



HAL
open science

Conception, synthèse et évaluation d'agents perturbateurs vasculaires pour le traitement de l'arthrose et des douleurs arthrosiques

Vassili Prudhomme

► **To cite this version:**

Vassili Prudhomme. Conception, synthèse et évaluation d'agents perturbateurs vasculaires pour le traitement de l'arthrose et des douleurs arthrosiques. Chimie organique. Université Clermont Auvergne, 2021. Français. NNT : 2021UCFAC031 . tel-03594947

HAL Id: tel-03594947

<https://theses.hal.science/tel-03594947>

Submitted on 3 Mar 2022

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 CLERMONT AUVERGNE
ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES

THESE

présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité : Chimie Organique

Par **Vassili PRUDHOMME**

Ingénieur chimiste diplômé de l'école SIGMA Clermont.

Diplômé du Master « Synthèse Organique et Biocatalyse » de l'Université Clermont Auvergne.

**CONCEPTION, SYNTHÈSE ET EVALUATION D'AGENTS PERTURBATEURS VASCULAIRES
POUR LE TRAITEMENT DE L'ARTHROSE ET DES DOULEURS ARTHROSIQUES.**

Soutenue publiquement le 14 juin 2021 devant la commission d'examen.

Présidente : Pr Fabienne DUMOULIN

Pr Fabienne DUMOULIN	Rapportrice	Acibadem Mehmet Ali Aydınlar University (Turquie)
Pr Patricia MELNYK	Rapportrice	Université de Lille
Pr Abdallah HAMZE	Rapporteur	Université Paris-Saclay
Dr Christophe MALLET	Examineur	Université Clermont Auvergne
Dr Clément MICHELIN	Co-encadrant	Clermont Auvergne INP – SIGMA Clermont
Pr Sylvie DUCKI	Directrice	Clermont Auvergne INP – SIGMA Clermont

A mon père.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le professeur Fabienne DUMOULIN, le professeur Patricia MELNYK et le professeur Abdallah HAMZE pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je remercie infiniment ma directrice de thèse, le professeur Sylvie DUCKI, pour son encadrement durant ces trois années de thèse. Vous m'avez beaucoup apporté tant sur le plan scientifique que personnel. Nous nous entendons à merveille, et j'entends bien garder contact !

Un énorme merci à mon co-encadrant, le docteur Clément MICHELIN. Même si tu ne remplissais pas toujours les pissettes au labo et que tu as fait de moi un esclave à découper les CCM, tous les moments passés à résoudre ou tenter de résoudre des problèmes de physique subatomique et de maths me manquent déjà. En revanche, un peu de respect pour Beethoven ne serait pas de trop.

Je remercie chaleureusement mon ancien co-encadrant, le docteur Khalil BENNIS, parti à la retraite en 2018. Même si j'ai été votre doctorant seulement un bref instant, vous m'avez beaucoup apporté, notamment en RMN grâce à votre obsession pour l'acétate d'éthyle !

Un très grand merci au docteur Aurore COLLIN, au docteur Christophe MALLET, à Mathilde FERAYROLLES et à Sylvain LAMOINE ainsi que l'ensemble de l'équipe NEURODOL pour tout ce qu'ils m'ont apporté durant mes quatre mois en tant que biologiste. Grâce à leur formation de culture cellulaire, réaliser moi-même les tests *in vitro* fut une expérience inattendue et enrichissante.

Merci également à Francis GIRAUD, mon parrain de thèse. Je n'ai jamais eu besoin de venir pleurer dans ton bureau, mais nous nous sommes souvent piqués mutuellement des produits !

Je remercie également Anne-Sophie BIESSE-MARTIN et Martin LEREMBOURE pour leur gestion des services de RMN et de MS, ainsi que pour leurs nombreux conseils.

Merci également aux autres permanents de l'étage, sans qui le CESMA ne serait pas le CESMA ! Isabelle THOMAS, tu demeureras toujours la reine Cersei. Isabelle RIPOCHE, madame Zaza, tu peux me confier Cacahuète quand tu veux. Monsieur le professeur vénéré Pierre CHALARD, un petit Bordeaux blanc ? Elodie JAGU, dès que tu es là, on parle de trucs sales. Yves TROIN, tu demeures à mes yeux un SciFinder sur pattes.

Merci à Anagha SABU et Clément MAYNAND pour leur travail et leur sérieux. J'espère vous avoir apporté le goût de la recherche et quelques connaissances lors de votre stage. J'ai été ravi de vous encadrer au labo, même si vous cassiez de la verrerie çà et là.

Un grand merci à mes collègues de travail, qui sont en fait mes amis. Mama, je t'adore fort fort mais bosse ta clé de fa stp. Lolotte, tu es ultra douée en pâtisserie, mais aussi en sabotage, ce qui fait de toi une véritable Lolounette. Bière, je t'attends de pied ferme pour aller acheter des plantes LUUUUUUUNDIII MATIIIIIIIN. Nour, je suis sûr que tu me suivras sur un coca. Dum-dum, tu es un gros beauf mais je t'adore. Jeaaaaaaaaaaaaanne, elle est où Jeaaaaaaaaanne ? Lulu, par pitié n'utilise plus la flash. Robin, j'adore tes pancakes et tes macarons, un p'tit café ? Guigui, il faudrait peut-être songer à faire de la vraie chimie ? El Mahdi, bravo. Nico, tu l'as mis où le seau de PCL ? Titi, attends au moins que je termine mon verre avant de le reemplir. Alexia, il paraît que tu as des conditions de Buchwald ?

Merci à mon merveilleux conjoint Tristan d'être à mes côtés au quotidien, dans les bons comme les mauvais moments. Et mets ton manteau, après la soutenance on va chez Biblib.

Merci à ma famille pour leur soutien infaillible. Papa, tu me manques. Maman, je t'ai pris des œufs pour ce midi. Zouzou, envie de Un Dos Tres avec toi. Ju, on sait tous les deux que le jazz est un prétexte pour justifier les fausses notes. Popo, je suis ravi que l'on partage la même passion pour les bougies parfumées. Gogo ma petite nièce et Lulu mon petit neveu, passer du temps avec vous est toujours un moment de joie.

Merci à mes deux loulous, Anissa et Mathieu, pour les fou-rires, les soirées raclette, les randos, les bons moments, leur soutien dans les moments difficiles. Je vous aime fort.

Merci à ma ptite chattoune Claire pour son amitié et sa folie. On a toujours besoin d'une folle dans sa vie, et celle-là est très très folle, je vous la conseille.

A mes deux petits monstres à longues oreilles, Poupoune et Patapon, merci pour les câlins mais pas pour les attaques contre le papier peint. Cela dit, restez comme vous êtes, c'est-à-dire mignons et continuellement affamés.

Je remercie tout particulièrement Daenerys du Typhon de la maison TARGARYEN, première du nom, reine légitime des Andals et des Premiers Hommes, suzeraine des Sept Couronnes et Protectrice du Royaume, Dame de Peyredragon, reine de Meereen, Khaleesi de la Grande Mer Herbeuse, l'Imbrûlée, Briseuse de Chaînes et Mère des dragons, qui peut compter sur ma loyauté inconditionnelle. De toute façon, tout le monde sait que les habitants de Port-Réal méritaient de cramer.

Merci à mes sponsors non officiels : Kinder, Nutella et Milka. Ou plutôt, c'est vous qui devriez me remercier.

Merci également à Amphi Snack du boulevard Lafayette qui nous a fournis en kebabs tous les vendredi midi, ainsi que CroustiPain pour m'avoir maintenu en vie avec leurs croque-monsieur.

Merci à mes deux idoles, Beethoven et Schubert. Je vous aurais bien invités à ma soutenance, mais j'avais peur que vous ne compreniez rien à cause de la barrière de la langue.

Merci à tous.

Table des matières

TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	8
ABREVIATIONS	16
AVANT-PROPOS.....	18
CHAPITRE 1. INTRODUCTION	19
I. L'arthrose	20
I.1. Définition et chiffres-clés	20
I.2. Conséquences de l'arthrose.....	21
II. Les traitements contre l'arthrose.....	23
II.1. Traitements médicamenteux.....	23
II.2. Traitements non médicamenteux.....	27
II.3. Autres thérapies.....	30
III. L'angiogenèse ostéochondrale : une nouvelle cible contre l'arthrose	31
III.1. L'angiogenèse	31
III.2. Angiogenèse et arthrose.....	32
III.3. Les stratégies anti-angiogéniques.....	33
IV. Les agents perturbateurs vasculaires (VDAs)	35
IV.1. La tubuline	35
IV.2. Interaction des VDAs avec la tubuline	39
IV.3. Sélectivité des VDAs pour l'angiogenèse pathologique.....	40
IV.4. Quelques exemples de VDAs	41
V. Objectifs du projet et démarche scientifique	42
V.1. Travaux antérieurs réalisés au laboratoire	42
V.2. Démarche scientifique	43
CHAPITRE 2. RESULTATS ET DISCUSSION	47
I. Série indoles	48
I.1. Conception de la série indoles	48
I.2. Synthèse de la série indoles	48
I.3. Evaluation de la série indoles.....	56
II. Série hybrides	59
II.1. Stratégie d'hybridation – bibliographie	59
II.2. Conception de la série hybrides.....	60
II.3. Synthèse de la série hybrides.....	63
II.4. Evaluation de la série hybrides	98

III. Vectorisation des VDAs	101
III.1. Contraintes pharmacocinétiques	101
III.2. Stratégie de vectorisation - bibliographie.....	102
III.3. Utilisation d'ammoniums quaternaires dans le cadre de l'approche VDA	103
III.4. Preuve de concept	105
III.5. Evaluation de la série chalcones	108
III.6. Vectorisation de l'hybride Hy6.....	110
IV. Optimisation et exemplification d'une réaction de cyclisation d'un acide cinnamique en 3-phénylcoumarine assistée par le cuivre.....	113
IV.1. Les coumarines - bibliographie	113
IV.2. Optimisation de la cyclisation d'acides cinnamiques en coumarines.....	119
IV.3. Conclusion.....	124
CHAPITRE 3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	127
I. Conclusion	128
II. Perspectives.....	131
II.1. Développement d'un hybride E7010-combretafurane.....	131
II.2. Développement d'un protocole d'évaluation <i>in vivo</i>	137
CHAPITRE 4. PARTIE EXPERIMENTALE	139
I. Materials and methods	140
I.1. Reagents and solvents	140
I.2. Reactions control	140
I.3. Purifications	140
I.4. Structural analyses.....	140
II. General procedures.....	142
II.1. Chemistry	142
II.2. Biology.....	145
III. Indoles series	147
IV. Hybrids series	157
V. Quaternary ammoniums series	185
VI. Hybrid E7010-combretafuran	192
CHAPITRE 5. BIBLIOGRAPHIE	197

Table des illustrations

Figure 1 : Evolution dans le temps d'une articulation arthrosique – articulation saine (gauche), articulation atteinte d'un début d'arthrose (centre), arthrose avancée (droite)	20
Figure 2 : Impact de l'inflammation de l'articulation sur le cartilage : articulation non inflammée (gauche) et articulation inflammée (droite).....	20
Figure 3 : Evolution du coût direct de l'arthrose entre 1993 et 2010.....	22
Figure 4 : Structure d'antidouleurs de palier I	23
Figure 5 : Structure d'antidouleurs de palier II	24
Figure 6 : Structure d'antidouleurs de palier III	24
Figure 7 : Structure d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	25
Figure 8 : Structure d'anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	25
Figure 9 : Structure de la diacérhéine	26
Figure 10 : Structure des sulfates de chondroïtine et de glucosamine.....	27
Figure 11 : Mécanisme de l'angiogenèse – A : activation des cellules endothéliales, B : désolidarisation des cellules endothéliales et protéolyse de la lame basale, C : migration des cellules endothéliales (formation d'un bourgeon capillaire), D : maturation du bourgeon, reconstitution de la lame basale et anastomose	31
Figure 12 : Origine de l'angiogenèse ostéochondrale.....	32
Figure 13 : Mode d'action des AIAs.....	33
Figure 14 : Structure de l'hétérodimère de la tubuline $\alpha\beta$ (PDB 1SA0)	35
Figure 15 : Structure d'un microtubule	35
Figure 16 : Polymérisation de la tubuline en microtubules	36
Figure 17 : Cycle cellulaire.....	37
Figure 18 : Sites de liaison avec la tubuline (PDB 1SA0, 5J2T, 4TV8, 5LA6, 7ALR, 1JFF, 4O4H)	38
Figure 19 : Action des VDAs sur la polymérisation de la tubuline	39
Figure 20 : Perméabilisation des capillaires sanguins à la suite du changement de forme des cellules endothéliales	39
Figure 21 : Différences structurelles entre un vaisseau sanguin mature (gauche) et un capillaire sanguin (droite).....	40
Figure 22 : Structure de quelques VDAs issus de la littérature	41
Figure 23 : Conception d'analogues de E7010	42
Figure 24 : Structure de l'indole B1	42
Figure 25 : Transformation du MTT par la SDH.....	44
Figure 26 : Etapes du test d'inhibition de la migration cellulaire.....	45
Figure 27 : Série indoles	48
Figure 28 : Influence de la nature du substituant du pyrole sur l'angle généré par la liaison N-X et le plan du cycle.....	51
Figure 29 : Structure des références B1 , E7010, CA4 et des cibles In1 , In2 , In3	56
Figure 30 : Stratégies d'hybridation	59
Figure 31 : Stratégie d'hybridation - exemple de la littérature.....	60
Figure 32 : Structure des complexes tubuline-E7010 (PDB 3HKC) et tubuline-CA4 (PDB 5LYJ).....	60
Figure 33 : Superposition de E7010 (bleu, PDB 3HKC) et de la CA4 (jaune, PDB 5LYJ) avec conservation de leur orientation spatiale au sein du site de la colchicine	61

Figure 34 : Superposition de E7010 (bleu, PDB 3HKC) et de la CA4 (jaune, PDB 5LYJ) au sein du site de la colchicine et interactions avec les résidus	61
Figure 35 : Interactions E7010-tubuline (à gauche) et CA4-tubuline (à droite).....	62
Figure 36 : Série hybrides.....	62
Figure 37 : Structure générale des cibles de la série hybrides.....	63
Figure 38 : Corrélations NOESY entre les hydrogènes H _a et H _b du diastéréoisomère Z (R = Br)	71
Figure 39 : Corrélations NOESY entre les hydrogènes H _a et H _b du diastéréoisomère Z (R = NO ₂)	71
Figure 40 : Influence de la gêne stérique sur la configuration de l'acide cinnamique.....	72
Figure 41 : Structure de la quinolinone 30	73
Figure 42 : Structure des hybrides Hy4 et Hy4'	84
Figure 43 : Structure des références E7010, CA4 et des cibles Hy1 , Hy2 , Hy3' , Hy4' , Hy5	99
Figure 44 : Structure du ⁷⁵ Se BISTAES	102
Figure 45 : Structure de la D-glucosamine et des D-glucosamines vectorisées.....	102
Figure 46 : Structure de l'agrécan	102
Figure 47 : Exemples d'espaceurs	104
Figure 48 : Structure de la chalcone SD400	105
Figure 49 : Structure des chalcones CF-66 et CF-75	106
Figure 50 : Structure des chalcones SD400, CF-66 , Ch1 et Ch2	106
Figure 51 : Structure des références E7010, CA4 et des chalcones CF-66 , CF-75 , Ch1 , Ch2	108
Figure 52 : Structure des hybrides Hy5 , Hy5' et Hy6	111
Figure 53 : Structure de la coumarine.....	113
Figure 54 : Structure de la warfarine sodique.....	114
Figure 55 : Antioxydant coumarinique conçu par Sreekanth THOTA	114
Figure 56 : Antioxydants coumariniques conçus par Moustafa GOUDA.....	114
Figure 57 : Anti-inflammatoire coumarinique conçu par Chun-Mao LIN.....	114
Figure 58 : Anti-inflammatoires coumariniques conçus par Wenshen PU	115
Figure 59 : Antimicrobien coumarinique conçu par Vinata MULWAD.....	115
Figure 60 : Antimicrobien coumarinique conçu par Nermien SABRY	115
Figure 61 : Antituberculeux coumarinique conçu par Atul MANVAR	115
Figure 62 : Antituberculeux coumariniques conçus par Violina ANGELOVA	116
Figure 63 : Anti-VIH coumarinique conçu par Dharmesh MAHAJAN	116
Figure 64 : Anti-VIH coumariniques conçus par Temitope OLOMOLA.....	116
Figure 65 : Anticancéreux coumarinique conçu par Kamilia AMIN.....	117
Figure 66 : Anticancéreux coumarinique conçu par Ramin MIRI	117
Figure 67 : Acides cinnamiques substitués par divers groupements électrodonneurs et électroattracteurs.....	119
Figure 68 : Structure des cibles In1 , In2 , In3 (série indoles) et Hy1 , Hy2 , Hy3' , Hy4' , Hy5 (série hybrides)	129
Figure 69 : Structure de la CA4 et de son analogue 1,2,3-thiadiazole développé par Maojiang WU .	131
Figure 70 : Structure du combretafurane	131
Figure 71 : Structure de l'hybride Hy7	132
Figure 72 : Structure de la furandione 59	136

Schéma 1 : Synthèse optimisée de l'indole de référence B1	48
Schéma 2 : Approche rétrosynthétique des indoles In1 , In2 et In3	49
Schéma 3 : Bromation de l'indole	49
Schéma 4 : Bromation de l'indole protégé.....	50
Schéma 5 : Influence du groupement Boc sur la réactivité de la position 3 de l'indole	50
Schéma 6 : Réactivité de la position 3 de l'indole en fonction de la nature du groupement lié à l'atome d'azote.....	51
Schéma 7 : Couplage de Suzuki entre le bromoindole 3 et l'acide (4-hydroxyphényl)boronique	51
Schéma 8 : Déprotection de l'indole 4	52
Schéma 9 : Amidation et bromation de l'indole	52
Schéma 10 : Déprotection, amidation de l'indole 3 et couplage de Suzuki avec l'acide (4-hydroxyphényl)boronique	53
Schéma 11 : Approche rétrosynthétique révisée de l'indole In2	53
Schéma 12 : Etapes-clé de la synthèse de la cible In2	53
Schéma 13 : Synthèse de la cible In2	54
Schéma 14 : Etapes-clé de la synthèse de In3	54
Schéma 15 : Synthèse de la cible In3	55
Schéma 16 : Méthodes de synthèse de diphenylamines	64
Schéma 17 : Méthodes de synthèse de N-phénylbenzamides	64
Schéma 18 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy1	65
Schéma 19 : Synthèse de la cible Hy1	65
Schéma 20 : Synthèse révisée de la cible Hy1	66
Schéma 21 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy2	67
Schéma 22 : Synthèse de la cible Hy2	67
Schéma 23 : Approche rétrosynthétique révisée de l'hybride Hy2	67
Schéma 24 : Synthèse révisée de la cible Hy2	68
Schéma 25 : Décomposition du couplage peptidique en présence de HBTU	68
Schéma 26 : Déprotection de la fonction phénol de l'intermédiaire 22	69
Schéma 27 : Méthodes de synthèse d'acides cinnamiques	69
Schéma 28 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy3	70
Schéma 29 : Aldolisation-crotonisation entre des dérivés du benzaldéhyde et l'acide 4-méthoxyphénylacétique	70
Schéma 30 : Approche rétrosynthétique révisée de l'hybride Hy3	72
Schéma 31 : Synthèse de l'aldéhyde 25	72
Schéma 32 : Aldolisation-crotonisation entre l'aldéhyde 25 et divers esters de l'acide 4-méthoxyphénylacétique	73
Schéma 33 : Mécanisme supposé de la formation de la quinolinone 30	74
Schéma 34 : Synthèse de quinolinones catalysée au palladium décrite par Peter J. MANLEY	74
Schéma 35 : Influence de la configuration de l'ester cinnamique sur la cyclisation.....	74
Schéma 36 : hybride E7010-7j.....	75
Schéma 37 : Déprotection de la fonction phénol de l'intermédiaire 30	75
Schéma 38 : Addition catalytique de dioxyde de carbone sur un alcyne.....	75
Schéma 39 : Exemples de synthèse d'alcènes Z.....	76
Schéma 40 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy4 selon une réduction de Lindlar.....	76

Schéma 41 : Couplage de Sonogashira entre la 2-bromoaniline et le (4-méthoxyphényl)acétylène suivi d'un couplage de Buchwald-Hartwig	77
Schéma 42 : réduction de l'alcyne 32	78
Schéma 43 : Réduction de l'alcyne 31 suivie d'un couplage de Buchwald-Hartwig	79
Schéma 44 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy4 selon une réaction de Wittig	80
Schéma 45 : Synthèse du sel de phosphonium 35	80
Schéma 46 : Influence de la nature du contre-ion de la base sur la stéréosélectivité d'une réaction de Wittig.....	81
Schéma 47 : Mécanisme de la réaction de Wittig en l'absence d'ions lithium - exemple d'un ylure non stabilisé.....	81
Schéma 48 : Mécanisme de la réaction de Wittig-Schlosser	82
Schéma 49 : Proposition de mécanisme de la réaction de Wittig en présence d'ions lithium	82
Schéma 50 : Réaction de Wittig entre le sel de phosphonium 35 et l'aldéhyde 25	83
Schéma 51 : Substitution nucléophile aromatique entre l'alcène 33 et le 1-fluoro-4-nitrobenzène ...	83
Schéma 52 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy4'	84
Schéma 53 : Synthèse du sel de phosphonium 37	84
Schéma 54 : Comparaison de la stabilité des dérivés bromés	85
Schéma 55 : Utilisation du complexe triphénylphosphine-acide bromhydrique pour la synthèse du sel de phosphonium 37	85
Schéma 56 : Réaction de Wittig entre le sel de phosphonium 37 et l'aldéhyde 25	85
Schéma 57 : Couplage de Suzuki entre le (Z)-(2-iodoprop-1-ène-1,3-diyl)dibenzène et l'acide phénylboronique	86
Schéma 58 : Iodation d'un sel de phosphonium et réaction de Wittig avec des dérivés du benzaldéhyde	86
Schéma 59 : Approche rétrosynthétique révisée de l'hybride Hy4'	87
Schéma 60 : Synthèse de l'iodure d'éthylphosphonium 38 et réaction avec l'aldéhyde 25 dans les conditions de Jie CHEN	87
Schéma 61 : Décomposition de la réaction entre l'iodure d'éthylphosphonium 38 et un aldéhyde dans les conditions de Jie CHEN	87
Schéma 62 : Synthèse de l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium 39	88
Schéma 63 : Compétition entre la formation de l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium 39 et la neutralisation de l'ylure en iodure d'éthylphosphonium 38	88
Schéma 64 : Réaction de Wittig entre l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium 39 et l'aldéhyde 25 suivie d'un couplage de Suzuki avec l'acide 4-méthoxyphénylboronique	89
Schéma 65 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy4' incluant un couplage de Buchwald-Hartwig en dernière étape.....	89
Schéma 66 : Premier essai de réaction de Wittig entre l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium 39 et le 2-nitrobenzaldéhyde	90
Schéma 67 : Mécanisme de la formation de l'impureté 41'	90
Schéma 68 : Optimisation de la réaction de Wittig entre l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium 39 et le 2-nitrobenzaldéhyde	91
Schéma 69 : Comparaison des alcènes iodosubstitués Z et E pour leur conversion en alcyne 41'	92
Schéma 70 : Synthèse de l'aniline 43	92
Schéma 71 : Couplage de Buchwald-Hartwig entre l'aniline 43 et le 4-bromophénol protégé	92
Schéma 72 : Déprotection de la fonction phénol de l'intermédiaire 44	93

Schéma 73 : Synthèse du dérivé bromé 46	94
Schéma 74 : Couplage de Buchwald-Hartwig entre le dérivé bromé 46 et l'aniline 11	94
Schéma 75 : Approche rétrosynthétique de l'hydride Hy4 selon une réaction de décarboxylation....	95
Schéma 76 : Synthèse de la CA4 par décarboxylation de l'acide cinnamique correspondant	95
Schéma 77 : Réaction de Perkin entre le 2-bromobenzaldéhyde et l'acide 4-méthoxyphénylacétique	96
Schéma 78 : Application des conditions de décarboxylation sur l'acide cinnamique 47	96
Schéma 79 : Exemple de cyclisation décrit par Nopporn THASANA	97
Schéma 80 : Méthodes de synthèse de benzophénones.....	97
Schéma 81 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy5	98
Schéma 82 : Synthèse de la cible Hy5	98
Schéma 83 : Synthèse d'ammoniums quaternaires selon une réaction de quaternisation	103
Schéma 84 : Clivage de la liaison amide de la kartogénine après pénétration dans le cartilage articulaire	104
Schéma 85 : Vectorisation d'un VDA via substitution de l'un de ses atomes d'hydrogène.....	105
Schéma 86 : Vectorisation d'un VDA via l'utilisation d'une fonction présente	105
Schéma 87 : Approche rétrosynthétique des chalcones Ch1 et Ch2	107
Schéma 88 : Synthèse des cibles Ch1 et Ch2	107
Schéma 89 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy6	111
Schéma 90 : Couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-nitroaniline et le dérivé bromé 49	111
Schéma 91 : Synthèse de la cible Hy6	112
Schéma 92 : Cyclisation de l'acide cinnamique 47 en coumarine 48	113
Schéma 93 : Synthèse historique de la coumarine par William Henry PERKIN en 1868	113
Schéma 94 : Méthodes de synthèse de coumarines au départ de dérivés du 2-hydroxybenzaldéhyde	117
Schéma 95 : Méthodes catalytiques de synthèse de coumarines au départ de dérivés du 2-hydroxybenzaldéhyde.....	118
Schéma 96 : Synthèse de coumarines en cinq étapes au départ de dérivés du phénol.....	118
Schéma 97 : Nouvelle voie de synthèse des 3-phénylcoumarines	119
Schéma 98 : Condensation de Perkin entre les 2-bromobenzaldéhydes substitués et l'acide 4-méthoxyphénylacétique	120
Schéma 99 : Influence de la position du groupement méthoxy sur l'électrophilie du groupement carbonyle.....	120
Schéma 100 : Cyclisation des acides cinnamiques 47a-k en coumarines 48a-k	121
Schéma 101 : Cyclisation de l'acide cinnamique 47f en coumarine 48f	122
Schéma 102 : Cyclisation des acides cinnamiques 47a-k en coumarines 48a-k dans les conditions optimales.....	123
Schéma 103 : Voie de synthèse optimisée de 3-phénylcoumarines au départ de dérivés du 2-bromobenzaldéhyde et d'acide 4-méthoxyphénylacétique	124
Schéma 104 : Proposition de poursuite du travail d'exemplification	125
Schéma 105 : Proposition de poursuite du travail d'optimisation.....	125
Schéma 106 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy7 - formation du groupement N,N-diarylamine	132
Schéma 107 : Synthèse du combretafurane décrite par Tracey PIRALI	133
Schéma 108 : Synthèse du 3,4-diphénylfurane décrite par Pat FORGIONE.....	133

Schéma 109 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy7 selon la méthode de Pat FORGIONE	134
Schéma 110 : Préparations de dérivés de l'alcool propargylique et cyclisation dans les conditions de Pat FORGIONE	134
Schéma 111 : Approche rétrosynthétique de l'hybride Hy7 selon la méthode de Tracey PIRALI	135
Schéma 112 : Substitution nucléophile ente l'acide 2-bromophénylacétique et le dérivé bromé correspondant et cyclisation en furanone 58	135
Schéma 113 : Réduction de la furanone 58 en furane 60	136

« Conception, synthèse et évaluation d'agents perturbateurs vasculaires pour le traitement de l'arthrose et des douleurs arthrosiques » by Vassili Prudhomme is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Tableau 1 : Conditions de bromation de l'indole	49
Tableau 2 : Conditions de bromation de l'indole protégé	50
Tableau 3 : Conditions de déprotection de la fonction phénol de l'intermédiaire 10	55
Tableau 4 : Evaluation de la série indoles au test d'inhibition de la polymérisation de la tubuline (n = 2)	56
Tableau 5 : Evaluation de la série indoles au test de viabilité cellulaire (n = 3-6)	57
Tableau 6 : Conditions de déprotection de la fonction phénol de l'intermédiaire 14	65
Tableau 7 : Conditions de couplage peptidique entre l'acide 21 et la 4-méthoxyaniline.....	68
Tableau 8 : Conditions d'aldolisation-crotonisation entre des dérivés du benzaldéhyde et l'acide 4-méthoxyphénylacétique	70
Tableau 9 : Influence de la nature de l'ester sur l'aldolisation-crotonisation	73
Tableau 10 : Conditions de couplage de Buchwald-Hartwig entre l'aniline 31 et le 4-bromophénol avec ou sans protection.....	77
Tableau 11 : Conditions de réduction de l'alcyne 32	78
Tableau 12 : Conditions de couplage de Buchwald-Hartwig entre l'intermédiaire 33 et le 4-bromophénol protégé.....	79
Tableau 13 : Conditions de réaction de Wittig entre le sel de phosphonium 37 et l'aldéhyde 25	86
Tableau 14 : Conditions de synthèse de l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium 39	88
Tableau 15 : Conditions de la réaction de Wittig entre l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium 39 et le 2-nitrobenzaldéhyde	91
Tableau 16 : Conditions de couplage de Buchwald-Hartwig entre l'aniline 43 et le 4-bromophénol protégé.....	93
Tableau 17 : Conditions de couplage de Buchwald-Hartwig entre le dérivé bromé 46 et l'aniline 11 .	94
Tableau 18 : Evaluation de la série hybrides au test de viabilité cellulaire (n = 3-6)	99
Tableau 19 : Evaluation de la série chalcones au test d'inhibition de la polymérisation de la tubuline	108
Tableau 20 : Evaluation de la série chalcone au test de viabilité cellulaire (n = 3-6).....	109
Tableau 21 : Conditions de couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-nitroaniline et le dérivé bromé 49	111
Tableau 22 : Influence de la nature et de la position du groupement R sur la condensation de Perkin	120
Tableau 23 : Influence de la nature et de la position du groupement R sur la cyclisation	121
Tableau 24 : Conditions de la cyclisation de l'acide cinnamique 47f en coumarine 48f	122
Tableau 25 : Taux de conversion des acides cinnamiques 47a-k en coumarines 48a-k dans les conditions optimales	124
Tableau 26 : Evaluation biologique des séries indoles et hybrides.....	129
Tableau 27 : Conditions de cyclisation de l'ester 57 en furanone 58	136
Tableau 28 : Conditions de réduction de la furanone 58 en furane 60	137

Graphique 1 : Evaluation de la série indoles au test de la migration cellulaire (n = 3).....	57
Graphique 2 : Evaluation de la série hybrides au test de la migration cellulaire (n = 3)	100
Graphique 3 : Evaluation de la série chalcones au test de la migration cellulaire (n = 3)	109

Abréviations

AASAL : Anti-Arthrosiques Symptomatiques d'Action Lente

AH : Acide Hyaluronique

AFLAR : Association Française de Lutte AntiRhumatismale

AIA : Agent Inhibiteur de l'Angiogenèse

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

AIS : Anti-Inflammatoire Stéroïdien

APTS : Acide ParaToluèneSulfonique

Boc : *tert*-Butoxycarbonyl

CA4 : Combretastatine A-4

CA4P : CA4 Phosphate

CAS : Chemical Abstracts Service

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

Cl₅₀ : Concentration Inhibitrice médiane

COX : CycloOXYgénase

DAPI : 4',6-DiAminido-2-PhénylIndole

DCM : DiChloroMéthane

DIBAL-H : Hydrure de DiIsoButylALuminium

DMAP : 4-DiMéthylaAminoPyridine

DME : DiMéthoxyEthane

DMF : DiMéthylFormamide

DMLA : Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age

EMA : Agence européenne des médicaments (*European Medicines Agency*)

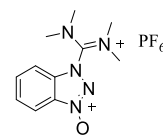
GAG : GlycosAminoGlycane

GDP : Guanosine DiPhosphate

GTP : Guanosine TriPhosphate

HAS : Haute Autorité de Santé

HBTU : Hexafluorophosphate de (2-(1*H*-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium
(Hexafluorophosphate Benzotriazole Tetramethyl Uronium)



HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance (*High Performance Liquid Chromatography*)

HUVEC : Cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (*Human Umbilical Vein Endothelial Cells*).

IL-1 : InterLeukine-1

IL-1Ra : Antagoniste du récepteur de l'IL-1 (*IL-1 Receptor antagonist*)

LDA : Diisopropylamidure de lithium (*Lithium DiisopropylAmide*)

MOM : MéthOxyMéthoxy

MS : Spectrométrie de masse (*Mass Spectrometry*)

MTT : Bromure de 3-(4,5-diMéthylThiazol-2-yl)-2,5-diphénylTétrazolium

NBS : *N*-BromoSuccinimide

ND : Non Déterminé

NOESY : Spectroscopie par effet Overhauser nucléaire (*Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*)

NGF : Facteur de croissance nerveuse (*Nerve Growth Factor*)

OA : ostéoarthrite

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PDB : Protein Data Bank

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

SAR : Relation structure-activité (*Structure-Activity Relationship*)

SDH : Succinate DesHydrogénase

SEM : Standard Error of Mean

Sn_{Ar} : Substitution Nucléophile ARomatique

t.a. : Température Ambiante

TBAF : Fluorure de tétra-*n*-butylammonium (*Tetra-n-ButylAmmonium Fluoride*)

TBAHS : Hydrogénosulfate de tétrabutylammonium (*TetraButylAmmonium HydrogenSulfate*)

THF : TétraHydroFurane

TIPS : TrilsoPropylSilyle

TNF α : Facteur de nécrose tumorale alpha (*Tumor Necrosis Factor alpha*)

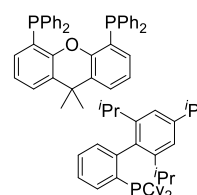
VDA : Agent perturbateur vasculaire (*Vascular Disrupting Agent*)

VEGF : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

VEGFR : Récepteur du VEGF (*VEGF Receptor*)

XantPhos : (9,9-diméthyl-9*H*-xanthène-4,5-diyl)bis(diphénylphosphane)

XPhos : Dicyclohexyl[2',4',6'-tris(propan-2-yl)[1,1'-biphenyl]-2-yl]phosphane



Avant-propos

Ces travaux de thèse ont été réalisés au sein de l'Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF) au sein de l'équipe Chimie Organique Médicinale (COM) et de la thématique Conception, Extraction et Synthèse de Molécules Antalgiques (CESMA), Unité Mixte de Recherche (UMR) 6296 Centre National de la Recherche Scientifique CNRS/Université Clermont Auvergne (UCA)/SIGMA Clermont (Clermont Auvergne INP depuis le 1^{er} janvier 2021).

Ce projet a été financé par le programme I-SITE CAP 20-25 challenge 3 « La mobilité personnalisée comme facteur-clé de la santé », co-piloté par le professeur Frédéric COSTES et le professeur Alain ESCHALIER.

Ces travaux sont en lien avec un projet financé par les Laboratoires SERVIER et mis en œuvre par Mélissa CUCCA dans le cadre d'une thèse intitulée « Conception, synthèse et évaluation *in vitro* de nouveaux agents perturbateurs vasculaires pour le traitement de l'arthrose. », soutenue publiquement le 9 mars 2018.

Dans ce rapport sont reportés les éléments bibliographiques et expérimentaux ayant permis la réalisation du projet. Ce manuscrit est divisé en cinq chapitres. Dans le premier sont exposées les données-clés autour de l'arthrose, ainsi que les mécanismes impliqués dans le développement de la maladie. Dans le deuxième chapitre, les expériences mises en œuvre sont décrites et les résultats obtenus sont discutés. Dans le troisième chapitre sont résumés les résultats principaux, et quelques perspectives sont proposées pour l'évolution du projet. Le quatrième chapitre contient l'ensemble des données expérimentales des expériences ayant abouti. Enfin, un cinquième chapitre résume l'ensemble des références bibliographiques citées tout au long de ce rapport.

La majeure partie de cette thèse a été réalisée au sein des laboratoires de chimie de l'ICCF. Cependant quatre mois ont été réservés à une formation en culture cellulaire et à la mise en œuvre des tests biologiques *in vitro* au sein des laboratoires NeuroDol (UFR Médecine Pharmacie), dans une approche transdisciplinaire.

La réalisation du projet a été impactée par la crise sanitaire liée à la pandémie de Covid-19. Notamment, les périodes de confinement ainsi que les restrictions de présence en laboratoire ont ralenti l'avancée des manipulations et expériences. Afin de limiter l'impact des mesures sanitaires sur l'avancée des travaux, nous avons obtenu un prolongement de trois mois du contrat de financement doctoral, compensant en partie l'incidence de cette crise.

Chapitre 1. Introduction

I. L'arthrose

I.1. Définition et chiffres-clés

L'arthrose, ou ostéoarthrite (OA), est une maladie chronique des articulations se caractérisant par une altération progressive du cartilage articulaire. On parle de rhumatisme dégénératif.¹ Cette dégradation s'accompagne d'un remodelage irrégulier des tissus articulaires, notamment via la formation d'excroissances osseuses appelées ostéophytes (Figure 1).² Ce processus pathologique s'accompagne généralement de douleurs chez l'individu atteint, et engendre des difficultés à se mouvoir. De nombreux facteurs peuvent être à l'origine de la maladie, notamment l'âge et la surcharge pondérale. D'autres paramètres semblent également jouer un rôle, comme l'activité hormonale de l'organisme,³ l'hérédité ou la sollicitation abusive des articulations. Dans certains cas, l'origine de la maladie peut être attribuée à des séquelles d'arthrite ou encore à des malformations anatomiques.

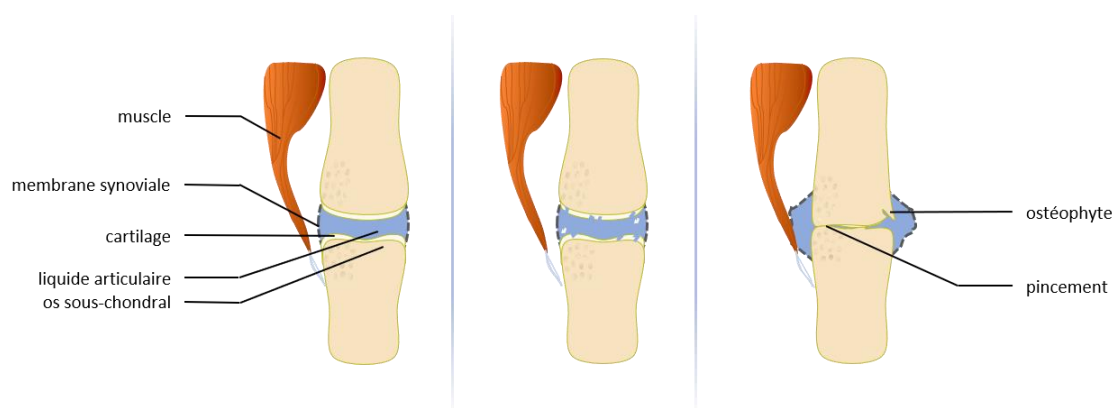


Figure 1 : Evolution dans le temps d'une articulation arthrosique – articulation saine (gauche), articulation atteinte d'un début d'arthrose (centre), arthrose avancée (droite)

La détérioration de l'articulation est liée notamment à l'appauvrissement du liquide articulaire (liquide synovial) en acide hyaluronique (AH) à la suite d'une inflammation. Le cartilage devient ainsi fragilisé et vulnérable aux forces de compression et de friction (Figure 2). L'AH, sécrété entre autres par les cellules synoviales, ne peut plus jouer son rôle de lubrifiant et protecteur de l'articulation.⁴

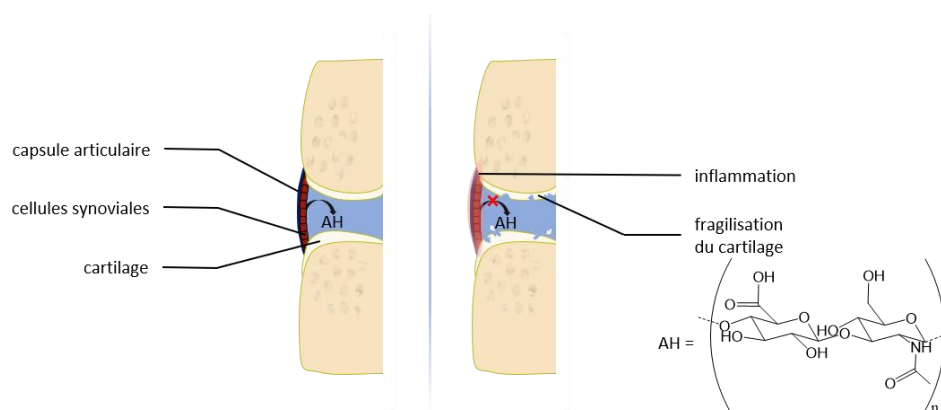


Figure 2 : Impact de l'inflammation de l'articulation sur le cartilage : articulation non inflammée (gauche) et articulation inflammée (droite)

Plus de 60% des Français de plus de 65 ans sont affectés par l'arthrose, soit 10% de la population. Cette maladie constitue ainsi la première cause d'invalidité après l'âge de 40 ans. Bien que localisée dans la plupart des cas au niveau de la colonne vertébrale (70 à 75% des personnes de 65-75 ans), toutes les articulations peuvent potentiellement être atteintes, notamment les doigts (60%), les genoux (30%) ou encore les hanches (10%). Les épaules, coudes, poignets et chevilles sont en revanche rarement concernés par la maladie. Notons que l'arthrose de la colonne vertébrale (la plus courante) n'est généralement pas douloureuse. On parle alors d'arthrose « silencieuse ».⁵

L'arthrose est échelonnée en trois niveaux, qui correspondent à la progression de la maladie pour un patient donné.⁶ On distingue les arthroses anatomique, radiologique et symptomatique :

- L'**arthrose anatomique**, qui concerne 60% des sujets de plus de 65 ans, n'implique pas de douleur particulière, et n'est pas détectable par radiographie. Elle est en général décelée lors d'études autopsiques.
- L'**arthrose radiologique**, qui concerne 30% des sujets de plus de 65 ans, est détectable par radiographie.
- L'**arthrose symptomatique**, appelée également arthrose clinique, concerne 15% des sujets de plus de 65 ans. C'est à ce stade de la maladie que les symptômes surviennent.

Parmi les sujets qui souffrent de leur arthrose, seulement 30% d'entre eux consultent et sont pris en charge dans le traitement de la douleur.

Dans le monde, la part de population atteinte d'arthrose symptomatique atteint 9,6% des hommes et 18% des femmes de plus de 60 ans. L'âge étant un facteur important de la maladie, les pays européens et les Etats-Unis sont davantage impactés que les autres régions du globe, en raison d'une espérance de vie plus élevée entre autres.⁷

I.2. Conséquences de l'arthrose

Les conséquences de l'arthrose sont nombreuses. D'une part, la maladie impacte le patient physiquement, mais également moralement. D'autre part, elle engendre des répercussions sur la société, notamment économiques.

I.2.1. Conséquences sur le patient

L'arthrose affecte lourdement les patients dans leur quotidien d'après un sondage réalisé par l'Association Française de Lutte Antirhumatismale (AFLAR) auprès d'environ 5 000 sujets entre 2012 et 2013.⁸ La plupart des sondés (70%) estiment être affectés dans leur vie professionnelle, et 25% dans leur vie de couple. Environ deux tiers d'entre eux (64%) évoquent une dégradation de leur vision d'eux-mêmes. Enfin, 80% des sondés affirment être affectés moralement.

Plus de la moitié (65%) se plaignent de douleurs variables, voire de douleurs qui perturbent leurs activités quotidiennes (48%). Un tiers des sujets (34%) évoquent des douleurs permanentes, et 11% sont affectés dans leurs relations avec leur entourage. La maladie entraîne en effet une désocialisation, liée à la difficulté des patients à se déplacer.

A l'arthrose est également associé un nombre important de comorbidités, comme l'hypertension artérielle, les maladies cardiovasculaires, le diabète de type II ou encore l'obésité. Certains patients peuvent même être affectés par plusieurs comorbidités différentes simultanément. Ces dernières ont souvent des conséquences sur l'arthrose elle-même ; elles peuvent aggraver la perception de la douleur, voire amplifier la progression ou/et la sévérité de la maladie, notamment pour l'arthrose des membres inférieurs.⁹

I.2.2. Conséquences sur la Société

L'impact économique de l'arthrose en France est significatif. D'une part, la prise en charge des patients s'élevait à 3,5 milliards d'euros par an en 2010, soit en moyenne 755 euros par patient. Cette somme représente un quart du déficit de la Sécurité Sociale, à laquelle s'ajoute également le coût des indemnités journalières des 500 000 arrêts de travail annuels directement imputables à l'arthrose.¹⁰ Pour comparaison, le coût direct de prise en charge des patients arthrosiques s'élevait à 1,6 milliards d'euros en 2002 et à 0,6 milliard d'euros en 1993.¹¹ Cette maladie et les coûts associés sont donc en nette augmentation (Figure 3).

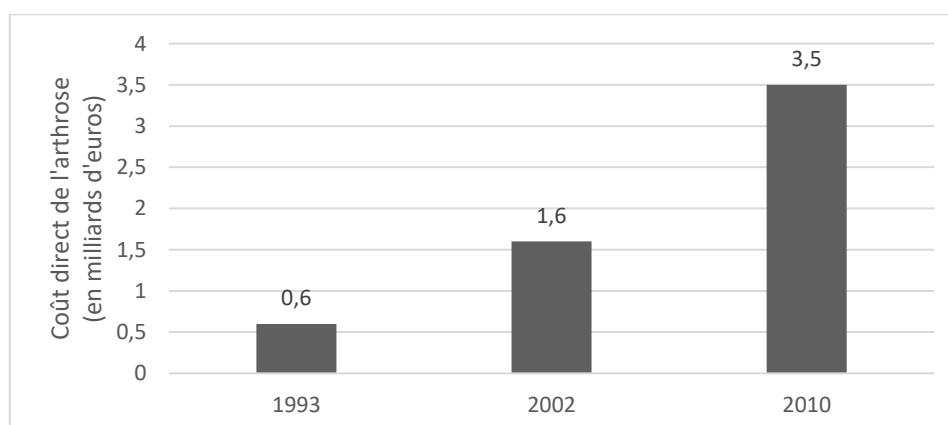


Figure 3 : Evolution du coût direct de l'arthrose entre 1993 et 2010

Avec le vieillissement démographique, le nombre de patients devrait encore augmenter dans les années à venir. On estime que d'ici 2030, 22% de la population française sera atteinte d'arthrose.¹² Aux Etats-Unis, ce chiffre atteindrait 25%.¹³ Ainsi, sans nouvelle approche visant à combattre la maladie, l'impact économique engendré par l'arthrose s'aggraverait encore.

Au regard de l'impact croissant de l'arthrose et de ses comorbidités sur les patients d'une part et sur la société d'autre part, cette maladie semble être une cible de choix pour la recherche de traitements, dans le but de ralentir voire d'enrayer sa progression.

II. Les traitements contre l'arthrose

A ce jour, diverses options thérapeutiques sont pratiquées afin de traiter les patients atteints d'arthrose. Il peut s'agir de soins pour lutter contre la douleur, ou bien de traitements préventifs. Globalement, les moyens mis en œuvre contre la maladie s'articulent autour de trois axes : les traitements médicamenteux, les thérapies complémentaires et les recours chirurgicaux.¹⁴

II.1. Traitements médicamenteux

Les traitements médicamenteux, exploités principalement dans le but de soulager la douleur et l'inflammation, sont essentiellement orientés vers les antidouleurs et les anti-inflammatoires. Dans une moindre mesure, d'autres thérapies telles que les injections d'acide hyaluronique ou encore les anti-arthrosiques symptomatiques d'action lente (AASAL) sont également exploités.

II.1.1. Les antidouleurs

En 1986, afin d'améliorer la prise en charge des douleurs cancéreuses, les médicaments antidouleurs ont été classés par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en trois catégories distinctes selon l'intensité de la douleur traitée.¹⁵ Cette classification est aujourd'hui étendue au traitement de la douleur de manière générale, y compris non cancéreuse.

- **Antidouleurs de palier I**

Les antidouleurs de palier I, représentés par le paracétamol, l'acide acétylsalicylique ou le néfopam sont des médicaments à effet antalgique de première intention (Figure 4). Ils n'induisent pas de dépendance s'ils sont utilisés correctement. Adaptés pour le traitement de douleurs aiguës peu intenses, ils peuvent néanmoins présenter des effets secondaires, notamment une hépatotoxicité en cas de surdosage.¹⁶

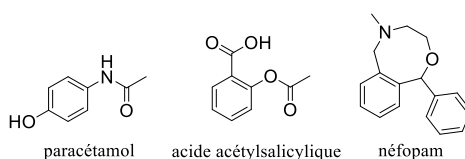


Figure 4 : Structure d'antidouleurs de palier I

Ces médicaments sont les plus utilisés dans le cas d'une arthrose peu douloureuse, notamment le paracétamol. Du fait de leur action locale, on parle d'antalgiques périphériques.

Notons que le mécanisme d'action du paracétamol n'est que partiellement connu à ce jour. Cependant, il a été mis en évidence qu'après métabolisation par le foie, il agit au niveau du système nerveux central.¹⁷ Malgré cette donnée, il demeure répertorié parmi les antidouleurs de palier I, c'est-à-dire les antalgiques périphériques.

- **Antidouleurs de palier II**

Les antidouleurs de palier II sont employés dans le traitement de douleurs modérées à intenses. On peut citer entre autres le tramadol, la codéine ou encore la dihydrocodéine (Figure 5). Dans tous les cas, il s'agit de composés opioïdes dits « faibles », utilisés lorsque les antidouleurs de palier I se sont avérés inefficaces pour soulager le patient (ou en cas de contre-indication de ces derniers). On parle alors d'antalgiques à effet analgésique, capables de supprimer la douleur, du fait de leur action centrale.

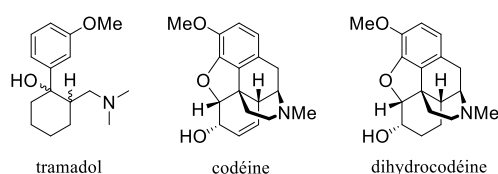


Figure 5 : Structure d'antidouleurs de palier II

Ils induisent cependant de nombreux effets indésirables, notamment des troubles digestifs ou une dépendance dans le cas d'une administration chronique. Leur recours dans le cadre de l'arthrose n'a donc lieu que lorsque les antidouleurs de palier I se sont révélés inefficaces. Dans un but de réduction des doses prescrites et donc des effets indésirables, les opioïdes faibles peuvent être associés à divers antalgiques périphériques. C'est le cas par exemple du DAFALGAN® codéiné, qui combine paracétamol et codéine, ou encore de l'IXPRIM® qui combine paracétamol et tramadol.^{18,19}

- **Antidouleurs de palier III**

Les antidouleurs de palier III, dits analgésiques opiacés forts, sont utilisés contre les douleurs très intenses. La morphine, la buprénorphine ou la nalbuphine en sont des exemples (Figure 6). Ils sont utilisés lorsque les antidouleurs de type I et II se sont avérés inefficaces pour soulager le patient de sa douleur.²⁰

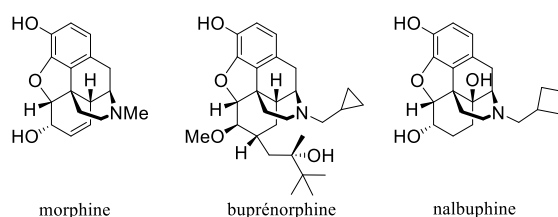


Figure 6 : Structure d'antidouleurs de palier III

Ces analgésiques puissants sont néanmoins sujets à accoutumance et dépendance. Les risques de surdosage sont également très importants, et l'impact sur la santé du patient est conséquent. A fortes doses, le risque de détresse respiratoire est, par exemple, très élevé. En outre, l'augmentation de l'utilisation d'opioïdes, avec ou sans ordonnance notamment au Canada et aux Etats-Unis, a donné naissance à la Crise des Opioïdes. On dénombre au Canada plus de 2 900 décès par surdose en 2016.²¹

De manière générale, les antidouleurs de palier III ne sont que rarement prescrits pour soulager les douleurs arthrosiques. Quelques exceptions existent, notamment certains patients âgés souffrant d'une arthrose invalidante et inopérable.²²

II.1.2. Les anti-inflammatoires

Les médicaments anti-inflammatoires, destinés à combattre l'inflammation, c'est-à-dire la réaction du système immunitaire à une agression externe, sont classés selon deux catégories : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS). Leur utilisation est adaptée dans le cadre de l'arthrose, l'inflammation de l'articulation étant un élément-clé du processus arthrosique, comme nous le verrons par la suite.

- **Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les AINS sont des médicaments agissant sur la fièvre, la douleur et les réactions inflammatoires. Leur activité repose sur l'inhibition sélective de l'isoenzyme COX-2 de la cyclo-oxygénase responsable de l'inflammation. On peut citer notamment le célécoxib. Certains AINS comme l'ibuprofène ne sont pas sélectifs, et agissent indifféremment sur COX-1 et COX-2 (Figure 7).²³

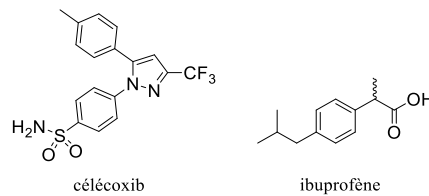


Figure 7 : Structure d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

- **Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)**

En cas d'échec des antidouleurs de palier I et des AINS à soulager le patient, il est possible d'utiliser les AIS. Ils sont administrés via injection intra-articulaire (infiltration). L'inflammation et la douleur du patient sont généralement rapidement soulagées, bien que l'effet s'atténue au cours du temps. De plus, l'inhibition de l'inflammation permet de ralentir la dégradation du cartilage. On peut citer entre autres la cortisone ou le cortivazol (Figure 8). Habituellement, deux injections sont administrées à huit jours d'intervalle. Trois injections au maximum sont réalisées par an.²⁴

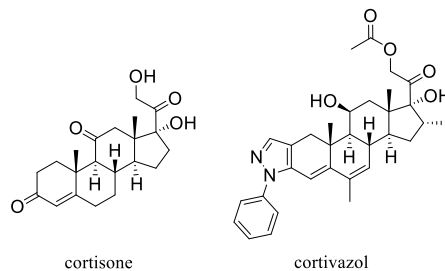


Figure 8 : Structure d'anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

II.1.3. Acide hyaluronique (AH)

Le liquide synovial d'une articulation saine contient naturellement de l'AH, permettant une lubrification efficace du cartilage. Au-delà de ses propriétés mécaniques, cette substance joue également un rôle anti-inflammatoire au sein de l'articulation, en intervenant sur la migration des cellules immunitaires.²⁵ En cas d'arthrose, cette substance n'est plus générée correctement. De surcroît, l'AH existant se dégrade et son poids moléculaire diminue, altérant ainsi les propriétés lubrifiantes du liquide synovial.

Il est néanmoins possible de réaliser sur un patient des injections intra-articulaires d'AH afin de rendre au liquide synovial ses propriétés. On parle alors de viscosupplémentation. Généralement, trois infiltrations sont réalisées avec huit jours d'intervalle entre chaque injection.²⁴

II.1.4. Anti-arthrosiques symptomatiques d'action lente (AASAL)

Les AASAL permettent, en théorie, d'une part de soulager la douleur du patient, et d'autre part de ralentir la dégradation du cartilage articulaire. La famille des AASAL comporte les insaponifiables, la diacérhéine, le sulfate de chondroïtine et le sulfate de glucosamine.²⁶

- **Insaponifiables**

Les insaponifiables, composés d'extraits de soja et d'avocat dans les proportions 2:1, sont utilisés principalement dans les cas de coxarthrose (arthrose de la hanche) et de gonarthrose (arthrose du genou). Les effets, bien que faibles, permettent une réduction de la prise d'AINS.²⁶

- **Diacérhéine**

La diacérhéine, dérivée de l'antraquinone (Figure 9), a fait l'objet d'études quant à son efficacité contre la douleur dans les cas de coxarthrose et de gonarthrose. Pour les deux types d'arthrose, son efficacité existe bien qu'elle soit modérée. Néanmoins, elle entraîne des effets secondaires importants, notamment des diarrhées sévères et une toxicité importante pour le foie. La balance bénéfice-risque étant négative, l'Agence Européenne du Médicament (EMA : European Medicines Agency) contre-indique depuis 2014 les médicaments contenant de la diacérhéine pour les patients de plus de 65 ans.²⁷

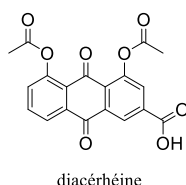


Figure 9 : Structure de la diacérhéine

- **Sulfates de chondroïtine et de glucosamine**

Les sulfates de chondroïtine et de glucosamine sont administrés en association du fait de leur rôle complémentaire (Figure 10). En théorie, le premier est censé prévenir de nouveaux dommages au niveau du cartilage, tandis que le second en favorise la régénération. Néanmoins, l'efficacité de ce traitement est sujet à controverses, les diverses études menées ne semblant pas montrer d'effet supérieur au placebo.

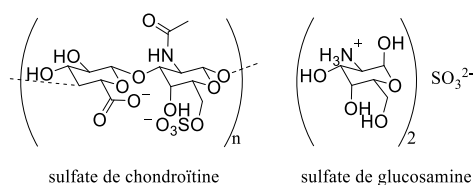


Figure 10 : Structure des sulfates de chondroïtine et de glucosamine

Ainsi, les AASAL présentent une efficacité faible. Pour cette raison, ils ne sont plus remboursés par la Sécurité Sociale en France depuis mars 2015, conformément aux recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS).²⁸

II.1.5. Biothérapies

Les biothérapies ciblant l'arthrose s'articulent essentiellement autour du ciblage des cytokines, un ensemble de protéines de signalisation cellulaire. En particulier, l'interleukine-1 (IL-1) et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF α : Tumor Necrosis Factor alpha) exercent un rôle dans le développement de la maladie en raison de leur implication dans la réponse inflammatoire. Si les essais chez l'animal du blocage de l'IL-1 via l'utilisation de l'IL-1Ra, un antagoniste au récepteur de l'IL-1 (IL-1Ra : IL-1 Receptor antagonist), sont encourageants, les essais chez l'homme n'ont pas apporté d'effet bénéfique significatif. Dans le cas de gonarthrose, l'action antalgique s'estompe rapidement. En revanche, l'usage de l'anticorps monoclonal adalimumab comme bloquant du TNF α dans le cadre de l'arthrose digitale a apporté des résultats prometteurs.²⁹

Plus récemment a été décrite l'utilisation de tanezumab, un autre anticorps monoclonal, comme bloquant du facteur de croissance nerveuse (NGF : Nerve Growth Factor). L'action du tanezumab a ainsi pour effet une réduction significative de la transmission douloureuse.³⁰

Ainsi, si certaines biothérapies n'ont pas apporté d'effets bénéfiques concluants dans le cadre de l'arthrose, d'autres sont prometteuses et pourraient constituer un moyen efficace de lutte contre les douleurs arthrosiques.

II.2. Traitements non médicamenteux

Les thérapies non médicamenteuses sont exploitées dans le but de réduire la douleur ressentie par le patient arthrosique afin d'améliorer sa qualité de vie. Parmi ces thérapies, on retrouve les thérapies complémentaires regroupant la physiothérapie, les cures thermales, la balnéothérapie, la phytothérapie ou encore la kinésithérapie associée à la podologie. Enfin, parmi les traitements non-médicamenteux figurent les recours chirurgicaux.³¹

II.2.1. Physiothérapie

La physiothérapie comprend diverses méthodes préventives contre les douleurs arthrosiques et la progression de la maladie. Il s'agit principalement d'activité physique mobilisant l'articulation concernée, dans le but de réduire la faiblesse musculaire périarticulaire. Les muscles concernés jouent alors un rôle d'amortisseur : le cartilage articulaire est finalement moins sollicité.

Les patients peuvent également bénéficier d'une rééducation thérapeutique, dans le but d'assimiler les bons gestes lors des activités quotidiennes ou domestiques. On parle alors de réhabilitation.

Pour les patients présentant une surcharge pondérale, la physiothérapie est accompagnée d'un régime alimentaire permettant de réduire leur masse corporelle, et ainsi de diminuer les contraintes mécaniques subies par les genoux et les hanches notamment.³²

II.2.2. Cures thermales et balnéothérapie

Les cures thermales, dans le cadre du traitement des maladies rhumatismales, incluent diverses techniques de massages, de douches, de bains et d'applications de boue. Chez les patients atteints d'arthrose, les capacités fonctionnelles sont améliorées et la douleur diminuée pendant plusieurs mois.³³ Leur efficacité a fait l'objet de nombreuses études.³⁴ Les patients suivant une cure sur une durée de trois semaines en plus de leur traitement habituel sont significativement soulagés de leur douleur en comparaison aux groupes témoins.

Il semblerait que la nature des eaux thermales soit un paramètre-clé. En effet, les eaux bicarbonatées ou soufrées (les plus courantes en fonction de la localisation du centre de cure) présentent un effet antalgique plus important que les eaux pauvres en minéraux. Par ailleurs, les effets bénéfiques de ces thérapies semblent se prolonger pendant six mois, avec très peu d'effets secondaires. Ces derniers correspondent à des réactions allergiques au soufre par exemple.³⁵

II.2.3. Phytothérapie

Les effets antalgiques et anti-inflammatoires de certaines plantes peuvent être exploités dans les cas d'arthrose faible à modérée. Par exemple, les oméga-3 (que l'on retrouve dans les noix sous forme d'oméga-3 à chaîne courte) et oméga-6 (contenus dans diverses huiles végétales) sont utilisés contre l'inflammation, en traitement de fond. De même, *Curcuma longa*, dénommée plus simplement curcuma, peut diminuer l'inflammation de l'articulation. La myrrhe ou la salsepareille peuvent être envisagées contre les affections rhumatismales en général. Il est possible de compléter ces traitements avec la prise de grande ortie (*Urtica dioica*).³⁶

Notons toutefois que les apports de la phytothérapie sont, en l'état, plutôt modestes par rapport aux traitements médicamenteux.

II.2.4. Kinésithérapie et podologie

Le traitement de la douleur peut s'articuler autour de séances de kinésithérapie dans le cas de l'arthrose. Généralement, ces séances s'accompagnent d'exercices physiques afin de renforcer les muscles des articulations. Comme dans le cas de la physiothérapie évoquée précédemment, ces renforcements musculaires contribuent à rendre aux muscles leur rôle d'amortisseur.

En parallèle est recommandé le port de semelles orthopédiques pour les patients atteints de gonarthrose et de coxarthrose. Dans tous les cas d'arthrose, le port d'orthèses est envisageable. Ces dernières sont fixées contre l'articulation arthrosique de manière non permanente. Ces dispositifs ont montré pour la plupart des patients une diminution des symptômes. De surcroît, les articulations étant moins sollicitées, la progression de la maladie ralentit.³⁷

II.2.5. Recours chirurgicaux

Lorsque les traitements médicamenteux et les thérapies complémentaires se sont révélés inefficaces et que le cartilage articulaire est trop endommagé, un recours chirurgical s'avère nécessaire. Interviendra alors le remplacement partiel ou total de l'articulation par une prothèse, dans le but d'une part de réduire la douleur du patient et d'autre part d'améliorer sa mobilité : on parle d'arthroplastie.

Dans le cas de l'arthrose de la colonne vertébrale (arthrose dorsolombaire), le recours chirurgical n'est que rarement envisagé. Son traitement s'articule donc essentiellement autour des thérapies médicamenteuses et/ou complémentaires.³⁸

Dans le cas de l'arthrose digitale, la pose de prothèse est possible. L'arthroplastie permet alors une diminution efficace de la douleur, ainsi qu'une restauration de la mobilité.³⁹

Concernant l'arthrose du genou (gonarthrose), les recours à la chirurgie sont en nette augmentation (+33% entre 2008 et 2013), du fait de l'efficacité de cette technique à soulager les patients de leur douleur.⁴⁰ Néanmoins, la durée de vie des prothèses se situant entre quinze et dix-huit années, le recours à une telle chirurgie dans le cas d'un patient jeune est rare. En effet, les interventions visant à remplacer une ancienne prothèse par une neuve sont délicates et doivent être évitées.⁴¹

Enfin, dans le cas de l'arthrose de la hanche (coxarthrose), les recours à la chirurgie sont également en nette augmentation. Les prothèses permettent en effet de soulager efficacement les patients de leur douleur, mais également d'améliorer leur mobilité. Comme dans le cas de la gonarthrose, l'arthroplastie des hanches s'applique principalement aux personnes âgées : l'âge moyen des patients ayant bénéficié d'une pose de prothèse était alors de 72,8 ans entre 2008 et 2014.⁴²

II.3. Autres thérapies

D'autres thérapies sont envisageables afin de rétablir la mobilité des patients arthrosiques, comme la médecine régénérative. L'utilisation de cellules souches mésenchymateuses présente en effet un intérêt pour le traitement de l'inflammation. Ces cellules, isolées à partir de la moelle osseuse, du tissu adipeux, du placenta ou du cordon ombilical, permettent une réduction notable de l'inflammation ainsi qu'une régénération du cartilage articulaire liée à leur capacité de différenciation en cellules chondrocytes (cellules de cartilage).⁴³ Si les essais pré-cliniques sont concluants, l'efficacité de cette technique reste néanmoins en cours d'étude chez l'homme.

A ce jour, il n'existe pas de traitement sûr et efficace capable de modifier l'évolution de la maladie. Les thérapies existantes permettent de traiter les symptômes (douleur, inflammation). Si la plupart se montrent efficaces pour améliorer la qualité de vie des personnes atteintes, ces traitements ne permettent pas pour autant de stopper ni de freiner la progression de la maladie.

Nous avons exploré les mécanismes impliqués dans le développement et la progression de l'arthrose et nous nous sommes intéressés en particulier au rôle de l'angiogenèse ostéochondrale, jusqu'ici peu explorée dans le cadre de l'arthrose.

III. L'angiogenèse ostéocondrale : une nouvelle cible contre l'arthrose

III.1. L'angiogenèse

L'angiogenèse est la croissance de vaisseaux sanguins à partir d'un réseau vasculaire existant. Il s'agit d'un processus complexe faisant intervenir un grand nombre de fonctions cellulaires, et se déroulant en quatre étapes (Figure 11).⁴⁴

- L'intervention de divers facteurs de croissance tels que VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) entraîne l'**activation des cellules** constituant le vaisseau sanguin (A).⁴⁵
- À la suite de cette activation survient une **désolidarisation des cellules endothéliales** (composant la couche interne du vaisseau sanguin). En effet, l'interaction entre les cadhérines, des protéines s'exprimant à la surface cellulaire, est perturbée. Or, cette interaction est essentielle pour l'adhérence des cellules adjacentes entre elles. Il en résulte une augmentation de la perméabilité vasculaire.⁴⁶ Parallèlement, des métalloprotéinases réalisent la **protéolyse de la lame basale** (assemblage de protéines constituant le squelette du vaisseau) (B).
- Une **migration des cellules endothéliales** permet ensuite la formation d'un bourgeon capillaire. La division cellulaire entraîne la croissance de ce dernier (C).
- La dernière étape consiste en la **maturation du bourgeon**, formant à terme un nouveau tube capillaire, et la **reconstitution de la lame basale**. Finalement, l'**anastomose**, c'est-à-dire la connexion entre vaisseaux, permet d'établir la circulation sanguine (D).

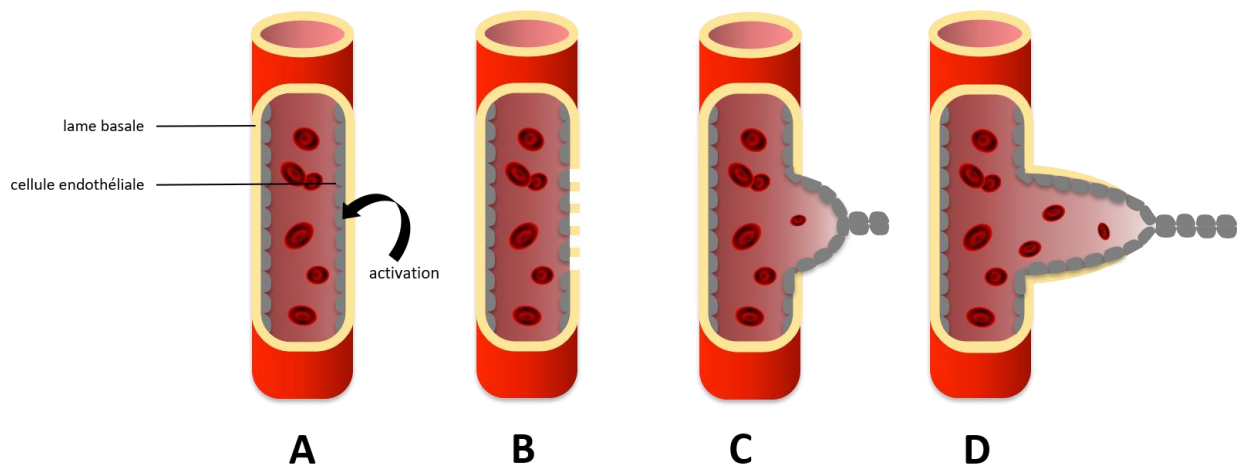


Figure 11 : Mécanisme de l'angiogenèse – A : activation des cellules endothéliales, B : désolidarisation des cellules endothéliales et protéolyse de la lame basale, C : migration des cellules endothéliales (formation d'un bourgeon capillaire), D : maturation du bourgeon, reconstitution de la lame basale et anastomose

L'angiogenèse joue un rôle essentiel dans l'organisme, intervenant notamment lors de l'embryogenèse pendant la grossesse et lors du cycle menstruel chez la femme. Après la naissance, ce processus a tendance à se stabiliser, mais il intervient malgré tout dans certains mécanismes, comme celui de la réparation tissulaire (cicatrisation).⁴⁷

Cependant, si l'angiogenèse est un processus physiologique normal, elle est également impliquée dans de nombreux processus pathologiques tels que le cancer, la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), l'athérosclérose, l'endométriose ou l'arthrose.^{48,49}

III.2. Angiogenèse et arthrose

Le cartilage articulaire est un tissu constitué de cellules spécialisées appelées chondrocytes, d'une matrice extracellulaire essentiellement composée d'eau et de fibres de collagène, ainsi que d'une variété de protéoglycanes. Le collagène et les protéoglycanes confèrent à la matrice ses propriétés mécaniques, comme sa résistance à l'étirement par exemple.⁵⁰ Le cartilage articulaire sain est dépourvu de vaisseaux sanguins. Cependant, dans le cas d'une articulation arthrosique, une invasion vasculaire provenant de l'os sous-chondral survient.⁵¹ La présence de ces vaisseaux invasifs joue un rôle essentiel dans le processus arthrosique, qui se déroule en plusieurs étapes (Figure 12) :

- Une **inflammation** du liquide synovial se produit (synovite). Son origine peut être entre autres une chondropathie d'origine traumatique ou encore une infiltration cellulaire.⁵²
- L'**angiogenèse** apparaît à la suite de l'inflammation. Les macrophages (cellules immunitaires appartenant aux globules blancs) et les fibroblastes (cellules présentes dans le tissu conjonctif) induisent l'expression de facteurs de croissance. Ces derniers activent les cellules endothéliales composant les vaisseaux sanguins au niveau de l'os sous-chondral, déclenchant l'angiogenèse en direction de l'articulation (Figure 11).⁵³
- Il en résulte une **dégradation progressive du cartilage** (microfractures, calcification), liée à la protéolyse des protéoglycanes et du collagène, entraînant ainsi une diminution des propriétés mécaniques du cartilage, et donc un affaiblissement de ce dernier.⁵⁴ De plus, l'articulation s'innerve, provoquant à terme une augmentation de la douleur.⁵⁵ La dégradation du cartilage entraîne à son tour une **inflammation** de l'articulation. Le processus arthrosique devient alors un cercle vicieux, l'inflammation étant à la fois cause et conséquence. De surcroît, les macrophages génèrent des cytokines pro-inflammatoires, entretenant également l'inflammation du liquide synovial.

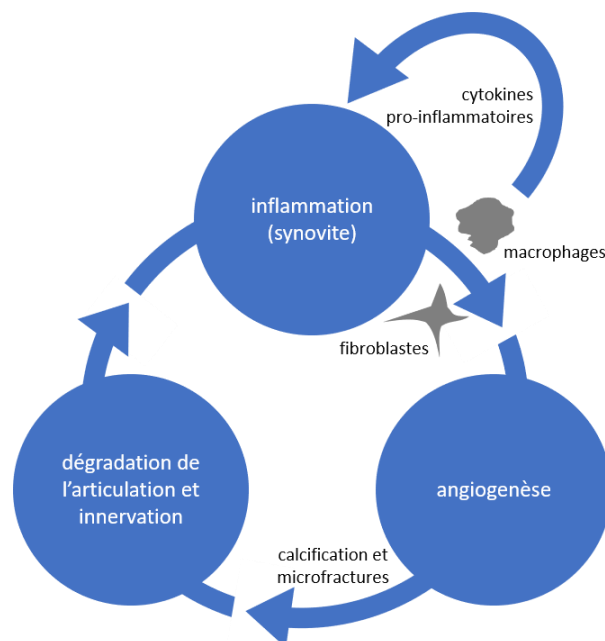


Figure 12 : Origine de l'angiogenèse ostéochondrale

Ainsi, l'angiogenèse ostéocondrale contribue irréversiblement aux dommages structuraux liés à l'arthrose. A ce jour, il n'existe aucun traitement médicamenteux ciblant l'angiogenèse ostéocondrale. Néanmoins, ce processus étant impliqué dans de nombreuses pathologies, notamment le cancer, des stratégies anti-angiogéniques ont été développées.

III.3. Les stratégies anti-angiogéniques

Deux stratégies ciblant l'angiogenèse existent à ce jour : les agents inhibiteurs de l'angiogenèse (AIAs) et les agents perturbateurs vasculaires ou antivasculaires (VDAs : *Vascular Disrupting Agents*).⁵⁶

▪ Les Agents Inhibiteurs de l'Angiogenèse (AIAs)

Les AIAs agissent sur le processus de néovascularisation, en inhibant la migration et la prolifération des cellules endothéliales. Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) étant le facteur le plus impliqué dans la croissance vasculaire, il constitue une cible thérapeutique de choix pour le traitement des maladies impliquant l'angiogenèse. Trois familles d'AIAs sont connues à ce jour (Figure 13) :

- Certains AIAs, comme l'anticorps bévaccizumab ou la protéine de fusion aflibercept, se lient aux facteurs de croissance à l'extérieur de la cellule, ne permettant plus à ces derniers de se lier à leur récepteur. Les facteurs de croissance sont alors neutralisés.^{57,58}
- D'autres AIAs, comme le peptide VG3F, ciblent les récepteurs de VEGF (VEGFR), et inhibent ces derniers. Les récepteurs sont alors neutralisés.⁵⁹
- Enfin, certains AIAs comme le cédiranib, inhibent la tyrosine kinase des récepteurs de VEGF. La tyrosine kinase est une enzyme impliquée dans le mécanisme de signalisation cellulaire. Ainsi, bien que les récepteurs soient activés par VEGF, la réponse cellulaire est interrompue.⁶⁰

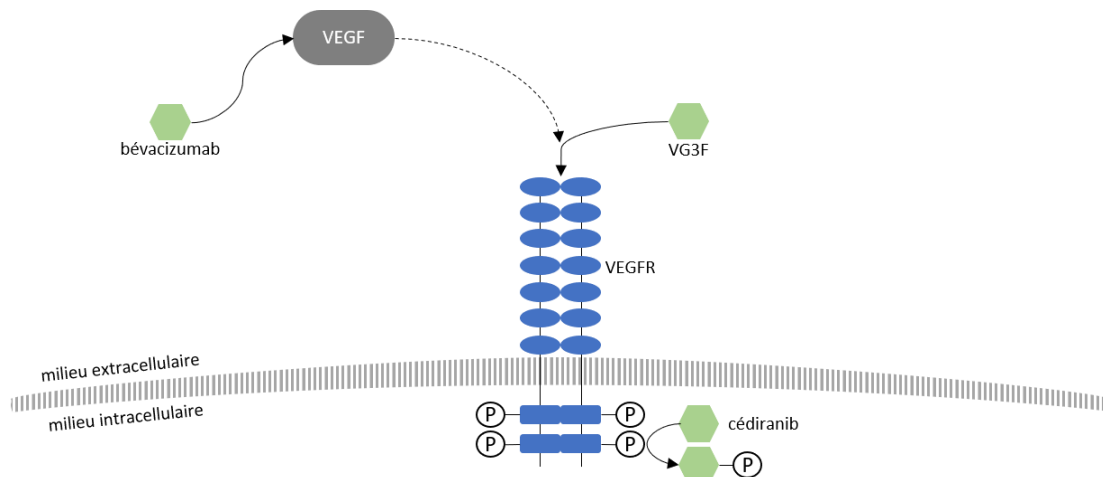


Figure 13 : Mode d'action des AIAs

III.2.1. Les Agents Perturbateurs Vasculaires (VDAs)

Les VDAs agissent sur la vasculature existante en déstabilisant ou détruisant les néovaisseaux déjà formés. La plupart des VDAs interagissent avec la tubuline, protéine structurelle cellulaire. En se liant à cette dernière, ils perturbent le cytosquelette, entraînant une déstabilisation de la néovascularisation.⁶¹

Les AIAs et les VDAs diffèrent donc par leur mode d'action. Les AIAs ciblent les facteurs de croissance ou leur récepteur impliqués dans le processus de néovascularisation. Ils ont ainsi une action préventive impliquant une administration chronique. En termes d'effets secondaires, des problèmes de caillots bouchant les artères ou encore d'hypertension sont souvent reportés.⁶² Quant aux VDAs, leur mode d'action réside dans la déstabilisation d'une néovascularité existante, impliquant une administration aiguë. Les effets secondaires sont modérés : on peut noter une hypertension transitoire ou encore une neuropathie réversible.⁶³

Pour ces raisons, les VDAs semblent adaptés en termes de mécanisme d'action pour le traitement de l'arthrose. De plus, ces agents n'ont, à notre connaissance, jamais été exploités pour répondre à la problématique de l'arthrose.

IV. Les agents perturbateurs vasculaires (VDAs)

Le mode d'action des VDAs réside dans leur interaction avec une protéine structurelle des cellules : la tubuline, en inhibant sa polymérisation en microtubules, fibres constituant le cytosquelette.

IV.1. La tubuline

La tubuline est une protéine constituée de deux hétérodimères, c'est-à-dire deux sous-unités différentes, appelées tubuline- α et tubuline- β , chacune composée de 450 acides aminés (50 kDa) et très proches structurellement (Figure 14).⁶⁴

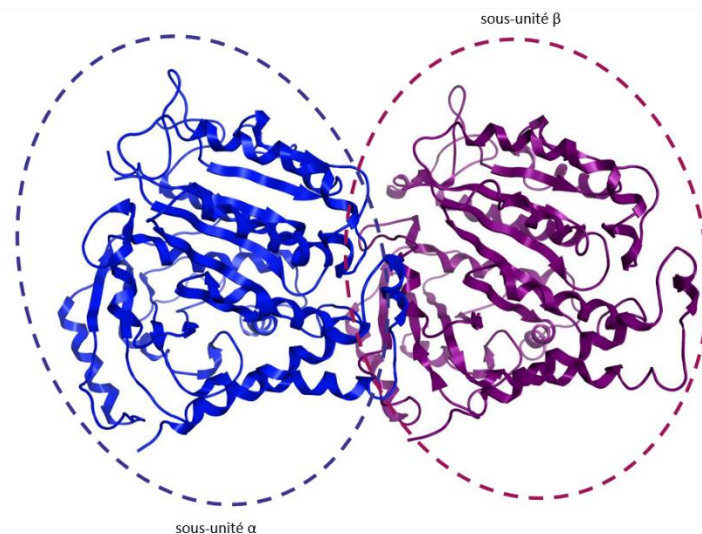


Figure 14 : Structure de l'hétérodimère de la tubuline $\alpha\beta$ (PDB 1SA0)

IV.1.1. Polymérisation de la tubuline : les microtubules

En polymérisant, la tubuline forme les microtubules, des macromolécules de forme cylindrique, dont le diamètre est d'environ 25 nm. Leur longueur est variable en raison de leur dynamique (Figure 15).

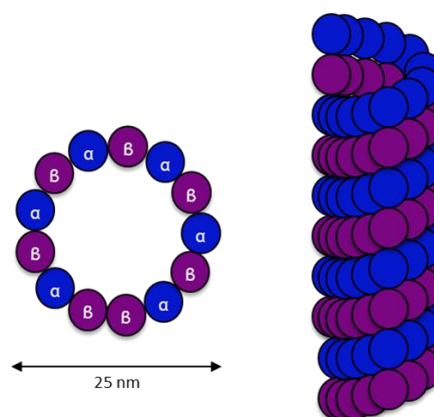


Figure 15 : Structure d'un microtubule

La polymérisation de la tubuline en microtubules se déroule en deux étapes, une phase de nucléation et une phase d'élongation (Figure 16).⁶⁵

- Lors de la phase de **nucléation**, les sous-unités α se lient au Guanosine TriPhosphate (GTP), une coenzyme de transfert de groupement phosphate, alors que les sous-unités β s'y lient puis l'hydrolysent en Guanosine DiPhosphate (GDP). Ainsi, les unités de tubuline s'assemblent pour former un protofilament polarisé.
- Lors de la phase d'**élongation**, 13 protofilaments interagissent pour constituer les microtubules. Ces derniers, une fois formés, ne cessent pas pour autant de croître. En effet, la tubuline persiste à polymériser directement sur les microtubules. L'**équilibre** dynamique s'instaure lorsque les vitesses de polymérisation et de dépolymérisation s'égalisent.

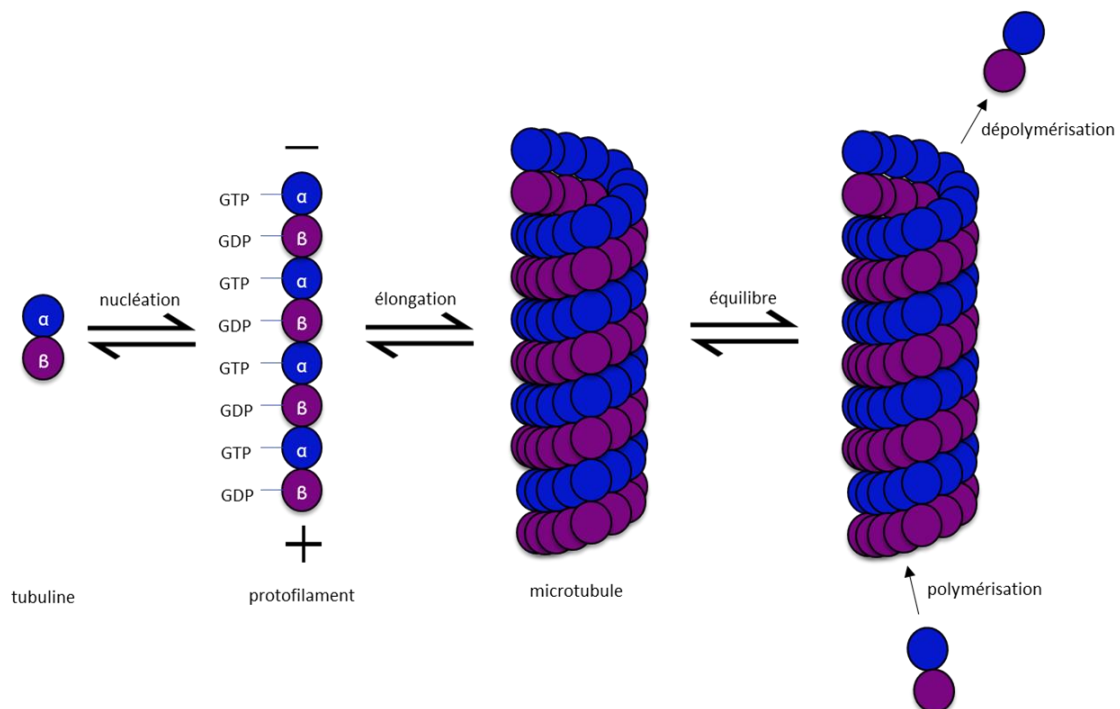


Figure 16 : Polymérisation de la tubuline en microtubules

Les microtubules exercent de nombreux rôles. Ils maintiennent notamment la forme de la cellule et sont impliqués dans le cycle cellulaire, dont le mécanisme est le suivant :

Une cellule au repos est dite en phase G₀. Sous l'influence de signaux mitogènes, le cycle cellulaire démarre. Ce dernier se divise en quatre phases, appelées phases G₁, S, G₂ et M (Figure 17).⁶⁶

- La **phase G₁** (Gap 1) est une phase de préparation au cours de laquelle la cellule, ayant capté les signaux mitogènes, amorce son cycle.
- La **phase S** (Synthèse) est le siège de la synthèse, ou répllication de l'ADN.
- La **phase G₂** (Gap 2), est une nouvelle étape de préparation, cette fois-ci à la mitose à proprement parler.
- La **phase M** (Mitose), est l'étape de dédoublement des chromosomes et de leur répartition dans les deux cellules-filles. Cette phase est elle-même divisée en cinq périodes :

- La **prophase** est caractérisée par la rupture de l'enveloppe nucléaire.
- Lors de la **prométaphase**, le fuseau mitotique se forme.
- La **métaphase** correspond à l'alignement des chromosomes dans le fuseau.
- L'**anaphase** est caractérisée par la disjonction des chromosomes.
- Enfin, lors de la **télophase**, les chromosomes migrent vers les pôles et le fuseau disparaît. La cytokinèse, c'est-à-dire la division du cytoplasme pour former les deux cellules-filles, démarre.

Lorsque le cycle est achevé, les deux cellules-filles sont en phase G0. Sous l'influence de signaux mitogènes, elles peuvent à leur tour amorcer un cycle cellulaire.

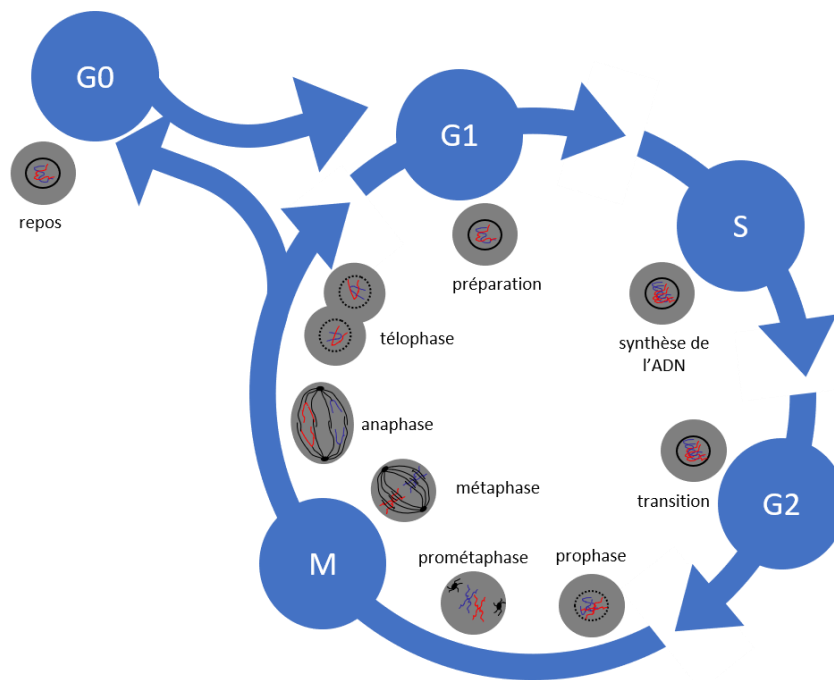


Figure 17 : Cycle cellulaire

Lors du cycle cellulaire, la tubuline polymérise entre les phases G2 et M. Les microtubules résultants constituent en partie le fuseau mitotique. Lors de l'anaphase, en scindant en deux le matériel génétique, le fuseau déforme ainsi la cellule en l'étirant, permettant la ségrégation du matériel génétique et à terme la division en deux cellules-filles.

Outre leur rôle dans le processus de division cellulaire, les microtubules permettent également de maintenir une forme aplatie aux cellules endothéliales.⁶⁷ En effet, ces dernières mesurent en moyenne 100 μm de longueur pour 10 μm de largeur et 0,5 μm d'épaisseur, et sont donc très étirées.⁶⁸ Ceci permet une meilleure adhésion des cellules entre elles et favorise la perméabilité vasculaire.

IV.1.2. Les sites de liaison avec la tubuline

Sept sites de liaison avec la tubuline ont à ce jour été décrits, à savoir les sites de la colchicine, des alcaloïdes vinca (vinblastine), de la maytansine, de la pironétine, de la gatorbuline-1, des taxanes (paclitaxel) et du laulimalide (Figure 18).^{64,69–74}

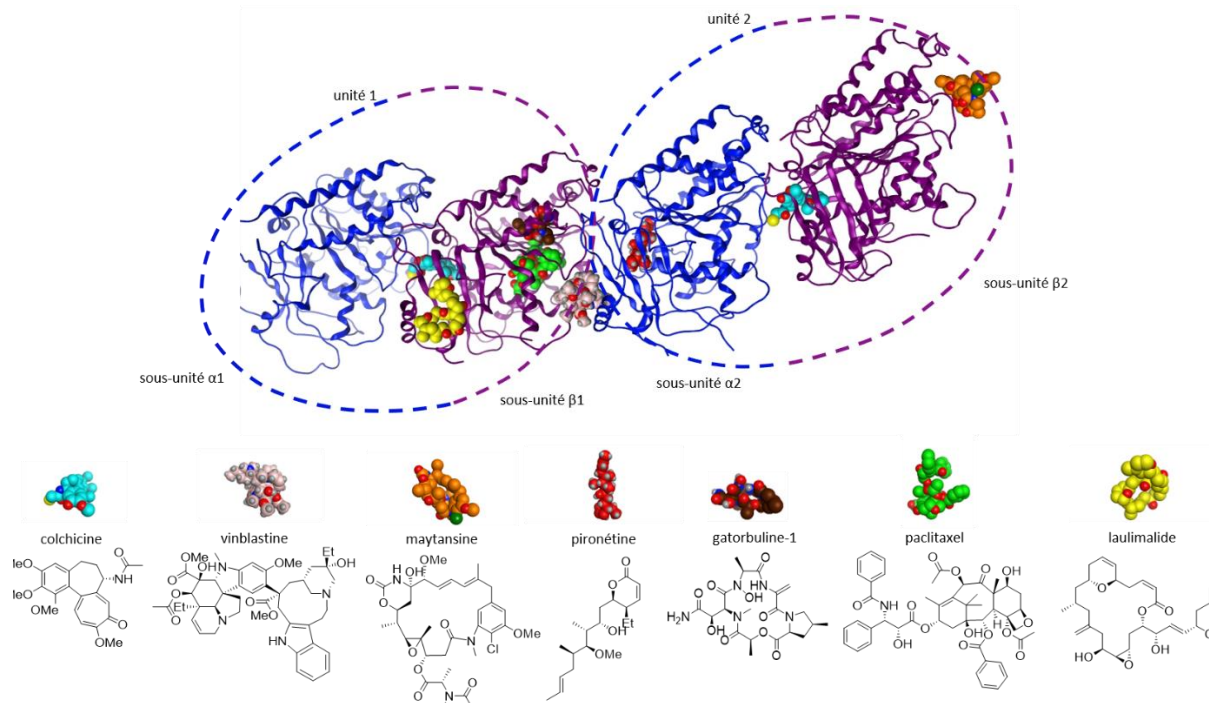


Figure 18 : Sites de liaison avec la tubuline (PDB 1SA0, 5J2T, 4TV8, 5LA6, 7ALR, 1JFF, 4O4H)

A chaque site de liaison est associée une activité biologique spécifique que l'on peut classer selon deux catégories : les inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline et les stabilisateurs de microtubules.

- **Sites de liaison liés à une activité inhibitrice de la polymérisation de la tubuline**

Le site de liaison de la colchicine, localisé sur la sous-unité β à l'interface des deux sous-unités α et β , est associé à des activités antimitotiques et antivasculaires, via une interruption de la polymérisation de la tubuline.⁷⁴

Le site de liaison des alcaloïdes vinca comme la vinblastine, localisé au niveau de la sous-unité α à l'interface de deux dimères (lorsque la tubuline est polymérisée), est associé à une activité antitumorale, également via une interruption de la polymérisation de la tubuline.⁶⁹

Le site de liaison de la maytansine, situé au niveau de la sous-unité β à l'interface de deux dimères, est associé à une activité anticancéreuse liée à une déstabilisation des microtubules.⁷¹

Le site de liaison de la pironétine, localisé au niveau de la sous-unité α à l'interface de deux dimères, est également associé à la déstabilisation des microtubules.⁷²

Le site de liaison de la gatorbuline-1, situé à l'interface des deux dimères, est associé à une activité anticancéreuse liée également à une déstabilisation des microtubules.⁷³

- **Sites de liaison liés à une activité stabilisatrice des microtubules**

Le site de liaison des taxanes comme le paclitaxel, localisé sur la sous-unité β , est stabilisateur des microtubules. L'inhibition de la dépolymérisation de ces derniers interrompt le processus de mitose à l'étape d'anaphase, empêchant ainsi les cellules de se diviser.⁶⁴

Le site de liaison du laulimalide, situé également sur la sous-unité β , est également associé à une stabilisation des microtubules.⁷⁰

IV.2. Interaction des VDAs avec la tubuline

C'est avec le site de liaison de la colchicine qu'interagissent les VDAs. En ciblant la sous-unité β à l'interface des deux sous-unités α et β de la tubuline, ils y induisent un changement de conformation, ne permettant plus aux protofilaments de former des microtubules (Figure 19).⁷⁵

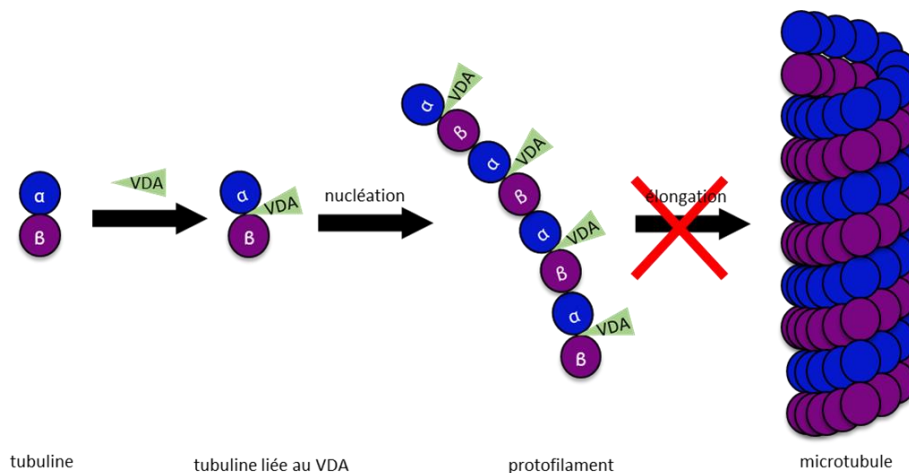


Figure 19 : Action des VDAs sur la polymérisation de la tubuline

L'inhibition de la polymérisation de la tubuline en microtubules impacte le cycle cellulaire. Ces derniers n'exerçant plus leur rôle dans le processus de mitose, la division cellulaire s'interrompt. De plus, le cytosquelette, perturbé par la déstabilisation des microtubules, ne peut plus garantir aux cellules endothéliales leur forme aplatie. Ces dernières s'arrondissent et le contact intercellulaire n'est plus établi : les capillaires sanguins se perméabilisent, ne permettant plus le flux sanguin (Figure 20).

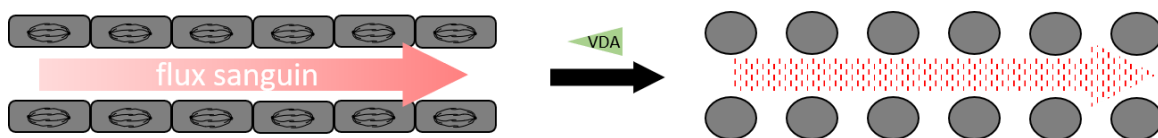


Figure 20 : Perméabilisation des capillaires sanguins à la suite du changement de forme des cellules endothéliales

Notons toutefois que les VDAs présentent une certaine sélectivité pour les capillaires sanguins issus d'une angiogenèse pathologique et n'impactent pas le réseau vasculaire sain, comme nous le verrons par la suite. La perméabilisation des néovaisseaux n'entraîne donc pas d'hémorragie.

Contrairement à la plupart des AIA, les VDAs sont cytotoxiques par nature.⁷⁶ Il n'est cependant pas exclu que certains VDAs puissent présenter une activité antivasculaire à une dose non toxique. En effet, l'action de ces composés a pour effet de « bloquer » la cellule entre les phases G2 et M du cycle cellulaire (on parle de phase G2/M). On parle de cytostaticité. Dans certains cas, cette opération est réversible et l'intégrité de la cellule n'est pas impactée. Une fois le capillaire sanguin perméabilisé, les cellules endothéliales demeurent viables. Les VDAs sont alors davantage cytostatiques que cytotoxiques.

Il existe peu d'exemples dans la littérature de tels VDAs. Néanmoins, à travers une étude sur l'activité antivasculaire d'analogues de thiophènes, Romeo ROMAGNOLI a mis en évidence des composés présentant une cytostaticité à des doses inférieures aux doses cytotoxiques.⁷⁷

IV.3. Sélectivité des VDAs pour l'angiogenèse pathologique

Il existe une double sélectivité des VDAs pour le réseau vasculaire pathologique. D'une part, les différences structurelles entre les vaisseaux sanguins matures et les capillaires sanguins rendent ces derniers davantage sensibles à l'action des VDAs (Figure 21). En effet, les vaisseaux matures sont constitués de plusieurs couches comprenant les cellules endothéliales, la lame basale et les cellules dites « murales », à savoir les cellules musculaires et les péricytes. Ces couches successives confèrent aux vaisseaux matures leur stabilité ainsi que leur imperméabilité. En revanche, les capillaires sanguins sont constitués essentiellement de cellules endothéliales, les rendant perméables aux petites molécules.⁷⁸

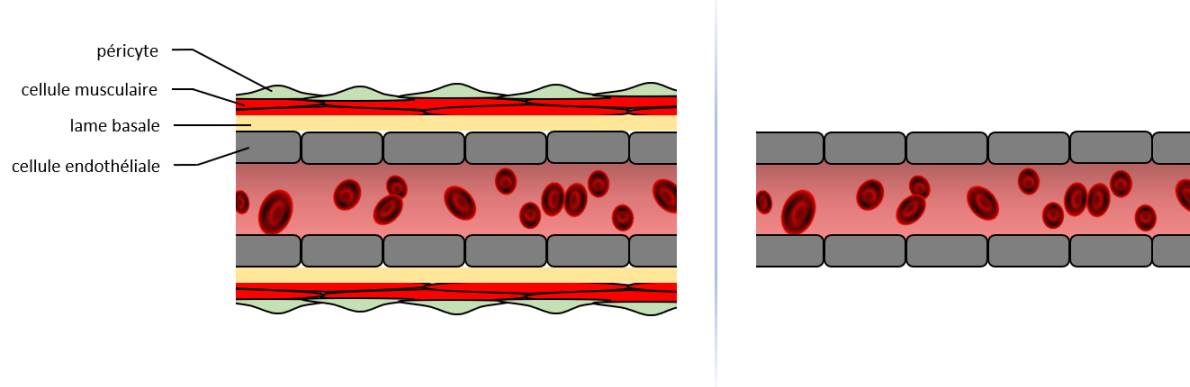


Figure 21 : Différences structurelles entre un vaisseau sanguin mature (gauche) et un capillaire sanguin (droite)

D'autre part, les capillaires sains diffèrent des pathologiques. En effet, au sein d'un capillaire « normal », le cytosquelette des cellules endothéliales dépend de la présence de microtubules ainsi que d'une protéine : l'actine, qui comme la tubuline, polymérise en microfilaments. En revanche, ces derniers ne sont pas encore totalement développés dans le cas des capillaires immatures formés lors de l'angiogenèse pathologique, rendant ainsi la néovasculature plus instable qu'une vasculature « normale ».⁷⁹

De plus, les cellules endothéliales constituant les capillaires pathologiques sont de forme irrégulière, anarchique, amenuisant le contact intercellulaire. Ainsi, ces « défauts » rendent les capillaires sanguins pathologiques plus perméables aux VDAs.⁸⁰

Il résulte de ces différences une certaine « fragilité » du réseau vasculaire pathologique par rapport à un réseau vasculaire sain, conférant aux VDAs une certaine sélectivité pour l'angiogenèse pathologique.

IV.4. Quelques exemples de VDAs

Un grand nombre de VDAs sont décrits dans la littérature, et certains sont en cours d'étude clinique. On peut citer par exemple la combretastatine A-4 (CA4) ou ses analogues, notamment la fosbretabuline (combretastatine A4-phosphate ou CA4P) ou encore la plinabuline, respectivement en phase II et III contre certains cancers. Un autre composé, la phenstatine, a été découvert par sérendipité, lors d'une tentative d'époxydation d'un dérivé de la CA4.⁸¹ Ce composé a montré une activité similaire à celle de la CA4, tout en étant plus stable que cette dernière. Avec une structure différente, E7010 (également appelé ABT-751) a également montré une efficacité contre une grande variété de lignées cellulaires cancéreuses (colon, poumon, sein, pancréas et vessie). De surcroît, ce composé présente une sélectivité importante pour le réseau vasculaire pathologique par rapport aux vaisseaux sanguins sains (Figure 22).⁸²⁻⁸⁴

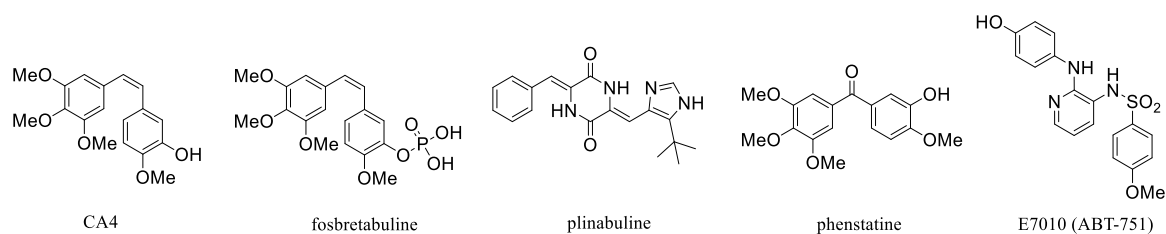


Figure 22 : Structure de quelques VDAs issus de la littérature

Dans le cadre de l'arthrose, l'utilisation de VDAs semble ainsi être une stratégie adaptée. En effet, l'angiogenèse ostéocondrale est au cœur du processus arthrosique et constitue ainsi une cible de choix pour le développement d'un nouveau traitement médicamenteux efficace et innovant.

V. Objectifs du projet et démarche scientifique

L'objectif de ce projet est de développer des composés organiques originaux dont l'activité VDA permettrait de ralentir voire interrompre le processus arthrosique. Pour ce faire, deux stratégies ont été explorées. Dans un premier temps, nous nous sommes appuyés sur les travaux de recherche de Mélissa CUCCA réalisés entre 2015 et 2018, et y avons sélectionné une molécule prometteuse comme point de départ pour réaliser la conception et la synthèse de nouveaux analogues. Afin d'obtenir des VDAs encore plus efficaces, nous avons ensuite mis en œuvre une stratégie d'hybridation, afin de générer des structures nouvelles et performantes contre l'angiogenèse pathologique.

V.1. Travaux antérieurs réalisés au laboratoire

Lors de ses travaux de recherche, Mélissa CUCCA a sélectionné divers VDAs issus de la littérature selon certains critères, notamment leur cytotoxicité. Après synthèse et évaluation biologique, le sulfonamide E7010 a été choisi comme chef de file pour la conception de nouveaux VDAs ciblant l'angiogenèse ostéochondrale.⁸⁵

Après une étude de relation structure-activité (SAR) ayant permis l'identification des pharmacophores de E7010, divers hétérocycles azotés ont été conçus, à savoir des dérivés d'indole, d'indoline, d'azaindole, de benzimidazolone et d'indazole (Figure 23).

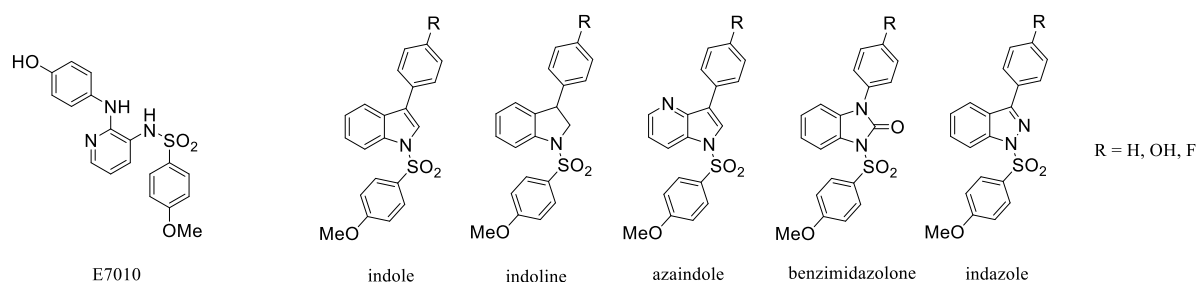


Figure 23 : Conception d'analogues de E7010

Chacune des molécules synthétisées par Mélissa CUCCA a été évaluée pour sa cytotoxicité ainsi que son caractère VDA. Ainsi, la famille indole a obtenu des résultats encourageants, particulièrement l'indole **B1** (Figure 24). Notons toutefois que pour chaque famille, seule l'influence de la nature du groupement R sur l'activité a été évaluée (R = H, OH, F) (Figure 23).

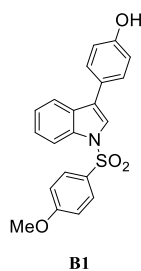


Figure 24 : Structure de l'indole **B1**

V.2. Démarche scientifique

Pour chaque structure, une démarche conception/synthèse/évaluation a été appliquée, tout en adoptant une exigence de qualité et le respect d'un cahier des charges strict. Chaque étape du développement d'une molécule a ainsi été réalisée dans les conditions détaillées ci-après.

V.2.1. Conception des VDAs

La conception des molécules a été réalisée à partir des structures de VDAs connus (E7010, CA4, phenstatine...), des résultats préliminaires sur des molécules issues de travaux antérieurs (indoles), et de structures 3D de complexes VDA-protéine d'intérêt.

Diverses structures ont ainsi été conçues par hybridation de molécules possédant une activité antivasculaire, afin d'optimiser leur bioactivité/sélectivité, en tenant compte d'une part de leur faisabilité technique et d'autre part de leur caractère innovant dans une démarche de valorisation.

V.2.2. Synthèse des VDAs

Chaque cible a fait l'objet d'une étude rétrosynthétique afin d'anticiper les difficultés de synthèse et d'adopter la meilleure stratégie possible. Le nombre d'étapes, le coût des réactifs et la dangerosité des synthèses ont été pris en compte. Les conditions expérimentales exploitées sont, pour chaque étape, issues d'une étude bibliographique poussée, ou bien proviennent du savoir-faire du laboratoire.

Les synthèses et purifications difficiles ont autant que possible été optimisées, dans le but d'obtenir les produits désirés avec une pureté d'au moins 95% (déterminée par HPLC). En termes de quantités, les synthèses ont été exécutées de manière à obtenir une quantité nécessaire et suffisante pour la réalisation de l'ensemble des tests biologiques.

Chaque structure a été caractérisée par spectroscopie RMN du proton et du carbone via des expériences 1D et 2D, ainsi que par spectrométrie de masse. Dans le cas des composés à l'état solide, une température de fusion ou de dégradation a également été mesurée.

V.2.3. Evaluation biologique des VDAs

Chaque composé a fait l'objet d'une évaluation biologique qui s'est déroulée en trois étapes. D'abord, une mesure de la capacité des composés à inhiber la polymérisation de la tubuline a été réalisée. Un test d'inhibition de la prolifération cellulaire a ensuite été effectué sur deux lignées cellulaires, ainsi qu'un test de migration cellulaire sur l'une de ces lignées. Le principe des tests biologiques est détaillé ci-après.

- **Test l'inhibition de la polymérisation de la tubuline**

Ce test a été réalisé par l'entreprise Cytoskeleton, Inc., à partir de tubuline isolée de cerveau de porc. Dans un milieu contenant la tubuline est introduit du 4',6-diamidino-2-phénylindole (DAPI). A cet instant, cette molécule ne présente pas de fluorescence notable. En revanche, lorsque la tubuline polymérise en microtubules (sous l'effet de GTP), le DAPI se lie à ces derniers, et devient alors fortement fluorescent. En mesurant cette fluorescence, il est alors possible de calculer le taux de polymérisation de la protéine.⁸⁶

Ce test de fluorescence permet ainsi de mesurer la capacité d'un VDA à inhiber la polymérisation de la tubuline. En effet, plus un VDA est efficace, moins la tubuline polymérise, plus la fluorescence du milieu est faible.

- **Test d'inhibition de la prolifération cellulaire**

Ce test, également appelé test de viabilité cellulaire ou test MTT, a été réalisé sur deux lignées cellulaires :

- Les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (**HUVEC** : *Human Umbilical Vein Endothelial Cells*). Cette lignée est en effet une référence dans l'étude des pathologies liées à l'angiogenèse, les cellules endothéliales étant au cœur de ce processus.⁸⁷
- Les cellules synoviocytes de lapin (**HIG-82**). Ces cellules ont pour rôle la production du liquide synovial indispensable au bon fonctionnement de l'articulation. Les VDAs ciblent l'articulation dans le cadre de ce projet, justifiant le choix de cette lignée.

L'activité antiproliférative des composés synthétisés a été déterminée en réalisant un test au bromure de méthylthiazolyldiphényltétrazolium, plus communément appelé test MTT. Il s'agit d'une méthode de numération des cellules vivantes par colorimétrie.

Les cellules sont dispersées sur une plaque à 96 puits dans leur milieu de culture. Dans chaque puits est déposée une solution de la molécule testée, à une concentration connue. Après 72 heures d'incubation, les traitements sont remplacés par une solution de MTT. Ce composé de couleur jaune, au contact des cellules vivantes présentant encore une activité mitochondriale, est alors réduit en formazan, un composé violet, par une enzyme : la succinate déshydrogénase mitochondriale (SDH) (Figure 25).

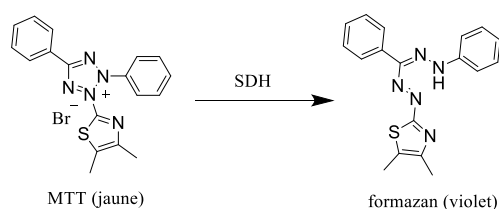


Figure 25 : Transformation du MTT par la SDH

L'intensité de la coloration étant proportionnelle à la concentration en cellules viables, il est alors possible de déterminer une CI_{50} (concentration inhibitrice médiane), c'est-à-dire la concentration de composé pour laquelle 50% des cellules demeurent viables en fin de traitement.

Une fois les deux CI_{50} mesurées, un ratio $CI_{50}(\text{HIG-82})/CI_{50}(\text{HUVEC})$ a été calculé afin d'évaluer la sélectivité des potentiels VDAs pour l'une ou l'autre lignée. Les molécules étant destinées à agir au niveau des cellules endothéliales tout en préservant l'intégrité des cellules de cartilage, le ratio est satisfaisant s'il est supérieur à 1.

- **Test d'inhibition de la migration cellulaire**

Ce test a été réalisé exclusivement sur les cellules HUVEC. Il s'agit en effet des cellules dont on souhaite ralentir la migration. Ce modèle est largement utilisé pour l'étude des pathologies liées à l'angiogenèse.⁸⁸ En effet, la migration des cellules endothéliales est au cœur du processus angiogénique, et est indispensable pour la formation des vaisseaux sanguins (Figure 11). Mesurer l'inhibition de cette migration permet ainsi d'évaluer le caractère VDA d'un composé.^{89,90}

Les cellules sont dispersées sur une plaque à 6 puits. Une fois à confluence, une « blessure » longitudinale est réalisée au milieu de chaque puits, générant ainsi deux tapis cellulaires distincts, séparés par une certaine distance.

Dans chaque puits est ensuite déposée une solution de la molécule à tester. Pour chaque potentiel VDA, deux concentrations ont été sélectionnées, à savoir $CI_{50}/2$ et $CI_{50}/10$, afin de mesurer leur activité à des doses non toxiques.⁹¹ Une fois les traitements déposés dans chaque puits, la vitesse de fermeture de la blessure est mesurée, cette dernière correspondant à la capacité des cellules à migrer (Figure 26).

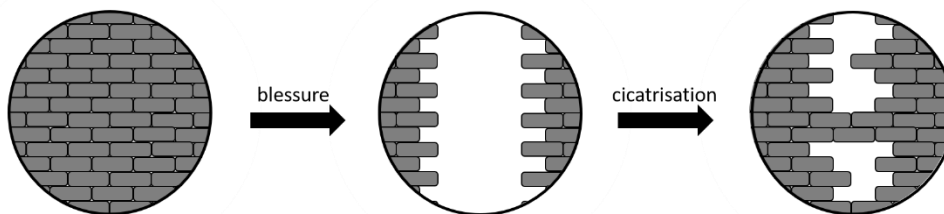


Figure 26 : Etapes du test d'inhibition de la migration cellulaire

Dans ce rapport seront détaillés les éléments ayant conduit à la conception, la synthèse et l'évaluation de nouveaux VDAs selon la démarche scientifique précédemment exposée.

Chapitre 2. Résultats et Discussion

I. Série indoles

I.1. Conception de la série indoles

La série indoles découle des travaux de recherche de Mélissa CUCCA, dont est issu notamment l'indole **B1**.⁸⁵ En effet, l'évaluation *in vitro* de ce dernier a apporté des résultats encourageants, en particulier une augmentation notable du temps de recouvrement de la cicatrice lors du test de migration cellulaire. Afin d'optimiser son activité, trois molécules comportant le même squelette 3-(4-hydroxyphényl)indole ont été envisagées (Figure 27).

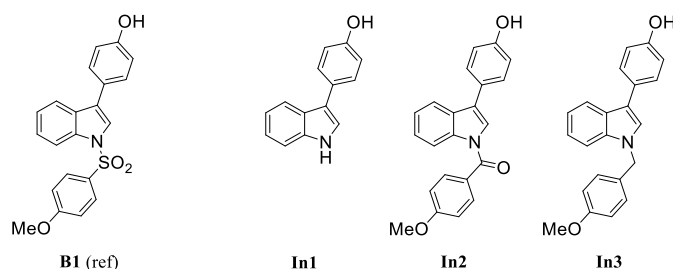


Figure 27 : Série indoles

Cette première série est constituée de trois analogues de **B1** : **In1**, qui n'est pas *N*-substitué, ainsi que **In2** et **In3** pour lesquels le groupement sulfonyle a été remplacé respectivement par un groupement carbonyle et un groupement méthylène. Comparer les activités de **B1** et **In1** permettra de vérifier l'importance du groupement (4-méthoxyphényl)sulfonyle du composé de référence **B1**. D'autre part, l'intérêt des indoles *N*-substitués par un groupement 4-méthoxybenzyle (**In2**) et 4-méthoxyphényl (**In3**) est d'étudier l'influence de la variabilité de la chaîne reliant le groupement 4-méthoxyphényle à l'indole.

I.2. Synthèse de la série indoles

La synthèse de l'indole de référence **B1**, optimisée par Mélissa CUCCA lors de ses travaux de thèse, comporte trois étapes (Schéma 1). La sulfonylation de l'indole en présence d'hydroxyde de potassium et d'hydrogènesulfate de tétrabutylammonium (TBAHS : tétrabutylammonium hydrogènesulfate) a permis la formation de l'indole *N*-sulfonylé **MC1** avec un rendement de 73%. Ce dernier a été bromé en présence de *N*-bromosuccinimide (NBS), formant ainsi le 3-bromoindole **MC2** (87%). Enfin, un couplage de Suzuki avec l'acide (4-hydroxyphényl)boronique a conduit à l'indole cible **B1** (93%), le rendement global s'élevant ainsi à 59% en trois étapes.⁸⁵

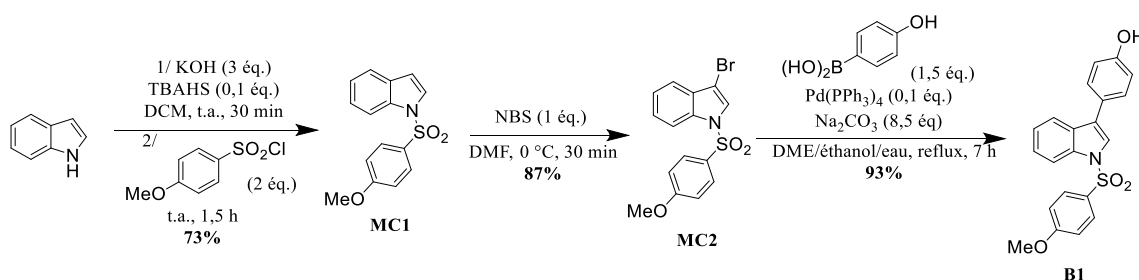


Schéma 1 : Synthèse optimisée de l'indole de référence **B1**

Ces rendements élevés nous ont ainsi conduits à adapter cette voie de synthèse aux cibles **In1**, **In2** et **In3**.

Ainsi, les cibles seraient préparées au départ de l'acide (4-hydroxyphényl)boronique et les 3-bromoindoles correspondants via un couplage de Suzuki. Les 3-bromoindoles proviendraient de la bromation des indoles *N*-fonctionnalisés, lesquels seraient issus d'une amidation dans le cas de **In2** et d'une benzoylation dans le cas de **In3**. La cible **In1** n'est pas concernée par l'étape de *N*-fonctionnalisation (R = H) (Schéma 2).

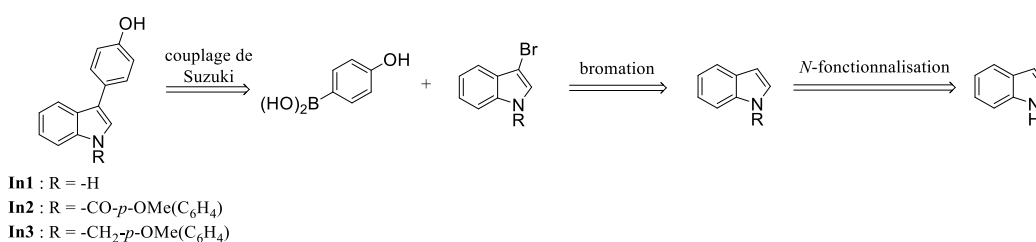


Schéma 2 : Approche rétrosynthétique des indoles **In1**, **In2** et **In3**

Notons toutefois qu'il existe une approche différente pour la synthèse des trois composés. En effet, réaliser la *N*-fonctionnalisation lors de la dernière étape apporterait une plus grande convergence à la voie de synthèse. Cependant, l'ordre des étapes précédemment décrit ayant permis la synthèse de la référence **B1** avec des rendements importants, il a été décidé d'appliquer également cette voie de synthèse aux cibles **In1**, **In2** et **In3**.

I.2.1. Synthèse de la cible **In1**

La première étape de la synthèse consiste donc en la bromation de l'indole en position 3 (Schéma 3). Deux conditions ont été testées, en présence de NBS ou de dibrome.^{92,93} Cependant, les deux conditions de bromation se sont révélées infructueuses, probablement du fait de l'instabilité du 3-bromoindole résultant, comme nous le verrons par la suite (Tableau 1, entrées 1 et 2).

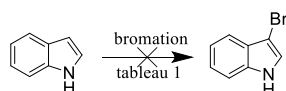


Schéma 3 : Bromation de l'indole

Tableau 1 : Conditions de bromation de l'indole

entrée	conditions	observations	référence
1	NBS (1 éq.) DCM, 0 °C, 2 h	pas d'évolution par chromatographie sur couche mince (CCM) (produit de départ)	92
2	Br ₂ (1,05 éq.) DMF, 0 °C, 2 h	pas d'évolution par CCM (produit de départ)	93

Une étape de protection de l'indole a alors été envisagée en amont de la bromation. Deux groupements protecteurs ont été sélectionnés, à savoir *tert*-butoxycarbonyle (Boc) et triisopropylsilyyle (TIPS). En effet, ces deux groupements sont a priori compatibles avec la voie de synthèse. Les conditions de bromation ont finalement été appliquées au départ des indoles protégés (Schéma 4 et Tableau 2).

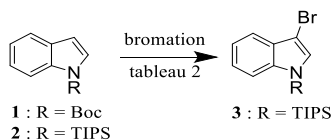


Schéma 4 : Bromation de l'indole protégé

Tableau 2 : Conditions de bromation de l'indole protégé

entrée	R	conditions	observations	référence
1	Boc*	NBS (1 éq.) DCM, 0 °C, 4 h	pas d'évolution par CCM (produit de départ)	92
2		Br ₂ (1,05 éq.) DMF, 0 °C, 1 h	pas d'évolution par CCM (produit de départ)	93
3	TIPS**	NBS (1 éq.) DCM, 0 °C, 2 h	3 : rendement isolé = 99%	92

* conditions de protection : Boc₂O (2 éq.), DMAP (1,5 éq.), THF, t.a., 1 h (rendement : 98%)⁹⁴

** conditions de protection : nBuLi (1,2 éq.), TIPSCl (1,2 éq.), THF, t.a., 24 h (rendement : 98%)⁹⁵

La bromation du *N*-Boc-indole **1** semble impossible dans les conditions testées (Tableau 2, entrées 1 et 2).^{92,93} Ce résultat peut s'expliquer par la faible réactivité de la position 3 de cet indole protégé. En effet, en l'absence de groupement protecteur, le doublet non liant de l'atome d'azote favorise la nucléophilie du carbone 3 par effet mésomère donneur. En revanche, en présence du groupement Boc, la délocalisation de ces électrons non liants s'effectue en partie sur le groupe carbonyle par effet mésomère attracteur, réduisant ainsi la nucléophilie du carbone 3 (Schéma 5).

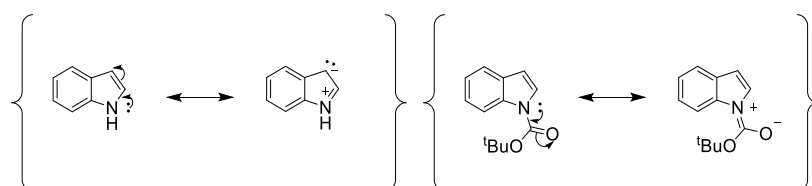


Schéma 5 : Influence du groupement Boc sur la réactivité de la position 3 de l'indole

Ce résultat peut, dans un premier temps, sembler contradictoire avec le rendement de 87% obtenu lors de la bromation de l'indole *N*-sulfonylé, le groupement sulfonyle semblant encore davantage électroattracteur que le groupement Boc (Schéma 1). Ce même phénomène a été observé par Isabelle CHATAIGNER dans le cas d'un pyrrole *N*-substitué. Dans une étude conformationnelle, cette dernière propose une explication à ce résultat.

Selon la nature du groupement R connecté à l'atome d'azote, l'angle généré par le plan du cycle et la liaison N-R peut varier. Dans le cas d'un pyrrole N-carbonylé (R = COOMe), cet angle est de 180°. Le système est donc plan, favorisant la conjugaison électronique. En revanche, dans le cas d'un pyrrole N-sulfonylé (R = SO₂Me), cet angle n'est que de 173,1°, défavorisant la délocalisation des électrons non liants de l'atome d'azote sur le groupement sulfonyle (Figure 28).⁹⁶

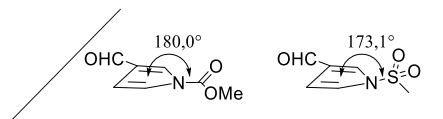


Figure 28 : Influence de la nature du substituant du pyrrole sur l'angle généré par la liaison N-X et le plan du cycle

En d'autres termes, le doublet non liant de l'azote participe davantage à la conjugaison au sein du cycle dans le cas du pyrrole N-sulfonylé que dans le cas du pyrrole N-carbonylé.

En extrapolant, nous avons supposé que de la même manière, dans le cas de l'indole, le doublet non liant de l'atome d'azote est plus impliqué dans la conjugaison du cycle lorsqu'il s'agit d'un indole N-sulfonylé (**MC1**) que lorsqu'il s'agit d'un indole N-carbonylé (**1**). Dans le second cas, la position 3 est ainsi moins réactive, défavorisant la réaction de bromation. Dans le cas de l'indole protégé par un groupement TIPS (**2**), la nucléophilie du carbone 3 n'est pas affectée, car ce groupement n'implique pas d'effet mésomère particulier (Schéma 6).

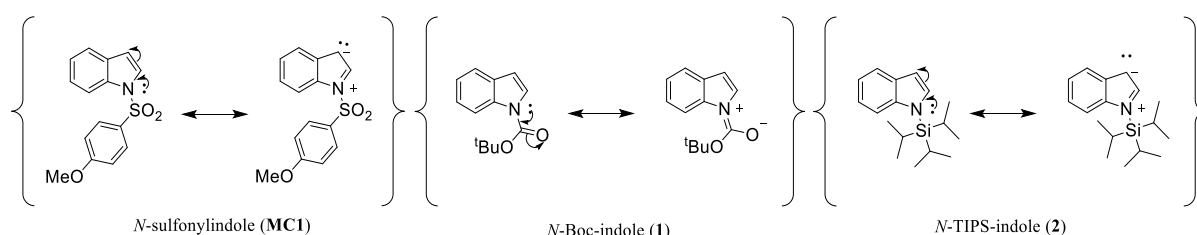


Schéma 6 : Réactivité de la position 3 de l'indole en fonction de la nature du groupement lié à l'atome d'azote

Ainsi, la bromation du N-TIPS-indole **2** en présence de NBS a permis la formation du bromoindole **3** avec un rendement de 99% (Tableau 2, entrée 3).⁹²

Un couplage de Suzuki entre le bromoindole protégé **3** et l'acide (4-hydroxyphényl)boronique a conduit à l'indole **4** avec un rendement de 34%.⁹⁷ Deux raisons expliquent ce faible rendement. D'une part, pour une quantité non négligeable de produit de couplage, on assiste au clivage du groupement TIPS. Cette déprotection nous permet néanmoins d'accéder directement à la cible **In1** désirée. D'autre part, bien que le suivi de réaction par CCM confirme la consommation totale du bromoindole **3**, un nombre important d'impuretés se forment, complexifiant l'étape de purification et abaissant le rendement isolé (Schéma 7).

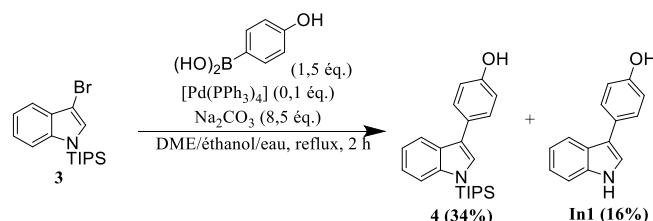


Schéma 7 : Couplage de Suzuki entre le bromoindole **3** et l'acide (4-hydroxyphényl)boronique

Afin d'augmenter les quantités disponibles de la cible **In1**, l'indole **4** a été déprotégé en présence de fluorure de tétra-*n*-butylammonium (TBAF), conduisant au produit désiré avec un rendement de 90% (Schéma 8).⁹⁵

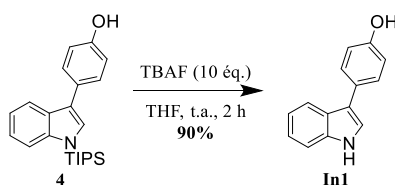


Schéma 8 : Déprotection de l'indole **4**

La cible **In1** a ainsi été synthétisée avec un rendement global de 30% en quatre étapes. Une piste envisageable d'optimisation de cette voie de synthèse serait un regroupement du couplage de Suzuki et de la déprotection de l'indole. Le nombre d'étapes de purification serait ainsi minimisé. Néanmoins, la quantité obtenue étant suffisante pour réaliser les tests biologiques, la voie de synthèse n'a pas été davantage optimisée.

1.2.2. Synthèse de la cible **In2**

D'après le schéma rétrosynthétique envisagé précédemment, la première étape de la synthèse de la cible **In2** est l'amidation de l'indole, suivie par une bromation en position 3 (Schéma 9).

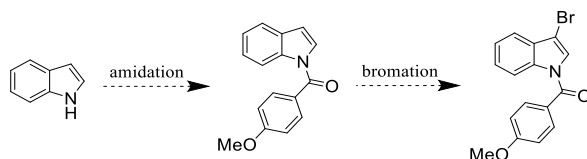


Schéma 9 : Amidation et bromation de l'indole

Cependant, la bromation de l'indole protégé par un groupement Boc n'ayant abouti ni en présence de NBS, ni en présence de dibrome (Tableau 2, entrées 1 et 2), nous pouvons supposer que la voie de synthèse envisagée n'est pas adaptée. Les étapes d'amidation et de bromation ont alors été inversées.

Nous avons choisi d'exploiter l'intermédiaire de synthèse **3** préparé précédemment comme point de départ (Schéma 10). La première étape consiste en la déprotection de l'indole en présence de TBAF.⁹⁵ Le 3-bromoindole **5** résultant a ainsi été obtenu avec un rendement de 98%. Ce dernier est cependant instable. En effet, nous avons observé sa dégradation totale au bout d'une nuit malgré sa conservation à 4 °C sous atmosphère inerte. Ceci explique par ailleurs que les tentatives de bromation de l'indole non protégé n'aient pas abouti (Schéma 3 et Tableau 1). Le 3-bromoindole **5** a donc été directement engagé sans autre traitement qu'une extraction liquide-liquide. L'amidation de l'indole **5** en présence de chlorure de 4-méthoxybenzoyl a finalement conduit au composé **6** avec un rendement de 78%.⁹⁸ Cependant, les conditions de couplage de Suzuki appliquées au bromoindole **6** ont conduit à la dégradation totale de ce dernier, ne permettant pas l'obtention de la cible **In2**.⁹⁷

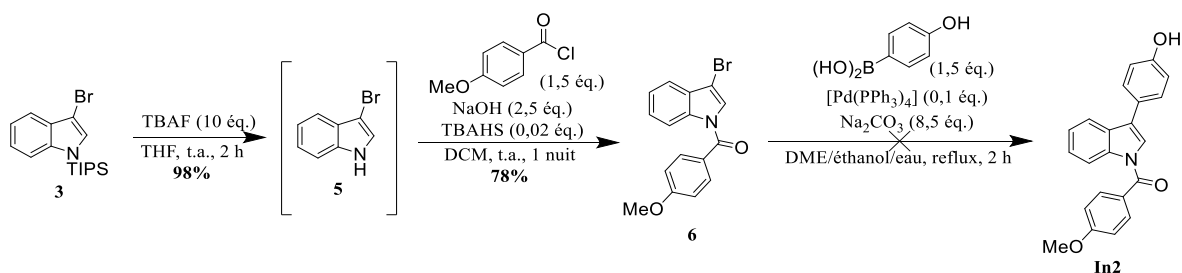


Schéma 10 : Déprotection, amidation de l'indole **3** et couplage de Suzuki avec l'acide (4-hydroxyphényl)boronique

La stratégie de synthèse a ainsi été révisée. La cible **In2** proviendrait de l'amidation de l'indole substitué en position 3. Ce dernier serait obtenu à partir du 3-bromoindole protégé **3** en une seule étape regroupant couplage de Suzuki et déprotection de l'indole (Schéma 11).

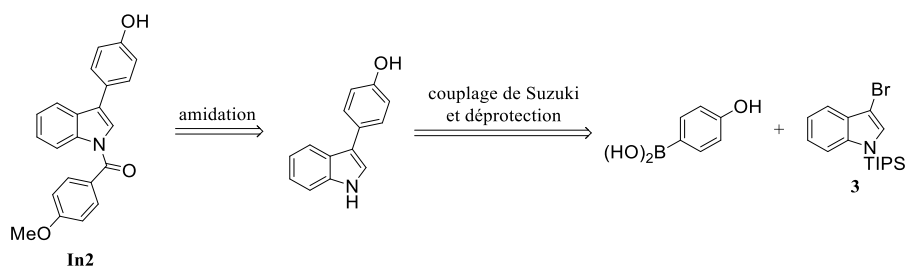


Schéma 11 : Approche rétrosynthétique révisée de l'indole **In2**

Néanmoins, la présence d'un groupement phénol lors de la réaction d'amidation en présence d'un chlorure d'acyle risquant de favoriser une estérification parasite, l'intégration d'un groupement protecteur de la fonction phénol semble nécessaire (Schéma 12). Le choix de ce groupement protecteur doit être réalisé en fonction des contraintes liées à la synthèse. D'une part, il doit résister à la déprotection de l'indole et donc aux ions fluorure, ainsi qu'à la réaction d'amidation en milieu basique. Son clivage doit se réaliser sans incidence sur la fonction amide, donc dans des conditions non acides. Enfin, l'acide boronique nécessaire à l'étape de couplage doit idéalement être commercial.

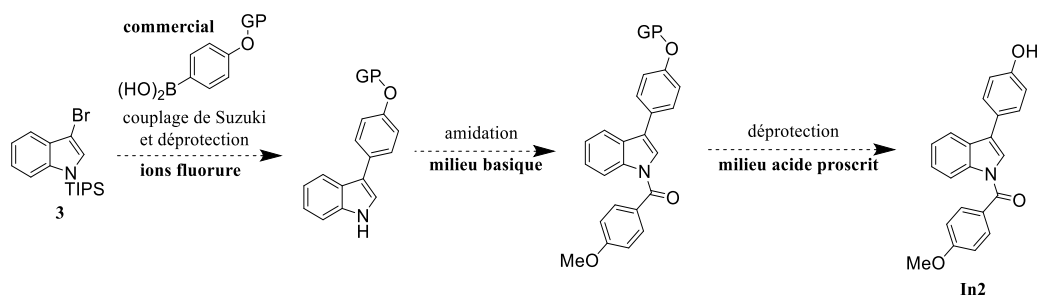


Schéma 12 : Etapes-clé de la synthèse de la cible **In2**

Un groupement benzyle semble être un bon candidat dans le cadre de cette nouvelle stratégie de synthèse, car il respecte les contraintes précédemment énumérées. De plus, l'acide boronique correspondant est commercial. Ce groupement protecteur de la fonction phénol a ainsi été choisi.

Cette stratégie de synthèse a ainsi été appliquée au départ du 3-bromoindole protégé **3** (Schéma 13). Un couplage de Suzuki entre ce dernier et l'acide (4-benzyloxyphényl)boronique suivi par une déprotection de l'indole a permis la formation du 3-(4-benzyloxyphényl)indole **7**.^{95,97} Lors de cette étape, la totalité du substrat a été consommée. Cependant, une impureté générée lors du couplage a entraîné des difficultés lors des purifications, ne permettant pas d'isoler la totalité du produit, d'où un faible rendement de 20%. Une étape d'amidation en présence de chlorure de 4-méthoxybenzoyle a ensuite conduit à l'amide **8** avec un rendement moyen de 62%, là encore en raison d'impuretés compliquant l'étape de purification.⁹⁸ Enfin, la cible **In2** a été obtenue en déprotégeant la fonction phénol du composé **8** au moyen d'un hydrogénateur en flux continu.⁹⁹ Cependant, après consommation de la moitié du substrat, le milieu réactionnel n'évolue plus, sans doute en raison de la qualité du catalyseur utilisé. En effet, l'hydrogénateur employé fonctionne à partir de cartouches contenant le catalyseur. Or, la cartouche utilisée lors de cette expérience n'était pas neuve. La conversion du composé **8** n'étant pas complète, le rendement de cette étape atteint seulement 41%.

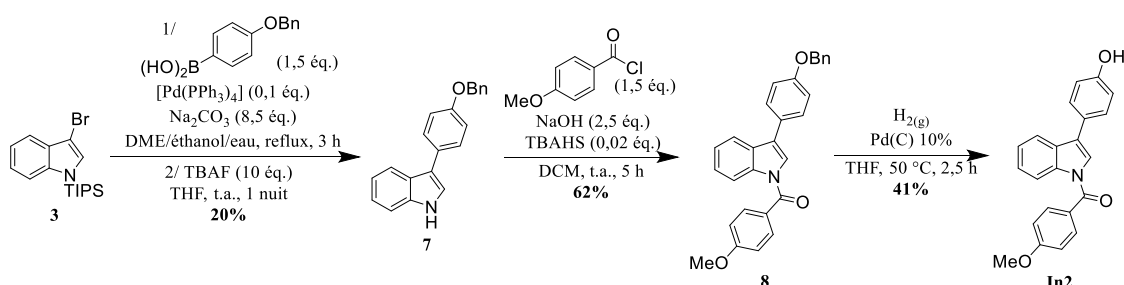


Schéma 13 : Synthèse de la cible **In2**

La cible **In2** a finalement été obtenue avec un rendement global de 5% en cinq étapes. L'optimisation des purifications lors des étapes de couplage et d'amidation n'a pas été réalisée, mais semble être la piste principale d'amélioration du rendement global de cette voie de synthèse.

1.2.3. Synthèse de la cible **In3**

La stratégie de synthèse consistant à intégrer un groupement protecteur de la fonction phénol ayant porté ses fruits dans le cas de l'indole **In2**, la même stratégie a été appliquée à la cible **In3** (Schéma 14). De même, le choix du groupement protecteur doit être réalisé en fonction des contraintes de la synthèse. Il doit résister aux ions fluorure présents lors de la déprotection de l'indole, ainsi qu'aux conditions basiques employées lors de la benzylation. Enfin, le clivage de ce groupement protecteur doit pouvoir être réalisé sans incidence sur le groupement benzyle, et donc sans hydrogène. Comme précédemment, l'acide boronique correspondant doit idéalement être commercial.

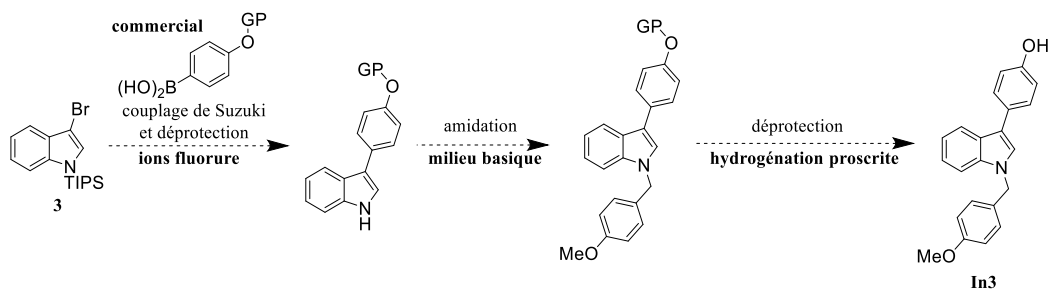


Schéma 14 : Etapes-clé de la synthèse de **In3**

Un groupement méthoxyméthoxy (MOM) semble cette fois-ci plus adapté, car il respecte les nouvelles contraintes de la synthèse. De plus, l'acide boronique correspondant est commercial. Ce groupement protecteur de la fonction phénol a ainsi été choisi.

Comme dans le cas de la cible **In2**, le bromoindole **3** est le point de départ de la synthèse (Schéma 15). Un couplage de Suzuki immédiatement suivi d'une déprotection de l'indole a conduit au 3-(4-(méthoxyméthoxy)phényl)indole **9**.^{95,97} Lors de cette étape, la totalité du substrat est consommée. Cependant, la présence d'une impureté a rendu difficile l'étape de purification. Le rendement isolé atteint alors seulement 26%. La benzyltion de l'indole **9** en présence d'hydrure de sodium et de bromure de 4-méthoxybenzyle a conduit au composé **10** (61%).⁹⁵ Enfin, la déprotection de la fonction phénol de l'intermédiaire de synthèse **10** a été réalisée en présence d'acide chlorhydrique.¹⁰⁰ Diverses conditions ont été testées, conduisant à des rendements variables (Tableau 3).

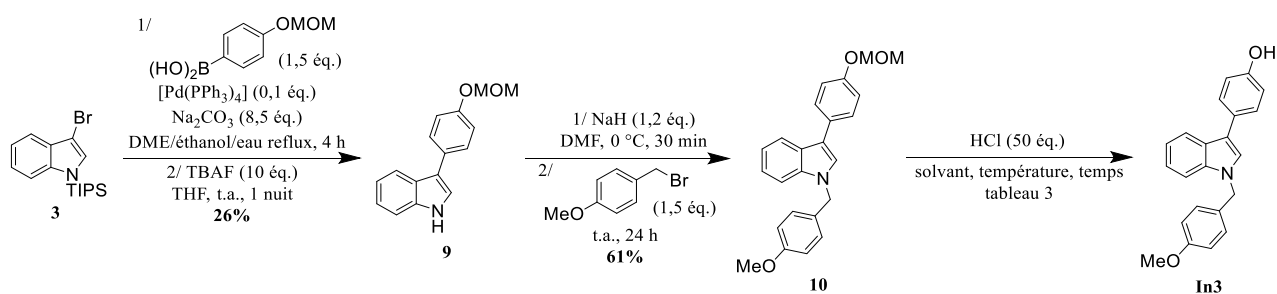


Schéma 15 : Synthèse de la cible **In3**

Tableau 3 : Conditions de déprotection de la fonction phénol de l'intermédiaire **10**

entrée	solvant	température	temps de réaction	observations	référence
1	méthanol	t.a.	72 h	In3 : rendement isolé = 9%	100
2	THF	t.a.	48 h	In3 : rendement isolé = 17%	
3		50 °C	24 h	In3 : rendement isolé = 77%	

Chaque condition a permis l'obtention de la cible, avec une efficacité plus ou moins importante. La faible solubilité du substrat **10** dans le méthanol ne permet pas à la réaction d'avancer suffisamment. Le rendement isolé dans ce solvant n'atteint que 9% au bout de 72 heures (Tableau 3, entrée 1). Dans le THF, les rendements sont meilleurs et les temps de réaction plus courts. Ainsi, à température ambiante, le rendement isolé atteint 17% en 48 heures (Tableau 3, entrée 2). Les conditions les plus efficaces, c'est-à-dire dans le THF et à 50 °C ont permis au rendement d'atteindre 77% en 24 heures (Tableau 3, entrée 3).¹⁰⁰

La cible **In3** a finalement été obtenue à partir de l'indole avec un rendement global de 12% en cinq étapes. Afin d'optimiser cette voie de synthèse, l'amélioration de l'étape de couplage de Suzuki semble être la piste privilégiée. Néanmoins, la quantité d'indole **In3** obtenue étant suffisante pour réaliser les tests biologiques, cette optimisation n'a pas été réalisée.

I.3. Evaluation de la série indoles

Les résultats de l'évaluation biologique (inhibition de la polymérisation de la tubuline, viabilité cellulaire et migration cellulaire) des trois cibles précédemment synthétisées sont exposés ci-après et comparés aux activités de trois références : E7010, la CA4 et **B1** (Figure 29).

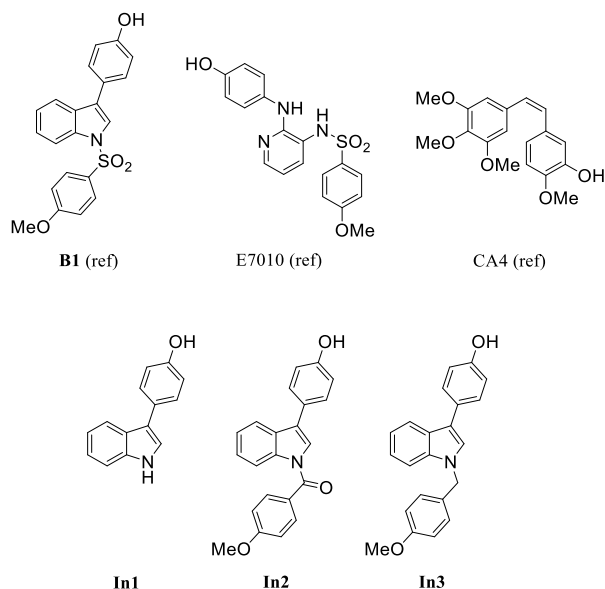


Figure 29 : Structure des références **B1**, E7010, CA4 et des cibles **In1**, **In2**, **In3**

I.3.1. Test d'inhibition de la polymérisation de la tubuline

L'évaluation de la série indoles au test d'inhibition de la polymérisation de la tubuline a apporté les résultats suivants (Tableau 4) :

Tableau 4 : Evaluation de la série indoles au test d'inhibition de la polymérisation de la tubuline (n = 2)

composé	CI ₅₀ (μM)
E7010 (référence)	0,4 ⁸⁵
CA4 (référence)	2,2 ⁸⁵
B1 (référence)	9,0 ± 1,0
In1	> 100
In2	4,0 ± 0,3
In3	7,2 ± 0,7

L'indole **In2** est environ 2 fois plus efficace que **B1**, malgré une activité 2 fois inférieure à celle de la CA4 et 10 fois inférieure à celle de E7010. Ainsi, le remplacement du groupement sulfonyle par un carbonyle semble être bien toléré et efficace pour inhiber la polymérisation de la tubuline. D'autre part, **B1** et **In3** présentent une efficacité similaire. Enfin, sans surprise, la cible **In1** n'inhibe pas la polymérisation de la tubuline, confirmant l'importance du groupement 4-méthoxyphényle pour l'activité.

I.3.2. Test d'inhibition de la prolifération cellulaire

L'évaluation de la série indoles au test de viabilité cellulaire sur les deux lignées HUVEC et HIG-82 a apporté les résultats suivants (Tableau 5) :

Tableau 5 : Evaluation de la série indoles au test de viabilité cellulaire (n = 3-6)

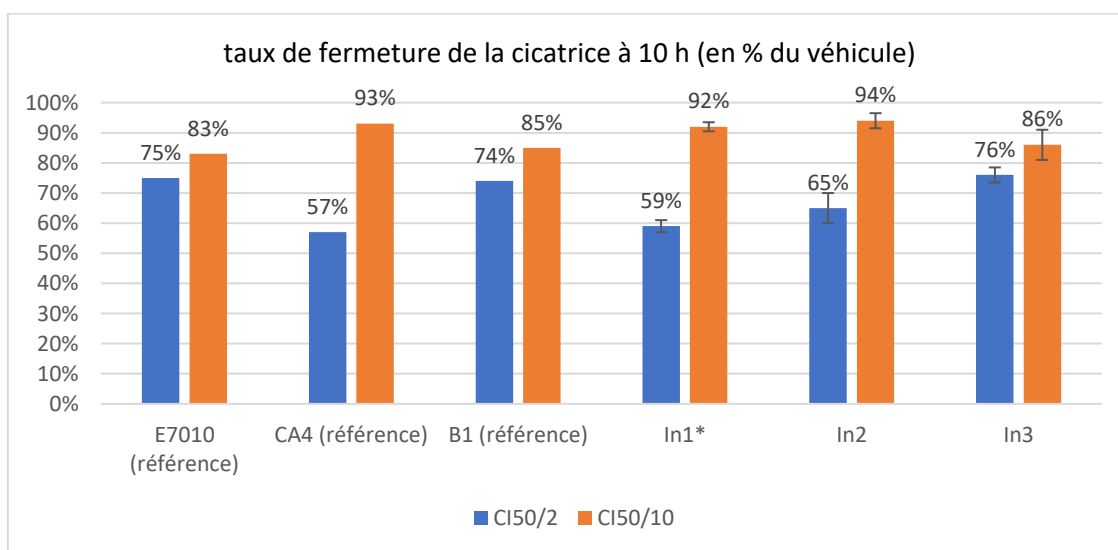
composé	CI ₅₀ HUVEC (nM)	CI ₅₀ HIG-82 (nM)	ratio HIG-82/HUVEC
E7010 (référence)	93 ⁸⁵	220 ⁸⁵	2,4
CA4 (référence)	2,34 ⁸⁵	3,51 ⁸⁵	1,5
B1 (référence)	279 ⁸⁵	1 195 ⁸⁵	4,3
In1	> 50 000	> 50 000	non déterminé (ND)
In2	126 ± 4	394 ± 16	3,1
In3	221 ± 8	503 ± 23	2,3

In2 et **In3** présentent une activité antiproliférative plus importante que **B1** pour les deux lignées, avec des CI₅₀ de l'ordre de 100-200 nM pour les HUVEC et de 400-500 nM pour les HIG-82. Ils sont par ailleurs sélectifs pour la lignée HUVEC, avec un ratio de l'ordre de 2-3. Cette sélectivité est similaire à celle de E7010 et meilleure que celle de la CA4, mais inférieure à celle de **B1**. Quant à **In1**, son activité antiproliférative n'a pu être mesurée pour aucune des deux lignées. En effet, les CI₅₀ se situent dans une gamme de concentration tellement haute qu'elles n'ont pas été atteintes. Là encore, on en déduit que le groupement 4-méthoxyphényle est indispensable pour l'activité des composés.

I.3.3. Test d'inhibition de la migration cellulaire

L'évaluation de la série indoles au test de migration cellulaire sur la lignée HUVEC a apporté les résultats suivants (Graphique 1) :

Graphique 1 : Evaluation de la série indoles au test de la migration cellulaire (n = 3)



* La CI₅₀ n'ayant pas pu être mesurée sur la lignée HUVEC pour **In1**, le test de la migration cellulaire a été réalisé avec les concentrations de 25 000 nM et 5 000 nM. Ces valeurs sont inférieures respectivement à CI₅₀/2 et CI₅₀/10 (62% de viabilité cellulaire à 50 000 nM).

A la concentration $CI_{50}/2$, l'indole **In2** présente une activité VDA plus importante que **B1** et E7010 avec 65% de fermeture de la cicatrice contre respectivement 74% et 75% pour les références. Cette activité est cependant plus faible que celle de la CA4 (57%). A faible concentration ($CI_{50}/10$), **In2** est néanmoins moins actif que les références. **In3** présente un caractère VDA similaire **B1** et E7010 aux deux concentrations testées. Quant à **In1**, son activité semble rejoindre celle de la CA4 aux deux concentrations. Notons cependant que cette activité n'est a priori pas liée à une inhibition de la polymérisation de la tubuline (Tableau 4).

I.3.4. Conclusion

La cible **In2** et la référence **B1** sont toutes deux de bons candidats pour des raisons différentes. **In2** présente la meilleure activité VDA à la concentration $CI_{50}/2$. L'intérêt de **B1** réside en revanche dans son activité à la faible concentration de $CI_{50}/10$, ainsi que dans sa sélectivité importante pour la lignée HUVEC.

Notons par ailleurs que les tests réalisés montrent que le groupement 4-méthoxyphényle est indispensable pour l'activité VDA.

Les indoles **In2** et **B1** pourraient être évalués pour leur activité *in vivo*, une fois qu'un modèle sera développé et validé.

La modification des substituants de l'indole B1 a donc permis l'obtention d'une molécule présentant une activité intéressante : l'indole In2. Cependant, le caractère VDA observé ne semble pas se maintenir à faible concentration. Nous avons alors conçu de nouveaux composés originaux, en adoptant une stratégie ayant prouvé son efficacité à de multiples reprises : une stratégie d'hybridation.

II. Série hybrides

Nous avons envisagé la conception d'une nouvelle famille de molécules en adoptant une approche combinatoire, c'est-à-dire en regroupant les activités de plusieurs molécules. Cette stratégie peut être mise en œuvre de deux manières différentes :

- Il est d'abord possible d'effectuer une **association** de principes actifs. C'est le cas par exemple du DAFALGAN® codéiné qui combine paracétamol et codéine, ou de l'IXPRIM® qui combine paracétamol et tramadol. Dans ces deux exemples, l'objectif de l'association opioïde-analgique périphérique est de réduire les doses d'opioïdes administrées, et donc de limiter les effets indésirables.^{19,20} Dans le cas de l'association de principes actifs, ces derniers ne sont pas combinés entre eux par une liaison chimique mais sont indépendants l'un de l'autre.
- Il est également possible de lier chimiquement deux principes actifs, on parle alors d'**hybridation**. Dans ce cas, les composés ne sont pas indépendants l'un de l'autre.¹⁰¹

II.1. Stratégie d'hybridation – bibliographie

Théoriquement, il est possible de combiner un grand nombre de composés en une seule structure. Cependant, les exemples les plus courants décrits dans la littérature concernent l'hybridation de deux principes actifs. Trois classes d'hybrides sont ainsi répertoriées (Figure 30) :¹⁰²

- Les **hybrides conjugués** sont constitués de deux molécules actives liées entre elles par un groupement chimique appelé espaceur, ce dernier n'apparaissant sur aucun des composés actifs de départ. Cette stratégie est adaptée par exemple lorsque les deux composés ciblent deux sites différents. Dans ce cas, la longueur de l'espaceur est adaptée en fonction de la distance les séparant.
- Les **hybrides combinés** sont constitués de deux molécules actives liées entre elles directement. Ce type de combinaison est un cas particulier des hybrides conjugués, pour lequel aucun espaceur ne sépare les deux composés de départ.
- Les **hybrides fusionnés** consistent en une combinaison des pharmacophores des deux molécules actives en une seule structure. Dans ce cas, seulement une partie des composés actifs de départ est présente sur la molécule hybride : les pharmacophores sont en quelque sorte « mélangés ». Cette approche peut être appliquée entre autres dans le cas de deux molécules ciblant le même site biologique mais n'établissant pas rigoureusement les mêmes interactions.

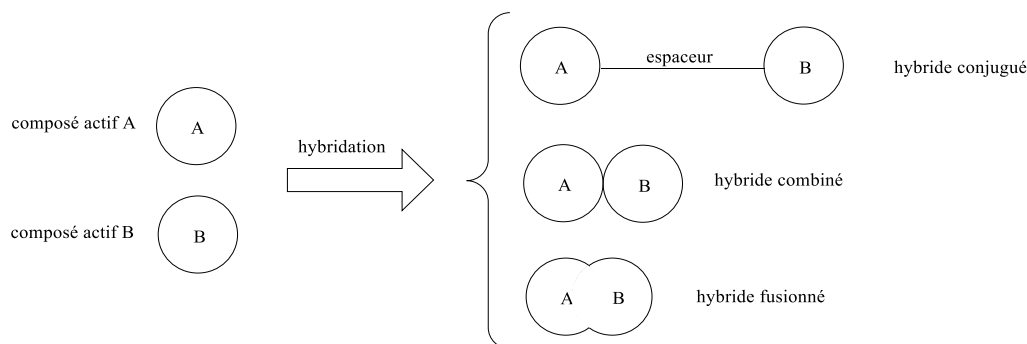


Figure 30 : Stratégies d'hybridation

La stratégie d'hybridation est largement exploitée en oncologie, par exemple à travers la conception de nouveaux agents inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline.¹⁰³ On peut citer entre autres les travaux de Xuan ZHANG, qui a élaboré un hybride colchicine-mocétinostat, qui couple l'activité inhibitrice de la colchicine et du mocétinostat sur les lignées de cellules cancéreuses testées (Figure 31).¹⁰⁴

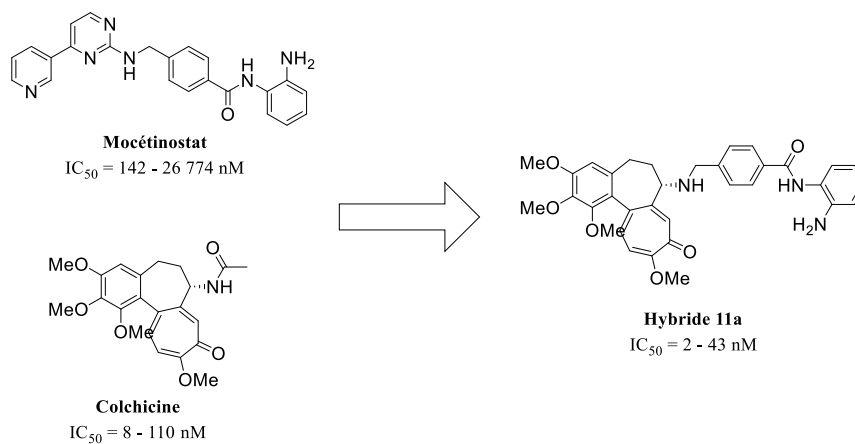


Figure 31 : Stratégie d'hybridation - exemple de la littérature

II.2. Conception de la série hybrides

Nous avons choisi d'appliquer cette approche de conception au cadre de ce projet. Pour ce faire, nous avons sélectionné des VDA considérés comme références dans la littérature, à savoir E7010 et la CA4.

L'activité VDA de ces deux composés réside dans leur affinité avec le site de la colchicine. En effet c'est au niveau de ce site actif qu'ils interagissent (Figure 32).^{105,106}

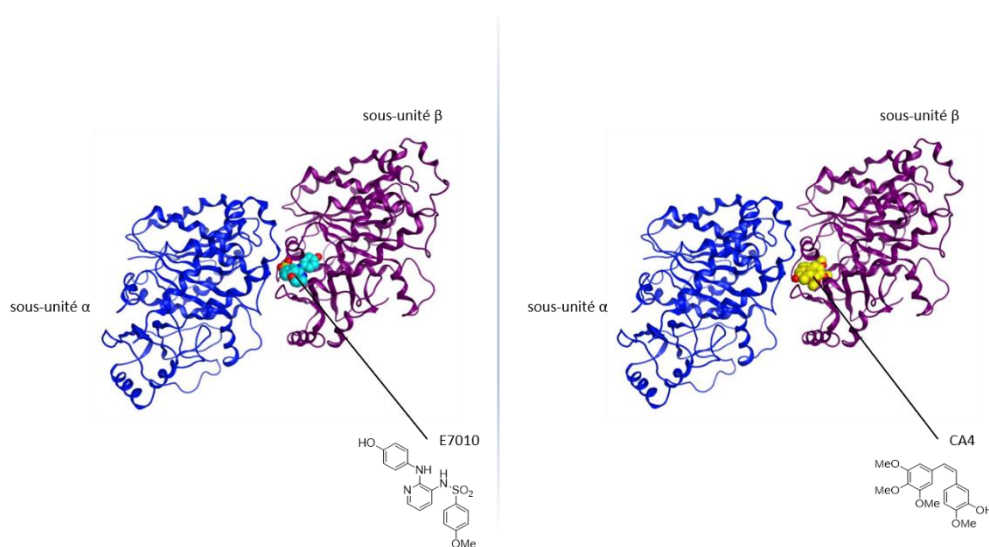


Figure 32 : Structure des complexes tubuline-E7010 (PDB 3HKC) et tubuline-CA4 (PDB 5LYJ)

En alignant la structure des deux VDA tout en respectant leur orientation spatiale respective au sein du site actif, on constate une superposition des cycles pyridinique et méthoxyphényle de E7010 avec les deux cycles aromatiques de la CA4 (Figure 33).

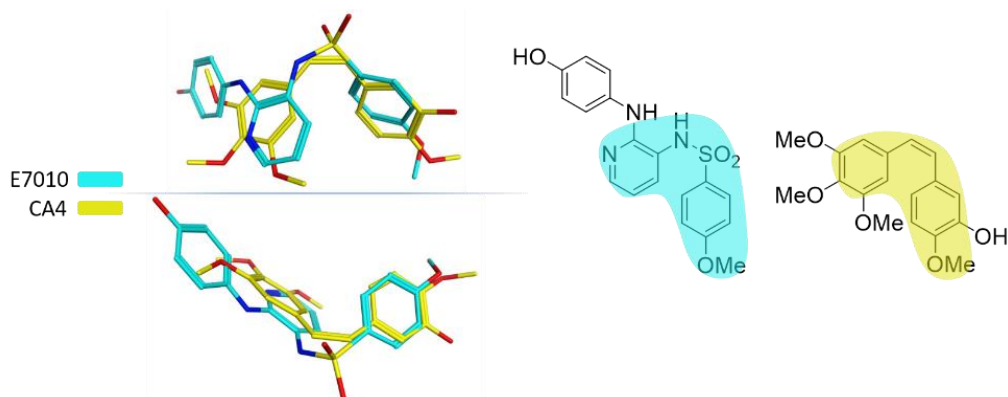


Figure 33 : Superposition de E7010 (bleu, PDB 3HKC) et de la CA4 (jaune, PDB 5LYJ) avec conservation de leur orientation spatiale au sein du site de la colchicine

En effet, E7010 et la CA4 occupent les mêmes poches au sein de la tubuline (Figure 32) et partagent un certain nombre d'interactions avec les différents acides aminés du site de la colchicine, justifiant ainsi leur orientation spatiale similaire et la superposition observée (Figure 34).

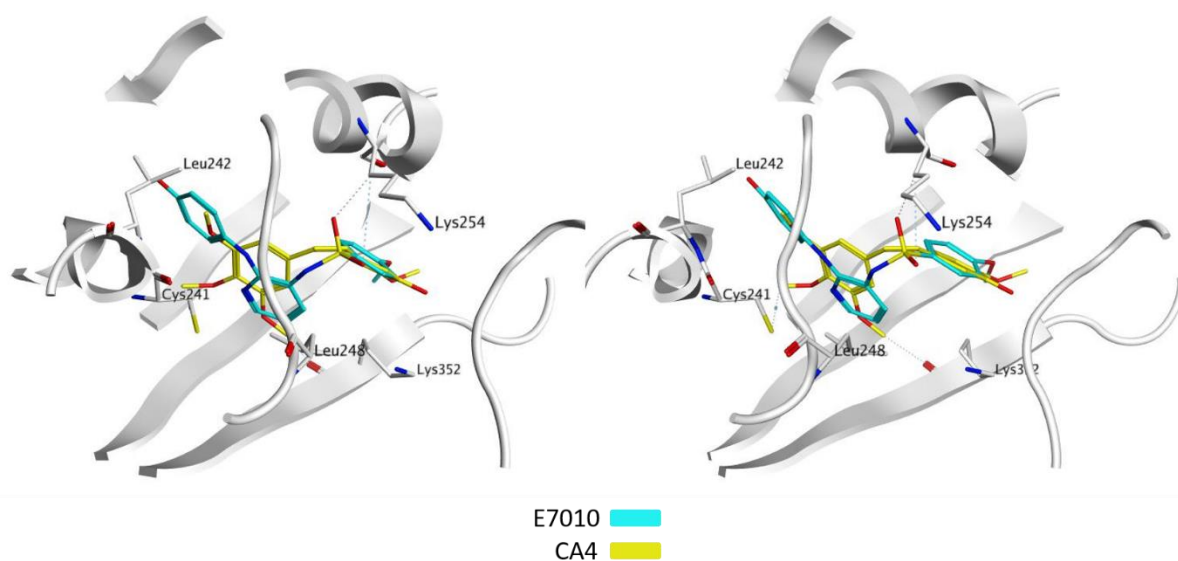


Figure 34 : Superposition de E7010 (bleu, PDB 3HKC) et de la CA4 (jaune, PDB 5LYJ) au sein du site de la colchicine et interactions avec les résidus

Lorsque l'on compare l'ensemble des interactions que E7010 et la CA4 établissent chacun avec la tubuline, on constate qu'une grande part de ces interactions sont communes aux deux molécules (Figure 35). Ainsi, les deux VDA occupent une poche hydrophobe délimitée par les résidus suivants : les leucines β Leu242, β Leu248 et β Leu255, l'isoleucine β Ile378, la valine β Val238, les alanines β Ala250 et β Ala316, la cystéine β Cys241, la lysine β Lys352 et l'asparagine β Asn258.

Néanmoins, certaines interactions ne sont pas communes aux deux VDAs. Ainsi, certaines sont spécifiques à E7010, comme les interactions hydrophobes avec la valine β Val315 et la lysine β Lys254, ou encore la liaison hydrogène avec la tyrosine β Tyr202. Il existe également des interactions spécifiques à la CA4, notamment des interactions hydrophobes avec la méthionine β Met259, l'isoleucine β Ile318, l'alanine β Ala354 et l'asparagine β Asn349. De plus, contrairement à E7010, la CA4 établit également des interactions avec des acides aminés appartenant à la sous-unité α de la tubuline, notamment des interactions hydrophobes avec la thréonine α Thr179, l'alanine α Ala180 et la valine α Val181, ainsi que des liaisons hydrogène avec la thréonine α Thr179 et la valine α Val181.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷

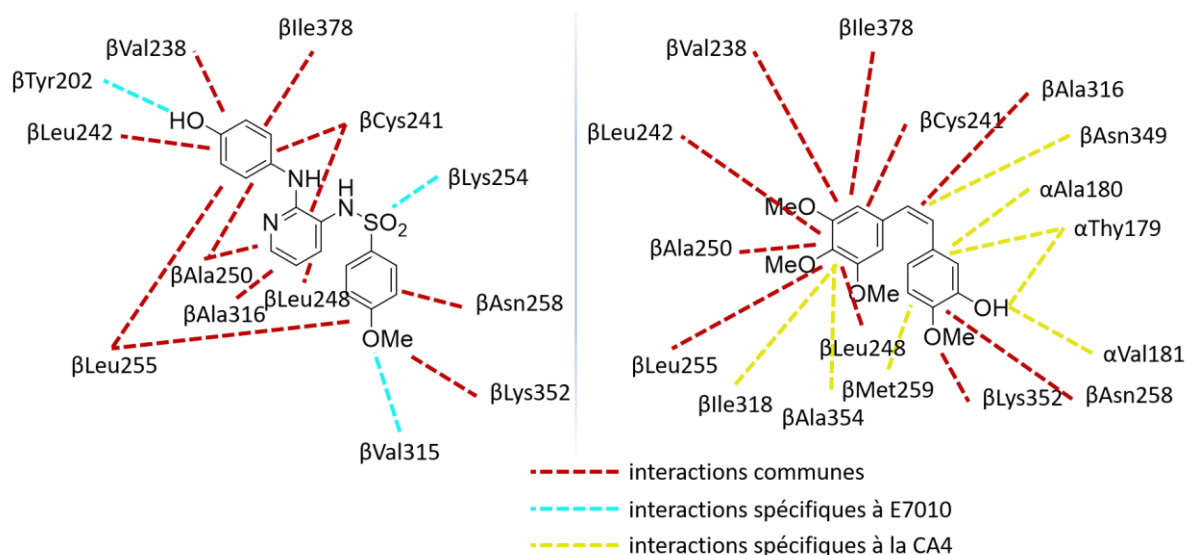


Figure 35 : Interactions E7010-tubuline (à gauche) et CA4-tubuline (à droite)

Afin de combiner ces interactions sur une même structure, nous avons conçu les molécules **Hy1**, **Hy2**, **Hy3** et **Hy4**, hybrides de E7010 et de la CA4, ainsi que la molécule **Hy5**, hybride de E7010 et de la phenstatine (dont l'activité est comparable à celle de la CA4) (Figure 36).⁸³

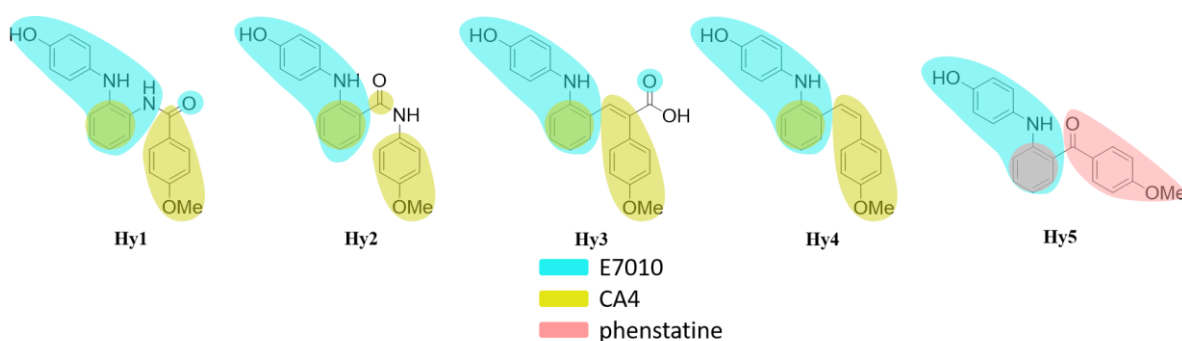


Figure 36 : Série hybrides

Ces molécules hybrides présentent les caractéristiques suivantes :

- Chacune de ces structures est tricyclique. Le groupement (4-hydroxyphényl)amino provenant de E7010 a systématiquement été conservé, de même que le groupement 4-méthoxyphényle provenant de la CA4.
- L'atome d'azote appartenant au cycle pyridine de E7010 n'a été conservé sur aucune des structures. En effet, cet atome n'établit pas d'interaction avec la protéine.
- L'atome d'azote du groupement sulfonyle provenant de E7010 a été conservé sur la cible **Hy1**. Le groupe SO_2 a été remplacé par un carbonyle sur la cible **Hy1** et par un groupement acide carboxylique sur la cible **Hy3**.
- La cible **Hy2** diffère de la cible **Hy1** par une inversion de l'amide.
- La double liaison $\text{C}=\text{C}$ provenant de la CA4 a été conservée sur les cibles **Hy3** et **Hy4**.
- Le groupement hydroxyle provenant de la CA4 n'a été conservé sur aucune des cibles, dans un but de simplification des structures. En effet, la présence de ce groupement implique la synthèse de composés aromatiques trisubstitués, qui peut s'avérer complexe.

II.3. Synthèse de la série hybrides

II.3.1. Généralités

Les cinq cibles de la série hybrides sont constituées de trois cycles aromatiques A, B et C. Le cycle A est systématiquement connecté au B par une fonction amine. Par ailleurs, il est substitué en position 4 par un groupement hydroxyle. Le cycle central B est orthodisubstitué. En plus de sa connexion avec le cycle A, il est relié au C via différents groupements Y selon la cible. Enfin, le cycle C est substitué en position 4 par un groupement méthoxy, commun à chaque cible (Figure 37).

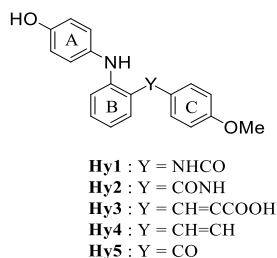


Figure 37 : Structure générale des cibles de la série hybrides

Il n'est pas possible de réaliser un schéma rétrosynthétique unique et convergent pour cette famille de molécules. En effet, les groupements reliant les cycles B et C varient, impliquant une étude individuelle. Cependant, la nature de la liaison reliant les cycles A et B est invariante : il s'agit dans chaque cas d'une liaison amine. Plusieurs méthodes de synthèse de diphenylamines sont décrites. Il s'agit généralement de réactions catalytiques, comme les couplages de Buchwald-Hartwig, de Chan-Lam ou de Ullmann (Schéma 16). Le couplage de Buchwald-Hartwig semble le plus adapté dans notre cas. En effet, le cadre de cette réaction est restreint aux halogénures d'aryles et anilines. En revanche, les couplages de Chan-Lam et Ullmann ne sont pas spécifiques à ce type de substrats, et incluent également les alcools. Dans notre cas, la présence du phénol impliquerait un risque de couplage parasite.

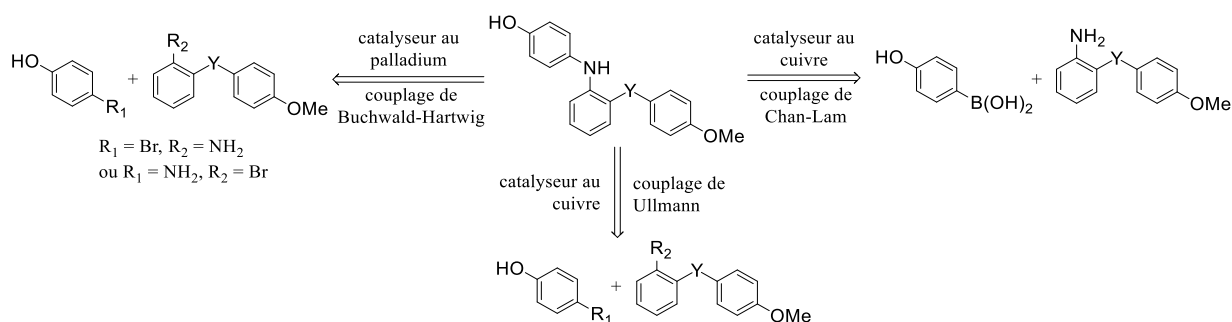


Schéma 16 : Méthodes de synthèse de diphénylaminés

II.3.2. Synthèse de la cible Hy1

Outre le groupement (4-hydroxyphényl)amino (cycle A) qui peut être introduit par un couplage de Buchwald-Hartwig, la cible **Hy1** contient une fonction amide liant les cycles B et C. Il existe un grand nombre de méthodes de synthèse d'amides. Nous avons cependant limité notre recherche bibliographique aux *N*-phénylbenzamide afin d'obtenir des voies de synthèse adaptées à notre cas (Schéma 17). La plupart des études décrivent la formation de ce type d'amide via une réaction d'addition-élimination entre une aniline et un acide carboxylique activé (souvent un chlorure d'acyle) sous assistance basique (notamment en présence de triéthylamine). Sont également décrits des couplages peptidiques entre un acide carboxylique et une aniline, en présence par exemple d'hexafluorophosphate de (2-(1*H*-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium (HBTU : Hexafluorophosphate Benzotriazole Tetramethyl Uronium). Plus rarement, on trouve des exemples de synthèse d'amides via un réarrangement de Beckmann au départ d'oximes.

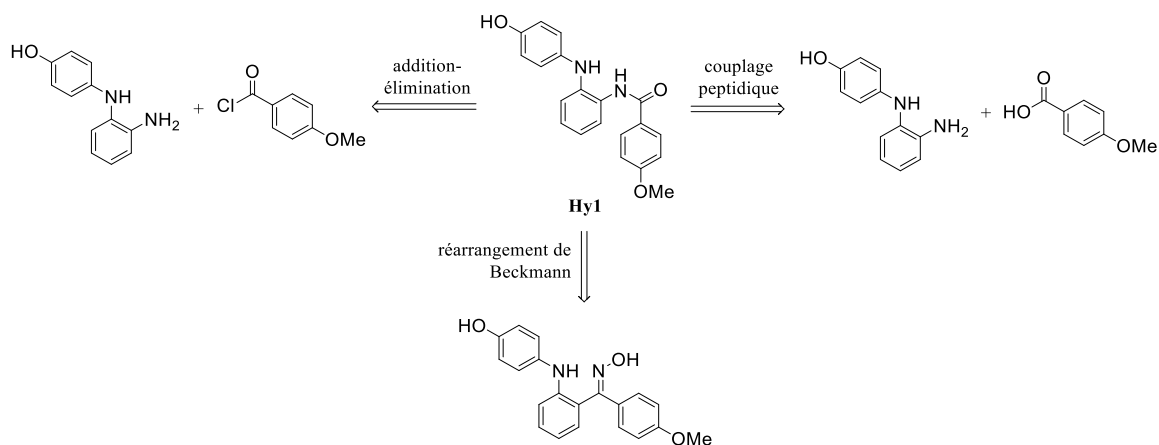


Schéma 17 : Méthodes de synthèse de *N*-phénylbenzamide

Dans le cas de la cible **Hy1**, le réarrangement de Beckmann semble inadapté. En effet, l'utilisation de cette réaction implique la synthèse préalable d'une oxime, complexifiant grandement la voie de synthèse. De plus, cette méthode conduit potentiellement à deux amides différents. En revanche, les réactions d'addition-élimination et de couplage peptidique sont simples à mettre en œuvre. Le chlorure de 4-méthoxybenzoyl étant disponible au laboratoire, nous avons retenu la réaction d'addition-élimination afin de réaliser la synthèse.

L'hybride **Hy1** a ainsi été envisagé selon le schéma suivant (Schéma 18) : la cible proviendrait d'une amidation entre le chlorure de 4-méthoxybenzoyle et l'aniline correspondante, laquelle serait obtenue par réduction du dérivé nitré. La synthèse de ce dernier n'a pas pu être réalisée via un couplage de Buchwald-Hartwig, ni la 2-nitroaniline, ni le 1-bromo-2-nitrobenzène, ni le 1-iodo-2-nitrobenzène n'étant disponibles au laboratoire. Il a donc été envisagé de préparer la diphenylamine via une réaction de substitution nucléophile aromatique (S_{NAr}) entre l'hydroxyaniline et le fluoronitrobenzène.

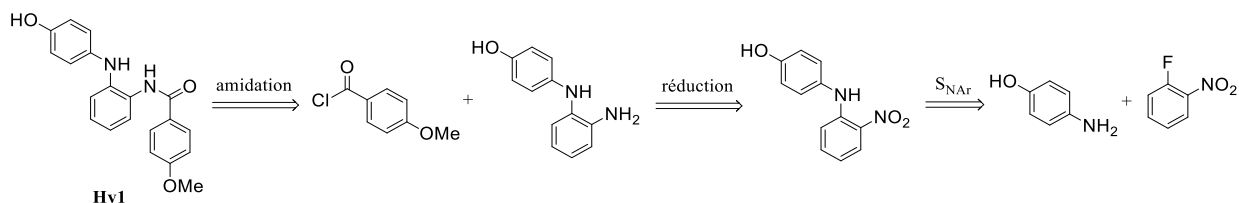


Schéma 18 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy1**

Afin d'éviter les réactions parasites notamment lors de l'étape de substitution, la fonction phénol de l'hydroxyaniline a été protégée par un groupement TIPS (87%) (Schéma 19).¹⁰⁸ L'aniline **11** résultante a été engagée dans une S_{NAr} avec le 1-fluoro-2-nitrobenzène, conduisant à l'intermédiaire **12** (73%).¹⁰⁹ Le rendement de la réduction de **12** en **13** est en revanche moyen (49%).¹¹⁰ En effet, les impuretés formées lors de cette étape ont rendu difficiles la purification de l'aniline **13**, abaissant le rendement isolé. L'amidation de cette dernière avec le chlorure de 4-méthoxybenzoyle a conduit à l'amide **14** avec le très bon rendement de 91%.¹¹¹ Néanmoins, la déprotection de la fonction phénol a conduit à la dégradation du produit indépendamment du nombre d'équivalents de TBAF (Tableau 6, entrées 1 et 2).⁹⁵

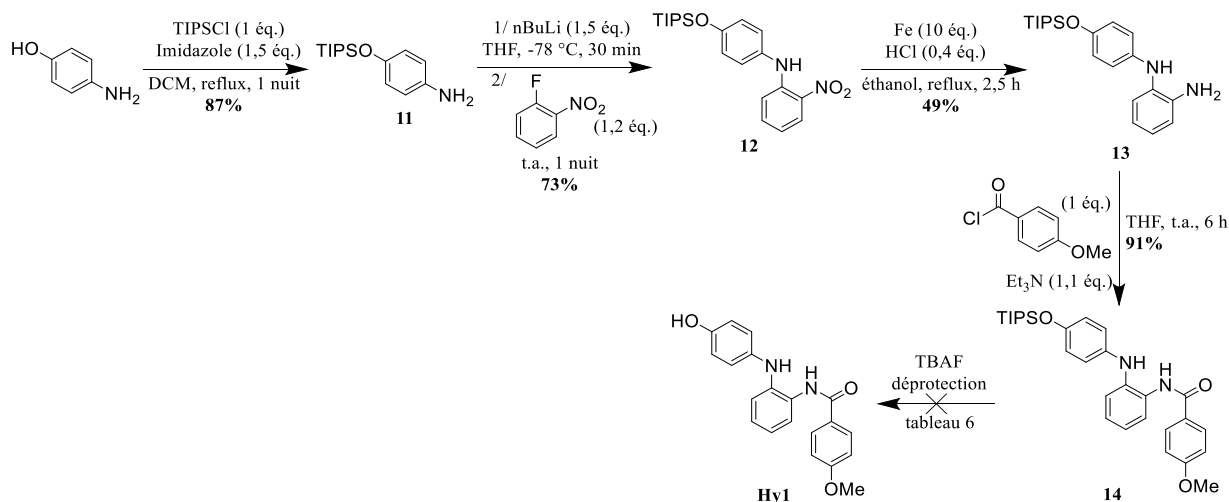


Schéma 19 : Synthèse de la cible **Hy1**

Tableau 6 : Conditions de déprotection de la fonction phénol de l'intermédiaire **14**

entrée	conditions	observations	référence
1	TBAF (10 équ.) THF, t.a., 1 h	dégradation	95
2	TBAF (1 équ.) THF, 0 °C, 30 min	dégradation	

La voie de synthèse a tout de même été conservée. Les étapes demeurent les mêmes, et leur ordre de réalisation a été conservé. Cependant, le groupement protecteur de la fonction phénol de l'hydroxyaniline a été modifié au profit d'un groupement benzyle. En effet, ce dernier n'est pas sensible aux conditions basiques de la S_{NAr} , à la réduction du groupement nitro ainsi qu'à l'étape de benzylation. De même, son clivage en présence d'hydrogène ne devrait pas affecter les autres fonctions de la molécule. De surcroît, la 4-benzyloxyaniline est commerciale.

La modification du groupement protecteur a néanmoins eu quelques conséquences sur les rendements de la synthèse (Schéma 20). Premièrement, lors des purifications par chromatographie à l'issue de l'étape de substitution nucléophile aromatique, il a été plus difficile de séparer le produit **15** de l'excès de 1-fluoro-2-nitrobenzène que de séparer le produit **12** de ce dernier en raison d'une migration similaire des espèces dans les conditions d'élution testées. Il en résulte un rendement plus faible dans le cas d'un groupement protecteur benzyle (30% contre 87% dans le premier cas).¹⁰⁹ En revanche, lors de la réduction, moins d'impuretés se forment, permettant la formation de l'aniline **16** avec un rendement de 73% contre 49% auparavant.¹¹⁰ Enfin, le changement de groupement protecteur n'a pas eu d'influence notable sur l'étape d'amidation lors de la synthèse de l'intermédiaire **17**. Les rendements sont en effet comparables (91% dans le premier cas et >99% dans le second).¹¹¹ Finalement, la déprotection de la fonction phénol a conduit à la cible **Hy1** avec un rendement de 45%.¹¹² S'agissant de la dernière étape, les fractions de mélange lors de la purification par chromatographie n'ont pas été prises en compte, même lorsque la proportion d'impureté était faible, d'où ce rendement moyen de 45%.

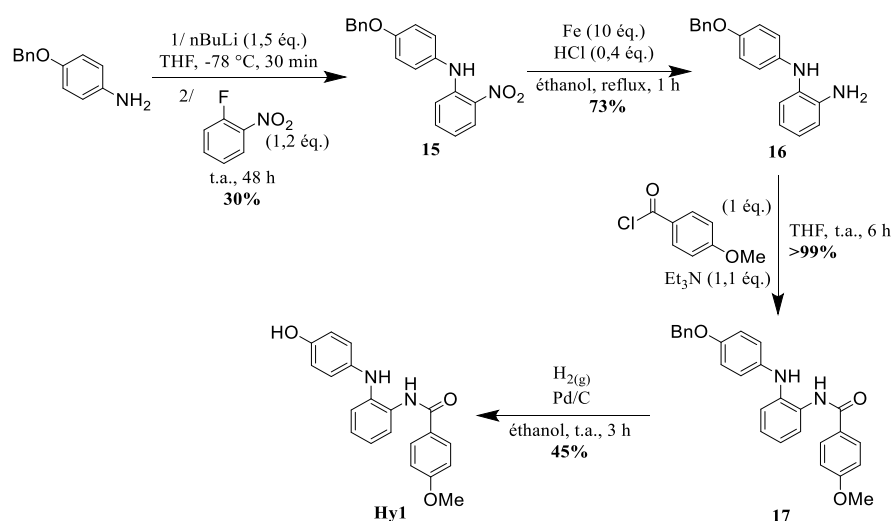


Schéma 20 : Synthèse révisée de la cible **Hy1**

La cible **Hy1** a finalement été obtenue avec un rendement global de 10% en quatre étapes. L'optimisation des purifications lors des étapes de substitution nucléophile aromatique et de déprotection semble être une piste privilégiée d'amélioration du rendement global de cette synthèse. Cette optimisation n'a cependant pas été réalisée, les quantités de **Hy1** obtenues étant suffisantes pour réaliser les tests biologiques.

II.3.3. Synthèse de la cible Hy2

La cible **Hy2** diffère de **Hy1** par le sens de la fonction amide. Ainsi, les étapes-clés de la synthèse de cette molécule sont les mêmes que précédemment (amidation et couplage de Buchwald-Hartwig). La préparation de **Hy2** ne nécessite donc pas d'étude bibliographique supplémentaire à celle réalisée pour la synthèse de la cible **Hy1**.

Ainsi, l'approche rétrosynthétique envisagée est la suivante (Schéma 21) : la cible serait préparée via un couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-hydroxyaniline et le bromure d'aryle correspondant. Ce dernier proviendrait d'une réaction d'amidation entre le chlorure de 2-bromobenzoyl et la 4-méthoxyaniline.

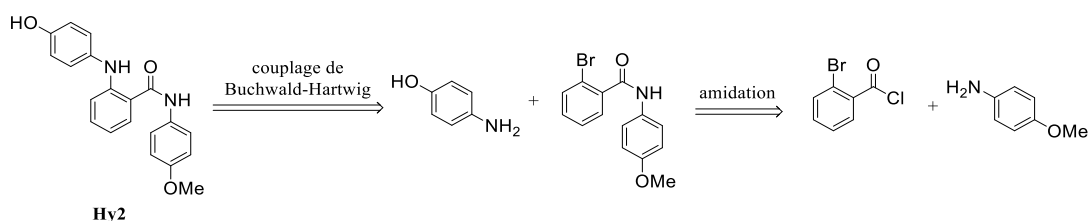


Schéma 21 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy2**

La réaction d'amidation entre le chlorure de 2-bromobenzoyl et la 4-méthoxyaniline a conduit à l'amide **18** avec un rendement de 99% (Schéma 22).¹¹¹ Afin d'éviter les réactions parasites lors du couplage de Buchwald-Hartwig, il a été décidé d'utiliser la 4-benzyloxyaniline, le groupement protecteur benzyle ayant permis l'obtention de la cible **Hy1** précédemment.¹¹³ Cependant, la conversion en produit de couplage semble très lente. En effet, d'après le suivi RMN, nous n'obtenons que 50% de conversion après 3 jours. De plus, les purifications ont conduit à la dégradation du produit.

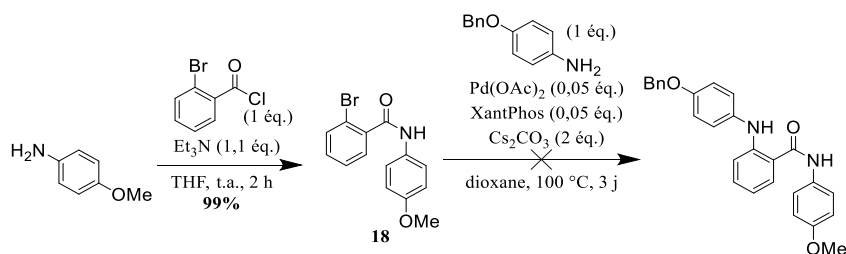


Schéma 22 : Synthèse de la cible **Hy2**

Le schéma de synthèse a ainsi été révisé, en conservant toutefois les deux étapes-clés de couplage de Buchwald-Hartwig et d'amidation. La nouvelle approche rétrosynthétique envisagée consiste alors en une inversion de ces deux étapes (Schéma 23). La cible **Hy2** serait issue d'une amidation entre la 4-méthoxyaniline et l'acide carboxylique correspondant, lequel serait préparé via un couplage de Buchwald-Hartwig entre l'acide 2-bromobenzoïque et la 4-hydroxyaniline.

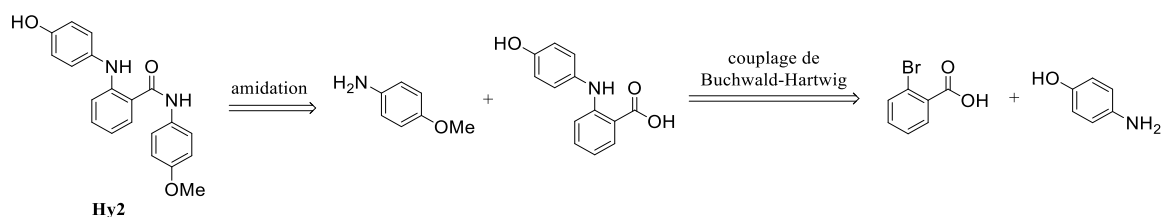


Schéma 23 : Approche rétrosynthétique révisée de l'hybride **Hy2**

L'acide 2-bromobenzoïque a été estérifié en 2-bromobenzoate de méthyle (97%) (Schéma 24).¹¹⁴ Cette protection de l'acide permet, lors du couplage de Buchwald-Hartwig, d'éviter des réactions parasites et de simplifier les purifications, les acides étant souvent difficiles à séparer par chromatographie. L'ester résultant **19** a été engagé en couplage de Buchwald-Hartwig avec la 4-benzyloxyaniline pour former l'intermédiaire **20** (87%).¹¹³ La saponification de l'ester a conduit à l'acide **21** (96%).¹¹⁵ Ce dernier et la 4-méthoxyaniline ont ensuite été engagés en couplage peptidique (Tableau 7).¹¹⁶

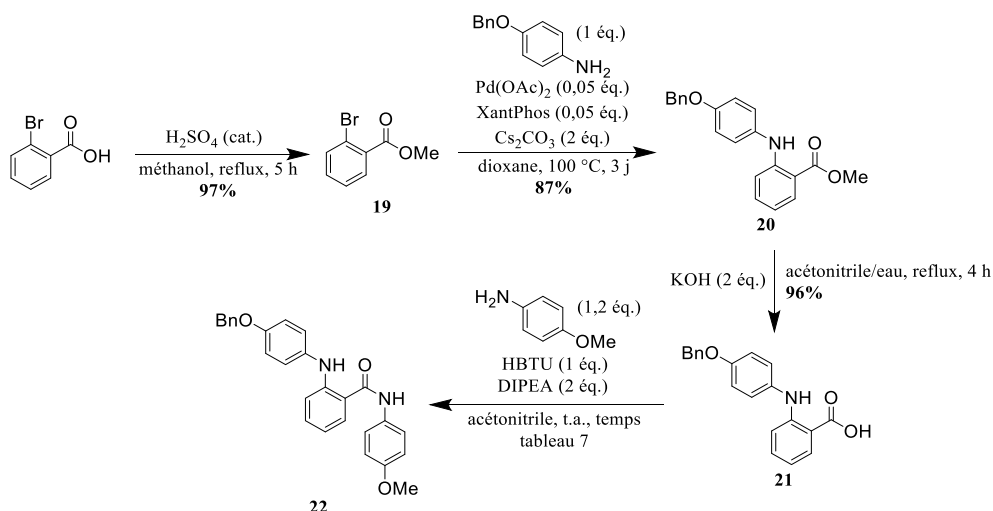


Schéma 24 : Synthèse révisée de la cible **Hy2**

Tableau 7 : Conditions de couplage peptidique entre l'acide **21** et la 4-méthoxyaniline

entrée	temps de réaction	observations	référence
1	3 h	ratio 22/21' : 70/30* 22 : rendement isolé = 51%	116
2	24 h	ratio 22/21' : 100/0 22 : rendement isolé = 20%	

* rapport des quantités de matière des fractions obtenues après purification par chromatographie

Avec un temps de réaction de 3 heures (Tableau 7, entrée 1), l'acide **21** est totalement consommé. Cependant, il subsiste dans le milieu 30% de l'intermédiaire de réaction **21'**, qui n'a pas encore été totalement consommé par l'aniline, d'où un rendement de 51% (Schéma 25).

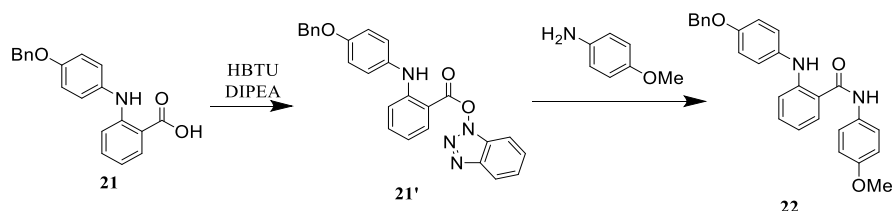


Schéma 25 : Décomposition du couplage peptidique en présence de HBTU

Avec un temps de réaction de 24 heures (Tableau 7, entrée 2), il ne subsiste plus d'intermédiaire de réaction **21'** dans le milieu. Cependant, une impureté qui n'était pas présente dans le cas précédent a rendu nécessaires plusieurs étapes de purifications, abaissant le rendement à 20%. La structure de l'impureté n'a pas été déterminée.

Enfin, la déprotection de la fonction phénol en présence d'hydrogène a conduit à la cible **Hy2** avec un rendement de 63% (Schéma 26).¹¹²

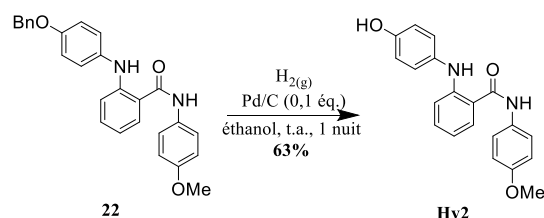


Schéma 26 : Déprotection de la fonction phénol de l'intermédiaire **22**

La cible **Hy2** a finalement été obtenue avec un rendement global de 26% en cinq étapes. Afin d'améliorer le rendement global de la synthèse, il semble nécessaire de réaliser une optimisation du temps de réaction lors du couplage peptidique. En effet, un temps trop court ne permet pas à l'intermédiaire de réaction d'être consommé, et un temps trop long entraîne la formation d'une impureté complexifiant l'étape de purification. Un contrôle plus fréquent du milieu réactionnel par CCM ou RMN permettrait de suivre l'évolution de chaque espèce afin d'obtenir le temps de réaction optimal.

II.3.4. Synthèse de la cible **Hy3**

La cible **Hy3** est un acide cinnamique dont le cycle B est substitué en position 2 par un groupement (4-hydroxyphényl)amino (Schéma 27). Comme les deux hybrides précédents, ce groupement peut être introduit par un couplage de Buchwald-Hartwig. Quant à l'acide cinnamique, principalement deux méthodes différentes sont décrites dans la littérature. Il est possible de réaliser une réaction d'aldolisation-crotonisation entre un aldéhyde et un acide phénylacétique dans des conditions variées, par exemple celles de Knoevenagel ou de Perkin. L'obtention de ces structures est également réalisable par hydrocarboxylation d'alcynes, généralement avec l'intervention de catalyseurs. Cependant, cette dernière méthode est difficile à mettre en œuvre dans notre laboratoire, du fait de l'intervention de gaz pour la plupart des synthèses décrites (dioxyde de carbone). De surcroît, ces réactions d'hydrocarboxylation présentent potentiellement des problèmes de régiosélectivité. Nous avons donc opté pour les réactions d'aldolisation-crotonisation pour la synthèse de la cible **Hy3**, a priori plus simples à mettre en œuvre.

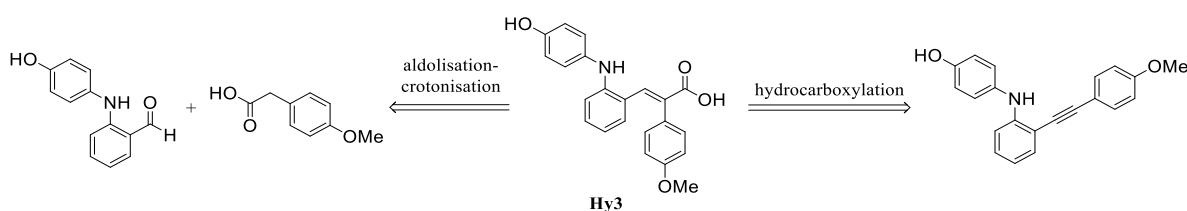


Schéma 27 : Méthodes de synthèse d'acides cinnamiques

La synthèse de la cible **Hy3** a été explorée selon l'approche rétrosynthétique suivante (Schéma 28) : la cible proviendrait d'un couplage de Buchwald-Hartwig entre une aniline et un bromure d'aryle selon la nature de R₁ et R₂. L'acide cinnamique bromo (R₂ = Br) ou aminosubstitué (R₂ = NH₂) proviendrait d'une aldolisation-crotonisation entre le benzaldéhyde et l'acide phénylacétique.

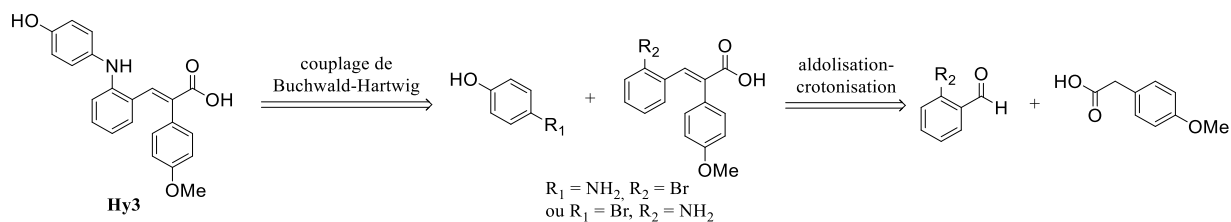


Schéma 28 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy3**

Diverses conditions d'aldolisation-crotonisation ont été testées au départ du benzaldéhyde et de l'acide 4-méthoxyphénylacétique (Schéma 29 et Tableau 8).

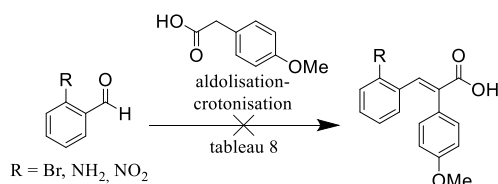


Schéma 29 : Aldolisation-crotonisation entre des dérivés du benzaldéhyde et l'acide 4-méthoxyphénylacétique

Tableau 8 : Conditions d'aldolisation-crotonisation entre des dérivés du benzaldéhyde et l'acide 4-méthoxyphénylacétique

entrée	R	conditions	observations	référence	
1	Br	acide (1,1 éq.) pipéridine (1,6 éq.) DCM, t.a., 7 j	pas d'évolution par CCM (produits de départ)	117	
2		acide (1,1 éq.) pipéridine (1,6 éq.) pyridine, t.a., 24 h	pas d'évolution par CCM (produits de départ)		
3		acide (1,1 éq.) NaH (2,6 éq.) DCM, t.a., 7 j	pas d'évolution par CCM (produits de départ)		
4		NH ₂	acide (1 éq.) Et ₃ N (2 éq.) Ac ₂ O (1,5 éq.) 65 °C, 1 nuit	formation du stéréoisomère Z uniquement*	118
5			acide (1 éq.) Et ₃ N (1 éq.) anhydride acétique, 90 °C, 1 nuit	formation du stéréoisomère Z uniquement*	119
6				dégradation	
7				formation du stéréoisomère Z uniquement*	

* structure déterminée via une expérience RMN NOESY

L'aldolisation-crotonisation a dans un premier temps été explorée au départ du 2-bromobenzaldéhyde ($R = Br$). Les deux conditions de condensation de Knoevenagel n'ont pas permis la formation de l'acide cinnamique désiré, le milieu réactionnel n'évoluant pas même après 7 jours de réaction (Tableau 8, entrées 1 et 2). De même, l'utilisation d'une base forte comme l'hydrure de sodium ne semble pas favoriser davantage la condensation (Tableau 8, entrée 3).¹¹⁷ En revanche, les deux conditions de condensation de Perkin ont conduit à l'acide cinnamique, mais au stéréoisomère *Z* uniquement au lieu du *E* désiré d'après les expériences RMN NOESY (Tableau 8, entrées 4 et 5).^{118,119} En effet, la corrélation NOESY entre les protons H_a ($\delta = 7,99$ ppm) et H_b ($\delta = 7,10$ ppm) traduit une proximité spatiale de H_a et du cycle aromatique portant H_b (Figure 38).

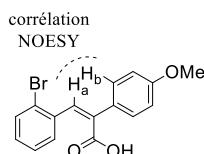


Figure 38 : Corrélation NOESY entre les hydrogènes H_a et H_b du diastéréoisomère *Z* ($R = Br$)

Ce résultat est cependant contradictoire avec les exemples issus de la littérature. Nous avons émis l'hypothèse que la présence du brome en position 2 du benzaldéhyde pouvait générer un encombrement stérique lors de la condensation, défavorisant l'obtention de l'acide cinnamique *E* désiré. Afin de confirmer l'influence de la gêne stérique, la condensation de Perkin a ainsi été testée entre au départ de deux autres dérivés du benzaldéhyde, à savoir le 2-aminobenzaldéhyde ($R = NH_2$) et le 2-nitrobenzaldéhyde ($R = NO_2$). Dans le cas du 2-aminobenzaldéhyde ($R = NH_2$), les conditions de condensation de Perkin ont conduit à une dégradation, le spectre RMN du produit brut ne présentant aucun des signaux du produit attendu ou même des réactifs (Tableau 8, entrée 6). En revanche, au départ du 2-nitrobenzaldéhyde ($R = NO_2$), l'acide cinnamique se forme, mais avec une configuration *Z* au lieu de la *E* désirée, comme dans le cas du 2-bromobenzaldéhyde (Tableau 8, entrée 7).¹¹⁹ La corrélation NOESY entre les protons H_a ($\delta = 8,17$ ppm) et H_b ($\delta = 7,08$ ppm) traduit en effet une proximité spatiale de H_a et du cycle aromatique portant H_b (Figure 39).

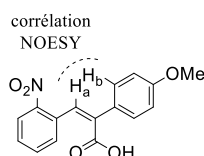


Figure 39 : Corrélation NOESY entre les hydrogènes H_a et H_b du diastéréoisomère *Z* ($R = NO_2$)

Ainsi, dans les conditions de réaction explorées, l'acide cinnamique n'a pas pu être obtenu dans sa configuration *E* désirée quelle que soit la nature du substituant en position 2 du benzaldéhyde.

L'obtention systématique du diastéréoisomère *Z* semble indiquer que la gêne stérique liée à la présence d'un substituant en position 2 du benzaldéhyde joue un rôle déterminant sur la configuration finale de l'acide cinnamique. De surcroît, indépendamment de la présence de substituants, les deux cycles aromatiques sont encombrants. De ce fait, la configuration *E* désirée est a priori la moins favorable.

Afin d'inverser cette tendance, nous avons envisagé d'augmenter la gêne stérique au niveau de deux sites de la molécule (Figure 40). La fonction acide carboxylique serait remplacée par un ester encombré, impliquant une étape supplémentaire d'estérification de l'acide 4-méthoxyphénylacétique. De même, l'atome de brome serait remplacé par le groupement (4-hydroxyphényl)amino, nécessitant une inversion des étapes d'aldolisation-crotonisation et de couplage de Buchwald-Hartwig. L'encombrement généré par ces deux groupements les contraindrait à s'orienter en *anti* l'un de l'autre lors de la formation de la double liaison, conduisant à l'alcène *E* désiré.

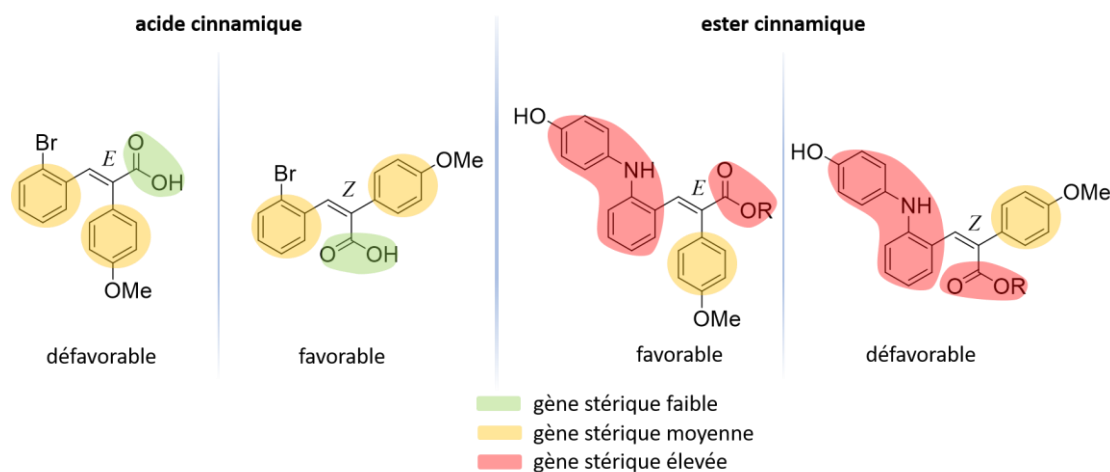


Figure 40 : Influence de la gêne stérique sur la configuration de l'acide cinnamique

Le schéma rétrosynthétique de l'hybride **Hy3** a ainsi été modifié (Schéma 30). La cible proviendrait d'une réaction d'aldolisation-crotonisation entre un ester de l'acide 4-méthoxyphénylacétique et le 2-((4-hydroxyphényl)amino)benzaldéhyde. Ce dernier serait obtenu via un couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-hydroxyaniline et le 2-iodobenzaldéhyde.

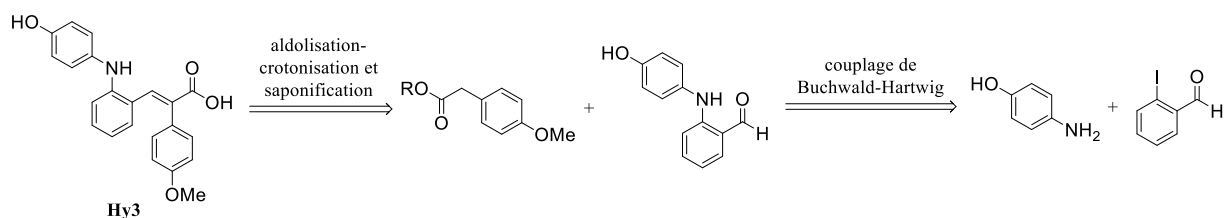


Schéma 30 : Approche rétrosynthétique révisée de l'hybride **Hy3**

Afin d'éviter une réaction parasite d'addition de l'aniline **11** sur le 2-iodobenzaldéhyde lors du couplage de Buchwald-Hartwig, ce dernier a été acétalisé en **23** (92%).¹²⁰ Le couplage a ensuite permis la formation de l'intermédiaire de synthèse **24** avec un rendement de 99%.¹¹³ Enfin, la déprotection de l'aldéhyde a conduit à l'aldéhyde **25** de manière quantitative (Schéma 31).¹²¹

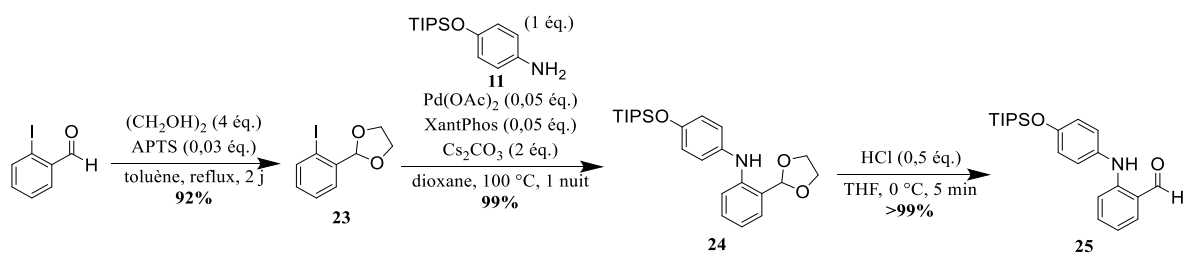


Schéma 31 : Synthèse de l'aldéhyde **25**

Divers esters de l'acide 4-méthoxyphénylacétique **26** (méthylique), **27** (éthylque), **28** (isopropylique) et **29** (cyclohexylique) ont été préparés et engagés dans une réaction d'aldolisation-crotonisation avec l'aldéhyde **25** en présence de LDA (Schéma 32 et Tableau 9).¹²²

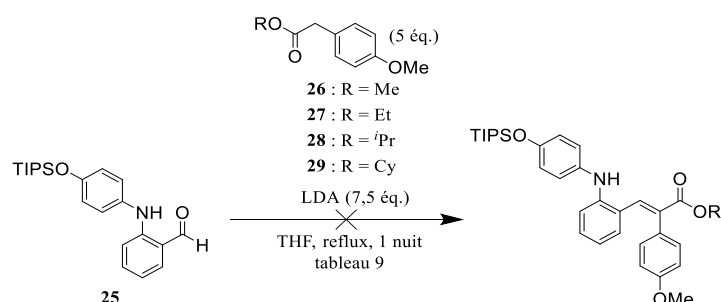


Schéma 32 : Aldolisation-crotonisation entre l'aldéhyde **25** et divers esters de l'acide 4-méthoxyphénylacétique

Tableau 9 : Influence de la nature de l'ester sur l'aldolisation-crotonisation

entrée	R	observations	référence
1	Me*	cyclisation en 30 *** : rendement = 87%	122
2	Et*	cyclisation en 30 *** : rendement = 65%	
3	<i>i</i> Pr*	cyclisation en 30 *** : rendement = 80%	
4	Cy**	dégradation	

* conditions d'estérification : H₂SO₄ (cat.), ROH, reflux, 1 nuit (rendements : >99% (R = Me), 97% (R = Et), >99% (R = *i*Pr))¹¹⁴

** conditions d'estérification : CyOH (5 éq.), DCC (1 éq.), DMAP (0,1 éq.), DCM, reflux 24 h (rendement : 87%)¹²³

*** structure déterminée par RMN ¹H et MS

Dans les cas des esters méthylique (R = Me), éthylque (R = Et) et isopropylique (R = *i*Pr), le produit isolé n'est pas l'acide cinnamique désiré ni son diastéréoisomère Z, mais la quinolinone **30** (avec les rendements respectifs de 87%, 65% et 80%) (Tableau 9, entrées 1,2, 3 et Figure 41). La structure de cette molécule a été déterminée via des analyses RMN, notamment par la disparition du singulet élargi correspondant au proton de l'amine et l'absence systématique des signaux correspondant aux esters. De plus, d'après les analyses MS, la masse du produit obtenu est en accord avec cette structure.

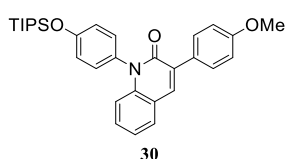


Figure 41 : Structure de la quinolinone **30**

Enfin, dans le cas d'un ester cyclohexylique (R = Cy), on assiste à une dégradation des réactifs (Tableau 9, entrée 4). En effet, dans ce cas, on ne retrouve sur le spectre RMN du produit brut aucun des signaux correspondant aux réactifs, à l'acide cinnamique ou à la quinolinone **30**.

Nous avons supposé que la quinolinone **30** résulte d'une réaction de lactamisation du produit d'aldolisation-crotonisation se déroulant en deux étapes, à savoir une addition de l'amine sur le groupement carbonyle de l'ester suivie d'une élimination d'alcool. Ceci justifie également l'obtention de la même quinolinone **30** indépendamment de la nature de l'ester (Schéma 33).

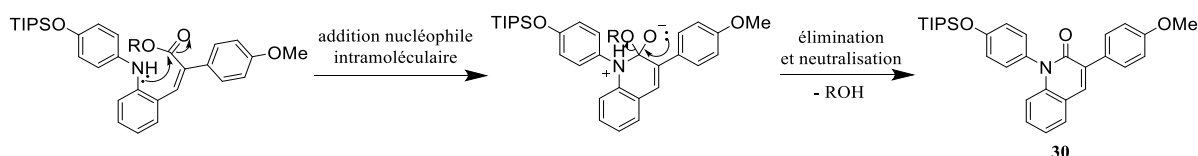


Schéma 33 : Mécanisme supposé de la formation de la quinolinone **30**

Ce type de structure est documenté dans la littérature. Peter J. MANLEY a notamment décrit le couplage catalysé au palladium entre des halogénures d'aryles orthosubstitués par un groupe carbonyle et des dérivés de 2-arylacétamides conduisant à des quinolinones avec des rendements de modérés à élevés (Schéma 34).¹²⁴

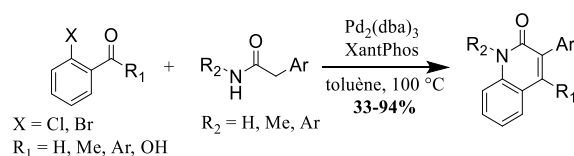


Schéma 34 : Synthèse de quinolinones catalysée au palladium décrite par Peter J. MANLEY

Par ailleurs, ce mécanisme implique que dans le cas des esters méthylique (R = Me), éthylique (R = Et) et isopropylique (R = ⁱPr), la réaction d'aldolisation-crotonisation a bien abouti aux esters cinnamiques, mais systématiquement dans leur configuration Z (Schéma 35).

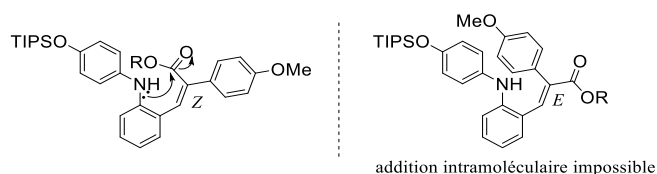


Schéma 35 : Influence de la configuration de l'ester cinnamique sur la cyclisation

Cette stratégie de synthèse n'a donc pas permis l'obtention de l'acide cinnamique dans sa configuration souhaitée.

Cependant, la quinolinone **30** possède une structure intéressante dans le cadre de ce projet. En effet, après déprotection de la fonction phénol, elle pourrait être considérée comme une molécule hybride de deux composés : E7010 et la quinazolinone **7j** (Schéma 36). Ce composé, développé par Wolfgang DOHLE, a montré une activité VDA prometteuse avec une capacité à inhiber la polymérisation de la tubuline comparable à celle de la CA4 (Cl₅₀ = 2,5 μM contre 1,1 μM pour la CA4 dans les conditions expérimentales mises en œuvre par Wolfgang DOHLE). De même, certains tests *in vitro* sur des lignées de cellules cancéreuses ont montré une activité antiproliférative de **7j** similaire à celle de la CA4 pour des cellules cancéreuses du sein, et supérieure à celle de la CA4 pour des cellules cancéreuses de la prostate.¹²⁵

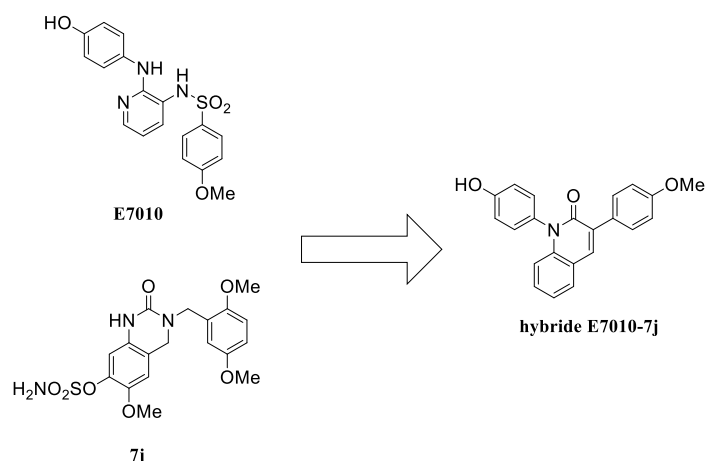


Schéma 36 : hybride E7010-7j

Nous avons ainsi choisi de réaliser les tests biologiques sur ce nouvel hybride. La dernière étape de synthèse, c'est-à-dire la déprotection de la fonction phénol, a conduit à la nouvelle cible **Hy3'** avec un rendement de 90% (Schéma 37).

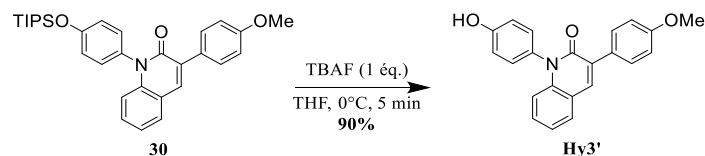


Schéma 37 : Déprotection de la fonction phénol de l'intermédiaire **30**

L'hybride **Hy3'** a ainsi été obtenu avec un rendement global de 63% en sept étapes (en incluant les étapes de protection). En revanche, la synthèse de la cible initiale **Hy3** n'a pas été davantage explorée.

Toutefois, d'autres voies de synthèse pourraient potentiellement conduire à ce composé. Dans la littérature sont décrites des méthodes que nous n'avons pas explorées. C'est le cas par exemple de l'addition catalytique de dioxyde de carbone sur un alcyne proposée par Suhua LI.¹²⁶ Cette stratégie de synthèse a permis sur certaines structures d'accéder à des acides cinnamiques de configuration *E* avec de très bon rendements (Schéma 38).¹²⁷ Cette approche pourrait ainsi être appliquée au cadre de la synthèse de la cible **Hy3**.

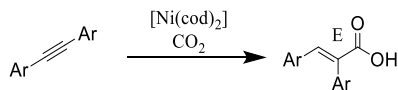


Schéma 38 : Addition catalytique de dioxyde de carbone sur un alcyne

II.3.5. Synthèse de la cible Hy4

Outre le groupement (4-hydroxyphényl)amino (cycle A) qui, comme les cibles précédentes, peut être introduit via un couplage de Buchwald-Hartwig, la cible **Hy4** présente une liaison C=C générant une diastéréoisomérie (Schéma 39). La synthèse de ce type d'alcène Z est principalement décrite selon deux approches. On peut par exemple envisager une réduction de Lindlar au départ d'un alcyne. Cette méthode est avantageuse, car elle conduit exclusivement à l'alcène Z par addition *syn* du dihydrogène. L'obtention de la cible est également possible via une réaction de Wittig au départ d'un aldéhyde et d'un sel de phosphonium.

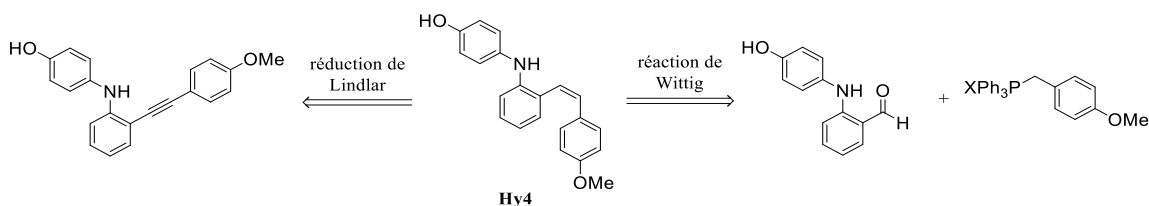


Schéma 39 : Exemples de synthèse d'alcènes Z

Nous avons choisi d'aborder la synthèse de la cible **Hy4** en explorant les deux approches décrites précédemment.

II.3.5.1. Synthèse de la cible Hy4 selon une réduction de Lindlar

La synthèse de la cible **Hy4** via une réduction d'alcyne nécessite trois étapes-clés, à savoir un couplage de Buchwald-Hartwig introduisant le groupement (4-hydroxyphényl)amino, un couplage de Sonogashira conduisant à l'alcyne, et enfin la réduction de cet alcyne (Schéma 40). Il existe plusieurs ordres possibles d'exécution de ces étapes. Nous avons choisi de réaliser la réduction en dernier. En effet, l'alcène résultant de cette réduction pourrait présenter une instabilité due à la gêne stérique importante causée par les deux cycles aromatiques substituant la double liaison. Il semble donc préférable d'éviter d'appliquer à cet alcène des conditions de Buchwald-Hartwig ou Sonogashira nécessitant un chauffage important. Il demeure ainsi deux possibilités. Nous pouvons réaliser en premier le couplage de Buchwald-Hartwig puis celui de Sonogashira (voie 1), ou exécuter ces deux étapes dans l'ordre inverse (voie 2).

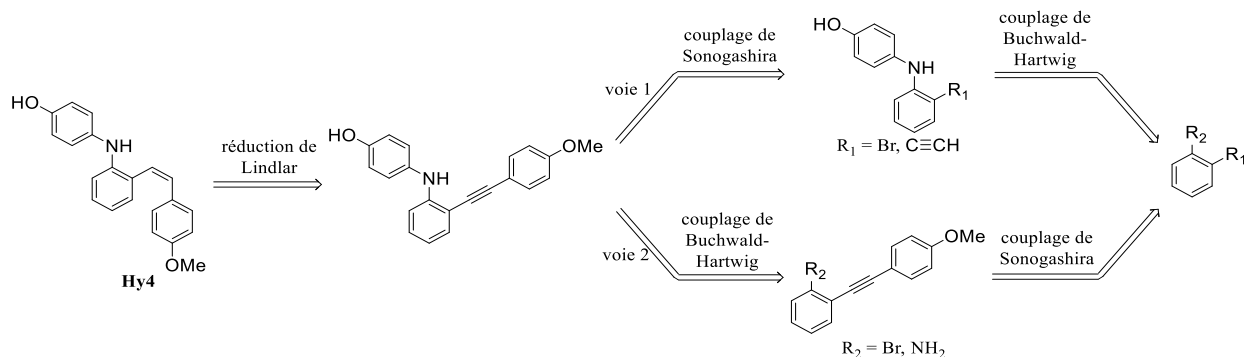


Schéma 40 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy4** selon une réduction de Lindlar

Afin de guider notre choix pour l'ordre des deux couplages ainsi que la nature des substituants R_1 et R_2 du substrat de départ, nous avons considéré les quatre possibilités de substrats.

- L'utilisation du 1,2-dibromobenzène ($R_1 = R_2 = \text{Br}$) entraîne le risque d'un double couplage, quel que soit le type de couplage intervenant en premier, et ne semble donc adaptée ni pour la voie 1 ni pour la voie 2.
- L'utilisation de la 2-bromoaniline ($R_1 = \text{Br}$, $R_2 = \text{NH}_2$) semble adaptée si le couplage de Sonogashira intervient en premier (voie 2). En revanche, si la voie 1 est appliquée au départ d'un tel substrat, la 2-bromoaniline pourrait se coupler avec elle-même voire polymériser lors du couplage de Buchwald-Hartwig.
- Au départ du 1-bromo-2-éthynylbenzène ($R_1 = \text{C}\equiv\text{CH}$, $R_2 = \text{Br}$), la voie 1 semble adaptée. En revanche, la voie 2 présente un risque de couplage de Sonogashira du substrat avec lui-même et est donc à proscrire.
- Enfin, l'utilisation de la 2-éthynylaniline ($R_1 = \text{C}\equiv\text{CH}$, $R_2 = \text{NH}_2$) semble adaptée aux deux voies de synthèse envisagées.

Pour ces raisons, et en tenant également compte de la disponibilité des réactifs, nous avons sélectionné la deuxième option, c'est-à-dire la voie 2 au départ de 2-bromoaniline ($R_1 = \text{Br}$, $R_2 = \text{NH}_2$). Nous avons réalisé la synthèse selon le schéma suivant (Schéma 41) : un couplage de Sonogashira entre la 2-bromoaniline et le (4-méthoxyphényl)acétylène a conduit à l'intermédiaire **31** avec un rendement de 56%.¹²⁸ Ce dernier a ensuite été engagé dans un couplage de Buchwald-Hartwig (Tableau 10).

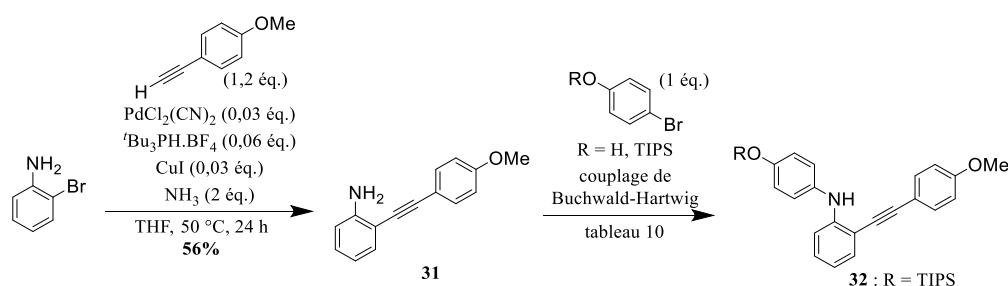


Schéma 41 : Couplage de Sonogashira entre la 2-bromoaniline et le (4-méthoxyphényl)acétylène suivi d'un couplage de Buchwald-Hartwig

Tableau 10 : Conditions de couplage de Buchwald-Hartwig entre l'aniline **31** et le 4-bromophénol avec ou sans protection

entrée	R	conditions	observations	référence
1	H	Pd ₂ (dba) ₃ (0,01 équ.) XantPhos (0,02 équ.) KO ^t Bu (1,4 équ.) toluène, reflux, 24 h	pas d'évolution par CCM (produits de départ)	129
2	TIPS*	Pd ₂ (dba) ₃ (0,01 équ.) XantPhos (0,02 équ.) KO ^t Bu (1,4 équ.) toluène, reflux, 24 h	pas d'évolution par CCM (produits de départ)	
3		Pd(OAc) ₂ (0,05 équ.) XantPhos (0,05 équ.) Cs ₂ CO ₃ (2 équ.) dioxane, 100 °C, 4 j	évolution très lente 32 : rendement isolé = 15%	113

* conditions de protection : TIPSCI (1 équ.), imidazole (1,5 équ.), DCM, reflux, 48 h (rendement : 59%)¹⁰⁸

En présence de Tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium, de XantPhos et de *tert*-butanolate de potassium, le couplage de Buchwald-Hartwig entre l'intermédiaire **31** et le 4-bromophénol n'a pas abouti, le milieu réactionnel n'évoluant pas (Tableau 10, entrée 1). Afin d'écartier l'hypothèse d'une pollution liée à la présence du groupement hydroxy du 4-bromophénol, les mêmes conditions ont été appliquées à l'intermédiaire **31** et au 4-bromophénol protégé par un groupement TIPS, sans succès (Tableau 10, entrée 2).¹²⁹ D'autres conditions ont alors été testées, faisant intervenir notamment un catalyseur moins encombré (acétate de palladium) et une base plus faible (carbonate de césium). Ces conditions ont permis la formation du produit désiré **32**.¹¹³ Cependant, l'évolution du milieu réactionnel est très lente (15% de rendement après 4 jours d'agitation à 100 °C) (Tableau 10, entrée 3). Le produit **32** a néanmoins été obtenu en quantités suffisantes pour poursuivre la synthèse.

L'étape suivante de la synthèse consiste en la réduction stéréosélective de l'alcyne en alcène. Diverses méthodes sont décrites dans la littérature, en fonction de la configuration de l'alcène souhaité. Dans le cas présent d'un alcène *Z*, le réactif de Lindlar est le plus souvent employé, mais d'autres réactifs peuvent également conduire à cette configuration d'alcène, comme le borure de nickel par exemple. Pour des raisons de disponibilités des réactifs, la réduction de l'alcyne **32** a été explorée via une réduction de Lindlar. Diverses conditions ont été testées (Schéma 42 et Tableau 11).

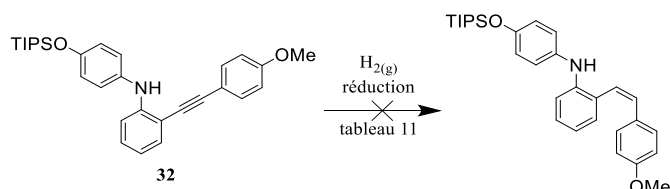


Schéma 42 : réduction de l'alcyne **32**

Tableau 11 : Conditions de réduction de l'alcyne **32**

entrée	conditions	observations	référence
1	H _{2(g)} Pd Lindlar (0,1 éq.) quinoléine (0,1 éq.) acétate d'éthyle, t.a., 24 h	pas d'évolution par RMN (produit de départ)	130
2	H _{2(g)} Pd Lindlar (0,1 éq.) acétate d'éthyle, t.a., 1 nuit	pas d'évolution par RMN (produit de départ)	
3	H _{2(g)} Pd Lindlar (0,1 éq.) quinoléine (0,1 éq.) éthanol, t.a., 1 nuit	pas d'évolution par RMN (produit de départ)	
4	H _{2(g)} (hydrogénateur) Pd Lindlar (cartouche) quinoléine (0,1 éq.) éthanol, 50 °C, 2 h	pas d'évolution par RMN (produit de départ)	
5	H _{2(g)} Pd/C (0,1 éq.) éthanol, t.a., 2 h	pas d'évolution par RMN (produit de départ)	

Les conditions classiques de réduction de Lindlar n'ont pas conduit à l'alcène, que ce soit en présence ou en l'absence de quinoléine (Tableau 11, entrées 1 et 2). De même, l'utilisation d'éthanol comme solvant n'a pas abouti (Tableau 11, entrée 3).¹³⁰ Dans les trois cas précédents, l'hydrogène a été introduit dans le milieu en faisant barboter le gaz dans le solvant, puis en maintenant une pression d'environ 1 bar. Afin d'appliquer une pression plus importante en dihydrogène, les mêmes conditions ont été appliquées, mais en utilisant un hydrogénateur permettant une pression en hydrogène d'environ 3 bars, sans succès (Tableau 11, entrée 4). L'utilisation de palladium non empoisonné à la place du catalyseur de Lindlar, en l'occurrence du palladium sur charbon habituellement utilisé pour réduire les doubles et triples liaisons jusqu'à l'alcane, n'a pas non plus permis la réduction de l'alcyne (Tableau 11, entrée 5).¹³⁰ Les conditions testées n'ayant pas permis la réduction de l'alcyne **32**, nous avons supposé que l'encombrement stérique engendré par le groupement phénylamino ne permet pas la chimisorption du substrat sur le catalyseur.

L'encombrement stérique semblant défavoriser la réduction, la voie de synthèse a été revisitée. Les étapes de réduction et de couplage ont été interverties, malgré les risques d'instabilité de l'alcène dans les conditions de couplage, du fait notamment du chauffage important. L'alcyne **31** a subi une réduction de Lindlar conduisant à l'alcène **Z 33** (92%), dont la configuration a été confirmée par la constante de couplage de 12,1 Hz caractérisant les signaux des deux protons éthyléniques (Schéma 43).¹³⁰ Par ailleurs, ce résultat conforte l'hypothèse d'un encombrement stérique défavorisant la réduction dans le cas de l'alcyne **32**. Deux conditions de couplage de Buchwald-Hartwig ont ensuite été explorées entre l'alcène **33** et le 4-bromophénol protégé. Aucune des conditions n'a conduit au composé désiré (Tableau 12).

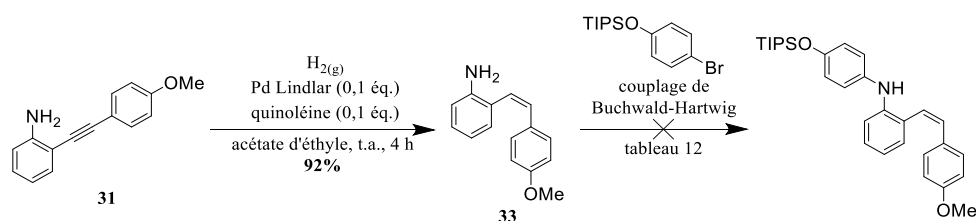


Schéma 43 : Réduction de l'alcyne **31** suivie d'un couplage de Buchwald-Hartwig

Tableau 12 : Conditions de couplage de Buchwald-Hartwig entre l'intermédiaire **33** et le 4-bromophénol protégé

entrée	conditions	observations	référence
1	dérivé bromé (1 éq.) Pd(OAc) ₂ (0,05 éq.) XantPhos (0,05 éq.) Cs ₂ CO ₃ (2 éq.) dioxane, 100 °C, 1 nuit	isomérisation de 33 *	113
2	dérivé bromé (1 éq.) Pd ₂ (dba) ₃ (0,01 éq.) XPhos (0,01 éq.) NaO ^t Bu (1 éq.) dioxane, 110 °C, 4 h	dégradation	131

* structure déterminée par RMN ¹H et MS

En présence d'acétate de palladium, de XantPhos et de carbonate de césium, le système n'a pas présenté d'évolution. Après purification destinée à recycler les réactifs, nous avons constaté que l'alcène **33** s'était isomérisé en alcène *E* (Tableau 12, entrée 1).¹¹³ En effet, les analyses MS montrent que la masse du composé isolé est identique à celle de l'alcène **33**, et on retrouve sur le spectre RMN les signaux caractéristiques de **33** avec des déplacements chimiques différents ainsi qu'une constante de couplage des protons éthyléniques de 16,2 Hz contre 12,1 Hz pour **33**. Enfin, le couplage a été testé en présence de Tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium, de XPhos et de *tert*-butanolate de sodium, conduisant à la dégradation des réactifs (Tableau 12, entrée 2).¹³¹ On ne retrouve en effet aucun des signaux correspondant au produit attendu ou aux réactifs sur le spectre RMN du produit brut. Il semblerait donc que dans le cas de la cible **Hy4**, les voies de synthèse incluant une réduction d'alcyne soient inadapées. Afin de former la double liaison, nous avons exploré la réaction de Wittig.

II.3.5.2. Synthèse de la cible **Hy4** selon une réaction de Wittig

La synthèse de la cible **Hy4** selon une réaction de Wittig comporte deux étapes-clés (Schéma 44) : un couplage de Buchwald-Hartwig introduisant le groupement (4-hydroxyphényl)amino et une réaction de Wittig permettant la formation de l'alcène. Comme précédemment, en raison des risques d'instabilité de l'alcène lors des étapes nécessitant un chauffage, il a été décidé de réaliser la réaction de Wittig en dernier. Par ailleurs, cette étape consistant en une réaction entre un sel de phosphonium déprotoné et un aldéhyde, deux possibilités de choix des réactifs sont envisageables. La première consiste à réaliser la réaction au départ du 2-(phénylamino)benzaldéhyde et le sel de phosphonium issu de l'halogénure de 4-méthoxybenzyle (voie 1), et la seconde entre le 4-méthoxybenzaldéhyde et le sel de phosphonium issu de l'halogénure de 2-(phénylamino)benzyle (voie 2).

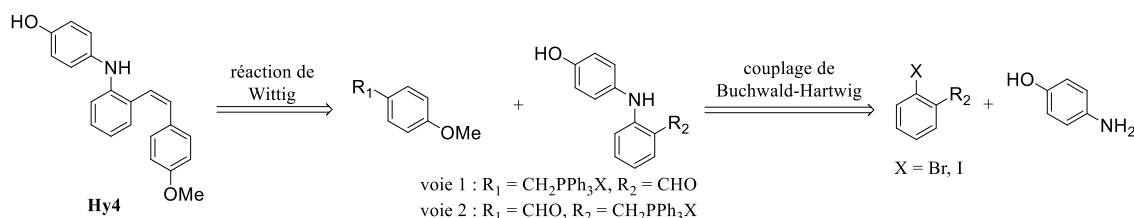


Schéma 44 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy4** selon une réaction de Wittig

La voie 1 présente un certain nombre d'avantages par rapport à la voie 2. Premièrement, elle part de l'aldéhyde **25** synthétisé précédemment. En effet, au groupement protecteur de la fonction phénol près, sa structure est la même que celle de l'aldéhyde envisagé pour la réaction de Wittig. Par ailleurs, il serait judicieux de conserver ce groupement protecteur, le phénol risquant de favoriser des réactions parasites. D'autre part, la synthèse du sel de phosphonium issu de la voie 1 est décrite avec de très bons rendements.¹³² En revanche, celui issu de la voie 2 n'est pas documenté.

Nous avons ainsi sélectionné la voie 1 pour réaliser la synthèse (Schéma 45). Le sel de phosphonium **35** a été préparé par bromation de l'alcool 4-méthoxybenzylique en bromure de 4-méthoxybenzyle **34** (>99%) puis réaction de ce dernier avec la triphénylphosphine (72%).^{132,133}

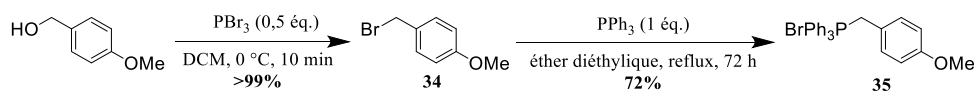


Schéma 45 : Synthèse du sel de phosphonium **35**

Diverses méthodes de couplage de Wittig sont décrites dans la littérature, impliquant notamment une grande variété de bases. Outre la nécessité d'adapter la force de la base au type de sel de phosphonium utilisé, le choix du contre-ion a également une importance. John HANSON a montré l'influence de la nature de ce contre-ion sur la stéréosélectivité d'une réaction de Wittig entre le benzaldéhyde et le bromure de butyltriphénylphosphonium (Schéma 46). En explorant trois bases, à savoir les bis(triméthylsilyl)amidures de lithium (LiHMDS), de sodium (NaHMDS) et de potassium (KHMDS), son équipe est parvenue au constat suivant : l'ion lithium favorise l'alcène *E* (*Z/E* = 40/60) tandis que les ions sodium et potassium favorisent l'alcène *Z* (*Z/E* = 91/9 dans les deux cas).¹³⁴

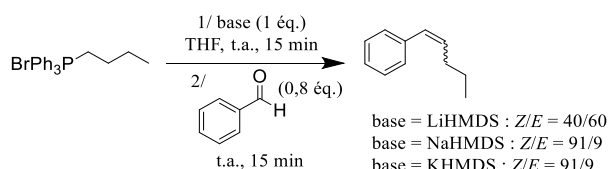


Schéma 46 : Influence de la nature du contre-ion de la base sur la stéréosélectivité d'une réaction de Wittig

Dans la même étude, John HANSON décrit également l'influence de l'introduction de sels minéraux dans le milieu réactionnel de la même réaction de Wittig. Quelle que soit la nature de la base, l'ajout au milieu réactionnel de bromure de sodium (NaBr) ou de potassium (KBr) influe très peu sur la stéréosélectivité de la réaction. En revanche, l'ajout de bromure de lithium (LiBr) diminue systématiquement la proportion de diastéréoisomère *Z*, notamment lorsque les bases employées sont NaHMDS et KHMDS, avec des ratios passant de 91/9 à respectivement 59/41 et 55/45.¹³⁴

Ainsi, la présence d'ions lithium affecte notablement la stéréosélectivité de la réaction de Wittig en faveur du diastéréoisomère *E*. A ce jour, la raison d'une telle influence de ces ions n'est pas bien établie. Pour Peter BYRNE, le mécanisme même de la réaction pourrait différer selon l'absence ou la présence d'ions lithium.

En l'absence d'ions lithium, le mécanisme de la réaction de Wittig est désormais connu (Schéma 47). Après de nombreuses années de débat au sein de la communauté scientifique, il a été démontré que quelle que soit la nature de l'ylure de phosphore (non stabilisé, semi-stabilisé ou stabilisé), un mécanisme concerté de cycloaddition [2+2] entre ce dernier et le composé carbonylé conduit à la formation d'un intermédiaire oxaphosphétane. Dans le cas de l'exemple de John HANSON évoqué précédemment, les contraintes stériques dictent la manière dont les substrats se positionnent l'un par rapport à l'autre lors de leur approche *supra-antara*. En l'occurrence, le cycle aromatique du benzaldéhyde se place à l'opposé du groupement triphénylphosphore de l'ylure, et le groupement propyle de ce dernier se positionne à l'opposé du cycle aromatique du benzaldéhyde. La configuration finale de l'alcène est ainsi conditionnée par cette approche des deux espèces. Dans le cas des substrats étudiés par John HANSON, l'alcène résultant est de configuration *Z*.¹³⁵

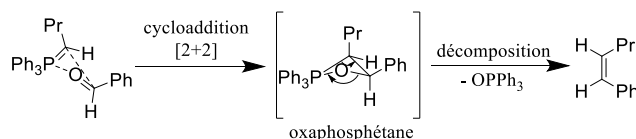


Schéma 47 : Mécanisme de la réaction de Wittig en l'absence d'ions lithium - exemple d'un ylure non stabilisé

En présence d'ions lithium, la stéréosélectivité de la réaction devient plus favorable au diastéréoisomère *E*. A notre connaissance, la raison de ce phénomène n'est pas connue. Néanmoins, ceci rappelle la modification de Schlosser (Schéma 48). Appelée également réaction de Wittig-Schlosser, cette dernière permet de modifier la diastéréosélectivité de la réaction de Wittig entre un ylure non stabilisé et un composé carbonylé en faveur de l'alcène *E* au lieu du *Z* habituellement formé. Lors de cette réaction, l'oxaphosphétane s'ouvre sous l'action de bromure de lithium, formant une bétaine lithiée. Il résulte de l'interaction ionique entre l'atome de phosphore chargé positivement et l'atome d'oxygène chargé négativement un positionnement *syn* des groupements alcoolate et triphénylphosphonium. L'atome d'hydrogène positionné en alpha du phosphore est ensuite capté par du phényllithium, générant un ylure de bétaine. Ce dernier existe sous plusieurs formes mésomères, la majoritaire étant celle pour laquelle les groupements phényle et propyle sont positionnés en *anti* l'un de l'autre. L'ylure se neutralise après ajout d'un alcool (généralement du *tert*-butanol). Enfin, l'action d'une base (souvent du *tert*-butanolate de potassium) génère un nouveau cycle oxaphosphétane, lequel après décomposition conduit à l'alcène *E*.^{136,137}

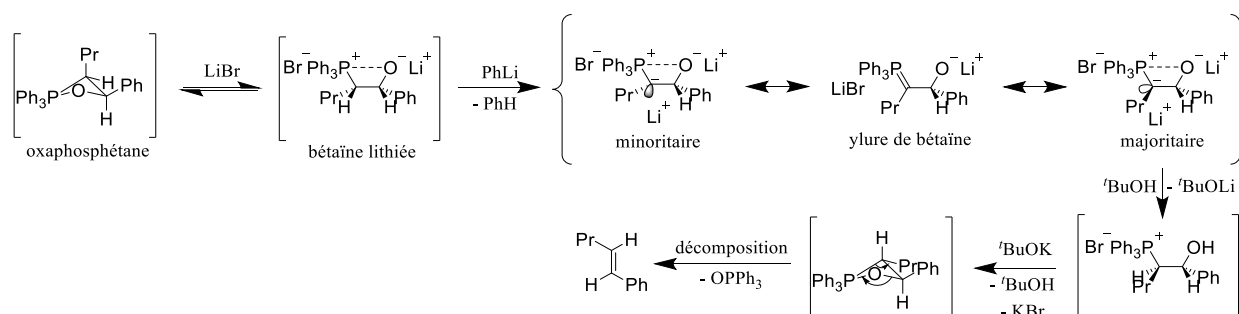


Schéma 48 : Mécanisme de la réaction de Wittig-Schlosser

Afin d'apporter une explication à la différence de sélectivité de la réaction de Wittig en fonction de la présence ou l'absence d'ions lithium, nous avons émis l'hypothèse d'un mécanisme similaire à celui de la modification de Schlosser (Schéma 49). Nous avons supposé que le contre-ion lithium de la base entraîne l'ouverture du cycle oxaphosphétane. Cependant, contrairement à la réaction de Wittig-Schlosser, aucune base supplémentaire n'est introduite dans le milieu. Nous avons donc supposé une réaction intramoléculaire lors de laquelle l'alcoolate de la bétaine lithiée capterait l'hydrogène en alpha du phosphore, générant l'ylure de bétaine. Ce dernier, comme dans le cas de la modification de Schlosser, existerait sous plusieurs formes mésomères, la majoritaire étant celle pour laquelle les groupements phényle et propyle sont positionnés en *anti* l'un de l'autre. Une prototropie conduirait à une nouvelle bétaine lithiée, laquelle reformerait un cycle oxaphosphétane, puis l'alcène *E* après décomposition du cycle.

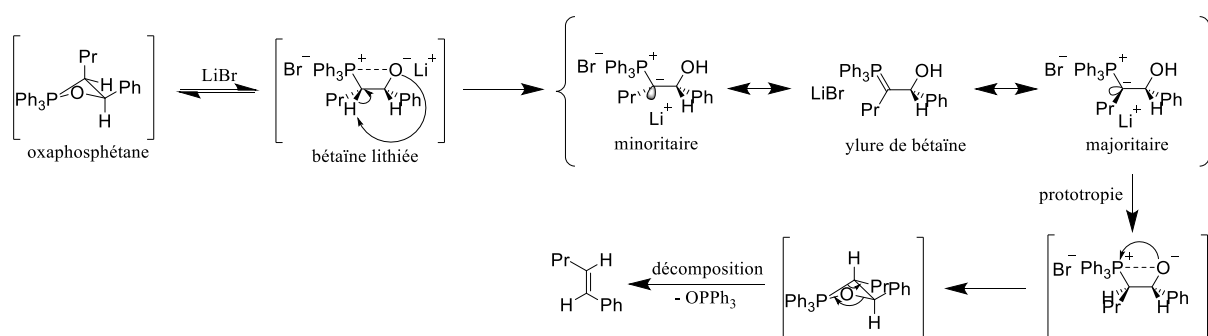


Schéma 49 : Proposition de mécanisme de la réaction de Wittig en présence d'ions lithium

L'attaque de l'hydrogène positionné en alpha du phosphore par l'alcoolate semble néanmoins moins favorable que via l'intervention d'une base extérieure, comme c'est le cas de la modification de Schlosser. En d'autres termes, afin de former le diastéréoisomère *E*, la réaction de Wittig-Schlosser semble plus efficace que l'utilisation d'une base lithiée seule ou l'ajout de sels lithiés. Effectivement, alors que la modification de Schlosser conduit généralement à presque 100% de diastéréoisomère *E*, John HANSON a obtenu au maximum 60% de cet isomère.¹³⁴

Ce mécanisme n'est qu'un postulat, et nécessiterait une étude plus poussée. Cependant, nous pouvons tout de même déduire des résultats obtenus par John HANSON que la cible **Hy4** étant un alcène de configuration *Z*, les bases lithiées sont à proscrire. Nous avons alors sélectionné des conditions de réaction de Wittig en présence d'une base potassique : le *tert*-butanolate de potassium afin de maximiser la formation du diastéréoisomère *Z*. Cependant, dans ces conditions, le ratio *Z/E* est de 15/85 (Schéma 50).¹³²

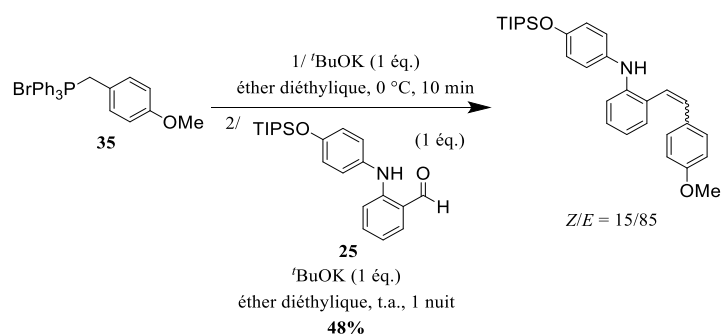


Schéma 50 : Réaction de Wittig entre le sel de phosphonium **35** et l'aldéhyde **25**

Ce ratio défavorable au diastéréoisomère *Z* n'est néanmoins pas surprenant, en raison des contraintes stériques liées à sa structure. Nous avons supposé qu'une optimisation des conditions de réaction de Wittig ne suffiraient pas à améliorer ce ratio, en raison d'une potentielle instabilité du composé désiré.

Afin de vérifier l'hypothèse d'une instabilité de l'alcène désiré, nous avons réalisé une réaction de substitution nucléophile aromatique entre l'alcène *Z* **33** synthétisé précédemment et le 1-fluoro-4-nitrobenzène (Schéma 51).¹⁰⁹ Cette réaction doit a priori conserver la configuration de l'alcène. Cependant, malgré les précautions prises, à savoir une exécution de l'ensemble des manipulations à l'abri de la lumière ainsi qu'une réaction sans chauffage, on assiste à l'isomérisation de 75% du produit en son diastéréoisomère *E*, confortant l'hypothèse d'une instabilité de cet alcène.

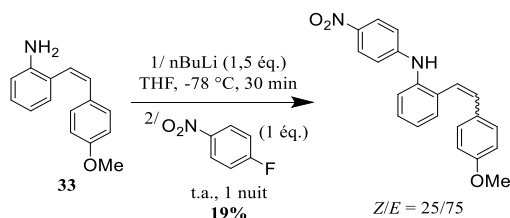


Schéma 51 : Substitution nucléophile aromatique entre l'alcène **33** et le 1-fluoro-4-nitrobenzène

La synthèse de la cible **Hy4** n'a pas été davantage explorée. Il a en revanche été décidé de modifier la structure de cet alcène en faveur d'un nouvel hybride plus favorable **Hy4'** (Figure 42). Cette modification de structure consiste en le remplacement par un groupement méthyle de l'un des atomes d'hydrogène de l'alcène, en l'occurrence celui à proximité du cycle 4-méthoxyphényle. En effet, parmi les deux positions possibles, il s'agit de celle présentant le moins de risque de gêne stérique.

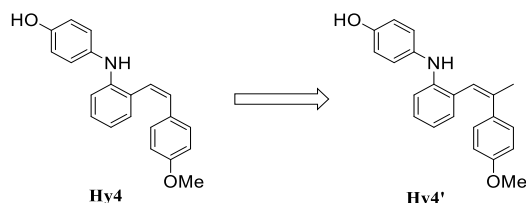


Figure 42 : Structure des hybrides **Hy4** et **Hy4'**

II.3.5.3. Synthèse de la cible **Hy4'**

La voie de synthèse précédente a été conservée pour la nouvelle cible **Hy4'**, c'est-à-dire via une réaction de Wittig, nécessitant préalablement la préparation du sel de phosphonium approprié (Schéma 52).

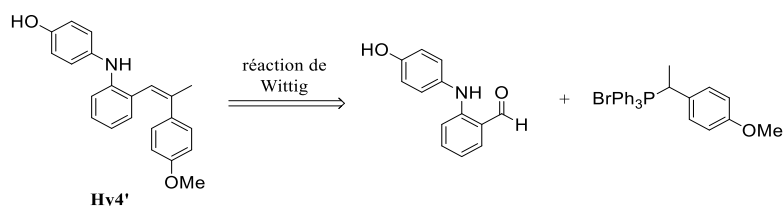


Schéma 52 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy4'**

La synthèse du sel de phosphonium a été réalisée de la manière suivante (Schéma 53) : la 4-méthoxyacétophénone a été réduite en l'alcool **36** (94%), puis ce dernier a réagi avec du bromure de triphénylphosphonium, conduisant au sel de phosphonium désiré **37** avec un rendement de 89%.^{138,139}

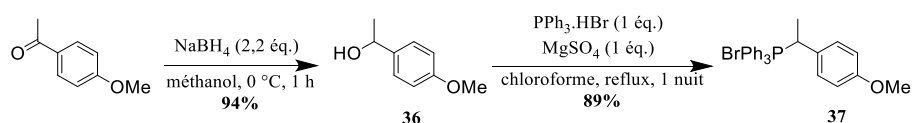


Schéma 53 : Synthèse du sel de phosphonium **37**

Lors de la synthèse du sel de phosphonium **35** décrite précédemment, l'intermédiaire bromé **34** a été isolé puis transformé en sel de phosphonium au cours de l'étape suivante (Schéma 45). En revanche, ceci n'est pas réalisable dans ce nouveau cas. En effet, la bromation de l'alcool **36** conduit à un composé instable.

En effet, dans le premier cas, l'élimination spontanée du brome n'est pas favorable, car il en résulterait un carbocation primaire (Schéma 54). Dans le second cas, le carbocation est secondaire. L'élimination de l'atome de brome est donc plus favorable. Notons qu'en l'absence des groupements méthoxy, les dérivés bromés sont stables dans les deux cas, comme en témoignent les nombreuses sources commerciales. En effet, la présence de ce groupement stabilise le carbocation par délocalisation d'électrons, favorisant ainsi le départ du brome.

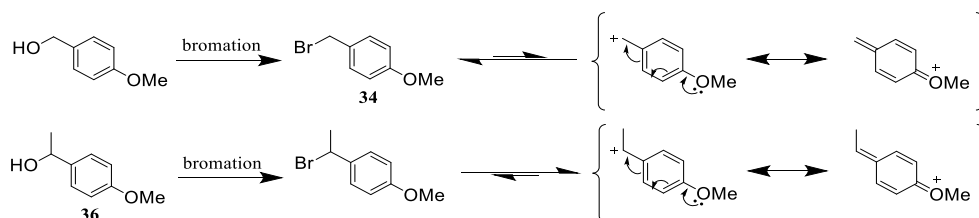


Schéma 54 : Comparaison de la stabilité des dérivés bromés

L'utilisation du bromure de triphénylphosphonium permet de résoudre ce problème d'instabilité (Schéma 55). Nous supposons que le dérivé bromé se forme sous l'action de l'acide bromhydrique, puis la triphénylphosphine intervient avant dégradation du dérivé bromé pour substituer l'atome de brome, conduisant au sel de phosphonium **37**.

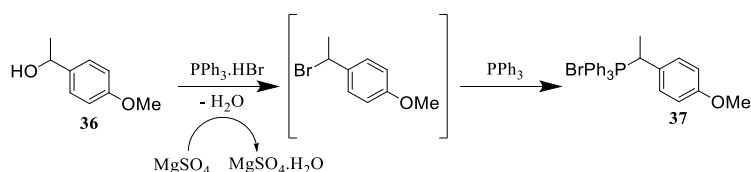


Schéma 55 : Utilisation du complexe triphénylphosphine-acide bromhydrique pour la synthèse du sel de phosphonium **37**

Notons que cette étape de la synthèse génère de l'eau, éliminée par distillation continue dans le cadre de l'étude sur laquelle nous nous sommes appuyé. Cependant, pour des raisons de simplicité d'exécution de la réaction, nous avons choisi de nous affranchir de la mise en place d'un montage de distillation continue et d'intégrer au milieu réactionnel 1 équivalent de sulfate de magnésium, dont le rôle est de capter l'équivalent d'eau qui se forme au cours de la réaction.

Une réaction de Wittig a ensuite été engagée entre le sel de phosphonium **37** et l'aldéhyde **25** (Schéma 56). Deux températures de formation de l'ylure de phosphore ont été testées (Tableau 13).

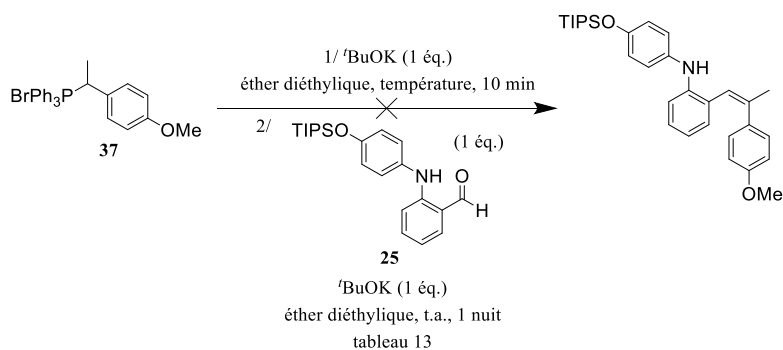


Schéma 56 : Réaction de Wittig entre le sel de phosphonium **37** et l'aldéhyde **25**

Tableau 13 : Conditions de réaction de Wittig entre le sel de phosphonium **37** et l'aldéhyde **25**

entrée	température de formation de l'ylure de phosphore	observations	référence
1	0 °C	dégradation rapide de l'ylure de phosphore	132
2	-78 °C	pas d'évolution par CCM (produits de départ)	

Après ajout de la base à la suspension de sel de phosphonium dans l'éther diéthylique, on assiste à la disparition du solide et à une coloration rouge du milieu réactionnel, traduisant la formation de l'ylure. Lorsque la manipulation est réalisée à 0 °C, la coloration disparaît rapidement : l'ylure de phosphore se dégrade avant addition de l'aldéhyde (Tableau 13, entrée 1). En revanche, à -78 °C, la coloration se maintient. Le milieu est progressivement ramené à température ambiante après addition de l'aldéhyde. Cependant, le milieu réactionnel n'évolue pas davantage : la réaction de Wittig n'a pas lieu (Tableau 13, entrée 2).¹³² Ce résultat peut s'expliquer par un encombrement de l'ylure de phosphore lié à la présence du groupement méthyle, défavorisant l'approche des réactifs.

Dans la littérature, il existe peu d'exemples de synthèse de ce type d'alcène trisubstitué via une réaction de Wittig classique. En revanche, plusieurs études décrivent la formation de structures similaires au départ d'alcènes iodosubstitués. C'est le cas par exemple de la synthèse décrite par Yi LI de l'alcène **6a**, réalisée via un couplage de Suzuki entre l'acide phénylboronique et le (Z)-(2-iodoprop-1-ène-1,3-diyl)dibenzène, le couplage conservant la configuration Z de la double liaison (Schéma 57).¹²⁶

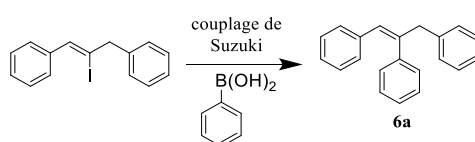


Schéma 57 : Couplage de Suzuki entre le (Z)-(2-iodoprop-1-ène-1,3-diyl)dibenzène et l'acide phénylboronique

Enfin, la synthèse des alcènes iodosubstitués est décrite dans la littérature selon des réactions de Wittig entre des sels de phosphonium préalablement iodés en alpha du phosphore et des composés carbonylés, comme le montre Jie CHEN à travers plusieurs dérivés du benzaldéhyde (Schéma 58).¹⁴⁰

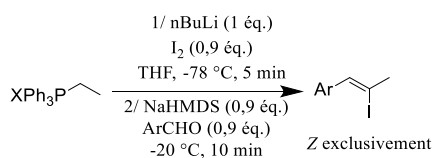


Schéma 58 : Iodation d'un sel de phosphonium et réaction de Wittig avec des dérivés du benzaldéhyde

Il a ainsi été décidé d'appliquer cette stratégie de synthèse à la cible **Hy4'**. Trois étapes-clés constituent la voie de synthèse (Schéma 59) : un couplage de Buchwald-Hartwig permettant l'introduction du groupement 2-(4-hydroxyphényl)amino, une réaction de Wittig formant l'alcène iodosubstitué et un couplage de Suzuki substituant l'atome d'iode par le groupement 4-méthoxyphényle.

A priori, plusieurs ordres d'exécution de ces étapes sont possibles. Cependant, afin de réutiliser l'aldéhyde **25** préalablement synthétisé, la voie suivante a été choisie (Schéma 59) : la cible proviendrait d'un couplage de Suzuki entre l'acide (4-méthoxyphényl)boronique et l'alcène iodosubstitué. Ce dernier serait issu d'une réaction de Wittig entre le (2-phénylamino)benzaldéhyde et l'iodure d'éthylphosphonium.

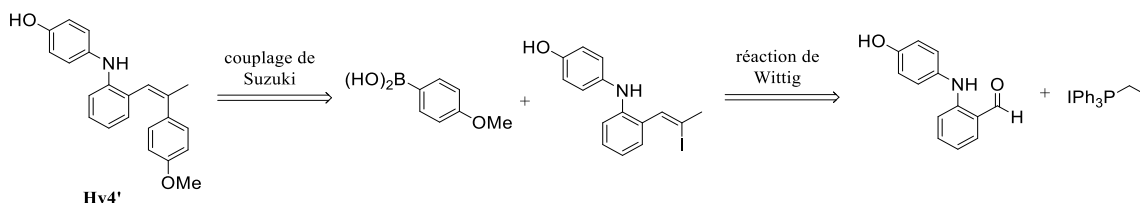


Schéma 59 : Approche rétrosynthétique révisée de l'hybride **Hy4'**

L'iodoéthane a réagi avec la triphénylphosphine pour former l'iodure d'éthylphosphonium **38** (>99%).¹⁴¹ A ce dernier et l'aldéhyde **25** ont été appliquées les conditions de Jie CHEN sans succès, le système n'évoluant pas (Schéma 60).¹⁴⁰

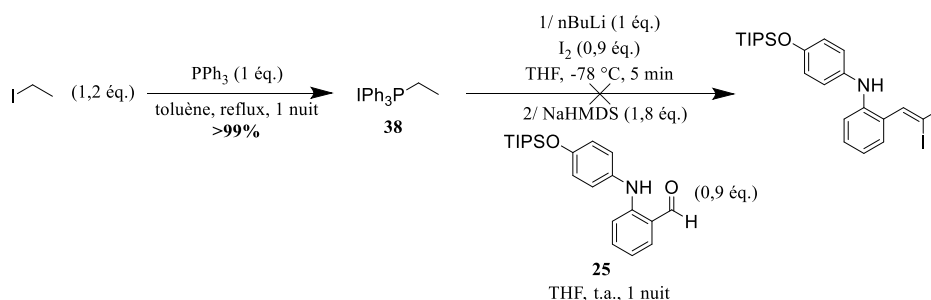


Schéma 60 : Synthèse de l'iodure d'éthylphosphonium **38** et réaction avec l'aldéhyde **25** dans les conditions de Jie CHEN

La synthèse de l'alcène iodosubstitué dans les conditions de Jie CHEN est décomposable en quatre sous-étapes (Schéma 61). Dans un premier temps, l'action d'une base sur le sel de phosphonium **38** génère l'ylure **38a**. L'addition de diiode sur ce dernier conduit ensuite à la formation d'un nouveau sel de phosphonium, l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **38b**, lequel sous l'action d'une base se transforme en ylure de phosphore **38c**. Enfin, la réaction de Wittig entre **38c** et l'aldéhyde devrait générer l'alcène iodosubstitué désiré.

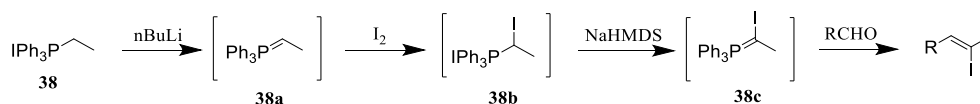


Schéma 61 : Décomposition de la réaction entre l'iodure d'éthylphosphonium **38** et un aldéhyde dans les conditions de Jie CHEN

Si les ylures de phosphore **38a** et **38c** ne sont pas isolables, le sel de phosphonium **38b**, en revanche, l'est. Afin de minimiser le nombre de réactifs employés en une seule étape, d'éviter d'éventuelles réactions parasites ainsi qu'un nombre important d'ions spectateurs différents (ions lithium, sodium et iodure présents dans le même milieu lors de l'essai précédent), il a été décidé de décomposer cette réaction en deux étapes : la première consisterait en la synthèse et l'isolement de l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39** (= **38b**) et la seconde en la réaction de Wittig entre ce dernier et l'aldéhyde.

Plusieurs conditions ont été testées pour la synthèse de l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39** (Schéma 62 et Tableau 14).

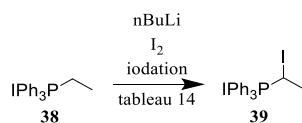


Schéma 62 : Synthèse de l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39**

Tableau 14 : Conditions de synthèse de l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39**

entrée	conditions	observations	référence
1	1/ nBuLi (1 éq.) THF, 0 °C, 1 h 2/ I ₂ (1 éq.) THF, t.a. 3 h	mélange 38/39 46/54*	142
2	1/ nBuLi (1 éq.) THF, 0 °C, 1 h 2/ I ₂ (1 éq.) (addition lente) THF, t.a. 3 h	mélange 38/39 24/76*	
3	1/ nBuLi (1 éq.) THF, 0 °C, 1 h 2/ I ₂ (2 éq.) (addition lente) THF, t.a. 3 h	39 : rendement isolé = 86%	

* ratio déterminé par RMN ¹H à partir des intégrations des signaux correspondant aux groupements CH₃ de **38** (δ = 1,22 ppm) et de **39** (δ = 2,05 ppm)

La première étape de la réaction, consistant en la formation de l'ylure de phosphore à partir de l'iodure d'éthylphosphonium, a été réalisée avec 1 équivalent de *n*-butyllithium. Après agitation, la solution résultante a été additionnée sur une solution de diiode. Avec 1 équivalent de diiode, on obtient un mélange 46/54 des sels **38** et **39** (Tableau 14, entrée 1). Nous avons supposé que ce mélange n'était pas dû à un taux de conversion incomplet, mais à une réaction parasite (Schéma 63). En effet, lors de l'addition de l'ylure de phosphore sur le diiode, deux réactions sont possibles. L'ylure peut attaquer le diiode, conduisant à l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39** (voie 1) ou déprotoner le sel **39** déjà formé dans le milieu, et ainsi se neutraliser pour reformer le sel **38** (voie 2). En effet, l'électronégativité de l'iode stabilisant l'ylure issu du sel **39**, le pKa de son site acide est plus faible que celui du sel **38**.

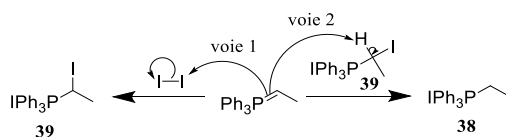


Schéma 63 : Compétition entre la formation de l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39** et la neutralisation de l'ylure en iodure d'éthylphosphonium **38**

Avec une addition plus lente de l'ylure sur l'aldéhyde, la réaction parasite devient moins favorable, l'ylure étant davantage nucléophile que basique. Le ratio final **38/39** est alors 24/76 (Tableau 14, entrée 2). C'est avec 2 équivalents de diiode tout en maintenant une addition lente que la réaction parasite devient négligeable. L'iodure de 1-iodoéthylphosphonium est alors obtenu pur avec un rendement de 86% (Tableau 14, entrée 3).¹⁴²

Une réaction de Wittig a ensuite été engagée entre le sel de phosphonium **39** et l'aldéhyde **25** (Schéma 64). Les conditions employées proviennent d'un travail d'optimisation qui sera détaillé ultérieurement. Cependant, ces conditions ont été obtenues à partir d'un autre substrat, et ne sont donc potentiellement pas adaptées à l'aldéhyde **25**, d'où un rendement faible de 23%. La configuration Z de la double liaison a été déterminée via une expérience RMN NOESY qui a mis en évidence une corrélation entre le proton éthylénique ($\delta = 6,53$ ppm) et les protons du groupement méthyle ($\delta = 2,73$ ppm). Un couplage de Suzuki entre l'alcène iodosubstitué **40** résultant et l'acide 4-méthoxyphénylboronique n'a pas abouti, l'alcène **40** se dégradant en cours de réaction (clivage du groupement TIPS).⁹⁷

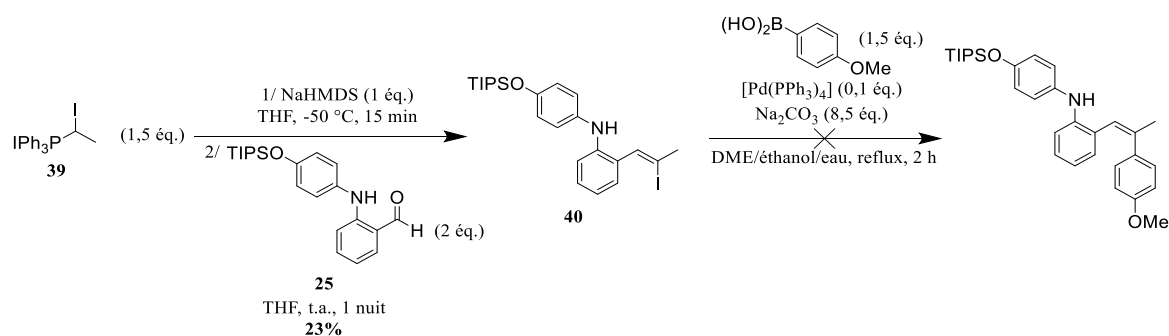


Schéma 64 : Réaction de Wittig entre l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39** et l'aldéhyde **25** suivie d'un couplage de Suzuki avec l'acide 4-méthoxyphénylboronique

Dans les conditions testées, la voie de synthèse comportant le couplage de Suzuki en dernière étape n'est donc pas viable. Le schéma rétrosynthétique a ainsi été revisité en faveur d'une nouvelle approche incluant le couplage de Buchwald-Hartwig en dernière étape. Deux voies de synthèse sont possibles (Schéma 65) : la cible **Hy4'** proviendrait d'un couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-hydroxyaniline et le bromure d'aryle correspondant (voie 1) ou entre le 4-bromophénol et l'aniline correspondante (voie 2). Dans les deux cas, l'intermédiaire proviendrait de l'alcène iodosubstitué, lequel serait préparé via une réaction de Wittig entre l'aldéhyde correspondant et l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39**.

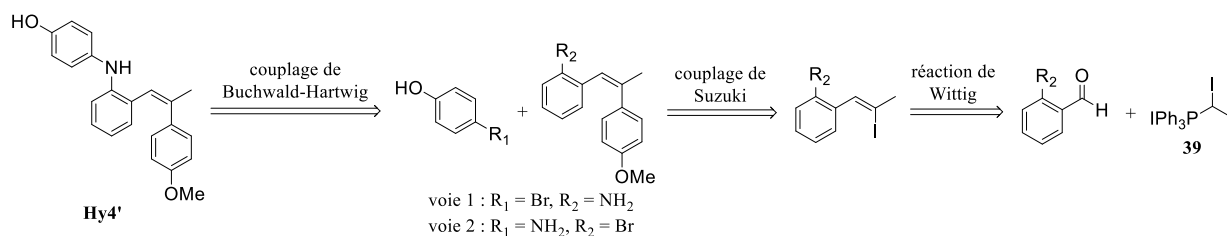


Schéma 65 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy4'** incluant un couplage de Buchwald-Hartwig en dernière étape

Chaque voie de synthèse présente des avantages et inconvénients. La voie 1 prévoit l'utilisation du 2-aminobenzaldéhyde lors de la réaction de Wittig. Or, le groupement amino peut potentiellement interférer dans cette réaction et lors du couplage de Suzuki. Ainsi, l'utilisation d'un groupement nitro semble plus adaptée. Cela implique une étape supplémentaire de réduction du groupement nitro entre les étapes de couplage. La voie 2, en revanche, ne nécessite pas d'étape supplémentaire. Néanmoins, la présence simultanée d'un atome de brome et d'un atome d'iode lors du couplage de Suzuki peut entraîner des réactions parasites. Nous avons décidé d'explorer les deux possibilités.

- **Synthèse de la cible Hy4' selon la voie 1**

La première étape de la synthèse consiste en une réaction de Wittig entre l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39** et le 2-nitrobenzaldéhyde (Schéma 66).¹⁴⁰ Un premier essai réalisé à -20 °C a conduit à la dégradation de l'ylure de phosphore, se manifestant par une décoloration rapide du milieu réactionnel. La réaction a ainsi été réengagée à -50 °C, conduisant à l'alcène iodosubstitué **41**. La configuration Z de la double liaison a été déterminée via une expérience RMN NOESY qui a mis en évidence une corrélation entre le proton éthylénique ($\delta = 6,94$ ppm) et les protons du groupement méthyle ($\delta = 2,74$ ppm). Il s'est également formé une impureté, l'alcyne **41'** (dont la structure a été déterminée par analyses MS et RMN), dans des proportions largement supérieures à celles du produit attendu. En effet, le ratio **41/41'**, déterminé par RMN ¹H à partir de l'intégration des signaux correspondant aux groupements méthyle de **41** et **41'**, est 29/71. De surcroît, ces deux composés sont très difficiles à séparer par chromatographie, ne permettant donc pas de déterminer un rendement.

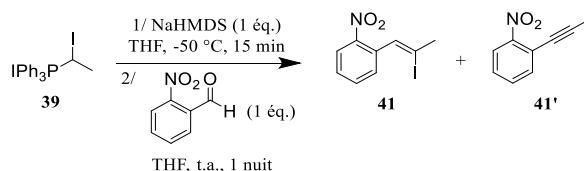


Schéma 66 : Premier essai de réaction de Wittig entre l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39** et le 2-nitrobenzaldéhyde

Cette impureté est générée par élimination de l'iode de l'alcène **41** par l'attaque d'une base, en l'occurrence l'ylure de phosphore présent dans le milieu réactionnel, conduisant alors à l'alcyne **41'** (Schéma 67). Ce type d'élimination est décrit dans la littérature, et est justement exploité pour la synthèse d'alcynes. On peut citer entre autres les travaux de Akihiro ORITA, Günter KÖBRICH ou Henry WONG.¹⁴³⁻¹⁴⁵

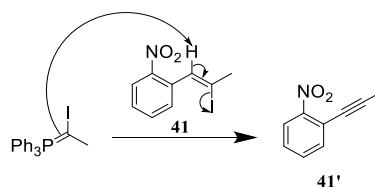


Schéma 67 : Mécanisme de la formation de l'impureté **41'**

Afin de minimiser la formation de cette impureté, un plan d'expériences visant à optimiser les conditions de réaction a été réalisé. Les paramètres suivants ont été étudiés : proportions engagées des réactifs, sens d'addition (aldéhyde sur ylure ou inversement) et vitesse de la remontée à température ambiante après introduction de l'aldéhyde (Schéma 68 et Tableau 15).

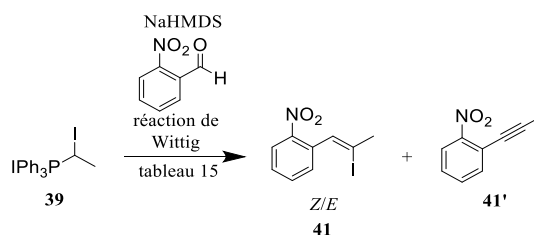


Schéma 68 : Optimisation de la réaction de Wittig entre l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39** et le 2-nitrobenzaldéhyde

Tableau 15 : Conditions de la réaction de Wittig entre l'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39** et le 2-nitrobenzaldéhyde

entrée	équivalents de sel 39/base/aldéhyde	sens d'addition	vitesse de remontée à t.a.	ratio 41/41'*	ratio Z/E**
1	1/1/1 (Schéma 66)	aldéhyde sur ylure	30 min	29/71	55/45
2	1/1/2	aldéhyde sur ylure	30 min	46/54	70/30
3	1/2/2	aldéhyde sur ylure	30 min	4/96	14/86
4	1/1/2	aldéhyde sur ylure	3 h	65/35	75/25
5	1,5/1/2	aldéhyde sur ylure	3 h	92/8	79/21
6	1,5/1/2	ylure sur aldéhyde	3 h	98/2	83/17

* ratio déterminé par RMN ¹H à partir des intégrations des signaux correspondant aux groupements méthyle de **41** ($\delta = 2,74$ ppm) et de **41'** ($\delta = 2,11$ ppm)

** ratio déterminé par RMN ¹H à partir des intégrations des signaux correspondant aux groupements méthyle de **41** ($\delta = 2,74$ ppm) et de son diastéréoisomère *E* ($\delta = 2,43$ ppm).

L'ajout de 2 équivalents d'aldéhyde permet de diminuer la proportion d'impureté **41'** se formant (Tableau 15, entrée 2). En effet, dans ces conditions, l'aldéhyde est toujours dans des quantités supérieures ou égales à celles du produit **41**. Les probabilités de contact entre l'ylure et l'aldéhyde sont donc plus grandes qu'avec un seul équivalent de ce dernier. Avec 2 équivalents de base, la réaction conduit presque uniquement à l'impureté **41'** (Tableau 15, entrée 3). Dans ce cas, la formation de l'alcyne **41'** est réalisée non seulement par l'ylure, mais également par l'excès de base. D'autre part, la vitesse de remontée à température ambiante après addition de l'aldéhyde a également une influence (Tableau 15, entrée 4). En effet, avec une remontée plus lente, la réaction devient favorable au produit désiré **41** avec un ratio **41/41'** de 65/35. L'introduction d'un excès de sel de phosphonium **39** permet également d'améliorer le ratio (Tableau 15, entrée 5). Enfin, l'inversion du sens d'addition a conduit au meilleur résultat, avec un ratio **41/41'** de 98/2. En effet, en additionnant l'ylure sur l'aldéhyde, le produit formé n'est jamais en contact avec un excès de base, limitant fortement les risques d'élimination de l'atome d'iode (Tableau 15, entrée 6).

Par ailleurs, le ratio *Z/E* varie également selon les conditions employées, mais ceci n'est pas dû à une variation de la diastéréosélectivité de la réaction de Wittig en fonction des divers paramètres explorés. En effet, la proportion de diastéréoisomère *Z* par rapport au *E* augmente en même temps que la proportion de produit **41** par rapport à l'alcyne **41'**.

Ceci s'explique par le mécanisme de formation de l'alcyne **41'**, qui consiste en une élimination d'ordre 2. Cette élimination n'est possible que dans le cas où le proton acide et l'atome d'iode sont antipériplanaires, c'est-à-dire dans le cas de l'alcène iodosubstitué *Z*. Ainsi, seul le diastéréoisomère *Z* se convertit en alcyne **41'**. Lorsque cette conversion est importante, c'est-à-dire lorsque le ratio **41/41'** est favorable à l'alcyne **41'**, il en résulte un appauvrissement en diastéréoisomère *Z* par rapport au *E*, et donc un ratio *Z/E* plus favorable au *E* (Schéma 69).

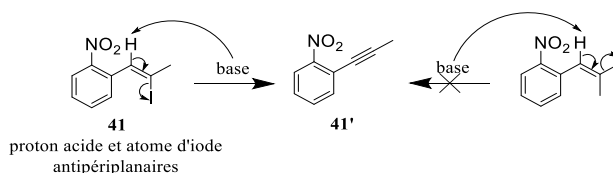


Schéma 69 : Comparaison des alcènes iodosubstitués *Z* et *E* pour leur conversion en alcyne **41'**

La mise en œuvre des conditions optimisées a ainsi conduit à l'alcène iodosubstitué *Z* désiré **41** (Schéma 70). Lors de cette réaction, le diastéréoisomère *E* s'est également formé, mais dans de faibles proportions. Par ailleurs, les purifications ont permis d'éliminer les quelques quantités formées de ce diastéréoisomère *E*. Le rendement isolé de cette réaction vaut alors 83%. Le dérivé iodé **41** a ensuite été engagé en couplage de Suzuki avec l'acide 4-méthoxyphénylboronique.⁹⁷ L'alcène **42** résultant a ainsi été obtenu de manière quantitative. La conservation de la configuration de la double liaison a été mise en évidence par les analyses RMN NOESY, qui ont montré une corrélation entre le proton éthylénique ($\delta = 6,68$ ppm) et les protons du groupement méthyle ($\delta = 2,25$ ppm). La réduction du groupement nitro a en revanche été interrompue au bout de 1,5 heures, du fait d'une impureté qui commençait à se former. L'aniline **43** a cependant été obtenue avec l'assez bon rendement de 63%.¹¹⁰ Comme précédemment, la configuration *Z* de la double liaison a été mise en évidence par les analyses RMN NOESY, qui ont montré une corrélation entre le proton éthylénique ($\delta = 6,33$ ppm) et les protons du groupement méthyle ($\delta = 2,24$ ppm).

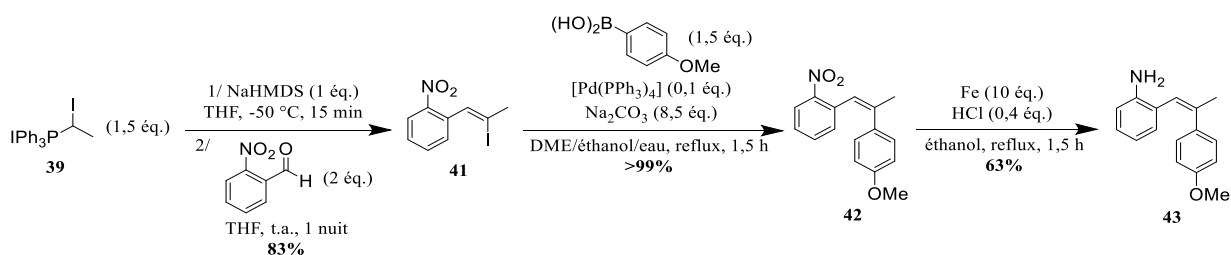


Schéma 70 : Synthèse de l'aniline **43**

Deux conditions de couplage de Buchwald-Hartwig ont ensuite été testées entre l'aniline **43** et le 4-bromophénol protégé pour l'obtention de la *N,N*-diarylamine **44** (Schéma 71 et Tableau 16).

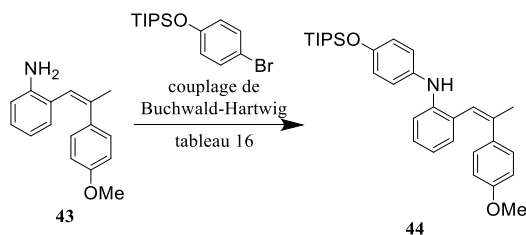


Schéma 71 : Couplage de Buchwald-Hartwig entre l'aniline **43** et le 4-bromophénol protégé

Tableau 16 : Conditions de couplage de Buchwald-Hartwig entre l'aniline **43** et le 4-bromophénol protégé

entrée	conditions	observations	référence
1	dérivé bromé (1 éq.) Pd(OAc) ₂ (0,05 éq.) XantPhos (0,05 éq.) Cs ₂ CO ₃ (2 éq.) dioxane, 100 °C, 4 h	isomérisation de 43 *	113
2	dérivé bromé (1 éq.) Pd ₂ (dba) ₃ (0,01 éq.) XPhos (0,01 éq.) NaO ^t Bu (1 éq.) dioxane, 110 °C, 2 h	44 : rendement isolé = 82%	131

* structure déterminée par RMN ¹H et MS

En présence d'acétate de palladium, de XantPhos et de carbonate de césium, le milieu réactionnel n'a pas présenté d'évolution par CCM. Cependant, après purifications, nous avons constaté d'après les analyses MS et RMN que l'alcène **43** s'était isomérisé en son isomère *E* (Tableau 16, entrée 1).¹¹³ Le couplage a de nouveau été engagé en présence de Tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium, de XPhos et de *tert*-butanolate de sodium, conduisant au produit désiré **44** avec un rendement de 82% (Tableau 16, entrée 2).¹³¹ Là encore, la conservation de la configuration de la double liaison a été mise en évidence par les analyses RMN NOESY, qui ont montré une corrélation entre le proton éthylénique ($\delta = 6,40$ ppm) et les protons du groupement méthyle ($\delta = 2,25$ ppm).

La dernière étape de la synthèse consiste en la déprotection de la fonction phénol. Celle-ci a conduit à la cible **Hy4'** avec un rendement de 92% (Schéma 72). Comme précédemment, la configuration *Z* de la double liaison a été mise en évidence par les analyses RMN NOESY, qui ont montré une corrélation entre le proton éthylénique ($\delta = 6,40$ ppm) et les protons du groupement méthyle ($\delta = 2,25$ ppm).

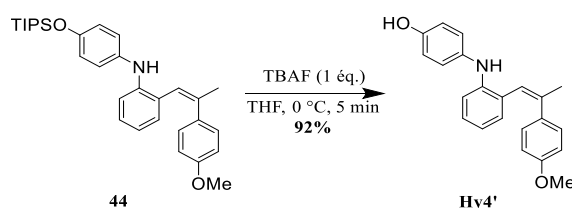


Schéma 72 : Déprotection de la fonction phénol de l'intermédiaire **44**

- **Synthèse de la cible Hy4' selon la voie 2**

Les voies 1 et 2 ont en commun l'intermédiaire **44**. Dans les deux cas, la dernière étape de la voie de synthèse consiste en la déprotection de la fonction phénol de cet intermédiaire. De ce fait, cette partie présente la synthèse formelle de la cible **Hy4'**.

L'iodure de 1-iodoéthylphosphonium **39** et le 2-bromobenzaldéhyde ont été engagés dans une réaction de Wittig en exploitant les conditions optimisées précédemment (Schéma 73). L'alcène iodosubstitué **45** a ainsi été obtenu, mais n'a pas pu être séparé du diastéréoisomère *E* formé. On obtient alors un mélange des deux isomères avec un ratio *Z/E* de 79/21. Le rendement de 85% ne concerne pas l'alcène *Z* seul, mais comprend les deux isomères. L'alcène **45** a été engagé dans un couplage de Suzuki avec l'acide 4-méthoxyphénylboronique.⁹⁷ Comme cela avait été prédit lors de l'étude rétrosynthétique de **Hy4'**, la présence simultanée des atomes d'iode et de brome ont entraîné des réactions parasites, d'où l'obtention de l'alcène **46** avec un faible rendement (21%). Par ailleurs, les purifications ont légèrement amélioré le ratio *Z/E*, qui est alors de 86/14.

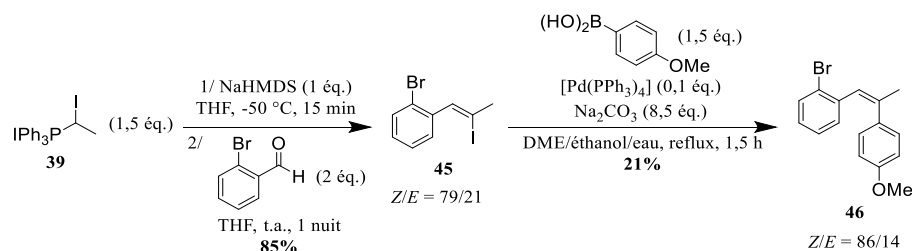


Schéma 73 : Synthèse du dérivé bromé **46**

Deux conditions de couplage de Buchwald-Hartwig ont ensuite été testées entre le dérivé bromé **46** et l'aniline **11** pour l'obtention de la *N,N*-diarylamine **44** (Schéma 74 et Tableau 17).

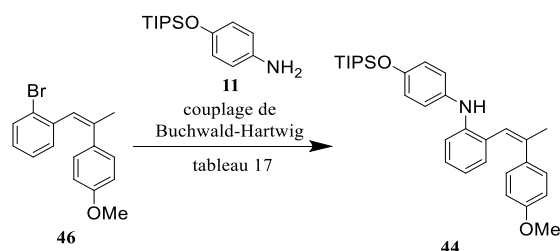


Schéma 74 : Couplage de Buchwald-Hartwig entre le dérivé bromé **46** et l'aniline **11**

Tableau 17 : Conditions de couplage de Buchwald-Hartwig entre le dérivé bromé **46** et l'aniline **11**

entrée	conditions	observations	référence
1	dérivé bromé (1 éq.) Pd(OAc) ₂ (0,05 éq.) XantPhos (0,05 éq.) Cs ₂ CO ₃ (2 éq.) dioxane, 100 °C, 4 h	pas d'évolution par CCM (produits de départ)	113
2	dérivé bromé (1 éq.) Pd ₂ (dba) ₃ (0,01 éq.) XPhos (0,01 éq.) NaO ^t Bu (1 éq.) dioxane, 110 °C, 2 h	44 : rendement isolé = 71% <i>Z/E</i> = 91/9	131

En présence d'acétate de palladium, de XantPhos et de carbonate de césium, le système n'a pas présenté d'évolution par CCM (Tableau 17, entrée 1). Par ailleurs, on n'observe pas d'isomérisation de l'alcène **46**.¹¹³ Le couplage alors été engagé dans d'autres conditions, à savoir en présence de Tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium, de XPhos et de *tert*-butanolate de sodium, conduisant au produit désiré **44** avec un rendement de 71%, c'est-à-dire du même ordre que pour la voie 1 (Tableau 17, entrée 2).¹³¹ Par ailleurs, les purifications ont encore légèrement amélioré le ratio *Z/E*, qui est alors de 91/9.

La cible **Hy4'** a finalement été obtenue avec un rendement global de 10% en huit étapes selon la voie 1, et avec un rendement global de 9% en sept étapes selon la voie 2. Cependant, le rendement de la voie 2 ne tient pas compte de la présence du diastéréoisomère *E*. Ce dernier ayant pu être éliminé dans le cas de la voie 1, cette dernière semble donc plus adaptée que la voie 2, malgré une étape de réduction supplémentaire, qui est par ailleurs optimisable. En effet, la réduction a été interrompue avant disparition totale du réactif en raison d'une impureté qui commençait à se former. Ainsi, afin d'améliorer le rendement global de cette voie de synthèse, il est envisageable d'isoler cette impureté et d'étudier sa structure, afin de comprendre comment elle se forme. Une adaptation en conséquence des conditions de réduction pourrait être envisageable par la suite.

II.3.5.4. Note : description de la formation inattendue d'une 3-phénylcoumarine

Initialement, la synthèse de la cible **Hy4** avait été envisagée à partir de **Hy3** selon une réaction de décarboxylation, conduisant de l'acide cinnamique à l'alcène en conservant la configuration de la double liaison C=C (Schéma 75).

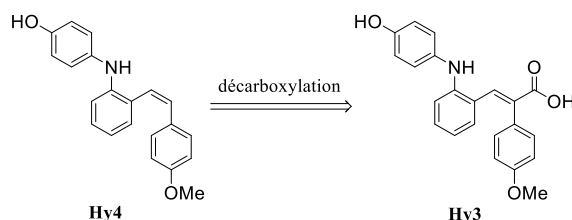


Schéma 75 : Approche rétrosynthétique de l'hydride **Hy4** selon une réaction de décarboxylation

En effet, nombre de publications décrivent la synthèse d'alcènes par décarboxylation d'acides cinnamiques. C'est notamment le cas de la CA4 qui peut être préparée en présence de cuivre à 200 °C à partir de l'acide cinnamique correspondant, comme le décrit Keira GAUKROGER (Schéma 76).¹⁴⁶ Cette voie de synthèse a l'avantage de conserver la position relative *cis* des cycles aromatiques par rapport à la double liaison C=C.

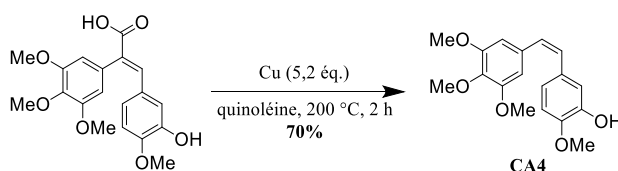


Schéma 76 : Synthèse de la CA4 par décarboxylation de l'acide cinnamique correspondant

Lors des tentatives de synthèse de l'hybride **Hy3**, de multiples conditions d'aldolisation-crotonisation ont été explorées entre le 2-bromobenzaldéhyde et l'acide 4-méthoxyphénylacétique. Les conditions de Perkin notamment ont conduit au diastéréoisomère **Z 47** (77%) au lieu du *E* désiré (Schéma 77).¹¹⁸

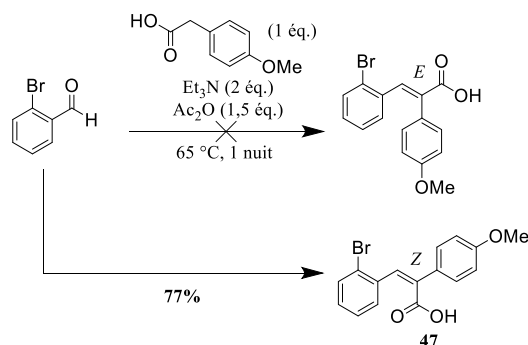


Schéma 77 : Réaction de Perkin entre le 2-bromobenzaldéhyde et l'acide 4-méthoxyphénylacétique

Cependant, en parallèle des tentatives d'obtention de l'acide cinnamique *E*, le composé **47** a été exploité afin de tester et éventuellement optimiser la réaction de décarboxylation (Schéma 78). Ainsi, les conditions employées par Keira GAUKROGER ont été appliquées à l'acide cinnamique **47**, en utilisant toutefois comme solvant du toluène au lieu de la quinoléine, en raison de l'indisponibilité de cette dernière au laboratoire.¹⁴⁶ Bien que le milieu réactionnel n'ait que très peu évolué, nous avons observé la formation d'un nouveau produit et l'avons isolé. Les analyses réalisées ont montré que le produit formé n'était pas l'alcène attendu, mais la 3-phénylcoumarine **48** (6%).

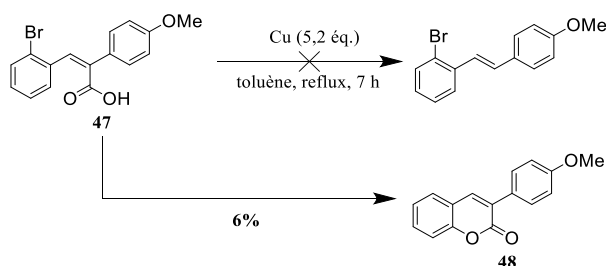


Schéma 78 : Application des conditions de décarboxylation sur l'acide cinnamique **47**

La structure de la coumarine **48** a été déterminée via des analyses LCMS et RMN. Les éléments suivants montrent l'obtention de ce hétérocycle :

- L'analyse LCMS montre l'obtention d'un seul produit dont la masse correspond bien à celle de **48** ($m/z = 253,0846$ contre $253,0865$ théorique ($M+H^+$)). De plus, d'après le spectre de masse, le produit obtenu ne contient pas de brome (absence du massif isotopique associé).
- La migration importante du produit lors de la réalisation des CCM ($R_f = 0,45$; éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle 80/20) semble montrer l'absence d'acide carboxylique. De plus, le spectre RMN 1H ne présente pas de pic caractéristique d'un acide.
- Le spectre RMN 1H contient un seul pic caractéristique des protons éthyléniques. De surcroît, le signal associé est un singulet fortement déblindé ($\delta = 7,76$ ppm), laissant supposer une conjugaison électronique importante.
- De manière générale, les analyses RMN 1H , ^{13}C , Jmod, COSY, HSQC et HMBC sont cohérentes avec la structure de **48**, et les signaux correspondent à ce qui est référencé dans la littérature.¹⁴⁷

Plusieurs études décrivent la préparation des 3-phénylcoumarines. Cependant, à notre connaissance, il n'existe pas d'exemple de synthèse impliquant une réaction de substitution intramoléculaire d'un halogène par un acide cinnamique. L'exemple se rapprochant le plus de la réaction observée est celui décrit par Nopporn THASANA, impliquant notamment du 2-thiophénecarboxylate de cuivre (I) (Schéma 79). Bien que le rendement de cette réaction soit élevé (79%), sa mise en œuvre nécessite un chauffage fort ainsi qu'une pression relativement importante (3 bar).¹⁴⁸

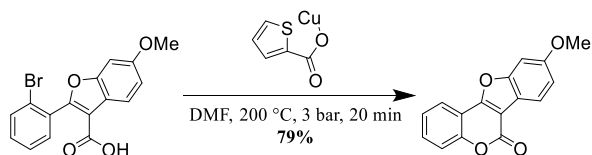


Schéma 79 : Exemple de cyclisation décrit par Nopporn THASANA

Nous avons décidé de réaliser une optimisation des conditions de la réaction inattendue observée précédemment, ainsi qu'une exemplification. Ce travail sera détaillé ultérieurement (Chapitre 2, IV).

II.3.6. Synthèse de la cible Hy5

Pour la cible **Hy5**, hybride E7010-phenstatine, le groupement (4-hydroxyphényl)amino (cycle A) peut être introduit par un couplage de Buchwald-Hartwig (Schéma 80). La cible **Hy5** contient une fonction cétone reliant les cycles B et C. Il existe plusieurs méthodes de synthèse des benzophénones décrites dans la littérature. On peut par exemple envisager un couplage de Suzuki entre un chlorure d'acyle et l'acide boronique correspondant. La cétone peut également provenir d'une oxydation d'alcool, ou encore d'une acylation de Friedel-Crafts entre le chlorure d'acyle et l'anisole. Cette dernière méthode semble être la plus adaptée dans le cadre de la synthèse de l'hybride **Hy5**. En effet, il s'agit d'une voie de synthèse simple, nécessitant l'emploi de réactifs disponibles au laboratoire. Le couplage, en revanche, est plus fastidieux à mettre en œuvre ; ce dernier doit en effet être réalisé sous atmosphère inerte, et nécessite la désoxygénation préalable des solvants. De même, l'oxydation d'alcool n'est pas une méthode adaptée. En effet, elle nécessite au préalable la synthèse de l'alcool en question, ajoutant ainsi des étapes supplémentaires. C'est donc la méthode de l'acylation de Friedel-Crafts qui a été explorée pour la synthèse de la cible **Hy5**.

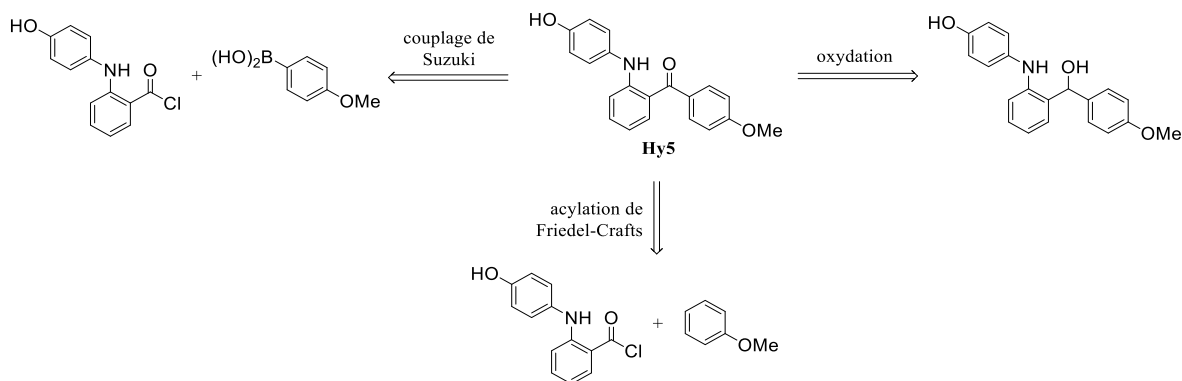


Schéma 80 : Méthodes de synthèse de benzophénones

La synthèse de la cible **Hy5** a été envisagée de la manière suivante (Schéma 81) : la cible proviendrait d'un couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-hydroxyaniline et le bromure d'aryle correspondant, lequel serait issu d'une acylation de Friedel-Crafts entre le chlorure de 2-bromobenzoyle et l'anisole.

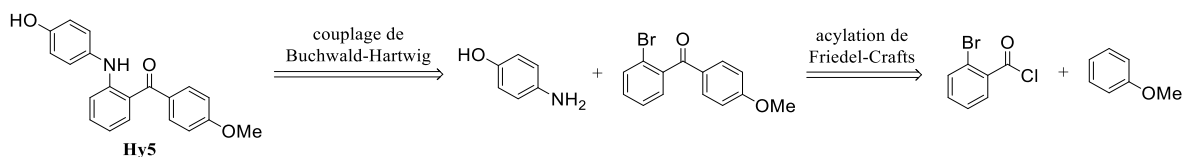


Schéma 81 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy5**

Ainsi, une réaction d'acylation de Friedel-Crafts entre le chlorure de 2-bromobenzoyle et l'anisole a conduit à la benzophénone **49** avec un rendement de 78%.¹⁴⁹ Un couplage de Buchwald-Hartwig entre cette dernière et l'aniline **11** a ensuite permis la formation de l'intermédiaire **50** (85%). La fonction phénol de ce dernier a finalement été déprotégée pour former la cible **Hy5** avec un rendement de 91% (Schéma 82).^{95,113}

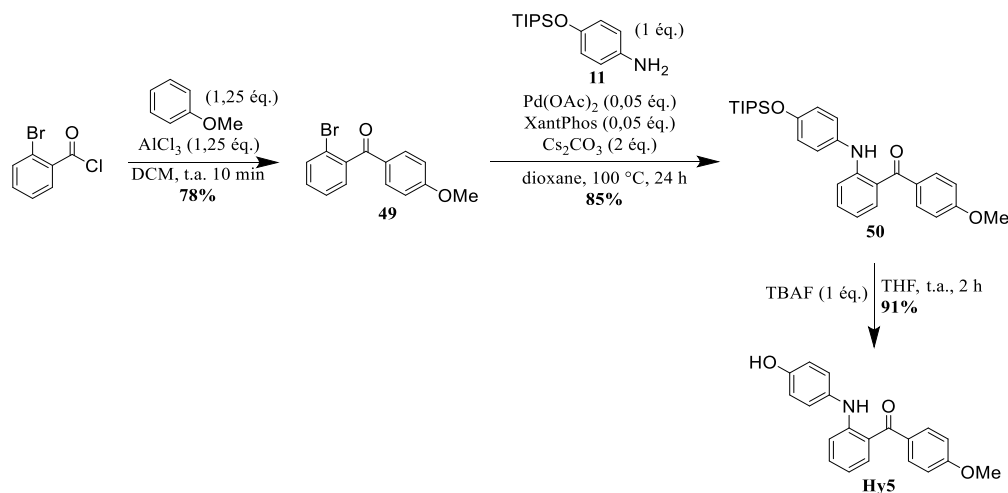


Schéma 82 : Synthèse de la cible **Hy5**

La cible **Hy5** a ainsi été préparée avec un rendement global de 52% en quatre étapes (ce rendement inclut l'étape de protection de la 4-hydroxyaniline).

II.4. Evaluation de la série hybrides

Les résultats de l'évaluation biologique (inhibition de la polymérisation de la tubuline, viabilité cellulaire et migration cellulaire) des cinq cibles précédemment synthétisées sont exposés ci-après et comparés aux activités de deux références : E7010 et la CA4 (Figure 43).

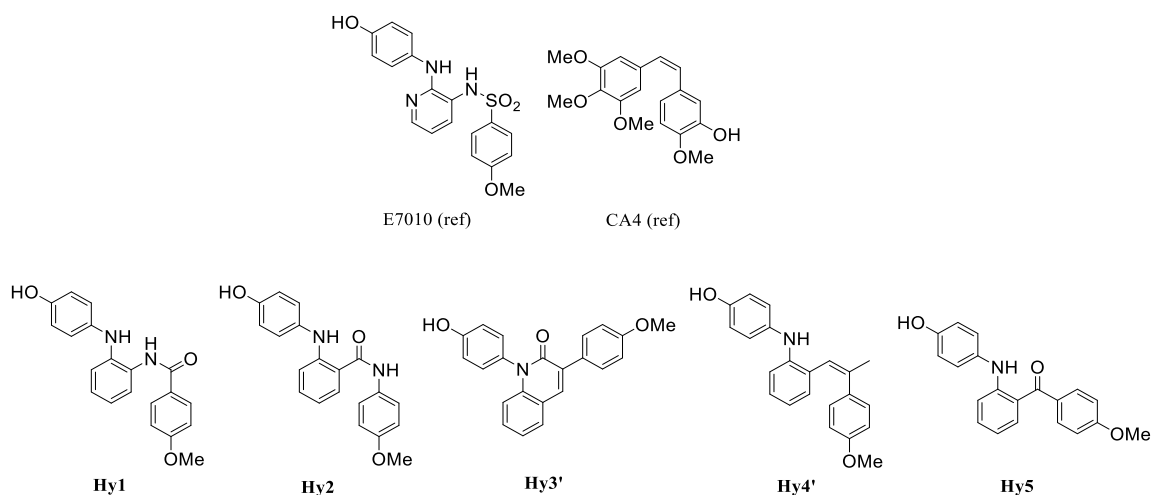


Figure 43 : Structure des références E7010, CA4 et des cibles **Hy1**, **Hy2**, **Hy3'**, **Hy4'**, **Hy5**

II.4.1. Test d'inhibition de la polymérisation de la tubuline

L'évaluation de la série hybrides au test d'inhibition de la polymérisation de la tubuline est en cours de réalisation.

II.4.2. Test d'inhibition de la prolifération cellulaire

L'évaluation de la série hybrides au test de viabilité cellulaire sur les deux lignées HUVEC et HIG-82 a apporté les résultats suivants (Tableau 18) :

Tableau 18 : Evaluation de la série hybrides au test de viabilité cellulaire (n = 3-6)

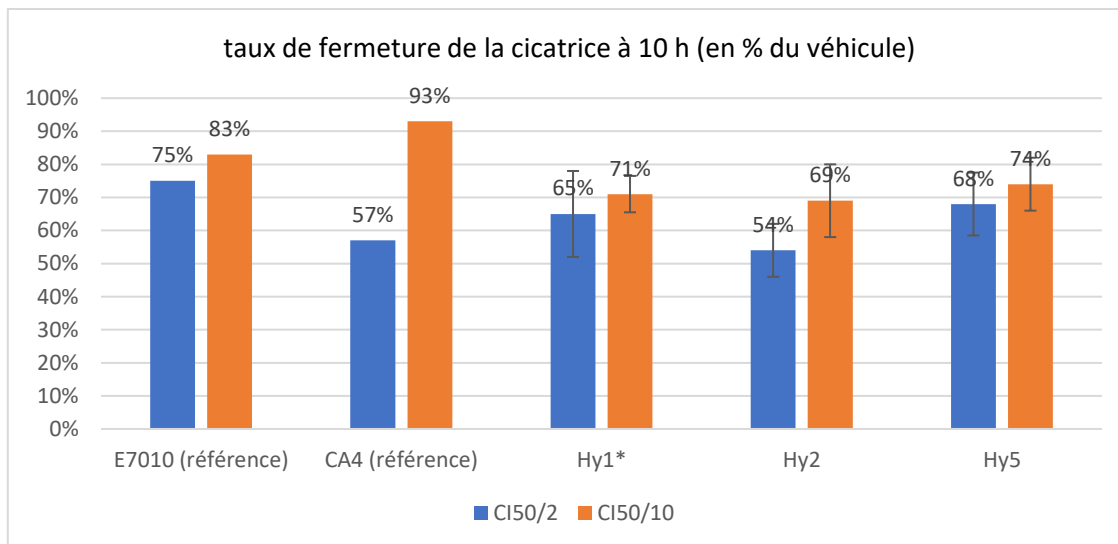
composé	CI ₅₀ HUVEC (nM)	CI ₅₀ HIG-82 (nM)	ratio HIG-82/HUVEC
E7010 (référence)	93 ⁸⁵	220 ⁸⁵	2,4
CA4 (référence)	2,34 ⁸⁵	3,51 ⁸⁵	1,5
Hy1	> 50 000	> 50 000	< 1
Hy2	3 143 ± 119	5 954 ± 238	1,9
Hy3'	en attente des résultats		
Hy4'			
Hy5	13 650 ± 671	20 623 ± 955	1,5

Toutes les cibles testées à ce jour ont montré une activité antiproliférative inférieure à celles de E7010 et de la CA4 pour les deux lignées cellulaires. En particulier, pour **Hy1**, il a été mesuré 99% de viabilité cellulaire à 50 000 nM (la plus haute concentration évaluée) pour la lignée HUVEC et 79% pour la lignée HIG-82. Ceci semble cependant montrer que **Hy1** est davantage actif sur les HIG-82 que sur les HUVEC, alors que l'on cherche la sélectivité inverse. Quant aux ratios HIG-82/HUVEC, les deux hybrides **Hy2** et **Hy5** sont respectivement plus et autant sélectifs de la lignée HUVEC que la CA4, mais moins que E7010.

II.4.3. Test d'inhibition de la migration cellulaire

L'évaluation de la série hybrides au test de migration cellulaire sur la lignée HUVEC a apporté les résultats suivants (Graphique 2) :

Graphique 2 : Evaluation de la série hybrides au test de la migration cellulaire (n = 3)



* La CI_{50} n'ayant pas pu être mesuré sur la lignée HUVEC pour **Hy1**, le test a été réalisé avec les concentrations de 50 000 nM et 5 000 nM. Ces valeurs sont inférieures respectivement à $CI_{50/2}$ et $CI_{50/10}$ (99% de viabilité cellulaire à 50 000 nM).

A la concentration $CI_{50/2}$, les trois hybrides testés **Hy1**, **Hy2** et **Hy5** montrent une activité VDA, avec les taux de fermeture de la cicatrice respectifs de 65%, 54% et 68% contre 75% pour E7010 et 57% pour la CA4. Ainsi, les trois cibles présentent un caractère VDA supérieur à celui de E7010. **Hy1** et **Hy5** sont en revanche légèrement moins efficaces que la CA4 tandis que **Hy2** est aussi actif que cette dernière. A faible concentration ($CI_{50/10}$), l'activité VDA des hybrides se maintient, avec des taux de fermeture de respectivement 71%, 69% et 74%, contrairement à la CA4 qui ne semble plus présenter de caractère VDA (taux de fermeture de 93%).

II.4.4. Conclusion

L'hybride **Hy2** est un candidat intéressant. Il présente en effet une bonne sélectivité pour la lignée HUVEC, et montre une activité VDA supérieure à celle des références E7010 et CA4. De plus, son caractère VDA se maintient à la faible concentration de $CI_{50/10}$. La cible **Hy5** présente une activité comparable à celle de **Hy2**, notamment à faible concentration. Bien que sa sélectivité pour la lignée HUVEC soit légèrement inférieure que celle de **Hy2**, sa synthèse plus courte et plus efficace fait de **Hy5** un composé également prometteur.

Il est cependant possible, et même souhaitable, d'optimiser encore l'activité de la cible, en tenant compte notamment des contraintes pharmacocinétiques. Pour ce faire, nous avons adopté une stratégie de vectorisation.

III. Vectorisation des VDAs

III.1. Contraintes pharmacocinétiques

Les VDAs présentent une certaine sélectivité pour l'angiogenèse pathologique par rapport à la physiologique. Cette sélectivité est due à plusieurs facteurs, notamment la forme irrégulière de la néovasculature, ou encore l'instabilité du cytosquelette des cellules endothéliales, liée à un défaut de polymérisation de l'actine.^{79,80}

Cependant, la sélectivité des VDAs pour la vasculature pathologique n'implique pas pour autant une sélectivité pour l'articulation malade. En effet, dans le cas d'une administration du traitement par voie orale ou parentérale, la molécule est diffusée via la circulation sanguine, et donc à tout l'organisme. A l'inverse, une administration locale via injection intra-articulaire a de nombreux avantages. D'une part, cela réduit la diffusion de la molécule dans l'organisme et donc de potentiels effets secondaires. D'autre part, ce mode d'administration impliquant moins de propagation de la molécule, une plus faible quantité de principe actif est alors nécessaire. Certains traitements actuels sont administrés via injection intra-articulaire (infiltration). C'est le cas notamment de l'acide hyaluronique lors de la viscosupplémentation ou encore des anti-inflammatoires stéroïdiens.¹⁵⁰

Néanmoins, après réalisation de l'injection intra-articulaire, les composés administrés ne se maintiennent pas au niveau de la cavité articulaire sur une longue durée, mais sont en effet rapidement drainés hors de l'articulation par le système lymphatique et diffusés dans l'organisme.¹⁵¹ Le temps d'action est dépendant de nombreux paramètres, comme la taille ou la solubilité des composés. Pour l'acide hyaluronique, le temps de demi-vie est de 26 heures, et entre 1 et 4 heures pour les anti-inflammatoires stéroïdiens.¹⁵²

Les problématiques précédemment énumérées relèvent de la pharmacocinétique, c'est-à-dire de l'étude du devenir du principe actif après administration. Quatre étapes sont répertoriées, on parle de processus ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion).¹⁵³

- L'**absorption** est la pénétration de la substance au sein de l'organisme. Celle-ci dépend largement du mode d'administration (injection, voie orale...).
- La **distribution** est la diffusion de la molécule active dans l'organisme.
- Le **métabolisme** est la transformation chimique de la molécule administrée par l'organisme. Les produits résultant de cette transformation sont appelés métabolites. Dans certains cas, ce n'est pas le composé administré qui est actif mais l'un des métabolites.
- L'**excrétion** est l'élimination de la substance ou/et des métabolites générés. Ce rôle est principalement rempli par la fonction rénale.

Nous nous sommes focalisés sur deux de ces paramètres : l'absorption et la distribution. Afin de cibler l'articulation et d'y maintenir les VDAs sur une durée suffisante, il est possible d'exploiter une stratégie de vectorisation. Cette technique, largement utilisée en cancérologie entre autres, consiste à rattacher à une molécule active un groupement capable de cibler un tissu ou un organe, dans le but d'en limiter les interactions avec le reste de l'organisme.

III.2. Stratégie de vectorisation - bibliographie

Dans la littérature sont répertoriées plusieurs stratégies de vectorisation de composés dont le rôle est d'agir au niveau de l'articulation. Afin d'orienter ces molécules actives vers les articulations cibles, l'utilisation d'ammoniums quaternaires est largement décrite.

Sidney YU, lors d'une étude sur la distribution d'un composé radiopharmaceutique, le diiodure de bis[β -(*N,N,N*-triméthyl-aminoéthyl)]sélénium 75 (^{75}Se BISTAES) (Figure 44), a montré que cet ammonium quaternaire s'accumulait rapidement après injection intraveineuse spécifiquement au niveau du cartilage articulaire chez le lapin.¹⁵⁴

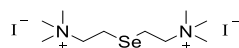


Figure 44 : Structure du ^{75}Se BISTAES

Isabelle GIRAUD a également étudié l'affinité des ammoniums quaternaires pour le cartilage articulaire, en comparant la distribution chez le rat après injection intraveineuse de trois composés, à savoir la D-glucosamine et deux molécules couplant la D-glucosamine avec des ammoniums quaternaires (triméthylammonium et pyridinium) (Figure 45). Alors que la D-glucosamine se diffuse indifféremment dans de nombreux tissus, les deux ammoniums se concentrent essentiellement au niveau du cartilage articulaire, de la peau et des reins. Si la présence de ces composés au niveau rénal traduit simplement l'excrétion par voie urinaire des molécules administrées, leur présence au niveau du cartilage et de la peau résulte d'une affinité particulière pour ces tissus, liée notamment à la présence de protéoglycanes.¹⁵⁵

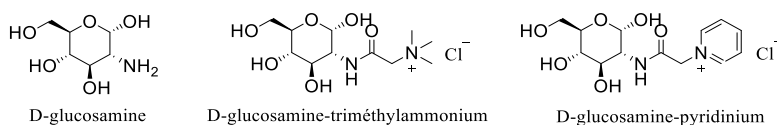


Figure 45 : Structure de la D-glucosamine et des D-glucosamines vectorisées

Un protéoglycane est la combinaison d'une protéine et d'un glycosaminoglycane (GAG). On trouve les protéoglycanes au niveau de la matrice extracellulaire, de la membrane et dans le milieu intracellulaire. Du fait de leur grande diversité structurale, ils exercent de nombreux rôles. Ils confèrent par exemple aux cellules leurs propriétés rhéologiques telles que leur hydratation ou leur résistance aux forces compressives.¹⁵⁶ Au niveau du cartilage articulaire, le protéoglycane principal est l'agrécan. Ce dernier établit notamment des interactions avec l'acide hyaluronique. Il est constitué d'un GAG sulfaté : le sulfate de chondroïtine, un enchaînement alterné de deux sucres : la base conjuguée de l'acide glucuronique et le sulfate de *N*-acétyl-galactosamine. La présence des groupements carbonate et sulfate, de charge négative, sont la raison pour laquelle les ammoniums quaternaires, de charge positive, présentent une telle affinité pour le tissu articulaire.¹⁵⁷

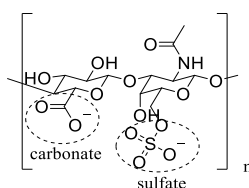


Figure 46 : Structure de l'agrécan

III.3. Utilisation d'ammoniums quaternaires dans le cadre de l'approche VDA

En raison des résultats prometteurs reportés dans les études précédemment citées, nous avons décidé d'appliquer la stratégie d'utilisation d'ammoniums quaternaires au cadre de ce projet afin de vectoriser les VDAs.

III.3.1. Choix des ammoniums quaternaire

Les ammoniums quaternaires exploités comme vecteurs ciblant le cartilage articulaire les plus souvent décrits dans la littérature sont les dérivés du triméthylammonium, et dans une moindre mesure, les dérivés du triéthylammonium ou du pyridinium.^{154,155,158-160} Il est possible de préparer de tels composés facilement à partir d'un dérivé halogéné et d'une amine tertiaire telle que la triméthylamine, la triéthylamine ou la pyridine via une réaction de Menshutkin, également appelée quaternisation (Schéma 83).¹⁶¹

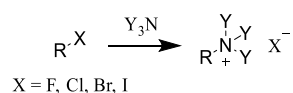


Schéma 83 : Synthèse d'ammoniums quaternaires selon une réaction de quaternisation

Nous avons ainsi sélectionné cette méthode de vectorisation afin de l'appliquer à la stratégie VDA.

III.3.2. Choix du contre-ion des ammoniums quaternaires

Les contre-ions d'ammoniums quaternaires les plus simples sont les ions halogénures. Dans la littérature, plusieurs cas de figure sont décrits. Dans les exemples cités précédemment, les contre-ions de l'ammonium étudié par Sidney YU sont des ions iodure, alors qu'il s'agit d'ions chlorure dans l'exemple de Isabelle GIRAUD.^{154,155} Théoriquement, ces anions ne sont pas censés exercer de rôle particulier dans l'activité de la molécule. Aussi nous avons orienté notre choix vers les anions les moins toxiques et les plus adaptés à la réaction de quaternisation.

- Les **ions fluorure** présentent une certaine toxicité pour l'organisme. Ils peuvent être notamment à l'origine de stress oxydant.¹⁶² De plus, le fluor est rarement adapté pour les réactions de substitution nucléophile, et donc pour la quaternisation.
- Les **ions chlorure** ne présentent pas de toxicité particulière. Ils sont d'ailleurs présents en grande quantité dans l'organisme, et sont éliminés facilement par voie rénale. Le chlore est par ailleurs adapté pour les réactions de substitution nucléophile aromatique.
- Les **ions bromures** ont été largement utilisés par le passé pour traiter l'épilepsie. Cependant, plusieurs études ont souligné leur toxicité sur le long terme, et leur utilisation en médecine est devenue inexistante.¹⁶³ Le brome est en revanche un nucléofuge très efficace pour les réactions de substitution nucléophile.
- Les **ions iodure** jouent un rôle essentiel dans l'organisme. Cependant, un excès de ces ions peut entraîner une réduction des niveaux d'hormones thyroïdiennes, appelée effet Wolff-Chaikoff.¹⁶⁴ L'iode est en revanche un excellent nucléofuge pour les réactions de substitution nucléophile.

Ainsi, les ions chlorure semblent être les plus adaptés en tant que contre-ions des ammoniums quaternaires, du fait de leur grande tolérance par l'organisme et du caractère nucléofuge du chlore nécessaire à la réaction de quaternisation.

III.3.3. Choix de la nature de la liaison VDA-ammonium quaternaire

Il existe deux possibilités quant à la nature de la liaison VDA-ammonium quaternaire (Figure 47). D'abord, il est possible d'envisager une liaison directe, c'est-à-dire une liaison covalente entre le VDA et l'atome d'azote de l'ammonium. A l'inverse, il est également possible d'intégrer un espaceur entre les deux espèces. Il existe un grand nombre de choix quant à la nature de cet espaceur. Il peut s'agir entre autres d'une chaîne carbonée plus ou moins longue, une liaison éther, ester ou encore amide.

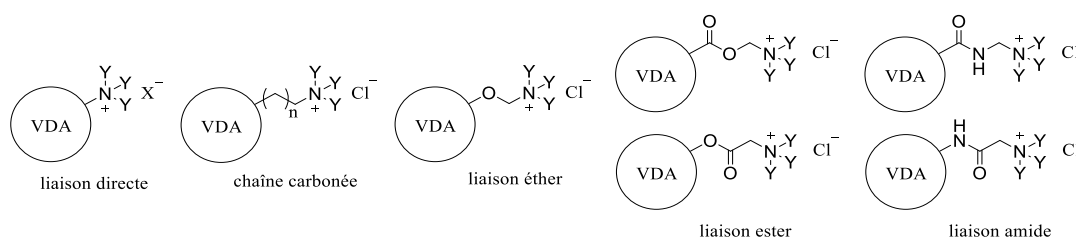


Figure 47 : Exemples d'espacesurs

Les liaisons amides semblent être les plus adaptées dans notre cas, pour deux raisons. Premièrement, ces liaisons sont simples à former, notamment via des réactions de couplage peptidique ou en réalisant des additions-éliminations. Deuxièmement, malgré une certaine stabilité de ces liaisons, leur clivage après administration peut être réalisé notamment sous l'action de protéases.¹⁶⁵

Le clivage de la liaison amide après administration présente un intérêt majeur. Une fois le complexe VDA-ammonium quaternaire acheminé vers le cartilage du fait de l'affinité de l'ammonium pour les protéoglycanes, le clivage de l'espaceur permet la libération prolongée de la substance active, c'est-à-dire le VDA. Ainsi, ce dernier ne se maintient pas à l'extérieur de la cellule, mais peut librement pénétrer à l'intérieur de ces dernières. On peut citer par exemple les travaux de Shuai ZHANG, qui a étudié le clivage de la liaison amide d'un activateur de différenciation cellulaire, la kartogénine, dans le cadre d'une étude sur la régénération du cartilage articulaire chez la souris (Schéma 84). Son équipe a en effet démontré qu'une fois le composé administré, il pénètre dans le cartilage articulaire. La kartogénine se clive alors au niveau de sa liaison amide, libérant de l'acide phtalique ainsi que la substance active, l'amino-4-diphényle.¹⁶⁶

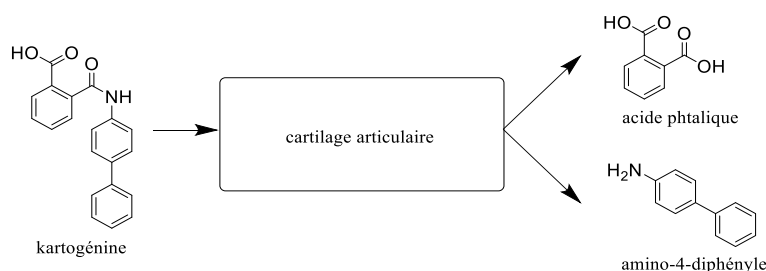


Schéma 84 : Clivage de la liaison amide de la kartogénine après pénétration dans le cartilage articulaire

En raison de la simplicité de synthèse des amides et de leur capacité à se cliver au sein du cartilage articulaire, nous avons sélectionné ce type de liaison en tant qu'espaceur reliant le VDA et l'ammonium quaternaire.

III.4. Preuve de concept

Afin d'établir une preuve de concept, nous nous sommes appuyés sur des travaux du laboratoire, la chalcone SD400, un VDA développé par Sylvie DUCKI dans le cadre du développement d'agents anticancéreux (Figure 48).¹⁶⁷

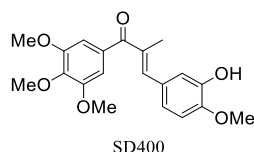


Figure 48 : Structure de la chalcone SD400

Ce VDA a en effet montré une activité intéressante sur la lignée cellulaire HUVEC lors du test de la migration cellulaire, avec 85% de fermeture de la cicatrice à 10 heures à la concentration $CI_{50}/2$. Pour comparaison, nous avons obtenu 75% de fermeture au même temps et à la concentration $CI_{50}/2$ pour E7010, et 60% pour la CA4.

III.4.1. Choix du site de liaison avec l'espaceur

Il existe deux façons de lier l'espaceur au VDA (Schéma 85). Il est d'abord possible de le connecter directement au composé actif via une liaison covalente. L'un des atomes d'hydrogène du VDA est alors substitué par l'atome d'azote ou par l'atome de carbone du groupement carbonyle.

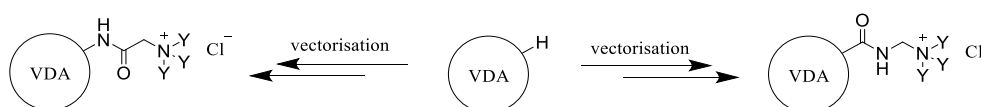


Schéma 85 : Vectorisation d'un VDA via substitution de l'un de ses atomes d'hydrogène

Il est également envisageable d'exploiter une fonction déjà présente sur le VDA, notamment une fonction acide carboxylique, amide, halogénure d'acyle, anhydride d'acide ou amine/aniline (Schéma 86). En effet, ces fonctions pourraient être le point de départ de la synthèse de la liaison amide de l'espaceur.

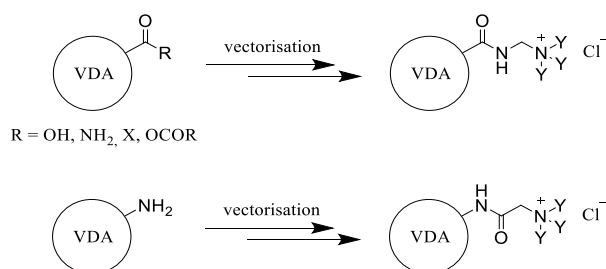


Schéma 86 : Vectorisation d'un VDA via l'utilisation d'une fonction présente

Cette seconde approche a déjà été mise en œuvre au laboratoire. Cynthia FLAMBARD a en effet initié ces travaux lors de son stage de recherche (Figure 49). Afin de développer cette stratégie de vectorisation, elle s'est appuyée sur un analogue de SD400 : la chalcone **CF-66**, qui diffère de SD400 par la suppression du groupement méthyle substituant la double liaison C=C. En effet, bien que ce groupement améliore l'activité VDA, sa présence implique un nombre plus important d'étapes lors de la synthèse, ainsi que des rendements modérés voire faibles.¹⁶⁸ Il a donc été écarté dans un but de simplification. A l'origine, le groupement phénol de **CF-66** devait accueillir l'espaceur afin de relier la chalcone à un groupement pyridinium via une fonction ester. Cependant, des problèmes de dégradation du sel lors des étapes de purifications l'ont conduite à remplacer cette fonction par une fonction amide, lui permettant d'accéder au sel de pyridinium **CF-75**.^{91,110} A l'issue du stage de Cynthia FLAMBARD, les deux chalcones **CF-66** et **CF-75** n'avaient pas encore été évaluées pour leur activité biologique.

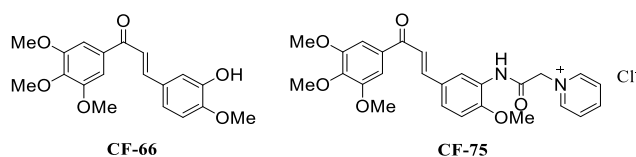


Figure 49 : Structure des chalcones **CF-66** et **CF-75**

De la même manière, nous avons décidé de nous affranchir du groupement méthyle substituant la double liaison C=C (Figure 50). Nous avons donc réalisé l'étude de vectorisation non pas à partir de SD400, difficile à synthétiser et ne contenant pas de site de liaison simple avec l'espaceur, mais à partir d'une structure proche, la chalcone **Ch1**. Cette dernière diffère de SD400 par la suppression du groupement méthyle lié à la double liaison C=C ainsi que le remplacement de la fonction phénol par une fonction aniline. Cette dernière permettra de lier la chalcone à l'espaceur via une fonction amide, générant le sel de triméthylammonium **Ch2**.

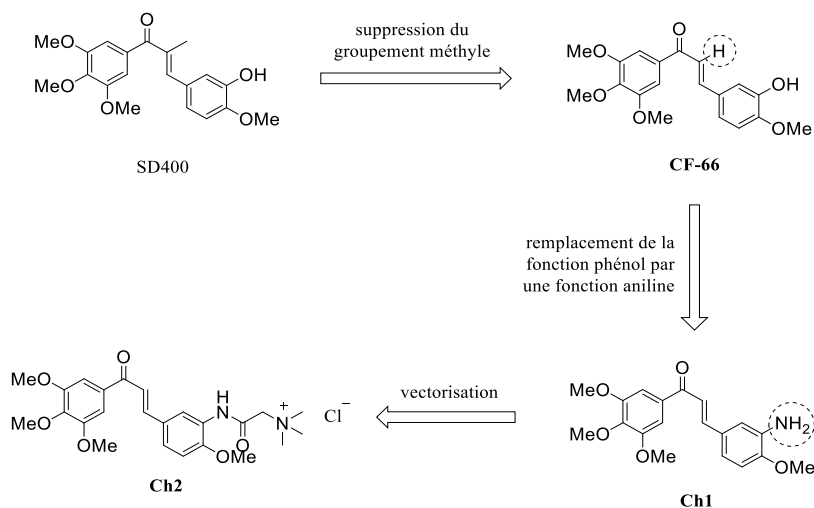


Figure 50 : Structure des chalcones **SD400**, **CF-66**, **Ch1** et **Ch2**

La chalcone **CF-66** et le sel de pyridinium **CF-75** ayant déjà été synthétisés par Cynthia FLAMBARD, nous décrivons uniquement la préparation des deux chalcones **Ch1** et **Ch2**.

III.4.2. Synthèse de la série chalcones

La synthèse de la cible **Ch2** a été envisagée selon le schéma rétrosynthétique suivant (Schéma 87) : la cible **Ch2** proviendrait d'une quaternisation du dérivé chloré correspondant. Ce dernier serait issu de l'amidation de l'aniline **Ch1**, laquelle proviendrait de la réduction de la chalcone nitrosubstituée, celle-ci étant préparée via une réaction d'aldolisation-crotonisation entre la 3,4,5-triméthoxyacétophénone et le 4-méthoxy-3-nitrobenzaldéhyde. Lors de cette étape, l'utilisation d'un groupement nitro au lieu d'un groupement amino permet d'éviter une éventuelle réaction parasite d'addition de l'aniline sur l'aldéhyde ou la cétone.

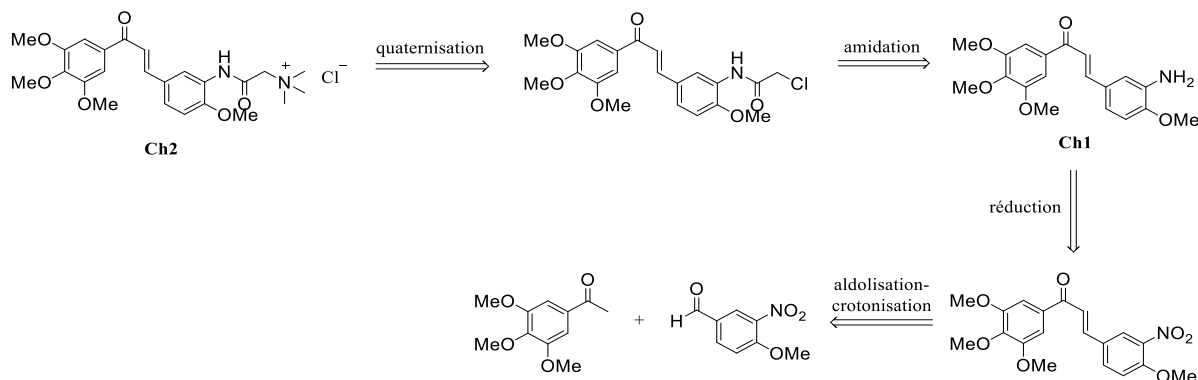


Schéma 87 : Approche rétrosynthétique des chalcones **Ch1** et **Ch2**

La condensation de la 3,4,5-triméthoxyacétophénone avec le 4-méthoxy-3-nitrobenzaldéhyde a conduit à la chalcone **51** avec un rendement de 95% (Schéma 88).¹⁶⁸ La réduction du groupement nitro a permis la formation de l'aniline **Ch1** (98%).¹¹⁰ Cette dernière a ensuite été amidée par le chlorure de chloroacétyle (81%), puis la quaternisation du dérivé chloré résultant **52** a conduit à la cible **Ch2** avec un rendement de 72%.¹⁵⁵

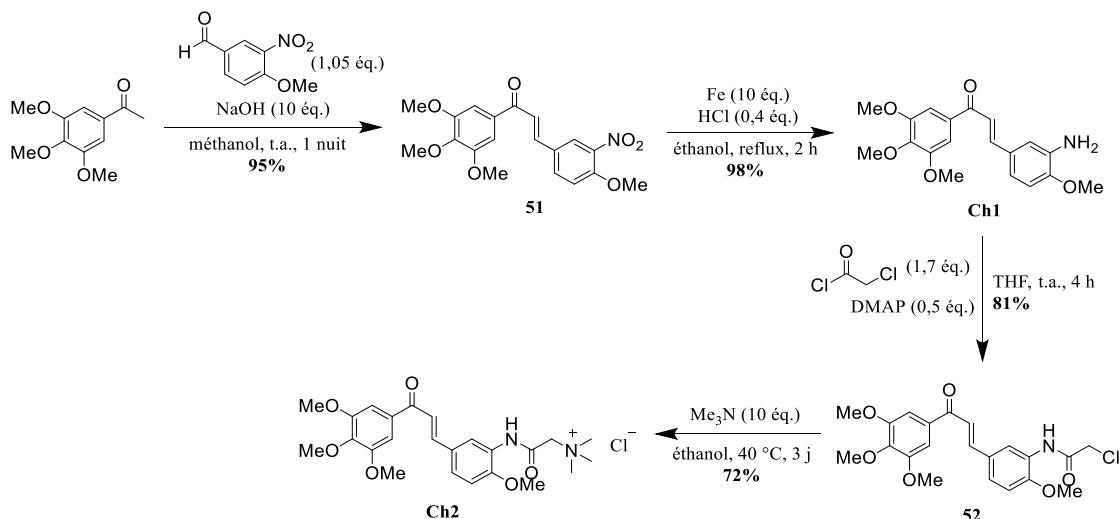


Schéma 88 : Synthèse des cibles **Ch1** et **Ch2**

La cible **Ch2** a ainsi pu être préparée sans difficulté, avec le rendement global de 54% en quatre étapes.

III.5. Evaluation de la série chalcones

Les résultats de l'évaluation biologique (inhibition de la polymérisation de la tubuline, viabilité cellulaire et migration cellulaire) des chalcones **CF-66**, **CF-75**, **Ch1** et **Ch2** sont exposés ci-après et comparés aux activités de trois références : E7010, la CA4 et SD400 (Figure 51).

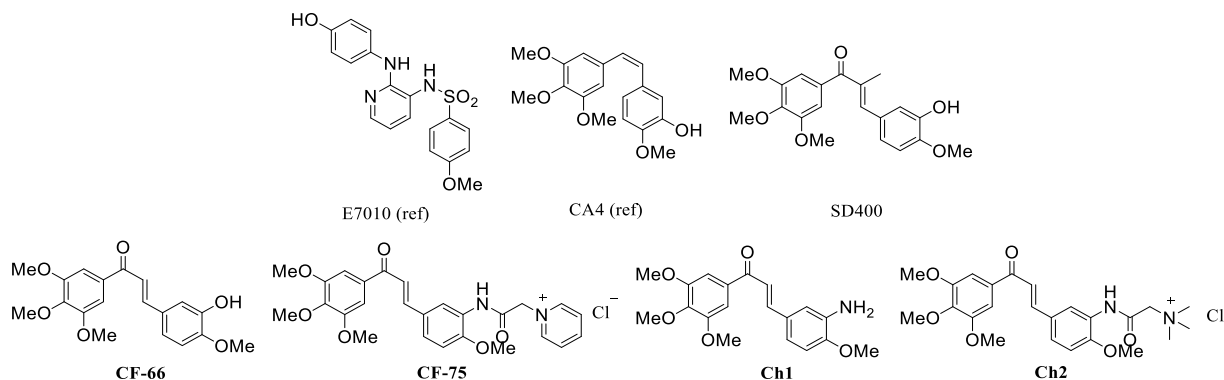


Figure 51 : Structure des références E7010, CA4 et des chalcones CF-66, CF-75, Ch1, Ch2

III.5.1. Test d'inhibition de la polymérisation de la tubuline

L'évaluation de la série chalcones au test d'inhibition de la polymérisation de la tubuline a apporté les résultats suivants (Tableau 19) :

Tableau 19 : Evaluation de la série chalcones au test d'inhibition de la polymérisation de la tubuline

composé	Cl ₅₀ (μM)
E7010 (référence)	0,4 ⁸⁵
CA4 (référence)	2,2 ⁸⁵
SD400 (référence)	0,4 ⁸⁵
CF-66	1,1 ± 0,1
Ch1	2,5 ± 0,2
Ch2	> 100
CF-75	87 ± 5

La chalcone SD400 présente une activité importante avec une Cl₅₀ de 0,4 μM comme E7010. La suppression du groupement méthyle de SD400 divise l'activité par presque 3. En effet, la Cl₅₀ de **CF-66** n'est plus que de 1,1 μM. Le remplacement du groupement phénol en groupement aniline diminue encore l'activité pour rejoindre celle de la CA4. La Cl₅₀ de **Ch1** vaut en effet 2,5 μM. Enfin, une fois la vectorisation réalisée, l'activité chute drastiquement atteignant plus de 100 μM pour le sel de triméthylammonium **Ch2** et 87 μM pour le sel de pyridinium **CF-75**. Cette diminution importante d'activité n'est cependant pas surprenante. Elle montre en effet que les espaceurs ne se sont pas clivés dans les conditions du test biologique. Ce clivage est en effet supposé se réaliser *in vivo*, comme dans le cas des travaux de Shuai ZHANG.¹⁶⁶

III.5.2. Test d'inhibition de la prolifération cellulaire

L'évaluation de la série chalcones au test de viabilité cellulaire sur les deux lignées HUVEC et HIG-82 a apporté les résultats suivants (Tableau 20) :

Tableau 20 : Evaluation de la série chalcone au test de viabilité cellulaire (n = 3-6)

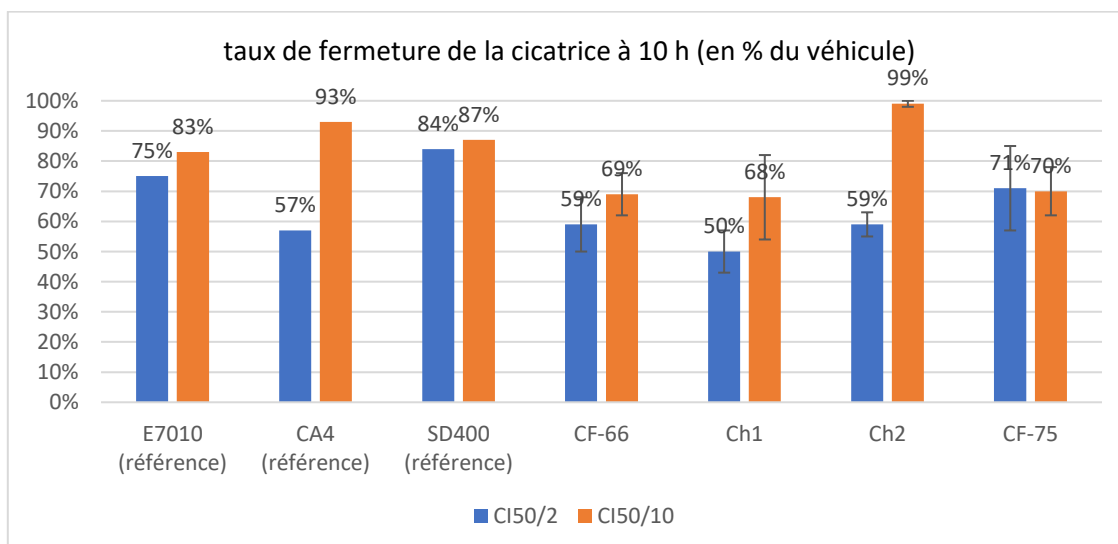
composé	CI ₅₀ HUVEC (nM)	CI ₅₀ HIG-82 (nM)	ratio HIG-82/HUVEC
E7010 (référence)	93 ⁸⁵	220 ⁸⁵	2,4
CA4 (référence)	2,34 ⁸⁵	3,51 ⁸⁵	1,5
SD400 (référence)	1,6 ⁸⁵	16 ⁸⁵	10
CF-66	203 ± 9	246 ± 6	1,2
Ch1	87 ± 4	110 ± 3	1,3
Ch2	4 811 ± 216	7 207 ± 297	1,5
CF-75	1 746 ± 94	10 160 ± 384	5,8

L'activité antiproliférative des chalcones **CF-66**, **Ch1**, **Ch2** et **CF-75** est moins importante que celles de SD400 et de la CA4 pour les deux lignées cellulaires, en particulier **Ch2** et **CF-75**. En revanche, la sélectivité pour la lignée HUVEC est meilleure dans le cas de SD400, avec un ratio HIG-82/HUVEC de 10 contre environ 1,3 pour **CF-66**, **Ch1**, **Ch2** et 5,8 pour **CF-75**. Là encore, la nette différence d'activité entre **Ch1** et les deux ammoniums **Ch2** et **CF-75** montre que l'espaceur ne se clive pas lors du test.

III.5.3. Test d'inhibition de la migration cellulaire

L'évaluation de la série chalcones au test de migration cellulaire sur la lignée HUVEC a apporté les résultats suivants (Graphique 3) :

Graphique 3 : Evaluation de la série chalcones au test de la migration cellulaire (n = 3)



On note dans un premier temps que les chalcones **CF-66**, **Ch1**, **Ch2** et **CF-75** présentent une activité importante à la concentration $Cl_{50}/2$, similaire à celle de la CA4 et meilleure que celles de E7010 et SD400. Cette activité se prolonge à faible concentration ($Cl_{50}/10$) pour **CF-66**, **Ch1** et **CF-75**, mais pas pour **Ch2**. Notons également que, comme précédemment, la différence notable d'activité entre **Ch1** et **Ch2** notamment à faible concentration semble montrer que l'espaceur ne se clive pas lors du test. Quant à **CF-75**, son activité rejoint celle de **Ch1** à faible concentration. En revanche, à la concentration $Cl_{50}/2$, l'incertitude des mesures est relativement importante, et ne permet pas de comparer les activités de **Ch1** et **CF-75** de manière rigoureuse.

III.5.4. Conclusion

L'évaluation de la série chalcone a confirmé que le groupement méthyle et la fonction phénol de SD400 contribuent à l'activité VDA de ce dernier. Par ailleurs, chacun des deux ammoniums **Ch2** (triméthylammonium) et **CF-75** (pyridinium) présentent des avantages et inconvénients. **Ch1** est simple à synthétiser, et peut être obtenu avec de très bons rendements. Sa sélectivité pour la lignée HUVEC est cependant moyenne (1,6). Quant à **CF-75**, sa sélectivité est très importante (6,0). En revanche, sa synthèse présente une difficulté notable lors de l'étape de quaternisation. Cynthia FLAMBARD a en effet décrit des purifications compliquées, notamment pour éliminer l'excès de pyridine nécessaire à cette étape de quaternisation. Par ailleurs, des traces de pyridine demeurent présentes dans le produit (détectées en RMN et LCMS). Enfin, lors de chacun des tests, l'espaceur ne semble se cliver ni pour **Ch2** ni pour **CF-75**. Cependant, le clivage étant supposé se réaliser *in vivo*, ce résultat n'est pas surprenant.

La stratégie de vectorisation a apporté des résultats encourageants en termes de sélectivité pour la lignée HUVEC. Par ailleurs, même en l'absence de clivage de l'espaceur, les deux ammoniums montrent une activité VDA. Leur activité *in vivo* reste cependant à évaluer.

III.6. Vectorisation de l'hybride Hy6

Les résultats de l'évaluation biologique de la série chalcones (**Ch1**, **Ch2**, **CF-66** et **CF-75**) ont apporté des résultats encourageants. Ainsi, même si l'évaluation *in vivo* n'a pas encore été réalisée, ces résultats préliminaires nous ont conduits à amorcer la vectorisation de l'une des molécules hybrides. Nous avons sélectionné l'hybride E7010-phenstatine **Hy5** en raison de sa voie de synthèse rapide et efficace, ainsi que son activité VDA intéressante. Par ailleurs, nous avons choisi de réaliser la vectorisation via un groupement triméthylammonium, plus simple à préparer et à purifier.

Tout d'abord, il est nécessaire de sélectionner un site de liaison avec l'espaceur (Figure 52). Comme dans le cas de la chalcone SD400, nous avons remplacé la fonction phénol de **Hy5** en faveur d'une fonction aniline afin d'obtenir ce site de liaison (**Hy5'**). Cette aniline permettra ainsi la formation de la fonction amide reliant le VDA à l'ammonium quaternaire (**Hy6**).

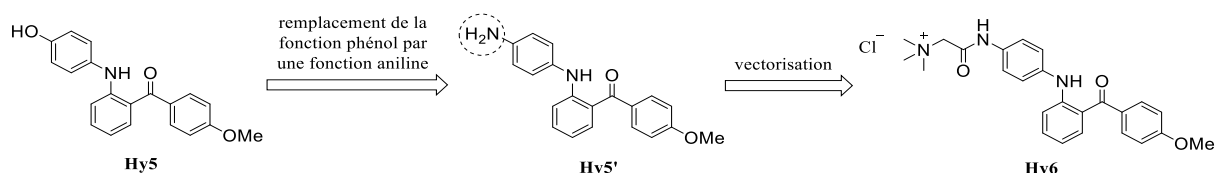


Figure 52 : Structure des hybrides **Hy5**, **Hy5'** et **Hy6**

Nous avons envisagé la préparation de l'hybride vectorisé **Hy6** selon le schéma rétrosynthétique suivant (Schéma 89) : la cible proviendrait de la quaternisation du dérivé chloré correspondant, lequel serait issu de l'amidation de l'aniline **Hy5'**. Cette dernière serait synthétisée par réduction du dérivé nitré, lequel proviendrait d'un couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-nitroaniline et le dérivé bromé **49**, dont la synthèse a été détaillée précédemment.

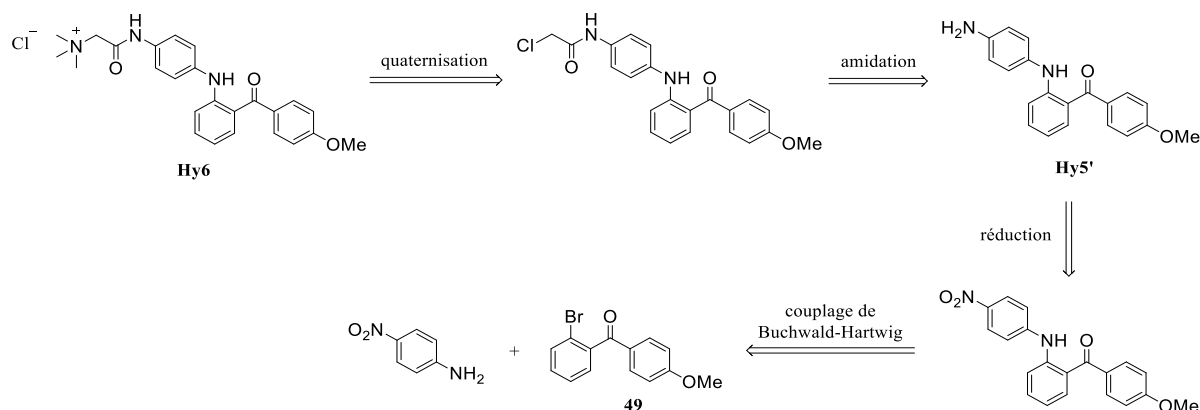


Schéma 89 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy6**

La première étape de la synthèse consiste donc en un couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-nitroaniline et le dérivé bromé **49** (Schéma 90).¹¹³ Deux conditions ont été explorées, en faisant varier le nombre d'équivalents de 4-nitroaniline (Tableau 21).

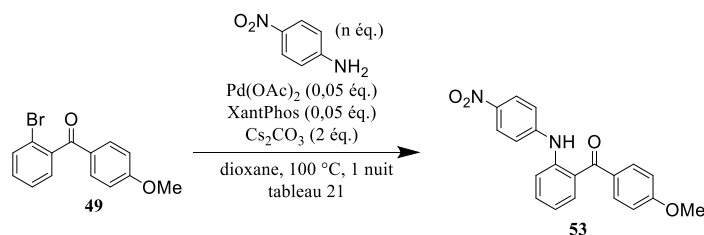


Schéma 90 : Couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-nitroaniline et le dérivé bromé **49**

Tableau 21 : Conditions de couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-nitroaniline et le dérivé bromé **49**

entrée	n	observations	référence
1	1	53 : rendement isolé = 37%	113
2	2	53 : rendement isolé = 93%	

Avec 1 équivalent de 4-nitroaniline, la réaction n'est pas complète. De plus, la séparation par chromatographie du produit désiré **53** et du dérivé bromé **49** s'est avérée très difficile, ces deux composés présentant une migration similaire dans les conditions d'élution exploitées. Le rendement isolé est alors faible (37%) (Tableau 21, entrée 1). Avec 2 équivalents de 4-nitroaniline, la réaction est complète. Comme la totalité du dérivé bromé **49** a été consommée, les purifications n'ont pas apporté de difficulté particulière. Le rendement est alors de 93% (Tableau 21, entrée 2).

La voie de synthèse a alors pu être poursuivie (Schéma 91). La réduction du dérivé nitré **53** a conduit à l'aniline **Hy5'** de manière quantitative.¹¹⁰ L'amidation de cette dernière a permis la formation de l'amide **54** avec un rendement de 95%, puis ce dernier a été salifié, conduisant à la cible **Hy6** (90%).¹⁵⁵

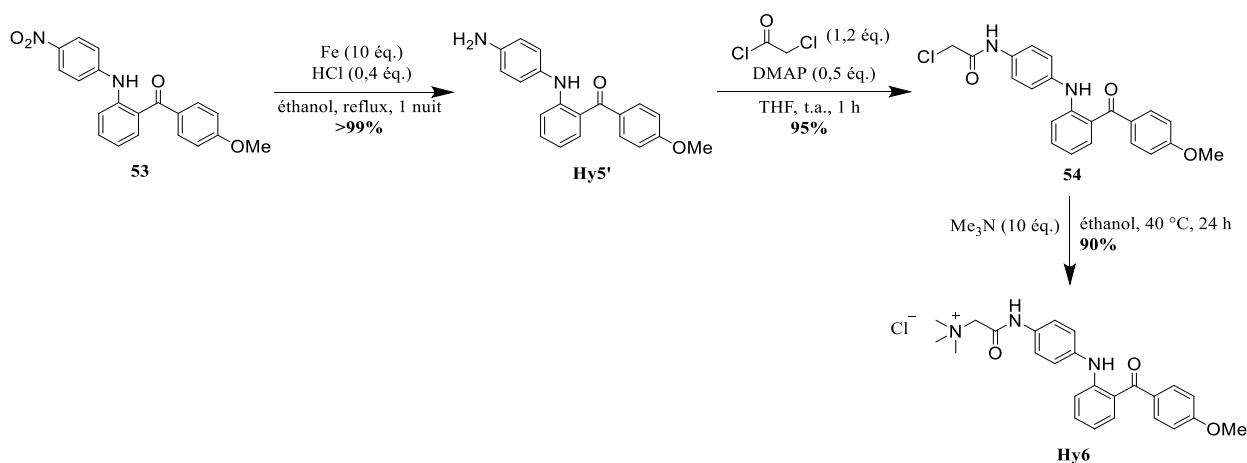


Schéma 91 : Synthèse de la cible **Hy6**

La cible **Hy6** a ainsi été synthétisée avec un bon rendement global de 62% en 6 étapes (incluant la préparation du dérivé bromé **49**).

L'évaluation biologique de **Hy5'** et **Hy6** n'a, à ce jour, pas encore été réalisée.

IV. Optimisation et exemplification d'une réaction de cyclisation d'un acide cinnamique en 3-phénylcoumarine assistée par le cuivre

Cette partie concerne le développement d'une voie de synthèse des 3-phénylcoumarines. En effet, dans le cadre de la préparation de la cible **Hy4** (Chapitre 2, II.3.5.4), une tentative de décarboxylation de l'acide cinnamique **47** avait conduit à la coumarine **48** et non à l'alcène attendu (Schéma 92).

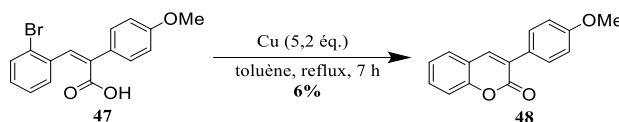


Schéma 92 : Cyclisation de l'acide cinnamique **47** en coumarine **48**

En raison du caractère innovant de cette voie de synthèse, nous avons réalisé une étude d'optimisation des conditions de la réaction afin d'améliorer son rendement, ainsi qu'une exemplification des substrats.

IV.1. Les coumarines - bibliographie

Les coumarines sont des molécules aromatiques bicycliques constituées d'un cycle benzénique et d'une lactone α,β -insaturée. La coumarine la plus simple, c'est-à-dire celle ne comportant aucun substituant, a pour nom IUCPA 2H-1-benzopyrane-2-one. Le nom « coumarine » est issu d'un arbre d'Amérique tropicale, le *Coumarouna Odorata*, dont la coumarine a été isolée pour la première fois par Heinrich August VON VOGEL en 1820.¹⁶⁹

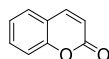


Figure 53 : Structure de la coumarine

La coumarine est utilisée dans l'industrie du parfum depuis 1882, année de la première utilisation connue de la molécule, en l'occurrence par le parfumeur Paul PARQUET dans sa composition « Fougère Royale ». Aujourd'hui, ce composé est toujours exploité comme fragrance de base. En effet, lorsqu'elle est diluée, son odeur herbacée rappelle celle du foin fraîchement coupé. Elle permettrait également une meilleure fixation des parfums sur la peau. Jusqu'à la fin du XIX^{ème} siècle, la coumarine était obtenue via des procédés d'extraction, notamment à partir de fèves de Tonka. L'huile essentielle était alors obtenue par entraînement à la vapeur des fèves. Avec les progrès de la chimie, sa synthèse a pu être réalisée pour la première fois en 1868 par William Henry PERKIN via la réaction qui porte son nom, au départ d'aldéhyde salicylique et d'anhydride acétique (Schéma 93).¹⁷⁰

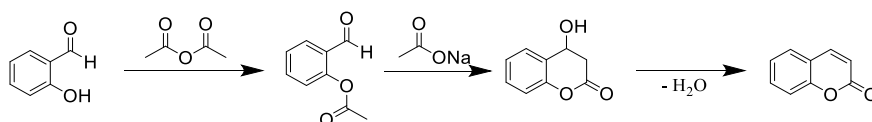


Schéma 93 : Synthèse historique de la coumarine par William Henry PERKIN en 1868

IV.1.1. Intérêt thérapeutique des coumarines

Les coumarines constituent une famille de molécules aux propriétés pharmacologiques intéressantes. La warfarine sodique, notamment, bénéficie d'une autorisation de mise sur le marché pour le traitement des embolies pulmonaires et des thromboses veineuses (Figure 54).¹⁷¹ Par ailleurs, elle est inscrite sur la liste des médicaments essentiels de l'OMS et à la pharmacopée européenne.¹⁷²

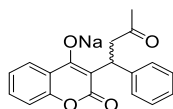


Figure 54 : Structure de la warfarine sodique

D'autres coumarines ont fait l'objet d'études mettant en avant leurs propriétés antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antituberculeuse, anti-VIH ou encore anticancéreuse.¹⁷³

- **Activité antioxydante**

Sreekanth THOTA a décrit les activités antioxydantes de dérivés de coumarinylthiazoles *in vitro*. L'un des dérivés a apporté des résultats prometteurs, avec une CI_{50} de 11,04 μM lors du test DPPH, un test colorimétrique qui permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire d'un composé. Pour comparaison, la CI_{50} de l'acide ascorbique (utilisé comme standard) vaut 12,27 μM (Figure 55).¹⁷⁴

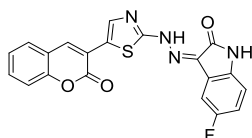


Figure 55 : Antioxydant coumarinique conçu par Sreekanth THOTA

Moustafa GOUDA a étudié l'activité antioxydante de dérivés coumariniques plus simples que précédemment. L'un des composés, la 3-cyanocoumarine, a montré une activité modérée lors du test ABTS (dont le principe est le même que le test DPPH) avec une capacité d'inhibition de 67,05% du contrôle contre 91,76% pour l'acide ascorbique (Figure 56).¹⁷⁵

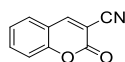


Figure 56 : Antioxydants coumariniques conçus par Moustafa GOUDA

- **Activité anti-inflammatoire**

Chun-Mao LIN a décrit l'activité anti-inflammatoire de dihydroxycoumarines en étudiant leur potentiel inhibiteur de la production d'oxyde nitrique (monoxyde d'azote), un médiateur de l'inflammation. L'un des composés a montré une activité, avec une CI_{50} de 7,6 μM (Figure 57).¹⁷⁶

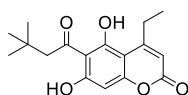


Figure 57 : Anti-inflammatoire coumarinique conçu par Chun-Mao LIN

Wenchen PU a également étudié l'activité anti-inflammatoire de 3-arylcoumarines sur une lignée cellulaire de macrophages provenant de souris (Figure 58). Deux des molécules testées ont inhibé la production d'oxyde nitrique d'environ 75%. Pour comparaison, cette valeur est de 77% pour la curcumine, utilisée comme contrôle.¹⁷⁷

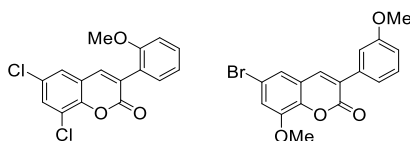


Figure 58 : Anti-inflammatoires coumariniques conçus par Wenshen PU

- **Activité antimicrobienne**

Vinata MULWAD a décrit l'activité antimicrobienne de 3-aryl-4-hydroxycoumarines (Figure 59). L'un des composés étudiés a montré une grande efficacité sur trois souches, à savoir *S. aureus* (staphylocoque doré), *S. typhi* (salmonelle) et *E. coli* (colibacille).¹⁷⁸

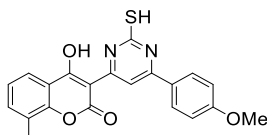


Figure 59 : Antimicrobien coumarinique conçu par Vinata MULWAD

De même, Nermien SABRY a étudié l'activité antibactérienne de cyanocoumarines (Figure 60). L'un des analogues a apporté des résultats prometteurs sur les souches *S. aureus* et *S. epidermidis* (staphylocoque blanc). Les antibiogrammes obtenus montrent les zones d'inhibition respectives de 13 et 14 mm de diamètre contre 26 et 25 mm pour l'ampicilline, utilisée comme référence.¹⁷⁹

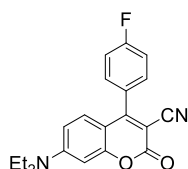


Figure 60 : Antimicrobien coumarinique conçu par Nermien SABRY

- **Activité antituberculeuse**

Divers analogues de coumarines comportant un groupement hydrazide ont été évalués par Atul MANVAR pour leur activité contre *M. tuberculosis* H37Rv, une souche de bactéries responsable de la tuberculose (Figure 61). L'un des composés testés, un composé nitré, a montré une efficacité importante (93% d'inhibition à la faible concentration de 6,25 µg/mL).¹⁸⁰

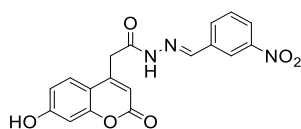


Figure 61 : Antituberculeux coumarinique conçu par Atul MANVAR

Violina ANGELOVA a décrit l'activité antituberculeuse de coumarines mono et disubstituées (Figure 62). Quatre des composés évalués ont montré une activité contre *M. tuberculosis* H37Rv dix fois supérieure à celle de l'éthambutol, un antibiotique utilisé contre la tuberculose et exploité comme référence dans le cadre de l'étude.¹⁸¹

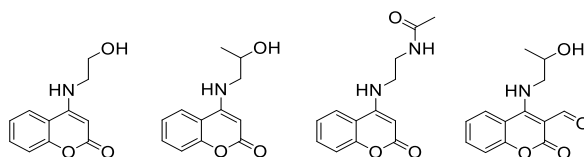


Figure 62 : Antituberculeux coumariniques conçus par Violina ANGELOVA

- **Activité anti-VIH**

Dharmesh MAHAJAN a réalisé une étude de la capacité de divers dérivés coumariniques à inhiber la réplication du VIH (virus de l'immunodéficience humaine) dans les cellules MT4 (Figure 63). L'une des molécules a montré une activité importante à une dose non toxique pour les cellules (la CI_{50} de la coumarine est de 1,07 $\mu\text{g/mL}$).¹⁸²

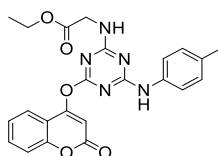


Figure 63 : Anti-VIH coumarinique conçu par Dharmesh MAHAJAN

Dans une étude de l'activité anti-VIH de furanocoumarines, Temitope OLOMOLA a mesuré des résultats encourageants pour quatre analogues avec des capacités d'inhibition de la réplication du virus de l'ordre de 15% à 10 μM , ouvrant la voie à de nouveaux types de structures pour le traitement de la maladie (Figure 64).¹⁸³

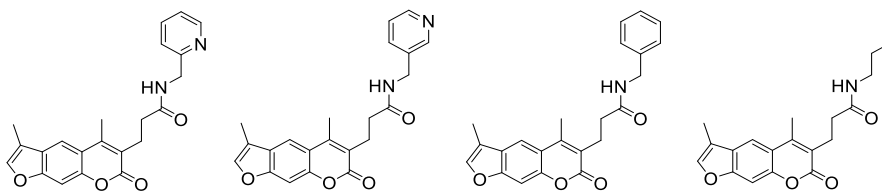


Figure 64 : Anti-VIH coumariniques conçus par Temitope OLOMOLA

- **Activité anticancéreuse**

Kamilia AMIN a réalisé une étude sur l'activité de plusieurs dérivés pyrazoliniques (Figure 65). Seize des composés testés se sont révélés efficaces contre une lignée de cellules cancéreuses humaines (cellules de colon). Une molécule en particulier a montré une toxicité importante pour cette lignée cellulaire, avec une CI_{50} de 10 nM, contre 630 nM pour la doxorubicine, un anticancéreux exploité dans les chimiothérapies et utilisé comme référence dans le cadre de l'étude de Kamilia AMIN.¹⁸⁴

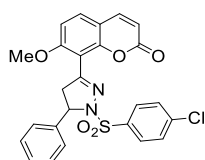


Figure 65 : Anticancéreux coumarinique conçu par Kamilia AMIN

Ramin MIRI a décrit l'activité anticancéreuse d'analogues de la 4-méthylcoumarine sur trois lignées de cellules cancéreuses humaines, à savoir K562 (leucémie myéloïde chronique), LS180 (cancer colorectal) et MCF-7 (cancer du sein) (Figure 66). Sur ces trois lignées, une 3-décylecoumarine a montré la meilleure activité, avec des CI_{50} respectivement égales à 42,4 μ M, 25,2 μ M et 25,1 μ M contre 5,3 μ M, 10,0 μ M et 11,9 μ M pour le cisplatine, exploité dans les chimiothérapies et utilisé comme référence dans le cadre de cette étude.¹⁸⁵

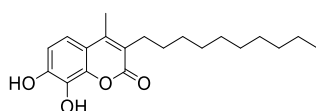


Figure 66 : Anticancéreux coumarinique conçu par Ramin MIRI

IV.1.2. Méthodes actuelles de synthèse des coumarines

Les coumarines constituant une famille de molécules importante pour le traitement de nombreuses maladies, leur synthèse a fait l'objet de nombreuses études, exploitant des réactions variées. Les méthodes de synthèse décrites dans la littérature exploitent généralement le même type de substrat de départ, des dérivés du 2-hydroxybenzaldéhyde (Schéma 94). En présence d'un composé dicarboxylé, il est possible d'obtenir une coumarine 4-substituée via une condensation de Pechmann. La condensation de Knoevenagel fait intervenir un ester substitué en position 2 par un groupement électroattracteur, conduisant à une coumarine 3-substituée. La condensation de Perkin et la réaction de Baylis-Hillman conduisent également à des coumarines, au départ respectivement d'anhydride acétique et un accepteur de Michael.^{186,187}

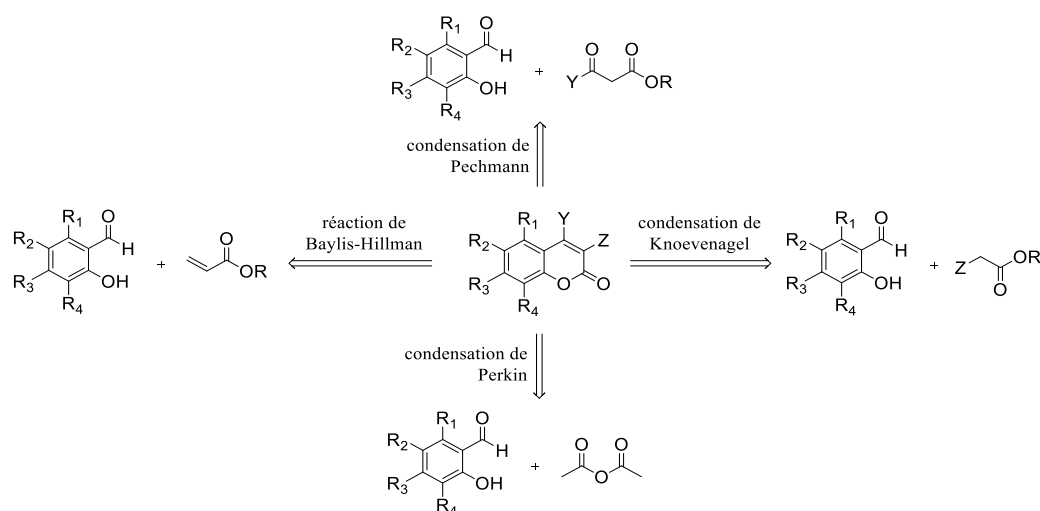


Schéma 94 : Méthodes de synthèse de coumarines au départ de dérivés du 2-hydroxybenzaldéhyde

Il existe également des méthodes de synthèse faisant intervenir des catalyseurs. Comme précédemment, ces réactions sont réalisées au départ de dérivés du 2-hydroxybenzaldéhyde (Schéma 95). Par exemple, Huen Ji YOO a décrit la synthèse de coumarines substituées en position 3 par un groupement aryle via une catalyse au zinc.¹⁸⁸ De même, Brindaban RANU a exploité l'hydroxyde de 1-butyl-3-méthylimidazolium, un liquide ionique, en quantités catalytiques pour réaliser la synthèse de coumarines substituées en position 3 par un groupement électroattracteur.¹⁸⁹

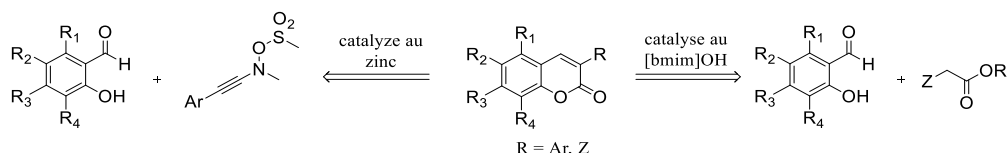


Schéma 95 : Méthodes catalytiques de synthèse de coumarines au départ de dérivés du 2-hydroxybenzaldéhyde

Il existe très peu d'exemples décrivant la synthèse de coumarines au départ de substrats autres que des dérivés du 2-hydroxybenzaldéhyde. La plupart sont catalytiques, ou bien font intervenir un grand nombre d'étapes. On peut citer par exemple la voie de synthèse décrite par Tuyen VAN NGUYEN qui conduit à une coumarine en cinq étapes (Schéma 96). Une réaction de substitution entre un dérivé phénolique et le bromure d'allyle conduit à l'éther correspondant. Un réarrangement de Claisen suivi d'une régioisomérisation de l'alcène puis d'une *O*-acylation conduit à un ester, lequel se cyclise en coumarine lors d'une métathèse au ruthénium. Si les rendements de chaque étape sont dans l'ensemble élevés, le nombre important d'étapes est cependant un frein à l'utilisation de cette voie de synthèse.¹⁹⁰

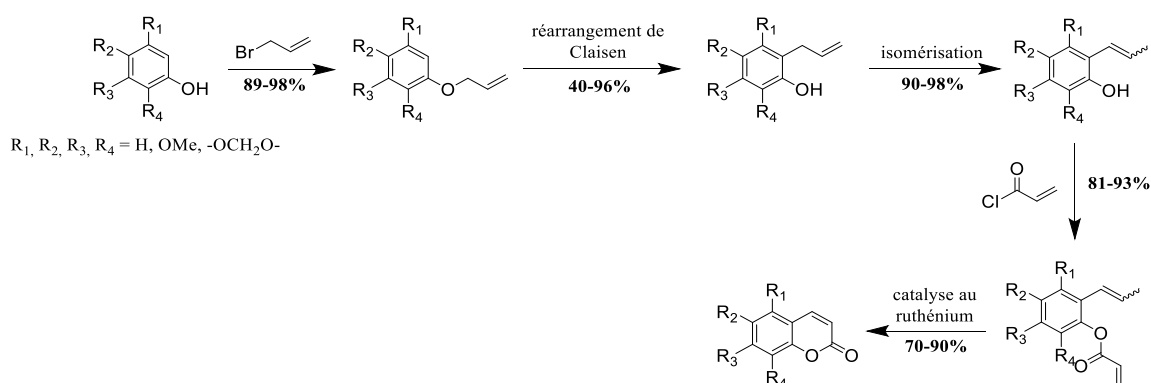


Schéma 96 : Synthèse de coumarines en cinq étapes au départ de dérivés du phénol

La formation inattendue de la coumarine **48** au départ de l'acide cinnamique **47** en présence de cuivre semble révéler une nouvelle méthode de synthèse des 3-phénylcoumarines. Cette voie innovante en deux étapes, comprenant une condensation de Perkin et une cyclisation, présente de nombreux avantages (Schéma 97). D'une part, le nombre réduit d'étapes permet d'accéder à la coumarine rapidement. De plus, cette méthode implique l'utilisation de dérivés du 2-bromobenzaldéhyde comme substrats de départ, apportant la possibilité d'une nouvelle diversité de réactifs, et donc potentiellement l'accès à de nouvelles coumarines.

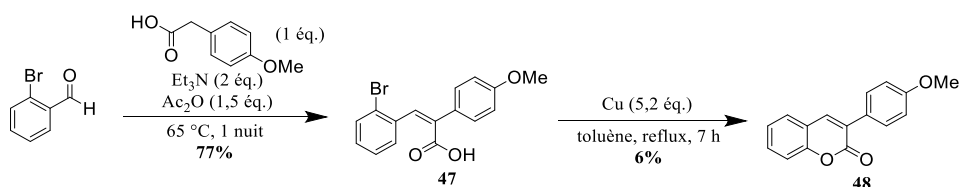


Schéma 97 : Nouvelle voie de synthèse des 3-phénylcoumarines

Néanmoins, si la condensation de Perkin entre le 2-bromobenzaldéhyde et l'acide 4-méthoxyphénylacétique a conduit à l'acide cinnamique **47** avec un bon rendement de 77%, la cyclisation de ce dernier a été moins favorable, la coumarine **48** se formant avec un faible rendement de 6%. L'optimisation de la voie de synthèse réside donc dans la recherche de conditions de cyclisation plus efficaces.

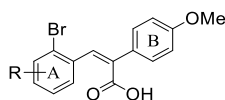
IV.2. Optimisation de la cyclisation d'acides cinnamiques en coumarines

Nous avons réalisé l'optimisation de la réaction de cyclisation en trois temps, en respectant l'ordre suivant :

- Afin de réaliser la phase d'optimisation au départ d'un acide cinnamique le plus favorable possible, nous avons préalablement réalisé la cyclisation de divers acides cinnamiques dans les conditions décrites précédemment, et sélectionné celui qui apportait le meilleur rendement de cyclisation.
- La phase d'optimisation a été réalisée au départ de l'acide cinnamique sélectionné. Nous avons fait varier de manière indépendante divers paramètres de la réaction, et sélectionné les conditions optimales.
- Les conditions obtenues ont finalement été appliquées à l'ensemble des différents substrats exploités lors de la première phase, afin d'exemplifier la réaction de cyclisation.

IV.2.1. Criblage de substrats

La recherche de l'acide cinnamique adéquat a été réalisée en intégrant divers groupements au cycle aromatique A (Figure 67). Nous avons ainsi exploré des groupements électrodonneurs (-OCF₃, -OMe, -Me) et électroattracteurs (-CF₃, Cl, NO₂) sur les positions 4 et 5 du cycle aromatique. Nous avons également étudié l'influence d'un bicyclic naphthyle sur la cyclisation. En revanche, la variation du cycle aromatique B n'a pas été explorée.



R = 4- et 5-OCF₃, 4- et 5-OMe, 4- et 5-Me (groupements électrodonneurs)
 R = 4- et 5-CF₃, 4- et 5-Cl, 4- et 5-NO₂ (groupements électroattracteurs)
 R = 3,4-(CH)₄ (naphthyle)

Figure 67 : Acides cinnamiques substitués par divers groupements électrodonneurs et électroattracteurs

La synthèse de l'ensemble des acides cinnamiques a été réalisée au départ des 2-bromobenzaldaldéhydes commerciaux correspondants et de l'acide 4-méthoxyphénylacétique selon une condensation de Perkin (Schéma 98 et Tableau 22).¹¹⁸ Ces travaux ont été effectués par Anagha SABU dans le cadre de son stage international de décembre 2018 à mai 2019, ainsi que par Clément MAYNAND lors de son stage DUT de mai à juillet 2019.

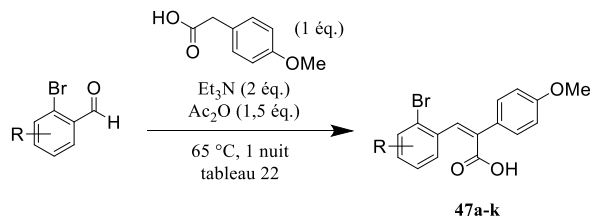


Schéma 98 : Condensation de Perkin entre les 2-bromobenzaldéhydes substitués et l'acide 4-méthoxyphénylacétique

Tableau 22 : Influence de la nature et de la position du groupement R sur la condensation de Perkin

entrée	R	observations	référence
1	4-OCF ₃	47a : rendement isolé = 72%	118
2	4-OMe	47b : rendement isolé = 54%	
3	4-Me	47c : rendement isolé = 57%	
4	5-OCF ₃	47d : rendement isolé = 73%	
5	5-OMe	47e : rendement isolé = 82%	
6	5-Me	47f : rendement isolé = 73%	
7	4-CF ₃	47g : rendement isolé = 10%	
8	5-CF ₃	47h : rendement isolé = 82%	
9	5-Cl	47i : rendement isolé = 57%	
10	5-NO ₂	47j : rendement isolé = 41%	
11	3,4-(CH) ₄	47k : rendement isolé = 45%	

Dans l'ensemble, les rendements sont assez hétérogènes, variant de 10 à 82%. La nature et la position du groupement R impactent la réactivité de l'aldéhyde, et influent donc sur le rendement de la réaction. Ceci est particulièrement flagrant dans le cas d'un groupement méthoxy (Tableau 22, entrées 2 et 5 et Schéma 99). En effet, lorsque ce substituant est situé en position 4, son effet mésomère donneur engendre une baisse de l'électrophilie du carbonyle. Le rendement de la condensation de Perkin est alors de 54%. Lorsque le groupement méthoxy est situé en position 5, son effet mésomère donneur n'a a priori pas d'incidence sur la réactivité du carbonyle. Le rendement de la condensation est effectivement plus élevé que précédemment (82%).

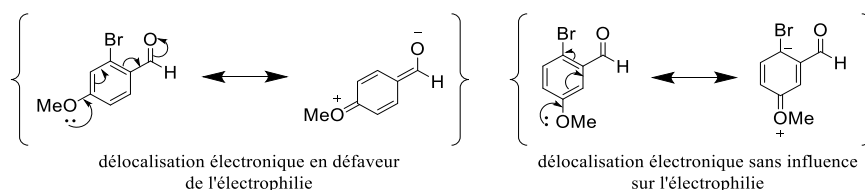


Schéma 99 : Influence de la position du groupement méthoxy sur l'électrophilie du groupement carbonyle

De plus, lorsque la conversion des réactifs en produit est incomplète, il demeure dans le milieu réactionnel une certaine proportion d'acide 4-méthoxyphénylacétique. Sa polarité étant très proche de celle des différents acides cinnamiques formés, leur séparation est difficile par chromatographie, expliquant également les différences de rendements observées. Par ailleurs, la synthèse des acides cinnamiques substitués en position 4 par un chlore et un groupement nitro n'a pas pu être réalisée en raison de l'indisponibilité des dérivés du 2-bromobenzaldéhyde correspondants. Cependant, la diversité des acides cinnamiques nous a semblé suffisante pour procéder à la sélection du substrat le plus favorable à la réaction de cyclisation.

Chaque acide cinnamique a ensuite été engagé dans une réaction de cyclisation dans les conditions ayant permis la formation de la coumarine **48** (Schéma 100 et Tableau 23). Anagha SABU a également contribué à la réalisation de ces expériences.

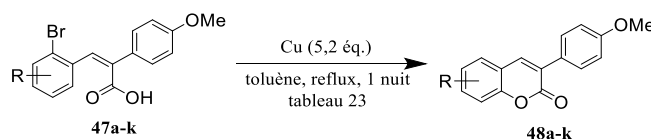


Schéma 100 : Cyclisation des acides cinnamiques **47a-k** en coumarines **48a-k**

Tableau 23 : Influence de la nature et de la position du groupement R sur la cyclisation

entrée	R	observations
1	H	48 : rendement isolé = 6%
2	4-OCF ₃	48a : rendement isolé = 1%
3	4-OMe	pas d'évolution par CCM (produit de départ)
4	4-Me	48c : rendement isolé = 2%
5	5-OCF ₃	pas d'évolution par CCM (produit de départ)
6	5-OMe	48e : rendement isolé = 7%
7	5-Me	48f : rendement isolé = 46%
8	4-CF ₃	48g : rendement isolé = 5%
9	5-CF ₃	48h : rendement isolé = 1%
10	5-Cl	pas d'évolution par CCM (produit de départ)
11	5-NO ₂	48j : rendement isolé = 3%
12	3,4-(CH) ₄	48k : rendement isolé = 4%

Dans la quasi-totalité des cas, soit la cyclisation ne survient pas (Tableau 23, entrées 3,5 et 10), soit les rendements sont très faibles (Tableau 23, entrées 1,2, 4, 6, 8, 9, 11 et 12). En revanche, l'acide cinnamique substitué en position 5 par le groupement méthyle **47f** a pu former la coumarine **48f** avec un rendement plus élevé (46%) (Tableau 23, entrée 7).

Nous avons ainsi sélectionné l'acide cinnamique **47f** afin de réaliser la phase d'optimisation de la réaction de cyclisation.

IV.2.2. Recherche des conditions de cyclisation optimales

Les paramètres d'une réaction chimique sont généralement nombreux. Outre la nature des réactifs, leur état physique, leurs proportions, l'ordre de leur addition au milieu et leur concentration, on peut également énumérer le choix du solvant, de la température et de la pression, du temps de réaction ou encore l'intervention d'un rayonnement. Afin de restreindre au maximum le plan d'optimisation de la réaction de cyclisation, il est nécessaire de réaliser au préalable une sélection non seulement des paramètres à faire varier, mais également de la manière dont ces paramètres varient.

Nous n'avons pas fait varier la nature du métal, mais différentes espèces à base de cuivre ont été explorées (Tableau 24, entrées 1 à 3), ainsi que l'influence de leur proportion (Tableau 24, entrées 13 et 14). Par ailleurs, les groupements fonctionnels de l'acide cinnamique qui interviennent lors de la cyclisation sont d'une part le substituant brome, et d'autre part le groupement acide. De ce fait, l'intervention de diverses bases a également été étudiée (Tableau 24, entrées 4 à 6). Enfin, la nature du solvant a été explorée (Tableau 24, entrées 6 à 12). Dans tous les cas, la réaction a été réalisée au reflux du solvant concerné pendant 24 heures (Schéma 101 et Tableau 24).

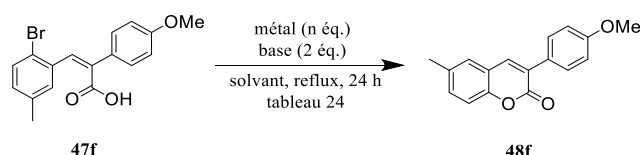


Schéma 101 : Cyclisation de l'acide cinnamique **47f** en coumarine **48f**

Tableau 24 : Conditions de la cyclisation de l'acide cinnamique **47f** en coumarine **48f**

entrée	métal	base	solvant	taux de conversion en coumarine*				
1	Cu (5,2 éq.)	-	toluène	46% (rendement isolé)				
2	Cu ₂ O (5,2 éq.)			0%				
3	CuI (5,2 éq.)			0%				
4	Cu (5,2 éq.)	Et ₃ N	toluène	72%				
5		Cs ₂ CO ₃		0%				
6		K ₂ CO ₃		cyclohexane	95%			
7					chloroforme	99%		
8						THF	55%	
9							méthanol	4%
10			dioxane					0%
11								DMF
12		toluène		72%				
13				49%				
14		Cu (1 éq.)			42%			

* Après réaction, les produits bruts ont été filtrés et séchés sous vide, puis analysés par RMN ¹H. L'intégration des protons appartenant au groupement méthyle de l'acide cinnamique I_{AC} et de la coumarine I_C ont été mesurées. Le taux de conversion en coumarine est le ratio I_C / (I_{AC} + I_C).

Lorsque le cuivre est oxydé +I (Cu₂O, CuI), l'acide cinnamique ne cyclise pas (Tableau 24, entrées 2 et 3). Le cuivre métallique semble ainsi être le réactif le plus efficace. L'intervention de diverses bases a ensuite été étudiée. En présence de triéthylamine, le taux de conversion atteint 72% (Tableau 24, entrée 4). Nous avons également étudié l'influence de bases minérales. Alors que le carbonate de césium ne permet pas la cyclisation, l'utilisation de carbonate de potassium permet d'atteindre 95% de conversion (Tableau 24, entrées 5 et 6). Nous avons ensuite exploré l'influence du solvant. Il est cependant difficile de réaliser une corrélation entre ce dernier et le taux de conversion en coumarine. En effet, de nombreux paramètres sont à prendre en compte comme la température d'ébullition du solvant, son caractère protique ou aprotique, sa capacité à solubiliser les réactifs ou la possibilité d'établir des liaisons hydrogènes.

Il semblerait néanmoins que dans la plupart des cas, on puisse établir un lien entre la conversion en coumarine et la polarité du solvant. Ainsi, les solvants apolaires comme le toluène et le cyclohexane et peu polaires comme le chloroforme conduisent à des taux de conversion élevés (respectivement 95%, 99% et 55%) (Tableau 24, entrées 6,7 et 8). En revanche, la cyclisation est moins favorable dans le cas des solvants polaires comme le THF et le méthanol pour lesquels les taux de conversion valent 4% et 0% (Tableau 24, entrées 9 et 10). Il existe cependant deux exceptions à cette tendance, à savoir le dioxane (solvant apolaire) et le DMF (solvant polaire) qui conduisent aux taux de conversions respectifs de 10% et 72% (Tableau 24, entrées 11 et 12). Enfin, l'influence des proportions de cuivre dans le milieu réactionnel sur la réaction a été explorée. Avec 2,5 équivalents de cuivre au lieu de 5,2 équivalents, le taux de conversion baisse presque de moitié (49%) (Tableau 24, entrée 13). Avec 1 équivalent de cuivre, le taux baisse encore, atteignant 42% (Tableau 24, entrée 14). Ainsi, les meilleures conditions permettant la cyclisation de l'acide cinnamique **47f** en coumarine **48f** sont : 5,2 équivalents de cuivre et 2 équivalents de carbonate de potassium au reflux du cyclohexane pendant 24 heures (Tableau 24, entrée 7).

IV.2.3. Exemplification de la réaction de cyclisation

Nous avons finalement souhaité appliquer les conditions optimales obtenues à l'ensemble des acides cinnamiques synthétisés **47a-k** (Schéma 102 et Tableau 25). Cependant, dans la plupart des cas, ces derniers étaient insolubles. Ainsi, afin d'obtenir des résultats probants et comparables, nous avons finalement exploité le toluène comme solvant de cyclisation, qui permettait la solubilisation des substrats. En effet, ce solvant a permis un taux de conversion de 95%, et présente donc une efficacité comparable à celle du cyclohexane (Tableau 24, entrée 6).

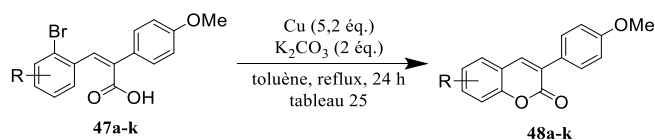


Schéma 102 : Cyclisation des acides cinnamiques **47a-k** en coumarines **48a-k** dans les conditions optimales

Tableau 25 : Taux de conversion des acides cinnamiques **47a-k** en coumarines **48a-k** dans les conditions optimales

entrée	R	taux de conversion en coumarine*
1	H	84%
2	4-OCF ₃	97%
3	4-OMe	88%
4	4-Me	86%
5	5-OCF ₃	88%
6	5-OMe	85%
7	5-Me	85%
8	4-CF ₃	96%
9	5-CF ₃	95%
10	5-Cl	dégradation**
11	5-NO ₂	95%
12	3,4-(CH) ₄	92%

* Après réaction, les produits bruts ont été filtrés et séchés sous vide, puis analysés par RMN ¹H. L'intégration des protons appartenant au groupement méthoxy de l'acide cinnamique et de la coumarine correspondante (notées I_{AC} et I_C) ont été mesurées. Le taux de conversion en coumarine est le ratio I_C / (I_{AC} + I_C).

** Aucun des signaux du produit ou des réactifs n'a été retrouvé sur le spectre RMN du produit brut.

Les acides cinnamiques **47** et **47a-k** cyclisent dans ces conditions avec des taux de conversion élevés (84% à 97%) (Tableau 25, entrées 1 à 9, 11 et 12), sauf l'acide **47i** (R = 5-Cl) pour lequel aucun des signaux de l'acide et de la coumarine correspondante n'ont été retrouvés dans le spectre RMN du produit brut, laissant supposer une dégradation du réactif dans ces conditions (Tableau 25, entrée 10). Néanmoins, les conditions développées précédemment semblent applicables à une grande diversité de substrats.

IV.3. Conclusion

La méthode de synthèse des 3-phénylcoumarines décrite précédemment est une méthode simple et efficace (Schéma 103). Faisant intervenir seulement deux étapes, elle permet d'accéder aux produits désirés avec des taux de conversion élevés pour la quasi-totalité des substrats testés.

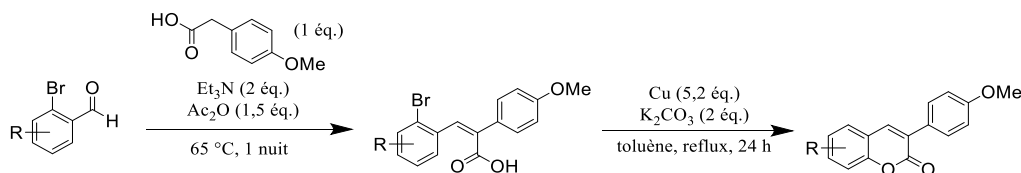


Schéma 103 : Voie de synthèse optimisée de 3-phénylcoumarines au départ de dérivés du 2-bromobenzaldéhyde et d'acide 4-méthoxyphénylacétique

La poursuite du travail d'exemplification pourrait être réalisée notamment via l'intégration de divers substituants au niveau du cycle aromatique B (Schéma 104).

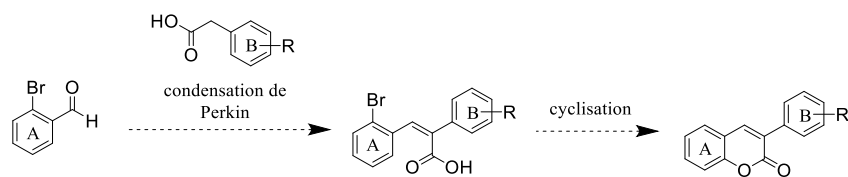


Schéma 104 : Proposition de poursuite du travail d'exemplification

Par ailleurs, un second travail d'optimisation pourrait viser à réunir les deux étapes en une seule. Les 3-phénylcoumarines seraient alors obtenues via une réaction en cascade (Schéma 105).

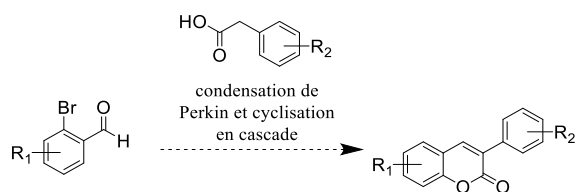


Schéma 105 : Proposition de poursuite du travail d'optimisation

Chapitre 3. Conclusion et Perspectives

I. Conclusion

L'arthrose est une maladie chronique dégénérative des articulations qui se caractérise par une altération progressive du cartilage articulaire. Cette maladie est très répandue : elle affecte dans le monde 9,6% des hommes et 18% des femmes de plus de 60 ans (Chapitre 1, I.1). L'arthrose s'accompagne généralement de douleurs, et peut même entraîner une difficulté à se déplacer. Ses conséquences sont multiples. D'une part, le patient est lourdement affecté dans son quotient, sur le plan physique comme sur le plan moral. D'autre part, l'impact économique de cette maladie est important. Les coûts de prise en charge des patients ne cessent d'augmenter depuis trente ans, et ont atteint 3,5 milliards d'euros en France en 2010 (Chapitre 1, I.2). Les traitements actuels, qu'ils soient médicamenteux, non médicamenteux, préventifs ou chirurgicaux, ciblent la douleur et l'inflammation, mais ne permettent pas de stopper ou même freiner la progression de la maladie (Chapitre 1, II).

L'angiogenèse ostéochondrale, c'est-à-dire le processus de croissance des vaisseaux sanguins, joue un rôle prépondérant dans le développement de l'arthrose. A la suite d'une inflammation, une invasion vasculaire survient au sein de l'articulation, normalement avasculaire. Il en résulte entre autres une dégradation du cartilage articulaire, entraînant une nouvelle inflammation, créant ainsi un cercle vicieux entretenant le processus arthrosique (Chapitre 1, III). Afin d'interrompre ce cercle vicieux, nous nous sommes intéressés aux stratégies anti-angiogéniques, et particulièrement aux agents perturbateurs vasculaires (VDAs). Ces derniers déstabilisent la vasculature pathologique en ciblant la tubuline. Cette protéine est notamment impliquée dans le cytosquelette et est responsable de la forme aplatie des cellules endothéliales, leur permettant d'établir un contact intercellulaire indispensable à l'imperméabilité des capillaires sanguins en formation. En ciblant la tubuline au niveau du site de la colchicine, les VDAs conduisent à une cascade d'évènements, à l'issue de laquelle les capillaires provenant de l'angiogenèse pathologique se perméabilisent, interrompant le processus (Chapitre 1, IV). Développée à l'origine dans le cadre du traitement du cancer, la stratégie VDA peut être appliquée à d'autres maladies impliquant l'angiogenèse, comme la DMLA ou encore l'athérosclérose. Les VDAs n'ont en revanche jamais été exploités dans le cadre de thérapies contre l'arthrose.

Nous avons conçu deux séries de VDAs. La première est constituée de trois analogues d'une molécule active développée par Mélissa CUCCA dans le cadre de ses travaux de recherche.⁸⁵ Ce dérivé de l'indole **B1** a en effet montré une activité VDA prometteuse, et a donc été sélectionné comme chef de file pour cette série de molécules (Chapitre 2, I). Pour la seconde série, nous avons adopté une stratégie d'hybridation de VDAs décrits dans la littérature. Nous avons ainsi sélectionné E7010, la CA4 et la phenstatine, et avons conçu cinq molécules hybrides combinant les interactions qu'établissent ces VDAs avec le site de la colchicine (Chapitre 2, II).

Chaque molécule a fait l'objet d'une étude rétrosynthétique afin d'établir les voies de synthèse les plus simples et les plus efficaces possibles. Les cibles ont été préparées en conséquence d'après les protocoles décrits dans la littérature. Sur les huit molécules désirées, six ont pu être préparées, et les deux autres ont dû être adaptées. Les rendements globaux vont de 5% à 63%. Toutes les molécules cibles (Figure 68) ont été caractérisées pour confirmer leurs structures respectives

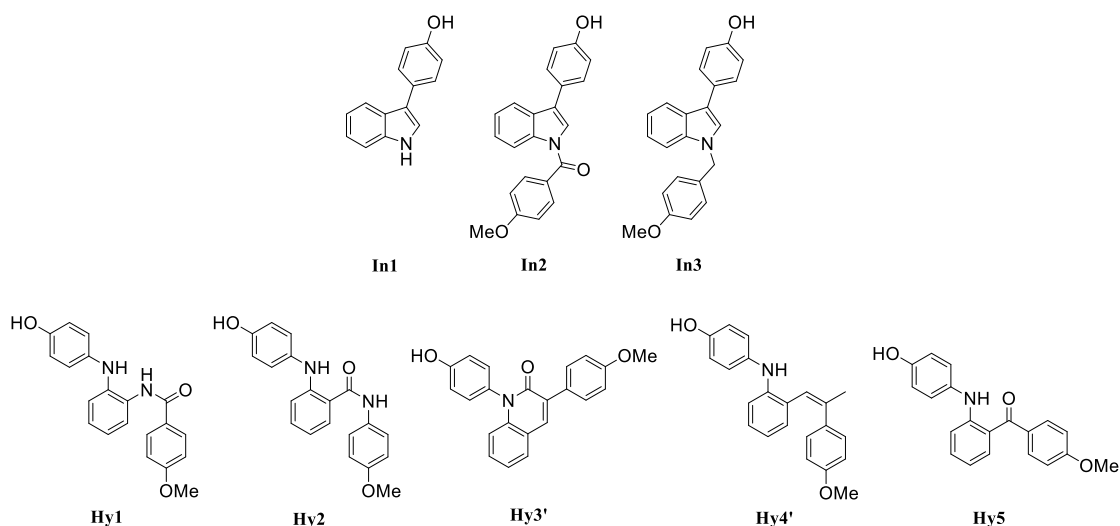


Figure 68 : Structure des cibles **In1**, **In2**, **In3** (série indoles) et **Hy1**, **Hy2**, **Hy3'**, **Hy4'**, **Hy5** (série hybrides)

Les composés préparés ont été évalués via trois tests biologiques. Leur capacité à inhiber la polymérisation de la tubuline a été mesurée. Un test d'inhibition de la prolifération cellulaire a été réalisé sur deux lignées cellulaires : les cellules endothéliales HUVEC dont on souhaite inhiber la prolifération et les cellules de cartilage HIG-82 que l'on souhaite préserver. Ces deux mesures ont permis de calculer un ratio HIG-82/HUVEC caractérisant la sélectivité de chaque composé pour les cellules endothéliales. Enfin, un test d'inhibition de la migration cellulaire a été réalisé sur la lignée HUVEC. Ces trois tests permettent ainsi une mesure du caractère VDA de chaque composé (Tableau 26).

Tableau 26 : Evaluation biologique des séries indoles et hybrides

composé	Inhibition de la polymérisation de la tubuline	Inhibition de la prolifération cellulaire			Inhibition de la migration cellulaire à 10 h (HUVEC)	
	Cl ₅₀ (μM)	Cl ₅₀ HUVEC (nM)	Cl ₅₀ HIG-82 (nM)	ratio HIG-82/HUVEC	Cl ₅₀ /2	Cl ₅₀ /10
In1	> 100	> 50 000	> 50 000	ND	59%	92%
In2	4,0 ± 0,3	126 ± 4	394 ± 16	3,1	65%	94%
In3	7,2 ± 0,7	221 ± 8	503 ± 23	2,3	76%	86%
Hy1	en cours d'évaluation	> 50 000	> 50 000	< 1	65%	71%
Hy2		3 143 ± 119	5 954 ± 238	1,9	54%	69%
Hy3'		en cours d'évaluation				
Hy4'		en cours d'évaluation				
Hy5		13 650 ± 671	20 623 ± 955	1,5	68%	74%

Pour la série des indoles, la cible **In2** présente la meilleure activité VDA. Cette dernière s'estompe cependant à faible concentration contrairement à la référence **B1**. Quant à la série des hybrides, deux molécules ont montré une activité VDA prometteuse, à savoir **Hy2** et **Hy5**. Les deux composés ont en effet une activité comparable voire meilleure que les VDAs de référence E7010 et la CA4, notamment à faible concentration. **Hy2** a une meilleure sélectivité pour la lignée HUVEC que **Hy5**, mais la synthèse de ce dernier est plus simple et efficace. A ce jour, deux composés de la série hybrides (**Hy3'** et **Hy4'**) sont en cours d'évaluation biologique. Par ailleurs, aucun des hybrides n'a encore été évalué pour l'inhibition de la polymérisation de la tubuline.

Nous avons également développé une stratégie de vectorisation afin de garantir une affinité des VDAs pour l'articulation et ainsi éviter une diffusion du principe actif dans tout l'organisme. Pour ce faire, nous avons sélectionné les ammoniums quaternaires comme vecteurs. Ces derniers ciblent en effet les protéoglycanes présents au niveau du cartilage via des interactions ioniques. Nous avons choisi la chalcone SD400 comme molécule de référence pour le développement de cette stratégie de vectorisation. Les tests *in vitro* ont montré une sélectivité des deux ammoniums testés pour la lignée HUVEC, ainsi qu'une activité VDA (Chapitre 2, III). L'évaluation *in vivo* de ces composés n'a pas encore été réalisée. Cette stratégie de vectorisation sera ensuite appliquée au VDA ayant montré l'activité la plus prometteuse parmi les deux séries indoles et hybrides.

Lors de la préparation de l'un des hybrides, une réaction inattendue de cyclisation d'un acide cinnamique en coumarine a été observée. Ce type de réaction n'étant pas décrit dans la littérature, nous avons étudié et optimisé cette cyclisation en établissant un plan d'expériences. Une fois les conditions optimales obtenues, nous avons exemplifié la réaction avec divers substrats. Nous avons ainsi établi une voie de synthèse simple et efficace pour la préparations de coumarines à partir de dérivés du 2-bromobenzaldéhyde et d'acide phénylacétique applicables à une grande variété de substrats (Chapitre 2, IV).

Au cours de ce projet de thèse, nous avons conçu et synthétisé 8 composés organiques originaux dont 3 ont montré une activité VDA intéressante lors des évaluations biologiques *in vitro*. Ces composés pourraient ouvrir la voie à un nouveau type de traitement pour soigner l'arthrose de manière efficace et sûre. La mise en place d'un modèle *in vivo* pourra ensuite permettre de confirmer cette activité VDA et compléter la stratégie de vectorisation développée.

II. Perspectives

Les résultats obtenus lors de ces travaux nous permettent d'envisager de nouveaux analogues de type E7010-combretafurane.¹⁹¹ Ces hybrides, plus contraints, pourraient apporter une activité VDA encore plus intéressante que les hybrides décrits précédemment.

D'autre part, les molécules préparées n'ont pas pu être évaluées pour leur activité *in vivo* malgré les efforts de l'équipe Neurodol. Plusieurs pistes sont explorées pour vérifier l'activité *in vivo* des VDAs synthétisés sur l'angiogenèse, la douleur, l'inflammation et la progression de l'arthrose.

II.1. Développement d'un hybride E7010-combretafurane

Une première perspective du projet concerne la conception de nouveaux composés hybrides. Le remplacement de la double liaison de la CA4 par un hétérocycle contraignant la configuration relative *cis* des deux cycles aromatiques semble être une piste intéressante.

II.1.1. Conception d'un hybride E7010-combretafurane

L'activité VDA de la CA4 dépend de la configuration de la double liaison reliant les deux cycles aromatiques. Ainsi, la (*Z*)-CA4 inhibe la polymérisation de la tubuline ($CI_{50} = 2,2 \mu M$) alors que la (*E*)-CA4 est inactive. Par ailleurs, à travers certaines études, l'isomérisation de la CA4 a été reportée. Afin de contraindre la configuration *cis* des deux cycles aromatiques, la synthèse d'analogues de la CA4 remplaçant la double liaison par un hétérocycle peut être envisagée.^{192,193} Dans certains cas, la contrainte imposée à la structure améliore l'activité. On peut citer par exemple Maojiang WU qui a développé un analogue de la CA4 en remplaçant la double liaison par un hétérocycle 1,2,3-thiadiazole (Figure 69).¹⁹⁴ Le composé hétérocyclique inhibe la polymérisation de la tubuline avec une CI_{50} de 0,70 μM contre 0,81 μM pour la CA4 (CI_{50} mesurée par Maojiang WU), et est donc légèrement plus actif que la référence.

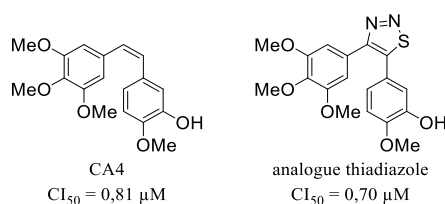


Figure 69 : Structure de la CA4 et de son analogue 1,2,3-thiadiazole développé par Maojiang WU

De la même manière, un analogue de la CA4 remplaçant la double liaison par un hétérocycle furane a été décrit par Tracey PIRALI (Figure 70).¹⁹¹

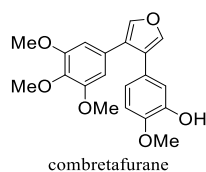


Figure 70 : Structure du combretafurane

Ce composé, appelé combretafurane, a montré une activité similaire à celle de la CA4. Il présente en effet une activité anticancéreuse intéressante, liée à sa capacité à inhiber la polymérisation de la tubuline. Il a en revanche été montré que cette molécule n'affecte pas le cycle cellulaire, contrairement à la CA4 qui l'interrompt au cours des phases G2/M. La raison de cette différence d'activité n'est pas connue. Cependant, ce type de structure présente un intérêt dans la mesure où il préserve le cycle cellulaire tout en étant actif.

Nous avons ainsi conçu un nouveau composé hybride E7010-combretafurane **Hy7**, différent de **Hy4** par le remplacement de la double liaison par un hétérocycle furane (Figure 71). La cible **Hy7** présente des similitudes avec les hybrides **Hy1-5**. Elle contient en effet les trois cycles benzéniques A, B et C. Les cycles A et B sont reliés par une fonction amine, le cycle central B est ortho-disubstitué, et le cycle C est substitué en position 4 par un groupement méthoxy.

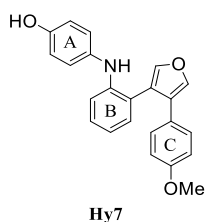


Figure 71 : Structure de l'hybride **Hy7**

II.1.2. Synthèse de la cible **Hy7**

Comme dans le cas des quatre composés hybrides **Hy2**, **Hy3'**, **Hy4'** et **Hy5**, le groupement (4-hydroxyphényl)amino (cycle A) substituant le cycle central B en position 2 peut être introduit via un couplage de Buchwald-Hartwig (Schéma 106)

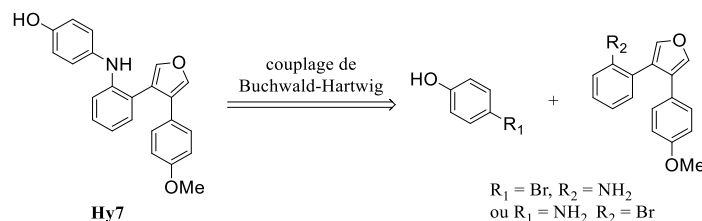


Schéma 106 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy7** - formation du groupement *N,N*-diarylamine

La spécificité de cet hybride réside dans la nature du groupement reliant le cycle aromatique central et le cycle substitué en position 4 par un groupement méthoxy. Il s'agit en effet d'un furane 3,4-disubstitué.

Il existe peu d'exemples de synthèses de ce type de furanes, la plupart des méthodes décrites dans la littérature conduisant à des furanes 2,5-disubstitués.¹⁹⁵⁻¹⁹⁷ La synthèse des 3,4-diarylfuranes semble ainsi réalisable via deux voies de synthèse seulement. Tracey PIRALI a décrit une méthode de préparation du combretafurane en quatre étapes au départ de l'acide 3,4,5-triméthoxyphénylacétique et de la 2-bromo-1-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)éthan-1-one dont la fonction phénol est protégée par un groupement méthoxyéthoxyméthoxy (MEM).¹⁹¹

Une substitution nucléophile de l'acide sur le dérivé bromé a conduit à l'ester **5d** (Schéma 107). Ce dernier, sous l'action d'une base, s'est cyclisé pour former la furanone **6d**. Après réduction en furane **7d**, la déprotection du phénol a conduit au combretafurane avec un rendement global de 4%.

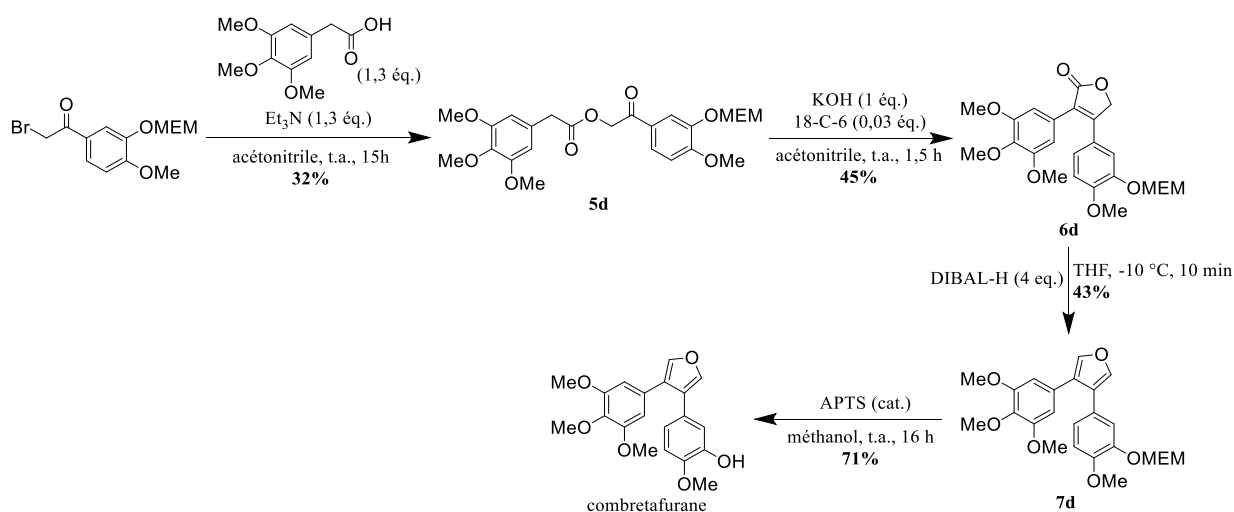


Schéma 107 : Synthèse du combretafurane décrite par Tracey PIRALI

Une autre méthode décrite par Pat FORGIONE concerne la synthèse du 3,4-diphénylfurane par addition du chlorure de phénylmagnésium sur un dérivé d'alcool propargylique conduisant à un intermédiaire magnésien cyclique (Schéma 108). Ce dernier réagit ensuite avec du DMF pour former le 3,4-diphénylfurane désiré avec un rendement de 92%.¹⁹⁸

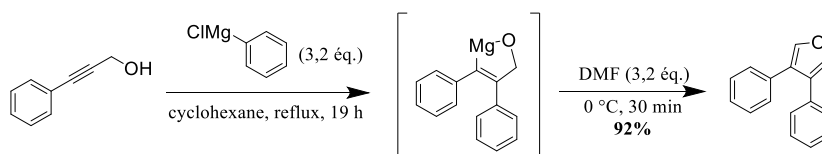


Schéma 108 : Synthèse du 3,4-diphénylfurane décrite par Pat FORGIONE

Cette deuxième méthode est à privilégier. En effet, elle permettrait d'accéder en moins d'étapes et avec un meilleur rendement au 3,4-diarylfurane désiré. Nous avons ainsi, dans un premier temps, abordé la synthèse de la cible **Hy7** selon cette approche.

- **Synthèse de la cible Hy7 via la méthode de Pat FORGIONE**

La synthèse de l'hybride **Hy7** comporte deux étapes-clés, à savoir un couplage de Buchwald-Hartwig introduisant le groupement (4-hydroxyphényl)amino, ainsi que l'étape permettant la formation du 3,4-diarylfurane. Cette étape de cyclisation implique l'utilisation d'un organomagnésien. Ainsi, afin d'éviter une réaction parasite, le substrat utilisé lors de cette cyclisation ne doit pas comporter de site acide. Le groupement *N,N*-diarylamine ne doit donc pas être présent, impliquant la réalisation du couplage de Buchwald-Hartwig en dernier.

Le schéma rétrosynthétique suivant a alors été envisagé (Schéma 109) : la cible **Hy7** proviendrait d'un couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-hydroxyaniline et le bromure d'aryle correspondant. Ce dernier serait préparé via la méthode de Pat FORGIONE décrite précédemment au départ de l'alcool propargylique approprié et d'un halogénure de 4-méthoxyphénylmagnésium.

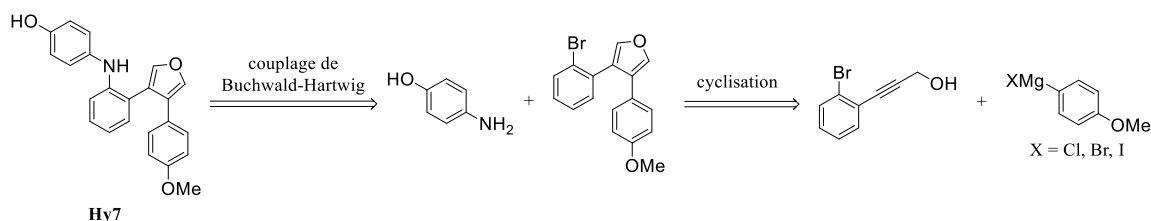


Schéma 109 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy7** selon la méthode de Pat FORGIONE

Dans un premier temps, nous avons abordé la synthèse avec le substrat **55** (R = Br) conformément à l'approche rétrosynthétique décrite précédemment (Schéma 110). Sa préparation a été réalisée via un couplage de Sonogashira entre le 1-bromo-2-iodobenzène et l'alcool propargylique de manière quantitative.¹⁹⁹ Pour la réaction de cyclisation, le chlorure de 4-méthoxyphénylphosphonium n'étant pas disponible au laboratoire (de même que le 4-chloroanisole), nous avons réalisé la synthèse magnésienne préalablement à partir du 4-bromoanisole et de magnésium en copeaux. Les conditions de la synthèse magnésienne ne proviennent pas d'une étude bibliographique, mais sont issues du savoir-faire du laboratoire. Malheureusement, la cyclisation n'a pas abouti, le milieu réactionnel ne semblant pas montrer d'évolution par CCM et par RMN après l'addition de **55**.¹⁹⁸ Nous avons alors envisagé de réaliser la synthèse au départ de l'alcool propargylique **56** (R = NO₂) (impliquant une étape de réduction supplémentaire avant le couplage de Buchwald-Hartwig avec le 4-bromophénol). Ce dernier a été préparé via un couplage de Sonogashira entre le 1-iodo-2-nitrobenzène et l'alcool propargylique (92%).¹⁹⁹ Comme précédemment, la cyclisation n'a malheureusement pas abouti, pour les mêmes raisons.¹⁹⁸

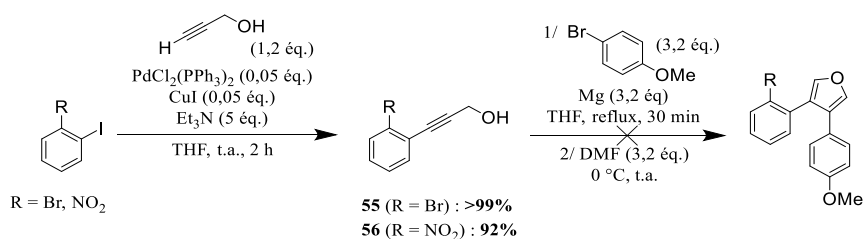


Schéma 110 : Préparations de dérivés de l'alcool propargylique et cyclisation dans les conditions de Pat FORGIONE

Cette méthode de synthèse n'a cependant pas été davantage explorée. Une piste envisageable serait d'utiliser un organomagnésien commercial.

N'étant pas parvenus à préparer la cible **Hy7** dans ces conditions, nous avons exploré la méthode de Tracey PIRALI.

- **Synthèse de la cible Hy7 via la méthode de Tracey PIRALI**

Comme précédemment, nous avons choisi de réaliser le couplage de Buchwald-Hartwig en dernier afin d'éviter d'éventuelles réactions parasites liées à la présence d'une amine. Nous avons ainsi envisagé la synthèse de l'hybride **Hy7** selon le schéma rétrosynthétique suivant (Schéma 111) : la cible proviendrait d'un couplage de Buchwald-Hartwig entre la 4-hydroxyaniline et le bromure d'aryle correspondant. Ce dernier serait préparé via la réduction de la furanone. A ce stade, l'asymétrie de l'hétérocycle implique deux cas de figures. Les groupements 2-bromophényle et 4-méthoxyphényle peuvent substituer la furanone aux positions respectives 3 et 4 (voie 1) ou aux positions 4 et 3 (voie 2). La furanone proviendrait d'une cyclisation de l'ester, lequel serait issu d'une substitution nucléophile entre l'acide 2-bromophénylacétique et le dérivé bromé correspondant (voie 1) ou entre l'acide 4-méthoxyphénylacétique de le dérivé bromé correspondant (voie 2).

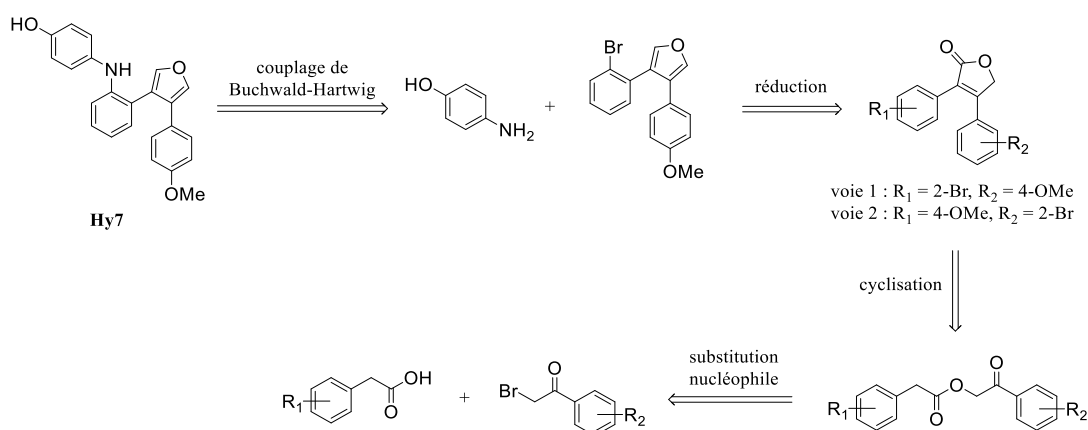


Schéma 111 : Approche rétrosynthétique de l'hybride **Hy7** selon la méthode de Tracey PIRALI

A priori, l'exécution de l'une ou l'autre voie ne devrait pas impacter la voie de synthèse. Nous avons donc guidé notre choix à partir de la disponibilité des réactifs au laboratoire, et avons sélectionné la voie 1 ($R_1 = 2\text{-Br}$, $R_2 = 4\text{-OMe}$).

Nous avons ainsi abordé la synthèse de l'hybride **Hy7** selon le schéma suivant (Schéma 112) : une substitution nucléophile entre l'acide 2-bromophénylacétique et le dérivé bromé correspondant a conduit à l'ester **57** avec un rendement de 93%.¹⁹¹ Notons que les conditions employées diffèrent légèrement des conditions décrites pour la synthèse du combretafurane (Schéma 107). En effet, au cours de son étude, Tracey PIRALI a appliqué la voie de synthèse à divers substrats en adaptant certains paramètres de réaction. Nous avons ainsi sélectionné les conditions optimisées pour les substrats les plus proches structurellement de notre cas de figure. Diverses conditions de cyclisation ont ensuite été appliquées à l'ester **57** (Tableau 27).

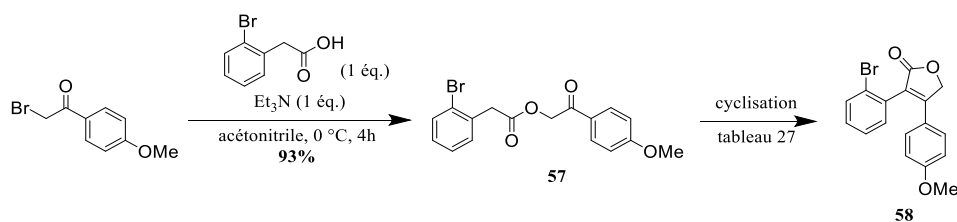


Schéma 112 : Substitution nucléophile entre l'acide 2-bromophénylacétique et le dérivé bromé correspondant et cyclisation en furanone **58**

Tableau 27 : Conditions de cyclisation de l'ester **57** en furanone **58**

entrée	conditions	observations	référence
1	KOH (1 éq.) 18-C-6 (0,03 éq.) acétonitrile, t.a., 2 h	oxydation en 59 *	191
2	KOH (1 éq.) 18-C-6 (0,03 éq.) acétonitrile dégazé, t.a., 2 h	oxydation en 59 *	
3	DBU (1 éq.) acétonitrile, 0 °C, 1,5 h	58 : rendement isolé = 84%	200

* structure déterminée par RMN ¹H et MS

Les conditions décrites par Tracey PIRALI, c'est-à-dire en présence d'hydroxyde de potassium et d'éther couronne, ont conduit à la furandione **59**, probablement en raison d'une oxydation consécutive à la cyclisation (Tableau 27, entrée 1 et Figure 72).¹⁹¹

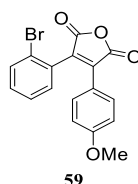


Figure 72 : Structure de la furandione **59**

Cette oxydation parasite a également été observée par Tracey PIRALI dans le cas de certains substrats. Selon lui, la présence d'oxygène moléculaire et d'une base forte favorise cette réaction. Dans le cadre de son étude, le dégazage du solvant a suffi à éviter cette réaction parasite.¹⁹¹ En revanche, dans le cas de la cyclisation de l'ester **57**, le dégazage n'a pas permis d'éviter l'oxydation en furandione **59** (Tableau 27, entrée 2). Nous avons donc exploré d'autres conditions faisant intervenir une base faible : le DBU.²⁰⁰ La furanone désirée **58** a alors été obtenue avec un rendement de 84% (Tableau 27, entrée 3).

Finalement, diverses conditions de réduction de la furanone **58** en furane **60** ont été explorées (Schéma 113 et Tableau 28). Cependant, si le produit semble avoir été obtenu lors d'un essai impliquant de faibles quantités, nous avons rencontré des difficultés lors de la montée en échelle.

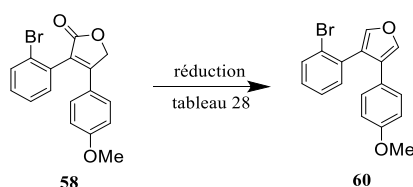


Schéma 113 : Réduction de la furanone **58** en furane **60**

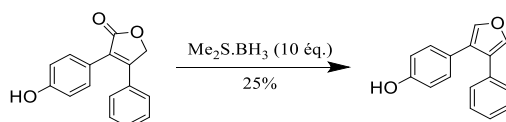
Tableau 28 : Conditions de réduction de la furanone **58** en furane **60**

entrée	conditions	observations	référence
1	furanone 58 (50 mg) DIBAL-H (4 éq.) THF, -20 °C, 2 h	60 : rendement isolé = 40%	191
2	furanone 58 (500 mg) DIBAL-H (4 éq.) THF, -20 °C, 2 h	dégradation	
3	furanone 58 (500 mg) DIBAL-H (4 éq.) THF, -78 °C, 2 h	dégradation	

Dans un premier temps, nous avons appliqué les conditions décrites par Tracey PIRALI sur 50 mg de furanone **58**, et avons observé la formation du furane **60** (structure déterminée par RMN ¹H et MS) (Tableau 28, entrée 1). Cependant, ces mêmes conditions appliquées à 500 mg de substrat ont conduit à la dégradation de ce dernier (absence des signaux caractéristiques en RMN ¹H) (Tableau 28, entrée 2). En renouvelant l'expérience à -78 °C, le substrat se dégrade également (Tableau 28, entrée 3).

Malheureusement, les quantités obtenues de **60** lors du premier essai (19 mg), ne sont pas suffisantes pour aborder la suite de la synthèse.

Nous n'avons pas davantage exploré la synthèse de l'hybride **Hy7**. Cependant, d'autres conditions de réduction de la furanone **58** en furane **60** pourraient permettre d'accéder à la cible. Par exemple, l'utilisation de borane diméthylsulfide a été décrite par Parul VERMA, permettant d'accéder à un furane avec un rendement de 25%.²⁰¹ Cette voie de synthèse demeure ainsi à explorer.



II.2. Développement d'un protocole d'évaluation *in vivo*

Lorsqu'un composé a montré des activités respectant le cahier des charges lors des tests *in vitro* (inhibition de la polymérisation de la tubuline, activité antiproliférative et inhibition de la migration cellulaire), la prochaine étape consiste à évaluer son activité *in vivo* afin de confirmer l'effet sur l'angiogenèse ostéochondrale (preuve de concept). Des travaux antérieurs, réalisés par l'équipe NeuroDol à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Clermont-Ferrand, ont consisté à développer des protocoles d'évaluation biologique *in vivo*. En particulier, deux tests ont été explorés : l'un *ex vivo* exploitant un implant de Matrigel® (Matrigel® Plug Assay) et le second *in vivo* exploitant une ménisectomie partielle (DMM : Destabilization of the Medial Meniscus).

II.2.1. Implant Matrigel®

Ce test consiste à injecter à l'animal un Matrigel® (matrice de membrane basale soluble qui se polymérise et forme un gel) contenant des facteurs de croissance de l'angiogenèse afin d'induire une néovascularisation. Les molécules à tester sont ensuite administrées à l'animal. Après sacrifice, une chirurgie permet d'extraire la matrice, et la concentration en hémoglobine contenue dans cette matrice gélifiée est mesurée. La détermination d'un degré de vascularisation permet d'évaluer l'efficacité VDA de la molécule testée.^{202,203}

Des tentatives d'adaptation de ce test au cadre de ce projet ont été menées par l'équipe NeuroDol. Cependant, des problèmes de reproductibilité ont été rencontrés, rendant les résultats trop aléatoires, malgré plusieurs tentatives d'optimisation.

II.2.2. Ménisectomie partielle – modèle DMM

Le modèle DMM (Déstabilisation du Ménisque Médial) consiste en une chirurgie visant à retirer une partie du ménisque d'une articulation. Cette opération permet d'enclencher un processus de néovascularisation. Ce modèle a déjà été exploité pour l'étude de l'activité d'agents inhibiteurs de l'angiogenèse (AIAs).²⁰⁴⁻²⁰⁶ L'évolution de la douleur et de l'inflammation peut alors être mesurée pour déterminer l'efficacité d'un traitement.

Des tentatives de mise en place de ce test ont été menées également par l'équipe NeuroDol. Notamment, des coupes histologiques de l'articulation ont été réalisées sur des rats, mais l'invasion vasculaire n'a pas pu être visualisée, malgré plusieurs tentatives d'optimisation.

II.2.3. Développement d'un nouveau modèle : le modèle AA

Le modèle AA (Adjuvant Arthritis) est un modèle qui consiste à induire une inflammation chez l'animal en injectant à ce dernier une solution d'antigènes appelée adjuvant de Freund (CFA : Complete Freund's Adjuvant). La réponse inflammatoire de l'organisme entraîne, entre autres, une néovascularisation.²⁰⁷⁻²⁰⁹ Ce modèle animal est ainsi adapté pour l'étude de l'activité des AIAs ou des VDAs.

A ce jour, l'équipe NeuroDol travaille activement au développement de ce test et à son adaptation au cadre de ce projet, en exploitant notamment la CA4P comme VDA de référence.

Chapitre 4. Partie Expérimentale

I. Materials and methods

I.1. Reagents and solvents

Reagents were purchased from Sigma-Aldrich, Alfa Aesar, Fluorochem or Acros Organics and were used without purification. Extraction and purification solvents were provided from Carlo Erba, and anhydrous solvents from Acros Organics.

Some hydrogenation reactions were performed with an HCube Mini Plus apparatus from THALESNano and catalyst cartridges from Sigma-Aldrich.

I.2. Reactions control

Reactions were monitored by thin layer chromatography (TLC) on aluminium plated with Silica gel Machrey-Nagel ALIGRAM XTRA SIL G/UV₂₅₄ (silica 60, 0.20 mm). TLC were analyzed under a UV (254 or/and 365 nm) or developed with TLC indicators: phosphomolybdic acid, ninhydrin or 4-anisaldehyde.

I.3. Purifications

Crude products were purified by chromatography column on silica gel VWR Chemicals 40-63 μm , or by automated flash chromatography using the Interchim Spot II Flash, employing columns Machrey-Nagel (silica Chromabond Flash).

I.4. Structural analyses

I.4.1. NMR spectroscopy

Deuterated solvents for NMR analysis were purchased from Eurisotop. ^1H and ^{13}C NMR spectra were carried out on spectrometers available via UCA Partner (<https://partner.uca.fr/>): Brüker Avance 400 or 500 MHz. Chemical shifts are expressed in ppm, related to the solvent peak as an internal reference (NMR ^1H 7.26 ppm for CDCl_3 , 3.34 ppm for CD_3OD and 2.50 ppm for $\text{d}_6\text{-DMSO}$; NMR ^{13}C 77.16 ppm for CDCl_3 , 49.86 ppm for CD_3OD and 39.52 for $\text{d}_6\text{-DMSO}$). Coupling constants J are expressed in hertz (Hz).

Peaks multiplicity is described using the following abbreviations: s = singlet; bs = broad singlet; d = doublet; t = triplet; q = quadruplet; hept = heptuplet; m = multiplet; dd = doublet of doublet; td = triplet of doublet; qd = quadruplet of doublet; ddd = doublet of doublet of doublet.

I.4.2. Melting points

Melting points were measured using an apparatus Mettler Toledo MP50 and are given without correction.

I.4.3. Mass spectrometry

LC-HRMS analyses were carried out on a UHPLC Ultimate 3000 RSLC (ThermoScientific) with the following conditions:

- Column Kinetex EVO C18; 100 x 2.1mm, 1.7 μ m (Phenomenex)
- Flow: 0.45 mL/min
- Column oven temperature: 30 °C
- Injection volume: 5 μ L
- Gradient water/acetonitrile; formic acid:

time (min)	%water + 0.1%formic acid	%acetonitrile + 0.1%formic acid
0	95	5
7.5	1	99
8.5	1	99
9	95	5
11	95	5

- Detector DAD UV/VIS 3000 RS 5(ThermoScientific): wavelengths = 200 to 400 nm
- ORBITRAP q6Extractive (ThermoScientific):
Ionization: EESI +/-
Detection: 50 to 750 m/z
Resolution: 70000
AGC Target: 1^e6
Maximum IT: 50 ms
Spray Voltage: 3.2 (+) and 3.0 (-)
Sheath gas flow (N₂): 50
Sweep gas flow (N₂): 10
Aux gas flow (N₂): 2
Capillary temperature: 320 °C
Aux gas temperature: 400 °C

HRMS data for a molecule of molecular formula C_AH_BN_CO_DX_E (where X can be ⁷⁹Br, ³⁵Cl, I, P, Si) corresponding to the molecular mass M are reported as follows : “calculated value for C_AH_{B+1}N_CO_DX_E (M+H⁺) or C_AH_BN_CO_DX_E (M⁺). Found value.”

II. General procedures

II.1. Chemistry

Procedure A: Suzuki coupling

To tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (0.1 eq.) were successively added deoxygenated solutions of bromo-heterocycle (1 eq.) in dimethoxyethane (0.034 M), boronic acid (1.5 eq.) in ethanol (0.014 M) and sodium carbonate (8.5 eq.) in water (0.61 M) under an argon atmosphere. The resultant mixture was stirred for 1.5 to 2 hours at reflux. After allowing to cool down to room temperature, the mixture was filtered on celite® before extraction with DCM. The aqueous layer was neutralized with a 1 M aqueous solution of hydrochloric acid, extracted with DCM, then separated. The organic layer was dried and evaporated. The crude was purified by chromatography column on silica gel to afford the coupled product.

Procedure B: TIPS-deprotection of amines and phenols

A solution of tetrabutylammonium fluoride 1 M in THF (1 eq. or 10 eq.) was added to a stirred solution of TIPS-protected compound (1 eq.) in THF (0.12 M) and the mixture was stirred for a time from 5 minutes to 16 hours at 0 °C or at room temperature. Water was added before extraction with ethyl acetate. The aqueous layer was acidified by an aqueous solution of hydrochloric acid 1 M until pH reached 2, extracted with ethyl acetate; the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel to furnish the free amine or alcohol.

Procedure C: *N*-amidation of indoles

Sodium hydroxide (2.5 eq.) and tetrabutylammonium hydrogensulfate (0.02 eq.) were added to a stirred solution of indole (1 eq.) in DCM (0.15 M). Acyl chloride (1.5 eq.) was then added slowly, and the mixture was stirred at room temperature for a time from 5 to 16 hours. Water was then added before extraction with DCM. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel to give the desired amide.

Procedure D: Nucleophilic aromatic substitution between anilines and 1-fluoro-2-nitrobenzenes derivatives

A solution of *n*-butyllithium 2.5 M in hexanes (1.5 eq.) was added dropwise to a stirred solution of aniline (1 eq.) in anhydrous THF (0.188 M) cooled at -78 °C and under argon atmosphere. The mixture was stirred for 30 minutes at -78 °C. 1-Fluoro-2-nitrobenzene derivative (1.2 eq.) was then added dropwise, and the mixture was allowed to warm up to room temperature. The reaction mixture was stirred for a time from 16 to 48 hours. A solution of hydrochloric acid 1 M was added before extraction with ethyl acetate. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel to afford the desired amine.

Procedure E: Reduction of nitroaryl derivatives to anilines

Iron powder (10 eq.) and a solution of hydrochloric acid 0.2 M (0.4 eq.) were added to a stirred solution of nitroaryl derivative (1 eq.) in ethanol (0.041 M) and the mixture was stirred at reflux for a time from 1 to 2.5 hours. It was filtered on celite® before extraction with DCM. The organic layer was then washed with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel to produce the desired aniline.

Procedure F: Amidation reaction from anilines and acyl chlorides with triethylamine

Triethylamine (1.1 eq.) was added to a stirred solution of aniline (1 eq.) in THF (0.14 M) and the mixture was cooled at 0 °C. A solution of acyl chloride (1 eq.) in THF (0.14 M) was then added dropwise, and the mixture was allowed to warm up to room temperature. It was stirred at room temperature for 2 to 6 hours. Water was then added before extraction with DCM. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel to give the amide.

Procedure G: Benzyl-deprotection of phenols

Palladium on activated carbon 10% (0.1 eq.) was charged in a round bottom flask under an argon atmosphere. A solution of *O*-benzyl phenol (1 eq.) in degassed ethanol (0.091 M) was then added. Dihydrogen was bubbled in the mixture for five minutes, and the mixture was stirred at room temperature for a time from 3 to 16 hours under dihydrogen pressure (1 bar). It was then filtered on celite® and the solvent was evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel to afford the free phenol.

Procedure H: Esterification of carboxylic acids

Sulfuric acid (0.75 eq.) was added to a stirred solution of carboxylic acid (1 eq.) in alcohol (0.50 M) and the mixture was stirred at reflux for a time from 5 to 16 hours. A saturated solution of sodium carbonate was then added before extraction of the mixture with ethyl acetate. The aqueous layer was then separated, the organic layer was dried and evaporated to afford the desired ester.

Procedure I: Buchwald-Hartwig coupling in sealed tube

Palladium acetate (0.05 eq.), XantPhos (0.05 eq.) and cesium carbonate (2 eq.) were charged in an argon-flushed tube. A deoxygenated solution of aryl bromide (1 eq.) and aniline (1 eq.) in dioxane (0.52 M) was added, and the tube was sealed. The mixture was stirred for a time from 16 to 96 hours at 100 °C. After filtration on celite®, the solvent was evaporated. Purification of the crude product by chromatography column on silica gel afforded the coupled product.

Procedure J: Wittig reaction from phosphonium salts and aldehydes

Sodium bis(trimethylsilyl)amide (1 eq.) was added dropwise to a stirred suspension of phosphonium salt (1.5 eq.) in anhydrous THF (0.11 M) cooled at -50 °C and under argon atmosphere. The mixture was stirred for 15 minutes at -50 °C. It was then added dropwise to a stirred solution of aldehyde (2 eq.) in THF (0.58 M) at -50 °C and under argon atmosphere. The resulting mixture was allowed to warm up to room temperature within 3 hours, and it was stirred overnight at room temperature. A saturated solution of ammonium chloride was added before extraction with DCM. The crude product was purified by chromatography column on silica gel to afford the desired alkene.

Procedure K: Amidation reaction from anilines and acyl chlorides with triethylamine

A solution of aniline (1 eq.) in THF (0.087 M) was added to a stirred solution of acyl chloride (1.2 to 1.7 eq.) in anhydrous THF (0.15 M) cooled at 0 °C under an argon atmosphere. 4-dimethylaminopyridine (0.5 eq.) was then added and the mixture was allowed to warm up to room temperature and stirred for a time from 1 to 4 hours. A saturated solution of sodium hydrogen carbonate was added before extraction of the mixture with dichloromethane. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel to afford the desired amide.

Procedure L: Quaternization of chloride derivatives

A solution of trimethylamine 4.2 M in ethanol (10 eq.) was added to a stirred solution of chloride derivative (1 eq.) in ethanol (0.029 M) and the mixture was stirred for a time from 24 to 72 hours at 40 °C. The solvent was then removed, and the resulting solid was washed with 0 °C ethanol to afford the ammonium salt.

Procedure M: Sonogashira coupling

Terminal alkyne (1.2 eq.) was added to a stirred solution of aryl iodide (1 eq.), copper iodide (0.05 eq.), bis(triphenylphosphine)palladium dichloride (0.05 eq.) and trimethylamine (5 eq.) in deoxygenated THF (0.50 M) under argon atmosphere. The mixture was stirred for 2 hours at room temperature. After filtration on celite®, a saturated solution of ammonium chloride was added before extraction with ethyl acetate. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. Purification of the crude product by chromatography column on silica gel afforded the coupled product.

II.2. Biology

Tubulin polymerization inhibition :

The tubulin polymerization assay was performed by Cytoskeleton Inc (Denver CO, USA). Dilutions in DMSO were prepared from compounds (20 mM in DMSO) to give a range of 10 mM to 0.27 μ M. In a 96-well plate (Corning Costar, cat #3686), tubulin (2.0 mg/mL) in polymerization buffer (80 mM PIPES, pH 6.9, 2 mM $MgCl_2$, 0.5 mM EGTA, 1 mM GTP, 10 μ M DAPI fluorescence reporter, 15% v/v glycerol) and the indicated concentrations of compounds (2% v/v DMSO, 1 μ L) were prepared in ice and placed in a Tecan SPECTRAFluro Plus plate reader set at 37 °C. The fluorescence was measured every 30 s over 52 cycles at λ_{ex} 360 nm, λ_{em} 405 nm. Fluorescence values were normalized by subtracting the points obtained at the start of polymerization for each reaction from all subsequent data points. The concentration of compound that inhibited tubulin polymerization by 50% (IC_{50}) was determined using non-linear regression (Excel solver, Microsoft). Results are presented as the mean \pm SEM (Standard Error of Mean) carried out in duplicate.

Cells and cell culture :

HUVEC cells (Primary Umbilical Vein Endothelial Cells) were cultured in EndoGRO-VEGF medium (Merk-Millipore, SCE002) supplemented with the EndoGRO™ VEGF kit and 1% of a solution containing 10 000 units/mL of penicillin and 10 000 μ g/mL of streptomycin (ThermoFisher scientific, 15140-122). HIG-82 cells (female rabbit synovial fibroblast cells) were cultured in F12 Ham medium (Sigma-Aldrich, N6658) supplemented with 10% fetal calf serum (Gibco, 10270-106) and 1% solution of penicillin (10 000 units/mL) and streptomycin (10 000 μ g/mL) (ThermoFisher scientific, 15140-122).

Cell proliferation : MTT assay

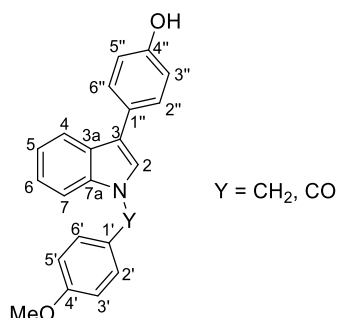
The effect of compounds **In1-In3**, **Hy1-Hy5**, **Ch1-Ch2**, **CF-66** and **CF-75** on HUVEC and HIG-82 cells was measured using the MTT method. In brief, cells were plated in 96-well plates (8750 cells/well) and cultured at 37 °C for 24 h. Tested compounds were added in various concentrations and cells were incubated for another 72 h. After this time, the plate was removed from the incubator and a solution of MTT (0.5 mg/mL, 110 μ L) was added to each well. After incubation (37°C, 5% CO_2 in air, 2 h), medium (80 μ L) was carefully removed from each well by suction and the resulting formazan precipitate was redissolved in DMSO (100 μ L). The optical density of each well was then read at two wavelengths (λ_{abs} : 540 nm – λ_{noise} : 630 nm) using a platereader (Epoch, BioTek, Gen5 software). The concentration of compound that inhibited cell viability by 50% (IC_{50}) was determined using non-linear regression (Excel solver, Microsoft). Results are presented as the mean \pm SEM of 3-6 experiments carried out in octuplicate.

Cell migration : Wound healing assay

HUVEC migration was determined in 6-well plates (350 000 cells/well). After incubation for 24 hours, the monolayers were wounded and images were captured to record the initial area of wounds. The recovery of the wounded monolayers, due to cell migration toward the denuded area, was monitored at $t = 5, 10$ and 24 hours. The images were captured using a microscope equipped with a digital camera. The migration of cells toward the wounds was expressed as percentage of wound closure: % wound closure = $[(A_{t0} - A_t) / A_{t0}] \times 100$, where A_{t0} is the area of wound measured immediately after scratching, and A_t is the area of wound measured at 5, 10 and 24h after scratching.

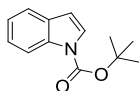
III. Indoles series

The structure below shows the numbering used for the presentation of NMR data in this section.



- ***tert*-butyl 1*H*-indole-1-carboxylate **1****

Di-*tert*-butyl dicarbonate (18.6 g, 85.4 mmol, 2 eq.) was added to a stirred solution of indole (5.00 g, 42.7 mmol, 1 eq.) in THF (1 000 mL, 0.085 M). 4-Dimethylaminopyridine (7.83 g, 64.1 mmol, 1.5 eq.) was then introduced and the mixture was stirred for 1 hour at room temperature. A saturated solution of sodium carbonate was added before extraction of the mixture with ethyl acetate. The aqueous layer was separated, the organic layer was washed with brine, dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the Boc-protected indole **1** as a colorless oil (9.06 g, 41.7 mmol, 98% yield).



Molecular formula : C₁₃H₁₅NO₂

Molecular mass : 217.27 g/mol

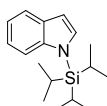
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.17 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H⁴), 7.61 (d, J = 3.7 Hz, 1H, H²), 7.58 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H⁷), 7.32 (m, 1H, H⁵ or H⁶), 7.26 (m, 1H, H⁵ or H⁶), 6.59 (d, J = 3.7 Hz, 1H, H³), 1.69 (s, 9H, C(CH₃)₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.80

CAS: 75400-67-8

- **1-(triisopropylsilyl)-1*H*-indole 2**

A solution of *n*-butyllithium 1.6 M in hexane (12.8 mL, 20.5 mmol, 1.2 eq.) was added dropwise to a stirred solution of indole (2.00 g, 17.1 mmol, 1 eq.) in anhydrous THF (200 mL, 0.085 M) at -20 °C under an argon atmosphere. After stirring for 20 minutes at -20 °C, a solution of triisopropylsilyl chloride (4.39 mL, 20.5 mmol, 1.2 eq.) in THF (20 mL, 1.1 M) was added dropwise. The mixture was allowed to warm up to room temperature and stirred for 1.5 hours. Water was added before extraction of the mixture with ethyl acetate. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) to afford the TIPS-protected indole **2** as a colorless oil (4.58 g, 16.7 mmol, 98% yield).



Molecular formula : C₁₇H₂₇NSi

Molecular mass : 273.50 g/mol

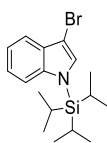
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.66 (ddd, J = 7.1, 1.7, 0.7 Hz, 1H, H⁴), 7.54 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H⁷), 7.28 (d, J = 3.2 Hz, 1H, H²), 7.15 (m, 2H, H⁵ and H⁶), 6.65 (dd, J = 3.2, 0.7 Hz, 1H, H³), 1.73 (hept, J = 7.6 Hz, 3H, SiCH), 1.17 (d, J = 7.6 Hz, 18H, CH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) = 0.87

CAS: 123191-00-4

- **3-bromo-1-(triisopropylsilyl)-1*H*-indole 3**

NBS (2.99 g, 16.8 mmol, 1 eq.) was added to a stirred solution of 1-(triisopropylsilyl)-1*H*-indole **2** (4.58 g, 16.7 mmol, 1 eq.) in DCM (200 mL, 0.084 M) cooled at 0 °C. After stirring for 1 hour at 0 °C, the solvent was removed. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane) to afford the bromoindole **3** as a white solid (5.84 g, 16.6 mmol, 99% yield).



Molecular formula : C₁₇H₂₆BrNSi

Molecular mass : 352.39 g/mol

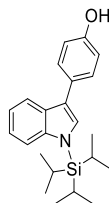
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.57 (m, 1H, H⁴), 7.47 (m, 1H, H⁷), 7.23 (s, 1H, H²), 7.19 (m, 2H, H⁵ and H⁶), 1.68 (hept, J = 7.5 Hz, 3H, SiCH), 1.14 (d, J = 7.5 Hz, 18H, CH₃)

R_f (cyclohexane) = 0.50

CAS: 148249-36-9

- **4-(1-(triisopropylsilyl)-1*H*-indol-3-yl)phenol **4****

Indole **4** was obtained according to the procedure A (Suzuki coupling) from indole **3** (2.03 g, 5.78 mmol, 1 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) to afford the coupled product **4** as a yellow oil (390 mg, 1.07 mmol, 34% yield).



Molecular formula : C₂₃H₃₁NOSi

Molecular mass : 365.59 g/mol

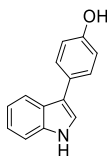
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.85 (dd, J = 6.0, 2.9 Hz, 1H, H⁴), 7.54 (m, 3H, H⁷, H^{2''} and H^{6''}), 7.31 (s, 1H, H²), 7.18 (m, 2H, H⁵ and H⁶), 6.93 (d, J = 8.6 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 4.71 (bs, 1H, OH), 1.74 (hept, J = 7.6 Hz, 3H, SiCH), 1.13 (d, H = 7.6 Hz, 18H, CH₃)

HRMS calculated for C₂₃H₃₂NOSi (M+H⁺): 366.2248. Found 366.2238

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) = 0.60

- **4-(1*H*-indol-3-yl)phenol In1**

Phenol **In1** was obtained according to the procedure B (TIPS-deprotection) from indole **4** (390 mg, 1.07 mmol, 1 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) to afford the 3-phenoxyindole **In1** as a brown solid (201 mg, 0.961 mmol, 90% yield).



Molecular formula : C₁₄H₁₁NO

Molecular mass : 209.25 g/mol

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 11.17 (bs, 1H, NH), 9.29 (s, 1H, OH), 7.79 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H⁴), 7.50 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H²), 7.47 (d, J = 8.2 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.42 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H⁷), 7.12 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H⁶), 7.05 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H⁵), 6.85 (d, J = 8.2 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''})

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 155.3 (C^{4''}), 136.8 (C^{7a}), 127.8 (C^{2''} and C^{6''}), 126.7 (C^{1''}), 125.1 (C^{3a}), 122.1 (C²), 121.2 (C⁶), 119.2 (C⁵), 119.0 (C⁴), 115.9 (C³), 115.6 (C^{3''} and C^{5''}), 111.8 (C⁷)

HRMS calculated for C₁₄H₁₂NO (M+H⁺): 210.0913. Found 210.0908

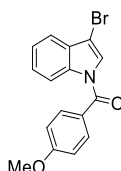
Mp: 150-152 °C (litt.: 152-154 °C)²¹⁰

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) = 0.31

CAS: 81344-97-0

- **(3-bromo-1*H*-indol-1-yl)(4-methoxyphenyl)methanone 6**

Procedure B (TIPS-deprotection) was applied to indole **3** (3.10 g, 8.82 mmol, 1 eq.) and the crude 3-bromo-1*H*-indole **5** [R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.37] (850 mg, 4.34 mmol, 1 eq.) was engaged directly (without purification or analysis because of its instability) into procedure C (amidation). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the amide **6** as a colorless oil (1.11 g, 3.36 mmol, 78% yield).



Molecular formula : C₁₆H₁₂BrNO₂

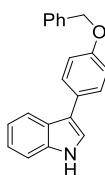
Molecular mass : 330.18 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.32 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H⁴), 7.74 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.58 (dd, J = 7.0, 1.5 Hz, 1H, H⁷), 7.45 (s, 1H, H²), 7.40 (m, 2H, H⁵ and H⁶), 7.03 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'}), 3.92 (s, 3H, OCH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.65

- **3-(4-(benzyloxy)phenyl)-1*H*-indole 7**

Indole **7** was obtained from indole **3** (2.00 g, 5.69 mmol, 1 eq.). The first step (procedure A, Suzuki coupling) led to the crude 3-bromo-1*H*-indole which was used directly without purification for the second step (procedure B, TIPS-deprotection). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) to afford the desired compound **7** as a brown solid (334 mg, 1.12 mmol, 20% yield).



Molecular formula : C₂₁H₁₇NO

Molecular mass : 299.37 g/mol

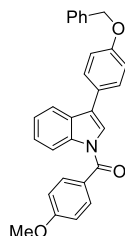
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.18 (bs, 1H, NH), 7.90 (d, J = 7.9 Hz, 1H, H⁴), 7.59 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.44 (m, 5H, H^{Ph}), 7.35 (d, J = 7.3 Hz, 1H, H⁷), 7.30 (d, J = 2.4 Hz, 1H, H²), 7.25 (m, 1H, H⁵ or H⁶), 7.19 (m, 1H, H⁵ or H⁶), 7.08 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 5.13 (s, 2H, OCH₂)

Mp: 260-262 °C (degradation)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) = 0.19

- **(3-(4-(benzyloxy)phenyl)-1*H*-indol-1-yl)(4-methoxyphenyl)methanone 8**

Indole **8** was obtained according to the procedure C (amidation) from indole **7** (150 mg, 0.501 mmol, 1 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the amide **8** as a brown oil (134 mg, 0.309 mmol, 62% yield).



Molecular formula : C₂₉H₂₃NO₃

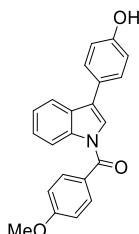
Molecular mass : 433.51 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.44 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H⁴), 7.85 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H⁷), 7.80 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.56 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.41 (m, 8H, H^{Ph}, H², H⁵ and H⁶), 7.09 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'} or H^{3''} and H^{5''}), 7.04 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'} or H^{3''} and H^{5''}), 5.13 (s, 2H, OCH₂), 3.91 (s, 3H, OCH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) = 0.65

- **(3-(4-hydroxy)phenyl-1*H*-indol-1-yl)(4-methoxyphenyl)methanone In2**

The hydrogenation was performed in an HCube® apparatus, from benzyl-protected indole **8** (120 mg, 0.277 mmol) in THF (50 mL, 0.0055 M), using 10% Pd/C cartridges and in recycling mode for 105 minutes at 50 °C with hydrogen pressure of 30 bar and liquid flow at 2 mL/min. The solvent was removed. The crude was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the benzyl-deprotected indole **In2** as a yellow solid (39 mg, 0.114 mmol, 41% yield).



Molecular formula : C₂₂H₁₇NO₃

Molecular mass : 343.38 g/mol

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 9.56 (s, 1H, OH), 8.29 (dd, J = 8.3, 1.3 Hz, 1H, H⁴), 7.85 (dd, J = 8.1, 1.3 Hz, 1H, H⁷), 7.81 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.53 (s, 1H, H²), 7.50 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.42 (ddd, J = 8.3, 7.2, 1.3 Hz, 1H, H⁵), 7.37 (ddd, J = 8.1, 7.2, 1.3 Hz, 1H, H⁶), 7.14 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'}), 6.87 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 3.88 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 167.6 (CO), 162.4 (C^{4'}), 156.9 (C^{4''}), 136.2 (C^{3a}), 131.8 (C^{2'} and C^{6'}), 128.8 (C^{2''} and C^{6''}), 128.8 (C^{7a}), 125.9 (C^{1'}), 124.8 (C⁵), 123.9 (C⁶), 123.8 (C²), 123.5 (C³), 121.7 (C^{1''}), 119.9 (C⁷), 116.0 (C⁴), 115.8 (C^{3''} and C^{5''}), 114.1 (C^{3'} and C^{5'}), 55.6 (OCH₃)

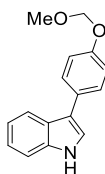
HRMS calculated for C₂₂H₁₈NO₃ (M+H⁺): 344.1281 Found 344.1273

Mp: 146-150 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.25

- **3-(4-(methoxymethoxy)phenyl)-1H-indole 9**

Indole **9** was obtained from indole **3** (2.00 g, 5.69 mmol, 1 eq.). After the first step (procedure A, Suzuki coupling), the crude was used directly without purification for the second step (procedure B, TIPS-deprotection). The crude was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) to afford the desired compound **9** as a brown solid (376 mg, 1.48 mmol, 26% yield).



Molecular formula : C₁₆H₁₅NO₂

Molecular mass : 253.30 g/mol

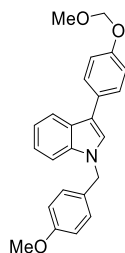
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.18 (bs, 1H, NH), 7.91 (dd, J = 8.1, 1.0 Hz, 1H, H⁴), 7.60 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.42 (dd, J = 8.1, 1.0 Hz, 1H, H⁷), 7.29 (d, J = 2.4 Hz, 1H, H²), 7.26 (ddd, J = 8.1, 7.1, 1.0 Hz, 1H, H⁵ or H⁶), 7.19 (ddd, J = 8.1, 7.1, 1.0 Hz, 1H, H⁵ or H⁶), 7.15 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 5.24 (s, 2H, OCH₂), 3.54 (s, 3H, OCH₃)

Mp: 225-227 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) = 0.22

- **1-(4-methoxybenzyl)-3-(4-(methoxymethoxy)phenyl)-1H-indole 10**

A solution of indole **9** (200 mg, 0.790 mmol, 1 eq.) in DMF (10 mL, 0.079 M) was added dropwise to a stirred suspension of sodium hydride (38 mg, 0.948 mmol, 1.2 eq. in 60% in mineral oil) in DMF (10 mL) at 0 °C. After stirring for 30 minutes at 0 °C, (4-methoxy)benzyl bromide (0.171 mL, 1.19 mmol, 1.5 eq.) was added dropwise. The mixture was allowed to warm up to room temperature and stirred for 24 hours. Water was then added before extraction of the mixture with ethyl acetate. The aqueous layer was then separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the desired product **10** as a brown oil (180 mg, 0.482 mmol, 61% yield).



Molecular formula : C₂₄H₂₃NO₃

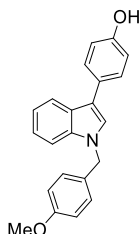
Molecular mass : 373.45 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.96 (dd, J = 7.9, 1.2 Hz, 1H, H⁴), 7.62 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.40 (dd, J = 7.9, 1.2 Hz, 1H, H⁷), 7.31 (s, 1H, H²), 7.28 (ddd, J = 7.9, 7.3, 1.2 Hz, 1H, H⁵ or H⁶), 7.22 (ddd, J = 7.9, 7.3, 1.2 Hz, 1H, H⁵ or H⁶), 7.17 (m, 4H, H^{2'}, H^{6'}, H^{3''} and H^{5''}), 6.90 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'}), 5.34 (s, 2H, OCH₂), 5.27 (s, 2H, NCH₂), 3.83 (s, 3H, PhOCH₃), 3.57 (s, 3H, PhOCH₂OCH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.58

- **4-(1-(4-methoxybenzyl)-1*H*-indol-3-yl)phenol In3**

An aqueous solution of hydrochloric acid 1 M (10.7 mL, 10.7 mmol, 50 eq.) was added to a stirred solution of MOM-protected phenoxyindole **10** (80 mg, 0.214 mmol, 1 eq.) in THF (13 mL, 0.016 M) and the mixture was stirred for 24 hours at 50 °C, then for 3 days at room temperature. After allowing to cool down to room temperature, water was added before extraction of the mixture with ethyl acetate. The aqueous layer was then separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the desired indole **In3** as a brown solid (54 mg, 0.164 mmol, 77% yield).



Molecular formula : C₂₂H₁₉NO₂

Molecular mass : 329.40 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.91 (d, J = 7.9 Hz, 1H, H⁴), 7.53 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.35 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H⁷), 7.24 (t, J = 8.0 Hz, 1H, H⁶), 7.20 (m, 2H, H² and H⁵), 7.13 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 6.91 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.85 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'}), 5.28 (s, 2H, NCH₂), 4.98 (bs, 1H, OH), 3.78 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 159.2 (C^{4'}), 154.0 (C^{4''}), 137.0 (C^{7a}), 129.4 (C^{1'}), 128.8 (C^{2''} and C^{6''}), 128.5 (C^{2'} and C^{6'}), 128.4 (C^{1''}), 126.6 (C^{3a}), 125.3 (C²), 122.1 (C⁶), 120.0 (C⁴ and C⁵), 117.0 (C³), 115.8 (C^{3''} and C^{5''}), 114.3 (C^{3'} and C^{5'}), 110.1 (C⁷), 55.4 (OCH₃), 49.7 (NCH₂)

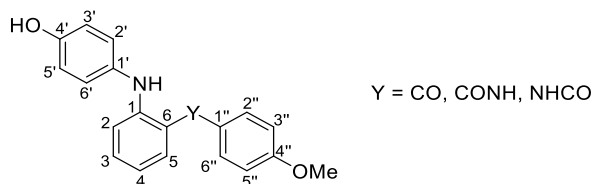
HRMS calculated for C₂₂H₂₀NO₂ (M+H⁺): 330.1389. Found 330.1474

Mp: 46-48 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.33

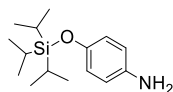
IV. Hybrids series

The structure below shows the numbering used for the presentation of NMR data in this section.



- **4-((triisopropylsilyl)oxy)aniline **11****

Triisopropylsilyl chloride (1.96 mL, 9.16 mmol, 1 eq.) and imidazole (935 mg, 13.7 mmol, 1.5 eq.) were added to a stirred solution of 4-aminophenol (1.00 g, 9.16 mmol, 1 eq.) in DCM (100 mL, 0.092 M) and the mixture was stirred overnight at reflux. Water was added before extraction of the mixture with DCM. The aqueous layer was then separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) to afford the protected phenol **11** as a colorless oil (2.12 g, 7.99 mmol, 87% yield).



Molecular formula : C₁₅H₂₇NOSi

Molecular mass : 265.47 g/mol

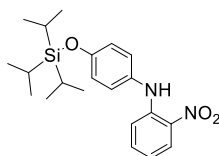
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 6.70 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.57 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{Ar}), 3.18 (bs, 2H, NH₂), 1.21 (m, 3H, SiCH), 1.08 (d, J = 7.1 Hz, 18H, CH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) = 0.47

CAS: 1016987-47-5

- **2-nitro-*N*-(4-((triisopropylsilyl)oxy)phenyl)aniline 12**

N,N-diarylamine **12** was obtained according to the procedure D (nucleophilic aromatic substitution) from aniline **11** (300 mg, 1.13 mmol, 1 eq.) and 1-fluoro-2-nitrobenzene (0.143 mL, 1.36 mmol, 1.2 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) to afford the amine **12** as a red oil (319 mg, 0.825 mmol, 73% yield).



Molecular formula : C₂₁H₃₀N₂O₃Si

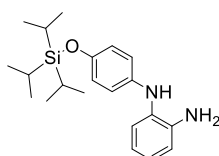
Molecular mass : 386.57 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.40 (s, 1H, NH), 8.19 (dd, J = 8.5, 1.2 Hz, 1H, H⁵), 7.32 (ddd, J = 8.4, 6.9, 1.2 Hz, 1H, H³), 7.12 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H² and H⁶ or H³ and H⁵), 7.01 (dd, J = 8.4, 1.0 Hz, 1H, H²), 6.93 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H² and H⁶ or H³ and H⁵), 6.71 (ddd, J = 8.5, 6.9, 1.0 Hz, 1H, H⁴), 1.27 (m, 3H, SiCH), 1.12 (d, J = 7.3 Hz, 18H, CH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.90

- ***N*1-(4-((triisopropylsilyl)oxy)phenyl)benzene-1,2-diamine 13**

Amine **13** was obtained by reduction of nitroaryl **12** (319 mg, 0.825 mmol, 1 eq.) according to the procedure E (reduction of nitroaryl derivatives). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the aniline **13** as a yellow oil (143 mg, 0.401 mmol, 49% yield).



Molecular formula : C₂₁H₃₂N₂OSi

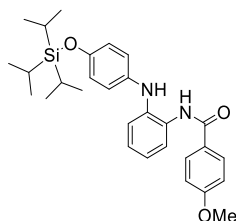
Molecular mass : 356.59 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.04 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H²), 6.94 (td, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H⁴), 6.79 (m, 3H, H⁵, H² and H⁶ or H³ and H⁵), 7.75 (td, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H³), 6.71 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H² and H⁶ or H³ and H⁵), 5.00 (bs, 1H, NH), 3.69 (bs, 2H, NH₂), 1.26 (m, 3H, SiCH), 1.12 (d, J = 7.3 Hz, 18H, CH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.33

- **4-methoxy-*N*-(2-((4-(triisopropylsilyloxy)phenyl)amino)phenyl)benzamide 14**

Amide **14** was obtained by coupling aniline **13** (93 mg, 0.261 mmol, 1 eq.) with 4-methoxybenzoyl chloride (45 mg, 0.261 mmol, 1 eq.) according to the procedure F (amidation). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the amide **14** as a brown solid (116 mg, 0.236 mmol, 91% yield).



Molecular formula : C₂₉H₃₈N₂O₃Si

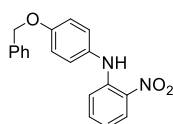
Molecular mass : 490.72 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.23 (bs, 1H, NHCO), 8.10 (dd, J = 7.5, 1.1 Hz, 1H, H⁵), 7.67 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6''}), 7.13 (m, 3H, H², H³ and H⁴), 6.89 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.78 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.73 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 5.45 (bs, 1H, NH), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 1.21 (m, 3H, SiCH), 1.08 (d, J = 7.1 Hz, 18H, CH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.43

- ***N*-(4-(benzyloxy)phenyl)-2-nitroaniline 15**

N,N-diarylamine **15** was obtained by *N*-arylation of 4-benzyloxyaniline (1.00 g, 5.02 mmol, 1 eq.) with 1-fluoro-2-nitrobenzene (0.634 mL, 6.02 mmol, 1.2 eq.) according to the procedure D (nucleophilic aromatic substitution). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the amide **15** as a red oil (478 mg, 1.49 mmol, 30% yield).



Molecular formula : C₁₉H₁₆N₂O₃

Molecular mass : 320.35 g/mol

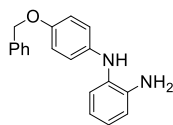
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.40 (bs, 1H, NH), 8.19 (dd, J = 8.5, 1.5 Hz, 1H, H⁵), 7.39 (m, 6H, H^{Ph} and H³), 7.20 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 7.03 (m, 3H, H², H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.72 (ddd, J = 8.5, 6.9, 1.2 Hz, 1H, H⁴), 5.10 (s, 2H, OCH₂)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.78

CAS: 957826-28-7

- ***N***-1-(4-(benzyloxy)phenyl)benzene-1,2-diamine **16**

Amine **16** was obtained by reduction of nitroaryl derivative **15** (700 mg, 2.19 mmol, 1 eq.) according to the procedure E (reduction of nitroaryl derivatives). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the aniline **16** as an orange solid (463 mg, 1.59 mmol, 73% yield).



Molecular formula : C₁₉H₁₈N₂O

Molecular mass : 290.37 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.36 (m, 5H, H^{Ph}), 7.04 (dd, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H, H²), 6.95 (td, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H, H⁴), 6.89 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.79 (dd, J = 7.8, 1.3 Hz, 1H, H⁵), 6.75 (m, 3H, H³, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 5.02 (m, 3H, OCH₂-NH), 3.74 (bs, 2H, NH₂)

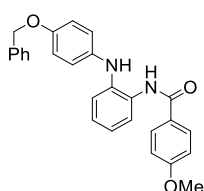
Mp: 100-102 °C

*R*_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.21

CAS: 957826-29-8

- ***N***-2-((4-(benzyloxy)phenyl)amino)phenyl)-4-methoxybenzamide **17**

Amide **17** was obtained by coupling aniline **16** (400 mg, 1.38 mmol, 1 eq.) with 4-methoxybenzoyl chloride (235 mg, 1.38 mmol, 1 eq.) according to the procedure F (amidation). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 60/40) to afford the amide **17** as a grey solid (585 mg, 1.38 mmol, quant.).



Molecular formula : C₂₇H₂₄N₂O₃

Molecular mass : 424.50 g/mol

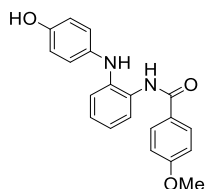
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.25 (bs, 1H, NHCO), 8.06 (dd, J = 7.4, 2.0 Hz, 1H, H⁵), 7.68 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.35 (m, 5H, H^{Ph}), 7.14 (m, 3H, H², H³ and H⁴), 6.90 (m, 4H, H^{3''}, H^{5''}, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.82 (d, J = 9.0 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 5.52 (bs, 1H, NH), 5.01 (s, 2H, OCH₂), 3.85 (s, 3H, OCH₃)

Mp: 148-150 °C

*R*_f (cyclohexane/ethyl acetate 60/40) = 0.53

- ***N*-(2-((4-hydroxyphenyl)amino)phenyl)-4-methoxybenzamide Hy1**

Phenol **Hy1** was obtained according to the procedure G (benzyl-deprotection) from *O*-protected phenol **17** (500 mg, 1.18 mmol, 1 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 60/40) to afford the phenol **Hy1** as a purple solid (176 mg, 0.526 mmol, 45% yield).



Molecular formula : C₂₀H₁₈N₂O₃

Molecular mass : 334.38 g/mol

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 9.57 (s, 1H, NHCO), 8.99 (s, 1H, NH), 7.94 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.43 (dd, J = 7.8, 1.0 Hz, 1H, H²), 7.03 (m, 5H, OH, H⁴, H⁵, H^{3''} and H^{5''}), 6.83 (m, 3H, H³, H^{3'} and H^{5'}), 6.69 (d, J = 8.8 Hz, H^{2'} and H^{6'}), 3.83 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 165.1 (CO), 161.9 (C^{4''}), 152.1 (C^{1'}), 139.8 (C^{6'}), 134.7 (C^{4'}), 129.7 (C^{2''} and C^{6''}), 126.9 (C¹), 126.7 (C^{1''}), 126.4 (C²), 126.0 (C⁴), 121.4 (C^{3'} and C^{5'}), 119.1 (C³), 116.2 (C⁵), 115.8 (C^{2'} and C^{6'}), 113.5 (C^{3''} and C^{5''}), 55.4 (OCH₃)

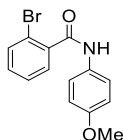
HRMS calculated for C₂₀H₁₉N₂O₃ (M+H⁺): 335.1390 Found 335.1378

Mp: 175-177 °C (degradation)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 60/40) = 0.29

- **2-bromo-*N*-(4-methoxyphenyl)benzamide 18**

Amide **18** was obtained by coupling 4-methoxyaniline (1.00 g, 8.12 mmol, 1 eq.) with 2-bromobenzoyl chloride (1.06 mL, 8.12 mmol, 1 eq.) according to the procedure F (amidation). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) to afford the amide **18** as a brown solid (2.47 g, 8.07 mmol, 99% yield).



Molecular formula : C₁₄H₁₂BrNO₂

Molecular mass : 306.16 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.65 (m, 2H, H² and H⁵), 7.58 (bs, 1H, NH), 7.55 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.41 (td, J = 7.7, 1.0 Hz, 1H, H³), 7.32 (td, J = 7.7, 1.7 Hz, 1H, H⁴), 6.92 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 3.82 (s, 3H, OCH₃)

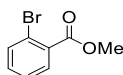
Mp: 149-150 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) = 0.45

CAS: 55204-50-7

- **Methyl 2-bromobenzoate 19**

Ester **19** was obtained according to procedure H (esterification) from 2-bromobenzoic acid (2.00 g, 9.95 mmol, 1 eq.) in methanol to afford the desired ester **19** as a colorless oil (2.07 g, 9.62 mmol, 97% yield).



Molecular formula : C₈H₇BrO₂

Molecular mass : 215.05 g/mol

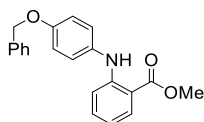
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.79 (dd, J = 7.5, 2.0 Hz, 1H, H² or H⁵), 7.67 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H² or H⁵), 7.35 (m, 2H, H³ and H⁴), 3.94 (s, 3H, OCH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.49

CAS: 610-94-6

- **Methyl 2-((4-(benzyloxy)phenyl)amino)benzoate 20**

N,N-Diarylamine **20** was obtained by *N*-arylation of 4-benzyloxyaniline (1.39 g, 6.98 mmol, 1 eq.) with aryl bromide **19** (1.50 g, 6.98 mmol, 1 eq.) following procedure I (Buchwald-Hartwig coupling). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the coupled product **20** as a yellow solid (2.02 g, 6.06 mmol, 87% yield).



Molecular formula : C₂₁H₁₉NO₃

Molecular mass : 333.39 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.28 (bs, 1H, NH), 7.94 (dd, J = 8.1, 1.6 Hz, 1H, H⁵), 7.39 (m, 5H, H^{Ph}), 7.26 (m, 1H, H³), 7.17 (d, 8.9 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.99 (m, 3H, H², H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.67 (ddd, J = 8.1, 7.1, 1.0 Hz, 1H, H⁴), 5.07 (s, 2H, OCH₂), 3.90 (s, 3H, OCH₃)

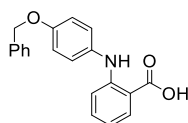
Mp: 70-73 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.75

CAS: 21971-20-0

- **2-((4-(benzyloxy)phenyl)amino)benzoic acid 21**

A solution of potassium hydroxide (505 mg, 9.00 mmol, 2 eq.) in water (8 mL, 1.1 M) was added dropwise to a stirred solution of ester **20** (1.50 g, 4.50 mmol, 1 eq.) in methanol (15 mL, 0.30 M) and THF (5 mL) was added for complete dissolution. The mixture was stirred at reflux for 4 hours. A solution of hydrochloric acid 1 M was then added before extraction of the mixture with ethyl acetate. The aqueous layer was then separated, the organic layer was dried and evaporated to afford the desired carboxylic acid **21** as a yellow solid (1.38 g, 4.32 mmol, 96% yield).



Molecular formula : C₂₀H₁₇NO₃

Molecular mass : 319.36 g/mol

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 7.87 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H⁵), 7.41 (m, 5H, H^{Ph}), 7.28 (t, J = 7.7 Hz, 1H, H³), 7.16 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 7.02 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.96 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H²), 6.67 (t, J = 7.7 Hz, 1H, H⁴), 5.09 (s, 2H, OCH₂)

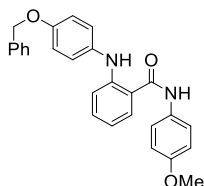
Mp: 165-167 °C (degradation)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.10

CAS: 21971-19-7

- **2-((4-(benzyloxy)phenyl)amino)-N-(4-methoxyphenyl)benzamide 22**

HBTU (60 mg, 0.157 mmol, 1 eq.) was added to a stirred solution of carboxylic acid **21** (50 mg, 0.157 mmol, 1 eq.), 4-methoxyaniline (23 mg, 0.188 mmol, 1.2 eq.) and DIPEA (0.053 mL, 0.315 mmol, 2 eq.) in acetonitrile (1.8 mL, 0.087 M) and the mixture was stirred at room temperature for 3 hours. Water was then added before extraction of the mixture with DCM. The aqueous layer was then separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the amide **22** as a yellow solid (34 mg, 0.080 mmol, 51% yield).



Molecular formula : C₂₇H₂₄N₂O₃

Molecular mass : 424.50 g/mol

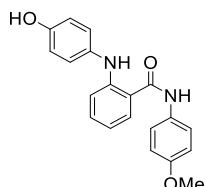
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.08 (bs, 1H, NHCO), 7.80 (bs, 1H, NH), 7.53 (dd, J = 8.4, 1.0 Hz, 1H, H⁵), 7.47 (d, J = 9.0 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.37 (m, 5H, H^{Ph}), 7.26 (m, 1H, H³), 7.13 (m, 3H, H², H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.94 (m, 4H, H^{3''}, H^{5''}, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.74 (ddd, J = 8.4, 6.9, 1.0 Hz, 1H, H⁴), 5.06 (s, 2H, OCH₂), 3.81 (s, 3H, OCH₃)

Mp: 177-179 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.44

- **2-((4-hydroxyphenyl)amino)-N-(4-methoxyphenyl)benzamide Hy2**

Phenol **Hy2** was obtained according to the procedure G (benzyl-deprotection) from *O*-protected phenol **22** (300 mg, 0.707 mmol, 1 eq.) and palladium on activated carbon (75 mg, 0.071 mmol, 0.1 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the phenol **Hy2** as a yellow solid (148 mg, 0.443 mmol, 63% yield).



Molecular formula : C₂₀H₁₈N₂O₃

Molecular mass : 334.38 g/mol

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 10.12 (s, 1H, NHCO), 9.23 (s, 1H, OH), 9.06 (s, 1H, NH), 7.73 (dd, J = 7.9, 1.3 Hz, 1H, H⁵), 7.61 (d, J = 9.1 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6''}), 7.27 (ddd, J = 8.4, 7.2, 1.3 Hz, 1H, H³), 7.01 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 6.96 (dd, J = 8.4, 0.9 Hz, 1H, H²), 6.92 (d, J = 9.1 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.75 (m, 3H, H⁴, H^{3'} and H^{5'}), 3.74 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 167.6 (CO), 155.6 (C^{4''}), 153.7 (C^{4'}), 146.9 (C¹), 132.2 (C^{1'}), 132.2 (C³), 131.9 (C^{1''}), 129.1 (C⁵), 124.1 (C^{2'} and C^{6'}), 122.4 (C^{2''} and C^{6''}), 117.3 (C⁶), 116.4 (C⁴), 116.0 (C^{3'} and C^{5'}), 113.7 (C^{3''} and C^{5''}), 113.3 (C²), 55.2 (OCH₃)

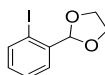
HRMS calculated for C₂₀H₁₉N₂O₃ (M+H⁺): 335.1390 Found 335.1585

Mp: 148-150 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.10

- **2-(2-iodophenyl)-1,3-dioxolane 23**

Ethylene glycol (2.89 mL, 51.6 mmol, 4 eq.) was added to a stirred solution of 2-iodobenzaldehyde (3.00 g, 12.9 mmol, 1 eq.) and monohydrated *p*-toluenesulfonic acid (74 mg, 387 mmol, 0.03 eq.) in toluene (250 mL, 0.052 M). The flask was equipped with a Dean Stark apparatus and the mixture was stirred at reflux for 48 hours. A solution of sodium hydroxide 1 M was then added before extraction of the mixture with ethyl acetate. The aqueous layer was then separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the desired acetal **23** as a colorless oil (3.28 g, 11.9 mmol, 92% yield).



Molecular formula : C₉H₉IO₂

Molecular mass : 276.07 g/mol

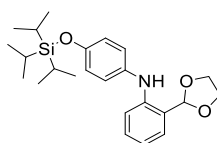
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.85 (dd, J = 7.8, 0.8 Hz, 1H, H³), 7.55 (dd, J = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H⁶), 7.37 (td, J = 7.8, 0.8 Hz, 1H, H⁵), 7.06 (td, J = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H⁴), 5.92 (s, 1H, CHO₂), 4.12 (m, 4H, (CH₂)₂)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.54

CAS: 152302-84-6

- **2-(1,3-dioxolan-2-yl)-*N*-(4-((triisopropylsilyloxy)phenyl)aniline) 24**

N,N-Diarylamine **24** was obtained by *N*-arylation of aniline **11** (903 mg, 3.40 mmol, 1 eq) with aryl iodide **23** (940 mg, 3.40 mmol, 1 eq.) following procedure I (Buchwald-Hartwig coupling). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the coupled product **24** as a yellow oil (1.40 g, 3.38 mmol, 99% yield).



Molecular formula : C₂₄H₃₅NO₃Si

Molecular mass : 413.63 g/mol

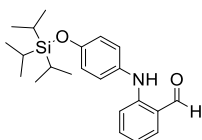
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.43 (dd, J = 7.6, 1.3 Hz, 1H, H⁵), 7.18 (ddd, J = 8.2, 7.5, 1.3 Hz, 1H, H³), 7.10 (dd, J = 8.2, 0.9 Hz, 1H, H²), 6.98 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.83 (m, 3H, H⁴, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.47 (bs, 1H, NH), 5.91 (s, 1H, CHO₂), 4.10 (m, 4H, (CH₂)₂), 1.25 (m, 3H, SiCH₃), 1.12 (d, J = 7.2 Hz, 18H, CH₃)

HRMS calculated for C₂₄H₃₆NO₃Si (M+H⁺): 414.2459 Found 414.2459

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.70

- **2-((4-((triisopropylsilyloxy)phenyl)amino)benzaldehyde 25**

A solution of hydrochloric acid 1 M (1.83 mL, 1.83 mmol, 0.5 eq.) was added to a stirred solution of acetal **24** (1.51 g, 3.65 mmol, 1 eq.) in THF (210 mL, 0.17 M) at 0 °C and the mixture was stirred for 5 minutes. A saturated solution of sodium hydrogen carbonate was then added before extraction of the mixture with ethyl acetate. The aqueous layer was then separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the desired aldehyde **25** as an orange oil (1.35 g, 3.65 mmol, >99% yield).



Molecular formula : C₂₂H₃₁NO₂Si

Molecular mass : 369.58 g/mol

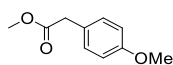
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.89 (s, 1H, CHO), 9.84 (bs, 1H, NH), 7.53 (dd, J = 7.7, 1.5 Hz, 1H, H⁵), 7.31 (ddd, J = 8.4, 7.1, 1.5 Hz, 1H, H³), 7.12 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.99 (dd, J = 8.4, 0.6 Hz, 1H, H²), 6.90 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.76 (ddd, J = 7.7, 7.1, 0.6 Hz, 1H, H⁴), 1.27 (m, 3H, SiCH), 1.12 (d, J = 7.2 Hz, 18H, CH₃)

HRMS calculated for C₂₂H₃₂NO₂Si (M+H⁺): 370.2197 Found 370.2193

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.83

- **Methyl 2-(4-methoxyphenyl)acetate 26**

Ester **26** was obtained according to procedure H (esterification) from 2-(4-methoxyphenyl)acetic acid (3.00 g, 18.1 mmol, 1 eq.) in methanol to afford the desired ester **26** as a colorless oil (3.22 g, 17.9 mmol, 99% yield).



Molecular formula : C₁₀H₁₂O₃

Molecular mass : 180.20 g/mol

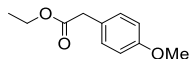
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.20 (d, J = 8.6 Hz, 2H, H² and H⁶), 6.86 (d, J = 8.6 Hz, 2H, H³ and H⁵), 3.79 (s, 3H, OCH₃ or COOCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃ or COOCH₃), 3.57 (s, 2H, CH₂)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.58

CAS: 23786-14-3

- **Ethyl 2-(4-methoxyphenyl)acetate **27****

Ester **27** was obtained according to procedure H (esterification) from 2-(4-methoxyphenyl)acetic acid (1.00 g, 6.02 mmol, 1 eq.) in ethanol to afford the desired ester **27** as a colorless oil (1.13 g, 5.82 mmol, 97% yield).



Molecular formula : C₁₁H₁₄O₃

Molecular mass : 194.23 g/mol

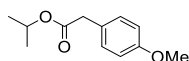
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.20 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H² and H⁶), 6.86 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H³ and H⁵), 4.14 (q, J = 7.1 Hz, 2H, OCH₂), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.55 (s, 2H, CH₂), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3H, CH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.70

CAS: 14062-18-1

- **Isopropyl 2-(4-methoxyphenyl)acetate **28****

Ester **28** was obtained according to procedure H (esterification) from 2-(4-methoxyphenyl)acetic acid (1.00 g, 6.02 mmol, 1 eq.) in isopropanol to afford the desired ester **28** as a colorless oil (1.25 g, 6.00 mmol, >99% yield).



Molecular formula : C₁₂H₁₆O₃

Molecular mass : 208.26 g/mol

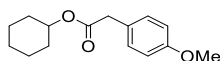
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.20 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H² and H⁶), 6.86 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H³ and H⁵), 5.00 (hept, J = 6.3 Hz, 1H, OCH), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.52 (s, 2H, CH₂), 1.22 (d, J = 6.3 Hz, 6H, (CH₃)₂)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.65

CAS: 64450-65-3

- **Cyclohexyl 2-(4-methoxyphenyl)acetate 29**

DMAP (37 mg, 0.301 mmol, 0.1 eq.) was added to a stirred solution of 2-(4-methoxyphenyl)acetic acid (500 mg, 3.01 mmol, 1 eq.), cyclohexanol (0.628 mL, 6.02 mmol, 2 eq.) and DCC (621 mg, 3.01 mmol, 1 eq.) in DCM (10 mL, 0.30 M) and the mixture was stirred at reflux for 24 hours. The resulting solution was filtered and washed with water, dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the desired aldehyde **29** as a colorless oil (647 mg, 2.61 mmol, 87% yield).



Molecular formula : C₁₅H₂₀O₃

Molecular mass : 248.33 g/mol

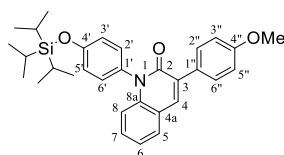
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.20 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H² and H⁶), 6.85 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H³ and H⁵), 4.76 (m, 1H, OCH), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.53 (s, 2H, CH₂), 1.50 (m, 10H, CH₂ (Cy))

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.73

CAS: 98659-30-4

- **3-(4-methoxyphenyl)-1-(4-((triisopropylsilyl)oxy)phenyl)quinolin-2(1H)-one 30**

A solution of LDA 1 M in hexanes (8.33 mL, 8.33 mmol, 7.5 eq.) was added dropwise to a stirred solution of ester **26** (1.00 g, 5.55 mmol, 5 eq.) in anhydrous THF (11 mL, 0.50 M) cooled at 0 °C and under argon atmosphere. The mixture was stirred for 2 hours. A solution of aldehyde **25** (410 mg, 1.11 mmol, 1 eq.) in anhydrous THF (2.2 mL, 0.50 M) was then added dropwise at 0 °C and the mixture was stirred at reflux overnight. A saturated solution of ammonium chloride was added before extraction with DCM. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the quinolinone **30** as a yellow oil (481 mg, 0,963 mmol, 87% yield).



Molecular formula : C₃₁H₃₇NO₃Si

Molecular mass : 499.73 g/mol

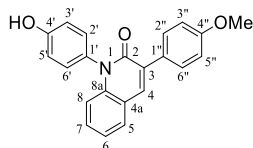
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.81 (s, 1H, H⁴), 7.68 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.55 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H⁵), 7.25 (t, J = 7.6 Hz, 1H, H⁷), 7.13 (t, J = 7.6 Hz, 1H, H⁶), 7.09 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 7.00 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.88 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.63 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H⁸), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 1.23 (m, 3H, SiCH), 1.08 (d, J = 7.3 Hz, 18H, CH₃)

HRMS calculated for C₃₁H₃₈NO₃Si (M+H⁺): 500.2616 Found 500.2610

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.88

- **1-(4-hydroxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)quinolin-2(1H)-one Hy3'**

Phenol **Hy3'** was obtained according to the procedure B (TIPS-deprotection) from quinolinone **30** (481 mg, 0.963 mmol, 1 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the phenol **Hy3'** as a white solid (297 mg, 0.865 mmol, 90% yield).



Molecular formula : C₂₂H₁₇NO₃

Molecular mass : 343.38 g/mol

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 9.83 (s, 1H, OH), 8.14 (s, 1H, H⁴), 7.80 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H⁵), 7.72 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.39 (t, J = 7.7 Hz, 1H, H⁷), 7.22 (t, J = 7.7 Hz, 1H, H⁶), 7.12 (d, J = 8.6 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 6.98 (m, 4H, H^{3'}, H^{5'}, H^{3''} and H^{5''}), 6.57 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H⁸), 3.79 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 160.8 (CO), 159.1 (C^{4''}), 157.4 (C^{4'}), 140.6 (C^{8a}), 136.4 (C⁴), 130.8 (C³), 130.1 (C^{2''} and C^{6''}), 129.9 (C^{2'} and C^{6'}), 129.9 (C⁷), 129.1 (C^{1'}), 128.7 (C^{1''}), 128.6 (C⁵), 122.1 (C⁶), 120.1 (C^{4a}), 116.5 (C^{3'} and C^{5'}), 115.2 (C⁸), 113.4 (C^{3''} and C^{5''}), 55.2 (OCH₃)

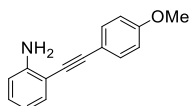
HRMS calculated for C₂₂H₁₈NO₃ (M+H⁺): 344.1281 Found 344.1273

Mp: 256-248 °C (degradation)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.08

- **2-((4-methoxyphenyl)ethynyl)aniline 31**

An aqueous solution of ammonia 1 M (23.2 mL, 23.2 mmol, 2 eq.), 2-bromoaniline (2.00 g, 11.6 mmol, 1 eq.) and 1-ethynyl-4-methoxybenzene (1.84 g, 13.9 mmol, 1.2 eq.) were added to a stirred suspension of bis(acetonitrile)dichloropalladium (133 mg, 0.348 mmol, 0.03 eq.), copper iodide (66 mg, 0.348 mmol, 0.03 eq.) and tri-*tert*-butylphosphonium tetrafluoroborate (202 mg, 0.696 mmol, 0.06 eq.) in THF (25 mL, 0.46 M) and the mixture was stirred at 50 °C for 24 hours. After filtration on celite®, the aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) to afford the alkyne **31** as a brown solid (1.46 g, 6.54 mmol, 56% yield).



Molecular formula : C₁₅H₁₃NO

Molecular mass : 223.28 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.47 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.35 (dd, J = 7.7, 1.2 Hz, 1H, H³), 7.13 (td, J = 8.2, 1.2 Hz, 1H, H⁵), 6.88 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.71 (m, 2H, H⁴ and H⁶), 4.25 (bs, 2H, NH₂), 3.83 (s, 3H, OCH₃)

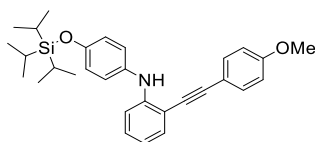
Mp: 105-107 °C (litt.: 104-105 °C)²¹¹

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) = 0.21

CAS: 157869-15-3

- **2-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-*N*-(4-((triisopropylsilyloxy)phenyl)aniline 32**

N,N-Diarylamine **32** was obtained by *N*-arylation of aniline **31** (500 mg, 2.24 mmol, 1 eq.) with (4-bromophenoxy)triisopropylsilane (738 mg, 2.24 mmol, 1 eq.) following procedure I (Buchwald-Hartwig coupling). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the coupled product **32** as a yellow oil (157 mg, 0.333 mmol, 15% yield).



Molecular formula : C₃₀H₃₇NO₂Si

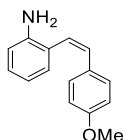
Molecular mass : 471.72 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.66 (m, 1H, H³), 7.19 (m, 3H, H⁵, H^{2''} and H^{6''}), 7.15 (m, 2H, H⁴ and H⁶), 7.10 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 6.92 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.76 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'}), 6.71 (s, 1H, NH), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 1.27 (m, 3H, SiCH), 1.23 (d, J = 7.3 Hz, 18H, CH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.68

- **(Z)-2-(4-methoxystyryl)aniline 33**

Palladium 5% on calcium carbonate poisoned by lead (Lindlar catalyst) (95 mg, 0.045 mmol, 0.1 eq.) was charged in an argon-flushed flask. A deoxygenated solution of alkyne **31** (100 mg, 0.448 mmol, 1 eq.) and quinoline (0.005 mL, 0.045 mmol, 0.1 eq.) in ethyl acetate (21 mL, 0.002 M) was added. Dihydrogen was bubbled in the mixture for five minutes, and the mixture was stirred at room temperature for 4 hours under dihydrogen pressure (1 bar). The mixture was then filtered on celite® and the solvent was evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the alkene **33** as a green solid (93 mg, 0.413 mmol, 92% yield).



Molecular formula : C₁₅H₁₅NO

Molecular mass : 225.29 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.17 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.10 (m, 2H, H³ and H⁵), 6.72 (m, 4H, H⁴, H⁶, H^{3'} and H^{5'}), 6.60 (d, J = 12.1 Hz, 1H, ArCH), 6.41 (d, J = 12.1 Hz, 1H, ArCH), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.71 (bs, 2H, NH₂)

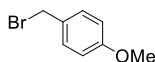
Mp: 46-47 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.47

CAS: 1801866-79-4

- **1-(bromomethyl)-4-methoxybenzene 34**

A solution of phosphorous tribromide 1 M in DCM (3.62 mL, 3.62 mmol, 0.5 eq.) was added dropwise to a stirred solution of (4-methoxyphenyl)methanol (1.00 g, 7.24 mmol, 1 eq.) in anhydrous DCM (35 mL, 0.21 M) cooled at 0 °C and the mixture was stirred for 10 minutes. A saturated solution of sodium hydrogen carbonate was added before extraction with DCM. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated to afford the brominated compound **34** as a colorless oil (1.46 g, 7.24 mmol, >99% yield).



Molecular formula : C₈H₉BrO

Molecular mass : 201.06 g/mol

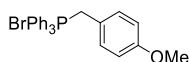
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.33 (d, J = 8.6 Hz, 2H, H² and H⁶), 6.87 (d, J = 8.6 Hz, 2H, H³ and H⁵), 4.52 (s, 2H, CH₂), 3.81 (s, 3H, CH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) = 0.70

CAS: 2746-25-0

- **(4-methoxybenzyl)triphenylphosphonium bromide 35**

Triphenylphosphine (3.91 g, 14.9 mmol, 1 eq.) was added to a stirred solution of benzyl bromide **34** (3.00 g, 14.9 mmol, 1 eq.) in anhydrous diethyl ether (75 mL, 0.20 M) under argon atmosphere and the mixture was stirred for 72 hours at reflux. It was then filtered, and the resulting solid was washed with diethyl ether and dried under vacuum to afford the phosphonium salt **35** as a white solid (4.97 g, 10.7 mmol, 72% yield).



Molecular formula : C₂₆H₂₄BrOP

Molecular mass : 463.35 g/mol

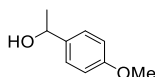
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 7.77 (m, 15H, PPh₃), 6.89 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 2H, H² and H⁶), 6.81 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H³ and H⁵), 5.09 (d, J = 15.1 Hz, 2H, CH₂), 3.70 (s, 3H, OCH₃)

Mp: 236-238 °C (litt.: 234-235 °C)²¹²

CAS: 1530-38-7

- **1-(4-methoxyphenyl)ethan-1-ol 36**

Sodium borohydride (1.66 g, 44.0 mmol, 2.2 eq.) was added slowly to a stirred solution of 1-(4-methoxyphenyl)ethan-1-one (3.00 g, 20.0 mmol, 1 eq.) in methanol (40 mL, 0.50 M) cooled at 0 °C and the mixture was stirred for 1 hour at 0 °C. Water was then added before extraction of the mixture with ethyl acetate. The aqueous layer was then separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the desired product alcohol **36** as a colorless oil (2.85 g, 18.7 mmol, 94% yield).



Molecular formula : C₉H₁₂O₂

Molecular mass : 152.19 g/mol

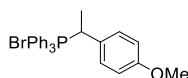
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.30 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H² and H⁶), 6.88 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H³ and H⁵), 4.86 (q, J = 6.4 Hz, 1H, ArCH), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 1.80 (bs, 1H, OH), 1.48 (d, J = 6.4 Hz, 3H, CH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.38

CAS: 3319-15-1

- **(1-(4-methoxyphenyl)ethyl)triphenylphosphonium bromide 37**

Triphenylphosphine hydrobromide (1.13 g, 3.29 mmol, 1 eq.) and magnesium sulfate (396 mg, 3.29 mmol, 1 eq.) were added to a stirred solution of alcohol **36** (500 mg, 3.29 mmol, 1 eq.) in chloroform (60 mL, 0.055 M) and the mixture was stirred overnight at reflux. The mixture was then filtered, and the solvent was evaporated. The resulting solid was washed with pentane and dried under vacuum to afford the phosphonium salt **37** as a white solid (1.40 g, 2.93 mmol, 89% yield).



Molecular formula : C₂₇H₂₆BrOP

Molecular mass : 477.38 g/mol

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 7.82 (m, 15H, PPh₃), 6.85 (m, 4H, H², H³, H⁵ and H⁶), 5.59 (qd, J = 15.0, 7.3 Hz, 1H, ArCH), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 1.69 (dd, J = 18.7, 7.3 Hz, 3H, CH₃)

Mp: 56-58 °C

CAS: 61000-18-8

- **Ethyltriphenylphosphonium iodide 38**

Triphenylphosphine (2.80 g, 10.7 mmol, 1 eq.) was added to a stirred solution of iodoethane (1.03 mL, 12.8 mmol, 1.2 eq.) in toluene (6 mL, 2.13 M) and the mixture was stirred overnight at reflux. It was then filtered, and the resulting solid was washed with diethyl ether and dried under vacuum to afford the phosphonium salt **38** as a white solid (4.47 g, 10.7 mmol, >99% yield).



Molecular formula : C₂₀H₂₀IP

Molecular mass : 418.26 g/mol

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 7.84 (m, 15H, PPh₃), 3.59 (qd, J = 14.8, 7.4 Hz, 2H, CH₂), 1.22 (td, J = 20.1, 7.4 Hz, 3H, CH₃)

Mp: 168-169 °C (litt.: 167-169 °C)²¹³

CAS: 4736-60-1

- **Isopropyltriphenylphosphonium iodide 39**

A solution of *n*-butyllithium 2.5 M in THF (4.59 mL, 11.5 mmol, 1 eq.) was added dropwise to a stirred suspension of phosphonium salt **38** (4.80 g, 11.5 mmol, 1 eq.) in anhydrous THF (30 mL) cooled at 0 °C and under argon atmosphere. The mixture was stirred for 20 minutes at 0 °C, then diluted in THF (40 mL) and added dropwise to a stirred solution of iodine (5.83 g, 23.0 mmol, 2 eq.) in THF (50 mL, 0.46 M) cooled at -78 °C and under argon atmosphere. The mixture was allowed to warm up to room temperature within 3 hours and stirred overnight at room temperature. It was then filtered and the solid was washed with diethyl ether, then dissolved in DCM. The resulting solution was washed with a saturated solution of sodium thiosulfate, dried and evaporated to afford the iodinated phosphonium salt **39** as a yellow solid (5.35 g, 9.83 mmol, 86% yield).



Molecular formula : C₂₀H₁₉I₂P

Molecular mass : 544.15 g/mol

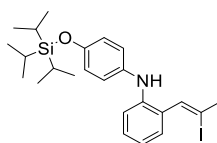
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 7.88 (m, 15H, PPh₃), 6.29 (qd, J = 14.0, 7.2 Hz, 1H, CH), 2.05 (dd, J = 18.1, 7.2 Hz, 3H, CH₃)

Mp: 110-112 °C (degradation)

CAS: 1018473-85-2

- **(Z)-2-(2-iodoprop-1-en-1-yl)-N-(4-((triisopropylsilyloxy)phenyl)aniline 40**

Alkene **40** was obtained according to the procedure J (Wittig reaction) from phosphonium salt **39** (100 mg, 0.184 mmol, 1.5 eq.) and aldehyde **25** (91 mg, 0.246 mmol, 2 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) to afford the alkene **40** as a colorless oil (14 mg, 0.028 mmol, 23% yield).



Molecular formula : C₂₄H₃₄INOSi

Molecular mass : 507.53 g/mol

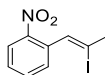
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.24 (dd, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H, H³), 7.16 (td, J = 8.0, 1.2 Hz, 1H, H⁵), 7.01 (dd, J = 8.0, 0.6 Hz, 1H, H⁶), 6.98 (d, 8.8 Hz, 2H, H² and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.85 (m, 3H, H⁴, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.53 (bs, 1H, ArCH), 5.34 (bs, 1H, NH), 2.73 (d, J = 1.5 Hz, 3H, CH₃), 1.25 (m, 3H, SiCH), 1.11 (d, J = 7.3 Hz, 18H, CH₃)

HRMS calculated for C₂₄H₃₅INOSi (M+H⁺): 508.1527 Found 508.1519

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) = 0.82

- **(Z)-1-(2-iodoprop-1-en-1-yl)-2-nitrobenzene 41**

Alkene **41** was obtained according to the procedure J (Wittig reaction) from phosphonium salt **39** (2.00 g, 3.68 mmol, 1.5 eq.) and 2-nitrobenzaldehyde (741 mg, 4.91 mmol, 2 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) to afford the desired alkene **41** as a yellow oil (580 mg, 2.01 mmol, 83% yield).



Molecular formula : C₉H₈INO₂

Molecular mass : 289.07 g/mol

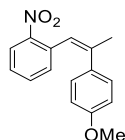
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.06 (dd, J = 8.5, 1.1 Hz, 1H, H³), 7.64 (m, 1H, H⁵), 7.49 (m, 2H, H⁴ and H⁶), 6.94 (bs, 1H, ArCH), 2.74 (d, J = 1.4 Hz, 3H, CH₃)

HRMS calculated for C₉H₉INO₂ (M+H⁺): 289.9673 Found 289.9666

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) = 0.88

- **(Z)-1-(2-(4-methoxyphenyl)prop-1-en-1-yl)-2-nitrobenzene 42**

Compound **42** was obtained according to the procedure A (Suzuki coupling) from aryl iodide **41** (145 mg, 0.502 mmol, 1 eq.) and 4-methoxyphenylboronic acid (114 mg, 0.753 mmol, 1.5 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the desired coupled product **42** as an orange oil (135 mg, 0.501 mmol, >99% yield).



Molecular formula : C₁₆H₁₅NO₃

Molecular mass : 269.30 g/mol

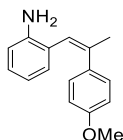
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.91 (m, 1H, H²), 7.22 (m, 2H, H⁴, H³ or H⁵), 7.01 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 6.94 (m, 1H, H³ or H⁵), 6.72 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.68 (d, J = 1.5 Hz, 1H, ArCH), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 2.25 (d, J = 1.5 Hz, 3H, CH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) = 0.68

CAS: 1819976-48-1

- **(Z)-2-(2-(4-methoxyphenyl)prop-1-en-1-yl)aniline 43**

Amine **43** was obtained by reduction of nitroaryl **42** (180 mg, 0.668 mmol, 1 eq.) according to the procedure E (reduction of nitroaryl derivatives). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the aniline **43** as a yellow solid (101 mg, 0.422 mmol, 63% yield).



Molecular formula : C₁₆H₁₇NO

Molecular mass : 239.32 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.12 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 6.97 (td, J = 7.7, 1.2 Hz, 1H, H⁵), 6.79 (dd, J = 7.7, 1.2 Hz, 1H, H³), 6.73 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.63 (dd, J = 7.7, 0.7 Hz, 1H, H⁶), 6.56 (td, J = 7.7, 0.7 Hz, 1H, H⁴), 6.33 (bs, 1H, ArCH), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 2.24 (d, J = 1.4 Hz, 3H, CH₃)

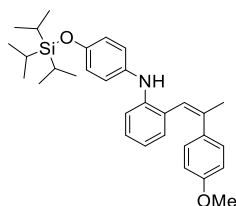
HRMS calculated for C₁₆H₁₈NO (M+H⁺): 240.1383 Found 240.1381

Mp: 86-88 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.23

- **(Z)-2-(2-(4-methoxyphenyl)prop-1-en-1-yl)-N-(4-((triisopropylsilyloxy)phenyl)aniline) 44**

Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (3.5 mg, 0.0038 mmol, 0.01 eq.), XPhos (1.8 mg, 0.0038 mmol, 0.01 eq.) and sodium *tert*-butoxide (36 mg, 0.376 mmol, 1 eq.) were charged in an argon-flushed tube. A deoxygenated solution of (4-bromophenoxy)triisopropylsilane (124 mg, 0.376 mmol, 1 eq.) and aniline **43** (90 mg, 0.376 mmol, 1 eq.) in dioxane (1 mL, 0.38 M) was added, and the tube was sealed. The mixture was stirred for 2 hours at 110 °C. After filtration on celite®, the solvent was evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) to afford the coupled product **44** as a yellow oil (150 mg, 0.308 mmol, 82% yield).



Molecular formula : C₃₁H₄₁NO₂Si

Molecular mass : 487.76 g/mol

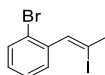
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.12 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6''}), 6.98 (m, 2H, H³ and H⁵), 6.89 (dd, J = 7.7, 1.1 Hz, 1H, H²), 6.82 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'} or H^{3''} and H^{5''}), 6.78 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'} or H^{3''} and H^{5''}), 6.73 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'} or H^{3''} and H^{5''}), 6.63 (td, J = 7.4, 1.1 Hz, 1H, H⁴), 6.40 (bs, 1H, ArCH), 5.49 (bs, 1H, NH), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 2.25 (d, J = 1.3 Hz, 3H, ArCCH₃), 1.25 (m, 3H, SiCH), 1.11 (d, J = 7.3 Hz, 18H, CH₃)

HRMS calculated for C₃₁H₄₂NO₂Si (M+H⁺): 488.2979 Found 488.2977

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.80

- **(Z)-1-bromo-2-(2-iodoprop-1-en-1-yl)benzene 45**

Alkene **41** was obtained according to the procedure J (Wittig reaction) from phosphonium salt **39** (1.00 g, 1.84 mmol, 1.5 eq.) and 2-bromobenzaldehyde (0.286 mL, 3.68 mmol, 2 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane) to afford the desired alkene **45** as a colorless oil (336 mg, 1.04 mmol, 85% yield).



Molecular formula : C₉H₈BrI

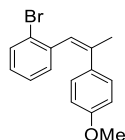
Molecular mass : 322.97 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.57 (dd, J = 7.7, 1.0 Hz, 1H, H⁶), 7.46 (dd, J = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H³), 7.32 (td, J = 7.7, 1.0 Hz, 1H, H⁴), 7.17 (td, J = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H⁵), 6.61 (bs, 1H, ArCH), 2.75 (d, J = 1.5 Hz, 3H, CH₃)

R_f (cyclohexane) = 0.74

- **(Z)-1-bromo-2-(2-(4-methoxyphenyl)prop-1-en-1-yl)benzene 46**

Compound **46** was obtained according to the procedure A (Suzuki coupling) from aryl iodide **45** (130 mg, 0.403 mmol, 1 eq.) and 4-methoxyphenylboronic acid (92 mg, 0.605 mmol, 1.5 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the desired coupled product **46** as a yellow oil (26 mg, 0.086 mmol, 21% yield).



Molecular formula : C₁₆H₁₅BrO

Molecular mass : 303.20 g/mol

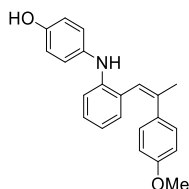
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.53 (m, 1H, H⁵), 7.06 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 6.94 (m, 2H, H³ and H⁴), 6.82 (m, 1H, H²), 6.75 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.50 (d, J = 1.3 Hz, 1H, ArCH), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.25 (d, J = 1.3 Hz, 3H, CH₃)

HRMS calculated for C₁₆H₁₆⁷⁹BrO (M+H⁺): 303.0379 Found 303.0381

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.82

- **(Z)-4-((2-(2-(4-methoxyphenyl)prop-1-en-1-yl)phenyl)amino)phenol Hy4'**

Phenol **Hy4'** was obtained according to the procedure B (TIPS-deprotection) from compound **44** (150 mg, 0.308 mmol, 1 eq.). The crude was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) to afford the TIPS-deprotected phenol **Hy4'** as a yellow oil (94 mg, 0.284 mmol, 92% yield).



Molecular formula : C₂₂H₂₁NO₂

Molecular mass : 331.42 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.12 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.00 (td, J = 7.8, 1.3 Hz, 1H, H³), 6.92 (m, 2H, H² and H⁵), 6.83 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 6.74 (m, 4H, H^{3'}, H^{5'}, H^{3''} and H^{5''}), 6.64 (td, J = 7.8, 0.8 Hz, 1H, H⁴), 6.40 (bs, 1H, ArCH), 5.46 (bs, 1H, NH), 4.60 (bs, 1H, OH), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 2.25 (d, J = 1.3 Hz, 3H, CH₃)

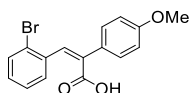
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 158.9 (ArC), 151.0 (C^{4'}), 142.5 (C¹), 139.5 (C^{4''}), 136.2 (C^{1'}), 133.3 (C^{1''}), 130.8 (C³), 129.3 (C^{2''} and C^{6''}), 127.3 (C⁵), 126.3 (C²), 122.7 (C^{2'} and C^{6'}), 122.4 (ArCH), 119.3 (C⁴), 116.1 (C^{3'} and C^{5'}), 114.6 (C⁶), 113.7 (C^{3''} and C^{5''}), 55.3 (OCH₃), 25.8 (CH₃)

HRMS calculated for C₂₂H₂₂NO₂ (M+H⁺): 332.1645 Found 332.1645

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 90/10) = 0.19

- **(Z)-3-(2-bromophenyl)-2-(4-methoxyphenyl)acrylic acid 47**

2-Bromobenzaldehyde (2.00 g, 10.8 mmol, 1 eq.), 4-methoxyphenylacetic acid (1.79 g, 10.8 mmol, 1 eq.) and acetic anhydride (1.53 mL, 16.2 mmol, 1.5 eq.) were mixed, and the mixture was stirred at 65 °C for 10 minutes. Triethylamine (2.91 mL, 21.6 mmol, 2 eq.) was then added, and the mixture was further stirred overnight at 65 °C. A solution of hydrochloric acid 1 M was added before extraction with ethyl acetate. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the Perkin product **47** as a yellow solid (2.78 g, 8.34 mmol, 77% yield).



Molecular formula : C₁₆H₁₃BrO₃

Molecular mass : 333.18 g/mol

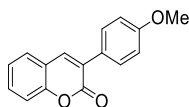
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 12.90 (bs, 1H, COOH), 7.75 (s, 1H, ArCH), 7.66 (dd, J = 8.0, 1.1 Hz, 1H, H⁶), 7.15 (m, 2H, H⁴ and H⁵), 7.02 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 6.82 (m, 3H, H³, H^{3'} and H^{5'}), 3.73 (s, 3H, OCH₃)

Mp: 153-156 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.37

- **3-(4-methoxyphenyl)-2H-chromen-2-one 48**

Cinnamic acid **47** (500 mg, 1.50 mmol, 1 eq.) was added to a stirred suspension of copper (496 mg, 7.80 mmol, 5.2 eq.) in toluene (5 mL, 0.30 M) and the mixture was stirred for 7 hours at reflux. After allowing to cool down to room temperature, the mixture was filtered on celite®. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the coumarin **48** as a yellow oil (24 mg, 0.095 mmol, 6% yield).



Molecular formula : C₁₆H₁₂O₃

Molecular mass : 252.27 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.76 (s, 1H, H⁴), 7.68 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.51 (m, 2H, H⁵ and H⁷), 7.36 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H⁸), 7.28 (m, 1H, H⁶), 6.98 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'}), 3.85 (s, 3H, OCH₃)

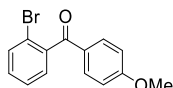
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 161.0 (C²), 160.3 (C^{4'}), 153.4 (C^{8a}), 138.6 (C⁴), 131.2 (C⁷), 130.0 (C^{2'} and C^{6'}), 128.0 (C³), 127.8 (C⁵), 127.2 (C^{1'}), 124.6 (C⁶), 120.0 (C^{4a}), 116.5 (C⁸), 114.1 (C^{3'} and C^{5'}), 55.5 (OCH₃)

HRMS calculated for C₁₆H₁₃O₃ (M+H⁺): 253.0865 Found 253.0846

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.45

- **(2-bromophenyl)(4-methoxyphenyl)methanone 49**

Aluminum chloride (1.52 g, 11.4 mmol, 1.25 eq.) was added portionwise to a stirred solution of 2-bromobenzoyl chloride (2.00 g, 9.11 mmol, 1 eq.) and anisole (1.24 mL, 11.4 mmol, 1.25 eq.) in DCM (55 mL, 0.17 M) cooled at 0 °C. The mixture was stirred for 10 minutes at room temperature. An aqueous solution of hydrochloric acid 1 M was added before extraction with DCM. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was dissolved in a small amount of ethyl acetate and crystallized in -20 °C pentane to afford the ketone **49** as a white solid (2.08 g, 7.14 mmol, 78% yield).



Molecular formula : C₁₄H₁₁BrO₂

Molecular mass : 291.14 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.79 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.64 (dd, J = 7.5, 1.1 Hz, 1H, H⁵), 7.41 (td, J = 6.8, 1.1 Hz, 1H, H³), 7.34 (m, 2H, H² and H⁴), 6.94 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 3.88 (s, 3H, OCH₃)

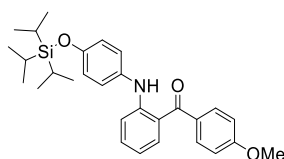
Mp: 95-97 °C (litt.: 90-92 °C)²¹⁴

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.53

CAS: 59142-63-1

- **(4-methoxyphenyl)(2-((4-((triisopropylsilyl)oxy)phenyl)amino)phenyl)methanone 50**

N,N-diarylamine **50** was obtained according to the procedure I (Buchwald-Hartwig coupling) from aryl bromide **49** (300 mg, 1.03 mmol, 1 eq.) and aniline **11** (274 mg, 1.03 mmol, 1 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the coupled product **50** as a yellow oil (417 mg, 0.877 mmol, 85% yield).



Molecular formula : C₂₉H₃₇NO₃Si

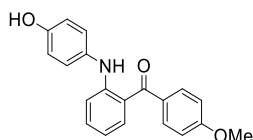
Molecular mass : 475.70 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.73 (s, 1H, NH), 7.73 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.53 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H, H⁵), 7.29 (m, 1H, H³), 7.13 (m, 3H, H², H^{2'} and H^{6'} or H², H^{3'} and H^{5'}), 6.97 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.88 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.65 (ddd, J = 8.0, 7.1, 1.0 Hz, 1H, H⁴), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 1.62 (m, 3H, SiCH₃), 1.12 (d, J = 7.2 Hz, 18H, CH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.74

- **(2-((4-hydroxyphenyl)amino)phenyl)(4-methoxyphenyl)methanone Hy5**

Phenol **Hy5** was obtained according to the procedure B (TIPS-deprotection) from TIPS-protected phenol **50** (300 mg, 0.631 mmol, 1 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the TIPS-deprotected product **Hy5** as a yellow oil (184 mg, 0.576 mmol, 91% yield).



Molecular formula : C₂₀H₁₇NO₃

Molecular mass : 319.36 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.71 (s, 1H, NH), 7.73 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.54 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H, H⁵), 7.26 (m, 1H, H³), 7.14 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.10 (dd, J = 8.5, 0.8 Hz, 1H, H²), 6.97 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.84 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'}), 6.65 (ddd, J = 8.0, 7.0, 0.8 Hz, 1H, H⁴), 4.93 (s, 1H, OH), 3.89 (3H, OCH₃)

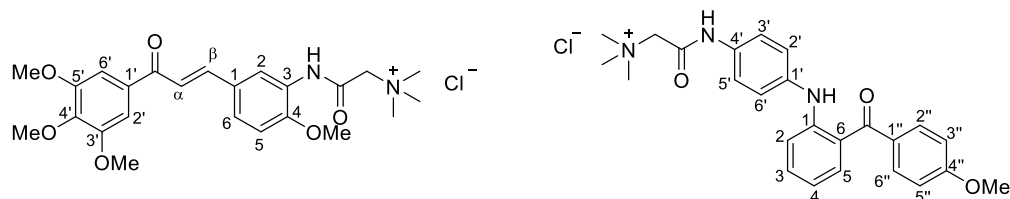
¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 198.2 (CO), 162.6 (C^{4''}), 152.6 (C^{4'}), 149.4 (C¹), 134.7 (C⁵), 134.0 (C³), 133.7 (C^{1'}), 132.5 (C^{1''}), 132.1 (C^{2''} and C^{6''}), 125.5 (C^{2'} and C^{6'}), 119.5 (C⁶), 116.3 (C^{3'} and C^{5'}), 115.8 (C⁴), 114.1 (C²), 113.6 (C^{3''} and C^{5''}), 55.6 (OCH₃)

HRMS calculated for C₂₀H₁₈NO₃ (M+H⁺): 320.1281 Found 320.1275

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.26

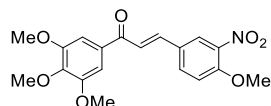
V. Quaternary ammoniums series

The structure below shows the numbering used for the presentation of NMR data in this section.



- **(E)-3-(4-methoxy-3-nitrophenyl)-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one 51**

3,4,5-trimethoxyacetophenone (500 mg, 2.38 mmol, 1 eq.) and 4-methoxy-3-nitrobenzaldehyde (453 mg 2.50 mmol, 1.05 eq.) were added to a stirred solution of sodium hydroxide (952 mg, 23.8 mmol, 10 eq.) in methanol (3 mL, 0.79 M) and the mixture was stirred overnight at room temperature. The precipitate obtained was then filtered and washed with methanol to afford the chalcone **51** as a yellow solid (848 mg, 2.27 mmol, 95% yield).



Molecular formula : C₁₉H₁₉NO₇

Molecular mass : 373.36 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.18 (d, J = 2.1 Hz, 1H, H²), 7.79 (dd, J = 8.6, 2.1 Hz, 1H, H⁶), 7.76 (d, J = 15.5 Hz, 1H, H^β), 7.44 (d, J = 15.5 Hz, 1H, H^α), 7.28 (s, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.15 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H⁵), 4.03 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.97 (s, 6H, 3'-OCH₃ and 5'-OCH₃), 3.95 (s, 3H, 4'-OCH₃)

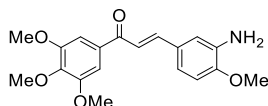
Mp: 145-147 °C (litt.: 143-145 °C)¹⁶⁸

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) = 0.10

CAS: 527750-19-0

- **(E)-3-(3-amino-4-methoxyphenyl)-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one Ch1**

Amine **Ch1** was obtained by reduction of the nitro derivative **51** (100 mg, 0.268 mmol, 1 eq.) according to the procedure E (reduction of nitroaryl derivatives). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the aniline **Ch1** as a brown solid (90 mg, 0.26 mmol, 98% yield).



Molecular formula : C₁₉H₂₁NO₅

Molecular mass : 343.38 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.71 (d, J = 15.5 Hz, 1H, H^β), 7.29 (d, J = 15.5 Hz, 1H, H^α), 7.26 (s, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.03 (m, 2H, H² and H⁶), 6.80 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H⁵), 3.94 (s, 6H, 3'-OCH₃ and 5'-OCH₃), 3.93 (s, 3H, 4'-OCH₃), 3.89 (s, 3H, 4-OCH₃)

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 189.5 (CO), 153.2 (C^{3'} and C^{5'}), 149.8 (C⁴), 145.5 (C^β), 142.3 (C^{4'}), 136.7 (C³), 134.1 (C^{1'}), 128.1 (C¹), 121.1 (C⁶), 119.4 (C^α), 113.4 (C²), 110.3 (C⁵), 106.1 (C^{2'} and C^{6'}), 61.1 (4'-OCH₃), 56.5 (3'-OCH₃ and 5'-OCH₃), 56.7 (4-OCH₃)

HRMS calculated for C₁₉H₂₂NO₅ (M+H⁺): 344.1493. Found 344.1485

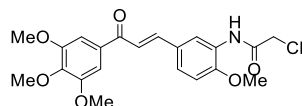
Mp: 108-110 °C (litt.: 90-91 °C)¹⁶⁸

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.60

CAS: 527750-18-1

- **(E)-2-chloro-N-(2-methoxy-5-(3-oxo-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-1-en-1-yl)phenyl)acetamide 52**

Amide **52** was obtained according to the procedure K (amidation) from aniline **Ch1** (90 mg, 0.26 mmol, 1 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane, ethyl acetate 80/20) to afford the amide **52** as a green solid (88 mg, 0.21 mmol, 81% yield).



Molecular formula : C₂₁H₂₂ClNO₆

Molecular mass : 419.86 g/mol

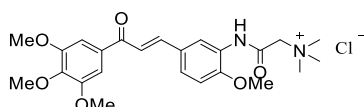
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.96 (bs, 1H, NH), 8.76 (d, J = 2.0 Hz, 1H, H²), 7.78 (d, J = 15.6 Hz, 1H, H^β), 7.41 (d, J = 15.6 Hz, 1H, H^α), 7.38 (dd, J = 8.5, 2.0 Hz, 1H, H⁶), 7.28 (s, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 6.95 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H⁵), 4.22 (s, 2H, CH₂), 3.98 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.95 (s, 6H, 3'-OCH₃ and 5'-OCH₃), 3.94 (s, 3H, 4'-OCH₃)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.82

CAS: 2165352-15-6

- **(E)-2-((2-methoxy-5-(3-oxo-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-1-en-1-yl)phenyl)amino)-N,N,N-trimethyl-2-oxoethan-1-aminium chloride Ch2**

Procedure L (quaternization) was applied to chloride derivative **52** (12.0 g, 28.6 mmol, 1 eq.) to afford the ammonium salt **Ch2** as a yellow solid (9.87 g, 20.6 mmol, 72% yield).



Molecular formula : C₂₄H₃₁ClN₂O₆

Molecular mass : 478.97 g/mol

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 10.41 (s, 1H, NH), 8.17 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H²), 7.83 (dd, J = 8.7, 1.8 Hz, 1H, H⁶), 7.80 (d, J = 16.4 Hz, 1H, H^α), 7.67 (d, J = 16.4 Hz, 1H, H^β), 7.40 (s, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.17 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H⁵), 4.58 (s, 2H, CH₂), 3.89 (s, 9H, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃ and 4-OCH₃), 3.75 (s, 3H, 4'-OCH₃), 3.36 (s, 9H, N(CH₃)₃)

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 187.9 (CO), 162.7 (NHCO), 153.4 (C⁴), 152.9 (C^{3'} and C^{5'}), 143.7 (C^β), 141.9 (C^{4'}), 133.2 (C^{1'}), 127.8 (C⁶), 127.1 (C³), 125.8 (C¹), 125.2 (C²), 120.3 (C^α), 112.0 (C⁵), 106.2 (C^{2'} and C^{6'}), 64.4 (CH₂), 60.2 (4'-OCH₃), 56.3 (3'-OCH₃ and 5'-OCH₃), 56.1 (4'-OCH₃), 53.4 (N(CH₃)₃)

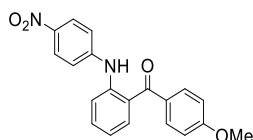
HRMS calculated for C₂₄H₃₁N₂O₆ (M⁺): 443.2177. Found 443.2169

Mp: 98-99 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.08

- **(4-methoxyphenyl)(2-((4-nitrophenyl)amino)phenyl)methanone 53**

N,N-diarylamine **53** was obtained according to the procedure I (Buchwald-Hartwig coupling) from aryl bromide **49** (500 mg, 1.72 mmol, 1 eq.) and 4-nitroaniline (475 mg, 3.44 mmol, 2 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) to afford the coupled product **53** as a yellow solid (558 mg, 1.60 mmol, 93% yield).



Molecular formula : C₂₀H₁₆N₂O₄

Molecular mass : 348.36 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.75 (bs, 1H, NH), 8.16 (d, J = 9.2 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'}), 7.80 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.61 (m, 2H, H² and H⁴), 7.49 (ddd, J = 8.5, 7.5, 1.5 Hz, 1H, H³), 7.21 (d, J = 9.2 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.03 (ddd, J = 8.0, 7.5, 0.9 Hz, 1H, H⁴), 6.98 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 3.90 (s, 3H, OCH₃)

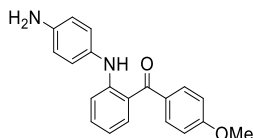
Mp: 130-132 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.48

CAS: 104968-32-3

- **(2-((4-aminophenyl)amino)phenyl)(4-methoxyphenyl)methanone Hy5'**

Aniline **Hy5'** was obtained by reduction of the nitro derivative **53** (180 mg, 0.517 mmol, 1 eq.) according to the procedure E (reduction of nitroaryl derivatives). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the aniline **Hy5'** as an orange oil (164 mg, 0.515 mmol, >99% yield).



Molecular formula : C₂₀H₁₈N₂O₂

Molecular mass : 318.38 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.72 (bs, 1H, NH), 7.72 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.53 (dd, J = 8.0, 1.3 Hz, 1H, H⁵), 7.26 (m, 1H, H³), 7.08 (m, 2H, H², H^{2'} and H⁶), 6.97 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.71 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'}), 6.62 (ddd, J = 8.0, 7.0, 0.9 Hz, 1H, H⁴), 3.93 (bs, 2H, NH₂), 3.89 (s, 3H, OCH₃)

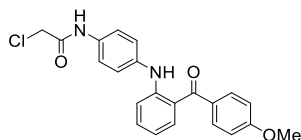
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 198.0 (CO), 162.4 (C^{4''}), 149.9 (C¹), 143.4 (C^{4'}), 134.7 (C⁵), 134.0 (C³), 132.6 (C^{1''}), 132.0 (C^{2''} and C^{6''}), 131.7 (C^{1'}), 125.8 (C^{2'} and C^{6'}), 119.0 (C⁶), 116.2 (C^{3'} and C^{5'}), 115.3 (C⁴), 114.0 (C²), 113.5 (C^{3''} and C^{5''}), 55.6 (CH₃)

HRMS calculated for C₂₀H₁₉N₂O₂ (M+H⁺): 319.1441. Found 319.1434

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.08

- **2-chloro-N-(4-((2-(4-methoxybenzoyl)phenyl)amino)phenyl)acetamide 54**

Amide **54** was obtained according to the procedure K (amidation) from aniline **Hy5'** (470 mg, 1.48 mmol, 1 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 50/50) to afford the amide **54** as a yellow solid (555 mg, 1.41 mmol, 95% yield).



Molecular formula : C₂₂H₁₉ClN₂O₃

Molecular mass : 394.86 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.77 (bs, 1H, NHCO), 8.20 (bs, 1H, NH), 7.75 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6''}), 7.55 (dd, J = 8.1, 1.2 Hz, 1H, H⁵), 7.51 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 7.34 (m, 2H, H² and H³), 7.26 (m, 2H, H^{2'} and H^{6'} or H^{3'} and H^{5'}), 6.97 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.75 (m, 1H, H⁴), 4.21 (s, 2H, CH₂), 3.90 (s, 3H, OCH₃)

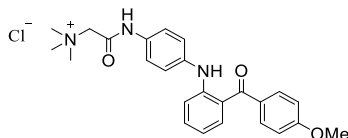
HRMS calculated for C₂₂H₂₀³⁵ClN₂O₃ (M+H⁺): 395.1157. Found 395.1147

Mp: 146-148 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.75

- **2-((4-((2-(4-methoxybenzoyl)phenyl)amino)-*N,N,N*-trimethyl-2-oxoethan-1-aminium chloride Hy6**

Procedure L (quaternization) was applied to chloride derivative **54** (550 mg, 1.39 mmol, 1 eq.) to afford the ammonium salt **Hy6** as a yellow solid (568 mg, 1.25 mmol, 90% yield).



Molecular formula : C₂₅H₂₈ClN₃O₃

Molecular mass : 453.97 g/mol

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 11.11 (s, 1H, NHCO), 9.16 (s, 1H, NH), 7.68 (d, J = 8.6 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 7.58 (d, J = 8.6 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.42 (m, 2H, H³ and H⁵), 7.28 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H²), 7.16 (d, J = 8.6 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'}), 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 6.87 (t, J = 8.0 Hz, 1H, H⁴), 4.42 (s, 2H, CH₂), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.30 (s, 9H, N(CH₃)₃)

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 196.2 (CO), 162.6 (C^{4''}), 161.6 (CONH), 145.1 (C¹), 137.7 (C^{4'}), 133.3 (C³ or C⁵), 132.8 (C³ or C⁵), 132.5 (C^{1'}), 131.8 (C^{2''} and C^{6''}), 130.8 (C^{1''}), 123.0 (C⁶), 120.9 (C^{2'} and C^{6'}), 120.5 (C^{3'} and C^{5'}), 118.2 (C⁴), 115.9 (C²), 113.7 (C^{3''} and C^{5''}), 64.4 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 53.4 (N(CH₃)₃)

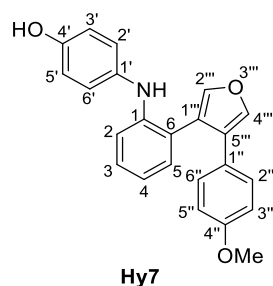
HRMS calculated for C₂₅H₂₈N₃O₃ (M⁺): 418.2125. Found 418.2120

Mp: 209-211 °C (degradation)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.03

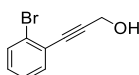
VI. Hybrid E7010-combretafuran

The structure below shows the numbering used for the presentation of NMR data in this section.



- **3-(2-bromophenyl)prop-2-yn-1-ol 55**

Alkyne **53** was obtained according to the procedure M (Sonogashira coupling) from 1-bromo-2-iodobenzene (1.00 g, 3.53 mmol, 1 eq.) and propargylic alcohol (0.244 mL, 4.24 mmol, 1.2 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the coupled product **53** as an orange oil (745 mg, 3.53 mmol, >99% yield).



Molecular formula : C₉H₇BrO

Molecular mass : 211.06 g/mol

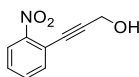
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 7.69 (dd, J = 7.8, 1.1 Hz, 1H, H⁶), 7.54 (dd, J = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H³), 7.39 (td, J = 7.8, 1.1 Hz, 1H, H⁴), 7.31 (td, J = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H⁵), 5.43 (t, J = 6.0 Hz, 1H, OH), 4.35 (d, J = 6.0 Hz, 2H, CH₂)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.37

CAS: 116509-98-9

- **3-(2-nitrophenyl)prop-2-yn-1-ol 56**

Alkyne **54** was obtained according to the procedure M (Sonogashira coupling) from 1-iodo-2-nitrobenzene (1.00 g, 4.02 mmol, 1 eq.) and propargylic alcohol (0.278 mL, 4.82 mmol, 1.2 eq.). The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 70/30) to afford the coupled product **54** as a green oil (657 mg, 3.71 mmol, 92% yield).



Molecular formula : C₉H₇NO₃

Molecular mass : 177.16 g/mol

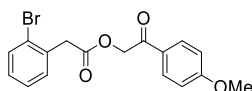
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.04 (dd, J = 7.9, 1.2 Hz, 1H, H³), 7.64 (dd, J = 7.9, 1.5 Hz, 1H, H⁶), 7.58 (td, J = 7.9, 1.2 Hz, 1H, H⁵), 7.47 (m, 1H, H⁴), 4.56 (s, 2H, CH₂)

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.12

CAS: 80151-24-2

- **2-(4-methoxyphenyl)-2-oxoethyl 2-(2-bromophenyl)acetate 57**

Triethylamine (0.627 mL, 4.65 mmol, 1 eq.) was added to a stirred solution of 2-bromophenylacetic acid (1.00 g, 4.65 mmol, 1 eq.) and 2-bromo-1-(4-methoxyphenyl)ethan-1-one (1.07 g, 4.65 mmol, 1 eq.) in acetonitrile (10 mL, 0.47 M) and the mixture was stirred for 4 hours at 0 °C. A solution of hydrochloric acid 2 M was added before extraction with ethyl acetate. The aqueous layer was separated, the organic layer was washed with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate, then with a saturated solution of sodium chloride, dried and evaporated to afford the desired ester **55** as a white solid (1.57 mg, 4.32 mmol, 93% yield).



Molecular formula : C₁₇H₁₅BrO₄

Molecular mass : 363.21 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.88 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2'} and H^{6'}), 7.57 (dd, J = 7.7, 1.1 Hz, 1H, H³), 7.41 (dd, J = 7.7, 1.6 Hz, 1H, H⁶), 7.30 (td, J = 7.7, 1.1 Hz, 1H, H⁵), 7.15 (td, J = 7.7, 1.6 Hz, 1H, H⁴), 6.94 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{3'} and H^{5'}), 5.34 (s, 2H, OCH₂), 4.00 (s, 2H, ArCH₂), 3.87 (s, 3H, OCH₃)

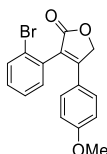
HRMS calculated for C₁₇H₁₆⁷⁹BrO₄ (M+H⁺): 363.0227. Found 363.0221

Mp: 121-123 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.65

• **3-(2-bromophenyl)-4-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-one **58****

1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (0.584 mL, 3.91 mmol, 1 eq.) was added to a stirred solution of ester **57** (1.42 g, 3.91 mmol, 1 eq.) in degassed acetonitrile (23 mL, 0.17 M) at 0 °C and under argon atmosphere. The mixture was stirred for 1.5 hour at 0 °C. A solution of hydrochloric acid 1 M was added before extraction with ethyl acetate. The aqueous layer was separated, and the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the desired furanone **58** as a yellow solid (1.13 mg, 3.27 mmol, 84% yield).



Molecular formula : C₁₇H₁₃BrO₃

Molecular mass : 345.19 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.70 (dd, J = 7.9, 0.9 Hz, 1H, H⁵), 7.40 (td, J = 7.5, 0.9 Hz, 1H, H³), 7.30 (m, 2H, H² and H⁴), 7.16 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 6.82 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 5.30 (d, J = 3.3 Hz, 2H, CH₂), 3.80 (s, 3H, OCH₃)

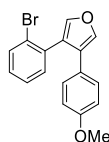
HRMS calculated for C₁₇H₁₄⁷⁹BrO₃ (M+H⁺): 345.0121. Found 345.0115

Mp: 143-145 °C

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.12

- **3-(2-bromophenyl)-4-(4-methoxyphenyl)furan 60**

A solution of diisobutylaluminium hydride 1 M in THF (0.580 mL, 0.580 mmol, 4 eq.) was added dropwise to a stirred solution of furanone **58** (50 mg, 0.145 mmol, 1 eq.) cooled at -20 °C and under argon atmosphere. The mixture was stirred for 2 hours at -20 °C. A solution of hydrochloric acid 4% was added before extraction with ethyl acetate. The aqueous layer was separated, the organic layer was dried and evaporated. The crude product was purified by chromatography column on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) to afford the desired furan **60** as yellow oil (19 mg, 0.058 mmol, 40% yield).



Molecular formula : C₁₇H₁₃BrO₂

Molecular mass : 329.19 g/mol

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.60 (m, 2H, H₅, H^{2'''} or H^{4'''}), 7.51 (d, J = 1.7 Hz, 1H, H^{2'''} or H^{4'''}), 7.19 (m, 3H, H₂, H³ and H⁴), 7.04 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{2''} and H^{6''}), 6.76 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H^{3''} and H^{5''}), 3.75 (s, 3H, OCH₃)

HRMS calculated for C₁₇H₁₄⁷⁹BrO₂ (M+H⁺): 329.0172. Found 329.0168

R_f (cyclohexane/ethyl acetate 80/20) = 0.87

Chapitre 5. Bibliographie

1. A.-P. Trouvin, S. Perrot. Douleur dans l'arthrose : comprendre les mécanismes pour améliorer la prise en charge. *Rev. Rhum.* **2018**, 85 (4), 324–330.
2. H. Kaneko, A. Arepati, H. Arita, et al. Osteophytes formation processes in early stage knee osteoarthritis in human. *Osteoarthritis Cartilage* **2019**, 27, S480.
3. Y.-O. Son, S. Park, J.-S. Kwak, et al. Estrogen-related receptor γ causes osteoarthritis by upregulating extracellular matrix-degrading enzymes. *Nat. Commun.* **2017**, 8 (1), 1–11.
4. L. Pesesse, C. Sanchez, Y. Henrotin. Osteochondral plate angiogenesis: a new treatment target in osteoarthritis. *Joint Bone Spine* **2011**, 78 (2), 144–149.
5. Official website of INSERM - <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/arthrose> (accessed Mar 4, 2020).
6. Official website of Société Française de Rhumatologie - http://www.rhumatologie.asso.fr/04-Rhumatismes/grandes-maladies/OB-dossier-arthrose/AO_definition.asp (accessed Mar 4, 2020).
7. P. Breville, J.-L.L. Quintrec, C. Cadet, et al. The burden of osteoarthritis. *Cah. Année Gériatologique* **2015**, 7 (2), 45–51.
8. Official website of AFLAR - <https://www.aflar.org/resultats-de-l-enquete-stop-arthrose> (accessed Mar 4, 2020).
9. C.-H. Roux. Comorbidités et arthrose. *Rev. Rhum. Monogr.* **2021**, 88 (2), 104–108.
10. Official website of AFLAR - <https://www.aflar.org/une-journee-entierement-consacree-a-l> (accessed Mar 4, 2020).
11. C. Le Pen, C. Reygrobelle, I. Gérentes. Les conséquences socioéconomiques de l'arthrose en France. *Rev. Rhum.* **2005**, 72 (12), 1326–1330.
12. C. de Jaeger, P. Cherin. L'arthrose : une nouvelle maladie inflammatoire ? Actualités fondamentales et thérapeutiques. *Médecine Longévité* **2011**, 3 (3), 116–136.
13. J.M. Hootman, C.G. Helmick. Projections of US prevalence of arthritis and associated activity limitations. *Arthritis Rheum.* **2006**, 54 (1), 226–229.
14. Official website of Société Française de Rhumatologie - <https://public.larhumatologie.fr/grandes-maladies%20/arthrose%20/comment-se-traite-aujourd'hui-larthrose> (accessed Mar 4, 2020).
15. N. Delage, P. Brillaxis, W. Lowenstein. Opioïdes forts, opioïdes faibles, quelle utilisation en 2019 ? *Douleurs Éval. - Diagn. - Trait.* **2019**, 20 (6), 265–271.
16. H. Vuillet-A-Ciles, J. Buxeraud, Y. Nouaille. Les médicaments de la douleur : les antalgiques de palier I. *Actual. Pharm.* **2013**, 52 (527), 21–26.
17. N. Kerckhove, C. Mallet, A. François, et al. Ca(v)3.2 calcium channels: the key protagonist in the supraspinal effect of paracetamol. *Pain* **2014**, 155 (4), 764–772.
18. H. Vuillet-A-Ciles, J. Buxeraud, Y. Nouaille. Les médicaments de la douleur : les antalgiques de palier II. *Actual. Pharm.* **2013**, 52 (527), 27–30.
19. C. Delorme. Ixprim® : une association antalgique cohérente, logique et efficace. *Douleurs Eval. - Diagn. - Trait.* **2004**, 5 (1), 10–14.
20. H. Vuillet-A-Ciles, J. Buxeraud, Y. Nouaille. Les médicaments de la douleur : les antalgiques de palier III. *Actual. Pharm.* **2013**, 52 (527), 31–34.
21. P. Fitch. La crise des opioïdes au Canada : l'engagement de la SCPH. *Can. J. Hosp. Pharm.* **2018**, 71 (3), 219.
22. C. Thurel. Le médecin généraliste face aux douleurs de l'arthrose. *Douleurs Eval. - Diagn. - Trait.* **2008**, 9 (6), 311–314.
23. B. Bannwarth. Traitements anti-inflammatoires. Place des AINS classiques et des coxibs. *EMC - Médecine* **2005**, 2 (5), 524–531.
24. T. Lagorce, J. Buxeraud, X. Guillot. Les traitements de l'arthrose. *Actual. Pharm.* **2016**, 55 (555), 23–29.
25. O. Dereure. Acide hyaluronique et immunité. *Ann. Dermatol. Vénérologie* **2010**, 137, S26–S29.
26. P. Richette. Approches thérapeutiques de l'arthrose. *Thérapies* **2011**, 66 (5), 383–390.

27. E. Panova, G. Jones. Benefit–Risk Assessment of Diacerein in the Treatment of Osteoarthritis. *Drug Saf.* **2015**, 38 (3), 245–252.
28. Synthèse d’avis de la commission de la transparence; Haute Autorité de Santé, **2013**.
29. M.-C. Boissier. Biothérapies en rhumatologie; **2011**.
30. M.T. Brown, F.T. Murphy, D.M. Radin, et al. Tanezumab reduces osteoarthritic knee pain: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial. *J. Pain* **2012**, 13 (8), 790–798.
31. A. Unsal, S. Gözüml. Use of complementary and alternative medicine by patients with arthritis. *J. Clin. Nurs.* **2010**, 19 (7–8), 1129–1138.
32. Y. Delarue, B. de Branche, P. Anract, M. Revel, F. Rannou. Intérêt des programmes d’exercices physiques dirigés par un kinésithérapeute ou non dirigés dans l’arthrose des membres inférieurs. Élaboration de recommandations françaises pour la pratique clinique. *Ann. Réadapt. Médecine Phys.* **2007**, 50 (9), 747–758.
33. Livre blanc de la rhumatologie 2015; Syndicat National des Medecins Rhumatologues. (S.N.M.R.); 503687; Paris. France., **2015**.
34. R. Forestier, H. Desfour, J.-M. Tessier, et al. Spa therapy in the treatment of knee osteoarthritis: a large randomised multicentre trial. *Ann. Rheum. Dis.* **2010**, 69 (4), 660–665.
35. C.-F. Roques, P. Queneau. Médecines thermales et douleurs des lombalgies chroniques, gonarthrose ou fibromyalgie. *Bull. Académie Natl. Médecine* **2016**, 200 (3), 575–587.
36. P. Goetz. Nouveaux aspects de la phytothérapie en rhumatologie : plantes et neuro-immuno-rhumatologie. *Phytothérapie* **2016**, 14 (5), 315–320.
37. K. Sanchez, A. Eloumri, F. Rannou, S. Poiraudeau. Prises en charge non pharmacologiques et non chirurgicales de l’arthrose : orthèses, exercices. *Presse Médicale* **2010**, 39 (11), 1172–1179.
38. Official website of Clinique de l’Arthrose, Centre des Os et des Articulations de Paris - <https://www.clinique-arthrose.fr/zones/chirurgie-colonne-vertebrale/arthrose-colonne-vertebrale/> (accessed Mar 5, 2020).
39. A. Petit, S. Tanase, J. Jeudy, et al. Traitement de l’arthrose carpo-métacarpienne du cinquième doigt par arthroplastie d’interposition en pyrocarbone. *Hand Surg. Rehabil.* **2018**, 37 (6), 396.
40. S. Colas, B.-V. Ocean, A. Rudnichi, R. Dray-Spira, M. Zureik. Étude d’utilisation des prothèses articulaires de genou en France entre 2008 et 2013. *Rev. D’Épidémiologie Santé Publique* **2016**, 64, S23.
41. Official website of Clinique de l’Arthrose, Centre des Os et des Articulations de Paris - <https://www.clinique-arthrose.fr/chirurgie-genou/prothese-de-genou/> (accessed Mar 5, 2020).
42. S. Putman, N. Girier, J. Girard, et al. Épidémiologie des prothèses de hanche en France : analyse de la base nationale du PMSI de 2008 à 2014. *Rev. Chir. Orthopédique Traumatol.* **2017**, 103 (7), S90.
43. M. Maumus, Y.-M. Pers, M. Ruiz, C. Jorgensen, D. Noël. Cellules souches mésenchymateuses et médecine régénératrice - Quel avenir pour l’arthrose ? *médecine/sciences* **2018**, 34 (12), 1092–1099.
44. M.S. Pepper. Angiogenèse et morphogenèse de l’arbre vasculaire : de la biologie cellulaire à la clinique. *MS Médecine Sci. Rev. Pap. 2000 Vol 16 N° 12 P1378-86* **2000**.
45. G. Neufeld, T. Cohen, S. Gengrinovitch, Z. Poltorak. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* **1999**, 13 (1), 9–22.
46. N.S. Harhaj, E.A. Felinski, E.B. Wolpert, et al. VEGF Activation of Protein Kinase C Stimulates Occludin Phosphorylation and Contributes to Endothelial Permeability. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2006**, 47 (11), 5106–5115.
47. R. Krams, M. Bäck. The ESC Textbook of Vascular Biology; Oxford University Press, **2017**.
48. J. Folkman. Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery? *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, 6 (4), 273–286.
49. M. Nisolle, M.-L. Alvarez, M. Colombo, J.-M. Foidart. Pathogenèse de l’endométriose. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* **2007**, 35 (9), 898–903.

50. C.A. Baumann, B.B. Hinckel, C.C. Bozynski, J. Farr. Articular Cartilage: Structure and Restoration. In *Joint Preservation of the Knee: A Clinical Casebook*; Yanke, A. B., Cole, B. J., Eds.; Springer International Publishing, Cham, **2019**; pp 3–24.
51. L. Pesesse, C. Sanchez, Y. Henrotin. Néovascularisation de la plaque ostéochondrale : nouvelle cible thérapeutique de l'arthrose. [/data/revues/11698330/v78i1/S1169833010001444/](#) **2011**.
52. M.J. Benito, D.J. Veale, O. FitzGerald, W.B. van den Berg, B. Bresnihan. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* **2005**, 64 (9), 1263–1267.
53. E. Balogh, M. Binięcka, U. Fearon, D.J. Veale, Z. Szekanez. Angiogenesis in Inflammatory Arthritis. *Isr. Med. Assoc. J. IMAJ* **2019**, 5 (21), 345–352.
54. U. Fearon, R. Mullan, T. Markham, et al. Oncostatin M induces angiogenesis and cartilage degradation in rheumatoid arthritis synovial tissue and human cartilage cocultures. *Arthritis Rheum.* **2006**, 54 (10), 3152–3162.
55. A. Eitner, J. Pester, S. Nietzsche, G.O. Hofmann, H.-G. Schaible. The innervation of synovium of human osteoarthritic joints in comparison with normal rat and sheep synovium. *Osteoarthritis Cartilage* **2013**, 21 (9), 1383–1391.
56. D.W. Siemann, D.J. Chaplin, M.R. Horsman. Realizing the Potential of Vascular Targeted Therapy: The Rationale for Combining Vascular Disrupting Agents and Anti-Angiogenic Agents to Treat Cancer. *Cancer Invest.* **2017**, 35 (8), 519–534.
57. C.G. Willett, Y. Boucher, E. di Tomaso, et al. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivasular effects in human rectal cancer. *Nat. Med.* **2004**, 10 (2), 145–147.
58. K.K. Ciombor, J. Berlin. Aflibercept—a Decoy VEGF Receptor. *Curr. Oncol. Rep.* **2014**, 16 (2), 368.
59. V. Goncalves, B. Gautier, C. Garbay, M. Vidal, N. Inguibert. Structure-based design of a bicyclic peptide antagonist of the vascular endothelial growth factor receptors. *J. Pept. Sci. Off. Publ. Eur. Pept. Soc.* **2008**, 14 (6), 767–772.
60. M. Sahade, F. Caparelli, P.M. Hoff. Cediranib: a VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor. *Future Oncol.* **2012**, 8 (7), 775–781.
61. J.W. Lippert. Vascular disrupting agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15 (2), 605–615.
62. H. Izzedine, O. Rixe, B. Billemont, A. Baumelou, G. Deray. Angiogenesis Inhibitor Therapies: Focus on Kidney Toxicity and Hypertension. *Am. J. Kidney Dis.* **2007**, 50 (2), 203–218.
63. M.M. Mita, L. Sargsyan, A.C. Mita, M. Spear. Vascular-disrupting agents in oncology. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2013**, 22 (3), 317–328.
64. J. Löwe, H. Li, K.H. Downing, E. Nogales. Refined structure of alpha beta-tubulin at 3.5 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **2001**, 313 (5), 1045–1057.
65. D. Sept. Microtubule Polymerization: One Step at a Time. *Curr. Biol.* **2007**, 17 (17), R764–R766.
66. L. Meijer. Le cycle cellulaire et sa régulation. **2003**.
67. P.F. Davies. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol. Rev.* **1995**, 75 (3), 519–560.
68. H. Ait-Oufella, E. Maury, B. Guidet, G. Offenstadt. L'endothélium : un nouvel organe. *Réanimation* **2008**, 17 (2), 126–136.
69. A.B. Waight, K. Bargsten, S. Doronina, et al. Structural Basis of Microtubule Destabilization by Potent Auristatin Anti-Mitotics. *PLOS ONE* **2016**, 11 (8), e0160890.
70. A.E. Prota, K. Bargsten, P.T. Northcote, et al. Structural Basis of Microtubule Stabilization by Laulimalide and Peloruside A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53 (6), 1621–1625.
71. A.E. Prota, K. Bargsten, J.F. Diaz, et al. A new tubulin-binding site and pharmacophore for microtubule-destabilizing anticancer drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2014**, 111 (38), 13817–13821.
72. A.E. Prota, J. Setter, A.B. Waight, et al. Pironetin Binds Covalently to α Cys316 and Perturbs a Major Loop and Helix of α -Tubulin to Inhibit Microtubule Formation. *J. Mol. Biol.* **2016**, 428 (15), 2981–2988.
73. S. Matthew, Q.-Y. Chen, R. Ratnayake, et al. Gatorbulin-1, a distinct cyclodepsipeptide chemotype, targets a seventh tubulin pharmacological site. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2021**, 118 (9).
74. R.B.G. Ravelli, B. Gigant, P.A. Curmi, et al. Insight into tubulin regulation from a complex with colchicine and a stathmin-like domain. *Nature* **2004**, 428 (6979), 198–202.

75. Y. Wang, H. Zhang, B. Gigant, et al. Structures of a diverse set of colchicine binding site inhibitors in complex with tubulin provide a rationale for drug discovery. *FEBS J.* **2018**, 102–111.
76. R. Giavazzi, K. Bonezzi, G. Taraboletti. Microtubule Targeting Agents and the Tumor Vasculature. In *The Role of Microtubules in Cell Biology, Neurobiology, and Oncology*; Fojo, T., Ed.; Cancer Drug Discovery and Development; Humana Press, Totowa, NJ, **2008**; pp 519–530.
77. R. Romagnoli, M. Kimatrai Salvador, S. Schiaffino Ortega, et al. 2-Alkoxy carbonyl-3-arylamino-5-substituted thiophenes as a novel class of antimicrotubule agents: Design, synthesis, cell growth and tubulin polymerization inhibition. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 143, 683–698.
78. B. Jiang, E. Brey. Formation of Stable Vascular Networks in Engineered Tissues. In *Regenerative Medicine and Tissue Engineering - Cells and Biomaterials*; **2011**.
79. K.W. Kim, J.M. Lee, Y.S. Jeon, et al. Vascular disrupting effect of CKD-516: preclinical study using DCE-MRI. *Invest. New Drugs* **2013**, 31 (5), 1097–1106.
80. G.M. Tozer, C. Kanthou, B.C. Baguley. Disrupting tumour blood vessels. *Nat. Rev. Cancer* **2005**, 5 (6), 423–435.
81. G.R. Pettit, B. Toki, D.L. Herald, et al. Antineoplastic Agents. 379. Synthesis of Phenstatin Phosphate1a. *J. Med. Chem.* **1998**, 41 (10), 1688–1695.
82. R. Smolarczyk, J. Czaplá, M. Jarosz-Biej, K. Czerwinski, T. Cichoń. Vascular disrupting agents in cancer therapy. *Eur. J. Pharmacol.* **2021**, 891, 173692.
83. E.C. McLoughlin, N.M. O’Boyle. Colchicine-Binding Site Inhibitors from Chemistry to Clinic: A Review. *Pharmaceuticals* **2020**, 13 (1), 8.
84. Y.-T. Ji, Y.-N. Liu, Z.-P. Liu. Tubulin Colchicine Binding Site Inhibitors as Vascular Disrupting Agents in Clinical Developments. *Curr. Med. Chem.* **2015**, 22 (11), 1348–1360.
85. M. Cucca. Conception, synthèse et évaluation in vitro de nouveaux agents perturbateurs vasculaires pour le traitement de l’arthrose. thèse, Université Clermont Auvergne, **2018**.
86. D. Bonne, C. Heuséle, C. Simon, D. Pantaloni. 4’,6-Diamidino-2-phenylindole, a fluorescent probe for tubulin and microtubules. *J. Biol. Chem.* **1985**, 260 (5), 2819–2825.
87. J. Davis, S.P. Crampton, C.C.W. Hughes. Isolation of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC). *JoVE J. Vis. Exp.* **2007**, No. 3, e183.
88. R. Auerbach, W. Auerbach, I. Polakowski. Assays for angiogenesis: A review. *Pharmacol. Ther.* **1991**, 51 (1), 1–11.
89. Lamalice Laurent, Le Boeuf Fabrice, Huot Jacques. Endothelial Cell Migration During Angiogenesis. *Circ. Res.* **2007**, 100 (6), 782–794.
90. J.E.N. Jonkman, J.A. Cathcart, F. Xu, et al. An introduction to the wound healing assay using live-cell microscopy. *Cell Adhes. Migr.* **2014**, 8 (5), 440–451.
91. S. Tuncel, A. Trivella, D. Atilla, et al. Assessing the Dual Activity of a Chalcone–Phthalocyanine Conjugate: Design, Synthesis, and Antivascular and Photodynamic Properties. *Mol. Pharm.* **2013**, 10 (10), 3706–3716.
92. K.R. Homberger, D.M. Berger, X. Chen, et al. 7-Aminofuopyridine derivatives. WO2011100502A1, August 18, 2011.
93. G. Yue, Y. Wu, C. Wu, et al. Synthesis of 2-Arylindoles by Suzuki Coupling Reaction of 3-Bromoindoles with Hindered Benzoboronic Acids. *Tetrahedron Lett.* **2017**, 58.
94. M. Chen, Z.-T. Huang, Q.-Y. Zheng. Visible light-induced 3-sulfenylation of N-methylindoles with arylsulfonyl chlorides. *Chem. Commun.* **2012**, 48 (95), 11686–11688.
95. K. Nemoto, S. Tanaka, M. Konno, et al. Me₂AlCl-mediated carboxylation, ethoxycarbonylation, and carbamoylation of indoles. *Tetrahedron* **2016**, 72 (5), 734–745.
96. I. Chataigner, C. Panel, H. Gérard, S.R. Piettre. Sulfonyl vs. carbonyl group: which is the more electron-withdrawing? *Chem. Commun.* **2007**, No. 31, 3288–3290.
97. S.S. Moleele, J.P. Michael, C.B. de Koning. Tetralones as precursors for the synthesis of 2,2’-disubstituted 1,1’-binaphthyls and related compounds. *Tetrahedron* **2008**, 64 (46), 10573–10580.
98. W.J. Kerr, D.M. Lindsay, P.K. Owens, et al. Site-Selective Deuteration of N-Heterocycles via Iridium-Catalyzed Hydrogen Isotope Exchange. *ACS Catal.* **2017**, 7 (10), 7182–7186.

99. C. Neagoie, E. Vedrenne, F. Buron, et al. Synthesis of chromeno[3,4-b]indoles as Lamellarin D analogues: a novel DYRK1A inhibitor class. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 49, 379–396.
100. L.J. Baird, M.S.M. Timmer, P.H. Teesdale-Spittle, J.E. Harvey. Total synthesis of aigialomycin D using a Ramberg-Bäcklund/RCM strategy. *J. Org. Chem.* **2009**, 74 (6), 2271–2277.
101. F.W. Muregi, A. Ishih. Next-generation antimalarial drugs: hybrid molecules as a new strategy in drug design. *Drug Dev. Res.* **2010**, 71 (1), 20–32.
102. R. Morphy, Z. Rankovic. Designed Multiple Ligands. An Emerging Drug Discovery Paradigm. *J. Med. Chem.* **2005**, 48 (21), 6523–6543.
103. E.C. Breen, J.J. Walsh. Tubulin-Targeting Agents in Hybrid Drugs. *Curr. Med. Chem.* **2010**, 17 (7), 609–639.
104. X. Zhang, Y. Kong, J. Zhang, et al. Design, synthesis and biological evaluation of colchicine derivatives as novel tubulin and histone deacetylase dual inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 95, 127–135.
105. A. Dorléans, B. Gigant, R.B.G. Ravelli, et al. Variations in the colchicine-binding domain provide insight into the structural switch of tubulin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2009**, 106 (33), 13775–13779.
106. R. Gaspari, A.E. Prota, K. Bargsten, A. Cavalli, M.O. Steinmetz. Structural Basis of cis- and trans-Combretastatin Binding to Tubulin. *Chem* **2017**, 2 (1), 102–113.
107. S. Majumdar, D. Basu, S. Ghosh Dastidar. Conformational States of E7010 Is Complemented by Microclusters of Water Inside the α,β -Tubulin Core. *J. Chem. Inf. Model.* **2019**, 59 (5), 2274–2286.
108. J.P.T.A. Guerra, A. Lindner, C.R. Nicoletti, et al. Synthesis of anionic chemodosimeters based on silylated pyridinium N-phenolate betaine dyes. *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56 (33), 4733–4736.
109. J. Liu, D. Yang, X. Yang, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel 4-phenoxyquinoline derivatives containing 3-oxo-3,4-dihydroquinoxaline moiety as c-Met kinase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, 25 (16), 4475–4486.
110. S. Tuncel, J. Fournier-dit-Chabert, F. Albrieux, et al. Towards dual photodynamic and antiangiogenic agents: design and synthesis of a phthalocyanine-chalcone conjugate. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, 10 (6), 1154–1157.
111. T. Liang, Z. Tan, H. Zhao, et al. Aerobic Copper-Catalyzed Synthesis of Benzimidazoles from Diaryl- and Alkylamines via Tandem Triple C–H Aminations. *ACS Catal.* **2018**, 8 (3), 2242–2246.
112. W.A.E. OMAR, O.E.O. HORMI. Synthesis of Novel 5-(N-Substituted-Anilino)-8-Hydroxyquinolines via Hartwig-Buchwald Amination Reaction. *J. Chem. Sci.* **2015**, 127 (11), 1937–1943.
113. T.T.H. Luong, E. Brachet, J.-D. Brion, S. Messaoudi, M. Alami. Palladium-Catalyzed Coupling of N-Amino-azoles with 3-Halo-Substituted -Quinolin-2(1H)-ones, Coumarins, Quin-oxalin-2(1H)-ones, and Chromenes. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 2015 (8), 1771–1780.
114. Ł. Skórka, J.-M. Mouesca, J. Gosk, et al. Towards enhancing spin states in doped arylamine compounds through extended planarity of the spin coupling moieties. *J. Mater. Chem. C* **2017**, 5 (26), 6563–6569.
115. Z. Zheng, L. Dian, Y. Yuan, et al. PhI(OAc)₂-Mediated Intramolecular Oxidative Aryl-Aldehyde Csp²–Csp² Bond Formation: Metal-Free Synthesis of Acridone Derivatives. *J. Org. Chem.* **2014**, 79 (16), 7451–7458.
116. M. Jiang, B.X. Li, F. Xie, F. Delaney, X. Xiao. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Conformationally Constrained Analogues of Naphthol AS-E as Inhibitors of CREB-Mediated Gene Transcription. *J. Med. Chem.* **2012**, 55 (8), 4020–4024.
117. A. Nudelman, M. Weinstock-Rosin. Indole, indoline derivatives, compositions comprising them and uses thereof. WO2013150529A2, October 10, 2013.
118. C.M. Thompson, M.D. Orellana, S.E. Lloyd, W. Wu. Stereospecific synthesis of cis-stilbenes from benzaldehydes and phenylacetic acids via sequential Perkin condensation and decarboxylation. *Tetrahedron Lett.* **2016**, 57 (43), 4866–4868.

119. Y. Fang, W. Xia, B. Cheng, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of compounds with a new scaffold as anti-neuroinflammatory agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 149, 129–138.
120. J. Vomacka, V.S. Korotkov, B. Bauer, et al. An Aromatic Hydroxyamide Attenuates Multiresistant *Staphylococcus aureus* Toxin Expression. *Chem. – Eur. J.* **2016**, 22 (5), 1622–1630.
121. X. Wu, S. Sun, S. Xu, J. Cheng. Rh-Catalyzed Annulation of ortho-C–H Bonds of 2-Arylimidazoles with 1,4,2-Dioxazol-5-ones toward 5-Arylimidazo[1,2-c]quinazolines. *Adv. Synth. Catal.* **2018**, 360 (6), 1111–1115.
122. A.K. Sharma, J.-M. Lin, D. Desai, S. Amin. Convenient Syntheses of Dibenzo[c,p]chrysene and Its Possible Proximate and Ultimate Carcinogens: In Vitro Metabolism and DNA Adduction Studies. *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (13), 4962–4970.
123. D. Vivier, I.B. Soussia, N. Rodrigues, et al. Development of the First Two-Pore Domain Potassium Channel TWIK-Related K⁺ Channel 1-Selective Agonist Possessing in Vivo Antinociceptive Activity. *J. Med. Chem.* **2017**, 60 (3), 1076–1088.
124. P.J. Manley, M.T. Bilodeau. A New Synthesis of Naphthyridinones and Quinolinones: Palladium-Catalyzed Amidation of o-Carbonyl-Substituted Aryl Halides. *Org. Lett.* **2004**, 6 (14), 2433–2435.
125. W. Dohle, F.L. Jourdan, G. Menchon, et al. Quinazolinone-Based Anticancer Agents: Synthesis, Antiproliferative SAR, Antitubulin Activity, and Tubulin Co-crystal Structure. *J. Med. Chem.* **2018**, 61 (3), 1031–1044.
126. Y. Li, L. Cao, X. Luo, W.-P. Deng. The synthesis of 1,2-diaryllindenenes via DDQ-mediated dehydrogenative intramolecular cyclization. *Tetrahedron* **2014**, 70 (35), 5974–5979.
127. S. Li, W. Yuan, S. Ma. Highly Regio- and Stereoselective Three-Component Nickel-Catalyzed syn-Hydrocarboxylation of Alkynes with Diethyl Zinc and Carbon Dioxide. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50 (11), 2578–2582.
128. A. Mori, S. Fukuoka, T. Naito, H. Sekiguchi, T. Somete. Effect of the Use of Bulky Alkylphosphines in the Sonogashira Coupling with Aqueous Ammonia. *Heterocycles* **2008**, 76.
129. C.A. Wheaton, J.-P.J. Bow, M. Stradiotto. New Phosphine-Functionalized NHC Ligands: Discovery of an Effective Catalyst for the Room-Temperature Amination of Aryl Chlorides with Primary and Secondary Amines. *Organometallics* **2013**, 32 (21), 6148–6161.
130. I. Paterson, M. Tudge. Stereocontrolled Total Synthesis of (+)-Leucascandrolide A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42 (3), 343–347.
131. S. Maity, N. Zheng. A Visible-Light-Mediated Oxidative C–N Bond Formation/Aromatization Cascade: Photocatalytic Preparation of N-Arylindoles. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51 (38), 9562–9566.
132. B.I. Roman, L.M. De Coen, S. Thérèse F C Mortier, et al. Design, synthesis and structure-activity relationships of some novel, highly potent anti-invasive (E)- and (Z)-stilbenes. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21 (17), 5054–5063.
133. G.R. Pettit, S.B. Singh, G.M. Cragg. Antineoplastic agents. 113. Synthesis of natural (-)-combretastatin. *J. Org. Chem.* **1985**, 50 (18), 3404–3406.
134. J. Hanson, B. Dasher, E. Scharrer, T. Hoyt. Exploring the Stereochemistry of the Wittig Reaction: The Unexpected Influence of a Nominal Spectator Ion. *J. Chem. Educ.* **2010**, 87 (9), 971–974.
135. P.A. Byrne, D.G. Gilheany. The modern interpretation of the Wittig reaction mechanism. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42 (16), 6670–6696.
136. P.R. Blakemore. 1.15 Olefination of Carbonyl Compounds by Main-Group Element Mediators. In *Comprehensive Organic Synthesis II (Second Edition)*; Knochel, P., Ed.; Elsevier, Amsterdam, **2014**; pp 516–608.
137. Y. Gu, S.-K. Tian. Olefination Reactions of Phosphorus-Stabilized Carbon Nucleophiles. In *Stereoselective Alkene Synthesis*; Wang, J., Ed.; Topics in Current Chemistry; Springer, Berlin, Heidelberg, **2012**; pp 197–238.
138. Y. Sawama, M. Masuda, S. Asai, et al. FeCl₃-Catalyzed Self-Cleaving Deprotection of Methoxyphenylmethyl-Protected Alcohols. *Org. Lett.* **2015**, 17 (3), 434–437.

139. H. Meier, M. Fetten, C. Schnorpfeil. Synthesis of Areno-Condensed [24]Annulenes. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2001 (4), 779–786.
140. J. Chen, T. Wang, K. Zhao. Preparation and use of 1-iodoalkyl ylides. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35 (18), 2827–2828.
141. Z.R. Gregg, J.R. Griffiths, S.T. Diver. Conformational Control of Initiation Rate in Hoveyda–Grubbs Precatalysts. *Organometallics* **2018**, 37 (10), 1526–1533.
142. J. Haddad, S. Nadji. Procédé De Production D'ixabépilone, November 24, 2016.
143. A. Orita, J. Otera. Elimination Strategy for Aromatic Acetylenes. *Chem. Rev.* **2006**, 106 (12), 5387–5412.
144. G. Köbrich. Eliminations from Olefins. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1965**, 4 (1), 49–68.
145. H.N.C. Wong, P.J. Garratt, F. Sondheimer. Unsaturated eight-membered ring compounds. XI. Synthesis of sym-dibenzo-1,5-cyclooctadiene-3,7-diyne and sym-dibenzo-1,3,5-cyclooctatrien-7-yne, presumably planar conjugated eight-membered ring compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96 (17), 5604–5605.
146. K. Gaukroger, J.A. Hadfield, L.A. Hepworth, N.J. Lawrence, A.T. McGown. Novel Syntheses of Cis and Trans Isomers of Combretastatin A-4. *J. Org. Chem.* **2001**, 66 (24), 8135–8138.
147. S. Martins, P.S. Branco, M.C. de la Torre, M.A. Sierra, A. Pereira. New Methodology for the Synthesis of 3-Substituted Coumarins via Palladium-Catalyzed Site-Selective Cross-Coupling Reactions. *Synlett* **2010**, 2010 (19), 2918–2922.
148. N. Thasana, R. Worayuthakarn, P. Kradanrat, et al. Copper(I)-Mediated and Microwave-Assisted Caryl–Ocarboxylic Coupling: Synthesis of Benzopyranones and Isolamellarin Alkaloids. *J. Org. Chem.* **2007**, 72 (24), 9379–9382.
149. Z. Yu, J.P.D. van Veldhoven, I.M.E. Hart, et al. Synthesis and biological evaluation of negative allosteric modulators of the Kv11.1(hERG) channel. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 106, 50–59.
150. C. Larsen, J. Østergaard, S.W. Larsen, et al. Intra-articular depot formulation principles: Role in the management of postoperative pain and arthritic disorders. *J. Pharm. Sci.* **2008**, 97 (11), 4622–4654.
151. M. Smith, J.R. Campbell. Observations on the Lymphatic Drainage of Joint Cavities. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1929**, 26 (5), 395–397.
152. I.A. Jones, R. Togashi, M.L. Wilson, N. Heckmann, C.T. Vangsness. Intra-articular treatment options for knee osteoarthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* **2019**, 15 (2), 77–90.
153. C. Brochot. Paramétrisation des modèles physiologiques toxico/pharmacocinétiques. thèse, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, **2004**.
154. W.K.S. Yu, J.M. Bartlett, D.C. Van Sickle, B.H. Mock. Biodistribution of bis[β-(N,N,N-trimethylamino)ethyl]selenide-75Se diiodide, a potential articular cartilage imaging agent. *Int. J. Rad. Appl. Instrum. B* **1988**, 15 (2), 229–230.
155. I. Giraud, M. Rapp, J.C. Maurizis, J.C. Madelmont. Application to a cartilage targeting strategy: synthesis and in vivo biodistribution of (14)C-labeled quaternary ammonium-glucosamine conjugates. *Bioconjug. Chem.* **2000**, 11 (2), 212–218.
156. C. Praillet, J.A. Grimaud, H. Lortat-Jacob. Les protéoglycanes. (I) Molécules aux multiples fonctions... futures molécules thérapeutiques ? *MS Médecine Sci. Rev. Pap. ISSN 0767-0974 1998 Vol 14 N° 4 P412-20* **1998**.
157. R.J. Nap, I. Szleifer. Structure and Interactions of Aggrecans: Statistical Thermodynamic Approach. *Biophys. J.* **2008**, 95 (10), 4570–4583.
158. C. Nicolas, M. Verny, I. Giraud, et al. New Quaternary Ammonium Oxycam Derivatives Targeted toward Cartilage: Synthesis, Pharmacokinetic Studies, and Antiinflammatory Potency. *J. Med. Chem.* **1999**, 42 (25), 5235–5240.
159. I. Giraud, M. Rapp, J.-C. Maurizis, J.-C. Madelmont. Synthesis and in Vitro Evaluation of Quaternary Ammonium Derivatives of Chlorambucil and Melphalan, Anticancer Drugs Designed for the Chemotherapy of Chondrosarcoma. *J. Med. Chem.* **2002**, 45 (10), 2116–2119.

160. M. Rapp, I. Giraud, J.-C. Maurizis, M.-J. Galmier, J.-C. Madelmont. Synthesis and in Vivo Biodisposition of [14C]-Quaternary Ammonium–Melfhalan Conjugate, a Potential Cartilage-Targeted Alkylating Drug. *Bioconjug. Chem.* **2003**, 14 (2), 500–506.
161. W.R. Brasen, C.R. Hauser. o-Methylbenzyl Alcohol. *Org. Synth.* **1954**, 34, 58.
162. O. Barbier, L. Arreola-Mendoza, L.M. Del Razo. Molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Chem. Biol. Interact.* **2010**, 188 (2), 319–333.
163. F.X.R. van Leeuwen, B. Sangster, A.G. Hildebrandt. The Toxicology of Bromide Ion. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* **1987**, 18 (3), 189–213.
164. A.D. la Vieja, P. Santisteban. Role of iodide metabolism in physiology and cancer. *Endocr. Relat. Cancer* **2018**, 25 (4), R225–R245.
165. S. Mahesh, K.-C. Tang, M. Raj. Amide Bond Activation of Biological Molecules. *Mol. Basel Switz.* **2018**, 23 (10).
166. S. Zhang, P. Hu, T. Liu, et al. Kartogenin hydrolysis product 4-aminobiphenyl distributes to cartilage and mediates cartilage regeneration. *Theranostics* **2019**, 9 (24), 7108–7121.
167. S. Ducki. The development of chalcones as promising anticancer agents. *IDrugs Investig. Drugs J.* **2007**, 10 (1), 42–46.
168. S. Ducki, D. Rennison, M. Woo, et al. Combretastatin-like chalcones as inhibitors of microtubule polymerization. Part 1: Synthesis and biological evaluation of antivascular activity. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17 (22), 7698–7710.
169. G.S. Clark. Coumarin. *Perfumer Flavorist* **1995**, 20, 23–34.
170. C. Girard. Les parfums dans les produits cosmétiques. other, Université de Lorraine, **2013**.
171. C. David, T. Boinet. L'anticoagulation orale en prévention du risque thromboembolique dans la fibrillation atriale. *Actual. Pharm.* **2018**, 57 (577), 15–19.
172. WHO model list of essential medicines <https://www.who.int/publications-detail-redirect/WHOMVPEMPIAU2019.06> (accessed Jun 29, 2021).
173. D. Srikrishna, C. Godugu, P.K. Dubey. A Review on Pharmacological Properties of Coumarins. *Mini Rev. Med. Chem.* **2018**, 18 (2), 113–141.
174. S. Thota, K. Nadipelly, A. Shenkesi, R. Yerra. Design, synthesis, characterization, antioxidant and in vitro cytotoxic activities of novel coumarin thiazole derivatives. *Med. Chem. Res.* **2015**, 24 (3), 1162–1169.
175. M.A. Gouda. Synthesis and antioxidant activity of a novel series of pyrazolotriazine, coumarin, oxoazinone, and pyrazinopyrimidine derivatives. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **2013**, 346 (8), 626–634.
176. C.-M. Lin, S.-T. Huang, F.-W. Lee, H.-S. Kuo, M.-H. Lin. 6-Acyl-4-aryl/alkyl-5,7-dihydroxycoumarins as anti-inflammatory agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14 (13), 4402–4409.
177. W. Pu, Y. Lin, J. Zhang, et al. 3-Arylcoumarins: synthesis and potent anti-inflammatory activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24 (23), 5432–5434.
178. V.V. Mulwad, R.B. Pawar. Synthesis of Some Antibacterial Compounds from 4-Hydroxycoumarin. *ChemInform* **2003**, 34 (52).
179. N.M. Sabry, H.M. Mohamed, E.S.A.E.H. Khattab, S.S. Motlaq, A.M. El-Agrody. Synthesis of 4H-chromene, coumarin, 12H-chromeno[2,3-d]pyrimidine derivatives and some of their antimicrobial and cytotoxicity activities. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46 (2), 765–772.
180. A. Manvar, A. Malde, J. Verma, et al. Synthesis, anti-tubercular activity and 3D-QSAR study of coumarin-4-acetic acid benzylidene hydrazides. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43 (11), 2395–2403.
181. V. Angelova, V. Valcheva, G. Stavrakov. Antimycobacterial activity of 4- and 3,4-substituted coumarins. *PHARMACIA* **2014**, 61, 3–6.
182. D.H. Mahajan, C. Pannecouque, E. De Clercq, K.H. Chikhaliya. Synthesis and studies of new 2-(coumarin-4-yloxy)-4,6-(substituted)-S-triazine derivatives as potential anti-HIV agents. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **2009**, 342 (5), 281–290.
183. T.O. Olomola, S. Mosebi, R. Klein, et al. Novel furocoumarins as potential HIV-1 integrase inhibitors. *Bioorganic Chem.* **2014**, 57, 1–4.

184. K.M. Amin, A.A.M. Eissa, S.M. Abou-Seri, F.M. Awadallah, G.S. Hassan. Synthesis and biological evaluation of novel coumarin-pyrazoline hybrids endowed with phenylsulfonyl moiety as antitumor agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 60, 187–198.
185. R. Miri, M. Nejati, L. Saso, et al. Structure-activity relationship studies of 4-methylcoumarin derivatives as anticancer agents. *Pharm. Biol.* **2016**, 54 (1), 105–110.
186. M. Helal, M. Gouda, Y. Ammar, M. El-Gaby, S. Abbas. An overview on synthetic strategies to coumarins. *Synth. Commun.* **2018**, 48, 1534–1550.
187. M.A. Musa. Applications of the Baylis-Hillman reaction in the synthesis of coumarin derivatives. Thèse, Rhodes University; Faculty of Science, Chemistry, Rhodes University, **2003**.
188. H.J. Yoo, S.W. Youn. Zn(II)-Catalyzed One-Pot Synthesis of Coumarins from Ynamides and Salicylaldehydes. *Org. Lett.* **2019**, 21 (9), 3422–3426.
189. B.C. Ranu, R. Jana. Ionic Liquid as Catalyst and Reaction Medium – A Simple, Efficient and Green Procedure for Knoevenagel Condensation of Aliphatic and Aromatic Carbonyl Compounds Using a Task-Specific Basic Ionic Liquid. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2006 (16), 3767–3770.
190. T. Van Nguyen, S. Debenedetti, N. De Kimpe. Synthesis of coumarins by ring-closing metathesis using Grubbs' catalyst. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44 (22), 4199–4201.
191. T. Pirali, S. Busacca, L. Beltrami, et al. Synthesis and Cytotoxic Evaluation of Combretafurans, Potential Scaffolds for Dual-Action Antitumoral Agents. *J. Med. Chem.* **2006**, 49 (17), 5372–5376.
192. G.Ş. Karatoprak, E. Küpeli Akkol, Y. Genç, et al. Combretastatins: An Overview of Structure, Probable Mechanisms of Action and Potential Applications. *Molecules* **2020**, 25 (11).
193. M. Marrelli, F. Conforti, G. Statti, et al. Biological Potential and Structure-Activity Relationships of Most Recently Developed Vascular Disrupting Agents: An Overview of New Derivatives of Natural Combretastatin A-4. *Curr. Med. Chem.* **2011**, 18, 3035–3081.
194. M. Wu, Q. Sun, C. Yang, et al. Synthesis and activity of Combretastatin A-4 analogues: 1,2,3-thiadiazoles as potent antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17 (4), 869–873.
195. H.S.P. Rao, S. Jothilingam. Facile microwave-mediated transformations of 2-butene-1,4-diones and 2-butyne-1,4-diones to furan derivatives. *J. Org. Chem.* **2003**, 68 (13), 5392–5394.
196. H.Y. Kim, J.-Y. Li, K. Oh. Studies on elimination pathways of β -halovinyl ketones leading to allenyl and propargyl ketones and furans under the action of mild bases. *J. Org. Chem.* **2012**, 77 (24), 11132–11145.
197. Z. Chen, M. Luo, Y. Wen, et al. ChemInform Abstract: A Highly Efficient Synthesis of 2,5-Disubstituted Furans from Enyne Acetates Catalyzed by Lewis Acid and Palladium. *ChemInform* **2015**, 46.
198. P. Forgione, P.D. Wilson, A.G. Fallis. Magnesium mediated carbometallation of propargyl alcohols: direct routes to furans and furanones. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41 (1), 17–20.
199. T. Ikeuchi, S. Inuki, S. Oishi, H. Ohno. Gold(I)-Catalyzed Cascade Cyclization Reactions of Allenynes for the Synthesis of Fused Cyclopropanes and Acenaphthenes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 58 (23), 7792–7796.
200. N. Yamakawa, K. Suzuki, Y. Yamashita, et al. Structure-activity relationship of celecoxib and rofecoxib for the membrane permeabilizing activity. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, 22 (8), 2529–2534.
201. P. Verma, S. Singh, D. Dikshit, S. Ray. Smooth Conversion of 3,4-Diarylcoumarins and 3,4,5-Triaryl-2(5H)-furanones to 2H-Chromene and 2,5-Dihydrofuran Derivatives with Dimethyl Sulfide-Borane Complex. **1988**.
202. S.R. Hwang, D.-H. Seo, T.A. Al-Hilal, et al. Orally active desulfated low molecular weight heparin and deoxycholic acid conjugate, 6ODS-LHbD, suppresses neovascularization and bone destruction in arthritis. *Scopus* **2012**.
203. P. Kastana, F.T. Zahra, D. Ntenekou, et al. Matrigel Plug Assay for In Vivo Evaluation of Angiogenesis. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* **2019**, 1952, 219–232.

204. M. Mi, S. Shi, T. Li, et al. TIMP2 deficient mice develop accelerated osteoarthritis via promotion of angiogenesis upon destabilization of the medial meniscus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2012**, 423 (2), 366–372.
205. J.L. Song, D.L. Li, H. Fang, D.Z. Cai. Intraperitoneal injection of thalidomide alleviates early osteoarthritis development by suppressing vascular endothelial growth factor expression in mice. *Mol. Med. Rep.* **2018**, 18 (1), 571–579.
206. J. Lu, H. Zhang, D. Cai, et al. Positive-Feedback Regulation of Subchondral H-Type Vessel Formation by Chondrocyte Promotes Osteoarthritis Development in Mice. *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* **2018**, 33 (5), 909–920.
207. D.J. Peacock, M.L. Banquerigo, E. Brahn. A novel angiogenesis inhibitor suppresses rat adjuvant arthritis. *Cell. Immunol.* **1995**, 160 (2), 178–184.
208. L. Yue, H. Wang, L.-H. Liu, Y.-X. Shen, W. Wei. Anti-adjuvant arthritis of recombinant human endostatin in rats via inhibition of angiogenesis and proinflammatory factors. *Acta Pharmacol. Sin.* **2004**, 25 (9), 1182–1185.
209. A.E.-S. Abdel-Maged, A.M. Gad, A.K. Abdel-Aziz, M.M. Aboulwafa, S.S. Azab. Comparative study of anti-VEGF Ranibizumab and Interleukin-6 receptor antagonist Tocilizumab in Adjuvant-induced Arthritis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2018**, 356, 65–75.
210. C.M. Atkinson, J.C.E. Simpson. 328. Cinnolines. Part XIV. N-oxides of 4-arylcinnolines. Conversion of 4-substituted cinnolines into indoles. *J. Chem. Soc. Resumed* **1947**, No. 0, 1649–1652.
211. K. Sun, R. Sachwani, K.J. Richert, T.G. Driver. Intramolecular Ir(I)-Catalyzed Benzylic C–H Bond Amination of ortho-Substituted Aryl Azides. *Org. Lett.* **2009**, 11 (16), 3598–3601.
212. W. Zhang, M.L. Go. Quinone reductase induction activity of methoxylated analogues of resveratrol. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42 (6), 841–850.
213. L. Horner, H. Moser. Phosphororganische Verbindungen, 52. Beitrag zum Mechanismus der Arylphosphoniumsalzbildung aus tertiären Phosphinen nach der „Kobaltsalz-Methode“. *Chem. Ber.* **1966**, 99 (9), 2789–2802.
214. J.N. Moorthy, S. Samanta. Photoinduced C–Br Homolysis of 2-Bromobenzophenones and Pschorr Ring Closure of 2-Aroylaryl Radicals to Fluorenones. *J. Org. Chem.* **2007**, 72 (25), 9786–9789.