



HAL
open science

Synthèse totale et évaluation biologique d'un inhibiteur d'origine naturelle de la kinase DYRK1A

Romain Lucas

► **To cite this version:**

Romain Lucas. Synthèse totale et évaluation biologique d'un inhibiteur d'origine naturelle de la kinase DYRK1A. Chimie thérapeutique. Université René Descartes - Paris V, 2014. Français. NNT : 2014PA05P613 . tel-02894510

HAL Id: tel-02894510

<https://theses.hal.science/tel-02894510v1>

Submitted on 9 Jul 2020

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.

UNIVERSITE PARIS DESCARTES

FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

ECOLE DOCTORALE MEDICAMENT, TOXICOLOGIE, CHIMIE, IMAGERIES (ED 436)

Année 2014

N°

Doctorat de l'Université Paris Descartes

Romain LUCAS

Synthèse totale et évaluation biologique d'un inhibiteur d'origine naturelle de la kinase DYRK1A

Spécialité : Chimie Thérapeutique – Chimie Organique

Soutenue à huis clos le 6 Novembre 2014

Membre du Jury :

Peter PROKSCH

Rapporteur

Christian CAVE

Rapporteur

Pascal GEORGE

Examineur

Laurent MEIJER

Examineur

Nassima OUMATA

Co-Directrice de Thèse

Hervé GALONS

Directeur de Thèse

Je voudrais remercier en premier lieu Hervé GALONS et Nassima OUMATA pour m'avoir encadré, soutenu, accueilli dans leur équipe et fait confiance tout au long de ce travail de thèse. Je les remercie de m'avoir permis de travailler à leur côté et de m'avoir fait partager leur savoir-faire scientifique.

Je voudrais adresser mes remerciements à Peter PROKSH, Professeur à l'université de Düsseldorf et Christian CAVE, Professeur à l'université de Chatenay Malabry, qui me font l'honneur d'être mes rapporteurs.

Je désire adresser mes sincères remerciements à Pascal GEORGE, Président de la Société de Chimie Thérapeutique, pour avoir accepté de faire partie de mon Jury en tant qu'examineur.

C'est avec un profond respect que je remercie tout particulièrement Laurent MEIJER, Directeur de la société ManRos-Therapeutics, d'avoir fait confiance pour mener à bien ce magnifique projet.

Je remercie également Vanessa DESPLAT et Jean GUILLON, Professeur à l'université Bordeaux Segalen, ainsi que toute son équipe pour m'avoir accueilli durant les divers stages que j'ai effectué durant mon cursus et pour m'avoir donné le goût de la recherche.

Lyamin, un collègue, un ami qui était présent depuis le début. Je lui souhaite une belle carrière dans la recherche et une suite heureuse avec sa famille.

De façon plus personnelle, mes remerciements vont à ma famille et mes amis, qui m'ont soutenu, écouté et qui ont cru en moi ainsi qu'à toute l'équipe ManRos.

*A mes Parents.
A mes Grands-Parents.*

POUR DIVERSES RAISONS, JE NE SOUHAITE - ABSOLUMENT - PAS REMERCIER

Le B adminton
Le B a s k e t
Les B e l g e s
L'AJC & les FESTOCHES

Pour les bons
moments, pour
les bonnes
bières, pour sa
cuisine gastro-
nomique, pour
ses soirées et
pour la bonne
m u s i q u e .

Il était une fois dans le far lointain phare ouest de la France un petit village. Roscoff, ayant tout pour faire peur, car à l'Est il y a la mer, à l'Ouest, il y a la mer et au Nord, derrière la mer il y a une île et derrière cette île il y a la mer, par contre au sud, ce sont d'immenses contrées sauvages (pour ne pas dire que c'est le néant), il y fait très bon vivre malgré les multiples invasions durant les saisons chaudes. Le climat est excellent, les paysages sont sublimes, les marées sont hypnotisantes, les tempêtes sont divertissantes, la météo est joueuse, le soleil est radieux du levant au couchant et malgré les crachins, les pluies, les déluges, les vents, les embruns, les brouillards, les nuages, les images que ces spectacles quotidiens nous procurent sont sublimes et malheureusement, pour des raisons concernant ma propre sécurité et pour éviter de diffuser des images qui pourraient heurter la sensibilité de certaines personnes,

JE NE VOUS FOURNIRAI AUCUNES IMAGES.

C'est parce que «L'appétit vient en mangeant ; la soif s'en va en buvant.» (François Rabelais) qu' «Il faut manger comme un homme sain et boire comme un malade.» (proverbe Allemand). Ainsi, j'ai mangé pour m'ouvrir l'appétit comme un homme et j'ai bu pour oublier ma soif de malade.



L'Albatros et Ty Pierre

Pour leurs breuvages et leurs gastronomies

POUR LEURS GATEAUX AINSI
QUE LEURS ENTREMETS DONT
SEUL LES CONJOINTS ONT
RECU LES MERITES

Stichus mortus



Q u i
m'as la-
chement
a b a n -
d o n n é
en cours
de route.

Plan

Plan	6
Abréviations	10
Introduction.....	14
A. La maladie d'Alzheimer	15
I. Introduction.....	15
1. Découverte – contexte.....	15
2. Symptômes	16
3. Diagnostic de la maladie.....	17
4. Facteurs de risques.....	18
II. Mécanismes	19
1. Deux dérégulations de protéines.....	19
a) L'amyloïde- β	19
b) La protéine Tau.....	21
2. La synapse.....	23
III. Traitement.....	26
1. Les inhibiteurs de cholinestérasés	26
a) Le Donepezil - ARICEPT®	27
b) La Rivastigmine - EXELON®	27
c) La Galantamine - REMINYL®	28
d) La Tacrine - COGNEX®	29
2. Antagoniste du NMDA	29
a) La Mémantine – EBIXA®	29
3. Nouvelles approches.....	30
B. Le syndrome de Down.....	31

1.	Découverte – contexte.....	31
2.	La maladie	32
3.	Diagnostic.....	35
4.	Pathologies associées.....	36
5.	Le chromosome 21.....	37
C.	Les Kinases	38
I.	Généralités	38
II.	Structure	42
D.	La protéine Dyrk1A	46
I.	Famille de la protéine kinase.....	46
II.	Gène et orthologue.....	47
III.	Distribution de DYRK1A	49
IV.	Structure DYRK1A.....	49
1.	La région N-terminale.....	51
2.	Le domaine catalytique (ou central).....	51
3.	La région C-terminale.....	51
V.	Activité et régulation de DYRK1A	52
E.	Inhibition de DYRK1A	59
I.	Les inhibiteurs naturels.....	61
1.	Harmine	61
2.	Epigallocatechin gallate (EGCG)	63
3.	Leucettamine B.....	64
4.	Staurosporine	66
II.	Les inhibiteurs de synthèse.....	67
1.	INDY, TG003 et ProINDY	67
2.	Leucettine L41	68
3.	Meridianines	69

F. Scorzonera radiata.....	70
Résultats et Discussions.....	77
A. Introduction	77
I. Données de la littérature sur les molécules voisines et Structures aromatiques comportant quatre groupements vicinaux.	77
II. Groupements protecteurs des systèmes polyphénoliques.	79
III. Construction des diaryléthanes	80
IV. Procédés de glycosylations	81
B. Approches mis en œuvre dans la préparation de la RCZ.....	84
I. Approche Voie A - déprotection sélective d'un dérivé de stilbene	84
1. Rétrosynthèse Voie A.....	84
2. Essais de préparation de la RCZ 17 selon la voie A.....	85
a. Préparation du Sel de Phosphonium	85
b. Céto-aldéhyde dibenzylé	86
c. Wittig Benzyle	92
d. Déprotection du groupement benzyle	94
e. Fixation de l'ose	97
3. Conclusion de l'approche A	100
4. Réactions annexes.....	101
II. Approche Voie B - déprotection d'un dérivé de stilbene	106
1. Rétrosynthèse Voie B.....	106
2. Essais de préparation de la RCZ 17 selon la voie B.....	107
a. Sel de phosphonium – Méthoxyméthyle	107
b. Sel de phosphonium – Dérivé allylé	108
c. Couplage par la réaction de Wittig - Allyle.....	109
d. Déprotection du benzyle et fixation d'un glucoside - Allyle	110
3. Conclusion de l'approche B	111

III. Approche Voie C.....	112
1. Rétrosynthèse Voie C.....	112
2. Préparation de la RCZ 17 Approche selon la voie C.....	113
a. Céto-aldéhyde – <i>tert</i> -Butyl diphenylsilane.....	113
b. Céto-aldéhyde – Méthoxyméthyle.....	113
c. Wittig avec l'aldéhyde cétone porteuse du groupement MOM.....	115
d. Déprotection du groupement MOM.....	116
e. Fixation OSE.....	117
3. Conclusion de l'approche C.....	119
Evaluations Biologiques.....	120
Conclusions et perspectives.....	123
A. Conclusions.....	123
B. Perspectives.....	124
Matériel et Méthodes.....	126
Références.....	160
Crédits Photos.....	180

Abréviations

1

¹⁸F₂ : Fluorodésoxyglucose

¹H-MRS : Spectroscopie par résonance magnétique des protons

A

ACh : Acétylcholine

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AICD : domaine amyloïde intracellulaire

Ala ou A : Alanine

AMM : Autorisation de mise sur le marché

AMP : Adénosine Monophosphate

AMPA : Récepteur AMPA

aPK : Protéine Kinase Atypique

APOE : Apolipoprotéine E et ses isoformes ε₂, ε₃ et ε₄

APP : Précurseur de la Protéine

Amyloïde β

Aq : Aqueux

Arg ou R : Arginine

ARMm ou mRNA: Acide Ribonucléique Messenger

ARN ou RNA: Acide Ribonucléique

Asp ou D : Aspartate

ATP : Adénosine Triphosphate

Aβ : Amyloïde Beta

B

BACE-1 : β-sécrétase

C

CaMK : Protéine Kinase

Calcium/Calmoduline dépendante

CCM : Chromatographie sur couche mince

Cdc : « Cell Division Cycle protein kinase »

CDKLs : CDK-Like

CDKs : « Cyclin Dependent Kinases »

CK1δ/ε : « Casein Kinase »

CLKs : « Cdc-Like Kinase »

CMGC : CDKs, MAP kinases, GSK et CDKLs

C-Src : Cellular-Src

C-ter : région C-terminale d'une protéine

D

DH : « DYRK-Homology »

DMAP : 4-diméthylaminopyridine

DMF : Diméthylformamide

DMT : Diméthyltryptamine

DSCR ou DCR-1: « Down's Syndrome Critical Region »

DSKs : « Dual Specificity Kinases »

DYRK : Dual Specificity

E

EGCG : Epigallocatechine gallate

ePK : Protéine Kinase Ecaryotique

ERK : »Extracellular Signal-regulated Kinase »

G

Gln ou Q : Glutamine

G-loop : « Glycine-Rich Loop »

Glu ou E : Glutamate

Gly ou G : Glycine

Gly ou G : Glycine

GSK3 : « Glycogen Synthase Kinase 3 »

GTP : Guanosine Triphosphate

H

HIPKs : « Homeodomain-interacting Protein Kinases »

Hz : Hertz

I

IADL : Instrumental Activities of Daily Living

IC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane

IMAO : inhibiteur de la monoamine oxydase

IRM : Imagerie à Résonance

Magnétique

L

LTB₄ : Récepteur du Leukotriene B4

LTD : « Long-term Depression » ou dépression à long terme

LTP : « Long-term Potentiation » ou potentialisation à long terme

M

MAPK : « Mitogen Activated Protein Kinase »

Mb : Méga Base

MHz : Mega Hertz

MM : Masse Molaire

MNB : Protéine « minibrain »

MOM : Méthoxyméthyle

MOMCl : Méthoxyméthyle chloride

N

NAA : N-acétyl-aspartate

nAChR $\alpha 7$: Récepteur nicotinique à l'acétylcholine

NBS : *N*-bromosuccinimide

NLS : Séquence de Localisation Nucléaire

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

NMDAr : Récepteur NMDA

N-ter : région N-terminale d'une protéine

P

P°atm : Pression atmosphérique

pCaMKII : Protéine Kinase 2

phosphorylé calcium-calmoduline dépendante

PCR : « Polymerase Chain Reaction » ou réaction de polymérisation en chaîne

pCREB : Phosphorylated cyclic adenosine-3',5'-Monophosphate-Response Element Binding protein

Phe ou F : Phénylalanine

PiB : Composé B de Pittsburgh

Pim1 : Serine/Threonine Protein Kinase

PKA : Protéine Kinase AMP-cyclique dépendante

PKC : Protéine Kinase C

PKG : Protéine Kinase GMP-cyclique dépendante

ppm : Partie par million

PRAK : p38-Regulated/Activated Protein Kinase

Pro ou P : Proline

PRP4Ks : « pre-mRNA Processing Protein 4 Kinases »

Q

QI : Quotient Intellectuel

R

RCKs : « Radiation Sensitivity Complementing Kinase »

Rf : Rapport frontal

RMN : Résonance magnétique nucléaire

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RTK : Récepteur Tyrosine Kinase

S

sAPP α : Protéine α précurseur de la protéine amyloïde β sécrété

sAPP β : Protéine β précurseur de la protéine amyloïde β sécrété

SD : Syndrome de Down

Ser ou S : Sérine

SRPKs : « Serine/Arginine Protein kinase »

STPK : Protéines sérines/thréonines kinase

T

TA : Température ambiante
TBAF : *tert*-Butyl ammonium fluoride
TBDPSCl : *tert*-
Butylchlorodiphénylsilane
TEP : Tomoscintigraphie à émission de
positions
TFA : Acide trifluoro-acétique
THF : Tétrahydrofurane
Thr ou T: Thréonine
TMS : Triméthylsilane
TMS : Tétraméthylsilane
TMU : Tétraméthylurée
TPK : Protéine Tyrosine Kinase
TrkAr : Récepteur tyrosine kinase A
TrkBr : Récepteur Tyrosine kinase B
Tyr ou Y : Tyrosine

U

UTR : « Untranslated Region » ou région
non-transcrite
UV : Ultraviolets

V

VGCC : Canal calcique voltage dépendant
V-Src : Protéine kinase isolée à partie du
virus *Rous sarcoma*

X

Xaa ou X : Acide aminé variable

Y

Yacks : « Yeast Kinases »

α

α : Alpha
β : Beta
γ : Gamma
δ : Delta
ε : Epsilon

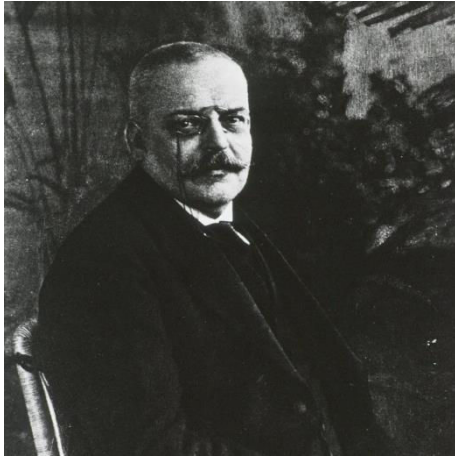
Introduction

L'objectif de la thèse est la synthèse totale d'un inhibiteur sélectif de la protéine DYRK1A isolé d'une plante terrestre, la *Scorzonera radiata*. Depuis une dizaine d'années, il a été clairement établi que cette protéine kinase, dont le gène est localisé sur le chromosome 21, est impliqué dans le mécanisme de développement de la maladie d'Alzheimer. Avant d'aborder les résultats de l'ensemble des travaux effectués au cours de cette thèse, l'introduction vis à resituer le contexte avec tout d'abord une description de la maladie d'Alzheimer et de son mécanisme en l'état actuel des connaissances ainsi que les méthodes thérapeutiques existantes de la pathologie. Une description succincte du syndrome de Down sera ensuite abordée. Des notions générales sur les protéines kinases et en particulier de la protéine kinase DYRK1A seront présentées. La présentation de cette cible sera suivie de la description de ses principaux inhibiteurs. L'introduction se terminera par la présentation de la molécule naturelle et de son origine.

A. La maladie d'Alzheimer

I. Introduction

1. Découverte - contexte



Alois Alzheimer (1864 - 1915). Il fut un psychiatre, un neurologue et un neuropathologiste. (†1)



Auguste D. (1850 - 1906). Elle fut la patiente du Dr. Alzheimer de 1901 à 1906. (†2)

(†) – Cf. partie crédits photos

En 1901, une femme âgée de 51 ans, Auguste D. est admise à l'hôpital de Francfort où elle est examinée par le docteur Alois Alzheimer, un psychiatre, neurologue et neuropathologiste allemand. Il a suivi le cas jusqu'au décès de la patiente en 1906. Durant les cinq années, il a observé une dégradation des facultés cognitives de la patiente avec des difficultés de mémorisation, de compréhension, une désorientation temporelle et spatiale avec de hallucinations et des comportements incohérents. A la mort de cette patiente, il continua ses travaux de recherche en effectuant une autopsie de son cerveau et il a mis en évidence la présence de plaques séniles. Ce n'est qu'en 1907 qu'il décrit pour la première fois la maladie dite d'Alzheimer. Plusieurs autres cas furent rapportés dans la littérature, cependant c'est en 1911 que le psychiatre Emil Kraepelin isola les caractéristiques spécifiques de la maladie d'Alzheimer, Auguste D. présentant d'autres pathologies en plus de la maladie d'Alzheimer^[1,2].

La maladie d'Alzheimer est de plus en plus courante avec la population vieillissante. On estime à plus de 44 millions victimes de démence dû à la maladie d'Alzheimer dans le monde et ce nombre pourrait croître jusqu'à 100 millions de cas en 2050^[3], ce qui fait de cette maladie la forme de démence la plus répandue représentant plus de 50% des cas autopsiés^[4]. En France la fréquence de la maladie d'Alzheimer est de 2 à 4% de la population générale, cependant ce taux augmente rapidement avec l'âge pour atteindre 15% pour la population âgée de 80 ans ou plus. On estime à 900 000 le nombre de cas aujourd'hui pour 1.3 millions de cas en 2020^[5,6]. De part ces chiffres, l'urgence de la découverte d'un traitement efficace pour la maladie est bien réelle. De nombreux essais cliniques dans le développement de nouveaux traitements sont avortés du fait de la complexité de la maladie, cependant l'enjeu économique est immense.

2. Symptômes

La maladie affecte les personnes de différentes manières, l'apparition des premiers symptômes commencent par une dégradation progressive de la capacité à retenir de nouvelles informations. L'apparition de ce symptôme est lié au fait que les premiers neurones à mourir, ou dont le fonctionnement va être perturbé, sont ceux qui sont localisés dans les régions du cerveau impliquées dans la mémorisation. Le dysfonctionnement de l'ensemble des neurones ainsi que la perte progressive de ceux-ci va conduire à d'autres symptômes qui sont caractéristiques de la maladie d'Alzheimer dont les plus courants sont :

- Des pertes de mémoire qui perturbent le quotidien.
- La difficulté à prévoir ainsi qu'à résoudre des problèmes.
- La difficulté de remplir les tâches familiales domestiques, professionnelles, ou même de loisir.
- Des confusions dans le temps et l'espace.
- Des troubles du langage ou de l'écriture.
- La perte de ses objets et la difficulté à retracer son parcours.
- La baisse de jugement.
- L'isolement et l'éloignement dans le monde professionnel ou dans ses activités de loisir.

- Le changement dans l'humeur et la personnalité.

L'espérance de vie lors du diagnostic de la maladie est de 3 à 9 ans suivant la sévérité de la démence^[4].

3. Diagnostic de la maladie

Le diagnostic de la maladie est le plus souvent effectué par le médecin généraliste par l'analyse de l'historique médical du patient et de sa famille en incluant les antécédents psychiatriques ainsi que les changements cognitifs et comportementaux. Le médecin se renseigne également auprès de l'entourage du patient. Il peut par la suite effectuer une évaluation cognitive par le biais de tests tel que le « Mini Mental State » ou bien encore le test des cinq mots et une évaluation physiques en se basant sur une échelle d'activités instrumentales de la vie courante (IADL – instrumental activities of Daily living). En fonction des résultats un examen biologique est réalisé. Si un trouble cognitif est avéré, différents outils d'imagerie médicale seront utilisés pour obtenir des données structurales ainsi que fonctionnelles :

- L'imagerie par résonance magnétique (IRM) permet l'obtention de données structurales du cerveau et de mettre en évidence les zones atrophiées à cause de la maladie, cela permet également d'identifier les changements du cerveau, tel qu'une tumeur ou une lésion qui pourrait expliquer les symptômes.
- La spectroscopie par résonance magnétique du proton (¹H-MRS) est une méthode analytique qui permet l'identification et la quantification des métabolites dans l'échantillon en se basant sur le même principe que la RMN. A la différence de l'IRM, l'¹H-MRS fourni des informations physiologiques et chimiques au lieu d'une image anatomique. De nombreux métabolites tels que la créatine ou la choline peuvent être ainsi étudiés, cependant dans le cadre de la maladie d'Alzheimer, le métabolite principal étudié est le N-acétyl-aspartate (NAA) car il est produit par les mitochondries neuronales et est exclusivement retrouvé dans le système nerveux. La diminution ou la disparition de NAA est un signal de la dégradation ou de la mort neuronale^[7,8].
- La tomoscintigraphie à émission de positons (TEP) permet de mesurer l'activité d'un organe, dans notre cas le cerveau par l'utilisation de traceurs marqués au

¹⁸F. Le principal traceur est le fluorodésoxyglucose (¹⁸FDG) qui permet par la suite avec l'accumulation du ¹⁸F d'effectuer une tomographie et de déterminer les zones où l'activité neuronale est altérée.

- L'imagerie TEP-traceurs de plaques amyloïdes est une technique très récente dont le principe est identique au TEP, cependant le traceur est différent. Dans ce cas, le composé B de Pittsburg (PiB) va venir se fixer sur les dépôts d'amyloïde et permet d'effectuer un diagnostic très précoce de la maladie d'Alzheimer^[9,10].

En 2011, les critères de diagnostic de la maladie d'Alzheimer ont évolué. Ceux établie en 1984 permettaient d'établir un diagnostic de la maladie à un stade déjà avancé avec des pertes de mémoire et des troubles cognitifs suffisamment importants pour impacter le quotidien du patient. Aujourd'hui trois phases ont été établies dont la première est une phase préclinique qui permet d'identifier la maladie avant les premiers signes cliniques. La seconde phase est celle où la maladie engendre des troubles cognitifs modérés, la démence est quant à elle la troisième phase. En plus de l'établissement des différentes phases, il y a également eu l'inclusion de tests avec des biomarqueurs qui peuvent être séparés en deux catégories, ceux qui mesurent l'accumulation de l'amyloïde Beta (A β) et ceux qui mesurent la dégradation neuronale et la dégénérescence.

4. Facteurs de risques

De nombreux facteurs de risques semblent être liés au développement de la maladie d'Alzheimer. Le plus grand risque est le vieillissement, la majorité des personnes diagnostiquées sont âgées de 65 ans ou plus, cependant des personnes plus jeunes peuvent être diagnostiquées^[3]. Parmi les autres facteurs de risques il y a :

- Les antécédents familiaux et le facteur génétique avec le gène de l'Apolipoprotéine E (ApoE). L'ApoE est une protéine dont le rôle est le transport lipidique. Il existe dans la population trois isoformes de l'ApoE : ϵ 2, ϵ 3 et ϵ 4. Le plus courant étant l'isoforme ϵ 3. Des études ont montré que les gens qui héritent de l'isoforme ϵ 2 semblent présenter un risque amoindrie de développer la maladie d'Alzheimer, l'isoforme ϵ 3 n'étant pas un facteur de risque, cependant les personnes héritant d'une copie de l'isoforme ϵ 4 semblent présenter une risque

de développer la maladie, ce risque semble être encore plus grand avec la présence de deux copies^[11-13].

- De nombreux facteurs de risques dans le cadre de maladies cardiovasculaires sont liés à l'augmentation du risque de développement de la maladie d'Alzheimer. Parmi ces facteurs nous retrouvons le tabagisme^[14,15], l'obésité^[16,17], les diabètes^[15,18,19], le cholestérol^[20] et l'hypertension artérielle^[21].
- Le faible niveau d'éducation semble également être un facteur de risque^[22,23].
- Les traumatismes crâniens modérés à sévères augmentent les risques de développer la maladie d'Alzheimer ou une autre forme de démence^[24].

II. Mécanismes

1. Deux dérégulations de protéines.

a) L'amyloïde- β

L'amyloïde- β ($A\beta$) est un peptide de 36 à 43 acides aminés issus de la protéolyse du précurseur de la protéine amyloïde- β (APP) par une séquence d'actions enzymatiques de la β -sécrétase ou BACE-1 et de la γ -sécrétase (**figure 1**)^[25]. En se basant sur des études de formes génétiques de la maladie d'Alzheimer incluant le syndrome de Down^[26] et sur le fait que l' $A\beta_{42}$ est toxique pour la cellule, la notion de « l'hypothèse amyloïde » est l'hypothèse qu'un déséquilibre entre la production, la clairance et l'agrégation de peptides causant une accumulation d' $A\beta$ qui est supposé comme un facteur initiateur de la maladie d'Alzheimer^[27,28].

Lors de cette accumulation, l' $A\beta$ s'agrège de façon spontanée sous la forme de plusieurs entités physiquement différentes. L'une d'elle est la formation d'oligomère soluble de deux à six peptides qui vont ensuite s'assembler entre eux pour former des entités intermédiaires qui sont également solubles^[29,30]. Il est également possible que l' $A\beta$ s'assemble sous forme de fibrilles qui vont s'arranger en feuillets β donnant ainsi des fibres insolubles appelées « plaques amyloïdes ». Cependant les oligomères et les structures intermédiaires solubles sont les formes les plus neurotoxiques d' $A\beta$ ^[31].

Dans la maladie d'Alzheimer, la quantité de ces oligomères dans le cerveau est directement corrélée avec la déficience cognitive de la maladie^[32], cependant l'activité

neuronale engendre une augmentation rapide des niveaux d'A β dans la synapse suivant un processus proche de celui des vésicules libérant les neurotransmetteurs. Il est supposé que dans les conditions physiologiques normales, l'A β pourrait diminuer la transmission de l'influx nerveux et prévenir l'hyperactivité neuronale^[33]. Pour un individu sain, c'est la dégradation de ces formes solubles d'A β par les protéases tel que la Neprilysine et l'enzyme de dégradation de l'insuline qui permet de rester à des concentrations physiologiques en A β ^[34]. Par contre la réduction de la Neprilysine engendre une accumulation cérébrale de l'A β ^[35].

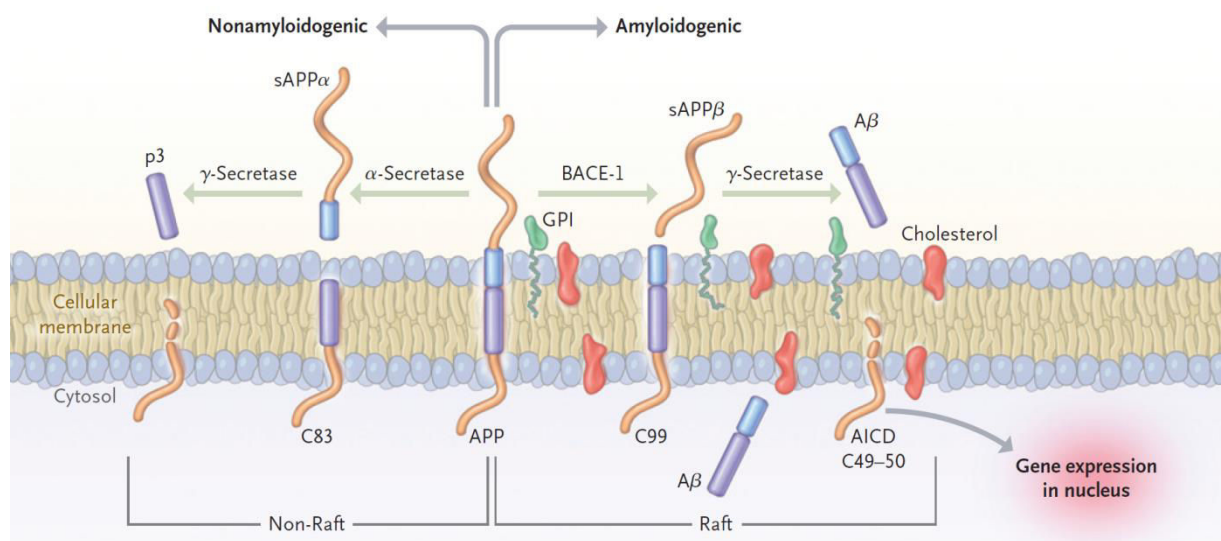


Figure 1 : Le clivage par l' α -sécrétase dans le peptide A β est l'initiation du processus non-amyloïde, libérant la protéine précurseur sAPP α et laissant les 83 résidus C-ter (C83) dans la membrane, elle sera ensuite digérée par la γ -sécrétase libérant dans le milieu extracellulaire le fragment p3 et le domaine amyloïde intracellulaire (AICD). Le processus amyloïde est initié par la β -sécrétase (BACE-1) libérant une protéine précurseur sAPP β plus petite que sAPP α laissant ainsi un fragment de 99 résidus (C99) qui va subir également l'action de la γ -sécrétase générant ainsi l'A β et AICD^[36].

b) La protéine Tau

Découverte et isolée pour la première fois en 1975 par M. W. KIRSCHNER^[37], la protéine TAU est soluble dans des conditions physiologiques normales, elle est abondamment exprimée au niveau des axones assurant l'assemblage et la stabilité des microtubules ainsi que le transport des vésicules (**figure 2**). Elle existe sous six isoformes dans les tissus cérébraux humains^[38], elle possède trois à quatre domaines de liaison (R1 à R3/R4) situés au niveau du domaine C-Terminal^[39] permettant la cohésion avec le microtubule. Elle possède également 79 sites potentiels de phosphorylation sur des Ser ou de Thr^[39]. Dans les conditions normales, la protéine est active avec environ 30 sites phosphorylés^[39]. Cependant la protéine TAU sous une forme hyperphosphorylée est insoluble, perdant ainsi son affinité pour les microtubules. Elle tend à s'agréger sous la forme de filaments en double-hélice. Dans certaines maladies neurodégénératives, tel que la maladie d'Alzheimer, ces filaments, sous la forme d'enchevêtrements neurofibrillaires, constituent des inclusions dans les neurones pyramidaux. Ces maladies sont regroupées sous le terme de Taupathie^[40]. La quantification de ces enchevêtrements neurofibrillaires est utilisée comme un marqueur de la sévérité de la maladie d'Alzheimer^[40].

Comme pour les oligomères ainsi que les structures intermédiaires de l'A β , la protéine TAU sous sa forme anormale est cytotoxique^[41] et engendre des troubles cognitifs^[42,43]. Les filaments hélicoïdaux semblent inertes, toutefois la diminution du transport axonal et le nombre de neurones sont indépendants de la quantité d'enchevêtrements neurofibrillaires^[44]. Ces filaments, par un procédé qui semble être neuroprotecteur, séquestrent l'intermédiaire toxique de la protéine TAU^[45].

Dans le cas de la démence frontotemporale avec syndrome Parkinsonien, plus de 30 mutations sur le gène codant la protéine TAU, porté par le chromosome 17, ont été détectées^[46]. A la différence, dans la maladie d'Alzheimer, aucune mutation de TAU n'est impliquée, de plus l'étendue de la mort neuronale est non proportionnelle à la quantité d'enchevêtrements fibrillaires^[47]. Par contre l'augmentation de la quantité de la protéine TAU phosphorylée ou non dans le liquide cébrospinal est directement corrélée avec les scores obtenus lors des examens cognitifs^[48].

Des études ont également montré qu'une accumulation de l'A β serait à l'origine de l'agrégation de la protéine TAU^[49-51]. De plus la dégénération des cultures cellulaires ainsi que les déficits cognitifs des souris modélisant la maladie d'Alzheimer qui sont induits par l'A β nécessitent la présence endogène de la protéine TAU^[52,53].

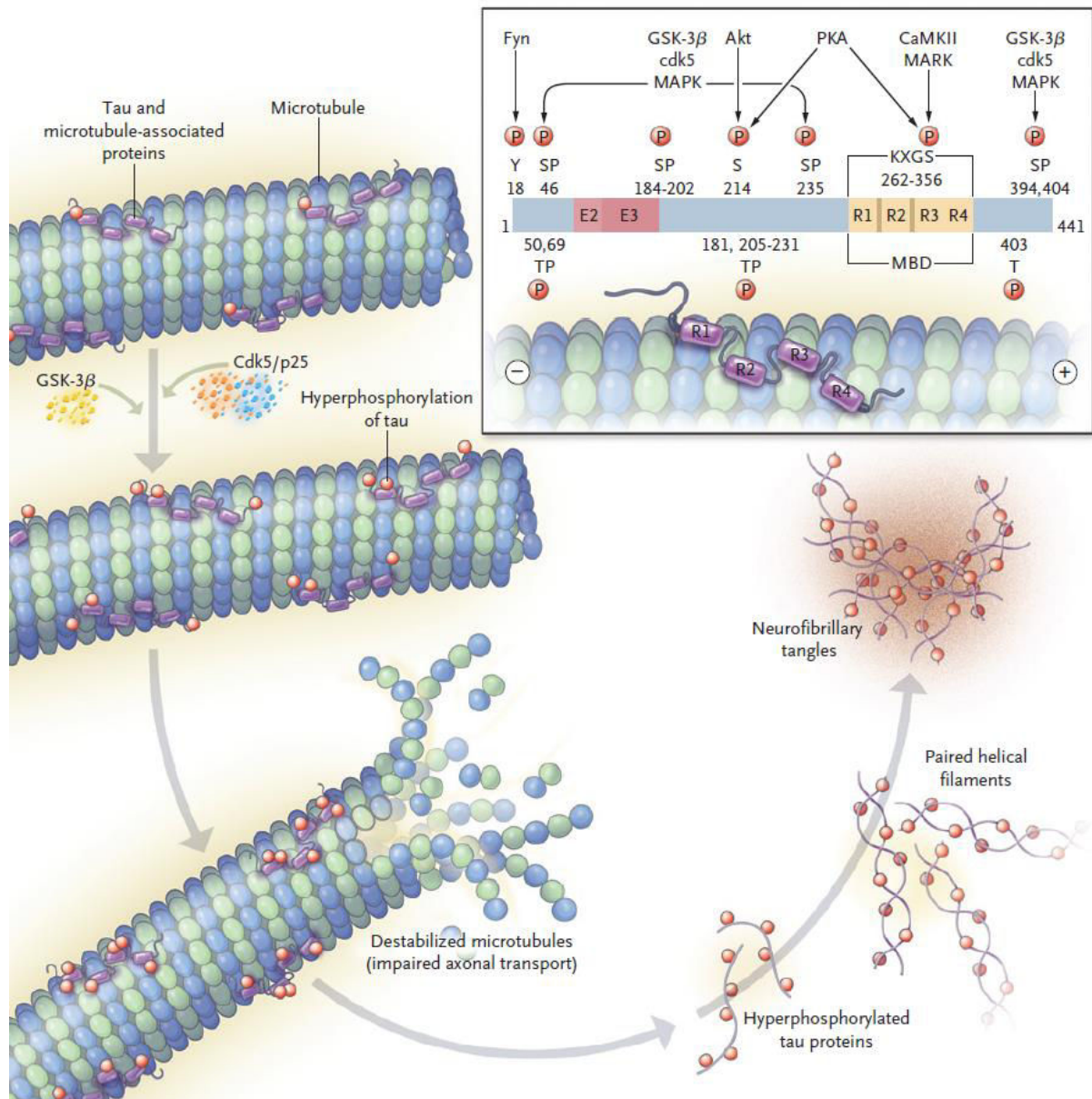


Figure 2 : la répétition des séquences R1 à R4 forme le domaine de liaison au microtubule de la protéine TAU. La phosphorylation dans les conditions physiologiques normales de la protéine se fait sur des résidus sérine (S) et thréonine (T) par différentes kinases. L'hyperphosphorylation de la protéine engendre une déstabilisation du microtubule avec la formation de doubles hélices de protéines TAU qui vont conduire à des amas insolubles^[36].

2. La synapse.

Au-delà de ces dérégulations protéiques, le dysfonctionnement synaptique est impliqué dans la maladie d'Alzheimer (**figure 3**). Cela se traduit par deux mécanismes :

- La défaillance synaptique, qui peut être la cause primaire de la maladie d'Alzheimer^[54]. Chez les patients avec une détérioration moyenne de leurs fonctions cognitives, une diminution du nombre de synapses au niveau de l'hippocampe a été observée^[55], cependant un phénomène compensatoire s'est mis en place par l'augmentation de la taille des neurones qui sont encore présents^[55]. Chez les personnes atteintes d'une forme plus avancée de la maladie, la perte synaptique est disproportionnée par rapport aux neurones, cette perte est très bien corrélée avec le niveau de démence^[56-58]. Le facteur de vieillissement lui-même est une cause de la perte synaptique^[59], ce qui affecte particulièrement le gyrus dentelé de l'hippocampe^[60].

Des études sur des coupes de cerveaux de souris utilisées comme modèle pour la maladie d'Alzheimer mis en présence d'A β ont démontré une diminution de l'influx nerveux^[61]. Cette diminution engendre une inhibition de la production de molécules impliquées dans la mémorisation avec une interruption de la libération des neurotransmetteurs du côté présynaptique^[62,63] ainsi qu'une endocytose partielle des récepteurs au glutamate avec d'autres récepteurs de surface tel que le récepteur canal activé par le N-méthyl-D-aspartate (NMDA) au niveau postsynaptique^[64], ce qui a pour effet la diminution de l'activité synaptique. Un phénomène similaire à celui-ci est observé lors du vieillissement, cependant l'accumulation intraneuronale d'A β peut être le facteur déclencheur prématuré de ces déficits^[65].

- Impliquées dans la prolifération, la différenciation et la survie du neurone et du gliome, les neurotrophines sont des polypeptides qui permettent l'apprentissage et la mémorisation, elles sont également impliquées dans le comportement. Dans des conditions physiologiques normales, elles sont présentes à forte dose dans les neurones cholinergiques du cerveau antérieur basal, cependant dans le cas d'un stade avancé de la maladie d'Alzheimer leurs concentrations sont très réduites. Lors de l'expérimentation sur l'animal, l'injection de facteurs de croissance neuronale a permis de sauver certains neurones^[66], de plus une étude clinique de phase I d'un traitement impliquant ces

facteurs de croissance a montré une amélioration des fonctions cognitives et du métabolisme du cerveau^[67].

Le récepteur nicotinique à l'acétylcholine $\alpha 7$ (nAChR $\alpha 7$) est essentiel dans le processus cognitif. Son niveau augmente dans les phases précoces de la maladie d'Alzheimer^[68], pour ensuite décroître à des stades plus avancés^[69]. Des travaux ont permis de montrer que l'A β se lie au récepteur nAChR $\alpha 7$, ce qui a pour conséquence une diminution de la libération d'acétylcholine^[70]. De plus chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, le nombre de récepteurs muscariniques à l'acétylcholine est également réduit^[71]. L'utilisation d'inhibiteurs de cholinestérases ainsi que des modulateurs de récepteurs nAChR $\alpha 7$ améliore la neurotransmission et permet de fournir un soulagement d'efficacité moyenne dans la maladie, cette efficacité diminuant avec le temps. Actuellement des essais cliniques dans le développement d'agonistes sélectifs des récepteurs muscariniques ont montré une amélioration de la fonction cognitive^[72] ainsi qu'une diminution de la concentration d'A β dans le liquide céphalo-rachidien^[73].

Le grand nombre d'études sur la maladie d'Alzheimer a permis de mettre en évidence sa complexité. Effectivement de nombreuses perturbations métaboliques sont observées chez les patients lors de la maladie :

- L'A β est un poison mitochondrial^[74]. Il possède une action inhibitrice sur la mitochondrie empêchant celle-ci d'exercer ses rôles enzymatiques dans le cerveau^[75,76]. Ce qui a pour principal effet d'engendrer un stress oxydatif par la libération de radicaux libres^[77,78].
- Dans certain cas d'Alzheimer, le nombre de récepteurs à l'insuline, le nombre de protéines transportant le glucose ainsi que d'autres éléments impliqués dans la voie de l'insuline est diminué^[79].
- Des maladies ischémiques affectent entre 60 à 90% des patients diagnostiqués, les infarctus représentent environ un tiers des cas autopsiés avec des lésions vasculaires^[80,81].
- La présence de plaques séniles active les microgliomes qui vont endocyter l'A β , cependant l'activation chronique de ces cellules engendre une libération de chémokines et ainsi une cascade destructrice impliquant des cytokines^[82].

- Il est courant d'observer une perte de la régulation calcique dans certaines maladie neurodégénératives, dans le cas de la maladie d'Alzheimer, les concentrations de calcium cytosoliques sont augmentées, ce qui stimule l'agrégation de l'A β [83,84].

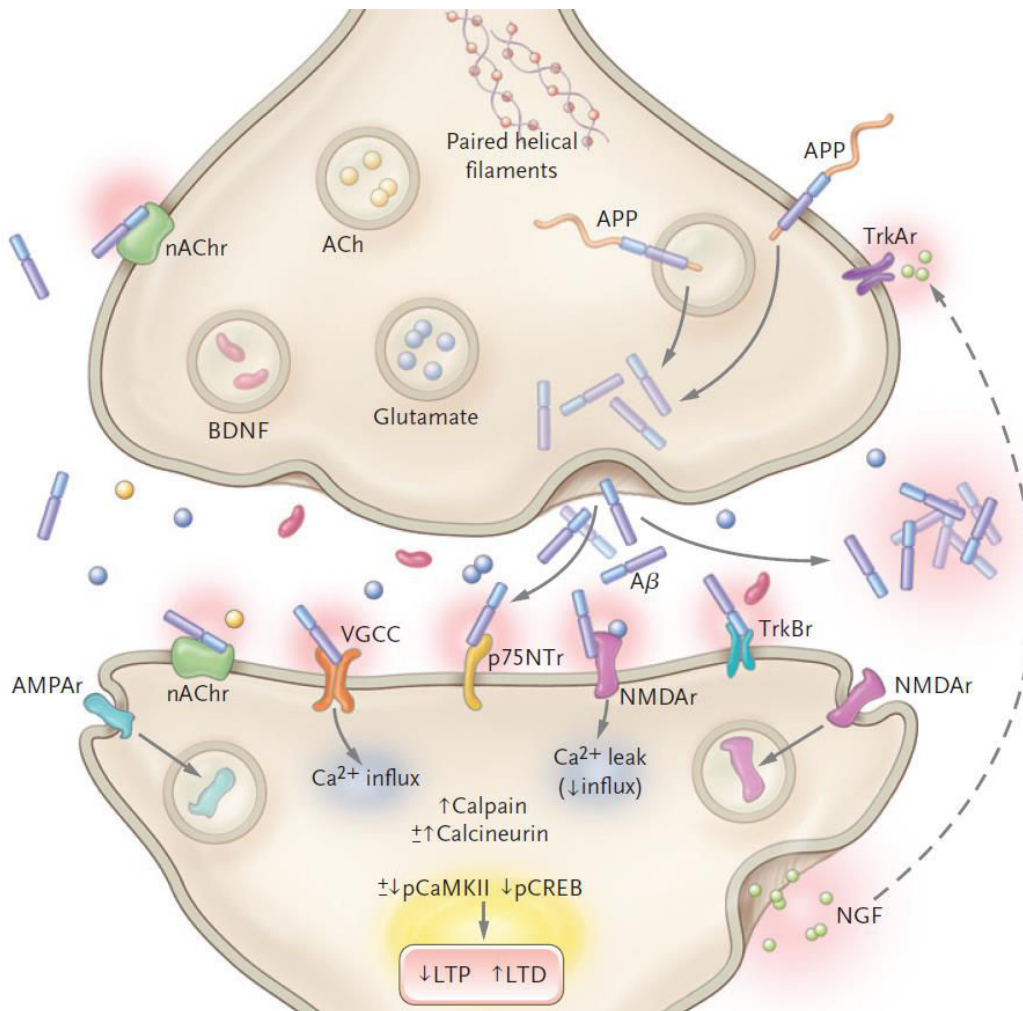


Figure 3 : La perte synaptique est très bien corrélée avec la dégénérescence dans la maladie d'Alzheimer. Les anneaux représentent des vésicules. Des travaux ont montré que l'A β est responsable de l'altération de la plasticité synaptique par modification de la balance entre la potentialisation à long terme (LTP) et la dépression à long terme (LTD) ainsi que la réduction du nombre de synapses. La forte concentration d'oligomères A β supprimerait l'influx nerveux basal. L'A β faciliterait l'endocytose des récepteurs NMDA (NMDAr) ainsi que les récepteurs AMPA (AMPAr). L'A β se lie aux récepteurs p75 à la neurotrophine (p75NTr) ainsi qu'au récepteur tyrosine kinase B (TrkB). L'A β vient également perturber les récepteurs à l'acétylcholine (nAChr) perturbant ainsi la libération d'acétylcholine (ACh) dans la synapse. – Signification des sigles suivants : protéine précurseur amyloïde (APP), protéine kinase 2 phosphorylé calcium-calmoduline dépendante (pCaMKII), Phosphorylated cyclic adenosine-3',5'-Monophosphate-Response Element Binding protein (pCREB), récepteur tyrosine kinase A (TrkAr) et canal calcium voltage dépendant (VGCC)[36].

III. Traitement

Actuellement il n'existe aucun traitement qui permet la guérison de la maladie d'Alzheimer, ni même de stopper l'évolution de celle-ci. Cependant il existe une prise en charge médicamenteuse qui peut varier par rapport à l'évolution de la démence permettant de ralentir l'évolution de celle-ci.

1. Les inhibiteurs de cholinestérases

L'un des neuromédiateurs le plus important que l'on retrouve dans la fente synaptique au niveau des régions impliquées dans la mémorisation est l'acétylcholine (ACh). Dans le cas de la maladie d'Alzheimer, il y a une dégradation importante des neurones cholinergiques au niveau du prosencéphale, ayant pour conséquence la diminution des transmissions cholinergiques^[85]. Cette hypothèse a été pour la première fois évoquée en 1982^[86], elle est maintenant clairement établie. Cette perte est corrélée avec la dégénérescence cognitive ainsi que la densité des plaques séniles^[87,88]. Une diminution des enzymes choline-acétyltransférases permet la synthèse de l'acétylcholine au niveau de l'hippocampe et dans le cortex cérébral^[89]. Une approche pour améliorer les fonctions cognitives dans le cas de la maladie d'Alzheimer a été de moduler les systèmes cholinergiques en inhibant des cholinestérases, des enzymes qui hydrolyse l'acétylcholine au niveau du cerveau^[90]. Le fait de bloquer l'action de ces cholinestérases permet d'augmenter les concentrations d'acétylcholine au niveau synaptique et ainsi d'améliorer les fonctions cognitives par l'augmentation des transmissions^[91]. Actuellement sur le marché il existe quatre molécules inhibitrices de ces cholinestérases.

a) Le Donepezil - ARICEPT®

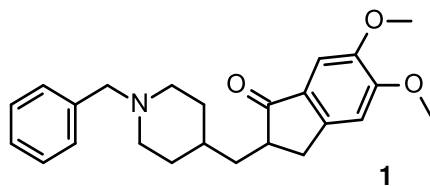


Figure 4 : structure du Donepezil 1

Vendu par les laboratoires Eisai Pharmaceuticals et Pfizer sous la forme de comprimés, il fut dans un premier temps indiqué pour les cas modérés de la maladie d'Alzheimer, ce n'est que plus tard que ce composé fut également indiqué dans les formes sévères de la maladie^[92]. Le Donepezil **1** (figure 4), de la famille des pipéridines, est un inhibiteur non compétitif et se lie de façon réversible avec une grande sélectivité^[90]. Du fait de sa grande demi-vie plasmatique et de sa faible activité anticholinestérase périphérique, l'administration peut être effectuée une fois par jour^[93].

b) La Rivastigmine - EXELON®

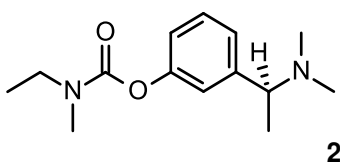


Figure 5 : structure de la Rivastigmine 2

Développée par les laboratoires Novartis, la Rivastigmine **2** (figure 5) est indiquée dans le cas de démences légères à modérées de la maladie d'Alzheimer. Faisant partie de la famille des carbamates, elle est considérée comme un inhibiteur effectuant une action réversible, du fait que l'action persiste longtemps après la diminution des concentrations plasmatiques, cette molécule qualifiée de « pseudo-irréversible »^[94]. Ce

médicament a initialement été commercialisé sous la forme d'une solution buvable, il est maintenant disponible sous la forme d'un patch transdermique qui améliore grandement les conditions thérapeutiques des patients effectuant de nombreuses prises médicamenteuses, cela permet une meilleure observance^[95,96].

c) La Galantamine - REMINYL®

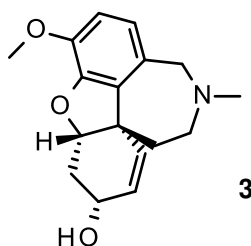


Figure 6 : structure de la Galantamine 3

Développée par les laboratoires Janssen^[97], la Galantamine **3 (figure 6)**, faisant partie de la famille des alcaloïdes avec une amine tertiaire, est un inhibiteur compétitif et réversible cependant elle n'est pas spécifique des cholinestérases car elle module également les récepteurs nicotiques à l'acétylcholine de façon allostérique augmentant les transmissions nicotergiques^[98]. Ce médicament est indiqué dans les cas de démences légères à modérées de la maladie d'Alzheimer^[98]. Initialement le traitement sous la forme de comprimés à libération immédiate nécessitait deux prises journalières, maintenant une capsule à libération prolongée est également disponible permettant de n'effectuer qu'une seule prise journalière^[99].

d) La Tacrine - COGNEX®

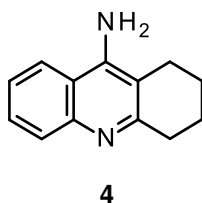


Figure 7 : structure de la Tacrine 4

Développée par les laboratoires Pfizer et vendue sous la forme de gélules avec quatre prises journalière. La Tacrine **4 (figure 7)** fait partie de la famille des acridines. Du fait de son grand nombre d'effets secondaires, ce traitement a été abandonné aux Etats-Unis.

2. Antagoniste du NMDA

a) La Mémantine – EBIXA®

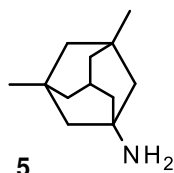


Figure 8 : structure de la Mémantine 5

Découverte en 1968 par les laboratoires Eli Lilly & Co, l'AMM n'a été obtenue qu'en 2002 en Europe et en 2003 aux Etats-Unis par d'autres laboratoires tel que les laboratoires Lundbeck pour la commercialisation en France^[100]. La Mémantine **5 (figure 8)** est un antagoniste non compétitif et d'affinité moyenne du récepteur NMDA^[100,101], la molécule vient bloquer l'entrée du canal lors de son ouverture durant un laps de temps trop important. La suractivité de ce récepteur canal, causée par une libération excessive de glutamate, engendre une augmentation de l'entrée d'ions Ca²⁺. Cette excitotoxicité est

corrélée à la perte de mémoire dans le cas de la maladie d'Alzheimer^[102]. L'action de la Mémantine est fortement dépendante du voltage. Ce composé présente également une cinétique rapide de déblocage des canaux, dans les conditions physiologiques normales, la Mémantine va avoir une faible action du fait du court temps d'ouverture du canal, cependant lors de l'excitotoxicité ou d'une suractivation des récepteurs NMDA la Mémantine viendrait bloquer ces canaux. C'est l'hypothèse proposée pour expliquer l'amélioration de la fonction synaptique, de la mémoire et le ralentissement de la dégénérescence cognitive^[103,104]. Disponible sous la forme de comprimés aussi bien que sous la forme d'une solution buvable, le traitement exige plusieurs prises journalières, cependant dans certains pays, il existe une forme à libération prolongée ne nécessitant qu'une seule administration quotidienne^[105].

3. Nouvelles approches

Les seuls traitements disponibles aujourd'hui permettent seulement d'apporter une amélioration des fonctions cognitives par de méthodes compensatoires sans traiter la cause de la maladie. Cela permet uniquement d'améliorer le quotidien des patients en ralentissant au maximum l'apparition inéluctable des symptômes.

Les développements de nouveaux traitements pour la maladie d'Alzheimer suivent aujourd'hui deux approches différentes^[106] :

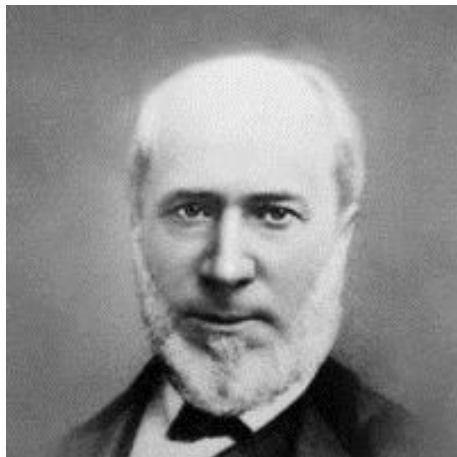
- Le développement de traitements symptomatiques dans le but d'améliorer les fonctions cognitives. Cette approche présente encore un grand intérêt pour le monde de la recherche, effectivement, le recensement de l'ensemble des essais cliniques dans le cadre de la maladie d'Alzheimer à montrer que cette voie continue d'évoluer, cependant les traitements de ce type ne permettront pas la guérison de la maladie, c'est le cas des traitements actuels.
- Le développement de traitements dont le but est de cibler directement le mécanisme de la maladie. Cette approche présente un intérêt encore plus important. Effectivement, ici la cible est directement le mécanisme de la maladie. Le nombre d'essais cliniques est grandissant. Le développement de petites molécules ainsi que l'immunothérapie représentent à eux seul plus de

45% de l'ensemble des essais cliniques effectués dans le cadre de la maladie (plus de 85% dans cette voie d'approche).

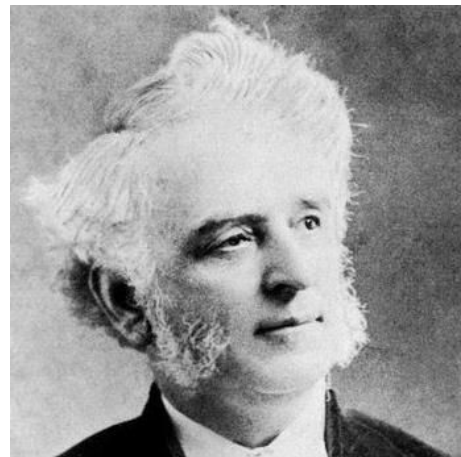
La complexité de la maladie d'Alzheimer fait que la majorité de ces essais cliniques n'aboutissent pas à une AMM, durant la période de 2002 à 2012, 413 essais cliniques ont été effectués ou bien sont encore en cours avec seulement 0.4% d'entre eux qui aboutissent à une AMM^[106]. Le dernier échec connu est celui de Bapineuzumab co-développé par les laboratoires Elan et Wyeth, suite à des acquisitions, ce sont les laboratoires Johnson & Johnson et Pfizer qui continuent le programme. Le Bapineuzumab est un anticorps monoclonal qui reconnaît l'A β , cependant l'essai clinique de phase 3 n'a pas permis de mettre en évidence une meilleure activité que le placebo, forçant les laboratoires à mettre un terme au projet.

B. Le syndrome de Down.

1. Découverte - contexte.



Edouard Seguin (1812 - 1880). Il fut un médecin et pédagogue français. ^(†3)



John Langdon Down (1828 - 1896). Il fut un médecin britannique. ^(†4)

^(†) - Cf. partie crédits photos

En 1846, le Dr Edouard SEGUIN effectue pour la première fois une description détaillée d'une forme de débilité mentale s'accompagnant de traits morphologiques particuliers à laquelle il a attribué le nom d'idiotie furfuracée. C'est en 1866 qu'un médecin anglais, le

Dr John LANGDON DOWN, décrit à nouveau cette arriération mentale et effectua une description phénotypique du syndrome. Il fit de cet ensemble de symptômes une entité médicale spécifique à laquelle il associa son nom. Nous devons également à ce médecin les termes de « mongolisme » ou « d'idiotie mongolienne » du fait du caractère phénotypique mongoloïde de ce syndrome.

Le syndrome de Down est une maladie chromosomique congénitale causée par la présence d'un chromosome 21 supplémentaire. Cette caractéristique génétique fut mise en évidence par R. TURPIN, M. GAUTHIER et J. LEJEUNE, une équipe française en 1959^[107]. Une équipe américaine sous la direction de P. JACOBS est arrivée aux mêmes conclusions durant cette même année^[108]. C'est suite à cette découverte que le terme de trisomie 21 fut proposé du fait de la présence d'un troisième chromosome 21.

Aujourd'hui, en moyenne un enfant sur 700 à 1000 naît porteur de la pathologie, on estime qu'il y a environ 60 millions de personnes trisomiques dans le monde avec plus de 50 000 en France.

Une étude américaine plus poussée, effectuée dans dix régions des Etats-Unis, montre une incidence de un cas pour 800 grossesses avec une prévalence de 11,8 pour 10 000 naissances en 2003. De plus la prévalence varie de façon croissante avec l'âge de la mère^[109].

2. La maladie

Le syndrome de Down est une maladie chromosomique, elle est due à un nombre anormal de chromosomes. Cette maladie est également appelée trisomie 21 du fait de la présence d'un troisième chromosome 21. Cette anomalie est mise en évidence de façon fiable par un caryotype (**Figure 9**).

Dans plus de 95% des cas, la forme de trisomie 21 est dite libre ou homogène, elle est causée par la présence d'un chromosome surnuméraire entier. Dans ce cas, toutes les cellules du zygote, et plus tard de l'individu, seront porteuses de cette anomalie. Elle est pour la grande majorité des cas d'origine maternelle. C'est au cours d'une méiose lors de la formation des gamètes, qu'il y a non séparation du chromosome 21 et ainsi le zygote formé se retrouve avec trois copies de ce chromosome.

Une autre forme de la trisomie 21 est dite mosaïque ou hétérogène, elle représente 2% des cas et est définie par la présence de deux types cellulaires, l'un comportant le bon nombre de chromosomes et l'autre possédant trois copie du chromosome 21, l'origine provenant d'un accident mitotique durant l'embryogenèse.

Une dernière forme existe et représente 3% des cas. C'est une trisomie par translocation Robertsonienne, elle est d'origine parentale. Cette trisomie se manifeste par la présence d'une troisième copie du chromosome 21 sur un autre chromosome, le plus souvent sur le chromosome 14 ou plus rarement sur le chromosome 22. Dans cette forme, toutes les cellules sont trisomiques, cependant le diagnostic par caryotype reste difficile.

En plus de ces formes de trisomie concernant un chromosome entier, il existe également le cas d'une trisomie partielle dans laquelle seulement un fragment du chromosome supérieur à 5 Mb est présent en 3 exemplaires. Ce type d'anomalie, bien que très rare, résulte d'un accident lors de la méiose^[110].

Il existe également le cas d'une microtrisomie dans lequel un fragment d'environ 0.5Mb est impliqué, cependant le diagnostic ne pourra se faire que par hybridation génomique comparative. Il a également été démontré qu'il est possible d'avoir une duplication d'un seul gène, c'est le cas de certain cancers tumoraux présentant une instabilité chromosomique, cependant les modèles d'études restent principalement ceux qui présentent une trisomie dans toutes les cellules^[110].

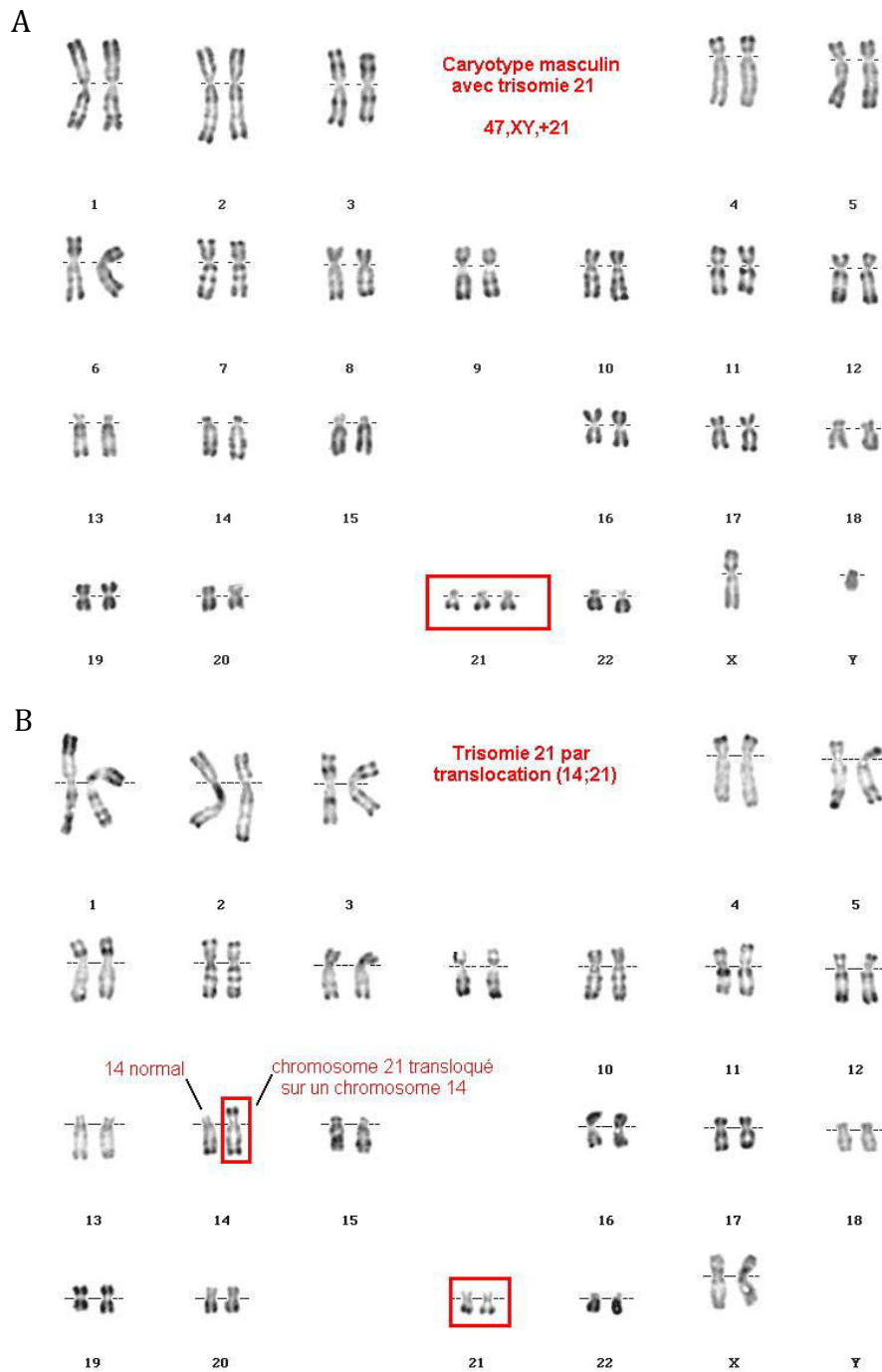


Figure 9 : (A) Caryotype masculin présentant une trisomie 21 avec trois chromosomes 21 entiers. (B) Caryotype féminin présentant une trisomie 21 par translocation Robertsonienne de la troisième copie sur le chromosome 14. ^(†5)

^(†) – Cf. partie crédits photos

3. Diagnostic

Aujourd'hui, le caryotype reste le diagnostic le plus couramment utilisé permettant d'identifier de façon très fiable une trisomie 21, mais également d'autres sortes d'aneuploïdies ou translocations. Récemment, d'autres méthodes de diagnostic fiables ont été développées, tel que l'hybridation *in situ* par fluorescence durant l'interphase pendant une division cellulaire mais également par la technique de PCR quantitative à fluorescence^[110,111]. Il existe également des techniques reposant sur le principe d'hybridation par l'utilisation de sondes qui mesurent le nombre de séquences d'ADN^[112-114]. La technique d'hybridation génomique comparative sur des puces à ADN (microarray) permet le diagnostic d'une trisomie totale ou partielle mais également d'une monosomie^[115,116].

Les individus qui sont atteints du syndrome de Down présentent plusieurs caractéristiques typiques qui permettent d'effectuer un diagnostic sur le plan clinique.

- Le retard mental, présent dans 100% des cas. En clinique, la déficience intellectuelle est définie par un QI inférieur à 70. Dans le cas des patients présentant le syndrome de Down avec un retard mental modéré à sévère, le QI est généralement compris entre 25 et 55 avec une régression avec l'âge.
- Une hypotonie musculaire qui se manifeste dès la naissance ainsi qu'une hyperlaxité des ligaments. Ces caractéristiques engendrent l'apparition de scoliose, de luxation, d'une instabilité des articulations, ainsi que d'autres complications telle que la protrusion de la langue et de l'abdomen qui engendre une déformation du tronc^[117].
- La plupart des caractéristiques typiques sont sur le plan morphologique, elles se manifestent sur l'ensemble de l'organisme.
 - L'extrémité céphalique est caractérisée par une dysmorphie cranio-faciale avec une brachycéphalie. Le visage est arrondi, élargi et aplati, le nez est également aplati et élargi à sa base. Les fentes palpébrales sont le plus souvent obliques et de phénotype mongoloïde, les yeux présentent fréquemment un hypertélorisme. Les oreilles quant à elles sont petites, bassement implantées et mal repliées.

- Les membres supérieurs et inférieurs sont généralement plus courts, cependant les déformations sont prédominantes au niveau des articulations des membres inférieurs avec de fortes fréquences de luxation. Les mains sont courtes et trapues avec dans 60% des cas la présence d'un pli palmaire unique contre 1 à 2 % dans la population générale. L'affaissement de la voûte plantaire engendre des pieds plats qui sont également courts et épais avec le premier espace entre les orteils élargi.

4. Pathologies associées

Suite aux nombreuses dérégulations engendrées par la trisomie 21, de nombreuses pathologies somatiques lui sont associées tel que des pathologies cardio-vasculaires. Les malformations cardiaques sont la première cause de mortalité chez les personnes trisomiques^[118]. Il y a également des pathologies digestives avec une malformation digestive qui engendre une obstruction du duodénum ou une mauvaise communication entre l'œsophage et la trachée ainsi que des pathologies endocriniennes telle qu'une hypothyroïdie congénitale ou acquise. Le déficit d'hormone de croissance est responsable du retard de croissance ainsi que de la petite taille des individus trisomiques. Ces individus présentent également des troubles oculaires, oto-rhino-laryngologiques, broncho-pulmonaires, dermatologiques ainsi que des pathologies ostéo-articulaires. En ce qui concerne les pathologies néoplasiques, certaines sont sous représentées dans le cas de la trisomie 21, faisant de la maladie génétique le seul exemple qui protège de l'apparition de certaines tumeurs solides. Cependant d'autres tumeurs solides peuvent être relativement fréquentes, laissant supposer que certains gènes impliqués sont situés sur le chromosome 21^[118-120], par contre le risque de développer une leucémie est bien supérieur pour un enfant trisomique que son homologue sain^[119,121-123], de plus la leucoblastose transitoire du nourrisson est une maladie spécifique des patients atteints d'une trisomie 21^[119,121,122]. Les individus porteurs de la trisomie 21 développent des pathologies neurologiques et neuropsychiatriques. Plusieurs études ont montré qu'une neuropathologie similaire à la

maladie d'Alzheimer se développe chez l'individu trisomique à partir de 40 ans avec l'apparition de plaques séniles, l'accumulation d'A β et une dégénérescence neurofibrillaire. Des études récentes ont montré que les quantités d'A β soluble sont supérieures chez un trisomique que chez une personne non trisomique, de plus les niveaux d'A β sont supérieurs chez un trisomique âgé de 40 ans ou plus que chez le trisomique plus jeune, la cause la plus probable viendrait de la localisation du gène de l'APP sur le chromosome 21, ce qui engendrerait une surproduction de cette protéine^[118,124-128].

5. Le chromosome 21

Le chromosome 21 (**figure 10**) est le plus petit des autosomes, il est acrocentrique et son bras long noté 21q (21p pour le bras court) est constitué de 33.6Mb qui ont été séquencées dans leur quasi-totalité en l'an 2000 et représentent environ 1,5% de l'ensemble du génome humain. Aujourd'hui, plus de 271 gènes ont été répertoriés, cependant seulement 243 sont identifiés dont 87 sont des pseudogènes. De nombreux travaux ont permis d'identifier des gènes similaires dans le modèle murin et de les localiser sur trois chromosomes différents, MMU10, MMU16 et MMU17^[110].

Des études sur les patients porteurs de la trisomie 21 partielle à la fois sur leur génome ainsi que sur leur phénotype ont permis de déterminer une région particulièrement impliquée dans le syndrome de Down qui est liée à des signes bien caractéristiques tel que le retard mental ou bien le développement précoce de la démence liée à la maladie d'Alzheimer. Cette région a été dénommée « Down's Syndrome Critical Region » (DSCR ou DCR-1)^[129,130]. Elle est constituée d'environ une trentaine de gènes qui ont été identifiés, tel que le gène codant pour la protéine DYRK1A qui a fait l'objet de nombreuses études du fait de son implication connue dans le développement de la maladie d'Alzheimer.

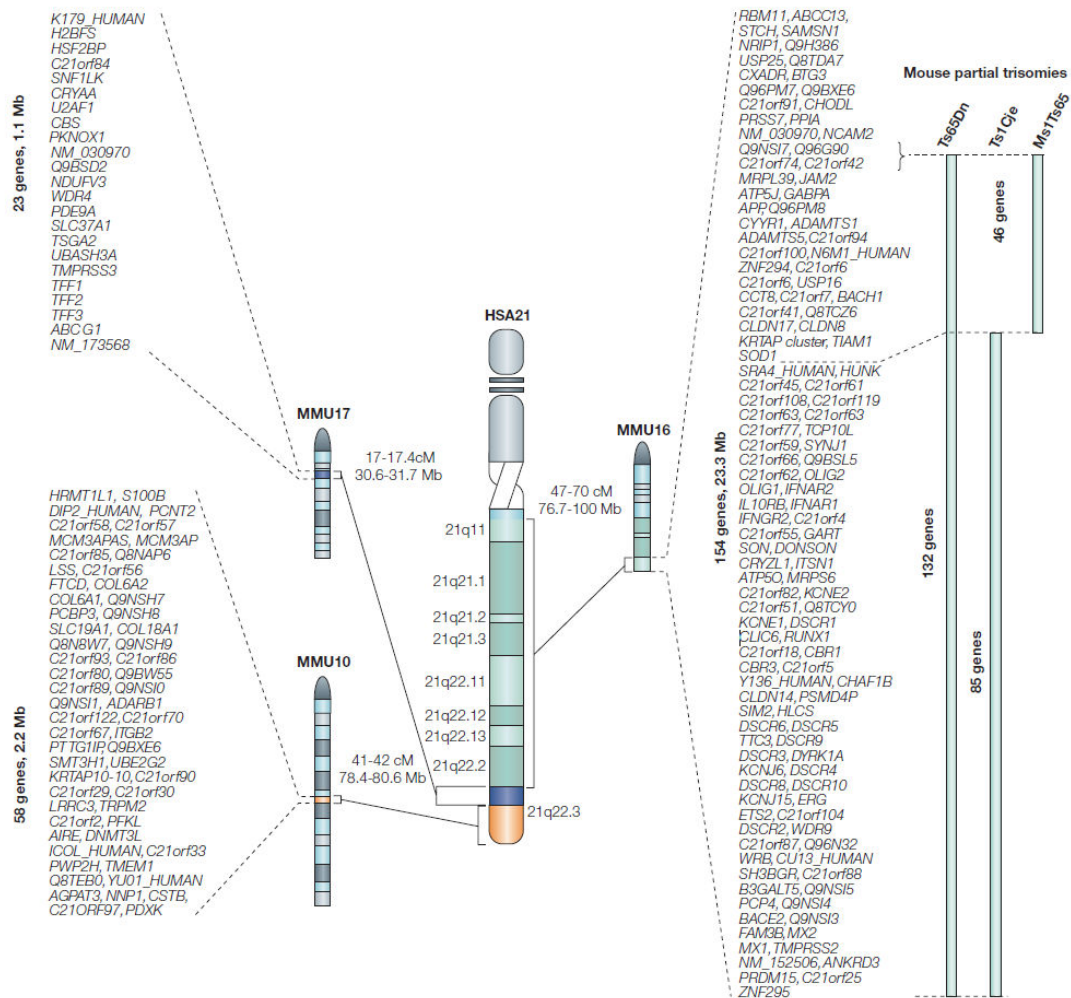


Figure 10 : Chromosome 21 humain, ses trois homologues murin et les protéines codées^[110].

C. Les Kinases

I. Généralités

Les kinases sont des enzymes qui catalysent les réactions de phosphorylation dont le mécanisme se définit par le transfert d'un groupement γ -phosphate d'un ATP (ou du GTP pour quelques exceptions) sur son substrat, généralement une autre protéine (voire la protéine elle-même) possédant un groupement hydroxyle libre, ces groupements étant présents sur les résidus sérine (Ser), thréonine (Thr) et tyrosine

(Tyr) (dans certaines conditions, il est possible que le transfert se fasse sur un groupement azoté, un carboxyle ou un autre groupement phosphate)^[131,132].

Le mécanisme de phosphorylation/déphosphorylation (**figure 11**) est l'un des mécanismes le plus courant dans la cellule. Il est considéré pour la première fois comme un mécanisme de régulation par E. G. KREBS et E. H. FISCHER dans les années 1950 durant leurs travaux sur les phosphorylases ainsi que leur découverte de la kinase phosphorylase^[133], travaux qui leur ont valu le prix Nobel de médecine en 1992. La seconde protéine kinase, qui fut découverte dans les années 1960, n'est autre que la protéine kinase AMP-cyclique dépendante (PKA)^[134].

Dans les années 1910 F. P. ROUS a prouvé que les virus peuvent être une cause de l'apparition d'un cancer, il a obtenu le prix Nobel de médecine pour ses travaux seulement en 1966. Dans les années 1970 les travaux de J. M. BISHOP et H. E. VARMUS ont permis de déterminer que c'est la protéine kinase V-Src, isolée à partir du virus *Rous sarcoma*, qui est responsable de l'apparition du cancer^[135]. C'est un peu plus tard qu'ils ont fait la découverte, chez la poule saine, d'une protéine structurellement proche de V-Src qu'ils ont appelé C-Src (pour Cellular-Src)^[136]. Dans le début des années 1980, le séquençage de la protéine a démontré que C-Src est une protéine tyrosine kinase^[137]. L'ensemble de leurs travaux, récompensé par un prix Nobel de médecine en 1989, a permis de mettre en évidence l'incroyable diversité des protéines kinases.

Il est estimé que près de 30% des protéines cellulaires subissent une phosphorylation sur au moins l'un de leurs résidus. On suppose qu'il y a environ 10 000 protéines différentes au sein d'une cellule typique d'eucaryote, avec une longueur moyenne d'environ 400 acides aminés avec ~17% des résidus qui peuvent être phosphorylés (avec ~8,5% de Ser, ~5,7% de Thr et ~3,0% de Tyr) ce qui fait ~700 000 sites de phosphorylation potentiel^[132]. Ces mécanismes de phosphorylation/déphosphorylation sont régis par les protéines kinases qui font partie d'une grande famille de protéine que l'on appelle le kinome, cela représentant près de 1,7% du génome^[138-140]. De par leurs similitudes au niveau de leurs rôles de catalyse d'un transfert d'un même groupement phosphate lors d'une réaction de phosphorylation avec l'usage d'un donneur de groupement identique (ATP), les kinases présentent également une grande diversité au niveau de leurs conformations spatiales ainsi que dans leurs mécanismes de reconnaissance de leur substrat^[131,141].

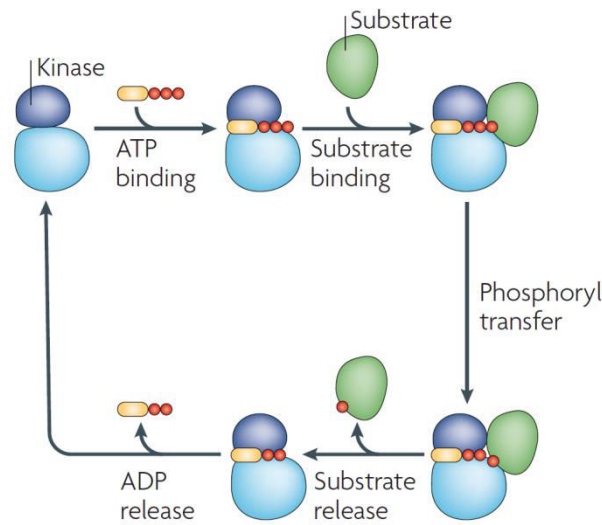


Figure 11 : Les protéines kinase partagent un même mécanisme de phosphorylation/déphosphorylation^[132].

Il existe plusieurs méthodes de classification des protéines kinases. La principale, établie par S. HANKS et T. HUNTER en 1995 avec les premières kinases découvertes^[142], repose sur l'homologie ou le degré de similitude de celles-ci, dans ce cas les protéines kinases appartiennent à deux superfamilles : avec 478 gènes codant la majorité des protéines kinases, il y a la famille des protéines kinases eucaryotiques (ePK) et la famille des protéines kinases atypiques (aPK) avec 40 gènes codants^[138,142].

La différence entre ces deux superfamilles se fait au niveau de la séquence du domaine catalytique. Concernant les protéines ePK, une similitude du domaine catalytique est observée^[132,138,143], cependant il existe de légères variations ce qui permet une classification par groupe au sein de cette superfamille, dans laquelle nous retrouvons le groupe CMGC (dont la protéine DYRK1A fait partie) (**figure 12**). Parmi les protéines de la superfamille aPK, certaines présentent une activité biochimique cependant elles n'ont pas de similitudes au niveau de leur séquence avec les ePK. Certaines aPK possèdent une similitude structurale avec les domaines des ePK^[138].

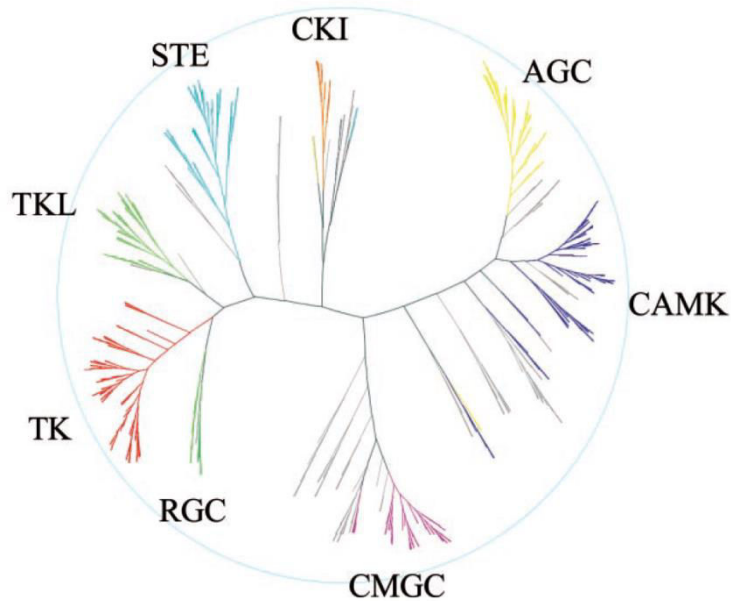


Figure 12 : Dendrogramme de 491 domaines ePK codés par 478 gènes^[138].

L'autre grande méthode de classification consiste à prendre en considération uniquement le domaine catalytique de ces protéines, plus précisément sur son mode d'action catalytique. Nous pouvons par cette méthode distinguer trois classes principales :

Les protéines sérines/thréonines kinase (Ser/Thr ou STPK) qui regroupent environ 80% des protéines kinases. Comme leur nom l'indique, ces protéines permettent la phosphorylation des résidus Ser et Thr. Dans cette famille nous retrouvons principalement les : PKA, PKC, PKG, CAMK, MAPK, GSK3^[132].

Les protéines tyrosines kinase (TPK) regroupent les kinases qui catalysent la phosphorylation des résidus Tyr. Ces kinases peuvent être divisées en deux groupes bien distincts :

- Celles qui sont cytoplasmiques et nucléaires, elles permettent la phosphorylation d'un résidu tyrosine par la reconnaissance d'une séquence d'acides aminés bien définie d'un substrat autour de son site actif (également appelée séquence consensus d'une protéine substrat), cependant de telles séquences consensus sont relativement

courantes dans le protéome eucaryote et de ce fait elles ne suffisent pas à la sélectivité des substrats pour leurs kinases, c'est pourquoi des mécanismes additionnels de recrutement existent comme des interactions de surfaces kinase/substrat qui sont bien distinctes du site actif et du site de phosphorylation^[141].

- Celles qui sont transmembranaires, également appelées récepteur tyrosine kinase (RTK). Ces RTKs sont activés par le biais d'un ligand inducteur d'oligomérisation (généralement une dimérisation) permettant ainsi un rapprochement des domaines cytoplasmiques de la kinase, ces ligands étant le plus souvent des facteurs de croissance. Pour la plupart de ces RTKs cette juxtaposition permet une autophosphorylation d'un résidu tyrosine localisé sur la boucle d'activation de la kinase engendrant une modification de la conformation permettant ainsi la stabilisation de la forme active de la kinase^[144-146].

Les protéines tyrosines-sérines/thréonines kinase (Tyr-Ser/Thr) constituent cette troisième famille qui est minoritaire en proportion. Comme leur nom l'indique, ces kinases permettent la phosphorylation sur des résidus Ser/Thr mais également des résidus Tyr ce qui en fait des protéines à double spécificité, elles sont plus souvent appelées « dual-specificity kinases » (DSKs)^[147,148]. Les protéines de la famille DYRK (dont DYRK1A) font parties de cette classe de protéines à double spécificité, effectivement elles vont s'autophosphoryler sur un résidu Tyr présent sur la boucle d'activation et une fois activées elles vont exercer leur action de catalyseur de phosphorylation sur les résidus Ser/Thr situés sur des protéines cibles qui sont recrutées par la reconnaissance de séquences consensus.

II. Structure

Les kinases sont généralement constituées de deux lobes bien distincts au niveau de leurs structures tant bien qu'au niveau de leurs fonctions (**figures 13 et 14**).

Le lobe N-Terminal (ou petit lobe) est principalement constitué d'un feuillet- β à cinq brins antiparallèles ($\beta 1$ à $\beta 5$) couplé à un sous-domaine généralement constitué par une hélice- α (αC) ce qui confère à ce lobe une grande malléabilité malgré la rigidité du

feuille- β , cela contribue grandement à l'activité de la kinase. Dans certaines protéines kinases, une hélice α (αB) peut précéder l'hélice αC , cependant elle est suffisamment faible et peut facilement se déplier pour faciliter le déplacement de αC . Entre les brins $\beta 1$ et $\beta 2$ il y a également une boucle contenant trois résidus glycines hautement conservés ce qui lui vaut le nom de « glycine-rich loop » (ou G-loop). Cette boucle recouvre les phosphates β et γ de l'ATP et jouent un rôle important dans la phosphorylation lors du cycle catalytique^[140,149].

Le lobe C-Terminal (ou grand lobe) est beaucoup plus stable et essentiellement constitué d'hélices- α , sept au total (αD à αI), avec quatre très courts feuillets- β ($\beta 6$ à $\beta 9$). Le sous-domaine constitué d'hélice- α est très stable et constitue le noyau de la protéine kinase, il permet l'interaction de la protéine avec son substrat. Le sous-domaine formé par quatre feuillets- β constitue la machinerie catalytique. Effectivement la boucle catalytique forme un pont entre les feuillets $\beta 6$ et $\beta 7$, de plus les feuillets $\beta 8$ et $\beta 9$ portent le motif conservé Asp-Phe-Gly (DFG) qui constitue la boucle de positionnement d'ions Mg^{2+} (ou Mn^{2+}). Ce motif est nécessaire pour l'activité catalytique, le Mg^{2+} (ou Mn^{2+}) permettant le bon positionnement de l'ATP (ou GTP) sur son site et favorisant le transfert du groupement γ -phosphate^[140,149-151].

Dans la configuration quaternaire de la kinase l'ensemble de matériel catalytique est géographiquement regroupé formant ainsi le domaine catalytique. Ce domaine catalytique est divisé en 12 sous-domaines (I à XI). Les séquences de ces sous-domaines sont hautement conservées pour l'ensemble des ePK et chaque sous-domaine joue un rôle essentiel dans l'activité enzymatique de celles-ci^[140,142,143,149]. La protéine kinase AMPc-dépendante (PKA) a servi comme protéine de référence. Les sous-domaines I à IV appartiennent au petit lobe N-ter, les sous-domaines VIA à XI étant compris dans le lobe C-ter, VIB correspondant à la boucle catalytique. Le sous-domaine V permet la jonction des deux lobes formant le site catalytique de la kinase. A ce domaine catalytique, trois rôles distincts sont attribués^[142] :

- La liaison et l'orientation de l'ATP (ou GTP)
- La liaison et l'orientation de la protéine substrat

- La catalyse du transfert d'un γ -phosphate du groupement donneur de phosphates vers un groupement hydroxyle accepteur porté par un résidu Ser, Thr ou Tyr du substrat.

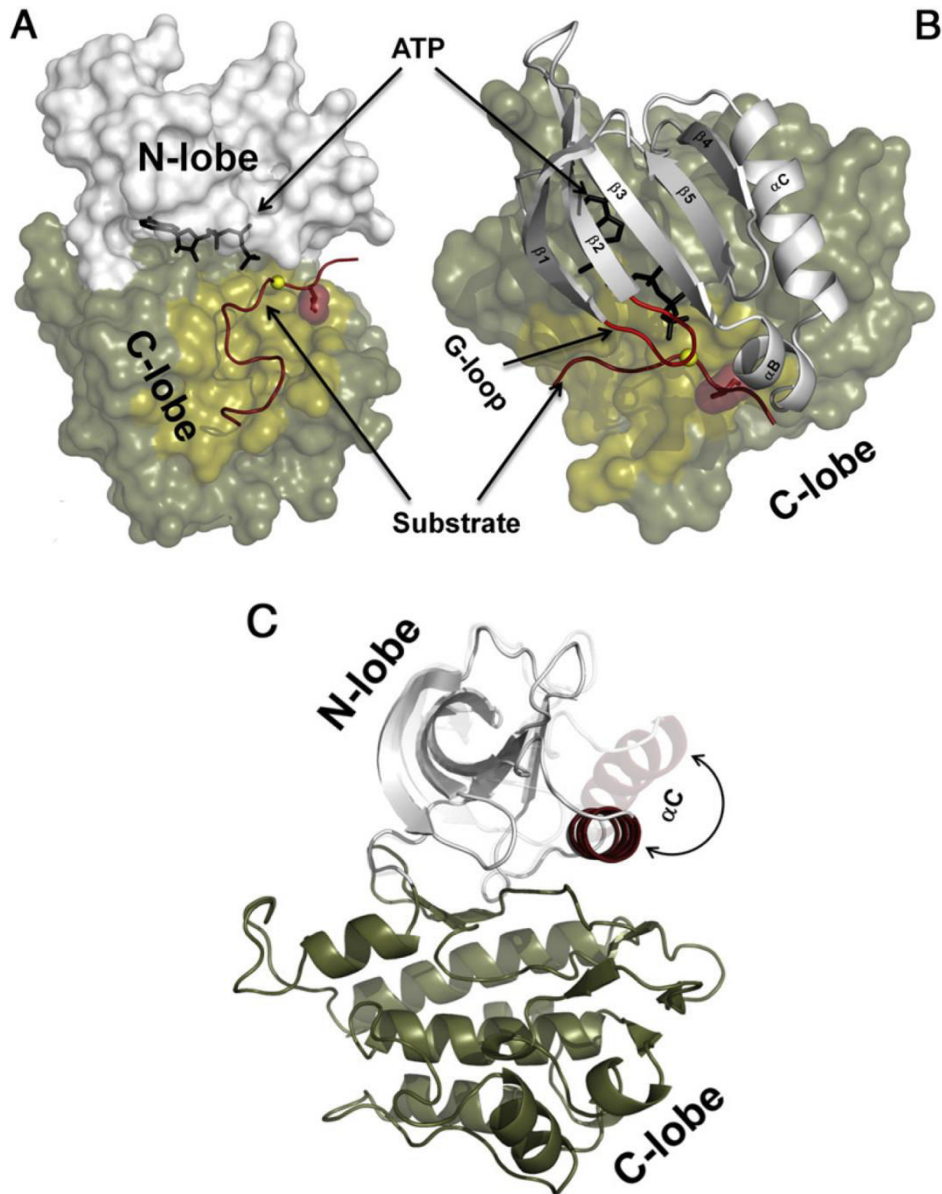


Figure 13 : Structure générale d'une protéine kinase (PKA avec 1 ATP). **(A)** Les deux lobes de la kinase avec une molécule d'ATP dans le puits catalytique. Le point jaune représente le résidu à phosphoryler. **(B)** Représentation du domaine N-Ter avec la visualisation de la « G-loop » recouvrant une partie de l'ATP. **(C)** Représentation des deux lobes avec la visualisation de la mobilité de l'hélice αC du domaine N-Ter^[149].

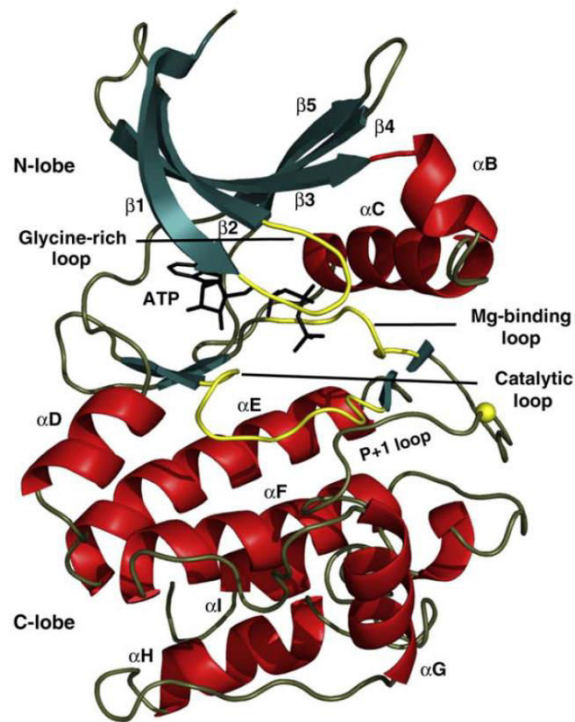


Figure 14 : Représentation générale d'une protéine kinase (avec 1 ATP). On y distingue en vert les différents feuillets- β , en rouge les différentes hélices- α et en jaune les boucles importantes à l'activité catalytique de phosphorylation^[140].

D. La protéine Dyrk1A

La protéine DYRK1A a été découverte en 1996^[129]. Elle présente un grand intérêt pour la recherche, principalement dans le cadre de la trisomie 21 mais également dans différentes pathologies neurodégénératives telle que la maladie d'Alzheimer. Effectivement, très rapidement après sa découverte, il a été montré que le gène codant pour la protéine est localisé sur le chromosome 21 et plus précisément au niveau de la région DSCR (ou DCR-1) responsable des différents signes cliniques caractéristiques du syndrome de down^[152,153].

I. Famille de la protéine kinase

La protéine DYRK1A appartient à une famille de kinases présentant un fort taux de conservation appelée « dual-specificity tyrosine-regulated kinase » ou « dual-specificity yak-related kinase » (DYRK). D'après la classification taxonomique établie par S. HANKS et T. HUNTER, les DYRKs appartiennent au groupe CMGC dans lequel nous retrouvons également les CDKs, MAPKs, GSK3, CDKLs, SRPKs, CLKs et RCKs^[142] (**figure 15A**). De par son degré de conservation du domaine catalytique, la famille DYRK peut être divisée en trois sous-familles : les DYRKs, les « homeodomain-interacting protein kinase » (HIPKs) et les « pre-mRNA processing protein 4 kinases » (PRP4Ks). Dans la sous-famille DYRK trois branches principales sont distinguées, l'une d'elles comprenant les kinases présentes uniquement chez les levures : les « Yeast Kinases » (Yaks), puis les branches DYRK1 et DYRK2 dont les kinases sont présentes aussi bien chez les levures que chez l'animal^[138,154] (**figure 15B**). Chez les mammifères, la sous-famille DYRK est représentée par cinq kinases : DYRK1A, DYRK1B (ou Mirk), DYRK2, DYRK3 (ou REDK) et DYRK4^[154,155]

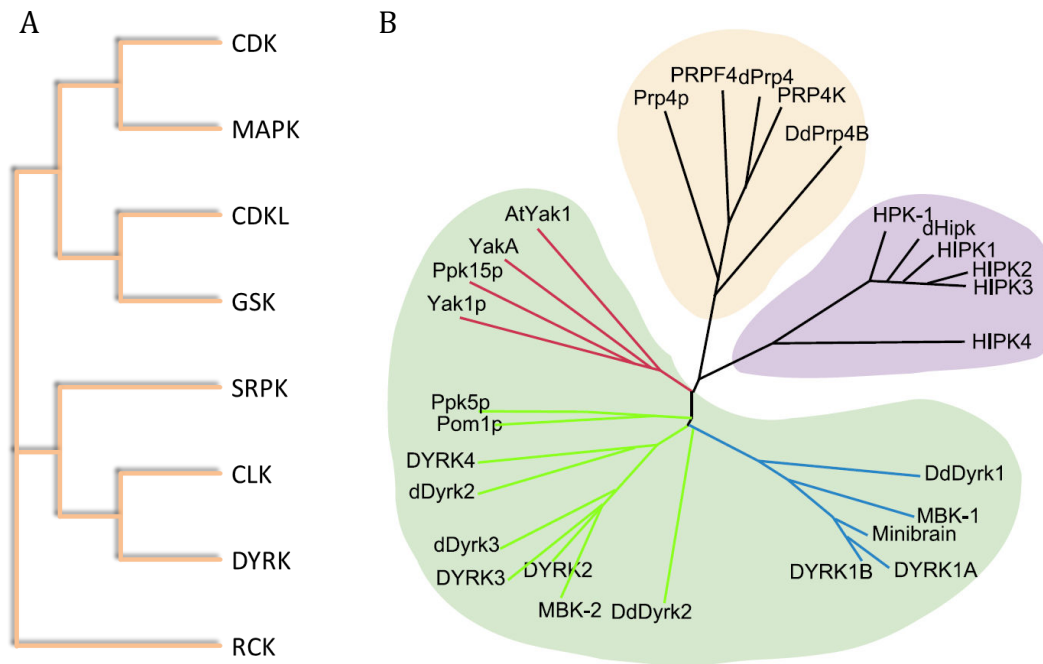


Figure 15 : La famille de protéines DYRKs – (A) Arbre phylogénique montrant l'évolution et la divergence des différentes familles de protéines du groupe des CMGC^[138]. – (B) Arbre phylogénique montrant les trois sous-familles des DYRKs avec : les PRP4K (fond orangé), les HIPK (fond violet) et les DYRK (fond vert). Au sein de la sous-famille DYRK il y a trois branches distinctes avec : les kinases Yak1p (branche rouge) présentes chez les levures et totalement absentes chez l'animal, les DYRK1 (branche bleue) et les DYRK2 (branche verte) qui sont présentes chez les levures et chez l'animal^[154].

II. Gène et orthologue

Dans les années 1990, des études ont été menées sur la protéine « minibrain » (MNB) l'orthologue de la kinase DYRK1A chez la drosophile. Par des méthodes de mutagenèse ils ont démontré que MNB joue un rôle essentiel dans le développement neurologique post embryonnaire^[156]. Effectivement des drosophiles mutantes avec une expression réduite de MNB présentent une diminution du nombre de neurones dans des régions très spécifiques de leur cerveau une fois adulte^[155,156]. Du fait de la très forte similitude de la séquence du gène codant pour l'orthologue DYRK1 chez le rat avec celle chez

l'homme (96.6% des nucléotides et 99% des acides aminés)^[157,158], il a été possible de déterminer que la séquence du gène codant pour l'homologue humain DYRK1A est localisée entre les locus 21q22.13 et 21q22.2 du génotype humain^[129,130,158], une région impliquée dans le Syndrome de Down (SD). Par corrélation phénotypique des génotypes de patients présentant une trisomie partielle, cette région est également appelée région critique du syndrome de Down venant de l'anglais « Down's Syndrome Critical Region » (DSCR)^[129,130]. Par la suite, de nombreux travaux ont été menés sur l'identification des gènes de la DSCR. Avec les techniques de séquençage de l'ADN. Il a été déterminé que la séquence codant pour le gène de DYRK1A est de 149.5 kb et est constituée de 17 exons^[158]. Ce gène code, à partir de seulement 14 exons après un épissage alternatif, pour plusieurs isoformes de la protéine DYRK1A dont le transcrit le plus abondant, d'une longueur de 2.4kb, est constituée de 763 acides aminés d'une masse totale de 85.6kDa^[154,158](**Figure 16**).

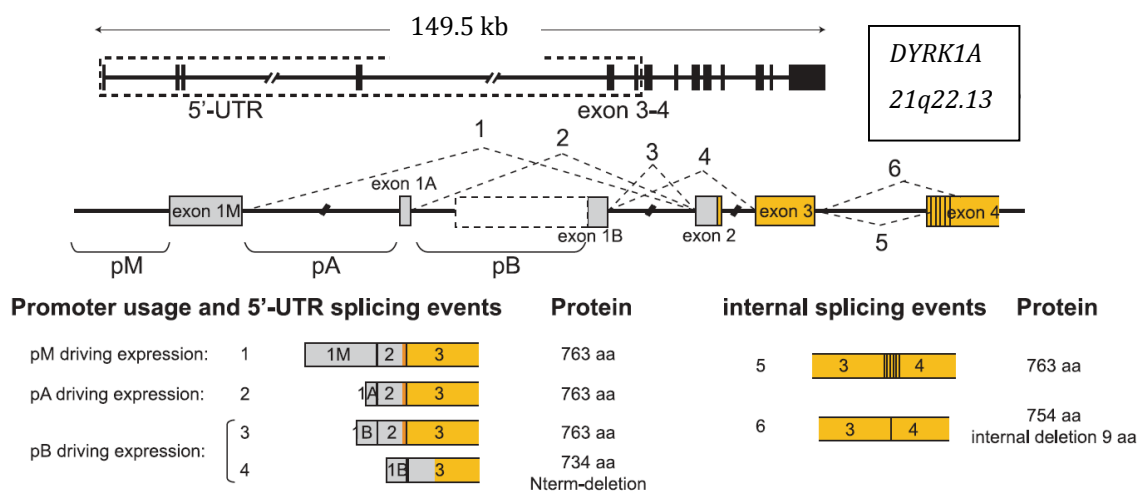


Figure 16: Epissage alternatif de la protéine DYRK1A – représentation schématique du gène humain de DYRK1A. Les exons sont représentés par des rectangles et les introns par des lignes^[154].

III. Distribution de DYRK1A

Le gène de DYRK1A est exprimé de façon ubiquitaire, il est retrouvé dans différents types de tissus avec une forte expression cérébrale, musculaire et dans les organes reproducteurs, cependant la protéine DYRK1A est faiblement exprimée dans les poumons^[129,158]. Au niveau cellulaire, DYRK1A est fortement présente dans les précurseurs neuronaux, les neurones différenciés, les cellules gliales (astrocytes et épendymocytes) et les cellules endothéliales^[159]. La distribution spatiale du gène varie au cours de l'évolution du fœtus jusqu'à l'âge adulte, cette évolution indique clairement que DYRK1A n'est pas seulement important pour le développement précoce du système nerveux^[156,160-162] mais également dans le maintien des fonctions cérébrales chez l'adulte^[159,161].

En ce qui concerne sa localisation subcellulaire, elle dépend du type cellulaire ainsi que de l'état de celui-ci. L'expression de la protéine est majoritairement cytoplasmique et nucléaire, cependant elle est également retrouvée dans des compartiments nucléaires d'épissage de neurones humains, de poulet et de souris, ainsi que dans les dendrites^[159,160,163-166], par contre, pour les cellules gliales, son expression est strictement limitée au cytosol^[159].

Dans des études *in vitro* de surexpression du gène, la protéine DYRK1A est majoritairement localisée dans le nucléoplasme ainsi que dans les compartiments d'épissage^[155,166-168] ce qui laisse supposer que la surexpression de DYRK1A est responsable de l'apparition de pathologie telle que la maladie d'Alzheimer^[152,169] mais également chez les patients qui sont atteints du syndrome de Down chez lesquels DYRK1A est surexprimée avec un facteur de 1,5^[158].

IV. Structure DYRK1A

La protéine kinase DYRK1A appartient à la sous-famille DYRK et comme toutes les protéines appartenant à cette sous-famille, elle a la propriété de s'autophosphoryler sur un résidu Tyr situé dans la boucle d'activation située au niveau du sous-domaine VIB pour ensuite phosphoryler les résidus Ser/Thr au niveau de son substrat^[166,170]. La

structure primaire de DYRK1A présente un fort taux de conservation au cours de l'évolution^[166,170]. La protéine DYRK1A présente une structure générale similaire à toutes les kinases, elle est constituée de trois régions, un domaine N-ter, un C-ter et un domaine central. Au sein de la sous-famille DYRK, les kinases partagent un domaine catalytique hautement conservé ainsi qu'un domaine « DYRK-homology » (DH-box) mais cependant ils présentent des différences au niveau de leurs extrémités N-ter et C-ter^[154] (**Figure 17**).

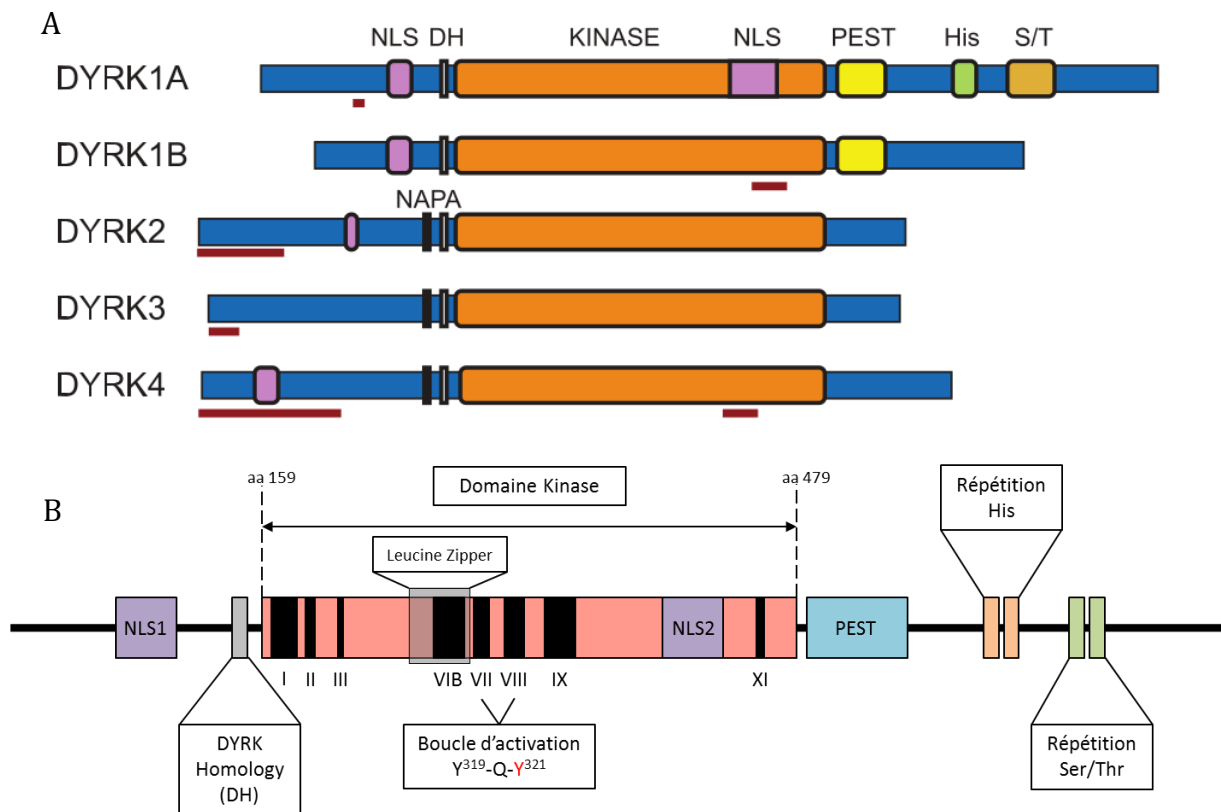


Figure 17 : Structure schématique de DYRK1A – (A) Comparaison des cinq structures protéiques DYRK présentes chez les mammifères avec les zones soulignées en rouge indiquant les régions pouvant être sujettes à un épissage alternatif^[154]. – (B) Représentation schématique de la protéine DYRK1A avec les différents domaines et motifs^[158,166]. – (NLS : nuclear localization signal ; DH : DYRK Homology ; His : motif polyhistidines ; S/T : motif enrichie en Ser/Thr).

1. La région N-terminale.

Elle est formée par les 158 premiers acides aminés. Cette extrémité comprend la première séquence de signalisation nucléaire (NLS1) commune avec DYRK1B^[154,155,168]. C'est dans cette extrémité également que se trouve le domaine DH commun à l'ensemble des kinases DYRK. .

2. Le domaine catalytique (ou central).

Ce domaine présente un fort taux de conservation. Selon la classification de S. HANKS^[142], le domaine central est divisé en 12 sous-domaines (I à XI avec VIA et VIB) communs à toute les kinases. Il s'étend des acides aminés 159 à 479 et renferme, en plus des séquences consensus et des résidus communs aux ePK qui participent à la fixation de l'ATP ainsi qu'au recrutement du substrat, des motifs bien spécifiques à la sous-famille DYRK^[155,158,166,168] :

- Le motif conservé Tyr³¹⁹-Q-Tyr³²¹ situé entre les sous-domaines VII et VIII correspondant au site d'activation de la protéine DYRK1A par un mécanisme d'autophosphorylation sur Tyr³²¹.
- Un domaine « leucine zipper », ce qui permet à la kinase de se lier à l'ADN et d'interagir avec d'autres protéines.
- On retrouve également la seconde séquence de localisation nucléaire (NLS2).

3. La région C-terminale.

C'est ce domaine qui permet de différencier DYRK1A des autres protéines DYRK. Il s'étend des acides aminés 480 à 763. Cette région est particulièrement riche en résidus Ser et Thr avec des sous-domaines intéressants^[156,158,166,168] :

- Le domaine PEST (Pro-Glu-Ser-Thr) qui est commun avec la protéine DYRK1B. Ce domaine intervient dans la dégradation rapide des protéines cibles (chez la drosophile, il est remplacé par un domaine GAS (Gly-Ala-Ser)).

- Deux séquences répétitives de résidus histidines. Ces séquences jouent un rôle dans l'adressage de la kinase au niveau des compartiments nucléaire d'épissage lorsqu'elle est exprimée dans le nucléoplasme.
- Deux domaines riches en résidus Ser/Thr dont le rôle est encore inconnu, les résidus Ser/Thr représentent ~60% des résidus dans ces domaines et ~28% de la région C-ter. Ces domaines sont très conservés, on les retrouve chez la drosophile, le rat ainsi que la souris.

V. Activité et régulation de DYRK1A

Les protéines de la famille DYRK sont des protéines à double spécificité :

Elles vont s'activer par un mécanisme d'autophosphorylation sur un résidu Tyr (Y³²¹ pour DYRK1A).

Elles vont phosphoryler leur substrat sur des résidus Ser/Thr.

Lors de sa maturation, la protéine DYRK1A présente une configuration de Tyrosine kinase qui reconnaît les substrats possédant une séquence Tyr-Xaa-Tyr pour catalyser la phosphorylation sur le second résidu Tyr^[171,172]. Effectivement, pour être pleinement active, DYRK1A catalyse dans un premier temps son autophosphorylation sur le résidu Y³²¹ de la séquence Y³¹⁹-Q³²⁰-Y³²¹ à niveau de la boucle d'activation dans le domaine catalytique^[157,171,172] faisant de lui-même son propre substrat. Par des études de mutagenèse, la substitution de ce résidu par une phénylalanine réduit considérablement l'activité de la kinase, montrant ainsi que DYRK1A est dépendante de l'autophosphorylation pour être totalement active^[170-172], DYRK1A ne nécessitant pas d'autres modifications post-traductionnelles ou de facteurs régulations elle est de ce fait constitutivement active dans les différents tissus où elle est exprimée^[157,172], cela nous permet de suggérer que sa régulation est dépendante de sa concentration cellulaire et donc que toute altération de régulation engendre des conséquences sur l'activité de la protéine. Cette autophosphorylation constitutive de Y³²¹ se fait pendant la maturation de DYRK1A^[171,172], elle va permettre de stabiliser la conformation active de la kinase par formation de liaison entre Y³²¹ et deux Arg, R³²⁵ et R³²⁸ ^[170,173] (**Figure 18**). La déphosphorylation de Y³²¹ déstabilise ainsi la conformation active de la protéine et engendre une perte de l'activité catalytique de DYRK1A^[171,172]. La protéine, une fois

mature et pleinement active, perd l'activité Tyr kinase pour laisse place à une activité de phosphorylation sur des résidus Ser/Thr de ses substrats^[172,174] (**figure 19**). La double spécificité est similaire avec les protéines MAPK avec un mécanisme d'activation similaire, effectivement, chez les MAPKs l'activation se fait par la phosphorylation d'un résidu Tyr d'une séquence consensus Thr-Xaa-Tyr ^[170]. Cependant à la différence des DYRKs, les MAPK ne peuvent pas s'autophosphoryler, étant inactives lors de leur maturation elles nécessitent une activation par le biais d'une autre kinase^[171].

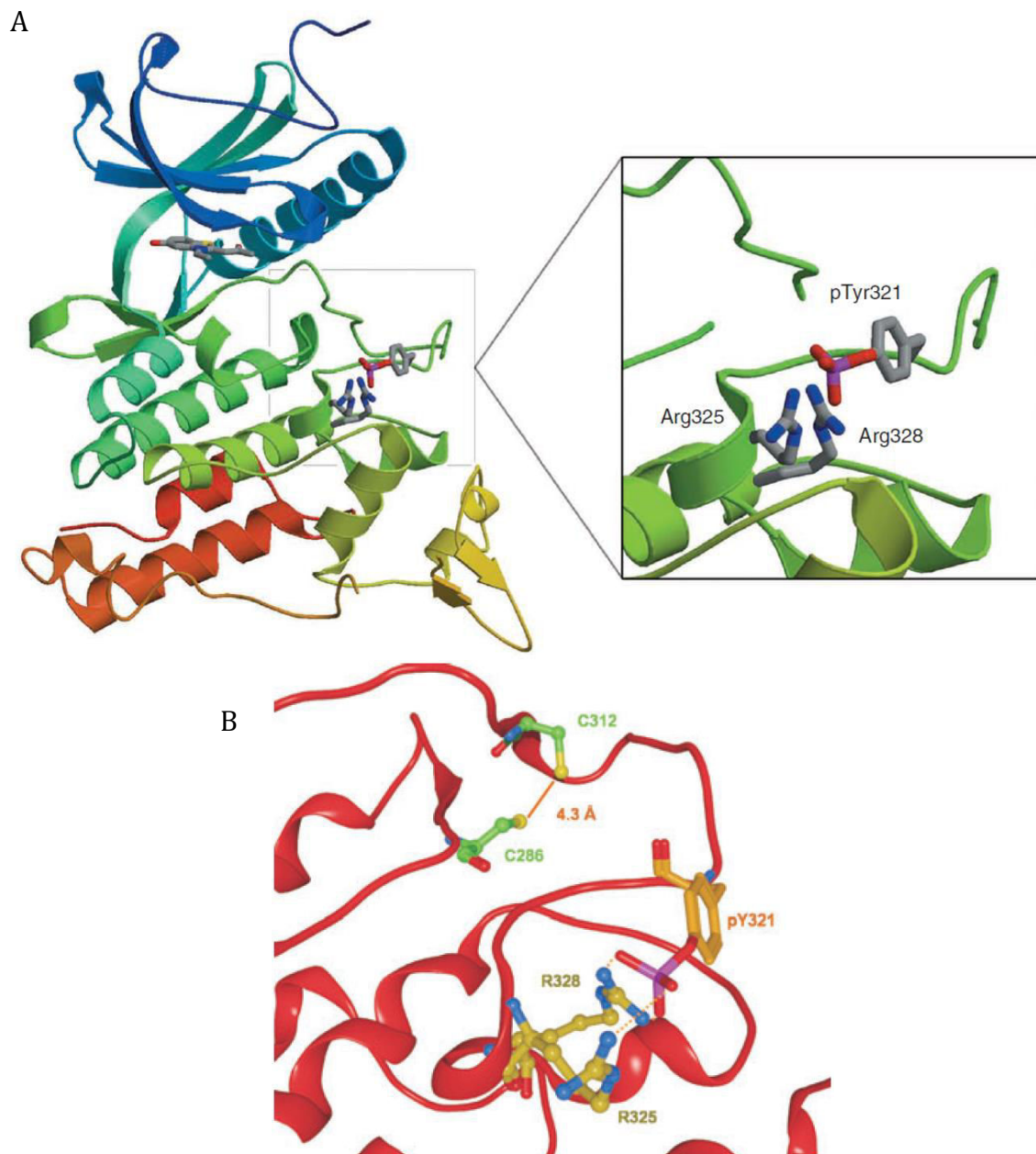


Figure 18: (A) Structure de la protéine DYRK1A mature avec l'inhibiteur INDY dans la poche de l'ATP. - (A et B) On voit clairement le maintien de la boucle d'activation par les liaisons hydrogènes (en pointillés sur la figure (B)) des Arginines R325 et R328 avec la Tyrosine Y321 phosphorylé^[170,173].

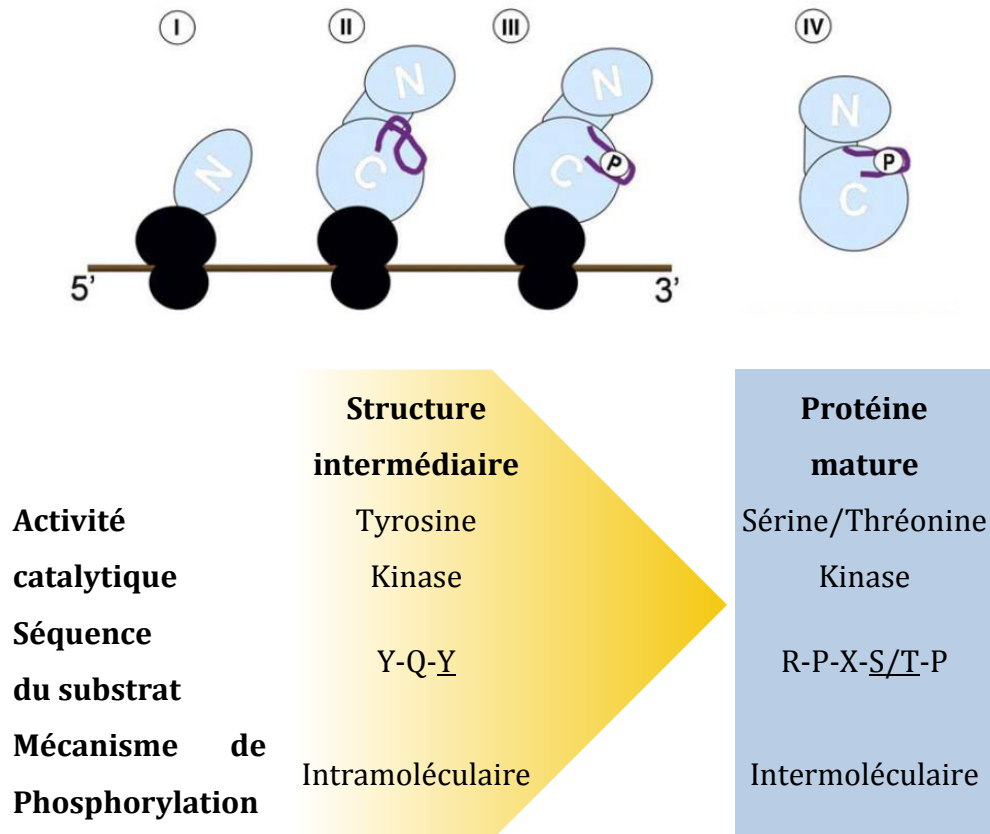


Figure 19: Mécanisme d'activation de DYRK1A par autophosphorylation. - **(I)** La traduction de l'ARNm permet dans un premier temps la formation du domaine N-Ter qui va prendre sa conformation secondaire et tertiaire. - **(II)** La configuration tertiaire va donner un intermédiaire dont le domaine catalytique va reconnaître la boucle d'activation comme son 1^{er} substrat. - **(III)** L'intermédiaire possède une activité tyrosine kinase et va phosphoryler sa boucle d'activation. - **(IV)** Après traduction complète et phosphorylation de la boucle d'activation, la protéine DYRK1A est sous sa conformation mature. L'activité tyrosine kinase est perdue pour laisser place à une activité sérine/thréonine kinase^[172].

L'activité de DYRK1A se fait par un mécanisme utilisant l'ATP comme un donneur de phosphate et le substrat comme accepteur de ce groupement. Par des études de mutagenèse, il a été possible de déterminer que DYRK1A est une Ser/Thr kinase « proline dirigée ». Les résidus Ser/Thr qui sont phosphorylés par DYRK1A sont localisés au sein d'une séquence consensus caractéristique, « Arg-Pro-X-Ser/Thr-Pro », avec X correspondant à un acide aminé variable. Les positions des Pro en (P+1) et (P-2) ainsi que la position d'une Arg en (P-3) sont essentielles à la reconnaissance du site de phosphorylation du substrat^[175].

De par la localisation au sein de la cellule de DYRK1A, les substrats sont à la fois nucléaires et cytoplasmiques. Avec la multitude de substrats différents, DYRK1A est associé à de nombreuses fonctions physiologiques ainsi pathologiques^[166]. Effectivement, parmi ces substrats, nous retrouvons^[152,154,166,176] **(figure 20)** :

- Des facteurs de transcription tels que CREB et Gli1.
- Des facteurs d'épissage avec par exemple la Cycline L2.
- Des protéines synaptiques comme la Dynamine I.
- Des protéines impliquées dans les neuropathologies telles que Tau et APP.
- Des protéines avec des rôles divers et variés comme la Caspase-9 dans l'apoptose ou eIF2Bε comme facteur de traduction.

Ces nombreux substrats font de DYRK1A une protéine avec des rôles pléiotropiques dans diverses fonctions cellulaires, en particulier dans le contrôle du cycle cellulaire, la morphologie neuronale et les fonctions synaptiques^[154,166,176].

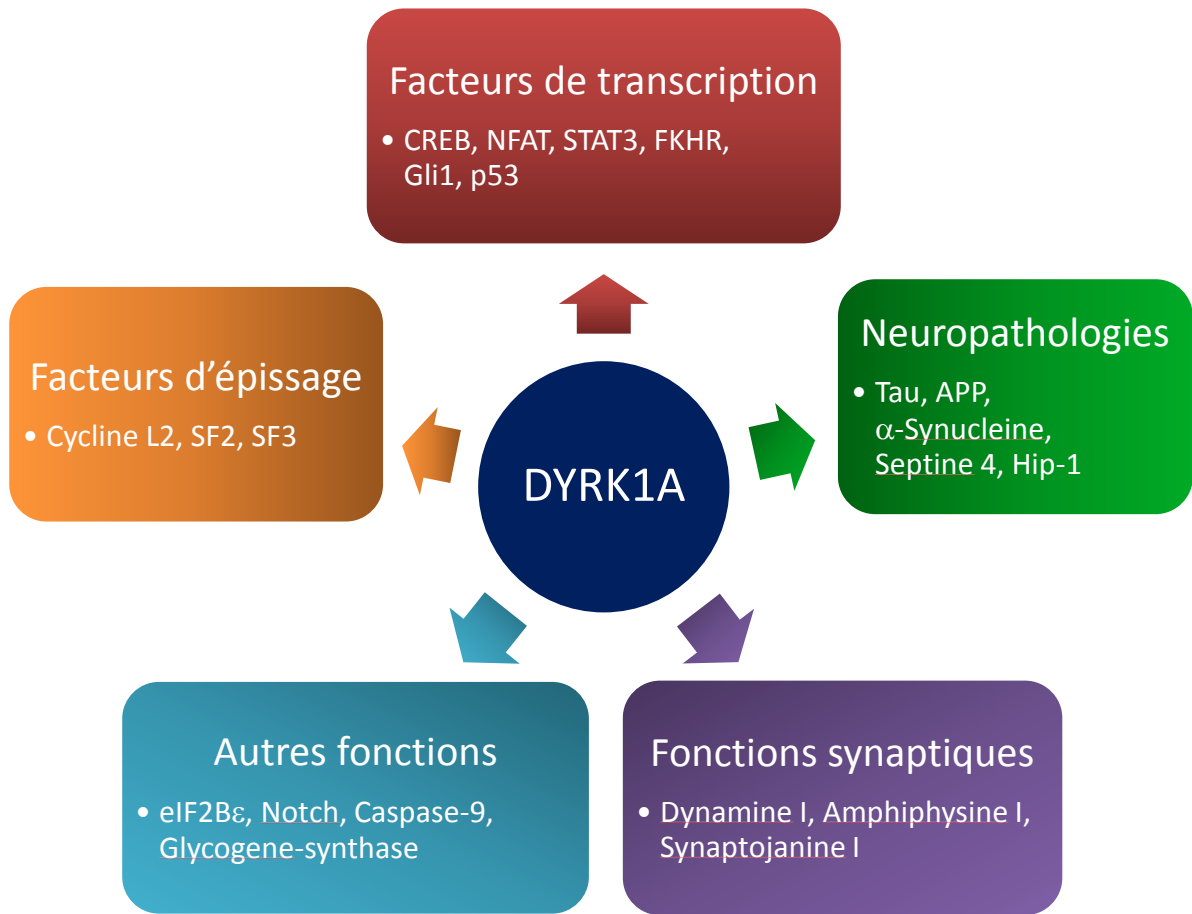


Figure 20 : Classification des différents substrats de DYRK1A en fonction de leurs rôles^[166].

De nombreuses études ont montré que DYRK1A est essentiel à la neurogénèse post-embryonnaire ainsi qu'à la prolifération et à la différenciation neuronale^[156,161] mais également qu'elle joue un rôle dans le maintien de l'activité neuronale^[155-158], la plupart de ces fonctions ont été mises en évidence grâce à des modèles murins homozygote DYRK1A^{-/-} et hétérozygote DYRK1A^{+/-}^[159,166,177,178].

Des modèles murins surexprimant DYRK1A ont également été créés, ce qui a permis de déterminer les conséquences de la surexpression de DYRK1A dans le syndrome de Down^[179,180], cependant dans la maladie d'Alzheimer, la surexpression de la protéine n'est pas franchement observée (seulement dans certains neurones) mettant ainsi principalement en cause la suractivité de la protéine dans la maladie avec une modification de la localisation subcellulaire de la protéine^[152,179,181].

L'activité de DYRK1A étant anormale, elle engendre une hyperphosphorylation de la protéine Tau Thr²¹² [152,179] parmi les 11 résidus mis en évidence *in vitro*[182]. Cependant la séquence consensus de reconnaissance du substrat ne permet à DYRK1A de phosphoryler l'ensemble de ces résidus, il est supposé que c'est la phosphorylation du résidu Thr²¹² par DYRK1A de la protéine Tau qui induit la phosphorylation des autres résidus par GSK-3 β [182]. La conséquence de cette hyperphosphorylation est une perte de l'activité biologique de la protéine Tau[182,183], cela se traduit par une modification de sa conformation prenant la forme de filament en double hélice qui vont former des agrégats insolubles engendrant la perte de stabilité des microtubules[152,181,184].

Les personnes atteintes du syndrome de Down développent précocement la maladie d'Alzheimer du fait du coefficient multiplicateur de 1,5 du nombre de transcrits causé par le triplicata du gène DSCR. Cela se définit en l'occurrence par la surexpression de DYRK1A mais également de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP), son gène codant est également localisé au niveau du DSCR qui semble être la cause de cette apparition précoce de la maladie d'Alzheimer par élévation des niveaux d'APP phosphorylé et de peptides amyloïde- β (A β) du fait de cette surexpression[152,176,185].

Il a été démontré que DYRK1A phosphoryle l'APP sur le résidu Thr⁶⁶⁸ ainsi que l'augmentation de la phosphorylation de l'APP est liée à l'augmentation de la concentration de DYRK1A dans le cytoplasme[176]. L'augmentation de la concentration cytosolique de DYRK1A est responsable de l'augmentation de la formation de l'A β , cependant le mécanisme n'est pas sûr mais on suppose qu'il est lié à la phosphorylation du résidu Thr⁶⁶⁸ de l'APP[176]. L'A β est formé par le clivage par la β -sécrétase et la γ -sécrétase de l'APP phosphorylé, l'accumulation de ce peptide toxique au niveau de la synapse va former des oligomères solubles ainsi que des plaques amyloïdes ou plaques séniles, ce qui a pour conséquence l'inhibition de l'activité neuronale et sur le long terme cela engendre une neurodégénérescence[152,186]. Il est également supposé que l'accumulation de l'A β stimule l'expression de l'ARNm codant pour DYRK1A engendrant ainsi une surexpression de la kinase, ce qui a pour conséquence une accélération du processus de dégénérescence[152,187].

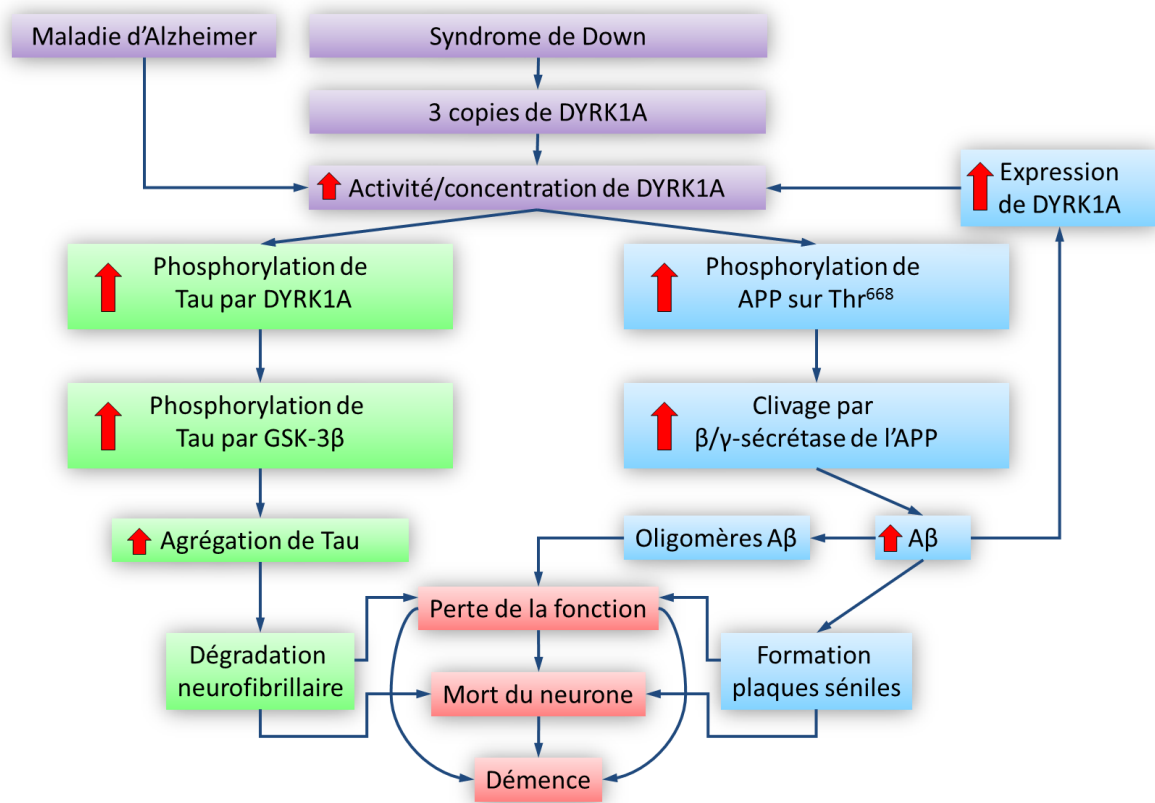


Figure 21 : Effet de la surexpression de DYRK1A dans la β -amyloïdose et la dégénérescence neurofibrillaire dans le cas du syndrome de Down et de la maladie d'Alzheimer^[152,188].

E. Inhibition de DYRK1A

La plupart des inhibiteurs de DYRK1A sont en compétition directe avec l'ATP et agissent par liaison au domaine catalytique de la kinase^[153,170], cependant les inhibiteurs peuvent également se lier avec d'autres régions pour venir perturber la fixation de l'ATP dans son site de liaison en agissant comme compétiteurs indirects de l'ATP^[170]. Du fait que DYRK1A soit une kinase à double spécificité, il est possible que l'interaction puisse se faire de façon directe ou indirecte au niveau de la boucle d'activation empêchant ainsi l'autophosphorylation et donc l'inhibition de l'activité de la kinase^[153,170]. Les sites d'interactions de certains inhibiteurs ont pu être formellement identifiés par

radiocristallographie en les co-cristallisant avec leurs cibles (**Figure 22**)^[153,173,189,190]. Avant que la structure de DYRK1A soit résolue, certains composés ont été co-cristallisés avec d'autres kinases présentant des similitudes du domaine catalytique avec DYRK1A comme DSK-3 β ou ERK2^[153,171,191], cependant la plupart des molécules n'ont pas été co-cristallisées. De ce fait les connaissances de leurs mécanismes d'interactions avec DYRK1A sont incertains, par exemple l'un des inhibiteurs les plus actifs, l'EGCG dont le seul critère connu est qu'il n'est pas en compétition avec l'ATP mais le mécanisme d'action reste à ce jour toujours inconnu^[192,193].

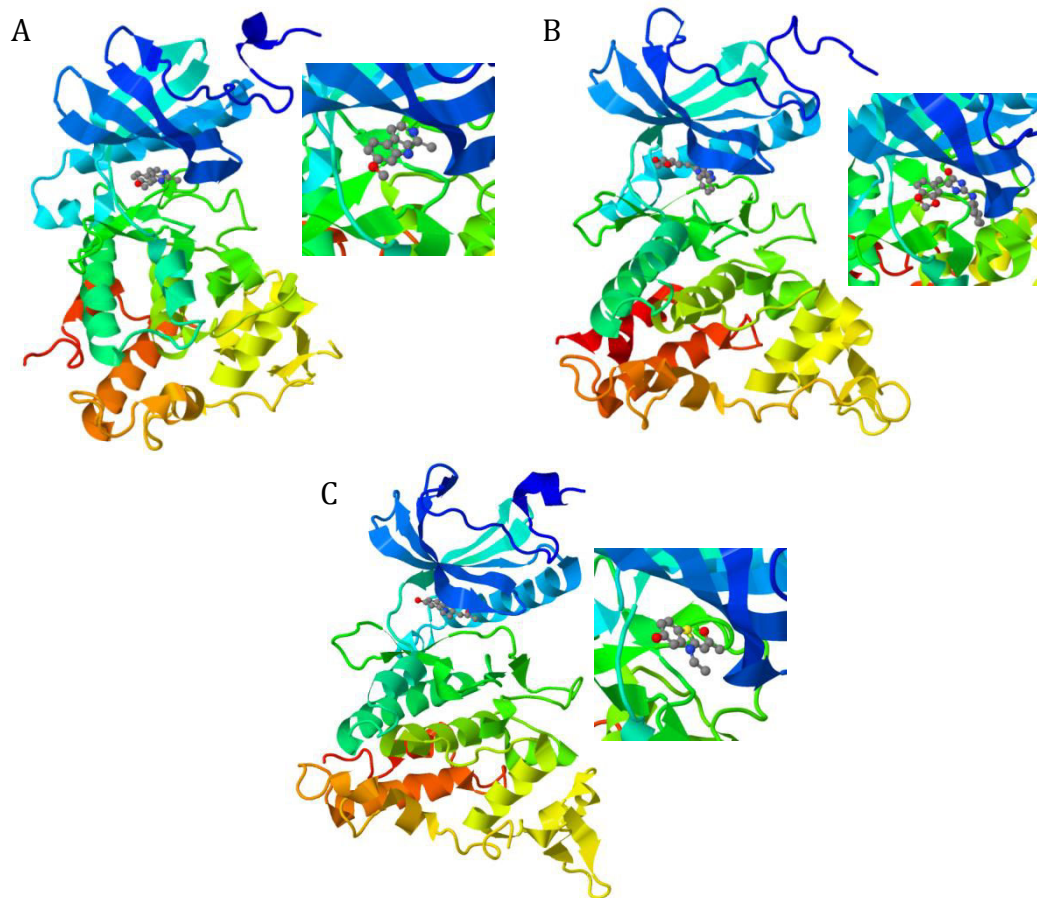


Figure 22 : Structure de l'Harmine^[173] **(A)**, de la Leucettine L41^[190] **(B)** et de l'INDY^[173] **(C)** cocrystallisées avec la protéine DYRK1A. (Code de la PDB : **(A)** 3ANR ; **(B)** 4AZE ; **(C)** 3ANQ).

Du fait du manque de connaissances sur les interactions des différents inhibiteurs avec DYRK1A, la classification des différents inhibiteurs par leurs mécanismes d'action n'est

pour le moment pas envisageable bien qu'il est supposé que la majorité de ceux-ci sont en compétitions direct avec l'ATP^[153], cependant il existe d'autres méthodes pour les classer.

La plus courante est la différenciation entre les inhibiteurs qui sont dits naturels et les inhibiteurs dits de synthèse^[188].

Il y a également une autre classification possible qui ne prend pas du tout en compte l'origine du composé ni son site d'action, cette classification repose uniquement sur le critère structural des différents composés^[153].

Pour déterminer la cible ainsi que l'activité d'un composé naturel, un criblage peut s'avérer utile^[194]. Concernant les composés de synthèses, une minorité ont été développés comme des inhibiteurs sélectifs de DYRK1A. Avec le développement des techniques de criblage à haut débit, il est possible d'observer certains composés actifs sur une autre cible avoir une activité d'inhibition sur DYRK1A, la sélectivité des ces composés est donc limitée^[195,196]. Cependant ces techniques de criblage permettent également la découverte de composés beaucoup plus sélectifs^[173]. Les inhibiteurs spécifiquement développés pour agir sur DYRK1A sont majoritairement des analogues de produits naturels^[190,197].

I. Les inhibiteurs naturels

1. Harmine

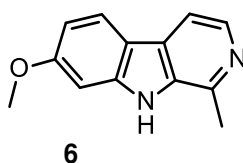


Figure 23 : structure de l'harmine 6



Peganum harmala. (†6)



Banisteriopsis caapi. (†7)

(†) – Cf. partie crédits photos

L'harmine **6 (figure 23)** est un alcaloïde de type harmane appartenant à la famille des β -carbolines. Présent dans une large variété d'organismes différents, il a été isolé pour la première fois en 1841 à partir de la plante *Peganum harmala* appartenant à la famille des Zygophylaceae communément appelée « harmal » ou « rue Syrie » et poussant en Europe Orientale. Des études ont montré que l'harmine est présente en grande quantité, entre 0.31 et 8.43 mg/g^[198], dans le lierre *Banisteriopsis caapi* appartenant à la famille des Malpighiaceae, localement connu sous le nom « mariri » et poussant en Amérique du Sud. *P. harmala* et *B. caapi* sont traditionnellement consommés sous forme de décoction (« Ayahuasca ») avec d'autres plantes tel que *Psychotria veridis* contenant du N,N-diméthyltryptamine (DMT), un puissant agoniste des récepteurs sérotoninergiques. L'harmine est un IMAO (inhibiteur de la monoamine oxydase). L'association de ces composés permet l'action psychotrope du DMT car sinon il est dégradé par la monoamine oxydase lorsqu'il est ingéré.

Une étude de criblage sur un panel de plus de 70 kinases provenant des différents groupes du kinome, a permis de mettre en évidence plusieurs composés avec une activité particulièrement intéressante sur DYRK1A. L'harmine ainsi que ses dérivés (l'harmane, l'harmalol et l'harmaline), avec une concentration de 1 μM , présentent une activité sélective sur les DYRKs. Cependant l'harmine est beaucoup plus active que ses dérivés, effectivement l'IC₅₀ de ce composé est de 0.08 μM ^[196]. Une autre étude a montré que l'harmine est un inhibiteur compétitif de l'ATP par une approche de mutagenèse^[189]. De par son action antagoniste sur les récepteurs sérotoninergiques, l'harmine possède

une activité psychotrope, son utilisation in vivo est donc limitée en tant qu'inhibiteur de DYRK1A.

2. Epigallocatechin gallate (EGCG)

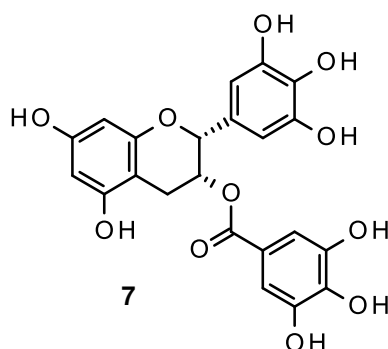


Figure 24 : structure de l'EGCG 7



Camelia sinensis. ^(†8)

^(†) – Cf. partie crédits photos

Le gallate d'épigallocatechine ou epigallocatechine-3-gallate 7 (EGCG) (**figure 24**) est un ester formé à partir de l'épigallocatechine (EGC), un flavanol de la famille des catéchines et d'un acide gallique de la famille des acides phénoliques. Ce polyphénol représente le composé majeur présent dans la plante *Camelia sinensis*, plus communément appelée thé vert avec environ 16.5% de la masse totale des résidus secs d'une extraction^[199,200]. Du fait de sa consommation depuis plusieurs millénaires en Asie, la date de sa

découverte n'est pas connue, cependant les extraits de thé vert sont considérés comme bénéfiques pour la santé, comme la prévention de cancers, de maladies cardiovasculaires ou encore du diabète grâce à l'action antioxydant des polyphénols^[200-203]. Ces effets sont pour la plupart attribués à l'EGCG qui fait actuellement l'objet de nombreuses études, principalement sur le système nerveux central^[193,200,203-207], cela inclut l'étude de criblage effectué sur le large panel de kinase qui a permis de mettre en évidence l'action de l'EGCG sur DYRK1A, à 10 μM l'activité de la kinase est de seulement 9%, effectivement l' IC_{50} est de 0.33 μM ^[195]. Ce composé possède également une bonne activité inhibitrice sur la protéine PRAK avec une IC_{50} de 1 μM ^[195]. En ce qui concerne son mécanisme d'action en tant qu'inhibiteur de kinase, tout ce qui a été prouvé c'est qu'il n'est pas en compétition avec l'ATP, par contre son mécanisme reste encore inconnu^[192]. Aujourd'hui, malgré ce manque de connaissance, cette molécule fait l'objet de plusieurs essais cliniques qui sont en phase 2 dont l'un est effectué dans le but de déterminer si l'EGCG permet de normaliser les fonctions de DYRK1A et de l'APP afin d'augmenter les fonctions cognitives et ralentir le développement de la neurodégénérescence dans les cas de la maladie d'Alzheimer et du syndrome de Down. D'autres essais cliniques sont également en phase 2 pour déterminer si ce composé peut être utilisé dans le traitement de différents types de cancers^[203].

3. Leucettamine B

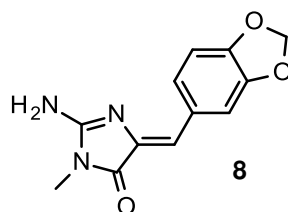
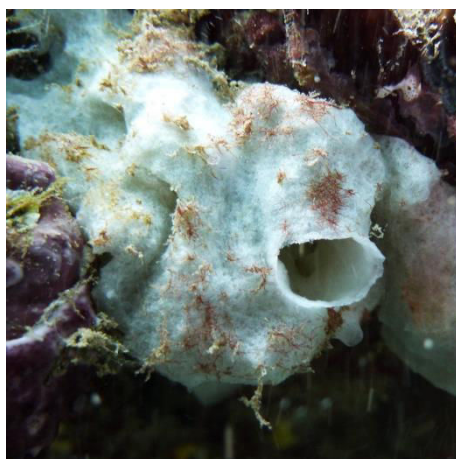


Figure 25 : Leucettamine B 8



Leucetta microraphis. ^(†9)

^(†) – Cf. partie crédits photos

La leucettamine B **8 (figure 25)** a été isolée pour la première fois en 1993. Ce composé fait partie de la famille des alcaloïdes avec un noyau aminoimidazoline. Une équipe qui étudie le blocage de l'activité des récepteurs LTB₄ s'est focalisée sur le criblage de composés naturels^[208]. Cela leur a permis de tester un extrait actif d'une éponge indopacifique, la *Leucetta microraphis* Haeckel de la classe des éponges calcaires (Calcarea) décrite pour la première fois en 1872 par E. HAECKEL dans son livre « Die Kalkschwämme – Eine Monographie ». La collecte de l'éponge a été effectuée sur le récif Argulpelu au niveau de l'île Palau dans le pacifique. Le fractionnement de l'extrait a permis d'isoler la leucettamine A et la leucettamidine comme antagoniste du récepteur LTB₄ ainsi qu'un composé sans activité de liaison sur ce récepteur, la leucettamine B^[208]. Malgré l'absence d'activité de la leucettamine B, plusieurs méthodes de synthèse ont été développées^[209-213]. Ce n'est que récemment qu'une équipe, dans la recherche d'un nouveau noyau aromatique, a effectué un criblage d'environ 45 000 petites molécules et a observé une activité inhibitrice sur des kinases impliquées dans la maladie d'Alzheimer et le syndrome de Down^[190]. Ils ont ensuite poussé les tests sur un panel de 8 kinases dont la plupart sont impliquées dans la maladie d'Alzheimer. La leucettamine B est active avec des IC₅₀ à l'échelle du µM et du nM sur DYRK1A, DYRK2, CLK1 et CLK3, l'IC₅₀ est de 2.8 µM pour DYRK1A. Par contre aucune activité n'est décelée sur les kinases GSK-3α/β, CK1δ/ε, CDK5/p25 et Pim1^[190].

4. Staurosporine

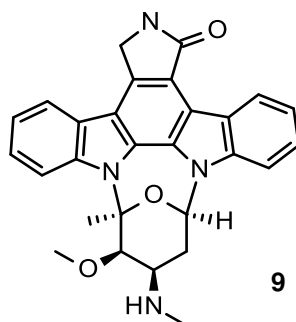
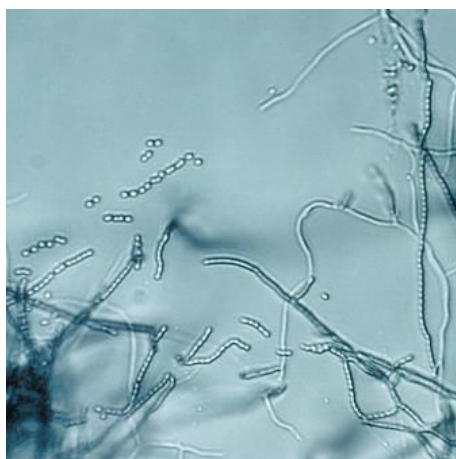


Figure 26: Staurosporine 9



Streptomyces. (†10)

(†) – Cf. partie crédits photos

Initialement nommée AM-2282, la Staurosporine **9** (figure 26) a été isolée pour la première fois en 1977 à partir de culture de bactéries communes que l'on retrouve dans les sols : *Streptomyces staurosporeus* avec un rendement de 23 µg/mL de culture^[214]. Ce composé est un alcaloïde de la famille des indocarbazoles glycozylés. Très rapidement un grand intérêt lui est porté du fait de son activité biologique, dans un premier temps on lui trouve une activité fongique mais son activité antibiotique reste insignifiante^[214]. C'est n'est que plus tard que l'on découvre son activité inhibitrice de la protéine kinase C ainsi que son caractère cytotoxique. Cependant il fut rapidement montré que ce composé n'était pas du tout sélectif de la PKC et présentait également des activités anti-hypertensives^[215]. La structure originale de la staurosporine ainsi que la diversité de

cibles biologiques donne au composé un grand intérêt pour effectuer sa synthèse totale^[216,217], cependant sa configuration absolue ne fut connue que plus tard par radiocristallographie^[218]. Dans le but d'obtenir un composé avec un potentiel anti-cancer, la biosynthèse par chimie combinatoire de dérivés de la staurosporine a conduit à un criblage sur un panel varié de kinases de ce composé avec ses dérivés^[219]. Les résultats ont montré une activité de l'ordre du nM sur plusieurs kinases mais ils ont également confirmé le peu de sélectivité de ce composé avec une action sur 11 kinases des 57 testées. Parmi ces kinases figurait DYRK1A avec une IC₅₀ de 19nM^[153,188,219]. La résolution structurale par rayons-X de la protéine PI3K- γ avec la staurosporine a montré que ce composé vient se lier dans le site de fixation de l'ATP^[220].

II. Les inhibiteurs de synthèse.

1. INDY, TG003 et ProINDY

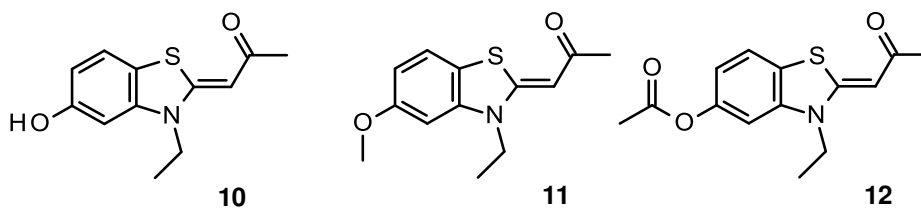


Figure 27 : INDY **10**, TG003 **11**, ProINDY **12**

Lors de leurs travaux sur le rôle des protéines Clk, une équipe a effectué un criblage pour trouver un composé permettant de perturber la régulation de l'épissage alternatif par inhibition des protéines Clk ce qui leur a permis de décrire l'action de dérivés benzothiazoles, dont le composé TG003 **11** avec des IC₅₀ de l'ordre du nM sur Clk1, Clk2 et Clk4^[221]. C'est seulement plus tard que cette même équipe décide d'effectuer un criblage de leur librairie sur un panel de 66 protéines kinases afin de développer un inhibiteur de DYRK1A^[173]. Le composé présentant la plus grande activité sur DYRK1A est un analogue de TG003. Ils l'ont baptisé INDY **10** (pour « Inhibitor of Dyrk »). De façon à faciliter la pénétration cellulaire, ils ont également synthétisé un analogue direct de INDY par acétylation de la fonction hydroxyle, dénommé ProINDY **12**, ce qui permet

d'augmenter sa lipophilie, [173]. Le criblage de ces composés montre clairement la très bonne activité sur DYRK1A avec respectivement des IC50 pour TG003 et INDY de 0.93 μM et 0.24 μM , concernant ProINDY aucune valeur n'a été décrite[153,173,188]. La résolution structurale de DYRK1A avec le composé INDY permet de mettre en évidence un mécanisme similaire à l'Harmine, par liaison au niveau du site de fixation de l'ATP[173]. Cependant ces criblages ont montré la très faible sélectivité de ces composés (**figure 27**) [173,221].

2. Leucettine L41

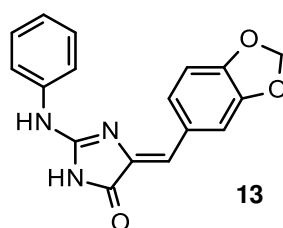


Figure 28 : Leucettine L41 **13**

Suite à la découverte de l'activité de la leucettamine B **8** sur des kinases impliquées dans le syndrome de Down ainsi que la maladie d'Alzheimer, l'équipe à l'origine de la découverte a décidé d'effectuer des pharmacomodulations[190]. Pour synthétiser le composé idéal, ils ont utilisé une approche de relation structure-activité sur le panel des huit kinases (DYRK1A, DYRK2, CLK1, CLK3, GSK-3 α/β , CK1 δ/ϵ , CDK5/p25 et Pim1) en prenant bien soin de n'effectuer les modulations que sur un seul groupement à la fois. C'est ainsi qu'après la synthèse de plusieurs centaines de composés de type alcaloïde avec un noyau imidazolone, ils ont obtenu la leucettine L41 **13** (**figure 28**) avec une IC50 sur DYRK1A de 40nM. Cependant ce composé, bien qu'il possède une très bonne activité inhibitrice sur DYRK1A, n'est pas du tout sélectif, effectivement, il possède également une IC50 de l'ordre du nM sur DYRK2, CLK1 et GSK-3 α/β , sur CLK3 et Pim1 l'IC50 est de l'ordre du μM . Ce composé possède également une activité inhibitrice sur CK1 mais son IC50 est supérieur à 10 μM , par contre il est complètement inactif sur CDK5/p25[190].

3. Meridianines

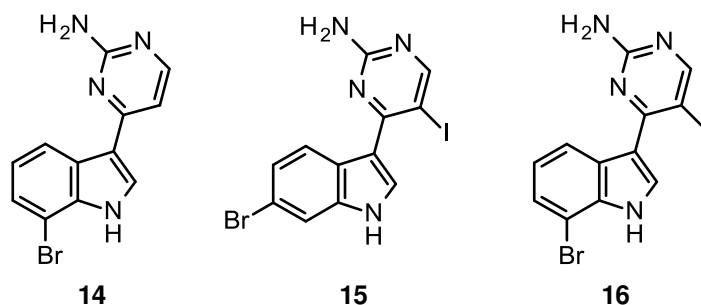


Figure 29 : Méridianines 14, 15 et 16

Les méridianines **14-16** (figure 29) sont des alcaloïdes naturels avec un noyau indole d'origine marine. C'est en 1998 qu'une équipe a isolé pour la première fois les méridianines A-E d'une ascidie, *Aplidium meridianum* de la famille des Polyclinidae^[222]. C'est presque 10 ans plus tard, en 2007 que la même équipe isole 2 méridianines supplémentaires F et G de la même source^[223]. Malgré le faible pouvoir inhibiteur sur les kinases testées, ces composés présentent une grande activité antiproliférative sur certaines lignées cellulaires. Suite à ces résultats, une équipe a décidé d'effectuer des pharmacomodulations pour en augmenter l'activité^[224,225]. Lors du criblage de leurs composés, ils ont étendu le panel de kinases testées, ce qui a permis de mettre en évidence la très bonne activité de certains de leurs composés sur DYRK1A avec des IC₅₀ de 68, 34 et 39 nM pour les composés **14**, **15** et **16** avec une activité similaire sur CLK1, cependant ces composés sont relativement peu sélectifs^[188,225]. Certains de ces composés présentent également une activité antiproliférative sur différentes lignées cancéreuses ou neuronale avec des IC₅₀ de l'ordre du μM, cependant le composé **14**, ne présente quant à lui aucune activité antiproliférative^[225].

F. Scorzonera radiata



Scorzonera hispanica. (†11)



Scorzonera radiata. (†12)

(†) – Cf. partie crédits photos

Le genre *Scorzonera* ou plus communément appelé Scorsonère fait partie de la famille des Asteraceae (Astéracées) ou Compositae (composées) qui regroupent les plantes dont l'inflorescence forme un capitule (ou une « fleur de fleurs »). Parmi les 175 espèces de ce genre, nous retrouvons par exemple l'une des espèces les plus connues du genre, la *Scorzonera hispanica* ou Scorsonère d'Espagne qui est également appelé salsifis noir dont les racines sont consommé. Parmi ces espèces, nous pouvons également citer la *Scorzonera radiata* qui pousse dans les hauteurs des plateaux de Mongolie avec dix autres espèces dont la plupart sont traditionnellement utilisées comme plantes médicinales et comme fourrage pour le bétail par les populations autochtones.

Les travaux de pharmacognosies d'une équipe sur *Scorzonera radiata* ont permis d'isoler et de déterminer la structure de cinq nouveaux composés dihydrostilbènes (**figure 30**)^[226].

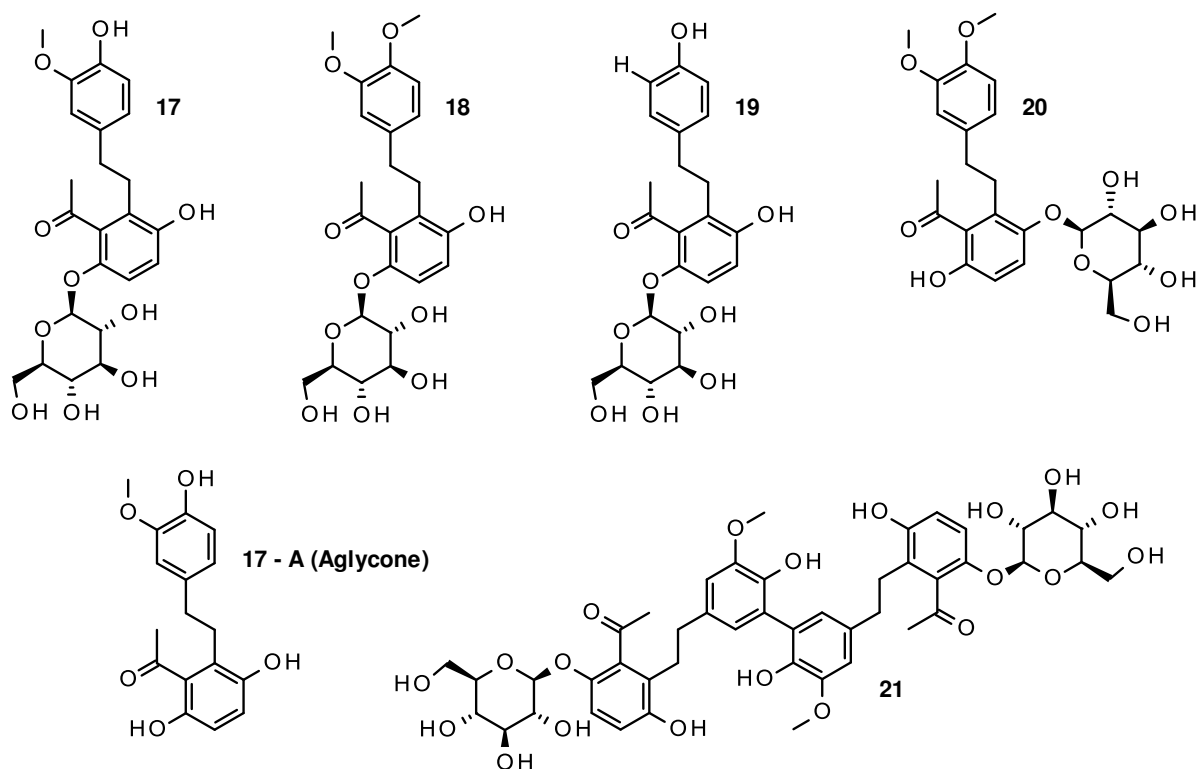


Figure 30 : La RCZ 17 et ses analogues^[226]

On remarquera que ces dihydrostilbénoides ont la particularité de tous posséder un groupement β -D-Glucose.

Ces composés ont ensuite été testés afin de déterminer leur action antioxydant en les comparants à un analogue, le Resveratrol, un très bon antioxydant naturel. Les composés **17** et **21** présentent une meilleure activité inhibitrice que le Resveratrol lors d'un test au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH) avec respectivement des IC_{50} de 105.51 et 102.90 μ M contre 149.52 μ M pour le Resveratrol^[226].

Dans le but de trouver un nouveau scaffold pour le développement d'un inhibiteur de kinase impliqué dans la maladie d'Alzheimer, un criblage a permis de porter l'attention sur la RCZ **17** et ses analogues (**figure 30**). La détermination des IC₅₀ montre la remarquable sélectivité sur la famille de protéines DYRK dont DYRK1A de la RCZ **17** et sur la famille de CLK de l'analogue **19** (**tableau 1**).

Kinases	Composé 17	Composé 18	Composé 19	Composé 17-A
CDK5/p25	>10	>10	>10	>10
CK1δ/ε	>10	>10	>10	>10
CLK1	>10	>10	6.8	>10
CLK2	>10	>10	9.1	>10
CLK3	>10	>10	2.0	>10
CLK4	>10	>10	≥10	>10
DYRK1A (<i>R.n.</i>)	0.33	>10	>10	>10
DYRK1A (<i>H.s.</i>)	0.22	>10	>10	>10
DYRK1B	>10	>10	>10	>10
DYRK2	3.70	>10	>10	>10
DYRK3	2.20	>10	>10	>10
GSK-3α/β	>10	>10	>10	>10

Tableau 1 : IC₅₀ en μM des molécules **17**, **18**, **19** et de **17 - A** (**Figure 30**) sur un panel de kinases impliquées dans la maladie d'Alzheimer. (*R.n.* : *Ratus norvegicus* ; *H.s.* : *Homo sapiens*).

La synthèse totale de ce composé va présenter un grand intérêt dans le but d'effectuer des tests biologiques plus poussés de façon à bien déterminer son mode d'action. Du fait de la grande analogie structurale des polyphénols tel que les combretastatines ou bien le Resvératrol, les différents travaux de synthèses décrits dans la littérature vont nous permettre d'établir une approche en vue d'élaborer un schéma de synthèse de **17**.

Les squelettes dihydrostilbène **22** et stilbène **23** (**figure 31**) sont des structures bien décrites dans la littérature.

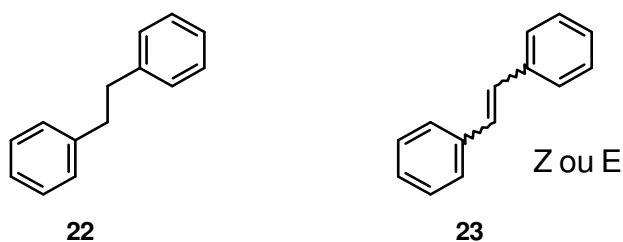


Figure 31 : Dihydrostilbène **22** et stilbène **23**

Parmi l'ensemble des stilbénoides, beaucoup sont des composés isolés à partir de plantes, de plus, tel que la RCZ **17**, qu'il n'est pas rare de voir que ces composés sont également pour certains des β -glucosides. Effectivement les glucosides sont de nature commune dans les plantes (**figure 32**), cependant ils sont beaucoup plus rares chez les animaux.

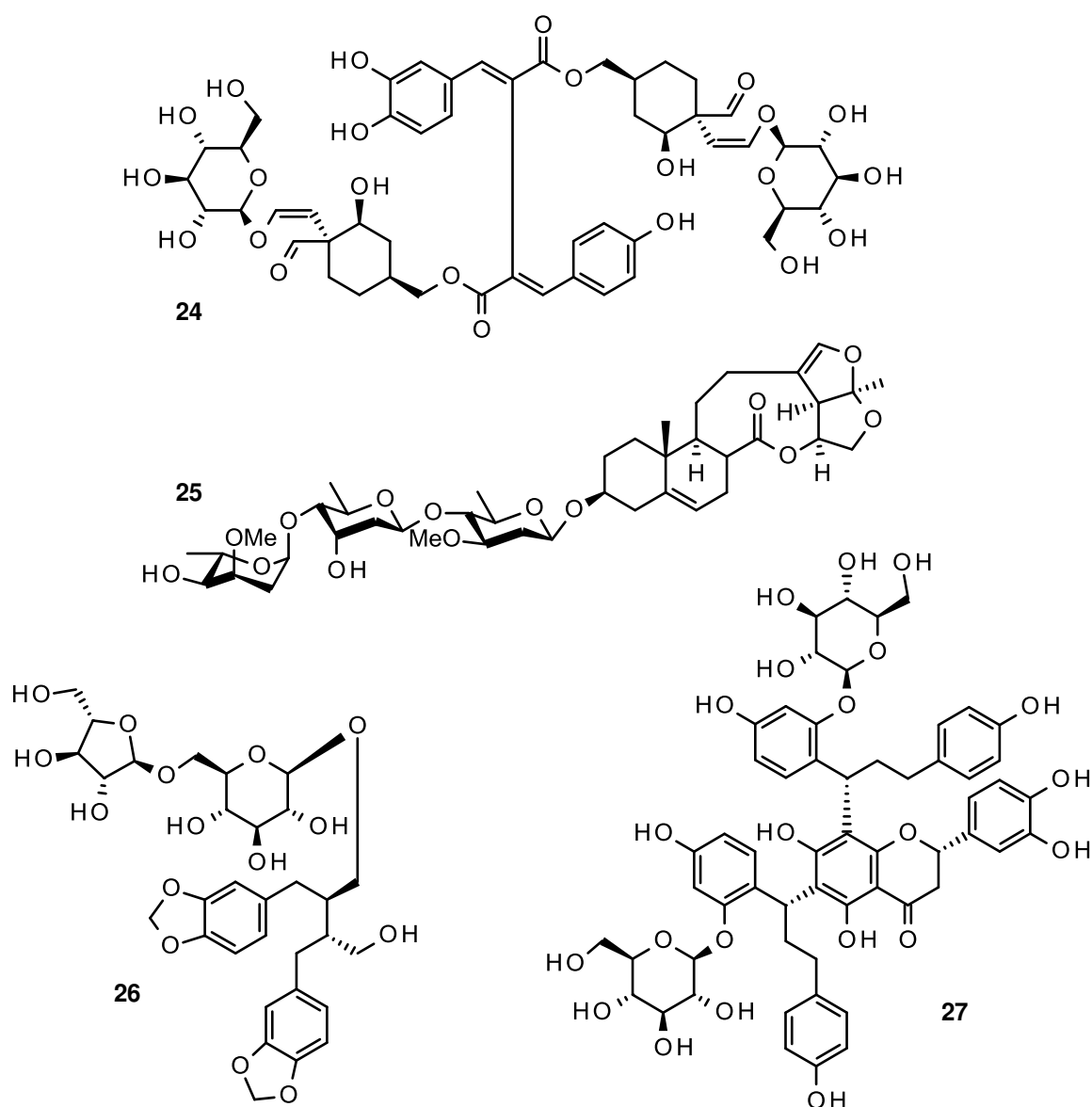


Figure 32: Glucosides naturels: **24**^[227] Inhibition dans le formation de mélanomes. **25**^[228] Myorelaxant des cellules musculaires lisse des voies aériennes. **26**^[229] Antioxydant et neuroprotecteur. **27**^[230] Inhibition du TNF- α

Lors du processus de fermentation, ou par l'action d'une enzyme, l'hydrolyse d'un glucoside permet la libération d'un glucose. Les glucosides les plus simples sont des alkyle-éthers qui sont utilisé dans l'industrie cosmétique avec par exemple le Decyl glucoside **29** utilisé comme surfactant, mais également dans la biotechnologie avec l'Octyl glucoside **28** (**figure 33**) utilisé comme détergent.

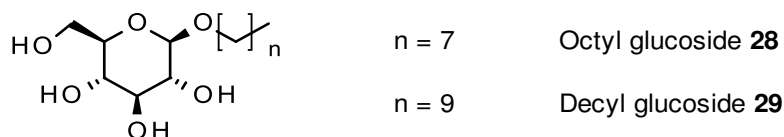


Figure 33 : Octyl **28** et Decyl **29** glucosides

Lors d'une étude bibliographique, nous avons remarqué que bon nombre d'équipes ont effectué des travaux sur la grande famille des polyphénols dans laquelle on trouve les combretastatines ainsi que le Resveratrol et ses dérivés.

Le Trans-Resveratrol **30** (**figure 34**) est une molécule naturelle qui a initialement été isolée de la vigne. Ce composé a fait l'objet d'un grand nombre d'études ce qui a permis de lui attribuer un grand nombre de propriétés en plus de son action antioxydant^[231,232] tel que son activité anti-inflammatoire^[233,234] ou bien anti-tumorale^[235-237]. Du fait de ces activités, un grand intérêt s'est porté sur l'optimisation de ce composé par des modulations.

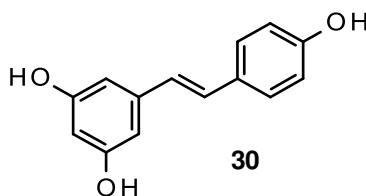


Figure 34 : Trans Resveratrol **30**

Pour la famille des combretastatines, après de nombreux travaux de modulations et dans la synthèse d'analogues, le dérivé présentant actuellement le plus grand intérêt est la Combretastatine A-4 **31** (**figure 35**), effectivement cette molécule se trouve dans des études cliniques de stade avancé dans le but de développer un anticancéreux.

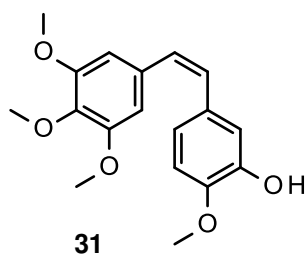


Figure 35 : Combretastatine A-4

Une équipe de pharmacognosie a isolé une analogue glycosylé du Resveratrol, le TSG **32** (**figure 36**) dans le but de connaître une éventuelle activité antagoniste dans la surexpression de l' α -synucléine impliqué dans la maladie d'Alzheimer sur des modèles de souris pour la maladie d'Alzheimer chez lesquelles la production d'A β est augmenté^[238]. Les analogues du Resveratrol sont de plus en plus étudié dans le développement d'inhibiteur d'enzymes tel que les kinases pour la lutte contre les cancers^[239], contre les maladies neurodégénératives tel que la maladie d'Alzheimer ou contre d'autre cibles^[240].

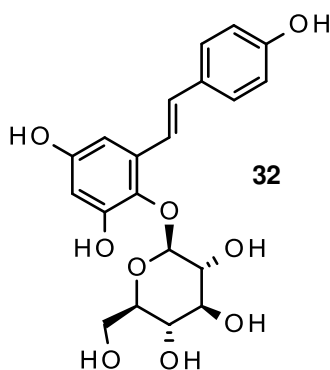


Figure 36 : 2,3,5,4'-tetrahydroxy stilbene-2-O- β -D-glucoside (TSG)

Résultats et Discussions

A. Introduction

Avant d'aborder la synthèse de la RCZ **17**, il nous paraît utile de rechercher les structures décrites et qui présentent des analogies structurales avec **17**. Lorsque ces molécules analogues ont fait l'objet d'une synthèse totale, les voies d'approches utilisées peuvent inspirer une stratégie de construction de **17**. Après avoir envisagé ces structures, des éléments sur les protections mises en œuvre sur les phénols seront ensuite présentés. Enfin les modes des constructions des diaryléthanes seront résumés ; Enfin, les approches les plus classiques de glycosylation seront présentées

I. Données de la littérature sur les molécules voisines et Structures aromatiques comportant quatre groupements vicinaux.

La structure de **17** présente une particularité sur l'un de ces cycles, les quatre groupements sont en effet vicinaux. Cette particularité engendre un challenge pour sa synthèse. Dans la littérature, les structures qui comportent une telle disposition des groupements sont relativement peu fréquentes.

Cependant de tels enchainements se retrouvent dans des produits naturels et les molécules inspirées des produits naturels. Ainsi, lors de la synthèse de la Combretastatine A-1 **34**, l'aldéhyde commercial **33** est transformé en sel de phosphonium ^[241,242] pour ensuite conduire à l'analogue de la RCZ (**figure 37**).

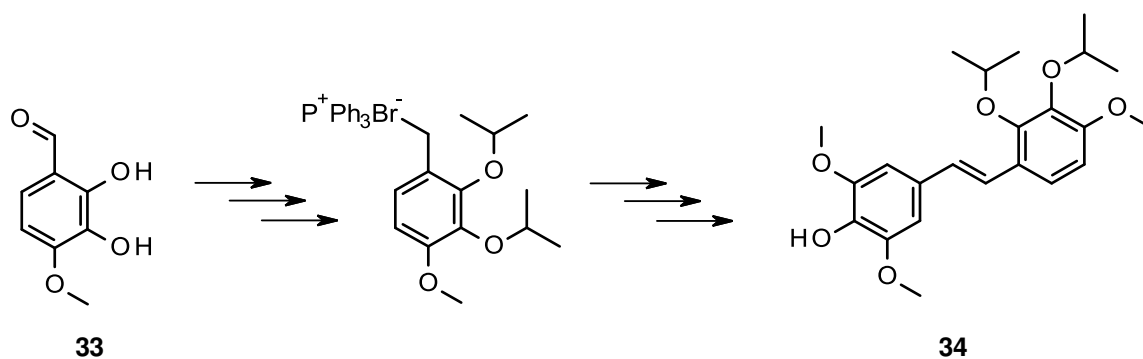


Figure 37: le composé commercial 2,3-dihydroxy-4-methoxybenzaldehyde **33** avec ses quatre groupements vicinaux conduisant au sel de phosphonium intermédiaire permettant la formation de la Combretastatine A-1 **34**^[241].

Parmi les autres structures naturelles qui comportent l'enchaînement de quatre groupements vicinaux on peut citer l'(-)-Ovotalide **37**^[243] dont la synthèse totale a été construite à partir de l'aldéhyde **35** qui est nitré pour livrer **36** qui sert ensuite de base pour élaborer l'Ovotalide **37** (**figure 38**).

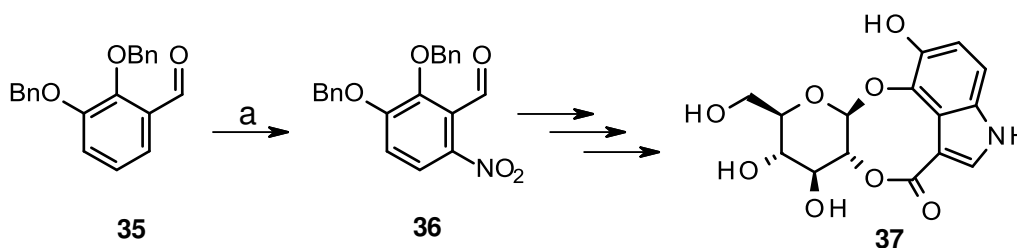


Figure 38: Synthèse d'un intermédiaire **4** avec quatre groupements vicinaux à partir du 2,3-dihydroxybenzaldehyde dibenzylé **3** lors de la synthèse totale de l'Ovotalide **5** ^[243]. Réactifs et conditions : (a) HNO₃, H₂SO₄, TA, 3h.

Une complexité supplémentaire de la structure de **17** est due à la présence de deux oxygènes en para l'un de l'autre. Les exemples avec ce type de structure sont encore plus rares. Là encore c'est parmi les molécules naturelles que l'on peut identifier cet enchaînement. Des synthèses totales ont été conduites à partir du 2,5-dihydroxybenzaldehyde ou aldéhyde gentsique **38**. Cet aldéhyde est ensuite bromé pour former **39**. Ce dérivé bromé **39** est mis en œuvre pour accéder à des composés

relativement simples comme la Frustulosine **40** et ses analogues^[244,245]. Des molécules beaucoup plus complexes telle que la Jesterone **41** et ses analogues dimériques comme l'acide torreyanique^[246,247] sont également préparées à partir de **39** (**figure 39**).

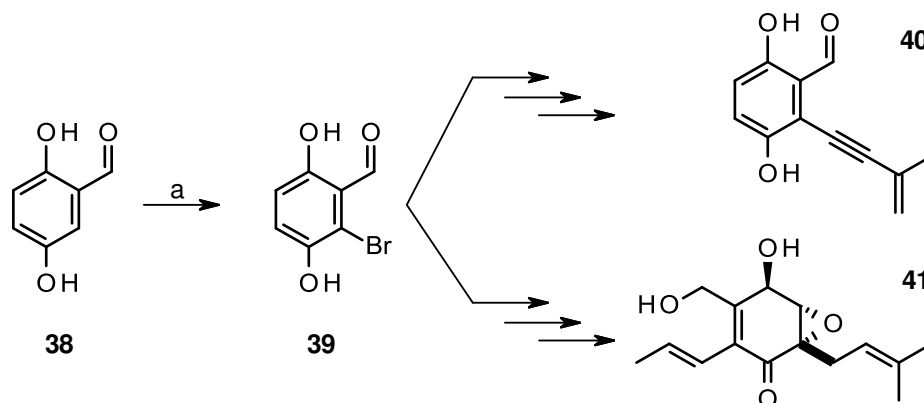


Figure 39 : Synthèse à partir du 2,5-dihydroxybenzaldehyde **38** d'un intermédiaire **39** commun, avec quatre groupements vicinaux dont les deux hydroxyles sont en para, lors de la synthèse totale de la Frustulosine **40**^[245] et de la Jesterone **41**^[246]. Réactifs et conditions : (a) CHCl₃, Br₂, TA, 3h.

II. Groupements protecteurs des systèmes polyphénoliques.

L'utilisation de groupement protecteur d'hydroxyle sera nécessaire pour la synthèse de **17**. L'ensemble des travaux de synthèses décrit dans la littérature pour des structures polyphénoliques nous a permis de mettre en évidence plusieurs groupements protecteurs d'hydroxyle stable, avec les mécanismes de sélectivité différent suivant le groupement utilisé. L'utilisation d'un groupement de type Benzyle ne permet pas d'effectuer la protection de façon sélective^[248], contrairement à l'utilisation d'un éther de *tert*-butylsilyle par exemple^[246,247,249]. Le choix du groupement protecteur est un critère important du fait des différentes conditions qu'il devra subir au cours de la synthèse totale, effectivement l'utilisation de certains groupements plus fragiles peuvent dans certaines conditions être clivés de façon précoce, mais peuvent également subir des mécanismes de réarrangement, ce qui est le cas des groupements vinyliques qui lors d'un chauffage peuvent subir un réarrangement de Claisen^[246,250], par exemple le dérivé

vinyle **42** peut dans certaines conditions conduire à **43** (**Figure 40**). L'orientation du choix des groupements protecteurs se fera également en fonction de la facilité à être déprotégé, sélectivement ou non suivant l'approche envisagé.

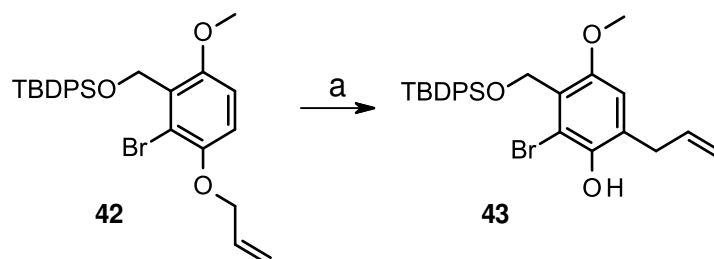


Figure 40 : Suite à la formation de **42** par la protection de l'hydroxyle libre avec un allyle, il se produit un réarrangement de Claisen dans certaine condition pour conduire à **43**. Conditions : (a) 180°C, 2h ^[250]

III. Construction des diaryléthanes

La structure de **17** est très similaire à celle des Combretastatines^[241,242] ou bien encore de celle du Resveratrol^[249] avec un squelette de type stilbène. Nous nous sommes de ce fait intéressés à ces travaux concernant leurs stratégies de couplage pour former les structures stilbénoides. Il existe deux grands types de réactions permettant l'obtention de ce type de squelette, la réaction de Heck^[251,252] par le couplage d'un dérivé halogéné **44** avec un groupement vinylique **45** pour conduire à un analogue du Resveratrol **46** (**figure 41**) et la réaction de Wittig^[241,242,249,251] permettant le couplage d'un sel de phosphonium **34** avec un aldéhyde **47** conduisant à un précurseur de la combretastatine A-1 **48** (**figure 42**), cependant dans la littérature, la réaction de Wittig est plus largement décrit lors de synthèses de dérivé stilbènes, ce qui a orienté notre choix.

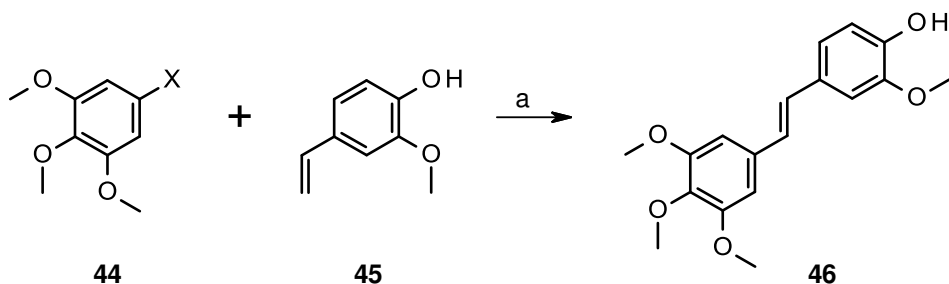


Figure 41 : Réaction de Heck entre un dérivé halogéné **12** et un dérivé vinylique **13** pour conduire au stilbène **14**. Réactifs et conditions : (a) Pd/2 ligands 1% mol, Cs₂CO₃, DMF, 100°C^[251].

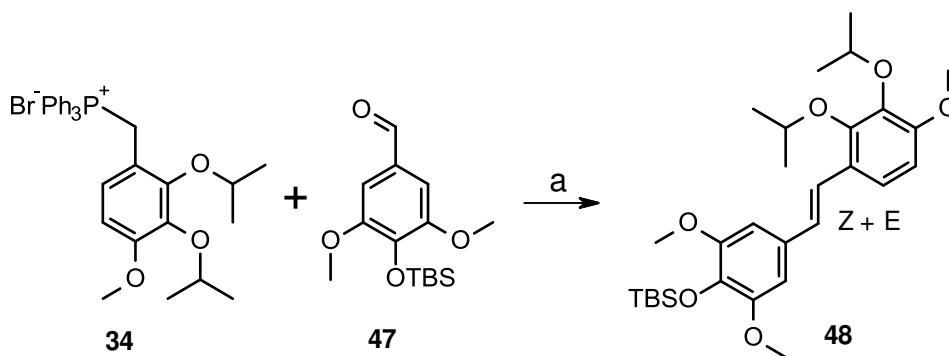


Figure 42 : Réaction de Wittig entre un sel de phosphonium **2** et un aldéhyde **15** pour conduire au stilbène **16**. Réactifs et conditions : (a) n-BuLi/Et₂O, -78°C à 0°C^[241].

IV. Procédés de glycosylations

Un nombre élevé de molécules naturelles est glycosylé. La RCZ **17** qui comporte trois hydroxyles est une structure monoglycosylée. Dans la littérature il existe plusieurs méthodes de couplage d'un groupement osidique qui ont été utilisé lors de synthèses de composé naturels ou des analogues, cependant seulement certaines méthodes permettent le greffage de façon à retrouver la forme β de l'ose. L'électrophile mis en œuvre peut être un époxyde. Le couplage d'un β -glucoside par condensation avec un époxyglucal **50** dans un mélange de DMF-H₂O avec un indole **49** désacétylé *in situ* pour

obtenir un intermédiaire β -glucosidique **51** lors de la synthèse totale de l'Ovatolide **37**^[243] (**figure 43**).

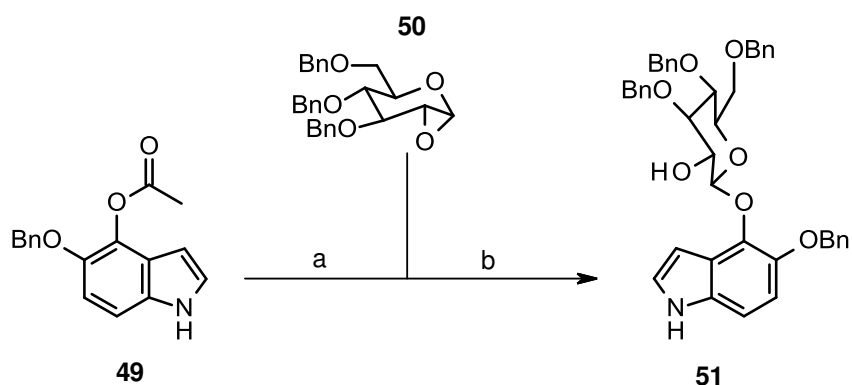


Figure 43 : Réaction de condensation d'un epoxyglucal **50** avec un indole **49**^[243]. Réactifs et conditions : (a) NaOH - Na₂S₂O₄ ; (b) DMF - H₂O.

L'approche la plus classique mets en jeu, par un mécanisme de S_N2, le greffage d'un anomère halogéno- α -ose sur un hydroxyle en présence d'une base tel que Cs₂CO₃ pour conduire à un composé β -osidique. Cette technique a été utilisé par une équipe effectuant la synthèse d'analogues de la Terfestatine A^[248] tel que le composé **52** par l'action de l'acétobromo- α -D-glucose sur le précurseur hydroxyle **52** (**figure 44**).

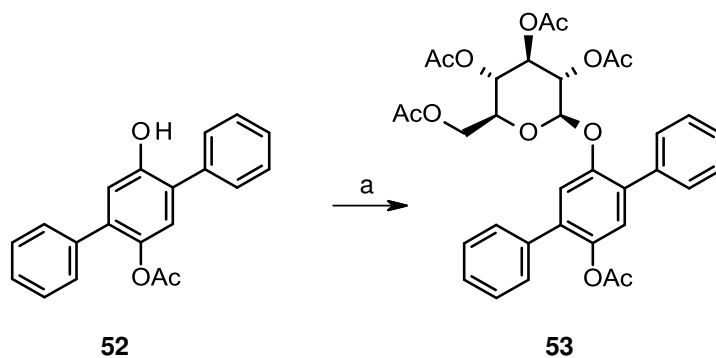


Figure 44 : Réaction de fixation d'un acétobromo- α -D-glucose sur l'hydroxyle **52** pour conduire à l'analogue de la Terfestatine A **53**^[248]. Réactifs et conditions : (a) Cs₂CO₃, acétobromo- α -D-glucose, CH₃CN, TA, 24h.

Elle a également été utilisée par une autre équipe dont leur travaux ont principalement porté sur le positionnement spécifique d'un β -glucoside sur un hydroxyle de la Quercétine **54** en faisant également appel à des méthodes de protection/déprotection spécifique sur les hydroxyles^[253] conduisant à plusieurs dérivé dont le composé **55** permettant ainsi l'obtention de **56** (**figure 45**).

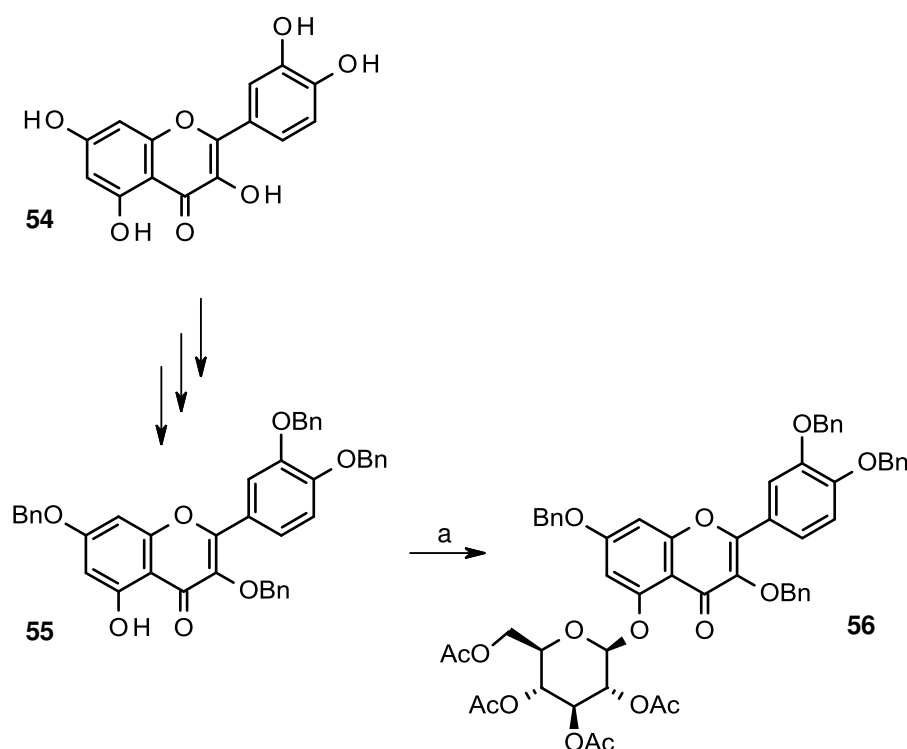


Figure 45 : Réaction fixation d'un acétobromo- α -D-glucose sur l'hydroxyle pour conduire à l'analogue de la Quercétine ^[253]. Réactifs et conditions : (a) K_2CO_3 , acétobromo- α -D-glucose, DMF, TA, 6h.

L'ensemble de ces travaux nous ont permis d'établir notre voie d'approche.

B. Approches mis en œuvre dans la préparation de la RCZ

A partir de l'ensemble travaux qui sont décrits dans la littérature, trois approches pour préparer la RCZ **17** ont été successivement mises en œuvre. Dans les trois cas, l'ose est greffé puis déprotégé en dernier lieu. Les trois modes d'assemblages des fragments de **17** ont été successivement mis en œuvre Ces trois voies sont à chaque fois présentés par des schémas rétrosynthétiques puis les résultats obtenus sont détaillée.

I. Approche Voie A - déprotection sélective d'un dérivé de stilbene

1. Rétrosynthèse Voie A

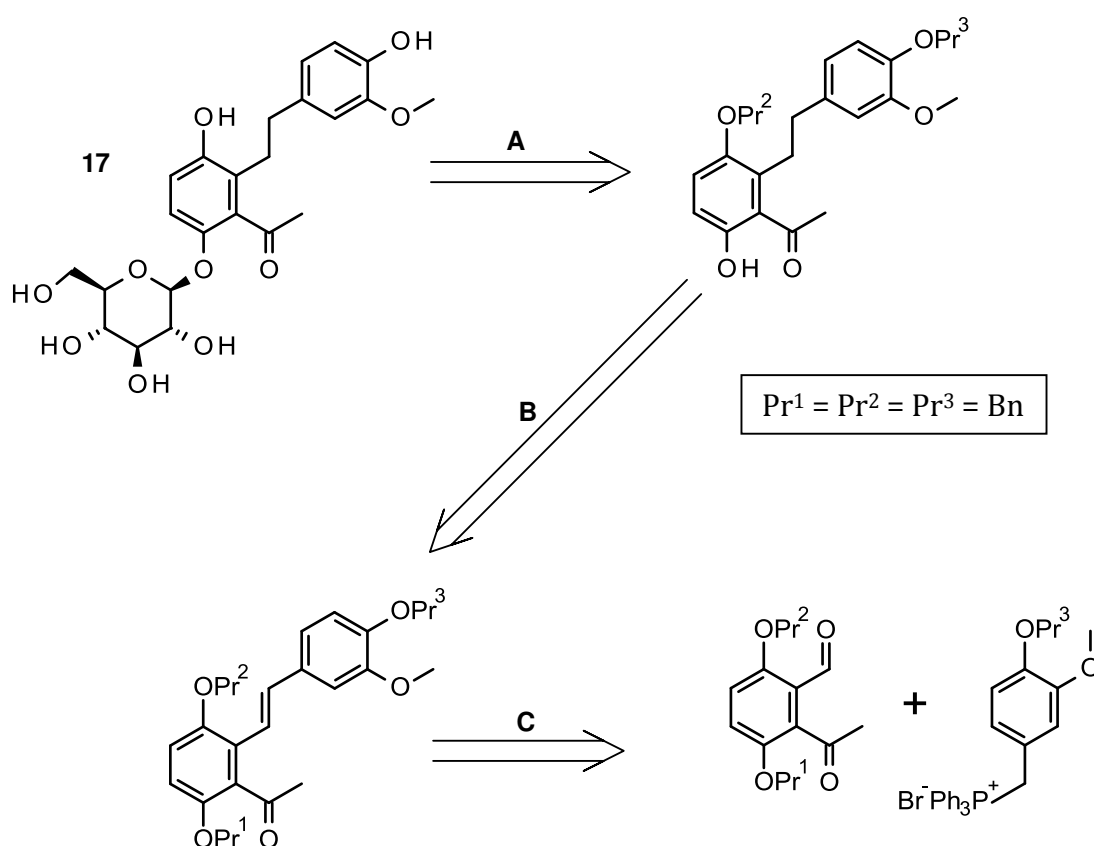


Figure 46 : Rétrosynthèse approche voie A. L'étape clef est l'élimination sélective de Pr¹.

Le groupement benzyle est un groupement stable, fréquemment utilisé pour protéger des alcools et phénols. Il est le plus souvent éliminé par hydrogénation ce qui est avantageux pour accéder à la RCZ dans la mesure où une telle déprotection réduira également la double liaison du stilbène intermédiaire formé lors du couplage suivant une réaction de Heck ou une réaction de Wittig.

La déprotection sélective d'un groupement benzyloxy en ortho d'un aldéhyde ou d'une cétone a été décrite. La stratégie présentée dans le schéma précédent (**figure 46**) peut donc se résumer ainsi : les trois groupements protecteurs sont identiques, $Pr^1 = Pr^2 = Pr^3 = Bn$ avec une déprotection sélective de Pr^1 .

2. Essais de préparation de la RCZ 17 selon la voie A.

a. Préparation du Sel de Phosphonium

La première étape vise à préparer un sel de phosphonium qui sera mis en jeu dans une réaction de Wittig. De tels sels de phosphonium avaient déjà été préparés par l'équipe du Pr G. PETTIT lors des très nombreuses synthèses des combretastatines A^[249,254,255].

Le sel de phosphonium **61** est obtenu sans difficulté particulière à partir de la vanilline **57**. La synthèse a été relativement facile à mettre en place et des quantités de l'ordre de la dizaine de grammes ont pu être préparées.

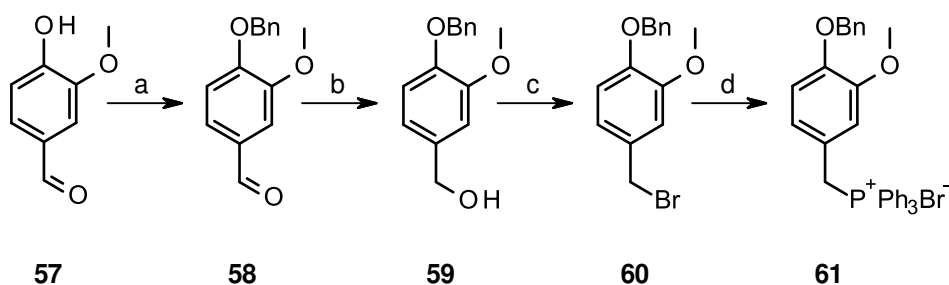


Figure 47 : Réactifs et conditions : (a) CH_3CN , K_2CO_3 , $BnBr$, reflux, 1h, 94% ; (b) $MeOH$, $NaBH_4$, $0^\circ C$, 30 min, 93% ; (c) CH_2Cl_2 , PBr_3 , TA, 18h, 89% ; (d) toluène, PPh_3 , reflux, 2h, 96%.

La première étape est la protection du groupement hydroxyle de la vanilline **57** par un benzyle via une réaction de Williamson en présence de K_2CO_3 avec du bromure de benzyle dans l'acétonitrile pour donner le composé **58**^[248] (**figure 47**). L'aldéhyde **58** est ensuite réduit en alcool **59** par l'action de $NaBH_4$ dans le méthanol à $0^\circ C$ ^[256] Cette réduction est quasi instantanée comme le montre le suivi de la réaction par CCM il a été ainsi possible de réduire le temps de réaction de moitié, en passant de 1h comme décrit dans la littérature^[256] à entre 15 et 30 min.

Le produit **60** est formé suite à une réaction de type SN_2 sur l'alcool **59** en présence de PBr_3 dans CH_2Cl_2 ^[249]. Ce dérivé bromé **60** réagit ensuite avec 1,5 équivalents de PPh_3 en solution dans du toluène conduisant à la formation du sel de phosphonium **61**^[249] qui est insoluble dans le solvant, ce qui permet de l'isoler par filtration.

L'analyse RMN de **61** nous montre un excès de protons dans les aromatiques, laissant supposé la présence de PPh_3 . De façon à réduire cette contamination, j'ai tenté la réaction avec seulement 1.1 équivalents de PPh_3 pour un même temps de réaction. Effectivement, sur le spectre RMN, une diminution de la contamination est observée sans que le rendement de la réaction ne soit modifié.

b. Céto-aldéhyde dibenzylé

Comme déjà mentionné, La synthèse du second synthon en vue du couplage avec **61** est relativement complexe.

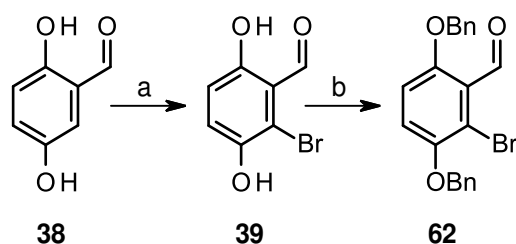


Figure 48 : Réactifs et conditions : (a) $CHCl_3$, Br_2 , TA, 3h, 90% ; (b) CH_3CN , K_2CO_3 , reflux, 4h, 73%

Le produit commercial 2,5-dihydroxybenzaldéhyde **38** a été utilisé comme matériel de départ avec la bromation en position 6^[246], nous avons dans un premier temps effectué

la réaction dans le CH₂Cl₂ conduisant à **39** avec un rendement de maximum 50% ce qui est faible pour une première étape. Suite à cela, l'expérience avec CHCl₃ comme solvant a été effectuée donnant la même molécule **39** avec plus de 90% de rendement. La protection des hydroxyles de **39** par des benzyles pour conduire à **62** se fait par le biais de la réaction de Williamson dans les mêmes conditions que **58**^[257] en ajustant le nombre d'équivalents (**figure 48**).

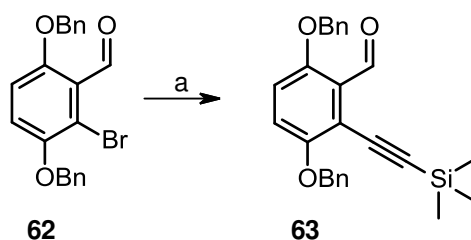


Figure 49 : Réactifs et conditions : (a) Toluène, CuI, (PPh₃)₂Cl₂Pd (II), TMS acétylène, Et₃N, 85°C, 2-4h, 65%.

L'une des étapes clef de la synthèse du second synthon est le couplage du dérivé halogéné **62** avec un alcyne conduisant au dérivé **63**. Cela a été possible par le biais de la réaction de Sonogashira^[258] (**figure 49**). Cette réaction a été décrite plusieurs fois dans la littérature^[259-261] sur le diphénol non déprotégé dans le but de préparer la Frustulosine **40**^[245]. Lors de ces essais il est apparu nécessaire de protéger le groupement hydroxyle situé en ortho de l'halogène car dans les conditions de la réaction, la triple liaison de l'alcyne va engendrer une cyclisation par addition nucléophile de l'hydroxyle situé sur le carbone adjacent à celui qui porte l'acétylénique tel que le composé **64**.^[245,262] (**figure 50**).

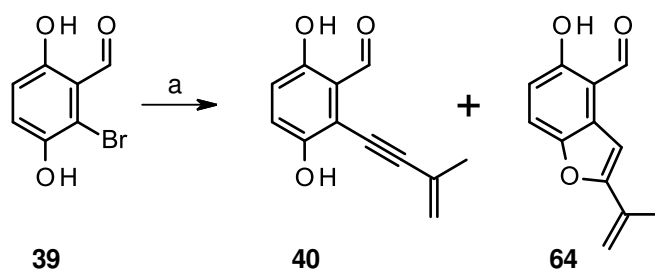


Figure 50 : La réaction de Sonogashira sur **39** conduit à la formation de deux composés, la frustolosine **40** qui est minoritaire (<10%) et le dérivé cyclisé **64** majoritaire. Réactifs et conditions : (a) 2-methylbut-1-en-3-yne, CuI, (PPh₃)₂Cl₂Pd (II), Et₃N, DMF, 60°C, 3h^[245].

La synthèse du composé **63** a été effectuée avec succès par la réaction de Sonogashira^[245]. Cependant, nous avons observé que **63** possède un R_f similaire à **62** rendant le suivi de la réaction par CCM assez difficile car **63** est beaucoup plus fluorescent que **62** aux longueurs d'ondes de 365 nm et 254 nm, c'est l'analyse RMN qui a permis de mettre en évidence que environ 30% de **62** est retrouvé dans les fractions de **63** lors de la purification sur colonne de silice. Du fait de la forte présence de matière première, plusieurs conditions de réactions ont été réalisées (**tableau 2**), c'est avec l'utilisation du toluène comme solvant avec une hausse de la température de réaction à 80°C que les meilleurs résultats sont obtenus, il n'y a plus de trace de **62** et **63** est isolé avec un rendement de 60%.

Solvants	Températures	Temps de réaction	63 (Rendement %)
THF	60°C	3h	25
THF	60°C	4h	25
THF	65°C	3h	30
THF	65°C	4h	25
THF	65°C	8h	35
THF	Reflux	4h	45
Toluène	85°C	2h	70
Toluène	85°C	4h	70

Tableau 2 : Optimisation de la réaction de Sonogashira conduisant à **63** en faisant varier uniquement le temps de réaction, la température de réaction et le solvant de réaction.

Deux méthodes de désilylation de **63** ont été envisagées. La première se fait en présence de TBAF en solution dans l'acétonitrile à 0°C^[263] formant ainsi l'alcyne **65** avec un excellent rendement (**figure 51**). Toutefois une seconde méthode est décrite dans la littérature^[261,264] qui consiste à utiliser le K₂CO₃ dans du méthanol. Dans ces dernières conditions, seul le produit de départ **63** a pu être isolé, dans notre cas la matière première ne réagit pas.

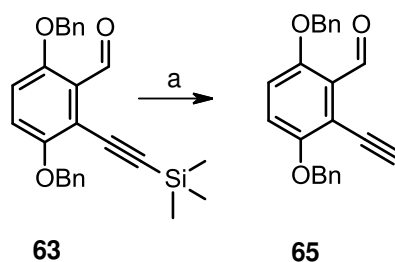


Figure 51 : Réactifs et conditions : (a) THF, BuN₄F, 0°C, 30min, 90%^[263].

L'hydratation des alcynes en présence de sels mercuriques est un mécanisme connu depuis longtemps, c'est en 1881 qu'il a été publié pour la première fois^[265,266]. Encore aujourd'hui l'utilisation de sels mercurique pour l'hydratation d'un alcyne est courant,

cependant de nouveau procédé toujours par l'utilisation de sels métalliques ont vu le jour mais sont très peu utilisés. L'ensemble des méthodes ont fait l'objet d'une revue en 2007^[267].

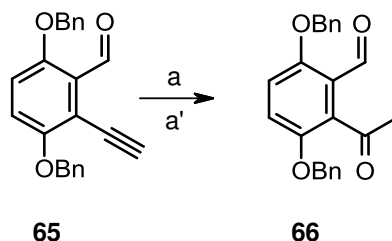


Figure 52: Réactifs et conditions : (a) HCOOH/CH₃COOH, Hg(CH₃COO)₂, H₂O, TA, 2h, 27% ; (a') CH₃CN/CH₂Cl₂, H₂O, Hg(OTf)₂·(TMU)₂ (0.1 mol %), TA, 12h, 30%.

La fonction cétone sur notre synthon est obtenue par l'hydratation de l'alcyne. Le sel mercurique va agir sur l'alcyne en milieu acide^[267]. Dans notre cas, **65** est hydraté par action de l'acétate de mercure en solution dans un mélange d'acide acétique, d'acide formique et d'eau^[268] pour former la cétone **66** (**figure 52**). Lors de cette réaction la quantité de mercure libérée est non négligeable nécessitant une purification du produit sur colonne de silice. Lors de la purification, seulement une faible quantité de produit est isolée, le rendement étant de l'ordre de 20%. Ce résultat a donné lieu à une recherche bibliographique^[267] dans le but de trouver une méthode d'hydratation permettant d'augmenter le rendement en aboutissant à la mise en place d'un nouveau protocole original nécessitant l'utilisation de triflates mercuriques Hg(OTf)₂ complexé avec le tétraméthylurée (TMU) dans des quantités catalytique^[269,270].

Après plus de 20 ans de développement sur les triflates mercuriques, l'équipe travaillant sur ces catalyseurs a fait la découverte fortuite de son pouvoir d'hydratation sur les alcynes tel que l'hydratation du phénylacétylène **69** en acétophénone **70**^[269]. Initialement leur projet portait sur le développement d'un catalyseur de cyclisation permettant par exemple la cyclisation de **67** pour conduire à **68**^[271-273] (**figure 53**).

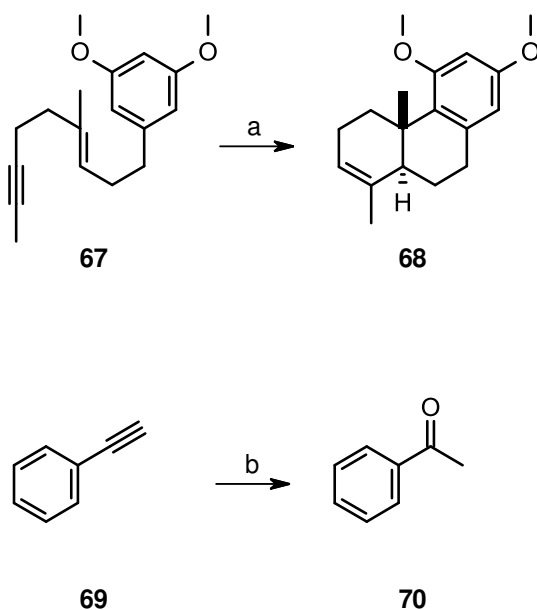


Figure 53: Exemple d'utilisation des triflates mercuriques $\text{Hg}(\text{OTf})_2$ dans une réaction de cyclisation de **67** en **68**^[274] et d'hydratation de l'alcyne **69** donnant l'acétophénone **70**^[269]. Réactifs et conditions : (a) $\text{Hg}(\text{OTf})_2$ (1 mol %) CH_3NO_2 , TA, 6min^[274] ; (b) $\text{Hg}(\text{OTf})_2 \cdot (\text{TMU})_2$ (0.5 mol %), H_2O , $\text{CH}_3\text{CN}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, TA, 12h^[269].

L'optimisation de cette nouvelle approche a permis de réduire considérablement la présence de mercure dans la réaction avec l'obtention du même composé **66** avec toujours un faible rendement. Initialement, la quantité de $\text{Hg}(\text{OTf})_2 \cdot (\text{TMU})_2$ est de 0.5 mol % en fonction de notre alcyne, cependant nous avons tenté de diminuer encore plus la quantité de ce catalyseur, ce qui permis de déterminer que la quantité minimale de $\text{Hg}(\text{OTf})_2 \cdot (\text{TMU})_2$ est de 0.1 mol %, avec seulement 0.05 mol % nous n'observons plus de réaction. Lors de cette optimisation, nous avons pu observer que l'ordre d'addition des réactifs est un critère important dans la cinétique de la réaction, en particulier lors de l'addition de H_2O . Lorsque H_2O est additionné après $\text{Hg}(\text{OTf})_2 \cdot (\text{TMU})_2$, la réaction est très rapide, cependant quand H_2O est additionné en premier, la réaction est plus lente permettant de bien observer la formation du produit **66** sans composés secondaires. Après la purification sur colonne, nous avons toujours un faible rendement. Malgré ce faible rendement des quantités suffisantes ont pu être isolées pour la suite.

c. Wittig Benzyle

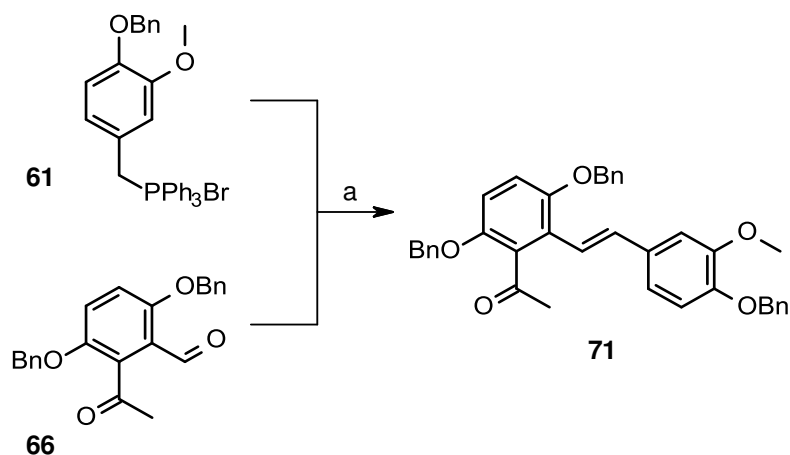
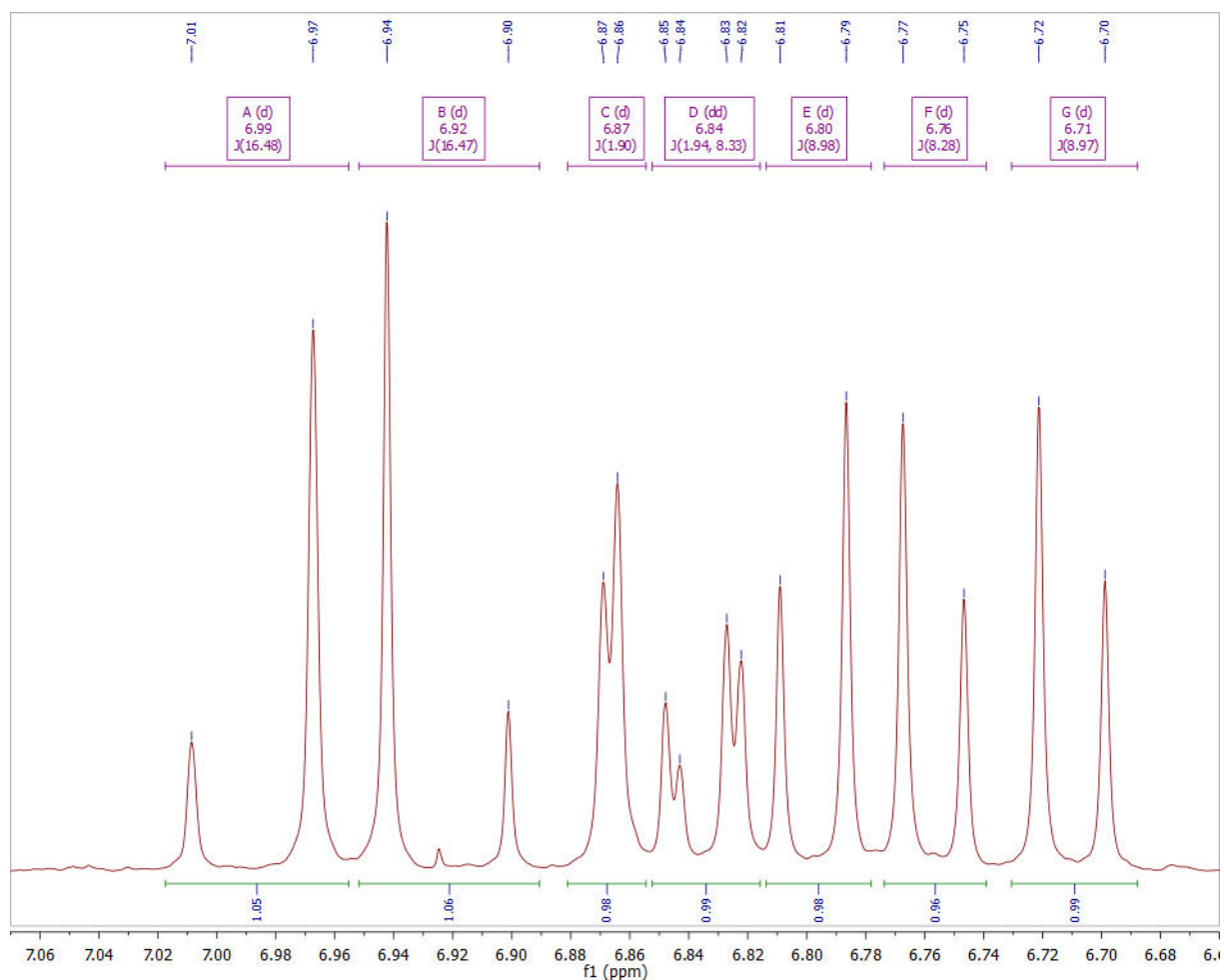


Figure 54 : Réactifs et conditions : (a) THF, *n*-BuLi, -78°C, 12h, 35%.

La réaction de Wittig nous a semblé être l'approche la plus facile à mettre en place, effectivement elle a été principalement utilisée lors de la synthèse d'analogues de type stilbènes dont nous nous sommes inspirés pour établir notre approche de synthèse pour notre composé. Cette réaction de couplage de **61** avec **66** commence par la formation *in situ* de l'ylure par action du *n*-BuLi sur **61** à -78°C qui va ensuite réagir sur le groupement aldéhyde de **66** par une réaction de Wittig^[249] formant **71** (**figure 54**). Seul le composé de configuration E est formé, effectivement par l'analyse du spectre RMN (**figure 55**) nous pouvons clairement observer une très grande constante de couplage qui est de 16.5 Hz des doublets des protons de l'alcène (**tableau 3**).



Position	δ (ppm)	multiplicité	J (Hz)
4 (E)	6.80	d, 1H	8.98
5 (G)	6.71	d, 1H	8.97
α (B)	6.92	d, 1H	16.47
β (A)	6.99	d, 1H	16.48
2' (C)	6.87	d, 1H	1.90
5' (F)	6.76	d, 1H	8.28
6' (D)	6.84	dd, 1H	8.33, 1.94

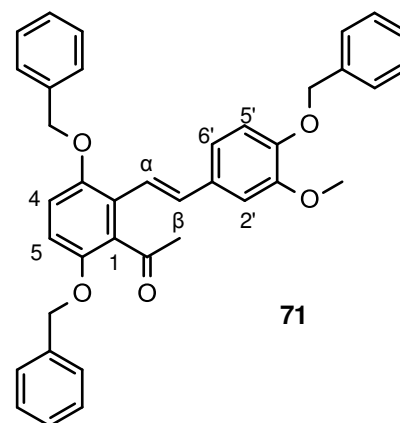


Figure 55 : Agrandissement du spectre RMN de **71**. Nous pouvons clairement effectuer l'attribution des différents protons. Les différents protons sont référencés dans le tableau. (La classification a été effectuée suivant la numérotation des différents carbones de la molécule).

d. Déprotection du groupement benzyle

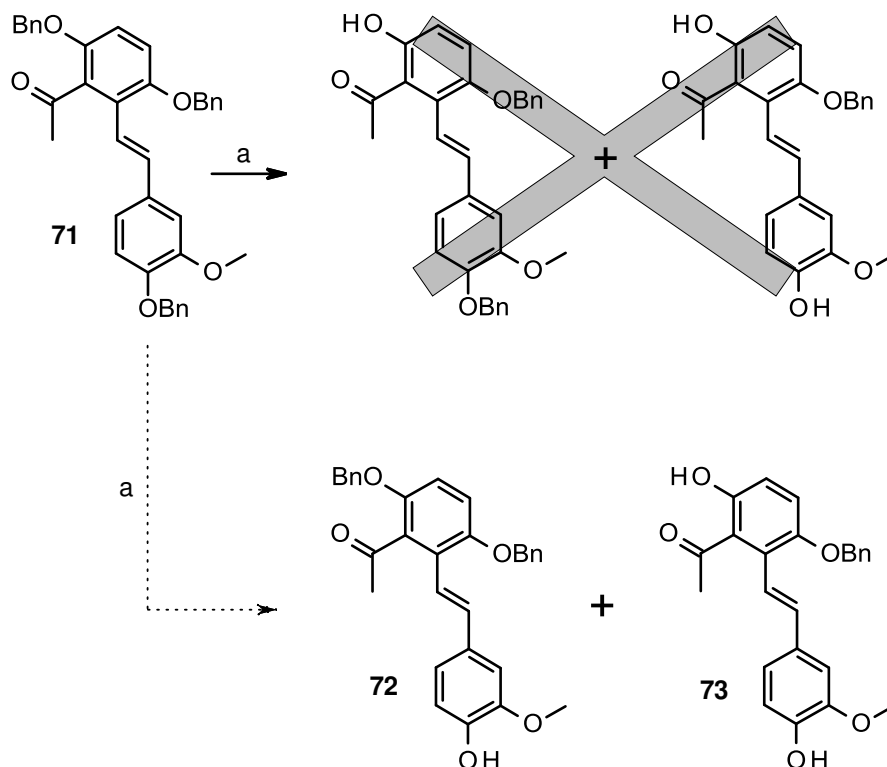


Figure 56 : Réactifs et conditions : (a) Et₂O/toluène, MgBr₂, 60°C, 48h, 30%.

Tout l'enjeu de cette approche repose sur la sélectivité de la déprotection du benzyle qui est situé en ortho de la fonction cétone de façon pouvoir y fixer un groupement osidique par la suite (**figure 56**). Dans la littérature, cette déprotection sélective est bien décrite avec un groupement aldéhyde situé en ortho de l'hydroxyle à débenzyle au lieu d'une cétone. La réaction se fait par l'action de MgBr₂ dans un mélange d'Et₂O et de benzène^[243,248,275,276]. Une équipe a également effectué avec succès la déprotection sélective d'un benzyle porté par un hydroxyle situé en ortho d'une fonction cétone^[277] lors de la synthèse totale de l'Heliannuol A (**figure 57**). Nous avons pris le soin de remplacer le benzène par du toluène^[277].

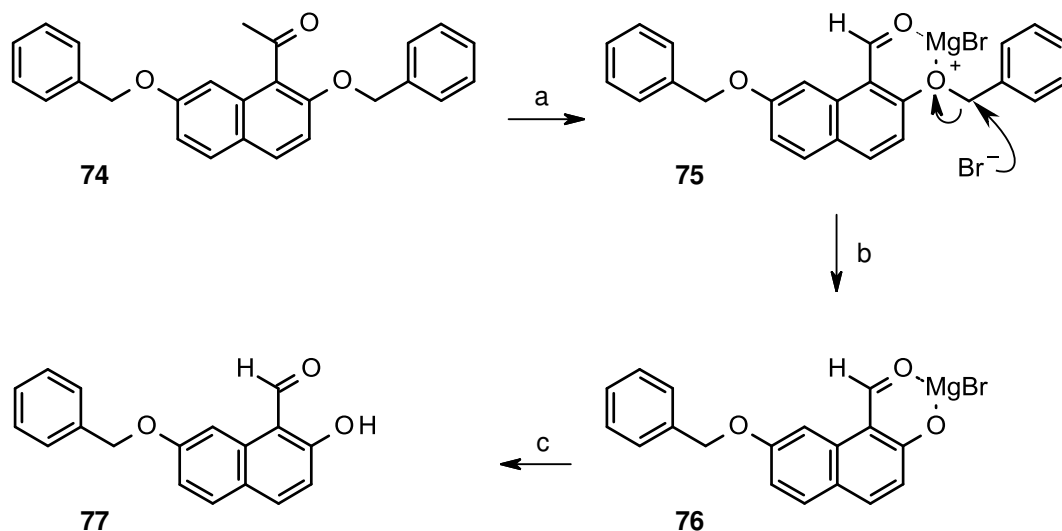


Figure 57 : Proposition de mécanisme lors de la déprotection sélective d'un hydroxyle porteur d'un benzyle en ortho d'un aldéhyde. Le composé **74** porteur de deux benzyles va immédiatement en présence de MgBr_2 former le composé intermédiaire **75**. Après un doux reflux et par l'action de Br^- le groupement benzyle va partir pour former **76** qui après hydrolyse donne **77**^[275,276]. Réactifs et conditions : (a) MgBr_2 , Et_2O / Benzène ; (b) reflux, départ de BnBr ; (c) $\text{H}^+/\text{H}_2\text{O}$ ^[275].

Le suivi de la réaction a permis d'observer la formation d'un seul produit de Rf inférieur au produit de départ (= **72**), puis dans un second temps un deuxième produit avec un Rf plus faible que le premier. Au bout de 48h la réaction n'évolue plus et après purification et on constate qu'il reste environ 30% de **71** et les proportions respectives de deux composés sont d'environ 30 à 35%. Les analyses par RMN montrent bien l'obtention d'un composé monodébenzylé ainsi qu'un composé didébenzylé (**figures 58 et 59**).

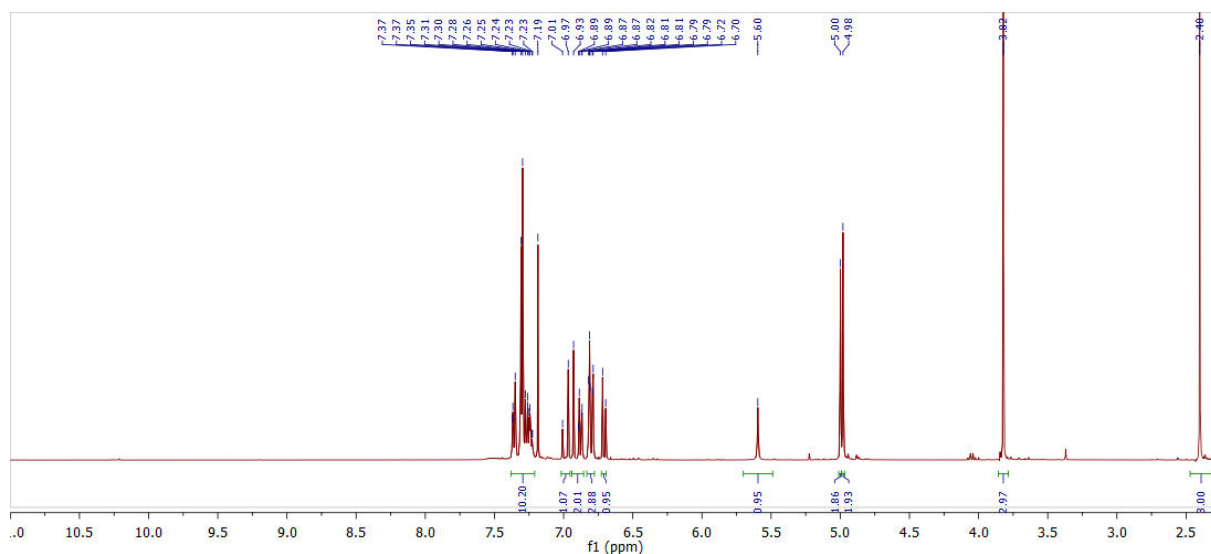


Figure 58 : Spectres RMN du composé monodébenzylé. On observe bien la disparition d'un pic correspondant au CH₂ d'un groupement benzyle ainsi que l'apparition d'un pic correspondant à l'hydroxyle (δ 5.60), au niveau des aromatiques, l'intégration ne correspond plus qu'à dix protons.

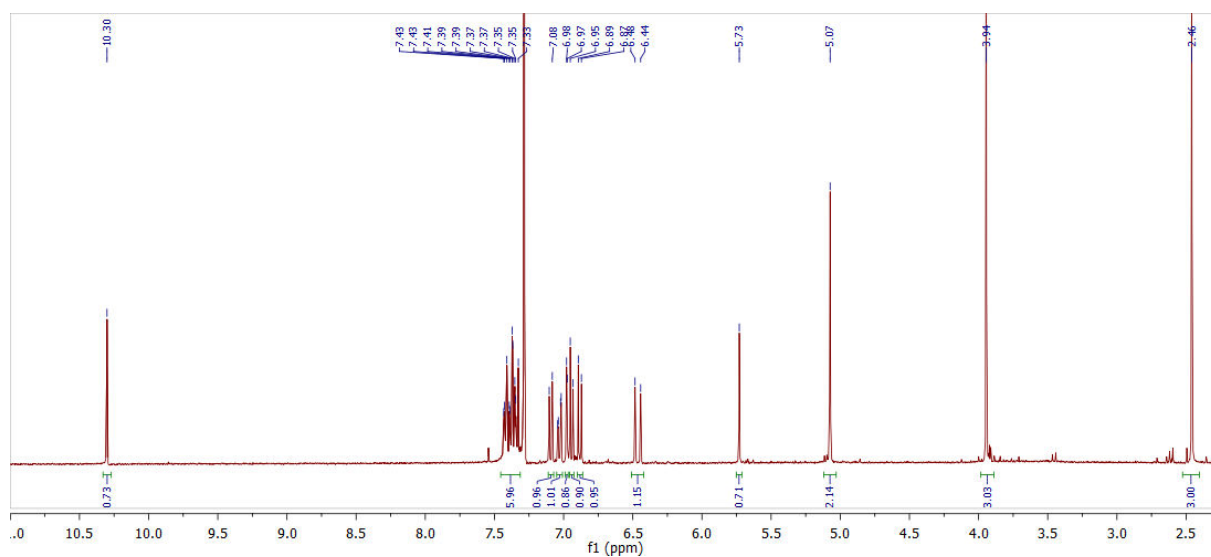


Figure 59 : Spectres RMN du composé didébenzylé. Ici on observe bien la disparition de deux pics correspondant aux CH₂ benzyliques avec l'apparition des deux hydroxyles (δ 10.30 et δ 5.73). L'intégration au niveau des aromatiques ne correspond plus qu'à cinq protons prouvant bien la présence de plus qu'un seul groupement benzyle.

e. Fixation de l'ose

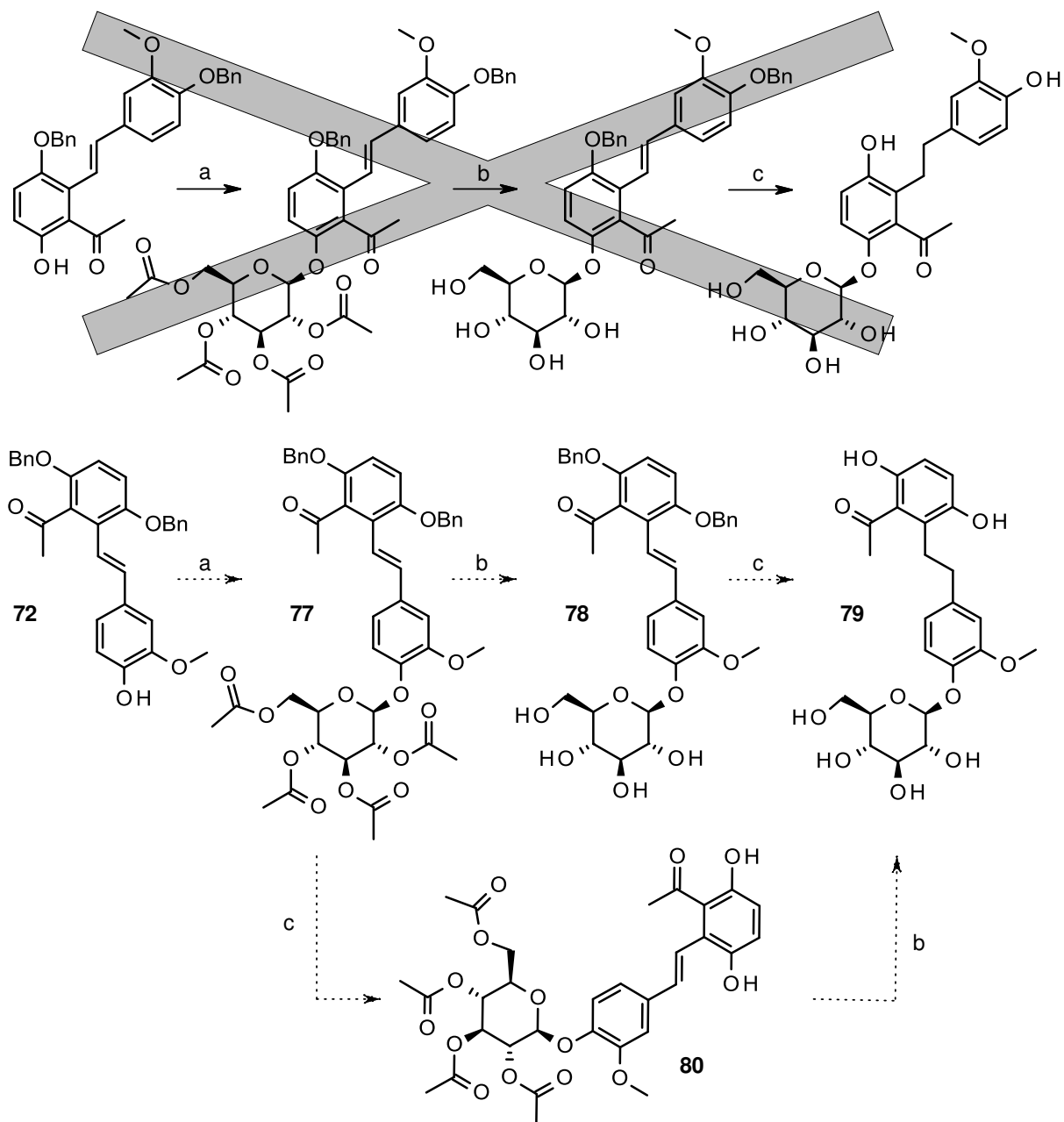


Figure 60: Réactifs et conditions : (a) CH_3CN , Cs_2CO_3 , acetobromo- α -D-glucose, TA, 24h, 60% ; (b) MeOH , KOH , TA, 1h, 90% ; (c) EtOH/AcOEt , 10% Pd/C , H_2 , TA, P°Atm , 2h, 99%.

Le composé monodébenzylé est ensuite engendré dans une réaction de couplage avec l'acétobromo- α -D-glucose en présence de Cs_2CO_3 ^[248] (figures 44 et 60) pour conduire

au β -glucoside acétylé correspondant (**77**) dont la désacétylation par action de KOH dans le méthanol^[248] se fait très aisément (**conduisant à 78**). La dernière étape est une hydrogénation catalytique^[248] permettant de saturer la fonction alcène ainsi que la débenzylation des groupements hydroxyles (**de 78**) pour conduire à la molécule finale correspondante (**79**).

L'ordre d'exécution de ces deux dernières étapes a également été inversé en commençant par l'hydrogénation catalytique (**de 77**)^[248] formant le dérivé acétylé (**80**) suivis de la désacétylation^[248] pour conduire à notre molécule (**79**). La molécule finale (**79**), de par son grand nombre de groupements hydroxyles, est soluble dans l'eau, lors du traitement de la réaction de désacétylation le produit est perdu dans la phase aqueuse. Nous avons cependant pu le récupérer de la phase aqueuse mais les cristaux obtenus sont moins jolis que ceux obtenus par la première méthode de synthèse. Il est donc essentiel de réaliser d'abord la saponification puis de terminer par l'hydrogénation catalytique

Par l'analyse comparative de la RMN de **79** avec celle de **17**^[226] (**tableau 3**), de petites différences ont été observées, effectivement, comme nous pouvons le voir, les différents pics des hydrogènes présentent un « Shiftage ». Les différences de valeurs des données RMN entre la molécule **79** et la molécule RCZ **17** naturelle ne permettent pas clairement de définir que **79** est un isomère de position. Cependant les déplacements chimiques des protons aromatiques ainsi que leurs constantes de couplages prouvent que nous sommes bien en présence de deux molécules différentes. L'évaluation biologique du composé **80** nous a confirmé qu'il est différent de la RCZ **17**.

Positions	RCZ 17	Isomère 79
1		
2		
3		
4	6.79, d (8.8)	6.54, d (8.6)
5	6.97, d (8.8)	6.69, d (8.6)
6		
CH ₃ CO-C (1)		
CH ₃ CO-C (1)	2.31, s	2.27, s
α-CH ₂	2.70, m	2.74, m
β-CH ₂	2.70, m	2.74, m
1'		
2'	6.64, d (1.6)	6.74, d (1.6)
3'		
4'		
5'	6.66, d (7.9)	7.05, d (8.1)
6'	6.55, dd (7.9, 1.6)	6.69, dd (8.1, 1.6)
CH ₃ O-C (3')	3.77, s	3.81, s
1''	4.76, d (7.6)	4.82, d (7.1)
2''	3.36, m	3.42, m
3''	3.40, m	3.42, m
4''	3.34, m	3.42, m
5''	3.33, m	3.42, m
6''	3.85, dd (12.0, 1.3)	3.86, dd (12.1, 1.7)
	3.66, dd (12.0, 5.4)	3.69, dd (12.1, 4.7)

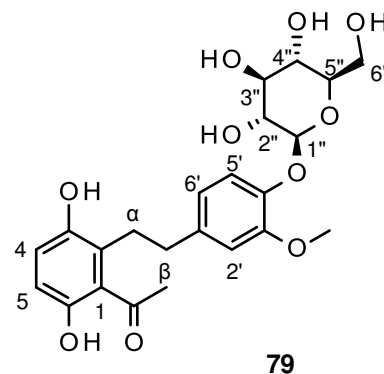
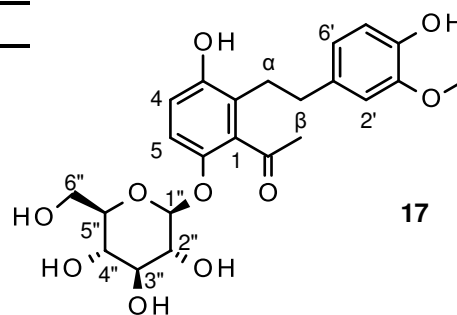


Tableau 3 : Comparaison des données RMN du composé **79** avec les valeurs de la RCZ **17**. (La classification a été effectuée suivant la numérotation des différents carbones de la molécule).

En remontant notre schéma de synthèse, nous pouvons clairement dire que c'est lors de la déprotection sélective que l'isomère a été formé, mettant ainsi en cause la réaction avec l'action de MgBr₂. En s'intéressant d'un peu plus près à la structure de **71**, nous pouvons clairement mettre en évidence plusieurs formes de conjugaisons (**figure 61**). Les électrons du cycles apporté par le sel **61** se délocalisant vers l'autre cycle, ce qui a pour conséquence de rendre le benzyle porté par l'hydroxyle en ortho du méthoxy plus fragile que le benzyle porté par l'hydroxyle en ortho de la cétone. De plus, MgBr₂ nécessite la présence de l'oxygène en ortho pour effectuer son mécanisme de déprotection, d'où la nécessité de la présence d'un aldéhyde et dans notre cas nous supposons que cela était également possible avec notre groupement cétone, mais il

s'avère que le groupement méthoxy permet également au $MgBr_2$ d'effectuer son action.

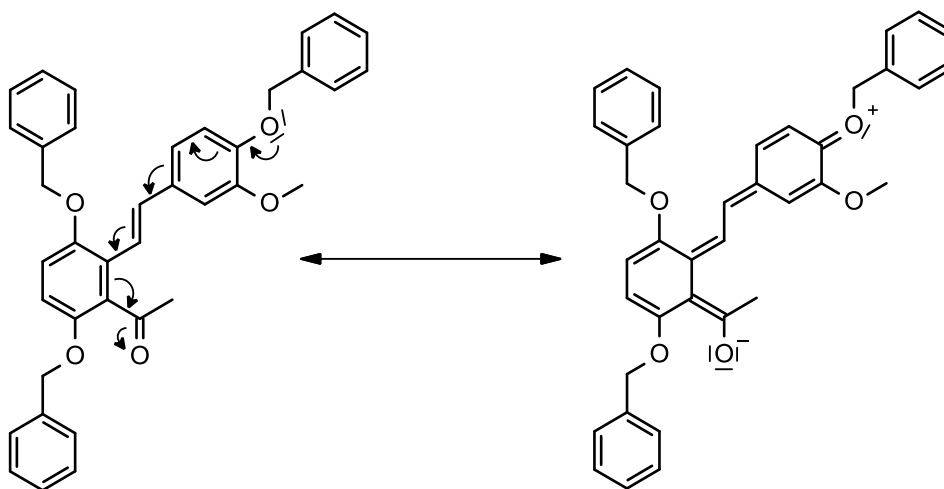


Figure 61 : Représentation des formes conjuguées de 71.

Suite à ces résultats et analyses, nous avons demandé à P. PROKSCH et al. d'effectuer le spectre 2D de façon à confirmer notre hypothèse que **79** est bien un isomère de position de la RCZ **17**.

3. Conclusion de l'approche A

Cette voie de synthèse n'a pas conduit à **17** mais à une molécule isomère. Cette molécule fera l'objet d'une évaluation biologique.

Malgré l'obtention de l'isomère de position **80** au lieu de **17**, la synthèse de cet analogue **80** nous a prouvé que la suite des étapes établie lors de la rétrosynthèse de cette approche constitue dans l'ensemble la meilleure stratégie établie pour l'élaboration de notre composé final, **17**. Cependant l'étape de déprotection sélective nous a donné un résultat complètement inattendu qui nous pousse à reconsidérer le mode de protection et de déprotection des différents groupements hydroxyles présents dans la molécule. Cette synthèse a également permis de nous familiariser avec une grande diversité de réactions nécessaires à l'élaboration du composé souhaité, ce qui permettra de se concentrer sur la mise en œuvre des groupements protecteurs.

4. Réactions annexes

Lors de cette approche de synthèse, plusieurs autres réactions ont été essayées. Suite à l'obtention de certains intermédiaires bien spécifiques lors de la synthèse des deux synthons en vue du couplage par une réaction de Wittig une autre méthode de couplage a été envisagée. Une équipe, travaillant que la mise au point d'un processus de développement d'un composé antifongique^[278], a établi un protocole se basant sur la réaction de Reformatsky et permettant ainsi le couplage d'un dérivé bromé avec un aldéhyde ou une cétone pour former un dérivé hydroxylé. Nous avons tenté la réaction sur **60** et **62** mais sans succès (**figure 62**).

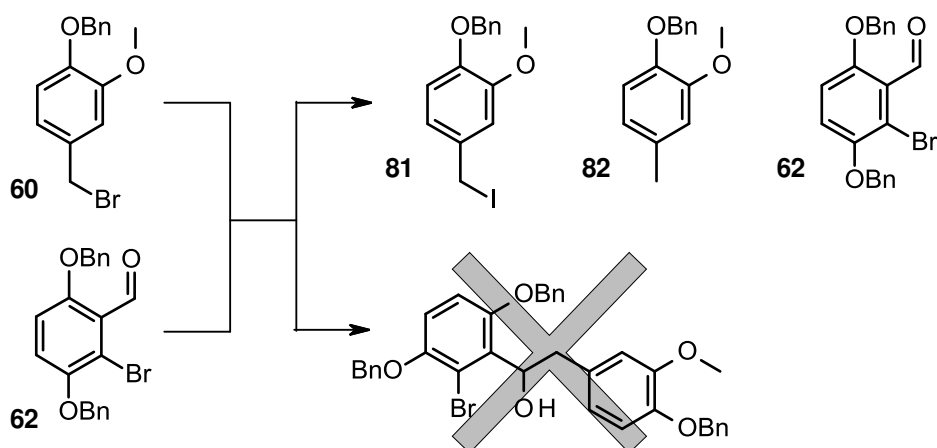


Figure 62 : Réactifs et conditions : (a) THF, Zn (0), Pb (0), I₂.

La réaction de **60** avec **62** dans les conditions de réactions établis par cette équipe ne nous a pas conduits à la molécule attendue. Après isolement des différents composés formé par chromatographie et après analyse RMN, nous retrouvons en grande partie la matière première **62**. Nous supposons également la formation de plusieurs produits de dégradation dont un analogue iodé de **60**.

Plusieurs réaction sur des intermédiaires ont été effectuées de façon à savoir si l'ordre des étapes que nous avons établie pour la voie d'approche A était judicieux. Ainsi nous

avons tenté la synthèse par une réaction de Wittig^[249] entre l'aldéhyde bromé **62** et le sel de phosphonium **61**. Le composé **83** a été obtenu avec succès (**figure 63**).

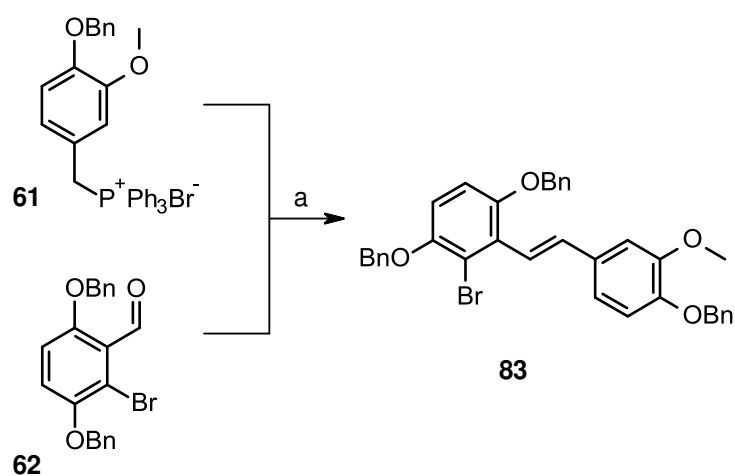


Figure 63 : Réactifs et conditions : (a) THF, *n*-BuLi, -78°C, 12h, 40%.

Cette étape nous a principalement servi à mettre au point notre protocole de réaction en vue d'effectuer le couplage des deux synthons **66** et **61** et de confirmer la faisabilité de la réaction. L'approche utilisant un dérivé de **83** pour remplacer le brome par une cétone n'a pas été poursuivie.

Le couplage de Wittig a également été tenté avec le dérivé silylé **63** mais cette fois ci sans succès (**figure 64**).

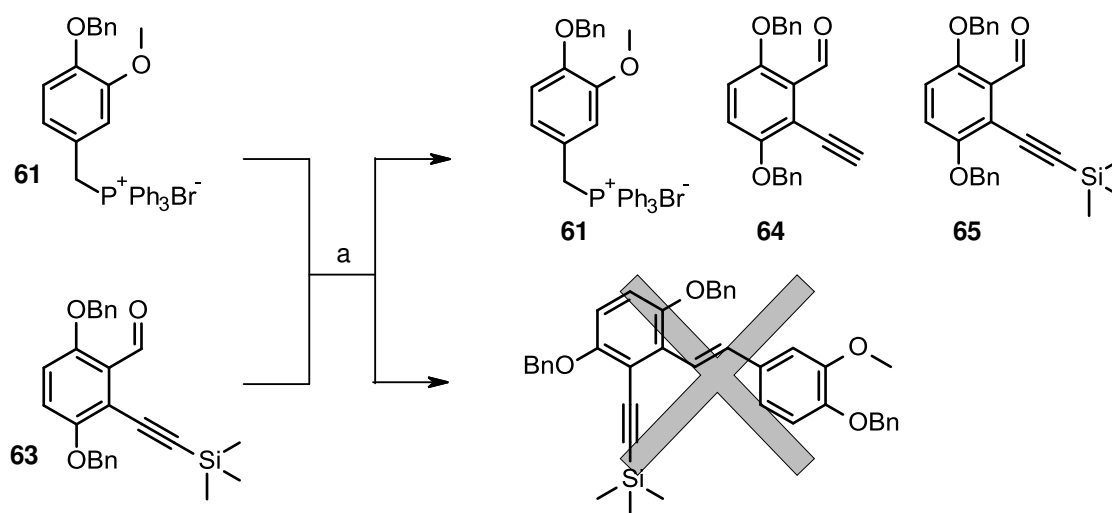


Figure 64 : Réactifs et conditions : (a) THF, *n*-BuLi, -78°C, 12h.

Une partie du sel **61** a été retrouvé dans le mélange final avec environ 30% de **63**, nous avons également retrouvé une quantité non négligeable du dérivé **65** correspondant à **63** désilylé. Les conditions de la réaction ne sont pas compatibles avec les composés possédant des groupements fragiles en milieu basique, nous avons donc tenté d'effectuer la réaction sur le dérivé **39** avec le même sel **61** (figure 65).

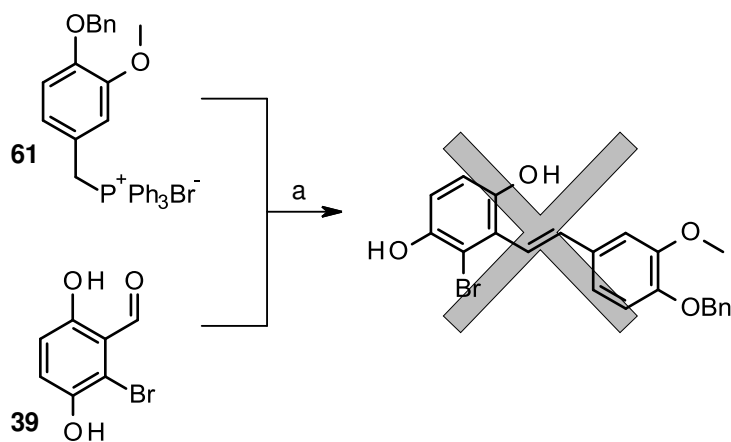


Figure 65 : Réactifs et conditions : (a) THF, *n*-BuLi, -78°C, 12h.

Cette réaction s'est révélée également non concluante avec **39**, effectivement lors de la purification des différents composés du mélange réactionnel, la quasi-totalité de **39** est retrouvé.

Lors de l'optimisation de la réaction de Sonogashira^[245,258] pour la synthèse de **63** (**figure 49**), une réaction en partant du précurseur de **39** a été envisagée (**figure 66**).

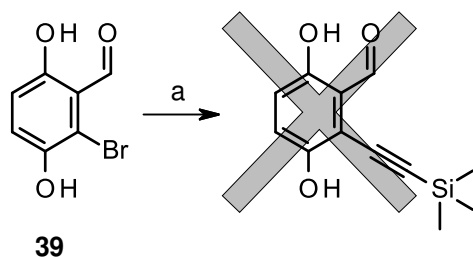


Figure 66 : Réactifs et conditions : (a) THF, CuI, (PPh₃)₂Cl₂Pd (II), TMS, Et₃N, 65°C, 4h, 0%.

La synthèse n'a abouti à aucun composé dans les conditions de réaction employé. Lors de la purification sur colonne de silice, nous avons retrouvé en grande majorité la matière première **39**. Nous n'avons cependant pas observé la formation du dérivé cyclique, le THF ne permettant pas la monter à une température supérieure à 70°C de façon à initier la cyclisation.

Lors de l'étape de synthèse de **72**, deux composés ont été isolés en plus de la matière première **71**. Le deuxième composé correspondant au dérivé didébenzylé avait été laissé de côté durant la suite de la synthèse du dérivé mono débenzylé **72**. Cependant ce n'est que plus tard, lorsque nous nous sommes rendu compte que le composé **80** est un isomère de position de **17**, que nous avons tenté la protection de façon sélective du groupement hydroxyle en ortho du méthoxy par un acétyle^[279] en vue d'effectuer un couplage d'un glucoside sur le bon groupement hydroxyle.

Du fait que le glucoside intermédiaire soit sous forme acétylé, nous avons essayé une mono-acétylation de **73** par l'anhydride acétique en présence de DMAP dans CH₂Cl₂ (**figure 67**).

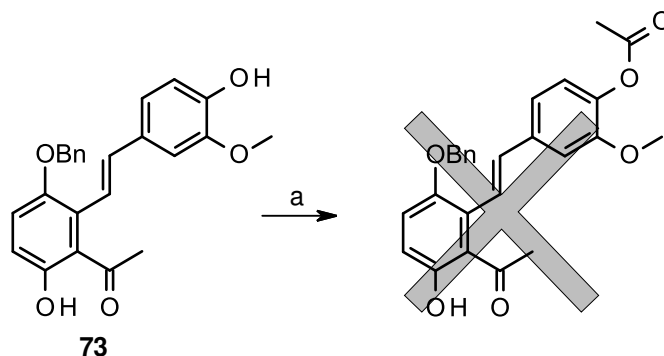


Figure 67 : Réactifs et conditions : (a) CH_2Cl_2 , DMAP, Ac_2O , TA, 3h, 95%.

La réaction ne nous a pas permis d'obtenir le composé escompté, à savoir l'acétylation de façon sélective sur l'hydroxyle situé en ortho du méthoxy. Du fait qu'une nouvelle voie d'approche est à l'étude, cette approche n'est pas poursuivie. Cependant une voie d'approche dans laquelle les hydroxyles en ortho de l'acétyle et en ortho du méthoxy sont porteurs de groupements différents semble envisageable. Les conditions de déprotection sélective n'affecteraient alors que le cycle porteur de l'acétyle. Il est également possible de faire intervenir des mécanismes de protections sélectives.

II. Approche Voie B - déprotection d'un dérivé de stilbene

1. Rétrosynthèse Voie B

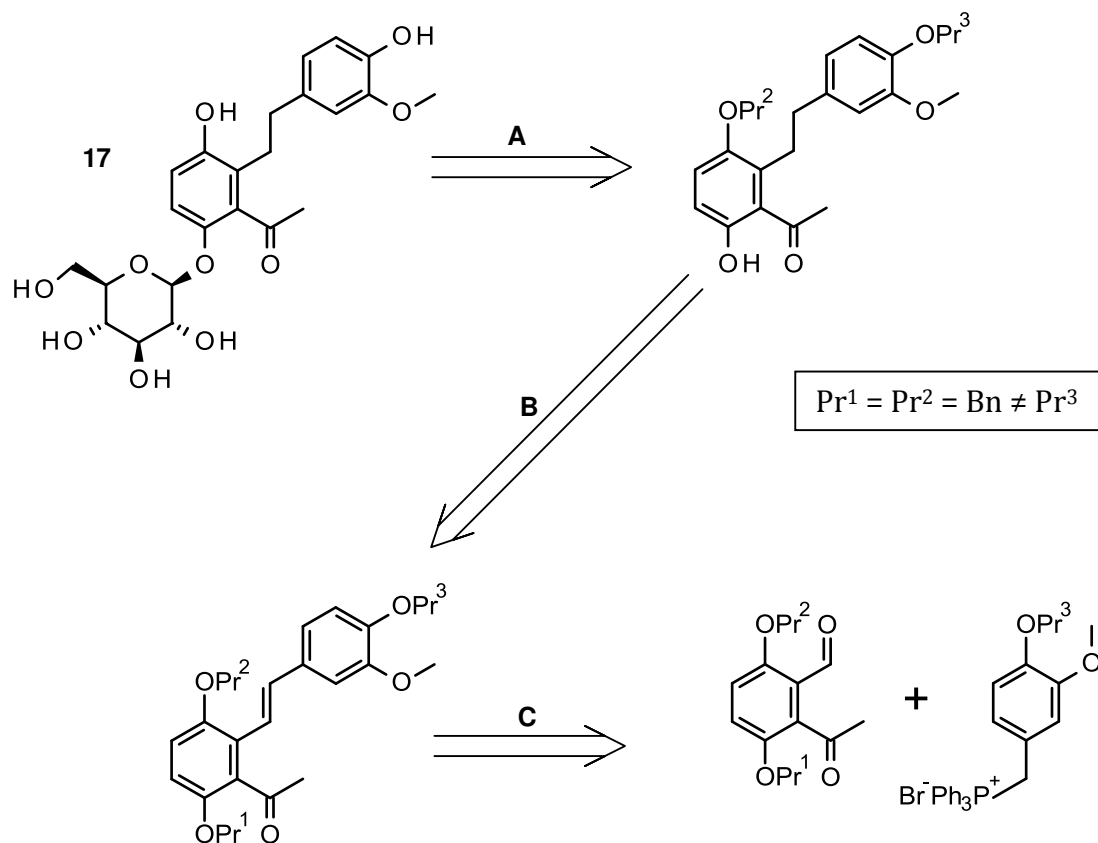


Figure 68 : Rétrosynthèse approche voie B

L'obtention de l'isomère de position dû à la déprotection inattendu du benzyle en ortho du méthoxy nous a permis de mettre en place une nouvelle approche dans laquelle les hydroxyles seront protégés pas des groupements différents (**figure 68**).

Lors de la synthèse de **72**, le produit secondaire obtenu correspond au dérivé didébenzylé. Cela permet de confirmer que l'action de MgBr_2 dans les conditions utilisées permet déprotégé l'hydroxyle situé en ortho d'une fonction cétone. Nous avons donc envisagé de modifier le groupement porté par l'hydroxyle situé sur le sel de phosphonium (en ortho du méthoxy) ce qui permet de conserver l'approche de déprotection initiale par l'action de MgBr_2 .

2. Essais de préparation de la RCZ 17 selon la voie B

a. Sel de phosphonium – Méthoxyméthyle

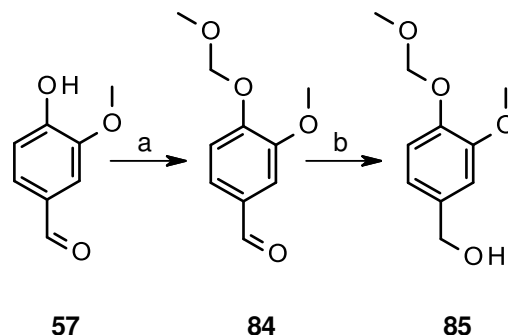


Figure 69 : Réactifs et conditions : (a) CH_2Cl_2 , Et_3N , $\text{ClCH}_2\text{OCH}_3$, TA, 3h, 81% ; (b) MeOH , NaBH_4 , 0°C , 30min, 99%.

Dans un premier temps, nous avons envisagé l'utilisation d'un groupement méthoxyméthyle car il est bien décrit dans la littérature. De plus, la mise en œuvre de cette réaction est facile^[245,280,281]. La protection de l'hydroxyle de la vanilline par action de MOMCl en milieu basique^[282] a donné le composé **84**. La fonction aldéhyde de **84** est réduite en suivant le même protocole établi lors de la synthèse de **59** (**figure 47**) pour donner **85** (**figure 69**).

En se basant sur le schéma réactionnel établi pour la synthèse de **61** (**figure 47**), l'étape suivante est la réaction de type $\text{S}_\text{N}2$ en présence de PBr_3 sur **85**. Cette réaction ne nous permet pas l'obtention du dérivé bromé attendu, elle entraîne la dégradation du composé **85**. Du fait des conditions particulièrement acides de la réaction, le groupement MOM s'est probablement déprotégé. Une autre méthode utilisant des conditions plus douces a été tenté mettant en réaction **85** avec du NBS en présence de PPh_3 ^[283] mais sans succès, ce qui nous force à envisager l'utilisation d'un autre groupement protecteur. Dans la littérature, une autre méthode a été décrite dans des conditions encore plus douces avec l'utilisation de CBr_4 comme agent de bromation en présence de PPh_3 ^[284], cependant nous n'avons encore eu l'occasion de tenter l'expérience.

b. Sel de phosphonium – Dérivé allylé

Parmi les différents groupements protecteurs des hydroxyles décrits dans la littérature, l'utilisation d'un allyle semble être un bon choix pour la synthèse du sel de phosphonium **89** après avoir passé en revue l'ensemble des étapes de façon à voir si dans aucun cas nous nous retrouvons dans des conditions de déprotection.

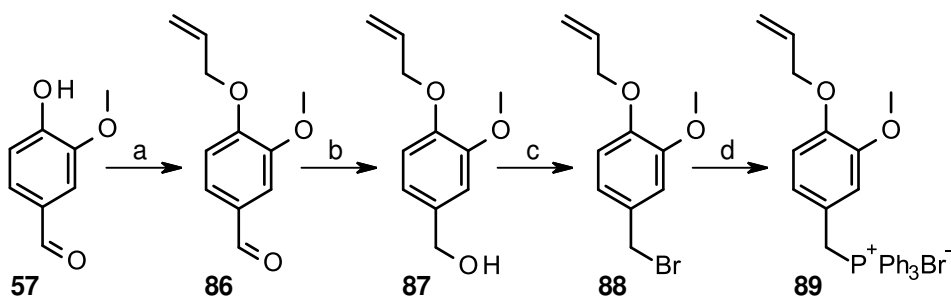


Figure 70 : Réactifs et conditions : (a) EtOH, K_2CO_3 , Bromure d'allyle, 70°C , 24h, 93% ; (b) MeOH, NaBH_4 , 0°C , 30 min, 92% ; (c) CH_2Cl_2 , PBr_3 , TA, 18h, 81% ; (d) toluène, PPh_3 , reflux, 2h, 80%.

Le schéma de synthèse de ce sel est identique à la synthèse de **61** avec comme seule différence l'étape de protection de l'hydroxyle (**figure 70**). Cette étape est la première de ce schéma de synthèse avec l'action d'un bromure d'allyle en présence de K_2CO_3 dans du DMF^[247,285] sur la vanilline pour donner **86**. Pour des raisons pratiques, j'ai plus tard utilisé l'EtOH comme solvant de réaction au lieu du DMF, cela n'a pas eu de conséquence sur l'orientation de la réaction, ni sur le rendement de la réaction. Les synthèses des composés **87**, **88** et **89** n'ont posé aucune difficultés en utilisant les mêmes protocoles que pour les synthèses de **59**, **60** et **61**^[249,256].

c. Couplage par la réaction de Wittig - Allyle

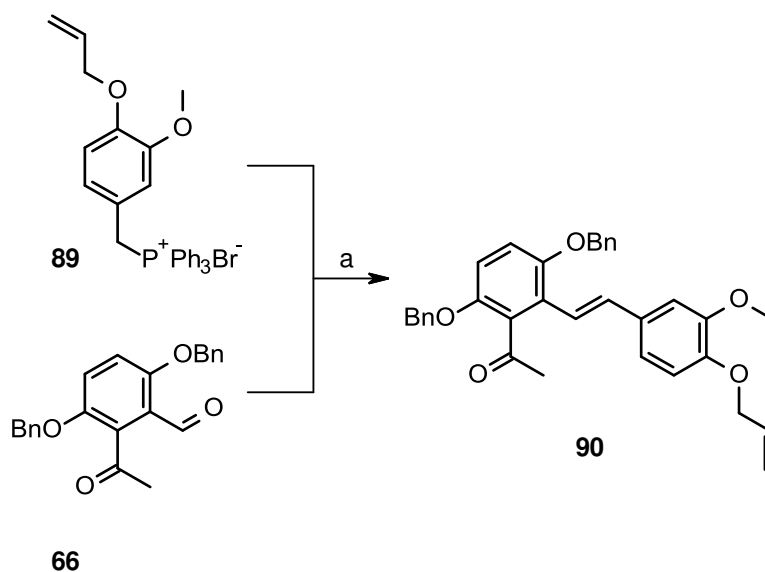


Figure 71 : Réactifs et conditions : (a) THF, *n*-BuLi, -78°C, 12h, 30%.

Une fois le sel de phosphonium **89** obtenu, nous avons effectué le couplage de ce sel avec le même céto-benzaldéhyde **66** utilisé lors de la première approche (**figures 52 et 71**). Cette réaction de Wittig se fait exactement dans les mêmes condition que pour la formation de **71**^[249] (**figure 54**) conduisant au composé **90** avec un rendement d'environ 20%. Par analyse RMN nous avons pu déterminer que seul le dérivé de configuration E. Effectivement les deux hydrogènes de l'alcène couplent entre eux avec une grande constante. Malgré ce faible rendement, nous avons pu isoler suffisamment de produit pour lancer la suite des étapes.

d. Déprotection du benzyle et fixation d'un glucoside - Allyle

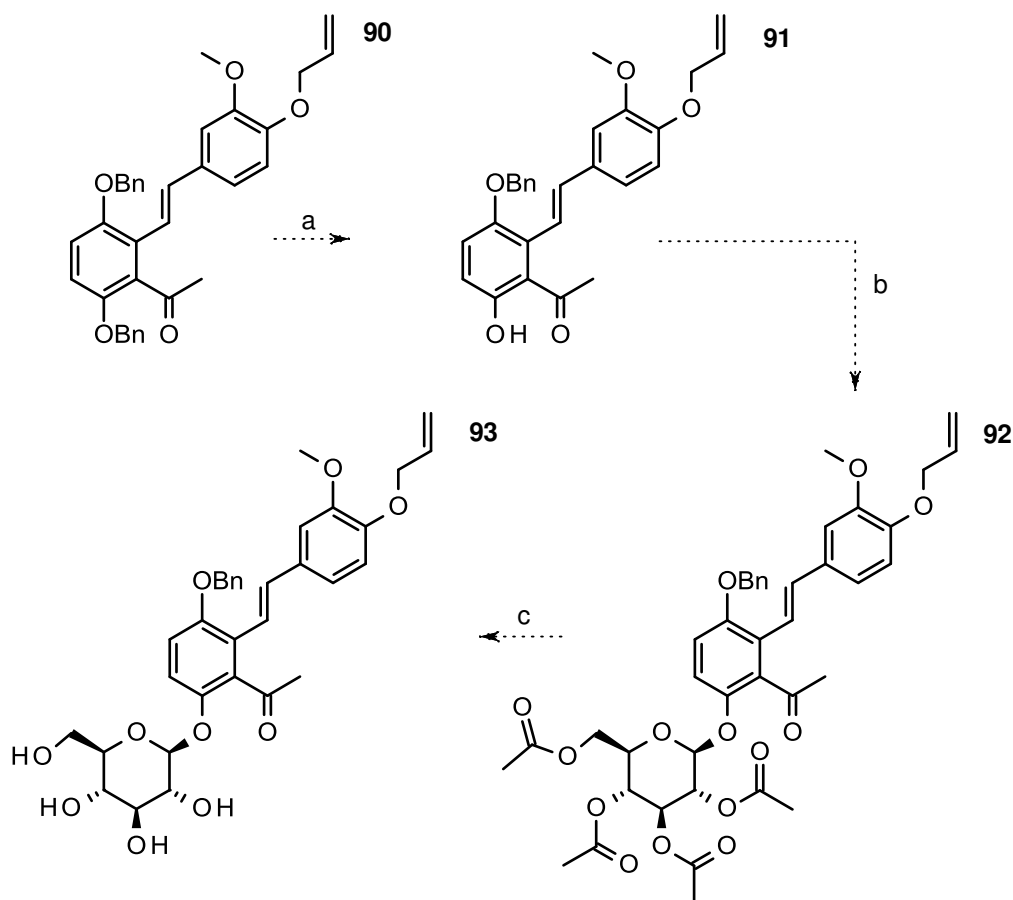


Figure 72 : Réactifs et conditions : (a) Et₂O/toluène, MgBr₂, 60°C, 48h, 40% ; (b) CH₃CN, Cs₂CO₃, acetobromo- α -D-glucose, TA, 24h, 78% ; (c) MeOH, KOH, TA, 1h, 70%.

L'étape de débenzylation, que l'on peut toujours qualifier de sélective du fait de la présence d'un second benzyle sur l'hydroxyle en para, constitue également l'étape clé de cette nouvelle approche (**figure 72**). Lors de la première approche, avec les hydroxyles protégés par les mêmes groupements benzyles, la forme conjuguée de **71 (figure 61)** a permis d'expliquer que le benzyle porté par l'hydroxyle en ortho du méthoxy réagit plus facilement avec MgBr₂ que l'hydroxyle en ortho de la cétone. Par le remplacement du benzyle avec l'allyle nous envisageons d'orienter la déprotection par MgBr₂ de

l'hydroxyle situé à côté de la cétone. Ainsi, la totalité de **90** est lancée dans la suite de la synthèse dans le but d'obtenir **91** avec les mêmes conditions utilisées pour l'obtention de **72**. Le suivi par CCM nous permet d'observer la formation d'une tache, cependant la réaction est très lente, le composé **90** reste majoritaire après 48h de chauffage. L'analyse RMN de la fraction isolée ne nous permet pas clairement d'identifier les composés formés lors de la réaction. Les réactions de couplage osidique et de désacétylation en vue de l'obtention de **92** et **93** n'ont de ce fait pas pu être effectuées.

3. Conclusion de l'approche B

La difficulté de l'obtention de **91** nous montre que la voie de la déprotection sélective n'est pas la méthode optimale en vue de l'obtention de la molécule RCZ **17**, cependant l'utilisation de groupements différents reste privilégiée. Compte tenu du peu de temps disponible en fin de cette thèse, cette voie n'a pas été poursuivie, une nouvelle voie d'approche pour la synthèse de la RCZ **17** a été alors initiée.

III. Approche Voie C

1. Rétrosynthèse Voie C

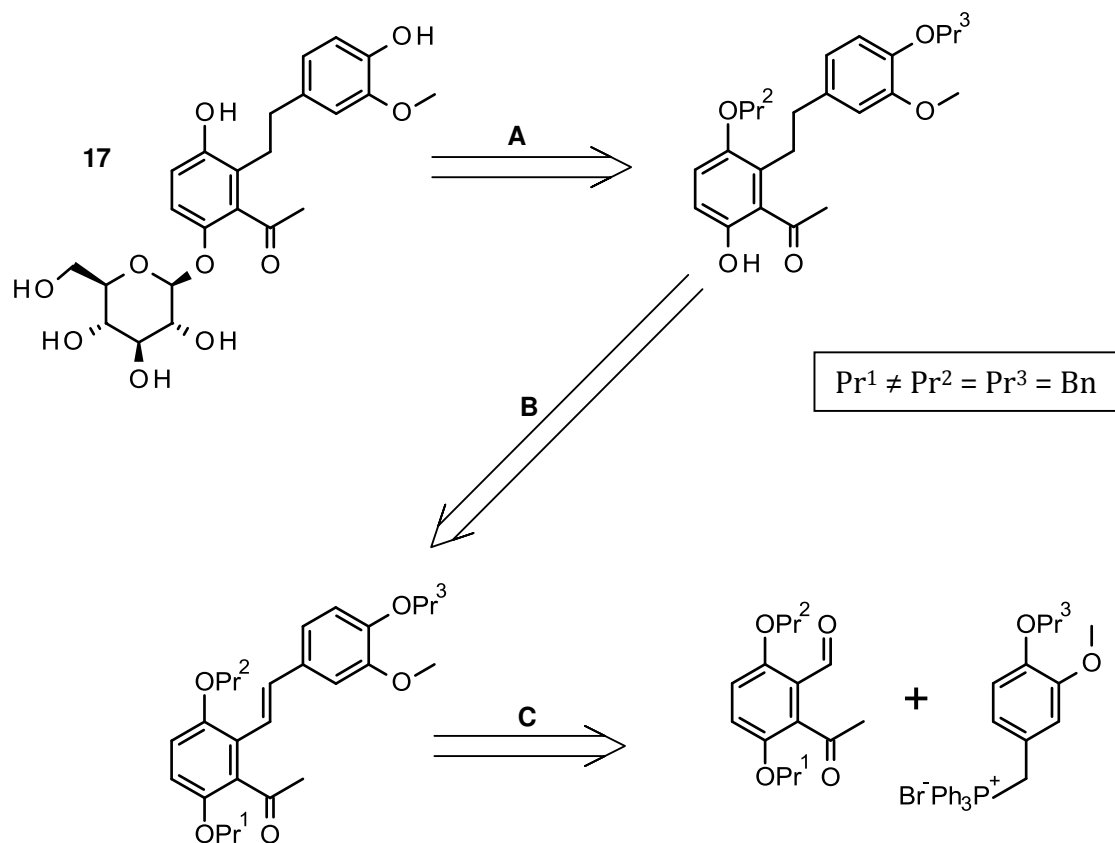


Figure 73 : Rétrosynthèse approche voie C

Lors de la débenzylation sélective effectuée dans la seconde approche, l'utilisation du $MgBr_2$ ne donne pas de très bons résultats en termes de rendement de réaction. C'est pourquoi une nouvelle approche est envisagée dont le principe repose cette fois sur la protection sélective de l'hydroxyle, qui sera ultérieurement porteur de l'ose, par un groupement différent des autres hydroxyles. Lors de la seconde approche, des groupements de sensibilités différentes avaient été expérimentés. Dans cette 3^{ème} approche, la différence de sensibilité constitue également la clé, seulement cette fois le groupement protecteur avec un mécanisme de clivage sensiblement différents des autres groupements sera porté par l'hydroxyle d'intérêt (**figure 73**).

Cette protection sélective de l'hydroxyle en ortho du brome a déjà été rapportée dans le cadre de synthèses totales, tel que la synthèse de la frustolosine **40**, par l'utilisation de différents groupements protecteurs comme un *tert*-butyl-diphénylsilyle ou bien encore un méthoxy-méthyle.

2. Préparation de la RCZ 17 Approche selon la voie C

a. Céto-aldéhyde – *tert*-Butyl diphénylsilane

Nous avons dans un premier temps effectué la protection avec le TBDPS. En partant de **39** en présence d'imidazole et de TBDPSCl en solution dans CH₂Cl₂^[250], nous avons rapidement obtenu **94** avec de très bon rendement (**figure 74**). La protection de l'hydroxyle libre de **94** par un benzyle se fait par une réaction de Williamson dans les mêmes conditions que **58** ou **62**.

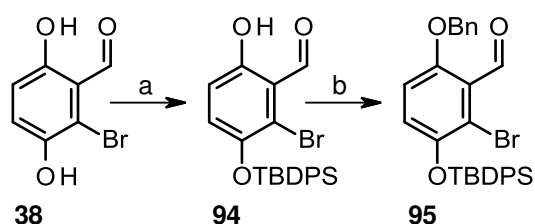


Figure 74 : Réactifs et conditions : (a) CH₂Cl₂, imidazole, TBDPSCl, TA, 15min, 91% ; (b) CH₃CN, K₂CO₃, BnBr, reflux, 4h, 20%.

Après séparation des différents produits obtenues et l'analyse RMN, nous avons obtenu le composé **95** attendu avec seulement 20% de rendement. Nous avons également obtenu plusieurs autres produits que nous avons pu identifier, qui sont : le dérivé déprotégé **39**, le dérivé dibenzylé **62** et un mélange de deux isomères monobenzylés sur l'un ou sur l'autre des hydroxyles.

b. Céto-aldéhyde – Méthoxyméthyle

Le faible rendement de cette réaction précédente nous amène à envisager l'utilisation d'un autre groupement protecteur. L'équipe ayant effectué la synthèse totale de la frustolosine **40** [245] a effectué une protection sélective pour conduire au composé qui nous intéresse, à savoir le dérivé **96** possédant un groupement méthoxy-méthyl sur l'hydroxyle d'intérêt (**figure 75**).

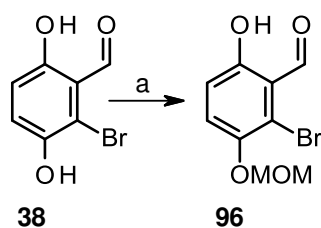


Figure 75 : Réactifs et conditions : (a) acétone, K_2CO_3 , $Cl-CH_2OCH_3$, $30^\circ C$, 2h, 67%.

Pour la première étape dans l'obtention de notre synthon nous avons dans un premier temps suivi le même protocole que cette équipe avec 1.05 équivalent de MOMCl en solution dans CH_2Cl_2 et une base, nous avons utilisé Et_3N . Le même composé **99** a bien été obtenu mais cependant le rendement est relativement faible. Suite à ce résultat, nous avons décidé de changer le protocole. Une autre équipe a également effectué une protection sélective pour donner un analogue de **96** en utilisant K_2CO_3 comme base et l'acétone comme solvant[286]. L'action de MOMCl sur **39** dans ces conditions conduit au même composé **96** avec un meilleur rendement.

Pour la suite de ce schéma de synthèse, les étapes sont identiques que celui utilisé en vue de l'obtention de **66** (**figures 48, 49, 51 et 52**). La benzylation de **96** pour conduire à **97**[257] est suivit de la réaction de Sonogashira dans les conditions optimales que nous avons déterminé précédemment donnant **98**[258] avec un rendement légèrement meilleur que lors de la synthèse de **63** (**figure 49**). Le composé **98** est ensuite désilylé pour conduire à l'alcyne **99**[263] qui sera hydraté par l'action du complexe $Hg(OTf)_2 \cdot (TMU)_2$ pour donner le céto-benzaldéhyde **100**[269,270] avec un rendement toujours de l'ordre de 30% après purification (**figure 76**).

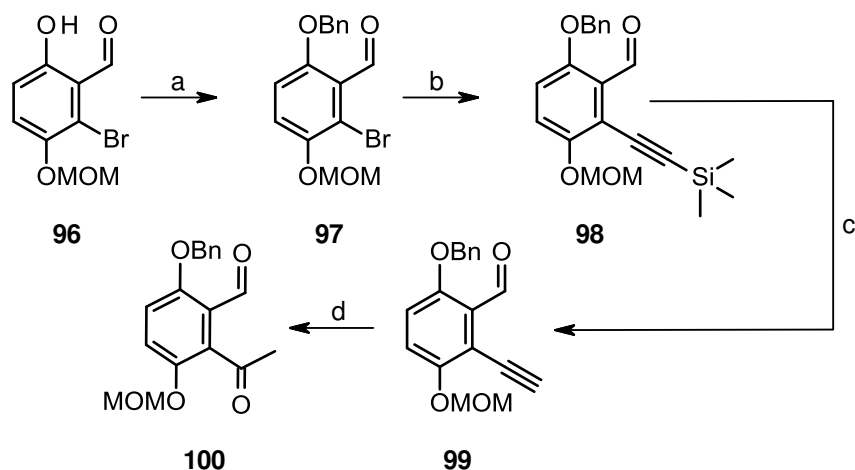


Figure 76 : Réactifs et conditions : (a) CH₃CN, K₂CO₃, 90°C, 2h, 70% ;(b) Toluène, CuI, (PPh₃)₂Cl₂Pd (II), TMS acétylène, Et₃N, 85°C, 2-4h, 65% ; (c) THF, BuN₄F, 0°C, 30min, 80% ; (d) CH₃CN/CH₂Cl₂, H₂O, Hg(OTf)₂·(TMU)₂ (0.1 mol %), TA, 12h, 26%.

c. Wittig avec l'aldéhyde cétone porteuse du groupement MOM

Nous avons ensuite effectué le couplage par la réaction de Wittig de l'aldéhyde de **101** avec le sel de phosphonium benzylé **61** (**figure 77**). Cette réaction a permis l'obtention du **103**^[249].

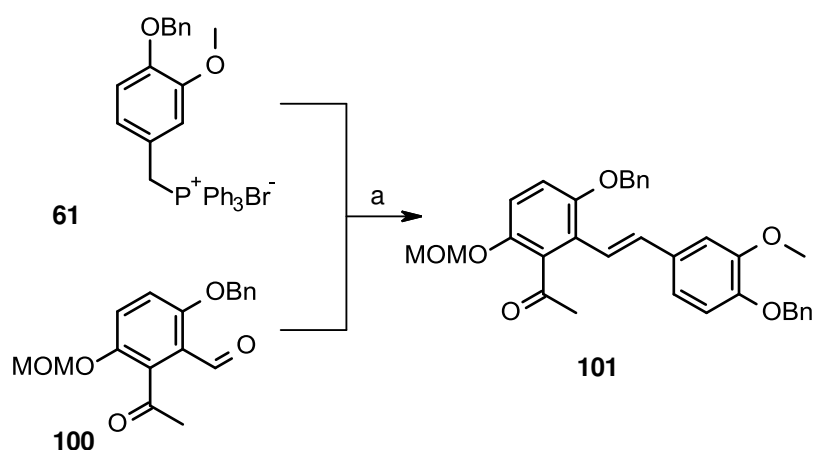


Figure 77 : Réactifs et conditions : (a) THF, *n*-BuLi, -78°C, 12h, 30%.

L'analyse RMN de ce composé a montré que seul le produit de configuration E est obtenu. Malgré le faible rendement de la réaction, une quantité suffisante de produit a pu être isolée lors de la chromatographie sur colonne pour la suite de la synthèse.

d. Déprotection du groupement MOM

L'étape de déprotection constitue une nouvelle fois une étape clé dans cette voie d'approche. Dans la littérature, du fait de la très large utilisation de ce groupement protecteur pour les hydroxyles, les techniques de déprotections sont également bien décrites. De façon à obtenir un maximum de produit final du fait de la faible quantité de **101** disponible, nous avons tenté la déprotection du MOM par plusieurs procédés différents.

Dans un premier temps, nous avons tenté la déprotection par l'action de l'acide trifluoroacétique (TFA) sur **101** en solution dans CH_2Cl_2 ^[287]. Cette méthode n'a pas été concluante car lors du suivi par CCM, un grand nombre de composés sont formés, rendant la purification et l'identification délicate, de plus ce grand nombre de composés laisse un mauvais présage en ce qui concerne le rendement de la réaction. Nous avons de ce fait tenté la méthode utilisée pour la déprotection sélective en ortho d'un aldéhyde avec l'action de MgBr_2 ^[281,288]. Le fait d'élever la température de réaction et également d'augmenter la quantité de MgBr_2 ne change en rien le résultat final. Aucune évolution n'est observée, après traitement de la réaction, seul le produit **101** est isolé. Les réactions précédentes ne conduisant pas au composé final **102** attendu, nous avons donc tenté une autre réaction de déprotection dont l'approche globale est la même, à savoir l'utilisation d'un acide mais dans des conditions un peu plus douce. Nous nous sommes inspirés d'un protocole dans lequel la déprotection du MOM se fait par l'action de HCl dilué à 3.7%^[283,286] (**figure 78**). Cette méthode nous mène au composé **102** avec un rendement de l'ordre de 80%.

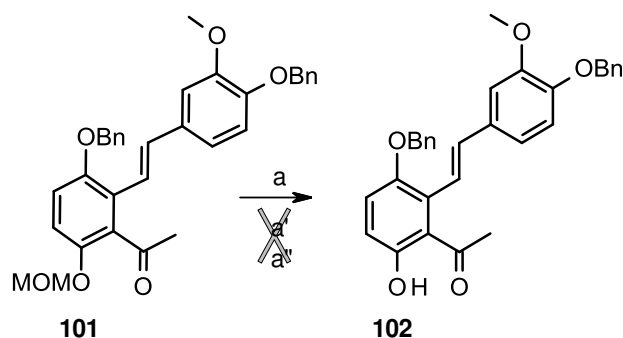


Figure 78 : Réactifs et conditions : (a) MeOH, HCl 10% H₂O (v/v), reflux, 30min, 70% - (a') CH₂Cl₂, TFA, 0°C, 3h, 0% - (a'') THF, MgBr₂(Et₂O), 0°C à 45°C, 24h, 0%.

Lors de l'analyse RMN nous observons bien l'apparition d'un seul proton avec un déplacement chimique de δ 10,21 imputable à la fonction phénol. De plus nous pouvons clairement observer la disparition du groupement MOM, les groupements benzyles sont toujours en place.

e. Fixation OSE

Une fois que nous avons effectué l'analyse RMN de **102**, nous avons pu confirmer que seul le groupement MOM à réagit et de ce fait nous avons réussi la déprotection sélective de l'hydroxyle d'intérêt par cette dernière voie d'approche. La greffage de l'acétobromo- α -D-glucose sur **102**^[248] se fait dans les mêmes conditions que lors de la synthèse de **78** (**figure 60**) et de **92** (**figure 73**) pour donner **103**, il en est de même avec les conditions de désacétylation conduisant aux composés **79** et **93** avec **103** pour donner **104**^[248]. La dernière étape est une hydrogénation catalytique qui va conduire à notre composé final **17** après la débenzylation des deux hydroxyles ainsi que la saturation de l'alcène (**figure 79**).

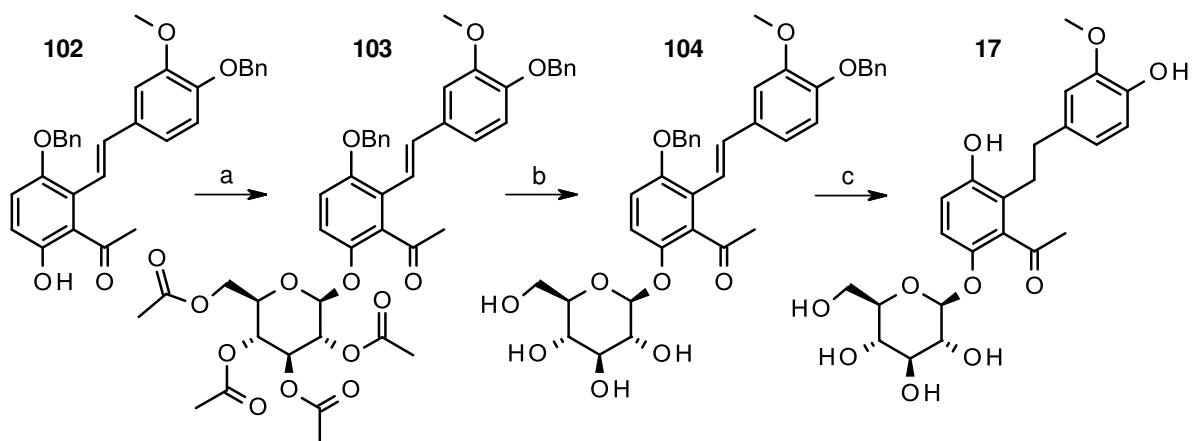
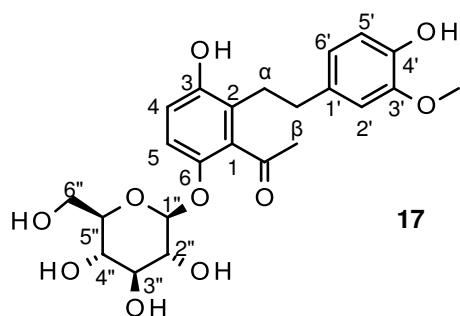


Figure 79 : Réactifs et conditions : (a) CH_3CN , Cs_2CO_3 , acetobromo- α -D-glucose, TA, 24h, 50% ; (b) MeOH , KOH , TA, 1h, 80% ; (c) EtOH/AcOEt , 10% Pd/C , H_2 , TA, P°Atm , 2h, 99%.

La comparaison des données RMN de RCZ **17** obtenu avec la molécule RCZ **17** naturelle a permis de confirmer l'analogie structurale. Les spectres RMN ^1H et ^{13}C sont identiques (tableau 4).



Position	RCZ 17 naturelle	RCZ 17 de synthèse	Position	RCZ 17 naturelle	RCZ 17 de synthèse
1			1	135.5, C	135.5, C
2			2	126.5, C	126.5, C
3			3	152.4, C	152.4, C
4	6.79, d (8.8)	6.79, d (8.8)	4	117.1, C	117.1, C
5	6.97, d (8.8)	6.97, d (8.8)	5	116.4, C	116.4, C
6			6	147.8, C	147.8, C
CH ₃ CO-C (1)			CH ₃ CO-C (1)	208.7, C	208.7, C
CH ₃ CO-C (1)	2.31, s	2.31, s	CH ₃ CO-C (1)	33.1, CH ₃	33.1, CH ₃
α-CH ₂	2.70, m	2.70, m	α-CH ₂	31.3, CH ₂	31.3, CH ₂
β-CH ₂	2.70, m	2.70, m	β-CH ₂	36.5, CH ₂	36.5, CH ₂
1'			1'	135.2, C	135.2, C
2'	6.64, d (1.6)	6.64, d (1.9)	2'	113.3, C	113.3, C
3'			3'	148.7, C	148.7, C
4'			4'	145.6, C	145.6, C
5'	6.66, d (7.9)	6.66, d (7.9)	5'	116.0, C	116.0, C
6'	6.55, dd (7.9, 1.6)	6.55, dd (7.9, 1.9)	6'	121.9, C	121.9, C
CH ₃ O-C (3')	3.77, s	3.77, s	CH ₃ O-C (3')	56.3, CH ₃	56.3, CH ₃
1''	4.76, d (7.6)	4.76, d (7.6)	1''	103.7, C	103.7, C
2''	3.36, m	3.36, m	2''	74.9, CH	74.9, CH
3''	3.40, m	3.40, m	3''	78.2, CH	78.2, CH
4''	3.34, m	3.34, m	4''	71.4, CH	71.4, CH
5''	3.33, m	3.33, m	5''	78.1, C	78.1, C
6''	3.85, dd (12.0, 1.3)	3.85, dd (12.0, 1.8)	6''	62.7, CH ₂	62.7, CH ₂
	3.66, dd (12.0, 5.4)	3.66, dd (12.0, 5.4)			

Tableau 4 : Données RMN de la RCZ **17** de synthèse et de la molécule RCZ **17** naturelle, les résultats ont été fournis par le Dr. P. PROKSCH et AL.^[226]. Le tableau de gauche concerne la ¹H-RMN et le tableau de droite la ¹³C-RMN. (La classification a été effectuée suivant la numérotation des différents carbones de la molécule).

3. Conclusion de l'approche C

Cette dernière approche nous a permis d'obtenir la molécule RCZ **17** avec succès. Cette dernière approche nous a confirmé que l'utilisation de différents groupements protecteurs d'hydroxyles est nécessaire dans notre cas pour obtenir le dérivé glycosidique désiré. Du fait de la très grande diversité des groupements protecteurs

décrits dans la littérature, le choix du bon groupement peut vite s'avérer délicat au vu des différentes réactions qu'il devra subir. Dans notre cas, le groupement MOM présente un double avantage, il nous a permis d'effectuer une protection sélective de notre hydroxyle d'intérêt mais il est également relativement bien résistant aux diverses conditions des autres réactions effectuées avec une grande facilité de déprotection.

Evaluations Biologiques

Une fois notre composé RCZ **17** isolé, les premières évaluations biologiques ont été effectuées en comparaison avec son homologue naturel par une méthode de criblage. Cette méthode a été effectuée suivant le même protocole qui est décrit par MEIJER et al.^[190] sur un panel de kinases présentant une activité dans le cas de la maladie d'Alzheimer. Cette évaluation biologique précoce permet de mettre en évidence l'activité de la molécule ainsi que sa sélectivité et ainsi d'en déterminer son IC₅₀ pour chacune des protéines testées (**tableau 5**).

Kinases	Isomère 79	RCZ 17 Naturelle	RCZ 17 Synthèse
CDK1	>10	>10	>10
CDK2/Cycline A	>10	>10	>10
CDK5/p25	>10	>10	>10
CDK9/Cycline T	>10	>10	>10
CK1δ/ϵ	>10	>10	>10
CLK1	>10	>10	>10
CLK2	>10	>10	>10
CLK3	>10	>10	>10
CLK4	>10	>10	>10
DYRK1A	6.00	0.22	0.17
DYRK1B	>10	>10	>10
DYRK2	>10	3.70	2.20
DYRK3	>10	2.20	2.00
GSK-3α/β	>10	>10	>10

Tableau 5 : Moyennes des IC₅₀ en μM après une évaluation biologique réalisé en triplicata.

L'isomère **79** est le premier composé à avoir été isolé. L'évaluation biologique a été effectuée rapidement. Lors de celle-ci, seul une activité inhibitrice sur la kinase DYRK1A est rapporté avec une IC₅₀ de 6.00 μM , ce qui est bien supérieur celle de la RCZ **17** naturelle avec 0.17 μM . Suite à ce premier résultats, nous avons eu la confirmation que nous ne sommes pas en présence de notre bon composé. Cependant il est intéressant de remarquer l'excellente sélectivité de celui-ci malgré la diminution du pouvoir inhibiteur sur la cible.

L'évaluation biologique de la molécule RCZ **17** de synthèse a été effectuée immédiatement après l'obtention de celle-ci en comparaison avec celle extraite sur le même panel de kinases impliquées dans la maladie d'Alzheimer et dans certains cancers. Comme le montre les résultats, la RCZ **17** de synthèse possède une activité ainsi qu'une sélectivité identique à sa référence naturelle. Cette molécule présente une grande

affinité pour les protéines kinases de la famille DYRK excepté pour DYRK1B, avec une préférence pour la protéine DYRK1A, effectivement la différence des IC_{50} entre DYRK1A et DYRK2 ou DYRK3 est de l'ordre d'un facteur 10.

Conclusions et perspectives

A. Conclusions

Au cours de ces travaux de thèse, trois approches ont été successivement mis en œuvre. La déprotection sélective de l'intermédiaire **71** protégé par trois groupement benzyle n'a pas permis l'obtention du produit escompté. L'analyse RMN ainsi que son évaluation biologique nous a permis de confirmer l'obtention d'un isomère de position. C'est lors de l'étape de déprotection sélective que le benzyle situé en ortho d'un méthoxy présente le plus d'affinité au $MgBr_2$. L'effet de conjugaison de cet intermédiaire explique vraisemblablement ce résultat, ainsi nous avons envisagé des nouvelles approches. La combinaison des groupements MOM est des groupements benzyles s'est révélée efficace et est probablement ce qui est le mieux adaptée aux structures polyphénoliques. Dans notre cas, nous nous sommes affranchis de la déprotection par sélectivité. L'utilisation du MOM nous a permis d'obtenir un intermédiaire sélectivement protégé sur notre groupement d'intérêt pour ensuite ne déprotéger que ce groupement. Cela nous a permis d'obtenir avec succès la molécule RCZ **17**. L'analyse RMN de ce composé nous a permis de confirmer que le RCZ **17** est identique avec la molécule isolée de la plante. L'évaluation biologique a également été effectuée et les résultats sont similaires, les IC_{50} de la RCZ **17** de synthèse ainsi que ceux de la molécule naturelle ne sont pas significativement différentes.

La très grande sélectivité de la RCZ **17** pour les protéines de la famille DYRK a suscité l'attention du domaine de la cristallographie dans le but de voir les interactions de la molécule avec sa cible et de comprendre la sélectivité de la molécule. L'équipe du Dr. S. KNAPP a réussi la cocrystallisation de la protéine DYRK2 avec la molécule mettant ainsi en évidence l'ensemble des interactions électroniques (**figure 80**).

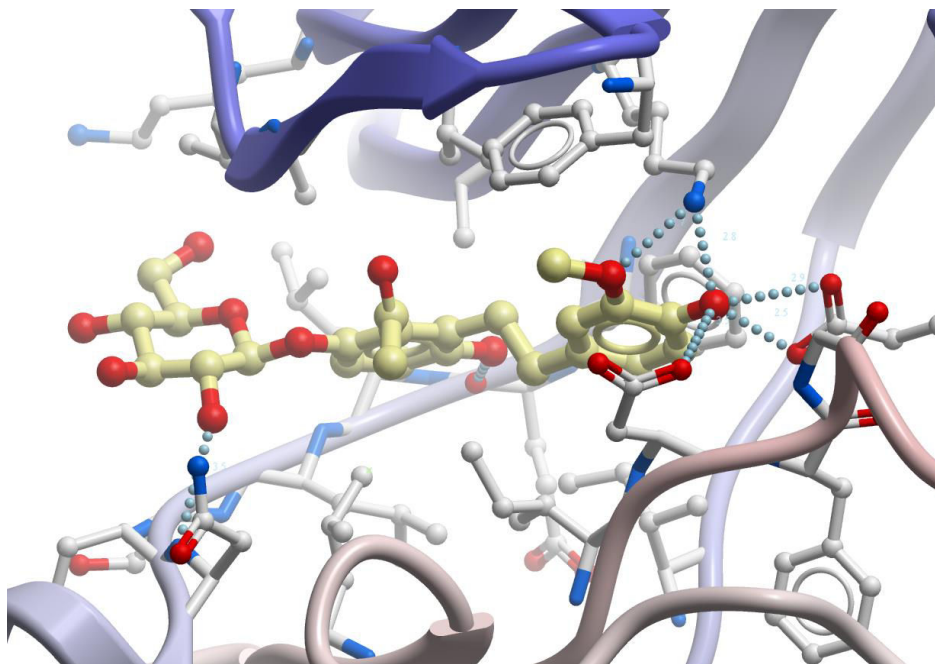


Figure 80 : Structure cristalline de DYRK2 avec RCZ **17** réalisé par S. KNAPP et Al. Les pointillés montrent les interactions hydrogènes entre la protéine et RCZ **17**.

B. Perspectives

Suite à ces résultats plusieurs perspectives peuvent être envisagées. Elles sont de trois ordres.

La première concerne l'optimisation de la synthèse de RCZ **17**. Lors de la construction de notre composé, nous avons privilégié l'optimisation sur les groupements protecteurs, cependant dans la littérature il existe des approches différentes de celle que nous avons mise en place qui permettraient l'obtention de notre structure dihydrostilbénoloïde. Parmi ces approches nous pouvons citer des réactions tel que la réaction de Suzuki par la formation d'intermédiaires boroniques ou bien encore la réaction de Heck qui est également largement décrite. Il existe également d'autres approches qui pourraient être envisagées dans la synthèse de notre composé tel que la réaction d'oxydation de

Pfizzner-Moffatt ou bien la réaction d'oxydation de Wacker dans le but d'obtenir le groupement cétone.

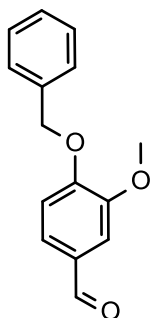
En suivant une autre perspective, nous pouvons nous appuyer sur les données cristallographiques. Cela permettra la mise en place de pharmacomodulations qui est une étape nécessaire. Ces pharmacomodulations auront pour but d'améliorer la sélectivité ainsi que l'activité thérapeutique, les données fournies par la radiocristallographie permettent d'analyser les différentes interactions existantes et possible d'une molécule avec la protéine ainsi il sera possible d'envisager la synthèse d'analogues effectuant un plus grand nombre d'interactions. De plus, notre molécule présente actuellement un LogP négatif du fait de sa très grande solubilité dans les solvants aqueux et de sa très faible solubilité dans les solvants organiques, ce qui est un inconvénient pour la mise en place d'évaluations biologiques cellulaires *in vitro* ou bien directement *in vivo*. L'optimisation peut ainsi être orientée sur le caractère de solubilité de notre composé de façon à ce que le LogP soit plus élevé sans perdre l'activité de notre composé.

Suite à ces pharmacomodulations, la perspective de l'expérimentation *in vivo* peut être envisagée sur des modèles animaux présentant une surexpression de la protéine cible DYRK1A.

Matériel et Méthodes

Les solvants et les réactifs proviennent des plusieurs fournisseurs commerciaux et ont été utilisés sans purifications supplémentaires. Les chromatographies sur couche mince ont été effectuées sur plaque plastique avec gel de silice 60-F₂₅₄ (Merck) et la visualisation a été effectuée par lampes UV (254 nm et 365 nm). Les purifications ont été effectuées sur gel de silice 60Å (Carlo Erba). Les points de fusions ont été déterminés sur banc Kofler et sont non corrigés. Les spectres infrarouges ont été enregistrés par spectrophotomètres Infra Rouge dotés d'interféromètre à Transformée de Fourier (IRTF) Shimadzu IRTracer-100. Les valeurs sont exprimées en cm⁻¹. Les spectres ¹H-RMN ont été enregistrés par un spectromètre Bruker AVANCE III 400 (400 MHz), les ¹³C-RMN ainsi que les DEPT par un Bruker AVANCE III 400 (101 MHz), le solvant deutéré utilisé est le chloroforme CDCl₃ sauf indication du contraire. Les déplacements chimiques sont exprimé en ppm (partie par million) avec comme référence standard interne le tétraméthylsilane. Les constantes de couplage (J) sont exprimées en Hz (Hertz) et les signaux sont désigné comme s'en suit : singulet (s) ; doublet (d) ; multiplet (m) ; doublet de doublet (dd) ; triplet (t) ; doublet de triplet (dt). Les spectrométries de masses ont été effectuées par le « Centre Commun de Spectrosmétrie de Masse » de l'université Claude Bernard Lyon I, en remerciant F. Albrieux, C. Duchamp et N. Henriques. Le Spectromètre est un Bruker micrOTOF-Q II avec comme source un electrospray à ions positifs (ESI⁺) (ionisation par électronébulisation), les masses obtenues sont exprimé en m/z (masse/charge).

4-benzyloxy-3-methoxy-benzaldehyde **58**



MM : 242,27g.mol⁻¹

Formule : C₁₅H₁₄O₃

R_f = 0.68 (CH₂Cl₂)

A une solution de vanilline (4.00g, 26.30mmol) dans CH₃CN (130mL) sont ajoutés du bromure de benzyle (3.43mL, 31.50mmol) et K₂CO₃ (4.36g, 31.50mmol). Le mélange réactionnel est mis sous reflux pendant 1h. Une fois le mélange à TA, le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est repris dans H₂O (100mL) puis extrait par AcOEt (2 x 50mL). La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 25mL), une solution saturée en NaCl (1 x 25mL), séchée sur Na₂SO₄ et évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est recristallisé dans du C₆H₁₂ pour donner **58** (5.50g, Rdt : 87.1%) sous forme de cristaux blancs ; Tf : 62°C.

IR : 812.03, 987.55, 1029.99, 1130.29, 1236.37, 1257.59, 1423.47, 1504.48, 1672.28.

¹H : δ 3.98 (s, 3H, CH₃), 5.28 (s, 2H, CH₂), 7.01 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H-5), 7.49 – 7.32 (m, 7H, Ar), 9.86 (s, 1H, CHO).

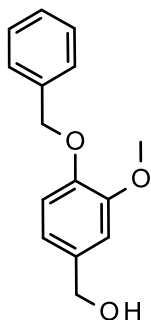
¹³C : δ 56.08, 70.88, 109.31, 112.37, 126.65, 127.22, 128.23, 128.75, 130.29, 136.01, 150.08, 153.60, 190.96.

DEPT : δ 56.08, 70.87(CH₂), 109.30, 112.37, 126.65, 127.22, 128.24, 128.75.

LRMS : [M+H]⁺ = 243.1

[M+Na]⁺ = 265.1

[4-benzyloxy-3-(hydroxymethyl)phenyl]methanol **59**



MM : 244,28g.mol⁻¹

Formule : C₁₅H₁₆O₃

R_f = 0.18 (CH₂Cl₂)

A une solution de **58** (10.00g, 41.27mmol) dans MeOH (206mL) est lentement ajouté NaBH₄ (1.95g, 51.59mmol). Le mélange est placé sous agitation pendant 15 min à -5°C, puis est neutralisé par CH₃COOH, MeOH est ensuite évaporé sous pression réduite et le résidu est repris dans H₂O (50mL) puis extrait par AcOEt (2 x 100mL). La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 50mL), une solution saturée en NaCl (1 x 40mL), séchée sur Na₂SO₄ et évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est suffisamment pur pour la suite des réactions et donne **59** (9.98g, Rdt : 99.0%) sous forme de cristaux blancs ; Tf : 74°C.

IR : 852.54, 1002.98, 1031.92, 1134.14, 1159.22, 1234.44, 1257.59, 1514.12, 1589.34.

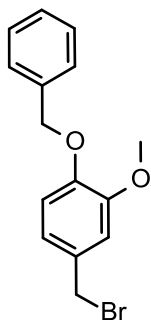
¹H : δ 3.83 (s, 3H, CH₃), 4.54 (s, 2H, CH₂), 5.09 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.80 – 6.73 (m, 2H, H-5/6), 6.88 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-2), 7.40 – 7.22 (m, 5H, Ar).

¹³C : δ 55.98, 65.34, 71.08, 110.96, 113.95, 119.35, 127.24, 127.84, 128.56, 134.13, 137.13, 147.70, 149.83.

DEPT : δ 55.98, 65.34(CH₂), 71.08(CH₂), 110.96, 113.95, 119.35, 127.24, 127.84, 128.56.

LRMS : [M+Na]⁺ = 267.1

[2-benzyloxy-5-(bromomethyl)phenyl]methanol **60**



MM : 307,18g.mol⁻¹

Formule : C₁₅H₁₅BrO₂

R_f = 0.91 (CH₂Cl₂)

A une solution de **60** (13.60g, 55.67mmol) dans CH₂Cl₂ (240mL) une solution de PBr₃ (2.63mL, 27.84mmol) dans du CH₂Cl₂ (30mL) est ajoutée goutte à goutte pendant 15 min à 0°C, le mélange réactionnel est ensuite placé sous agitation pendant la nuit. L'ensemble est ensuite versé sur H₂O/glace, est neutralisé par Na₂CO₃ et est extrait par CH₂Cl₂ (2 x 100mL). La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 50mL), une solution saturée en NaCl (1 x 40mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est suffisamment pur pour la suite des réactions et donne **60** (13.00g, Rdt : 89.0%) sous forme de cristaux oranges ; Tf : 76°C.

IR : 561.29, 852.54, 1002.98, 1031.92, 1134.14, 1159.22, 1234.44, 1257.59, 1514.12, 1589.34.

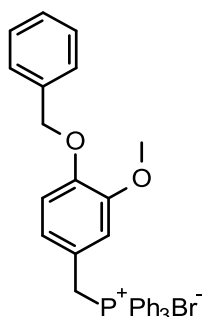
¹H : δ 3.90 (s, 3H, CH₃), 4.48 (s, 2H, CH₂-Br), 5.15 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.81 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H-3), 6.88 (dd, J = 8.2, 2.1 Hz, 1H, H-4), 6.93 (d, J = 2.0 Hz, 1H, H-6), 7.45 – 7.27 (m, 5H, Ar).

¹³C : δ 34.34, 56.03, 70.98, 112.61, 113.65, 121.50, 127.23, 127.93, 128.60, 130.71, 136.89, 148.42, 149.72.

DEPT : δ 34.34(CH₂), 56.03, 70.98(CH₂), 112.61, 113.65, 121.50, 127.23, 127.93, 128.60,

LRMS : [M+Na]⁺ = 331.0
[M-Br]⁺ = 227.1

4-benzyloxy-3-methoxy-benzyl-triphenyl-phosphonium bromide **61**



MM : 569,47g.mol⁻¹

Formule : C₃₃H₃₀BrO₂P

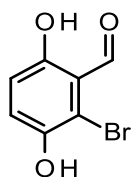
A une solution de **60** (10.00g, 31.48mmol) dans du toluène (330mL) sont ajoutés de la triphénylphosphine (9.90g, 37.78mmol). Le mélange réactionnel est chauffé au reflux pendant 1h. L'ensemble est refroidis à TA, le précipité formé est filtré sur fritté ensuite lavé par du toluène puis par de l'Et₂O pour donner **61** (17.75g, Rdt : 99.0%) sous forme de cristaux blancs ; Tf : 220°C.

IR : 690.52, 856.39, 1026.13, 1109.07, 1139.93, 1234.44, 1435.04, 1514.12.

¹H : δ 3.57 (s, 3H, CH₃), 5.09 (s, 2H, CH₂-Ph), 5.35 (d, *J* = 13.7 Hz, 2H, CH₂-P), 6.55 (tt, 1H, H-6), 6.64 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-5), 6.88 (t, 1H, H-2), 7.43 – 7.30 (m, 5H, Ar), 7.83 – 7.57 (m, 16H, Ar).

LRMS : [M-Br]⁺ = 489.5

2-bromo-3,6-dihydroxy-benzaldehyde **39**



MM : 217,02g.mol⁻¹

Formule : C₇H₅BrO₃

R_f = 0.39 (CH₂Cl₂)

A une solution de 2,5-dihydroxybenzaldehyde (4.00g, 28.96mmol) dans CH₃Cl (136mL) une solution de Br₂ (1.61mL, 30.12mmol) dans CH₃Cl (100mL) est ajoutée goutte à goutte pendant 90 min à TA. L'ensemble est ensuite maintenu sous agitation pendant 90 min supplémentaires. Le mélange réactionnel est lavé par une solution de Na₂S₂O₃ à 10% (8 x 60mL). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne avec comme solvant CH₂Cl₂ pour donner **39** (5.60g, Rdt : 90,0%) sous forme de cristaux jaunes ; Tf : 136°C.

IR : 783.10, 831.32, 858.32, 1166.93, 1282.66, 1454.33, 1571.99, 3242.34.

¹H : δ 5.29 (s, 1H, OH-3), 6.85 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-5), 7.17 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-4), 10.20 (d, *J* = 0.5 Hz, 1H, CHO), 11.58 (s, 1H, OH-6).

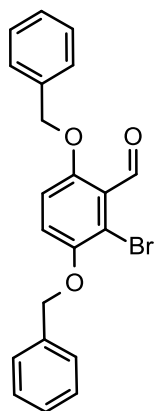
¹³C : δ 111.88, 116.46, 118.67, 125.44, 145.58, 158.32, 196.93.

DEPT : δ 118.67, 125.44.

LRMS : (⁷⁹Br) [M+H]⁺ = 214.9 ;

(⁸¹Br) [M+H]⁺ = 216.9

3,6-dibenzyloxy-2-bromo-benzaldehyde **62**



MM : 397,26g.mol⁻¹

Formule : C₂₁H₁₇BrO₃

R_f = 0.66 (CH₂Cl₂/C₆H₁₂ - 8/2)

La même procédure décrite pour **58** a été employé avec **39** (5.00g, 23.04mmol) avec 2.5 équivalent de K₂CO₃ et BnBr. Le composé **62** est obtenu (6.68g, Rdt : 73,0%) sous forme de cristaux jaune-pâle ; Tf : 135°C.

IR : 692.44, 729.09, 806.25, 1259.52, 1377.17, 1448.54, 1566.20, 1693.50.

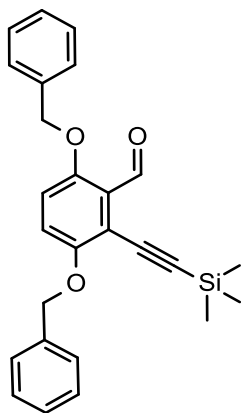
¹H : δ 5.05 (d, J = 1.1 Hz, 4H, CH₂), 6.85 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H-5), 6.98 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H-4), 7.42 – 7.22 (m, 10H, Ar), 10.39 (s, 1H, CHO).

¹³C : δ 71.61, 72.12, 113.34, 115.39, 119.49, 125.64, 127.18, 127.21, 128.15, 128.20, 128.66, 128.71, 136.05, 136.28, 149.86, 154.94, 190.64,

DEPT : δ 71.60(CH₂), 72.12(CH₂), 113.33, 119.48, 127.18, 127.21, 128.15, 128.20, 128.66, 128.71,

LRMS : (⁷⁹Br) [M+H]⁺ = 397.4 ; (⁸¹Br) [M+H]⁺ = 399.4
 (⁷⁹Br) [M+Na]⁺ = 419.3 ; (⁸¹Br) [M+Na]⁺ = 421.3

3,6-dibenzyloxy-2-(2-trimethylsilylethynyl)benzaldehyde **63**



MM : 414.57g.mol⁻¹

Formule : C₂₆H₂₆O₃Si

R_f = 0.61 (CH₂Cl₂/C₆H₁₂ – 8/2)

A une solution de **62** (6.00g, 15.10mmol) dans du toluène (72mL) sont ajouté, sous atmosphère inerte, CuI (1.44g, 7.55mmol), (PPh₃)₂Cl₂Pd(II) (2.66g, 3.78mmol), du TMS acétylène (8.36mL, 60.49mmol) et Et₃N (8.15mL, 60.49mmol). L'ensemble est chauffé à 85°C sous atmosphère inerte pendant 4h. Une fois à TA, le mélange réactionnel est filtré sur silice et dilué par AcOEt. La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 75mL), une solution saturée en NaCl (1 x 50mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne avec comme solvant CH₂Cl₂/C₆H₁₂ – 9/1 pour donner **63** (4.70g, Rdt : 70,0%) sous forme de cristaux jaune-brun ; Tf : 90°C.

IR : 808.17, 1006.84, 1190.08, 1375.25, 1562.34, 1693.50.

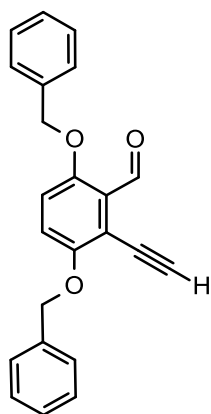
¹H : δ 0.20 (s, 9H, CH₃), 5.03 (s, 2H, CH₂-O-6), 5.07 (s, 2H, CH₂-O-3), 6.84 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H-5), 6.97 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H-4), 7.45 – 7.21 (m, 10H, Ar), 10.58 (s, 1H, CHO).

¹³C : δ 0.00, 71.55, 71.68, 97.32, 107.60, 115.24, 116.83, 119.66, 127.12, 127.16, 127.24, 128.07, 128.20, 128.62, 128.83, 136.53, 136.88, 153.88, 154.97, 190.54.

DEPT : δ 71.38(CH₂), 71.51(CH₂), 115.06, 119.49, 126.99, 127.07, 127.90, 128.03, 128.45, 128.66.

LRMS : $[M+H]^+ = 415.5$
 $[M+Na]^+ = 437.5$

3,6-dibenzyloxy-2-ethynyl-benzaldehyde **65**



MM : 342.39g.mol⁻¹

Formule : C₂₃H₁₈O₃

Rf = 0.52 (CH₂Cl₂/C₆H₁₂ - 8/2)

A une solution de **63** (5.82g, 14.04mmol) dans du THF (172mL) sont ajoutés BuN₄F (5.94mL, 16.85mmol) à 0°C. Le mélange réactionnel est placé sous agitation pendant 30min. Une fois la réaction complète, le THF est évaporé sous pression réduite puis le résidu est repris par AcOEt. La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 75mL), une solution saturée en NaCl (1 x 75mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne avec comme solvant CH₂Cl₂/C₆H₁₂ - 8/2 pour donner **65** (4.37g, Rdt : 91,0%) sous forme de cristaux jaunes ; Tf : 95°C.

IR : 806.25, 964.41, 1041.56, 1269.16, 1382.96, 1573.91, 1693.50, 3315.63.

¹H : δ 3.71 (s, 1H, C≡C-H), 5.15 (s, 2H, CH₂-O-6), 5.18 (s, 2H, CH₂-O-3), 6.97 (d, J = 9.2 Hz, 1H, H-5), 7.08 (d, J = 9.2 Hz, 1H, H-4), 7.51 - 7.31 (m, 10H, Ar), 10.66 (s, 1H, CHO).

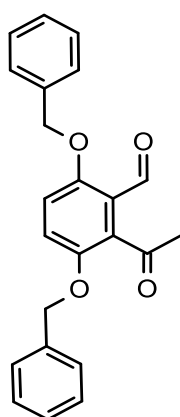
¹³C : δ 71.38, 71.65, 88.28, 114.13, 115.02, 119.73, 127.04, 127.16, 127.29, 128.01, 128.18, 128.61, 128.71, 136.13, 136.54, 154.42, 155.04, 189.91.

DEPT : δ 71.38(CH₂), 71.64(CH₂), 88.28, 115.01, 119.72, 127.04, 127.16, 128.01, 128.18, 128.61, 128.71.

LRMS : [M+H]⁺ = 343.4

[M+Na]⁺ = 365.4

2-acetyl-3,6-dibenzyloxy-benzaldehyde **66**



MM : 360.40 g.mol⁻¹

Formule : C₂₃H₂₀O₄

R_f = 0.55 (CH₂Cl₂/C₆H₁₂ – 8/2)

Méthode A

A une solution de **65** (2.76 g, 8.06 mmol) dans un mélange de CH₃COOH (1.6 mL) et HCOOH (1.6 mL) est ajouté à 0°C, Hg(CH₃COO)₂ (1.53 g, 4.80 mmol) en solution dans H₂O (3.06 mL). L'ensemble est mis sous agitation pendant 2h. Une fois à TA, le mélange réactionnel est coincé par H₂O (15 mL) et est neutralisé par Na₂CO₃ jusqu'à pH 7/8 et est extrait par AcOEt (2 x 50 mL). La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 60 mL), une solution saturée en NaCl (1 x 50mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne avec comme solvant CH₂Cl₂ pour donner **66** (0.78 g, Rdt : 27%) sous forme de cristaux bruns ; Tf : 136°C.

Méthode B

A une solution de **65** (3.40 g, 9.93 mmol) dans un mélange de CH₃CN (14 mL) et CH₂Cl₂ (14 mL) sont ajoutés H₂O (0.54 mL, 29.79 mmol) et une solution de Hg(OTf)₂ (49.53 mg,

99.30 μmol) et tétraméthylurée (23.77 μL , 198.60 μmol) dans CH_3CN (6,00 mL). L'ensemble est mis sous agitation pendant 12h à TA. Le mélange réactionnel est coincé par H_2O (20 mL) et est extrait par AcOEt (2 x 20 mL). La phase organique est ensuite lavée par H_2O (2 x 30 mL), une solution saturée en NaCl (1 x 25mL), séchée sur Na_2SO_4 et est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne avec comme solvant CH_2Cl_2 pour donner **66** (1.00 g, Rdt : 30%) sous forme de cristaux bruns ; Tf : 136°C.

IR : 813.96, 1087.85, 1180.44, 1263.37, 1348.24, 1381.03, 1433.11, 1583.56, 1681.93, 1705.07.

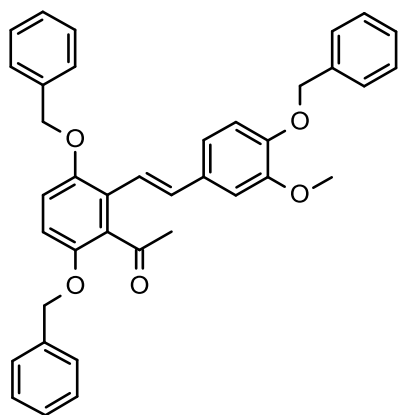
^1H : δ 2.45 (s, 3H, COCH_3), 4.96 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O-6}$), 5.07 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O-3}$), 6.89 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-5), 7.05 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-4), 7.37 – 7.20 (m, 10H, Ar), 10.40 (s, 1H, CHO).

^{13}C : δ 31.28, 71.33, 71.62, 114.21, 120.86, 122.72, 127.14, 127.34, 128.12, 128.42, 128.67, 128.80, 133.84, 135.88, 136.27, 148.42, 155.47, 189.54, 203.54.

DEPT : δ 31.28, 71.33(CH_2), 71.61(CH_2), 114.21, 120.85, 127.14, 127.34, 128.13, 128.42, 128.67, 128.80.

LRMS : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 361.4$
 $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 383.4$

1-Acetyl-3'-methoxy-3,6,4'-tribenzyloxy-stilbene **71**



MM : 570.67 g.mol⁻¹

Formule : C₃₈H₃₄O₅

R_f = 0.66 (CH₂Cl₂)

A une suspension de **61** (2.13 g, 3.66 mmol) dans du THF (20 mL) à -78°C est ajouté du *n*-BuLi 1.6M (2.29 mL, 3.66 mmol). L'ensemble est maintenu sous agitation pendant 3h puis est ajouté à -78°C en goutte à goutte une solution de **66** (1.10 g, 3.05 mmol) dans du THF (16 mL), l'agitation est maintenu pendant 12h en revenant lentement à TA. Le mélange réactionnel est ensuite refroidit à -78°C puis coincé par H₂O (20 mL). Le mélange est versé sur H₂O/glace et est extrait par CH₂Cl₂ (2 x 25 mL). La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 30 mL), une solution saturée en NaCl (1 x 30 mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne avec comme solvant CH₂Cl₂/C₆H₁₂ - 9/1 pour donner **71** (0.6 g, Rdt : 35,0%) sous forme de cristaux jaune-beige ; Tf : 147°C.

IR : 794.67, 1008.77, 1134.14, 1263.37, 1510.26, 1583.56, 1699.29.

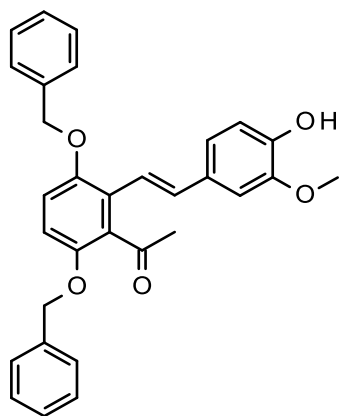
¹H : δ 2.40 (s, 3H, COCH₃), 3.82 (s, 3H, O-CH₃), 4.99 (d, *J* = 6.7 Hz, 4H, CH₂), 5.10 (s, 2H, CH₂-O-3'), 6.71 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-5), 6.76 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-5'), 6.80 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-4), 6.84 (dd, *J* = 8.3, 1.9 Hz, 1H, H-6'), 6.87 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-α), 6.92 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H, H-β), 7.39 - 7.22 (m, 15H, Ar).

¹³C : δ 32.51, 55.99, 70.99, 71.28, 71.51, 77.23, 109.77, 112.29, 113.88, 114.05, 119.64, 119.78, 124.79, 127.16, 127.23, 127.35, 127.87, 127.92, 127.94, 128.54, 128.58, 131.23, 132.75, 134.87, 136.86, 137.04, 148.22, 148.81, 149.67, 151.21, 205.21.

DEPT : δ 32.52, 55.99, 70.99(CH₂), 71.28(CH₂), 71.51(CH₂), 77.23, 109.76, 112.29, 113.87, 114.04, 119.64, 119.77, 127.16, 127.23, 127.35, 127.87, 127.92, 127.94, 128.55, 128.58, 134.87.

LRMS : [M+H]⁺ = 571.6
[M+Na]⁺ = 593.6

1-Acetyl-3,6-dibenzyloxy-4'-hydroxy-3'-methoxy-stilbene **72**



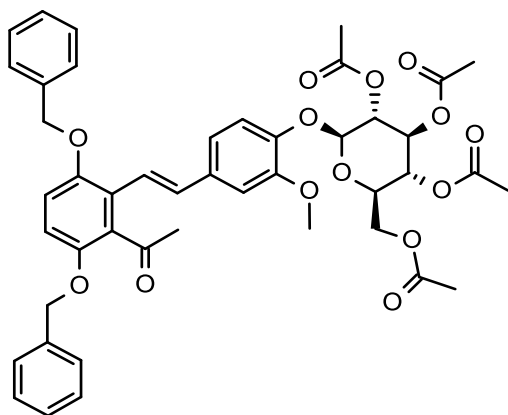
MM : 480.55 g.mol⁻¹

Formule : C₃₁H₂₈O₅

A une solution de **71** (0.60 g, 1.05 mmol) dans du toluène (6.32 mL) est ajouté MgBr₂(Et₂O) (0.33 g, 1.26 mmol) en solution dans Et₂O (0.90 mL). L'ensemble est chauffé à 65°C pendant 48h. Une fois à TA, le mélange réactionnel est lavé par HCl 1N (5 mL) et est dilué par AcOEt. La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 5 mL), une solution saturée en NaCl (1 x 5 mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne avec comme solvant CH₂Cl₂/C₆H₁₂/AcOEt - 5/4/1 pour donner **72** (0.15 g, Rdt : 30,0%) sous forme de cristaux blancs.

¹H : δ 2.40 (s, 3H, COCH₃), 3.83 (s, 3H, O-CH₃), 4.99 (d, *J* = 7.4 Hz, 4H, CH₂), 5.59 (s, 1H, OH), 6.71 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-5), 6.84 – 6.77 (m, 3H, Ar), 6.93 – 6.86 (m, 2H, Ar), 6.99 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H, H- β), 7.38 – 7.22 (m, 10H, Ar).

1-Acetyl-3,6-dibenzyloxy-3'-methoxy-4'-β-D-acetoglucose-stilbene **77**



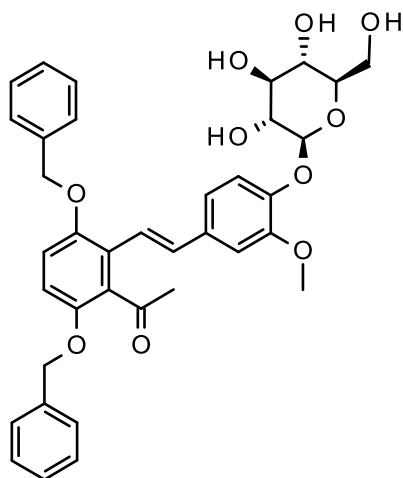
MM : 810.84g.mol⁻¹

Formule : C₄₅H₄₆O₁₄

R_f = 0.52 (CH₂Cl₂/AcOEt)

A une solution de **72** (0.36 g, 0.75 mmol) dans CH₃CN (24 mL) sont ajoutés Cs₂CO₃ (0.59 g, 1.50 mmol) et l'acetobromo-α-D-glucose (0.93 g, 2.26 mmol). L'ensemble est mis sous agitation pendant 24h à TA. Le milieu réactionnel est ensuite dilué par AcOEt (20 mL). La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 25mL), une solution saturée en NH₄Cl (1 x 20mL), une solution saturée en NaCl (1 x 20mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite conduisant, après une filtration sur silice en solution dans CH₂Cl₂ avec un gradient de 1 à 10% en AcOEt, à une huile brune contenant **77** qui est lancée tel quelle dans la suite des étapes sans purification supplémentaire.

1-Acetyl-3,6-dibenzyloxy-3'-methoxy-4'-β-D-glucose-stilbene **78**



MM : 642.69 g.mol⁻¹

Formule : C₃₇H₃₈O₁₀

R_f = 0.07 (CH₂Cl₂/EtOH - 9/1)

A une solution de **77** (0.30 g, 0.37 mmol) dans MeOH (24 mL) est ajouté KOH (0.24 g, 3.70 mmol) à 0°C. L'ensemble est mis sous agitation pendant 1h à TA. Le milieu réactionnel est ensuite acidifié jusqu'à pH 5/6 par HCl 1N et est extrait par AcOEt (2 x 15 mL). La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 20mL), une solution saturée en NaCl (1 x 15mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite pour donner **78** (0.21 g, Rdt : 90%) sous forme de cristaux blancs ; Tf : 162°C.

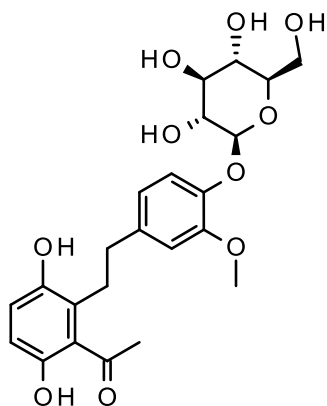
IR : 798.53, 1026.13, 1074.35, 1219.01, 1265.30, 1454.33, 1508.33, 1589.34, 1703.14.

¹H (DMSO-*d*₆) : δ 2.50 (s, 3H, COCH₃), 3.35 – 3.17 (m, 4H, CH-2'', 3'', 4'', 5''), 3.55 – 3.47 (m, 1H, CH₂-6''), 3.76 – 3.69 (m, 1H, CH₂-6''), 3.85 (s, 3H, O-CH₃), 4.59 (t, *J*=5.6, 1H, OH), 4.98 (d, *J*=7.5, 1H, CH-1''), 5.07 (d, *J*=5.1, 1H, OH), 5.16 (d, *J*=10.5, 3H, CH₂-O, OH), 5.21 (s, 2H, CH₂-O), 5.31 (d, *J*=4.6, 1H, OH), 7.01 – 6.93 (m, 2H, Ar), 7.08 – 7.02 (m, 2H, Ar), 7.15 – 7.10 (m, 2H, Ar), 7.18 (d, *J*=9.1, 1H, H-5), 7.57 – 7.36 (m, 10H, Ar).

LRMS : [M+H]⁺ = 643.6

[M+Na]⁺ = 665.6

1-Acetyl-3,6-dihydroxyl-3'-methoxy-4'-β-D-glucose-dihydrostilbene **79**



MM : 464.46 g.mol⁻¹

Formule : C₂₃H₂₈O₁₀

R_f = (CH₂Cl₂)

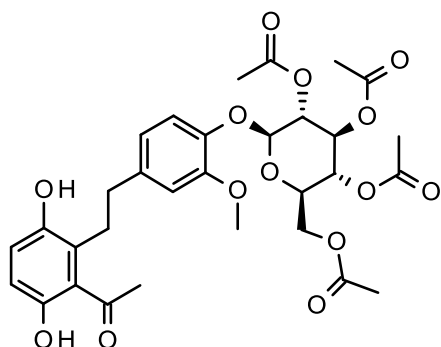
A une solution de **78** (0.21 g, 0.33 mmol) dans un mélange de EtOH (mL) et AcOEt (mL) est ajouté 10% Pd/C (g, mmol). L'ensemble est mis sous agitation et est soumis à H_{2(g)} sous pression atmosphérique pendant 2h à TA. Le milieu réactionnel est ensuite filtré et est évaporé à sec sous pression réduite. Le résidu est chromatographié sur gel de silice avec comme solvant CH₂Cl₂/EtOH – 4/1 pour donner **79** (0.13 g, Rdt : 85%) sous forme de cristaux blancs.

¹H (Methanol-*d*₄) : δ 2.27 (s, 3H, COCH₃), 2.84 – 2.65 (m, 4H, CH₂-α, β), 3.52 – 3.33 (m, 4H, CH-2'', 3'', 4'', 5''), 3.69 (dd, *J* = 12.0, 4.7 Hz, 1H, CH₂-6''), 3.81 (s, 3H, O-CH₃), 3.86 (dd, *J* = 12.1, 1.7 Hz, 1H, CH₂-6''), 4.82 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H, CH-1''), 6.54 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, CH-4), 6.69 (m, 2H, Ar), 6.74 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, CH-2'), 7.05 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, CH-5').

¹³C (Methanol-*d*₄) : δ 29.60, 31.02, 35.31, 55.17, 61.05, 69.90, 73.54, 76.41, 76.73, 101.79, 112.77, 113.42, 116.35, 117.00, 120.69, 125.30, 130.43, 137.62, 144.72, 146.81, 148.19, 149.24, 207.42.

DEPT (Methanol-*d*₄) : δ 29.61(CH₂), 31.02, 35.31(CH₂), 55.17, 61.05 (CH₂), 69.90, 73.54, 76.40, 76.73, 101.79, 112.76, 113.42, 116.35, 116.99, 120.69.

1-Acetyl-3,6-dihydroxyl-3'-methoxy-4'-β-D-acetoglucose-dihydrostilbene **80**



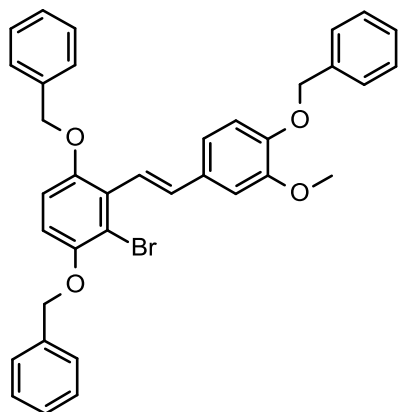
MM : 632.61g.mol⁻¹

Formule : C₃₁H₃₆O₁₄

La même procédure décrite pour **78** a été employé avec **77** (0.20 g, 0.25 mmol). Le composé **80** est obtenu (0.16 g, Rdt : 99,0%) sous forme d'une huile blanchâtre.

¹H : δ 1.97 (d, J=1.7, 6H, O-COCH₃), 2.02 (d, J=0.9, 6H, O-COCH₃), 2.54 (s, 3H, COCH₃), 2.83 – 2.73 (m, 2H, CH₂-β), 3.07 – 2.97 (m, 2H, CH₂-α), 3.73 – 3.64 (m, 4H, O-CH₃, CH-5''), 4.11 (dd, J=12.2, 2.5, 1H, CH₂-6''), 4.21 (dd, J=12.2, 4.8, 1H, CH₂-6''), 4.61 (s, 1H, OH-3), 4.87 (d, J=7.4, 1H, CH-1''), 5.26 – 5.05 (m, 3H, CH-2'', 3'', 4''), 6.53 (d, J=1.8, 1H, CH-2'), 6.59 (dd, J=8.1, 1.8, 1H, CH-6'), 6.65 (d, J=8.8, 1H, CH-4), 6.76 (d, J=8.8, 1H, CH-5), 6.96 (d, J=8.1, 1H, CH-5'), 9.21 (s, 1H, OH-6).

3-bromo-3'-methoxy-1,4,4'-trihydroxyl-stilbene **83**



MM : 607.53g.mol⁻¹

Formule : C₃₆H₃₁BrO₄

R_f = 0.82 (CH₂Cl₂)

La même procédure décrite pour **71** a été employé avec **62** (2.00 g, 5.03 mmol) et **61** (3.51 g, 6.04 mmol). Le composé **83** est obtenu (1.25 g, Rdt : 41%) sous forme de cristaux blancs, Tf : 144°C.

IR : 1006.84, 1134.14, 1375.25, 1454.33, 1516.05.

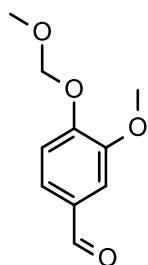
^1H : δ 3.85 (s, 3H, O-CH₃), 5.00 (s, 2H, CH₂-O), 5.05 (s, 2H, CH₂-O), 5.11 (s, 2H, CH₂-O), 6.70 (d, J = 9.0 Hz, 1H, CH- α), 6.79 (t, J = 8.9 Hz, 2H, CH- β , CH-5'), 6.90 (dd, J = 8.4, 1.8 Hz, 1H, CH-6'), 6.94 (d, J = 1.9 Hz, 1H, CH-2'), 7.44 - 7.22 (m, 17H, Ar).

^{13}C : δ 55.99, 71.01, 71.65, 71.78, 99.99, 109.79, 112.49, 112.71, 113.98, 116.35, 119.59, 122.78, 127.17, 127.24, 127.49, 127.85, 127.90, 127.96, 128.47, 128.54, 128.56, 128.57, 131.60, 135.52, 136.89, 137.11, 148.15, 149.71, 150.00, 151.91.

DEPT : δ 55.99, 71.01(CH₂), 71.64(CH₂), 71.77(CH₂), 109.78, 112.48, 112.70, 113.97, 119.59, 122.77, 127.17, 127.24, 127.49, 127.85, 127.90, 127.97, 128.54, 128.56, 128.58, 135.52.

LRMS : (^{79}Br) [M+H]⁺ = 607.5 ; (^{81}Br) [M+H]⁺ = 609.5
 (^{79}Br) [M+Na]⁺ = 629.5 ; (^{81}Br) [M+Na]⁺ = 631.5

3-methoxy-4-(methoxymethoxy)benzaldehyde **84**



MM : 196.20 g.mol⁻¹

Formule : C₁₀H₁₂O₄

R_f = 0.50 (CH₂Cl₂)

A une solution de vanilline (10.00 g, 65.73 mmol) dans CH₂Cl₂ (50 mL) sont lentement ajouté Et₃N (17.83 mL, 131.16 mmol) et du methyloxymethyl chloride (7.52 mL, 98.59

mmol). L'ensemble est mis sous agitation pendant 3h à TA. La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 40mL), une solution saturée en NaCl (1 x 30mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne avec comme solvant CH₂Cl₂ pour donner **84** (10.50 g, Rdt : 81%) sous forme d'une huile incolore.

IR : 813.96, 864.11, 970.19, 1029.99, 1078.21, 1128.36, 1151.50, 1261.45, 1394.53, 1463.97, 1504.48, 1587.42, 1680.00, 2829.57.

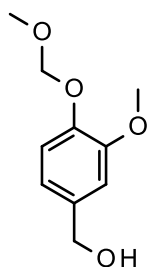
¹H : δ 3.53 (s, 3H, O-CH₃), 3.96 (s, 3H, O-CH₃), 5.34 (s, 2H, O-CH₂-O), 7.28 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH-5), 7.48 – 7.40 (m, 2H, CH-2,6), 9.88 (s, 1H, CHO).

¹³C : δ 56.06, 56.55, 95.03, 109.51, 114.69, 126.47, 131.09, 150.09, 152.01, 191.03.

DEPT : δ 56.07, 56.56, 95.03(CH₂), 109.50, 114.68, 126.49.

LRMS : [M+H]⁺ = 197.3
[M+Na]⁺ = 219.3

[3-methoxy-4-(methoxymethoxy)phenyl]methanol **85**



MM : 198.22 g.mol⁻¹

Formule : C₁₀H₁₄O₄

R_f = 0.41 (CH₂Cl₂)

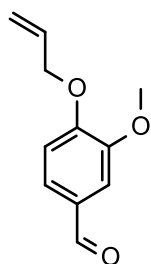
La même procédure décrite pour **59** a été employé avec **84** (8.00 g, 40.77 mmol). Le composé **85** est obtenu (7.37 g, Rdt : 92,0%) sous forme d'une huile incolore.

IR : 813.96, 856.39, 918.12, 979.84, 1074.35, 1130.29, 1151.50, 1226.73, 1261.45, 1417.68, 1463.97, 1510.26.

^1H : δ 3.54 (s, 3H, O-CH₃), 3.92 (s, 3H, O-CH₃), 4.66 (s, 2H, C-CH₂-O), 5.25 (s, 2H, O-CH₂-O), 6.89 (ddt, J = 8.0, 1.9, 0.6 Hz, 1H, CH-6), 6.99 (d, J = 2.0 Hz, 1H, CH-2), 7.15 (d, J = 8.2 Hz, 1H, CH-5).

LRMS : [M+Na]⁺ = 221.3

4-allyloxy-3-methoxy-benzaldehyde **86**



MM : 192.21 g.mol⁻¹

Formule : C₁₁H₁₂O₃

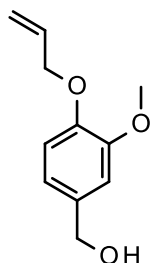
R_f = 0.63 (CH₂Cl₂)

A une solution de vanilline (5.00 g, 32.86 mmol) dans EtOH (30 mL) sont ajoutés K₂CO₃ (2.50 g, 18.08 mmol) et du bromure d'allyle (2.99 mL, 34.51 mmol). L'ensemble est chauffé à 70°C pendant 3h. Une fois à TA, EtOH est évaporé sous pression réduite, le résidu est repris par CH₂Cl₂. La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 30mL), une solution saturée en NaCl (1 x 25mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite pour donner **86** (6.06 g, Rdt : 95%) sous forme d'une huile incolore.

IR : 808.17, 866.04, 931.62, 993.34, 1134.14, 1263.37, 1386.82, 1462.04, 1504.48, 1583.56, 1674.21.

^1H : δ 3.88 (s, 3H, O-CH₃), 4.64 (dt, J = 5.5, 1.5 Hz, 2H, O-CH₂-C), 5.43 – 5.24 (m, 2H, CH₂=C), 6.08 – 5.96 (m, 1H, C=CH-C), 6.91 (d, J = 8.7 Hz, 1H, CH-5), 7.40 – 7.32 (m, 2H, Ar), 9.78 (s, 1H, CHO).

(4-allyloxy-3-methoxy-phenyl)methanol **87**



MM : 194.23g.mol⁻¹

Formule : C₁₁H₁₄O₃

R_f = 0.40 (CH₂Cl₂)

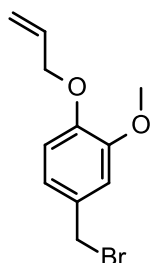
La même procédure décrite pour **59** a été employé avec **86** (2.70 g, 14.05 mmol). Le composé **87** est obtenu (2.70 g, Rdt : 99,0%) sous forme d'une huile incolore.

IR : 802.39, 854.47, 921.97, 995.27, 1014.56, 1136.07, 1224.80, 1257.59, 1419.61, 1462.04, 1510.26.

¹H : δ 3.82 (s, 3H, O-CH₃), 4.60 - 4.49 (m, 4H, O-CH₂), 5.37 - 5.18 (m, 2H, CH₂=C), 6.08 - 5.95 (m, 1H, C=CH-C), 6.79 (d, J = 1.1 Hz, 2H, Ar), 6.87 (s, 1H, Ar).

LRMS : [M+Na]⁺ = 217.3

1-allyloxy-4-(bromomethyl)-2-methoxy-benzene **88**



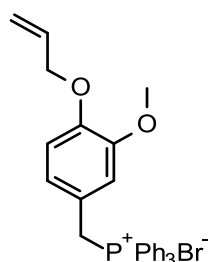
MM : 257.12 g.mol⁻¹

Formule : C₁₁H₁₃BrO₂

La même procédure décrite pour **60** a été employé avec **87** (2.50 g, 12.87 mmol). Le composé **88** est obtenu (2.75 g, Rdt : 83%) sous forme d'une huile.

^1H : δ 3.82 (s, 3H, O-CH₃), 4.43 (s, 2H, CH₂-Br), 4.55 (dt, J = 5.4, 1.5 Hz, 2H, O-CH₂-C), 5.39 – 5.17 (m, 2H, CH₂=C), 6.08 – 5.92 (m, 1H, C=CH-C), 6.74 (d, J = 8.7 Hz, 1H, CH-2), 6.94 – 6.81 (m, 2H, Ar).

4-allyloxy-3-methoxy-benzyl-triphenyl-phosphonium bromide **89**



MM : 519.41 g.mol⁻¹

Formule : C₂₉H₂₈BrO₂P

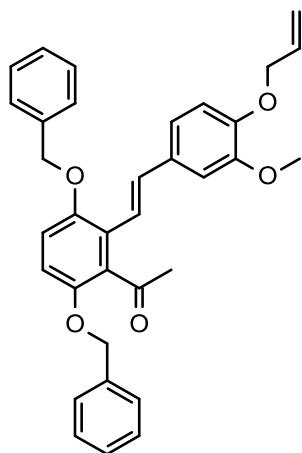
La même procédure décrite pour **61** a été employé avec **88** (2.70 g, 10.50 mmol). Le composé **89** est obtenu (4.80 g, Rdt : 88%) sous forme de cristaux beiges, Tf : 192°C.

IR : 688.59, 806.25, 941.26, 995.27, 1018.41, 1109.07, 1139.93, 1265.30, 1508.33.

^1H : δ 3.55 (s, 3H, O-CH₃), 4.54 (dt, J = 5.7, 1.5 Hz, 2H, O-CH₂-C), 5.44 – 5.23 (m, 4H, CH₂=C, CH₂-P), 6.12 – 5.96 (m, 1H, C=CH-C), 6.68 – 6.56 (m, 2H, Ar), 6.83 (s, 1H, CH-2), 7.89 – 7.59 (m, 15H, Ar-Ph).

LRMS : [M-Br]⁺ = 439.5

1-acetyl-4'-allyloxy-3,6-dibenzyl-3'-methoxy-stilbène **90**



MM : 520.61 g.mol⁻¹

Formule : C₃₄H₃₂O₅

R_f = 0.63 (CH₂Cl₂)

La même procédure décrite pour **71** a été employé avec **66** (1.79 g, 4.97 mmol) et **89** (2.84 g, 5.47 mmol). Le composé **90** est obtenu (0.52 g, Rdt : 20%) sous forme de cristaux beiges, Tf : 108°C.

IR : 731.02, 792.74, 1012.63, 1222.87, 1261.45, 1454.33, 1510.26, 1587.42, 1703.14, 2306.86, 2918.30.

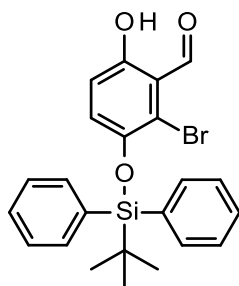
¹H : δ 2.47 (s, 3H, COCH₃), 3.88 (s, 3H, O-CH₃), 4.63 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H, O-CH₂-C), 5.06 (d, *J* = 7.3 Hz, 4H, O-CH₂-Ph), 5.45 – 5.26 (m, 2H, CH₂=C), 6.14 – 6.02 (m, 1H, C=CH-C), 6.78 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH-4), 6.83 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, CH-5'), 6.87 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH-5), 6.94 (m, 2H, CH-2', 6'), 7.00 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H, CH-α), 7.07 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H, CH-β), 7.46 – 7.28 (m, 10H, Ar).

¹³C : δ 32.51, 55.91, 69.88, 71.30, 71.54, 77.23, 109.60, 112.30, 113.29, 114.07, 118.09, 119.63, 119.71, 124.82, 127.16, 127.36, 127.92, 128.54, 128.58, 131.07, 132.77, 133.23, 134.90, 136.87, 137.06, 148.08, 148.83, 149.46, 151.23, 205.19.

DEPT : δ 32.52, 55.91, 69.88(CH₂), 71.30(CH₂), 71.53(CH₂), 109.58, 112.30, 113.27, 114.06, 118.10(CH₂), 119.63, 119.71, 127.16, 127.36, 127.94, 128.54, 128.59, 133.22, 134.90.

LRMS : $[M+H]^+ = 521.6$
 $[M+Na]^+ = 543.6$

2-bromo-3-[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxy-6-hydroxy-benzaldehyde **94**



MM : 455.42 g.mol⁻¹

Formule : C₂₃H₂₃BrO₃Si

R_f = 0.93 (CH₂Cl₂)

A une solution de **39** (2.85 g, 13.13 mmol) dans CH₂Cl₂ (54 mL) sont ajoutés de l'imidazole (1.34 g, 19.70 mmol) et du TBDPSi Chloride (4.68 mL, 17.73 mmol). L'ensemble est mis sous agitation pendant 15min à TA. La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 40 mL), une solution saturée en NaCl (1 x 35 mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite pour donner **94** (5.42 g, Rdt : 91%) sous forme d'une huile jaune.

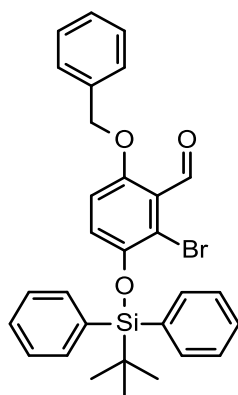
IR : 734.88, 806.25, 894.97, 939.33, 1107.14, 1170.79, 1261.45, 1427.32, 1456.26, 1508.33, 1577.77, 1651.07, 1699.29, 2856.58.

¹H : δ 1.08 (s, 9H, C-CH₃), 6.43 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, CH-5), 6.60 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, CH-4), 7.70 – 7.28 (m, 10H, Ar), 10.34 (s, 1H, CHO), 11.54 (s, 1H, OH).

¹³C : δ 19.73, 26.45, 117.12, 117.73, 117.87, 128.03, 128.33, 130.29, 131.88, 135.41, 145.43, 157.96, 198.25.

LRMS : (⁷⁹Br) $[M+H]^+ = 455.4$; (⁸¹Br) $[M+H]^+ = 457.4$
(⁷⁹Br) $[M+Na]^+ = 477.4$; (⁸¹Br) $[M+Na]^+ = 479.4$

6-benzyloxy-2-bromo-3-[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxy-benzaldehyde **95**



MM : 545.54 g.mol⁻¹

Formule : C₃₀H₂₉BrO₃Si

Rf = (CH₂Cl₂)

La même procédure décrite pour **58** a été employé avec **94** (4.91 g, 10.77 mmol). Le composé **95** est obtenu (1.18 g, Rdt : 20%) sous forme de cristaux jaunes, Tf : 87°C.

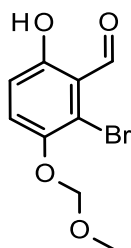
¹H : δ 1.07 (s, 9H, C-CH₃), 4.91 (s, 2H, CH₂), 6.49 (s, 2H, CH-4, 5), 7.41 – 7.17 (m, 11H, Ar), 7.73 – 7.55 (m, 4H, Ar), 10.39 (s, 1H, CHO).

¹³C : δ 19.75, 26.43, 71.49, 113.02, 116.43, 123.79, 125.37, 127.14, 128.00, 128.11, 128.63, 130.21, 131.98, 135.46, 136.09, 147.15, 154.64, 190.75.

DEPT : δ 26.43, 71.47(CH₂), 113.01, 123.78, 127.13, 127.99, 128.10, 128.62, 130.20, 135.45.

LRMS : (⁷⁹Br) [M+H]⁺ = 545.5 ; (⁸¹Br) [M+H]⁺ = 547.5
 (⁷⁹Br) [M+Na]⁺ = 567.5 ; (⁸¹Br) [M+Na]⁺ = 569.5

2-bromo-6-hydroxy-3-(methoxymethoxy)benzaldehyde **96**



MM : 261.07 g.mol⁻¹

Formule : C₉H₉BrO₄

R_f = 0.73 (CH₂Cl₂)

A une solution de **39** (2.00 g, 9.43 mmol) dans de l'acétone (20 mL) sont ajoutés K₂CO₃ (4.10 g, 29.67 mmol) et du méthoxyméthyl chlorure (0.83 mL, 10.98 mmol). L'ensemble est chauffé à 30°C pendant 2h. Une fois à TA, le mélange réactionnel est filtré sur fritté, le filtrat est repris par AcOEt. La phase organique est ensuite lavée par H₂O (2 x 20 mL), une solution saturée en NaCl (1 x 15 mL), séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne avec comme solvant CH₂Cl₂/C₆H₁₂ – 9/1 pour donner **96** (1.64 g, Rdt : 67%) sous forme de cristaux jaunes ; Tf : 50°C.

IR : 526.57, 829.39, 916.19, 1008.77, 1080.14, 1151.50, 1201.65, 1249.87, 1456.26, 1573.91, 1651.07, 2906.73.

¹H : δ 3.55 (s, 3H, CH₃), 5.18 (s, 2H, CH₂), 6.92 (d, J = 9.2 Hz, 1H, CH-5), 7.38 (d, J = 9.2 Hz, 1H, CH-4), 10.40 (s, 1H, CHO), 11.71 (s, 1H, OH).

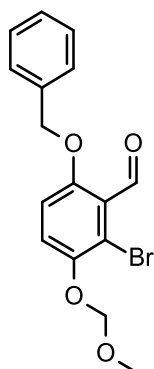
¹³C : δ 56.59, 96.44, 117.66, 117.79, 117.80, 126.86, 146.97, 159.19, 198.04,

DEPT : δ 56.59, 96.44(CH₂), 117.81, 126.87.

LRMS : (⁷⁹Br) [M+H]⁺ = 261.0 ;

(⁸¹Br) [M+H]⁺ = 263.0

6-benzyloxy-2-bromo-3-(methoxymethoxy)benzaldehyde **97**



MM : 351.19 g.mol⁻¹

Formule : C₁₆H₁₅BrO₄

R_f = 0.69 (CH₂Cl₂)

La même procédure décrite pour **58** a été employé avec **96** (1.32 g, 5.17 mmol). Le composé **97** est obtenu (1.77 g, Rdt : 96%) sous forme de cristaux jaune-pâle, Tf : 74°C.

IR : 696.30, 742.59, 806.25, 852.54, 918.12, 1014.56, 1083.99, 1147.65, 1257.59, 1386.82, 1693.50, 2910.38.

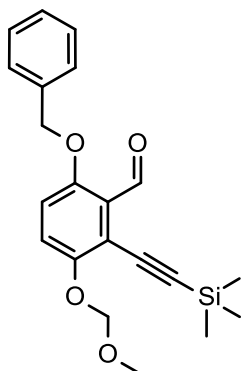
¹H : δ 3.55 (s, 3H, CH₃), 5.17 (s, 2H, O-CH₂-O), 5.21 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.98 (d, J = 9.1 Hz, 1H, CH-5), 7.30 (d, J = 9.2 Hz, 1H, CH-4), 7.47 – 7.33 (m, 5H, Ar), 10.48 (s, 1H, CHO).

¹³C : δ 56.52, 71.53, 96.05, 113.38, 115.56, 121.87, 125.34, 127.16, 128.22, 128.72, 135.98, 148.56, 155.72, 190.46.

DEPT : δ 56.52, 71.52 (CH₂), 96.05 (CH₂), 113.37, 121.88, 127.16, 128.22, 128.72.

LRMS : (⁷⁹Br) [M+Na]⁺ = 373.0 ; (⁸¹Br) [M+Na]⁺ = 375.0

6-benzyloxy-3-(methoxymethoxy)-2-(2-trimethylsilylethynyl)benzaldehyde **98**



MM : 368.50 g.mol⁻¹

Formule : C₂₁H₂₄O₄Si

R_f = 0.71 (CH₂Cl₂)

La même procédure décrite pour **63** a été employé avec **97** (1.77 g, 5.03 mmol). Le composé **98** est obtenu (1.20 g, Rdt : 65%) sous forme de cristaux ocres, Tf : 58°C.

IR : 839.03, 962.48, 1012.63, 1147.65, 1203.58, 1481.33, 1575.84, 2900.94

¹H : δ 0.28 (s, 9H, Si-CH₃), 3.54 (s, 3H, O-CH₃), 5.17 (d, *J* = 8.7 Hz, 4H, CH₂), 6.93 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, CH-5), 7.22 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH-4), 7.46 – 7.28 (m, 5H, Ar), 10.62 (s, 1H, CHO).

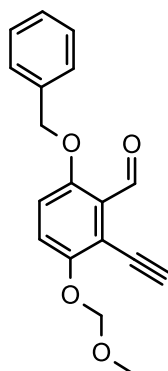
¹³C : δ 0.00, 0.17, 56.60, 71.45, 96.30, 97.31, 115.17, 123.02, 126.96, 127.20, 128.22, 128.85, 136.45, 153.29, 154.85, 190.36.

DEPT : δ 56.43, 71.28(CH₂), 96.13(CH₂), 114.99, 122.86, 127.03, 128.06, 128.68.

LRMS : [M-Si(CH₃)₃]⁺ = 297.1

[M-(Si(CH₃)₃+CH₃)]⁺ = 279.1

6-benzyloxy-2-ethynyl-3-(methoxymethoxy)benzaldehyde **99**



MM : 296.32 g.mol⁻¹

Formule : C₁₈H₁₆O₄

R_f = 0.56 (CH₂Cl₂)

La même procédure décrite pour **65** a été employé avec **98** (2.60 g, 7.06 mmol). Le composé **99** est obtenu (1.67 g, Rdt : 80%) sous forme de cristaux ocres, Tf : 62°C.

IR : 696.30, 732.95, 812.03, 914.26, 954.76, 1016.49, 1147.65, 1253.73, 1481.33, 1577.77, 1695.43, 2902.87.

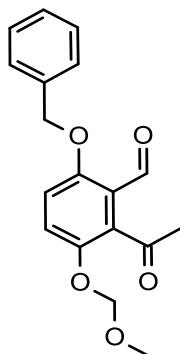
¹H : δ 3.46 (s, 3H, CH₃), 3.57 (s, 1H, C≡CH), 5.09 (s, 2H, CH₂), 5.14 (s, 2H, CH₂), 6.93 (d, J = 9.2 Hz, 1H, CH-5), 7.24 (d, J = 9.2 Hz, 1H, CH-4), 7.40 – 7.26 (m, 5H, Ar), 10.55 (s, 1H, CHO).

¹³C : δ 56.39, 71.33, 77.22, 87.77, 95.81, 114.48, 115.08, 122.16, 127.06, 127.15, 128.20, 128.71, 136.06, 153.61, 155.20, 189.74.

DEPT : δ 56.40, 71.33 (CH₂), 77.22, 95.81 (CH₂), 115.07, 122.16, 127.15, 128.20, 128.72.

LRMS : [M+H]⁺ = 297.1

2-acetyl-6-benzyloxy-3-(methoxymethoxy)benzaldehyde **100**



MM : 314.33 g.mol⁻¹

Formule : C₁₈H₁₈O₅

R_f = 0.39 (CH₂Cl₂)

La même procédure décrite pour **66** a été employé avec **99** (1.20 g, 4.05 mmol). Le composé **100** est obtenu (0.33 g, Rdt : 26%) sous forme de cristaux verts, Tf : 94°C.

IR : 694.37, 736.81, 810.10, 906.54, 997.20, 1047.35, 1253.73, 1672.38, 1699.40, 2906.73.

¹H : δ 2.44 (s, 3H, COCH₃), 3.38 (s, 3H, O-CH₃), 5.02 (s, 2H, CH₂), 5.09 (s, 2H, CH₂), 6.92 (d, J = 9.2 Hz, 1H, CH-5), 7.38 – 7.24 (m, 6H, Ar), 10.40 (s, 1H, CHO).

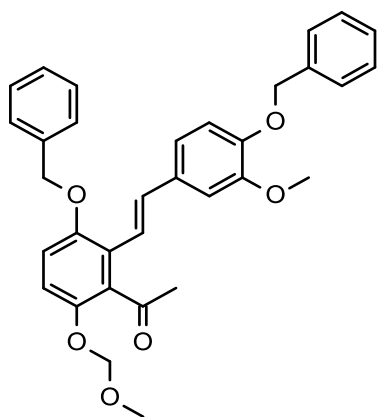
¹³C : δ 31.29, 56.28, 71.31, 95.44, 114.30, 122.48, 123.17, 127.34, 128.43, 128.81, 134.12, 135.84, 146.82, 156.15, 189.40, 203.34.

DEPT : δ 31.29(CH₃), 56.28(CH₃), 71.30(CH₂), 95.43(CH₂), 114.30, 123.17, 127.34, 128.43, 128.81.

LRMS : [M+H]⁺ = 315.1

[M+Na]⁺ = 337.1

1-acetyl-3,4'-dibenzyl-3'-methoxy-6-methyloxymethoxy-stilbene **101**



MM : 524.60 g.mol⁻¹

Formule : C₃₃H₃₂O₆

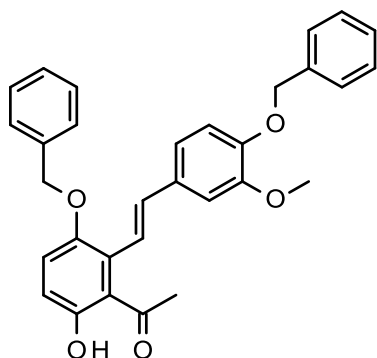
La même procédure décrite pour **71** a été employé avec **100** (0.25 g, 0.80 mmol) et **61** (0.59 g, 1.04 mmol). Le composé **101** est obtenu (0.13 g, Rdt : 30%) sous forme de cristaux crèmes.

¹H : δ 2.39 (s, 3H, COCH₃), 3.40 (s, 3H, O-CH₃), 3.82 (s, 3H; O-CH₃), 5.01 (s, 2H, CH₂), 5.04 (s, 2H, CH₂), 5.09 (s, 2H, CH₂), 6.76 (d, *J*=8.3, 1H, CH-5'), 6.85 – 6.79 (m, 2H, CH-4, 6'), 6.87 (d, *J*=1.9, 1H, CH-2'), 6.91 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH-5), 6.94 (s, 2H, Ar), 7.38 – 7.20 (m, 10H, Ar).

¹³C : δ 32.50, 55.98, 56.20, 71.00, 71.43, 95.48, 109.75, 113.89, 114.06, 114.67, 119.64, 119.72, 124.51, 127.23, 127.32, 127.86, 127.94, 128.54, 128.56, 131.19, 133.15, 134.82, 136.99, 137.04, 147.08, 148.24, 149.68, 151.78, 205.03.

DEPT : δ 32.50, 55.98, 56.21, 70.99 (CH₂), 71.43 (CH₂), 95.48 (CH₂), 109.74, 113.88, 114.05, 114.67, 119.64, 119.72, 127.23, 127.33, 127.86, 127.95, 128.55, 128.57, 134.83.

1-acetyl-3,4'-dibenzyl-6-hydroxyl-3'-methoxy-stilbene **102**



MM : 480.55 g.mol⁻¹

Formule : C₃₁H₂₈O₅

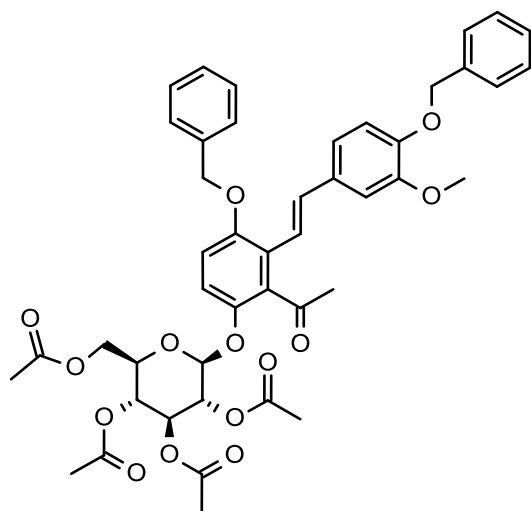
A une solution de **101** (0.11 g, 0.21 mmol) dans un mélange de MeOH (2.2mL) et de CH₃CN (2.2 mL) est ajouté HCl 3.7% (0.44 mL + 0.44 mL à t+3h). L'ensemble est chauffé au reflux du MeOH pendant 6h. Une fois à TA, le solvant est évaporé sous pression réduite, le précipité obtenu est filtré sur fritté. Les Cristaux sont lavés par H₂O. Pour bien les sécher, les cristaux sont solubilisés par CH₂Cl₂ et la phase organique est ensuite lavée par H₂O, une solution saturée en NaCl, séchée sur Na₂SO₄ et est évaporée à sec sous pression réduite pour donner **102** (0.08 g, Rdt : 80%) sous forme de cristaux.

¹H : δ 2.36 (s, 3H, COCH₃), 3.84 (s, 3H, O-CH₃), 4.97 (s, 2H, CH₂), 5.12 (s, 2H, CH₂), 6.37 (d, J = 16.2 Hz, 1H, CH-β), 6.83 – 6.76 (m, 2H, CH-4, 5'), 6.88 (dd, J = 8.3, 1.9 Hz, 1H, CH-6'), 6.94 (d, J = 1.8 Hz, 1H, CH-2'), 7.00 (d, J = 9.0 Hz, 1H, CH-5), 7.40 – 7.20 (m, 11H, Ar), 10.21 (s, 1H, OH).

¹³C : δ 30.88, 54.43, 69.40, 70.64, 108.04, 112.27, 115.18, 118.43, 119.15, 120.31, 121.17, 125.65, 125.83, 126.36, 126.42, 126.96, 127.03, 128.20, 128.99, 135.33, 135.41, 135.91, 147.09, 147.93, 148.23, 152.25, 205.44.

DEPT : δ 31.43, 54.98, 69.95(CH₂), 71.19(CH₂), 108.58, 112.81, 115.74, 118.98, 119.69, 120.86, 126.20, 126.38, 126.91, 126.98, 127.52, 127.58, 136.46.

1-acetyl-3,4'-dibenzyl-3'-methoxy-6-β-D-acetoglucose-stilbene **103**

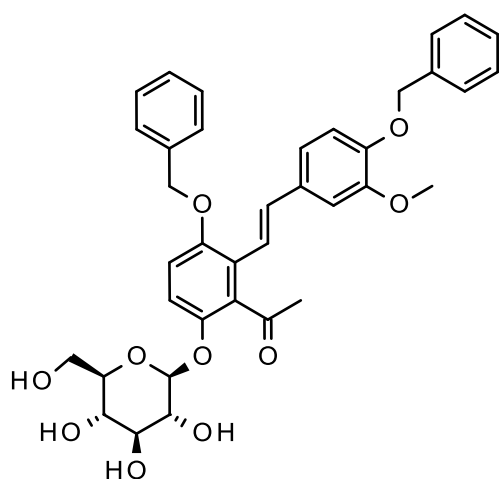


MM : 810.84 g.mol⁻¹

Formule : C₄₅H₄₆O₁₄

La même procédure décrite pour **78** a été employé avec **102** (0.08 g, 0.17 mmol) conduisant à la formation de **103**. Les cristaux beiges obtenus sont engendrés dans la suite des étapes sans purifications supplémentaires.

1-acetyl-3,4'-dibenzyl-3'-methoxy-6-β-D-glucose-stilbene **104**



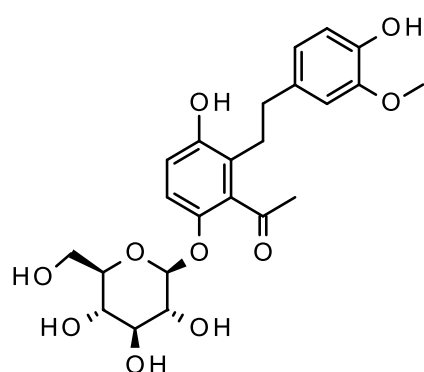
MM : 642.69 g.mol⁻¹

Formule : C₃₇H₃₈O₁₀

La même procédure décrite pour **79** a été employé avec **103** (0.07 g, 0.08 mmol). Le composé **104** est obtenu (0.05 g, Rdt : 80%) sous forme de cristaux blancs.

^1H (DMSO- d_6) : δ 1.97 (s, 3H, COCH₃), 3.35 – 3.21 (m, 4H, CH-2'', 3'', 4'', 5''), 3.56 – 3.46 (m, 1H, CH₂-6''), 3.81 – 3.72 (m, 1H, CH₂-6''), 3.85 (s, 3H, O-CH₃), 4.63 (t, $J=5.5$, 1H, OH-6''), 4.86 (d, $J=7.6$, 1H, OH), 5.09 (d, $J=5.0$, 1H, OH), 5.18 – 5.11 (m, 3H, CH₂, OH), 5.23 (s, 2H, CH₂), 5.33 (d, $J=5.6$, 1H, CH-1''), 7.20 – 6.89 (m, 7H, Ar), 7.59 – 7.36 (m, 10H, Ar),

1-acetyl-3,4'-dihydroxyl-3'-methoxy-6- β -D-glucose-dihydrostilbene **17**



MM : 464.46 g.mol⁻¹

Formule : C₂₃H₂₈O₁₀

La même procédure décrite pour **80** a été employé avec **104** (0.05 g, 0.07 mmol). Le composé **17** est obtenu (0.03 g, Rdt : 90,0%) sous forme de cristaux blancs ; Tf : 116°C.

IR : 804.32, 862.18, 1028.06, 1070.49, 1124.50, 1153.43, 1246.02, 1354.03, 1514.12, 1604.77, 1681.93, 1687.71, 3309.85.

LRMS : [M+Na]⁺ = 487.2

Références

- [1] K. Maurer, S. Volk, H. Gerbaldo, *Lancet* **1997**, 349, 1546–9.
- [2] G. Berrios, *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **1990**, 5, 355–365.
- [3] W. Thies, L. Bleiler, *Alzheimers. Dement.* **2013**, 9, 208–45.
- [4] D. Hirtz, D. J. Thurman, K. Gwinn-Hardy, M. Mohamed, a R. Chaudhuri, R. Zalutsky, *Neurology* **2007**, 68, 326–37.
- [5] C. Helmer, F. Pasquier, J. Dartigues, *M/S médecine Sci.* **2006**, 22, 288–296.
- [6] M.-P. Fortin, P. Krolak-Salmon, *La Rev. médecine interne* **2010**, 31, 846–53.
- [7] P. Christiansen, P. Toft, H. B. Larsson, M. Stubgaard, O. Henriksen, *Magn. Reson. Imaging* **1993**, 11, 799–806.
- [8] M. C. Bianchi, M. Tosetti, R. Battini, M. L. Manca, M. Mancuso, G. Cioni, R. Canapicchi, G. Siciliano, *AJNR. Am. J. Neuroradiol.* **2003**, 24, 1958–66.
- [9] C. R. Jack, D. S. Knopman, W. J. Jagust, L. M. Shaw, P. S. Aisen, M. W. Weiner, R. C. Petersen, J. Q. Trojanowski, *Lancet Neurol.* **2010**, 9, 119–28.
- [10] J. Delrieu, B. Vellas, *Médecine Nucléaire* **2011**, 35, 608–612.
- [11] a. M. Saunders, W. J. Strittmatter, D. Schmechel, P. H. St. George-Hyslop, M. a. Pericak-Vance, S. H. Joo, B. L. Rosi, J. F. Gusella, D. R. Crapper-MacLachlan, M. J. Alberts, et al., *Neurology* **1993**, 43, 1467–1467.
- [12] S. Sadigh-Eteghad, M. Talebi, M. Farhoudi, *Neurosciences (Riyadh)*. **2012**, 17, 321–6.
- [13] L. A. Farrer, L. A. Cupples, J. L. Haines, B. Hyman, W. A. Kukull, R. Mayeux, R. H. Myers, M. A. Pericak-Vance, N. Risch, C. M. van Duijn, *JAMA n.d.*, 278, 1349–56.

- [14] M. Rusanen, M. Kivipelto, C. P. Quesenberry, J. Zhou, R. a Whitmer, *Arch. Intern. Med.* **2011**, *171*, 333–9.
- [15] S. T. Pendlebury, P. M. Rothwell, *Lancet Neurol.* **2009**, *8*, 1006–18.
- [16] C. a Raji, A. J. Ho, N. N. Parikshak, J. T. Becker, O. L. Lopez, L. H. Kuller, X. Hua, A. D. Leow, A. W. Toga, P. M. Thompson, *Hum. Brain Mapp.* **2010**, *31*, 353–64.
- [17] W. L. Xu, a R. Atti, M. Gatz, N. L. Pedersen, B. Johansson, L. Fratiglioni, *Neurology* **2011**, *76*, 1568–74.
- [18] C. Reitz, C. Brayne, R. Mayeux, *Nat. Rev. Neurol.* **2011**, *7*, 137–152.
- [19] S. Ahtiluoto, T. Polvikoski, M. Peltonen, A. Solomon, J. Tuomilehto, B. Winblad, R. Sulkava, M. Kivipelto, *Neurology* **2010**, *75*, 1195–202.
- [20] A. Solomon, M. Kivipelto, B. Wolozin, J. Zhou, R. a Whitmer, *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **2009**, *28*, 75–80.
- [21] S. DeBette, S. Seshadri, a Beiser, R. Au, J. J. Himali, C. Palumbo, P. a Wolf, C. DeCarli, *Neurology* **2011**, *77*, 461–8.
- [22] Y. Stern, *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **1994**, *271*, 1004.
- [23] D. A. Evans, L. E. Hebert, L. A. Beckett, P. A. Scherr, M. S. Albert, M. J. Chown, D. M. Pilgrim, J. O. Taylor, *Arch. Neurol.* **1997**, *54*, 1399–1405.
- [24] T. C. Lye, E. A. Shores, *Neuropsychol. Rev.* **2000**, *10*, 115–29.
- [25] C. Haass, D. J. Selkoe, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2007**, *8*, 101–12.
- [26] J. Busciglio, A. Pelsman, C. Wong, G. Pigino, M. Yuan, H. Mori, B. A. Yankner, *Neuron* **2002**, *33*, 677–688.
- [27] D. J. Selkoe, *Physiol Rev* **2001**, *81*, 741–766.
- [28] R. E. Tanzi, L. Bertram, *Cell* **2005**, *120*, 545–55.

- [29] R. Kaye, E. Head, J. L. Thompson, T. M. McIntire, S. C. Milton, C. W. Cotman, C. G. Glabe, *Science* **2003**, *300*, 486–9.
- [30] W. Klein, *Trends Neurosci.* **2001**, *24*, 219–224.
- [31] D. M. Walsh, D. J. Selkoe, *J. Neurochem.* **2007**, *101*, 1172–84.
- [32] L.-F. Lue, Y.-M. Kuo, A. E. Roher, L. Brachova, Y. Shen, L. Sue, T. Beach, J. H. Kurth, R. E. Rydel, J. Rogers, *Am. J. Pathol.* **1999**, *155*, 853–862.
- [33] F. Kamenetz, T. Tomita, H. Hsieh, G. Seabrook, D. Borchelt, T. Iwatsubo, S. Sisodia, R. Malinow, *Neuron* **2003**, *37*, 925–937.
- [34] H. Kanemitsu, T. Tomiyama, H. Mori, *Neurosci. Lett.* **2003**, *350*, 113–116.
- [35] N. Iwata, S. Tsubuki, Y. Takaki, K. Shirotani, B. Lu, N. P. Gerard, C. Gerard, E. Hama, H. J. Lee, T. C. Saido, *Science* **2001**, *292*, 1550–2.
- [36] H. W. Querfurth, F. M. LaFerla, *N. Engl. J. Med.* **2010**, *362*, 329–44.
- [37] M. Weingarten, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1975**, *72*, 1858–1862.
- [38] M. Goedert, M. G. Spillantini, R. Jakes, D. Rutherford, R. A. Crowther, *Neuron* **1989**, *3*, 519–526.
- [39] M. L. Billingsley, R. L. Kincaid, *Biochem. J.* **1997**, *323* (Pt 3, 577–91.
- [40] V. M. Lee, M. Goedert, J. Q. Trojanowski, *Annu. Rev. Neurosci.* **2001**, *24*, 1121–59.
- [41] I. Khlistunova, J. Biernat, Y. Wang, M. Pickhardt, M. von Bergen, Z. Gazova, E. Mandelkow, E.-M. Mandelkow, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 1205–14.
- [42] K. Santacruz, J. Lewis, T. Spires, J. Paulson, *Science (80-.).* **2005**, *309*, 476–481.
- [43] S. Oddo, V. Vasilevko, A. Caccamo, M. Kitazawa, D. H. Cribbs, F. M. LaFerla, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 39413–23.

- [44] C. Andorfer, Y. Kress, M. Espinoza, R. De Silva, K. L. Tucker, Y.-A. Barde, K. Duff, P. Davies, *J. Neurochem.* **2003**, *86*, 582–590.
- [45] H.-G. Lee, G. Perry, P. I. Moreira, M. R. Garrett, Q. Liu, X. Zhu, A. Takeda, A. Nunomura, M. A. Smith, *Trends Mol. Med.* **2005**, *11*, 164–9.
- [46] M. Goedert, R. Jakes, *Biochim. Biophys. Acta* **2005**, *1739*, 240–50.
- [47] T. Gómez-Isla, R. Hollister, H. West, S. Mui, J. H. Growdon, R. C. Petersen, J. E. Parisi, B. T. Hyman, *Ann. Neurol.* **1997**, *41*, 17–24.
- [48] A. K. Wallin, K. Blennow, N. Andreasen, L. Minthon, *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **2006**, *21*, 131–8.
- [49] S. Oddo, A. Caccamo, J. D. Shepherd, M. P. Murphy, T. E. Golde, R. Kaye, R. Metherate, M. P. Mattson, Y. Akbari, F. M. LaFerla, *Neuron* **2003**, *39*, 409–421.
- [50] J. Götz, F. Chen, J. van Dorpe, R. M. Nitsch, *Science* **2001**, *293*, 1491–5.
- [51] J. Lewis, D. W. Dickson, W. L. Lin, L. Chisholm, A. Corral, G. Jones, S. H. Yen, N. Sahara, L. Skipper, D. Yager, et al., *Science* **2001**, *293*, 1487–91.
- [52] E. D. Roberson, K. Scarce-Levie, J. J. Palop, F. Yan, I. H. Cheng, T. Wu, H. Gerstein, G.-Q. Yu, L. Mucke, *Science* **2007**, *316*, 750–4.
- [53] M. Rapoport, H. N. Dawson, L. I. Binder, M. P. Vitek, A. Ferreira, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 6364–9.
- [54] D. J. Selkoe, *Science* **2002**, *298*, 789–91.
- [55] S. W. Scheff, D. A. Price, F. A. Schmitt, S. T. DeKosky, E. J. Mufson, *Neurology* **2007**, *68*, 1501–8.
- [56] S. T. DeKosky, S. W. Scheff, *Ann. Neurol.* **1990**, *27*, 457–64.
- [57] R. D. Terry, E. Masliah, D. P. Salmon, N. Butters, R. DeTeresa, R. Hill, L. A. Hansen, R. Katzman, *Ann. Neurol.* **1991**, *30*, 572–80.

- [58] C. A. Davies, D. M. Mann, P. Q. Sumpter, P. O. Yates, *J. Neurol. Sci.* **1987**, *78*, 151–64.
- [59] E. Masliah, L. Crews, L. Hansen, *J. Alzheimers. Dis.* **2006**, *9*, 91–9.
- [60] J. P. Lister, C. a Barnes, *Arch. Neurol.* **2009**, *66*, 829–33.
- [61] J. Larson, G. Lynch, D. Games, P. Seubert, *Brain Res.* **1999**, *840*, 23–35.
- [62] P. F. Chapman, G. L. White, M. W. Jones, D. Cooper-Blacketer, V. J. Marshall, M. Irizarry, L. Younkin, M. A. Good, T. V Bliss, B. T. Hyman, et al., *Nat. Neurosci.* **1999**, *2*, 271–6.
- [63] G. M. Shankar, B. L. Bloodgood, M. Townsend, D. M. Walsh, D. J. Selkoe, B. L. Sabatini, *J. Neurosci.* **2007**, *27*, 2866–75.
- [64] E. M. Snyder, Y. Nong, C. G. Almeida, S. Paul, T. Moran, E. Y. Choi, A. C. Nairn, M. W. Salter, P. J. Lombroso, G. K. Gouras, et al., *Nat. Neurosci.* **2005**, *8*, 1051–8.
- [65] L. Mucke, E. Masliah, G. Q. Yu, M. Mallory, E. M. Rockenstein, G. Tatsuno, K. Hu, D. Kholodenko, K. Johnson-Wood, L. McConlogue, *J. Neurosci.* **2000**, *20*, 4050–8.
- [66] J. D. Cooper, a Salehi, J. D. Delcroix, C. L. Howe, P. V Belichenko, J. Chua-Couzens, J. F. Kilbridge, E. J. Carlson, C. J. Epstein, W. C. Mobley, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2001**, *98*, 10439–44.
- [67] M. H. Tuszynski, *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **2007**, *21*, 179–89.
- [68] M. D. Ikonomic, L. Wecker, E. E. Abrahamson, J. Wu, S. E. Counts, S. D. Ginsberg, E. J. Mufson, S. T. Dekosky, *Arch. Neurol.* **2009**, *66*, 646–51.
- [69] A. Maelicke, M. Samochocki, R. Jostock, A. Fehrenbacher, J. Ludwig, E. X. Albuquerque, M. Zerlin, *Biol. Psychiatry* **2001**, *49*, 279–288.
- [70] H.-Y. Wang, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 5626–5632.
- [71] R. M. Nitsch, *Neurodegeneration* **1996**, *5*, 477–82.

- [72] N. C. Bodick, W. W. Offen, A. I. Levey, N. R. Cutler, S. G. Gauthier, A. Satlin, H. E. Shannon, G. D. Tollefson, K. Rasmussen, F. P. Bymaster, et al., *Arch. Neurol.* **1997**, *54*, 465–473.
- [73] R. M. Nitsch, M. Deng, M. Tennis, D. Schoenfeld, J. H. Growdon, *Ann. Neurol.* **2000**, *48*, 913–8.
- [74] X. Mungarro Menchaca, *J. Neurosci. Res.* **2002**, *96*, 89–96.
- [75] S. Hauptmann, U. Keil, I. Scherping, A. Bonert, A. Eckert, W. E. Müller, *Exp. Gerontol.* **2006**, *41*, 668–73.
- [76] P. H. Reddy, M. F. Beal, *Trends Mol. Med.* **2008**, *14*, 45–53.
- [77] P. F. Good, P. Werner, A. Hsu, C. W. Olanow, D. P. Perl, *Am. J. Pathol.* **1996**, *149*, 21–8.
- [78] M. Smith, G. Richey, L. Sayre, *Nature* **1996**, *382*, 120–121.
- [79] C. Messier, K. Teutenberg, *Neural Plast.* **2005**, *12*, 311–328.
- [80] J. T. O'Brien, T. Erkinjuntti, B. Reisberg, G. Roman, T. Sawada, L. Pantoni, J. V Bowler, C. Ballard, C. DeCarli, P. B. Gorelick, et al., *Lancet Neurol.* **2003**, *2*, 89–98.
- [81] V. Hachinski, C. Iadecola, R. C. Petersen, M. M. Breteler, D. L. Nyenhuis, S. E. Black, W. J. Powers, C. DeCarli, J. G. Merino, R. N. Kalaria, et al., *Stroke* **2006**, *37*, 2220–41.
- [82] T. Wyss-Coray, L. Mucke, *Neuron* **2002**, *35*, 419–432.
- [83] A. M. Isaacs, D. B. Senn, M. Yuan, J. P. Shine, B. a Yankner, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 27916–23.
- [84] N. Pierrot, P. Ghisdal, A.-S. Caumont, J.-N. Octave, *J. Neurochem.* **2004**, *88*, 1140–1150.
- [85] F. Mangialasche, A. Solomon, B. Winblad, P. Mecocci, M. Kivipelto, *Lancet Neurol.* **2010**, *9*, 702–16.

- [86] R. T. Bartus, R. L. Dean, B. Beer, A. S. Lippa, *Science* **1982**, *217*, 408–14.
- [87] E. K. Perry, B. E. Tomlinson, G. Blessed, K. Bergmann, P. H. Gibson, R. H. Perry, *Br. Med. J.* **1978**, *2*, 1457–9.
- [88] N. R. Sims, D. M. Bowen, S. J. Allen, C. C. Smith, D. Neary, D. J. Thomas, A. N. Davison, *J. Neurochem.* **1983**, *40*, 503–9.
- [89] N. Bassil, G. T. Grossberg, *CNS Drugs* **2009**, *23*, 293–307.
- [90] T. Kosasa, Y. Kuriya, K. Matsui, Y. Yamanishi, *Eur. J. Pharmacol.* **2000**, *389*, 173–179.
- [91] B. Seltzer, *Expert Opin. Pharmacother.* **2007**, *8*, 1011–23.
- [92] B. Winblad, *Am. J. Alzheimers. Dis. Other Demen.* **2009**, *24*, 185–92.
- [93] R. Mayeux, M. Sano, *N. Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 1670–9.
- [94] R. J. Polinsky, *Clin. Ther.* **1998**, *20*, 634–647.
- [95] J. Cummings, M. Farlow, X. Meng, *Clin. Drug Investig.* **2010**, *30*, 41–49.
- [96] M. Emre, R. Bernabei, R. Blesa, R. Bullock, L. Cunha, H. Daniëls, E. Dziadulewicz, H. Förstl, L. Frölich, T. Gabryelewicz, et al., *CNS Neurosci. Ther.* **2010**, *16*, 246–53.
- [97] C. Loy, L. Schneider, **2009**.
- [98] S. Shimohama, *Biol. Pharm. Bull.* **2009**, *32*, 332–336.
- [99] B. Seltzer, *Clin. Interv. Aging* **2010**, *5*, 1–6.
- [100] R. McShane, A. Areosa Sastre, N. Minakaran, *Cochrane database Syst. Rev.* **2006**, CD003154.
- [101] S. Gauthier, Y. Wirth, H. Möbius, *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **2005**, *20*, 459–464.
- [102] A. Witt, N. Macdonald, P. Kirkpatrick, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3*, 109–10.

- [103] G. L. Wenk, C. G. Parsons, W. Danysz, *Behav. Pharmacol.* **2006**, *17*, 411–24.
- [104] W. Danysz, C. G. Parsons, *Br. J. Pharmacol.* **2012**, *167*, 324–52.
- [105] N. Bassil, P. Thaipisuttikul, G. T. Grossberg, *Expert Opin. Pharmacother.* **2010**, *11*, 1765–71.
- [106] J. L. Cummings, T. Morstorf, K. Zhong, *Alzheimers. Res. Ther.* **2014**, *6*, 37.
- [107] R. TURPIN, J. LEJEUNE, J. LAFOURCADE, M. GAUTIER, *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **1959**, *248*, 3636–8.
- [108] P. A. JACOBS, A. G. BAIKIE, W. M. COURT BROWN, J. A. STRONG, *Lancet* **1959**, *1*, 710.
- [109] M. Shin, L. M. Besser, J. E. Kucik, C. Lu, C. Siffel, A. Correa, *Pediatrics* **2009**, *124*, 1565–71.
- [110] S. E. Antonarakis, R. Lyle, E. T. Dermitzakis, A. Reymond, S. Deutsch, *Nat. Rev. Genet.* **2004**, *5*, 725–38.
- [111] W. L. Kuo, H. Tenjin, R. Segraves, D. Pinkel, M. S. Golbus, J. Gray, *Am. J. Hum. Genet.* **1991**, *49*, 112–9.
- [112] J. a Armour, C. Sismani, P. C. Patsalis, G. Cross, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 605–9.
- [113] H. Slater, D. Bruno, H. Ren, *J. Med. Genet.* **2003**, *40*, 907–913.
- [114] S. Deutsch, U. Choudhury, G. Merla, C. Howald, a Sylvan, S. E. Antonarakis, *J. Med. Genet.* **2004**, *41*, 908–15.
- [115] A. M. Snijders, N. Nowak, R. Segraves, S. Blackwood, N. Brown, J. Conroy, G. Hamilton, A. K. Hindle, B. Huey, K. Kimura, et al., *Nat. Genet.* **2001**, *29*, 263–4.
- [116] A. S. Ishkanian, C. a Malloff, S. K. Watson, R. J. DeLeeuw, B. Chi, B. P. Coe, A. Snijders, D. G. Albertson, D. Pinkel, M. a Marra, et al., *Nat. Genet.* **2004**, *36*, 299–303.

- [117] Y. Hawli, M. Nasrallah, G. El-Hajj Fuleihan, *Nat. Rev. Endocrinol.* **2009**, *5*, 327–34.
- [118] F. K. Wiseman, K. a Alford, V. L. J. Tybulewicz, E. M. C. Fisher, *Hum. Mol. Genet.* **2009**, *18*, R75–83.
- [119] D. Satgé, D. Sommelet, a Geneix, M. Nishi, P. Malet, M. Vekemans, *Am. J. Med. Genet.* **1998**, *78*, 207–16.
- [120] D. Satgé, A. J. Sasco, B. Lacour, *Int. J. Cancer* **2003**, *106*, 297–8.
- [121] D. Satgé, A. J. Sasco, A. Chompret, D. Orbach, F. Méchinaud, B. Lacour, B. Rouillet, H. Martelli, C. Bergeron, Y. Bertrand, et al., *Pediatr. Hematol. Oncol.* **n.d.**, *20*, 517–29.
- [122] D. K. H. Webb, *Br. J. Haematol.* **2005**, *131*, 3–7.
- [123] M. Watson, A. Carroll, *Blood* **1993**, *82*, 3098–3102.
- [124] T. Iwatsubo, D. M. Mann, A. Odaka, N. Suzuki, Y. Ihara, *Ann. Neurol.* **1995**, *37*, 294–9.
- [125] J. K. Teller, C. Russo, L. M. DeBusk, G. Angelini, D. Zaccheo, F. Dagna-Bricarelli, P. Scartezzini, S. Bertolini, D. M. Mann, M. Tabaton, et al., *Nat. Med.* **1996**, *2*, 93–5.
- [126] K. E. Wisniewski, A. J. Dalton, C. McLachlan, G. Y. Wen, H. M. Wisniewski, *Neurology* **1985**, *35*, 957–61.
- [127] P. D. Mehta, S. P. Mehta, B. Fedor, B. A. Patrick, M. Emmerling, A. J. Dalton, *Neurosci. Lett.* **2003**, *342*, 155–158.
- [128] A. Rovelet-Lecrux, D. Hannequin, G. Raux, N. Le Meur, A. Laquerrière, A. Vital, C. Dumanchin, S. Feuillette, A. Brice, M. Vercelletto, et al., *Nat. Genet.* **2006**, *38*, 24–6.
- [129] J. Guimerá, C. Casas, C. Pucharcòs, a Solans, a Domènech, a M. Planas, J. Ashley, M. Lovett, X. Estivill, M. a Pritchard, *Hum. Mol. Genet.* **1996**, *5*, 1305–10.
- [130] W. J. Song, L. R. Sternberg, C. Kasten-Sportès, M. L. Keuren, S. H. Chung, a C. Slack, D. E. Miller, T. W. Glover, P. W. Chiang, L. Lou, et al., *Genomics* **1996**, *38*, 331–9.

- [131] S. Cheek, K. Ginalski, H. Zhang, N. V Grishin, *BMC Struct. Biol.* **2005**, 5, 6.
- [132] J. a Ubersax, J. E. Ferrell, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2007**, 8, 530–41.
- [133] E. G. Krebs, *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, 67, xii–xxxii.
- [134] D. Walsh, J. Perkins, E. Krebs, *J. Biol. Chem.* **1968**, 243, 3763–3774.
- [135] D. Stehelin, D. J. Fujita, T. Padgett, H. E. Varmus, J. M. Bishop, *Virology* **1977**, 76, 675–84.
- [136] H. Oppermann, a D. Levinson, H. E. Varmus, L. Levintow, J. M. Bishop, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1979**, 76, 1804–8.
- [137] J. E. Smart, H. Oppermann, a P. Czernilofsky, a F. Purchio, R. L. Erikson, J. M. Bishop, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1981**, 78, 6013–7.
- [138] G. Manning, D. B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, S. Sudarsanam, *Science (80-.)*. **2002**, 298, 1912–34.
- [139] S. Kinnings, R. Jackson, *J. Chem. Inf. Model.* **2009**, 49, 318–329.
- [140] S. S. Taylor, A. P. Kornev, *Trends Biochem. Sci.* **2011**, 36, 65–77.
- [141] T. Pawson, M. Kofler, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2009**, 21, 147–53.
- [142] S. Hanks, T. Hunter, *FASEB J.* **1995**, 9, 576–596.
- [143] S. Hanks, A. Quinn, T. Hunter, *Science (80-.)*. **1988**, 241, 42–52.
- [144] S. R. Hubbard, W. T. Miller, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2007**, 19, 117–23.
- [145] D. R. Robinson, Y. M. Wu, S. F. Lin, *Oncogene* **2000**, 19, 5548–57.
- [146] J. Schlessinger, *Cell* **2000**, 103, 211–225.
- [147] R. a Lindberg, a M. Quinn, T. Hunter, *Trends Biochem. Sci.* **1992**, 17, 114–9.

- [148] N. Dhanasekaran, E. Reddy, *Oncogene* **1998**, *17*, 1447–1455.
- [149] A. P. Kornev, S. S. Taylor, *Biochim. Biophys. Acta* **2010**, *1804*, 440–4.
- [150] B. Nolen, S. Taylor, G. Ghosh, *Mol. Cell* **2004**, *15*, 661–75.
- [151] L. N. Johnson, R. J. Lewis, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2209–42.
- [152] J. Wegiel, C.-X. Gong, Y.-W. Hwang, *FEBS J.* **2011**, *278*, 236–45.
- [153] A. Ionescu, F. Dufrasne, M. Gelbcke, I. Jabin, R. Kiss, D. Lamoral-Theys, *Mini Rev. Med. Chem.* **2012**, *12*, 1315–29.
- [154] S. Aranda, A. Laguna, S. de la Luna, *FASEB J.* **2011**, *25*, 449–62.
- [155] W. Becker, Y. Weber, K. Wetzelschaefer, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 25893–25902.
- [156] F. Tejedor, X. R. Zhu, E. Kaltenbach, a Ackermann, a Baumann, I. Canal, M. Heisenberg, K. F. Fischbach, O. Pongs, *Neuron* **1995**, *14*, 287–301.
- [157] Kentrup H., *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 3488–3495.
- [158] J. Guimera, C. Casas, X. Estivill, M. Pritchard, *Genomics* **1999**, *418*, 407–418.
- [159] E. Martí, X. Altafaj, M. Dierssen, S. de la Luna, V. Fotaki, M. Alvarez, M. Pérez-Riba, I. Ferrer, X. Estivill, *Brain Res.* **2003**, *964*, 250–63.
- [160] B. Hammerle, a Carnicero, C. Elizalde, J. Ceron, S. Martinez, F. J. Tejedor, *Eur. J. Neurosci.* **2003**, *17*, 2277–2286.
- [161] B. Hämmerle, C. Elizalde, J. Galceran, W. Becker, F. J. Tejedor, *J. Neural Transm. Suppl.* **2003**, 129–37.
- [162] F. J. Tejedor, B. Hämmerle, *FEBS J.* **2011**, *278*, 223–35.
- [163] B. Hämmerle, E. Vera-Samper, S. Speicher, R. Arencibia, S. Martínez, F. J. Tejedor, *Dev. Biol.* **2002**, *246*, 259–73.

- [164] J. Wegiel, I. Kuchna, K. Nowicki, J. Frackowiak, K. Dowjat, W. P. Silverman, B. Reisberg, M. DeLeon, T. Wisniewski, T. Adayev, et al., *Brain Res.* **2004**, *1010*, 69–80.
- [165] W. K. Dowjat, T. Adayev, I. Kuchna, K. Nowicki, S. Palminiello, Y. W. Hwang, J. Wegiel, *Neurosci. Lett.* **2007**, *413*, 77–81.
- [166] J. Park, W.-J. Song, K. C. Chung, *Cell. Mol. Life Sci.* **2009**, *66*, 3235–40.
- [167] W. J. Song, S. H. Chung, D. M. Kurnit, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, *231*, 640–644.
- [168] M. Alvarez, X. Estivill, S. de la Luna, *J. Cell Sci.* **2003**, *116*, 3099–107.
- [169] J. Wegiel, K. Dowjat, W. Kaczmarek, *Acta Neuropathol.* **2008**, *116*, 391–407.
- [170] W. Becker, W. Sippl, *FEBS J.* **2011**, *278*, 246–56.
- [171] S. Himpel, P. Panzer, *Biochem. J.* **2001**, *359*, 497–505.
- [172] P. a Lochhead, G. Sibbet, N. Morrice, V. Cleghon, *Cell* **2005**, *121*, 925–36.
- [173] Y. Ogawa, Y. Nonaka, T. Goto, E. Ohnishi, T. Hiramatsu, I. Kii, M. Yoshida, T. Ikura, H. Onogi, H. Shibuya, et al., *Nat. Commun.* **2010**, *1*, 1–7.
- [174] T. Adayev, M.-C. Chen-Hwang, N. Murakami, E. Lee, D. C. Bolton, Y.-W. Hwang, *Biochemistry* **2007**, *46*, 7614–24.
- [175] S. Himpel, W. Tegge, R. Frank, S. Leder, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 2431–2438.
- [176] S. Ryoo, H. Cho, H. Lee, *J. Neurochem.* **2008**, 1333–1344.
- [177] V. Fotaki, M. Dierssen, *Mol. Cell. Biol.* **2002**, *22*, 6636–6647.
- [178] F. Guedj, P. L. Pereira, S. Najas, M.-J. Barallobre, C. Chabert, B. Souchet, C. Sebric, C. Verney, Y. Herault, M. Arbones, et al., *Neurobiol. Dis.* **2012**, *46*, 190–203.

- [179] S.-R. Ryoo, H. K. Jeong, C. Radnaabazar, J.-J. Yoo, H.-J. Cho, H.-W. Lee, I.-S. Kim, Y.-H. Cheon, Y. S. Ahn, S.-H. Chung, et al., *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 34850–7.
- [180] K.-J. Ahn, H. K. Jeong, H.-S. Choi, S.-R. Ryoo, Y. J. Kim, J.-S. Goo, S.-Y. Choi, J.-S. Han, I. Ha, W.-J. Song, *Neurobiol. Dis.* **2006**, *22*, 463–72.
- [181] I. Ferrer, M. Barrachina, B. Puig, M. Martínez de Lagrán, E. Martí, J. Avila, M. Dierssen, *Neurobiol. Dis.* **2005**, *20*, 392–400.
- [182] F. Liu, Z. Liang, J. Wegiel, Y.-W. Hwang, K. Iqbal, I. Grundke-Iqbal, N. Ramakrishna, C.-X. Gong, *FASEB J.* **2008**, *22*, 3224–33.
- [183] F. Liu, B. Li, E.-J. Tung, I. Grundke-Iqbal, K. Iqbal, C.-X. Gong, *Eur. J. Neurosci.* **2007**, *26*, 3429–36.
- [184] A. a Bielska, N. J. Zondlo, *Biochemistry* **2006**, *45*, 5527–37.
- [185] V. P. Prasher, M. J. Farrer, a M. Kessler, E. M. Fisher, R. J. West, P. C. Barber, a C. Butler, *Ann. Neurol.* **1998**, *43*, 380–3.
- [186] M. Sakono, T. Zako, *FEBS J.* **2010**, *277*, 1348–58.
- [187] R. Kimura, K. Kamino, M. Yamamoto, A. Nuripa, T. Kida, H. Kazui, R. Hashimoto, T. Tanaka, T. Kudo, H. Yamagata, et al., *Hum. Mol. Genet.* **2007**, *16*, 15–23.
- [188] B. Smith, F. Medda, V. Gokhale, T. Dunckley, C. Hulme, *ACS Chem. Neurosci.* **2012**, *3*, 857–72.
- [189] T. Adayev, J. Wegiel, Y.-W. Hwang, *Arch. Biochem. Biophys.* **2011**, *507*, 212–8.
- [190] M. Debdab, F. Carreaux, S. Renault, M. Soundararajan, O. Fedorov, P. Filippakopoulos, O. Lozach, L. Babault, T. Tahtouh, B. Baratte, et al., *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4172–86.
- [191] N. D. Kim, J. Yoon, J. H. Kim, J. T. Lee, Y. S. Chon, M.-K. Hwang, I. Ha, W.-J. Song, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3772–6.

- [192] T. Adayev, M. Chen-Hwang, N. Murakami, *Biochemistry* **2006**, *45*, 12011–12019.
- [193] F. Guedj, C. Sébrié, I. Rivals, A. Ledru, E. Paly, J. C. Bizot, D. Smith, E. Rubin, B. Gillet, M. Arbones, et al., *PLoS One* **2009**, *4*, e4606.
- [194] P. Grabher, E. Durieu, E. Kouloura, M. Halabalaki, L. a Skaltsounis, L. Meijer, M. Hamburger, O. Potterat, *Planta Med.* **2012**, *78*, 951–6.
- [195] J. Bain, H. McLauchlan, M. Elliott, P. Cohen, *Biochem. J.* **2003**, *371*, 199–204.
- [196] J. Bain, L. Plater, M. Elliott, N. Shpiro, C. J. Hastie, H. McLauchlan, I. Klevernic, J. S. C. Arthur, D. R. Alessi, P. Cohen, *Biochem. J.* **2007**, *408*, 297–315.
- [197] S. B. Bharate, R. R. Yadav, S. Battula, R. a Vishwakarma, *Mini Rev. Med. Chem.* **2012**, *12*, 618–31.
- [198] J. C. Callaway, G. S. Brito, E. S. Neves, *J. Psychoactive Drugs* **2005**, *37*, 145–50.
- [199] D. A. Balentine, S. A. Wiseman, L. C. Bouwens, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1997**, *37*, 693–704.
- [200] C. S. Yang, P. Maliakal, X. Meng, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2002**, *42*, 25–54.
- [201] Z. Hou, J. D. Lambert, K.-V. Chin, C. S. Yang, *Mutat. Res.* **2004**, *555*, 3–19.
- [202] J. D. Lambert, J. Hong, G.-Y. Yang, J. Liao, C. S. Yang, *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, *81*, 284S–291S.
- [203] J. Kanwar, M. Taskeen, I. Mohammad, C. Huo, T. H. Chan, Q. P. Dou, *Front. Biosci. (Elite Ed)*. **2012**, *4*, 111–31.
- [204] W. Ren, Z. Qiao, H. Wang, L. Zhu, L. Zhang, *Med. Res. Rev.* **2003**, *23*, 519–34.
- [205] N. Khan, F. Afaq, M. Saleem, À. Polyphenol, N. Ahmad, H. Mukhtar, *Cancer Res.* **2006**, *66*, 2500–2505.

- [206] M. Lorenz, J. Urban, U. Engelhardt, G. Baumann, K. Stangl, V. Stangl, *Basic Res. Cardiol.* **2009**, *104*, 100–10.
- [207] D. Lamoral-Theys, L. Pottier, *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17*, 812–825.
- [208] G. Chan, S. Mong, M. Hemling, *J. Nat. Prod.* **1993**, *56*, 116–121.
- [209] P. Molina, P. Almendros, P. M. Fresneda, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2235–2236.
- [210] N. Roué, J. Bergman, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 14729–14738.
- [211] J. R. Chérouvrier, J. Boissel, F. Carreaux, J. P. Bazureau, *Green Chem.* **2001**, *3*, 165–169.
- [212] J.-R. Chérouvrier, F. Carreaux, J. P. Bazureau, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3581–3584.
- [213] M. Debda, S. Renault, S. Eid, O. Lozach, L. Meijer, F. Carreaux, J.-P. Bazureau, *Heterocycles* **2009**, *78*, 1191–1203.
- [214] S. Omura, Y. Iwai, A. Hirano, *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1977**, *30*, 275–282.
- [215] U. T. Rüegg, G. M. Burgess, *Trends Pharmacol. Sci.* **1989**, *10*, 218–20.
- [216] C. Moody, K. Rahimtoola, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2105–2114.
- [217] M. Gallant, J. Link, S. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 343–349.
- [218] N. Funato, H. Takayanagi, Y. Konda, Y. Toda, Y. Harigaya, Y. Iwai, S. Ōmura, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1251–1254.
- [219] C. Sánchez, A. P. Salas, A. F. Braña, M. Palomino, A. Pineda-Lucena, R. J. Carbajo, C. Méndez, F. Moris, J. a Salas, *Chem. Commun. (Camb)*. **2009**, 4118–20.
- [220] E. H. Walker, M. E. Pacold, O. Perisic, L. Stephens, P. T. Hawkins, M. P. Wymann, R. L. Williams, *Mol. Cell* **2000**, *6*, 909–19.

- [221] M. Muraki, B. Ohkawara, T. Hosoya, H. Onogi, J. Koizumi, T. Koizumi, K. Sumi, J. Yomoda, M. V Murray, H. Kimura, et al., *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 24246–54.
- [222] L. H. Franco, E. B. Joffé, L. Puricelli, M. Tatian, a M. Seldes, J. a Palermo, *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1130–2.
- [223] A. M. Seldes, M. F. R. Brasco, L. H. Franco, J. A. Palermo, *Nat. Prod. Res.* **2007**, *21*, 555–63.
- [224] R. Akue-Gedu, E. Debiton, Y. Ferandin, L. Meijer, M. Prudhomme, F. Anizon, P. Moreau, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 4420–4.
- [225] F. Giraud, G. Alves, E. Debiton, L. Nauton, V. Théry, E. Durieu, Y. Ferandin, O. Lozach, L. Meijer, F. Anizon, et al., *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4474–89.
- [226] Y. Wang, R. A. Edrada-Ebel, N. Tsevegsuren, J. Sendker, M. Braun, V. Wray, W. Lin, P. Proksch, *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 671–675.
- [227] T. Matsumoto, S. Nakamura, *J. Nat. ...* **2014**.
- [228] G. G.-L. Yue, K.-M. Chan, M.-H. To, L. Cheng, K.-P. Fung, P.-C. Leung, C. B.-S. Lau, *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 1074–7.
- [229] H.-Y. Yu, Z.-Y. Chen, B. Sun, J. Liu, F.-Y. Meng, Y. Liu, T. Tian, A. Jin, H.-L. Ruan, *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 1311–20.
- [230] P. R. V Campana, C. M. Coleman, M. M. Teixeira, D. Ferreira, F. C. Braga, *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 824–30.
- [231] S. Reagan-Shaw, F. Afaq, M. H. Aziz, N. Ahmad, *Oncogene* **2004**, *23*, 5151–60.
- [232] M. Aziz, F. Afaq, N. Ahmad, *Photochem. Photobiol.* **2005**, *81*, 25–31.
- [233] M. Jang, L. Cai, G. Udeani, K. Slowing, *Science (80-)*. **1997**, *275*, 1995–1997.
- [234] K. Subbaramaiah, W. J. Chung, P. Michaluart, N. Telang, T. Tanabe, H. Inoue, M. Jang, J. M. Pezzuto, a. J. Dannenberg, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 21875–21882.

- [235] M. Aziz, R. Kumar, N. Ahmad, *Int. J. Oncol.* **2003**, *23*, 17–28.
- [236] H. Wang, H. Zhang, L. Tang, H. Chen, C. Wu, M. Zhao, Y. Yang, X. Chen, G. Liu, *Toxicology* **2013**, *303*, 139–46.
- [237] Y.-J. Lee, Y.-J. Lee, J.-H. Im, S. Y. Won, Y.-B. Kim, M.-K. Cho, H.-S. Nam, Y.-J. Choi, S.-H. Lee, *Food Chem. Toxicol.* **2013**, *52*, 61–8.
- [238] L. Zhang, S. Yu, R. Zhang, Y. Xing, Y. Li, L. Li, *Restor. Neurol. Neurosci.* **2013**, *31*, 41–52.
- [239] S. Charoenrungruang, P. Chanvorachote, B. Sritularak, V. Pongrakhananon, *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 1359–66.
- [240] F. W.-K. Cheung, A. W.-N. Leung, W. K. Liu, C.-T. Che, *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 1270–4.
- [241] A. Shirali, M. Sriram, J. J. Hall, B. L. Nguyen, R. Guddneppanavar, M. B. Hadimani, J. F. Ackley, R. Siles, C. J. Jelinek, P. Arthasery, et al., *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 414–21.
- [242] M. Cushman, D. Nagarathnam, D. Gopal, a K. Chakraborti, C. M. Lin, E. Hamel, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2579–88.
- [243] A. Delgado, J. Clardy, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2862–2866.
- [244] R. Ronald, J. Lansinger, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2541–2549.
- [245] M.-L. Goddard, R. Tabacchi, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 909–911.
- [246] Y. Hu, C. Li, B. a Kulkarni, G. Strobel, E. Lobkovsky, R. M. Torczynski, J. a Porco, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1649–52.
- [247] C. Li, R. Johnson, J. Porco, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5095–5106.
- [248] K. Hayashi, A. Yamazoe, Y. Ishibashi, N. Kusaka, Y. Oono, H. Nozaki, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5331–44.

- [249] G. R. Pettit, M. P. Grealish, M. K. Jung, E. Hamel, R. K. Pettit, J.-C. Chapuis, J. M. Schmidt, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2534–42.
- [250] C. Li, E. Lobkovsky, J. Porco, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10484–10485.
- [251] M. Chalal, D. Vervandier-Fasseur, P. Meunier, H. Cattey, J.-C. Hierso, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 3899–3907.
- [252] F. Mu, E. Hamel, D. J. Lee, D. E. Pryor, M. Cushman, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1670–82.
- [253] M. Kajjout, C. Rolando, *Tetrahedron* **2011**, *67*, DOI 10.1016/j.tet.2011.03.110.
- [254] G. R. Pettit, S. B. Singh, M. R. Boyd, E. Hamel, R. K. Pettit, J. M. Schmidt, F. Hogan, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1666–1672.
- [255] G. R. Pettit, C. Temple, V. L. Narayanan, R. Varma, M. J. Simpson, M. R. Boyd, G. A. Renner, N. Bansal, *Anticancer. Drug Des.* **1995**, *10*, 299–309.
- [256] V. Lisowski, C. Enguehard, J. C. Lancelot, D. H. Caignard, S. Lambel, S. Leonce, A. Pierre, G. Atassi, P. Renard, S. Rault, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2205–2208.
- [257] R. Shintani, K. Takatsu, T. Hayashi, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1191–1193.
- [258] K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 4467–4470.
- [259] A. Fkyerat, G. M. Dubin, R. Tabacchi, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1418–1422.
- [260] A. Camacho-Davila, L. S. R. Gamage, Z. Wang, J. W. Herndon, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 4954–4960.
- [261] N. Zhou, L. Wang, D. W. Thompson, Y. Zhao, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 125–143.
- [262] M. Pinault, Y. Frangin, J. Genet, H. Zamarlik, *Synthesis (Stuttg.)* **1990**, *10*, 935–937.
- [263] Q. Li, A. Rukavishnikov, *J. Org. Chem.* **2003**, 4862–4869.

- [264] E. C. Y. Woon, A. Dhami, M. F. Mahon, M. D. Threadgill, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 4829–4837.
- [265] M. Kutscheroff, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1881**, *14*, 1540–1542.
- [266] R. R. Vogt, J. A. Nieuwland, *J. Am. Chem. Soc.* **1921**, *43*, 2071–2081.
- [267] L. Hintermann, A. Labonne, *Synthesis (Stuttg.)* **2007**, *2007*, 1121–1150.
- [268] M. E. Jung, N. Nishimura, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2113–5.
- [269] M. Nishizawa, M. Skwarczynski, H. Imagawa, T. Sugihara, *Chem. Lett.* **2002**, 12–12.
- [270] M. Nishizawa, T. Takemoto, I. Sasaki, M. Nakano, E. Ho, K. Namba, H. Yamamoto, H. Imagawa, *Synlett* **2009**, *2009*, 1175–1179.
- [271] M. Nishizawa, H. Takenaka, Y. Hayashi, *Chem. Lett.* **1983**, 1459–1460.
- [272] M. Nishizawa, H. Takenaka, H. Nishide, Y. Hayashi, *Tetrahedron Lett.* **1983**, 2581–2584.
- [273] M. Nishizawa, H. Takenaka, Y. Hayashi, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 437–440.
- [274] M. Nishizawa, H. Imagawa, H. Yamamoto, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 511–21.
- [275] J. Baldwin, G. Haraldsson, *Acta Chem. Scand.* **1986**, *B 40*, 400–401.
- [276] G. Haraldsson, J. Baldwin, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 215–224.
- [277] F. Macias, D. Chinchilla, J. Molinillo, F. Fronczek, K. Shishido, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 5502–5508.
- [278] M. Butters, J. Ebbs, S. P. Green, J. MacRae, M. C. Morland, C. W. Murtiashaw, A. J. Pettman, *Org. Process Res. Dev.* **2001**, *5*, 28–36.
- [279] J. Bloomer, K. Stagliano, *J. Org. Chem.* **1993**, *41*, 7906–7912.
- [280] X. Lei, J. a Porco, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14790–1.

- [281] X. Yang, B. Fu, B. Yu, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12433–5.
- [282] S. Takemura, A. Hirayama, J. Tokunaga, F. Kawamura, K. Inagaki, K. Hashimoto, M. Nakata, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7501–7505.
- [283] J. Cherian, I. Choi, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5639–5659.
- [284] A. Smith, J. Barbosa, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *7863*, 8316–8328.
- [285] R. M. Kevitch, C. S. Shanahan, D. V. McGrath, *New J. Chem.* **2012**, *36*, 492.
- [286] W. Zhao, J. Sun, H. Xiang, Y. Zeng, X. Li, H. Xiao, D. Chen, R. Ma, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 3192–203.
- [287] K. Watanabe, Y. Iwata, S. Adachi, T. Nishikawa, Y. Yoshida, S. Kameda, M. Ide, Y. Saikawa, M. Nakata, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 5573–9.
- [288] W. R. Roush, R. J. Neitz, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4906–12.

Crédits Photos

(†¹) Images from the History of Medicine (NLM).

Titre de l'image : Alois Alzheimer (Avant 1915) - Type [PHOTO].

Dans Wikipedia, disponible sur :

http://pl.wikipedia.org/wiki/Alois_Alzheimer#mediaviewer/File:Alois_Alzheimer_002.jpg

(†²) Domaine Public.

Titre de l'image : Auguste Deter (Avant 1909) - Type [PHOTO].

Dans Wikipedia, disponible sur :

http://fr.wikipedia.org/wiki/Alois_Alzheimer#mediaviewer/File:Auguste_D_aus_Marktbreit.jpg

(†³) "In Memory Of Edouard Seguin, M.D." in *Proceedings of the Association of Medical Officers of American Institutions for Idiotic and Feeble-Minded Persons*, Domaine Public.

Titre de l'image : Edouard Seguin (1880) - Type [PHOTO].

Dans Wikipedia, disponible sur :

http://fr.wikipedia.org/wiki/%C3%89douard_S%C3%A9guin#mediaviewer/File:Edouard_Seguin.jpg

(†⁴) Psyency

Titre de l'image : John Langdon Down - Type [PHOTO].

Sur psyency.com, disponible sur :

http://psyency.com/wp-content/uploads/John_Langdon_Down-e1321467410296.jpg

(†⁵) Association Trisomie21 Alsace

Titre de l'image : Caryotype - Type [PHOTO].

Sur www.trisomie21alsace.fr, disponible sur :

<http://www.trisomie21alsace.fr/trisomie21/les-differentes-formes-de-trisomie-21/>

(†⁶) Auteur : Lazaregagnidze.

Titre : Sakhadagiano – Peganum Harmala (27 Janvier 2014) - Type [PHOTO].

Dans Wikipedia, disponible sur :

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Peganum_harmala_Harmel_Wild_Rue_%E1%83%9B%E1%83%90%E1%83%A0%E1%83%98%E1%83%90%E1%83%9B%E1%83%A1%E1%83%90%E1%83%99%E1%83%9B%E1%83%94%E1%83%9A%E1%83%90.JPG

(†⁷) Auteur : Lou Gold

Titre : IMG_0918 (7 Octobre 2011) - Type [PHOTO].

Sur Flickr, disponible sur :

<http://www.flickr.com/photos/visionshare/6308507181/in/photostream/>

(†⁸) Auteur : Vikramjit Kakati

Titre : Tea Plant (4 Decembre 2012) - Type [PHOTO].

Dans Wikipedia, disponible sur :

http://pam.wikipedia.org/wiki/Camellia_sinensis

(†⁹) Auteur : Biocode MINV Team

Titre : *Leucetta microraphis* (2011) - Type [PHOTO].

Sur calphotos.berkeley.edu, disponible sur :

http://calphotos.berkeley.edu/cgi/img_query?enlarge=4444+4444+0211+0875

(†¹⁰) Auteur : David Berd

Titre : *Streptomyces* (1972) - Type [PHOTO].

Dans Wikipedia, disponible sur :

http://fr.wikipedia.org/wiki/Streptomyces#mediaviewer/File:Streptomyces_sp_01.png

(†¹¹) Auteur : H. Zell

Titre : Scorzonera hispanica 002 (22 Mai 2009) - Type [PHOTO].

Dans Wikipedia, disponible sur :

http://fr.wikipedia.org/wiki/Scorzonera_hispanica#mediaviewer/File:Scorzonera_hispanica_002.JPG

(†¹²) Auteur : *Галина Чуланова*

Titre : Scorzonera radiata (30 Juillet 2007) - Type [PHOTO].

Sur www.plantarium.ru, disponible sur :

<http://www.plantarium.ru/page/image/id/74173.html>

Titre de la thèse :

Synthèse totale et évaluation biologique d'un inhibiteur d'origine naturelle de la kinase DYRK1A.

Résumé : Les travaux de la thèse se sont articulés autour de la synthèse totale d'un composé naturel isolé à partir de la plante *Scorzonera radiata*, la RCZ. Lors d'un criblage sur un panel de kinases, dont la kinase DYRK1A, les résultats ont montré la très grande sélectivité de ce composé avec une action d'inhibition sur DYRK1A ($IC_{50} = 220$ nM). De nombreuses études disponibles dans la littérature ont établi le lien entre la dérégulation de la protéine DYRK1A avec le syndrome de Down (trisomie 21) et certaines maladies neurodégénératives tel que la maladie d'Alzheimer. En vue de l'obtention de ce composé prometteur présentant un squelette dihydrostilbène porteur d'une fonction cétone et d'un groupement osidique. Trois voies d'approche ont été successivement mises en œuvre. Le groupement cétone est construit par le biais d'une réaction de Sonogashira suivit par une hydratation en présence d'un sel mercurique. La réaction de Wittig permet l'assemblage du squelette stilbène. Lors de la première approche, un isomère de position du composé final avec un pouvoir inhibiteur divisé par dix par rapport à RCZ a été obtenu. L'utilisation de différents groupements protecteurs a permis l'obtention du composé final RCZ en seulement 15 étapes. Ce travail ouvre de nouvelles perspectives dans le développement d'analogues par des pharmacomodulations en se basant sur les informations fournies par le co-cristal de RCZ avec la protéine DYRK2.

Mots clefs : Kinase, DYRK1A, composé naturel, dihydrostilbène, trisomie 21, Alzheimer

Title :

Total synthesis and biological evaluation of natural inhibitor of DYRK1A kinase.

Summary : This thesis focuses on the synthesis of RCZ, a natural compound isolated from the plant *Scorzonera radiata*. During a high-throughput screening, this compound has demonstrated, on a large panel of kinases, a high and unusual degree of selectivity against the kinase DYRK1A. On a structural point of view, the compound is a glycosylated dihydrostilbene, which also bears two phenols and an acetyl group. Recently, a link between the deregulation of the kinase DYRK1A with Down syndrome and some neurodegenerative diseases such as Alzheimer disease has been established. In order to perform the synthesis of this compound, three approaches were undertaken. In these approaches, the acetyl group was built through a Sonogashira coupling followed by a mercury salt catalyzed hydration of the acetylenic group. Also, the stilbene scaffold was always obtained by Wittig condensation. In the first approach, an isomer was obtained with approximately a ten times less potent inhibitory activity against DYRK1A than RCZ. By the use of different protective groups the final compound RCZ was successfully obtained. In conclusion, a total and efficient synthesis of RCZ has been constructed in 15 steps. This work opens future perspective in the design of new inhibitors based on the determination of the crystal structure of the RCZ-DYRK2 complex.

Keywords : Kinase, DYRK1A, natural compound, dihydrostilbene, Down syndrome, Alzheimer

Adresse mail : rmn.lcs@gmail.com