727,884 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, 98,4 mg de chalcone **15** (M = 400,422 g.mol^{-1}, n = 2,457.10^{-4} mol), ainsi que 55,8 mg de DCC (n = 1,1 eq = 2,703.10^{-4} mol, M = 206,33 g.mol^{-1}) et 36,5 mg de HOBt (n = 1,1 eq = 2,703.10^{-4} mol, M = 135,12 g.mol^{-1}), dans 10 mL de CH_2Cl_2. Le mélange est laissé sous agitation pendant deux heures, puis 93,4 mg de N^1-N^5-bis-boc-spermidine (n = 1,1 eq = 2,703.10^{-4} mol, M = 345,48 g.mol^{-1}) sont ajoutés au mélange. L'analyse CCM indique qu'au bout de 3h la réaction est terminée. 15mL de CH_2Cl_2 sont ajoutés au milieu réactionnel puis un lavage est effectué avec 3x20 mL d'eau. La phase organique est ensuite séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner puis évaporée. Le résidu est ensuite repris avec quelques mL d'EtOAc dans un bain de glace pour faire précipiter la dicyclohexylurée. Il est ensuite filtré sur fritté puis évaporé. Le brut réactionnel est alors purifié sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH 97,5/2,5) et 113,5 mg de produit pur sont obtenus (M = 727,884 g.mol^{-1}, n = 1,559.10^{-4} mol, R = 64%).

Rf = 0,38 ($CHCl_3$/MeOH 97,5/2,5).

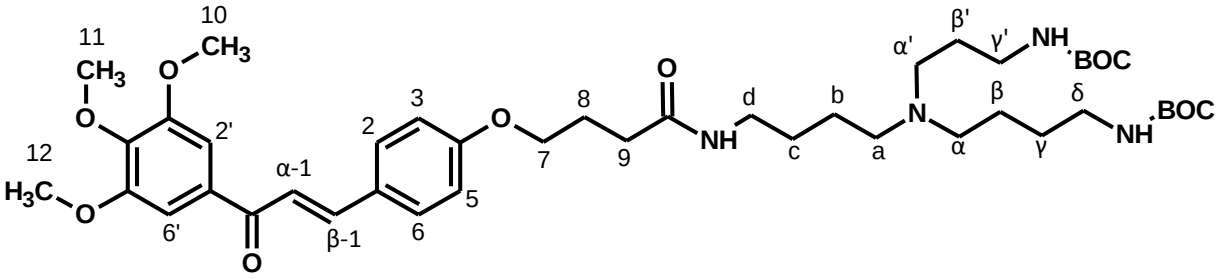
RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,78 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,59 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-2 et H-6), 7,36 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,94 (2H, d, *J*=9,0Hz, H-3 et H-5), 4,07 (2H, t, *J*=6,0Hz, H-7), 3,95 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,24-3,11 (8H, m, H-c, H-a, H-α et H-δ), 2,41 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-9), 2,15 (2H, quint, *J*=6,8Hz, H-8), 1,71-1,50 (6H, m, H-b, H-β et H-γ), 1,45 (9H, s, 3xCH_3-Boc), 1,44 (9H, s, 3xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (125,76 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (CO), 172,2 (CON), 161,1 (C-4), 156,5 (CO-Boc), 156,0 (CO-Boc), 153,2 (C-3' et C-5'), 144,7 (C-β-1), 142,4 (C-4'), 133,9 (C-1'), 130,2 (C-2 et C-6), 127,6 (C-1), 119,4 (C-α-1), 115,0 (C-3 et C-5), 106,1 (C-2' et C-6'), 79,8 (C-tBu), 79,2 (C-tBu), 67,2 (C-7), 61,0 (C-11), 56,4 (C-10 et C-12), 46,6-35,6 (C-c, C-a, C-α et C-δ), 32,8 (C-9), 28,4 (6xCH_3-Boc), 27,7-24,9 (C-b, C-β et C-γ), 25,1 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{39}H_{58}N_3O_{10}$: m/z 728,4117 ; trouvé : m/z 728,4117.

BY-NC-ND

4-[N^4-(4-aminobutyl)-N^1,N^8-bis-tert-butyloxycarbonylspermidine-3-amidopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (18c)



$C_{43}H_{66}N_4O_{10}$ M = 799,005 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, 33 mg de chalcone **15** (M = 400,422 g.mol^{-1}, n = 8,24.10^{-5} mol), ainsi que 18,7 mg de DCC (n = 1,1 eq = 9,07.10^{-5} mol, M = 206,33 g.mol^{-1}) et 12,3 mg de HOBt (n = 1,1 eq = 9,07.10^{-5} mol, M = 135,12 g.mol^{-1}), dans 10 mL de CH_2Cl_2. Le mélange est laissé sous agitation pendant deux heures, puis 37,8 mg de spermidine 6 (n = 1,1 eq = 9,07.10^{-5} mol, M = 416,598 g.mol^{-1}) sont ajoutés au mélange. L'analyse CCM indique qu'au bout de 6h la réaction est terminée. Au milieu réactionnel sont ajoutés 15 mL de CH_2Cl_2 puis un lavage est effectué avec 3x20 mL d'eau. La phase organique est ensuite séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner puis évaporée. Le résidu est ensuite repris avec quelques mL d'EtOAc dans un bain de glace pour faire précipiter la dicyclohexylurée. Il est ensuite filtré sur fritté puis évaporé. Le brut réactionnel est alors purifié sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH 97,5/2,5) et 41,9 mg de produit pur sont obtenus (M = 799,005 g.mol^{-1}, n = 5,244.10^{-5} mol, R = 64%).

Rf = 0,74 ($CHCl_3$/MeOH 97,5/2,5).

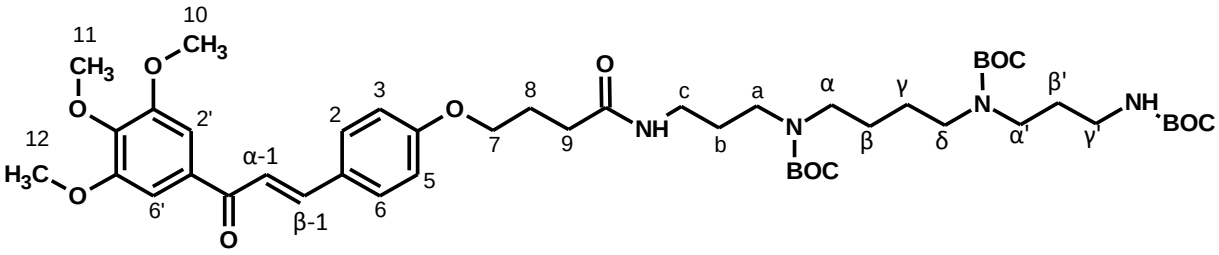
RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,78 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,59 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-2 et H-6), 7,36 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,93 (2H, d, *J*=9,0Hz, H-3 et H-5), 4,07 (2H, t, *J*=6,0Hz, H-7), 3,95 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,30-3,05 (6H, m, H-d, H-δ et H-γ'), 2,60-2,30 (6H, m, H-a, H-α et H-α'), 2,40 (2H, t, *J*=7,0Hz, H-9), 2,15 (2H, quint, *J*=6,8Hz, H-8), 1,75-1,45 (10H, m, H-c, H-b, H-β, H-γ et H-β'), 1,43 (18H, s, 6xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (125,76 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (CO), 172,2 (CON), 161,1 (C-4), 156,1 (2xCO-Boc), 153,2 (C-3' et C-5'), 144,6 (C-β-1), 142,4 (C-4'), 133,9 (C-1'), 130,3 (C-2 et C-6), 127,6 (C-1), 119,4 (C-α-1), 115,0 (C-3 et C-5), 106,1 (C-2' et C-6'), 79,1 (2xC-tBu), 67,3 (C-7), 60,9 (C-11), 56,4 (C-8 et C-10), 53,4 (C-a, C-α et C-α'), 40,3 (C-δ), 39,6 (C-γ'), 39,1 (C-d), 32,7 (C-9), 28,5 (6xCH_3-Boc), 27,9-27,4 (C-c C-b, C-β, C-γ, et C-β'), 25,1 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{43}H_{67}N_4O_{10}$: m/z 799,4852 ; trouvé : m/z 799,4854.

BY-NC-ND

4-[N^1-(N^4,N^9,N^{12}-ter-tert-butyloxycarbonyl)-spermine-3-amidopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (18d)



$C_{47}H_{72}N_4O_{12}$ M = 885,094 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, 104,2 mg de chalcone **15** (M = 400,422 g.mol^{-1}, n = 2,602.10^{-4} mol), ainsi que 59,1 mg de DCC (n = 1,1 eq = 2,862.10^{-4} mol, M = 206,33 g.mol^{-1}) et 38,7 mg de HOBt (n = 1,1 eq = 2,862.10^{-4} mol, M = 135,12 g.mol^{-1}), dans 10 mL de CH_2Cl_2. Le mélange est laissé sous agitation pendant 3 h, puis 143,9 mg de N^1-N^5-N^{10}-tri-boc-spermine (n = 1,1 eq = 2,862.10^{-4} mol, M = 502,7 g.mol^{-1}) sont ajoutés au mélange. L'analyse CCM indique qu'au bout de 3h la réaction est terminée. Au milieu réactionnel sont ajoutés 15 mL de CH_2Cl_2 puis un lavage est effectué avec 3x20 mL d'eau. La phase organique est ensuite séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner puis évaporée. Le résidu est ensuite repris avec quelques mL d'EtOAc dans un bain de glace pour faire précipiter la dicyclohexylurée. Il est ensuite filtré sur fritté puis évaporé. Le brut réactionnel est alors purifié sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH 97,5/2,5) et 72,2 mg de produit pur sont obtenus (M = 885,094 g.mol^{-1}, n = 8,157.10^{-5} mol, R = 32%).

Rf = 0,47 ($CHCl_3$/MeOH 97,5/2,5).

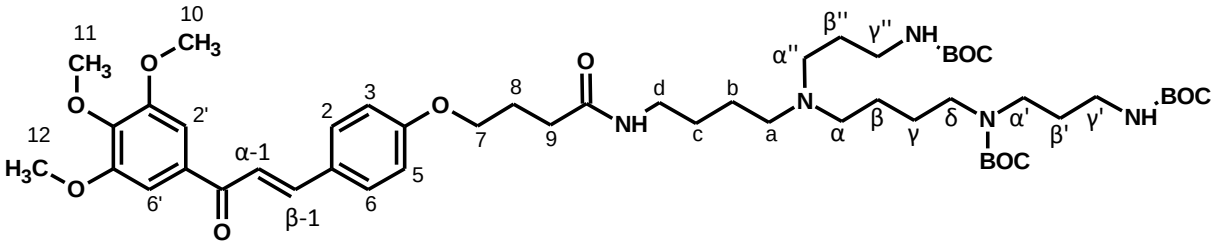
RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,78 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,59 (2H, d, *J*=9,0Hz, H-2 et H-6), 7,34 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,94 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-3 et H-5), 4,07 (2H, t, *J*=6,0Hz, H-7), 3,95 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,40-3,00 (12H, m, H-c, H-a, H-α, H-δ, H-α' et H-γ'), 2,41 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-9), 2,15 (2H, quint, *J*=6,6Hz, H-8), 1,85-1,50 (8H, m, H-b, H-β, H-γ et H-β'), 1,45 (9H, s, 3xCH_3), 1,45 (27H, s, 9xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (125,76 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (CO), 172,1 (CON), 161,1 (C-4), 156,5 (CO-Boc), 156,0 (CO-Boc), 155,5 (CO-Boc), 153,2 (C-3' et C-5'), 144,7 (C-β-1), 142,4 (C-4'), 133,9 (C-1'), 130,2 (C-2 et C-6), 127,6 (C-1), 119,4 (C-α-1), 115,0 (C-3 et C-5), 106,1 (C-2' et C-6'), 79,8-78,9 (3xC-tBu), 67,3 (C-7), 61,0 (C-11), 56,4 (C-10 et C-12), 46,9-35,5 (C-c, C-a, C-α, C-δ, C-α' et C-γ'), 32,9 (C-9), 28,5 (9xCH_3-Boc), 29,2-27,6 (C-b, C-β, C-γ et C-β'), 25,1 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{47}H_{73}N_4O_{12}$: m/z 885,5220 ; trouvé : m/z 885,5223.

BY-NC-ND

4-[N^4-(4-aminobutyl)-N^1,N^9,N^{12}-ter-tert-butyloxycarbonyl-spermine-3-amidopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (18e)



$C_{51}H_{81}N_5O_{12}$ M = 956,215 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, 35 mg de chalcone **15** (M = 400,422 g.mol^{-1}, n = 8,74.10^{-5} mol), ainsi que 19,8 mg de DCC (n = 1,1 eq = 9,61.10^{-5} mol, M = 206,33 g.mol^{-1}) et 13 mg de HOBt (n = 1,1 eq = 9,61.10^{-5} mol, M = 135,12 g.mol^{-1}), dans 10 mL de CH_2Cl_2. Le mélange est laissé sous agitation pendant trois heures, puis 37,8 mg de spermine 19 (n = 1,1 eq = 9,61.10^{-5} mol, M = 573,809 g.mol^{-1}) sont ajoutés au mélange. L'analyse CCM indique qu'au bout de 5h la réaction est terminée. Au milieu réactionnel sont ajoutés 15 mL de CH_2Cl_2 puis un lavage est effectué avec 3x20 mL d'eau. La phase organique est ensuite séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner puis évaporée. Le résidu est ensuite repris avec quelques mL d'EtOAc dans un bain de glace pour faire précipiter la dicyclohexylurée. Il est ensuite filtré sur fritté puis évaporé. Le brut réactionnel est alors purifié sur plaques préparatives de silice ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 95/5/0,5) et 56,4 mg de produit pur sont obtenus (M = 956,215 g.mol^{-1}, n = 5,898.10^{-5} mol, R = 68%).

Rf = 0,59 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 95/5/0,5).

RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,78 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,59 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-2 et H-6), 7,36 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,93 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-3 et H-5), 4,07 (2H, t, *J*=6,0Hz, H-7), 3,95 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,27-3,09 (10H, m, H-d, H-δ, H-γ', H-α'' et H-γ''), 2,40 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-9), 2,15 (2H, quint, *J*=6,6Hz, H-8), 1,85-1,48 (12H, m, H-c, H-b, H-β, H-γ, H-β' et H-β''), 1,44 (27H, s, 9xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (125,76 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (CO), 172,1 (CON), 161,1 (C-4), 156,1 (3xCO-Boc), 153,2 (C-3' et C-5'), 144,6 (C-β-1), 142,4 (C-4'), 133,9 (C-1'), 130,3 (C-2 et C-6), 127,6 (C-1), 119,4 (C-α-1), 115,0 (C-3 et C-5), 106,1 (C-2' et C-6'), 79,6-79,0 (3xC-tBu), 67,3 (C-7), 61,0 (C-11), 56,4 (C-10 et C-12), 53,4-53,3 (C-a, C-α et C-α'), 46,9-37,4 (C-d, C-δ, C-γ', C-α'' et C-γ''), 32,7 (C-14), 29,7-24,0 (C-c, C-b, C-β, C-γ, C-β' et C-β''), 28,5 (9xCH_3-Boc), 25,1 (C-13).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{51}H_{82}N_5O_{12}$: m/z 956,5954 ; trouvé : m/z 956,5949.

BY-NC-ND

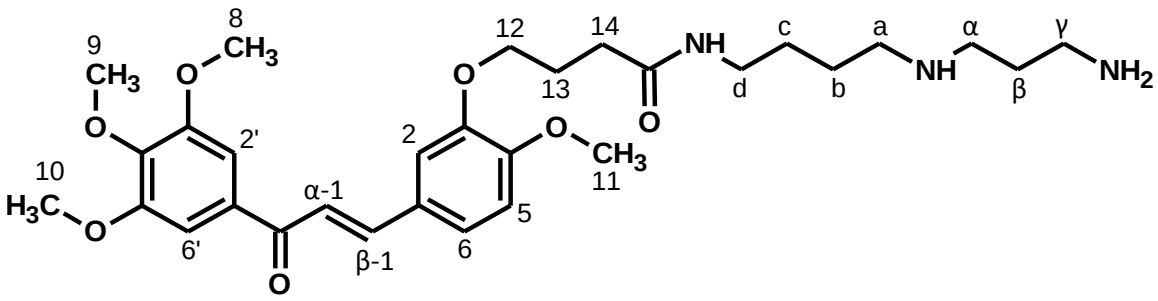
Méthode de déprotection générale des conjugués chalcone-polyamine.

La déprotection des différents conjugués chalcone-polyamine, possédant un linker amide se déroule selon le mode opératoire suivant.

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, le conjugué chalcone-polyamine protégé est dissous dans une dizaine de mL d'EtOH et 13 eq d'acide chlorhydrique sont ajoutés (14 eq pour le conjugué **18b**). Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant une heure puis le la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement introduite dans le bicol réactionnel ; après 5 min sous agitation, l'acide chlorhydrique est neutralisé, le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est ensuite purifié sur plaques préparatives de silice.

BY-NC-ND

3-[N^{8}-spermidine-3-amidopropyloxy]-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (19a)



$C_{30}H_{43}N_3O_7$ M=557,678 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 21,3 mg de chalcone **17a** (M = 757,91 g.mol^{-1}, n = 2,81.10^{-5} mol) sont introduits, ainsi que 30,4 µL d'HCl (n = 13 eq = 3,65.10^{-4} mol, C = 12,0052 mol.L^{-1}) en présence de 15 mL d'EtOH. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure puis le chauffage est arrêté et la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement ajouté au milieu réactionnel ; après 5 min sous agitation, l'acide est neutralisé et le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 11,5 mg de produit pur sont obtenus (M = 557,68 g.mol^{-1} n = 2,06.10^{-5} mol, R = 74%).

Rf = 0,34 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 45/45/10).

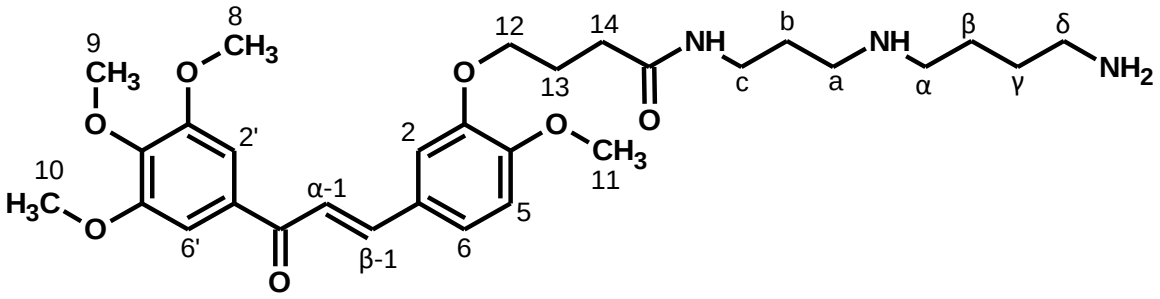
RMN ^{1}H (400,13 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,74 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,64 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,58 (1H, d, *J*=1,4Hz, H-2), 7,41 (2H, s, H-2' and H-6'), 7,33 (1H, dd, *J*=1,5Hz et J=8,3Hz, H-6), 7,01 (1H, d, *J*=8,4Hz, H-5), 4,12 (2H, t, *J*=6,3Hz, H-12), 3,94 (6H, s, (OCH_3)-8 et (OCH_3)-10), 3,88 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,86 (3H, s, (OCH_3)-9), 3,23 (2H, t, *J*=6,7Hz, H-γ'), 3,08 (4H, d, *J*=6,9Hz, H-α' et H-a), 3,00 (2H, t, *J*=7,7Hz, H-d), 2,45 (2H, t, *J*=7,4Hz, H-14), 2,13 (4H, quint + d, *J*=6,8Hz, H-13 et H-β'), 1,76 (2H, quint, *J*=7,5Hz, H-c), 1,59 (2H, quint, *J*=6,9Hz, H-b).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 191,4 (CO), 175,9 (CON), 154,8 (C-3' et C-5'), 153,7 (C-4), 150,2 (C-3), 146,8 (C-β-1), 144,0 (C-4'), 135,2 (C-1'), 129,5 (C-1), 125,3 (C-6), 120,7 (C-α-1), 114,2 (C-2), 113,1 (C-5), 107,7 (C-2' et C-6'), 69,7 (C-12), 61,4 (C-11), 57,1 (C-8 et C-10), 56,6 (C-9), 49,0 (C-d), 46,0 (C-α'), 39,6 (C-γ'), 38,0 (C-a), 33,7 (C-14), 27,7 (C-b), 26,7 (C-13), 25,5 (C-β'), 24,7 (C-c).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{30}H_{44}N_3O_7$: m/z 558,3174 ; trouvé : m/z 558,3179.

BY-NC-ND

3-[N^1-spermidine-3-amidopropyloxy]-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (19b)



$C_{30}H_{43}N_3O_7$ M=557,678 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 31 mg de chalcone **17b** sont introduits (M = 757,91 g.mol^{-1}, n = 4,09.10^{-5} mol) sont introduits, ainsi que 44,3 µL d'HCl (n = 13 eq = 5,317.10^{-4} mol, C = 12,0052 mol.L^{-1}) en présence de 15 mL d'EtOH. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure puis le chauffage est arrêté et la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement ajouté au milieu réactionnel ; après 5 min sous agitation, l'acide est neutralisé et le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 21,7 mg de produit pur sont obtenus (M = 557,68 g.mol^{-1}, n = 3,89.10^{-5} mol, R = 95%).

Rf = 0,51 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 45/45/10).

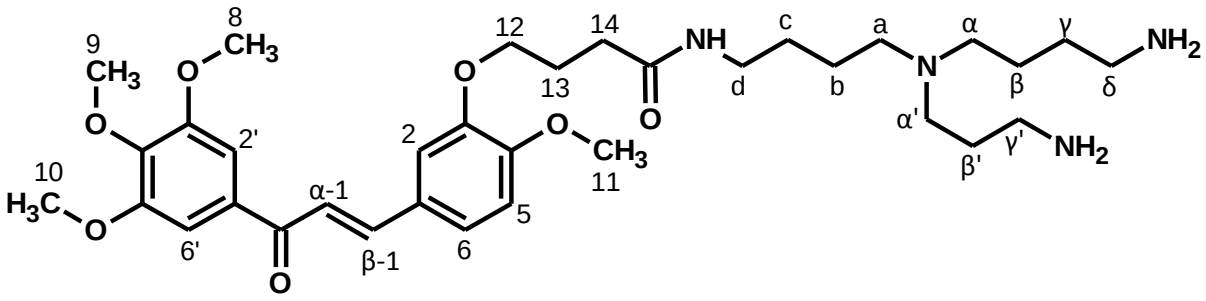
RMN ^{1}H (400,13 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,71 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,61 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,38 (3H, m, H-2, H-2' et H-6'), 7,30 (1H, dd, *J*=1,4Hz and J=8,5Hz, H-6), 6,98 (1H, d, *J*=8,4Hz, H-5), 4,10 (2H, t, *J*=6,2Hz, H-12), 3,92 (6H, s, (OCH_3)-8 et (OCH_3)-10), 3,87 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,85 (3H, s, (OCH_3)-9), 3,31 (2H, m, H-δ), 2,98 (6H, m, H-c, H-a et H-α), 2,46 (2H, t, *J*=7,4Hz, H-14), 2,11 (2H, quint, *J*=6,8Hz, H-13), 1,96 (2H, quint, *J*=6,9Hz, H-b), 1,89-1,81 (4H, m, H-β et H-γ).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, D_2O, 25°C) δ (ppm), 191,1 (CO), 177,1 (CON), 153,9 (C-3' et C-5'), 153,5 (C-4), 149,3 (C-3), 148,8 (C-β-1), 142,8 (C-4'), 134,0 (C-1'), 128,7 (C-1), 126,5 (C-6), 125,4 (C-α-1), 113,0 (C-2), 112,8 (C-5), 107,9 (C-2' et C-6'), 69,0 (C-12), 61,7 (C-11), 57,6 (C-8 et C-10), 57,4 (C-9), 49,4-38,3 (C-c, C-a, C-α et C-δ), 33,7 (C-14), 29,0-26,5 (C-b, C-β et C-γ), 26,3 (C-13).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{30}H_{44}N_3O_7$: m/z 558,3174 ; trouvé : m/z 558,3178.

BY-NC-ND

3-[N^4-(4-aminobutyl)-spermidine-3-amidopropyloxy]-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (19c)



$C_{34}H_{52}N_4O_7$ M=628,799 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 61 mg de chalcone **17c** sont introduits (M = 829,031 g.mol^{-1}, n = 7,36.10^{-5} mol) sont introduits, ainsi que 79,7 µL d'HCl (n = 13 eq = 9,56.10^{-4} mol, C = 12,0052 mol.L^{-1}) en présence de 15 mL d'EtOH. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure puis le chauffage est arrêté et la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement ajouté au milieu réactionnel ; après 5 min sous agitation, l'acide est neutralisé et le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 37,8 mg de produit pur sont obtenus (M = 628,799 g.mol^{-1}, n = 6,01.10^{-5} mol, R = 82%).

Rf = 0,67 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 35/50/15).

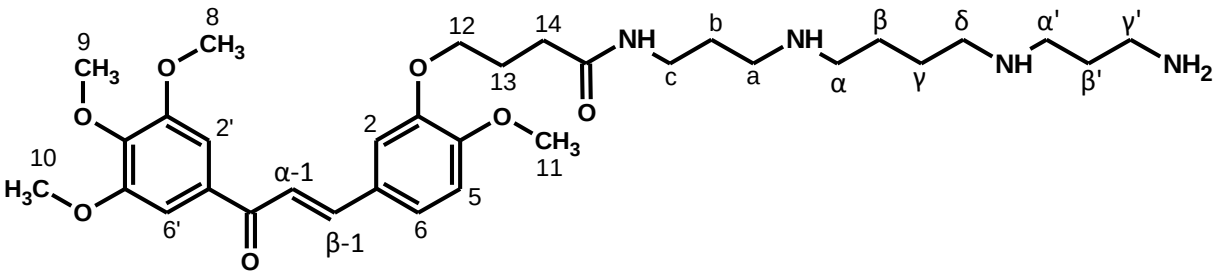
RMN ^{1}H (500,15 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,75 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,66 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,44 (1H, d, *J*=2,0Hz, H-2), 7,42 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,34 (1H, dd, *J*=2,0Hz et *J*=8,5Hz, H-6), 7,02 (1H, d, *J*=8,5Hz, H-5), 4,12 (2H, t, *J*=6,3Hz, H-12), 3,94 (6H, s, (OCH_3)-8 and (OCH_3)-10), 3,89 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,86 (3H, s, (OCH_3)-9), 3,20 (2H, t, *J*=6,3Hz, H-d), 2,78 (2H, t, *J*=7,0Hz, H-γ'), 2,75 (2H, t, *J*=6,8Hz, H-δ), 2,54-2,34 (8H, m, H-14, H-a, H-α et H-α'), 2,12 (2H, quint, *J*=7,0Hz, H-13), 1,75-1,35 (12H, m, H-c, H-b, H-β, H-γ et H-β').

RMN ^{13}C (100,62 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 191,2 (CO), 175,5 (CON), 154,8 (C-3' et C-5'), 153.8 (C-4), 150,2 (C-3), 146,7 (C-β-1), 144,0 (C-4'), 135,2 (C-1'), 129,6 (C-1), 125,5 (C-6), 120,7 (C-α-1), 114,0 (C-2), 113,8 (C-5), 107,7 (C-2' et C-6'), 69,6 (C-12), 61,4 (C-11), 57,1 (C-8 et C-10), 56,6 (C-9), 55,0-49,2 (C-d, Ca, Ca, C-d, Ca' et C-c'), 33,7 (C-14), 29,5-25,0 (C-c, C-b, C-b, C-c et C-b'), 26,7 (C-13).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{34}H_{52}N_4O_7$: m/z 629,3909 ; trouvé : m/z 629,3896

BY-NC-ND

3-[N^1-spermine-3-amidopropyloxy]-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (19d)



$C_{33}H_{50}N_4O_7$ M = 614,773 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 66,2 mg de chalcone **17d** sont introduits (M = 915,12 g.mol^{-1}, n = 7,2.10^{-5} mol) sont introduits, ainsi que 78 µL d'HCl (n = 13 eq = 9,4.10^{-4} mol, C = 12,0052 mol.L^{-1}) en présence de 15 mL d'EtOH. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure puis le chauffage est arrêté et la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement ajouté au milieu réactionnel ; après 5 min sous agitation, l'acide est neutralisé et le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 23,5 mg de produit pur sont obtenus (M = 614,773 g.mol^{-1}, n = 3,82.10^{-5} mol, R = 54%).

Rf = 0,33 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 45/45/15).

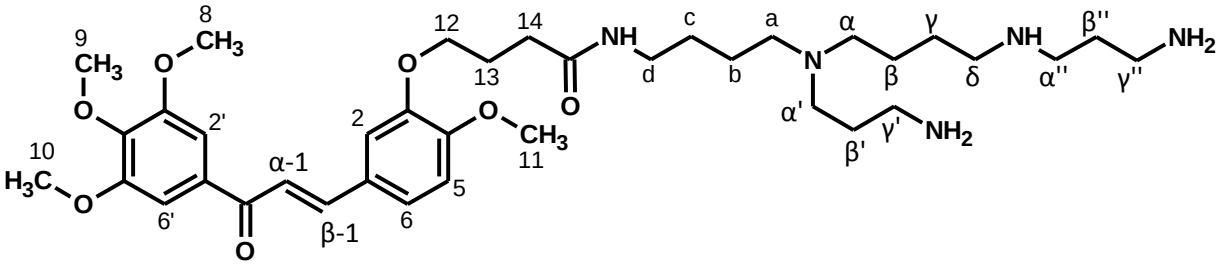
RMN ^{1}H (400,13 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,74 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,65 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,43 (1H, d, *J*=1,8Hz, H-2), 7,41 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,33 (1H, dd, *J*=1,8Hz et *J*=8,3Hz, H-6), 7,01 (1H, d, *J*=8,4Hz, H-5), 4,11 (2H, t, *J*=6,2Hz, H-12), 3,94 (6H, s, (OCH_3)-8 et (OCH_3)-10), 3,89 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,86 (3H, s, (OCH_3)-9), 3,24 (2H, t, *J*=6,7Hz, H-γ'), 2,73-2,47 (10H, m, H-c, H-a, H-α, H-δ et H-α'), 2,43 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-14), 2,11 (2H, quint, *J*=6,8Hz, H-13), 1,72-1,60 (4H, m, H-b et H-β'), 1,55-1,42 (4H, m, H-β et H-γ).

RMN ^{13}C (125,76 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 191,3 (CO), 175,9 (CON), 154,8 (C-3' et C-5'), 153,8 (C-4), 150,3 (C-3), 146,7 (C-β-1), 144,2 (C-4'), 135,2 (C-1'), 129,6 (C-1), 125,4 (C-6), 120,8 (C-α-1), 113,1 (C-2), 112,7 (C-5), 107,4 (C-2' et C-6'), 68,6 (C-12), 61,3 (C-11), 56,9 (C-8 et C-10), 56,6 (C-9), 50,3-37,6 (C-c, C-a, C-α, C-δ, C-α' et C-γ'), 33,6 (C-14), 33,0 (C-b et C-β'), 30,0 (C-β et C-γ), 26,5 (C-13).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{33}H_{51}N_4O_7$: m/z 615,3752 ; trouvé : m/z 615,3752.

BY-NC-ND

3-[N^4-(4-aminobutyl)-spermine-3-amidopropyl]-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (19e)



$C_{37}H_{59}N_5O_7$ M = 685,894 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 66,2 mg de chalcone **17e** sont introduits (M = 986,241 g.mol^{-1}, n = 9,23.10^{-5} mol) sont introduits, ainsi que 100 µL d'HCl (n = 13 eq = 1,1995.10^{-3} mol, C = 12,0052 mol.L^{-1}) en présence de 15 mL d'EtOH. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure puis le chauffage est arrêté et la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement ajouté au milieu réactionnel ; après 5 min sous agitation, l'acide est neutralisé et le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 31 mg de produit pur sont obtenus (M = 685,894 g.mol^{-1}, n = 4,523.10^{-5} mol, R = 49%).

Rf = 0,18 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 45/45/10).

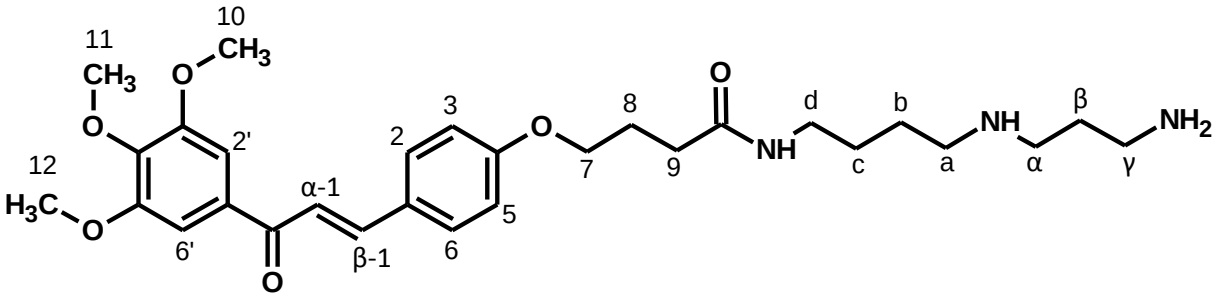
RMN^{1}H (400,13 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,76 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,67 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,44 (1H, d, *J*=8,5Hz, H-2), 7,43 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,35 (1H, dd, *J*=2,0Hz et *J*=8,5Hz, H-6), 7,03 (1H, d, *J*=8,0Hz, H-5), 4,13 (2H, t, *J*=6,5Hz, H-12), 3,95 (6H, s, (OCH_3)-8 et (OCH_3)-10), 3,90 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,87 (3H, s, (OCH_3)-9), 3,20 (2H, m, H-d), 2,95-2,50 (8H, m, H-δ, H-γ', H-α'' et H-γ''), 2,58-2,30 (6H, m, H-a, H-α et H-α'), 2,43 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-14), 2,12 (2H, quint, *J*=6,8Hz, H-13), 1,78-1,62 (4H, m, H-β' et H-β''), 1,55-1,28 (8H, m, H-c, H-b, H-β et H-γ).

RMN ^{13}C (125,76 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 191,4 (CO), 175,5 (CON), 154,6 (C-3' et C-5'), 153,7 (C-4), 150,2 (C-3), 146,8 (C-β-1), 144,2 (C-4'), 134,0(C-1'), 129,5 (C-1), 125,3 (C-6), 120,7 (C-α-1), 114,2 (C-2), 112,9 (C-5), 107.3 (C-2' et C-6'), 69,6 (C-12), 61,3 (C-11), 56,9 (C-8 et C-10), 56,7 (C-9), 54,7-54,4, (C-a, C-α et C-α'), 42,6-39,6 (C-d, C-δ, C-γ' et C-γ''), 33,7 (C-14), 33,8-25,6 (C-c, C-b, C-β, C-γ, C-β' et C-β''), 26,7 (C-13).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{37}H_{60}N_5O_7$: m/z 686,4487 ; trouvé : m/z 686,4483.

BY-NC-ND

4-[N^{8}-spermidine-3-amidopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (20a)



$C_{29}H_{41}N_3O_6$ M = 527,652 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 87 mg de chalcone **18a** sont introduits (M = 727,884 g.mol^{-1}, n = 1,195.10^{-4} mol) sont introduits, ainsi que 129 µL d'HCl (n = 13 eq = 1,554.10^{-3} mol, C = 12,0052 mol.L^{-1}) en présence de 15 mL d'EtOH. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure puis le chauffage est arrêté et la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement ajouté au milieu réactionnel ; après 5 min sous agitation, l'acide est neutralisé et le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 34,9 mg de produit pur sont obtenus (M = 527,652 g.mol^{-1}, n = 6,616.10^{-5} mol, R = 56%).

Rf = 0,63 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 45/45/10).

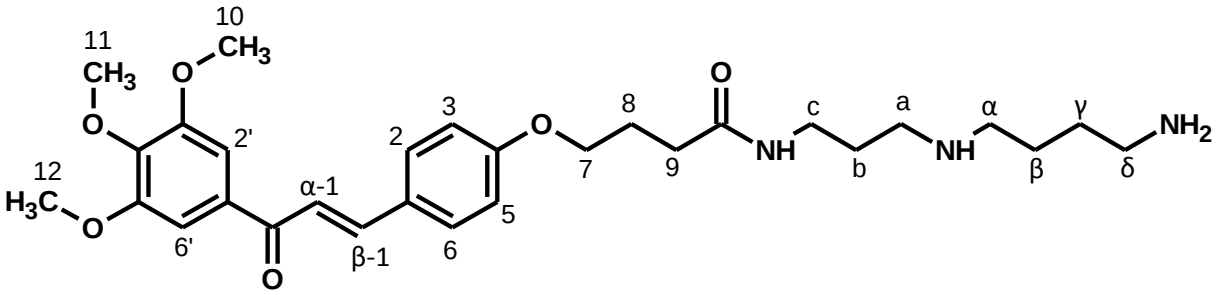
RMN ^{1}H (500,15 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,77 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,73 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-2 et H-6), 7,63 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,39 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,99 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-3 et H-5), 4,07 (2H, t, *J*=6,3Hz, H-7), 3,94 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,86 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,23-2,66 (8H, m, H-d, H-a, H-α et H-γ), 2,40 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-9), 2,10 (2H, quint, *J*=7,3Hz, H-8), 1,75-1,55 (6H, m, H-c, H-b et H-β).

RMN ^{13}C (125,76 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 191,3 (CO), 175,5 (CON), 162,9 (C-4), 154,8 (C-3' et C-5'), 146,4 (C-β-1), 144,0 (C-4'), 135,2 (C-1'), 131,9 (C-2 et C-6), 129,2 (C-1), 120,5 (C-α-1), 116,2 (C-3 et C-5), 107,6 (C-2' et C-6'), 68,6 (C-7), 61,4 (C-11), 57,0 (C-10 et C-12), 49,9 (C-γ), 48,1 (C-d), 40,3-40,2 (C-a et C-α), 33,7 (C-9), 30,4-27,2 (C-b, C-c et C-β), 26,7 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{29}H_{42}N_3O_6$: m/z 528,3068 ; trouvé : m/z 528,3064.

BY-NC-ND

4-[N^1-spermidine-3-amidopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (20b)



$C_{29}H_{41}N_3O_6$ M = 527,652 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 97 mg de chalcone **18b** sont introduits (M = 727,884 g.mol^{-1}, n = 1,33.10^{-4} mol) sont introduits, ainsi que 155 µL d'HCl (n = 14 eq = 1,866.10^{-3} mol, C = 12,0052 mol.L^{-1}) en présence de 15 mL d'EtOH. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure puis le chauffage est arrêté et la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement ajouté au milieu réactionnel ; après 5 min sous agitation, l'acide est neutralisé et le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 37,34 mg de produit pur sont obtenus (M = 527,652 g.mol^{-1}, n = 7,077.10^{-5} mol, R = 54%).

Rf = 0,45 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 45/45/10).

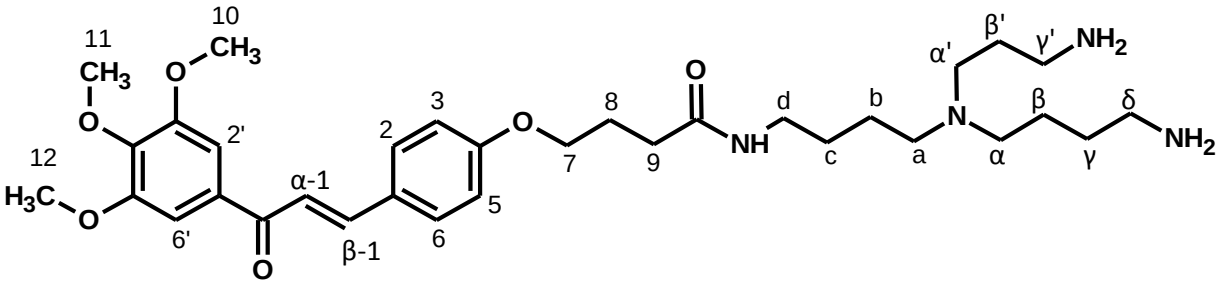
RMN ^{1}H (500,15 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,75 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,71 (2H, d, *J*=9,0Hz, H-2 et H-6), 7,61 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,37 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,97 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-3 et H-5), 4,06 (2H, t, *J*=6,3Hz, H-7), 3,93 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,85 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,24-2,57 (8H, m, H-c, H-a, H-α et H-δ), 2,40 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-9), 2,09 (2H, quint, *J*=7,3Hz, H-8), 1,71-1,55 (6H, m, H-b, H-β et H-γ).

RMN ^{13}C (125,76 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 191,2 (CO), 175,7 (CON), 162,8 (C-4), 154,7 (C-3' et C-5'), 146,2 (C-β-1), 144,0 (C-4'), 135,1 (C-1'), 131,9 (C-2 et C-6), 129,1 (C-1), 120,4 (C-α-1), 116,2 (C-3 et C-5), 107,5 (C-2' et C-6'), 68,5 (C-7), 61,4 (C-11), 57,0 (C-10 et C-12), 50,2 (C-γ), 47,7 (C-c), 41,9 (C-a), 38,2 (C-α), 33,6 (C-9), 30,2 (C-b), 30,0 (C-γ), 27,6 (C-β), 26,6 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{29}H_{42}N_3O_6$: m/z 528,3068 ; trouvé : m/z 528,3066.

BY-NC-ND

4-[N^4-(4-aminobutyl)-spermidine-3-amidopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (20c)



$C_{33}H_{50}N_4O_6$ M = 598,773 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 36,86 mg de chalcone **18c** sont introduits (M = 799,005 g.mol^{-1}, n = 4,61.10^{-5} mol) sont introduits, ainsi que 50 µL d'HCl (n = 13 eq = 5,997.10^{-4} mol, C = 12,0052 mol.L^{-1}) en présence de 15 mL d'EtOH. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure puis le chauffage est arrêté et la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement ajouté au milieu réactionnel ; après 5 min sous agitation, l'acide est neutralisé et le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 10,49 mg de produit pur sont obtenus (M = 598,773 g.mol^{-1}, n = 1,752.10^{-5} mol, R = 38%).

Rf = 0,15 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 45/45/10).

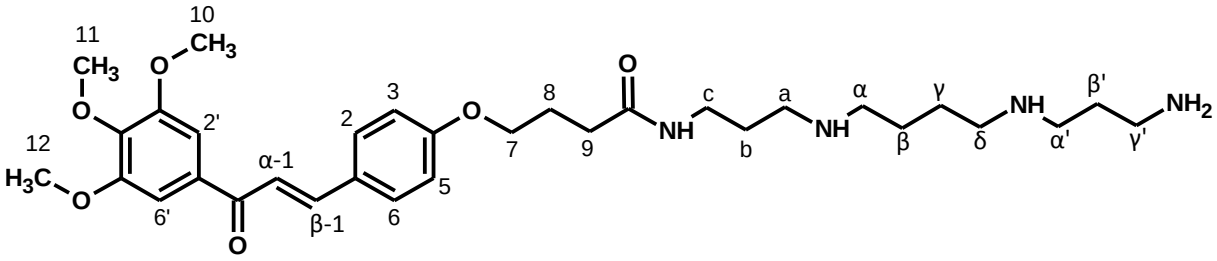
RMN ^{1}H (500,15 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,78 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,74 (2H, d, *J*=9,0Hz, H-2 et H-6), 7,64 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,40 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,00 (2H, d, *J*=9,0Hz, H-3 et H-5), 4,01 (2H, t, *J*=6,0Hz, H-7), 3,94 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,86 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,24-2,28 (12H, m, H-d, H-a, H-α, H-δ, H-α' et H-γ'), 2,40 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-9), 2,10 (2H, quint, *J*=7,6Hz, H-8), 1,78-1,43 (10H, m, H-c, H-b, H-β, H-γ et H-β').

RMN ^{13}C (125,76 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 181,6 (CO), 165,8 (CON), 153,3 (C-4), 145,1 (C-3' et C-5'), 136,7 (C-β-1), 134,4 (C-4'), 125,6 (C-1'), 122,3 (C-2 et C-6), 119,6 (C-1), 110,8 (C-α-1), 106,6 (C-3 et C-5), 97,9 (C-2' et C-6'), 58,9 (C-7), 51,7 (C-11), 47,4 (C-10 et C-12), 45,4-43,4 (C-a, C-α et C-α'),31,5-30,7 (C-d, C-δ et C-γ'), 24,1 (C-9), 22,0-15,4 (C-c, C-b, C-β, C-δ and C-β'), 17,1 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{33}H_{51}N_4O_6$: m/z 599,3803 ; trouvé : m/z 599,3794.

BY-NC-ND

4-[N^1-spermine-3-amidopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (20d)



$C_{32}H_{48}N_4O_6$ M = 584,747 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 50,76 mg de chalcone **18d** sont introduits (M = 885,094 g.mol^{-1}, n = 5,735.10^{-5} mol) sont introduits, ainsi que 62,1 µL d'HCl (n = 13 eq = 7,4555.10^{-4} mol, C = 12,0052 mol.L^{-1}) en présence de 15 mL d'EtOH. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure puis le chauffage est arrêté et la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement ajouté au milieu réactionnel ; après 5 min sous agitation, l'acide est neutralisé et le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 14,84 mg de produit pur sont obtenus (M = 584,747 g.mol^{-1}, n = 2,54.10^{-5} mol, R = 45%).

Rf = 0,26 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 45/45/10).

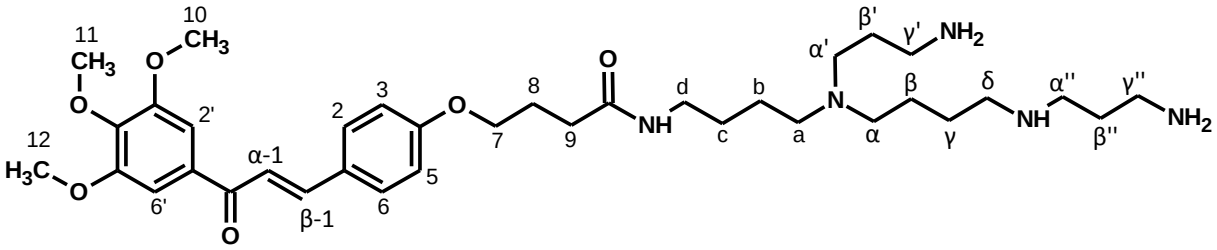
RMN ^{1}H (500,15 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,77 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,73 (2H, d, *J*=9,0Hz, H-2 et H-6), 7,62 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,39 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,99 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-3 et H-5), 4,06 (2H, t, *J*=6,3Hz, H-7), 3,94 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,86 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,24-2,50 (12H, m, H-c, H-a, H-α, H-δ, H-α' et H-γ'), 2,40 (2H, t, *J*=7,3Hz, H-9), 2,10 (2H, quint, *J*=7,0Hz, H-8), 1,72-1,56 (8H, m, H-b, H-β, H-γ et H-β').

RMN ^{13}C (125,76 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 191,2 (CO), 175,6 (CON), 162,9 (C-4), 154,8 (C-3' et C-5'), 146,4 (C-β-1), 144,0 (C-4'), 135,2 (C-1'), 131,9 (C-2 et C-6), 129,2 (C-1), 120,4 (C-α-1), 116,2 (C-3 et C-5), 107,5 (C-2' et C-6'), 68,5 (C-7), 61,4 (C-11), 57,0 (C-10 et C-12), 50,5-38,3 (C-c, C-a, C-α, C-δ, C-α' et C-γ'), 33,6 (C-9), 32,7-28,2 (C-b, C-β, C-γ et C-β'), 26,7 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{32}H_{49}N_4O_6$: m/z 585,3647 ; trouvé : m/z 585,3644.

BY-NC-ND

4-[N^4-(4-aminobutyl)-spermine-3-amidopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (20e)



$C_{36}H_{57}N_5O_6$ M = 655,868 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 50,9 mg de chalcone **18e** sont introduits (M = 956,215 g.mol^{-1}, n = 5,23.10^{-5} mol) sont introduits, ainsi que 56,6 µL d'HCl (n = 13 eq = 6,798.10^{-4} mol, C = 12,0052 mol.L^{-1}) en présence de 15 mL d'EtOH. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure puis le chauffage est arrêté et la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement ajouté au milieu réactionnel ; après 5 min sous agitation, l'acide est neutralisé et le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 11,32 mg de produit pur sont obtenus (M = 655,868 g.mol^{-1}, n = 1,726.10^{-5} mol, R = 33%).

Rf = 0,35 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 45/45/10).

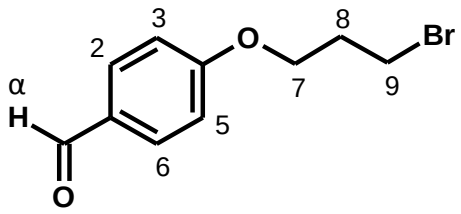
RMN ^{1}H (500,15 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,78 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,74 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-2 et H-6), 7,63 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,39 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,99 (2H, d, *J*=9,0Hz, H-3 et H-5), 4,08 (2H, t, *J*=6,0Hz, H-7), 3,94 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,86 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,20-2,33 (18H, m, H-9, H-d, H-a, H-α, H-δ, H-α', H-γ', H-α'' et H-γ''), 2,10 (2H, quint, *J*=7,0Hz, H-8), 1,68-1,48 (12H, m, H-c, H-b, H-β, H-γ, H-β' et H-β'').

RMN ^{13}C (125,76 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 191,6 (CO), 175,7 (CON), 162,9 (C-4), 154,7 (C-3' et C-5'), 146,2 (C-β-1), 144,1 (C-4'), 134,3 (C-1'), 131,2 (C-2 et C-6), 129,9 (C-1), 120,3 (C-α-1), 116,2 (C-3 et C-5), 107,6 (C-2' et C-6'), 68,3 (C-7), 61,3 (C-11), 57,0 (C-10 et C-12), 49,8-36,6 (C-d, C-a, C-α, C-δ, C-α', C-γ', C-α'' et C-γ''), 33,7 (C-9), 33,4-27,5 (C-c, C-b, C-β, C-γ, C-β' et C-β''), 26,7 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{36}H_{58}N_5O_6$: m/z 656,4382 ; trouvé : m/z 656,4378.

BY-NC-ND

4-bromopropyloxybenzaldéhyde (21)



$C_{10}H_{11}BrO_2$ M = 243,097 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, sont introduits : 100 mg de 4-hydroxy-benzaldéhyde (M = 122,12 g.mol^{-1}, n = 8,19.10^{-4} mol), 226,4 mg de K_2CO_3 (n = 2 eq = 1,64.10^{-3} mol M = 138,214 g.mol^{-1}), 830,8 µL de 1,3-dibromo-propane (n = 10 eq = 8,19.10^{-3} mol, M = 201,9 g.mol^{-1}, m = 1,653 g, d = 1,99) et 5mL de DMF. Le mélange est laissé sous agitation pendant deux heures à température ambiante puis le DMF est évaporé. Le résidu est repris dans 20 mL d'eau, acidifié avec HCl (3M) à pH 4-5 puis une extraction avec 3x20 mL de CH_2Cl_2 est réalisée. La phase organique est récupérée, séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner et enfin évaporée sous pression réduite. Le brut réactionnel est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 96 mg de produit pur sont obtenus (M = 243,097 g.mol^{-1}, n = 3,949.10^{-4} mol, R = 49%).

Rf = 0,69 (Hex/EtOAc 70/30).

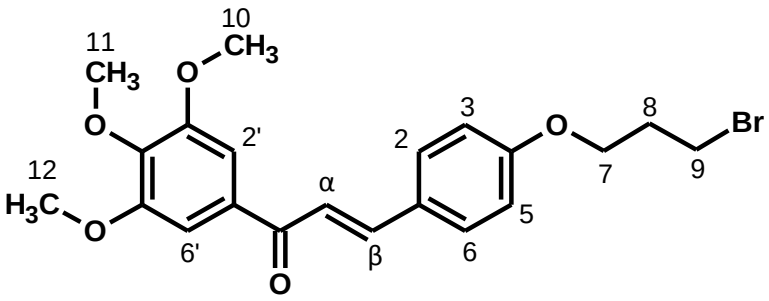
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 9,89 (1H, s, H-α), 7,84 (2H, d, *J*=8,8Hz, H-2 et H6), 7,01 (2H, d, *J*=8,7Hz, H-3 et H-5), 4,20 (2H, t, *J*=5,8Hz, H-7), 3,61 (2H, t, *J*=6,4Hz, H-9), 2,36 (2H, quint, *J*=6,1Hz, H-8).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 190,8 (CO), 163,7 (C-4), 132,0 (C-2 et C-6), 130,2 (C-1), 114,8 (C-3 et C-5), 65,7 (C-7), 32,1 (C-8), 29,6 (C-9).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{10}H_{12}BrO_2$: m/z 243,0015 ; trouvé : m/z 243,0013.

BY-NC-ND

4-bromopropyloxy-3',4',5'-triméthoxychalcone (22)



$C_{21}H_{23}BrO_5$ M = 435,308 g.mol^{-1}

100 mg de chalcone **13** (M = 314,332 g.mol^{-1}, n = 3,18.10^{-4} mol) sont dissous dans 7 mL de DMF en présence de 87,9 mg de K_2CO_3 (n = 2 eq = 6,36.10^{-4} mol, M = 138,214 g.mol^{-1}). Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 10 minutes puis 322,8 µL de 1,3-dibromo-propane (n = 10 eq =3,18.10^{-3} mol, M = 201,9 g.mol^{-1}, m = 642,3 mg, d = 1,99) sont ajoutés. La réaction se déroule à température ambiante pendant 1h30 ; le DMF est ensuite évaporé sous pression réduite et le résidu est repris dans 20 mL d'eau. La solution aqueuse est alors acidifiée (pH3) à l'aide d'HCl 3M puis une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2. La phase organique est alors récupérée, séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner, puis évaporée. Le résidu est finalement purifié sur plaques préparatives de silice et 132 mg de produit pur sont obtenus (M = 435,308 g.mol^{-1}, n = 3,03.10^{-4} mol, R = 96%).

Rf = 0,54 (Hex/EtOAc 70/30).

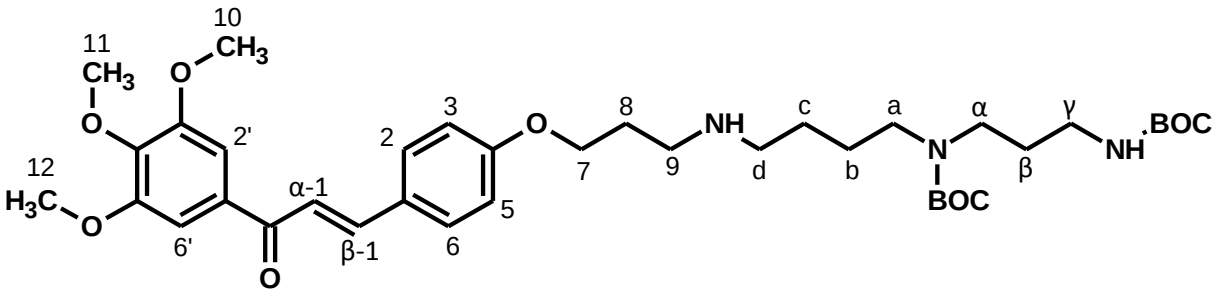
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,79 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-β), 7,60 (2H, d, *J*=8,7Hz, H-2 et H-6), 7,36 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-α), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,95 (2H, d, *J*=8,7Hz, H-3 et H-5), 4,11 (2H, t, *J*=6,3Hz, H-7), 3,95 (6H, s, 2 x OCH_3-10 et OCH_3-12), 3,94 (3H, s, OCH_3-11), 3,57 (2H, t, *J*=6,1Hz, H-9), 2,07 (2H, quint, *J*=7,1Hz, H-8).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (CO), 160,8 (C-4), 153,1 (C-3' et C-5'), 144,5 (C-β), 142,7 (C-4'), 133,8 (C-1'), 130,3 (C-2 et C-6), 127,9 (C-1), 119,6 (C-α), 115,0 (C-3 et C-5), 105,9 (C-2' et C-6'), 65,5 (C-7), 61,0 (C-11), 56,3 (C-11 et C-13), 29,8 (C-9), 26,4 (C-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{21}H_{24}BrO_5$: m/z 435,0802 ; trouvé : m/z 435,0801.

BY-NC-ND

4-[N^8-(N^1,N^4-bis–tert-butyloxycarbonyl)-spermidine-3-aminopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (23)



$C_{38}H_{57}N_3O_9$ M = 699,874 g.mol^{-1}

43,5 mg de chalcone **22** (M = 435,308 g.mol^{-1}, n = 1.10^{-4} mol) sont mis en solution dans 5 mL d'acétonitrile avec 55,3 mg K_2CO_3 (n = 4 eq = 4.10^{-4} mol, M = 138,21 g.mol^{-1}) et 69,1 mg de N^1-N^4-bis-boc-spermidine (n = 2 eq = 2.10^{-4} mol, M = 345,48 g.mol^{-1}). La réaction est activée par irradiations microondes (90°C, 120 W, 5x8 minutes) puis le solvant est évaporé, le résidu est repris dans 20 mL d'eau. La phase aqueuse est acidifiée jusqu'à pH 4 à l'aide d'une solution d'HCl 3M et une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée. Le résidu est purifié sur plaques préparatives de silice et 34,6 mg de produit pur sont obtenus (M = 699,874 g.mol^{-1}, n = 4,94.10^{-5} mol, R = 50%).

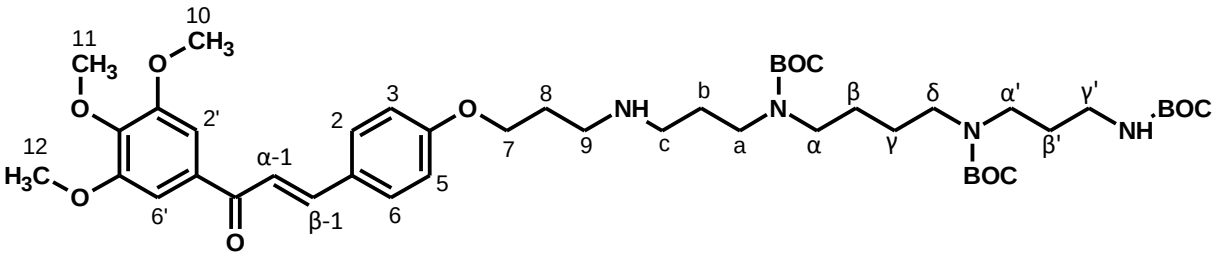
Rf = 0,35 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 94/5/1).

RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,78 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,59 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-2 et H-6), 7,36 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,92 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-3 et H-5), 4,09 (2H, t, *J*=6,0Hz, H-7), 3,95 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,35-3,05 (8H, m, H-d, H-a, H-α et H-γ), 2,79 (2H, m, H-9), 2,09 (2H, m, H-8), 1,70-1,50 (6H, m, H-c, H-b et H-β), 1,45 (9H, s, 3xCH_3-Boc), 1,43 (9H, s, 3xCH_3-Boc).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (CO), 160,9 (C-4), 156,1 (2xCO-Boc), 153,2 (C-3' et C-5'), 144,5 (C-β-1), 142,4 (C-4'), 133,8 (C-1'), 130,2 (C-2 et C-6), 127,8 (C-1), 119,5 (C-α-1), 114,9 (C-3 et C-5), 106,1 (C-2' et C-6'), 79,8 (C-tBu), 79,1 (C-tBu), 66,1 (C-7), 61,0 (C-11), 56,4 (C-10 et C-12), 48,9-37,5 (C-9, C-d, C-a, C-α et C-γ), 28,5 (6xCH_3-Boc), 29,7-25,6 (C-b, C-c et C-β), 22,4 (C-8).

BY-NC-ND

4-[N^1-(N^4,N^9,N^{12}-ter-tert-butyloxycarbonyl)-spermine-3-aminopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (24)



$C_{46}H_{72}N_4O_{11}$ M = 857,084 g.mol^{-1}

87 mg de chalcone **22** (M = 435,308 g.mol^{-1}, n = 2.10^{-4} mol) sont mis en solution dans 5 mL d'acétonitrile avec 110,6 mg K_2CO_3 (n = 4 eq = 8.10^{-4} mol, M = 138,21 g.mol^{-1}) et 201 mg de N^1-N^5-N^{10}-tri-boc-spermine (n = 2 eq = 4.10^{-4} mol, M = 502,688 g.mol^{-1}). La réaction est activée par irradiations microondes (90°C, 120 W, 8x8 minutes) puis le solvant est évaporé, le résidu est repris dans 20 mL d'eau. La phase aqueuse est acidifiée jusqu'à pH 4 à l'aide d'une solution d'HCl 3M et une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée. Le résidu est purifié sur plaques préparatives de silice et 76,4 mg de produit pur sont obtenus (M = 857,084 g.mol^{-1}, n = 8,91.10^{-5} mol, R = 45%).

Rf = 0,23 ($CHCl_3$/MeOH 95/5).

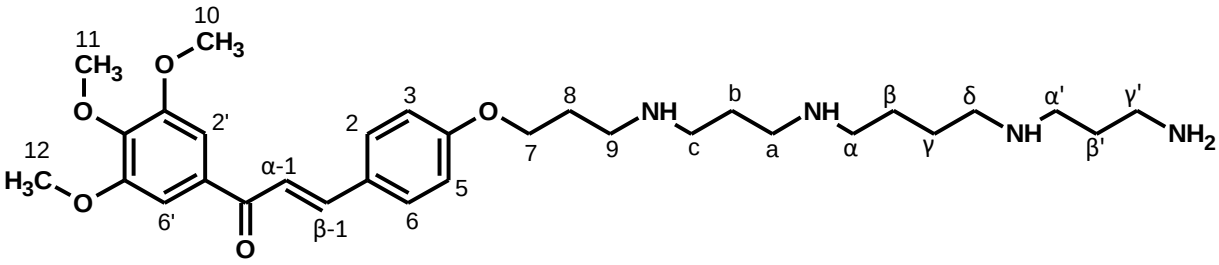
RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,78 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,59 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-2 et H-6), 7,36 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,93 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-3 et H-5), 4,11 (2H, t, *J*=6,3Hz, H-7), 3,95 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-11), 3,35-3,00 (10H, m, H-a, H-α, H-δ, H-α, H-γ'), 2,95-2,80 (2H, m, H-9), 2,75-2,60 (2H, m, H-c), 2,15-2,00 (2H, m, H-8), 1,90-1,60 (4H, m, H-β et H-γ), 1,50-1,46 (2H, m, H-β'), 1,45 (9H, s, 3xCH_3-Boc), 1,44 (18H, s, 6xCH_3-Boc), 1,26 (2H, m, H-b).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (CO), 161,0 (C-4), 156,1 (3xCO-Boc), 153,2 (C-3' et C-5'), 144,6 (C-β-1), 142,4 (C-4'), 133,8 (C-1'), 130,2 (C-2 et C-6), 127,7 (C-1), 119,5 (C-α-1), 115,0 (C-3 et C-5), 106,1 (C-2' et C-6'), 80,1 (C-tBu), 79,5 (C-tBu), 79,0 (C-tBu), 65,8 (C-7), 61,0 (C-11), 56,4 (C-10 et C-12), 47,0-37,4 (C-9, C-c, C-a, C-α, C-δ, C-α' et C-γ'), 28,5 (9xCH_3-Boc), 29,7-25,6 (C-8, C-b, C-β, C-γ, et C-β').

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour C $C_{46}H_{73}N_4O_{11}$: m/z 857,5270 ; trouvé : m/z 857,5274.

BY-NC-ND

4-[N^1-spermine-3-aminopropyloxy]-3',4',5'-triméthoxychalcone (26)



$C_{31}H_{48}N_4O_5$ M = 556,737 g.mol^{-1}

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant, 32,9 mg de chalcone **24** (M = 857,084 g.mol^{-1}, n = 3,84.10^{-5} mol) sont introduits, ainsi que 41,5 µL d'HCl (n = 13 eq = 4,99.10^{-4} mol, C = 12,0052 mol.L^{-1}) en présence de 10 mL d'EtOH. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure puis le chauffage est arrêté et la résine basique échangeuse d'ions (DOWEX® 550A OH) est alors directement ajouté au milieu réactionnel ; après 10 min sous agitation, l'acide est neutralisé et le milieu réactionnel peut alors être filtré sur fritté puis évaporé. Le résidu est alors purifié sur plaques préparatives de silice et 3,23 mg de produit pur sont obtenus (M = 556,737 g.mol^{-1}, n = 5,8.10^{-6} mol, R = 16%).

Rf = 0,43 ($CHCl_3$/MeOH/NH_4OH 40/45/15).

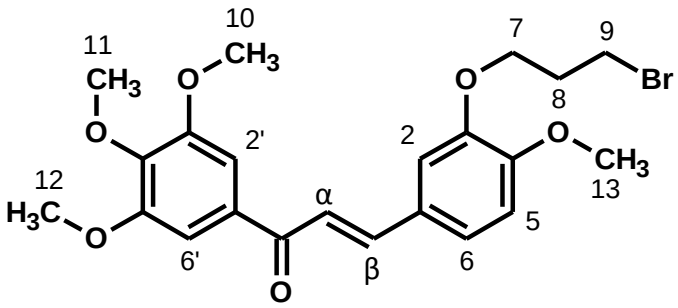
RMN ^{1}H (500,15 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,78 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β-1), 7,74 (2H, d, *J*=9,0Hz, H-2 et H-6), 7,64 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α-1), 7,40 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,00 (2H, d, *J*=9,0Hz, H-3 et H-5), 4,14 (2H, t, *J*=6,0Hz, H-7), 3,94 (6H, s, (OCH_3)-10 et (OCH_3)-12), 3,86 (3H, s, (OCH_3)-11), 2,90-2,60 (14H, m, H-9, H-c, H-a, H-α, H-δ, H-α' et H-γ'), 2,02 (2H, quint, *J*=7,3Hz, H-γ'), 1,80-1,65 (4H, m, H-8 et H-b), 1,60-1,50 (4H, m, H-β et H-γ).

RMN ^{13}C (125,76 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 181,7 (CO), 153,2 (C-4), 145,1 (C-3' et C-5'), 136,8 (C-β-1), 144,0 (C-4'), 125,6 (C-1'), 122,3 (C-2 et C-6), 119,6 (C-1), 110,8 (C-α-1), 106,5 (C-3 et C-5), 97,9 (C-2' et C-6'), 58,1 (C-7), 51,7 (C-11), 47,4 (C-10 et C-12), 40,5-38,1 (C-9, C-c, C-a, C-α, C-δ, C-α' et C-γ'), 31,0 (C-8), 22,6-18,5 (C-b, C-β, C-γ et C-β').

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{31}H_{49}N_4O_5$:m/z 557,3697 ; trouvé : m/z 557,3692.

BY-NC-ND

3-bromopropyloxy-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (27)



$C_{22}H_{25}BrO_6$ M = 465,334 g.mol^{-1}

132 mg de chalcone **1** (M = 344,359 g.mol^{-1}, n = 3,83.10^{-4} mol) sont dissous dans 15 mL de DMF en présence de 530 mg de K_2CO_3 (n = 10 eq = 3,83.10^{-3} mol, M = 138,214 g.mol^{-1}) et 194,8 µL de 1,3-dibromo-propane (n = 5 eq =1,92.10^{-3} mol, M = 201,9 g.mol^{-1}, m = 387,6 mg, d = 1,99) sont ajoutés. La réaction se déroule à température ambiante pendant 3h ; le DMF est ensuite évaporé sous pression réduite et le résidu est repris dans 20 mL d'eau. La solution aqueuse est alors acidifiée (pH3) à l'aide d'HCl 3M puis une extraction est réalisée avec 3x20 mL de $CHCl_3$. La phase organique est alors récupérée, séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner, puis évaporée. Le résidu est finalement purifié sur plaques préparatives de silice (2 migrations) et 101 mg de produit pur sont obtenus (M = 435,308 g.mol^{-1}, n = 2,17.10^{-4} mol, R = 57%).

Rf = 0,48 (Tol/Et_2O 8/2).

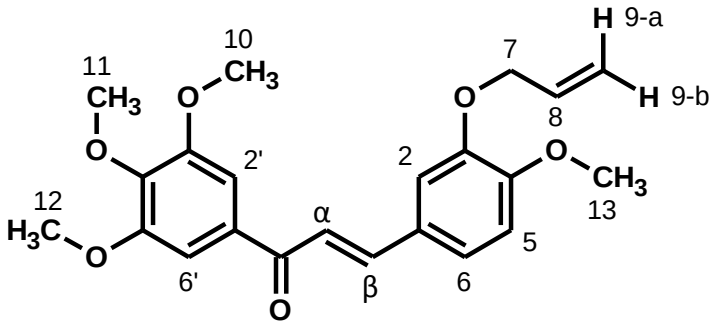
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,76 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-β), 7,34 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-α), 7,28 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,25 (1H, *m*, H-6), 7,23 (1H, *m*, H-2), 6,92 (1H, d, *J*=8,3Hz, H-5), 4,24 (2H, t, *J*=6,0Hz, H-7), 3,95 (12H, s, 4xOCH_3), 3,67 (2H, t, *J*=6,3Hz, H-9), 2,40 (2H, quint, *J*=6,2Hz, H-8).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{22}H_{26}BrO_6$:m/z 465,0907 ; trouvé : m/z 465,0902.

Le produit secondaire issu de la déshydrohalogénation est analysé à partir du spectre RMN ^{1}H du composé **27**, il s'agit du composé **27'**.

BY-NC-ND

3-(prop-2-ènyloxy)-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (27')



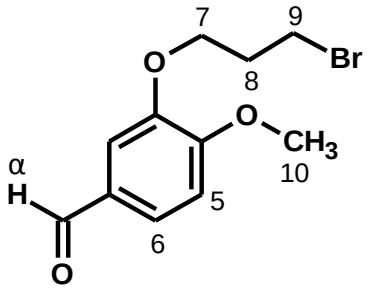
$C_{22}H_{24}O_6$ M = 384,422 g.mol^{-1}

Rf = 0,52 (Tol/Et_2O 8/2).

RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,74 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-β), 7,30 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-α), 7,28 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,25 (1H, *m*, H-6), 7,18 (1H, d, *J*=1,7Hz, H-2), 6,92 (1H, d, *J*=8,3Hz, H-5), 6,11 (1H, *m*, H-8), 5,45 (1H, dd, *J*=1,3Hz et *J*=17,2Hz, H-9-a), 5,34 (1H, dd, *J*=1,0Hz et *J*=10,5Hz, H-9-b), 4,68 (2H, d, *J*=5,4Hz, H-7), 3,95 (12H, s, 4xOCH_3).

BY-NC-ND

3-bromopropyloxy-4-méthoxybenzaldéhyde (28)



$C_{11}H_{13}BrO_3$ M = 273,123 g.mol^{-1}

Dans un ballon de réaction, sont introduits : 100 mg de 3-hydroxy-4-méthoxybenzaldéhyde (M = 152,15 g.mol^{-1}, n = 6,57.10^{-4} mol = 1 eq), 181,7 mg de K_2CO_3 (n = 2 eq = 1,31.10^{-3} mol M = 138,21 g.mol^{-1}), 333 µL de 1,3-dibromo-propane (n = 5 eq = 3,29.10^{-3} mol, M = 201,9 g.mol^{-1}, m = 663,5 mg, d = 1,99) et 5mL de DMF. Le mélange est laissé sous agitation pendant deux heures à température ambiante puis le DMF est évaporé. Le résidu est repris dans 20 mL d'eau, acidifié avec HCl (3M) à pH 4-5 puis une extraction avec 3x20 mL de CH_2Cl_2 est réalisée. La phase organique est récupérée, séchée sur Na_2SO_4, filtrée sur Büchner et enfin évaporée sous pression réduite. Le brut réactionnel est alors purifié sur plaques préparatives de silice. Le produit **28** n'est pas obtenu pur, le produit **28'**, issu de sa déshydrohalogénation, est présent et est analysé à partir du spectre RMN ^{1}H du composé **28**.

Rf = 0,55 (Hex/EtOAc 70/30).

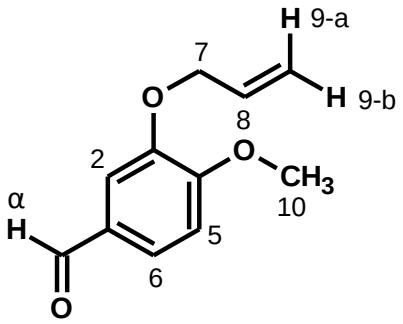
RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 9,85 (1H, s, H-α), 7,47 (1H, dd, *J*=8,2Hz et *J*=1,8Hz, H-6), 7,44 (1H, d, *J*=1,8Hz, H-2), 6,99 (1H, d, *J*=8,2Hz, H-5), 4,22 (2H, t, *J*=5,9Hz, H-7), 3,95 (3H, s, OCH_3), 3,63 (2H, t, *J*=6,4Hz, H-9), 2,40 (2H, quint, *J*=6,2Hz, H-8).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 190,8 (CO), 154,9 (C-3), 148,8 (C-4), 130,1 (C-1), 127,0 (C-6), 110,9 (C-2), 110,8 (C-5), 66,6 (C-7), 56,1 (C-10), 32,2 (C-8), 29,8 (C-9).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{11}H_{14}BrO_3$: m/z 273,0121 ; trouvé : m/z 273,0120.

BY-NC-ND

3-(prop-2-ènyloxy)-4-méthoxybenzaldéhyde (28')



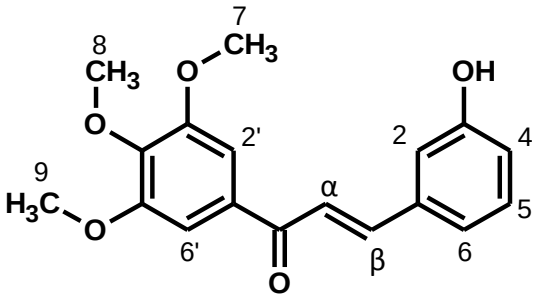
$C_{11}H_{12}O_3$ M = 192,211 g.mol^{-1}

Rf = 0,62 (Hex/EtOAc 70/30).

RMN ^{1}H (400,13 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 9,84 (0,16H, s, H-α), 7,47 (0,15H, dd, *J*=8,2Hz et *J*=1,8Hz, H-6), 7,41 (0,17H, d, *J*=1,8Hz, H-2), 6,99 (0,16H, d, *J*=8,2Hz, H-5), 6,09 (0,18H, ddt, *J*=15,9Hz et *J*=10,5Hz et *J*=5,4Hz, H-8), 5,48 (0,18H, dd, *J*=1,4Hz et *J*=15,9Hz, H-9-trans), 5,32 (0,18H, dd, *J*=1,2Hz et *J*=10,5Hz, H-9-cis), 4,97 (0,19H, d, *J*=5,4Hz, H-7), 3,97 (0,60H, s, OCH_3).

BY-NC-ND

3-hydroxy-3',4',5'-triméthoxychalcone (29)



$C_{18}H_{18}O_5$ M = 314,333 g.mol^{-1}

100 mg de 3',4',5'-triméthoxyacétophénone (M = 210,23 g.mol^{-1}, n = 4,76.10^{-4} mol) sont mis en solution dans 15 mL de MeOH avec 95 mg de NaOH (M = 39,997 g.mol^{-1}, n = 5 eq = 2,38.10^{-3} mol) préalablement dissous dans 2 mL d'eau. L'ensemble est laissé sous agitation à température ambiante pendant 15 minutes puis 69,7 mg de 3-hydroxybenzaldéhyde (M = 122,121 g.mol^{-1}, n = 1,2 eq = 5,71.10^{-4} mol) sont ajoutés et la réaction est conduite à reflux pendant 5h. Ensuite, le milieu réactionnel est évaporé, le résidu est repris dans 20 mL d'eau, la solution est acidifiée jusqu'à pH 3 à l'aide d'une solution d'HCl 3M. Une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée. Le résidu est purifié sur plaques préparatives de silice et 34,4 mg de produit pur sont obtenus (M = 314,333 g.mol^{-1}, n = 1,094.10^{-4} mol, R = 23%).

Rf = 0,47 (Hex/EtOAc 60/40).

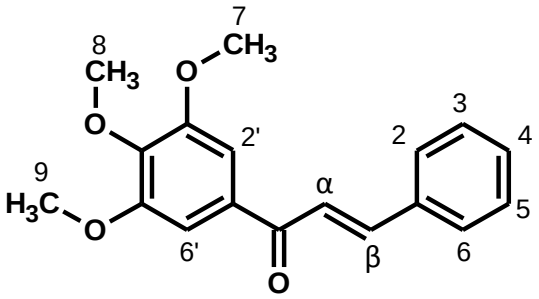
RMN ^{1}H (400,13 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,77 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-β), 7,45 (1H, d, *J*=15,6Hz, H-α), 7,29 (1H, d, *J*=7,9Hz, H-6), 7,27 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,21 (1H, d, *J*=7,7Hz, H-5), 7,17 (1H, t, *J*=2,1Hz, H-2), 6,93 (1H, m, H-4), 3,95 (3H, 1s, (OCH_3)-8), 3,93 (6H, 1s, (OCH_3)-7 et (OCH3)-9).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,8 (CO), 156,5 (C-3), 153,2 (C-3' et C-5'), 145,0 (C-β), 142,7 (C-4'), 136,3 (C-1), 133,3 (C-1'), 130,2 (C-6), 122,0 (C-α), 121, 0 (C-5), 118,0 (C-4), 115,1 (C-2), 106,3 (C-2' et C-6'), 61,0 (C-8), 56,4 (C-7 et C-9).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{18}H_{19}O_4$: m/z 315,1227 ; trouvé : m/z 315,1227.

BY-NC-ND

3',4',5'-triméthoxychalcone (30)



$C_{18}H_{18}O_4$ M = 298,333 g.mol^{-1}

100 mg de 3',4',5'-triméthoxyacétophénone (M = 210,23 g.mol^{-1}, n = 4,76.10^{-4} mol) sont mis en solution dans 15 mL de MeOH avec 95 mg de NaOH (M = 39,997 g.mol^{-1}, n = 5 eq = 2,38.10^{-3} mol) préalablement dissous dans 2 mL d'eau. L'ensemble est laissé sous agitation à température ambiante pendant 15 minutes puis 48,4 µL de benzaldéhyde (m = 50,51 mg, M = 106,122 g.mol^{-1}, n = 1 eq = 4,76.10^{-4} mol, d = 1,044) sont ajoutés et la réaction est conduite à reflux pendant 1h. Ensuite, le milieu réactionnel est évaporé, le résidu est repris dans 20 mL d'eau, la solution est acidifiée jusqu'à pH 3 à l'aide d'une solution d'HCl 3M. Une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée. Le résidu est purifié sur plaques préparatives de silice et 119 mg de produit pur sont obtenus (M = 298,333 g.mol^{-1}, n = 3,99.10^{-4} mol, R = 84%).

Rf = 0,38 (Hex/EtOAc 80/20).

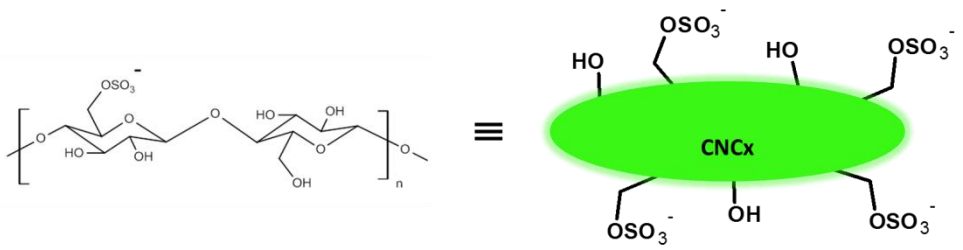
RMN ^{1}H (400,13 MHz, CD_3OD, 25°C) δ (ppm), 7,82 (1H, d, *J*=15,7Hz, H-β-1), 7,66 (2H, m, H-2 et H-6), 7,48 (1H, d, *J*=15,7Hz, H-α-1), 7,43 (3H, m, H-3, H-4 et H-5), 7,28 (2H, s, H-2' et H-6'), 3,95 (6H, 1s, (OCH_3)-7 et (OCH3)-9), 3,94 (3H, 1s, (OCH_3)-8).

RMN ^{13}C (100,62 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (CO), 153,2 (C-3' et C-5'), 144,8 (C-β), 142,5 (C-4'), 134,9 (C-4), 133,5 (C-1'), 130,6 (C-1), 129,0 (C-2 et C-6), 128,5 (C-3 et C-5), 121,8 (C-α), 106,1 (C-2' et C-6'), 61,0 (C-8), 56,4 (C-7 et C-9).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{18}H_{19}O_4$: m/z 299,1278 ; trouvé : m/z 299,1277.

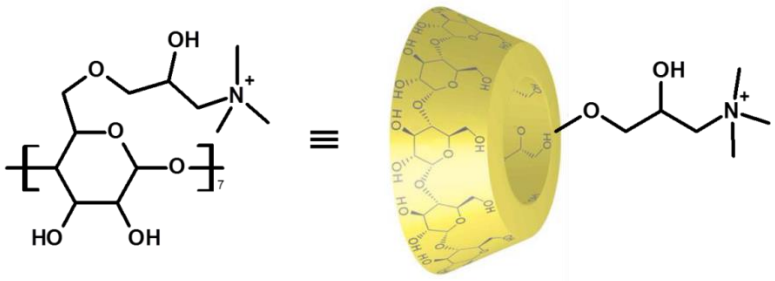
BY-NC-ND

Nanocristaux de cellulose anioniques CNCx (31)



Dans un erlenmeyer de 200 mL, 1 g de coton hydrophile est mis à réagir avec 20 mL d'acide sulfurique (64%). La réaction est conduite à 45°C pendant 45 minutes sous agitation, puis le milieu réactionnel est refroidi avec 150 mL d'eau et est laissé sous agitation pendant 15 minutes. La solution aqueuse subit alors une première centrifugation (3700 tours/min, 10 minutes), le surnageant acide est éliminé et le culot redispersé dans 100 mL d'eau. Une deuxième centrifugation permet de récolter les nanocristaux de cellulose (**CNCx**) présents dans le surnageant ; la cellulose n'ayant pas réagi constitue le culot et est éliminée. Les **CNCx** en suspension sont purifiés par dialyse (coupure de membrane 6-8 kDa) pendant 5 jours (renouvellement de l'eau toutes les 24h). Un échantillon de la suspension est lyophilisé et permet de donner le rendement massique de 60%.

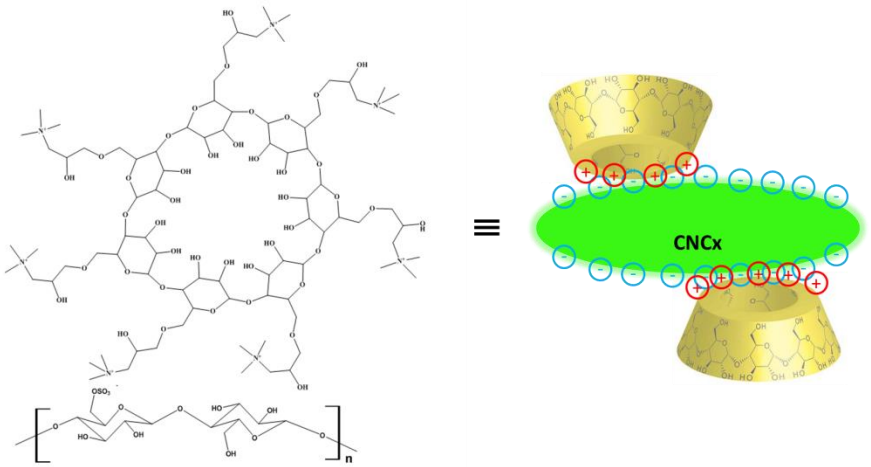
β-Cyclodextrine cationique β-CD (32)



Dans un ballon de réaction, 200 mg de β-cyclodextrine (**β-CD**, M = 1134,98 $g.mol^{-1}$, n = $1,76.10^{-4}$ mol) sont dissous dans 10 mL d'eau. Le milieu réactionnel est alcalinisé jusqu'à pH 12 grâce à l'ajout d'une solution de NaOH (2 M) au goutte à goutte puis 0,83 mL (n = 35 eq = $6,17.10^{-3}$ mol, M = 151,63 $g.mol^{-1}$, m = 935,2 mg, d = 1,13) de chlorure de glycidyl-triméthyl-ammonium (GTAC) sont ajoutés. La réaction est conduite à 50°C, sous agitation, pendant 4 jours. L'ajout d'acide chlorhydrique (2 M) permet d'acidifier le milieu jusqu'à pH 6 (30°C, 30 minutes) ; la **β-CD** cationique est purifiée par dialyse (coupure de membrane 500 Da) pendant 24h et est obtenue avec un rendement de 55%.

BY-NC-ND

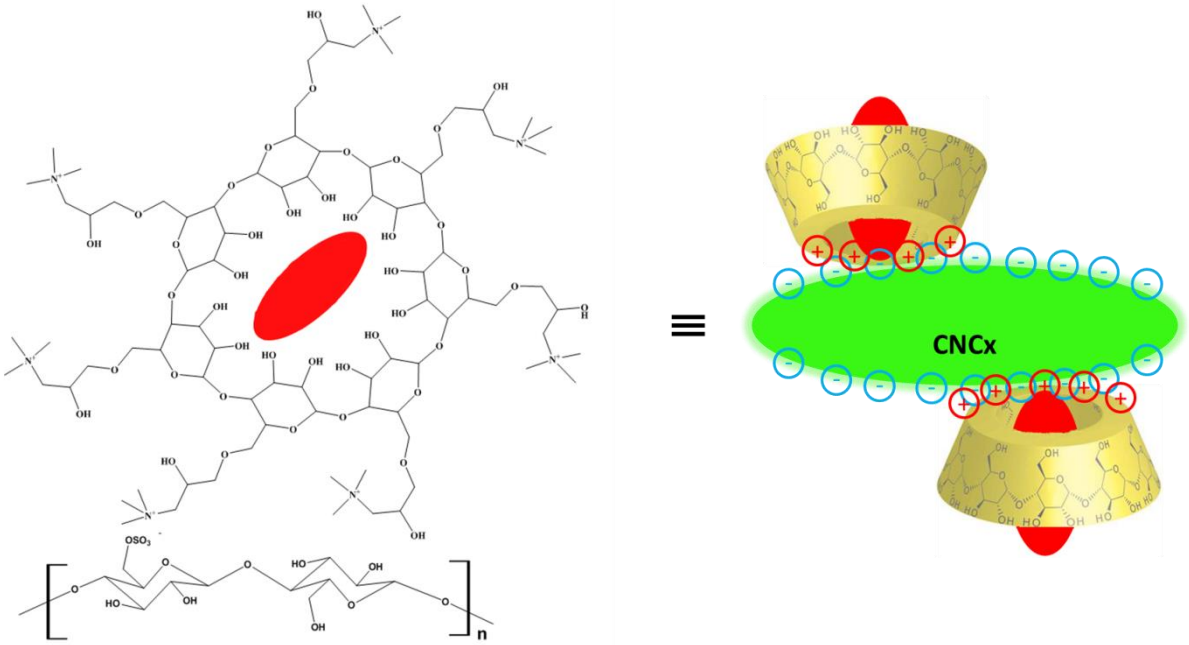
Complexes nanocristaux de cellulose/β-Cyclodextrine β-CD/CNCx (33)



20 mL d'une solution aqueuse de **β-CD** cationique (C = 1 mg.mL^{-1}, m = 20 mg) sont introduits dans un erlenmeyer de 100 mL et sont ajoutés 10 mL d'une solution aqueuse de **CNCx** (C = 1 mg.mL^{-1}, m = 10 mg) au goutte à goutte à température ambiante sous agitation ultrasonique pendant environ 3h (goutte à goutte pendant 1h30 puis ultrason pendant 1h30). Le complexe **β-CD/CNCx** est ensuite purifié par centrifugation (13000 tours/min, 10 min) où le culot est récupéré et redispersé dans 10 mL d'eau ; le surnageant contenant l'excès de **β-CD** cationique est éliminé.

BY-NC-ND

Complexes nanocristaux de cellulose/β-Cyclodextrine/chalcone β-CD/CNCx/1-2-30 (34, 35, 36)



Un erlenmeyer de 50 mL est placé dans un bain ultrasonique glacé et 4 mL de solution aqueuse de **β-CD/CNCx** (C = 1 mg.mL^{-1}, m = 4 mg) sont introduits ; la chalcone est dissoute dans de l'acétone (m = 20 mg, v = 4 mL) afin d'obtenir une concentration de 5 mg.mL^{-1} puis 0,4 mL sont ajoutés au goutte à goutte à la solution aqueuse de **β-CD/CNCx**. La réaction est conduite sous agitation ultrasonique pendant 1h, puis le complexe **β-CD/CNCx/chalcone** est purifié par centrifugation (13000 tours/min, 10 min). La chalcone n'ayant pas été encapsulée est éliminée dans le surnageant et le culot contenant le complexe souhaité est redispersé dans 2 mL d'eau. Un dosage UV indirect est réalisé afin de déterminer la concentration de chalcone encapsulée. Pour cela, une extraction liquide-liquide est effectuée sur 0,4 mL de la solution aqueuse de **β-CD/CNCx/chalcone** avec du chloroforme. Après séchage sur Na_2SO_4, filtration sur Büchner et évaporation, le résidu est repris dans 3 mL de MeOH et le dosage par UV est effectué.

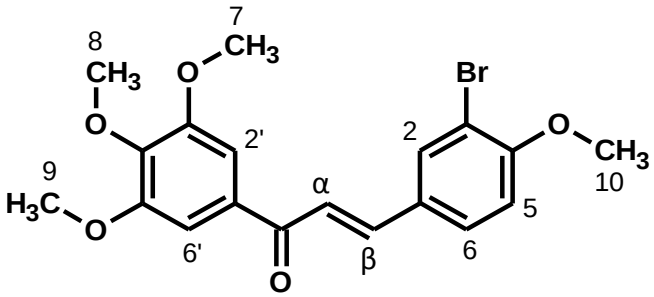
[**β-CD/CNCx/1**] = [**34**] = 7,84.10^{-4} mol.L^{-1}

[**β-CD/CNCx/2**] = [**35**] = 1,413.10^{-3} mol.L^{-1}

[**β-CD/CNCx/30**] = [**36**] = 1,234.10^{-3} mol.L^{-1}

BY-NC-ND

3-bromo-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (37)



$C_{19}H_{19}BrO_5$ M = 407,255 g.mol^{-1}

100 mg de 3',4',5'-triméthoxyacétophénone (M = 210,23 g.mol^{-1}, n = 4,76.10^{-4} mol) sont mis en solution dans 15 mL de MeOH avec 95 mg de NaOH (M = 39,997 g.mol^{-1}, n = 5 eq = 2,38.10^{-3} mol) préalablement dissous dans 2 mL d'eau. L'ensemble est laissé sous agitation à température ambiante pendant 15 minutes puis 122,8 mg de 3-bromobenzaldéhyde (M = 215,044 g.mol^{-1}, n = 1,2 eq = 5,71.10^{-4} mol) sont ajoutés et la réaction est conduite à reflux pendant 2h. Ensuite, le milieu réactionnel est évaporé, le résidu est repris dans 20 mL d'eau, la solution est acidifiée jusqu'à pH 3 à l'aide d'une solution d'HCl 3M. Une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée. Le résidu est purifié sur plaques préparatives de silice et 117 mg de produit pur sont obtenus (M = 407,255 g.mol^{-1}, n = 2,87.10^{-4} mol, R = 61%).

Rf = 0,27 (Tol/EtOAc 90/10).

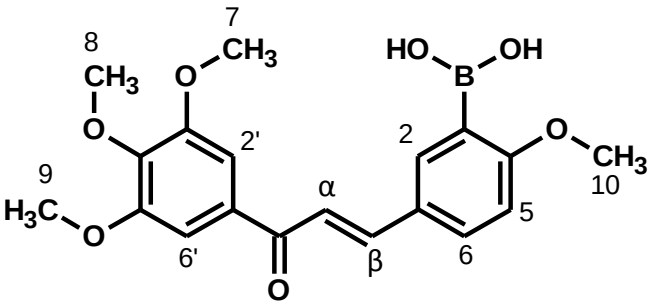
RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 8,05 (1H, d, *J*=2,0Hz, H-2), 7,70 (1H, dd, *J*=2,0Hz, *J*=8,5Hz, H-6), 7,70 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-β), 7,66 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α), 7,40 (2H, s, H-2' et H-6'), 7,08 (1H, d, *J*=8,5Hz, H-5), 3,94 (6H, s, (OCH_3)-7 et (OCH_3)-9), 3,93 (3H, s, (OCH_3)-8), 3,86 (3H, s, (OCH_3)-10).

RMN ^{13}C (125,78 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,4 (CO), 157,9 (C-4), 153,2 (C-3' et C-5'), 143,1 (C-β), 142,5 (C-4'), 133,4 (C-1'), 132,8 (C-2), 129,9 (C-6), 129,0 (C-1), 120,2 (C-α), 111,9 (C-5), 111,8 (C-3), 106,1 (C-2' et C-6'), 59,8 (C-8), 55,5 (C-10), 55,5 (C-7, C-9)

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{19}H_{20}BrO_5$: m/z 407,0489 ; trouvé : m/z 407,0487.

BY-NC-ND

3-(acide boronique)-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (38)



$C_{19}H_{21}BO_7$ M = 372,177 g.mol^{-1}

200 mg de 3',4',5'-triméthoxyacétophénone (M = 210,23 g.mol^{-1}, n = 9,51.10^{-4} mol) sont mis en solution dans 15 mL de MeOH avec 190,2 mg de NaOH (M = 39,997 g.mol^{-1}, n = 5 eq = 4,76.10^{-3} mol) préalablement dissous dans 2 mL d'eau. L'ensemble est laissé sous agitation à température ambiante pendant 30 minutes puis 137 mg d'acide 5-formyl-2-méthoxybenzène-boronique (M = 179,966 g.mol^{-1}, n = 0,8 eq = 7,61.10^{-4} mol) sont ajoutés et la réaction est conduite à reflux pendant 3h. Ensuite, le milieu réactionnel est évaporé, le résidu est repris dans 20 mL d'eau, la solution est acidifiée jusqu'à pH 6 à l'aide d'une solution d'HCl 3M. Une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée à l'évaporateur rotatif. Le résidu est purifié sur plaques préparatives de silice et 177 mg de produit pur sont obtenus (M = 372,177 g.mol^{-1}, n = 4,76.10^{-4} mol, R = 50%). La purification implique deux migrations dans le système Hex/EtOAc (8/2), puis deux migrations supplémentaires dans le système Tol/EtOAc (7/3).

Rf = 0,34 (Tol/EtOAc 50/50 x2).

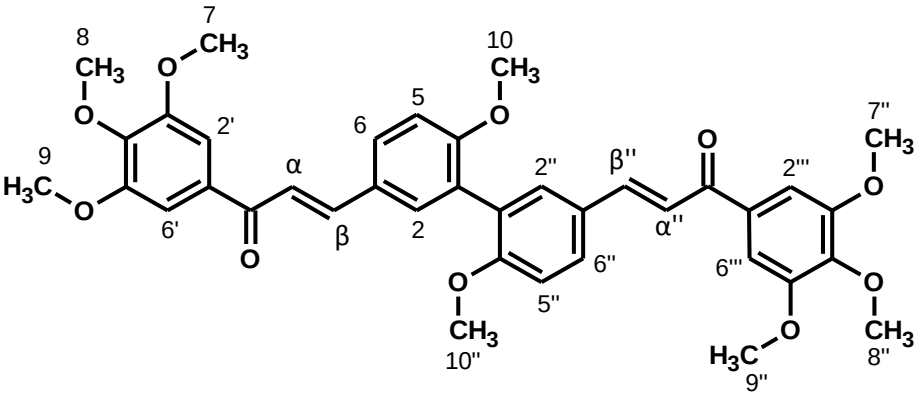
RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 8,20 (1H, d, *J*=2,0Hz, H-2), 7,81 (1H, d, *J*=16,0Hz, H-β), 7,71 (1H, dd, *J*=2,5Hz, *J*=8,5Hz, H-6), 7,42 (1H, d, *J*=15,5Hz, H-α), 7,28 (2H, s, H-2' et H-6'), 6,97 (1H, d, *J*=8,5Hz, H-5), 5,98 (2H, s, $B(OH)_2$), 3,98 (3H, s, (OCH_3)-10), 3,95 (6H, s, (OCH_3)-7 et (OCH_3)-9), 3,94 (3H, s, (OCH_3)-8).

RMN ^{13}C (125,78 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,4 (CO), 166,2 (C-4), 153,2 (C-3' et C-5'), 144,3 (C-β), 142,5 (C-4'), 137,0 (C-2), 133,8 (C-6), 133,8 (C-1'), 128,1 (C-1), 124,7 (C-3), 120,3 (C-α), 110,5 (C-5), 106,2 (C-2' et C-6'), 61,0 (C-8), 56,5 (C-7, C-9), 55,9 (C-10).

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{19}H_{22}BO_7$: m/z 373,1456 ; trouvé : m/z 373,1459.

BY-NC-ND

3-bis-3',4,4',5'-tétraméthoxychalcone (39)



$C_{38}H_{38}O_{10}$ M = 654,702 g.mol^{-1}

100 mg de chalcone **37** (M = 407,255 g.mol^{-1}, n = 2,455.10^{-4} mol) sont mis en solution dans 6 mL de THF ainsi que 100,5 mg de chalcone **38** (M = 372,177 g.mol^{-1}, n = 2,701.10^{-4} mol = 1,1 eq), 35,9 mg de $PdCl_2$-dppf (M = 731,7 g.mol^{-1}, n = 0,2 eq = 4,91.10^{-5} mol) et 245,5 µL d'une solution aqueuse de NaOH (C = 3 mol.L^{-1}, n = 7,366.10^{-4} mol = 3 eq). La réaction est activée par irradiations microondes (120°C, 150 W, 5x10 minutes) puis le solvant est évaporé, le résidu est repris dans 20 mL d'eau. La phase aqueuse est acidifiée jusqu'à pH 6 à l'aide d'une solution d'HCl 3M et une extraction est réalisée avec 4x20 mL de CH_2Cl_2. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée. Le résidu est purifié sur plaques préparatives de silice (2 migrations nécessaires) et 64,8 mg de produit pur sont obtenus (M = 654,702 g.mol^{-1}, n = 9,898.10^{-5} mol, R = 41%).

Rf = 0,39 ($CHCl_3$/EtOAc 95/5 x 2).

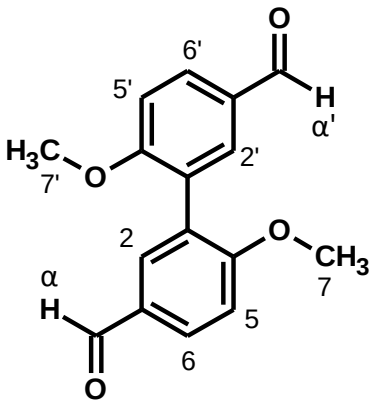
RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 7,84 (2H, d, *J*=15,5Hz, H-β et H-β'), 7,67 (2H, dd, *J*=2,0 Hz et *J*=8,5Hz, H-6 et H-6''), 7,59 (2H, d, *J*=2,0Hz, H-2 et H-2''), 7,38 (2H, d, *J*=15,5, H-α et H-α'), 7,28 (4H, s, H-2', H-6', H-2''' et H-6'''), 7,04 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-5 et H-5''), 3,94 (12H, s, H-7, H-9, H-7' et H-9'), 3,93 (6H, s, H-8 et H-8'), 3,85 (6H, s, H-10 et H-10').

RMN ^{13}C (125,78 MHz, $CDCl_3$, 25°C) δ (ppm), 189,3 (2xCO), 159,2 (C-4 et C-4''), 153,2 (C-3', C-5', C-3''' et C-5'''), 144,5 (C-β et C-β'), 142,5 (C-4' et C-4'''), 133,8 (C-1' et C-1'''), 131,1 (C-2 et C-2''), 130,5 (C-6 et C-6''), 127,8 (C-1, C-3, C-1'' et C-3''), 127,5 (C-1, C-3, C-1'' et C-3''), 119,8 (C-α et C-α'), 111,1 (C-5 et C-5''), 106,2 (C-2', C-6', C-2''' et C-6'''), 61,0 (C-8 et C-8'), 56,5 (C-7, C-9, C-7' et C-9'), 55,9 (C-10 et C-10').

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{38}H_{39}O_{10}$: m/z 655,2538 ; trouvé : m/z 655,2540.

BY-NC-ND

3-bis-4-méthoxybenzaldéhyde (41)



$C_{16}H_{14}O_4$ M = 270,280 g.mol^{-1}

50 mg de 3-bromobenzaldéhyde (M = 215,044 g.mol^{-1}, n = 2,325.10^{-4} mol) sont mis en solution dans un mélange THF/H_2O (3/0,5 mL) ainsi que 46 mg d'acide 5-formyl-2-méthoxybenzène-boronique (M = 179,966 g.mol^{-1}, n = 1,1 eq = 2,558.10^{-3} mol), 35,9 mg de $PdCl_2$-dppf (M = 731,7 g.mol^{-1}, n = 0,1 eq = 2,325.10^{-5} mol) et 27,9 mg de NaOH (M = 39,997 g.mol^{-1}, n = 6,975.10^{-4} mol = 3 eq). La réaction est activée par irradiations microondes (120°C, 150 W, 10 minutes) puis le solvant est évaporé, le résidu est repris dans un mélange H_2O/CH_2Cl_2 (20/5 mL). La phase aqueuse est acidifiée jusqu'à pH 6 à l'aide d'une solution d'HCl 3M et une extraction est réalisée avec 3x20 mL de CH_2Cl_2. Après séchage sur Na_2SO_4 et filtration sur Büchner, la phase organique est évaporée. Le résidu est purifié sur plaques préparatives de silice (2 migrations nécessaires) et 49 mg de produit pur sont obtenus (M = 270,280 g.mol^{-1}, n = 1,813.10^{-4} mol, R = 78%).

Rf = 0,66 ($CHCl_3$/EtOAc 95/5).

RMN ^{1}H (500,15 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm), 9.93 (2H, s, H-α et H-α'), 7,92 (2H, dd, *J*=2,5Hz et *J*=9,0Hz, H-6 et H-6'), 7,78 (2H, d, *J*=2,5Hz, H-2 et H-2'), 7,10 (2H, d, *J*=8,5Hz, H-5 et H-5'), 3,87 (6H, s, (OCH_3)-7 et (OCH_3)-7').

RMN ^{13}C (125,78 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm), 190,8 (CO et CO'), 162,0 (C-4 et C-4'), 133,1 (C-6 et C-6'), 131,9 (C-2 et C-2'), 129,7 (C-1 et C-1'), 127,2 (C-3 et C-3'), 111,0 (C-5 et C-5'), 56,7 (C-7 et C-7').

TOF MS ES+ : $[M+H]^+$ pour $C_{16}H_{15}O_4$: m/z 271,0965 ; trouvé : m/z 271,0964.

BY-NC-ND

5. Evaluations biologiques

Les activités antiprolifératives des différents composés de ce travail ont été évaluées par MTT. Le principe de ce test repose sur l'activité des cellules vivantes au contact du bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium (MTT). Les cellules vivantes transforment le MTT, grâce à une enzyme mitochondriale appelée succinate déshydrogénase, en formazan. Ce dernier s'accumule dans la mitochondrie sous forme de petits cristaux violets ; sa quantité est donc proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Après dissolution des cristaux à l'aide de DMSO (100%), l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 550 nm. Ce test permet donc de comparer la croissance cellulaire entre des cellules témoins et des cellules traitées par des principes actifs. Chacun de nos tests se déroule de la manière suivante : ensemencement des cellules ; après 24h d'adhésion, traitement ou non par le principe actif sélectionné ; ajout du MTT 48h après traitement ; dissolution du formazan, 4h après ajout du MTT, par du DMSO (100%) et lecture de l'absorbance à 550 nm. La CI_{50} (concentration qui inhibe 50% de la viabilité cellulaire) de chaque molécule est une moyenne des CI_{50} d'au moins trois expérimentations. Les principes actifs synthétisés sont évalués sur quatre lignées cancéreuses : deux lignées colorectales (HT-29 et HCT-116) et deux lignées prostatiques (PC-3 et DU-145).

Les milieux de culture employés sont le DMEM (« Dulbecco's Modified Eagle's Medium ») et le RPMI-1640 (« Roswell Park Memorial Institute Medium ») fournis par Gibco (Gibco BRL, Cergy-Pontoise, France). Le DMEM est utilisé pour les cellules HT-29 alors que le RPMI l'est pour les cellules HCT-116, PC-3 et DU-145. A chaque milieu (bouteille de 500 mL) sont ajoutés 50 mL de « Sérum de Veau-Fétal » (SVF, Gibco BRL, Cergy-Pontoise, France), 5 mL de L-Glutamine (Gibco BRL, Cergy-Pontoise, France) et 5 mL d'un mélange streptomycine-pénicilline (Gibco BRL, Cergy-Pontoise, France). Les boites de culture cellulaire et les plaques d'expérimentations sont conservées sous atmosphère humide à 5% en CO_2 à 37°C. Les plaques d'expérimentations sont ensemencées à 8 000 cellules par puit pour chaque lignée (5 000 pour PC-3) dans 100 µL de milieu de culture correspondant. Les cellules sont traitées après une adhérence de 24h ; 48h après traitement, 10 µL de MTT sont rajoutés (5 $mg.mL^{-1}$) et après 4h d'incubation, le surnageant de chaque puits est retiré et le formazan est dissous dans 100 µL de DMSO (100%). L'absorbance est lue à une longueur d'onde de 595 nm. Les composés testés sont conservés à une concentration de 10^{-2} $mol.L^{-1}$ dans du DMSO ; lors du

BY-NC-ND

traitement, les composés sont dilués dans le milieu de culture correspondant ; 0,5% de DMSO sont ajouté aux cellules témoins. Les CI_{50} sont déterminées par régression linéaire grâce au logiciel Microsoft Excel et sont exprimées avec un SEM provenant d'une moyenne d'au moins trois expérimentations différentes.

BY-NC-ND

Références bibliographiques

[1] Hanahan D., Weinberg R.A., *Cell*, **2011**, 144 (5), 646-674.
[2] http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx
[3] WORLD CANCER REPORT 2014 Edited by Stewart BW, Wild CW ISBN (PDF) 978-92-832-0443-5; CW ISBN (EPUB) 978-92-832-0432-9.
[4] Garcia M., Jemal A., Ward E.M., Center M.M., Hao Y., Siegel R.L., Thun M.J., Global Cancer Facts & Figures 2007, Atlanta, GA: American Cancer Society, 2007.
[5] InVS, BEH n°35-36 (18 septembre 2007).Numéro thématique - Surveillance épidémiologique des causes de décès en France www.invs.sante.fr/beh/2007/35_36/
[6] Les-cancers-en-France-edition-2015, 2016, Epidémiologie des cancers, Édité par l'institut National du Cancer, p17.
[7] Les-cancers-en-France-edition-2015, 2016, Epidémiologie des cancers, Édité par l'Institut National du Cancer, p49.
[8] Labar M. & Desmoulière A., *Actualités Pharmaceutiques*, **2015**, 547, 30-35.
[9] Le cancer colorectal, Guide de traitement personnalisé à l'intention des patients, Association canadienne du cancer colorectal, Multimed Incorporated, Droit d'auteur 2011, 66 rue Martin, Milton (Ontario) L9T 2R2, Canada.
[10] Les-cancers-en-France-edition-2015, 2016, Epidémiologie des cancers, Édité par l'Institut National du Cancer, p54, 55, 202, 208]
[11] Berthélémy S., *Actulaités Pharmaceutiques*, **2016**, 556, 41-45.
[12] Classification de d'Amico http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-de-la-prostate/Classification#damico
[13] « Diagnostic du cancer de la prostate ».
http://pe.sfrnet.org/Data/ModuleConsultationPoster/pdf/2004/1/61119c8d-8950-479b-9f23-c0776f765d0f.pdf
[14] « Aspect de glande prostatique selon sa différenciation »
http://campus.cerimes.fr/urologie/enseignement/urologie_9/site/html/images/f09-03-9782294719165.jpg
[15] Colin P., Estevez J.P., Betrouni N., Ouzzane A., Puech P., Leroy X., Biserte J., Villers A., Mordon S., *Progrès en Urologie*, **2011**, 21 (2), 85-92.
[16] http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-de-la-prostate/Hormonotherapie
[17] Richard D., *Le Moniteur des Pharmacies*, **2014**, 3039-3040 (1), 54-55.
[18] Biswas B.B., Sen K., Ghosh Choudhury G., Bhattacharyya B., *Journal of Biosciences*, **1984**, 6 (4), 431-457.
[19] Mandelkow E., Mandelkow E.M., *Current Opinion in Cell Biology*, **1989**, 1 (1), 5-9.
[20] Desai A., Mitchison T.J., *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, **1997**, 13 (1), 83-117.
[21] Keglevich P., Hazai L., Kalaus G., Szántay C., *Molecules*, **2012**, 17 (5), 5893-5914.
[22] Chen X.X., Gao F., Wang Q., Huang X., Wang D., *Fitoterapia*, **2014**, 92, 111-115.
[23] Kabbinavar F.F., Hambleton J., Mass R.D., Hurwitz H.I., Bergsland E., Sarkar S., *Journal of Clinical Oncology*, 2005, 23 (16), 3706-3712.
[24] Faure S., *Actualités pharmaceutiques*, **2010**, 49 (498), 49-52.
[25] Boutayeb S., Zakkouri F.Z., Aitelhaj M., Mesmoudi M., Boutayeb A., Boutayeb W., Mrabti H., Errihani H., *Pathologie Biologie*, **2012**, 60 (4), 229-233.
[26] Buxeraud J., Faure S., *Actualités pharmaceutiques*, **2016**, 55 (557), 1-7.
[27] https://www.vidal.fr/substances/23591/regorafenib/
[28] Treml J., Šmejkal K., *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **2016**, 15 (4), 720-738.
[29] Bruneton J., *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales*, 5ème éd. Technique & Documentation Lavoisier Paris, **2016**, 454-455.

BY-NC-ND

[30] Hernandez I., Alegre L., Van Breusegem F., Munné-Bosch S., *Trends in Plant Science*, **2009**, 14 (3), 125-132.
[31] Ghedira K., *Phytotherapie*, **2005**, 4, 162-169.
[32] Winkel-Shirley B., *Plant Physiology*, **2001**, 126 (2), 485-493.
[33]Prochazkova D., Boušová I., Wilhelmová N., *Fitoterapia*, **2011**, 82 (4), 513-523.
[34] Heim K. E., Tagliaferro A. R., Bobilya D. J., *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **2002**, 13 (10), 572-584.
[35] Stoclet J.C., Schini-Kerth V., *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **2011**, 69 (2), 78-90.
[36] Bruneton J., *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales*, 5ème éd. Technique & Documentation Lavoisier Paris, **2016**, 455-457.
[37] Peterson J. and Dwyer J., *Nutrition Research*, **1998**, 18 (12), 1995-2018.
[38] Peterson J. and Dwyer J., *Journal of the American Dietetic Association*, **1998**, 98 (6), 677-685.
[39] Mullie P., Clarys P., Deriemaeker P., Hebbelinck M., *Plant Foods for Human Nutrition*, **2007**, 62 (3), 93-98.
[40] Skibola C. F., Smith M. T., *Free Radical Biology & Medicine*, **2000**, 29 (3-4), 375-383.
[41] Hwang S. L., Shih P. H., Yen G. C., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2012**, 60 (4), 877-885.
[42] Li S., Lo C. Y., Ho C. T., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2006**, 54, 4176–4185.
[43] Yamamoto T., Yoshimura M., Yamaguchi F., Kouchi T., Tsuji R., Saito M., Obata A., Kikuchi M., *Bioscience, Biotechnology & Biochemistry*, **2004**, 68 (8), 1706-1711.
[44] Martel-Frachet V., Keramidas M., Nurisso A., DeBonis S., Rome C., Coll J.L., Boumendjel A., Skoufias D.A., Ronot X., Oncotarget, 2015, 6 (16), 14669-14686.
[45] Bruneton J., *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales*, 5ème éd. Technique & Documentation Lavoisier Paris, **2016**, 461-466.
[46] Treml J., Šmejkal K., *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **2016**, 15, (4) 720-738.
[47] Ghedira K., *Phytotherapie*, **2005**, 4, 162-169.
[48] Bruneton J., *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales*, 5ème éd. Technique & Documentation Lavoisier Paris, **2016**, 511-512.
[49] Haudecoeur R. *Pharmacochimie des aurones pour la modulation d'enzymes*. Autre. Université de Grenoble, **2011**. Français. <NNT : 2011GRENV063>. <tel-00828395>
[50] Nakayama T., Sato T., Fukui Y., Yonekura-Sakakibara K., Hayashi H., Yoshikazu Tanaka Y., Kusumi T., Nishino T., *FEBS Letters*, **2001**, 499, 107-111.
[51] Farag M.A., Deavours B.E., De Fa´tima A., Naoumkina M., Dixon R.A., Sumner L.W., *Plant Physiology*, **2009**, 151, 1096-1113.
[52] Saluja M.P., Kumar R., Agrawal A., *Advanced Natural Products*, ISBN 81-8283-063-X, **2008**, 1st edition, 208.
[53] Bruneton J., *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales*, 5ème éd. Technique & Documentation Lavoisier Paris, **2016**, 529-530.
[54] Määttä-Riihinen K.R., Kamal-Eldin A., Törrönen A.R., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2004**, 52 (20), 6178-6187.
[55] Aaby K., Mazur S., Nes A., Skrede G., *Food Chemistry*, **2012**, 132, 86-97.
[56] Harborne J.B., Williams C.A., *Phytochemistry*, **2000**, 55, 481-504.
[57] Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F., *Life Sciences*, **1999**, 65 (4), 337-353.
[58] Eaton-Evans J., *British Journal of Biomedical Science*, **1994**, 51 (4), 358-370.
[59] Soicke H., Leng-Peschlow E., *Planta Medica*, **1987**, 53 (1), 37-39.
[60] Mlcek J., Jurikova T., Skrovankova S., Sochor J., *Molecules*, **2016**, 21 (5), 623, doi:10.3390/molecules21050623.
[61] Sivakumar P.M., Ganesan S., Veluchamy P., Doble M., *Chemical Biology and Drug Design*, **2010**, 76 (5), 407-411.
[62] Gupta A., Birhman K., Raheja I., Sharma S.K., Kar H.K., *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, **2016**, 6 (3), 248-252.

BY-NC-ND

[63] Tsanova-Savova S., Ribarova F., *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, **2013**, 63, 173-177.
[64] Chiaradia L.D., Dos Santos R., Vitor C.E., Vieira A.A., Leal P.C., Nunes R.J., Calixto J.B., Yunes R.A., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2008**, 16 (2), 658-667.
[65] Trouillas P., Marsal P., Siri D., Lazzaroni R., Duroux J.L., *Food Chemistry*, **2006**, 97 (4), 679-688.
[66] Heijnen C.G., Haenen G.R., Oostveen M.R., Stalper E.M., Bast A., *Free Radical Research*, **2002**, 36 (5), 575-581.
[67] Duenas M., González-Manzano S., González-Paramás A., Santos-Buelga C., *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2010**, 51 (2), 443-449.
[68] Fabre G., Bayach I., Berka K., Paloncyova M., Starok M., Rossi C., Duroux J.L., Otyepka M., Trouillas P., *Chemical Communications*, **2015**, 51 (36), 7713-7716.
[69] Li Y., Yao J., Han C., Yang J., Chaudhry M.T., Wang S., Liu H., Yin Y., *Nutrients*, **2016**, 8 (3), 167-180.
[70] Kukongviriyapan U., Sompamit K., Pannangpetch P., Kukongviriyapan V., Donpunha W., *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **2012**, 90 (10), 1345-1353.
[71] Luangaram S., Kukongviriyapan U., Pakdeechote P., Kukongviriyapan V., Pannangpetch P., *Food and Chemical Toxicology*, **2007**, 45 (3), 448-455.
[72] Kim B.H., Choi J.S., Yi E.H., Lee J.K., Won C., Ye S.K., *Molecules and Cells*, **2003**, 35 (5), 410-420.
[73] Zarghi A., Zebardast T., Hakimion F., Shirazi F.H., Rao P.N.P., Knaus E.E., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2006**, 14 (20) 7044-7050.
[74] Tran T.D., Park H., Kim H.P., Ecker G.F., Thai K.M., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2009**, 19 (6), 1650-1653.
[75] Chiaradia L.D., Dos Santos R., Vitor C.E., Vieira A.A., Leal P.C., Nunes R.J., Calixto J.B., Yunes R.A., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**, 16 (2), 658-667.
[76] Won S.J., Liu C.T., Tsao L.T., Weng J.R., Ko H.H., Wang J.P., Lin C.N., European Journal of Medicinal Chemistry, 2005, 40 (1), 103-112.
[77] Calliste C.A., Le Bail J.C., Trouillas P., Pouget C., Habrioux G., Chulia A.J., Duroux J.L., *Anticancer Research*, **2001**, 21 (6), 3949-3956.
[78] Yun B.H., Lee Y.H., Park K.T., Jung S.J., Lee Y.S., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2016**, 26 (17), 4170-4173.
[79] Bano S., Javed K., Ahmad S., Rathish I.G., Singh S., Chaitanya M,. Arunasree K.M., Alam M.S., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2013**, 65, 51-59.
[80] Nowakowska Z., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2007**, 42 (2) 125-137.
[81] Zarghi A., Arfaee S., Rao P.N.P., Knaus E.E., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2006**, 14 (8) 2600-2605.
[82] Knekt P., Järvinen R., Seppänen R., Hellövaara M., Teppo L., Pukkala E., Aromaa A., *American Journal of Epidemiology*, **1997**, 146 (3), 223-230.
[83] Lee K.M., Lee Y., Chun H.J., Kim A.H., Kim J.Y., Lee J.Y., Ishigami A., Lee J., *Journal of Neuroscience Research*, **2016**, 94 (10), 865-878.
[84] Leyva-López N, Gutierrez-Grijalva E.P., Ambriz-Perez D.L., Heredia J.B., *International Journal of Molecular Sciences,* **2016**, 17 (6), 921-935.
[85] Gueye Rokhaya. « Conception, synthèse et évaluation biologique de nouveaux dérivés flavonoïdiques inhibiteurs potentiels de la cyclooxygénase-2 » Thèse de doctorat : Chimie Organique. Limoges : Université de Limoges, **2013**.
[86] Le Marchand L., *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2002**; 56 (6), 296-301.
[87] Stoclet J.C., Schini-Kerth V., *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **2011**, 69 (2), 78-90.
[88] Ziegler R.G., Hoover R.N., Pike M.C, Hildesheim A., Nomura A.M.Y., West D.W., Wu-Williams A.H., Kolonel L.N., Horn-Ross P.L., Rosenthal J.F., Hyer M.B., *Journal of the National Cancer Institute*, **1993**, 85 (22), 1819-1827.
[89] Rosenberg Zand R.S., Jenkinsa D.J.A, Diamandis E.P., *Journal of Chromatography B*, **2002**, 777 (1-2), 219-232.
[90] Martel-Frachet V., Keramidas M., Nurisso A., DeBonis S., Rome C., Coll J.L., Boumendjel A., Skoufias D.A., Ronot X., *Oncotarget*, **2015**, 6 (16), 14669-14686.

BY-NC-ND

[91] Lee K.W., Bode A.M., Dong Z., *Nature Reviews Cancer*, **2011**, 11 (3), 211-218.
[92] Kandaswami C., Lee L.T., Lee P.P., Hwang J.J., Ke F.C., Huang Y.T., Lee M.T., *In Vivo*, **2005**, 19 (5), 895-909.
[93] Liu H.L., Jiang W.B., Xie M.X., *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, **2010**, 5 (2), 152-164.
[94] Boly R., Gras T., Lamkami T., Guissou P., Serteyn D., Kiss R., Dubois J., *International Journal of Oncology*, **2011**, 38 (3), 833-842.
[95] Jung J.H., Lee J.O., Kim J.H., Lee S.K., You G.Y., Park S.H., Park J.M., Kim E.-K., Suh P.-G., An J.K., Kim S.H., *Journal of Cellular Physiology*, **2010**, 223 (2), 408-414.
[96] Ferry D.R., Smith A., Malkhandi J., Fyfe D.W., De Takats P.G., Anderson D., Baker J., Kerr D.J., *Clinical Cancer Research*, **1996**, 2 (4), 659-668.
[97] Christian B.A., Grever M.R., Byrd J.C., Lin T.S., *Clinical Lymphoma and Myeloma*, **2009**, 9 (3), 179-185.
[98] Senderowicz A.M., *Investigational New Drugs*, **1999**, 17 (3), 313-320.
[99] Ibrahim A.R., Abul-Hajj Y.J., *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **1990**, 37 (2), 257-260.
[100] Jeong H.J., Shin Y.G., Kim I.H., Pezzuto J.M., *Archives of Pharmacal Research*, **1999**, 22 (3), 309-312.
[101] Le Bail J.C., Varnat F., Nicolas J.C., Habrioux G., *Cancer Letters*, 1998, 130 (1-2), 209-216.
[102]Bruneton J., *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales*, 5ème éd. Technique & Documentation Lavoisier Paris, **2016**, 461-462.
[103] Wang Z., *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, **2010**, 145, 660-664.
[104] Marais J.P.J., Ferreira D., Slade D., *Phytochemistry*, **2005**, 66 (18), 2145-2176.
[105] Mestres R., *Green Chemistry*, **2004**, 6 (12), 583-603.
[106] Bowman M.D., Jeske R.C., Blackwell H.E., *Organic Letters*, **2004**, 6 (12), 2019-2022.
[107] Fringuelli F., Pizzo F., Vittoriani C., Vaccacio L., *Chemical Communications*, **2004**, 23, 2756-2757.
[108] Wu X.F., Neumann H., Spannenberg A., Schulz T., Jiao H.J., Beller M., *Journal of American Chemical Society*, **2010**, 132, 14596-14602.
[109] Selepe M.A., Heerden F.R.V., *Molecules*, **2013**, 18, 4739-4765.
[110] Eddarir S., Cotelle N., Bakkour Y., Rolando C., *Tetrahedron Letters*, **2003**, 44 (28), 5359-5363.
[111] Schramm O.G., Multi-component Heterocycle Syntheses Based upon Sonogashira Coupling Isomerization (Dissertation), Ruprecht-Karls University, Heidelberg, Germany, **2006**, p3.
[112] Bukhari S.N.A., Jasamai M., Jantan I., Ahmad W., *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, **2013**, 10 (1), 73-83.
[113] Ichino K., Tanaka H., Ito K., Tanaka T., Mizuno M., *Journal of Natural Products*, **1988**, 51 (5), 906-914.
[114] Gueye R., Pouget C., Champavier Y., Buxeraud J., Duroux J.L., Fagnère C., *Comptes Rendus Chimie*, **2014**, 17 (5), 443-449.
[115] Victory P., Borrell J.I., Vidal-Ferran A., Seoane C., Soto J.L., *Tetrahedron Letters*, **1991**, 32 (39), 5375-5378.
[116] Fathy N.M., Aly A.S., Abdel-Motti F., Abdel-Megeid F.M.E., *Journal of the Chinese Chemical Society*, **1988**, 35 (5), 365-372.
[117] Lee Y., Kim B.S., Ahn S., Koh D., Lee Y.H., Shin S.Y., Lim Y., *Bioorganic Chemistry*, **2016**, 88, 166-176.
[118] Prasad S., Radhakrishna V., Rai T.K., *Arabian Journal of Chemistry*, **2016**, DOI 10.1016/j.arabjc.2016.03.003
[119] Pouget C., Fagnère C., Basly J.P., Besson A.E., Champavier Y., Habrioux G., Chulia A.J., *Pharmaceutical Research*, **2002**, 19 (3), 286-291.
[120] Hossain M.A., Ismail Z., *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, **2008**, 51 (1), 11-14.
[121] Bennett M., Burke A.J., O'Sullivan I.W., *Tetrahedron*, **1996**, 52 (20), 7163-7178.

BY-NC-ND

[122] Cho S., Kim S., Jin Z., Yang H., Han D., Baek N.I., Jo J., Cho C.W., Park J.H., Shimizu M., Jin Y.H., *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2011**, 413 (4), 637-642.
[123] Jamal H., Ansari W.H., Rizvi S.J., *Fundamental & Clinical Pharmacology*, **2008**, 22 (6), 673-681.
[124] De Campos-Buzzi F., Padaratz P., Meira A.V., Correa R., Nunes R.J., Cechinel-Filho V., *Molecules*, **2007**, 12 (4), 896-906.
[125] Kantevari S., Addla D., Bagul P.K., Sridhar B., Banerjee S.K., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2011**, 19 (16), 4772-4781.
[126] Yarishkin O.V., Ryu H.W., Park J., Yang M.S., Hong S., Park K.H., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2008**, 18 (1), 137-140.
[127] Zhao L., Jin H., Sun L., Piao H., Quan Z., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2005**, 15 (22), 5027-5029.
[128] Mahapatra D.K., Asati V., Bharti S.K., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2015**, 92, 839-865.
[129] Sashidhara K.V., Palnati G.R., Sonkar R., Avula S.R., Awasthi C., Bhatia G., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2013**, 64, 422-431.
[130] Rizvi S.U.F., Siddiqui H.L., Johns M., Detorio M., Schinazi R.F., *Medical Chemistry Research*, **2012**, 21 (11), 3741-3749.
[131] Sharma H., Patil S., Sanchez T.W., Neamati N., Schinazi R.F., Buolamwini J.K., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2011**, 19 (6), 2030-2045.
[132] Cheenpracha S., Karalai C., Ponglimanont C., Subhadhirasakul S., Tewtrakul S., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2006**, 14 (6), 1710-1714.
[133] Ahmed A.M., Sadiq G.T., Kareem N.H., Abdullatif M.O., Baghdad Journal Science, **2013**, 10 (2), 319-322.
[134] Mahapatra D.K., Bharti S.K., Asati V., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2015**, 101, 496-524.
[135] Mascarello A., Chiaradia L.D., Vernal J., Villarino A., Guido R.V., Perizzolo P., Poirier V., Wong D., Martins P.G., Nunes R.J., Yunes R.A.,
[136] Sashidhara K.V., Rao K.B., Kushwaha V., Modukuri R.K., Verma R., Murthy P.K., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2014**, 81, 473-480.
[137] Awasthi S.K., Mishra N., Dixit S.K., Singh A., Yadav M., Yadav S.S., Rathaur S., The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, **2009**, 80 (5), 764-768.
[138] Tomar V., Bhattacharjee G., Kamaluddin, Rajakumar S., Srivastava K., Puri S.K., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2010**, 45 (2), 745-751.
[139] Sisodia B.S., Negi A.S., Darokar M.P., Dwivedi U.N., Khanuja S.P.S., *Chemical Biology & Drug Design*, **2012**, 79 (4), 610-615.
[140] Srivastava S., Joshi S., Singh A.R., Yadav S., Saxena A.S., Ram V.J., Chandra S., Saxena J.K., *Medicinal Chemistry Research*, **2008**, 17 (2), 234-244.
[141] Chen M., Christensen S.B., Blom J., Lemmich E., Nadelmann L., Fich K., Theander T.G., Kharazmi A., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1993**, 37 (12), 2550-2556.
[142] Borchhardt D.M., Mascarello A., Chiaradia L.D., Nunes R.J., Oliva G., Yunes R.A., Andricopulo A.D., *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2010**, 21 (1), 142-150.
[143] Tomazela D.M., Pupo M.T., Passador E.A.P., da Silva M.F.G.F., Vieira P.C., Fernandes J.B., Fo E.R., Oliva G., Pirani J.R., *Phytochemistry*, **2000**, 55 (6), 643-651.
[144] Zhai L., Chen M., Blom J., Theander T.G., Christensen S.B., Kharazmi A., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **1999**, 43 (6), 793-803.
[145] Abdullah M.I., Mahmood A., Madni M., Masood S., Kashif M., *Bioorganic Chemistry*, **2014**, 54, 31-37.
[146] Chiaradia L.D., Martins P.G.A., Cordeiro M.N.S., Guido R.V.C., Ecco G., Andricopulo A.D., Yunes R.A., Vernal J., Nunes R.J., Terenzi H., *Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, 55 (1) 390-402.
[147] Mascarello A., Chiaradia L.D., Vernal J., Villarino A., Guido R.V.C., Perizzolo P., Poirier V., Wonge D., Martins P.G.A., Nunes R.J., Yunes R.A., Andricopulo A.D., Av-Gay Y., Terenzi H., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2010**, 18 (11), 3783-3789.

BY-NC-ND

[148] Sivakumar P.M., Ganesan S., Veluchamy P., Doble M., *Chemical Biology & Drug Design,* **2010**, 76 (5), 407-411.
[149] Lahtchev K.V., Batovska D.I., Parushev S.P., Ubiyvovk V.M., Sibirny A.A., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2008**, 43 (10), 2220-2228.
[150] Sivakumar P.M., Kumar T.M., Doble M., *Chemical Biology & Drug Design,* **2009**, 74 (1), 68-79.
[151] Boeck P., Leal P.C., Yunes R.A., Filho V.C., Lopez S., Sortinoc M., Escalante A., Furlan R.L.E., Zacchino S., *Archiv der Pharmazie - Chemistry in Life Sciences*, **2005**, 338 (2-3), 87-95.
[152] Ortolan X.R., Fenner B.P., Mezadri T.J., Tames D.R., Correa R., de Campos Buzzi F., *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, **2014**, 42 (5), 520-524.
[153] Sato Y., He J., Nagai H., Tani T., Akao T., *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **2007**, 30 (1), 145-149.
[154] Kim D.W., Curtis-Long M.J., Yuk H.J., Wang Y., Song Y.H., Jeong S.H., Park K.H., *Food Chemistry*, **2014**, 153, 20-27.
[155] Yamamoto T., Yoshimura M., Yamaguchi F., Kouchi T., Tsuji R., Saito M., Obata A., Kikuchi M., *Bioscience, Biotechnology & Biochemistry*, **2004**, 68 (8), 1706-1711.
[156] Sashidhara K.V., Avula S.R., Mishra V., Palnati G.R., Singh L.R., Singh N., Chhonker Y.S., Swamy P., Bhatta R.S., Palit G., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2015**, 89, 638-653.
[157] Luo Y., Song R., Li Y., Zhang S., Liu Z.J., Fu J., Zhu H.L., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2012**, 22 (9), 3039-3043.
[158] Aoki N., Muko M., Ohta E., Ohta S., *Journal of Natural Products*, **2008**, 71 (7), 1308-1310.
[159] Israf D.A., Khaizurin T.A., Syahida A., Lajis N.H., Khozirah S., *Molecular Immunology*, **2007**, 44 (5), 673-679.
[160] Nowakowska Z., *European Journal of Medicinal Chemistry,* **2007**, 42 (2), 125-137.
[161] Troen B.R., *Drug News & Perspectives*., **2004**, 17 (1), 19-28.
[162] Le Gall C., Bellahcene A., Bonnelye E., Gasser J.A., Castronovo V., Green J., Zimmermann J., Clezardin P., *Cancer Research*, **2007**, 67 (20), 9894-9902.
[163] Raghav N., Singh M., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2014**, 22 (15), 4233-4245.
[164] Ramalho S.D., Bernades A., Demetrius G., Noda-Perez C., Vieira P.C., dos Santos C.Y., da Silva J.A., de Moraes M.O., Mousinho K.C., *Chemistry & Biodiversity*, **2013**, 10 (11), 1999-2006.
[165] Ruan B.F., Lu X., Tang J.F., Wei Y., Wang X.L., Zhang Y.B., Wang L.S., Zhu H.L., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2011**, 19 (8), 2688-2695.
[166] Zhang H., Liu J.J., Sun J., Yang X.H., Zhao T.T., Lu X., Gong H.B., Zhu H.L., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2012**, 20 (10), 3212-3218.
[167] Peyrot V., Leynadier D., Sarrazin M., Briand C., Rodriquez A., Nieto J.M., Andreu J.M., *Journal of Biological Chemistry*, **1989**, 264 (35), 21296-21301.
[168] Rao Y.K., Fang S.H., Tzeng Y.M., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2009**, 17 (23), 7909-7914.
[169] Ducki S., Forrest R., Hadfield J.A., Kendall A., Lawrence N.J., McGown A.T., Rennison A., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **1998**, 8 (9), 1051-1056.
[170] Ducki S., Rennison D., Woo M., Kendall A., Fournier Dit Chabert J., McGown A.T., Lawrence N.J., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2009**, 17 (22), 7698-7710.
[171] Lawrence N.J., Patterson R.P., Ooi L., Cook D., Ducki S., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2006**, 16 (22), 5844-5848.
[172] Ducki S., Mackenzie G., Greedy B., Armitage S., Fournier Dit Chabert J., Bennett E., Nettles J., Snyder J.P., Lawrence N.J., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2009**, 17 (22), 7711-7722.
[173] Kamal A., Mallareddy A., Suresh P., Shaik T.B., Nayak V.L., Kishor C., Shetti R.V.C.R.N.C., Rao N.S., Tamboli J.R., Ramakrishna S., Addlagatta A., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2012**, 20 (11), 3480-3492.
[174] Salum L.B., Altei W.F., Chiaradia L.D., Cordeiro M.N.S., Canevarolo R.R., Melo C.P.S., Winter E., Mattei B., Daghestani H.N., Santos-Silva M.C., Creczynski-Pasa T.B., Yunes R.A., Yunes J.A., Andricopulo A.D., Day B.W., Nunes R.J, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2013**, 63, 501-510.
[175] Kerr D.J., Hamel E., Jung M.K., Flynn B.L., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2007**, 15 (9), 3290-3298.

BY-NC-ND

[176] Kong Y., Wang K., Edler M.C., Hamel E., Mooberry S.L., Paige M.A., Brown M.L., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2010**, 18 (2), 971-977.
[177] Boumendjel A., Boccard J., Carrupt P.A., Nicolle E., Blanc M., Geze A., Choisnard L., Wouessidjewe D., Matera E.L., Dumontet C., *Journal of Medicinal Chemistry*, **2008**, 51 (7), 2307-2310.
[178] Boumendjel A., McLeer-Florin A., Champelovier P., Allegro D., Muhammad D., Souard F., Derouazi M., Peyrot V., Toussaint B., Boutonnat J., *BioMed Central Cancer*, **2009**, 9, 242-252.
[179] Bouchet A., Boumendjel A., Khalil E., Serduc R., Bräuer E., Siegbahn E.A., Laissue J.A., Boutonnat J., *Journal of Synchrotron Radiation*, **2012**, 19 (4), 478-482.
[180] Mirzaei H., Emami S., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2016**, 121, 610-639.
[181] Mahapatra D.K., Bharti S.K., Asati V., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2015**, 98, 69-114.
[182] Silva G., Fachin A.L., Beleboni R.O., França S.C., Marins M., *Molecules*, **2013**, 18 (12), 15448-15463.
[183] Abdel-Aziz M., Park S., El-Din G., Abuo-Rahma A.A., Sayed M.A., Kwon Y., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2013**, 69, 427-438.
[184] Keryer G., Bailly E., *Médecine/Sciences*, **1994**, 10 (4), 408-416.
[185] Bublil E.M., Yarden Y., *Current Opinion in Cell Biology*, **2007**, 19 (2), 124-134.
[186] Hynes N.E., MacDonald G., *Current Opinion in Cell Biology*, **2009**, 21 (2), 177-184.
[187] Cho H.S., Leahy D.J., *Science*, **2002**, 297 (5585), 1330-1333.
[188] Tokunaga E., Kataoka A., Kimura Y., Oki E., Mashino K., Nishida K., Koga T., Morita M., Kakeji Y., Baba H., *European Journal of Cancer*, **2006**, 42 (5), 629-635.
[189] Klein S., Levitzki A., *Current Opinion in Cell Biology*, **2009**, 21 (2), 185-193.
[190] Jung J., Chung E., Seon M.R., Shin H.K., Kim E.J., Lim S.S., Chung W.Y., Park K.K., Park J.H., *Biofactors*, **2006**, 28 (3-4), 159-168.
[191] Li D.D., Wu X., Tang J., Wei X., Zhu X., *Cancer Biology & Therapy*, **2009**, 8 (8), 739-743.
[192] Bolanos-Garcia V.M., *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **2005**, 37 (8), 1572-1577.
[193] Lin Y., Richards F.M., Krippendorff B.F., Bramhall J.L., Harrington J.A., Bapiro T.E., Robertson A., Zheleva D., Jodrell D.I., *British Journal of Cancer*, **2012**, 107, 1692-1701.
[194] Gautschi O., Heighway J., Mack P.C., Purnell P.R., Lara P.N., Gandara D.R., *Clinical Cancer Research*, **2008**, 14(6), 1639-1648.
[195] Shin S.Y., Yoon H., Ahn S., Kim D.W., Kim S.H., Koh D., Lee Y.H., Lim Y., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2013**, 21 (14), 4250-4258.
[196] Shin S.Y., Yoon H., Hwang D., Ahn S., Kim D.W., Koh D., Lee Y.H., Lim Y., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2013**, 21 (22), 7018-7024.
[197] Pereira S.G., Oakley F., *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **2008**, 40 (8), 1425-1430.
[198] Yamamoto Y., Gaynor R.B., *The Journal of Clinical Investigation*, **2001**, 107 (2), 135-142.
[199] Escarcega R.O., Fuentes-Alexandroy S., Garcia-Carrascoy M., Gatica A., Zamora A., *Clinical Oncology*, **2007**, 19, 154-161.
[200] Orlikova B., Schnekenburger M., Zloh M., Golais F., Diederich M., Tasdemir D., *Oncology Reports*, **2012**, 3, 797-805.
[201] Harikumar K.B., Kunnumakkara A.B., Ahn K.S., Anand P., Krishnan S., Guha S., Aggarwal B.B., *Blood*, **2009**, 113 (9), 2003-2013.
[202] Yadav V.R., Prasad S., Sung B., Aggarwal B.B., *International Immunopharmacology*, **2011**, 11 (3), 295-309.
[203] Yuan X., Li T., Xiao E., Zhao H., Li Y., Fu S., Gand L., Wang Z., Zheng Q., Wang Z., *Food & Chemistal Toxicology*, **2014**, 65, 242-251.
[204] Sun Y., Huang W., Hsiao C., Chen Y., Lu P., Guh J., *The Prostate*, **2010**, 70 (12), 1295-1306.
[205] Park S., Gwak J., Han S.J., Oh S., *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **2013**, 36 (6), 1040-1044.
[206] Tobelem G., *Médecine Sciences*, **1990**, 6 (5), 426-432.

BY-NC-ND

[207] Gennigens C., Sautois B., Rorive A., Fillet G., Jerusalem G., *Revue Médicale De Liège*, **2007**, 62 (5-6), 391-398.
[208] Merlin J.L., *La Lettre du Cancérologue*, **2008**, 17 (7), 334-349.
[209] Lee Y.S., Lim S.S., Shin K.H., Kim Y.S., Ohuchi K., Jung S.H., *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **2006**, 29 (5), 1028-1031.
[210] Zhu X., Xie B., Zhou J., Feng G., Liu Z., Wei X., Zhang F., Liu M., Zeng Y., *Molecular Pharmacology*, **2005**, 67 (5), 1444-1450.
[211] Varinska L., Wijhe M., Belleri M., Mitola S., Perjesi P., Presta M., Koolwijk P., Ivanova L., Mojzis J., *European Journal of Pharmacology*, **2012**, 691 (1-3), 125-133.
[212] Tuncel S., Trivella A., Atilla D., Bennis K., Savoie H., Albrieux F., Delort L., Billard H., Dubois V., Ahsen V., Caldefie-Chezet F., Richard C., Boyle R.W., Ducki S., Dumoulin F., *Molecular Pharmaceutics*, **2013**, 10 (10), 3706-3716.
[213] El-Deiry W.S., Tokino T., Velculescu V.E., Levy D.B., Parsons R., Trent J.M., Lin D., Mercer W.E., Kinzler K.W., Vogelstein B., *Cell*, **1993**, 75 (4), 817-825.
[214] Vousden K.H., *Cell*, **2000**, 103 (5), 691-694.
[215] Stoll R., Renner C., Hansen S., Palme S., Klein C., Belling A., Zeslawski W., Kamionka M., Rehm T., Muhlhahn P., Schumacher R., Hesse F., Kaluza B., Voelter W., Engh R.A., Holak T.A., *Biochemistry*, **2001**, 40 (2), 336-344.
[216] Kumar S.K., Hager E., Pettit C., Gurulingappa H., Davidson N.E., Khan S.R., *Journal of Medicinal Chemistry*, **2003**, 46 (14), 2813-2815.
[217] Chen Y., Clegg N.J., Scher H.I., The Lancet Oncology, 2009, 10 (10), 981-991.
[218] Kellis J.T., Vickery L.E., *Science*, **1984**, 225 (4666), 1032-1034.
[219] Pouget C., Fagnere C., Yahiaoui S., Habrioux G., Chulia A.J., *Bioorganic Chemistry*, **2004**, 32 (6), 494-503.
[220] Shimizu K., Kondo R., Sakai K., Buabarn S., Dilokkunanant U., *Phytochemistry*, **2000**, 54 (8), 737-739.
[221] Shimizu K., Kondo R., Buabarn K.S.S., Dilokkunanant U., *Journal of Wood Science*, **2000**, 46 (5), 385-389.
[222] Hussein S.A., Hashim A.N., Barakat H.H., Jose J., Lindequist U., Nawwar M.A., *Die Pharmazie*, **2006**, 61 (12), 1034-1037.
[223] Le Bail J.C., Pouget C., Fagnere C., Basly J., Chulia A., Habrioux G., *Life Sciences*, **2001**, 68 (7), 751-761.
[224] Sol V., Blais J.C., Bolbach G., Carré V., Granet R., Guilloton M., Spiro M., Krausz P., *Tetrahedron Letters*, **1997**, 38 (36), 6391-6394.
[225] Sol V., Chaleix V., Champavier Y., Granet R., Huang Y.M., Krausz P., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2006**, 14 (23), 7745-7760.
[226] Ménard F., Sol V., Ringot C., Granet R., Alves S., Le Morvan C., Queneau Y., Ono N., Krausz P., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2009**, 17 (22), 7647-7657.
[227] Chaleix V., Sol V., Huang Y.M., Guilloton M., Granet R., Blais J.C., Krausz P., *European Journal of Organic Chemistry*, **2003**, 8, 1486-1493.
[228] Sarrazy V., Garcia G., MBakidi J.P., Le Morvan C., Bégaud-Grimaud G., Granet R., Sol V., Krausz P., *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **2011**, 103 (3), 201-206.
[229] Sol V., Lamarche F., Enache M., Garcia G., Granet R., Guilloton M., Blais J.C., Krausz P., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2006**, 14 (5), 1364-1377.
[230] Garcia G., Sol V., Lamarche F., Granet R., Guilloton M., Champavier Y., Krausz P., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2006**, 16 (12), 3188-3192.
[231] Lamarche F., Sol V., Huang Y.M., Granet R., Guilloton M., Krausz P., *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **2002**, 6 (2), 130-134.
[232] Gupta G., Denoyelle-Di-Muro E., Mbakidi J.P., Leroy-Lhez S., Sol V., Therrien B., *Journal of Organometallic Chemistry*, **2015**, 787, 44-50.

BY-NC-ND

[233] Mauriello-Jimenez C., Croissant J., Maynadier M., Cattoën X., Wong Chi Man M., Vergnaud J., Chaleix V., Sol V., Garcia M., Gary-Bobo M., Raehm L., Durand J.O., *Journal of Materials Chemistry B*, **2015**, 3 (18), 3681-3684.
[234] Qiu S., Granet R., Mbakidi J.P., Brégier F., Pouget C., Micallef L., Sothea-Ouk T., Leger D.Y., Liagre B., Chaleix V., Sol V., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2016**, 26 (10), 2503-2506.
[235] Ndong Ntoutoume G.M.A., Granet R., Mbakidi J.P., Brégier F., Léger D.Y., Fidanzi-Dugas C., Lequart V., Joly N., Liagre B., Chaleix V., Sol V., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2016**, 26 (3), 941-945.
[236] Fox M.E., Szoka F.C., Fréchet J.M.J., *Accounts of Chemical Research*, **2009**, 42 (8), 1141-1151.
[237] Drogat N., Granet R., Le Morvan C., Bégaud-Grimaud G., Krausz P., Sol V., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,***2012**, 22 (11), 3648-3652.
[238] Wicki A., Witzigmann D., Balasubramanian V., Huwyler J., *Journal of Controlled Release*, **2015**, 200, 138-157.
[239] Pegg A.E., *Cancer Research*, **1988**, 48 (4), 759-774.
[240] Jänne J., Poso H., Raina A., *Biochimica Et Biophysica Acta*, **1978**, 473 (3-4), 241-293.
[241] Wallace H.M., Fraser A.V., Hughes A., *The Biochemical Journal*, **2003**, 376, 1-14.
[242] Casero R.A., Woster P.M., *Journal of Medicinal Chemistry*, **2001**, 44 (1), 1-26.
[243] Bachrach U., *Amino Acids*, **2004**, 26 (4), 307-309.
[244] Sarhan S., Knodgen B., Seiler N., Anticancer Research, **1989**, 9 (1), 215-223.
[245] Bardocz S., Grant G., Brown D.S., Ralph A., Pusztai A., *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **1993**, 4 (2), 66-71.
[246] Djouhri-Bouktab L., Rolain J.M., Brunel J.M., *Anti-Infective Agents*, **2014**, 12 (1), 95-103.
[247] Catros-Quemener V., Chamaillard L., Bouet F., *Médecine/Sciences*, **1999**, 15 (10), 1078-1085.
[248] Auvinen M., Paasinen-Sohns A., Kangas A., Kangas L., Saksela O., Andersson L.C., Hollta E., *Cancer Research*, **1997**, 57 (14), 3016-3025.
[249] Bachrach U., Sieler N., *Cancer Research*, **1981**, 41, 1205-1208.
[250] Garcia G., Sarrazy V., Sol V., Le Morvan C., Granet R., Alves S., Krausz P., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2009**, 17 (2), 767-776.
[251] Wang C., Delcros J.G., Biggerstaff J., Phanstiel O., *Journal of Medicinal Chemistry*, **2003**, 46 (13), 2663-2671.
[252] Quemener V., Moulinoux J. P., Havouis R., Seiler N., *Anticancer Research*, **1992**, 12 (5), 1447-1453.
[253] Tian Z., Xie S., Du Y., Ma Y., Zhao J., Gao W., Wang C., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2009**, 44 (1), 393-399.
[254] Wang C., Delcros J.G., Biggerstaff J., Phanstiel O., *Journal of Medicinal Chemistry*, **2003**, 46 (13), 2672-2682.
[255] Barret J.M., Kruczynski A., Vispé S., Annereau J.P., Brel V., Guminski Y., Delcros J.G., Lansiaux A., Guilbaud N., Imbert T., Bailly C., *Cancer Research*, **2008**, 68 (23), 9845-9853.
[256] Brel V., Annereau J.P., Vispé S., Kruczynski A., Bailly C., Guilbaud N., *Biochemical Pharmacology*, **2011**, 82 (12), 1843-1852.
[257] Thibault B., Clement E., Zorza G., Meignan S., Delord J.P., Couderc B., Bailly C., Narducci F., Vandenberghe I., Kruczynski A., Guilbaud N., Ferré P., Annereau J.P., *Cancer Letters*, **2016**, 370 (1), 10-18.
[258] Kruczynski A., Vandenberghe I., Pillon A., Pesnel S., Goetsch L., Barret J.M., Guminski Y., Le Pape A., Imbert T., Bailly C., Guilbaud N., *Investigational New Drugs*, **2011**, 29 (1), 9-21.
[259] Kruczynski A., Pillon A., Créancier L., Vandenberghe I., Gomes B., Brel V., Fournier E., Annereau J.P., Currie E., Guminski Y., Bonnet D., Bailly C., Guilbaud N., *Leukemia*, **2013**, 27 (11), 2139-2148.
[260] Tierny D., Serres F., Segaoula Z., Bemelmans I., Bouchaert E., Petain A., Brel V., Couffin S., Marchal T., Nguyen L., Thuru X., Ferré P., Guilbaud N., Gomes B., *Clinical Cancer Research*, **2015**, 21 (23), 5314-5323.

BY-NC-ND

[261] Garcia Guillaume. « Nouveaux macrocycles tétrapyrroliques et dérivés vectorisables en photothérapie – Porphyrines et chlorines polyaminées et trimères.» Thèse de doctorat : Chimie appliquée / Chimie des Substances Naturelles. Limoges : Université de Limoges, **2006**.
[262] Thomas T., Thomas T.J., *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **2003**, 7 (2), 113-126.
[263] Renault Emmanuel. « Délignification du bois de châtaignier par une approche de chimie verte. Mise en œuvre et impacts sur la structure et le potentiel anti-radicalaire des phyto-polysaccharides extraits. » Thèse de doctorat : Chimie appliquée / Chimie des Substances Naturelles. Limoges : Université de Limoges, **2014**.
[264] Claisse Nathalie. « Préparation et modification d'oligosaccharides de cellulose par chimie douce bio-inspirée. » Thèse de doctorat : Chimie Organique. Grenoble : Université Joseph Fourier, **2012**, p37.
[265] Ndong Ntoutoume Gautier Mark Arthur. « Elaboration des nanocristaux de cellulose fonctionnalisés pour la vectorisation d'agents anticancéreux et pour la transfection de gènes. » Thèse de doctorat : Chimie appliquée / Chimie des Substances Naturelles. Limoges : Université de Limoges, **2015**.
[266] Elazzouzi-Hafraoui S., Nishiyama Y., Putaux J. L., Heux L., Dubreuil F., Rochas C., *Biomacromolecules*, **2008**, 9 (1), 57-65.
[267] Sundaramoorthi R., Marazano C., Fourrey J.L., Das B.C., Tetrahedron Letters, 1984, 25 (30), 3191-3194.
[268] Silverstein R.M., Webster F.X., Kiemle D.J., *Identification spectrométrique de composés organiques*, 2ème édition, traduction de la 7ème édition américaine, De Boeck Université, Bruxelles, 2007, p 198, 349.
[269] Higham L.T., Kreher U.P., Raston C.L., Scott J.L., Strauss C.R., *Organic Letters*, **2004**, 6 (19), 3257-3259.
[270] Milcent R., C*himie Organique Stéréochimie, entités réactives et réactions*, édition EDP Sciences, **2007**, p579.
[271] Hwu J.R., Jain M.L., Shwu-Chen T., Hakimelahi G.H., *Tetrahedron Letters*, **1996**, 37 (12), 2035-2038.
[272] Han G., Tamaki M., Hruby V.J., *The Journal of Peptide Research,* **2001**, 58 (4), 338-341.
[273] Villiers A., *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, **1891**, 112, 536-538.
[274] Gessler K., Usón I., Takaha T., Krauss N., Smith S.M., Okada S., Sheldrick G.M., Saenger W., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **1999**, 96 (8), 4246-4251.
[275] Saenger W., Jacob J., Gessler K., Steiner T., Hoffmann D., Sanbe H., Koizumi K., Smith S.M., Takaha T., *Chemical Reviews*, **1998**, 98 (5), 1787-1802.
[276] Harata K., *Chemical Reviews*, **1998**, 98 (5), 1803-1828.
[277] Szejtli J., *Chemical Reviews*, **1998**, 98 (5), 1743-1753.
[278] Decottignies Audrey. « Catalyse dans l'eau en présence de cyclodextrine native ou modifiée - Application au couplage croisé de type Suzuki » Thèse de doctorat : Génie des Procédés Industriels et du Développement Durable. Compiègne : Université de Technologie de Compiègne, **2013**.
[279] Wenz G., *Angewandte Chemie International Edition in English*, **1994**, 33 (8), 803-822.
[280] Loftsson T., Brewster M.E., *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2012**, 101 (9), 3019-3032.
[281] Szejtli J., Szente L., *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2005**, 61 (3), 115-125.
[282] Szente L., Szejtli J., *Trends in Food Science & Technology*, **2004**, 15 (3-4), 137-142.
[283] Buschmann H.J., Schollmeyer E., *Journal of Cosmetic Science*, **2002**, 53 (3), 185-191.
[284] Bruneton J., *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales*, 5ème éd. Technique & Documentation Lavoisier Paris, **2016**, 459.
[285] Lin Y.M., Chen F.C., Lee K.H., *Planta Medica*, **1989**, 55 (2), 166-168.
[286] Bahia M.V., Dos Santos J.B., David J.P., David J.M., *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2005**, 16 (6B), 1402-1405.

BY-NC-ND

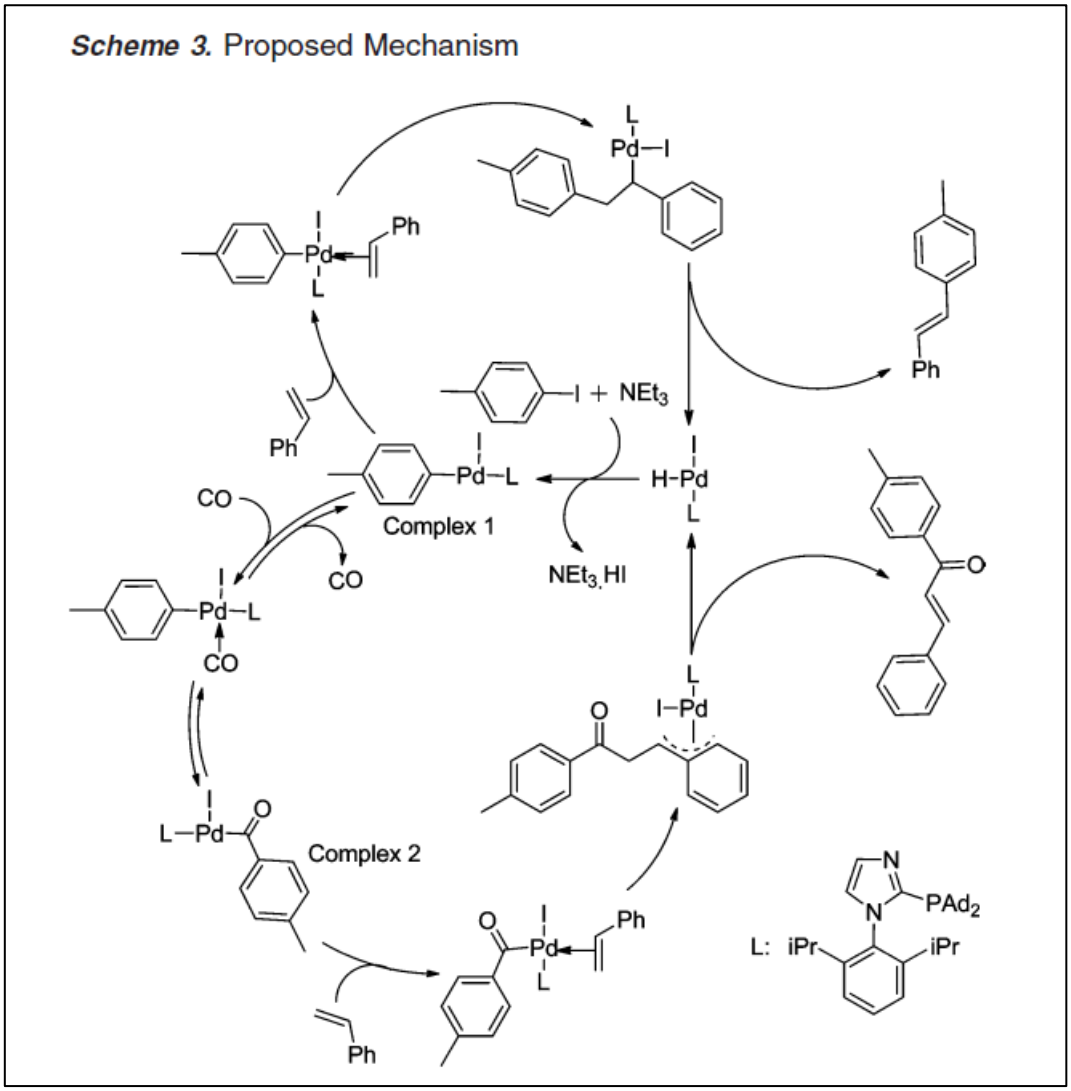
[287] Sagrera G., Bertucci A., Vazquez A., Seoane G., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2011**, 19 (10), 3060-3073.
[288] Lin Y.M., Flavin M.T., Cassidy C.S., Mara A., Chen F.C., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2001**, 11 (16), 2101-2104.
[289] Kim H.K., Son K.H., Chang H.W., Kang S.S., Kim H.P., *Archives of Pharmacal Research*, **1998**, 21 (4), 406-410.
[290] Pokharel Y.R., Yang J.W., Kim J.Y., Oh H.W., Jeong H.G., Woo E.R., Kang K.W., *Nitric Oxide*, **2006**, 15 (3), 217-225.
[291] Kim H.P., Park H., Son K.H., Chang H.W., Kang S.S., *Archives of Pharmacal Research*, **2008**, 31 (3), 265-273.
[292] Onasanwo S.A., Velagapudi R., El-Bakoush A., Olajide O.A., *Molecular and Cellular Biochemistry*, **2016**, 414 (1-2), 23-36.
[293] Mkounga P., Fomum Z.T., Meyer M., Bodo B., Nkengfack A.E., *Natural Product Communications*, **2009**, 4 (6), 803-808.
[294] Mostafa N.M., Ashour M.L., Eldahshan O.A., Singab A.N.B., *Natural Product Research*, **2015**, 30 (18), 2093-2100.
[295] Pang X., Yi T., Yi Z., Cho S.G., Qu W., Pinkaew D., Fujise K., Liu M., *Cancer Research*, **2009**, 69 (2), 518-525.
[296] Mdee L. K., Yeboah S. O., Abegaz B. H., *Journal of Natural Products*, **2003**, 66 (5), 599-604.
[297] Li H.-Y., Nehira, T., Hagiwara, M., Harada, N., *The Journal of Organic Chemistry*, **1997**, 62 (21), 7222-7227.
[298] Sagrera G., Seoane G., *Synthesis*, **2010**, 16, 2776-2786.
[299] Mihigo S.O., Mammo W., Bezabih M., Andrae-Marobela K., Abegaz B.M., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2010**, 18 (7), 2464-2473.
[300] Escobar C.A., Fernández W.A., Trujillo A., Santos J.C., Roisnel T., Fuentealba M., *Tetrahedron Letters*, **2014**, 55 (38), 5271-5274.
[301] Miyaura N., Suzuki A., *Chemical Reviews*, **1995**, 95 (7), 2457-2483.
[302] Grandane A., Tanc M., Žalubovskis R., Supuran C.T., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2015**, 23 (7), 1430-1436.
[303] Molander G.A., Yun C.S., *Tetraheron*, **2002**, 58 (8), 1465-1470.
[304] Pouget C., Trouillas P., Gueye R., Champavier Y., Laurent A., Duroux J.L., Sol V., Fagnere C., *Synlett*, **2014**, 25 (4), 564-568.
[305] Baltus C.B., Neil J.P., Spencer J., *Synlett*, **2012**, 23 (17), 2477-2480.
[306] Wang H.M., Yan Z., Lei Y., Sheng K., Yao Q., Lu K., Peng Y., *Tetrahedron Letters*, **2014**, 55 (4), 897-899.
[307] Wang H.M., Zhang L., Liu j., Yang Z.L., Zhao H.Y., Yang Y., Shen D., Lu K., Fan Z.C., Yao Q.W., Zhang Y.M., Teng Y.O., Peng Y., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2015**, 92, 439-448.
[308] Molander G.A., Ito T., *Organic Letters*, **2001**, 3 (3), 393-396.
[309] Van Den Hoogenband A., Lange J.H.M., Terpstra J.W., Koch M., Visser G.M., Visser M., Korstanje T.J., Jastrzebski J.T.B.H., *Tetrahedron Letters*, **2008**, 49 (26), 4122-4124.
[310] Dreher S.D., Lim S.E., Sandrock D.L., Molander G.A., *The Journal of Organic Chemistry*, **2009**, 74 (10), 3626-3631.
[311] Mosmann T., *Journal of Immunological Methods*, **1983**, 65 (1-2), 55-63.
[312] Freimoser F.M., Jakob C.A., Aebi M., Tuor U., *Applied and Environmental Microbiology*, **1999**, 65 (8), 3727-3729.
[313] Limami Y., Pinon A., Leger D.Y., Mousseau Y., Cook-Moreau J., Beneytout J.L., Delage C., Liagre B., Simon A., *Biochimie*, **2011**, 93 (4), 749-757.
[314] Semaan J., Pinon A., Rioux B., Hassan L., Limami Y., Pouget C., Fagnère C., Sol V., Diab-Assaf M., Simon A., Liagre B., *Journal of Cellular Biochemistry*, **2016**, 117 (12), 2875-2885.
[315] Chadwick J., Jones M., Mercer A.E., Stocks P.A., Ward P.A., Park K.B., O'Neill P.M., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2010**, 18 (7), 2586-2897.

BY-NC-ND

[316] Qi Z., Liu M., Liu Y., Zhang M., Yang G., Plos One, 2014, 9(9), e106206. doi:10.1371/journal.pone.0106206.
[317] Savarin P., Barbet A., Delga S, Joshi V., Hamon L., Lefevre J., Nakib S., De Bandt J.P., Moinard C., Curmi P.A., Pastré D., *Biochemical Journal*, **2010**, 430 (1), 151-159.
[318] Chisholm C.D., Wenzel T.J., *Tetrahedron Asymmetry*, **2011**, 22 (1), 62-68.

BY-NC-ND

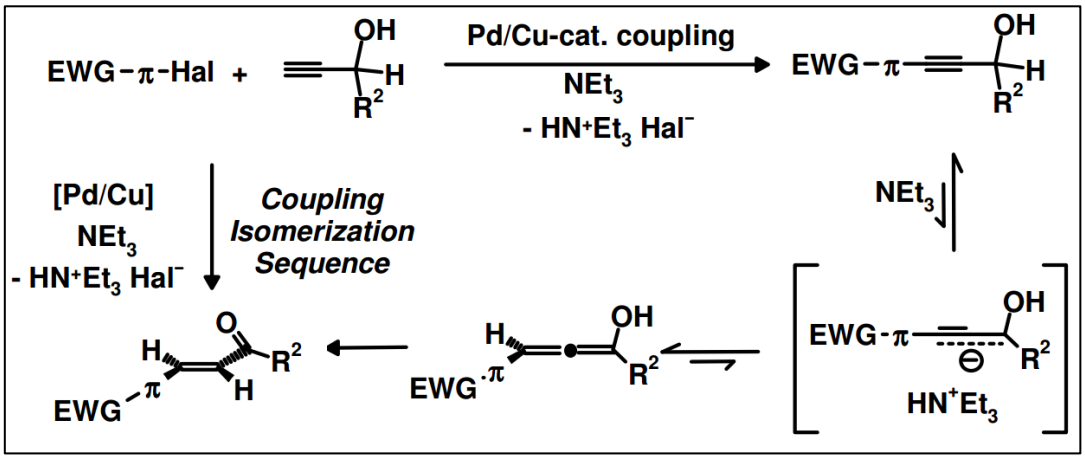
Couplage de Heck :



Mécanisme de synthèse proposé par Wu *et al.* pour la synthèse de chalcones *via* le couplage de Heck [108].

BY-NC-ND

Couplage de Sonogashira:



Mécanisme de synthèse proposé par Schramm pour la synthèse de chalcones *via* le couplage de Sonogashira. [111 p27]

BY-NC-ND

Valorisation des travaux de thèse

Publications internationales à comité de lecture (publiées / soumises) : 2

Publications internationales à comité de lecture (en cours de préparation) : 3

Communications orales : 3

Communications par affiches : 4

Publications publiées et/ou soumises :

Semaan J., Pinon A., Rioux B., Hassan L., Limami Y., Pouget C., Fagnère C., Sol V., Diab-Assaf M., Simon A., Liagre B., *Journal of Cellular Biochemistry*, **2016**, 117 (12), 2875-2885 **[314]**. « Resistance to 3-HTMC-Induced Apoptosis Through Activation of PI3K/Akt, MEK/ERK, and p38/COX-2/PGE_2 Pathways in Human HT-29 and HCT116 Colorectal Cancer Cells »

Rioux B., Pouget C., Fidanzi-Dugas C., Gamond A., Laurent A., Semaan J., Pinon A., Champavier Y., Liagre B., Duroux J.L., Fagnère C., Sol V., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. « Design and multi-step synthesis of chalcone-polyamine conjugates as potent antiproliferative agents ».

Publications en préparation :

Rioux B., Pouget C., Ndong Ntoutoume G.M.A., Champavier Y., Fagnère C., Sol V., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*.
« Chalcone/β-cyclodextrin/cellulose nanocrystals complexes for anticancer activity through EPR delivery drug system ».

Rioux B., Novotny L., Champavier Y., Fagnère C., Sol V., Pouget C., *Synthesis*.
« Synthesis of a new bis-chalcone using Suzuki-Miyaura cross coupling for anticancer activity ».

Rioux B., Pouget C., Gamond A., Laurent A., Pinon A., Champavier Y., Fagnère C., Sol V., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*.
« A chalcone-Spermine conjugate as potent anti-proliferative agent in colorectal and prostatic cancer chemotherapy ».

BY-NC-ND

Communications orales :

« Design and synthesis of chalcone-polyamine conjugates as new potential anticancer agents ».
Groupement des Pharmacochimistes de l'Arc Atlantique (GP2A), 28-29 Août 2014, Nantes.

« Synthèses multi-étapes de conjugués chalcone-polyamine en vue d'un effet antiprolifératif ».
IX^{ème} Symposium de Chimie Organique Centre-Auvergne-Limousin (SYCOCAL IX), 17-19 Septembre 2014, Tours.

« Chimiothérapie des cancers du côlon-rectum et de la prostate : conception et synthèses multi-étapes de chalcones vectorisées pour des activités anti-prolifératives ».
X^{ème} Symposium de Chimie Organique en Centre-Auvergne-Limousin (SYCOCAL X), 29-31 Août 2016, Clermont-Ferrand.

Communications par affiche :

« Synthesis and targeting of a chalcone for anti-proliferative activity ».
Journées Scientifiques de la Section Centre-Ouest - Société Chimique de France, 29-31 Janvier 2014, Limoges.

« Design and synthesis of chalcone-polyamine conjugates as new potential anticancer agents ».
Groupement des Pharmacochimistes de l'Arc Atlantique (GP2A), 28-29 Août 2014, Nantes.

« Synthèse de conjugués chalcones-polyamines à visée anti-cancéreuse ».
Journée scientifique GEIST 2014, 5 Septembre 2014, Limoges.

« Colon cancer chemotherapy: design and multi-step synthesis of vectorized chalcones by polyamine tails ».
Rencontres Internationales de Chimie Thérapeutiques 2015 (RICT), 1-3 Juillet 2015, Avignon.

BY-NC-ND

Résumé / Abstract

La synthèse et la vectorisation d'agents anticancéreux constituent des axes de recherche majeurs du LCSN. De nombreux composés naturels possèdent des propriétés anticancéreuses, mais ils sont abandonnés en raison de leur manque de sélectivité vis-à-vis des cellules cancéreuses ou de leur faible biodisponibilité. Ainsi, un grand intérêt est actuellement porté sur le développement de médicaments spécifiquement vectorisés vers les cellules cancéreuses. Les vecteurs utilisés dans ce travail sont des dérivés de polyamines et des nanoobjets de type β-cyclodextrines / nanocristaux de cellulose (β-CD/CNCx). Les polyamines vont permettre un ciblage actif des cellules cancéreuses grâce au système de transport de polyamine (PTS) surexprimé dans ces cellules. Les nanoobjets vont cibler spécifiquement les tumeurs via un ciblage passif dû à l'effet EPR. Les principes actifs employés dans cette étude sont des flavonoïdes, et plus particulièrement des chalcones. En effet, les flavonoïdes, qui constituent une large famille de composés phénoliques naturels, sont connus pour leurs nombreux effets biologiques comme les activités antioxydantes, anti-inflammatoires et anti-prolifératives. L'intérêt du LCSN à la fois pour les chalcones et les agents anticancéreux nous a conduits à concevoir de nouveaux composés antiprolifératifs vectorisés. Ce travail présente dans un premier temps la synthèse de chalcones et l'obtention de dérivés couplés aux différents vecteurs décrits précédemment (motifs polyaminés, β-CD/CNCx) ; un travail sur la synthèse d'une bis-chalcone via le couplage de Suzuki est également exposé. L'ensemble des molécules obtenues est caractérisé par des analyses RMN ^{1}H, ^{13}C et HRMS. Dans une seconde partie, nous présentons l'ensemble des évaluations biologiques des composés précédemment obtenus. Ces évaluations sont réalisées par un test de viabilité cellulaire (test MTT) sur quatre lignées cancéreuses : deux colorectales (HT-29 et HCT-116) et deux prostatiques (PC-3 et DU-145).

Mots-clés : flavonoïde, chalcone, polyamine, spermine, spermidine, nanocristaux de cellulose, cyclodextrine, bis-chalcone, Suzuki, cancer colorectal, cancer prostatique, antiprolifération.

Synthesis and vectorization of anticancer agents are major research themes of LCSN. Many natural compounds possess anti-cancer properties, but they are dropped because of their lack of selectivity to cancer cells or their low bioavailability. Thus, great interest is currently focused on the development of drugs specifically vectorized to cancer cells. The vectors used in this work are polyamine derivatives and nano-objects type β-cyclodextrin / cellulose nanocrystals (β-CD/CNCx). Polyamines allow active targeting of cancer cells through the polyamine transport system (PTS) overexpressed in these cells. Nano-objects specifically target tumors using a passive targeting due to the EPR effect. Drugs used in this study are flavonoids, especially chalcones. Indeed, flavonoids, which constitute a large family of natural phenolic compounds, are known for their numerous biological effects such as antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities. The interest of LCSN for both chalcones and anticancer agents led us to design new vectorized anti-proliferative compounds. Firstly, this work shows the synthesis of chalcones and their derivatives coupled to various above-described vectors (polyamines units, β-CD/CNCx); a work on the synthesis of a bis-chalcone through the Suzuki coupling reaction is also exposed. All molecules obtained are characterized by ^{1}H NMR, ^{13}C NMR and HRMS analysis. In the second part of this work, we present all biological evaluations of compounds previously obtained. These assessments are performed through a cell viability test (MTT test) on four cancer cell lines: two colorectal (HT-29 and HCT-116) and two prostate (PC-3 and DU-145) cell lines.

Keywords: flavonoid, chalcone, polyamine, spermine, spermidine, cellulose nanocrystals, cyclodextrine, bis-chalcone, Suzuki, colorectal cancer, prostatic cancer, anti-proliferative.

BY-NC-ND