



**HAL**  
open science

# Complexes de coordination pour l'inhibition de protéine kinases de la voie Hippo

Matthieu Scarpi Luttenauer

## ► To cite this version:

Matthieu Scarpi Luttenauer. Complexes de coordination pour l'inhibition de protéine kinases de la voie Hippo. Chimie thérapeutique. Université de Strasbourg, 2022. Français. NNT : 2022STRAF013 . tel-03847633

**HAL Id: tel-03847633**

**<https://theses.hal.science/tel-03847633v1>**

Submitted on 10 Nov 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.



**UNIVERSITÉ DE STRASBOURG**



*ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES*

**Chimie de la Matière Complexe, LSFAM, UMR 7140**

THÈSE présentée par :

**Matthieu SCARPI-LUTTENUER**

soutenue le : 04 avril 2022

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : Chimie biologique et thérapeutique

**Complexes de coordination pour l'inhibition de  
protéine kinases de la voie Hippo**

**THÈSE dirigée par :**

**M. MOBIAN Pierre**

Maître de conférences, HDR, Université de Strasbourg

**RAPPORTEURS :**

**Mme BUSCA Patricia**

**M. WARD Thomas**

Maître de conférences, HDR, Université Paris Descartes

Professeur, Université de Bâle

**EXAMINATEUR :**

**M. FALLER Peter**

Professeur, Université de Strasbourg

**MEMBRES INVITES :**

**M. GAIDDON Christian**

**M. HENRY Marc**

Directeur de recherche, INSERM, Strasbourg

Professeur, Université de Strasbourg



## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Pr. Thomas R. Ward, le Dr. Patricia Busca et le Pr. Peter Faller de faire partie de mon jury de thèse et d'avoir accepté de juger mon travail.

Je remercie le Pr. Marc Henry et le Dr. Pierre Mobian de m'avoir accueilli au laboratoire et de m'avoir permis de travailler sur ce sujet passionnant.

Pierre, je te remercie d'avoir mis autant d'engouement dans ma thèse, je ne pouvais pas rêver d'un meilleur directeur de thèse. Tu m'as soutenu dans les moments difficiles, recadré dans les moments où je me dispersais de trop, et surtout, tu m'as appris la rigueur du travail scientifique et m'a permis de devenir le chimiste que je suis aujourd'hui. Et puis bien sur merci pour ces discussions tennis !

Je remercie le Dr. Christian Gaidon d'avoir permis cette collaboration avec le laboratoire STREINTH et d'avoir été aussi impliqué dans mon projet qui m'a permis de grandement progresser dans le domaine de la biologie.

Merci à Christophe Orvain, qui a été un excellent « tuteur bio » durant mes séjours à l'INSERM. Merci pour ce que tu m'as appris, pour ta patience quand je foirais un Western Blot parce qu'il manquait la membrane et nos nombreuses discussions, souvent sportives, toujours intéressantes.

Merci à Amandine et Justine de m'avoir assisté quand j'avais des questions ou que j'avais un doute dans les manip, vos conseils m'ont été très bénéfiques.

Je remercie le Dr. Marco Cecchini d'avoir permis d'établir cette collaboration pour les études de docking qui ont été d'une grande aide pour ma thèse. Merci à Katia Galentino, qui a pris en charge les études de docking. Tu as répondu à toutes les demandes que j'avais, et ce toujours avec la motivation qui te caractérise. Merci d'avoir persévéré pour arriver à docker les composés avec ces fichus métaux !

Je remercie le Dr. Alain Chaumont pour les (nombreux) calculs DFT réalisés qui ont permis de solidifier les résultats obtenus et qui ont en grande partie contribué à la publication de mes résultats.



Je remercie les services communs de la faculté. Merci à Maurice, Bruno et Lionel du service RMN pour votre extrême gentillesse tout au long de ces trois ans et de m'avoir permis d'expliquer des résultats parfois étranges ! Merci à Stéphanie du service de masse pour toutes ces analyses, merci à Martine et Noémie pour toutes les explications très claires pour les microanalyses, la polarimétrie et le dichroïsme circulaire. Merci au personnel du magasin de chimie toujours accueillant et efficace. Je suis reconnaissant envers le ministère de la Recherche et de l'Enseignement pour le financement de cette thèse.

Je remercie tous les membres du laboratoire : Stéphane, Midhun, Renata, Tracy, Sylvie, Véronique, Aziz, Ivan, Jaison. Merci à Audrey d'avoir travaillé sur mon sujet, et d'avoir permis la résolution de gros problèmes que je rencontrais. Merci aussi pour ces discussions de sciences ou pas qui ont permis d'égayer mes journées parfois difficiles. Merci à Nathalie d'avoir résolu mes structures, tu as effectué un travail formidable et efficace. Merci à toi aussi pour ta bonne humeur et ta bienveillance.

Je tiens aussi à remercier Laurent, qui m'a accueilli au Laboratoire en 2017 lorsque je n'étais qu'un tout jeune chimiste. Tu m'as appris la rigueur et les bonnes pratiques au laboratoire. Je te remercie aussi pour toutes ces discussions tout au long des trois ans, tes conseils quand la chimie ne marchait pas, et surtout ton oreille attentive quand ça n'allait pas. Au fil du temps tu es devenu un ami plus qu'un encadrant ou un collègue.

Je suis aussi reconnaissant envers mes amis chimistes qui ont partagé mon aventure. Vincent, on a traversé toutes nos études ensemble, tu as toujours été le plus brillant d'entre tous, il est temps que tu l'admettes ! Merci pour ton aide précieuse pour ma thèse, pour ces conversations endiablées sur bon nombre de sujets, et surtout pour ces heures passées à faire des parties de UNO mémorables bien sûr. Merci à Charly pour sa bonne humeur, son sarcasme qui a toujours su me faire rire même quand j'étais celui visé. Tu m'as appris à être moins susceptible et je t'en remercie ! Enfin, merci à Alexis pour avoir partagé ta longue expérience issue de dizaines d'années dans la chimie. Merci aussi pour ces discussions jeux de cartes, jeux vidéo, j'en ai découvert quelques grâce à toi !

Merci aux cheeses d'être là depuis le lycée. Pendant ces huit années d'études, on a parfois passé beaucoup de temps sans se voir et pourtant, je sais que quoi qu'il arrive, je sais que vous serez toujours là.

Merci à ma maman de m'avoir accompagné et soutenu tout le long de cette thèse. Tu m'as poussé à persévérer, et tu as grandement contribué à faire de moi ce que je suis aujourd'hui. Je n'ai peut-être pas une famille énorme mais je suis très heureux de celle que j'ai.

Enfin, merci à Sonia qui a été là à chaque moment. Tu as partagé mes joies et mes moments de doute, tu as su me remotiver et me redonner le sourire quand ça n'allait pas. Maintenant que le plus dur est terminé, je me réjouis des moments que l'on va passer ensemble. La thèse m'a aussi permis de te rencontrer et rien que pour cela, ça en valait la peine.



# Sommaire

<b>Sommaire</b> .....	<b>7</b>
<b>Liste d'abréviations</b> .....	<b>11</b>
<b>Chapitre I : Introduction</b> .....	<b>15</b>
<b>I. LE CANCER</b> .....	<b>15</b>
a. Contexte .....	15
b. Facteurs de risques .....	15
c. Les mutations génétiques à l'origine de l'apparition du cancer .....	16
<b>II. LES PROTEINE KINASES</b> .....	<b>18</b>
a. Structure des protéine kinases et mécanisme de phosphorylation .....	19
b. Les tyrosine kinases .....	23
c. Les protéine kinases dépendantes des cyclines .....	24
d. Les voies de signalisation MAPK.....	24
<b>III. LA VOIE DE SIGNALISATION HIPPO</b> .....	<b>26</b>
a. Les composants du noyau de la voie Hippo .....	26
b. Facteurs d'activation de la voie Hippo .....	27
c. Implication de dérégulations de la voie Hippo dans le cancer.....	28
<b>IV. LES INHIBITEURS DE PROTEINE KINASES</b> .....	<b>30</b>
a. Types d'inhibiteurs de kinase .....	30
b. Inhibiteurs de kinases basés sur des complexes métalliques .....	34
<b>V. LES 1,10-PHENANTHROLINES EN BIOLOGIE</b> .....	<b>45</b>
<b>VI. PROJET DE THESE</b> .....	<b>48</b>
<b>Chapitre II : Étude préliminaire de la stabilité de complexes de titane(IV)</b> .....	<b>51</b>
<b>I. ANALYSE STRUCTURALE ET EVALUATION DE LA STABILITE HYDROLYTIQUE DE COMPLEXES CONSTRUITS AUTOUR D'UN SQUELETTE <math>TiO_4N_2</math> INCORPORANT DES DERIVES DE LA 1,10-PHENANTHROLINE</b> .51	
a. Introduction .....	51
b. Synthèse des ligands et des complexes de titane(IV) .....	52
c. Propriétés optiques et calculs DFT .....	59
d. Étude de la stabilité hydrolytique des complexes de titane(IV) .....	65
e. Conclusion .....	67
<b>II. FONCTIONNALISATION DE LIGANDS 1,10-PHENANTHROLINE DIRECTEMENT REALISEES SUR DES COMPLEXES <math>TiO_4N_2</math> ET APPLICATION POUR LA SYNTHESE MULTI-ETAPES</b> .....	<b>68</b>
a. Introduction .....	68
b. Synthèse des complexes de titane précurseur.....	69
c. Chimie sur le complexe .....	71
d. Le fragment $Ti(38)_2$ comme groupement protecteur pour la synthèse multi-étapes d'un ligand bis-1,10-phénanthroline.....	75
e. Conclusion .....	81

<b>Chapitre III : Synthèse d'inhibiteurs de protéine kinases à base de complexes de Ti(IV), Ru(II) et Pt(II) .....</b>	<b>83</b>
<b>III. SYNTHÈSE DES LIGANDS 1,10-PHENANTHROLINES .....</b>	<b>83</b>
a. Introduction .....	83
b. Synthèse des ligands phénanthrolines 50-54 .....	84
<b>IV. SYNTHÈSE DE COMPLEXES DE TITANE(IV) A PARTIR DES PHENANTHROLINES 50-54 ET 57 ET CARACTERISATION STRUCTURALE .....</b>	<b>86</b>
a. Les complexes de titane(IV) en biologie .....	86
b. Résultats .....	90
<b>V. SYNTHÈSE DES COMPLEXES DE RUTHENIUM(II), Ru(1-5) .....</b>	<b>96</b>
a. Les complexes de ruthénium en biologie .....	96
b. Synthèse de complexes de ruthénium(II) polypyridyles .....	102
c. Synthèse de complexes de ruthénium(II) cyclométallés .....	104
d. Synthèse de complexes de ruthénium(II) arène de type demi-sandwich .....	108
<b>VI. SYNTHÈSE DE COMPLEXES DE PLATINE(II) .....</b>	<b>109</b>
a. Les complexes de Pt(II) en biologie .....	109
b. Résultats .....	111
<b>VII. CARACTERISATION ET EVALUATION DE LA STABILITE DES COMPLEXES SYNTHETISES PAR SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE .....</b>	<b>117</b>
a. Caractérisation des complexes par spectroscopie UV-visible .....	117
b. Évaluation de la stabilité des complexes par spectroscopie UV-visible dans des conditions biologiques 121	
c. Conclusion .....	124
<b>Chapitre IV : Évaluation de l'activité cytotoxique et inhibitrice de la phosphorylation de YAP des ligands et complexes synthétisés .....</b>	<b>125</b>
<b>I. ÉVALUATION DE LA CYTOTOXICITE.....</b>	<b>125</b>
a. Introduction .....	125
b. Évaluation de l'activité antiproliférative des ligands 1,10-phénanthroline.....	126
c. Évaluation de l'activité antiproliférative des complexes métalliques.....	127
<b>II. SELECTION DES COMPOSES CIBLES POUR L'INHIBITION DE PROTEINE KINASES PAR ETUDE DE DOCKING     129</b>	
<b>III. ÉVALUATION DE L'ACTIVITE INHIBITRICE DE PROTEINE KINASES DES COMPOSES Ru(3), Ru(5), Pt(3) ET Pt(4A) .....</b>	<b>132</b>
d. Quantification de la phosphorylation du co-activateur transcriptionnel YAP .....	132
<b>IV. CONCLUSION.....</b>	<b>138</b>
<b>Conclusion Générale et Perspectives .....</b>	<b>141</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>145</b>
<b>Experimental part .....</b>	<b>151</b>
<b>Publications et Communications.....</b>	<b>181</b>

<b>Bibliographie .....</b>	<b>183</b>
<b>Liste des complexes synthétisés dans le chapitre III .....</b>	<b>205</b>



## Liste d'abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique  
AGS: Adénocarcinome Gastrique  
AREG: Amphiregulin  
ARHGAP29: Rho GTPase Activating Protein 29  
AMP: Adénosine monophosphate  
AMPK: AMP-activated protein kinase  
ATP: Adénosine triphosphate  
BV: orbitale moléculaire Basse Vacante  
CCM: Chromatographie sur Couche Mince  
CDK: Kinases dépendantes des cyclines.  
COSY: Correlation Spectroscopy  
CTGF: Connective Tissue Growth Factor  
CuAAC: Copper-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition  
CYR61: Cysteine-rich Angiogenic Protein 61  
DACH: Diaminocyclohexane  
DFT: Density Functional Theory  
DME: Diméthoxyéthane  
DMF: Diméthylformamide  
DMSO: Diméthylsulfoxyde  
DOSY: Diffusion Ordered NMR Spectroscopy  
EDTA: Ethylene Diamine Tetraacetic Acid  
EGFR: Récepteurs de facteurs de croissance Epidermique  
ERK: Extracellular signal-Regulated Kinases  
ESI-MS: Electrospray Ionisation Mass Spectrometry  
FDA: Food and Drug Association  
FGFR: Fibroblast Growth Factor Receptor  
GPCR: G-protein-coupled receptor  
HER: Human Epidermal growth factor Receptor  
Hpo: Hippo  
HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation  
HO: orbitale moléculaire Haute Occupée



HSQC: Heteronuclear Single Quantum Correlation  
IC<sub>50</sub>: Concentration Inhibitrice Médiane  
JNK: c-Jun N-terminal Kinase  
LATS: LArge Tumor Suppressor  
LMCT: Ligand to Metal Charge Transfer  
LC: Ligand Centered  
MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase  
MAPKK: MAPK Kinases  
MAPKKK: MAPK Kinase Kinase  
Mats: Mob As Tumor Suppressor  
MEK: Mitogen-activated Extracellular signal-regulated Kinase  
MLCT: Metal to Ligand Charge Transfer  
MST: Mammalian Ste20-like kinase  
MTT: bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényle tétrazolium  
NF2: Neurofibromin 2  
NHC: N-Heterocyclic Carbene  
P38: protéine 38  
p53: protéine 53  
PCM: Modèle de Continuum Polarisable  
PDB: Protein Databank  
ppm: parties par millions  
RAF: Rapid Accelerated Fibrosarcoma  
RAS: Rat Sarcoma Virus  
RMN: Résonance Magnétique Nucléaire  
ROESY: Rotating frame Overhauser Effect correlation Spectroscopy  
RTK: Récepteurs à activité Tyrosine Kinase  
RT-qPCR: Reverse Transcriptase quantitative Polymerase Chain Reaction  
S6K1: S6 Kinase 1  
Sav: Salvador  
Sd: Scalloped  
t.a.: température ambiante  
TAOK: Thousand And One Kinase  
TAZ: PdZ-binding motif  
TD-DFT: Time-Dependent DFT

TEAD: TEA domain family member

THF: Tétrahydrofurane

TIPS: Triisopropylsilyl

TMEDA: Tétraméthyléthylènediamine

TMS: Triméthylsilyl

UV: Ultraviolet

VGFR: Récepteur de facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire

Wts: warts

YAP: Yes-associated protein

Yki: Yorkie



# Chapitre I : Introduction

## I. Le cancer

### a. Contexte

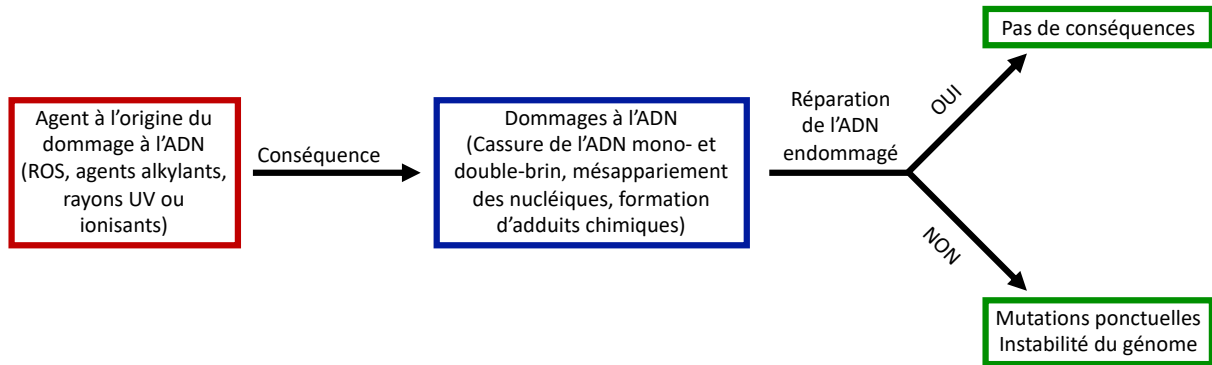
Le cancer est une maladie résultant de la dégénérescence cellulaire, qui engendre la croissance anormalement élevée des cellules et provoque ainsi l'apparition d'une tumeur. Celle-ci peut ensuite se propager localement dans un premier temps, puis dans le corps entier, entraînant l'apparition de métastases.

En France, les cancers représentent la première cause de mortalité chez les hommes et la deuxième chez les femmes. En 2018, 382 000 cas ont été déclarés, et 157 400 personnes sont décédées des suites d'un cancer<sup>[1]</sup>. Bien que les efforts entrepris par la recherche scientifique aient entraîné la baisse de la proportion des décès dus à cette maladie de 2% chez les hommes et de 0,7% chez les femmes en France entre 2010 et 2018<sup>[1]</sup>, certains cancers conservent toujours un taux élevé de mortalité. Parmi ceux-ci, on retrouve les cancers du pancréas, du foie, du poumon ou encore les cancers gastriques.

### b. Facteurs de risques

Les cellules du corps humain et plus précisément leur ADN sont en permanence soumises à des attaques d'origines diverses. Ces attaques peuvent être internes à la cellule, dans le cadre de la régulation de son métabolisme, ou bien externes et provenir de l'exposition plus ou moins prolongée à certains facteurs de lésions. Parmi ceux-ci, on trouve l'exposition aux radiations UV dues au soleil<sup>[2]</sup>, aux radiations ionisantes telles que les rayons X<sup>[3]</sup>, à des produits chimiques carcinogènes tels que des agents alkylants<sup>[4]</sup>. On compte aussi l'apparition d'espèces réactives de l'oxygène lors d'une activation chronique du système immunitaire dans le cadre de réactions inflammatoires<sup>[5,6]</sup>. Les lésions de l'ADN provoquées par l'action de ces carcinogènes sont diverses : cassure de l'ADN mono- et double-brin, mésappariement des bases nucléiques ou formation d'adduits chimiques par liaison avec ces mêmes bases<sup>[7]</sup>. En

principe, ces dommages à l'ADN sont réparés par plusieurs enzymes lors du cycle de division de la cellule. Or, il arrive que la réparation de l'ADN ne se fasse pas correctement et que des mutations dites somatiques, apparaissent sur les cellules filles. (Figure 1).

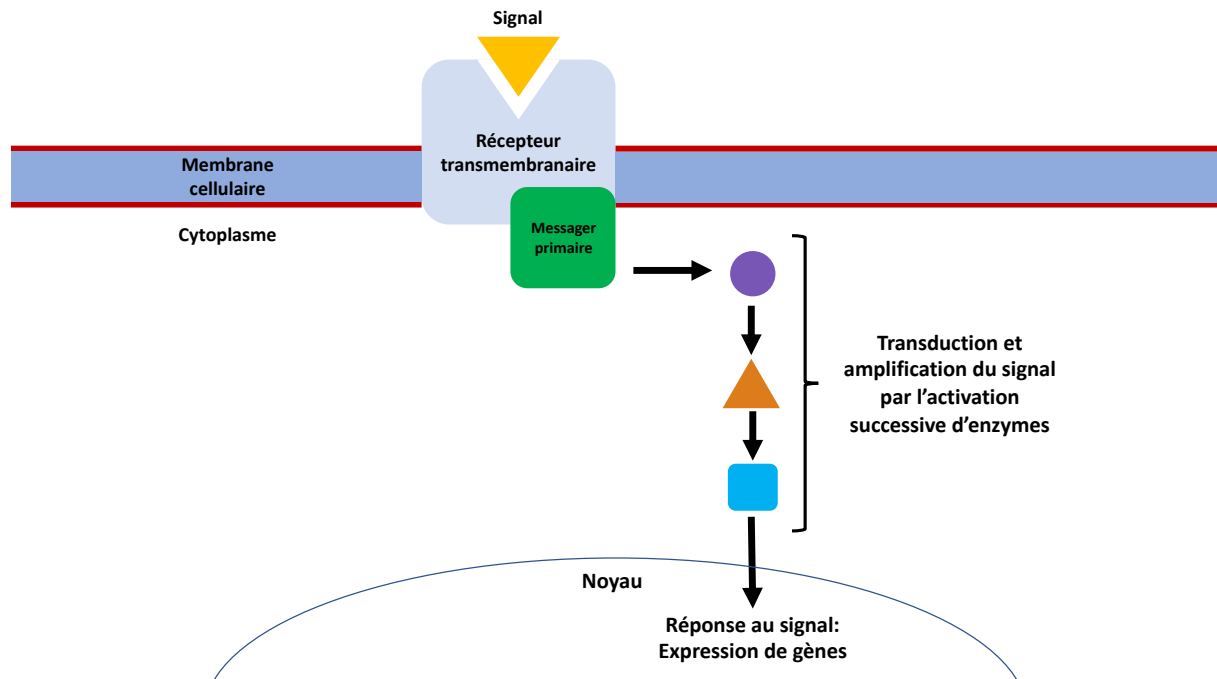


**Figure 1** : Description schématique des étapes de l'apparition de mutations génétiques lorsque l'ADN est exposé à des facteurs de dommage potentiel.

### c. Les mutations génétiques à l'origine de l'apparition du cancer

Les mutations génétiques confèrent des propriétés facilitant la prolifération des cellules ou altérant leur différenciation. Cette différenciation consiste en l'acquisition d'un rôle précis par la cellule. L'accumulation de ces modifications donne des avantages aux cellules mutées, comme la résistance à la mort cellulaire par exemple, ce qui entraîne le développement de cellules cancéreuses [8,9]. Les mutations génétiques influent directement sur l'activité des enzymes exprimées par les gènes en question. Ces enzymes sont la plupart du temps incluses dans des voies de signalisation cellulaire qui contrôlent les mécanismes liés à la croissance ou bien à la survie de la cellule<sup>[10]</sup>. Les voies de signalisation sont composées de plusieurs protéines communiquant l'une avec l'autre pour former un réseau. Celui-ci permet à la cellule de recevoir les signaux externes, et, une fois transmis au noyau, d'induire une réponse par expression de gènes spécifiques (Figure 2). Les mutations de l'ADN à la suite de dommages non réparés, modifient le fonctionnement de ces voies de signalisation. Les mutations dites « pilotes » participent à la prolifération excessive des cellules cancéreuses. On nomme oncogène un gène qui, par mutation, peut provoquer l'apparition du cancer par surexpression ou activation aberrante<sup>[11]</sup> d'une enzyme

impliquée dans la croissance et la prolifération des cellules. Les oncogènes déjà connus sont extrêmement nombreux.



**Figure 2 :** Représentation schématique des voies de signalisations cellulaires. Le signal reçu par les récepteurs transmembranaires est transporté et amplifié jusqu'au noyau par l'activation successive d'enzymes. Le noyau engage ensuite la réponse à ce signal par expression de gènes spécifiques.

Par exemple, la surexpression de HER2, une protéine de la famille des récepteurs de facteurs de croissance épithéliaux a été démontrée dans le cancer du sein<sup>[12]</sup>. En temps normal, le fonctionnement aberrant d'une enzyme active des gènes censés le supprimer, qu'on nomme gènes suppresseurs de tumeurs. Ces gènes sont responsables de la régulation négative de la prolifération cellulaire. Or, les cellules cancéreuses sont capables de désactiver cette réponse afin de pouvoir proliférer librement<sup>[11]</sup>. Le plus célèbre et le premier de ces anti-oncogènes à avoir été découvert est p53. Le réseau relié par p53 est activé lorsque les cellules reçoivent des signaux de stress ou sont endommagées. Quand la protéine p53 codée par le gène du même nom est activée, elle arrête la multiplication cellulaire et inhibe le processus de cycle cellulaire. L'activation de p53 puis peut aussi conduire à l'apoptose. De nombreuses mutations de p53 dans le cancer ont été décrites, induisant une baisse d'activité, une désactivation ou encore sa dégradation <sup>[13]</sup>.

## II. Les protéine kinases

Cette partie a pour but premier de faire une description structurale des protéine kinases, et d'expliquer le mécanisme de transfert du groupement phosphate de l'ATP vers la protéine cible. Dans un second temps, une liste non exhaustive des principales catégories de protéine kinases sera développée, afin de permettre une compréhension de l'omniprésence de ces enzymes dans la signalisation cellulaire.

Les kinases sont des enzymes largement impliquées dans la transduction et l'amplification de signaux extracellulaires vers le noyau par les voies de signalisation. Ces enzymes, une fois activées, permettent le transfert du groupement phosphate en  $\gamma$  de l'ATP sur le groupement hydroxyle d'un résidu acide aminé du substrat ciblé afin de moduler son fonctionnement. En particulier, les protéine kinases permettent la régulation spécifiques de protéines (figure 3).

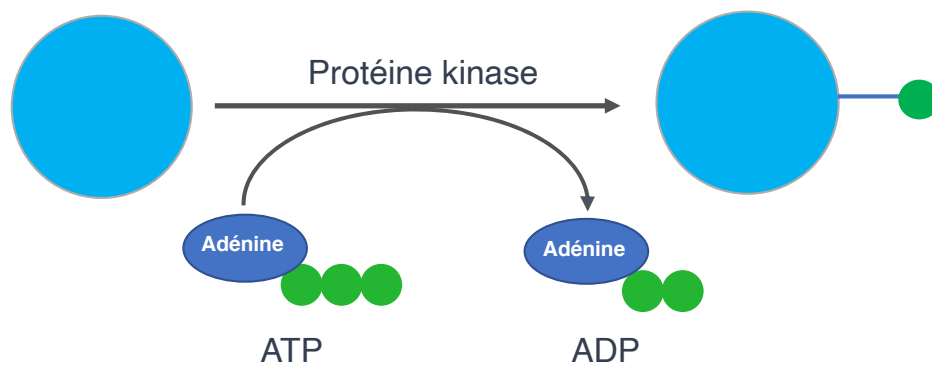


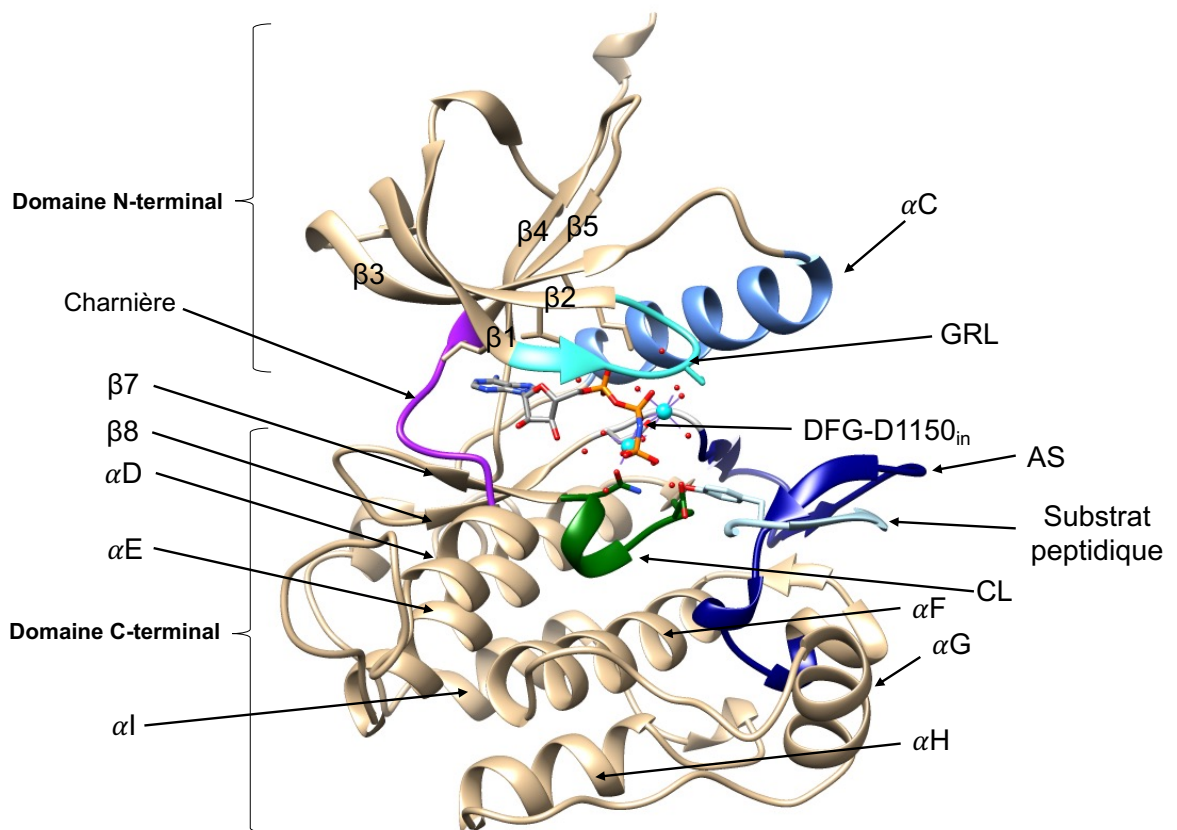
Figure 3 : Description schématique du fonctionnement d'une protéine kinase.

On distingue deux types de protéine kinases, en fonction de l'acide aminé cible phosphorylé: les tyrosine kinases et les thréonine/sérine kinase. Dans un premier temps, une fois la kinase activée, la molécule d'ATP vient se fixer dans une poche située entre les lobes amino-terminal et carboxy-terminal. Dans cette poche, le fragment adénine de l'ATP se lie par liaisons hydrogène à des résidus acides aminés de la partie qu'on qualifie de « charnière » de la protéine, reliant les deux lobes N- et C-terminaux. Les résidus de la protéine responsables des liaisons hydrogène peuvent varier en fonction des kinases; néanmoins, la structure de leurs poches de fixation de l'ATP reste relativement conservée. Les groupements phosphates de l'ATP, orientés vers l'extérieur de la protéine, sont placés idéalement pour le transfert d'un fragment phosphate vers le substrat cible, qui se lie dans une région proche du site de fixation de l'ATP.

Il existe 518 kinases différentes dans le génome humain<sup>[14]</sup>. Il est donc possible d'imaginer que toutes les voies de signalisation principales passent par une étape de phosphorylation. Les protéine kinases jouent donc un rôle fondamental dans tous les mécanismes qui maintiennent le fonctionnement de nos cellules, et plus largement, de notre corps.

#### a. Structure des protéine kinases et mécanisme de phosphorylation

Depuis vingt ans, la structure et le mécanisme de transfert du groupement phosphate de l'ATP sont intensivement étudiés, ce qui a permis d'acquérir une connaissance approfondie du fonctionnement des protéine kinases<sup>[15-18]</sup>.

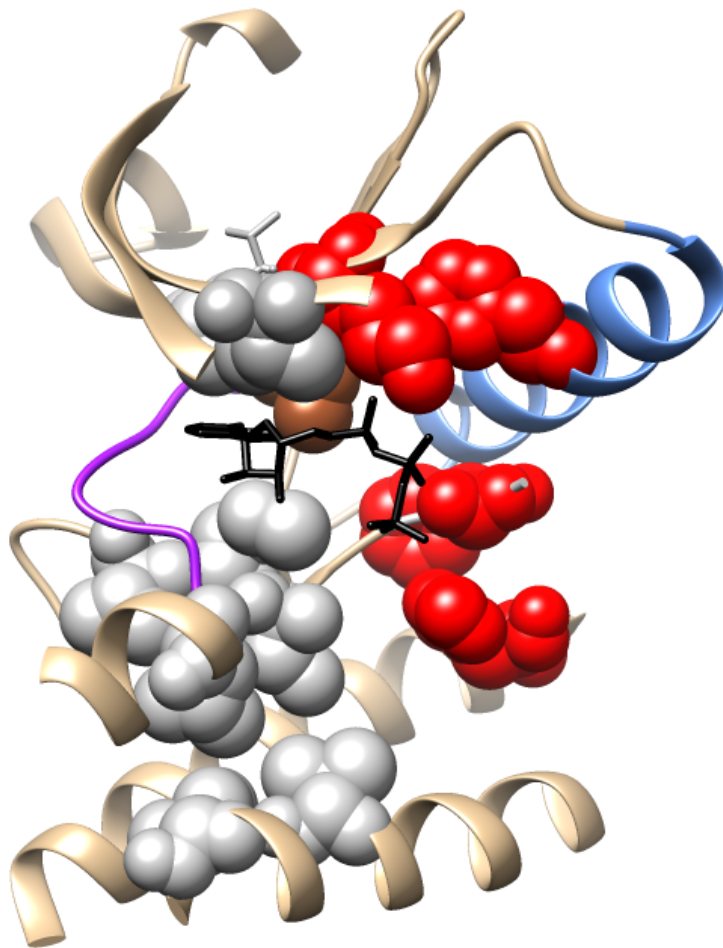


**Figure 4 :** Structure cristalline du domaine protéine kinase du récepteur d'insuline à activité tyrosine kinase co-cristallisé avec un analogue de l'ATP ainsi qu'un peptide substrat (Code PDB : 1IR3). GRL : Boucle riche en glycine ; AS : Segment d'activation ; CL : Boucle catalytique.

Une protéine kinase est composée de deux domaines différents. D'une part, on peut observer un petit lobe N-terminal composé de cinq feuillets  $\beta$  et d'une hélice  $\alpha$ C. D'autre part, on trouve un lobe C-terminal plus volumineux, comprenant plusieurs



hélices  $\alpha$  entrecoupées de plus petits feuillets  $\beta$ . Les deux domaines sont reliés par une séquence d'acides aminés appelée charnière (figure 4). C'est à des résidus acides aminés de cette partie charnière que se fixe par liaisons hydrogène le fragment adénine de l'ATP. De manière générale, lors de l'activation de la protéine kinase, une séquence appelée segment d'activation est phosphorylée, provoquant le changement de conformation de la protéine en raison de la formation de plusieurs liaisons hydrogène avec les nouveaux groupements phosphates. Dans cette conformation active, l'ATP peut s'insérer dans la poche située entre les lobes N-terminal et C-terminal. En plus des liaisons hydrogène avec la région charnière de la protéine, le fragment adénine de l'ATP interagit avec plusieurs résidus des feuillets  $\beta$  situés au-dessus et en-dessous de la molécule par des interactions hydrophobes.



**Figure 5** : Structure cristalline du domaine protéine kinase du récepteur d'insuline à activité tyrosine kinase co-cristallisé avec un analogue de l'ATP ainsi qu'un peptide substrat (Code PDB : 1IR3). Représentation des colonnes vertébrales C-Spine (résidus en gris) et R-Spine (en rouge). Le résidu Gatekeeper est représenté en marron. La molécule analogue de l'ATP est représentée en noir.

Ceux-ci, avec plusieurs résidus partant de l'hélice  $\alpha$ F du lobe C-terminal et finissant par les feuillets  $\beta$ 3-4 du lobe N-terminal forment une « colonne vertébrale » de résidus

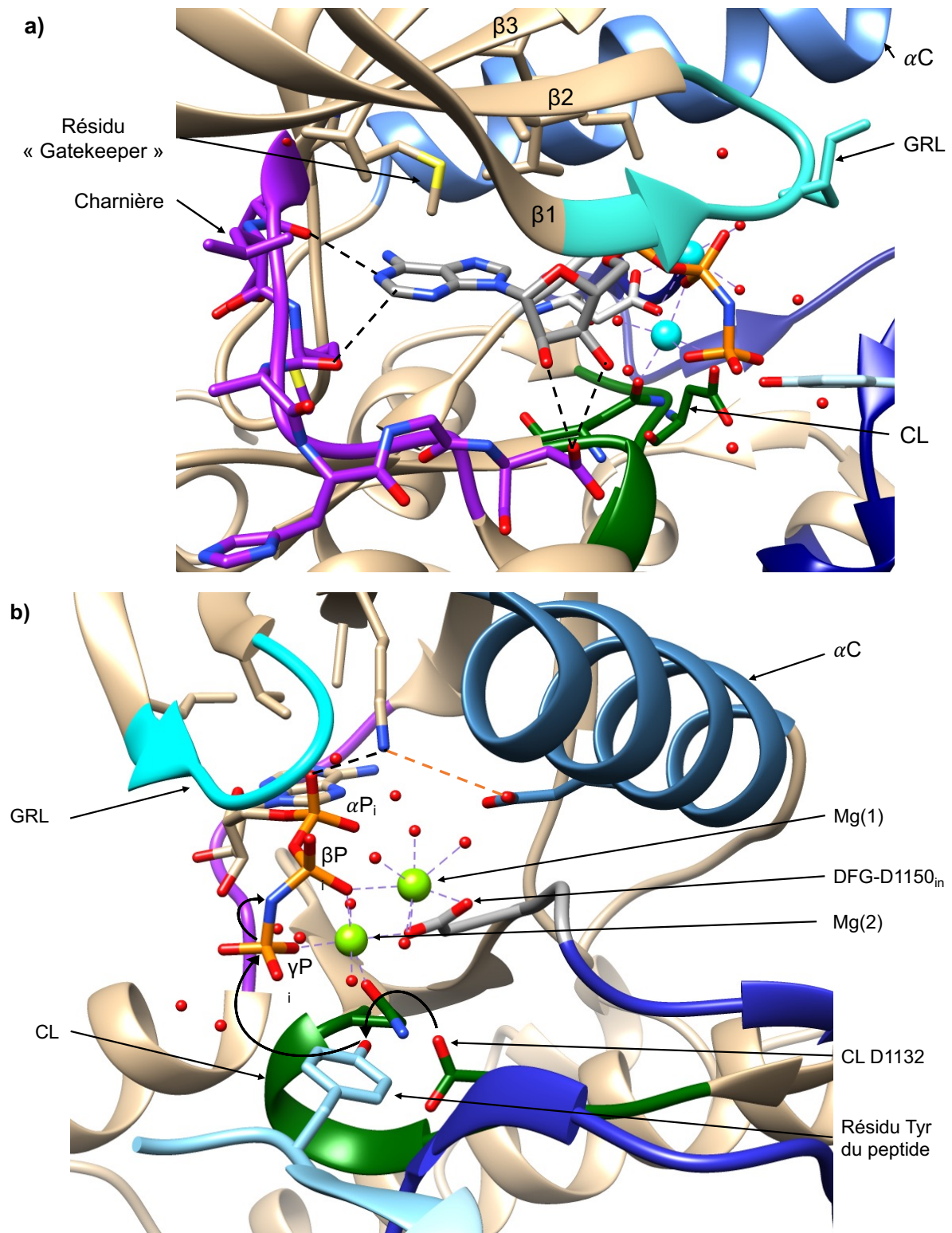
communiquant par interactions hydrophobes. Celle-ci est aussi appelée « *Catalytic spine* ». Cette colonne, accompagnée de la « *regulatory spine* » formée par des résidus entre l'hélice  $\alpha E$  et le feuillet  $\beta 4$  ont pour rôle de maintenir la structure de la protéine et de permettre à l'ATP de se lier correctement dans la poche de fixation prévue à cet effet<sup>[19]</sup> (Figure 5). La partie adénine de la poche de fixation de l'ATP est séparée par un résidu appelé « *Gatekeeper* » d'une deuxième poche hydrophobe située entre ce dernier et l'hélice  $\alpha C$ <sup>[20]</sup> (Figure 6a).

La catalyse du transfert du groupement phosphate se fait dans la partie de la poche située entre la boucle catalytique, le segment d'activation et l'hélice  $\alpha C$ . La boucle catalytique est située entre les feuillets  $\beta 1$  et  $\beta 2$  et possède trois résidus glycine, elle est pour cette raison appelée boucle riche en glycine (*glycine rich loop*, GRL sur la figure 6b). Le segment d'activation est marqué par une séquence de résidus Asp, Phe et Gly conservés, appelés de manière plus courte DFG (en gris sur la figure 6b).

Lorsque la protéine est activée, le résidu Asp (DFG-D1150, figure 6b) est positionné vers l'intérieur de la poche de fixation de l'ATP, de même pour l'hélice  $\alpha C$ . Ces deux fragments sont donc en position  $DFG_{in}$  et  $\alpha C_{in}$ <sup>[21]</sup>. Dans cette conformation, un résidu Glu de l'hélice  $\alpha C$  effectue une interaction électrostatique avec un résidu Lys du feuillet  $\beta 4$ <sup>[22]</sup>.

De son côté, le segment d'activation fait la médiation entre le résidu sur lequel va être transféré le groupement phosphate et l'ATP. Le bon positionnement des groupements phosphate de l'ATP est assuré par plusieurs résidus des différents domaines de la poche catalytique. Le résidu Asp de la séquence DFG permet la coordination des ions  $Mg^{2+}$  nécessaire à la catalyse. Un résidu Asp basique de la boucle catalytique déprotonne le résidu Tyr ou Ser/Thr en fonction du type de kinase, afin de la rendre nucléophile et ainsi effectuer une réaction de substitution nucléophile sur le phosphate  $\gamma$  de l'ATP<sup>[23]</sup> (Figure 6b).

Lorsque la protéine est en conformation inactive, le résidu Asp de la séquence DFG est orienté vers l'extérieur de la poche de fixation de l'ATP. A la place, c'est le résidu Phe volumineux qui est orienté vers l'intérieur, bloquant l'entrée de l'ATP dans la poche. De plus, l'hélice  $\alpha C$  est aussi dirigée vers l'extérieur. Le segment d'activation est lui positionné dans une conformation repliée. Ces trois facteurs réunis ne permettent pas la réaction catalytique de transfert du groupement phosphate.



**Figure 6 :** Structure cristalline du domaine protéine kinase du récepteur d'insuline à activité tyrosine kinase co-cristallisé avec un analogue de l'ATP ainsi qu'un peptide substrat (Code PDB : 1IR3). a) Agrandissement de la région de fixation de l'adénine. B) Agrandissement de la région catalytique. Les flèches courbes indiquent la cascade de réactions impliquée lors du transfert du groupement phosphate. Les liaisons hydrogène sont représentées par des pointillés noirs. Les interactions électrostatiques sont représentées par des pointillés orange. L'atome d'azote reliant les phosphates  $\beta$  et  $\gamma$  est remplacé par un oxygène sur l'ATP.

## b. Les tyrosine kinases

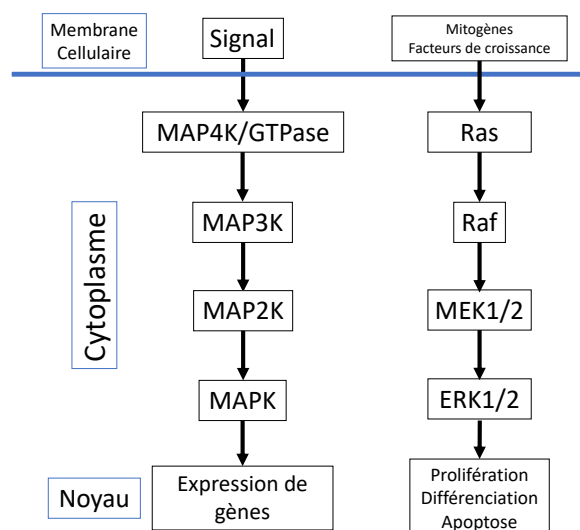
Les tyrosine kinases sont des protéines capables de phosphoryler un ou plusieurs résidus tyrosine sur la protéine cible, entraînant sa régulation, positive ou négative. Quatre-vingt-dix gènes de tyrosine kinase ont été recensés dans le génome humain. Cette catégorie de protéines peut être divisée en deux grandes classes : les Récepteurs à activité Tyrosine Kinase (RTK) et les tyrosine kinases non récepteur.

Les RTK sont des protéines transmembranaires qui permettent la réception et la reconnaissance de facteurs de croissance, entraînant l'activation des voies de signalisation associées en aval. Ce mécanisme permet la transduction et l'amplification du signal vers le noyau et la mise en route du cycle de division cellulaire. Parmi les quatre-vingt-dix gènes encodant des tyrosine kinases, cinquante-huit d'entre eux encodent plus particulièrement des RTK. Parmi ceux-ci, on retrouve les plus connus comme ceux de la famille des ErbB ou des récepteurs de facteurs de croissance épidermique (EGFR). Cette classe de récepteurs est largement impliquée dans la prolifération cellulaire. Pour cette raison, plusieurs mutations de ce récepteur ont été observées dans différents cancers<sup>[24]</sup>. Ainsi, une surexpression de l'EGFR associée à l'amplification du gène correspondant a été observée dans les tumeurs malignes du cerveau<sup>[25]</sup>. Parmi les RTK, on retrouve aussi la classe des *fibroblast growth factor receptor* (FGFR). Ces protéines sont impliquées dans la régulation de la prolifération cellulaire, la migration et la différenciation durant le stade embryonnaire. Chez l'adulte, ces récepteurs sont associés à la réparation des tissus et à la réponse aux blessures ainsi que la transduction du signal neuronal<sup>[26]</sup>. Dans le développement tumoral, les FGFR peuvent être dérégulés de plusieurs manières : par mutation, fusion de gènes ou amplification de gènes<sup>[27]</sup>. La catégorie des récepteurs de facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGFR) participe quant à elle principalement à la régulation de l'angiogenèse, c'est-à-dire à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins. La signalisation impliquant ces récepteurs est particulièrement active durant le stade embryonnaire, la croissance du squelette et des fonctions reproductives<sup>[28]</sup>. La présence de VEGFR dans différentes tumeurs a été observée, celles-ci contribuant au développement et à la prolifération des cellules cancéreuses par une communication autocrine<sup>[29]</sup>.

### c. Les protéine kinases dépendantes des cyclines

Les protéine kinases dépendantes des cyclines (CDK) font partie d'une classe importante de sérine-thréonine kinases. Ces petites protéines (34-40 kDa) sont en majeure partie impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire. Toutefois, elles sont aussi impliquées dans la transcription de gènes ou bien encore dans la différenciation de cellules nerveuses. Ces kinases ont un fonctionnement particulier puisqu'elles nécessitent la liaison de protéines appelées cyclines pour être activées. La cycline va permettre la libération de la partie catalytique de la CDK et ainsi contribuer à son activation. Les CDK doivent toutefois être phosphorylées par des kinases activatrices de CDK ou « *CDK-activating-kinases* » pour être totalement activées. Durant le cycle de division cellulaire, les CDK, en particulier CDK1 et 2 sont impliquées dans la phosphorylation de plusieurs centaines de protéines, démontrant le rôle central des CDK dans ce processus<sup>[30]</sup>. Il n'est donc pas surprenant que la dérégulation des CDK soit reliée à de nombreux cancers. En effet, la surexpression de CDK6 due à des translocations a été observée dans certaines leucémies<sup>[31]</sup>. Une mutation menant à l'absence de liaison avec un inhibiteur des CDK4/6, INK4 a été observée dans le développement tumoral, en particulier dans certains mélanomes<sup>[32]</sup>.

### d. Les voies de signalisation MAPK



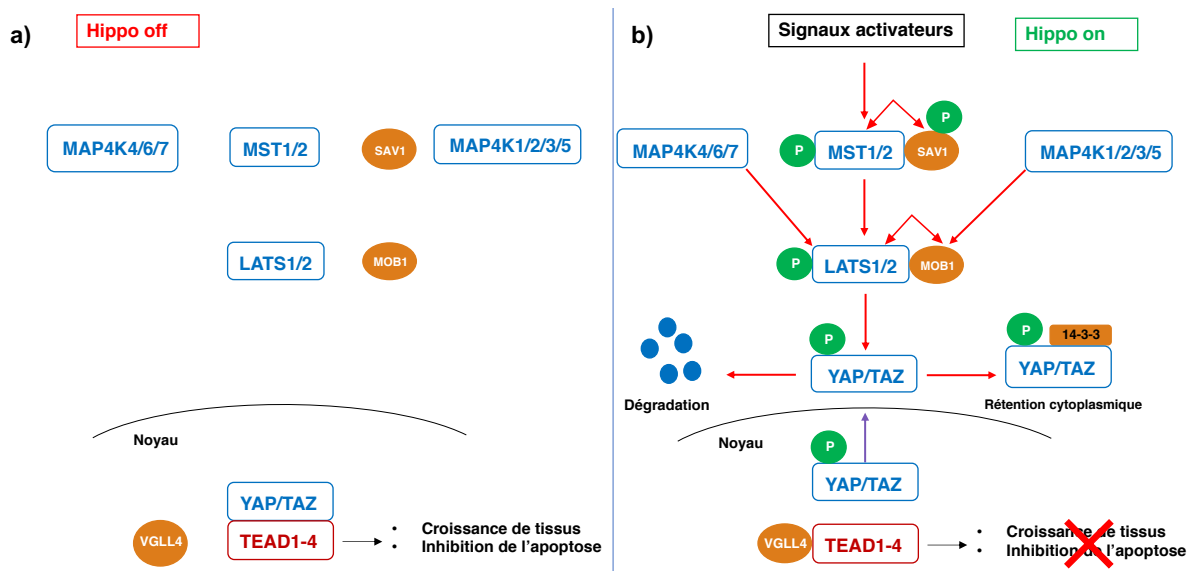
**Figure 7 :** Représentation générale de la signalisation impliquant les MAPK et voie de signalisation impliquant la cascade de kinases MAPK et de la voie de la MAPK ERK1/2. D'après Dhillon et al.<sup>[33]</sup> et Roskoski Jr.<sup>[34]</sup>.

Les « *Mitogen-activated protein kinases* » (MAPK) sont une famille de protéine kinases impliquées dans plusieurs voies de signalisation cellulaire. Cette famille de protéines kinases a été étudiée en détail. Elle peut être divisée en plusieurs sous-groupes, dont les plus connus sont ERK1/2, JNK1/2/3 ou encore les protéines p38. Ces protéines sont généralement les composants finaux d'une cascade de kinase regroupant les MAPK qui sont activées par des MAPK kinases (MAPKK), elles-mêmes activées par des MAPKK kinases (MAPKKK). Les MEK ont la particularité d'être à double spécificité, c'est-à-dire qu'elles sont capables de phosphoryler des protéines sur des résidus tyrosine ainsi que sérine/thréonine. Les différentes cascades de signalisation peuvent être activées par différents stimuli extracellulaires. Dans le cas de la cascade ERK1/2 par exemple, l'activation se fait par des facteurs de croissance ou bien des mitogènes, des protéines induisant l'activation du cycle cellulaire<sup>[35]</sup> (Figure 7). Ces cascades de protéine kinases sont donc impliquées dans la régulation de l'expression de gènes en fonction de stimuli extérieurs<sup>[36]</sup>, mais aussi d'autres activités cellulaires. ERK1/2 est impliqué dans la régulation de la prolifération cellulaire en stimulant la synthèse d'ADN par activation de protéines associées à la synthèse de nucléotides<sup>[37]</sup>. Les MAPK participent aussi à la progression du cycle cellulaire<sup>[38]</sup> ainsi qu'au contrôle de la survie puisqu'elles sont reliées à l'induction de l'apoptose<sup>[39]</sup>. Ces rôles multiples font que la dérégulation des cascades de signalisation MAPK ou les composants en amont des voies de signalisation sont critiques dans la formation et la propagation du cancer. En effet, il a été montré qu'une surexpression ou une mutation des composants de la voie activant la cascade RAF-MEK1/2-ERK1/2 était nécessaire pour conduire à la formation du cancer<sup>[40]</sup>. B-RAF, le gène exprimant la MAPKKK de cascade RAF-MEK1/2-ERK1/2 est muté dans différents cancer et plus particulièrement dans 65% de mélanomes<sup>[41]</sup>. Des mutations de la GTPase activant la cascade citée précédemment ont été montrées, provoquant une activation aberrante de la voie associée<sup>[42,43]</sup>.

### III. La voie de signalisation Hippo

#### a. Les composants du noyau de la voie Hippo

La croissance et le modelage des tissus sont deux processus centraux liés à la mise en forme d'un organe. L'origine de ces deux phénomènes a longtemps été difficile à déterminer, mais la fin du XXe siècle et le début du XXIe siècle ont vu la découverte de plusieurs voies de signalisation impliquées dans le contrôle de la taille et de la forme des organes. Notamment, la découverte de la voie Hippo a permis une avancée considérable de cette branche de la recherche. Les composants centraux de cette voie de signalisation ont tout d'abord été découverts chez la drosophile *Drosophila melanogaster*.



**Figure 8 :** Représentation schématique des composants du noyau de la voie Hippo a) Lorsque la voie Hippo est désactivée, les co-facteurs de transcription YAP/TAZ se lient à différents facteurs de transcriptions, le principal étant TEAD1/2/3/4 pour activer la transcription de gènes favorisant la prolifération cellulaire. b) Lorsque Hippo est activée, la phosphorylation successive des kinases de la cascade de kinases permet leur activation. LATS1/2 phosphorylent YAP/TAZ et promeuvent leur sortie du noyau, afin d'être retenus dans le cytoplasme ou dégradés.

Le cœur de la voie de signalisation est composé de quatre protéines agissant comme suppresseurs de tumeurs : *warts*<sup>[44]</sup>, *salvador*<sup>[45]</sup>, *hippo*<sup>[46,47]</sup>, et *mob as tumor suppressor*<sup>[48]</sup>. Il a ensuite été montré que cette cascade de kinases, où Hippo phosphoryle *warts* pour l'activer, a pour cible le coactivateur transcriptionnel Yorkie (Yki)<sup>[49]</sup>, et le substrat facteur de transcription auquel se lie Yki, Scalloped<sup>[50,51]</sup>. Par intervention des kinases de Hippo, l'activité de Yki et Sd est réprimée. La démonstration de l'existence d'une voie Hippo analogue dans les mammifères a été



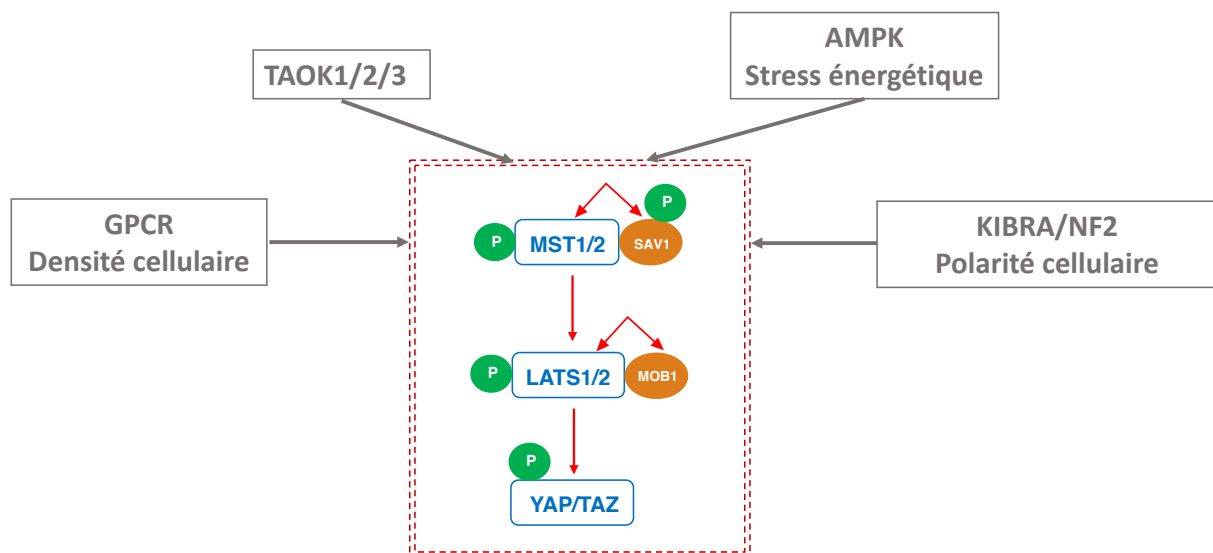
faite un peu plus tard<sup>[52]</sup>. Lorsque la Mammalian Ste20-like Kinase MST1/2 (Hpo chez la drosophile) est activée par phosphorylation sur les résidus T183/T180<sup>[53]</sup>, elle forme un homodimère avec assistance du co-facteur SAV1 (Sav chz la drosophile) afin d'effectuer une transphosphorylation, ce qui mène à l'activation de la kinase<sup>[54]</sup>. MST1/2 activée phosphoryle la kinase LATS1/2 (wts chez la drosophile), qui est activée à la suite d'une autophosphorylation<sup>[55]</sup>. Il a aussi été montré que les MAP4K ou MAPKKKK activaient LATS par phosphorylation de manière complémentaire ou en remplacement de MST1/2 dans certaines situations. L'invalidation génétique ou knock-out de MAP4K dans les cellules HEK293A a montré une baisse drastique de la phosphorylation de YAP par LATS en réponse à des signaux d'inhibition de contact ou encore de stress énergétique (Figure 8). Toutefois, il faut le knock-out à la fois des MAP4K et de MST1/2 pour abolir totalement la phosphorylation de YAP dans ce contexte<sup>[56]</sup>. Cette cascade de kinase, centrale dans la voie Hippo, permet la régulation des co-facteurs transcriptionnels YAP et TAZ. Lorsque YAP/TAZ sont actifs, ils sont présents dans le noyau cellulaire. Ces co-facteurs sont capables de se lier à plusieurs facteurs transcriptionnels de l'ADN<sup>[57-60]</sup>. Toutefois, il apparaît que les cibles prioritaires de YAP sont les protéines TEAD1/4<sup>[61-64]</sup>. Ce complexe YAP/TEAD ou TAZ/TEAD permet la régulation de plusieurs gènes cibles<sup>[50,62]</sup>. Parmi ceux-ci, on retrouve les gènes BIRC5, inhibiteur de l'apoptose<sup>[52]</sup>, CTGF, gène associé à l'adhésion cellulaire, la migration ou encore la prolifération<sup>[63,65]</sup> ou bien encore AREG, un membre de la famille des EGF promouvant la prolifération cellulaire<sup>[66]</sup> (Figure 8b). Lorsque la cascade de kinases de la voie Hippo est activée, YAP est phosphorylé sur le résidu S127<sup>[52]</sup>. Cette phosphorylation induit l'extraction du co-facteur phosphorylé du noyau. YAP peut ensuite soit être retenu dans le cytoplasme par liaison avec la protéine 14-3-3 ou bien être dégradé par les ubiquitines ligases E3 après phosphorylation sur le résidu S381<sup>[67]</sup>.

#### b. Facteurs d'activation de la voie Hippo

La voie Hippo est impliquée dans plusieurs mécanismes liés à la prolifération cellulaire, à la gestion de la taille et la forme des organes ou encore la différenciation cellulaire. La cascade de kinases centrale de la voie Hippo démarre avec la phosphorylation de MST1/2 par les kinases TAO1/2/3, protéines reliées à l'induction



de l'apoptose chez la drosophile<sup>[68]</sup>. D'autre part, la voie Hippo peut être activée par une multitude de signaux, qui peuvent être indépendants de l'activation de MST1/2. Chez la drosophile, la voie Hippo est activée par une coopération entre les protéines issues des gènes suppresseurs de tumeur Merlin, Expanded ainsi que Kibra<sup>[69,70]</sup>. Les jonctions adhérentes, complexes de plusieurs protéines faisant la jonction entre les cellules sont aussi reliées à la régulation de YAP. En effet, ces jonctions sont régulées par une voie impliquant la cadhérine-E puis NF2 (Merlin chez la drosophile), KIBRA et LATS1/2<sup>[71]</sup>. La régulation de la polarité cellulaire<sup>[69]</sup>, la densité cellulaire par l'intermédiaire des GPCR<sup>[72]</sup> sont aussi à l'origine de l'activation de la voie Hippo. Le déficit d'énergie correspondant à une hausse du rapport AMP : ATP, active la protéine kinase AMPK qui par l'intermédiaire de la protéine *angiomotin-like 1* (AMOTL1) permet la promotion de LATS1/2 et dans le même temps la désactivation de YAP<sup>[73-75]</sup>(Figure 9).



**Figure 9 :** Vue d'ensemble de facteurs activateurs de la voie Hippo.

### c. Implication de dérégulations de la voie Hippo dans le cancer

Le cancer est marqué par le dérèglement des processus régulant la croissance et la prolifération des tissus. Il a été démontré que la voie Hippo joue un rôle central dans ces mécanismes. La dérégulation de la signalisation de Hippo est donc logiquement reliée à l'apparition et au développement de tumeurs ainsi qu'à d'autres pathologies. En particulier, les mutations ou expressions aberrantes de YAP, le co-

facteur central de la voie Hippo ont beaucoup été étudiées. La relation de YAP avec la formation de tumeur a été observée dans des cultures cellulaires en conjonction avec la perte de p53, facteur de transcription régulant entre autres l'apoptose et la surexpression de c-myc, un oncogène cible de YAP, lorsqu'il est surexprimé<sup>[76,77]</sup>. Le potentiel d'oncogène de YAP a aussi été démontré chez la souris, puisqu'une surexpression de YAP entraîne la prolifération des cellules progénitrices, cellules issues de la division de cellules souches mais n'étant pas encore différenciées, et la perte de la différenciation<sup>[52,78]</sup>. Cette perte de différenciation est en générale associée aux cancers à mauvais pronostic. Par ailleurs, l'amplification du gène de YAP<sup>[66,76,79-83]</sup> ainsi que la surexpression du cofacteur ont été observées dans plusieurs cancers murins et humains, tels que le cancer pulmonaire, ovarien, pancréatique, colorectal, hépatocellulaire ou dans les carcinomes de la prostate<sup>[52,84]</sup>. La dérégulation de composants de la voie Hippo, régulateur de YAP, sont aussi impliquée dans le cancer. La mutation de NF2, protéine activant la cascade de kinases, est associée avec le cancer<sup>[85]</sup>. Il a aussi été montré que la perte de NF2 permet à la cellule de passer outre les mécanismes d'inhibition du contact cellulaire régulant leur densité<sup>[86]</sup>. Des mutations des kinases de la voie Hippo affectent aussi particulièrement le caractère cancéreux des cellules, du fait de la place centrale qu'elles occupent dans la régulation de YAP. Une hyperméthylation des gènes de MST1/2 et LATS1/2, résultant en la sous-expression de ces protéine kinases a été observée dans des études sur certains sarcomes ainsi que sur l'astrocytome, un type de cancer du cerveau, ainsi que dans le cancer du sein<sup>[87-89]</sup>. Une baisse de l'expression de MST1/2 dans le cancer de la prostate et le cancer colorectal a aussi été observée<sup>[90,91]</sup>. La voie Hippo intervient aussi dans la régulation de l'apoptose. En particulier lors du détachement de la matrice cellulaire, un mécanisme d'apoptose est activé, l'anoïkis. Dans les cancers métastatiques, les mécanismes d'anoïkis ont tendance à être inhibés. La désactivation de YAP fait partie de ces mécanismes. Il a été observé que le taux d'expression de LATS1/2 est inférieur dans le cas du cancer de la prostate métastatique en comparaison du cancer non-métastatique<sup>[92]</sup>.

## IV. Les inhibiteurs de protéine kinases

Comme ceci a été indiqué précédemment, les protéine kinases sont au centre de la dérégulation cellulaire amenant au cancer. L'implication de ces composants importants de la signalisation cellulaire peut être soit directe, par mutation de la protéine en question, altérant son fonctionnement ou provoquant sa surexpression, soit indirecte, par mutation d'un autre composant de la voie de signalisation en aval entraînant une activation non régulée par exemple. Ces protéines sont donc devenues des cibles majeures pour les traitements contre plusieurs maladies, dont en grande partie le cancer. Depuis l'imatinib, premier inhibiteur développé avec le but de cibler une kinase, 67 inhibiteurs de kinases ont été approuvés pour une utilisation en traitement clinique par la FDA américaine<sup>[93]</sup>. Parmi ces molécules, il est étonnant d'observer que la grande majorité sont des inhibiteurs de tyrosine kinases, en particulier de RTK, alors que la majorité du kinome humain est composé de Ser/Thr kinases. 51 inhibiteurs agissent sur la classe des tyrosine kinases, 12 inhibiteurs ciblent les sérine/thréonine kinases et enfin les 4 derniers ciblent les kinases MEK1/2, qui sont à double spécificité (Figure 10). Cette catégorie de molécules est divisée en plusieurs sous-groupes, en fonction du site de fixation ainsi que du type de liaisons avec la protéine effectuées.

### a. Types d'inhibiteurs de kinase

La famille des inhibiteurs de kinase est divisée en plusieurs sous-groupes. L'appartenance à un sous-groupe dépend de la conformation (active ou inactive) de la kinase auquel l'inhibiteur se lie, ou encore du caractère compétitif de l'ATP ou non de molécule. Un premier classement a été établi par Dar et Shokat<sup>[94]</sup>, dans lequel ils décrivaient trois types différents d'inhibiteurs de kinase. Les inhibiteurs de type I se lient à la forme active de la kinase caractérisée par une hélice  $\alpha C$  en conformation « *in* », un segment DFG lui aussi en conformation « *in* » ainsi qu'une « *R-spine* » en conformation linéaire<sup>[17]</sup>.

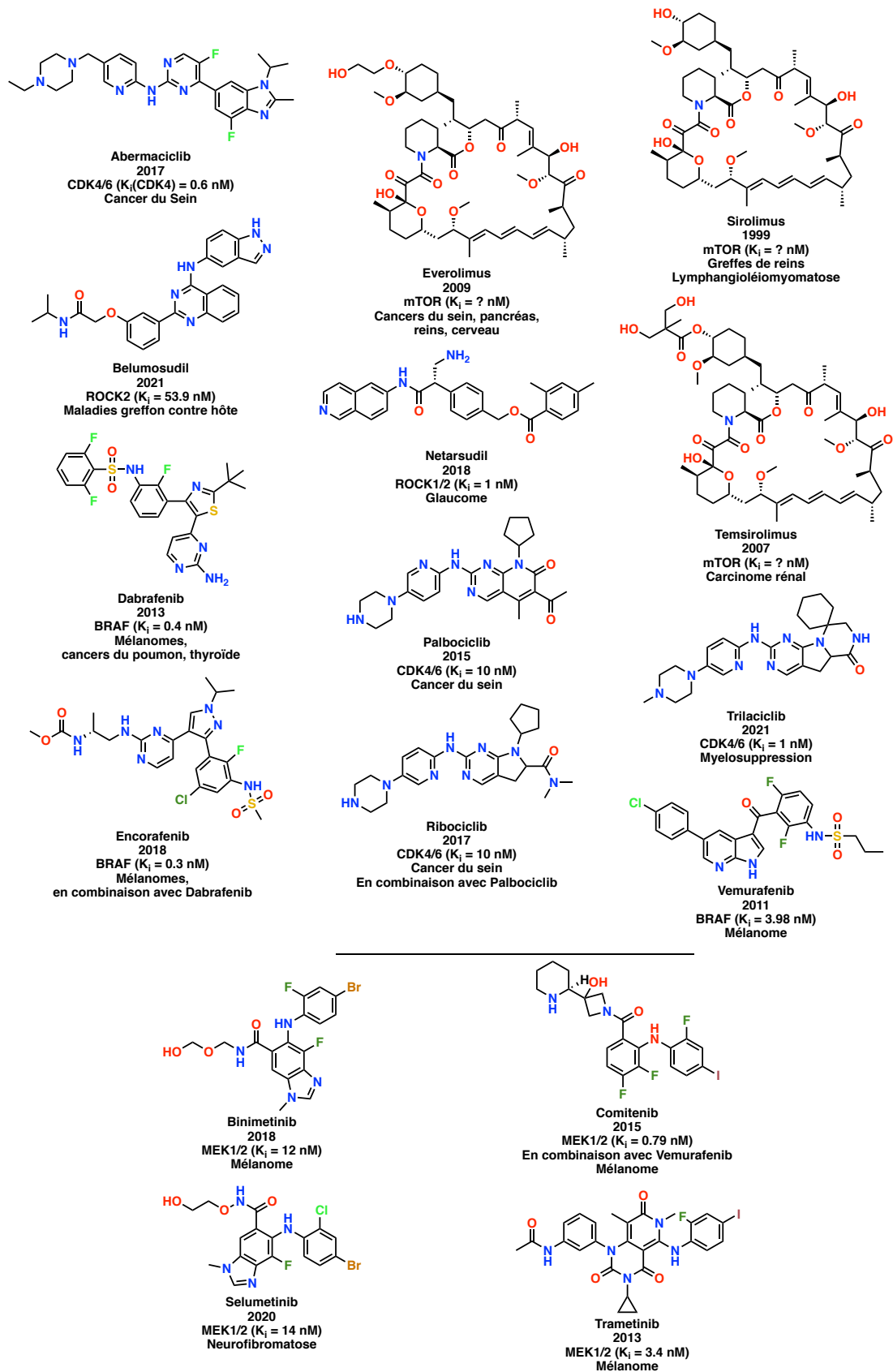
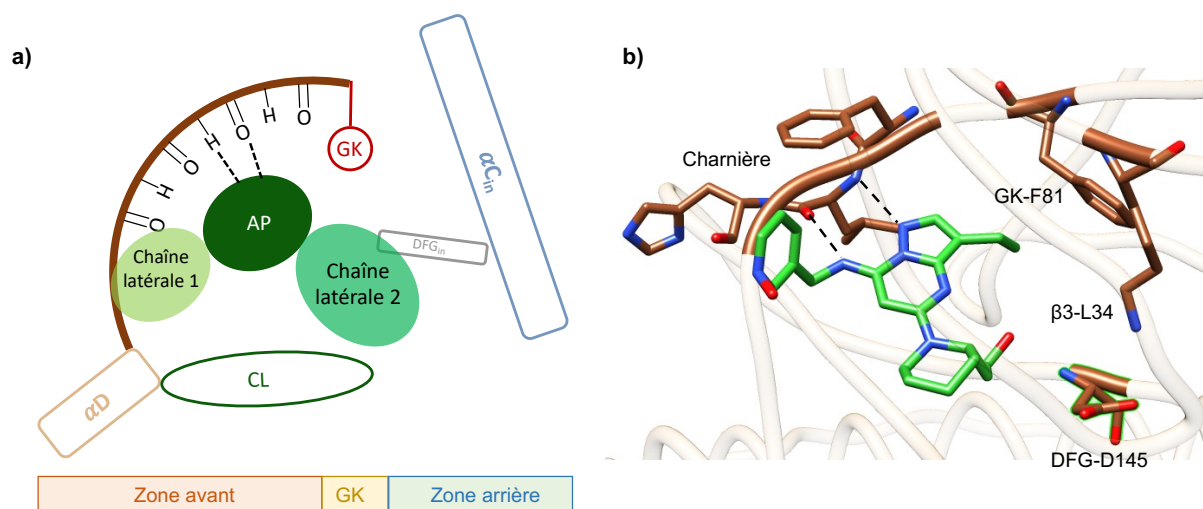


Figure 10 : Inhibiteurs de sérine/thréonine kinases approuvés par la FDA. D'après Roskoski Jr. : <http://www.brimr.org/PKI/PKIs.html>.

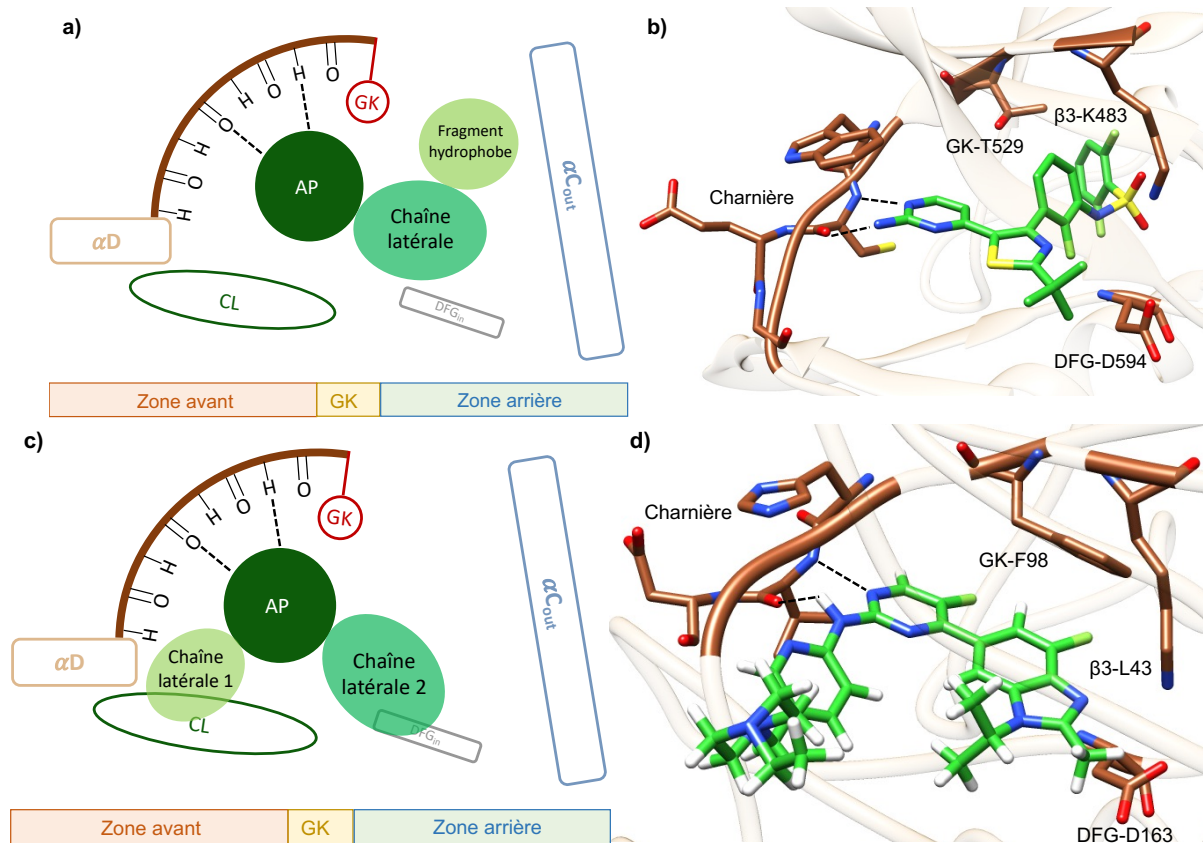
Ces molécules sont compétitives de l'ATP, elles prennent la place de l'adénine dans la poche de fixation de l'ATP et font des liaisons hydrogène avec un ou plusieurs résidus de la partie charnière de la kinase grâce, en général, à un fragment hétérocyclique central. L'affinité de l'inhibiteur est renforcée par les interactions hydrophobes entre les substituants de la molécule et les résidus des feuilletts  $\beta$  de la partie N-terminale de la kinase.



**Figure 11** : a) Schéma général du mode de fixation d'inhibiteurs de type I. AP : poche adénine ; CL : boucle catalytique ; GK : « gatekeeper ». Les mêmes abréviations sont reprises pour les figures suivantes. b) Structure co-cristalline de l'inhibiteur Palbociclib (vert) dans la kinase CDK6. Les liaisons hydrogène sont représentés par des pointillés noirs. Les résidus importants sont représentés en brun. Code PDB : 5L2I.

Autour de cet hétérocycle ou ce polyhétérocycle, on retrouve des chaînes latérales occupant le reste de la partie avant de la poche<sup>[95,96]</sup> (Figure 11). Un inconvénient de ce type d'inhibiteurs de kinases est son manque de sélectivité. En effet, la poche de fixation de l'ATP est relativement conservée entre les différentes kinases du kinome, les effets « off-target » sont donc assez fréquents lors de l'utilisation de ces molécules. On note par exemple la possible détérioration des fonctions cardiaques lors de leur utilisation en clinique.

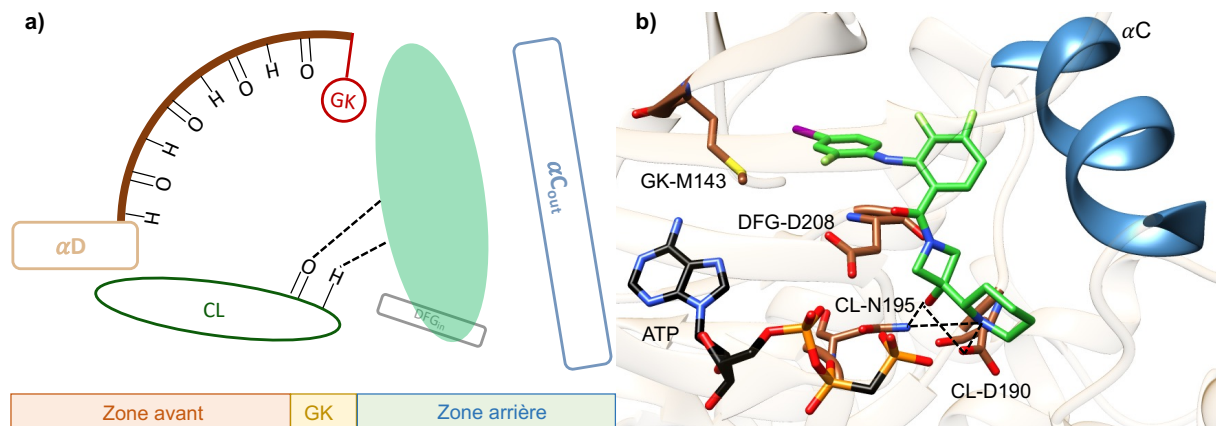
Les mêmes auteurs ont ensuite décrit les inhibiteurs de type II comme des molécules elles aussi compétitives de l'ATP, mais interagissant avec la conformation inactive de la kinase, caractérisée par un segment DFG dans lequel le résidu Asp est en position « out », et l'hélice  $\alpha C$  elle aussi en conformation « out ».



**Figure 12 :** a) Schéma général du mode de fixation d'inhibiteurs de type I1/2A. b) Structure co-cristalline de l'inhibiteur Dafrafenib (vert) dans la kinase B-RAF. Les liaisons hydrogène sont représentés par des pointillés noirs. Les résidus importants sont représentés en brun. Code PDB : 5CSW. c) Schéma général du mode de fixation d'inhibiteurs de type I1/2B. d) Structure co-cristalline de l'inhibiteur Abemaciclib (vert) dans la kinase CDK6. Les liaisons hydrogène sont représentés par des pointillés noirs. Les résidus importants sont représentés en brun. Code PDB : 5L2S.

Dar et Shokat ont ensuite décrit un troisième type d'inhibiteur. Ces inhibiteurs de type III ne sont pas compétitifs de l'ATP puisqu'ils sont considérés comme se fixant à un site allostérique de la protéine, n'étant donc pas le site de fixation de l'ATP. Plus tard, Zucotto et coll. ont ajouté une nouvelle classe d'inhibiteurs. Les inhibiteurs de type I1/2 se lient à une conformation inactive de la molécule comme les inhibiteurs de type II; en revanche, le résidu Asp du segment DFG est lui en position « in » (Figure 12). Enfin, Roskoski Jr. a divisé les inhibiteurs de type I1/2 et II en deux nouvelles sous-catégories : les types A et B. Les types I1/2A et IIA possèdent un fragment allant se placer dans les poches hydrophobes décrites par Van Linden et al.<sup>[97]</sup> situées entre le résidu « Gatekeeper », l'hélice  $\alpha C$  et le segment DFG. Les inhibiteurs de type I1/2B et IIB ne possèdent pas de fragment hydrophobe interagissant avec ces poches (Figure 12, c)). Les inhibiteurs allostériques ont aussi été divisés en deux types différents en fonction de l'emplacement de leur liaison<sup>[98]</sup>. Les inhibiteurs de type III se fixent dans les poches hydrophobes adjacentes à la poche de fixation de l'ATP (Figure 13). Les

inhibiteurs de type IV se fixent quant à eux sur un site différent, plus lointain que celui qui est adjacent à la poche adénine.



**Figure 13** : a) Schéma général du mode de fixation d'inhibiteurs de type III. b) Structure co-cristalline de l'inhibiteur Cobimetinib (vert) dans la kinase MEK1. Les liaisons hydrogène sont représentées par des pointillés noirs. Les résidus importants sont représentés en brun. Code PDB : 4AN2.

Les inhibiteurs de type V sont les inhibiteurs bivalents, se fixant à la fois à la poche de fixation de l'ATP et au site de fixation du substrat devant être phosphorylé grâce à un peptide. Les deux ligands sont séparés par un espaceur<sup>[99]</sup>. Enfin, les inhibiteurs de type VI se lient de manière covalente avec des résidus de la protéine, en général des résidus soufrés tels que des cystéines. L'activité inhibitrice de ces composés a la particularité d'être irréversible en raison du caractère covalent de la liaison, au contraire des autres types, impliqués dans l'inhibition de la protéine par liaisons hydrogène<sup>[100]</sup>.

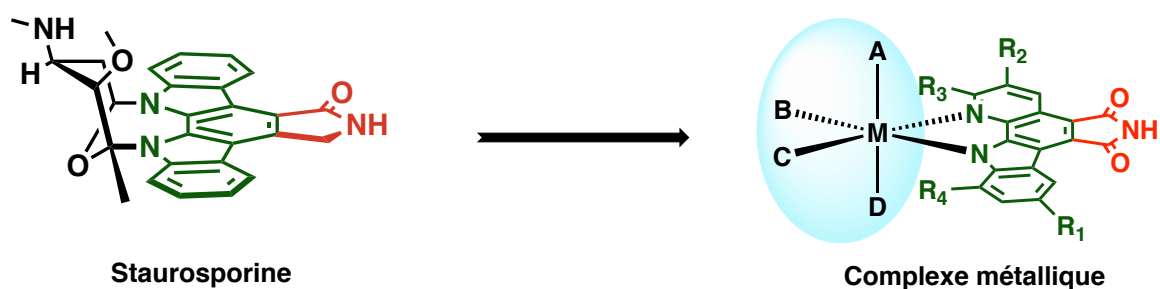
## b. Inhibiteurs de kinases basés sur des complexes métalliques

L'utilisation des complexes métalliques en biologie, et plus spécifiquement dans le domaine de la recherche anti-cancéreuse, est devenue courante. En effet, depuis la première utilisation d'un complexe métallique, le cisplatine, pour le traitement de certains cancers<sup>[101]</sup>, la recherche de nouveaux complexes innovants visant à augmenter le rapport efficacité/effets secondaires n'a pas cessé de croître<sup>[102]</sup>. Dans la plupart des cas, le métal est l'élément central de la cytotoxicité du composé. Dans le cas du cisplatine par exemple, la labilité des ligands permet au métal de créer des adduits par coordination avec les groupements guanine de l'ADN, provoquant ainsi des défauts qui enclenchent le processus de mort cellulaire s'ils ne sont pas réparés

par la cellule. Les propriétés photochimiques ainsi que leurs potentiels d'oxydo-réduction sont aussi utilisés à des fins thérapeutiques, en particulier les composés à base de ruthénium<sup>[103,104]</sup>. Depuis le début des années 2000, le développement de complexes métalliques dont l'intérêt réside dans leurs aspects structuraux plutôt que leur réactivité a été mis en œuvre. En effet il a pu être montré que la synthèse de composés robustes en milieu biologique pouvait permettre l'inhibition ciblée d'enzymes<sup>[105]</sup>, en particulier, de protéine kinases. Les métaux lourds tels que le ruthénium, l'iridium, l'osmium ou encore le platine peuvent former des complexes extrêmement stables en milieu biologique lorsque les ligands appropriés sont utilisés. Il est donc peu surprenant de voir que les inhibiteurs de kinases inorganiques, molécules dont la maîtrise des aspects structuraux est essentielle, qui ont été développés jusqu'à présent, soient basés sur ces métaux. Plusieurs avantages peuvent être dégagés de l'utilisation d'inhibiteurs basés sur des métaux par rapport à des d'inhibiteurs purement organiques. La capacité des métaux à adopter plusieurs géométries : carré plan, tétraédrique ou octaédrique, permet la synthèse de composés aux aspects structuraux très différents de ceux des composés purement organiques. D'autre part, l'utilisation de complexes de coordination permet d'accéder plus facilement à des molécules volumineuses pour venir occuper la poche de fixation de l'ATP de l'enzyme par rapport aux inhibiteurs organiques qui sont le plus souvent basés sur des molécules planes.

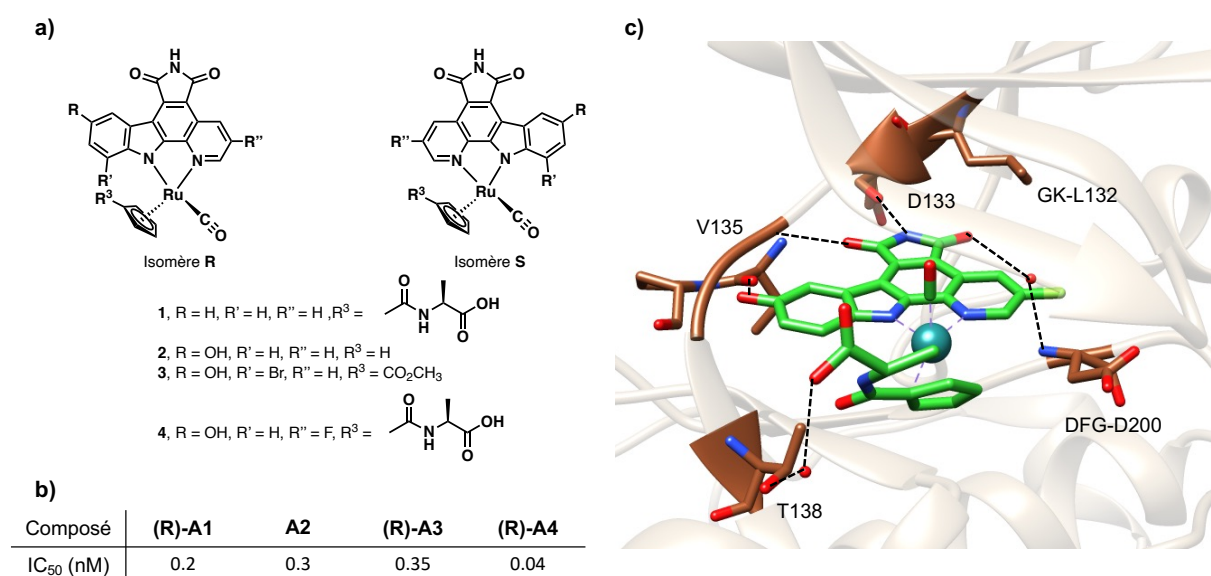
Parmi les inhibiteurs organiques possédant une géométrie globulaire, la staurosporine est certainement la plus connue. Cette molécule est un alcaloïde microbien découvert pour la première fois en 1977<sup>[106]</sup>. L'inhibition de plusieurs protéine kinases par la staurosporine a ensuite été montrée<sup>[107,108]</sup>; toutefois, son manque de sélectivité l'a rendue inapte pour une utilisation clinique<sup>[109]</sup>. Afin de réduire ce manque de sélectivité, plusieurs analogues ont été synthétisés<sup>[110,111]</sup> mais la préparation de ces molécules complexes est limitée par le nombre élevé d'étapes de synthèse nécessaires. Il a été montré que la synthèse de complexes métalliques mimant les aspects structuraux de la staurosporine permettait de contourner les limites montrées par les inhibiteurs organiques. Ces difficultés comprennent le manque de sélectivité de certains inhibiteurs envers une cible précise, et surtout le nombre élevé d'étapes de synthèse permettant l'obtention de séries de composés analogues. C'est dans ce contexte que s'inscrit le travail de Eric Meggers (Figure 14).





**Figure 14** : Approche développée par E. Meggers pour générer des complexes métalliques mimant les aspects structuraux de la staurosporine<sup>[112]</sup>.

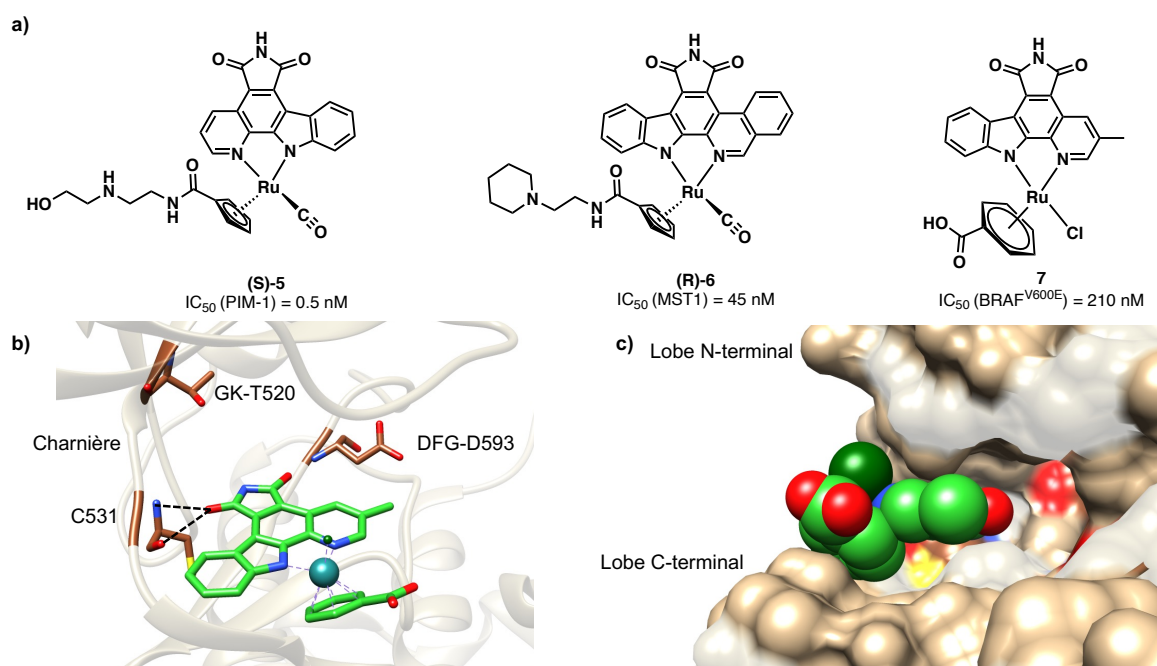
Meggers et coll. ont décrit la synthèse de plusieurs inhibiteurs de kinases à base de ruthénium. Ces inhibiteurs sont construits autour de ligands bidentates azotés, notamment un ligand pyridocarbazole.



**Figure 15** : a) Complexes de Ru(II) utilisés pour l'inhibition de la kinase GSK3 $\alpha$ . b) Valeurs de l'IC<sub>50</sub> obtenues in vitro par test d'inhibition de la kinase GSK3 $\alpha$ . Les valeurs sont calculées à partir de la phosphorylation d'un peptide substrat en présence de 100  $\mu$ M d'ATP. c) Structure co-cristalline du composé (R)-4 (vert) dans la kinase GSK3 $\alpha$ . Les liaisons hydrogène sont représentés par des pointillés noirs. Les résidus importants sont représentés en brun. Code PDB : 2JLD.

Une série d'inhibiteurs de la kinase GSK3 $\alpha$  et de son isoforme GSK3 $\beta$  ont été développés par Meggers et al.<sup>[113–116]</sup> (Figure 15). Ces complexes sont inspirés de la famille des complexes demi-sandwich, avec un ligand cyclopentadiényle coordinant le métal, accompagné du ligand pyridocarbazole central. Un ligand CO complète la sphère de coordination du ruthénium. Cette série de composés fait partie de la classe des inhibiteurs compétitifs de l'ATP. En effet, comme le montre la structure co-cristalline du composé (R)-4 dans GSK3, le complexe se positionne dans la poche avant décrite précédemment, à l'emplacement où se fixe normalement le fragment adénine de l'ATP. Le ligand pyridocarbazole interagit par des liaisons hydrogène avec

la partie charnière de la kinase, notamment avec les résidus D133 et V135. On observe aussi que le fragment maléimide effectue une liaison hydrogène avec le résidu Asp 200 par l'intermédiaire d'une molécule d'eau. Le substituant hydroxyle du ligand pyridocarbazole coordinant le métal sur **(R)**-**4** effectue lui aussi une liaison hydrogène avec le résidu Val 135 de la charnière. Le ligand cyclopentadiényle est lui substitué par un ester méthylique qui est impliqué dans une liaison hydrogène avec le résidu Thr 138 de l'espaceur entre la charnière et l'hélice  $\alpha$ D *via* une molécule d'eau. Le ligand CO remplit l'espace créé par les résidus hydrophobes des feuilletts  $\beta$  du domaine N-terminal. Enfin le fluor du ligand pyridocarbazole interagit avec les résidus des feuilletts  $\beta$  par contacts hydrophobes. Globalement, ces interactions diverses permettent une affinité très élevée avec la protéine kinase, expliquant les  $IC_{50}$  obtenues très faibles. La suppression d'une liaison sur les autres composés mène à l'augmentation de l' $IC_{50}$ . La kinase GSK3 est impliquée dans la régulation négative de la voie Wnt responsable de la gestion de la prolifération cellulaire. Le composé **2** a montré une activité *in vivo*, en inhibant GSK3 dans des cellules de mélanomes, conduisant à l'induction de l'apoptose<sup>[115]</sup>.

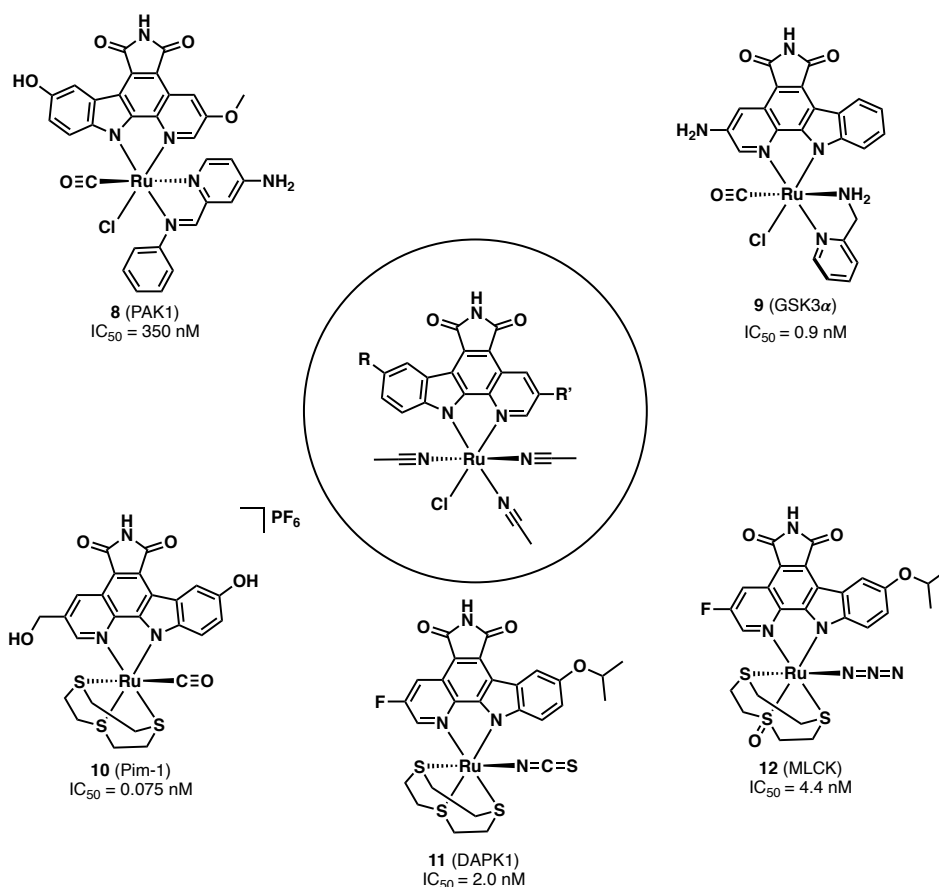


**Figure 16** : a) Inhibiteurs des kinases Pim-1, MST1 et BRAF<sup>V600E</sup>. b) Structure co-cristalline du composé **7** (vert) dans la kinase BRAF (WT). Les liaisons hydrogène sont représentés par des pointillés noirs. Les résidus importants sont représentés en brun. Code PDB : 3Q4C. c) Structure co-cristalline du composé **7** (vert) dans la kinase BRAF (WT). Représentation en potentiel électrostatique de surface de la protéine BRAF. Les atomes du complexe sont représentés sous forme de sphères.

Des composés analogues, utilisant le même squelette pyridocarbazole-cyclopentadiényle-CO, ont été décrits ensuite. Ces composés différaient de ceux décrits

comme inhibiteurs de GSK3 par les substituants entourant le ligand pyridocarbazole ainsi que cyclopentadiényle. Il a été montré que des variations des substituants pouvaient avoir un effet notable sur la sélectivité des composés. En modifiant le substituant sur le cyclopentadiényle du composé **1**, inhibant le plus activement GSK3, la sélectivité du complexe a pu être modifiée pour obtenir l'espèce **5**, inhibiteur de Pim-1<sup>113</sup>. Ainsi, d'autres composés inhibant Pim-1<sup>116</sup>, ou d'autres protéines telles que MST1<sup>[118]</sup> ou BRAF<sup>[119]</sup> ont été synthétisés (Figure 16).

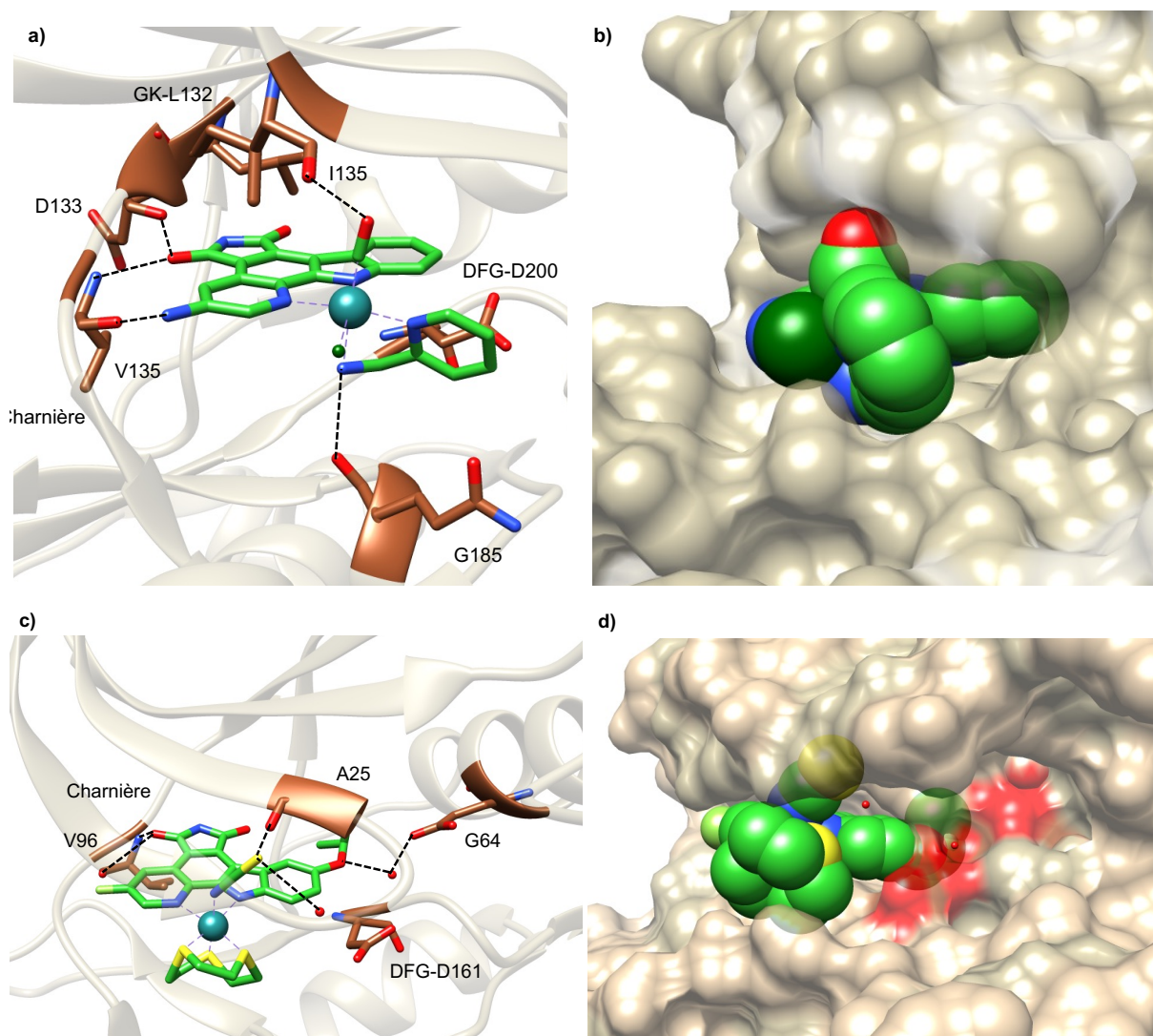
Les composés à base de ruthénium peuvent aussi adopter une géométrie octaédrique pour former des composés plus volumineux que les complexes « piano-stool » décrits précédemment. A partir d'un précurseur de ruthénium sur lequel est coordonné le ligand pyridocarbazole ainsi que plusieurs ligands facilement substituables, Meggers et al. ont développé différents inhibiteurs de kinase aux affinités diverses<sup>[120-122]</sup> (Figure 17).



**Figure 17** : Le précurseur octaédrique au centre de la figure permet la variation de la sphère de coordination du ruthénium en peu d'étapes de synthèse. Les kinases ciblées sont données entre parenthèses. L'IC<sub>50</sub> est calculé après test d'inhibition compétitif *in vitro* en présence de 100 μM d'ATP.

Le composé **9** est un inhibiteur de la kinase GSK3α. Son mode de fixation est similaire à celui des composés tétraédriques décrits plus tôt, le ligand pyridocarbazole, comme l'ATP, effectue des liaisons hydrogène avec des résidus valine et aspartate de la

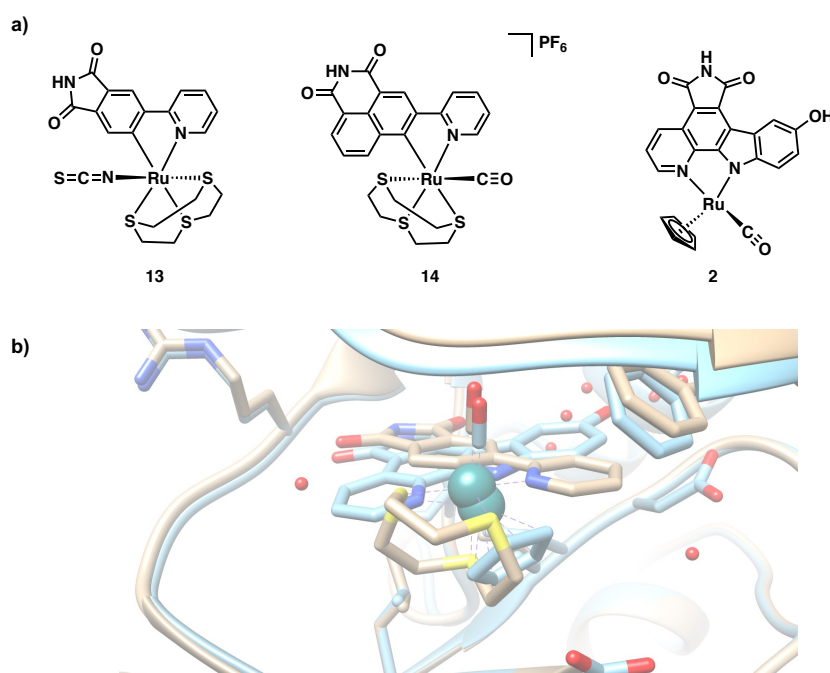
charnière. En revanche, la géométrie octaédrique permet une interaction plus développée avec les résidus des deux lobes C- et N-terminaux. Toujours sur la structure de GSK3 avec le composé **9**, on peut observer que le ligand pyridinamine interagit par liaison hydrogène avec un résidu Glycine de la boucle catalytique. De plus, le ligand CO en position axiale interagit lui aussi par liaison hydrogène avec le résidu isoleucine du feuillet  $\beta$ 1. Le composé **11** adopte une géométrie similaire à celle de l'analogue **9**. A la manière du ligand CO, le ligand NCS en position axiale interagit avec un résidu aspartate du feuillet  $\beta$ 2 par liaison hydrogène.



**Figure 18** : Structure co-cristalline des composés : a) **9** (vert) dans la kinase GSK3 $\alpha$  b) **11** (vert) dans la kinase DAPK1. Les liaisons hydrogène sont représentés par des pointillés noirs. Les résidus importants sont représentés en brun. Représentation en potentiel électrostatique de surface de la protéine b) GSK3 $\alpha$  avec le composé **9**, d) DAPK1 avec le composé **11**. Les atomes du complexe sont représentés sous forme de sphères. Codes PDB : GSK3 $\alpha$  : 3PUP ; DAPK1 : 2YAK.

Les représentations de la surface de contact des protéines (figure 18 b) et c)) met en évidence la manière dont s'adaptent les complexes dans la poche de fixation de la

protéine. On observe dans les deux cas une adaptation parfaite des deux composés. Le composé **11**, de par son volume plus élevé, permet de s'adapter au mieux à la kinase DAPK1 qui possède une plus grande cavité que GSK3. La variation de la taille des objets est corrélée avec la sélectivité. Le remplacement du groupement maléimide ( $O=C-N-C=O$ ) par un groupement lactame ( $O=C-N-CH_2$ ) sur le motif pyridocarbazole permet aussi de faire varier la sélectivité des inhibiteurs organométalliques. En effet, en modifiant ce fragment, des inhibiteurs des kinases TrkA et de CLK2 ont été conçus<sup>[123]</sup>. Le groupe de Meggers a aussi mis en œuvre la variation du ligand donneur/accepteur de liaisons hydrogène. Ainsi, des inhibiteurs basés sur des complexes cycloruthénés ont été décrits<sup>[124]</sup> (Figure 19 a)). Ces complexes s'appuient sur un ligand se coordonnant de manière bidentate par un fragment pyridine ainsi que par un atome de carbone activé. L'orientation de la fonction imide sur les composés **13** et **14** est différente de celle des composés évoqués précédemment<sup>[117]</sup>. La superposition des structures co-cristalline de Pim-1 avec le composé **13** ainsi qu'avec **2** montre les répercussions des différences structurales sur l'occupation de la poche. Pour le composé **13**, le ligand volumineux est le trithiacyclononane. Il est orienté vers la fin de la partie charnière de la kinase. Dans le cas du composé **2**, le cyclopentadiényle est orienté vers l'espace entre la boucle catalytique et la boucle riche en glycine. Cette différence entraîne des variations dans la sélectivité des inhibiteurs et a permis de développer cette famille de composés<sup>[124]</sup>.



**Figure 19** : Superposition de la structure co-cristalline de Pim-1 avec **13** (beige, PDB code : 4AS0) et de Pim-1 avec **2** (bleu, PSB code : 2BZI).



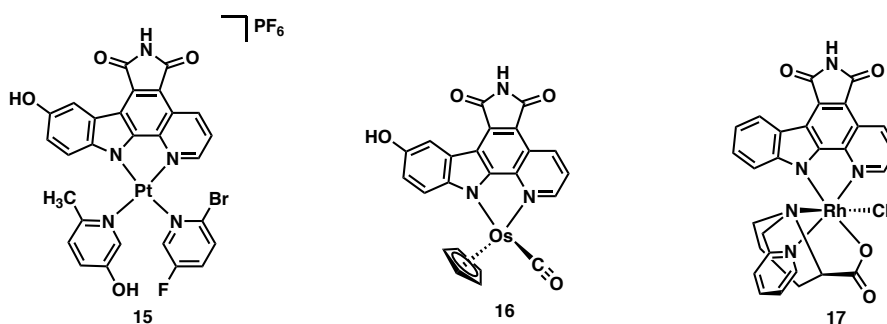


Figure 20 : Inhibiteurs de Pt(II), Os(II) et Rh(III) mimant la structure de la staurosporine.

Le groupe de Meggers a aussi décrit la synthèse de composés à base de Pt(II)<sup>[125]</sup>, d'Os(II)<sup>[126]</sup> ou encore de Rh(III)<sup>[127-129]</sup> démontrant de fortes activités inhibitrices envers différentes kinases, de manière plus ciblée que la staurosporine (Figure 20). La variation du centre métallique donne l'accès à des géométries différentes. La modification des ligands composant la sphère de coordination du métal permet aussi une augmentation de la variété de complexes mis à disposition pour le ciblage d'une kinase.

La stratégie de synthèse des composés de Meggers s'inspire d'un inhibiteur naturel, la staurosporine. Le développement d'inhibiteurs à partir de complexes de coordination s'inspirant d'autres composés naturels, ou bien encore de molécules synthétiques dont l'activité inhibitrice de protéine kinases a aussi été explorée. Plusieurs séries de composés construits autour d'un fragment ferrocène dont la cible est une protéine kinase ont été décrits dans la littérature (Figure 21). Les composés **18-21** et **22** possèdent un ligand cyclopentadiényle fonctionnalisé avec un motif s'inspirant de l'oxindole. Les deux stéréoisomères **23** sont des composés dimériques de ferrocène liés par un espaceur. Ces composés ont montré une activité intéressante envers des RTK ou bien les kinases DYRK impliquées dans l'angiogenèse. En effet, **(E)-18** inhibe DYRK3 avec une IC<sub>50</sub> de 110 nM (concentration en ATP non donnée). Des études de transcription de gènes ont montré une inhibition des voies de signalisation impliquées dans l'angiogenèse lorsque les cellules sont traitées avec les composés **18-21**<sup>[130]</sup>. Le complexe **(Z)-22** a également été décrit, dont le ligand cyclopentadiényle est fonctionnalisé avec un fragment mimant l'inhibiteur commercial Sunitinib. Cette molécule est active envers plusieurs RTK dans le cadre d'un traitement anticancéreux. Le dérivé ferrocène a montré une IC<sub>50</sub> de 120 nM envers VEGFR2 (concentration en ATP non donnée). De leur côté, les composés dimériques **(Z)/(E)-23** ont montré une activité envers les kinases DYRK, en particulier l'isomère **(Z)**

démontrant une  $IC_{50}$  de 960 et 650 nM envers les kinases DYRK3 et DYRK4 respectivement<sup>[131]</sup>. Le complexe **24** est fonctionnalisé avec un fragment inspiré de l'inhibiteur Gefitinib, lui aussi commercialisé comme inhibiteur d'EGFR dans le cadre du traitement de plusieurs cancers. Ce composé a montré une  $IC_{50}$  de 133 nM envers EGFR<sup>[132]</sup>. Enfin des composés ferrocène dérivés du Regorafenib, anticancéreux inhibant plusieurs RTK ont été décrit. En particulier, le complexe **25** a montré une activité non négligeable envers VEGFR2 avec une  $IC_{50}$  de 550 nM lorsque testé avec  $10\mu\text{M}$  d'ATP<sup>[133]</sup>.

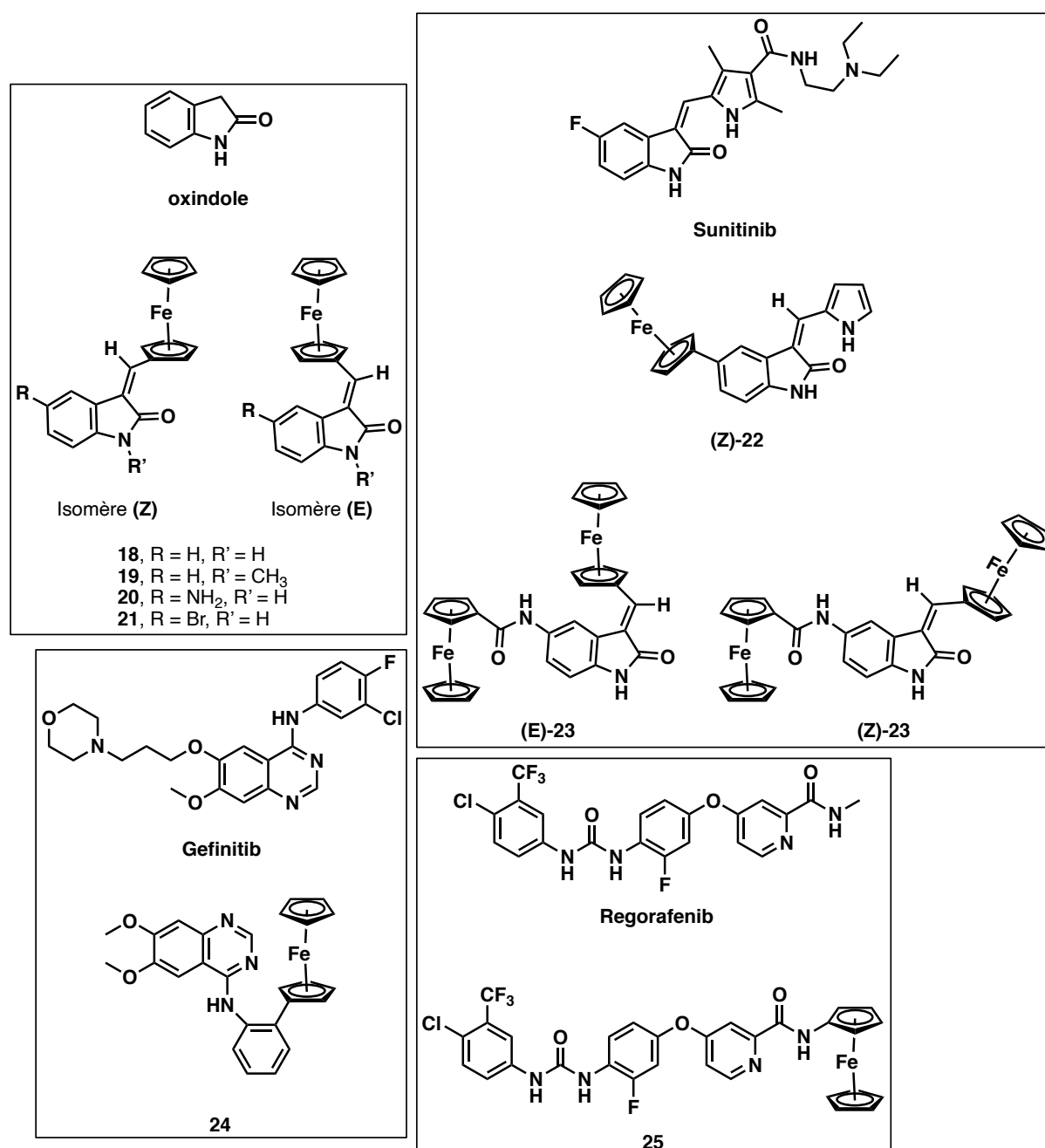
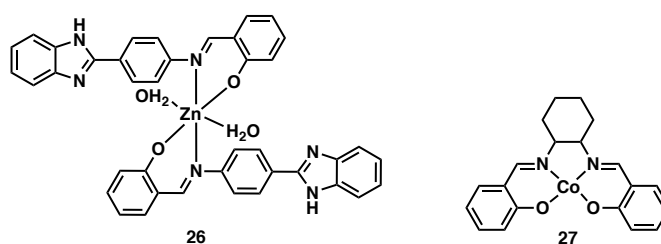


Figure 21 : Série de composés à base de ferrocène dérivés d'inhibiteurs organiques.

Des complexes de Zn(II) ainsi que de Co(II) incorporant des ligands du type bases de Schiff ont été décrits pour de applications anticancéreuses (Figure 22). Le composé à base de Zn(II) est coordiné par un ligand construit avec un fragment benzimidazole, déjà utilisé dans des études pour l'inhibition des kinases Aurora<sup>[134]</sup> ainsi que CDK<sup>[135]</sup>. Des études de docking ont montré qu'une cible potentielle de ce complexe pourrait être la kinase Aurora A<sup>[136]</sup>. Des études de docking sur le complexe de Co(II) avec la kinase MEK1 ont montré que la fixation du composé se faisait sur un site adjacent à celui de l'adénine lors de la fixation de l'ATP, faisant de **27** un inhibiteur allostérique. La liaison se fait par les deux atomes d'oxygène du ligand et par liaisons hydrogène<sup>[137]</sup>.

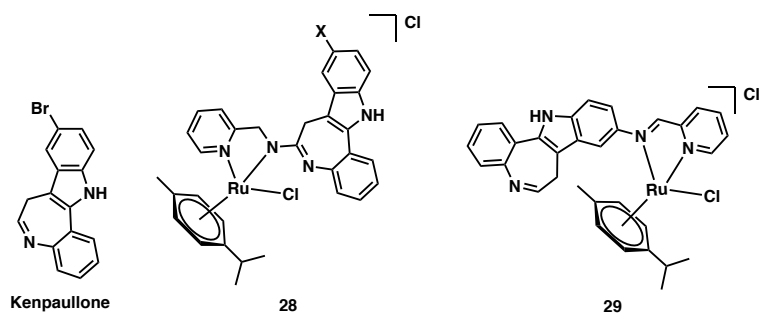


**Figure 22** : Inhibiteurs de kinases incorporant des ligands de type base de Schiff.

Des complexes constitués d'un fragment métallique volumineux couplé à une chaîne interagissant avec le site actif de la kinase ont aussi été décrit. Tan et coll. ont proposé une série de composés à base de cyclames incorporant plusieurs métaux, fonctionnalisés avec un groupement naphthalimide, espacés par une chaîne alkyle. Un effet antiprolifératif a été observé, dont la nature serait liée à l'inhibition simultanée de plusieurs RTK<sup>[138]</sup>. Un complexe « demi-sandwich » de Re(I) a été décrit, constitué d'un ligand cyclopentadiényle fonctionnalisé avec une chaîne interagissant avec la poche de fixation de l'ATP. L'activité cytotoxique de ce composé a été liée avec l'inhibition de GSK3 $\beta$ <sup>[139]</sup>.

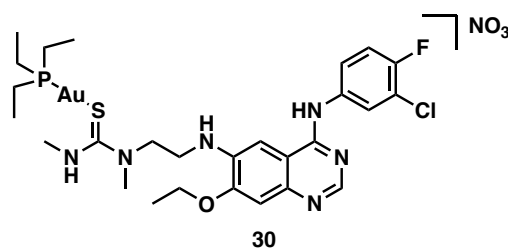
Le groupe de Keppler a mis au point plusieurs complexes « demi-sandwich » de Ru(II) constitués d'un ligand arène ainsi que de différents ligands bidentates inspirés d'inhibiteurs des protéines kinase CDK, impliquées dans le cycle cellulaire (Figure 23). Les complexes cationiques améliorent la solubilité de l'espèce inhibitrice ainsi que la pénétration dans la cellule. L'activité antiproliférative de ces composés ainsi que la capacité à inhiber les kinases CDK a été démontrée<sup>[140,141]</sup>.





**Figure 23** : Complexes de Ru(II) « demi-sandwich » dérivés des paullones.

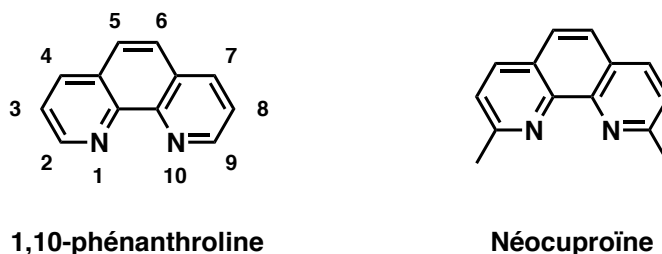
Yang et coll. ont décrit la synthèse d'un complexe d'Au(I) incorporant un ligand dérivé de l'inhibiteur de kinase Gefitinib (Figure 24). Le ligand se coordine au métal par un fragment thiourée. Ce ligand joue le rôle de cheval de Troie pour le métal qui, à la manière d'inhibiteur de type VI, se coordine aux résidus soufrés de la kinase ciblée par décooordination du ligand thiourée, formant ainsi des adduits empêchant la fixation de l'ATP. Le choix du ligand permet le ciblage d'une kinase en particulier, ici EGFR, le gefitinib étant un inhibiteur de cette RTK. L'activité inhibitrice du composé **30** envers EGFR et un mutant d'EGFR résistant au gefitinib a été démontrée<sup>[142]</sup>.



**Figure 24** : Complexe d'Au(I) pour l'inhibition d'EGFR.

## V. Les 1,10-phénanthrolines en biologie

Les dérivés de la 1,10-phénanthroline sont des ligands de choix utilisés de manière intensive en chimie de coordination<sup>[143]</sup>. Ce ligand diimine, en comparaison de son analogue 2,2'-bipyridine, possède une rigidité accrue.

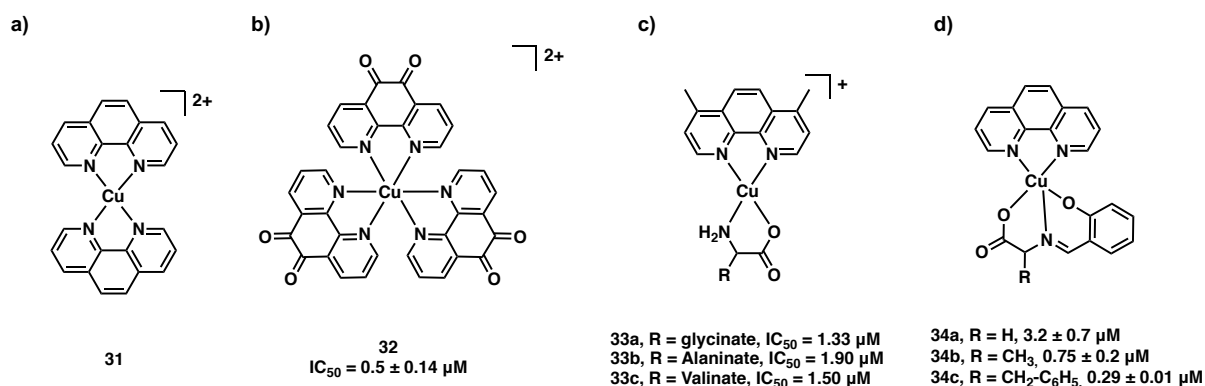


**Figure 25 :** Représentation de 1,10-phénanthroline et de la néocuproïne. La numérotation des phénanthrolines et dérivés est incluse sur le schéma de la 1,10-phénanthroline.

Les composés dérivés de la 1,10-phénanthroline ainsi que des complexes incorporant ce type de ligand diimine ont été très étudiés pour des applications en biologie. Dans un premier temps, Dwyer et coll. ont montré que des sels de 1,10-phénanthroline ralentissaient voire arrêtaient la croissance de bactéries<sup>[144]</sup>. Il a aussi démontré que la méthylation de la molécule sur les positions 3, 5, 6 et 8 augmentait l'activité de la molécule en raison d'une hausse de la lipophilicité. Berger et coll. ont ensuite montré que la 1,10-phénanthroline permettait l'inhibition de la synthèse d'ADN dans différentes lignées cellulaires et que cet effet pouvait être inversé par l'ajout de différents métaux<sup>[145,146]</sup>. Plus précisément, l'inversion de cet effet diminue avec l'augmentation de la labilité du ligand. Il a aussi été montré que la 1,10-phénanthroline inhibait la progression du cycle cellulaire dans plusieurs lignées de lymphoblastes résultant en l'inhibition de la croissance cellulaire. A plus haute concentration, la molécule s'est avérée être cytotoxique contre une seule lignée cellulaire<sup>[147]</sup>, laissant apparaître la dépendance du mécanisme d'action de la 1,10-phénanthroline à la lignée cellulaire étudiée. La séquestration de métaux essentiels à l'activité cellulaire serait un des modes d'action évoqué, le ligand diimine inhibant l'activité du métal par chélation<sup>[145]</sup>. En effet, Byrnes et coll. ont montré que la 1,10-phénanthroline inhibait la croissance de cellules d'Ehrlich par un mécanisme lié à la perturbation de la distribution de métaux tels que le fer ou le zinc dans la cellule<sup>[148]</sup>. Au contraire de la 1,10-phénanthroline, il a été montré que la 2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline ou néocuproïne voyait son activité cytotoxique augmenter avec l'augmentation du taux de cuivre(II) disponible<sup>[149]</sup>. La néocuproïne agit comme transporteur du cuivre(II) dans la

cellule, le rendant cytotoxique en rompant l'homéostasie maintenant la viabilité cellulaire<sup>[150–153]</sup>.

Plus généralement, l'étude de l'interaction des ligands 1,10-phénanthrolines avec le cuivre(I) ou le cuivre(II) a été largement étudiée. En effet, de nombreux exemples de complexes de cuivre(II) incorporant des dérivés de 1,10-phénanthroline permettant le clivage *in vitro* de l'ADN par oxydo-réduction et formation de ROS ont été décrits<sup>[143,154]</sup>. L'affinité des complexes formés à partir d'une ou plusieurs phénanthrolines pour l'ADN provient de la géométrie plane de la molécule, permettant au complexe de s'insérer entre les bases nucléiques de l'ADN par interactions  $\pi$ . Byrnes et coll. ont montré que le complexe **31** inhibait la croissance cellulaire par dommages oxydatifs de composés cellulaires, ainsi que par dommages à l'ADN. La 1,10-phénanthroline-5,6-dione ainsi que le complexe **32** ont aussi montré une activité cytotoxique envers plusieurs lignées cellulaires de l'ordre du nanomolaire, supérieure au cisplatine<sup>[155]</sup>.

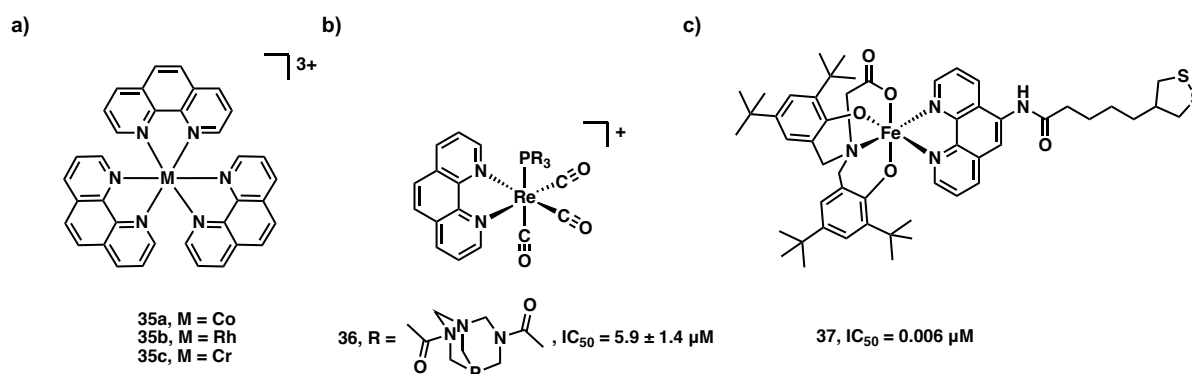


**Figure 26** : Complexes de cuivre cytotoxiques par dommages oxydatifs à l'ADN incorporant un ou plusieurs dérivés de 1,10-phénanthroline. Les IC<sub>50</sub> sont donnés en μM avec leur écart-types lorsqu'ils sont donnés. b) Cellules HK-2 incubées 72h. c) Cellules HeLa incubées 24h. d) Cellules A2780 incubées 72h.

Par ailleurs, des composés construits autour du squelette Cu(phen) incorporant des ligands acides aminés ou des ligands fonctionnalisés avec des acides aminés ont montré des résultats intéressants<sup>[156]</sup>. En particulier, les résultats encourageant de la série de composés Casiopeinas a permis l'intégration à des essais cliniques de deux d'entre eux, dont un complexe incorporant un ligand phénanthroline<sup>[157,158]</sup>. Les dérivés du composé original incorporant des substituants acides aminés **33a-c** sont montrés Figure 26. Une étude de la relation structure-activité de ces composés a montré que la substitution de la 1,10-phénanthroline modifiait le potentiel d'oxydo-réduction du complexe correspondant, faisant varier son activité cellulaire<sup>[159]</sup>.

Les propriétés photochimiques de certains métaux ont permis l'élaboration de

complexes cytotoxiques photoactivés. Après absorption d'un photon de longueur d'onde correspondant à l'état excité actif, le retour à l'état fondamental de ces complexes peut ensuite se faire par transfert d'énergie ou d'électrons à des molécules biologiques pour former des ROS et induire des dommages à l'ADN. Le clivage de l'ADN par photoactivation de complexes de chrome(III), de cobalt(III) ou encore de rhodium(III) a été décrit<sup>[160]</sup>. Le complexe de fer(III) **37** couplé à des nanoparticules d'or via une phénantroline fonctionnalisée en position 5 a démontré une cytotoxicité envers plusieurs lignées cellulaires cancéreuses, avec un index photométrique de 8.3 sur des cellules A549 (cellules cancéreuses issues des poumons)<sup>[161]</sup>. Des complexes de rhénium(I) incorporant différents ligands polypyridyles dont des phénanthrolines agissent par un mécanisme synergétique de photoactivation. L'excitation du complexe permet le retour à l'état fondamental depuis un état <sup>3</sup>MLCT par transfert d'énergie pour la formation d'<sup>1</sup>O<sub>2</sub> ainsi que la décoordination d'un ligand carbonyle. L'implication des deux mécanismes dans la cytotoxicité des composés a été montrée<sup>[162]</sup>.



**Figure 27** : Complexes métalliques photoactivés incorporant des ligands 1,10-phénanthrolines ou des dérivés. Les IC<sub>50</sub> sont donnés en μM b) Cellules HeLa irradiées pendant 1h à 365 nm. c) Cellules A549 irradiées pendant 1h à la lumière rouge (600-720 nm). L'IC<sub>50</sub> donné correspond au complexe couplé aux nanoparticules d'or.

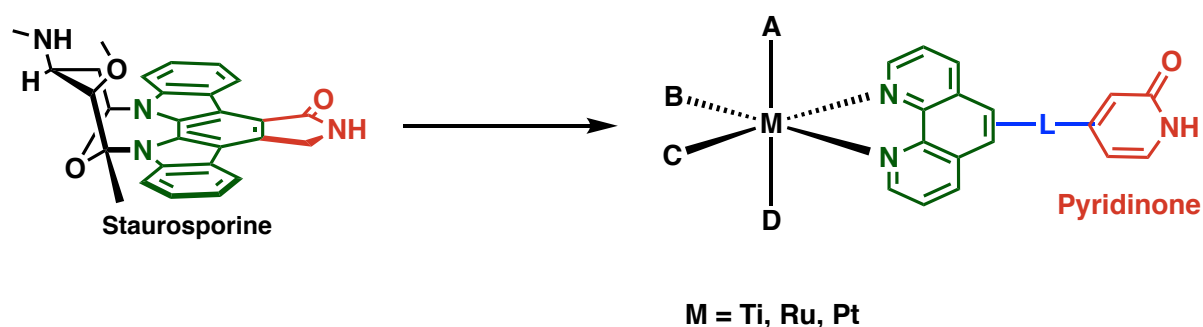
Cette liste non exhaustive démontre la haute potentialité des ligands 1,10-phénanthroline en biologie. En effet, les propriétés uniques de ces ligands ont été intensivement étudiées. L'effet des ligands libres en milieu biologique a été prouvé et a permis d'observer la différence d'activité et de mode d'action de la molécule en fonction des substituants liés à celle-ci. De plus, la chimie organique permettant la fonctionnalisation de la 1,10-phénanthroline étant aujourd'hui bien développée, une multitude de substituants peuvent être greffés sur quasiment toutes les positions du ligand. Cette particularité fait que la coordination de dérivés de la 1,10-phénanthroline à la plupart des métaux de transition du tableau périodique a permis la synthèse de complexes métalliques aux applications en biologie très versatiles. En effet, les

complexes incorporant ces ligands diimine peuvent être utilisés pour l'intercalation de l'ADN, pour l'imagerie, pour leurs propriétés d'oxydo-réduction ou bien encore pour la production de ROS par transfert d'énergie dans le cadre de la PDT.

## VI. Projet de thèse

Le domaine des inhibiteurs de protéine kinases sous forme de complexes de coordination ou organométalliques est à ce jour peu développé et pour le moment, aucun inhibiteur de protéine kinases incorporant un métal de transition n'a sérieusement été envisagé pour une utilisation clinique. De plus, la majorité des inhibiteurs de ce type-là ont été développés à partir d'un seul métal : le ruthénium(II).

Ce projet de thèse a donc eu pour but de s'inspirer de la littérature déjà établie sur le sujet, afin de synthétiser de nouveaux inhibiteurs de kinases à partir de complexes de coordination incorporant différents métaux de transition tels que le titane(IV), le ruthénium(II) et le platine(II). Nous nous sommes inspirés de la méthodologie de E. Meggers pour développer des complexes aux géométries variées ayant pour objectif de mimer les aspects structuraux de la staurosporine comme montré Figure 1.



**Figure 28** : La synthèse de complexes métalliques mimant les aspects structuraux de la staurosporine a été mise en œuvre

Dans un premier temps, la stabilité hydrolytique de complexes de titane(IV) a été évaluée. Pour atteindre cet objectif, une série de complexes de titane(IV) basés sur un squelette  $TiO_4N_2$  a été synthétisée. Ces composés incorporent des ligands 1,10-phénanthroline substituées en position 5 ainsi qu'en position 2 et 9. L'étude structurale des composés incorporant des dérivés de la néocuproïne à partir des structures obtenues par diffraction des rayons X a montré la distortion des ligands diimine

lorsqu'ils sont substitués en position 2 et 9. L'étude de la stabilité de ces complexes par analyse RMN de la décooordination du ligand diimine a démontré la robustesse des composés synthétisés vis-à-vis de l'hydrolyse. Dans un second temps, l'excellente stabilité des complexes de titane(IV) a été mise à profit pour effectuer des transformations du ligand phénanthroline sur le complexe. Des précurseurs incorporant des phénanthrolines fonctionnalisées pour de la synthèse d'imine, des couplages de Suzuki et de Sonogashira, ainsi que de la chimie « click » ont été synthétisées. Les résultats positifs de ces réactions ont démontré la compatibilité des complexes monomériques de titane(IV) pour de la synthèse organique. Dans la continuité de cette chimie sur le complexe, le fragment  $Ti(1)_2$  a été utilisé pour la synthèse multi-étapes d'un ligand 5,5'-butadiynebis-1,10-phénanthroline original.

Une fois la stabilité de complexes de titane(IV) modèles démontrée, une série de ligands diimine fonctionnalisés avec un groupement donneur/accepteur de liaisons hydrogène a été synthétisée. A partir de ces ligands, des complexes de titane(IV), platine(II) et ruthénium(II) aux sphères de coordination et géométries diverses ont été obtenus.

Après avoir déterminé l'activité cytotoxique des composés sur des cellules d'adénocarcinome gastrique AGS, les structures d'une sélection de composés non toxiques ont été modélisées dans la poche de fixation de plusieurs protéine kinases par docking.

La quantification de la phosphorylation du co-activateur transcriptionnel YAP par Western Blot a permis d'évaluer l'inhibition des protéines impliquées dans la phosphorylation de YAP par les composés sélectionnés. Les protéine kinases de la voie Hippo jouant un rôle central dans cette réaction, il est envisagé que les complexes synthétisés inhibent les protéine kinases de la voie Hippo. En parallèle, la quantification de la phosphorylation de la protéine S6 par la protéine kinase S6K1 a été évaluée. Les résultats ont permis de montrer la différence d'affinité des complexes métallique sélectionnés pour différentes protéines kinases. La régulation négative de la phosphorylation de YAP implique une hausse de l'expression de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire.

Afin de confirmer la diminution de la phosphorylation de YAP par l'effet des complexes métalliques, l'expression de gènes dont l'expression est liée à l'activité de YAP a été quantifiée.

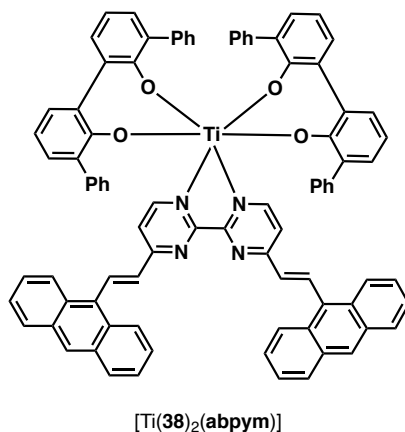


## Chapitre II : Étude préliminaire de la stabilité de complexes de titane(IV)

### I. Analyse structurale et évaluation de la stabilité hydrolytique de complexes construits autour d'un squelette $\text{TiO}_4\text{N}_2$ incorporant des dérivés de la 1,10-phénanthroline

#### a. Introduction

Les complexes de titane sont déjà utilisés en biologie, notamment pour le développement de nouveaux traitements anticancéreux<sup>[163]</sup>. Notre laboratoire possède une expertise dans le domaine de la chimie de coordination du titane(IV), notamment pour la synthèse d'architectures moléculaires ou supramoléculaires construites autour d'un cœur  $\text{TiO}_4\text{N}_2$ <sup>[164-167]</sup>. Cette chimie a permis le développement aussi bien de monomères aux propriétés diverses<sup>[165,166,168,169]</sup>, d'hélicates binucléaires<sup>[167,170,171]</sup> ou trinucléaires<sup>[172]</sup>, ou encore de grilles tétranucléaires<sup>[173]</sup>. Cette recherche a permis d'aboutir à un complexe monomérique de ce type incorporant un ligand bipyrimidine substitué par deux ligands vinylnanthryl luminescents<sup>[174]</sup>.



**Figure 28** : Complexe de titane(IV) construit autour d'un cœur  $\text{TiO}_4\text{N}_2$  incorporant un ligand bipyrimidine luminescent pour des applications en biologie.

Il a été montré qu'une fois coordonné au métal, une extinction de la luminescence du ligand bipyrimidine par piégeage des états excités du ligand diimine par le centre  $\text{TiO}_4$  était observée. En revanche, la décoordination du ligand lors de l'hydrolyse du complexe conduit à la réactivation de la luminescence du ligand. Sa pénétration et sa localisation dans le noyau cellulaire a ensuite pu être observée par microscopie de



fluorescence. Cette première application de la chimie de coordination reposant sur des motifs  $TiO_4N_2$  en biologie nous a naturellement conduit à envisager de générer des inhibiteurs de protéine kinases à partir de cette chimie connue. C'est pour cette raison que la première étude réalisée dans le cadre de ce travail de thèse a été consacrée à évaluer la stabilité des complexes ciblés.

#### b. Synthèse des ligands et des complexes de titane(IV)

En général, le mode d'action des complexes de titane(IV) comme anticancéreux implique des transformations chimiques du composé en milieu biologique liées à son hydrolyse. En effet, le titane(IV) est un métal très oxophile en raison de ses propriétés d'acide de Lewis. Son hydrolyse conduit à la formation irréversible de  $TiO_2$ . La synthèse de complexes de titane(IV) robustes en milieux aqueux représente donc un défi. En particulier, pour pouvoir utiliser les complexes de titane(IV) de type  $TiO_4N_2$  comme inhibiteurs de protéine kinases, le centre métallique doit être très stable vis-à-vis de l'eau.

Ainsi, dans ce premier chapitre, nous nous sommes intéressés à la synthèse de complexes de titane(IV) construits autour d'un cœur  $TiO_4N_2$  incorporant une série de ligands 1,10-phénanthroline fonctionnalisés en position 2 et 9 ainsi qu'en position 5. La stabilité hydrolytique des composés synthétisés sera évaluée afin de tester l'influence des substituants  $R_2$  en position 2 et 9 sur la stabilité hydrolytique des complexes formés. Les résultats de ce travail préparatoire seront ensuite mis à profit pour développer des complexes aux propriétés inhibitrices des protéine kinases de la voie Hippo. Les dérivés de 1,10-phénanthroline **39a** à **39i** ciblés pour la synthèse d'une série de complexes de titane(IV) incorporant ces ligands diimine sont présentés Figure 29. La 5-bromo-1,10-phénanthroline **39b** a été synthétisée à partir de la 1,10-phénanthroline **39a** selon mode opératoire décrit par Hissler et coll.<sup>[175]</sup>.

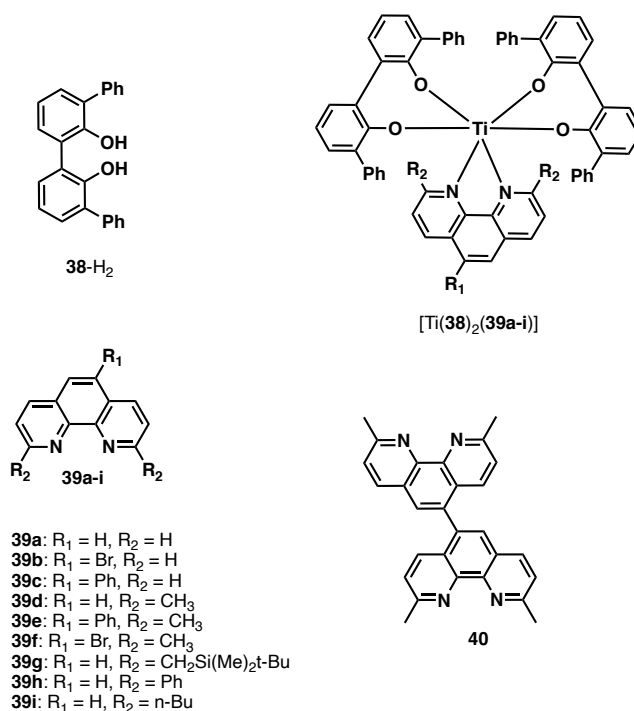
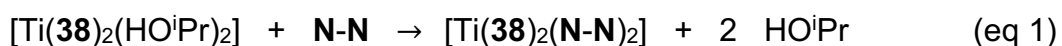


Figure 29 : Phénanthrolines synthétisées pour cette études complexes construits autour d'un cœur TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub>.

Afin de privilégier la formation du composé monobromé au lieu du sous-produit dibromé, un défaut de dibrome est ajouté (0.3 eq). La séparation du réactif restant **39a** du produit souhaité **39b** souhaité par chromatographie sur colonne fut très fastidieuse. Néanmoins, la recristallisation du produit dans un mélange de dichlorométhane et d'éther diéthylique a permis d'obtenir le produit attendu de manière plus aisée avec un rendement de 20%. La 5-phényl-1,10-phénanthroline **39c** a été obtenue par couplage de Suzuki entre **39b** et l'acide phénylboronique<sup>[176]</sup>. La bromation en position 5 de la néocuproïne **39d** s'est faite en trois étapes à partir de la procédure décrite par Eggert et coll.<sup>[176]</sup>. Les groupements méthyles en position 2 et 9 ont d'abord été protégés par silylation pour obtenir **39g**. La réaction de cet intermédiaire avec le dibrome dans le dichlorométhane puis déprotection des groupements silyles avec de l'acide chlorhydrique concentré dans l'acétone ont permis d'obtenir le dérivé de néocuproïne **39f**. Enfin, les phénanthrolines **39h** et **39i** ont été générées par réaction du phényllithium et du *n*-butyllithium respectivement avec la 1,10-phénanthroline, puis oxydation de l'intermédiaire obtenu avec le dioxyde de manganèse<sup>[177]</sup>.

La synthèse des complexes monomériques octaédriques a été mise en œuvre en suivant une stratégie basée sur l'échange des ligands monodentate isopropanol du précurseur [Ti(**38**)<sub>2</sub>(HO<sup>i</sup>Pr)<sub>2</sub>] avec un ligand bidentate azoté (**N-N**)<sup>[166]</sup> comme indiqué équation 1 :



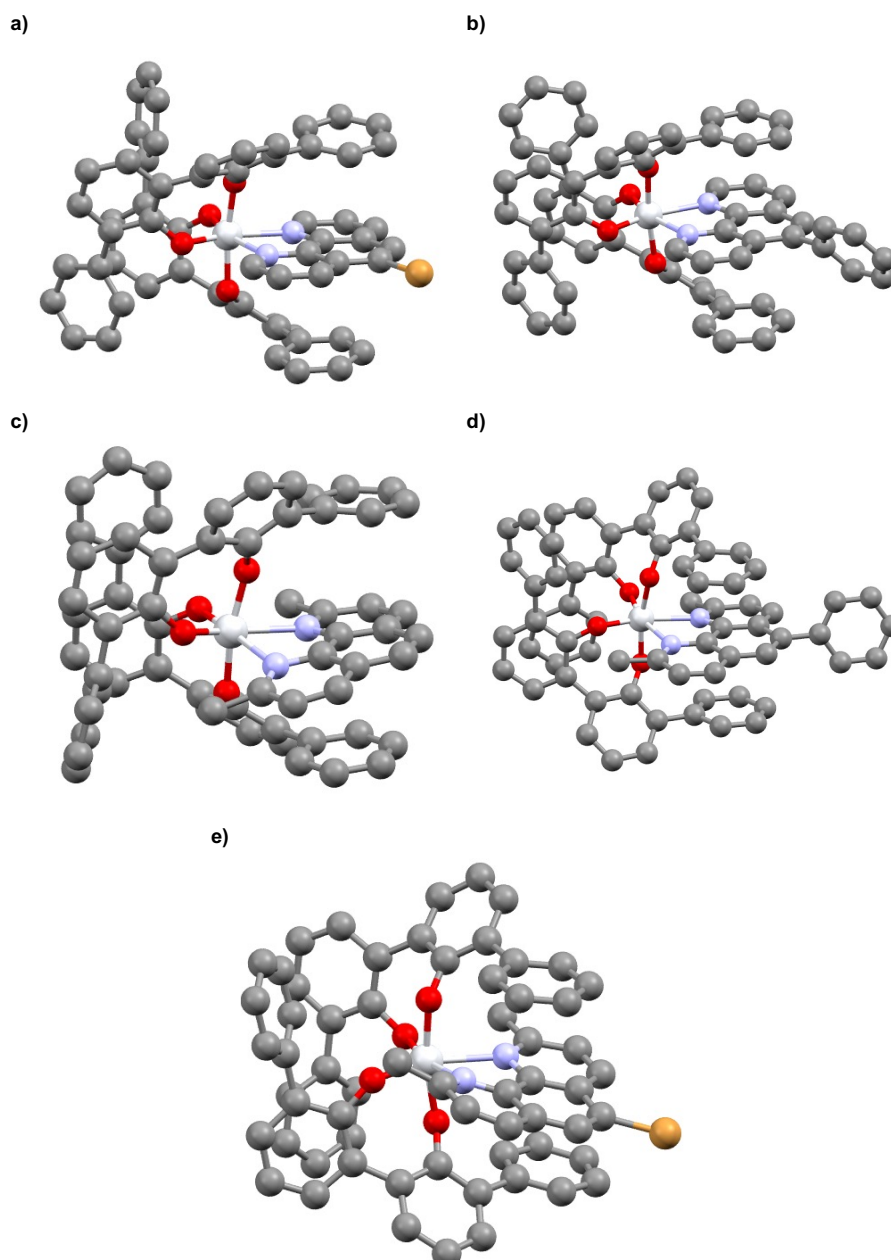
Dans un premier temps, les réactions ont été conduites dans le dichlorométhane- $d_2$  ou bien le chloroforme- $d_3$  dans un tube RMN préparé sous atmosphère inerte. Les solutions orange obtenues ont ensuite été analysées par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$ . La coordination des ligands diimine provoque le blindage de plusieurs protons. Une sélection des différences de déplacements chimiques  $\Delta\delta$  calculées à partir des signaux de protons des ligands **39a-i** avant et après coordination est donnée Tableau 1. L'analyse RMN  $^1\text{H}$  du complexe incorporant **39a** a révélé un blindage des signaux des protons 2 et 9 ( $\Delta\delta = 0.55$  ppm) en comparaison du ligand libre, attestant de la coordination du ligand au titane.

**Tableau 1** : Blindage des protons sélectionnés après coordination au titane(IV) des ligands **39a-i** : Différence des déplacements chimiques ( $\Delta\delta$ ) calculée entre le complexe et le ligand libre. <sup>a</sup>Les protons considérés sont soit ceux des positions 2 et 9 pour les ligands non substitués sur ces positions, soit des protons  $\text{CH}_3$  des substituants alkyles pour les ligands étant substitués. Les valeurs de  $\Delta\delta$  ne sont pas données pour **39g** et **39h** en raison de l'échec de la réaction de complexation.

	$\Delta\delta$ (ppm)
<b>39a</b> ( $\text{H}_{2,9}$ )	0.55
<b>39b</b> ( $\text{H}_{2,9}$ )	0.60
<b>39c</b> ( $\text{H}_{2,9}$ )	0.53
<b>39d</b> ( $\text{CH}_3$ )	0.32
<b>39e</b> ( $\text{CH}_3$ )	0.26
<b>39f</b> ( $\text{CH}_3$ )	0.31
<b>39g</b>	/
<b>39h</b>	/
<b>39i</b> ( $\text{CH}_{3(\text{n-butyl})}$ )	0.36

Concernant le ligand néocuproïne **39d**, un effet de blindage similaire a été observé pour les protons des groupements méthyles ( $\Delta\delta = 0.32$ ), prouvant que ceux-ci ne gênent pas la coordination du ligand au métal. L'analyse RMN  $^1\text{H}$  des complexes incorporant **39b-f** a également indiqué la coordination des ligands. En revanche, la synthèse des complexes  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39g-h})]$  a échoué, comme cela a été démontré par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$ , montrant uniquement la présence des signaux du ligand libre. Ce résultat est certainement relié à une augmentation de la gêne stérique sur les positions 2 et 9 du ligand diimine. Il est important de noter que la situation du ligand **39i** est unique. Lorsque la réaction a été réalisée *in situ*, la complexation du ligand au métal a été démontrée par analyse par RMN  $^1\text{H}$ . Toutefois, la purification du composé

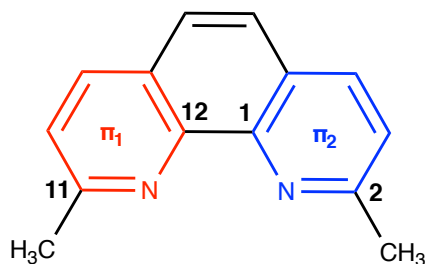
par chromatographie a échoué en raison de sa dégradation sur la phase stationnaire. Néanmoins, les autres complexes se sont révélés assez stables pour être purifiés par chromatographie sur alumine ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) et ont pu être isolés avec des rendements allant de 30% à 97%. Cette méthode de purification diffère de celles qui impliquent des précipitations ou cristallisations habituellement utilisées pour purifier les complexes de titane(IV)<sup>[171]</sup>. Ceci illustre le fait que la synthèse de ce type de complexes aboutit à la formation d'espèces très stables<sup>[178]</sup>.



**Figure 30** : Structures obtenues par diffraction des rayons X de monocristaux des complexes a)  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$ , b)  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39c})]$ , c)  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39d})]$ , d)  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39e})]$ , e)  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39f})]$  à l'état solide. Les atomes de titane sont représentés en blanc, les atomes de carbone en gris, les atomes d'oxygène en rouge, les atomes d'azote en violet et les atomes de brome en orange. Les molécules de solvant, le désordre et les atomes d'hydrogène sont omis par souci de clarté.

Les spectres de masse (ESI-MS) présentent des pics moléculaires intenses pour tous les complexes analysés, soulignant la stabilité des composés dans les conditions d'ionisation par électrospray. Par exemple, par ESI-MS, le spectre de masse du complexe incorporant la néocuproïne [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39d**)] indique un pic à  $m/z = 951.26$  ( $m/z = 951.27$  calculé pour [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39d**) + Na]<sup>+</sup>).

Par la suite, les structures des composés synthétisés ont été obtenues par diffraction des rayons X sur des monocristaux des complexes [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39b-f**)] formés par diffusion de vapeurs d'alcanes dans des solutions des complexes dissouts dans des solvants chlorés. Les structures à l'état solide des complexes [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39b-f**)] sont représentées Figure 30. Comme attendu, les complexes sont construits autour d'une sphère de coordination TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub>, laquelle adopte une géométrie pseudo-octaédrique. L'architecture de ces complexes est similaire à celle de complexes TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub> incorporant le ligand **38** décrit précédemment<sup>[166]</sup>. Des variations au niveau de la géométrie de la sphère de coordination de [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39b**)], [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39c**)], [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39d**)], [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39e**)] et [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39f**)] ont été observées. Les angles entre les liaisons de la sphère de coordination du métal sont regroupés Tableau 2. Les angles de chélation induits par les ligands phénanthroline restent similaires malgré la substitution des positions 2 et 9 des ligands. Au contraire, les angles O<sub>eq</sub>-Ti-O<sub>eq</sub> sont grandement influencés par la substitution des phénanthrolines, avec une diminution de -7.6° pour [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39d**)] et -9.9° pour [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39e**)] en comparaison avec le même angle mesuré pour [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39c**)]. Bien que les angles de la sphère de coordination des complexes de titane aient été fortement affectés, ce n'est pas le cas des distances Ti-O et Ti-N (Tableau 2). Dans le cas des dérivés de la néocuproïne, de plus grandes longueurs de liaisons Ti-O et de plus courtes longueurs de liaisons Ti-N ont été observées, par rapport aux composés non substitués en position 2 et 9. La planarité des ligands diimine est aussi particulièrement affectée par la substitution en position 2 et 9.

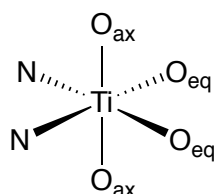


**Figure 31** : Représentation des deux plans ( $\pi_1$  en rouge et  $\pi_2$  en bleu) permettant de calculer l'angle de courbure  $\beta$  des ligands phénanthrolines dans les complexes incorporant les dérivés de néocuproïne et numérotation des atomes C2-C1-C12-C11 utilisés pour définir l'angle de torsion  $\alpha$ .

Afin de quantifier la distorsion des ligands phénanthroline, deux angles,  $\alpha$  et  $\beta$ , ont été déterminés comme représentés Figure 31. Les ligands **39d** dans  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39d})]$ , **39e** dans  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39e})]$  et **39f** dans  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39f})]$  sont distordus, ce qui n'est pas le cas avec **39b** dans  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$  et **39c** dans  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39c})]$ . L'angle de torsion mesuré pour **39e** dans  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39e})]$  est  $\alpha = 10.8^\circ$  tandis que celui mesuré pour le ligand néocuproïne dans  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39d})]$  est inférieur ( $\alpha = 8.5^\circ$ ). Ces ligands sont aussi courbés, comme ceci est démontré par les valeurs importantes de  $\beta$  calculées sur les structures de  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39d})]$  et  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39e})]$  avec un angle maximal de  $\beta = 13.4^\circ$  calculé pour  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39d})]$ .

**Tableau 2** : a) Numérotation des atomes de la sphère de coordination des complexes de titane(IV). b) Tableau regroupant une sélection d'angles et de longueurs de liaisons de la sphère de coordination des complexes de titane(IV).

a)

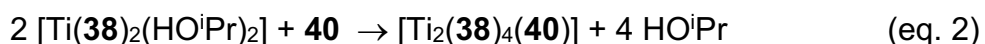


b)

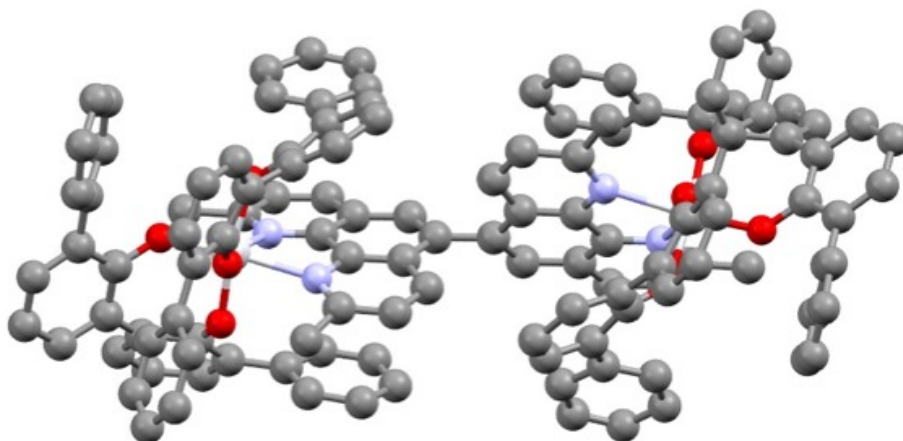
		$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$	$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39c})]$	$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39d})]$	$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39e})]$	$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39f})]$	$[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$
Angles ( $^\circ$ )	N-Ti-N	72.7	72.8	73.2	73.5	72.7	73.1
	$\text{O}_{\text{ax}}\text{-Ti-O}_{\text{ax}}$	171.4	172.9	167.9	168.5	168.4	166.3
	$\text{O}_{\text{eq}}\text{-Ti-O}_{\text{eq}}$	108.1	107.9	100.3	98.0	102.8	101.1
	$\beta$	3.8	3.8	13.4	9.3	11.0	11.6
	$\alpha$	1.6	1.7	8.6	10.8	12.0	9.1
Distances moyennes (Å)	Ti- $\text{O}_{\text{ax}}$	1.896 $\pm 0.002$	1.900 $\pm 0.003$	1.891 $\pm 0.015$	1.901 $\pm 0.008$	1.889 $\pm 0.009$	1.902 $\pm 0.004$
	Ti- $\text{O}_{\text{eq}}$	1.845 $\pm 0.007$	1.836 $\pm 0.004$	1.843 $\pm 0.026$	1.826 $\pm 0.013$	1.833 $\pm 0.017$	1.833 $\pm 0.016$
	Ti-N	2.243 $\pm 0.013$	2.239 $\pm 0.006$	2.229 $\pm 0.002$	2.312 $\pm 0.004$	2.286 $\pm 0.027$	2.293 $\pm 0.024$

Après avoir établi l'importante distorsion à l'état solide des monomères de titane(IV) incorporant des dérivés du ligands néocuproïne, nous avons voulu développer l'étude portant sur la déformation des ligands néocuproïne au sein de sphères de coordination  $\text{TiO}_4\text{N}_2$  en nous intéressant à des composés de plus haute nucléarité. Pour cela, nous avons mis au point la synthèse d'un complexe dimérique. Dans un premier temps, le ligand bisphénanthroline **40** a été synthétisé par borylation de Miyaura suivi d'un homocouplage en une étape, selon une procédure décrite dans la littérature<sup>[179]</sup>. Dans un second temps, la synthèse d'un complexe binucléaire

incorporant le ligand bisphénanthroline **40**<sup>[179]</sup> a été mise en œuvre selon l'équation de réaction suivante :



La structure du dimère nouvellement formé a été obtenue par diffraction des rayons X sur un monocristal du composé obtenu par diffusion lente de vapeurs d'alcane. La structure du complexe binucléaire  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  est représentée Figure 32.

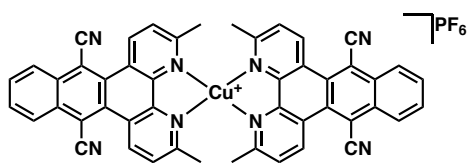


**Figure 32** : Structure obtenue par diffraction des rayons X d'un monocristal de  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$ . Les atomes de titane sont représentés en blanc, les atomes de carbone en gris, les atomes d'oxygène en rouge et les atomes d'azote en violet. Les atomes d'hydrogène et le désordre sont omis par souci de clarté.

Ce complexe cristallise dans un groupe d'espace centrosymétrique ( $C2/c$ ) avec quatre molécules dans la maille ( $Z = 4$ ). Deux énantiomères,  $\Delta\Delta$ - $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  et  $\Lambda\Lambda$ - $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  composent la maille. Dans le cristal,  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  est symétrique avec un axe  $C_2$  passant par la liaison C-C entre les deux fragments phénanthroline. L'angle de torsion associé à cette liaison C(phen)-C(phen) est de  $56.3^\circ$ . Les deux centres métalliques sont séparés par une distance de  $11.62 \text{ \AA}$  et les valeurs des angles O-Ti-O sont en accord avec celles calculées dans les structures des complexes monomériques incorporant les ligands dérivés de la néocuproïne (Tableau 2). A nouveau, les fragments phénanthroline du dimère sont fortement distordus, avec des angles  $\alpha$  et  $\beta$  de  $11.6^\circ$  et  $9.1^\circ$  respectivement. Cela confirme que l'association de dérivés de la néocuproïne et le motif  $\text{Ti}(\mathbf{38})_2$  induit une déformation systématique du ligand azoté. La déformation des ligands néocuproïne lorsqu'ils sont coordonnés à des métaux de transition est connue. En effet, des complexes métalliques incorporant des ligands néocuproïne distordus ont déjà été décrits. En particulier, le complexe de cuivre décrit par Karnahl et coll.<sup>[180]</sup> (Figure 33) incorpore un dérivé de néocuproïne



dont l'angle  $\alpha$  est égal à 20.8°. Toutefois, pour des complexes du groupe IV, des valeurs aussi élevées que celles obtenues pour les complexes de titane(IV) synthétisés dans le cadre de cette thèse sont uniques.



**Figure 33** : Représentation du complexe de cuivre incorporant des ligands néocuproïne distordus décrit par Karnahl et coll.<sup>[180]</sup>.

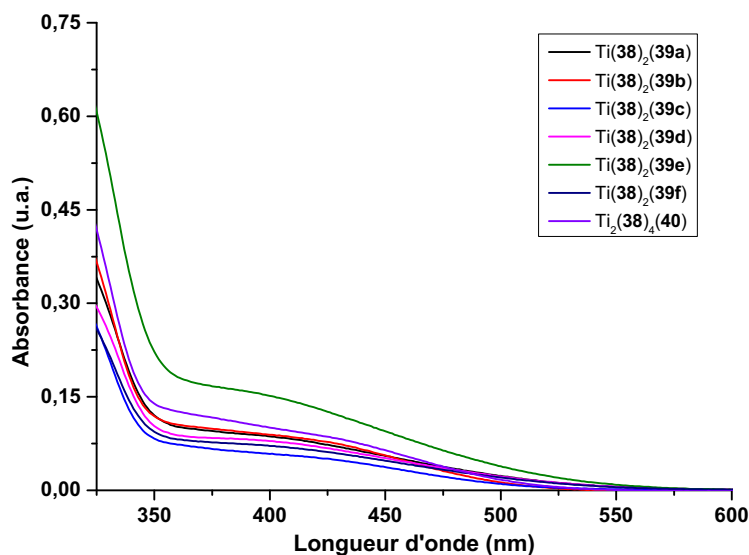
Un cristal de  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  a aussi été dissout dans le dichlorométhane- $d_2$ . La solution obtenue a ensuite été analysée par RMN  $^1\text{H}$ . Comme attendu, deux signaux intenses intégrant pour six protons chacun sont observés dans la région aliphatique du spectre ( $\delta = 2.69$  et  $2.64$  ppm). Ces signaux sont attribués à la résonance des protons  $\text{CH}_3$  pour  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$ . Cette signature RMN  $^1\text{H}$  est en accord avec la symétrie de  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  obtenue à l'état solide. Toutefois, dans la même région, quatre singulets d'intensités égales, correspondant à une espèce secondaire mineure ont aussi été observés ( $\delta = 2.79, 2.74, 2.58$  et  $2.55$  ppm). En accord avec le spectre RMN DOSY, les quatre signaux ont été attribués à une espèce possédant un coefficient de diffusion similaire à l'espèce majoritaire ( $D = 590 \pm 60 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  dans le  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ). De plus, l'analyse du composé par spectrométrie de masse (ESI-MS) de la solution indique la présence d'un signal à  $m/z = 1878.52$  correspondant au pic attendu pour le dimère ( $m/z = 1878.53$  calculé pour  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40}) + \text{Na}]^+$ ). Ensemble, ces résultats analytiques prouvent une transformation partielle en solution des énantiomères homochiraux  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  obtenus dans le cristal en un complexe  $\Lambda, \Delta$ - $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  hétérochiral. Par analyse RMN  $^1\text{H}$ , un rapport homochiral : hétérochiral de 7 : 3 a pu être calculé.

### c. Propriétés optiques et calculs DFT

Les propriétés d'absorption UV-visible de complexes  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39a-f})]$  ainsi que  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  ont été étudiées en solution ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) et à l'état solide. Les spectres UV-visible des complexes isolés ont été enregistrés en solution ( $c = 10^{-5}$  M, Figure 34). Les spectres de ces composés sont similaires. Les complexes présentent une bande d'absorption dans la région visible centrée autour de 420 nm ( $\log[\varepsilon(\lambda_{420\text{nm}})] = 3.9 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  pour  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39a})]$ ). Ces transitions dans le visible sont attribuées à des



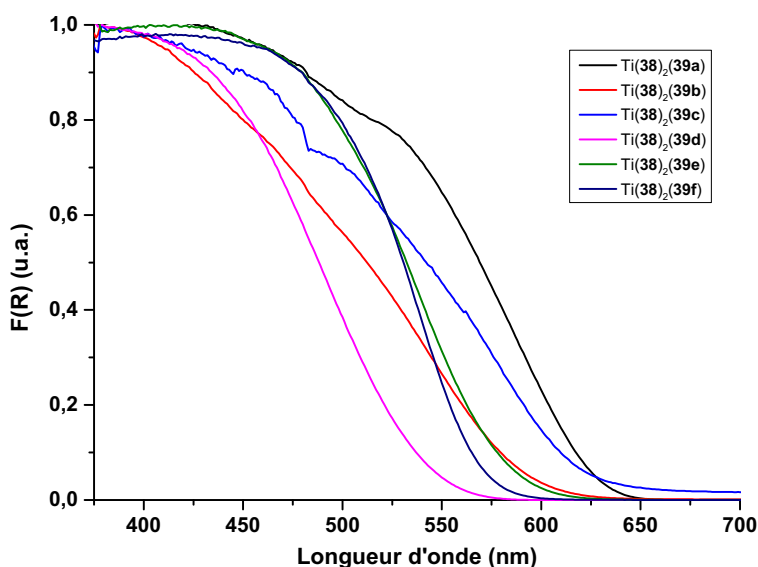
transferts de charges du type LMCT des doublets non-liants des atomes d'oxygène vers les orbitales 3d libres du métal dans les complexes Ti-phénolato<sup>[181]</sup>. Le complexe dimérique  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  absorbe environ deux fois plus que les analogues monomériques. Dans la région UV, la même tendance est observée.



**Figure 34 :** Superposition des spectres d'absorption UV-visible des complexes  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39a-f})]$  et  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$ . La concentration des solutions utilisée pour l'analyse est de  $c = 10 \mu\text{M}$  dans le dichlorométhane.

Dans l'ensemble, en solution, la variation structurale du ligand phénanthroline ne semble pas affecter fortement les propriétés d'absorption dans le visible des complexes.

Les spectres de réflexion diffuse optique à l'état solide des complexes ont aussi été enregistrés. Ces spectres à l'état solide sont donnés Figure 35.



**Figure 35 :** Spectres de réflexion diffuse optique à l'état solide normalisés des complexes  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39a-f})]$ , dérivés des données de réflexion diffuse à température ambiante.  $F(R)$  est la fonction de Kubelka-Munk.

Les spectres varient en fonction de la substitution du ligand diimine. Les maxima d'absorption mesurés à partir des spectres confirment cette dépendance (Tableau 3).

**Tableau 3** : Maxima des spectres de réflexion diffuse dérivée pour les complexes [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39a-f**)].

	[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39a</b> )]	[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39b</b> )]	[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39c</b> )]	[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39d</b> )]	[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39e</b> )]	[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39f</b> )]
Longueur d'onde (nm)	487	548	529	530	557	576

En supposant que les niveaux de l'orbitale moléculaire haute occupée (HO) sont centrés sur le ligand **38**, ces données à l'état solide démontrent que la contribution des ligands diimine se fait nécessairement par les orbitales moléculaires basses vacantes (BV). Il s'avère également que les substituants des ligands phénanthroline induisent un déplacement bathochrome de l'absorption de la lumière visible. Par exemple, le complexe [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39a**)] possède un maximum d'absorption à 487 nm alors que pour le complexe diméthylé [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39d**)], ce maximum se situe à 530 nm. Le complexe absorbant la lumière à la plus haute longueur d'onde est [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39f**)], dans lequel le ligand phénanthroline incorpore deux groupements méthyles et un atome de brome. Globalement, la fonctionnalisation du ligand phénanthroline avec des groupements électrodonneurs tels que -Br, -Ph, -CH<sub>3</sub> induit un déplacement bathochrome de l'absorption UV-visible.

**Tableau 4** : Angles de liaison O-Ti-O et N-Ti-N sélectionnés, mesurés depuis les structures minimisées [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39a-f**)] en phase gazeuse par DFT (valeurs arrondies, pour les définitions de  $\alpha$  et  $\beta$ , se référer à la Figure X).

	N-Ti-N	O <sub>ax</sub> -Ti-O <sub>ax</sub>	Angles (°)		
			O <sub>eq</sub> -Ti-O <sub>eq</sub>	$\beta$	$\alpha$
[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39b</b> )]	73.7	168.7	106.9	2.5	0.5
[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39c</b> )]	73.8	169.3	106.7	3.3	1.8
[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39d</b> )]	74.6	169.5	100.4	11.8	7.6
[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39e</b> )]	75.3	167.1	98.0	8.0	14.4
[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39f</b> )]	74.8	168.6	100.3	10.9	10.3
$\Delta, \Delta$ -[Ti <sub>2</sub> ( <b>38</b> ) <sub>4</sub> ( <b>40</b> )]	75.0	166.0	100.7	11.0	19.1
	74.1	169.9	100.3	13.3	10.6
$\Delta, \Delta$ -[Ti <sub>2</sub> ( <b>38</b> ) <sub>4</sub> ( <b>40</b> )]	74.0	169.5	102.2	9.3	9.3

En complément des caractérisations par diffraction des rayons X, les complexes ont été modélisés par calculs DFT. Les calculs ont été réalisés par le Dr A. Chaumont

(Laboratoire de Modélisation et Simulations Moléculaires, UMR 7140, CNRS-Université de Strasbourg). L'optimisation de la géométrie des complexes  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39a-f})]$  en phase gazeuse a été réalisée par DFT en utilisant la fonctionnelle  $w\text{B97XD}^{[182]}$  et une base  $\text{LANL2DZ}^{[183]}$  ou une fonctionnelle  $\text{B3LYP}^{[184]}$  et une base  $\text{def2-TZVP}^{[185]}$ , alors que celles des deux diastéréoisomères de  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$ , plus précisément  $\Delta, \Delta$ - $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  et  $\Delta, \Delta$ - $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  ont été réalisées en utilisant la fonctionnelle  $w\text{B97XD}$  et une base  $\text{LANL2DZ}$ . Les spectres d'absorption UV-visible des complexes  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39a-f})]$  ont été obtenus *via* des calculs DFT dépendants du temps (TD-DFT) en utilisant la fonctionnelle  $\text{B3LYP}$  et une base  $\text{def-TZVP}$ . Tous les calculs ont été réalisés en utilisant le logiciel *Gaussian09*, revision  $\text{D01}^{[186]}$ .

Une sélection des données structurales des complexes monomériques est listée Tableau 4. En phase gazeuse, une distorsion prononcée des ligands néocuproïne incorporés dans les structures optimisées des complexes  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39d})]$ ,  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39e})]$  et  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39f})]$ , est observée, de manière similaire à celle observée pour les structures à l'état solide des complexes. En revanche, les ligands  $\mathbf{39a}$ ,  $\mathbf{39b}$  et  $\mathbf{39c}$  apparaissent comme plan dans les complexes  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39a})]$ ,  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$  et  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39c})]$ . Alors que les valeurs des angles O-Ti-O et N-Ti-N sont relativement similaires à celles mesurées dans les différentes structures à l'état solide, les valeurs des angles  $\alpha$  et  $\beta$  divergent légèrement de celles mesurées expérimentalement dans les structures à l'état solide. Le cas de  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39e})]$  est démonstratif puisque dans les modèles calculés,  $\alpha$  et  $\beta$  sont de  $14.4^\circ$  et  $8.0^\circ$  respectivement, tandis que dans la structure cristalline, les valeurs obtenues sont de  $10.8^\circ$  et  $9.3^\circ$  respectivement (Tableau 4). Comme mentionné précédemment, les structures à l'état solide ont révélé un raccourcissement des angles de liaison  $\text{O}_{\text{eq}}\text{-Ti-O}_{\text{eq}}$  pour les complexes à base de néocuproïne en comparaison avec les analogues incorporant des ligands phénanthroline (Tableau 2). Une observation similaire est faite pour les structures calculées en phase gazeuse (Tableau 4). Le raccourcissement des liaisons  $\text{O}_{\text{eq}}\text{-Ti-O}_{\text{eq}}$ , provenant certainement de la gêne stérique imposée par les ligands incorporant les dérivés de néocuproïne, a probablement des conséquences significatives sur l'énergie des complexes. D'après le modèle de recouvrement orbitalaire<sup>[187-190]</sup>, le recouvrement Ti-O atteint une énergie maximale lorsque l'angle O-Ti-O est égal à  $90^\circ$ . Par conséquent, une diminution des angles de liaison  $\text{O}_{\text{eq}}\text{-Ti-O}_{\text{eq}}$  (les angles sont plus proches de  $90^\circ$  en comparaison avec les complexes incorporant des phénanthrolines

non substituées) des complexes néocuproïne induisent un gain énergétique, ce qui permet à ceux-ci de compenser la déstabilisation provoquée par la distorsion des ligands néocuproïne.

La modélisation des deux diastéréoisomères  $\Lambda, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] et  $\Delta, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] apportent des informations importantes pour la compréhension du comportement du dimère à l'état solide et en solution (Tableau 5).

**Tableau 5** : Sélection d'angles de liaison O-Ti-O et N-Ti-N et angles  $\alpha$  et  $\beta$  calculés à partir des structures de  $\Lambda, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] et  $\Delta, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] calculées et minimisées dans le dichlorométhane et en phase gazeuse.

		Angles (°)				
		N-Ti-N	O <sub>ax</sub> -Ti-O <sub>ax</sub>	O <sub>eq</sub> -Ti-O <sub>eq</sub>	$\beta$	$\alpha$
Phase gazeuse	$\Lambda, \Delta$ -[Ti <sub>2</sub> ( <b>38</b> ) <sub>4</sub> ( <b>40</b> )]	75.0	166.0	100.7	11.0	19.1
	$\Delta, \Delta$ -[Ti <sub>2</sub> ( <b>38</b> ) <sub>4</sub> ( <b>40</b> )]	74.1	169.9	100.3	13.3	10.6
	$\Delta, \Delta$ -[Ti <sub>2</sub> ( <b>38</b> ) <sub>4</sub> ( <b>40</b> )]	74.0	169.5	102.2	9.3	9.3
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	$\Lambda, \Delta$ -[Ti <sub>2</sub> ( <b>38</b> ) <sub>4</sub> ( <b>40</b> )]	74.6	171.7	99.5	11.8	12.3
	$\Lambda, \Delta$ -[Ti <sub>2</sub> ( <b>38</b> ) <sub>4</sub> ( <b>40</b> )]	75.2	167.9	99.8	10.9	18.7
	$\Delta, \Delta$ -[Ti <sub>2</sub> ( <b>38</b> ) <sub>4</sub> ( <b>40</b> )]	73.3	170.7	101.1	9.5	10.1

Premièrement, en raison de la dissymétrie de la structure de  $\Lambda, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)], deux jeux de données sont affichés Tableau 5. En phase gazeuse, la distorsion des deux ligands diimine pour  $\Lambda, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] est différente. En effet, le ligand néocuproïne incorporé dans la sphère de coordination de configuration  $\Delta$  est très distordu ( $\alpha = 19.1^\circ$ ) en comparaison avec le second fragment néocuproïne ( $\alpha = 10.6^\circ$ ). Il est intéressant de noter que des valeurs de  $\alpha$  et  $\beta$  proches de celles déterminées pour le complexe en phase gazeuse ont été obtenues pour la simulation dans le dichlorométhane (Tableau 5). Concernant le dimère homochiral,  $\Delta, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)], la modélisation indique en moyenne une distorsion inférieure des ligands diimine en phase gazeuse ou dans le dichlorométhane. De plus, les énergies calculées des stéréoisomères modélisés,  $\Lambda, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] et  $\Delta, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)], indiquent que le dimère homochiral est plus stable que l'hétérochiral, en accord avec la structure cristalline de [Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] et l'analyse <sup>1</sup>H RMN dans le CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. En phase gazeuse, le rapport  $\Delta, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)]/ $\Lambda, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] modélisé est de 19:1, signifiant que la stabilité calculée de  $\Delta, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] est supérieure à celle obtenue en solution, puisqu'un rapport  $\Delta, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)]/ $\Lambda, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] de 7:3 a été faite par analyse RMN <sup>1</sup>H dans le dichlorométhane-*d*<sub>2</sub>. Afin de déterminer l'impact du solvant sur la stabilité relative des deux diastéréoisomères en solution, leur géométrie a été optimisée en ajoutant les effets du solvant *via* le modèle de continuum polarisable<sup>[188]</sup>

(PCM) (Tableau 6). Une diminution de la différence d'énergie entre les deux complexes est observée, puisqu'un rapport  $\Delta, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)]/ $\Lambda, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] de 4.8:3 est obtenu dans le dichlorométhane. Ce résultat s'approche du résultat obtenu expérimentalement (7:3). De plus, la stabilité accrue de  $\Delta, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] en comparaison avec  $\Lambda, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] pourrait être expliquée par la plus faible distorsion des ligands néocuproïne dans le dimère homochiral.

**Tableau 6** : Énergie des diastéréoisomères  $\Lambda, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] et  $\Delta, \Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)] optimisés (wB97XD//LAN2DZ) en phase gazeuse et en prenant en compte le solvant en utilisant le modèle de continuum polarisable (PCM). \*Énergies en Hartree. \*\*Énergies en kJ.mol<sup>-1</sup>.

	E* ( $\Lambda, \Delta$ )	E* ( $\Delta, \Delta$ )	$\Delta E^*$ ( $\Delta, \Delta - \Lambda, \Delta$ )	$\Delta E^{**}$ ( $\Delta, \Delta - \Lambda, \Delta$ )
Phase gazeuse	-5712.13190461	-5712.13467815	-0.00277354	-7.3
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-5712.17428557	-5712.17472578	-0.00044021	-1.2
CHCl <sub>3</sub>	-5712.16527620	-5712.16635919	-0.00108299	-2.8

Les orbitales frontières impliquées dans la transition de plus haute intensité pour les complexes [Ti(**38**)(**39a-f**)] en phase gazeuse et dans le dichlorométhane sont données en annexe. Ces représentations montrent que les niveaux BV sont centrés sur le ligand diimine avec une petite contribution du métal. Cela confirme le résultat obtenu avec l'analyse de la réflexion diffuse optique à l'état solide qui indique que les ligands **39a-f** sont impliqués dans les niveaux BV. Par ailleurs, la forme des orbitales BV ne semble pas affectée par la présence de groupements méthyles et, par conséquent, la distorsion des ligands. Les niveaux HO sont majoritairement localisés sur les ligands **38**. Ces observations sont retrouvées en phase gazeuse et dans le dichlorométhane. Dans l'ensemble, il apparaît que les transitions électroniques dans le visible proviennent de transferts de charges du ligand vers le métal (LMCT). Les énergies des transitions BV-HO ont été calculées avec l'aide de la TD-DFT et sont représentées Tableau 7.

**Tableau 7** : Écart HO-BV, première et plus intense énergies d'excitation, calculés à partir de la TD-DFT en phase gazeuse et à l'état solide.

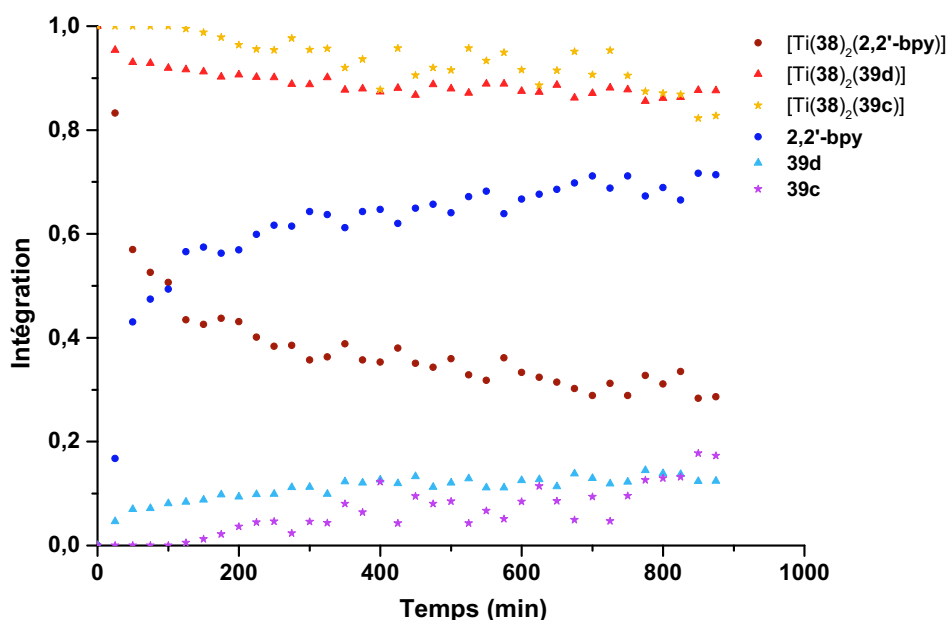
	HO-BV eV	1 <sup>ère</sup> excitation				Plus intense excitation			
		Phase gazeuse		CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>		Phase gazeuse		CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	
		eV	nm	eV	nm	eV	nm	eV	nm
[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39a</b> )]	2.7666	2.2241	557	2.5650	483	2.2241	557	2.7341	453
[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39b</b> )]	2.7086	2.1715	571	2.4973	496	2.1715	571	2.6697	464
[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39c</b> )]	2.7946	2.2509	551	2.5637	484	2.2509	551	2.7240	455
[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39d</b> )]	3.0512	2.4247	511	2.6396	466	2.7599	449	2.7651	448
[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39e</b> )]	3.0134	2.4240	511	2.6600	466	2.6567	467	2.7620	449
[Ti( <b>38</b> ) <sub>2</sub> ( <b>39f</b> )]	2.9394	2.3737	522	2.6487	468	2.602	476	2.7445	452

Il est utile de noter que les calculs effectués avec la fonctionnelle wB97XD ont abouti à des transitions électroniques dans le domaine de l'UV seulement. A l'opposée, les résultats obtenus *via* la fonctionnelle B3LYP montrent des excitations dans le domaine du visible pour tous les complexes, ce qui correspond aux résultats expérimentaux. C'est pourquoi seuls ces derniers résultats sont présentés ici. En outre, les longueurs d'onde d'excitation déterminées avec l'aide de la TD-DFT sont fortement dépendantes du milieu utilisé pour réaliser les calculs (phase gazeuse ou dichlorométhane). Cela contribue à expliquer pourquoi la discussion des résultats théoriques en comparaison avec les données de réflexion diffuse est difficile. Cela souligne aussi le fait que les effets à l'état solide peuvent influencer les propriétés d'absorption de ces composés. Néanmoins, il est clair que l'ajout de groupements électrodonneurs sur le ligand phénanthroline provoque un décalage vers le rouge des excitations. En complément, il a été observé que les niveaux BV des complexes incorporant les néocuproïnes étaient en moyenne plus élevés que les mêmes niveaux sur les complexes [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39a-c**)], résultat provenant certainement de la distorsion des ligands. Cette propriété est encore davantage observée en phase gazeuse, par rapport au dichlorométhane. Pour finir, les six premières transitions électroniques des complexes [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39a-f**)] se trouvent dans un intervalle de 60 nm, expliquant pourquoi une bande d'absorption large est observée sur les spectres UV expérimentaux dans le dichlorométhane (Figure 35). De plus, la couleur observée dans ces systèmes provient de multiples transitions entre orbitales frontières et n'a par conséquent pas pu être attribuée à la seule transition électronique du niveau HO vers celui BV.

#### d. Étude de la stabilité hydrolytique des complexes de titane(IV)

La stabilité hydrolytique des complexes de coordination de titane(IV) est un facteur majeur pour leurs applications dans le domaine biomédical et plus particulièrement dans le domaine des anticancéreux. Habituellement, les complexes de titane(IV), comme le dichlorure de titanocène ou bien le budotitane, utilisés en anticancéreux, montrent une stabilité hydrolytique modérée<sup>[191,192]</sup>. Dans le cas des complexes de titane(IV) anticancéreux développés par le groupe de Tshuva, l'espèce active est dérivée d'une transformation complète de la structure initiale par réaction avec

l'eau<sup>[193]</sup>. Dans le cas des complexes  $TiO_4N_2$  développés au laboratoire, la décoordination du ligand bidentate azoté par l'eau est suivie de la formation d'oxoclusters de titane(IV) incorporant le ligand biphenolato<sup>[174]</sup>. Une évaluation de la stabilité hydrolytique des composés à base de titane(IV) a donc été réalisée. La dégradation des complexes sélectionnés a été évaluée en suivant une méthodologie similaire à celle déjà reportée pour des complexes de titane analogues<sup>[194]</sup>. Ces études ont été menées par spectroscopie RMN  $^1H$ , en analysant des solutions dans le  $DMSO-d_6$  du complexe en fonction du temps, après addition de  $D_2O$  à température ambiante. Pour ces analyses, un large excès de  $D_2O$  a été ajouté (1000 équivalents par rapport au complexe). La concentration finale de la solution obtenue est de 6 mM. En raison de la faible solubilité de plusieurs complexes dans ce milieu, l'expérience a été limitée aux complexes  $[Ti(38)_2(39c,d)]$ . De plus, un complexe  $[Ti(38)_2(2,2'-bpy)]$  incorporant un ligand 2,2'-bipyridine à la place du ligand phénanthroline a été utilisé comme référence. L'obtention du complexe bipyridine a été plus difficile par rapport aux analogues incorporant une phénanthroline en raison d'une étape de purification fastidieuse. La stabilité de  $[Ti(38)_2(2,2'-bpy)]$  a été étudiée dans les mêmes conditions que celles des complexes phénanthroline.



**Figure 36** : Graphe représentant l'intégration des signaux des ligands diimine libres (en bleu foncé, clair et violet) ainsi que ceux des ligands diimine coordonnés (en brun, rouge et orange). Une valeur de  $T_{1/2} = 110$  min ( $\pm 5\%$ ) a été déterminée pour l'hydrolyse de  $[Ti(38)_2(2,2'-bpy)]$ .

L'intégration des signaux diimine en fonction du temps résultant de l'analyse des complexes  $[Ti(38)_2(39c,d)]$  et  $[Ti(38)_2(2,2'-bpy)]$  est montrée Figure 36. Les complexes  $[Ti(38)_2(39c,d)]$  sont très stables dans le milieu. Après 15h, environ 10%

des complexes initiaux ont été dégradés. Il est important de noter que cette proportion reste inchangée, même après une durée prolongée (3 jours). Aucune différence notable de stabilité hydrolytique entre  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39c})]$  et  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39d})]$  n'a été observée, indiquant que la présence des groupements méthyles en position 2 et 9 de la phénanthroline n'est pas nécessaire pour développer des complexes stables. Néanmoins, lorsque les complexes de titane incorporent un ligand diimine à la flexibilité accrue, la stabilité est fortement réduite, comme démontré par le temps de demi-vie de 110 min ( $\pm 5\%$ ) mesuré pour  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{2,2'-bpy})]$ .

#### e. Conclusion

Une série de complexes de titane(IV) construits autour d'un cœur  $\text{TiO}_4\text{N}_2$  incorporant des dérivés de ligands phénanthroline et néocuproïne a été synthétisée, caractérisée, et les structures à l'état solide des composés analysés par diffraction des rayons X sur des monocristaux ont été déterminées. Le dimère  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  a aussi été synthétisé et caractérisé de manière similaire aux monomères. La distorsion des ligands diimine pour les structures à l'état solide des complexes  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39d-f})]$  et  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  incorporant les dérivés de néocuproïne a été constatée et quantifiée par deux angles de courbure et de torsion,  $\alpha$  et  $\beta$  respectivement. De plus, les complexes de titane(IV) ont montré une stabilité hydrolytique très élevée, indépendamment de la substitution en position 2 et 9.

La haute stabilité en milieu aqueux des complexes de type  $\text{TiO}_4\text{N}_2$  valide le choix de leur utilisation pour la synthèse d'inhibiteurs de protéine kinases compétitifs de l'ATP. Néanmoins, avant d'entamer la synthèse des complexes pour atteindre cet objectif, nous avons voulu tirer profit de cette stabilité pour réaliser des transformations chimiques directement sur le complexe.

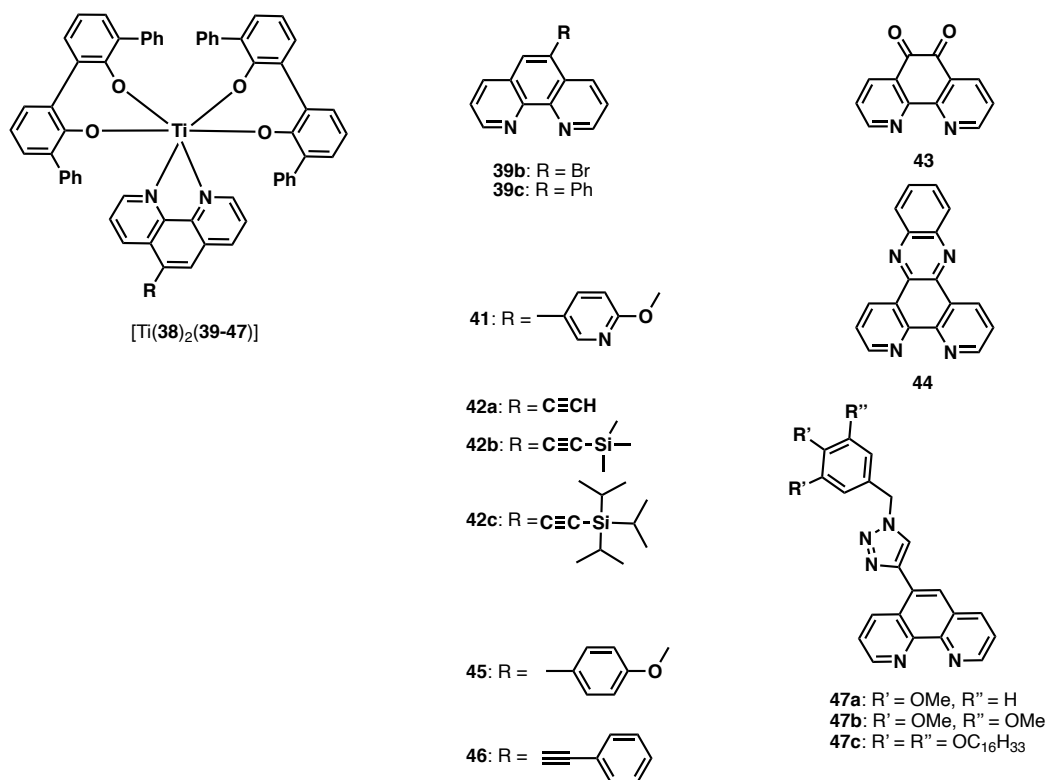


## II. Fonctionnalisation de ligands 1,10-phénanthroline directement réalisées sur des complexes $TiO_4N_2$ et application pour la synthèse multi-étapes

### a. Introduction

La plupart du temps, en chimie de coordination, la fonctionnalisation d'un ligand se fait avant sa coordination au métal. La raison principale de l'utilisation de cette stratégie de synthèse est la non-compatibilité des conditions de réaction utilisées pour la fonctionnalisation du ligand avec la stabilité du complexe de coordination. Toutefois, il est possible, dans le cas de complexes robustes, que les transformations chimiques du ligand soient faites directement sur le complexe. C'est en suivant cette méthodologie que des complexes de ruthénium polypyridyles aux applications en biologie ou en photochimie<sup>[195]</sup>, d'osmium aux propriétés de transfert d'électronique<sup>[196]</sup>, d'iridium aux propriétés catalytiques<sup>[196]</sup>, des complexes NHC de rhodium<sup>[197,198]</sup>, ou encore des complexes de platine aux propriétés photophysiques<sup>[199]</sup> ont pu être développés. La fonctionnalisation de ligands par des réactions de synthèse organique directement sur le complexe métallique permet d'ajuster finement les propriétés physico-chimiques des composés. Cette alternative à la méthode consistant à fonctionnaliser le ligand libre avant l'étape de coordination au métal permet d'accéder à différentes architectures supramoléculaires<sup>[200]</sup> telles que des métallacycles<sup>[201]</sup>, des hélicates<sup>[202]</sup>, des grilles<sup>[203]</sup>, des prismes<sup>[204]</sup>, des caténanes<sup>[205]</sup> ou bien aussi à élaborer des catalyseurs de nouvelle génération<sup>[206]</sup>. Mis à part de très rares cas<sup>[207]</sup>, la fonctionnalisation de ligands coordonnés au titane(IV) reste inexplorée. C'est ainsi que nous avons voulu exploiter l'excellente stabilité des complexes de titane(IV) incorporant un ligand phénanthroline pour évaluer leur compatibilité avec plusieurs réactions de synthèse organique.

## b. Synthèse des complexes de titane précurseur



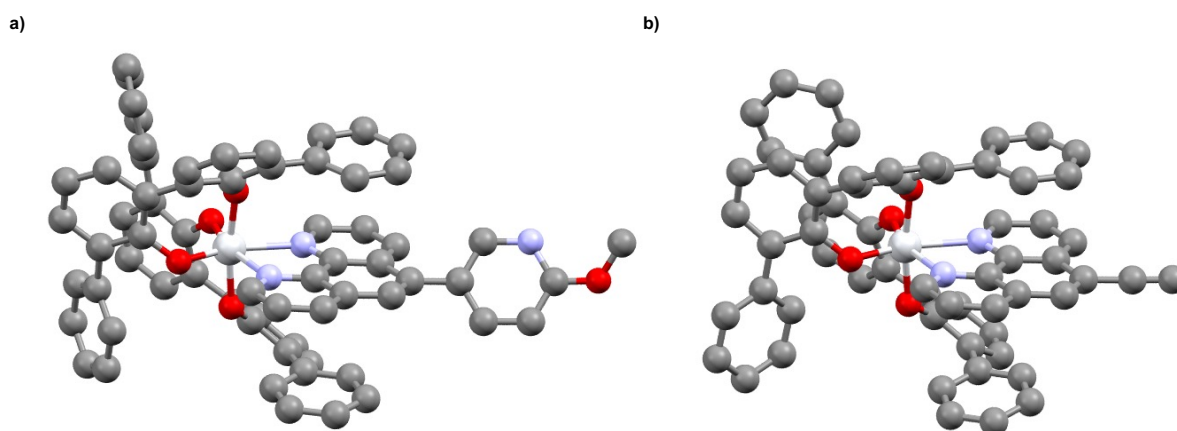
**Figure 37** : Ligands et complexes utilisés dans le cadre d'une chimie réalisée directement sur des complexes formés à partir du squelette TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub>

Plusieurs transformations synthétiques sur les complexes construits autour d'un cœur TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub> ont été envisagées. Ces réactions incluent la formation de liaisons carbone-carbone par couplages de Suzuki et de Sonogashira, la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen, la formation d'imine ou encore le clivage de groupements éther. Afin de mettre en œuvre ces réactions, des précurseurs portant des groupements fonctionnels adaptés ont été synthétisés. Les complexes décrits Figure 37 incorporent des ligands 1,10-phénanthroline décrits dans la littérature, à l'exception de **41**, obtenu par couplage de Suzuki entre **39b** et l'acide 2-méthoxypyridine-5-boronique. Le complexe [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39a**)] a été décrit dans la partie I de ce chapitre. Les complexes [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**41**)], [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**42a**)] et [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**43**)] ont été obtenus en suivant deux différentes voies de synthèse. Dans un premier temps, la 5-éthynyl-1,10-phénanthroline **42a** a été obtenue par couplage de Sonogashira classique<sup>[208]</sup> suivi d'une purification par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt :cyclohexane) pour obtenir le produit désiré avec un rendement de 69%. Ensuite, la synthèse de **43** a été réalisée par oxydation de la 1,10-phénanthroline en présence de KBr, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et HNO<sub>3</sub> à 100 °C. Dans un second temps, [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**41**)] a été synthétisé par la méthode décrite équation

1 dans la partie I. Les complexes  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  et  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{43})]$  ont été obtenus en une étape par réaction d'un équivalent de  $[\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4]$  avec 2 équivalents de  $\mathbf{38H}_2$  et un équivalent de  $\mathbf{42a}$  et  $\mathbf{43}$  respectivement, selon l'équation 3 :



A nouveau, indépendamment du protocole utilisé, les complexes synthétisés ont pu être purifiés par chromatographie sur colonne d'alumine. Le rendement très faible obtenu pour la synthèse de  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{43})]$  peut être expliqué par la présence d'une grande quantité de produits secondaires insolubles.



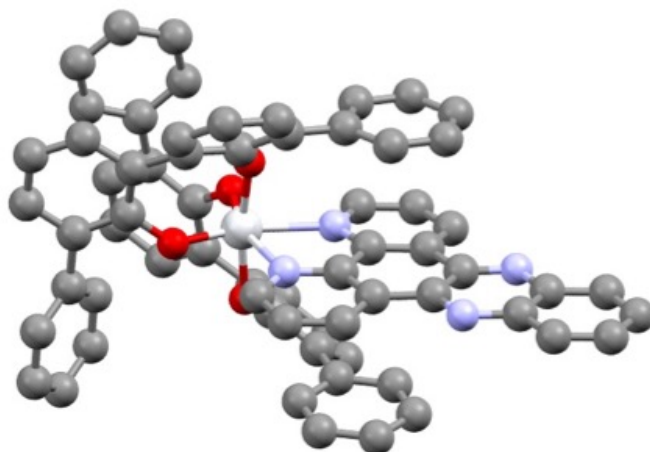
**Figure 38** : Structures obtenues par diffraction des rayons X sur des monocristaux des complexes a)  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{41})]$  et b)  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  à l'état solide. Les atomes de titane sont représentés en blanc, les atomes de carbone en gris, les atomes d'oxygène en rouge et les atomes d'azote en violet. Les molécules de solvant, le désordre et les atomes d'hydrogène sont omis par souci de clarté.

Ces espèces non désirées peuvent provenir de la coordination des deux atomes d'oxygène en position 5 et 6 du ligand  $\mathbf{43}$  au centre métallique au lieu des deux atomes d'azote. Les structures des complexes  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{41})]$  et  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  ont été obtenues par diffraction des rayons X sur des monocristaux obtenus par diffusion liquide-liquide de pentane dans des solutions des composés dissouts dans le dichlorométhane (Figure 38). Les données métriques et angulaires des structures sont similaires à celles décrites dans la première partie de ce chapitre et ne seront par conséquent pas développées.

### c. Chimie sur le complexe

Une fois les précurseurs  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{41})]$ ,  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  et  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{43})]$  synthétisés, plusieurs réactions utilisées couramment en synthèse organique ont été testées. La première réaction mise en œuvre a été la déprotection du groupement OMe sur  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{41})]$  en utilisant des conditions classiques (dichlorométhane anhydre,  $\text{BBr}_3$ )<sup>[209]</sup>. Après traitement, l'analyse par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  a révélé la présence d'une quantité élevée de ligand  $\mathbf{38H}_2$ . Dans ce cas-là, la dégradation du complexe est certainement liée à la présence d'acide bromhydrique formé après ajout d'eau lors du traitement post-réactionnel. Des réactions impliquant des conditions plus douces ont donc été choisies. Parmi le panel de transformations chimiques disponibles, la formation d'imine paraissait compatible avec la stabilité des précurseurs puisque seule de l'eau est produite lors de la formation de la liaison imine entre les fonctions carbonyle et amine.

$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{43})]$  incorporant la phénanthroline-5,6-dione a ainsi réagi avec un léger excès d'*o*-phénylènediamine dans l'éthanol à température ambiante<sup>[210]</sup>. La réaction a été suivie par CCM, indiquant que la consommation complète du réactif après 72 h. Le brut réactionnel a ensuite été purifié par chromatographie sur colonne d'alumine afin d'obtenir le complexe  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{44})]$  avec un rendement de 56%.  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{46})]$  a été caractérisé par spectroscopie  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , spectrométrie de masse ainsi que par analyse élémentaire. En complément, la structure du composé a été acquise par diffraction des rayons X sur un monocristal obtenu par diffusion liquide-liquide.



**Figure 39** : Structure du complexe  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{44})]$  à l'état solide. L'atome de titane est représenté en blanc, les atomes de carbone en gris, les atomes d'oxygène en rouge, les atomes d'azote en violet. Les molécules de solvant, le désordre et les atomes d'hydrogène sont omis par souci de clarté.

La structure à l'état solide du complexe donnée Figure 39 permet de conclure sans ambiguïté quant à la formation du complexe désiré.

Ce premier résultat encourageant nous a poussé à tester d'autres classes de réactions. En particulier, les couplages carbone-carbone métallo-catalysés ont paru très attractifs car ceux-ci permettent de balayer plusieurs conditions réactionnelles ainsi que différents catalyseurs et substituants<sup>[211]</sup>. Dans un premier temps, le complexe [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39b**)] a été engagé dans une série de couplages pallado-catalysés de Suzuki. Le Tableau 8 regroupe les conditions utilisées et les conversions obtenues pour ces réactions.

**Tableau 8** : Conditions de couplage de Suzuki utilisées et taux de conversion. Conditions générales utilisées : [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39b**)] (10 mg, 0.19 mmol, 1 eq), acide arylboronique (0.38 mmol, 2 eq), base : (0.38 mmol, 2 eq), catalyseur de Pd : (19 μmol, 0.1 eq), toluène/eau 8 :1 (1 mL), 110 °C, 48 h. <sup>a</sup> 3 :3 (1 mL). <sup>b</sup> 8 :1 (1 mL). <sup>c</sup> 0.1 eq/0.4 eq. <sup>d</sup> Les conversions ont été évaluées par analyse RMN <sup>1</sup>H.

Entrée	Réactif	Base	Catalyseur	Solvant	Conversion(%) <sup>d</sup>
1	Acide phénylboronique	Ba(OH) <sub>2</sub> ·(H <sub>2</sub> O) <sub>8</sub>	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	Toluène/eau	21
2	Acide phénylboronique	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	Toluène/eau	66
3	Acide 4-méthoxyphénylboronique	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	Toluène/eau	65
4	Acide phénylboronique	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	Toluène/EtOH/eau <sup>a</sup>	8
5	Acide phénylboronique	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	DME/eau <sup>b</sup>	0
6	Acide phénylboronique	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	Toluène/eau	59
7	Acide phénylboronique	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Pd(OAc) <sub>2</sub> /PPh <sub>3</sub> <sup>c</sup>	Toluène/eau	53
8	Acide phénylboronique	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Toluène/eau	61

En moyenne, les conversions sont peu élevées. Les résultats les plus probants ont été acquis quand [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39b**)] a réagi avec l'acide phénylboronique ou l'acide 4-méthoxyphénylboronique dans un mélange diphasique toluène/eau à reflux avec le catalyseur classique Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> et Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (entrées 2 et 3). Néanmoins, la dégradation du complexe survient puisqu'une quantité élevée de ligand **38**H<sub>2</sub> libre a été détectée par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H. Dans des conditions plus basiques, *i.e.* avec l'utilisation de Ba(OH)<sub>2</sub> à la place de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, le complexe se dégrade davantage. Il est intéressant de noter que lorsqu'un mélange de solvants miscibles est utilisé, les conversions obtenues sont faibles ou nulles (entrées 4 et 5). Dans ces cas-là, il est supposé que le mélange de solvants favorise la coordination d'eau sur le métal et par conséquent la dégradation du complexe. Cependant, ces essais ont permis de valider l'idée que les complexes de titane(IV) construits autour d'un squelette TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub> sont

compatibles avec les conditions de réactions métallo-catalysées et que la nature du solvant et de la base utilisée sont cruciales. De plus, les conversions incomplètes observées pour les réactions de Suzuki-Miyaura sont probablement liées à la gêne stérique induite par les ligands **38**, rendant difficile l'accès du catalyseur au brome sur le ligand **39b** pour l'étape d'addition oxydante.

Contrairement aux réactions de Suzuki-Miyaura, les couplages de Sonogashira ne nécessitent pas de base minérale puisqu'au cours du cycle catalytique, il est communément admis qu'une base organique azotée déprotonne le dérivé acétylénique<sup>[212]</sup>. En outre, les conditions de réactions de Sonogashira requièrent habituellement un milieu organique anhydre et des solvants distillés. Les conditions de réactions testées sur  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$  sont regroupées dans le Tableau 9.

**Tableau 9** : Conditions de couplages de Sonogashira et taux de conversion. Conditions générales :  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$  : (10 mg, 1 eq), réactif : 2eq, catalyseur de Pd/CuI (0.1/0.11 eq), solvant/base (1 mL/0.3 mL), 50 °C, 48 h.

Entrée	Complexe	Réactif	Catalyseur <sup>a</sup>	Solvant/Base	Conversion (%) <sup>b</sup>
1	$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$	TMSC≡CH	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	THF/ iPr <sub>2</sub> NH	57
2	$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$	TMSC≡CH	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	THF/ iPr <sub>2</sub> NH	60
3	$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$	TIPSC≡CH	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	THF/ iPr <sub>2</sub> NH	93
4	$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$	TMSC≡CH	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	THF/ Et <sub>3</sub> N	1
5	$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$	TMSC≡CH	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	DMF/ iPr <sub>2</sub> NH	0
6	$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$	TMSC≡CH	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	dioxane/iPr <sub>2</sub> NH	5

Dans un premier temps,  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$  réagit avec le triméthylsilylacétylène en présence de CuI, de diisopropylamine et un catalyseur de palladium (Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> ou Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) dans le tétrahydrofurane (entrées 1 et 2). Une conversion de  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$  en  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42b})]$  supérieure à 50% a été observée. Il est important de noter que lorsque le triméthylsilylacétylène a été remplacé par le triisopropylsilylacétylène, une valeur supérieure de 93% a été obtenue (entrée 3), et qu'aucune dégradation, qu'il s'agisse du réactif ou du produit, n'a été constatée pour toutes les entrées. Dans un second temps, le composé  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  a été engagé en tant que réactif pour une réaction de Sonogashira avec l'iodobenzène. Dans ce cas-là, le complexe  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  incorpore une phénanthroline portant un groupement acétylénique en position 5. Ici, le site de formation de la liaison C-C au sein de  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  est plus accessible en comparaison avec  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$ . La réaction de Sonogashira permettant la conversion de  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  en  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{46})]$  a été réalisée

avec un rendement isolé de 85%. Dans l'ensemble, les réactions de couplage de Sonogashira se sont révélées compatibles avec les précurseurs  $\text{TiO}_4\text{N}_2$  et ont semblé plus adaptées en comparaison avec les conditions employées pour le couplage de Suzuki.

La cycloaddition d'azotures et d'alcynes 1,3-dipolaire de Huisgen catalysée au cuivre(I) ou CuAAC (Copper-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition) permettant d'accéder à des dérivés de 1,2,3-triazoles est une méthode synthétique puissante couramment utilisée pour connecter divers fragments à un squelette moléculaire de départ<sup>[213]</sup>. La réaction de CuAAC est une réaction réalisée dans des conditions douces très attractive puisqu'elle est tolérée par de nombreux groupements fonctionnels et produit les dérivés 1,2,3-triazole avec des rendements très élevés<sup>[214]</sup>. La chimie « click » paraît donc adaptée à l'introduction de nouveaux groupements fonctionnels sur les complexes construits autour d'un squelette  $\text{TiO}_4\text{N}_2$ . La réaction du composé  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  avec les azotures **48a-c** (Figure 40), du sulfate de fer(II) et de l'ascorbate de sodium dans un milieu biphasique (dichlorométhane/eau) a permis d'accéder aux dérivés  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{47a-c})]$  avec des rendements élevés. Le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'azoture portant de longues chaînes alkyles ( $\text{C}_{16}$ ). Il est intéressant de préciser que la fonctionnalisation de ligands diimine avec de longues chaînes aliphatiques a déjà été mise au point pour la synthèse de complexes de titane(IV) mésogènes<sup>[165,169]</sup>. La structure du complexe incorporant le fragment triazole  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{47a})]$  a été confirmée par diffraction des rayons X d'un monocristal du composé. La structure résultant de l'analyse est représentée Figure 41.

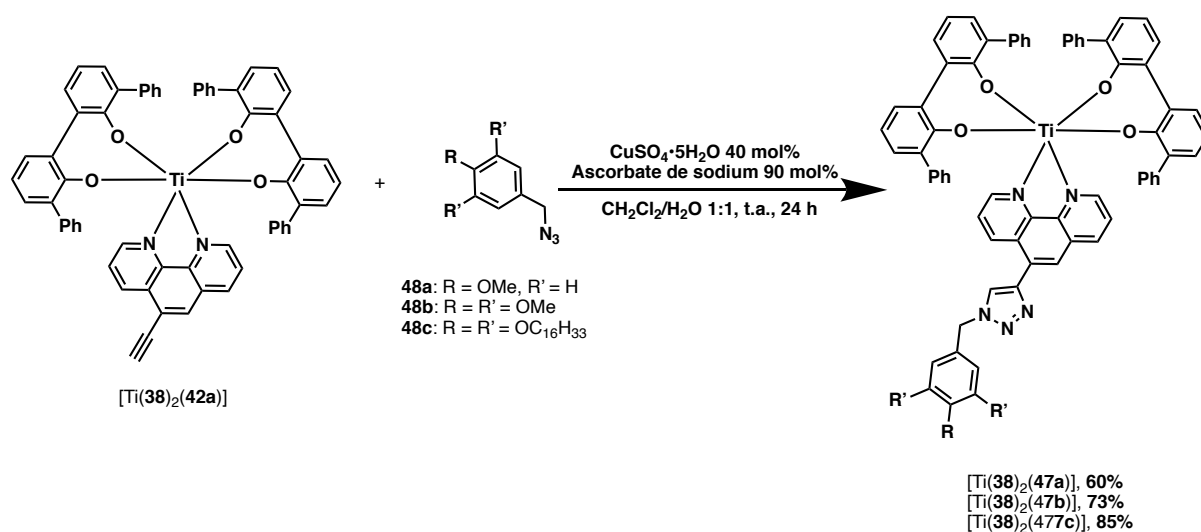
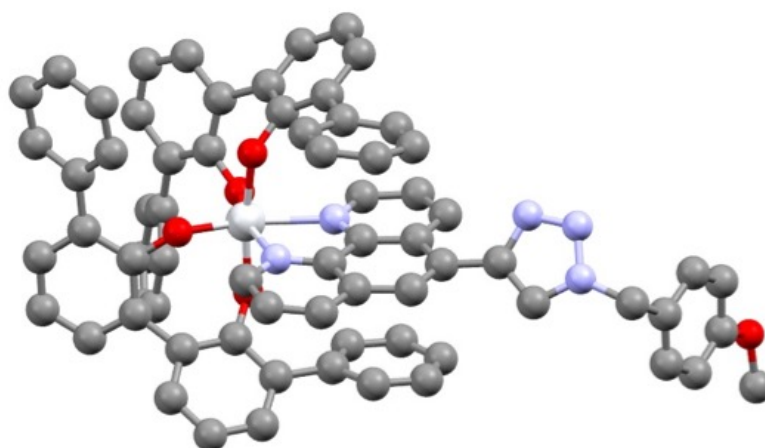


Figure 40 : Réactions de chimie « click » réalisées sur le complexe  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$ .





**Figure 41** : Structure obtenue par diffraction des rayons X sur un monocristal du complexe  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{47a})]$  à l'état solide. L'atome de titane est représenté en blanc, les atomes de carbone en gris, les atomes d'oxygène en rouge et les atomes d'azote en violet. Les molécules de solvant, le désordre et les atomes d'hydrogène sont omis par souci de clarté.

A nouveau, la structure à l'état solide de  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{47a})]$  ressemble à celles obtenues pour  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{41})]$ ,  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  et  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{44})]$ , ainsi qu'à celles obtenues dans la première partie de ce chapitre et la description de la structure ne sera donc pas étudiée en détail. Néanmoins, il est intéressant de noter que l'unité triazole adopte une conformation synclinale par rapport au cœur phénanthroline avec un angle de torsion C=C-C=C mesuré entre la phénanthroline et le fragment triazole de  $46.29^\circ$ . En complément, le proton triazole est espacé du proton  $\text{H}_6$  de la phénanthroline d'une distance de  $2.737 \text{ \AA}$ . Cette proximité est retrouvée sur le spectre 2D ROESY enregistré dans le dichlorométhane- $d_2$ , montrant une corrélation dans l'espace entre ces deux protons.

#### d. Le fragment $\text{Ti}(\mathbf{38})_2$ comme groupement protecteur pour la synthèse multi-étapes d'un ligand bis-1,10-phénanthroline

Les groupements protecteurs jouent un rôle fondamental dans le domaine de la synthèse organique multi-étapes en raison de leur capacité à annihiler la réactivité d'un groupement fonctionnel au sein d'une architecture contenant de multiples fonctions chimiques. Dans l'idéal, un groupement protecteur doit être facile à introduire, hautement sélectif, et doit être clivé dans des conditions douces. Une pléthore de groupements protecteurs spécifiquement développés pour une fonction chimique a été décrite, et depuis plusieurs décennies, l'utilisation de groupements



protecteurs est devenue routinière pour les chimistes souhaitant accéder à des molécules naturelles complexes à travers la synthèse totale. Même si cette approche a été très peu explorée, les complexes métalliques peuvent être aussi considérés comme des groupements protecteurs efficaces<sup>[215]</sup>. En tenant compte de la chimie organique réalisée sur des ligands 1,10-phénanthroline incorporés au sein de complexes de titane(IV) décrite dans la partie II.b, il a donc été envisagé d'utiliser le fragment Ti(**38**)<sub>2</sub> comme groupement protecteur pour la synthèse d'un ligand bis-1,10-phénanthroline. En chimie de coordination, les ligands bis-1,10-phénanthroline ont reçu une attention toute particulière<sup>[143]</sup>. En effet, ces composés ont mené à la synthèse de dispositifs analytiques sophistiqués<sup>[216]</sup>, à des architectures supramoléculaires spectaculaires<sup>[217,218]</sup>, des machines moléculaires<sup>[219,220]</sup>, des complexes interagissant avec l'ADN<sup>[221]</sup>, des composés aux fortes propriétés d'absorption et d'émission de lumière<sup>[222,223]</sup> ou à des fragments de base pour générer des nœuds moléculaires<sup>[224]</sup> et des anneaux de Borromée<sup>[225]</sup>. Bien que la préparation de nombreuses bis-1,10-phénanthrolines soit bien documentée, leur synthèse est parfois ardue en raison de fastidieuses étapes de purification ou de l'interférence du ligand avec le catalyseur lorsque des réactions métallo-catalysées sont envisagées pour la transformation chimique du ligand diimine. C'est dans ce contexte que l'évaluation de méthodes de décooordination douces et quantitatives du fragment Ti(**38**)<sub>2</sub> a été entreprise dans une première étape. Dans un second temps, le fragment Ti(**38**)<sub>2</sub> a été utilisé comme groupement protecteur pour la synthèse d'une bis-1,10-phénanthroline originale.

**Tableau 10** : Conditions utilisées pour la décooordination du ligand **39b** de [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39b**)]. <sup>a</sup>La conversion a été évaluée par analyse RMN <sup>1</sup>H.

Entrée	Conditions	Solvant	Température (°C )	Conversion <sup>a</sup>
1	NaOH 2M	DMF	t.a.	21%
2	NaOH 2M	DMF	80 °C	quant.
3	NaOH 2M/Na <sub>2</sub> EDTA sat.	DMF	t.a.	16%
4	NaOH 2M/Na <sub>2</sub> EDTA sat.	DMF	80 °C	quant.
5	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 2M/EDTA sat.	DMF	t.a.	12%
6	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 2M/EDTA sat.	DMF	80°C	quant.
7	HCl 2M	DMF	t.a.	12%
8	HCl 2M	DMF	80°C	quant.

Les tentatives de décooordination du dérivé 1,10-phénanthroline ont été accomplies sur le complexe [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39b**)]. Plusieurs conditions de réaction ont été testées et l'analyse par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H a permis d'évaluer le taux de décooordination du ligand diimine. Ces conditions sont rassemblées Tableau 10. Le diméthylformamide a été choisi comme solvant pour sa miscibilité avec les solutions aqueuses, permettant donc d'utiliser des bases minérales ou organiques, au choix. Les réactions réalisées à température ambiante ont seulement montré une faible conversion après 4 h (entre 12 et 20% pour toutes les conditions utilisées). Après 20 h, aucune augmentation de la décooordination n'a été détectée. Quand les mêmes conditions ont été utilisées mais que les réactions ont été réalisées à 80°C, indépendamment des conditions employées, le milieu de départ est rapidement devenu incolore, et l'analyse par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H a révélé l'absence de réactif et uniquement la présence de **38** et **39b**. Les spectres RMN <sup>1</sup>H ont permis de déterminer une conversion quantitative des réactifs (ceux-ci sont donnés en annexe). Nous noterons que l'utilisation d'un agent chélatant tel que le Na<sub>2</sub>EDTA s'est avérée inutile pour observer une décooordination efficiente du ligand.

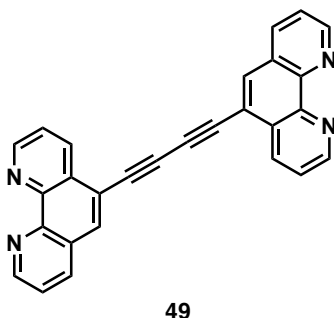


Figure 42 : Structure du composé 49.

Par la suite, les applications de la chimie pratiquée sur le complexe de titane(IV) ont été illustrées avec la synthèse du dimère de 1,10-phénanthroline **49** représenté Figure 42. D'un point de vue rétrosynthétique, ce composé pourrait être obtenu par un couplage de Hay depuis le dérivé de 1,10-phénanthroline **42a** pour former un espaceur butadiyne. Néanmoins, cette approche directe a échoué. La présence de la phénanthroline est sans doute incompatible avec les conditions de couplage de Hay classique (CuI, TMEDA et O<sub>2</sub>)<sup>[226]</sup> et conduit à la formation de complexes Cu-phénanthroline. Seule la présence du réactif de départ a été observée lorsque le brut réactionnel a été analysé. Ceci nous a poussé à développer une approche synthétique dans laquelle la phénanthroline acétylénique **42a** est protégée par le fragment Ti(**38**)<sub>2</sub>. La voie de synthèse menant à la formation de **49** est proposée Figure 43. Cette

synthèse multi-étapes a débuté par le couplage de Sonogashira permettant de convertir le réactif  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$  en  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42c})]$  avec un bon rendement de 84%. Dans un second temps, la déprotection du groupement TIPS de  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42c})]$  par le fluorure de tétra-*n*-butylammonium dans le THF a permis d'obtenir  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  avec un excellent rendement de 96%. Il est important de signaler que les rendements décrits dans la littérature pour la synthèse de la 5-éthynyl-1,10-phénanthroline en partant de la 5-bromo-1,10-phénanthroline sont plus faibles<sup>[227]</sup>. Par la suite, un couplage de Hay a été réalisé à partir du complexe  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$ . Les mêmes conditions réactionnelles que celles ayant échouées précédemment pour la conversion de  $\mathbf{42a}$  en  $\mathbf{49}$  ont été employées. Le suivi par CCM ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /pentane 50:50) a montré qu'après 24h, la tache initiale ( $R_f = 0.55$ ) avait complètement disparue et qu'une nouvelle tâche ( $R_f = 0.43$ ) était apparue. La purification par colonne chromatographique sur alumine du brut réactionnel a permis d'isoler l'architecture binucléaire  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{49})]$  avec un rendement de 64%. Le dimère a ensuite été caractérisé par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , spectrométrie de masse et analyse élémentaire. Les signaux phénanthroline ont été attribués au moyen de différentes techniques RMN (COSY, HSQC, HMBC et ROESY). Plusieurs tentatives pour obtenir des monocristaux de  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{49})]$  se sont avérées infructueuses. Des calculs DFT ont donc été réalisés afin de construire la structure de  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{49})]$ . Pour cela, le package Gaussian 09 Revision D01 a été utilisé<sup>[228]</sup>, avec une fonctionnelle B3LYP et une base LANL2DZ<sup>[183,229–231]</sup>.

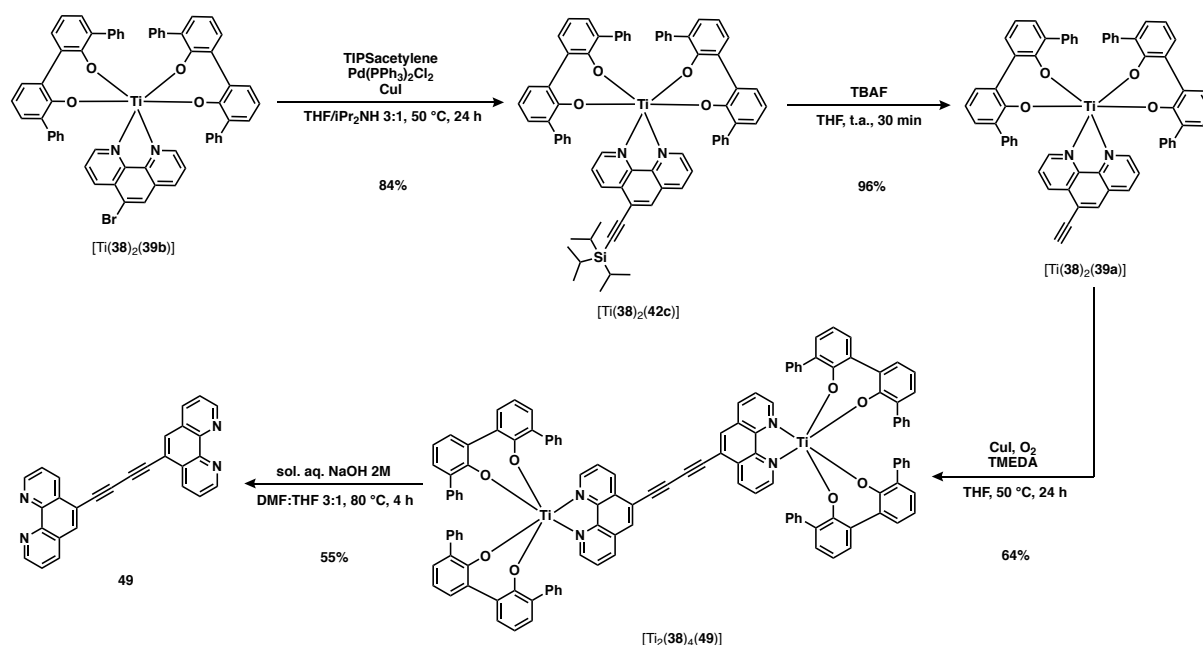
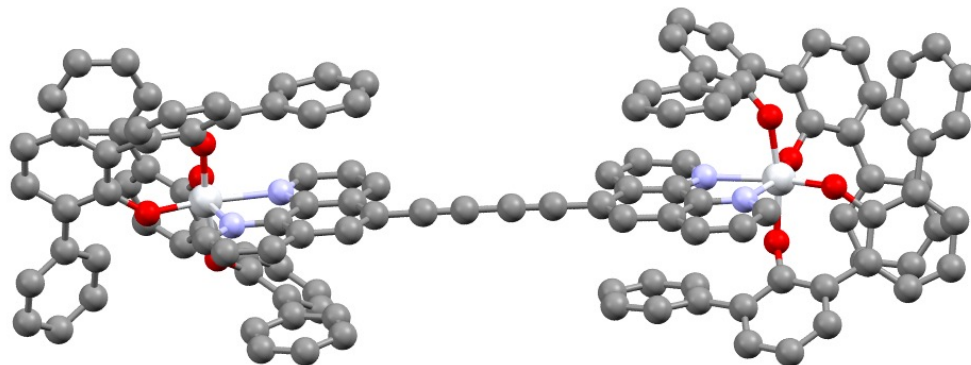


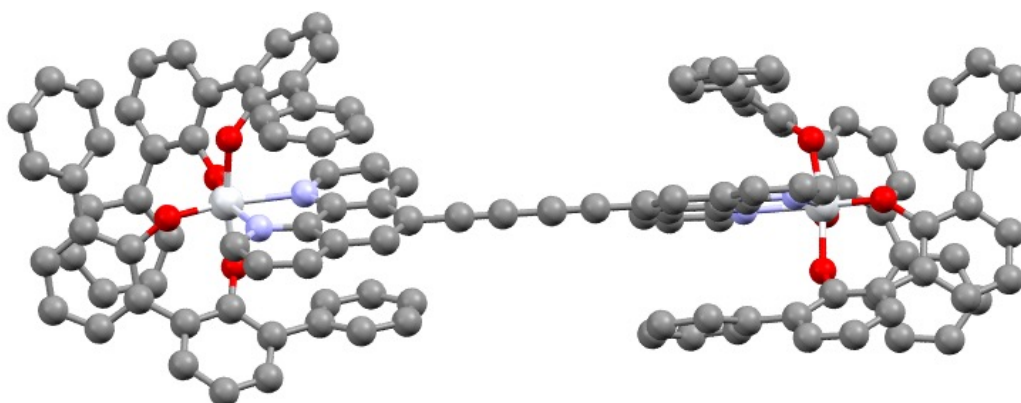
Figure 43 : Voie de synthèse menant à la formation du composé **49**.

La dispersion de correction D3 de Grimme a été appliquée lors de tous les calculs<sup>[232]</sup>. En raison de la chiralité provenant du système trischélate, les stéréoisomères  $\Delta,\Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**49**)] et  $\Lambda,\Lambda$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**49**)] ont été modélisés.

a)



b)

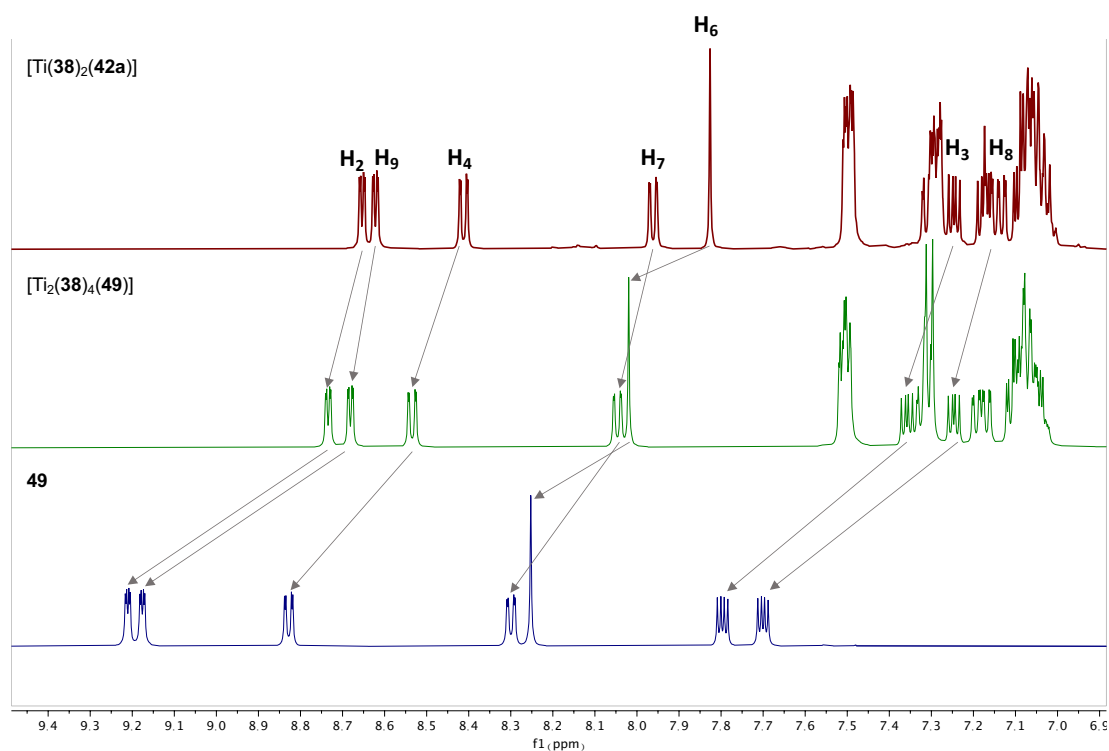


**Figure 44** : Modèles moléculaires de a)  $\Delta,\Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**49**)] et b)  $\Lambda,\Lambda$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**49**)] obtenus par calculs DFT dans le dichlorométhane (seul un conformère est représenté pour chaque stéréoisomère). Les atomes de titane sont représentés en blanc, les atomes de carbone en gris, les atomes d'oxygène en rouge et les atomes d'azote en violet. Les atomes d'hydrogène sont omis par souci de clarté.

Ces structures moléculaires calculées dont les énergies ont été minimisées sont représentées Figure 44. Pour ces modèles, une distance interatomique entre les deux centres métalliques de 17 Å est mesurée pour chaque structure. Cette large distance explique pourquoi les énergies associées aux deux diastéréoisomères sont quasiment identiques. En effet, aucune interaction entre les sous-unités monomériques ne peut être observée. Les énergies calculées pour  $\Delta,\Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**49**)] et  $\Lambda,\Lambda$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**49**)] dans lesquels le ligand bis-1,10-phénanthroline adopte deux configurations différentes sont rassemblées en annexe. En complément, l'analyse RMN <sup>1</sup>H n'a montré qu'un seul jeu de signaux, indiquant que les complexes  $\Delta,\Delta$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**49**)] et  $\Lambda,\Lambda$ -[Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**49**)] ont la même signature RMN. Ce résultat contraste avec celui obtenu pour le dimère

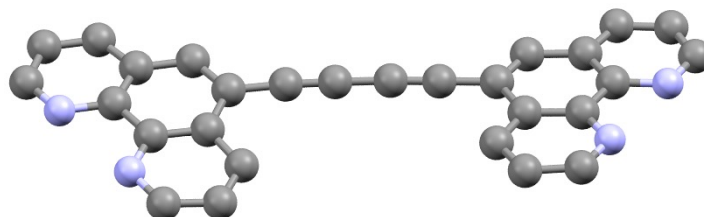
incorporant un ligand bisphénanthroline  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$  décrit dans la partie I, pour lequel les deux diastéréoisomères ont clairement pu être différenciés par RMN  $^1\text{H}$ . Néanmoins, dans la structure à l'état solide de  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{40})]$ , les deux fragments  $\text{Ti}(\mathbf{38})_2$  sont bien plus proches l'un de l'autre en raison de la seule liaison C-C espaçant les deux fragments phénanthroline.

Pour finir, le ligand **49** a été décoordiné du métal. En raison de la faible solubilité de  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{49})]$  dans les solvants organiques, à l'exception du tétrahydrofurane, les conditions employées pour déprotéger **39b** n'ont pas pu être transposées pour la déprotection de **49**. C'est pourquoi la réaction a été réalisée dans un système à trois solvants (DMF/THF/eau) avec une base (NaOH). Une décoloration rapide du mélange réactionnel a été observée, et après quelques heures, un aliquot a été extrait et analysé par RMN  $^1\text{H}$ . Aucune trace du complexe  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{49})]$  n'a été détectée. Le spectre RMN  $^1\text{H}$  montre uniquement des signaux appartenant aux ligands libres  $\mathbf{38H}_2$  et **49**. La séparation des deux produits par chromatographie sur colonne d'alumine a permis d'isoler **49** avec un rendement 55%. Le composé a ensuite été caractérisé par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , spectrométrie de masse et analyse élémentaire. La Figure 45 montre une superposition de la région aromatique des spectres de  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$ ,  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{49})]$  et **49**.



**Figure 45** : Région aromatique des spectres RMN  $^1\text{H}$  (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) à température ambiante de  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{42a})]$  (rouge),  $[\text{Ti}_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{49})]$  (vert) et **49** (bleu). Cette superposition souligne le fort déblindage des protons phénanthroline après décooordination.

Les signaux phénanthroline ont été attribués au moyen de différentes expériences RMN (COSY, HSQC, HMBC et ROESY). Nous noterons le fort déblindage que subissent les protons phénanthroline lors de la décoordination du fragment  $Ti(\mathbf{38})_2$ . Pour les protons  $H_2$  et  $H_9$ , un déblindage remarquable de  $\Delta\delta \cong 0.4$  ppm est détecté entre  $[Ti_2(\mathbf{38})_4(\mathbf{49})]$  et  $\mathbf{49}$ . La structure à l'état solide de  $\mathbf{49}$  a été obtenue par diffraction des rayons X sur un monocristal du composé. Celle-ci est représentée Figure 46.



**Figure 46** : Structure obtenue par diffraction des rayons X d'un monocristal du ligand  $\mathbf{49}$  à l'état solide. Les atomes de carbone sont représentés en gris, les atomes d'oxygène en rouge, les atomes d'azote en violet. Les molécules de solvant, le désordre et les atomes d'hydrogène sont omis par souci de clarté.

#### e. Conclusion

Dans de ce chapitre, la synthèse de complexes de titane(IV) construits autour d'un squelette  $TiO_4N_2$  incorporant une série de dérivés de la 1,10-phénanthroline a été décrite. L'analyse de la structure à l'état solide de complexes incorporant des ligands néocuproïne a montré une distorsion prononcée du ligand diimine, en comparaison avec les analogues non substitués en position 2 et 9. Indépendamment de la substitution en position 2 et 9, les complexes de titane incorporant les ligands phénanthroline ont montré une excellente stabilité hydrolytique. Dans un second temps, la stabilité des complexes  $TiO_4N_2$  a été mise à profit pour évaluer leur compatibilité avec les conditions de réactions classiques de synthèse organique. Les précurseurs adaptés à des réactions de formation d'imine, de couplage carbone-carbone de Suzuki et de Sonogashira, ainsi que de chimie « click » ont été synthétisés et les réactions décrites ont été réalisées. Les résultats obtenus ont montré une excellente tolérance des complexes construits autour d'un motif  $TiO_4N_2$  avec les conditions de Sonogashira, notamment. Ces résultats encourageant nous ont ensuite poussés à utiliser le fragment  $Ti(\mathbf{38})_2$  pour la synthèse multi-étapes d'un composé bis-1,10-phénanthroline original.

Les travaux décrits dans ce chapitre mettent en lumière la haute stabilité démontrée par les complexes de titane(IV) construits autour d'un squelette  $TiO_4N_2$  incorporant des dérivés de la 1,10-phénanthroline et valide leur utilisation en milieu aqueux. La suite de ce projet de thèse visera à synthétiser des ligands phénanthroline incorporant différents fragments accepteur/donneur de liaisons hydrogène puis à générer des complexes de titane(IV) de type  $TiO_4N_2$ , ceci dans l'optique de développer des inhibiteurs de protéine kinases.

## Chapitre III : Synthèse d'inhibiteurs de protéine kinases à base de complexes de Ti(IV), Ru(II) et Pt(II)

### III. Synthèse des ligands 1,10-phénanthrolines

#### a. Introduction

Après avoir mis en évidence la bonne stabilité hydrolytique des complexes de titane(IV) modèles, la synthèse d'une série de ligands 1,10-phénanthroline pour des applications comme inhibiteurs de protéine kinases une fois coordonnés à des métaux a été mise en œuvre. Les ligands diimine ciblés sont représentés Figure 47.

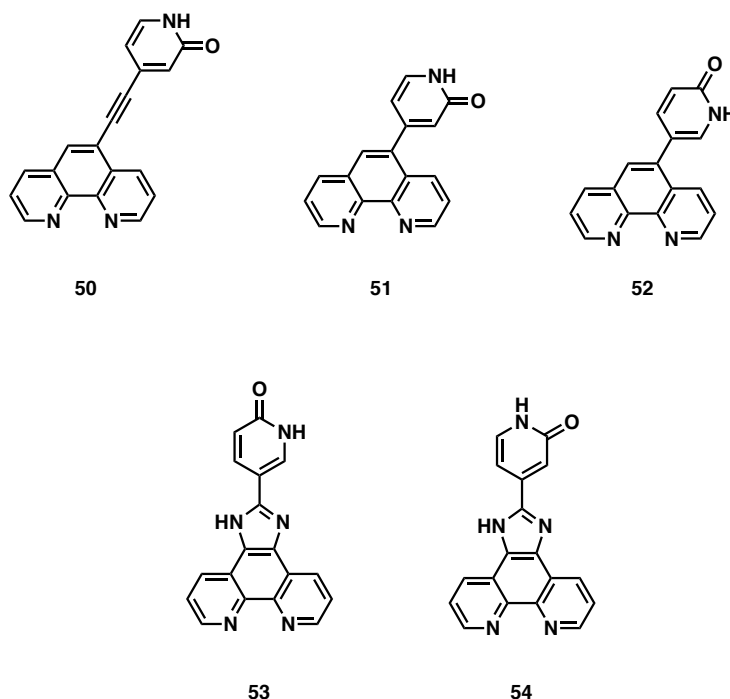


Figure 47 : Structures des ligands 1,10-phénanthrolines originaux décrits dans ce chapitre.

Comme ceci a été défini dans l'introduction de ce projet de thèse, les inhibiteurs de type I et II se lient habituellement à la poche de fixation de l'ATP de la protéine par liaisons hydrogène avec des résidus acides aminés de la charnière. Les 1,10-phénanthrolines ciblées seront donc fonctionnalisées avec un groupement capable d'interagir par liaisons hydrogène avec cette poche de fixation, en l'occurrence un fragment pyridinone. Les dérivés de la 1,10-phénanthroline que nous nous sommes proposés de synthétiser se caractérisent par leur diversité structurale et géométrique.



En particulier, différents espaceurs séparent le cœur phénanthroline de la pyridinone conduisant à des phénanthrolines de taille variable.

### b. Synthèse des ligands phénanthrolines 50-54

Les phénanthrolines **50** à **54** ont été obtenues en suivant deux voies de synthèse différentes. La première, conduisant à **50**, **51** et **52** est donnée Figure 48. Les deux étapes permettant l'accès à la phénanthroline **42a** ont été décrites dans le chapitre II.

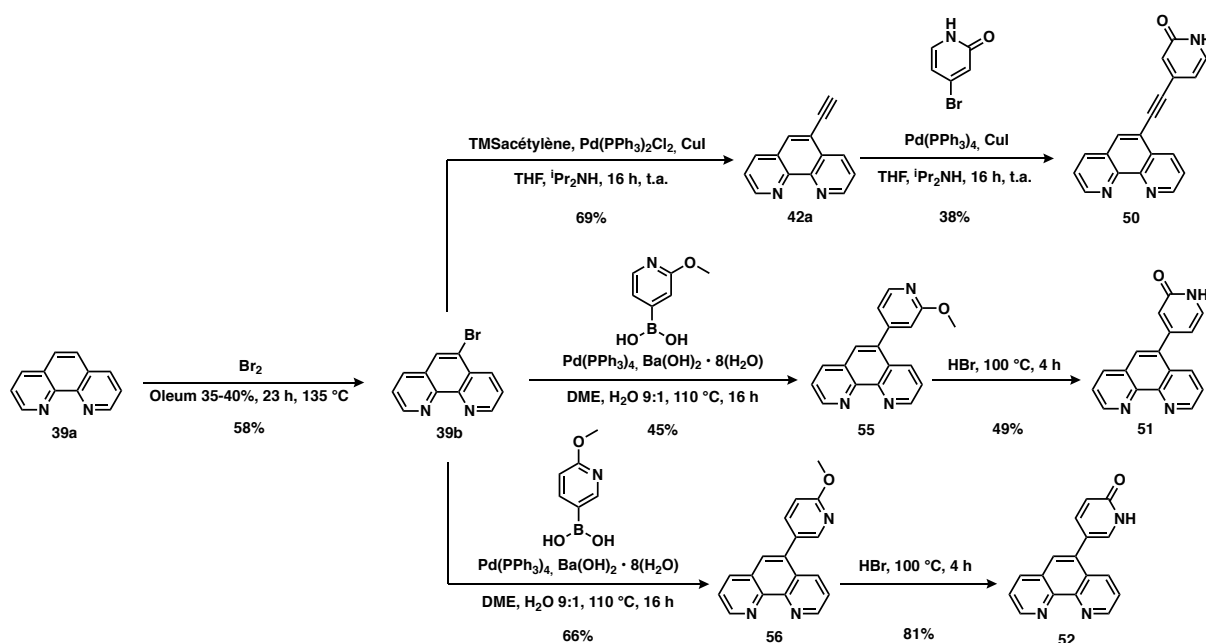


Figure 48 : Routes synthétiques permettant l'accès aux 1,10-phénanthrolines **50** à **52**.

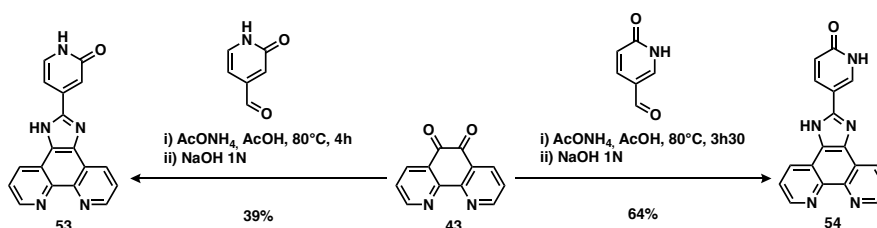


Figure 49 : Routes synthétiques permettant l'accès aux 1,10-phénanthrolines **53** et **54**.

La synthèse de **50** a été effectuée par couplage de Sonogashira entre le dérivé acétylénique **42a** et la 4-bromohydroxypyridine. Le produit désiré a ensuite été purifié par recristallisation dans le méthanol afin d'obtenir **50** sous forme d'une poudre blanche avec un rendement de 38%. L'obtention de **51** et **52** requiert deux étapes de

synthèse en partant de la 5-bromo-phénanthroline **39b**. Dans un premier temps, le couplage pallado-catalysé de Suzuki a permis l'accès aux 1,10-phénanthrolines substituées avec des groupements méthoxypyridine **55** et **56**. Enfin, grâce à une dernière étape de clivage du groupement méthoxy en présence d'acide bromhydrique dans l'eau, les produits **51** et **52** ont pu être synthétisés. Il est intéressant de noter que les composés ont pu être isolés par simple filtration après neutralisation du milieu réactionnel avec de l'hydrogénocarbonate de sodium en s'affranchissant d'une purification par colonne chromatographique. On observe un rendement supérieur pour la synthèse de **56** par rapport à celle de **55** (66% et 45% respectivement). Une observation similaire est faite lors du clivage du groupement méthoxy puisque **52** est obtenu avec un rendement de 81% contre 49% pour **51**.

La voie de synthèse menant à la formation de **53** et **54** est proposée Figure 49. La synthèse des isomères **53** et **54** dans lesquels le groupement pyridinone est séparé du cœur phénanthroline par un espaceur imidazole est directe puisqu'elle nécessite une étape de synthèse à partir de la 1,10-phénanthroline-5,6-dione **43** comme présenté Figure 49. Cette procédure, décrite par Sergeeva et coll.<sup>[233]</sup>, a permis d'obtenir les produits désirés par réaction de **43** avec l'aldéhyde correspondant en présence d'acétate d'ammonium et d'acide acétique. La neutralisation du milieu avec une solution aqueuse de soude (1N) a permis d'isoler les composés en tant que poudre brune avec des rendements dépendant de l'aldéhyde utilisé. Les phénanthrolines **50** à **54** ont été caractérisées par RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C, spectrométrie de masse et analyse élémentaire.

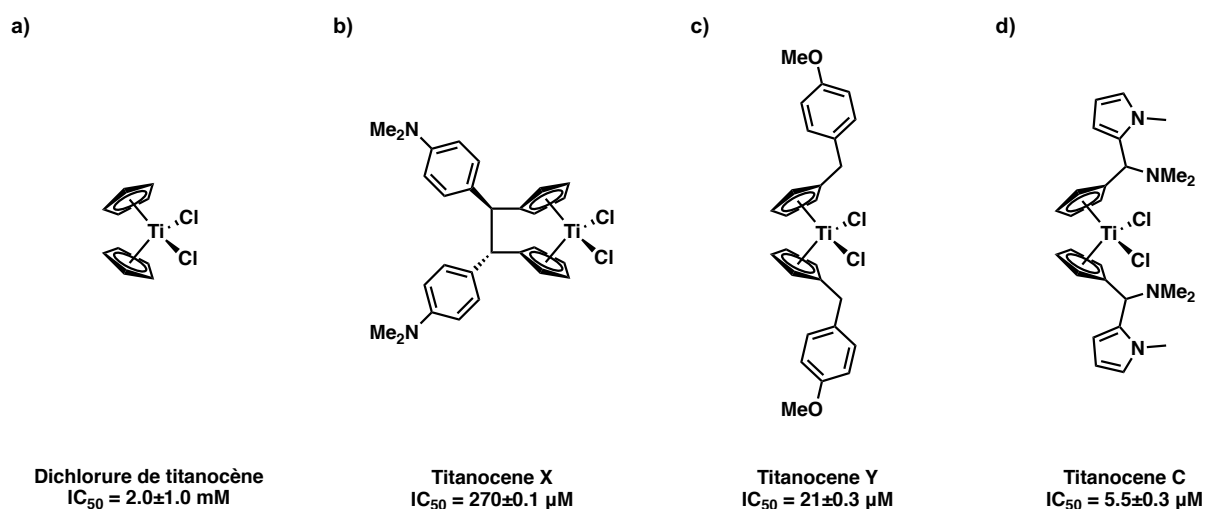
Dans la suite de ce manuscrit, les complexes métalliques ciblés pour l'utilisation en biologie seront décrits avec la dénomination suivante : **M(X)** (exemple : **Ti(1)**, **Ru(2)**, ...) par souci de simplicité.

## IV. Synthèse de complexes de titane(IV) à partir des phénanthrolines 50-54 et 57 et caractérisation structurale

### a. Les complexes de titane(IV) en biologie

Le titane est un métal dont les applications en biologie ont été largement étudiées, notamment en raison de sa biocompatibilité. Il n'est pas considéré comme essentiel au fonctionnement du métabolisme humain. Toutefois, il est souvent présent dans le corps humain, en raison de son occurrence dans l'environnement ou bien dans les produits de grande consommation<sup>[234]</sup>. Les propriétés du titane en milieu biologique ont été décrites en détail dans une excellente revue de Büttner et Valentine<sup>[234]</sup>. Sous sa forme métallique ainsi que d'alliage, le titane est communément utilisé pour le développement de prothèses orthopédiques, dentaires, ou encore de plaques pour la restauration de fractures osseuses<sup>[235–237]</sup>. Les propriétés biologiques des complexes monomériques de titane(IV) ont aussi largement été étudiées<sup>[238]</sup>. La première utilisation de complexes de titane pour leurs vertus thérapeutiques a été reportée par Julius Pick en 1911 qui a montré que l'administration de  $Ti(SO_4)_2$  ou de salicylate de titane avait un effet bénéfique pour le traitement de la tuberculose et que ces composés ne créaient pas d'effets secondaires après administration à des souris ou des lapins<sup>[239]</sup>. Avant la seconde guerre mondiale, l'oxyde de titane  $TiO_2$  et le citrate de titane ont été utilisés pour le traitement des tumeurs de Janssen; ces composés réduisant la taille de tumeurs sur des rats<sup>[240]</sup>. Des années plus tard, l'effet inhibiteur de complexes de titane(IV) pentacoordinés de formule  $[TiO(SO_4)(H_2O)]$  sur des protéases telles que la trypsine a été démontré par McCue et coll.<sup>[241]</sup>. Afin d'inhiber l'activité de l'enzyme, le complexe de titane se coordine sur le site de fixation du substrat par la fonction carbonyle d'un résidu acide aminé. La capacité de ce type de complexes de titane à inhiber les protéases a été une nouvelle fois démontrée sur des bactéries *E.coli*, *Salmonella typhimurium* et *Pseudomonas aeruginosa* connues pour exprimer des enzymes proches de la trypsine. Après incubation du complexe métallique avec les bactéries, une activité bactériostatique a été observée, liée à l'inhibition des enzymes ciblées<sup>[241]</sup>.

Toutefois, c'est avec la mise en évidence de l'activité antitumorale de deux complexes de titane(IV), le dichlorure de titanocène et le budotitane, que l'utilisation du titane(IV) en chimie médicinale prit son véritable essor.



**Figure 50** : a) Représentation du dichlorure de titanocène. Représentation du b) Titanocene X, c) Titanocene Y, c) Titanocene C, dérivés du dichlorure de titanocène, développés dans le but d'augmenter l'activité anticancéreuse de ce dernier. Les IC<sub>50</sub> ont été calculées à partir de tests de survie cellulaire sur des cellules de carcinomes de foie porcin<sup>[242–244]</sup>.

En effet, le dichlorure de titanocène (Figure 50, a)), complexe précurseur dans l'utilisation du titane pour des thérapies anticancéreuses, a été utilisé pour la première fois dans ce domaine par Köpf-Maier et coll. en 1979<sup>[245]</sup>. Le groupe a montré une inhibition de la croissance de plusieurs tumeurs telles que celles du poumon, du sein, des voies aérodigestives supérieures ou des carcinomes gastro-intestinaux<sup>[246]</sup>. Les animaux traités avec ce composé ont vu leur espérance de vie augmenter considérablement, avec un taux de survie allant jusqu'à 100% dans certains cas. Le dichlorure de titanocène s'est avéré être actif contre des cellules de cancers ovariens *in vitro* et *in vivo*<sup>[247–250]</sup> ainsi que contre des carcinomes rénaux<sup>[251]</sup> résistants à des composés anticancéreux utilisés en clinique comme le cisplatine ou la doxorubicine, montrant son utilité potentielle en complément de ces traitements dans certains types de cancers. De plus, ce complexe métallique a montré des effets secondaires limités<sup>[252–257]</sup>. Les résultats encourageants pour ce composé lors de tests *in vitro* et *in vivo* ont permis au dichlorure de titanocène d'entrer en essais cliniques. Lors de la phase I des essais sur des patients atteints de divers cancers à des stades avancés, le traitement avec le complexe de titane a montré un effet thérapeutique minime sur des patients atteints de cancers de la vessie et bronchique non à petites cellules<sup>[258]</sup> ou encore sur un patient atteint d'un adénocarcinome métastatique<sup>[259]</sup>. Des effets secondaires tels que la néphrotoxicité, la fatigue, la bilirubinémie (augmentation du

taux sanguin de bilirubine, un produit de dégradation de l'hémoglobine pouvant mener à des déficiences neurologiques), l'hypokaliémie (défaut de potassium dans le plasma sanguin), des nausées et vomissements ou encore une perte d'appétit ont été décrits<sup>[258–260]</sup>. L'administration de dichlorure de titanocène à une concentration de 270 mg.m<sup>-2</sup> lors de la phase II des tests cliniques pour le traitement de carcinomes rénaux métastatiques et de cancers du sein métastatiques n'a montré que des effets partiels ou nuls sur la rémission des patients, accompagnés d'effets secondaires légers à sévères<sup>[261,262]</sup>, causant ainsi l'arrêt des essais cliniques réalisés sur le dichlorure de titanocène.

Toutefois, malgré ces essais cliniques décevants, la mise en lumière des propriétés anticancéreuses du dichlorure de titanocène a poussé la communauté scientifique à développer des complexes analogues à ce métalloène, visant à améliorer le rapport activité/effets secondaires. Notamment, des composés tels que les Titanocène X, Y ou C synthétisés par le groupe de Tacke et coll. (Figure 50, b), c), d) respectivement) s'appuient sur la fonctionnalisation des ligands cyclopentadiényle pour moduler les propriétés physico-chimiques ainsi que biologiques des complexes. Ces composés ont montré une activité supérieure à celle du dichlorure de titanocène sur diverses lignées cellulaires cancéreuses<sup>[242–244]</sup>.

Quelques années après la découverte des propriétés anti-cancéreuses du dichlorure de titanocène, celles du Budotitane (Figure 51) ont été mises en lumière par Keppler et coll.<sup>[263]</sup>. Ce complexe de titane a été sélectionné parmi une série de complexes monomériques de titane(IV) incorporant plusieurs dérivés de ligands dicétones ainsi que différents ligands monodentates labiles, tels que des ligands halogéno et alkoxo<sup>[264]</sup>.

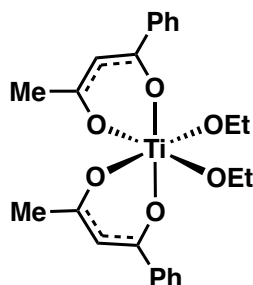


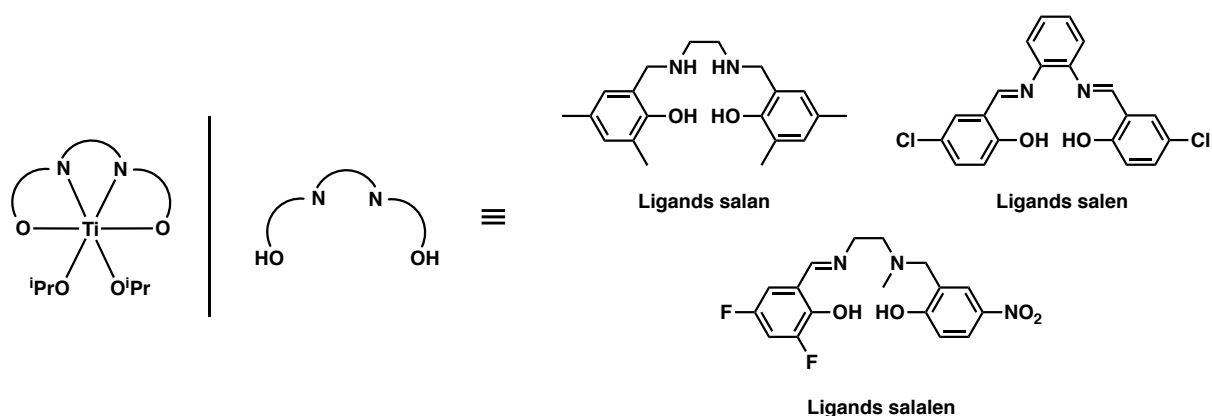
Figure 51 : Structure du Budotitane.

Le Budotitane, incorporant un ligand possédant un substituant phényle, a montré les meilleurs résultats *in vivo*, tandis que le ligand alkoxo a été choisi pour sa meilleure biocompatibilité. Ce complexe a montré une activité supérieure à celle du 5-

fluorouracile, un des seuls composés actifs contre les tumeurs colorectales, chez le rat<sup>[265]</sup>. La phase I des essais cliniques entrepris pour tester l'activité du Budotitane a montré des effets secondaires tels que de l'hépatotoxicité, la nécrose du foie ou encore une toxicité pulmonaire, effets qui se sont avérés toutefois réversibles<sup>[264]</sup>. A l'heure actuelle, aucune avancée supplémentaire concernant le Budotitane n'a été décrite. Récemment, l'utilisation de complexes de titane(IV) a connu un véritable engouement, notamment grâce aux travaux du groupe de Tshuva. En effet, cette équipe a décrit la synthèse de plusieurs séries de complexes dérivés de ligands phénolato<sup>[266]</sup>. La majorité de ces composés sont construits à partir de ligands de type salen, salan ou salalen, chélatant le métal de manière tétradentate (Figure 52). Ces composés ont montré une cytotoxicité supérieure à celle du dichlorure de titanocène ainsi qu'une activité similaire au cisplatine contre diverses lignées cellulaires cancéreuses. La particularité de ces composés réside dans leur mode d'action. En effet, il a été montré qu'en milieu biologique, les complexes incorporant un ligand phénolato dimérisaient par substitution des ligands monodentate labiles et formation de ponts  $\mu^2$ -O.

Le mode d'action des complexes de titane menant à l'activité anticancéreuse a été et est toujours étudié, la nature de leurs cibles précises n'étant toujours pas clairement établie. Sadler et coll. ont montré que le dichlorure de titanocène est capable de réagir avec des protéines impliquées dans le transport de molécules biologiques et d'ions métalliques dans la cellule telles que la transferrine ou l'albumine<sup>[267]</sup>. Le titane décoordiné est pris en charge par ces protéines jusqu'à leur récepteur transmembranaire pour être distribué dans la cellule. Dans un premier temps, il a été suggéré que le mode d'action du titanocène dans la cellule est similaire à celui du cisplatine qui forme des adduits avec les bases nucléiques de l'ADN. Il a ensuite été démontré que le complexe de titane(IV) induit l'apoptose par dommages à l'ADN, mais avec un mécanisme différent de celui du cisplatine, impliquant une voie de signalisation dépendante des caspases<sup>[268]</sup>. Les complexes incorporant les ligands salen étant plus résistants à l'hydrolyse, il a été observé que l'interaction avec les protéines de distribution est peu probable. En revanche, Tshuva et coll. ont montré que l'espèce active est un dimère formé par l'hydrolyse des ligands alkoxy labiles, conduisant à la formation d'un pont oxo entre les centres métalliques<sup>[269]</sup>. Un mode de pénétration de la membrane cellulaire ainsi que d'action encore différents de ceux du titanocène est supposé<sup>[270]</sup>.

Idéalement, et malgré la diversité des mécanismes proposés pour l'action des complexes de titane comme anticancéreux, les études montrent que les composés à base de titane(IV) utilisés pour des traitements anticancéreux doivent être assez stables en milieu aqueux pour éviter l'hydrolyse complète du complexe, mais aussi assez réactifs pour interagir avec les cibles moléculaires biologiques. La situation est différente lorsque la synthèse de complexe de titane(IV) pour l'inhibition de protéine kinases compétitive de l'ATP est envisagée. Dans ce cas-là, le complexe doit être inerte, afin que sa structure soit préservée en milieu aqueux et en présence de molécules biologiques avant l'interaction avec l'enzyme.

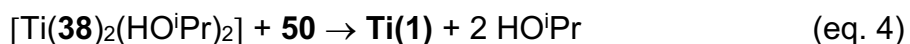


**Figure 52** : Complexes monomériques de titane(IV) incorporant divers ligands biphénolato ayant démontré des propriétés anticancéreuses.

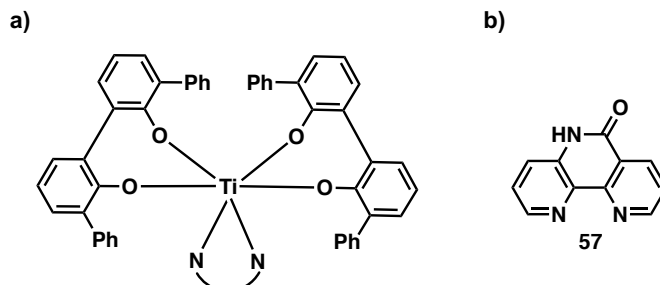
Des complexes monomériques construits autour d'un motif  $TiO_4N_2$  et incorporant des ligands phénanthroline analogues aux complexes modèles décrits dans le chapitre II se prêtent donc au développement d'inhibiteurs de protéine kinases.

## b. Résultats

La synthèse de complexes de titane(IV) incorporant les phénanthrolines **50** à **54**, fonctionnalisées avec un fragment pyridinone a été entreprise. De manière générale, les résultats obtenus ont été très limités en raison de la faible solubilité des ligands diimine de départ dans la plupart des solvants organiques. La synthèse du complexe **Ti(1)**, incorporant le ligand **50**, est décrite équation 4 et s'appuie sur le complexe précurseur  $[Ti(\mathbf{38})_2(HO^iPr)_2]$ .



**Ti(1)** a été obtenu par réaction du ligand **50** avec  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\text{HO}^i\text{Pr})_2]$  dans le chloroforme à 70°C dans des conditions solvothermales. Ici, la réaction a été effectuée à chaud pour accroître la solubilité du ligand.

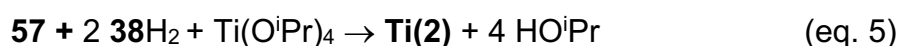


**Figure 53** : a) Structure générale des complexes octaédriques **Ti(1)** et **Ti(2)** étudiés dans ce chapitre (N-N : ligand chélatant diimine) construits autour d'un motif  $\text{TiO}_4\text{N}_2$ . b) Ligand diimine **57**.

Après 24 h, le chauffage a été arrêté et le mélange purifié par chromatographie sur gel de silice, permettant d'isoler le complexe désiré avec un rendement de 68%. Il est remarquable de noter que la présence du groupement pyridinone au sein de **50** n'entre pas en compétition avec la chélation du métal par les deux atomes d'azote de la partie diimine du ligand, démontrant à nouveau la stabilité du squelette  $\text{TiO}_4\text{N}_2$ .

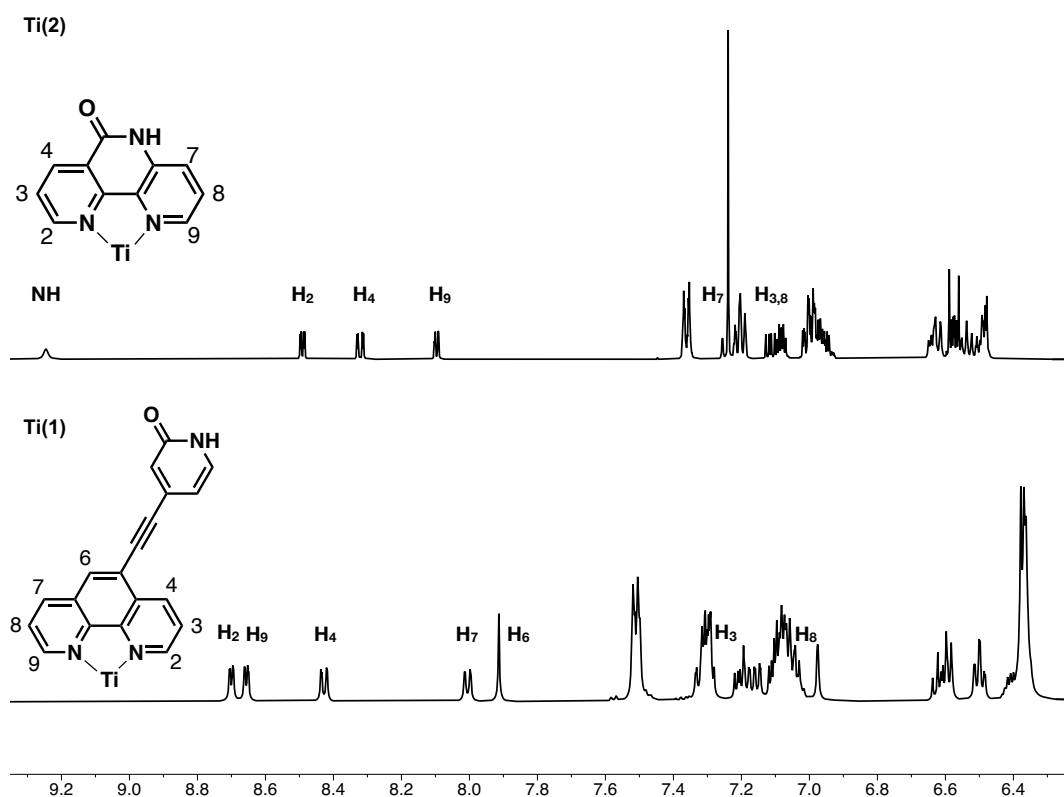
En raison du succès limité de la synthèse de complexes incorporant les ligands **50-54**, la capacité du ligand diimine **57** à coordiner le titane a été explorée. Ce ligand, développé par Siegel et coll.<sup>[271]</sup> diffère des autres ligands décrits jusqu'à présent par la fonction amide qui est directement fusionnée à un cœur 2,2'-bipyridine comme représenté Figure 53, b). De plus, ce composé est intéressant dans l'optique de concevoir des inhibiteurs de protéine kinase compétitifs de l'ATP, car sa capacité à former des liaisons hydrogène a été démontrée dans le cristal par la formation de dimères supramoléculaires<sup>[271]</sup>. Enfin, la solubilité du ligand diimine dans les solvants chlorés s'est révélée être bien plus élevée que celle des phénanthrolines **50-54**.

La formation de **Ti(2)** a été testée en se basant sur une procédure expérimentale légèrement différente de celle qui a permis d'obtenir **Ti(1)**. Le complexe **Ti(2)** a été obtenu par réaction en une étape entre **57**,  $38\text{H}_2$  et  $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$  comme ceci est décrit équation 5.





Après une heure de réaction à 70°C dans des conditions solvothermales, le précipité orange apparu dans le mélange réactionnel correspondant à **Ti(2)** est isolé avec un excellent rendement de 95%.

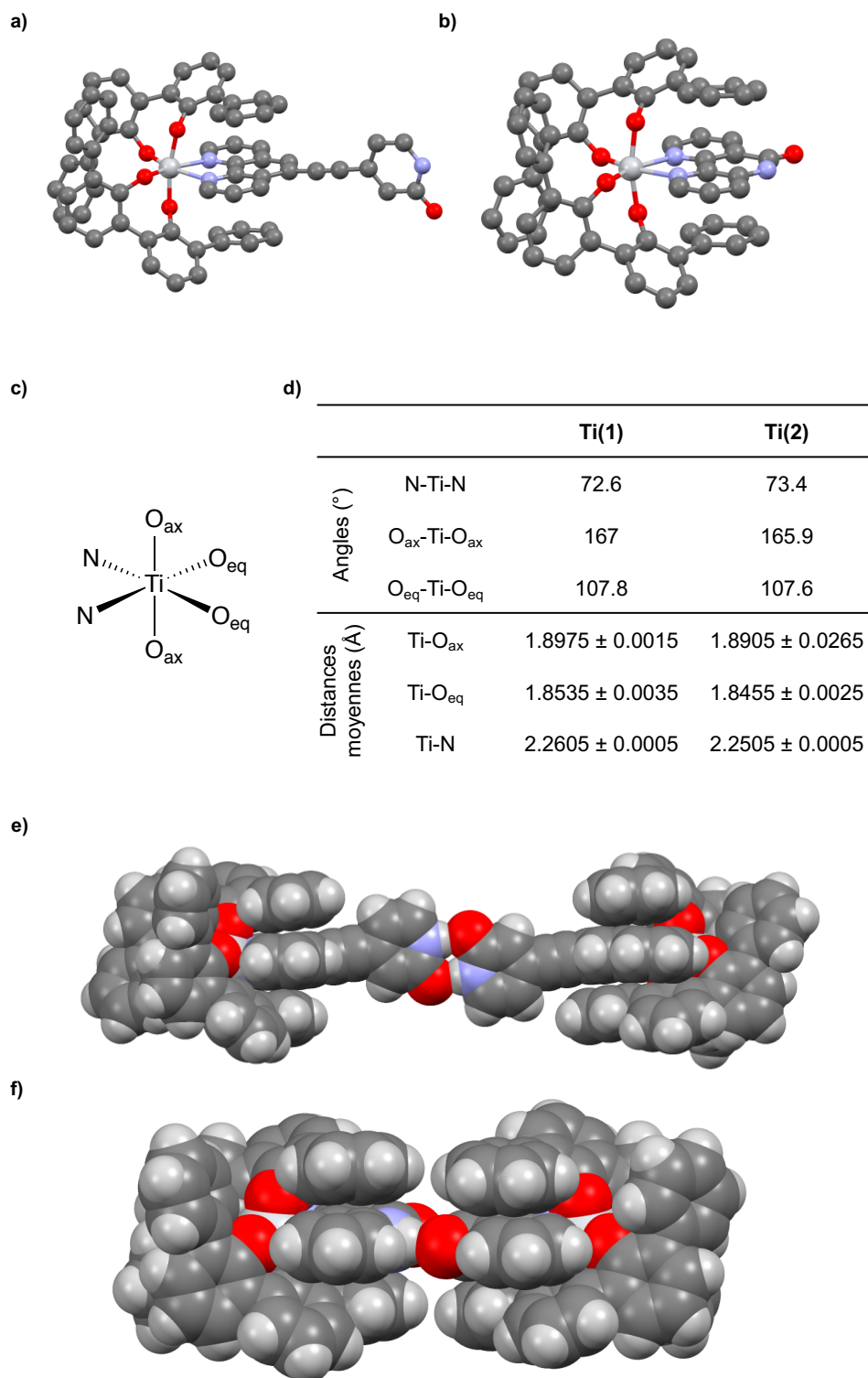


**Figure 54** : Région aromatique du spectre RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ , 500 MHz) de **Ti(1)** (en haut) et **Ti(2)** (en bas) avec l'attribution des signaux des ligands phénanthroline.

Les complexes **Ti(1)** et **Ti(2)** ont été caractérisés par spectrométrie de masse, analyse élémentaire ainsi que par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ . En particulier la RMN 1D  $^1\text{H}$  et 2D (COSY, ROESY, HSQC et HMBC) a permis l'attribution des signaux appartenant aux protons des ligands diimine de **Ti(1)** et **Ti(2)**. La région aromatique des spectres RMN  $^1\text{H}$  des deux composés est représentée Figure 54. Il est intéressant de remarquer que la dissymétrie des ligands **50** et **57** induit un degré de complexité supérieur des spectres, en comparaison des complexes incorporant des ligands diimine symétriques<sup>[166]</sup>. Des monocristaux de **Ti(1)** et **Ti(2)** ont été obtenus par diffusion de pentane dans une solution de THF et de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  respectivement. La diffraction des rayons X sur un monocristal a permis d'obtenir leur structure moléculaire qui est donnée Figure 55, a) et b). Comme attendu, une sphère de coordination  $\text{TiO}_4\text{N}_2$  est observée pour les deux composés. Les longueurs de liaison ainsi qu'une sélection d'angles entre liaisons de la sphère de coordination sont présentées Figure 54, d). Les paramètres métriques des deux structures liés à la sphère de coordination  $\text{TiO}_4\text{N}_2$  sont

similaires et comparables avec ceux trouvés pour des espèces monomériques  $\text{TiO}_4\text{N}_2$  analogues<sup>[171,272,273]</sup>. Le motif OC-NH des ligands diimine permet la dimérisation du complexe par liaisons hydrogène. La représentation de ces dimères observés à l'état solide est donnée Figure 55, e) et f) pour **Ti(1)** et **Ti(2)** respectivement. Une distance de 27.35(1) Å sépare les deux métaux dans le dimère de **Ti(1)** tandis que pour le dimère de **Ti(2)** une distance Ti---Ti de 14.61(9) Å est mesurée. Dans ces structures, les liaisons hydrogène entre les deux motifs NH-CO voisins sont attestées par les courtes distances intermoléculaires  $\text{NH}\cdots\text{O}=\text{C}$  (2.776 Å pour le dimère **Ti(1)** et 2.875 Å pour le dimère **Ti(2)**) et les angles NH---O (178.98 ° pour le dimère **Ti(1)** et 164.26 ° pour le dimère **Ti(2)**)<sup>[274]</sup>.

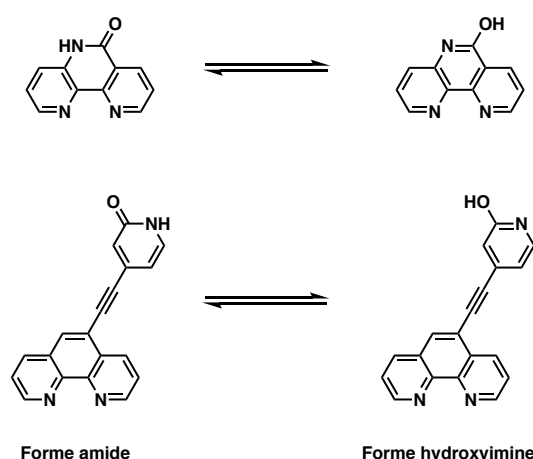
Afin d'évaluer la force des liaisons hydrogène intermoléculaires, les spectres infrarouges des complexes et des ligands ont été enregistrés à la fois à l'état solide et en solution. En effet, la comparaison des fréquences des vibrations C=O est une méthode connue pour évaluer la force des liaisons hydrogène intermoléculaires entre une série de couples accepteur/donneur de liaisons hydrogène<sup>[275,276]</sup>. Le tableau 11 regroupe les fréquences correspondant aux vibrations d'élongation C=O pour **50**, **57**, **Ti(1)** et **Ti(2)**. Tout d'abord, ces données indiquent la prédominance des formes oxo en solution et à l'état solide pour tous les composés analysés, les vibrations d'élongation C=O étant trouvées entre 1645 et 1693  $\text{cm}^{-1}$ , conformément au nombre d'onde décrit dans la littérature<sup>[274]</sup>. En effet, les ligands **50**, **57** ainsi que les complexes de titane correspondant peuvent exister *a priori* sous la forme de deux isomères par tautomérie en solution ou à l'état solide, comme représenté sur la Figure 56. Une faible influence du milieu a été notée pour la vibration d'élongation C=O dans le cas des ligands. La même observation peut être faite pour **Ti(1)** avec une valeur de  $\Delta\bar{\nu}$  de 7  $\text{cm}^{-1}$  mesurée entre l'état solide et **Ti(1)** dissout dans le DMSO. Cela montre de manière indirecte la faible influence du milieu sur la force des liaisons hydrogène intermoléculaires. La situation est inverse dans le cas de **Ti(2)**. En effet, une valeur de  $\Delta\bar{\nu}$  de 26  $\text{cm}^{-1}$  est calculée entre les spectres enregistrés pour le complexe à l'état solide et **Ti(2)** dissout dans le dichlorométhane. Cela reflète le raccourcissement de la liaison C=O en solution et indique que celle-ci est moins impliquée dans les interactions par liaisons hydrogène, en comparaison avec le complexe **Ti(1)**.



**Figure 55** : Représentation « boules et bâtons » des structures à l'état solide de : a) Ti(1) et b) Ti(2), obtenues par diffraction des rayons X sur monocristal. Les atomes d'hydrogène sont omis par souci de clarté. La structure de Ti(2) présente un désordre sur deux positions pour **57** et une seule situation est montrée. c) Nomenclature des atomes de la sphère de coordination des complexes de titane(IV). d) Tableau regroupant une sélection d'angles et de longueurs de liaison de la sphère de coordination des complexes de titane(IV). Sur e) et f) sont représentés les dimères supramoléculaires formés par liaisons hydrogène de Ti(1) et Ti(2) respectivement en « modèle compact ». Les atomes de titane sont en gris clair, les atomes d'oxygène en rouge, les atomes de carbone en gris foncé, les atomes d'azote en violet et les atomes d'hydrogène en gris clair.

**Tableau 11** : Nombres d'onde ( $\bar{\nu}$ ) en  $\text{cm}^{-1}$  des bandes attribuées aux vibrations d'élongation C=O à partir des spectres IR de **50**, **57**, Ti(**1**) et Ti(**2**) dans différents milieux. <sup>a</sup>Concentration des solutions de **50** et **57**,  $c = 7.2 \text{ mM}$ . <sup>b</sup>Concentration des solutions de Ti(**1**) et Ti(**2**),  $c = 2.4 \text{ mM}$ . <sup>c</sup>Le spectre n'a pas été enregistré en raison de la trop faible solubilité du composé.

	<b>50</b> <sup>a</sup> ( $\text{cm}^{-1}$ )	<b>57</b> <sup>a</sup> ( $\text{cm}^{-1}$ )	Ti( <b>1</b> ) <sup>b</sup> ( $\text{cm}^{-1}$ )	Ti( <b>2</b> ) <sup>b</sup> ( $\text{cm}^{-1}$ )
Solide	1645	1671	1651	1667
MeOH	1649	1674	/ <sup>c</sup>	/ <sup>c</sup>
DMSO	1657	1676	1658	1685
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	/ <sup>c</sup>	/ <sup>c</sup>	1651	1693



**Figure 56** : Équilibre entre les formes tautomères « amide » et « hydroxyimine » pouvant exister pour les ligands **50** et **57**.

Ces résultats semblent indiquer que les interactions intermoléculaires par liaisons hydrogène sont plus fortes dans le cas de **Ti(2)** en comparaison avec **Ti(1)**. Il est possible que la gêne stérique induite par les ligands biphenolato dans le cas de **Ti(2)** interfère avec la formation d'un dimère supramoléculaire (Figure 55, f)), contrairement à **Ti(1)**, où la présence de l'espaceur acétylène sur **50** augmente la distance entre les deux ligands oxygénés.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus pour la synthèse de complexes de titane(IV) incorporant les phénanthrolines **50-54** et **57** ont été limités par la faible solubilité des ligands dans les solvants organiques de synthèse. Afin d'augmenter le panel de composés et de structures disponibles pour les tests biologiques, la synthèse de complexes de ruthénium(II) a ensuite été mise en œuvre.

## V. Synthèse des complexes de ruthénium(II), Ru(1-5)

### a. Les complexes de ruthénium en biologie

Par la suite, la synthèse d'une série de complexes de ruthénium(II) a été réalisée. Le choix de ce métal semble pertinent, puisque la variation des ligands de la sphère de coordination du métal permet l'accès à des complexes de géométrie octaédrique ou pseudo-tétraédrique notamment. Ces deux géométries sont observées au sein de plusieurs complexes à base de ruthénium développés pour leurs propriétés antiprolifératives. Deux composés particulièrement, le **NAMI-A**, ainsi que le **KP1019**, ont ouvert la voie à l'utilisation de complexes de ruthénium pour des applications anticancéreuses (Figure 57).

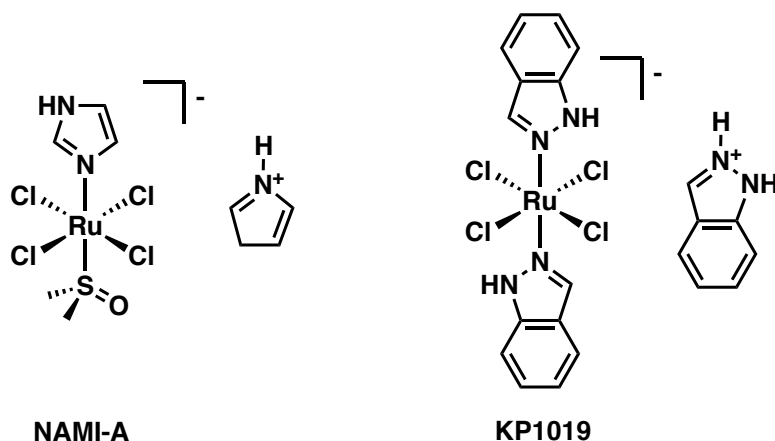


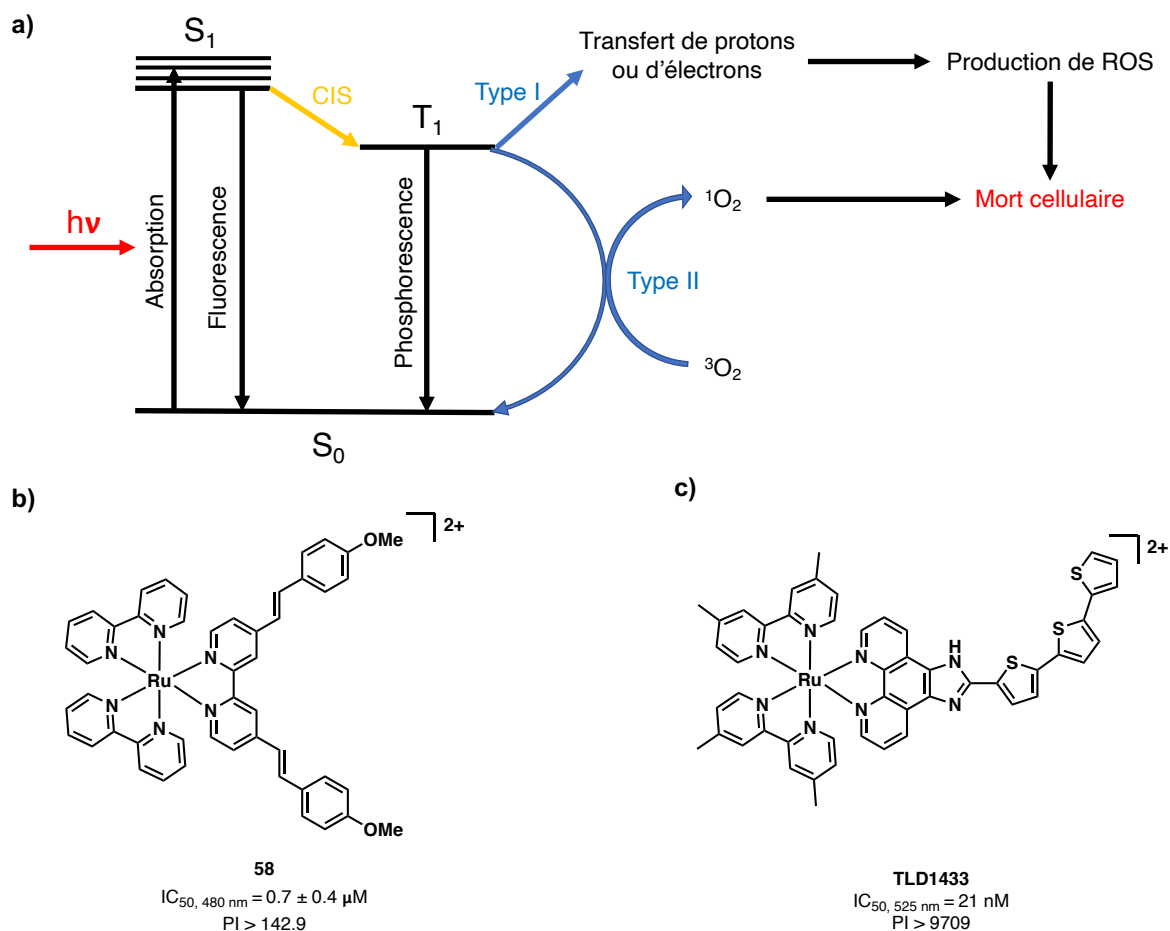
Figure 57 : Le **NAMI-A** et le **KP1019**, précurseurs dans le domaine des complexes de ruthénium pour les traitements anticancéreux.

Le **NAMI-A** fut le premier complexe de ruthénium à entrer en phase I des essais cliniques<sup>[277]</sup>. Les effets secondaires observés tels que de la néphrotoxicité, des nausées, des vomissements ou encore des diarrhées se sont révélés modérés et réversibles. Récemment, d'autres essais cliniques avec coordination des phases I et II ont eu pour but de tester l'activité d'une combinaison du **NAMI-A** et du gemcitabine sur des cancers bronchiques non à petites cellules<sup>[278]</sup>. Il est à noter qu'habituellement, ces cancers sont traités par une combinaison du même gemcitabine avec le cisplatine. Lors de la phase II, quinze patients ont été traités avec la combinaison de composés à une dose de 450 mg.m<sup>-2</sup> plusieurs fois lors de cycles de 28 jours. La rémission partielle d'un seul patient a été observée, tandis que dix autres ont vu leur maladie seulement stabilisée. Au vu des résultats insuffisants, accompagnés d'effets secondaires épuisants pour le patient, les essais cliniques ont été arrêtés.

L'activité anticancéreuse de **KP1019** a d'abord été prouvée contre l'adénocarcinome colorectal chez le rat de laboratoire<sup>[279]</sup>. En effet, le traitement d'animaux avec le complexe de ruthénium a permis l'inhibition de la croissance tumorale, avec des valeurs allant jusqu'à 90%. Il est important de noter que cette lignée cellulaire est résistante aux autres traitements cliniques tels que le cisplatine, à l'exception d'un traitement basé sur le 5-fluorouracile et le leucovorin. Les essais cliniques sur le complexe **KP1019** ont montré peu d'effets secondaires<sup>[280]</sup>. En revanche, aucune dose limite n'a pu être évaluée en raison de la faible solubilité du composé. Une métathèse de cations pour obtenir le complexe sodium (**KP1339**) a permis d'augmenter la solubilité du composé. D'autres essais cliniques récents ont montré un contrôle de la maladie chez certains patients atteints de tumeurs carcinoïdes neuroendocrines<sup>[281]</sup>. Malgré leurs structures proches, le **NAMI-A** et le **KP1339** ont des modes d'action bien différents. En effet, le **NAMI-A** est très peu actif contre les tumeurs à des stades peu avancés de leur développement. En revanche, Sava et coll. ont montré que ce complexe est particulièrement efficace pour l'inhibition de la prolifération de cellules cancéreuses métastatiques, en particulier localisées dans les poumons<sup>[282,283]</sup>. Le mode d'action du **KP1339** est plus direct puisqu'il a été montré qu'il induirait la mort cellulaire par des mécanismes liés à la production de ROS par réduction du centre métallique.<sup>[284]</sup>

Les propriétés de transfert d'électrons d'autres complexes de ruthénium incorporant des ligands polypyridyles ont aussi été exploitées pour la mise au point de nouveaux traitements anticancéreux. En effet, la coordination de ligands polypyridyles tels que des 2,2'-bipyridines ou encore des 1,10-phénanthrolines permet l'accès à un état excité MLCT possédant des propriétés permettant le transfert d'électrons lors de réactions intermoléculaires.

Les complexes de ruthénium polypyridyles sont aussi utilisés en biologie pour leurs propriétés d'intercalation de l'ADN<sup>[285]</sup>. Par ailleurs, les composés à base de Ru(II) polypyridyle sont capables par conversion intersystème depuis l'état excité MLCT de passer d'un état singulet à un état triplet. Le retour de cet état triplet à l'état fondamental étant interdit de spin, il possède un temps de demi-vie relativement élevé<sup>[286]</sup> avantageux pour son utilisation en milieu biologique.



**Figure 58 :** a) Mécanisme d'action de la PDT : activation du photosensibilisateur par absorption d'un photon d'énergie  $E = h\nu$  et mécanisme de production d'espèces réactives de l'oxygène. Plusieurs complexes de ruthénium polypyridyle ont montré une haute efficacité *in vitro*. Parmi ces exemples on retrouve des composés développés par a) Gasser et coll.<sup>[287]</sup> et b) McFarland et coll.<sup>[288]</sup>. Les  $IC_{50}$  ont été calculées à partir de tests de survie cellulaire sur des cellules de cancer colorectal murin CT-26.

Depuis une dizaine d'années, ces propriétés photochimiques sont exploitées, en association avec les propriétés d'intercalation de l'ADN, pour le développement de photosensibilisateurs dans le cadre de la thérapie photodynamique (PDT)<sup>[289]</sup>. La PDT permet, après activation, le transfert d'électrons/protons (PDT de type I) ou bien d'énergie (PDT de type II) depuis l'état excité triplet du composé actif vers l'environnement biologique, entraînant la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ces ROS, par réaction avec différents substrats, provoquent la mort cellulaire<sup>[290]</sup> (Figure 58, a)). De nombreux photosensibilisateurs basés sur la famille des complexes de Ru(II) polypyridyles ont pu être conçus<sup>[291,292]</sup>. Parmi ceux-ci, les composés développés par Gasser et coll.<sup>[287,293]</sup> ou bien encore McFarland et coll.<sup>[288,294]</sup> (Figure 58, b), c)).

Le franchissement de la membrane cellulaire est essentiel pour l'activité d'un composé ciblant des molécules biologiques intracellulaires. La lipophilicité de

composés bioactifs peut être modifiée en changeant la nature des ligands de la sphère de coordination du métal, du contre-ion associé, ou bien encore la charge du complexe. Les complexes de ruthénium polypyridyles présentés précédemment portent deux charges positives, rendant la lipophilicité de ces composés peu élevée. Pour réduire la charge des composés octaédriques de ruthénium(II) et augmenter leur lipophilicité, la synthèse de complexes cyclométallés a été mise en œuvre. Ces complexes, dont la particularité principale est la liaison carbone-ruthénium formée lors de la cycloméallation, sont largement utilisés dans le domaine de la catalyse<sup>[295]</sup>. Les propriétés d'oxydo-réduction de ces composés ont aussi été démontrées, notamment pour le transfert d'électrons depuis des oxydoréductases, enzymes impliquées dans des réactions d'oxydo-réduction dans la cellule<sup>[295]</sup>. Les propriétés d'oxydo-réduction des complexes cycloruthénés ont été exploitées pour des applications anticancéreuses<sup>[296]</sup> (Figure 59). Le composé **RDC-11** a montré une activité antiproliférative supérieure au cisplatine contre des cellules de glioblastomes A172 (IC<sub>50</sub> de 1.9 ± 0.2 et 3.9 ± 0.2 μM respectivement)<sup>[297]</sup>. Ce complexe cycloruthéné induit un arrêt du cycle cellulaire à la phase G<sub>1</sub>. La mort cellulaire est provoquée par plusieurs mécanismes d'apoptose, à la fois liés et indépendants de p53. De plus, **RDC-11** est aussi moins sensible aux mécanismes de résistance que le cisplatine. Le complexe **RDC-34**, sur lequel les deux ligands acétonitrile ont été substitués par un deuxième ligand 1,10-phénanthroline, a démontré des propriétés antiprolifératives supérieures à **RDC-11** contre des cellules du cancer du colon HCT-110 avec un IC<sub>50</sub> inférieur à 2 μM, tandis que l'IC<sub>50</sub> du complexe bisacétonitrile est seulement d'environ 8 μM<sup>[298]</sup>. Cette variation d'activité biologique démontre l'effet de la modification de la sphère de coordination du métal sur les propriétés anticancéreuses des complexes<sup>[296]</sup>.

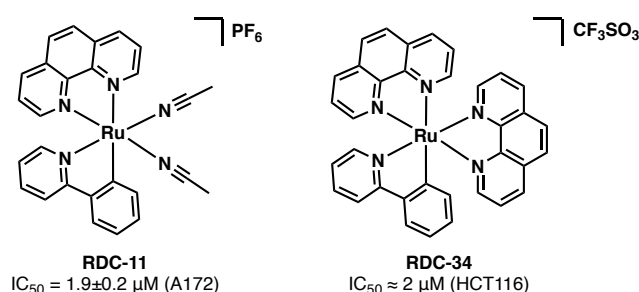
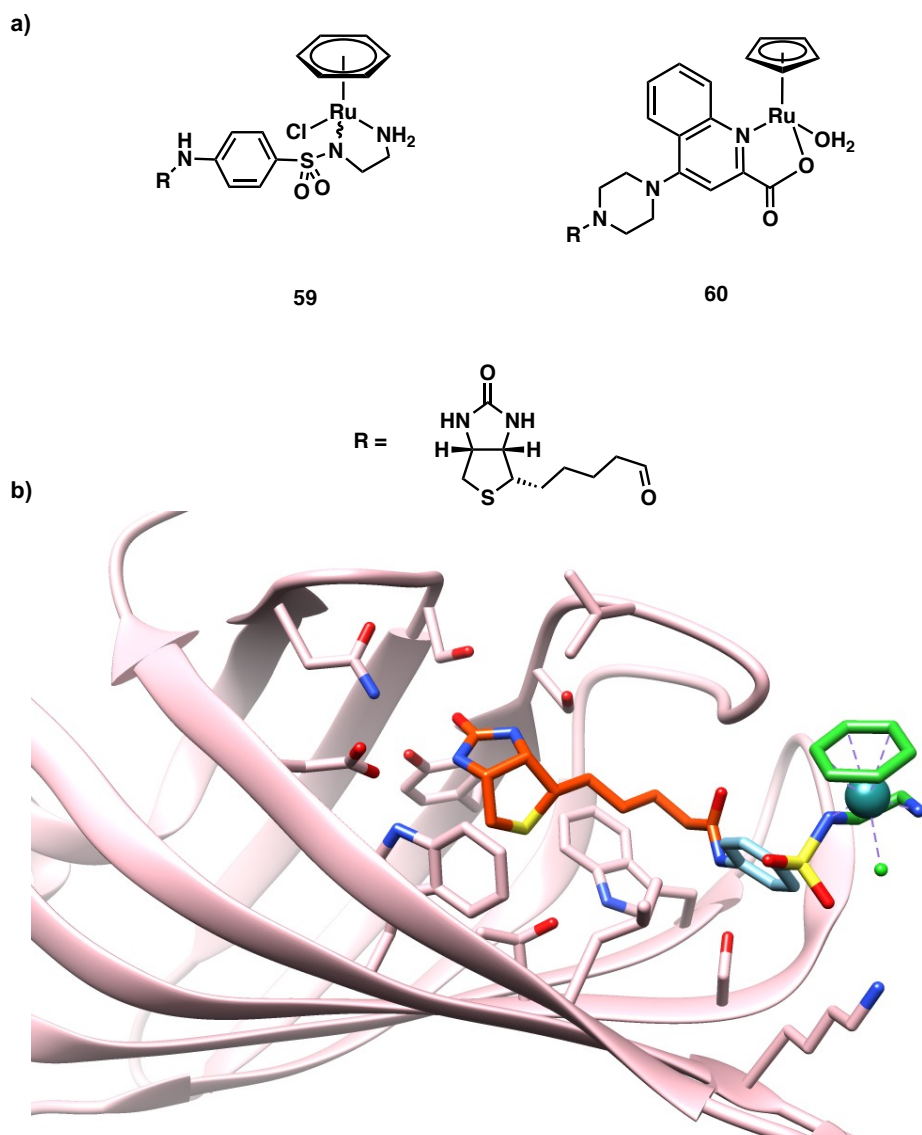


Figure 59 : Composés cycloruthénés anticancéreux.



La charge peu élevée des complexes cycloruthénés ainsi que leur robustesse en milieu biologique en font des composés attractifs dans le cadre de la conception d'inhibiteurs de protéine kinases.

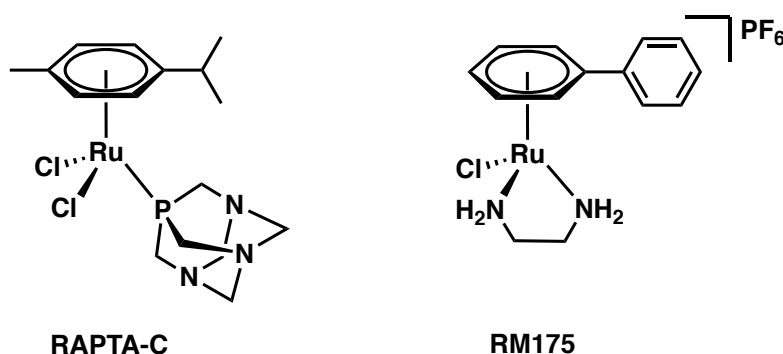


**Figure 60** : a) Complexes de ruthénium décrits par Ward et coll.<sup>[299,300]</sup>. La reconnaissance du groupement biotine par une streptavidine modifiée permet la formation d'une métalloenzyme permettant la catalyse de différentes réactions *in vitro* et *in cellulo*. b) Structure à l'état solide du complexe **59** cocrystallisé avec une streptavidine modifiée sur le résidu S112 par une lysine. La sphère de coordination du ruthénium est représentée en vert, l'espaceur en bleu et le fragment biotine en orange. Un seul monomère parmi le tétramère formé par l'enzyme est représenté. (Code PDB : 2QCB).

Les complexes de ruthénium peuvent aussi adopter une géométrie pseudo-tétraédrique. Ces composés « demi-sandwich » incorporent un ligand cyclique aromatique polyhapto (les ligands  $\eta^6$ -benzène ou  $\eta^5$ -cyclopentadiényl sont les exemples les plus connus). Ces composés sont aussi appelés « piano-stool » en raison de la ressemblance structurale avec cet objet. Cette famille de complexes est utilisée pour des applications en catalyse<sup>[301–303]</sup> ou encore en chimie

supramoléculaire<sup>[304,305]</sup>. Ward et coll. ont incorporé différents complexes « piano-stool » fonctionnalisés avec un fragment biotine à des streptavidines modifiées afin de former des métalloenzymes artificielles<sup>[306–308]</sup> (Figure 60, a)). Ces métalloenzymes ont été utilisées pour de la catalyse *in vitro* ou bien même dans la cellule. Le complexe **59** incorporé avec une streptavidine mutée sur le résidu S112 a permis la modulation de l'énantiosélectivité de réactions d'hydrogénation par transfert sur différentes cétones<sup>[299]</sup>. Le complexe **60** a lui été utilisé pour la déprotection dans des bactéries *E.coli* d'amines protégées avec un groupement allyl carbamate. La déprotection d'amines incorporées à des molécules bioactives a permis d'obtenir un « interrupteur génétique » qui une fois la molécule déprotégée, permet l'expression de gènes spécifiques<sup>[300]</sup>. La catalyse de la même réaction a été effectuée à partir de métalloenzymes localisées à la surface de bactéries *E.coli*<sup>[309]</sup>.

Les applications anticancéreuses de cette classe de composés ont aussi été démontrées, avec notamment la synthèse des complexes **RAPTA** par Dyson et coll.<sup>[310]</sup> incorporant un ligand 1,3,5-triazaphosphaadamantane ou encore **RM175** développé par Sadler et coll. incorporant lui un ligand éthylènediamine<sup>[311]</sup>.



**Figure 61** : Structure des composés **RAPTA-C** et **RM175** décrits par Dyson et coll. et Sadler et coll. respectivement.

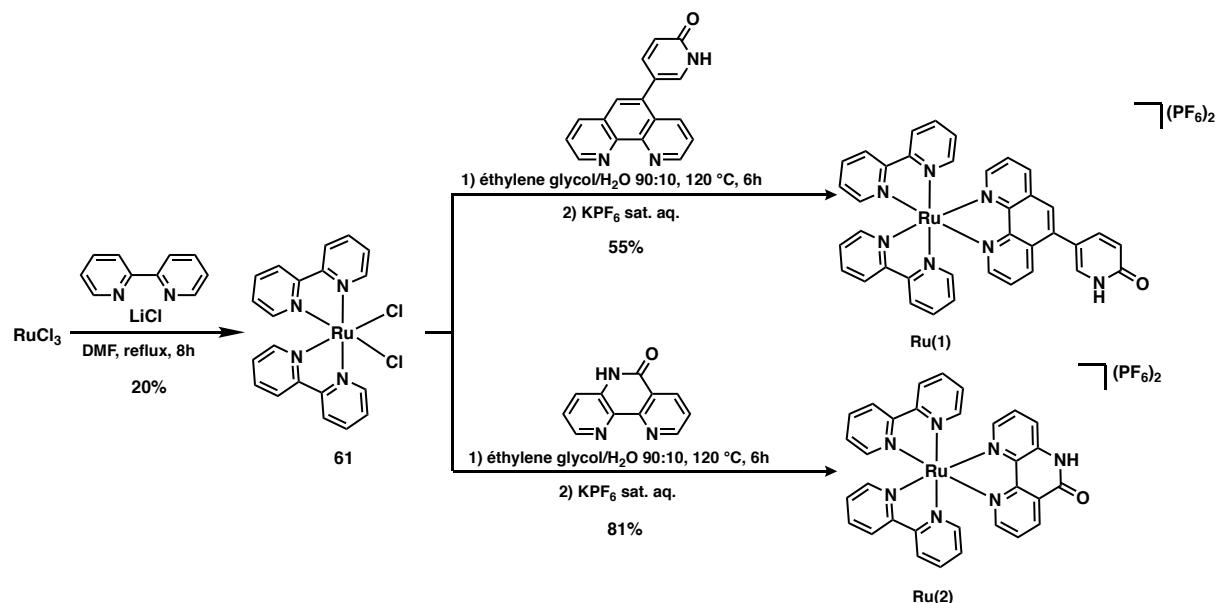
Le ligand arène de ces complexes permet une lipophilicité accrue pour la pénétration cellulaire, tandis que les ligands formant les « pieds » du tabouret de piano permettent de moduler l'activité du composé. Généralement, le ligand chloro est substitué par une molécule d'eau lors de la pénétration dans la cellule, en raison de la concentration réduite en ions Cl<sup>-</sup><sup>[312,313]</sup>.

## b. Synthèse de complexes de ruthénium(II) polypyridyles

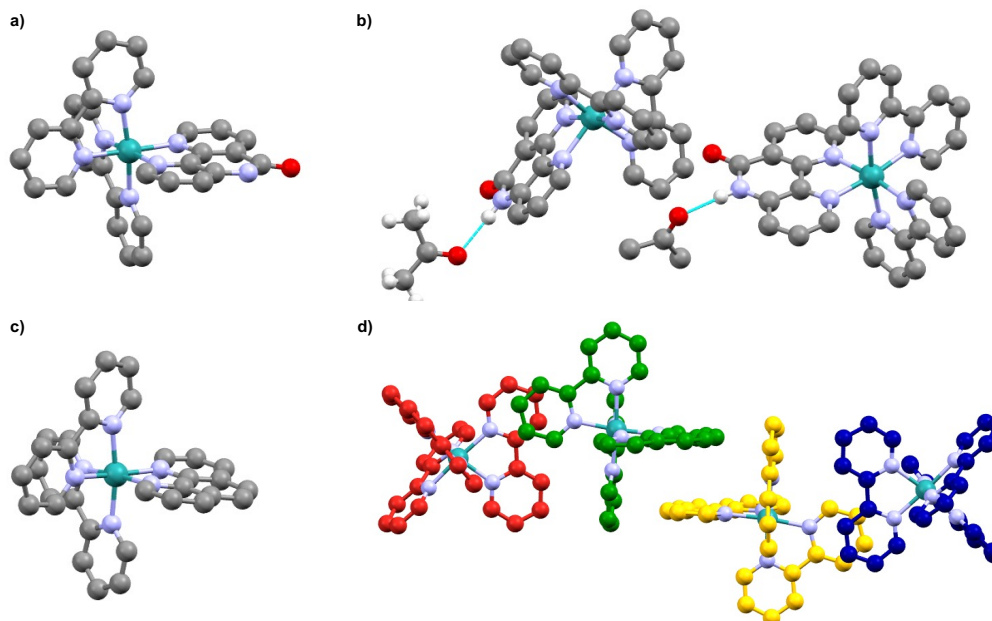
Cette liste non exhaustive d'applications des complexes de ruthénium en biologie et la diversité des structures obtenues nous ont poussé à développer des complexes de ruthénium(II) incorporant les phénanthrolines synthétisées dans le cadre de ce projet de thèse.

La synthèse de complexes de ruthénium de type trisdiimine incorporant les 1,10-phénanthrolines **50-52** et le ligand diimine **57** ainsi que deux ligands 2,2'-bipyridine a été mise en oeuvre. Le précurseur **61** a été obtenu grâce à une procédure classique<sup>[314]</sup>, lors de laquelle **RuCl<sub>3</sub>·3H<sub>2</sub>O** est chauffé à reflux avec deux équivalents de 2,2'-bipyridine en présence de LiCl. La filtration du précipité obtenu, après refroidissement du milieu, a permis d'obtenir **61**. Malgré l'ajout de LiCl pour favoriser la formation du complexe bisbipyridine, le traitement du milieu réactionnel après filtration avec une solution aqueuse de KPF<sub>6</sub> a conduit à isoler une grande quantité de [Ru(**2,2-bpy**)<sub>3</sub>](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, sous-produit de réaction réduisant considérablement le rendement du produit attendu (20%). La synthèse des composés incorporant les ligands phénanthroline a été réalisée par réaction du précurseur de ruthénium avec les ligands diimine dans un mélange d'éthylène glycol et d'eau en proportion 90 : 10 pendant 6 h<sup>[315]</sup>. Après précipitation, la purification par chromatographie des bruts réactionnels a permis d'obtenir les complexes **Ru(1)** et **Ru(2)** incorporant les ligands diimine **52** et **57** respectivement (Figure 62). Leur pureté a pu être démontrée par RMN <sup>1</sup>H dans l'acétonitrile-*d*<sub>3</sub>. La caractérisation des composés a été complétée par des analyses de spectrométrie de masse et par microanalyse. En revanche, les complexes [Ru(**2'2-bpy**)<sub>2</sub>(**50**)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> et [Ru(**2,2-bpy**)<sub>2</sub>(**51**)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> n'ont pas pu être isolés malgré plusieurs tentatives de séparation des impuretés par chromatographie sur gel de silice. En complément des analyses effectuées, la structure de **Ru(2)** à l'état solide a pu être déterminée par diffraction des rayons X d'un monocristal obtenu par diffusion d'éther diéthylique dans une solution du complexe dans l'acétone (Figure 63). Le composé adopte une géométrie octaédrique légèrement déformée. Les angles N-Ru-N entre les azotes en position *trans* sont de 172.3°, 173.6° et 173.7°. Les distances de liaison N-Ru entre les azotes des ligands bipyridine et le métal sont comprises entre 2.061 et 2.071 Å, tandis que les liaisons Ru-N entre les azotes du ligand **57** et le métal sont légèrement plus longues (2.076 et 2.078 Å). Les angles N-Ru-N formés par les deux ligands bipyridine sont similaires (78.6° et 78.7°) tandis que celui formé par le ligand

**18** est aussi légèrement supérieur (79.7°). Dans l'ensemble, les paramètres métriques sont similaires à ceux mesurés sur la structure de l'analogue [Ru(**2,2-bpy**)(phen)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> (**62**) incorporant une 1,10-phénanthroline<sup>[316]</sup>. Nous noterons en revanche des arrangements à l'état solide différents entre **62** et **Ru(2)**. En effet, dans la structure de **62**, les molécules s'assemblent à l'état solide par interactions  $\pi$  intermoléculaires entre les ligands phénanthroline, tandis que dans le cas de **Ru(2)**, on ne retrouve pas ces interactions.



**Figure 62** : Routes synthétiques permettant l'accès aux complexes de ruthénium **Ru(1)** et **Ru(2)**.



**Figure 63** : a) Structure du complexe **Ru(2)** obtenue par diffraction des rayons X à partir d'un monocristal. b) Arrangement à l'état solide de **Ru(2)**. c) Structure du complexe **62** décrite par Yoshikawa et coll.<sup>[316]</sup>. Le ruthénium est en orange, les atomes de carbone sont en gris, d'azote en violet, d'oxygène en rouge et d'hydrogène en blanc. d) Arrangement à l'état solide du complexe **62**. La couleur des atomes de carbone est modifiée entre les unités de complexe par souci de clarté. Les molécules de solvant et les contre-anions sont omis par souci de clarté.

A la place, le groupement amide effectue une liaison hydrogène avec l'oxygène d'une molécule d'acétone à l'état solide. La distance  $\text{N-H}\cdots\text{O}$  est de 2.840 Å, une valeur similaire à celle obtenue pour la distance  $\text{N-H}\cdots\text{O}$  calculée entre les deux ligands **57** de l'homodimère par liaisons hydrogène obtenu à l'état solide pour le complexe **Ti(2)**. Deux complexes, **Ru(1)** et **Ru(2)**, incorporant deux ligands 2,2-bipyridine et les ligands **52** et **57** respectivement, ont été synthétisés. Afin faire de varier la sphère de coordination des complexes de ruthénium et de modifier la charge globale du complexe, la synthèse de complexes de ruthénium(II) cyclométallés a aussi été examinée.

### c. Synthèse de complexes de ruthénium(II) cyclométallés

Les chemins réactionnels empruntés pour la synthèse des complexes cyclométallés **Ru(3)** et **Ru(4)** sont présentés Figure 64.

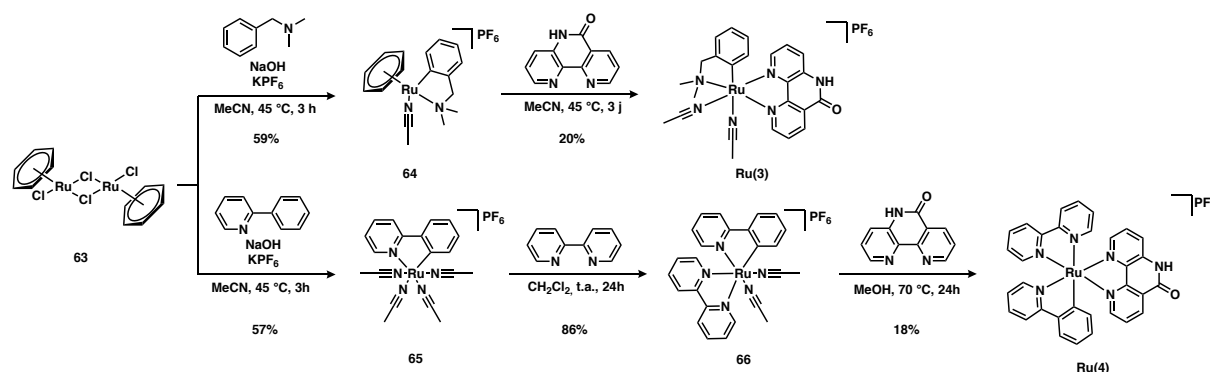
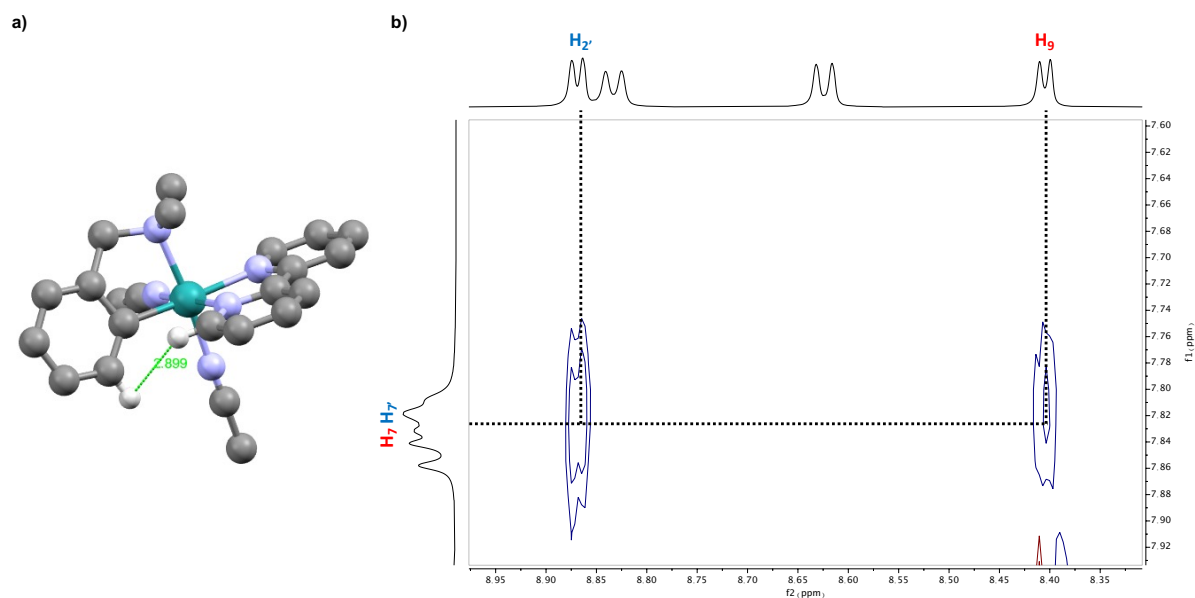


Figure 64 : Chemins réactionnels empruntés pour la synthèse de **Ru(3)** et **Ru(4)**.

La synthèse de **Ru(3)** a été réalisée en deux étapes en adaptant une procédure déjà connue de la littérature<sup>[317]</sup>. Le précurseur cyclométallé chaise de piano **64** a été obtenu par réaction du dimère **63** avec la N,N-diméthylbenzylamine en présence de soude. **64** a été purifié par chromatographie sur colonne d'alumine puis précipitation du solide jaune à partir de l'huile isolée après cette purification. Le produit désiré **Ru(3)** a quant à lui été isolé par addition du ligand **57** à une solution du complexe **64** et agitation à  $45^\circ\text{C}$  pendant trois jours. La faible solubilité du ligand dans l'acétonitrile explique le temps de réaction important. La purification du résidu obtenu par chromatographie sur gel de silice a permis d'obtenir le composé **Ru(3)** avec un faible rendement de 20%. Le spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé indique un total de vingt signaux différents. La RMN 2D COSY permet d'observer deux jeux de corrélations correspondant à deux ligands

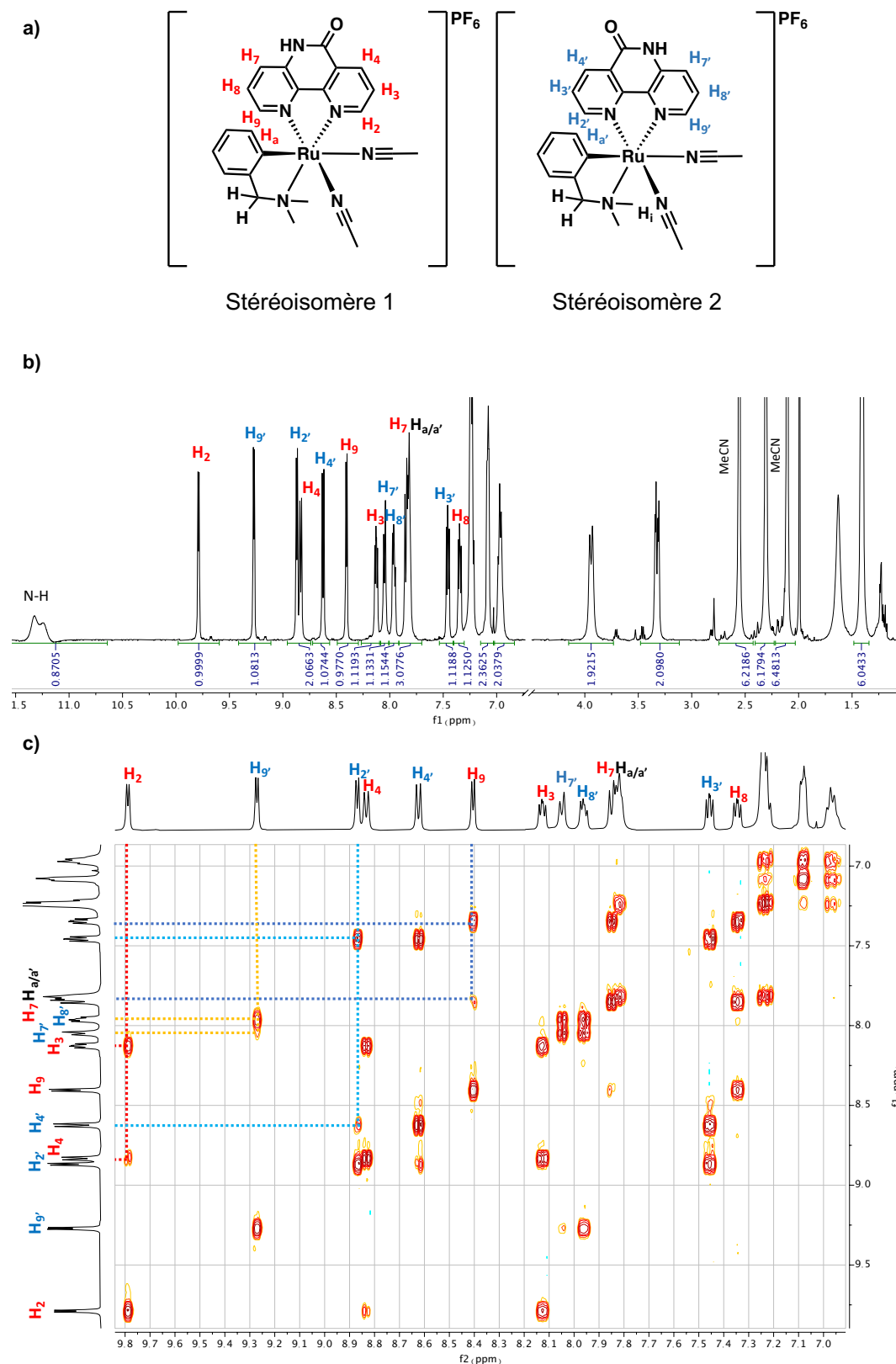
phénanthroline, indiquant la présence de deux espèces incorporant un ligand **57**. L'hypothèse de la présence de deux stéréoisomères tels qu'ils sont représentés Figure 65, a) est proposée. Le composé analogue **67** incorporant une 2,2'-bipyridine à la place de **57** décrit par Ryabov et al.<sup>[317]</sup> étant l'isomère *cis*, il est assumé que les complexes synthétisés adoptent la même structure.



**Figure 65** : a) Structure du complexe **67** décrite par Ryabov et coll.<sup>[317]</sup>. Les atomes de carbone sont en gris, les atomes d'azote en violet, l'atome de ruthénium en bleu. Seuls les hydrogènes dont les corrélations dans l'espace sont discutées sont montrés par souci de clarté. b) Agrandissement du spectre 2D ROESY du complexe **Ru(3)** montrant les corrélations dans l'espace discutées.

La RMN 2D ROESY montre deux corrélations dans l'espace comme représentées Figure 64, b) particulièrement utiles pour proposer une structure pour ces édifices. La première correspond à celle entre le proton H<sub>9</sub> du ligand **57** et le proton H<sub>a</sub> du ligand benzylamine du stéréoisomère 1. La deuxième correspond à celle entre les protons H<sub>2</sub> et H<sub>a</sub> des mêmes ligands du stéréoisomère 2. Ceci est conforté par la faible proximité spatiale des deux protons observée au sein de **67** comme l'atteste la distance intramoléculaire de 2.899 Å mesurée entre ces deux protons dans la structure du composé (Figure 65, a)). Après avoir attribué un signal pour chaque ligand phénanthroline, il a été possible d'identifier la totalité des signaux des phénanthrolines grâce à l'analyse COSY pour chaque stéréoisomère (Figure 66, c)). En revanche, les signaux correspondant aux protons H<sub>a</sub> étant trop peu résolus, il est impossible d'attribuer les signaux du ligand benzylamine aux deux différents stéréoisomères. L'analyse de **Ru(3)** par spectrométrie de masse confirme aussi l'hypothèse de la formation de deux stéréoisomères. Deux pics sont observés sur le spectre de masse

du composé. Le premier, très peu intense correspond à une valeur de  $m/z = 515.11$  pour  $C_{24}H_{25}N_6ORu^+$  ( $m/z(calc) = 515.11$ ).



**Figure 66 :** a) Structure des deux isomères obtenus lors de la synthèse du complexe **Ru(3)**. b) Spectre RMN  $^1H$  de **Ru(3)**. Les signaux ont été attribués selon la numérotation définie sur a). c) Spectre 2D COSY de **Ru(3)**. Les corrélations sont présentées par des traits en pointillés.

Le second, à une valeur de  $m/z = 433.06$  pour  $C_{20}H_{19}N_4ORu^+$  ( $m/z(calc) = 433.06$ ) correspond au fragment sans les ligands acétonitrile. La labilité de ces ligands sur le complexe analogue **RDC-11** a déjà été démontrée<sup>[318]</sup>, il n'est donc pas étonnant d'observer ce pic caractérisant l'absence de ligands  $CH_3CN$  sur le centre métallique. L'absence de pic correspondant à un produit secondaire confirme la présence de deux isomères. En complément des analyses effectuées, l'analyse par RMN DOSY d'une solution d'un mélange des deux espèces montre que la diffusion des espèces est identique, avec une valeur  $D = 7.00 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , mettant en évidence la présence de deux espèces de volume égal en solution. Par ailleurs, la valeur de l'intégration des signaux des deux composés est égale, démontrant que les deux espèces sont présentes en proportion 1 : 1 en solution.

La synthèse de **Ru(4)** a été réalisée en trois étapes en adaptant une procédure décrite dans la littérature<sup>[319]</sup>. La première étape consiste en la cycloméallation par réaction de la 2-phénylpyridine avec le dimère **63** en présence de soude et de  $KPF_6$  pendant une nuit. Le composé **65** est isolé après purification du brut réactionnel par chromatographie sur colonne d'alumine puis précipitation de la solution concentrée avec de l'éther diéthylique. Le complexe **66** est obtenu après réaction du complexe de ruthénium avec un équivalent de 2,2-bipyridine puis purification par chromatographie sur colonne d'alumine. Enfin, la réaction du précurseur bisacétonitrile **66** avec le ligand **57** dans le méthanol à reflux pendant une nuit et purification par chromatographie sur colonne d'alumine a permis d'obtenir le composé **Ru(4)** avec un rendement de 60%. Ce composé étant hétéroleptique, le dédoublement des signaux aromatiques est observé sur le spectre RMN  $^1H$ , de la même façon que pour la complexe **Ru(3)**. La RMN  $^1H$  a confirmé la présence de deux isomères différents, puisque deux doublets dédoublés à 8.64 et 8.46 ppm, attribués aux protons  $H_2$  de la phénanthroline, ont permis grâce à la RMN 2D COSY d'identifier des signaux phénanthroline appartenant à deux espèces différentes. L'intégration des deux signaux à 8.64 et 8.46 ppm permet de déterminer un rapport entre les deux isomères de 0.38 : 0.62. Toutefois, la présence de signaux aromatiques additionnels se superposant aux signaux phénanthroline a rendu l'attribution précise de tous les signaux impossible. L'analyse par spectrométrie de masse montre un signal à  $m/z = 609.10$  pour  $C_{32}H_{23}N_6ORu^+$  ( $m/z(calc) = 609.10$ ) correspondant au complexe. Enfin, l'analyse élémentaire a confirmé la présence du produit attendu.



#### d. Synthèse de complexes de ruthénium(II) arène de type demi-sandwich

Finalement, nous avons voulu préparer des complexes de ruthénium(II) reposant sur sphère de coordination de symétrie tétraédrique. Pour cela, la synthèse de complexes de type « demi-sandwich » a été entreprise.

La synthèse du composé **Ru(5)** est directe puisque le produit désiré a pu être obtenu par réaction du dimère commercial **63** avec le ligand **57**. La purification du composé s'effectue par métathèse des ions  $\text{Cl}^-$  avec des ions  $\text{PF}_6^-$  dans l'eau après ajout d'une solution aqueuse saturée en  $\text{KPF}_6$ , causant sa précipitation. L'analyse RMN  $^1\text{H}$  montre les signaux attendus. Le composé a aussi été caractérisé par spectrométrie de masse et analyse élémentaire.

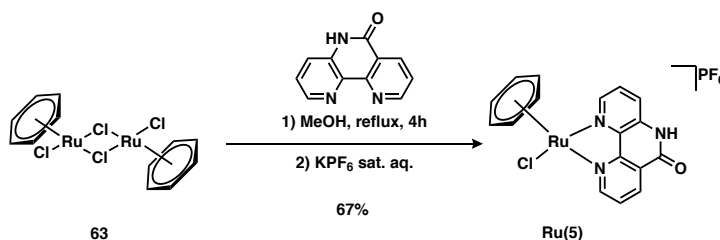


Figure 67 : Synthèse de **Ru(5)**.

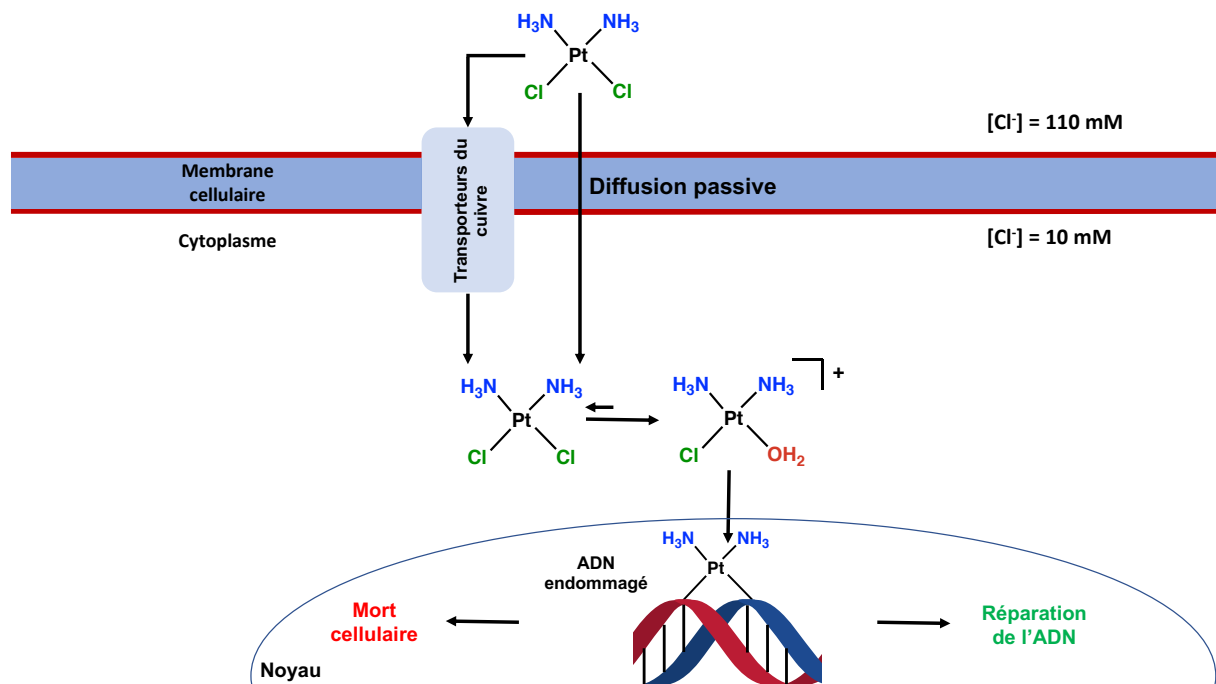
Au total, cinq complexes de ruthénium originaux incorporant les phénanthrolines **52** et **57** ont été obtenus. Les complexes **Ru(1)** et **Ru(2)** incorporent deux ligands 2,2'-bipyridine ainsi que les ligands **52** et **57** respectivement. Dans un second temps deux complexes cycloruthénés basés sur le ligand **57** ont été synthétisés. **Ru(3)** intègre un ligand N,N-diméthylbenzylamine et deux ligands acétonitrile. **Ru(4)** est construit avec un ligand 2-phénylpyridine et un ligand bipyridine. Enfin, un complexe du type « piano-stool » **Ru(5)**, incorporant **57**, un ligand benzène et un ligand chloro a été obtenu.

## VI. Synthèse de complexes de platine(II)

### a. Les complexes de Pt(II) en biologie

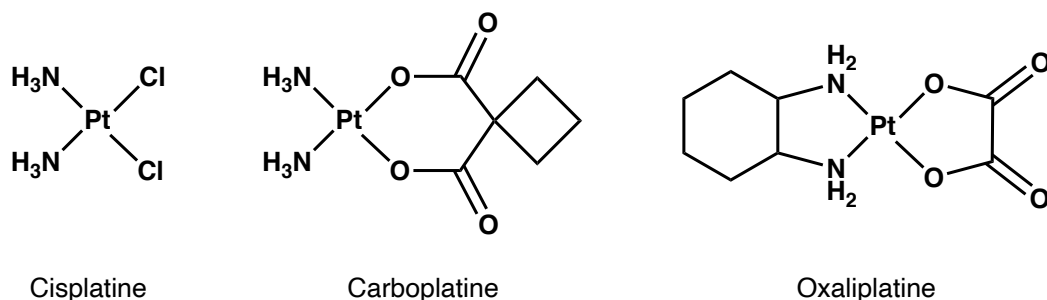
Actuellement, les seuls complexes métalliques commercialisés pour la chimiothérapie sont à base de platine. Les propriétés des complexes de platine utilisés comme anticancéreux ont été largement étudiées et seront seulement résumées ici. La découverte des propriétés antiprolifératives du cisplatine par Barnett Rosenberg en 1965 fut réalisée par pur hasard<sup>[320]</sup>. En effet, lors d'une expérience dans laquelle des cellules *E.coli* furent placées dans un tampon aqueux de chlorure d'ammonium puis soumises à un courant électrique issu d'électrodes de platine, il s'est aperçu que les bactéries adoptaient une forme filamenteuse inhabituelle<sup>[321]</sup>. Il a ensuite été démontré que des complexes de platine(II) ou platine(IV) étaient formés en solution, qui avaient comme propriété l'inhibition de la division cellulaire des bactéries<sup>[322,323]</sup>. Ces complexes, notamment *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] et *cis*-[PtCl<sub>4</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], ont ensuite été testés sur des souris atteintes de tumeurs du type sarcome 180<sup>[324,325]</sup>. La survie et même la rémission totale des souris traitées ont été observées, conduisant le complexe de platine(II) à être utilisé comme anticancéreux en traitement clinique. Le mode d'action du cisplatine a bien été étudié (Figure 68). En premier lieu, le composé pénètre la cellule majoritairement par diffusion<sup>[326]</sup>, même s'il a été montré que celui-ci pouvait aussi être pris en charge par des protéines impliquées dans le transport du cuivre<sup>[327]</sup>. La concentration en ions chlorure dans la cellule étant basse, un ligand chloro du complexe est substitué dans la cellule par un ligand aquo, formant un complexe chargé positivement<sup>[328]</sup>. Le complexe mono-aquo forme par substitution un adduit avec une guanine de l'ADN<sup>[329-331]</sup>. Un second ligand chloro est ensuite substitué, soit de manière directe par un fragment coordonnant d'une guanine ou d'une adénine, soit d'abord par un ligand aquo, puis par la base nucléique<sup>[332-334]</sup>. La découverte du cisplatine a permis des avancées majeures dans le traitement des cancers ovariens, des mélanomes, lymphomes et d'autres encore<sup>[335-338]</sup>. Toutefois, les traitements sont accompagnés par des effets secondaires sévères. La toxicité des reins ou du système nerveux, des difficultés d'audition, des nausées ou encore des vomissements ont été observés après traitement avec le cisplatine<sup>[339-344]</sup>.

Le carboplatine est un médicament utilisé en traitement clinique anticancéreux développé afin de diminuer la toxicité des complexes de platine, causant des effets secondaires de sévérité moins élevée.



**Figure 68 :** Mode d'action du cisplatine. Après pénétration dans le noyau cellulaire, l'adduit créé par coordination à l'ADN est soit réparé par les protéines chargées de la réparation de l'ADN lors de la réplication cellulaire, ou bien, si la réparation n'est pas possible, provoque la mort cellulaire.

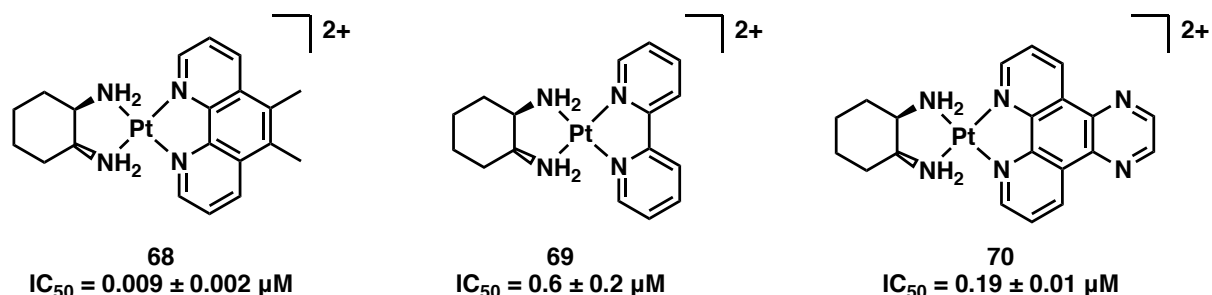
Cette plus grande tolérance est expliquée par la présence du ligand cyclobutanedicarboxylate moins labile que les ligands ammine, le carboplatine est alors moins susceptible de réagir avant de pénétrer le milieu intracellulaire<sup>[336–338,345]</sup>. L'oxaliplatine, quant à lui est complémentaire de l'offre thérapeutique du cisplatine, puisqu'il est utilisé pour le traitement du cancer colorectal, contre lequel le cisplatine est inactif<sup>[336,345,346]</sup>.



**Figure 69 :** Complexes de platine utilisés pour des traitements anticancéreux en clinique.

Depuis quelques années, de nouvelles générations de complexes de platine ont été synthétisées dans l'optique de réduire les effets secondaires. Parmi cette nouvelle génération, des composés capables de s'intercaler dans la double-hélice de l'ADN ont

été reportés. Des complexes construits avec un ligand polypyridyle comme ligand intercalant ainsi qu'un ligand diamine ont montré une activité cytotoxique de l'ordre du nanomolaire contre des lignées cellulaires cancéreuses<sup>[347,348]</sup> (Figure 70).

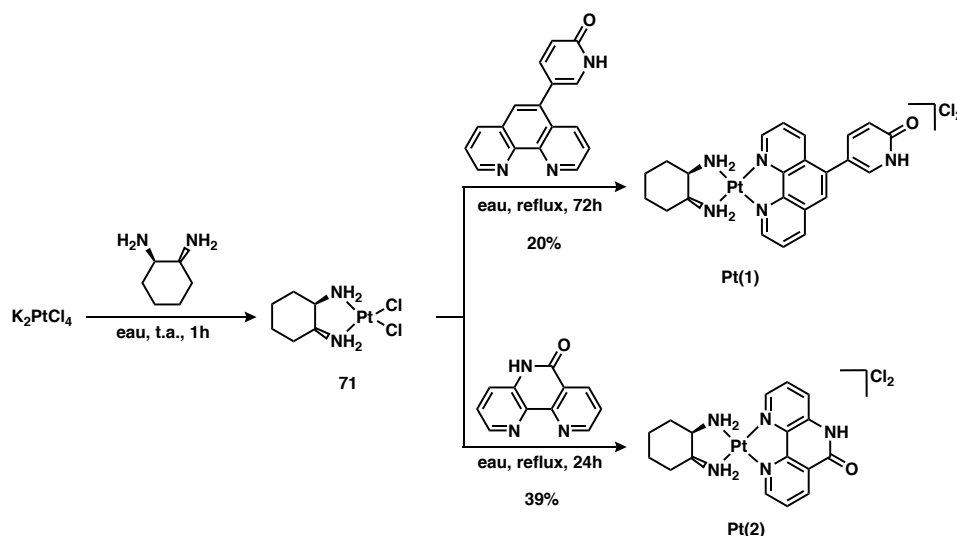


**Figure 70** : Complexes de Pt(II) utilisés pour l'intercalation dans l'ADN. Les valeurs de  $IC_{50}$  ont été calculés à partir de tests de survie sur des cellules leucémies murines L1210.

Ces complexes étant construits à partir de deux ligands bidentate azotés, leur stabilité en fait de bons candidats dans le cadre de ce projet de thèse. De plus, la géométrie carrée plane de complexes de Pt(II) permet d'ajouter une variation structurale supplémentaire aux architectures déjà obtenues autour de complexes octaédriques et pseudo-tétraédriques de titane et de ruthénium.

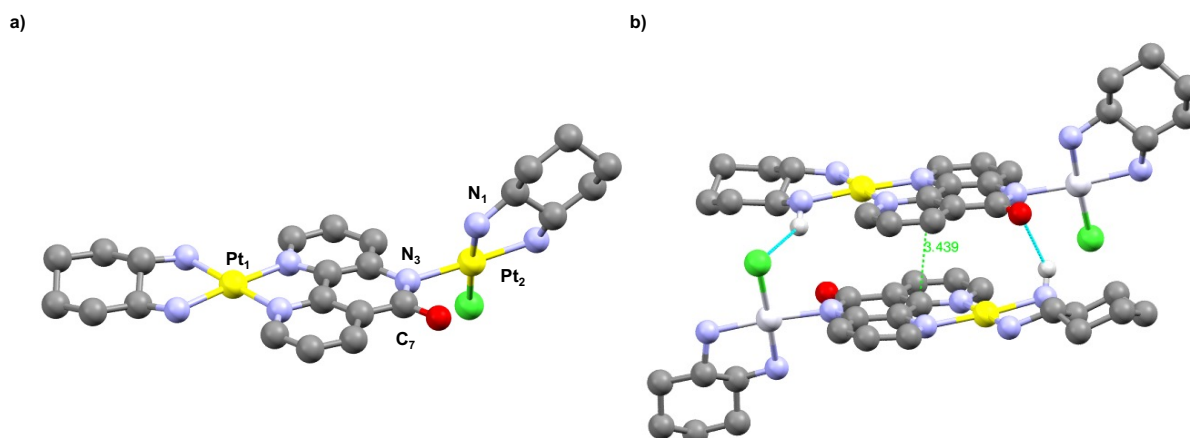
## b. Résultats

Afin de pouvoir comparer l'influence du ligand diamine sur l'activité biologique de complexes de platine(II) incorporant les ligands diimine synthétisés, nous avons sélectionnés trois ligands diamine différents : Le 1,2-diaminocyclohexane, le 1,4-diaminocyclohexane et la 1,2-diphényléthylènediamine.



**Figure 71** : Routes synthétiques permettant l'accès aux complexes de platine Pt(1) et Pt(2).

Dans un premier temps, la synthèse de **Pt(1)** et **Pt(2)**, incorporant un ligand 1,2-diaminocyclohexane de configuration (S,S) a été mise en œuvre en adaptant une procédure décrite<sup>[349]</sup>. La réaction des produits commerciaux  $K_2PtCl_4$  et le (1S,2S)-1,2-diaminocyclohexane à température ambiante a permis d'obtenir l'intermédiaire **71** par précipitation dans le milieu réactionnel. Le chauffage à reflux du complexe avec les composés **52** ou **57** a permis la formation des complexes **Pt(1)** et **Pt(2)** respectivement. La synthèse de **Pt(1)** incorporant **52** a nécessité un temps de réaction plus long, en comparaison avec **Pt(2)**, en raison de la solubilité du ligand inférieure à celle de **57**. Les deux bruts réactionnels ont ensuite été purifiés sur colonne à phase inverse Porapak Rxn RP 6cc (0.4 g). L'analyse par RMN  $^1H$  du composé dans le  $D_2O$  indique la présence de signaux correspondant au ligand phénanthroline dans la région aromatique ainsi que de signaux dans la partie aliphatique du spectre correspondant au ligand DACH. La valeur de l'intégration des signaux phénanthroline les plus intenses ainsi que les signaux DACH aliphatiques indiquant un rapport de 1:1, ceux-ci ont pu être attribués sans ambiguïté au composé désiré. En plus des signaux attendus pour le complexe, des signaux additionnels d'intensité mineure sont observés dans les régions aromatique ainsi qu'aliphatique du spectre. Un rapport de 9:1 entre ces deux espèces a été obtenu après intégration des signaux dans la partie aromatique du spectre.



**Figure 72** : a) Structure du complexe dimérique **72** obtenue par diffraction des rayons X d'un monocristal. Les atomes utilisés pour calculer l'angle de torsion sont désignés par la numérotation définie pour la structure cristalline. b) Empilement des molécules de complexe à l'état solide. Les atomes de carbone sont en gris, d'azote en violet, d'oxygène en rouge, de chlore en vert et de platine en jaune. Seuls les atomes d'hydrogène discutés sont représentés. Les molécules de solvant sont omises par souci de clarté.

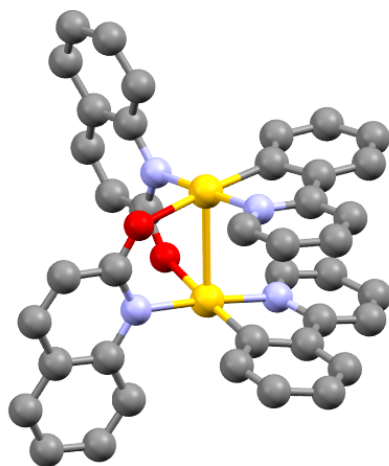
La métathèse d'anion permettant l'échange de l'ion  $Cl^-$  avec un ion  $PF_6^-$  a permis l'obtention d'un complexe soluble dans les solvants organiques. La cristallisation du sel de  $PF_6^-$  par diffusion d'éther diéthylique dans une solution du composé dans

l'acétonitrile a permis d'obtenir des monocristaux. La structure obtenue par diffraction des rayons X sur monocristal est donnée Figure 72. De façon inattendue, la structure de **72** est dimérique. Le premier centre métallique est coordonné comme attendu par un ligand DACH ainsi que par les deux imines du ligand **57**. Les angles et longueurs de liaison de la sphère de coordination du platine sont donnés Tableau 12. La sphère de coordination de l'atome Pt<sub>2</sub> de **72** adopte une géométrie carrée plane légèrement distordue. La sphère de coordination du deuxième platine (Pt<sub>1</sub>) adopte elle aussi une géométrie carrée plane, toutefois moins distordue que celle de Pt<sub>2</sub>. Le métal est coordonné de manière monodentate par l'azote déprotonné de la fonction amide de **57**. Le métal est aussi coordonné par un ligand chloro et par un autre ligand DACH. Il est intéressant de noter que le ligand DACH coordonnant le deuxième centre métallique le fait de manière quasi perpendiculaire par rapport au plan de la phénanthroline.

**Tableau 12** : Tableau regroupant une sélection d'angles et de longueurs de liaisons de la sphère de coordination de **72**. La numérotation choisie pour les atomes est celle donnée dans la structure RX.

	Pt <sub>1</sub>	Pt <sub>2</sub>		
Angles (°)	N <sub>1</sub> (DACH)-Pt <sub>1</sub> -N <sub>2</sub> (DACH)	83.8	N <sub>6</sub> (DACH)-Pt <sub>2</sub> -N <sub>7</sub> (DACH)	83.9
	O=C-N <sub>3</sub> -Pt <sub>1</sub> -Cl	92.8	N <sub>4</sub> ( <b>57</b> )-Pt <sub>2</sub> -N <sub>5</sub> ( <b>57</b> )	81.8
	N <sub>1</sub> (DACH)-Pt <sub>1</sub> -N <sub>3</sub> ( <b>57</b> )	89.6	N <sub>4</sub> ( <b>57</b> )-Pt <sub>2</sub> -N <sub>7</sub> (DACH); N <sub>5</sub> ( <b>57</b> )-Pt <sub>2</sub> -N <sub>6</sub> (DACH)	97.6; 98.8
	N <sub>2</sub> (DACH)-Pt <sub>1</sub> -Cl <sub>1</sub>	93.9		
Distances moyennes (Å)	Pt <sub>1</sub> -N(DACH)	2.045 ± 0.005	Pt <sub>2</sub> -N(DACH)	2.031 ± 0.012
	Pt <sub>1</sub> -N( <b>57</b> )-C=O	2.015	Pt <sub>2</sub> -N( <b>57</b> )	2.024 ± 0.002
	Pt <sub>1</sub> -Cl <sub>1</sub>	2.314		

L'angle de torsion C<sub>7</sub>-N<sub>3</sub>-Pt<sub>1</sub>-N<sub>1</sub> calculé entre le carbone de la fonction amide, l'azote de cette même fonction, le platine et l'azote du ligand DACH en *trans* du ligand chloro est de 59°. On peut aussi noter que la fonction amide ne coordine pas le platine de manière bidentate. Ceci est en accord avec la littérature. En effet, ces ligands pyridinone sont utilisés exclusivement comme ligands pontant deux centres platine mais pas comme ligand bidentate<sup>[350-353]</sup>. Un des exemples décrits par Zhu et coll. est donné Figure 73. Une des raisons défavorisant le mode de coordination bidentate pourrait être la formation d'un cycle à quatre énergétiquement défavorable. L'agencement à l'état solide de **72** montre un empilement de dimères par interactions  $\pi$  entre les ligands phénanthroline (Figure 72, b)).



**Figure 73** : Structure radiocristallographique d'un complexe binucléaire de platine(II) incorporant deux fragments pyridinone pontant décrite par Zhu et coll.<sup>[350]</sup>. Les atomes de carbone sont en gris, les azotes en violet, les oxygènes en rouge et les platines en jaune. Les atomes d'hydrogène et les molécules de solvant sont omis par souci de clarté.

De plus, l'oxygène du carbonyle du ligand **57** appartenant à une unité effectue une liaison hydrogène intermoléculaire avec un proton amine du DACH. Nous noterons que la charge totale du dimère **72** étant de +2, il n'est pas étonnant qu'il n'ait pas pu être séparé du monomère de charge égale lors du passage sur colonne à phase inverse.

Toujours dans le but de générer la plus large variété structurale, un complexe incorporant un ligand 1,4-diaminocyclohexane a été obtenu. Le complexe **75** utilisé comme précurseur a été synthétisé à partir d'une procédure décrite dans la littérature<sup>[354]</sup>. La synthèse de ce composé nécessite plus d'étapes que pour la synthèse de l'analogue **71**. La position 1,4 des fonctions amine du ligand rend sa coordination sur le centre métallique plus difficile. En effet, le ligand 1,4-DACH, contrairement au ligand 1,2-DACH peut conduire à la formation de polymères de coordination lors de la synthèse de complexes de platine(II)<sup>[354]</sup>. Le précurseur **75** n'étant pas aussi stable que l'analogue 1,2-DACH, le chauffage à reflux du complexe avec la phénanthroline comme pour la synthèse de **Pt(1)** et **Pt(2)** n'était pas envisageable<sup>[355]</sup>. L'élimination des ligands chloro par AgNO<sub>3</sub> dans le DMF du complexe **75** a été suivie par l'ajout de **57** et chauffage à 50°C pendant 24 h. L'ajout d'une solution aqueuse de KPF<sub>6</sub> a permis d'obtenir **Pt(3)** avec un rendement de 19%. Les tentatives de reproduction de ce mode opératoire ayant échouées, il a été modifié pour permettre une hausse du rendement et une meilleure reproductibilité. Dans un premier temps, la réaction a été réalisée dans des conditions plus diluées afin de solubiliser la totalité des réactifs. Après 24h, l'analyse de contrôle par RMN <sup>1</sup>H d'un

aliquot prélevé du milieu réactionnel a montré que le complexe de platine précurseur était toujours présent. Un équivalent de ligand **57** supplémentaire a donc été ajouté. Après 72 h, la purification du brut réactionnel par chromatographie sur colonne à phase inverse Porapak Rxn RP 6cc (0.4 g) a permis d'obtenir le composé **Pt(3)** sous forme de sel de nitrate avec un rendement de 53%. L'avantage du sel de nitrate est sa meilleure solubilité dans l'eau et le méthanol, au contraire du sel d'hexafluorophosphate qui est uniquement soluble dans le DMSO. Les deux sels ( $\text{NO}_3^-$  et  $\text{PF}_6^-$ ) du complexe **Pt(3)** ont été caractérisés par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  et spectrométrie de masse.

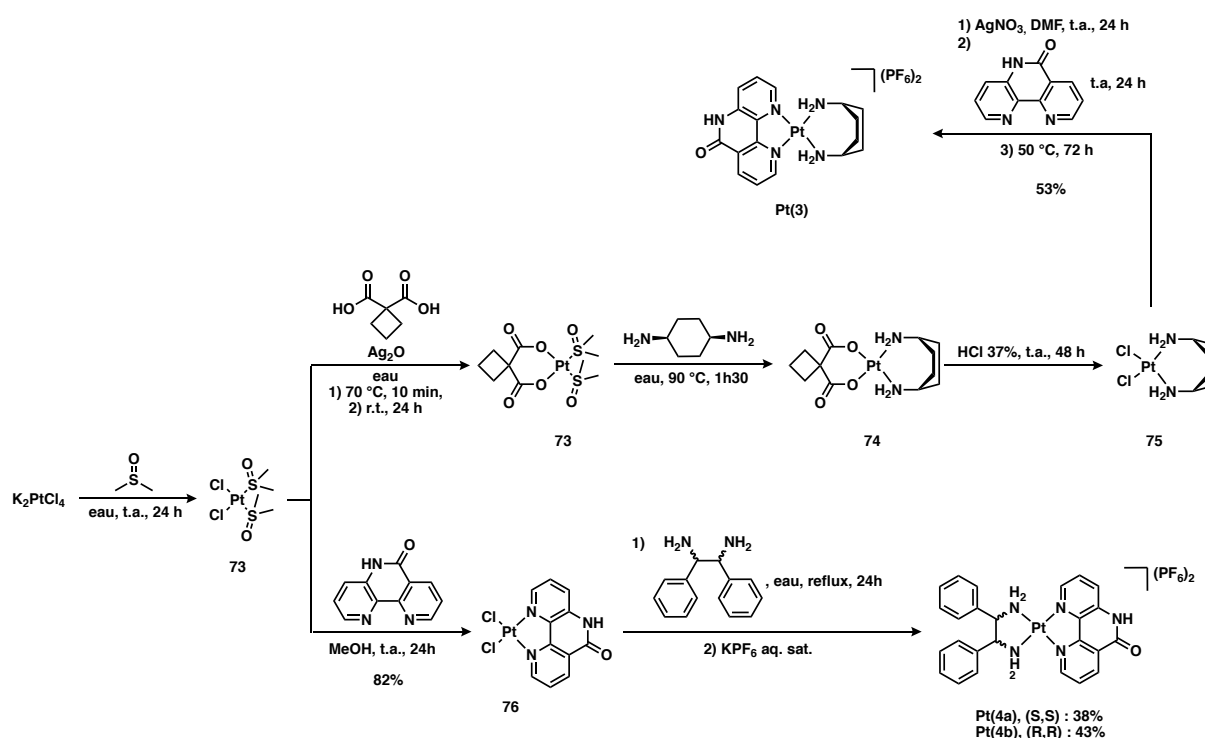
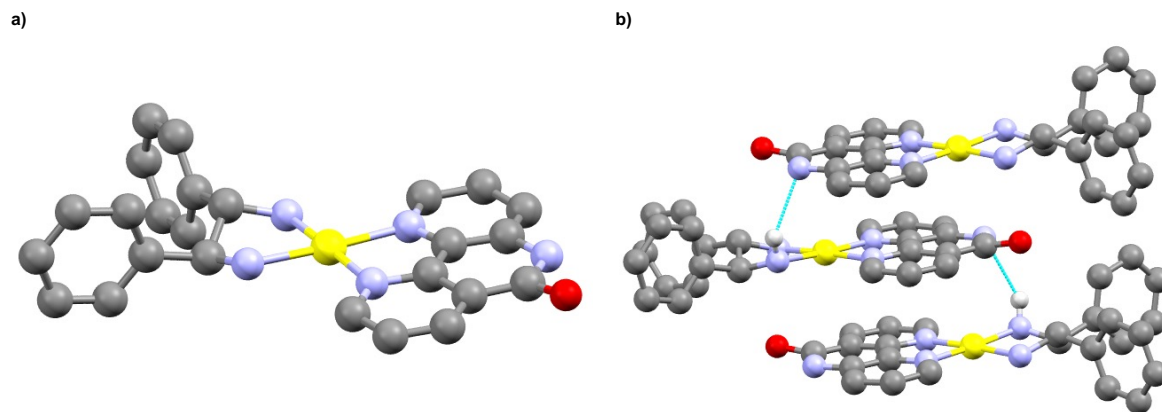


Figure 74 : Routes synthétiques permettant l'accès aux complexes de platine **Pt(3)** et **Pt(4a-b)**.

La synthèse d'un nouveau complexe incorporant à la fois le ligand (*R,R*) ou (*S,S*)-diphényléthylènediamine (DPED) et **57** a aussi été entreprise. De manière opposée à la synthèse des complexes **Pt(1-3)**, cette synthèse nécessite tout d'abord la formation d'un précurseur **76** contenant le ligand diimine. Puis, à ce précurseur est ajouté le ligand diamine. Cette voie de synthèse a permis d'obtenir **Pt(4a)** et **Pt(4b)**. Les composés ont tous deux été caractérisés par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , spectrométrie de masse et analyse élémentaire. La structure obtenue par diffraction des rayons X d'un monocristal de **Pt(4a)** est donnée Figure 75, a). La sphère de coordination du platine est conforme à celle attendue. Le complexe adopte une géométrie carrée plane étirée.





**Figure 75** : a) Structure du complexe **Pt(4a)** obtenue par diffraction des rayons X d'un monocristal. b) Empilement des molécules de complexe à l'état solide. Les atomes de carbone sont en gris, d'azote en violet, d'oxygène en rouge, de chlore en vert et de platine en jaune. Les liaisons hydrogène sont représentées en bleu.

Les angles de chélation  $N_4(\text{DPED})\text{-Pt-N}_5(\text{DPED})$  et  $N_1(\mathbf{57})\text{-Pt-N}_3(\mathbf{57})$  sont de  $81.5^\circ$  et  $81.2^\circ$  respectivement. Les deux angles  $N(\text{DPED})\text{-Pt-N}(\mathbf{57})$  sont de  $98.2^\circ$  et  $99.2^\circ$ . Les longueurs de liaison Pt-N sont similaires avec une moyenne de  $2.027 \pm 0.018 \text{ \AA}$ . On observe en particulier une déprotonation de la fonction amide, telle que celle-ci a été observée pour **72** (Figure 72, a)). Toutefois, pour stabiliser la charge négative créée, l'azote ne coordine pas un deuxième platine comme dans la structure précédente, mais effectue des liaisons hydrogène intermoléculaires avec une fonction amine d'un ligand diamine du complexe présent dans l'empilement (Figure 75, b)). La distance et l'angle  $\text{NH}\cdots\text{N}$  sont de  $3.222 \text{ \AA}$  et  $143.6^\circ$  respectivement. La structure à l'état solide est aussi stabilisée par interactions  $\pi$  entre les ligands diimine. La distance moyenne calculée entre les atomes de carbone du ligand **57** de deux unités se superposant est de  $3.424 \pm 0.049 \text{ \AA}$ . La gêne stérique induite par le ligand diamine oblige les molécules de complexe à s'empiler de manière antiparallèle à l'état solide. Les pouvoirs rotatoires des composés **Pt(4a)** et **Pt(4b)** ont été mesurés. Les valeurs de  $[\alpha]_D^{20} 5.8 \text{ }^\circ\text{dm}^{-1}\text{cm}^3\text{g}^{-1}$  ( $c = 0.67 \text{ mM}$ , DMSO) et  $[\alpha]_D^{20} -3.5 \text{ }^\circ\text{dm}^{-1}\text{cm}^3\text{g}^{-1}$  ( $c = 0.67 \text{ mM}$ , DMSO) ont été obtenues pour **Pt(4a)** et **Pt(4b)** respectivement. Deux spectres de dichroïsme circulaire ont été enregistrés pour les complexes **Pt(4a)** et **Pt(4b)** (Figure 76) L'absorption se situe uniquement dans la région située entre 300 et 375 nm, ce qui semble indiquer que les propriétés chiroptiques ont comme origine la chiralité centrée sur le ligand chiral uniquement. Les signes opposés des pouvoirs rotatoires spécifiques ainsi que les spectres de dichroïsme circulaire confirment que ces deux composés sont bien énantiomères.

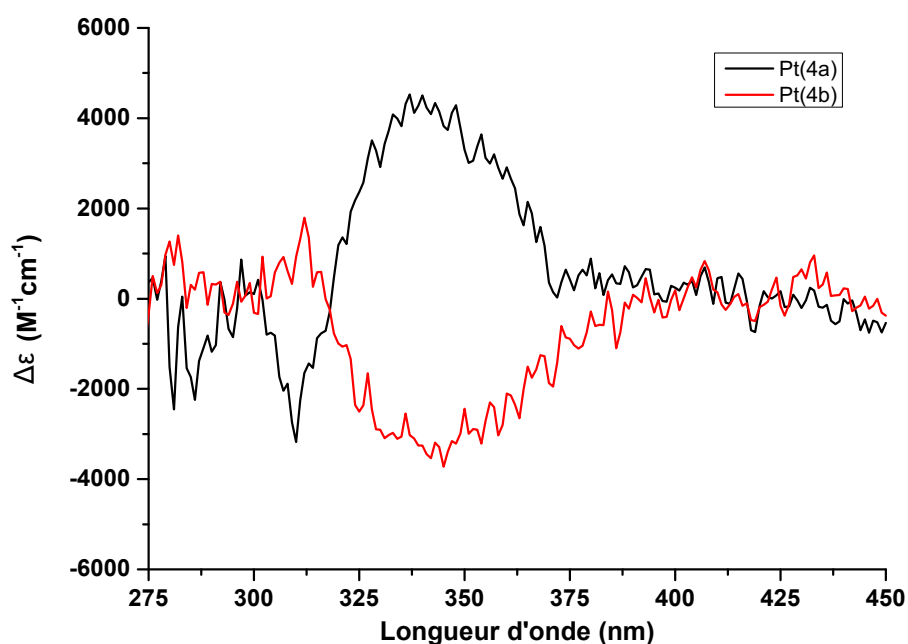
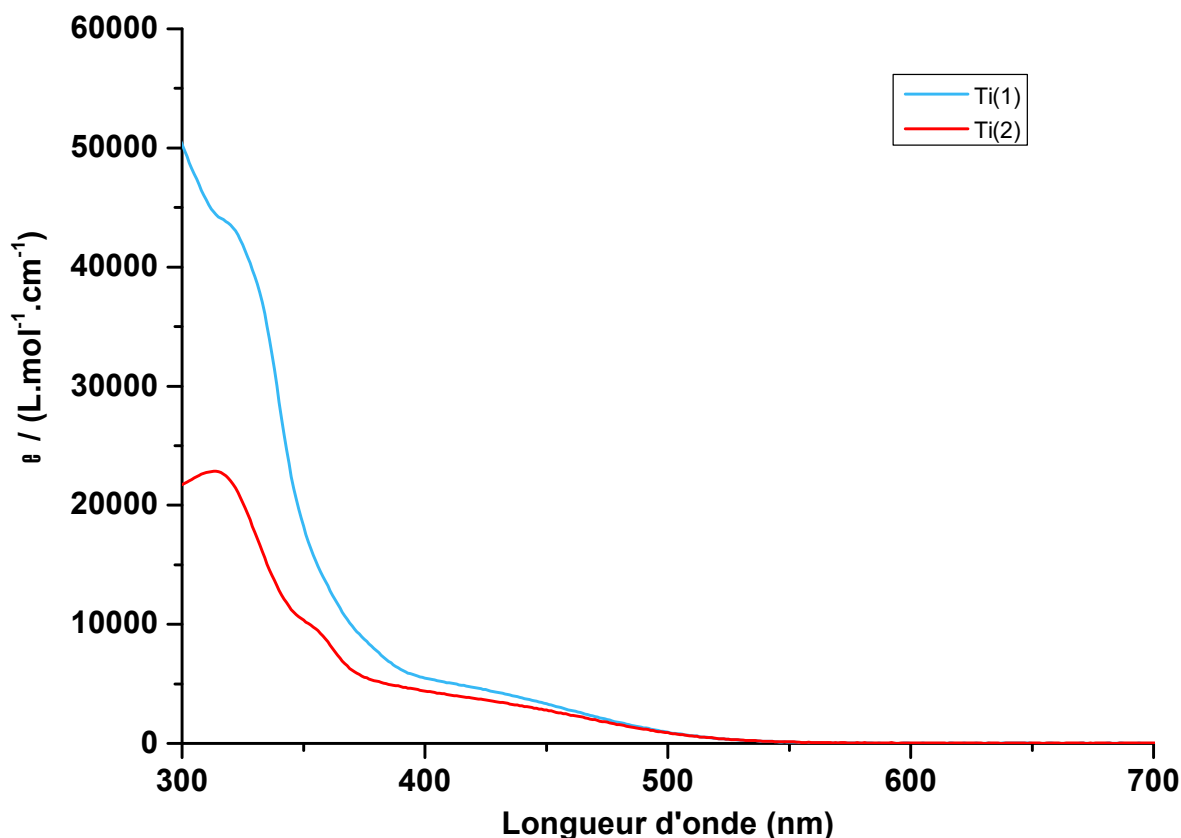


Figure 76 : Spectres de dichroïsme circulaire des complexes Pt(4a) (noir), et Pt(4b) (rouge)

## VII. Caractérisation et évaluation de la stabilité des complexes synthétisés par spectroscopie UV-visible

### a. Caractérisation des complexes par spectroscopie UV-visible

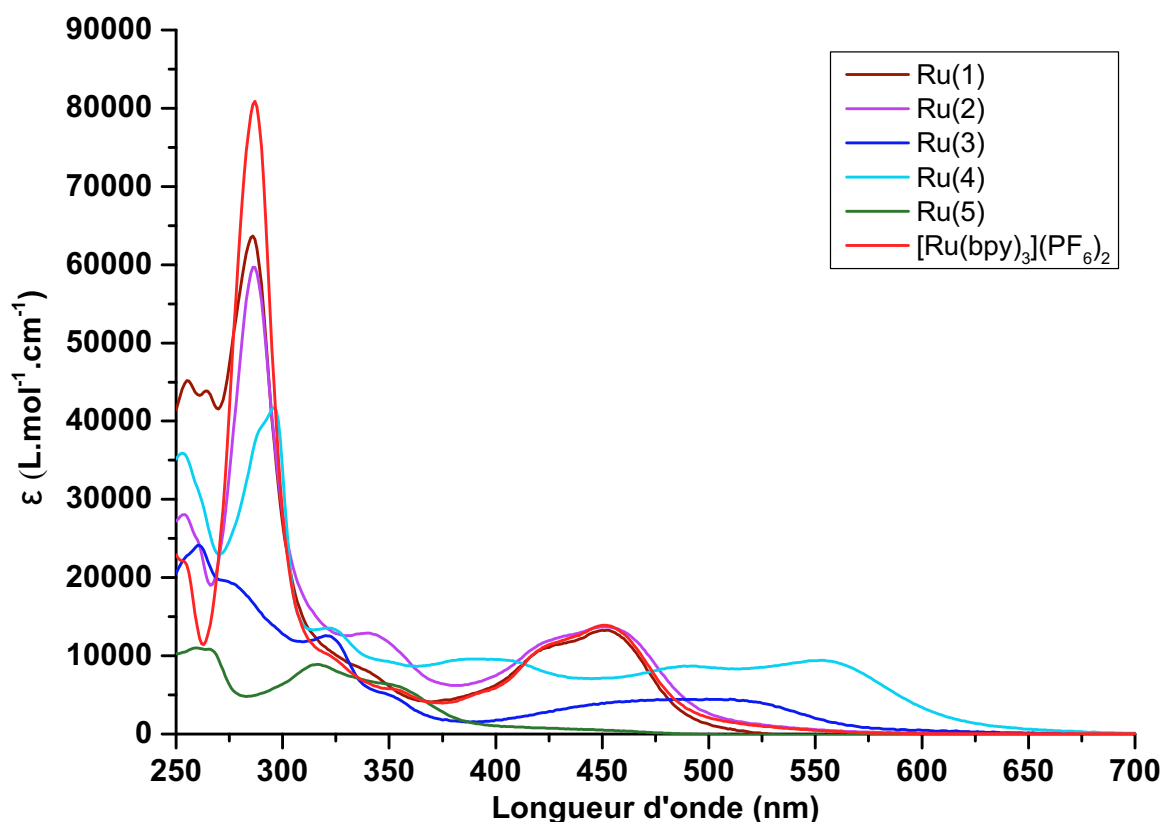
Préalablement à leur utilisation dans le cadre de tests biologiques, la stabilité des complexes métalliques synthétisés doit être évaluée dans un milieu reproduisant les conditions biologiques. La technique de choix pour mener une telle étude consiste à suivre l'évolution des spectres optiques dans le temps par spectroscopie d'absorption UV-visible. Avant cette étude, les propriétés d'absorption UV-visible des composés dans les solvants organiques ont tout d'abord été évaluées et étudiées. La superposition des spectres de **Ti(1)** et **Ti(2)** dans le dichlorométhane est donnée Figure 77. Les spectres sont similaires à ceux décrits pour les complexes analogues décrits dans le chapitre II<sup>[273]</sup>. Les bandes observées dans le visible sont attribuées à des transferts de charge de type LMCT d'électrons localisés au niveau des atomes d'oxygène vers des niveaux d du métal.



**Figure 77** : Superposition des spectres d'absorption UV-visible des complexes **Ti(1)** (bleu) et **Ti(2)** (rouge). L'absorption UV-visible a été mesurée dans le dichlorométhane à des concentrations de  $c = 13 \mu\text{M}$  pour **Ti(1)** et **Ti(2)**.

Les spectres d'absorption UV-visible dans l'acétonitrile des complexes de ruthénium **Ru(1-5)** sont donnés Figure 77. Les complexes **Ru(1)** et **Ru(2)** montrent un profil d'absorption similaire au composé analogue **[Ru(bpy)<sub>3</sub>](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>**. Une bande d'absorption dont le maximum d'absorption est situé à  $\lambda_{\text{max}} = 452 \text{ nm}$  et  $\lambda_{\text{max}} = 451 \text{ nm}$  pour **Ru(1)** et **Ru(2)** respectivement, correspond au transfert de charge du métal vers les ligands 2,2'-bipyridine<sup>[356,357]</sup>. Il est donc peu surprenant que malgré la variation des ligands entre **Ru(1)** et **Ru(2)**, le profil et la position de la bande restent inchangées. La bande intense située à  $\lambda_{\text{max}} = 286 \text{ nm}$  et  $\lambda_{\text{max}} = 287 \text{ nm}$  pour **Ru(1)** et **Ru(2)** respectivement correspond à la transition  $\pi\pi^*$  centrée sur les ligands bipyridine (LC). Il est intéressant de noter que cette bande est moins intense dans le cas des complexes **Ru(1-2)** incorporant deux ligands bipyridine, par rapport à **[Ru(bpy)<sub>3</sub>](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>** qui en incorpore trois. Le profil des spectres d'absorption UV-visible des complexes cycloruthénés tels que les complexes **Ru(3)** et **Ru(4)** est similaire à ceux de la littérature pour des complexes analogues<sup>[295]</sup>. Bien que les intensités d'absorption soient très différentes, un profil similaire est observé. Plusieurs bandes d'absorption distinctes sont observées sur le spectre de **Ru(4)**. La bande présente entre 470 et 600

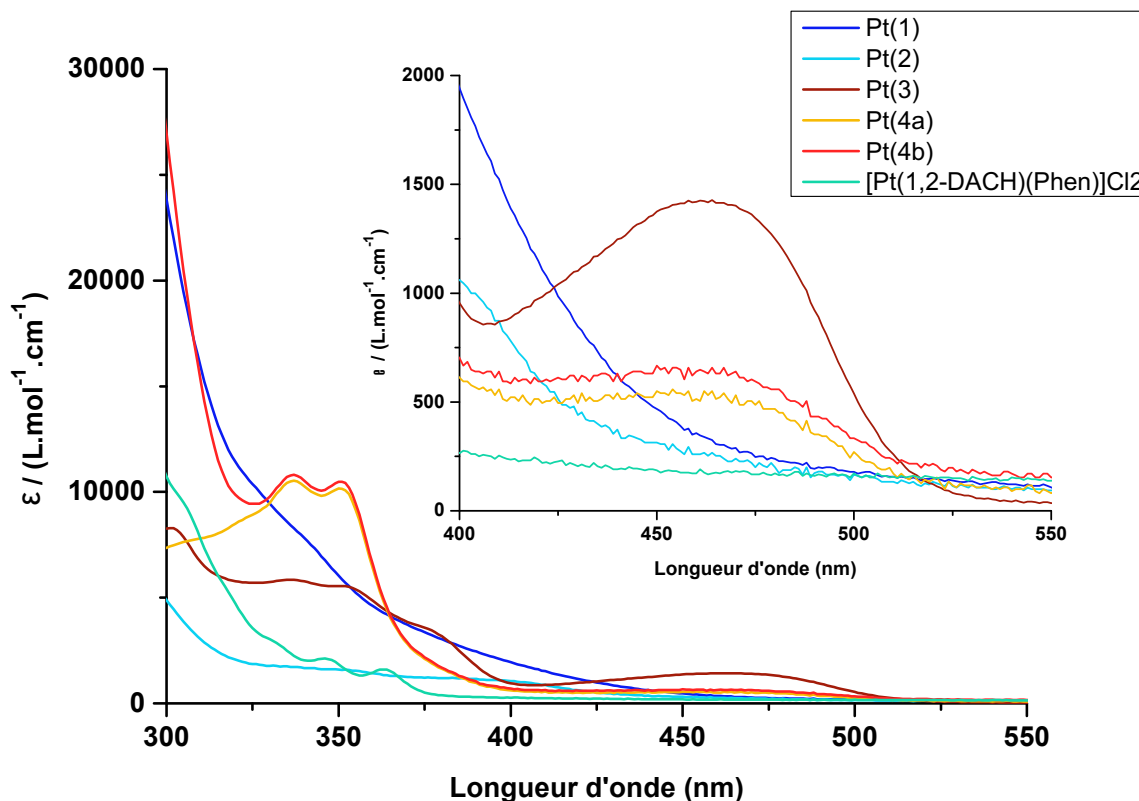
nm correspond au transfert de charge du métal vers les ligands diimine. La deuxième bande visible entre 350 et 450 nm est attribuée au transfert de charge du métal vers le ligand effectuant la liaison C-Ru.



**Figure 78** : Superposition des spectres d'absorption UV-visible des complexes de ruthénium(II). L'absorption UV-visible a été mesurée dans l'acétonitrile à des concentrations de  $c = 6 \mu\text{M}$  pour **Ru(1)**,  $c = 8 \mu\text{M}$  pour **Ru(2)**,  $c = 6 \mu\text{M}$  pour **Ru(3)**,  $c = 13 \mu\text{M}$  pour **Ru(4)** et  $c = 14 \mu\text{M}$  pour **Ru(5)**.

Une bande d'intensité plus élevée observée à  $\lambda_{\text{max}} = 296 \text{ nm}$  est attribuée à la transition  $\pi\pi^*$  LC du ligand bipyridine. Ce même type de bande est observé pour **[Ru(bpy)<sub>3</sub>](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>** confirmant cette attribution. Les différentes bandes d'absorption larges retrouvées pour **Ru(4)** dans le visible ne permettent pas une attribution exacte des transitions. Concernant le complexe **Ru(3)**, en comparaison avec **Ru(4)**, l'absence des ligands phénylpyridine ainsi que bipyridine est remarquée par la disparition de la bande d'absorption correspondant à la transition LC de la bipyridine entre 250 et 300 nm, ainsi qu'à la baisse d'intensité drastique de la bande d'absorption observée entre 400 et 550 nm. Même s'il est difficile d'attribuer cette bande avec précision, il est envisageable de penser qu'il s'agisse de la transition MLCT vers le ligand **57**.

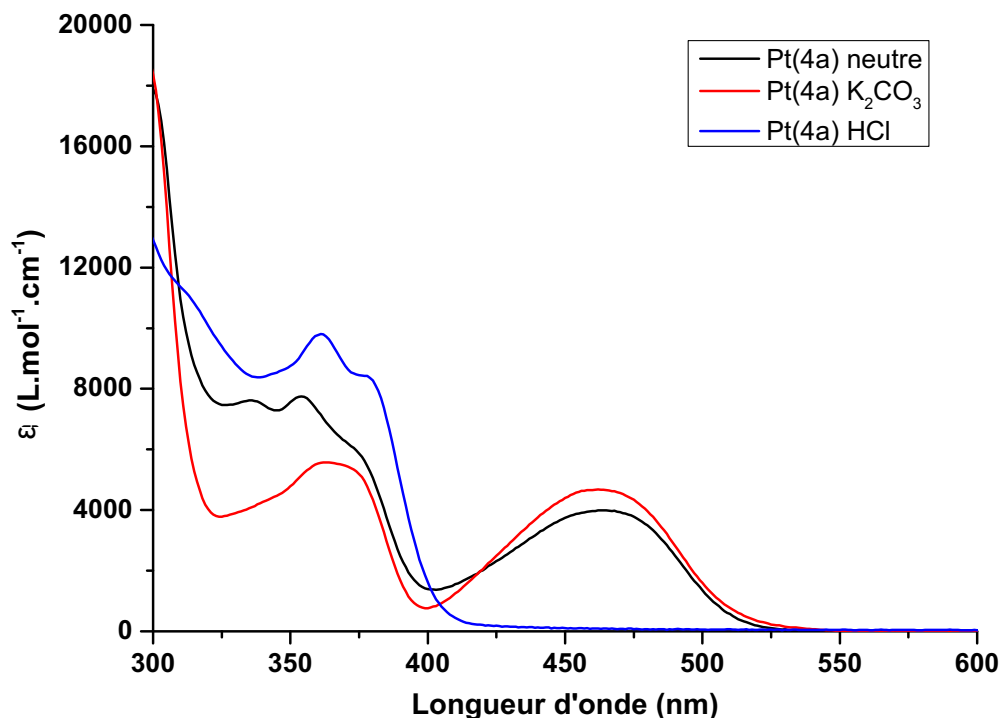
Enfin, les complexes de platine(II) ont aussi été caractérisés par spectroscopie d'absorption UV-visible. Les spectres des complexes dans le DMSO sont donnés Figure 78.



**Figure 79** : Superposition des spectres d'absorption UV-visible des complexes de platine(II). Un agrandissement de la gamme de longueurs d'onde située entre 400 et 550 nm est ajouté par souci de clarté. L'absorption UV-visible a été mesurée dans le DMSO à des concentrations de  $c = 3 \mu\text{M}$  pour **Pt(1)**,  $c = 15 \mu\text{M}$  pour **Pt(2)**,  $c = 4 \mu\text{M}$  pour **Pt(3)** et  $c = 11 \mu\text{M}$  pour **Pt(4a-b)**.

Conformément à la description des spectres d'absorption UV-visible des complexes de platine(II) incorporant des ligands polypyridyles faite dans la littérature<sup>[358]</sup>, les bandes d'absorption dans l'UV présentes entre 300 et 400 nm sont attribuées à des transitions  $\pi\pi^*$  centrées sur le ligand **57**. Dans le cas de **Pt(3)** et **Pt(4a-b)**, une bande d'absorption de faible intensité située entre 400 et 500 nm est observée. Il est intéressant de souligner que ces transitions sont uniquement présentes sur les spectres d'absorption des complexes incorporant des ligands diamine encombrés. Nous avons formulé l'hypothèse que cette bande d'absorption dans le visible soit en relation avec l'acidité du proton amide des complexes de platine. Afin de prouver cette hypothèse, les spectres d'absorption UV-visible du complexe **Pt(4a)** ont été enregistrés dans des conditions acide et basique (Figure 80). Lorsque 100 équivalents de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  sont ajoutés, on observe une légère augmentation de l'intensité de la bande visible. Toutefois, c'est avec l'ajout d'une faible quantité d'acide chlorhydrique à 3M que le résultat est le plus spectaculaire. En effet, la bande d'absorption disparaît complètement après ajout d'acide. Néanmoins la bande entre 350 et 400 nm est

toujours présente indiquant que le complexe ne s'est pas dégradé après l'ajout d'acide. Ce résultat prouve donc la dépendance du profil du spectre d'absorption UV-Visible de l'état de protonation du ligand **57**.



**Figure 80** : Spectres d'absorption UV-visible du complexe **Pt(4a)** en milieu neutre (noir), après ajout de base (rouge), et après ajout d'acide (bleu).

#### b. Évaluation de la stabilité des complexes par spectroscopie UV-visible dans des conditions biologiques

Les spectres d'absorption UV-visible des complexes ont été mesurés en milieu aqueux dans une solution de tampon phosphate salin (PBS). Il s'agit de ce milieu qui sera utilisé dans le cadre des futures études biologiques. Pour cela, les complexes dissouts dans le DMSO ( $c = 50 \text{ mM}$ ) sont dilués dans une solution de PBS classique (concentration en sels donnée dans la partie expérimentale) pour atteindre une concentration de  $c = 50 \text{ }\mu\text{M}$ . L'enregistrement d'un spectre toutes les heures pendant 24h a été réalisé. Une légère augmentation de l'intensité de tous les spectres en fonction du temps est observée, due à l'évaporation du milieu.

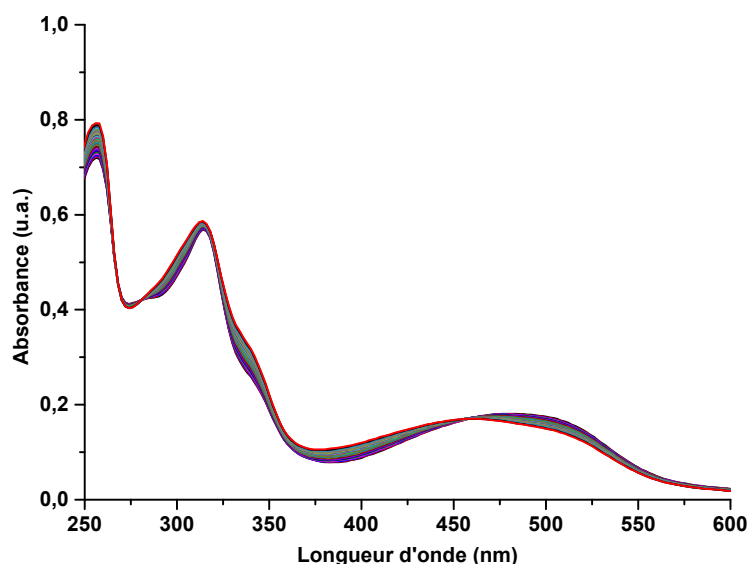


Figure 81 : Cinétique de stabilité du complexe Ru(3)

Dans l'ensemble, la cinétique montre que les complexes sont stables en milieu biologique. La seule exception est **Ru(3)** (Figure 81). En effet, on observe un déplacement hypsochrome de la bande d'absorption dans le visible en fonction du temps avec la présence d'un point isobestique à  $\lambda = 455$  nm. Ce résultat n'est pas surprenant, puisque l'instabilité de ce type de complexes incorporant deux ligands acétonitrile a déjà été démontrée précédemment<sup>[318]</sup>. Pour essayer d'identifier l'espèce formée lors de la cinétique, plusieurs expériences ont été réalisées. Tout d'abord, l'oxydation du composé en présence d'air a été évaluée. Pour cela, des spectres d'absorption UV-visible sous atmosphère inerte ont été mesurés à  $t = 0$  et  $t = 24$ h. Un décalage vers le bleu de l'absorbance a été à nouveau observé, montrant que l'oxydation de **Ru(3)** en présence de dioxygène n'est pas la cause de cette transformation. Le produit de transformation dans le milieu tamponné a été analysé par HPLC-MS. Trois signaux principaux ont été observés par HPLC. Les masses trouvées après analyse de chaque signal sont récapitulées Figure 82, b). Les espèces présentes dans le signal possédant un temps de rétention de 3.16 min sont le complexe **Ru(3)** ainsi que le complexe sans les ligands acétonitrile soulignant la labilité des ligands acétonitrile dans les conditions d'HPLC-MS. Le pic du complexe **Ru(3)** est retrouvé dans le signal avec un temps de rétention égal à 4.15 min. Enfin, à 3.87 min, un pic dont le rapport  $m/z$  correspondant au complexe dont un ligand acétonitrile aurait été substitué par une molécule de DMSO. Il est donc possible que les ligands acétonitrile soient substitués par des molécules de DMSO dans la solution mère de

complexe dans ce solvant. Encore une fois, cela accentue l'hypothèse que la transformation provient de la substitution des ligands acétonitrile.

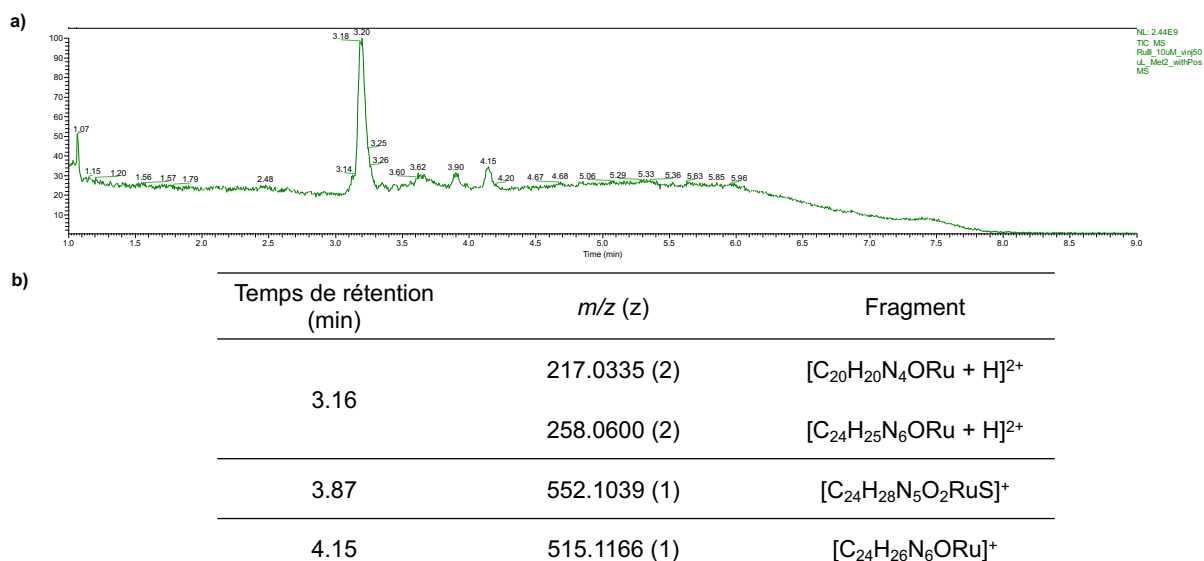


Figure 82 : a) Chromatogramme HPLC de l'analyse de **Ru(3)** après 24 h dans le PBS. Les pics correspondent aux maxima d'absorbance entre 220 et 260 nm. b) Récapitulatif de l'analyse HPL-MS réalisée à partir d'une solution de **Ru(3)** dans le PBS après 24h.

Pour valider cette hypothèse, la substitution des ligands acétonitrile a été évaluée par spectroscopie RMN  $^1H$  en ajoutant 50  $\mu L$  de  $D_2O$  à une solution de **Ru(3)** dans dichlorométhane- $d_2$  (Figure 83).

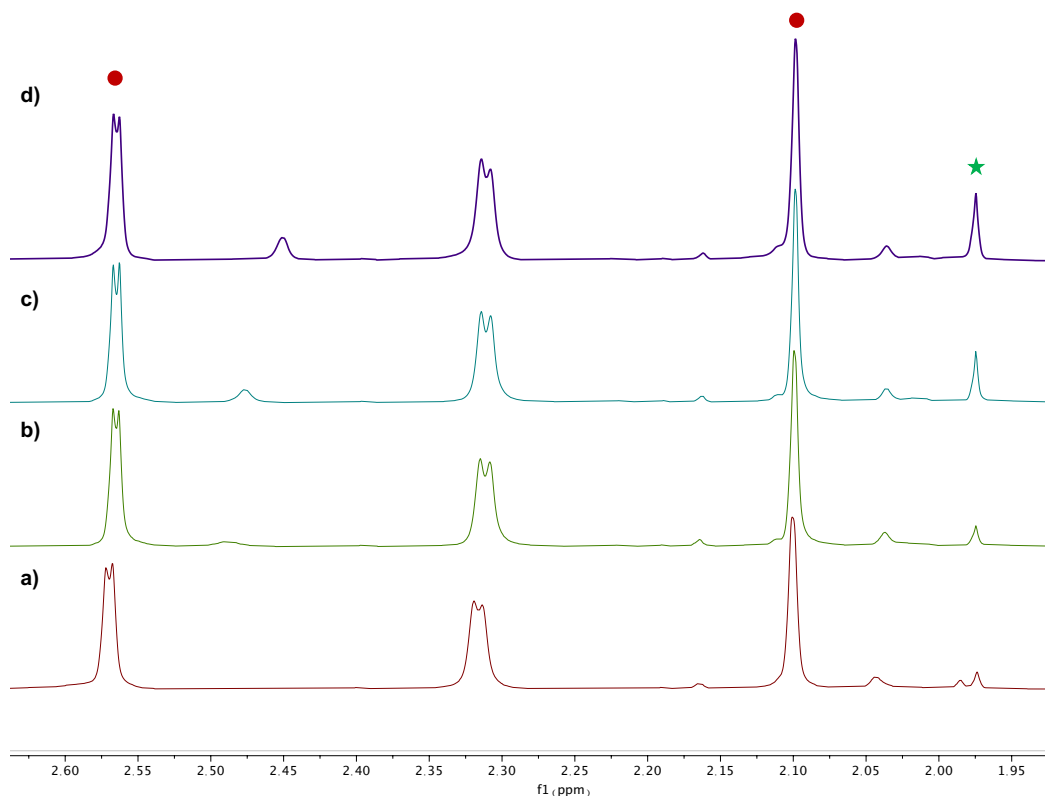


Figure 83 : Signaux RMN  $^1H$   $CH_3$  de l'acétonitrile du complexe **Ru(3)** (sphères rouges) et décoordiné (étoile verte) a) avant ajout de  $D_2O$  b) juste après ajout de  $D_2O$  c) 24 h après ajout de  $D_2O$  d) 48 h après ajout de  $D_2O$ .



La superposition des spectres montre une augmentation de l'intensité du signal correspondant à l'acétonitrile libre en fonction du temps, indiquant une décoordination des deux ligands monodentate du complexe **Ru(3)**. Dans l'ensemble, les analyses effectuées confirment que la décoordination des ligands acétonitrile est bien à l'origine de la dégradation de **Ru(3)** en milieu aqueux.

### c. Conclusion

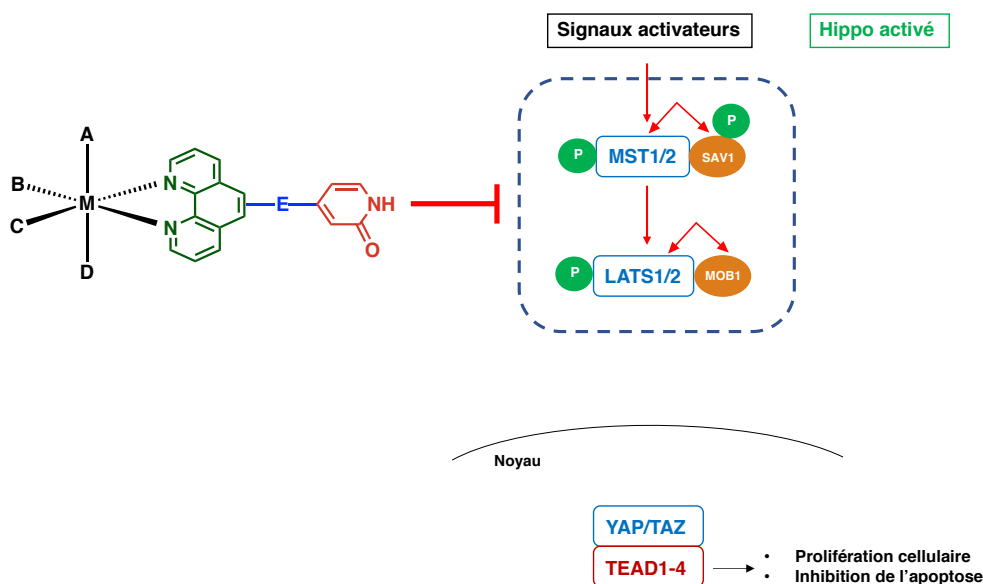
Une série de cinq 1,10-phénanthrolines **50-54** incorporant un groupement pyridinone en position 5 et/ou 6, séparés par différents espaceurs, ainsi qu'une 2,2-bipyridine fusionnée par une fonction amide **57** ont été synthétisées. A partir de ces ligands, des complexes de titane(IV) octaédriques, de ruthénium(II) octaédriques et pseudo-tétraédriques ainsi que des complexes platine(II) carrés plans originaux ont été développés. Dans une prochaine étape, cette diversité de structures sera exploitée pour évaluer les capacités de ces complexes de Ti(IV), Ru(II) et Pt(II) comme inhibiteur de kinase de la voie Hippo.

# Chapitre IV : Évaluation de l'activité cytotoxique et inhibitrice de la phosphorylation de YAP des ligands et complexes synthétisés

## I. Évaluation de la cytotoxicité

### a. Introduction

La suite de ce travail de thèse a consisté à caractériser les propriétés inhibitrices de la phosphorylation du co-activateur transcriptionnel YAP des molécules décrites dans le chapitre III. Dans ce cadre-là, l'utilisation de composés non cytotoxiques ou non antiprolifératifs est nécessaire afin de pouvoir attribuer la variation de la phosphorylation de YAP à l'interaction des composés avec les protéines impliquées dans sa régulation. En effet, comme présenté Figure 84, l'inhibition des protéine kinases de la voie Hippo a comme conséquence de promouvoir la prolifération cellulaire par hausse de l'activité de YAP.

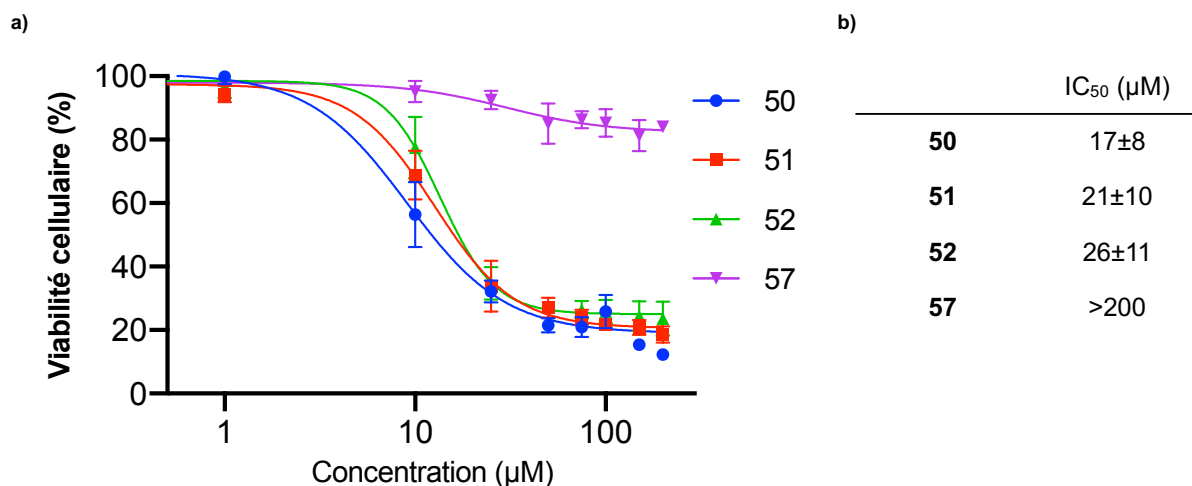


**Figure 84** : L'inhibition des kinases de la voie Hippo permet de réguler négativement la phosphorylation de YAP. YAP non phosphorylé maintient son activité de co-activateur transcriptionnel permettant l'expression de gènes responsables de la prolifération cellulaire et l'inhibition de l'apoptose (E = espaceur ; M = Ti, Ru, Pt ; A,B,C,D = ligands monodentate ou bidentate).

C'est pour cette raison que l'activité antiproliférative des ligands et des complexes synthétisés dans le cadre de ce travail a été évaluée en amont des tests d'inhibition de la phosphorylation de YAP.

## b. Évaluation de l'activité antiproliférative des ligands 1,10-phénanthroline

Dans un premier temps, la cytotoxicité des ligands phénanthroline synthétisés dans le cadre de cette thèse a été évaluée. Pour cela, les composés ont été incubés avec des cellules d'adénocarcinome gastrique AGS dans des plaques 96 puits pendant 48 h. La proportion relative de cellules viables a ensuite été quantifiée par test au sel de tétrazolium MTT.



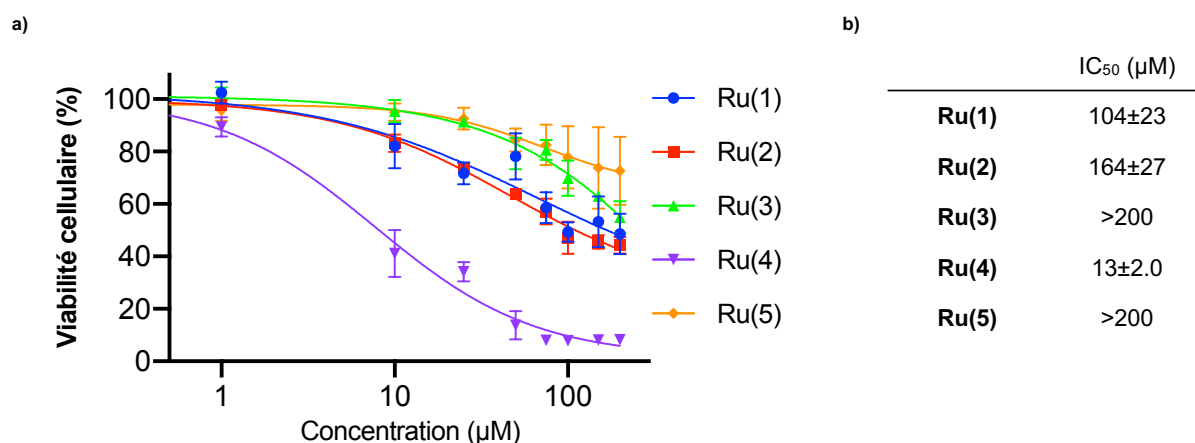
**Figure 85** : a) Courbe de viabilité cellulaire des ligands **50**, **51**, **52** et **57**. Les courbes représentent la moyenne  $\pm$  l'erreur type calculée à partir de trois expériences indépendantes. b) Tableau récapitulatif des IC<sub>50</sub>  $\pm$  l'écart type calculé à partir de trois expériences indépendantes.

Les courbes de viabilité cellulaire ainsi qu'un tableau récapitulatif des IC<sub>50</sub> sont donnés Figure 85. Seuls les ligands **50**, **51**, **52** et **57** ont été utilisés pour ces tests de viabilité. La concentration maximale des solutions mères des ligands **53** et **54** dans le DMSO pouvant être atteinte s'est révélée trop faible pour obtenir des résultats indépendants de la toxicité du DMSO aux concentrations voulues. Parmi les quatre ligands testés, seul **57** s'est révélé être non toxique. Les autres composés affichent une toxicité relativement élevée, avec des IC<sub>50</sub> aux alentours de 20 µM. Les trois composés toxiques incorporent un fragment pyridinone séparés du cœur phénanthroline par un espaceur, contrairement à **57**, qui est une bipyridine fusionnée au moyen du groupement amide. Il est possible d'envisager que l'activité des composés **50-52** soit liée à une intercalation entre les brins d'ADN comme pour certains complexes incorporant une phénanthroline<sup>[359]</sup>, ou bien par complexation de certains métaux essentiels à l'activité cellulaire, comme cela a été démontré pour la 1,10-phénanthroline libre<sup>[144]</sup>.

### c. Évaluation de l'activité antiproliférative des complexes métalliques

Dans un second temps, l'activité antiproliférative des complexes métalliques a été évaluée. En raison de la solubilité limitée des complexes de titane(IV) dans le DMSO ou l'eau, leur activité antiproliférative n'a pas pu être déterminée.

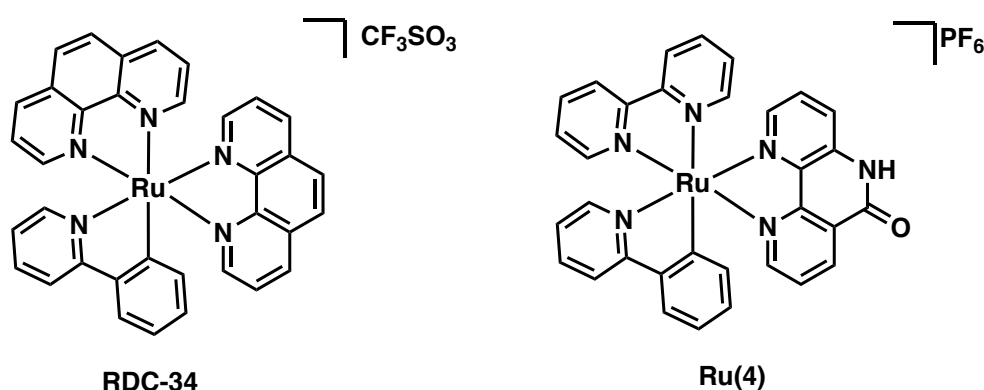
Les courbes de viabilité cellulaire issues des tests MTT ainsi qu'un tableau récapitulatif des  $IC_{50}$  des complexes de ruthénium sont donnés Figure 86. Les complexes **Ru(1)** à **Ru(3)** et **Ru(5)** sont considérés comme non toxiques aux concentrations envisagées pour la suite du travail. Une  $IC_{50}$  supérieur à 100  $\mu\text{M}$  a été calculée pour **Ru(1)** et **Ru(2)**, ce qui est en accord avec les valeurs décrites dans la littérature puisque les études biologiques réalisées sur le composé **62** ( $[\text{Ru}(\text{Phen})(\text{bpy})_2](\text{PF}_6)_2$ ) ont montré que ce composé est inactif lorsqu'il n'est pas exposé à la lumière<sup>[360]</sup>.



**Figure 86** : Courbes de viabilité cellulaire des complexes de ruthénium. Les courbes représentent la moyenne  $\pm$  l'erreur type calculée à partir de trois expériences indépendantes. b) Tableau récapitulatif des  $IC_{50} \pm$  l'écart type calculé à partir de trois expériences indépendantes.

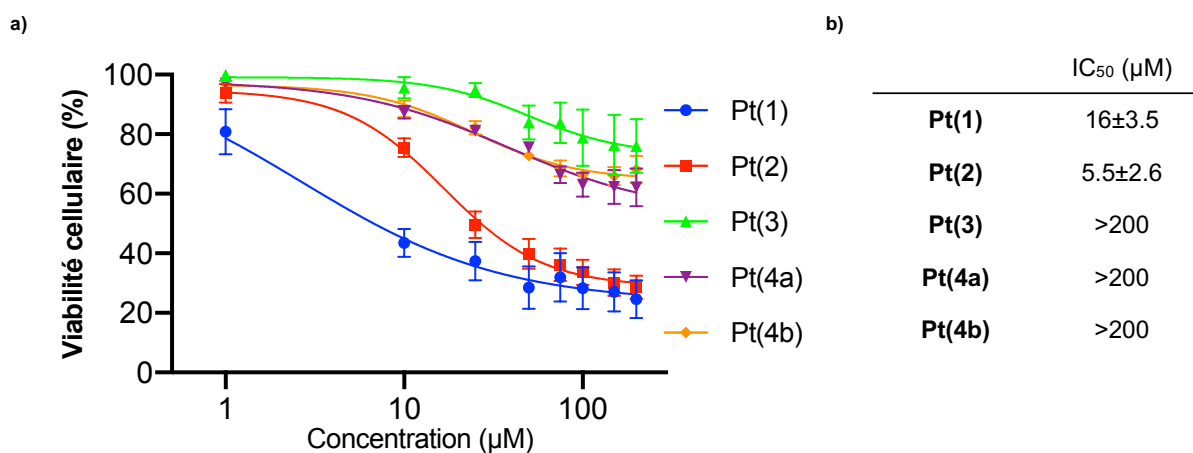
Concernant le complexe **Ru(5)**, les résultats obtenus ne concordent pas avec ceux obtenus dans la littérature pour le complexe analogue  $[\text{Ru}(\text{benzene})(\text{Phen})\text{Cl}](\text{PF}_6)$ <sup>[361]</sup>. En effet, Ganeshpandian et coll. ont déterminé une  $IC_{50}$  de  $16.0 \pm 0.9 \mu\text{M}$  après 48 h d'incubation du composé avec des cellules de cancer cervical SiHa. L'étude montre que ce composé est capable de créer des dommages à l'ADN à la suite d'interactions  $\pi$  hydrophobes entre les bases nucléiques et le ligand 1,10-phénanthroline. La présence du ligand **57** au sein de **Ru(5)** est probablement à l'origine de la différence d'activité. Seul le complexe **Ru(4)** s'avère toxique, avec une  $IC_{50}$  de  $13 \pm 2.0 \mu\text{M}$ . Ce résultat est en opposition avec celui obtenu pour l'autre composé cyclométallé **Ru(3)** qui est non toxique ( $IC_{50} > 200 \mu\text{M}$ ). Les études

biologiques réalisées sur les analogues de ces composés cyclométallés dans la littérature ont démontré que la toxicité était liée aux propriétés d'oxydo-réduction des complexes<sup>[296]</sup>. En effet, ces complexes sont connus pour réaliser un transfert d'électrons vers des protéines à activité oxydo-réductrice<sup>[317]</sup>. Le composé **RDC-34** proche de **Ru(4)**, intègre un ligand 2-phénylpyridine ainsi que deux ligands 1,10-phénanthroline dans sa sphère de coordination (Figure 87). Ce composé a montré une activité élevée contre des cellules de cancer du colon HCT116 ( $IC_{50} = 0.1 \pm 0.05 \mu M$ )<sup>[362]</sup>. Il n'est donc pas surprenant de retrouver un comportement similaire pour le complexe **Ru(4)**.



**Figure 87** : Comparaison structurale entre les complexes cycloruthénés **RDC-34** et **Ru(4)**.

De la même manière que pour les ligands et les complexes de ruthénium, l'activité antiproliférative des complexes de platine(II) **Pt(1-3)** et **Pt(4a-b)** a été évaluée par tests MTT. Les courbes de viabilité cellulaire ainsi qu'un tableau récapitulatif des  $IC_{50}$  des complexes sont donnés Figure 88. Les complexes **Pt(3)** et **Pt(4a-b)** sont considérés comme non toxiques avec un  $IC_{50}$  supérieur à  $200 \mu M$ . Seuls les complexes **Pt(1)** et **Pt(2)** montrent une activité antiproliférative, avec une  $IC_{50}$  de  $16 \pm 3.5$  et  $5.5 \pm 2.6 \mu M$  respectivement. L'activité des complexes **Pt(1)** et **Pt(2)** est peu surprenante. En effet, les propriétés anticancéreuses des complexes de platine(II) incorporant une phénanthroline ainsi qu'un ligand 1,2-diaminocyclohexane a déjà été décrite par Fisher et coll.<sup>[363]</sup>. Des  $IC_{50}$  de l'ordre de la centaine de nanomolaire ont été obtenues lors de l'évaluation de la cytotoxicité de ces composés sur de nombreuses lignées cellulaires. L'activité cytotoxique a été reliée à la capacité de ces composés de structure plane à s'intercaler entre les brins d'ADN, provoquant des dommages irréversibles comme cela a été démontré pour les analogues **68-70** contenant une 1,10-phénanthroline présentés lors du chapitre III.



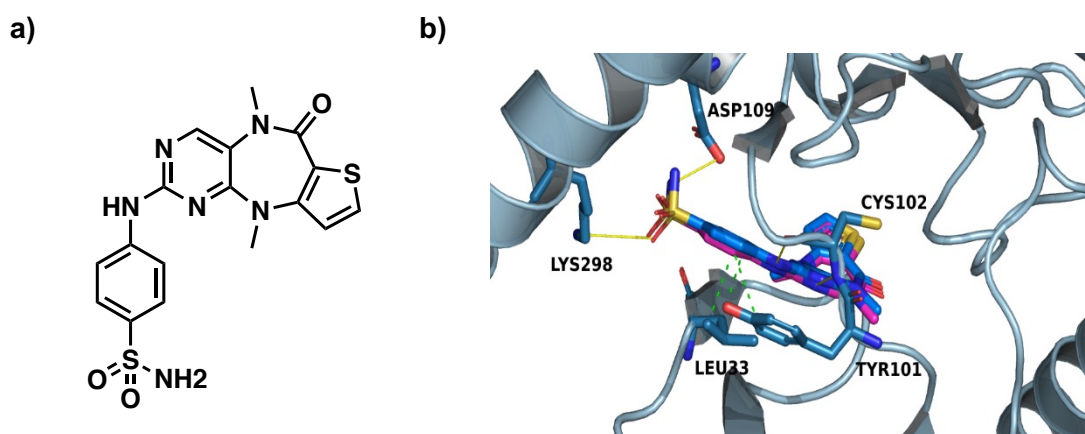
**Figure 88** : Courbes de viabilité cellulaire obtenues pour les complexes de platine. Les courbes représentent la moyenne  $\pm$  l'erreur type calculée à partir de trois expériences indépendantes. b) Tableau récapitulatif des IC<sub>50</sub>  $\pm$  l'écart type calculé à partir de trois expériences indépendantes.

De manière similaire aux analogues de **Pt(1-2)**, la cytotoxicité des complexes de platine(II) **Pt(3)** et **Pt(4a-b)** incorporant des dérivés de 1,10-phénanthroline et des ligands 1,4-diaminocyclohexane<sup>[355]</sup> (1,4-DACH) ainsi que 1,2-diphényléthylènediamine<sup>[364]</sup> (1,2-DPED) a été évaluée. Dans l'ensemble, il a été montré que l'activité antiproliférative des complexes incorporant des ligands volumineux était bien inférieure à celle des analogues plans **Pt(1)** et **Pt(2)**, permettant d'établir un lien entre planarité et activité antiproliférative. En comparaison avec la littérature, les complexes **Pt(1-2)** sont environ cent fois moins cytotoxiques. Ces résultats, au même titre que ceux obtenus avec les complexes de ruthénium(II) peuvent être expliqués par une lipophilicité moindre par rapport aux espèces analogues **68-70** contenant un ligand 1,10-phénanthroline décrits dans la littérature. En effet, les ligands **52** et **57** sont plus polaires que la 1,10-phénanthroline, en raison de la présence des motifs O=C-N-H inscrits au sein des ligands diimine. Le passage des complexes par la membrane cellulaire est impératif pour induire une cytotoxicité des composés cités, la lipophilicité est donc un critère important.

## II. Sélection des composés cibles pour l'inhibition de protéine kinases par étude de docking

Afin de sélectionner les composés les plus prometteurs pour l'étude d'inhibition de protéine kinases, l'affinité des complexes non cytotoxiques pour le site de fixation de la protéine kinase MST2 a été calculée. Cette protéine kinase a été choisie car sa

structure était disponible sur la Protein Databank, au contraire de celles de LATS1/2. Cette modélisation a été faite par Katia Galentino du groupe du Dr M. Cecchini (UMR 71777, CNRS-Faculté de Chimie, Strasbourg). Le choix de cette protéine pour les études de docking (ou amarrage moléculaire) s'appuie sur le rôle central que joue la protéine kinase MST2 dans la voie Hippo. En effet, comme cela a été montré Figure 84, MST1/2 activent les protéine kinases LATS1/2, qui à leur tour modulent l'activité de YAP par phosphorylation. Pour la modélisation, une structure de l'inhibiteur XMU-MP-1 synthétisé par Fan et coll.<sup>[365]</sup> (Figure 89, a)) cocrystallisé dans le site actif de la protéine MST2 a été choisie depuis la Protein Databank (PDB code : 5DH3). Les expériences de docking ont toutes été réalisées en utilisant le programme PLANTS en combinaison avec la fonction de scoring CHEMPLP, incluant les contributions énergétiques des liaisons hydrogène, la complémentarité structurale protéine-ligand, la torsion intra-ligand et les conflits stériques.



**Figure 89** : a) Structure de l'inhibiteur de MST2 XMU-MP1. b) Re-docking de l'inhibiteur de MST2 XMU-MP-1 dans la protéine kinase MST2 (Code PDB : 5DH3). Le ligand co-cristallisé est en bleu et la molécule re-dockée est en magenta. Les contacts hydrophobes sont indiqués par des pointillés verts et les liaisons hydrogène par des pointillés jaunes. Le score de docking de ce mode de liaison est de -76.72. Dans ce mode de liaison, le ligand établie les mêmes liaisons hydrogène (avec CYS102, LYS298 et ASP109) ainsi que les mêmes contacts hydrophobes (avec LEU23 et TYR 101) que la référence dans la structure cristalline.

La validation du protocole de simulation a été réalisée par re-docking des ligands cocrystallisés dans la structure de MST2 puis comparaison avec la structure cristalline (Figure 89, b)). Une valeur de la moyenne quadratique de déviation des positions atomiques (RMSD) de 0.5 Å a été prédite par PLANTS. Le composé re-docké se superpose donc parfaitement avec la structure cristalline originale du composé dans la protéine MST2.

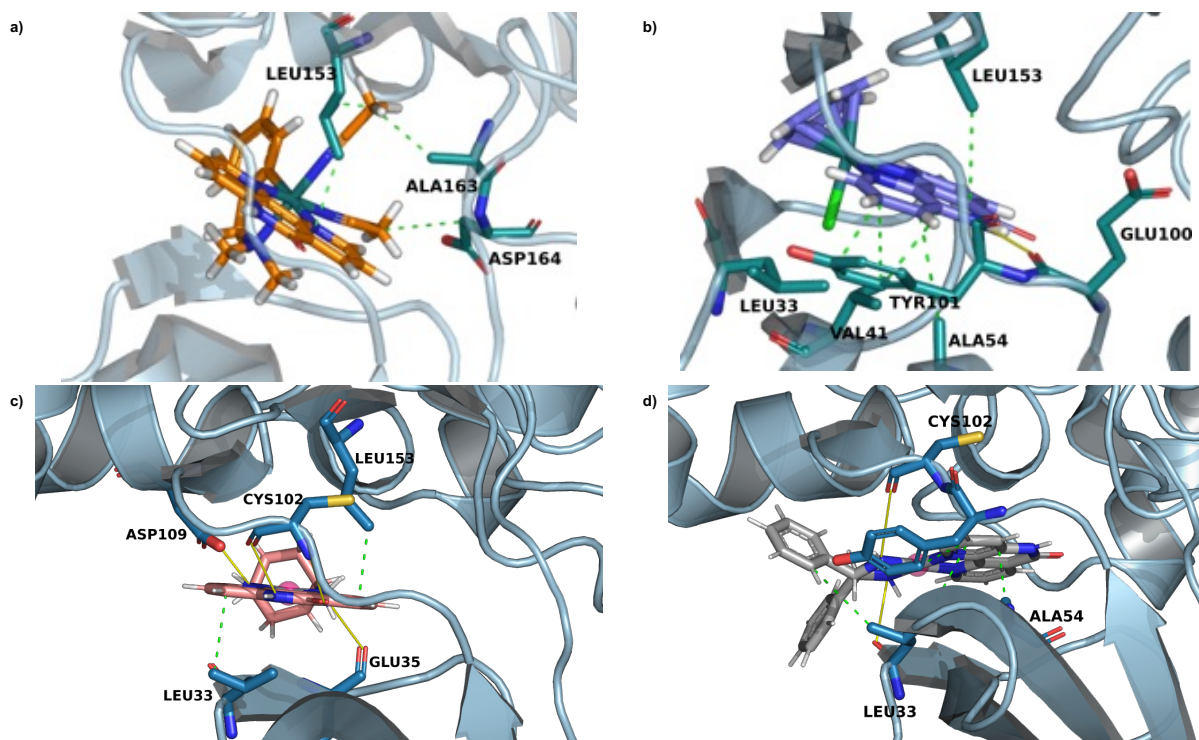
**Tableau 13** : Scores de docking des complexes métalliques non cytotoxiques dockés dans la protéine kinase MST2.

Ligand	Score de docking MST2
<b>Ti(1)</b>	600.1
<b>Ti(2)</b>	285.9
<b>Ru(1)</b>	74
<b>Ru(2)</b>	73.2
<b>Ru(3)</b>	13.7
<b>Ru(5)</b>	-74.6
<b>Pt(3)</b>	-67.5
<b>Pt(4a)</b>	-68.6
<b>XMU-MP-1</b>	-76.7

Le docking des complexes de titane, ruthénium, et platine non cytotoxiques a permis d'identifier quatre composés présentant les meilleurs scores de docking: **Ru(3)**, **Ru(5)**, **Pt(3)** et **Pt(4a)** (Tableau 13). Leurs positions préférentielles sont représentées Figure 90 tandis que celles des autres complexes sont représentées en annexe. Les structures des composés dockés dans MST2 montrent que les complexes interagissent de manière différente avec la protéine. Un score positif a été obtenu pour **Ru(3)**, reflétant les conflits stériques présents entre les ligands acétonitrile et la protéine. De plus, le ligand **57** n'interagit pas avec la charnière par liaisons hydrogène. Toutefois, il a été montré dans le chapitre III que ces ligands sont labiles et qu'ils ont probablement été substitués par des ligands de taille plus faible en milieu biologique, il a par conséquent été décidé de l'utiliser pour les études d'inhibition de la phosphorylation de YAP. **Ru(5)** est impliqué dans une liaison hydrogène avec le résidu GLU100 de la charnière par le biais du ligand **57** et s'insère parfaitement dans la poche de fixation de l'ATP de la protéine. Cette caractéristique est encourageante quant à l'utilisation potentielle de ce complexe comme inhibiteur de MST2 compétitif de l'ATP. Concernant les complexes de platine, **Pt(3)** est aussi capable de se lier par liaisons hydrogène avec la charnière de la protéine à travers le ligand **57**. De plus, des liaisons hydrogène inattendues sont aussi observées, impliquant les hydrogène NH<sub>2</sub> du ligand 1,4-DACH : la première avec le résidu ASP109 d'une hélice  $\alpha$ , la seconde avec le résidu GLU35 d'un feuillet  $\beta$ . Le complexe **Pt(4a)**, plus volumineux que **Pt(3)** en raison des groupements phényles du ligand DPED, n'établit pas de liaisons hydrogène avec



la charnière. En effet, l'orientation du ligand **57** pour le complexe **Pt(4a)** est opposée à celle de la charnière de la protéine kinase MST2.



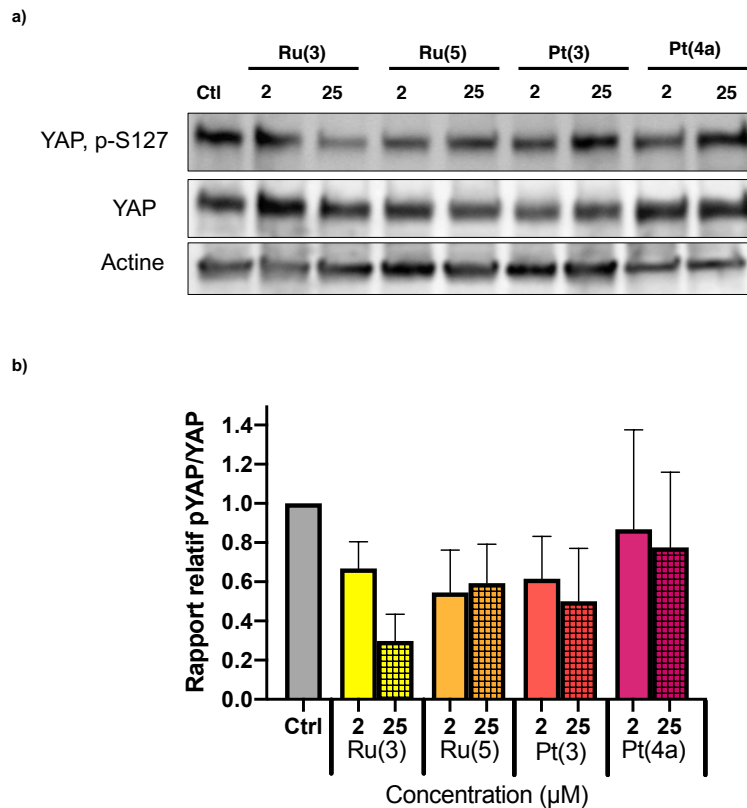
**Figure 90** : Positions de docking préférentielles des complexes a) **Ru(3)**, b) **Ru(5)**, c) **Pt(3)** et d) **Pt(4a)** dans la protéine kinase MST2. Les interactions hydrophobes sont représentées par des pointillés verts, tandis que les liaisons hydrogène sont représentées par des pointillés jaunes.

### III. Évaluation de l'activité inhibitrice de protéine kinases des composés **Ru(3)**, **Ru(5)**, **Pt(3)** et **Pt(4a)**

#### d. Quantification de la phosphorylation du co-activateur transcriptionnel YAP

La capacité des complexes **Ru(3)**, **Ru(5)**, **Pt(3)** et **Pt(4a)** sélectionnés par tests MTT et par études de docking à inhiber la phosphorylation de YAP a ensuite été évaluée. Des cellules AGS ont été incubées avec les quatre complexes à des concentrations de 2 et 25  $\mu\text{M}$ . L'analyse par Western Blot de YAP et pYAP phosphorylé sur le résidu S127 après incubation avec les complexes est donnée Figure 91, a). Cette technique permet la séparation par gel d'électrophorèse des protéines YAP et pYAP du reste du contenu cellulaire en fonction de leur masse molaire, puis leur détection sélective par utilisation d'un anticorps primaire spécifique

à ces protéines. Enfin, un anticorps secondaire luminescent interagissant en principe uniquement avec l'anticorps primaire est appliqué et la luminescence de la membrane est mesurée, permettant de déterminer un rapport pYAP/YAP. Ce rapport permet d'observer que les complexes de ruthénium possèdent une activité inhibitrice plus élevée que les complexes de platine (Figure 91, b)).

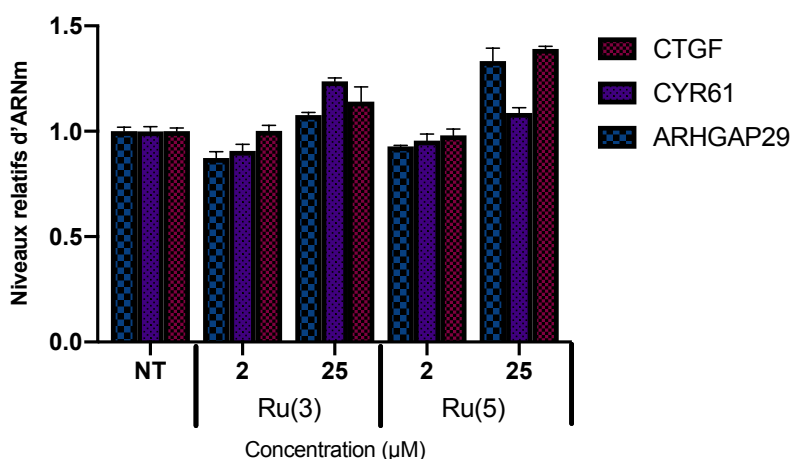


**Figure 91** : a) Quantification par Western Blot du co-activateur transcriptionnel YAP et de la protéine phosphorylée sur le résidu S127. B) Rapports pYAP/YAP obtenus. Moyenne de trois expériences individuelles.

En particulier, le rapport pYAP/YAP est en moyenne cinq fois moins élevé en comparaison avec le contrôle lorsque les cellules sont incubées avec le complexe **Ru(3)**. Ces résultats semblent indiquer que **Ru(3)** inhibe les protéine kinases de la voie Hippo. En effet, il a été montré que le résidu S127 est crucial pour la phosphorylation spécifique de YAP par LATS, protéine kinase de la voie Hippo<sup>[366]</sup>.

Dans un second temps, afin de confirmer l'activité inhibitrice de la phosphorylation de YAP des complexes de ruthénium, l'expression de gènes régulés par l'activité de YAP a été quantifiée par RT-qPCR. Pour cela, des cellules AGS ont été incubées pendant 24h avec les complexes **Ru(3)** et **Ru(5)** aux mêmes concentrations que lors de l'analyse par Western Blot. L'expression relative de CTGF, CYR61 et ARHGAP29 après incubation de cellules AGS avec les complexes **Ru(3)** et **Ru(5)** est donnée Figure 92. Une hausse modérée de l'expression des gènes cibles

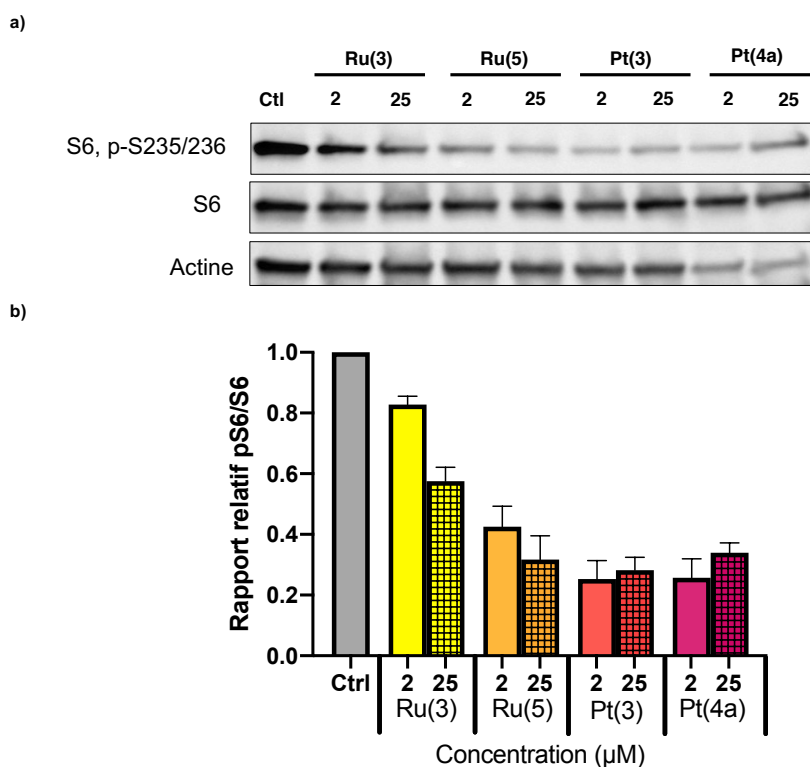
de YAP est observée pour les deux complexes de ruthénium, **Ru(3)** et **Ru(5)** incubés à une concentration de 25  $\mu\text{M}$ . Concernant, **Ru(3)**, ceci est en accord avec les résultats obtenus par Western Blot, puisque la plus forte inhibition de la phosphorylation de YAP survient quand le complexe est incubé avec les cellules AGS à 25  $\mu\text{M}$ . Toutefois, il est important de souligner que les études d'expression des gènes cibles de YAP sont en phase préliminaire et que les résultats obtenus doivent être reproduits pour être validés. Les expériences visant à confirmer ces résultats sont toujours en cours et devront être ajoutés à la version finale du manuscrit.



**Figure 92** : Quantification relative de l'expression des gènes ARHGAP29, CYR61 et CTGF après incubation de cellules AGS pendant 24h avec les complexes de ruthénium.

La sélectivité est un facteur primordial à prendre en compte pour juger de la qualité d'un inhibiteur d'enzyme. Afin d'évaluer une possible sélectivité des complexes **Ru(3)**, **Ru(5)**, **Pt(3)** et **Pt(4a)**, l'analyse par Western Blot de l'inhibition de l'activité d'une seconde protéine kinase a été réalisée. En l'occurrence, il s'agit de la protéine kinase S6K1. La régulation de l'activité de la protéine ribosomale S6 par la protéine kinase S6K1 est impliquée dans le contrôle de la taille de certaines cellules, la synthèse de protéines et la régulation du taux de glucose dans la cellule<sup>[367–369]</sup>. Les études de la voie des signalisation impliquant S6 et ses régulateurs, les protéines S6K, n'ont pas montré de relation directe avec la voie Hippo, par conséquent, une inhibition de la voie Hippo ne devrait pas avoir d'effet sur la quantification de S6 et pS6.

Le résultat des quantifications de la protéine ribosomale S6 et de la protéine phosphorylée pS6 sont donnés Figure 93. Ces résultats diffèrent fortement de ceux obtenus pour la quantification de pYAP/YAP.

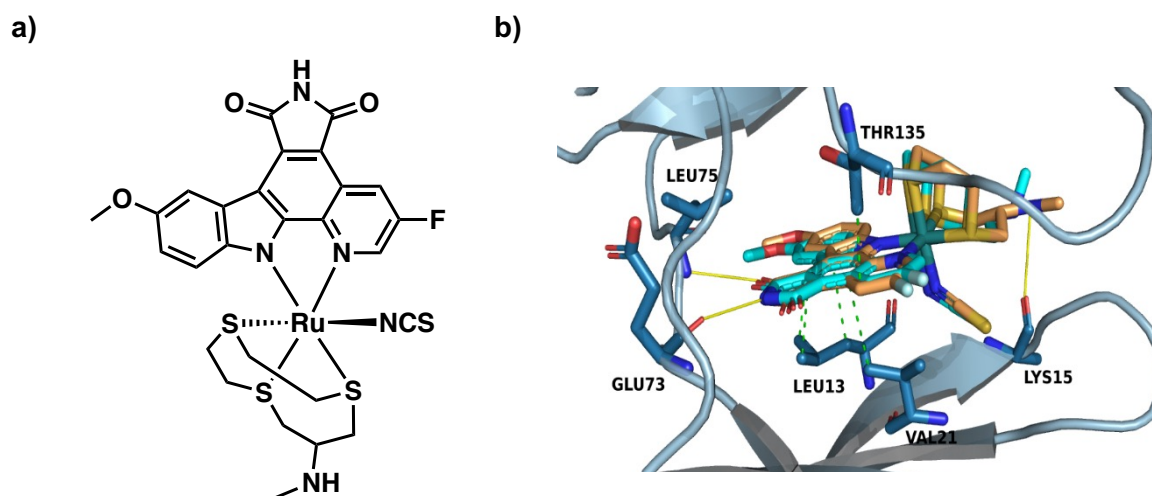


**Figure 93** : a) Quantification par Western Blot de la protéine ribosomale S6 sur les résidus S235 et 236. b) Rapports pS6/S6. Moyenne de trois expériences individuelles.

En effet, l'inhibition significative de la phosphorylation de YAP avec **Ru(3)** à une concentration de 25  $\mu\text{M}$  n'est pas retrouvée lorsque la phosphorylation de S6 est étudiée. Concernant **Ru(5)**, un niveau d'inhibition similaire est retrouvé lorsque l'on compare les expériences effectuées sur YAP et sur S6. La plus forte variation d'activité provient des complexes de platine. En effet, **Pt(3)** et **Pt(4a)** n'inhibent quasiment pas la phosphorylation de YAP, comme en témoignent les rapports pYAP/YAP similaires au contrôle (Figure 91). En revanche, ces mêmes composés inhibent fortement la phosphorylation de S6 puisque des rapports pS6/S6 inférieurs de plus de deux fois celui du contrôle sont observés. Ce résultat démontre globalement une préférence des complexes de ruthénium **Ru(3)** et **Ru(5)** pour l'inhibition des protéine kinases impliquées dans la phosphorylation de YAP, tandis que les complexes de platine **Pt(3)** et **Pt(4a)** semblent être plus actifs pour l'inhibition des protéine kinases impliquées dans la phosphorylation de S6 (majoritairement les kinase S6K).

Afin d'établir une relation structure/activité des complexes testés, nous avons effectué les études de docking des composés **Ru(3)**, **Ru(5)**, **Pt(3)** et **Pt(4a)** dans la protéine kinase S6K1. La structure choisie est celle du complexe FL772 développé par Meggers et coll.<sup>[370]</sup> (Figure 94, a)) cocrystallisé dans la poche de fixation de l'ATP de S6K1 (Code PDB : 4RLP). Le protocole de simulation a été validé par le redocking de

FL772 dans S6K1. Une nouvelle fois, la valeur de RMSD de 0.89 Å prédite par PLANTS indique que la structure redockée se superpose parfaitement avec la structure cristalline originale (Figure 94, b))



**Figure 94** : a) Structure du complexe de ruthénium FL772. b) Redocking de FL772 dans la protéine kinase S6K1 (Code PDB : 4RLP). Le ligand cocristallisé est représenté en cyan, et la molécule redockée en orange. Les contacts hydrophobes sont indiqués par des pointillés verts et les liaisons hydrogène par des pointillés jaunes. Le score de docking de ce mode de liaison est de -97.17. Dans ce mode de liaison, le ligand établit les mêmes liaisons hydrogène (avec LEU75, GLU73 et LYS15) ainsi que les mêmes contacts hydrophobes (avec THR135, LEU13 et VAL21) que la référence dans la structure cristalline.

L'étude de docking basée sur les complexes **Ru(3)**, **Ru(5)**, **Pt(3)** et **Pt(4a)** indique des affinités de liaison différentes entre MST2 et S6K1. Les résultats de docking montrent même que les composés à base de platine **Pt(3)** et **Pt(4a)** préfèrent se lier à S6K1, tandis que le complexe de ruthénium **Ru(5)** possède une plus grande affinité pour MST2 (Tableau 14).

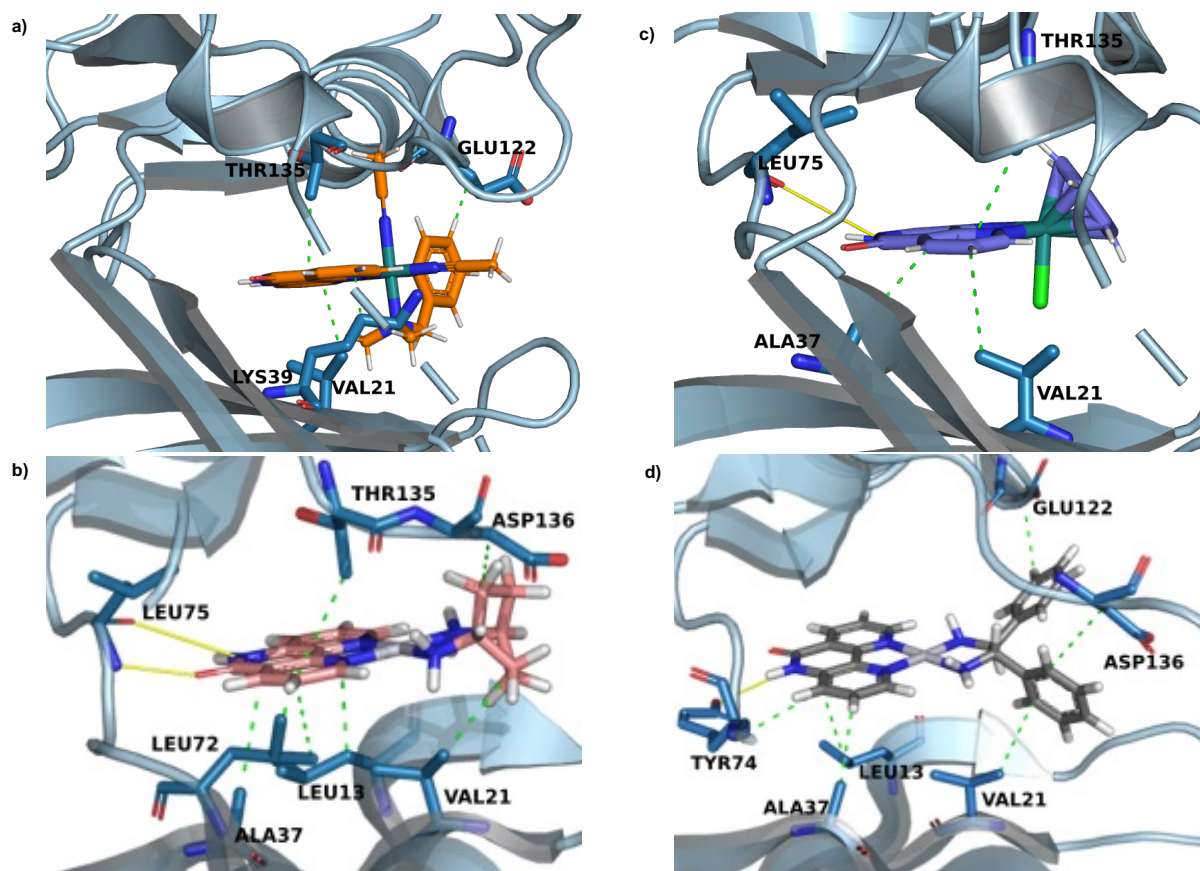
**Tableau 14** : L'affinité des complexes **Ru(3)**, **Ru(5)**, **Pt(3)** et **Pt(4a)** pour les protéine kinases S6K1 et MST2 est définie par leurs scores de docking. La différence de score de docking entre les deux protéines est définie par la valeur  $\Delta$ .

Composé	S6K1	MST2	$\Delta$ (S6K1 – MST2)
<b>Ru(3)</b>	-61.3	+13.7	-75
<b>Ru(5)</b>	-68.9	-74.6	+5.7
<b>Pt(3)</b>	-79.5	-67.5	-11.9
<b>Pt(4a)</b>	-91.5	-68.6	-22.8

Ces valeurs sont en accord avec les résultats observés lors des tests d'activité biologique, puisque les complexes de platine ont montré une capacité d'inhibition de la phosphorylation de la protéine S6 supérieure, tandis que **Ru(5)** inhibe la



phosphorylation de YAP de manière plus efficace. Nous noterons aussi que contrairement à l'étude menée avec MST2, le complexe **Ru(3)** présente un score de docking favorable pour S6K1.



**Figure 95** : Positions préférentielles de docking des complexes a) **Ru(3)**, b) **Ru(5)**, c) **Pt(3)** et d) **Pt(4a)** dans la protéine kinase S6K1. Les interactions hydrophobes sont représentées par des pointillés verts, tandis que les liaisons hydrogène sont représentées par des pointillés jaunes.

Les structures des composés dockés dans la protéine S6K1 sont représentées Figure 95. Les composés **Ru(5)**, **Pt(3)** et **Pt(4a)** interagissent tous avec la protéine par au moins une liaison hydrogène. Le ligand **57** au sein de **Pt(3)** est même impliqué dans deux liaisons hydrogène avec le résidu LEU75 de la charnière. Plusieurs interactions hydrophobes entre le ligand **57** incorporé dans tous les complexes étudiés et des résidus acides aminés hydrophobes, notamment les résidus THR135 et GLU122 d'une hélice  $\alpha$ C du domaine C-terminal, et VAL21, LEU13, ALA37 de feuillet  $\beta$  du domaine N-terminal sont observées. La poche de fixation de l'ATP étant plus grande au sein de S6K1, en comparaison avec MST2, les complexes **Ru(3)**, **Pt(3)** et **Pt(4a)** possèdent un meilleur score de docking dans S6K1 que dans MST2. La seule exception est **Ru(5)**, qui possède un meilleur score de docking dans MST2. Contrairement au résultat dans MST2, le complexe **Pt(4a)** adopte une position dans

laquelle le ligand **57** peut faire face à la charnière de la protéine kinase S6K1. Les groupements phényles du ligand DPED ne génèrent plus de gêne stérique, en comparaison avec la situation observée dans le cas de MST2. Des interactions hydrophobes entre les groupements phényles et les résidus acides aminés VAL 21, GLU122 et ASP136 sont par ailleurs observées.

#### IV. Conclusion

L'activité des complexes de ruthénium(II) et platine (II) synthétisés a été évaluée. L'activité antiproliférative des complexes de titane(IV) **Ti(1)** et **Ti(2)** n'a pas pu être évaluée en raison de leur insolubilité. Dans un premier temps, la détermination de l'activité antiproliférative des composés a montré que les complexes **Ru(4)**, **Pt(1)** et **Pt(2)** étaient cytotoxiques, ceux-ci ont donc été exclus de la suite du travail. Dans un second temps, les études de docking portant sur les complexes **Ti(1-2)**, **Ru(1-3)**, **Ru(5)**, **Pt(3)** et **Pt(4a-b)** dans la protéine kinase de la voie Hippo MST2 ont permis de sélectionner quatre complexes, **Ru(3)**, **Ru(5)**, **Pt(3)** et **Pt(4a)**. L'activité inhibitrice de la phosphorylation de YAP, co-activateur transcriptionnel central dans la voie Hippo a été évaluée. **Ru(3)** a montré une forte inhibition de l'activité des protéine kinases impliquées dans la phosphorylation de YAP. En complément, la quantification de l'expression des gènes cibles de YAP a montré une hausse de l'expression de CTGF, ARHGAP29 et CYR61 après incubation avec les quatre complexes, confirmant les résultats obtenus par Western Blot. Des études complémentaires portant sur l'expression des gènes cibles de YAP sont actuellement en cours au sein du laboratoire STREINTH de l'INSERM et permettront de conclure sur l'effet des complexes **Ru(3)**, **Ru(5)**, **Pt(3)** et **Pt(4a)** sur l'activité de YAP. Enfin, l'étude de la phosphorylation de la protéine ribosomale S6 a montré un fort effet des complexes de platine **Pt(3)** et **Pt(4a)** sur l'activité des protéine kinases impliquées dans la phosphorylation de S6. Afin d'expliquer les différences observées entre les études biologiques sur la phosphorylation de YAP et S6, les complexes ont été dockés dans la protéine kinase S6K1, responsable majeure de la régulation de S6 par phosphorylation. Les études de docking ont confirmé les résultats obtenus *in vitro*, puisqu'une meilleure interaction des complexes de platine avec S6K1 qu'avec MST2 a été observée. Une perspective de ce travail consistera à évaluer l'influence de la

chiralité sur l'inhibition de ces deux protéine kinases. En effet, récemment, le composé **Pt(4b)** énantiomère de **Pt(4a)** a montré des scores de docking de -80.95 pour MST2 et -99.05 pour S6K1. Afin de confirmer ces excellents chiffres obtenus par docking, l'activité biologique *in vitro* de **Pt(4b)** sera évaluée prochainement.

L'ensemble de ces résultats démontre qu'une variation structurale autour des complexes construits autour du ligand **57** permet d'observer une sélectivité vis-à-vis de l'inhibition de différentes protéine kinases et ouvre donc des perspectives intéressantes pour aller vers des complexes plus sélectifs par rapport aux protéine kinases de la voie Hippo.





## Conclusion Générale et Perspectives

La grande majorité des voies de signalisation cellulaire contient des protéine kinases. Des inhibiteurs de ces enzymes permettent de développer des traitements anticancéreux quand le fonctionnement des voies de signalisation est altéré ou des sondes moléculaires pour mieux comprendre les mécanismes influençant celles-ci. Notamment, la compréhension des mécanismes impliqués dans la voie de signalisation Hippo est une question de premier ordre puisqu'elle est considérée comme jouant un rôle central dans la formation et la propagation de nombreux cancers.

Ce travail de thèse avait pour but de concevoir des complexes métalliques pour l'inhibition sélective des protéine kinases de la voie Hippo. Ce projet était motivé par l'absence, au démarrage de nos travaux, d'inhibiteurs ciblant sélectivement cette voie de signalisation, ainsi que par le caractère novateur de l'utilisation de métaux pour le développement d'inhibiteurs de protéine kinases, domaine jusque-là étudié en majorité par le seul groupe du Pr. E. Meggers.

Dans un premier temps, la synthèse de complexes de titane(IV) construits autour d'un squelette  $TiO_4N_2$  a été envisagée. Toutefois, les complexes de titane(IV) étant très oxophiles et sensibles à l'hydrolyse, une étude préliminaire visant à évaluer la stabilité en milieu aqueux de complexes modèles incorporant une série de 1,10-phénanthrolines substituées en position 2, 9 et 5 a été tout d'abord réalisée. Ces travaux ont démontré l'excellente stabilité de ce type de complexes en présence d'eau et nous ont confortés dans l'idée d'utiliser des espèces incorporant le titane(IV) pour des applications en biologie. Nous avons aussi voulu tirer profit de la stabilité des composés construits autour d'un cœur  $TiO_4N_2$  pour réaliser des transformations organiques du ligand phénanthroline directement sur le complexe métallique. Les résultats encourageants obtenus lors de ces tests nous ont conduits à utiliser le motif  $Ti(38)_2$  comme groupement protecteur pour réaliser la synthèse multi-étapes d'une bis-1,10-phénanthroline originale.

Dans un second temps, la synthèse des inhibiteurs de protéine kinases à base de métaux de transition a été mise en œuvre. Ces inhibiteurs se voulant compétitifs de l'ATP, les ligands phénanthroline **50** à **54** substitués en position 5 et/ou 6 par un fragment pyridinone ont été synthétisés dans le but de créer des interactions par

liaisons hydrogène avec des résidus acides aminés de la charnière de la protéine par liaisons hydrogène et ces ligands phénanthroline présents au sein du complexe. En complément, un ligand 2,2'-bipyridine (**57**) dont les hétérocycles azotés sont fusionnés avec une fonction amide a été synthétisé à partir d'un protocole décrit dans la littérature.

Deux complexes de titane(IV), **Ti(1)** et **Ti(2)**, construits autour d'un squelette  $TiO_4N_2$  incorporant les phénanthrolines **50** et **57** ont été obtenus. Malheureusement, la très faible solubilité des autres phénanthrolines n'a pas permis d'accéder à un plus grand nombre de composé. Afin d'augmenter le nombre de structures différentes disponibles, nous nous sommes ensuite orientés vers la synthèse de complexes de ruthénium(II). Deux complexes du type ruthénium polypyridyles, **Ru(1)** et **Ru(2)**, incorporant deux ligands 2,2'-bipyridine et les ligands **52** et **57** ont été synthétisés. Par la suite, les deux complexes cycloruthénés **Ru(3)** et **Ru(4)** incorporant tous les deux **57** ainsi que pour l'un une benzylamine et pour l'autre une phénylpyridine ont été obtenus. Enfin, un complexe tétraédrique demi-sandwich **Ru(5)** avec **57** a été décrit. L'accès à des composés de géométrie carré plane s'est faite par la synthèse de complexes de platine(II). Cinq complexes ont été synthétisés, **Pt(1-3)** et **Pt(4a-b)** incorporant les ligands phénanthroline **52** et **57** ainsi que divers ligands diamine.

Enfin, l'activité biologique des ligands et des complexes synthétisés a été évaluée. Dans un premier temps, leur activité antiproliférative a été testée sur des cellules d'adénocarcinome gastrique (AGS) par test MTT. Les complexes non toxiques ont ensuite été modélisés pour réaliser une étude de docking avec la poche de fixation de l'ATP de la protéine kinase de la voie Hippo MST2. Les composés ayant obtenus le meilleur score de docking ont été sélectionnés et leur activité inhibitrice de la phosphorylation du coactivateur transcriptionnel YAP a été étudiée. Deux complexes de ruthénium ont montré des résultats encourageants lors d'expériences de quantification de pYAP par Western Blot. La quantification de la phosphorylation de la protéine S6 par la protéine kinase S6K1 a permis de montrer que les complexes de platine(II) testés sont plus actifs envers S6K1 par rapport aux kinases de la voie Hippo. Les résultats expérimentaux ont été validés par le docking, qui a montré que les complexes de platine avaient un meilleur score de docking dans S6K1 que les complexes de ruthénium.

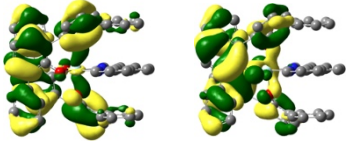
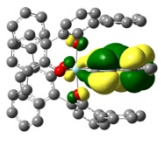
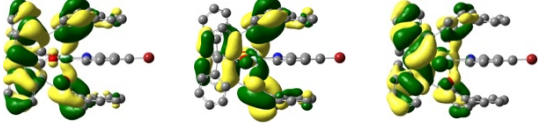
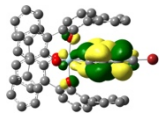
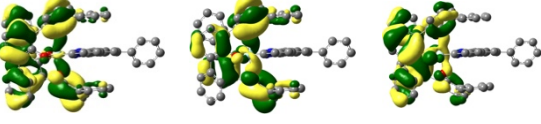
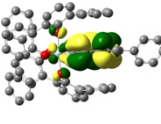
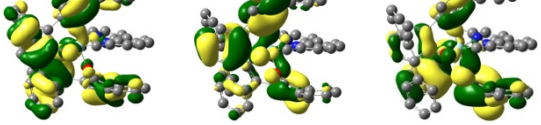
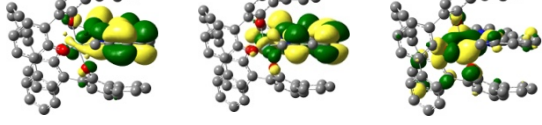
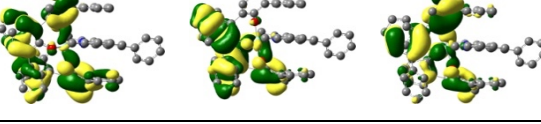
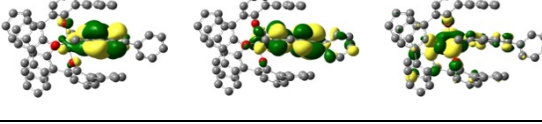
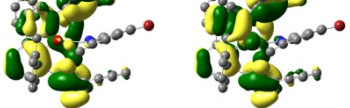
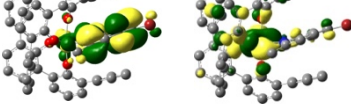
Ce travail de thèse a permis de développer des complexes métalliques originaux formés à partir de ligands phénanthroline incorporant un fragment

donneur/accepteur de liaisons hydrogène, pour une application comme inhibiteurs de protéine kinases. Notamment, nous avons montré que le ligand **57** se prête parfaitement à la conception de complexes ayant une structure idéale pour s'insérer dans la poche de fixation de l'ATP des protéine kinases. L'évaluation de l'activité biologique des complexes obtenus pendant cette thèse s'est montrée extrêmement encourageante et deux complexes, **Ru(3)** et **Ru(5)**, sont des candidats très prometteurs dans l'optique d'une inhibition des protéine kinases de la voie Hippo. Par ailleurs, les complexes développés lors de ce travail de thèse peuvent aussi être aussi considérés comme d'excellents squelettes de départ pour être modifiés afin d'accéder à des inhibiteurs possédant une sélectivité accrue. Cette méthode permettrait d'aboutir à une alternative aux inhibiteurs de protéine kinases purement organiques.



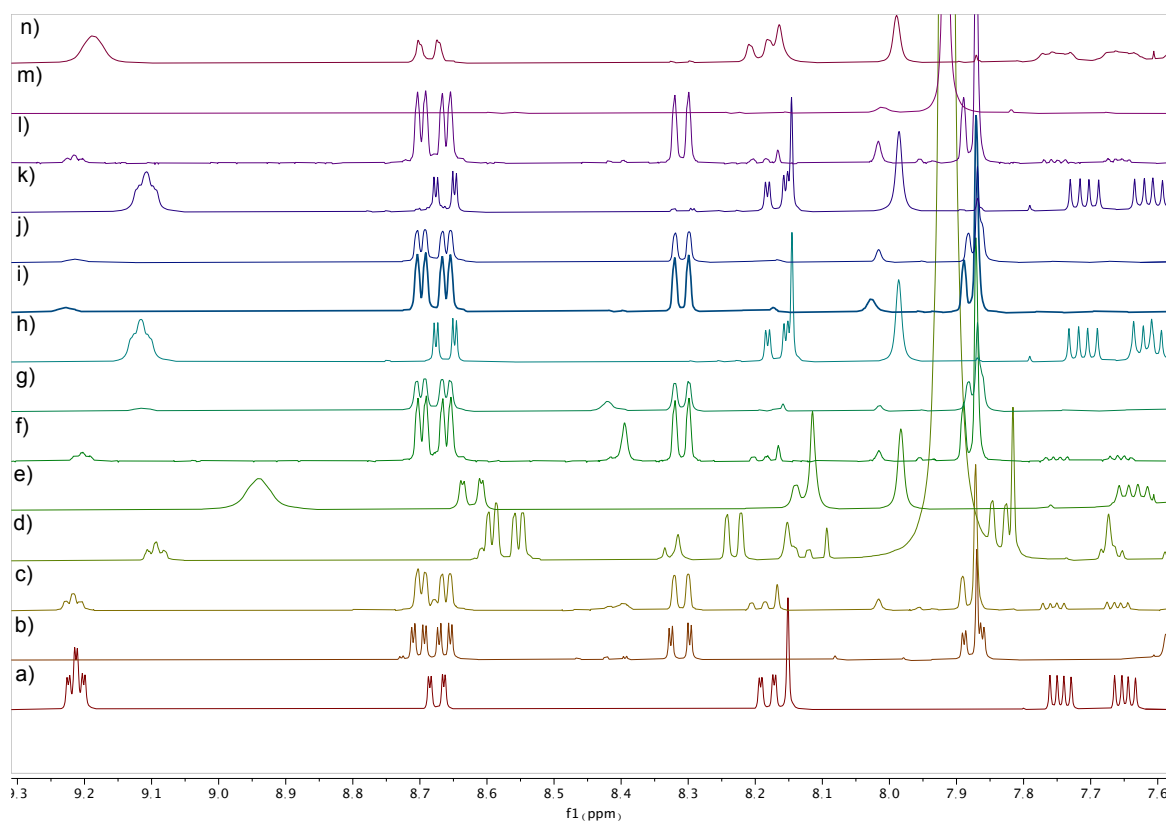
# Annexes

**Annexe 1** : Représentation des orbitales occupées et vacantes impliquées dans les transitions de plus haute énergie à l'état gazeux

	Orbitales occupées	Orbitales vacantes
39a		
39b		
39c		
39d		
39e		
39f		

**Annexe 2 :** Représentation des orbitales occupées et vacantes impliquées dans les transitions de plus haute énergie dans le dichlorométhane.

	Orbitales occupées	Orbitales vacantes
39a		
39b		
39c		
39d		
39e		
39f		

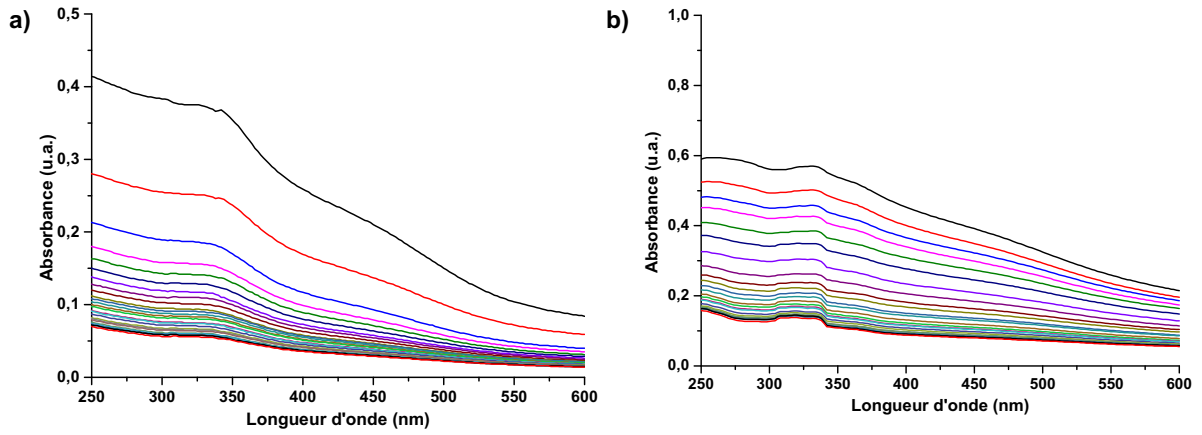


**Annexe 3 :** Spectres RMN  $^1\text{H}$  (région des aromatiques) des tentatives de décooordination réalisées sur  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$ . a)  $\mathbf{39b}$ , b)  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$  ; c) NaOH (2M), t.a., 4 h ; d) NaOH (2M), t.a., 16 h ; e) NaOH (2M $^\circ$ , 80  $^\circ\text{C}$ , 4h ; f) NaOH (2M), Na<sub>2</sub>EDTA (sat.), t.a., 4h ; g) NaOH (2M), Na<sub>2</sub>EDTA (sat.), t.a., 16h ; h) NaOH (2M), Na<sub>2</sub>EDTA (sat.), 80  $^\circ\text{C}$ , 4 h ; i) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2M), Na<sub>2</sub>EDTA (sat.), t.a, 4h ; j) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2M), Na<sub>2</sub>EDTA (sat.), t.a, 16h ; k) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2M), Na<sub>2</sub>EDTA (sat.), 80  $^\circ\text{C}$ , 4h ; l) HCl (2M), t.a., 4h ; m) HCl (2M), t.a., 16h ; n) HCl (2M), 80  $^\circ\text{C}$ ., 4h.

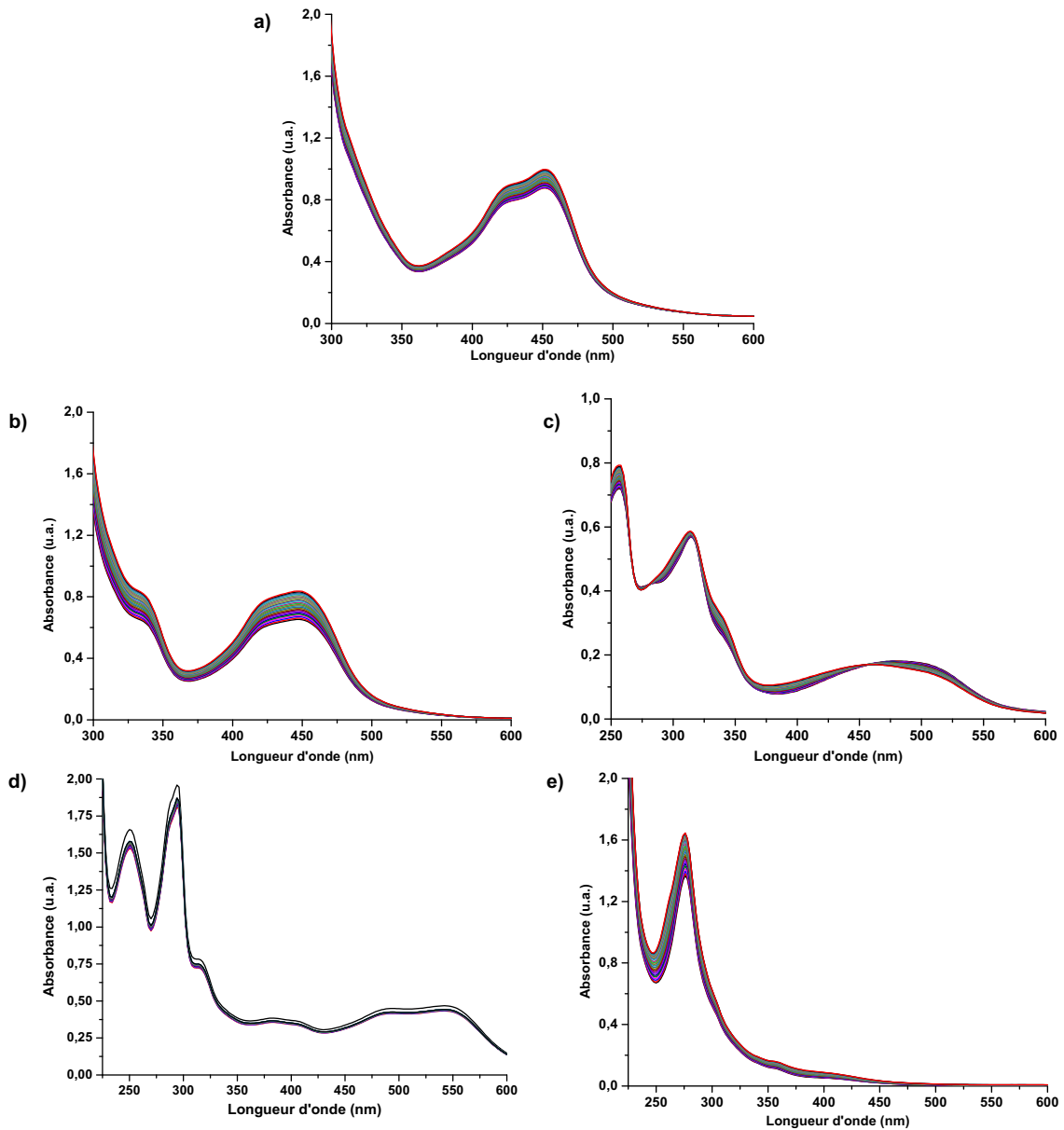
**Annexe 4 :** Energies des différents stéréoisomères possibles pour  $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39b})]$  optimisée au niveau DFT B3LYP//LANL2DZ.

		Phase gazeuse	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	CHCl <sub>3</sub>
Energies absolues (u.a.)	DD – S1	-5707.13804063	-5707.18840024	-5707.17795113
	DD – S2	-5707.13809090	-5707.18840521	-5707.17777281
	DL – S1	-5707.13804819	-5707.18838524	-5707.17793374
	DL – S2	-5707.13808009	-5707.18830911	-5707.17785877
Energies relatives (kJ.mol <sup>-1</sup> )	DD – S1	0.13	0.01	0.00
	DD – S2	0.00	0.00	0.47
	DL – S1	0.11	0.05	0.05
	DL – S2	0.03	0.25	0.24

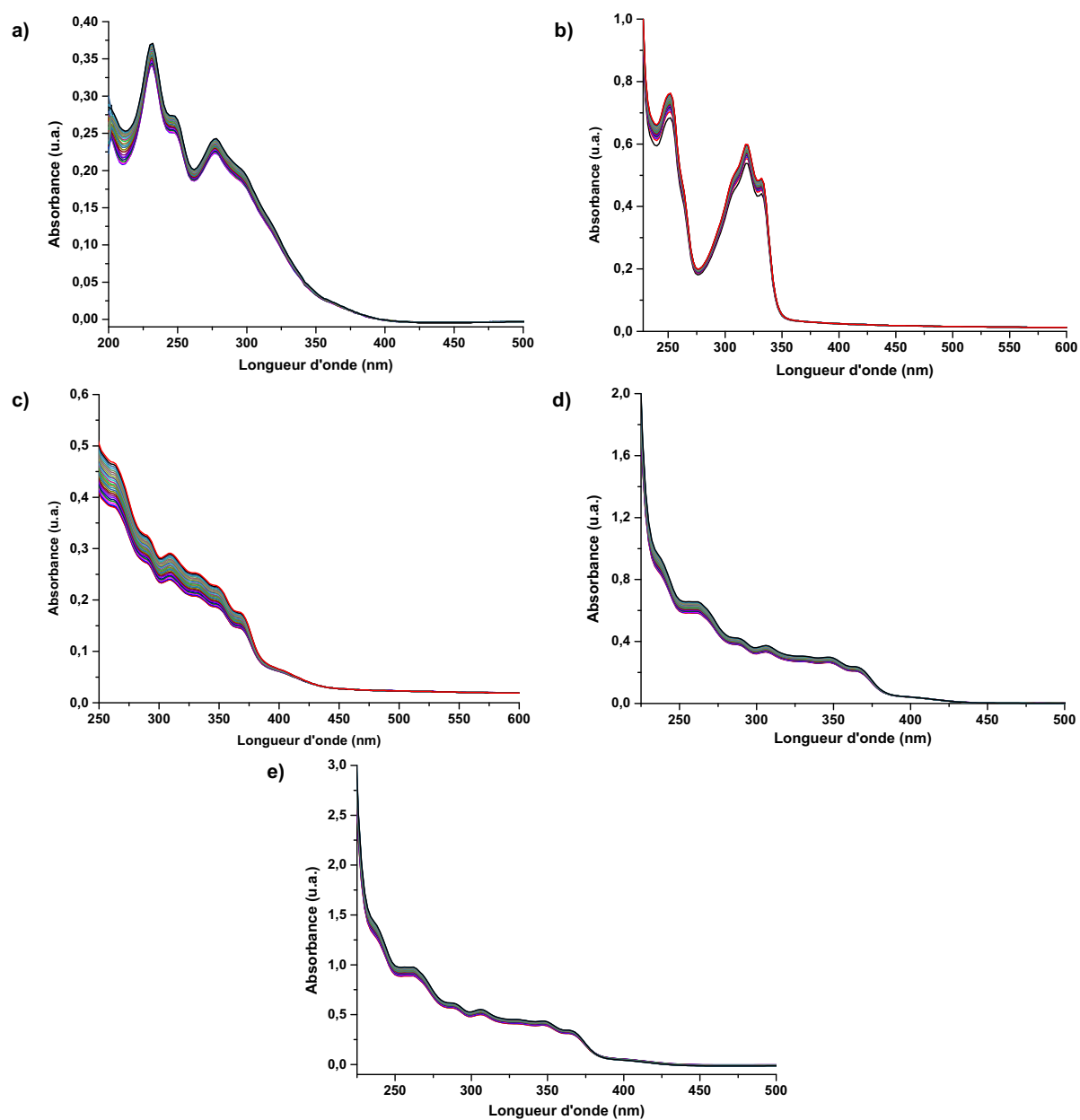




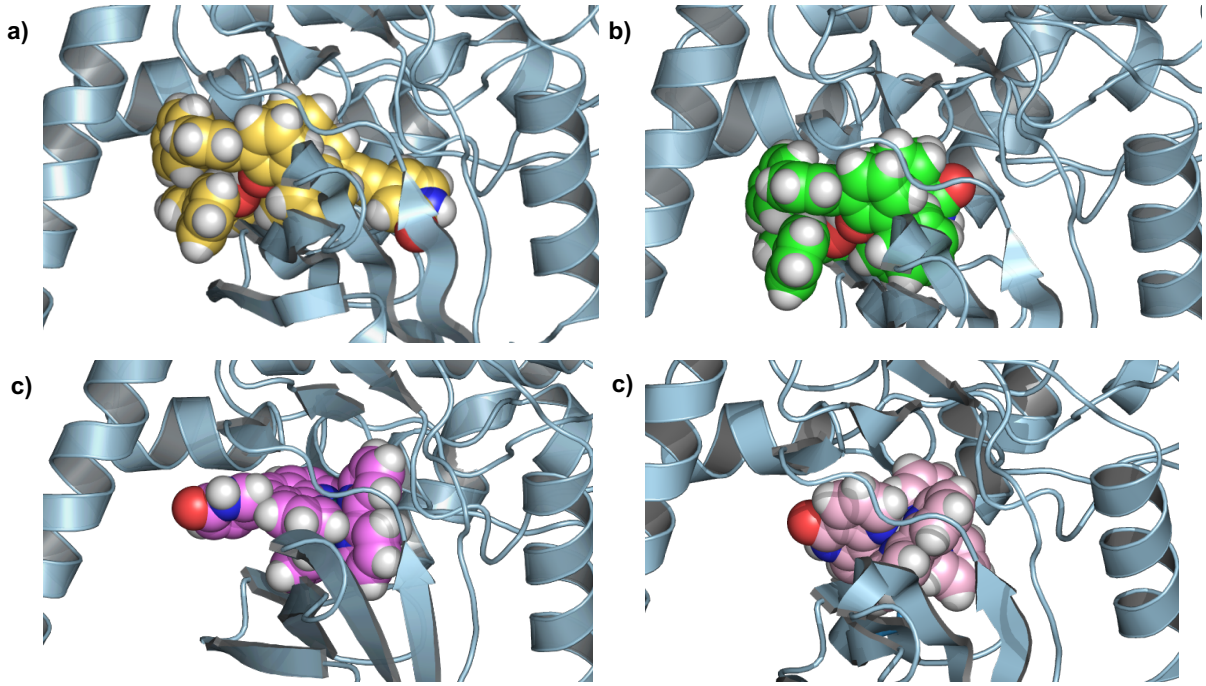
**Annexe 5 :** Cinétiques d'hydrolyse par spectroscopie d'absorption UV-visible dans un tampon PBS pendant 24 h (un spectre enregistré toutes les heures; a) **Ti(1)** ; b) **Ti(2)**. La chute de l'absorbance est provoquée par une précipitation du produit dans la solution de tampon PBS.



**Annexe 6** : Cinétiques d'hydrolyse par spectroscopie d'absorption UV-visible dans un tampon PBS pendant 24 h (un spectre enregistré toutes les heures; a) **Ru(1)** ; b) **Ru(2)**, c) **Ru(3)** ; d) **Ru(4)** ; e) **Ru(5)**



**Annexe 7** : Cinétiques d'hydrolyse par spectroscopie d'absorption UV-visible dans un tampon PBS pendant 24 h (un spectre enregistré toutes les heures ; a) **Pt(1)**; b) **Pt(2)**; c) **Pt(3)**; d) **Pt(4a)**; e) **Pt(4b)**.



**Annexe 8** :Positions de docking préférentielles des complexes non retenus pour les tests biologiques. a) **Ti(1)**, b) **Ti(2)**, c) **Ru(1)**, d) **Ru(2)**

## Experimental part

### Materials and methods

#### Chemicals and chemistry methods

All reagents and products were purchased from Sigma Aldrich, Alfa Aesar or TCI and used as received. Ultrapure water used was purified by a Milli-Q UV purification system (Sartorius Stedim Biotech SA). Gibco® Versene solution, Gibco® Trypsin/EDTA solution, Gibco® MEM Non-Essential Amino Acids solution (NEAA), 10% SDS solution, PenicillinStreptomycin (10 000 U/mL), Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline (10x), TRIzol® Reagent and Applied Biosystem® High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit were purchased from Life Technologies. Hyclone™ RPMI 1640, DMEM medium and Fetal bovine serum (FBS) was purchased from Thermo Fisher Scientific Inc. Bio-rad Protein Assay Dye Reagent Concentrate, 40% Acrylamide/Bis solution, 10x Tris/glycine buffer, TEMED, 4x Laemmli Sample Buffer, Nitrocellulose Membrane, 0.2 µm and 0.45 µm were purchased from Bio-rad Laboratories. cComplete™, mini Protease Inhibitor Cocktail Tablets, RNase A, FastStart Universal Probe Master (Rox) and FastStart Universal SYBR Green Master (Rox) were purchased from Roche Diagnostics. Luminata™ Classico and Luminata™ Crescendo Western HRP Substrate were purchased from Merck Millipore Corporation. Bruker Avance-500 and Avance-600 spectrometers were used for solution NMR analyses performed at 25 °C. Deuterated solvents for <sup>1</sup>H NMR analysis were dried over molecular sieves before use. <sup>1</sup>H NMR spectra were recorded at 500.13 MHz and referenced to SiMe<sub>4</sub>. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR spectra (broadband decoupled) were recorded at 125.77 MHz and referenced to SiMe<sub>4</sub>. Chemical shifts are reported in ppm and coupling constants in Hz; the latter are proton–proton coupling constants. Multiplicity: s = singlet, d = doublet, t = apparent triplet, m = multiplet. The <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} signals are singlets. DOSY measurements were performed at 600.13 MHz with a 5 mm <sup>1</sup>H/X z-gradient BBI probe and applying a PFGSTE pulse sequence using bipolar gradients. Electrospray analyses were performed on a MicroTOF (Bruker) apparatus equipped with an electrospray (ES) source. The elemental analyses were performed using a Flash 2000 apparatus (Thermo Fisher Scientific) for C, H, and N elements. UV-vis

liquid and solid spectra were recorded with a Perkin Elmer Lambda650s spectrometer. The X-ray diffraction data were collected by two different means. Mean 1: The data were collected at and 173 K on a Bruker SMART CCD diffractometer with MoK $\alpha$  radiation ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ). The diffraction data were corrected for absorption using the SADABS program<sup>[371]</sup>. The structures were solved using SHELXS97<sup>[372]</sup> and refined by full matrix least-squares on F<sup>2</sup> using SHELXL-2014<sup>[373]</sup> in the anisotropic approximation for all non-hydrogen atoms. The hydrogen atoms were introduced at calculated positions and not refined (riding model). z with a 5 mm 1H/X z-gradient BBI probe and applying a PFGSTE pulse sequence using bipolar gradients. Mean 2: The X-ray diffraction data were collected on a Bruker PHOTON-III DUO Kappa CPAD diffractometer equipped with an Oxford Cryosystem liquid N<sub>2</sub> device, using Mo-K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ). The crystal-detector distance was 37 mm. The cell parameters were determined (APEX3 software)<sup>[374]</sup> from reflections taken from two sets of 6 frames, each at 10s exposure. The structure was solved by Direct methods using the program SHELXT-2014. The refinement and all further calculations were carried out using SHELXL-2014. The H-atoms were included in calculated positions and treated as riding atoms using SHELXL default parameters. The non-H atoms were refined anisotropically, using weighted full-matrix least-squares on F<sup>2</sup>. A semi-empirical absorption correction was applied using SADABS in APEX3. For [Ti<sub>2</sub>(**38**)<sub>4</sub>(**40**)], the SQUEEZE instruction in PLATON<sup>[375]</sup> was applied. The residual electron density was assigned to one molecule of the chloroform solvent. Absorbance and fluorescence on 96-well plates were measured using TriStar<sup>2</sup> Multimode Reader LB942 from Berthold Technologies. mRNA was quantified using Thermo Scientific Nanodrop 1000 Spectrophotometer. Reverse Transcriptase-PCR was done using Applied Biosystems® 2720 Thermal cycler. qPCR was done using Applied Biosystems® 7500 Real Time PCR System.

### Cell survival

The anti-proliferation activities on exponentially growing cancer cells were determined using MTT assay. AGS cells were seeded at 5000 cells per well in Cellstar® 96-well plates (Greiner Bio-One) and incubated for 24 h. Thereafter, cancer cells were exposed to drugs at different concentrations in media for 48 h. The final concentration of DMSO in medium was < 1% (v/v) at which cell viability was not significantly inhibited. The medium was removed and replaced with MTT solution (100  $\mu$ L, 0.5 mg/mL) in

media and incubated for an additional 45 min. Subsequently, the medium was aspirated, and the purple formazan crystals dissolved in DMSO (100  $\mu$ L). The absorbance due to the dissolved purple formazan was then obtained at 565 nm. Inhibition to cell viability was evaluated with reference to the S6 IC<sub>50</sub> value, which is defined as the concentration needed for a 50% reduction of survival based on the survival curves. IC<sub>50</sub> values were calculated from the dose - response curves (cell viability vs. drug concentration) obtained in repeated experiments. The experiments were performed in 4 replicates for each drug concentration and were carried out at least three times independently.

#### Antibodies and western blot protocol

AGS cells were grown at 500 000 cells per well (2 mL) on Cellstar® 6-well plates (Greiner Bio-One) for 24 h before being treated with the compounds for 24h. The cells were lysed with lysis buffer [100  $\mu$ L, 1% NP40, 150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl (pH 8.0), protease inhibitor]. The cell lysate was transferred to separate 2 mL tubes and sonicated for 10 s. The samples were then centrifuged at 13000 rpm, 4°C for 15 min. The liquid supernatant containing the proteins were collected and total protein content of each sample was quantified via Bradford's assay. 50  $\mu$ g of proteins from each sample were reconstituted in loading buffer [5% DTT, 1x Protein Loading Dye] and heated at 95°C for 5 min. The protein mixtures were resolved on either a 10% or 15% SDS-PAGE gel by electrophoresis and transferred to a nitrocellulose membrane. The protein bands were visualized via enhanced chemiluminescence imaging (PXi, Syngene) after treatment with the primary S7 antibodies and the appropriate secondary antibodies. Equal loading of protein was confirmed by comparison with actin expression. The following antibodies were used:  $\beta$ -Actin (anti-mouse) from Merck Millipore, anti-mouse (7076), anti-rabbit (7074), pS235/236-S6 Ribosomal Protein (anti-rabbit, D57.2.2E) S6 Ribosomal Protein (anti-rabbit, 5G10) and pS127-YAP (anti-rabbit, S127-D9W2I) from Cell Signaling technology and YAP (anti-mouse, sc-101190) from Santa Cruz Biotechnology. and All antibodies were used at 1:1000 dilutions except for pS6 (1:2000), actin (1:15000), anti-mouse (1:2000), and anti-rabbit (1:10000).

## Primers and qPCR protocol

Treatment conditions for AGS cells were similar to the protocol in western blot. RNA was extracted using TRIzol® Reagent and reverse transcription was performed with 2 µg of the extracted RNA using Applied Biosystem® High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit with an Applied Biosystem® 2720 Thermal Cycler. Quantitative PCR was done on the resulting cDNA using FastStart Universal Probe Master (Rox) or FastStart Universal SYBR Green Master (Rox) with Applied Biosystem® 7500 Real Time PCR System. The relative starting quantities of genes of interest were normalized against the housekeeping genes HPRT1 and samples were done in duplicates. Where SYBR probes are used, the specificity of the amplification was controlled by a melting curve. Primer sequence for SYBR Green probes are as follows: CTGF, 5'-GCC ACA AGC TGT CCA GTC TAA TCG-3' (forward) and 5'-TGC ATT CTC CAG CCA TCA AGA GAC-3' (reverse). CYR61, 5'-AAG AAA CCC GGA TTT GTG AG-3' (forward) and 5'-GCT GCA TTT CTT GCC CTT T-3' (reverse). ARHGAP29, 5'-GGA ATC AGA ACG CAA GCA AAA TGC C-3' (forward) and 5'-GGG ATG CTG ATT CAG CCT CTT GG-3' (reverse). RPLO, 5'-GAA GGC TGT GGT GCT GAT G-3' (forward) and 5'-CCG GAT ATG AGG CAG CAG TT-3' (reverse).

## Synthesis

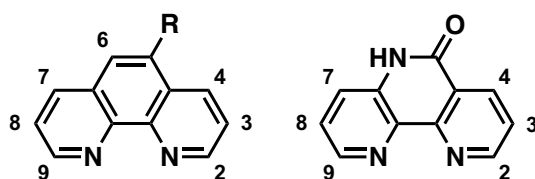


Figure 11 : Numbering scheme used for the asymmetrical phenanthroline derivatives proton attribution on the  $^1\text{H}$  NMR spectra of the different compounds

### General procedure for the synthesis of $[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\mathbf{39a-f})]$

$[\text{Ti}(\mathbf{38})_2(\text{HO}^i\text{Pr})_2]$  (1 eq) and the corresponding phenanthroline (1 eq) were dissolved in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  under Ar (glove bag). The product was purified by chromatography ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) to obtain the desired orange complex.



### [Ti(38)<sub>2</sub>(39a)]

Yield: 93%. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 8.64 (dd, <sup>3</sup>J = 5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 2H<sub>39a</sub>), 7.95 (dd, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 2H<sub>39a</sub>), 7.56 (s, 2H<sub>a</sub>), 7.53 (m, 4H<sub>38</sub>), 7.31 (dd, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 2H<sub>38</sub>), 7.27 (m, 2H), 7.15 (m, 2H<sub>39a</sub>, 2H<sub>1</sub>), 7.05 (m, 6H<sub>38</sub>), 6.99 (m, 2H<sub>38</sub>), 6.55 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H<sub>38</sub>), 6.44 (dd, <sup>3</sup>J = 7.5, <sup>4</sup>J = 1.8 Hz, 2H<sub>38</sub>), 6.36 (m, 4H<sub>38</sub>), 6.28 (m, 6H<sub>38</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 160.91, 160.42, 149.70, 142.43, 139.00, 138.77, 137.83, 131.70, 131.49, 130.00, 129.98, 129.85, 129.63, 128.97, 128.38, 128.30, 127.88, 127.67, 127.49, 126.53, 126.09, 125.89, 124.68, 123.39, 121.80, 119.02. MS (ESI) calcd. for C<sub>60</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>TiNa<sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup> 923.24, found 923.23. Anal. calcd for C<sub>60</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Ti•2 H<sub>2</sub>O: C, 76.92; H, 4.73; N, 2.99; found C, 76.33; H, 4.76; N, 2.97.

### [Ti(38)<sub>2</sub>(39b)]

Crystals were obtained from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/*n*-pentane. C<sub>60</sub>H<sub>39</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Ti, *T* = 173(2) K; orthorhombic; space group Pna2<sub>1</sub>; *a* = 24.6053(13) Å, *b* = 15.0629(7) Å, *c* = 12.4509(6) Å; α = β = γ = 90°; *V* = 4614.64 Å<sup>3</sup>; *Z* = 4; *D*<sub>calcd</sub> = 1.412 g.cm<sup>-3</sup>; reflections collected: 36103; *R*<sub>int</sub> = 0.0480; *R*<sub>1</sub>(*F*) (*I* > 2σ(*I*)) = 0.0520, *wR*<sub>2</sub>(*F*<sup>2</sup>) (all data) = 0.1364; GOF(*F*<sup>2</sup>) = 1.029. CCDC number 1989153. Yield: 97%. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 8.70 (dd, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 1H<sub>39b</sub>), 8.66 (dd, <sup>3</sup>J = 5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, 1H<sub>39b</sub>), 8.31 (dd, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz), 7.88 (m, 2H<sub>39b</sub>), 7.51 (m, 4H<sub>38</sub>), 7.30 (m, 2H<sub>39b</sub> + 2H<sub>38</sub>), 7.25 (m, 4H<sub>38</sub>), 7.16 (m, 3H<sub>38</sub>), 7.08-6.96 (m, 8H<sub>38</sub>), 6.60-6.53 (m, 2H<sub>38</sub>), 6.49-6.45 (m, 2H<sub>38</sub>), 6.40-6.28 (m, 11 H<sub>38</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 160.90, 160.86, 160.27, 160.25, 150.17, 149.86, 138.93, 138.87, 138.82, 138.63, 137.98, 136.88, 131.91, 131.54, 131.36, 130.01, 129.99, 129.95, 129.94, 129.78, 129.71, 129.71, 129.70, 129.37, 128.93, 128.86, 128.61, 128.46, 128.43, 127.86, 127.77, 127.75, 127.74, 127.70, 127.56, 127.50, 126.15, 126.04, 125.94, 125.92, 124.90, 124.61, 124.06, 123.94, 122.00, 121.98, 121.40, 119.26, 119.15 ppm. MS (ESI) calcd. for C<sub>60</sub>H<sub>39</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>TiK<sup>+</sup> [M + K]<sup>+</sup> 1017.12, found 1017.12. Anal. calcd for C<sub>60</sub>H<sub>39</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Ti: C, 73.56; H, 4.01; N, 2.86; found C, 72.89; H, 3.99; N, 2.90.



### [Ti(38)<sub>2</sub>(39c)]

Crystals were obtained from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/*n*-pentane. *T* = 173(2) K; monoclinic; space group P2<sub>1</sub>/*n*; *a* = 16.7798(5) Å, *b* = 14.6604(6) Å, *c* = 21.3286(8) Å; *β* = 99.627(2)°; *V* = 5172.9(3) Å<sup>3</sup>; *Z* = 4; *D*<sub>calcd</sub> = 1.363 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 217299; *R*<sub>int</sub> = 0.0585; *R*<sub>1</sub>(*F*) (*I* > 2σ(*I*)) = 0.0691, *wR*<sub>2</sub>(*F*<sup>2</sup>) (all data) = 0.2025; GOF(*F*<sup>2</sup>) = 1.029. CCDC number 1991709. Yield: 91%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ (ppm) = 8.68 (dd, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1H<sub>39c</sub>), 8.64 (dd, <sup>3</sup>*J* = 5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1H<sub>39c</sub>), 8.07 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1H<sub>39c</sub>), 8.01 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8.1 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1H<sub>39c</sub>), 7.7-7.5 (m, 1H<sub>39c</sub> + 10H<sub>38</sub>), 7.32-7.27 (m, 4H<sub>38</sub>), 7.21-7.02 (m, 12H<sub>38</sub>), 6.63-6.34 (m, 13H<sub>38</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) δ (ppm) = 160.94, 160.90, 160.39, 160.34, 149.51, 149.43, 142.63, 141.81, 139.17, 139.14, 139.09, 138.60, 138.56, 138.37, 137.76, 136.89, 135.30, 131.83, 131.82, 131.66, 131.60, 130.09, 130.06, 130.01, 129.99, 129.98, 129.80, 129.74, 129.52, 129.20, 128.87, 128.84, 128.82, 128.78, 128.69, 128.62, 127.97, 127.88, 127.74, 127.66, 127.65, 127.58, 127.57, 127.41, 126.80, 126.31, 126.18, 125.96, 125.95, 125.13, 125.06, 124.79, 123.81, 123.38, 121.93, 121.90, 119.40, 119.34. MS (ESI) calcd. for C<sub>62</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>TiNa<sup>+</sup> [*M* + Na]<sup>+</sup> 997.27, found 997.27. Anal. calcd for C<sub>66</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Ti•H<sub>2</sub>O + CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: C, 74.52; H, 4.48; N, 2.59; found C, 75.17; H, 4.49; N, 2.63.

### [Ti(38)<sub>2</sub>(39d)]

Crystals were obtained from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/*n*-pentane. *T* = 173(2) K; triclinic; space group P-1; *a* = 11.7023(6) Å, *b* = 12.8401(9) Å, *c* = 16.9164(10) Å; *α* = 82.975(2)° *β* = 77.612(2)° *γ* = 69.9920(10)°; *V* = 2329.5(2) Å<sup>3</sup>; *Z* = 2; *D*<sub>calcd</sub> = 1.324 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 47068; *R*<sub>int</sub> = 0.0330; *R*<sub>1</sub>(*F*) (*I* > 2σ(*I*)) = 0.0399, *wR*<sub>2</sub>(*F*<sup>2</sup>) (all data) = 0.1130; GOF(*F*<sup>2</sup>) = 1.030. CCDC number 1991710. Yield: 72%. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ (ppm) = 7.78 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.22 Hz, 2H<sub>39d</sub>), 7.46 (s, 2H<sub>39d</sub>), 7.43 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.6 Hz, 4H<sub>38</sub>), 7.24 (m, 2H<sub>38</sub>), 7.16 (m, 2H<sub>38</sub>), 7.08-6.98 (m, 14H<sub>38</sub> + 2H<sub>39d</sub>), 6.59-6.53 (m, 4H<sub>38</sub>), 6.44-6.42 (m, 4H<sub>38</sub>), 6.29 (m, 6H<sub>38</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 161.22, 161.11, 160.64, 143.22, 139.60, 139.53, 138.55, 132.45, 131.86, 131.33, 130.21, 129.60, 129.55, 129.46, 129.21, 128.86, 128.17, 127.98, 127.77, 126.78, 126.41, 126.37, 126.10, 125.35, 122.23, 119.36, 26.03 ppm. MS (ESI) calcd. for C<sub>62</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>TiNa<sup>+</sup> [*M* + Na]<sup>+</sup> 951.27,

found 951.26. Anal. calcd for  $C_{62}H_{44}N_2O_4Ti \cdot 3 H_2O$ : C, 75.76; H, 5.13; N, 2.85; found C, 76.05; H, 5.09; N, 2.85.

#### [Ti(38)<sub>2</sub>(39e)]

Crystals were obtained from  $CH_2Cl_2/n$ -pentane.  $T = 120(2)$  K; triclinic; space group P-1;  $a = 12.1109(5)$  Å,  $b = 13.5456(6)$  Å,  $c = 20.7253(10)$  Å;  $\alpha = 72.450(2)^\circ$   $\beta = 73.015(2)^\circ$   $\gamma = 67.397(2)^\circ$ ;  $V = 2932.1(2)$  Å<sup>3</sup>;  $Z = 2$ ;  $D_{calcd} = 1.427$  g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 106331;  $R_{int} = 0.0656$ ;  $R_1(F)$  ( $I > 2\sigma(I)$ ) = 0.0607,  $wR_2(F^2)$  (all data) = 0.1715; GOF( $F^2$ ) = 1.033. CCDC number 1991679. Yield: 30%.

<sup>1</sup>H NMR ( $CD_2Cl_2$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) = 7.85 (d, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 1H), 7.78 (d, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 1H), 7.63-7.66 (m, 2H), 7.59-7.56 (m, 3H), 7.48-7.41 (m, 5H), 7.27-7.23 (m, 3H), 7.14-6.94 (m, 14H), 6.69-6.52 (m, 7H), 6.47-6.43 (m, 5H), 6.23-6.16 (m, 3H), 2.69 (s, 3H), 2.61 (s, 3H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  (ppm) 161.06, 160.94, 143.41, 142.78, 139.87, 139.59, 139.47, 138.84, 138.77, 138.23, 136.64, 132.61, 132.47, 132.11, 131.65, 131.46, 131.26, 130.36, 130.24, 129.96, 129.76, 129.61, 129.39, 129.14, 129.02, 128.81, 128.74, 128.66, 128.33, 128.16, 127.85, 127.73, 127.31, 127.17, 127.02, 126.74, 126.67, 126.60, 126.17, 126.10, 125.52, 125.06, 122.38, 122.14, 119.60, 119.33, 26.90 ppm. MS (ESI) calcd. for  $C_{68}H_{48}N_2O_4TiNa^+$   $[M + Na]^+$  1027.30, found 1027.30. Anal. calcd for  $C_{68}H_{48}N_2O_4Ti \cdot 1/2 H_2O$ : C, 80.55; H, 4.87; N, 2.76; found C, 80.36; H, 4.84; N, 2.79.

#### [Ti(38)<sub>2</sub>(39f)]

Crystals were obtained from  $CH_2Cl_2/n$ -pentane.  $T = 173(2)$  K; triclinic; space group P-1;  $a = 12.0492(4)$  Å,  $b = 13.8396(5)$  Å,  $c = 16.1564(7)$  Å;  $\alpha = 107.681(2)^\circ$   $\beta = 96.911(2)^\circ$   $\gamma = 109.445(2)^\circ$ ;  $V = 2345.82(16)$  Å<sup>3</sup>;  $Z = 2$ ;  $D_{calcd} = 1.427$  g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 132419;  $R_{int} = 0.0534$ ;  $R_1(F)$  ( $I > 2\sigma(I)$ ) = 0.0578,  $wR_2(F^2)$  (all data) = 0.1662; GOF( $F^2$ ) = 1.005. CCDC number 1991711. Yield: 74%. <sup>1</sup>H NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) = 8.21 (d, <sup>3</sup>J = 8.54 Hz, 1H<sub>39f</sub>), 7.80 (s, 1H<sub>39f</sub>), 7.72 (d, <sup>3</sup>J = 8.22 Hz, 1H<sub>39f</sub>), 7.41 (m, 4H<sub>38</sub>), 7.25-7.20 (m, 3H<sub>38</sub>), 7.16 (d, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 1H<sub>39f</sub>), 7.13-6.98 (m, 12H<sub>38</sub>), 6.66-6.55 (m, 4H<sub>38</sub>), 6.48 (m, 2H<sub>38</sub>), 6.42-6.39 (m, 5H<sub>38</sub>), 6.25 (m, 3H<sub>38</sub>). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 161.43, 161.25, 160.70, 160.52, 160.02, 159.92, 143.39, 142.12,

139.17, 138.91, 138.85, 137.64, 137.01, 132.15, 132.07, 131.44, 131.16, 130.75, 130.65, 129.63, 129.61, 129.14, 129.07, 128.98, 128.68, 128.54, 128.48, 128.38, 127.69, 127.59, 127.39, 127.29, 127.22, 127.07, 126.86, 126.35, 126.06, 125.70, 125.63, 125.58, 124.92, 124.72, 121.92, 121.84, 120.05, 119.10, 118.94. MS (ESI) calcd. for  $C_{62}H_{43}N_2O_4TiBrNa^+ [M + Na]^+$  1029.18, found 1029.18. Anal. calcd for  $C_{62}H_{43}N_2O_4Ti$ : C, 73.89; H, 4.30; N, 2.78; found C, 73.42; H, 4.25; N, 2.84

#### [Ti(38)<sub>4</sub>(40)]

[Ti(1)<sub>2</sub>(HO<sup>i</sup>Pr)<sub>2</sub>] (15 mg, 18 μmol) and **3** (3.7 mg, 8.9 μmol) were dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The solvent was removed, and the residue was purified by crystallization (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/*n*-pentane) to obtain red crystals. Yield: 30%. *T* = 120(2) K; monoclinic; space group C2/c; *a* = 27.0170(12) Å, *b* = 25.1262(13) Å, *c* = 19.2186(8) Å; β = 121.3520(10)°; *V* = 11141.3(9) Å<sup>3</sup>; *Z* = 4; *D*<sub>calcd</sub> = 1.249 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 104243; *R*<sub>int</sub> = 0.0726; *R*<sub>1</sub>(*F*) (*I* > 2σ(*I*)) = 0.0857, *wR*<sub>2</sub>(*F*<sup>2</sup>) (all data) = 0.2538; GOF(*F*<sup>2</sup>) = 1.069. CCDC number 1991678. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 500 MHz): δ (ppm) = 7.90-7.78 (m, 2H), 7.70-6.45 (m, 66H), 6.23-6.16 (m, 6H), 2.79-2.45 (m, 12H). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 125 MHz): δ (ppm) = 162.28, 161.19, 161.03, 160.63, 160.19, 159.99, 149.82, 142.81, 142.29, 140.29, 139.19, 138.94, 138.73, 138.34, 138.34, 137.53, 135.48, 133.72, 132.28, 132.27, 132.21, 132.10, 131.07, 130.80, 130.67, 130.48, 129.91, 129.84, 129.78, 129.77, 129.76, 129.72, 129.51, 129.49, 129.47, 129.37, 129.29, 129.25, 128.73, 128.65, 128.04, 127.99, 127.62, 127.46, 127.44, 127.13, 126.23, 125.83, 125.65, 125.31, 125.01, 124.00, 122.11, 121.61, 121.35, 118.30. MS (ESI) calcd. for  $C_{124}H_{86}N_4O_8Ti_2Na^+ [M + Na]^+$  1878.53, found 1878.52. Anal. calcd for  $C_{124}H_{86}N_4O_8Ti_2 \cdot 2CHCl_3$ : C, 72.25; H, 4.24; N, 2.67; found C, 72.39; H, 4.38; N, 2.63.

#### [Ti(38)<sub>2</sub>(2,2'-bpy)]

Under Ar protection (glove bag), 2,2'-bipyridine (9.2 mg, 0.059 mmol) and ligand **38**H<sub>2</sub> (40 mg, 0.12 mmol) were dissolved separately in 0.5 mL of dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The second solution was added to the first one and 0.3 mL of dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was added. Titanium isopropoxide (17 μL, 0.059 mmol) was added to the solution. The solvent was then removed under vacuum to give an orange product. The product was purified by flash

chromatography (SiO<sub>2</sub>, AcOEt/CHCl<sub>3</sub> 40/60) and the solvent removed to yield an orange solid (11 mg, 0.012 mmol, 20%). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ = 8.43 (dd, J = 5.4 Hz, 1.3 Hz, 2H), 7.62 (m, 1H), 7.48 (m, 6H), 7.36 (m, 2H), 7.22 (m, 2H), 7.13 (m, 3H), 7.02 (m, 9H), 6.86 (m, 6H), 6.69 (m, 2H), 6.58 (m, 7H) ppm. MS (ESI) calcd. for C<sub>58</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>TiNa<sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup> 899.25, found 899.23.

### [Ti(38)<sub>2</sub>(41)]

[Ti(38)<sub>2</sub>(HO<sup>i</sup>Pr)<sub>2</sub>] (15 mg, 17 μmol) and 41 (5.0 mg, 17 μmol) were added to dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (450 μL). After dissolution, the orange solution was purified over column chromatography (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). The orange band was recovered and concentrated in vacuo to obtain an orange solid. Crystals were obtained from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/n-pentane. T = 296(2) K; monoclinic; space group C 1 2/c 1; a = 38.520(2) Å, b = 14.6151(7) Å, c = 28.490(3) Å; β = 125.5330(10)°; V = 13052.3(17) Å<sup>3</sup>; Z = 8; D<sub>calcd</sub> = 1.361 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 56991; R<sub>int</sub> = 0.0913; R<sub>1</sub>(F) (I > 2σ(I)) = 0.1272, wR<sub>2</sub>(F<sup>2</sup>) (all data) = 0.1851; GOF(F<sup>2</sup>) = 1.788. CCDC number 2096932. Yield: 60%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ (ppm) = 8.70 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, H<sub>9</sub>), 8.65 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, H<sub>2</sub>), 8.45 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>4</sup>J = 0.5 Hz, H<sub>pyridinone</sub>), 8.02 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, H<sub>4,6</sub>), 8.00 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, H<sub>7</sub>), 7.83 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, <sup>4</sup>J = 2.5 Hz, H<sub>pyridinone</sub>), 7.53-7.50 (m, 5H), 7.33-7.28 (m, 4H), 7.20 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>3</sup>J = 8 Hz, H<sub>8</sub>), 7.19-7.13 (m, 3H, H<sub>3</sub>), 7.11-7.01 (m, 9H), 6.63-6.56 (m, 2H), 6.52-6.48 (m, 2H), 6.46-6.41 (m, 4H), 6.37-6.32 (m, 6H, H<sub>pyridinone</sub>), 4.08 (s, 3H, OMe). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 125 MHz): δ (ppm) = 164.44, 160.79, 160.76, 160.23, 160.19, 149.49, 149.44, 147.26, 142.56, 141.73, 139.59, 139.01, 138.99, 138.50, 138.40, 138.22, 136.27, 135.47, 131.75, 131.53, 131.48, 129.93, 129.89, 129.87, 129.85, 129.64, 128.69, 128.67, 128.59, 128.50, 127.79, 127.64, 127.60, 127.54, 127.46, 127.43, 127.25, 126.85, 126.42, 126.15, 126.01, 125.84, 124.95, 124.60, 123.78, 123.40, 121.84, 121.81, 119.31, 119.28, 111.12. MS (ESI) calcd. for C<sub>66</sub>H<sub>46</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>Ti<sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup> 1008.29, found 1008.28 Anal. calcd for C<sub>66</sub>H<sub>45</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>Ti: C, 78.65; H, 4.17; N, 4.50; found C, 77.48; H, 4.50; N, 4.07.

### [Ti(38)<sub>2</sub>(42a)]

Under Ar atmosphere, in a vial, **38H<sub>2</sub>** (166 mg, 0.49 mmol) was dissolved in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL). Ti(O<sup>i</sup>Pr)<sub>4</sub> (72 μL, 0.24 mmol) was added. A red solution was instantly obtained. Then, **42a** (50 mg, 0.24 mmol) was added. After dissolution, the solution was straight purified by chromatography over Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). The orange band was recovered and concentrated in vacuo to obtain an orange solid. Crystals were obtained from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/n-pentane. T = 173(2) K; orthorhombic; space group Pna21; a = 24.4938(13) Å, b = 15.4000(9) Å, c = 12.3746(5) Å; α = β = γ = 90°; V = 4667.8(4) Å<sup>3</sup>; Z = 4; D<sub>calcd</sub> = 1.316 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 40305; R<sub>int</sub> = 0.0985; R<sub>1</sub>(F) (I > 2σ(I)) = 0.0588, wR<sub>2</sub>(F<sup>2</sup>) (all data) = 0.1406; GOF(F<sup>2</sup>) = 1.049. CCDC number 2096930. Yield: 68%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ (ppm) = 8.65 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, H<sub>9</sub>), 8.62 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, H<sub>2</sub>), 8.41 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, H<sub>7</sub>), 7.96 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, H<sub>4</sub>), 7.83 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 7.51-7.48 (m, 4H), 7.32-7.27 (m, 4H), 7.25 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, H<sub>8</sub>), 7.19-7.12 (m, 3H, H<sub>3</sub>), 7.10-7.00 (m, 8H), 6.62-6.56 (m, 2H), 6.49-6.46 (m, 2H), 6.41-6.31 (m, 10H), 3.73 (s, 1H, C≡C-H). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 125 MHz): δ (ppm) = 160.73, 160.70, 160.16, 160.15, 150.09, 149.85, 142.01, 141.95, 138.98, 138.93, 138.41, 138.23, 138.00, 136.99, 131.74, 131.55, 131.47, 131.45, 129.88, 129.85, 129.84, 129.77, 129.76, 129.66, 129.64, 128.66, 128.65, 128.62, 128.56, 128.23, 127.72, 127.62, 127.57, 127.48, 127.45, 127.42, 127.38, 126.20, 126.12, 125.87, 125.85, 125.00, 124.76, 123.86, 123.82, 121.88, 121.86, 119.71, 119.33, 119.28, 84.27, 78.72, 65.68, 53.90, 53.68, 53.47, 53.25, 53.04, 15.12. MS (ESI) calcd. for C<sub>62</sub>H<sub>41</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Ti<sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup> 925.25, found 925.25. Anal. calcd for C<sub>62</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Ti•H<sub>2</sub>O: C, 78.98; H, 4.49; N, 2.97; found C, 78.44; H, 4.50; N, 2.94.

### [Ti(38)<sub>2</sub>(42c)]

[Ti(38)<sub>2</sub>(39b)] (600 mg, 612 μmol), was dissolved in THF (75 mL) and diisopropylamine (23 mL). The solution was degassed by Ar bubbling for 15 minutes. CuI (13 mg, 67 μmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (43 mg, 61 μmol) and triisopropylsilylacetylene (412 μL, 1.84 mmol) were added and the mixture was heated at 50 °C overnight. Water (100 mL) was added the product was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 100 mL). The organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, the solvent was removed in vacuo and the residue was purified by chromatography (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/pentane: 50/50) affording

an orange solid in 84% yield.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  (ppm) = 8.69 (dd, 1H,  $^3\text{J} = 5$  Hz,  $^4\text{J} = 1.5$  Hz,  $\text{H}_9$ ), 8.64 (dd, 1H,  $^3\text{J} = 5$  Hz,  $^4\text{J} = 1.3$  Hz,  $\text{H}_2$ ), 8.46 (dd, 1H,  $^3\text{J} = 8.1$  Hz,  $^4\text{J} = 1.4$  Hz,  $\text{H}_7$ ), 7.91 (dd, 1H,  $^3\text{J} = 8.1$  Hz,  $^4\text{J} = 1.2$  Hz,  $\text{H}_4$ ), 7.81 (s, 1H,  $\text{H}_6$ ), 7.59-7.56 (m, 4H), 7.41-7.33 (m, 4H), 7.27-7.23 (m, 2H), 7.19-7.07 (m, 10H), 6.67 (t, 1H,  $^3\text{J} = 7.6$  Hz), 6.62 (t, 1H,  $^3\text{J} = 7.4$  Hz), 6.56-6.5 (m, 2H), 6.44-6.35 (m, 10H), 1.39-1.36 (m, 18H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ , 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 161.35, 160.80, 160.78, 152.07, 150.41, 150.26, 142.65, 142.37, 139.64, 139.56, 139.05, 138.86, 138.41, 137.63, 136.37, 134.35, 134.20, 132.36, 132.22, 132.02, 131.37, 130.57, 130.53, 130.49, 130.46, 130.41, 130.35, 130.30, 130.28, 129.33, 129.30, 129.22, 129.21, 128.89, 128.50, 128.38, 128.14, 128.09, 128.06, 127.93, 126.90, 126.67, 126.51, 126.47, 126.02, 125.62, 125.26, 124.40, 124.33, 122.50, 122.46, 121.60, 119.98, 119.89, 102.46, 99.87, 90.65, 82.35, 19.23, 18.94, 11.99, 11.90. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{71}\text{H}_{61}\text{N}_2\text{O}_4\text{SiTi}^+ [\text{M} + \text{H}]^+$  1081.39, found 1081.39. Anal. calcd for  $\text{C}_{71}\text{H}_{60}\text{N}_2\text{O}_4\text{SiTi}\cdot 5\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$ : C, 75.81; H, 6.99; N, 1.94; found C, 76.22; H, 7.92; N, 1.72.

#### [Ti(38)<sub>2</sub>(43)]

Under Ar atmosphere,  $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$  (28  $\mu\text{L}$ , 95  $\mu\text{mol}$ ) was added to a solution of **38**H<sub>2</sub> (64 mg, 190  $\mu\text{mol}$ ) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . To the red solution was added **43** (20 mg, 95  $\mu\text{mol}$ ). The solution became instantly dark brown. The crude mixture was concentrated in vacuo and the residue was recrystallized in ethanol to obtain a brown powder. Yield: 10%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  (ppm) = 8.58 (dd, 2H,  $^3\text{J} = 5.2$  Hz,  $^4\text{J} = 1.6$  Hz,  $\text{H}_{2,9}$ ), 7.8 Hz,  $^3\text{J} = 7.9$  Hz,  $^4\text{J} = 1.6$  Hz,  $\text{H}_{4,7}$ ), 7.4-7.38 (m, 4H), 7.31-7.27 (m, 4H), 7.19-7.16 (m, 4H,  $\text{H}_{3,8}$ ), 7.11-7.02 (m, 8H), 6.84-6.82 (m, 4H), 6.76-6.69 (m, 4H), 6.56-6.49 (m, 6H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ , 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 175.71, 161.50, 160.14, 154.18, 149.71, 139.67, 139.17, 139.16, 133.14, 131.91, 130.38, 130.31, 130.21, 130.16, 130.00, 129.91, 129.81, 129.27, 129.02, 128.18, 128.07, 127.83, 127.51, 127.32, 126.68, 126.48, 122.97, 120.51. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{60}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_6\text{Ti}^+ [\text{M} + \text{H}]^+$  931.23, found 931.23. Anal. calcd for  $\text{C}_{60}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_6\text{Ti}\cdot 1/2\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : C, 74.66; H, 4.04; N, 2.88; found C, 73.78; H, 4.01; N, 2.71.

### [Ti(38)<sub>2</sub>(44)]

A suspension of [Ti(38)<sub>2</sub>(43)] (20mg, 21  $\mu$  mol) and *o*-phenylenediamine (2.79mg, 26  $\mu$  mol) in ethanol (17 mL) was stirred at 50°C for 1h. The mixture was cooled and stirred for another 72h. The crude product was concentrated in vacuo. The residue was purified by chromatography (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/pentane: 40/60) to obtain an orange solid. Yield: 56%. Crystals were obtained from CHCl<sub>3</sub>/n-pentane. T = 173(2) K; monoclinic; space group C2/c; a = 41.7850(18) Å, b = 13.2820(5) Å, c = 24.8077(10) Å;  $\beta$  = 125.957(2)°; V = 11144.6(8) Å<sup>3</sup>; Z = 4; D<sub>calcd</sub> = 1.409 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 170219; R<sub>int</sub> = 0.0750; R<sub>1</sub>(F) (I > 2 $\sigma$ (I)) = 0.0688, wR<sub>2</sub>(F<sup>2</sup>) (all data) = 0.2258; GOF(F<sup>2</sup>) = 1.021. CCDC number 2096929. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  (ppm) = 9.32 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, H<sub>2</sub>, H<sub>9</sub>), 8.72 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, H<sub>4</sub>, H<sub>7</sub>), 8.49 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, H<sub>azine</sub>), 8.09 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, H<sub>azine</sub>), 7.51-7.49 (m, 4H), 7.36 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, H<sub>3</sub>, H<sub>8</sub>), 7.33-7.29 (m, 4H), 7.19 (dd, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz), 7.11-7.02 (m, 8H), 6.64 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 8 Hz), 6.52 (dd, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.8 Hz), 3.92 (m, 4H), 6.16 (tt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz), 5.83 (t, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 161.46, 160.58, 151.41, 150.36, 145.11, 142.99, 140.74, 139.48, 139.15, 138.08, 136.49, 132.55, 132.05, 131.99, 131.61, 131.21, 130.42, 130.37, 130.36, 130.32, 130.22, 130.05, 129.92, 129.37, 129.27, 129.17, 128.63, 128.55, 128.23, 128.16, 128.03, 126.39, 126.34, 126.02, 125.56, 125.10, 122.51, 121.89, 119.98. MS (ESI) calcd. for C<sub>66</sub>H<sub>43</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>Ti<sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup> 1003.28, found 1003.27. Anal. calcd for C<sub>66</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>Ti•3/2 CHCl<sub>3</sub>•1/2 C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>: C, 69.02; H, 4.10; N, 4.60; found C, 68.9; H, 4.02; N, 4.54.

### General procedure for the synthesis of [Ti(38)<sub>2</sub>(47a-c)]

Under Ar atmosphere, in a screw-top vial, azide (108  $\mu$  mol) and [Ti(38)<sub>2</sub>(42a)] (20 mg, 22  $\mu$  mol) were dissolved in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (250  $\mu$  L). Cu(SO<sub>4</sub>)•5H<sub>2</sub>O (2.2 mg, 8.7  $\mu$  mol) and sodium ascorbate (3.9 mg, 20  $\mu$  mol) were dissolved in distilled water (250  $\mu$  L) and added to the organic phase.

The vial was closed, and the mixture was vigorously stirred at room temperature for 20h. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) was added to the mixture, which was washed with water (2 mL). The organic phase was extracted (3x 2 mL). The fractions were combined and dried



over MgSO<sub>4</sub>. The mixture was filtered, concentrated in vacuo. The product was purified by chromatography (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/pentane: 70/30). The orange band was recovered and concentrated in vacuo to obtain an orange solid.

#### [Ti(38)<sub>2</sub>(47a)]

Crystals were obtained from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/n-pentane. T = 173(2) K; monoclinic; space group P21/c; a = 15.7372(7) Å, b = 14.5459(7) Å, c = 26.8074(13) Å; β = 103.977(2); V = 5954.8(5) Å<sup>3</sup>; Z = 4; D<sub>calcd</sub> = 1.308 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 169637; R<sub>int</sub> = 0.0585; R<sub>1</sub>(F) (I > 2σ(I)) = 0.0643, wR<sub>2</sub>(F<sup>2</sup>) (all data) = 0.2022; GOF(F<sup>2</sup>) = 1.042. CCDC number 2096931. Yield: 60%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ (ppm) = 8.81 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, H<sub>9</sub>), 8.67 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, H<sub>7</sub>), 8.62 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, H<sub>2</sub>), 7.97 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, H<sub>4</sub>), 7.93 (s, 1H, H<sub>triazole</sub>), 7.72 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 7.53-7.49 (m, 4H), 7.47-7.45 (m, 2H), 7.32-7.28 (m, 4H), 7.21-7.13 (m, 4H, H<sub>3</sub>, H<sub>8</sub>), 7.1-7.01 (m, 10H), 6.6-6.56 (m, 2H), 6.46 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz), 6.36-6.22 (m, 10H), 5.69 (s, 2H, Ph-CH<sub>2</sub>-N), 3.85 (s, 3H, OMe). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 125 MHz): δ (ppm) = 161.36, 161.33, 160.81, 160.78, 150.13, 150.04, 145.69, 143.20, 142.50, 139.60, 139.57, 139.04, 138.86, 138.70, 138.00, 132.25, 132.22, 132.07, 132.00, 130.52, 130.51, 130.43, 130.42, 130.40, 130.38, 130.17, 130.15, 129.27, 129.24, 129.21, 129.06, 128.46, 128.34, 128.33, 128.32, 128.02, 127.99, 127.97, 127.50, 127.09, 126.73, 126.66, 126.63, 126.40, 126.37, 125.44, 125.35, 124.23, 124.01, 123.02, 122.34, 122.33, 119.82, 119.75, 115.14, 55.96, 54.66. MS (ESI) calcd. for C<sub>70</sub>H<sub>50</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>Ti<sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup> 1088.33, found 1088.33. Anal. calcd for C<sub>70</sub>H<sub>49</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>Ti•1/2 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: C, 74.90; H, 4.46; N, 6.19; found C, 75.84; H, 4.55; N, 6.18.

#### [Ti(38)<sub>2</sub>(47b)]

Yield: 73%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ (ppm) = 8.84 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, H<sub>9</sub>), 8.67 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, H<sub>7</sub>), 8.62 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, H<sub>2</sub>), 7.98 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, H<sub>4</sub>), 7.96 (s, 1H, H<sub>triazole</sub>), 7.73 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 7.52-7.49 (m, 4H), 7.32-7.28 (m, 4H), 7.22-7.13 (m, 4H, H<sub>8</sub>, H<sub>3</sub>), 7.1-7.00 (m, 8H), 6.73 (s, 2H), 6.60-6.56 (m, 2H), 6.46 (dd, 2H), 6.35-6.22 (m, 10H), 5.68 (s, 2H, Ph-CH<sub>2</sub>-N),



3.90 (s, 6H, OMe), 3.22 (s, 3H, OMe).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ , 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 160.92, 160.88, 160.32, 154.11, 149.75, 149.64, 145.39, 142.77, 142.07, 139.15, 139.12, 138.71, 138.59, 138.44, 138.30, 137.57, 135.30, 131.85, 131.83, 131.66, 131.59, 130.07, 130.01, 130.00, 129.99, 129.96, 129.94, 129.78, 129.75, 128.82, 128.78, 128.63, 127.91, 127.88, 127.87, 127.85, 127.60, 127.57, 127.55, 127.03, 126.35, 126.21, 126.19, 125.98, 125.96, 125.12, 125.01, 124.87, 123.84, 123.60, 122.70, 121.94, 121.93, 119.41, 119.35, 105.85, 60.65, 56.39, 54.98. HRMS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{70}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_5\text{Ti}^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  1048.3506, found 1048.3475 .

#### [Ti(38)<sub>2</sub>(47c)]

Yield: 85%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  (ppm) = 8.85 (dd, 1H,  $^3\text{J} = 8.4$  Hz,  $^4\text{J} = 1.4$  Hz, H<sub>9</sub>), 8.68 (dd, 1H,  $^3\text{J} = 5$  Hz,  $^4\text{J} = 1.4$  Hz, H<sub>7</sub>), 8.63 (dd, 1H,  $^3\text{J} = 5$  Hz,  $^4\text{J} = 1.4$  Hz, H<sub>2</sub>), 7.97 (dd, 1H,  $^3\text{J} = 8.1$  Hz,  $^4\text{J} = 1.5$  Hz, H<sub>4</sub>), 7.96 (s, 1H, H<sub>triazole</sub>), 7.73 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 7.53-7.50 (m, 4H), 7.33-7.29 (m, 4H), 7.21-7.14 (m, 4H, H<sub>8</sub>, H<sub>3</sub>), 7.10-7.01 (m, 8H), 6.69 (s, 2H), 6.61-6.57 (m, 2H), 6.36-6.22 (m, 10H), 5.65 (s, 2H, Ph-CH<sub>2</sub>-N). 1.85-0.87 (m, 99H + aliphatic impurities).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ , 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 160.92, 160.88, 160.32, 153.88, 153.67, 149.71, 149.62, 145.32, 142.76, 142.05, 139.15, 139.11, 138.59, 138.42, 138.26, 137.58, 131.84, 131.82, 131.66, 131.58, 130.07, 129.99, 129.98, 129.95, 129.94, 129.77, 129.74, 129.51, 128.86, 128.81, 128.78, 128.63, 127.95, 127.88, 127.87, 127.85, 127.74, 127.60, 127.56, 127.54, 127.02, 126.29, 126.20, 126.19, 125.98, 125.95, 125.00, 124.88, 123.81, 123.57, 122.71, 121.93, 121.92, 119.40, 119.34, 107.51, 106.84, 73.56, 69.38, 69.25, 54.98, 32.08, 32.08, 30.57, 30.57, 30.50, 29.93, 29.91, 29.88, 29.87, 29.83, 29.81, 29.80, 29.77, 29.59, 29.57, 29.53, 29.52, 26.30. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{117}\text{H}_{145}\text{N}_5\text{O}_7\text{Ti}^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  1780.06, found 1780.05. Anal. calcd for  $\text{C}_{117}\text{H}_{144}\text{N}_5\text{O}_7\text{Ti}$ : C, 78.98; H, 8.10; N, 3.94; found C, 77.95; H, 8.33; N, 3.64.

## [Ti<sub>2</sub>(38)<sub>4</sub>(12)]

[Ti(38)<sub>2</sub>(42a)] (40 mg, 43  $\mu$  mol), was added to a suspension of CuI (1,2 mg, 6,5  $\mu$  mol) in TMEDA (3,9  $\mu$  L, 26  $\mu$  mol) and CHCl<sub>3</sub> (800  $\mu$  L). The mixture was stirred at 50°C under air for 24h. The residue was concentrated in vacuo and purified by chromatography (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/n-pentane: 50/50) to obtain an orange solid. Yield: 55%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  (ppm) = 8.74 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, H<sub>9</sub>), 8.68 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, H<sub>2</sub>), 8.53 (dd, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, H<sub>7</sub>) 8.05 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, H<sub>4</sub>), 8.02 (s, 2H, H<sub>5</sub>), 7.52-7.49 (m, 7H), 7.36 (dd, 2H; <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, <sup>3</sup>J = 5 Hz, H<sub>8</sub>), 7.33-7.3 (m, 8H), 7.25 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, H<sub>3</sub>), 7.19 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz), 7.17 (dd, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz), 7.12-7.02 (m, 16H), 6.65-6.60 (m, 4H), 6.54-6.5 (m, 6H), 6.46-6.39 (m, 19H). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 206.50, 160.76, 160.72, 160.15, 160.13, 150.58, 150.21, 142.30, 142.02, 138.94, 138.91, 138.51, 138.41, 138.18, 136.78, 133.08, 131.88, 131.55, 131.48, 129.85, 129.82, 129.81, 129.72, 128.67, 128.65, 128.60, 128.31, 127.68, 127.60, 127.56, 127.53, 127.50, 127.48, 126.24, 125.91, 125.89, 125.09, 124.85, 124.15, 124.08, 121.99, 119.40, 118.90. MS (ESI) calcd. for C<sub>124</sub>H<sub>79</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>Ti<sub>2</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup> 1847.49, found 1847.49 Anal. calcd for C<sub>124</sub>H<sub>78</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>Ti<sub>2</sub>•3 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O : C, 79.14; H, 4.98; N, 2.71; found C, 79.25; H, 5.28; N, 2.71.

## 12

[Ti<sub>2</sub>(1)<sub>4</sub>(12)] (247 mg, 134  $\mu$  mol) was suspended in a mixture of DMF (13 mL) and THF (10mL). A 2M aqueous solution of NaOH (735  $\mu$  L, 1.47 mmol) was added and the mixture was heated at 80°C for 4h. The colourless mixture was cooled down, and water (20 mL) was added. The organic layer was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 50 mL). The aqueous phase was neutralized with concentrated HCl and extracted again with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 50 mL). The combined organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated in vacuo. The residue was purified over column chromatography (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 99.5/0.5 and concentrated NH<sub>3</sub> (1mL)) to obtain a brown powder. Crystals were obtained from CHCl<sub>3</sub>/n-pentane. T = 173 K; monoclinic; space group P21/c; a = 20.5562(18) Å, b = 6.8780(7) Å, c = 21.7636(16) Å;  $\beta$  = 114.418(4); V = 2801.8(4) Å<sup>3</sup>; Z = 4; D<sub>calcd</sub> = 1.529 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 28867; R<sub>int</sub> = 0.0775;

R1(F) ( $I > 2\sigma(I)$ ) = 0.1154,  $wR_2(F^2)$  (all data) = 0.3438; GOF( $F^2$ ) = 1.021. CCDC number 2096933. Yield: 55%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  (ppm) = 9.21 (dd, 2H,  $^3J = 4.3$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, H<sub>2</sub>), 9.18 (dd, 2H,  $^3J = 4.3$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, H<sub>9</sub>), 8.83 (dd, 2H,  $^3J = 8.3$  Hz,  $^4J = 1.7$  Hz, H<sub>4</sub>), 8.30 (dd, 2H,  $^3J = 8.1$  Hz,  $^4J = 1.5$  Hz, H<sub>7</sub>), 8.25 (s, 2H, H<sub>6</sub>), 7.80 (dd, 2H;  $^3J = 8.3$  Hz,  $^3J = 4.3$  Hz, H<sub>3</sub>), 7.70 (dd, 2H,  $^3J = 8$  Hz,  $^3J = 4.4$  Hz, H<sub>8</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ , 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 152.03, 151.36, 147.14, 146.47, 136.58, 134.88, 133.89, 128.99, 128.43, 124.18, 124.13, 118.71, 80.34, 79.38. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{28}\text{H}_{15}\text{N}_4^+$  [M + H]<sup>+</sup> 407.13, found 107.13. Anal. calcd. for  $\text{C}_{28}\text{H}_{14}\text{N}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ : C, 70.28; H, 4.63; N, 11.71; found C, 70.30; H, 3.98; N, 11.00.

### Decoordination protocol

Typically, 10 mg of [Ti(**38**)<sub>2</sub>(**39b**)] were dissolved in DMF (1mL). An aqueous solution (100  $\mu\text{L}$ ) containing the decoordinating agents were added and the mixture was heated at 80 °C for 4h. The solvent was then removed and the crude product was analyzed by NMR in  $\text{CDCl}_3$  at room temperature. The conversion rates were evaluated from these spectra.

### 50

**42a** (88 mg, 431  $\mu\text{mol}$ ) and 4-bromohydroxypyridine (90 mg, 517  $\mu\text{mol}$ ) were dissolved in DMF (4.4 mL) and diisopropylamine (4.4 mL). The solution was degassed by freeze-thaw cycles and flushed with argon. [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] (50 mg, 43  $\mu\text{mol}$ ) and CuI (12 mg, 65  $\mu\text{mol}$ ) were added and the mixture was stirred at 60°C for 17h. The solvent was then removed *in vacuo*. The residue was dissolved in MeOH (20 mL), an aqueous saturated solution of EDTA (15 mL) was added and the mixture was stirred for 40 min. The product was then extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4x 20 mL), the organic layer was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and the solvent was removed *in vacuo*. The residue was recrystallized from MeOH to obtain a grey powder (49 mg, 38%).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) :  $\delta$  = 11.84 (s<sub>br</sub>, **N-H**), 9.19 (s<sub>br</sub>, 1H), 9.15 (s<sub>br</sub>, 1H), 8.83 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 1H), 8.54 (d,  $^3J = 7.9$  Hz, 1H), 8.45 (s, 1H, **H**<sub>6</sub>), 7.91 (m<sub>br</sub>, 1H), 7.83 (m<sub>br</sub>, 1H), 7.51 (d,  $^3J = 6.3$  Hz, 1H),

6.76 (s, 1H), 6.45 (d,  $^3J = 6.3$  Hz, 1H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO-*d*6) :  $\delta = 162.17, 151.84, 151.18, 151.16, 148.52, 146.20, 145.73, 137.01, 136.78, 134.79, 134.72, 133.00, 128.17, 127.86, 124.61, 124.44, 123.28, 118.03, 107.04, 92.63, 90.67$  ppm. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  298.10 ; found 298.10. Anal. Calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}\cdot\text{H}_2\text{O}$ : C, 72.37 ; H, 4.16 ; N, 13.33, found : C, 71.89 ; H, 4.17 ; N, 12.83.

## 55

2-Methoxypyridine-4-boronic acid (159 mg, 1.04 mmol), **39b** (234 mg, 904  $\mu\text{mol}$ ) and barium hydroxide octahydrate (571 mg, 1.81 mmol) were suspended in dimethoxyethane:water (9:1, 20 mL). The mixture was degassed with an Ar bubbling for 20 min.  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$  (104 mg, 90  $\mu\text{mol}$ ) was added and the mixture was heated at  $110^\circ$  for 40h. The mixture was cooled to r.t., water (30 mL) was added to obtain a white precipitate. The product was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x 50 mL). The organic layer was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered, and dried under vacuum. The resulting solid was purified by column chromatography ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 95:5) to afford a white solid (125 mg, 48%).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta = 9.23$  (m, 2H, **H<sub>2,9</sub>**), 8.32 (dd,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^4J = 0,7$  Hz, 1H, **H<sub>pyr</sub>**), 8.26 (m, 2H, **H<sub>4,7</sub>**), 7.75 (s, 1H, **H<sub>6</sub>**), 7.67 (dd,  $^3J = 8.1$ , 2H, **H<sub>3,8</sub>**), 7.04 (dd,  $^3J = 5.14$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, **H<sub>pyr</sub>**), 6.92 (dd,  $^5J = 1.5$  Hz, 1H, **H<sub>pyr</sub>**), 4.03 (s, 3H, **O-Me**) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 164.77, 150.97, 150.57, 149.60, 147.27, 146.53, 146.20, 136.38, 136.28, 134.10, 127.93, 127.04, 126.71, 123.66, 123.18, 118.41, 112.01, 53.80$  ppm. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  288.11; found 288.11. Anal. Calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$ : C, 75.25; H, 4.56; N, 14.63; found C, 74.68; H, 4.54; N, 14.59.

## 51

**55** (111 mg, 344  $\mu\text{mol}$ ) was suspended in HBr (2 mL) and the mixture was heated at  $110^\circ\text{C}$  for 4h30. The mixture was cooled down to r.t. and water (10 mL) was added. The aqueous layer was washed with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  and a saturated solution of  $\text{NaHCO}_3$  was added dropwise until formation of a white precipitate that was filtered. The precipitate was washed with ether and dried under vacuum to obtain a white solid (46 mg, 49%).  $^1\text{H}$

NMR (500 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  = 9.12 (dd,  $^3J$  = 4.3 Hz,  $^4J$  = 1.6 Hz, 1H), 9.08 (dd,  $^3J$  = 4.3 Hz,  $^4J$  = 1.7 Hz, 1H), 8.48 (dd,  $^3J$  = 8.1 Hz,  $^4J$  = 1.7 Hz, 1H), 8.35 (dd,  $^3J$  = 8.2 Hz,  $^4J$  = 1.7 Hz, 1H), 7.92 (s, 1H, **H<sub>6</sub>**), 7.8-7.77 (m, 2H, **H<sub>3,8</sub>**), 7.71 (d,  $^4J$  = 2.7 Hz, 1H, **H<sub>pyr</sub>**), 7.61 (dd,  $^3J$  = 9.3 Hz,  $^4J$  = 2.7 Hz, 1H, **H<sub>pyr</sub>**), 6.43 (d,  $^3J$  = 9.3 Hz, **H<sub>pyr</sub>**) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  = 174.19, 149.89, 149.76, 145.90, 144.94, 141.89, 136.16, 134.53, 134.04, 128.08, 127.52, 126.27, 123.66, 123.29, 118.50, 115.62 ppm. HRMS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  274.0975; found 274.0992.

## 56

2-Methoxypyridine-5-boronic acid (679 mg, 4.44 mmol), **39b** (1.00 g, 3.86 mmol) and barium hydroxide octahydrate (2.43 g, 7.72 mmol) were suspended in dimethoxyethane:water (9:1, 100 mL). The mixture was degassed by Ar bubbling for 20 min.  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$  (446 mg, 386  $\mu\text{mol}$ ) was added and the mixture was heated at 110° for 16h. The mixture was cooled to r.t., water (100 mL) was added to obtain a white precipitate. The product was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x 150 mL). The organic layer was dried with  $\text{MgSO}_4$ , filtered and dried under vacuum. The resulting solid was purified by column chromatography ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 99:1) to afford a white solid (529 mg, 48%).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  = 9.21 (m, 2H, **H<sub>2,9</sub>**), 8.34 (dd, 1H, **H<sub>6</sub>**), 8.26 (dd,  $^3J$  = 8 Hz,  $^4J$  = 1.6 Hz, 1H, **H<sub>7</sub>**), 8.23 (dd,  $^3J$  = 8.4 Hz,  $^4J$  = 1.6 Hz, 1H, **H<sub>4</sub>**), 7.74 (dd,  $^3J$  = 8.5 Hz,  $^4J$  = 2.5 Hz, 1H, **H<sub>5</sub>**), 7.72 (s, 1H, **H<sub>6</sub>**), 7.66 (dd,  $^3J$  = 8.3 Hz,  $^4J$  = 4.4 Hz, 1H, **H<sub>8</sub>**), 7.6 (dd,  $^3J$  = 8.3 Hz,  $^4J$  = 4.4 Hz, 1H, **H<sub>3</sub>**), 6.93 (m, 1H, **H<sub>3'</sub>**), 4.04 (s, 3H, **H<sub>OMe</sub>**) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 164.12, 150.62, 150.38, 147.46, 146.64, 146.00, 140.23, 136.09, 135.29, 134.17, 128.15, 128.04, 127.77, 127.08, 123.59, 123.10, 110.90, 53.83 ppm. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{ONa}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  310.10; found 310.09. Anal. Calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}\cdot\text{H}_2\text{O}$ : C, 70.81; H, 4.95; N, 13.76; found C, 70.61; H, 4.41; N, 13.42

## 52

**56** (217 mg, 755  $\mu\text{mol}$ ) was suspended in HBr (3 mL) and the mixture was heated at 110°C for 4h. The mixture was cooled down to r.t. and water (10 mL) was added. The

aqueous layer was washed with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  and a saturated solution of  $\text{NaHCO}_3$  was added dropwise until formation of a white precipitate that was filtered. The precipitate was washed with ether and dried under vacuum to obtain a white solid (168 mg, 81%).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) :  $\delta$  = 9.12 (dd,  $^3J$  = 4.3 Hz,  $^4J$  = 1.5 Hz, ), 9.09 (dd,  $^3J$  = 4.4 Hz,  $^4J$  = 1.6 Hz), 8.50 (dd,  $^3J$  = 8.2 Hz,  $^4J$  = 1.5 Hz, 1H,  $\text{H}_7$ ), 8.33 (dd,  $^3J$  = 8.4 Hz,  $^4J$  = 1.6 Hz, 1H,  $\text{H}_4$ ), 7.95 (s, 1H,  $\text{H}_6$ ), 7.79 (m, 2H,  $\text{H}_{3,8}$ ), 7.66 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{pyr}}$ ), 6.50 (d,  $^3J$  = 9.1 Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{pyr}}$ ) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 162.34, 150.08, 149.85, 145.73, 144.90, 142.57, 136.35, 134.08, 133.95, 127.99, 127.43, 126.61, 123.76, 123.43, 119.41, 115.82 ppm. HRMS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  274.0975; found 274.0981.

### 53

**43** (341 mg, 1.62 mmol) and ammonium acetate (3.75 g, 49 mmol) were dissolved in glacial acetic acid (10 mL) at  $70^\circ\text{C}$ . 6-hydroxynicotinaldehyde (200 mg, 1.62 mmol) dissolved in acetic acid (6 mL) was added to the mixture which was stirred for 4h at  $70^\circ\text{C}$ . The mixture was neutralized with an aqueous 1M NaOH solution. The grey precipitate was recovered by filtration, washed with water, and dried *in vacuo* (327 mg, 64%).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) :  $\delta$  = 9.01 (dd,  $^3J$  = 4.4 Hz,  $^4J$  = 1.6 Hz, 2H,  $\text{H}_{2,9}$ ), 8.82 (dd,  $^3J$  = 8.4 Hz,  $^4J$  = 0.9 Hz, 2H,  $\text{H}_{4,7}$ ), 8.32 (d,  $^4J$  = 2.2 Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{pyr}}$ ), 8.29 (dd,  $^3J$  = 9.4 Hz,  $^4J$  = 2.4 Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{pyr}}$ ), 7.81 (dd,  $^3J_1$  = 8.2 Hz,  $^3J_2$  = 3.8 Hz, 2H,  $\text{H}_{3,8}$ ), 6.57 (d,  $^3J$  = 9.5 Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{pyr}}$ ) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 172.97, 162.41, 148.83, 148.07, 143.80, 139.15, 134.76, 129.90, 123.71, 120.86, 109.83. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  314.10, found 314.11. Anal. Calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : C, 61.89; H, 4.33; N, 20.05. Found: C, 62.30; H, 4.04; N, 19.65.

### 54

**43** (85 mg, 406  $\mu\text{mol}$ ) and ammonium acetate (971 mg, 13 mmol) were dissolved in glacial acetic acid (2.5 mL) at  $70^\circ\text{C}$ . 2-hydroxypyridine-4-carbaldehyde (50 mg, 406  $\mu\text{mol}$ ) dissolved in acetic acid (1.5 mL) was added to the mixture which was stirred for 3h at  $70^\circ\text{C}$ . The mixture was neutralized with an aqueous 1M NaOH solution. The grey precipitate was recovered by filtration, washed with water, and dried *in vacuo* (50 mg,

39%).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*6) :  $\delta$  = 11.75 (s<sub>br</sub>, 1H, **N-H**), 9.04 (m, 2H, **H**<sub>2,9</sub>), 8.90 (dd,  $^3\text{J}$  = 8.1 Hz,  $^4\text{J}$  = 1.5 Hz, 2H, **H**<sub>4,7</sub>), 7.83 (dd,  $^3\text{J}_1$  = 8.3 Hz,  $^3\text{J}_2$  = 3.7 Hz, 2H, **H**<sub>3,8</sub>), 7.56 (d,  $^3\text{J}$  = 6.8 Hz, 1H, **H**<sub>pyr</sub>), 7.72 (d,  $^4\text{J}$  = 1 Hz, 1H, **H**<sub>pyr</sub>), 7.07 (dd,  $^3\text{J}$  = 6.8 Hz,  $^4\text{J}$  = 0.9 Hz) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO-*d*6): 172.67, 172.54, 168.83, 163.03, 148.54, 144.35, 143.10, 136.21, 130.26, 123.88, 115.86, 103.16, 42.41. HRMS (ESI) calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O [M + H]<sup>+</sup> 314.1036; found 314.1045.

### Ti(1)

In a screw top reaction vial **50** (3.00 mg, 10  $\mu\text{mol}$ ) was suspended in CHCl<sub>3</sub> (500  $\mu\text{L}$ ) and Ti(**38**)<sub>2</sub>(HO<sup>*i*</sup>Pr)<sub>2</sub> (8.5 mg, 10  $\mu\text{mol}$ ) was added. The vial was closed, and the mixture was heated at 70°C for 24h. The resulting red solution was concentrated *in vacuo* and the residue was purified by column chromatography (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 97:3) to obtain a red solid (68%). Crystals were obtained from THF/*n*-pentane. T = 296(2) K; triclinic; space group P -1; a = 11.7358(8) Å, b = 14.6477(9) Å, c = 16.7272(10) Å;  $\alpha$  = 90.196(2)°,  $\beta$  = 110.235(2)°,  $\gamma$  = 95.850(2)°; V = 2681.6(3) Å<sup>3</sup>; Z = 2; D<sub>calcd</sub> = 1.409 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 89149; R<sub>int</sub> = 0.0913; R<sub>1</sub>(F) (I > 2 $\sigma$ (I)) = 0.0786, wR<sub>2</sub>(F<sup>2</sup>) (all data) = 0.2410; GOF(F<sup>2</sup>) = 1.027.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) :  $\delta$  = 8.7 (dd,  $^3\text{J}$  = 5 Hz,  $^4\text{J}$  = 1.3 Hz, H<sub>2</sub>), 8.66 (dd,  $^3\text{J}$  = 5 Hz,  $^4\text{J}$  = 1.3 Hz, H<sub>9</sub>), 8.43 (dd,  $^3\text{J}$  = 8.3 Hz,  $^4\text{J}$  = 1.3 Hz, H<sub>4</sub>), 8.01 (dd,  $^3\text{J}$  = 8.3 Hz,  $^4\text{J}$  = 1.3 Hz, H<sub>7</sub>), 7.91 (s, H<sub>6</sub>), 7.49-7.51 (m, 5H), 7.28-7.33 (m, 5H, H<sub>3</sub>), 7.02-7.21 (m, 12H, H<sub>8</sub>), 6.98 (s, 1H), 6.58-6.64 (m, 3H), 6.48-6.31 (m, 2H), 6.36-6.43 (m, 10H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) :  $\delta$  = 164.41, 160.87, 160.84, 160.31, 160.28, 150.49, 150.18, 142.32, 142.17, 139.10, 139.07, 138.59, 138.45, 138.31, 136.91, 135.86, 135.21, 131.92, 131.85, 131.69, 131.59, 131.23, 130.81, 129.99, 129.98, 129.93, 129.92, 129.82, 129.81, 129.54, 128.82, 128.78, 128.71, 128.01, 127.87, 127.75, 127.73, 127.63, 127.59, 127.57, 126.37, 126.32, 126.03, 126.01, 125.18, 124.93, 124.15, 124.06, 123.61, 122.06, 122.05, 119.56, 119.50, 119.47, 108.68, 92.99, 89.87 ppm. MS (ESI) calcd. for C<sub>67</sub>H<sub>43</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>5</sub>Ti [M + Na]<sup>+</sup> 1040.26; found 1040.26. Anal. Calcd for C<sub>67</sub>H<sub>43</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>Ti•2 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: C, 69.77; H, 3.99, N, 3.54; found C, 70.39; H, 4.07; N, 3.60.

## Ti(2)

Under glovebag, in a screwtop vial, **38H<sub>2</sub>** (69 mg, 203  $\mu\text{mol}$ ), was dissolved in  $\text{CHCl}_3$  (1 mL).  $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$  (30  $\mu\text{L}$ , 101  $\mu\text{mol}$ ) was added and the solution turned immediately red. **57** (20 mg, 101  $\mu\text{mol}$ ) was added and the vial was closed. The mixture was sonicated and heated at 70°C for 1h until a crystalline red powder formed. The mixture was cooled to r.t., the solvent was extracted, the powder was washed three times with cold  $\text{CHCl}_3$  then with pentane and was dried *in vacuo* (88 mg, 95%). Crystals were obtained from  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /n-pentane.  $T = 296(2)$  K; triclinic; space group  $P \bar{1}$ ;  $a = 12.5967(9)$  Å,  $b = 14.7096(10)$  Å,  $c = 16.9820(11)$  Å;  $\alpha = 65.610(2)^\circ$ ,  $\beta = 69.273(2)^\circ$ ,  $\gamma = 70.820(2)^\circ$ ;  $V = 2618.2(3)$  Å<sup>3</sup>;  $Z = 2$ ;  $D_{\text{calcd}} = 1.347$  g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 87370;  $R_{\text{int}} = 0.0779$ ;  $R_1(F) (I > 2\sigma(I)) = 0.0630$ ,  $wR_2(F^2)$  (all data) = 0.1788;  $\text{GOF}(F^2) = 1.020$ . <sup>1</sup>H NMR (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta = 9.33$  (s<sub>br</sub>, 1H, **N-H**), 8.57 (dd, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, **H<sub>2</sub>**), 8.40 (dd, <sup>3</sup>J = 8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, **H<sub>4</sub>**), 8.18 (dd, <sup>3</sup>J = 5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 1H, **H<sub>9</sub>**), 7.46-7.43 (m, 4H), 7.34-7.30 (m, 8H, **H<sub>7</sub>**), 7.21-7.15 (m, 3H, **H<sub>3,8</sub>**), 7.10-7.01 (m, 9H), 6.73-6.56 (m, 15H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta = 161.32$ , 161.21, 160.56, 160.55, 160.32, 153.67, 147.93, 145.07, 139.55, 139.51, 139.39, 138.99, 133.55, 133.24, 132.66, 132.63, 132.02, 131.97, 130.35, 130.34, 130.32, 130.30, 130.26, 130.23, 130.22, 130.21, 129.45, 129.37, 129.11, 129.09, 128.84, 128.71, 128.18, 128.15, 128.05, 127.20, 127.01, 126.60, 126.46, 126.44, 126.19, 126.14, 125.87, 125.24, 124.13, 122.69, 122.66, 120.18, 120.13 ppm. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{59}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_5\text{Ti}$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  918.24; found 918.24. Anal. Calcd for  $\text{C}_{59}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_5\text{Ti} \cdot 1/2 \text{CH}_2\text{Cl}_2$ : C, 74.42; H, 4.20, N, 4.38; found C, 74.53; H, 4.24; N, 4.26.

## Ru(1)

In a two-necked round-bottom flask, a mixture of ethylene glycol and water (9:1, 3 mL) was degassed for 15 min by Ar bubbling. **61** (50 mg, 103  $\mu\text{mol}$ ) and **52** (28 mg, 103  $\mu\text{mol}$ ) were added and the mixture was stirred at 120 °C for 6h with light excluded. The orange mixture was cooled to r.t. and water (4.5 mL) was added. An aqueous saturated solution of  $\text{KPF}_6$  was added drop by drop until no precipitate formed anymore. The orange solid was filtered, washed with cold water and diethyl ether. The crude product



was purified by column chromatography (SiO<sub>2</sub>, MeCN:water:KNO<sub>3</sub>, 100:10:1). The fractions containing product were combined and the solvent was removed *in vacuo*. The residue was dissolved in MeCN, the excess KNO<sub>3</sub> was filtered off and an aqueous saturated solution of KPF<sub>6</sub> was added. The solution was concentrated until a precipitate formed. The precipitate was filtered, washed with cold water and diethyl ether to isolate **Ru(1)** (56 mg, 56%). <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>CN, 500 MHz): δ (ppm) = 8.58-8.49 (m, 7zH), 8.15 (s, 1H), 8.12-8.08 (m, 4H), 8.02-7.98 (m, 2H), 7.86-7.84 (m, 2H), 7.75-7.65 (m, 3H), 7.59-7.58 (m, 2H), 7.55-7.53 (m, 1H), 7.47-7.44 (m, 2H), 6.61 (d, 1H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CD<sub>3</sub>CN): δ = 162.45, 157.80, 157.76, 157.57, 157.56, 152.95, 152.92, 152.56, 152.53, 152.48, 152.38, 148.68, 147.62, 143.04, 138.41, 138.40, 138.31, 138.29, 137.08, 136.81, 136.26, 135.64, 131.00, 130.93, 128.10, 128.05, 127.97, 127.93, 126.92, 126.42, 124.83, 124.80, 124.75, 121.20 ppm. MS (ESI) calcd. for C<sub>37</sub>H<sub>27</sub>N<sub>7</sub>ORu<sup>2+</sup> 343.57; found 343.57. Anal. Calcd for C<sub>37</sub>H<sub>27</sub>F<sub>12</sub>N<sub>7</sub>OP<sub>2</sub>Ru•H<sub>2</sub>O: C, 44.68; H, 2.94, N, 9.86; found C, 44.17; H, 2.93; N, 9.65.

## Ru(2)

In a two-necked round-bottom flask, a mixture of ethylene glycol and water (9:1, 3 mL) was degassed for 15 min by Ar bubbling. **61** (50 mg, 103 μmol) and **57** (20 mg, 103 μmol) were added and the mixture was stirred at 120 °C for 6h with light excluded. The orange mixture was cooled to r.t. and water (4.5 mL) was added. An aqueous saturated solution of KPF<sub>6</sub> was added drop by drop until no precipitate formed anymore. The orange solid was filtered, washed with cold water and diethyl ether. The crude product was purified by column chromatography (SiO<sub>2</sub>, MeCN:water:KNO<sub>3</sub> 100:10:1). The fractions containing product were combined and the solvent was removed *in vacuo*. The residue was dissolved in MeCN, the excess KNO<sub>3</sub> was filtered off and an aqueous saturated solution of KPF<sub>6</sub> was added. The solution was concentrated until a precipitate formed. The precipitate was filtered, washed with cold water and diethyl ether to isolate **Ru(2)**. (51 mg, 81%). Crystals were obtained from acetone/Et<sub>2</sub>O. T = 296(2) K; monoclinic; space group P 21/c; a = 13.4931(5) Å, b = 13.8886(4) Å, c = 19.9737(8) Å; β = 94.6980(10); V = 3730.5(3) Å<sup>3</sup>; Z = 4; D<sub>calcd</sub> = 1.707 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 35303; R<sub>int</sub> = 0.0671; R<sub>1</sub>(F) (I > 2σ(I)) = 0.0637, wR<sub>2</sub>(F<sup>2</sup>) (all data) = 0.1935; GOF(F<sup>2</sup>)

= 1049.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{CN}$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) = 8.68 (dd, 1H,  $^3\text{J}$  = 8.1 Hz,  $^4\text{J}$  = 1.2 Hz, **H<sub>4</sub>**), 8.52-8.48 (m, 4H, **H<sub>2</sub>** + **H<sub>bpy</sub>**), 8.10-8.03 (m, 5H), 7.95 (dd, 1H,  $^3\text{J}$  = 8.3 Hz,  $^4\text{J}$  = 1.2 Hz), 7.80-7.77 (m, 2H), 7.74-7.71 (m, 2H), 7.55-7.50 (m, 2H), 7.44-7.41 (m, 2H), 7.37-7.33 (m, 2H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ):  $\delta$  (ppm) = 160.58, 158.20, 157.87, 157.85, 156.98, 155.16, 153.31, 153.26, 153.08, 152.96, 147.63, 139.27, 138.93, 138.90, 137.58, 136.99, 129.55, 128.55, 128.50, 128.49, 128.47, 128.24, 127.36, 125.25, 125.19, 125.15, 124.84 ppm. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{31}\text{H}_{23}\text{N}_7\text{ORu}^{2+}$  305.55; found 305.55. Anal. Calcd for  $\text{C}_{31}\text{H}_{23}\text{F}_{12}\text{N}_7\text{OP}_2\text{Ti}$ : C, 41.34 H, 2.57, N, 10.89; found C, 40.28; H, 2.72; N, 10.25.

### Ru(3)

In a two-necked round-bottom flask, MeCN (5 mL) was degassed by argon bubbling for 15 min. **64** (50 mg, 100  $\mu\text{mol}$ ) and **57** (20 mg, 100  $\mu\text{mol}$ ) were added and the mixture was stirred at 30 °C for 48 h, then 40 °C for 24 h and finally 45 °C for 48 h. The mixture was filtered, and the purple solution was purified by column chromatography ( $\text{SiO}_2$ , MeCN:water: $\text{KNO}_3$  100:3:1). The red band was recovered, the fractions were combined, and the solvent was removed *in vacuo*. The residue was redissolved in a minimum of MeCN, and an aqueous saturated  $\text{KPF}_6$  was added (2 mL). MeCN was removed to obtain a dark precipitate which was filtered and washed with ether to isolate **Ru(3)** (12 mg, 18%).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) = 11.33-11.24 (*m<sub>br</sub>*, 2H, **N-H**), 9.79 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 5 Hz, **H<sub>2</sub>**), 9.27 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 4.7 Hz, **H<sub>2'</sub>**), 8.87 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 5.4 Hz, **H<sub>9'</sub>**), 8.83 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 8 Hz, **H<sub>4</sub>**), 8.62 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 7.9 Hz, **H<sub>7'</sub>**), 8.40 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 5.3 Hz, **H<sub>9</sub>**), 8.13 (dd, 1H,  $^3\text{J}_1$  = 7.8 Hz,  $^3\text{J}_2$  = 5.3 Hz **H<sub>3</sub>**), 8.05 (d, 1H,  $^3\text{J}_1$  = 8.2 Hz, **H<sub>4'</sub>**), 7.96 (dd, 1H,  $^3\text{J}_1$  = 8.1 Hz,  $^3\text{J}_2$  = 4.9 Hz **H<sub>3'</sub>**), 7.86-7.81 (m, 3H, **H<sub>7,a,a'</sub>**), 7.46 (dd, 1H,  $^3\text{J}_1$  = 7.7 Hz,  $^3\text{J}_2$  = 5.7 Hz **H<sub>8'</sub>**), 7.35 (dd, 1H,  $^3\text{J}_1$  = 8.2 Hz,  $^3\text{J}_2$  = 5.4 Hz **H<sub>8</sub>**), 7.26-7.21 (m, 2H, **H<sub>b,b'</sub>**), 7.09-7.07 (m, 2H, **H<sub>d,d'</sub>**), 6.99-6.94 (m, 2H, **H<sub>c,c'</sub>**), 3.94 (m, 2H, **H<sub>f,f'</sub>**), 3.34 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 5 Hz, **H<sub>g</sub>**), 3.31 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 5 Hz, **H<sub>g'</sub>**), 2.55 (m, 6H, **MeCN**), 2.31 (s, 6H, **H<sub>h,h'</sub>**), 2.11 (s, 3H, **MeCN**), 2.10 (s, 3H, **MeCN**), 1.42 (s, 3H, **H<sub>i</sub>**), 1.40 (s, 3H, **H<sub>r</sub>**).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 161.83, 161.28, 157.51, 156.64, 156.11, 152.38, 148.95, 147.68, 146.91, 141.01, 137.41, 136.85, 135.13, 135.12, 134.62, 133.71, 128.87, 128.08, 127.54, 126.63, 125.21, 125.10, 124.63, 123.54, 122.56, 120.73, 120.60, 73.30, 52.85, 52.78, 51.41, 51.09, 4.83, 4.21, 4.20. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{ORu}^+$  515.11, found

515.11. Anal. Calcd for  $C_{24}H_{25}F_6N_6OPRu \cdot 2 CH_2Cl_2$ : C, 37.65; H, 3.52; N, 10.13; found C, 35.94; H, 3.50; N, 10.17.

#### Ru(4)

In a two-necked round-bottom flask, MeOH (10 mL) was degassed by argon bubbling for 15 min. **66** (95 mg, 149  $\mu$ mol) and **57** (29 mg, 149  $\mu$ mol) were added to the mixture was stirred at 70°C overnight. The mixture was cooled down to r.t. and the solvent was removed *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography ( $Al_2O_3$ , MeCN:water 99:1). The red band was recovered, the fractions were combined, and the solvent was removed *in vacuo* to isolate a purple crystalline powder (20 mg, 18%).  $^1H$  NMR ( $CD_3CN$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) = 10.07 ( $s_{br}$ , 2H, **N-H + N-H'**), 8.64 (dd, 1H,  $^3J = 8.1$  Hz,  $^4J = 1.3$  Hz,  $H_{57}$ ), 8.46 (dd,  $^3J = 8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz,  $H_{57'}$ ), 8.32-8.30 (m, 5H), 8.26 (dd, 1H,  $^3J = 5.6$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz,  $H_{57'}$ ), 8.22 (dd,  $^3J = 5.3$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz,  $H_{57}$ ), 8.02-7.99 (m, 2H), 7.87-7.78 (m, 13H), 7.75 (dd, 1H,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^4J = 1.1$  Hz), 7.70-7.66 (m, 6H), 7.62 (dd, 1H,  $^3J = 8.4$  Hz,  $^4J = 1$  Hz), 7.58-7.55 (m, 4H), 7.48 (dd, 1H,  $^3J_1 = 5.6$  Hz,  $^3J_2 = 8.1$  Hz,  $H_{phen'}$ ), 7.36 (dd, 1H,  $^3J_1 = 5.5$  Hz,  $^3J_2 = 8.4$  Hz), 7.18-7.14 (m, 2H), 6.92-6.83 (m, 7H), 6.47-6.43 (m, 2H) ppm.  $^{13}C$  NMR ( $CD_3CN$ , 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 167.67, 160.71, 160.63, 158.50, 157.42, 157.38, 157.33, 155.58, 153.98, 152.97, 151.53, 151.48, 151.15, 151.04, 150.95, 149.50, 144.57, 137.52, 136.80, 136.60, 136.43, 136.39, 136.09, 135.09, 134.68, 134.55, 133.56, 128.99, 128.75, 128.02, 127.49, 126.89, 126.87, 126.86, 126.67, 126.64, 126.61, 126.28, 124.65, 123.57, 123.53, 123.48, 122.89, 122.83, 122.82, 121.45, 119.37, 119.32 ppm. MS (ESI) calcd. for  $C_{32}H_{23}N_6ORu^+$  609.10, found 609.10. Anal. Calcd for  $C_{32}H_{23}F_6N_6OPRu \cdot 2 CH_2Cl_2$ : C, 44.22; H, 2.95; N, 9.10; found C, 43.50; H, 2.93; N, 9.31.

#### Ru(5)

A solution of **63** (61 mg, 122  $\mu$ mol) and **57** (50 mg, 254  $\mu$ mol) was heated to reflux for 4h. Solvent was removed *in vacuo* and the residue was redissolved in water (10 mL). The insoluble material was filtered off and a saturated aqueous solution of  $KPF_6$  was added until no precipitate formed anymore. The precipitate was filtered on a fritted funnel, washed with water (3x 10 mL), with  $Et_2O$  (3x 10 mL) to obtain a yellow powder.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{CN}$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) = 9.95 (dd, 1H,  $^3\text{J}$  = 5.4 Hz,  $^4\text{J}$  = 1.3 Hz, **H**<sub>2</sub>), 9.18 (dd, 1H,  $^3\text{J}$  = 5.3 Hz,  $^4\text{J}$  = 0.9 Hz, **H**<sub>9</sub>), 8.81 (dd, 1H,  $^3\text{J}$  = 8.1 Hz,  $^4\text{J}$  = 1.31 Hz, **H**<sub>4</sub>), 7.97-7.93 (m, 2H, **H**<sub>3,7</sub>), 7.80 (dd, 1H,  $^3\text{J}$  = 8.1 Hz,  $^4\text{J}$  = 1.31 Hz, **H**<sub>8</sub>), 6.07 (s, 6H, **H**<sub>benz</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{CN}$ , 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 159.59, 159.38, 152.83, 150.39, 139.04, 137.12, 136.53, 129.10, 127.87, 126.48, 126.42, 87.16. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{ClN}_3\text{ORu}^+$  411.98, found 411.98. Anal. Calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{ClF}_6\text{N}_3\text{OPRu}$ : C, 36.67; H, 2.35; N, 7.55; found C, 36.51; H, 2.48; N, 7.53.

### Pt(1)

**71** (48 mg, 126  $\mu\text{mol}$ ) and **52** (35 mg, 126  $\mu\text{mol}$ ) were suspended in distilled water (12 mL) and the mixture was stirred at reflux for three days. The clear yellow solution was concentrated *in vacuo* until the volume reached around 2 mL. The product was purified on a Porapak Rxn RP 20cc column with water as eluent. The fractions containing product were combined, concentrated *in vacuo* until the volume reached around 3 mL. Saturated aqueous  $\text{KPF}_6$  was added to the solution until no precipitate formed anymore. The yellow residue was filtered on a fritted funnel, and air-dried. Yield: 20%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{CN}$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) = 8.94-8.89 (m, 4H, **H**<sub>2,4,7,9</sub>), 8.15 (s, 1H, **H**<sub>6</sub>), 8.08 (dd, 1H,  $^3\text{J}_1$  = 8.3 Hz,  $^3\text{J}_2$  = 5.4 Hz, **H**<sub>3or8</sub>), 8.06 (dd, 1H,  $^3\text{J}_1$  = 8.6 Hz,  $^3\text{J}_2$  = 5.4 Hz, **H**<sub>3or8</sub>), 7.63 (dd, 1H,  $^3\text{J}$  = 9.4 Hz,  $^4\text{J}$  = 2.7 Hz, **H**<sub>pyr</sub>), 7.58 (d, 1H,  $^4\text{J}$  = 2.6 Hz, **H**<sub>pyr</sub>), 6.63 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 9.5 Hz, **H**<sub>pyr</sub>), 5.82 (s<sub>br</sub>, 2H, **NH**<sub>2</sub>), 5.17 (s<sub>br</sub>, 2H, **NH**<sub>2</sub>), 2.78 (m, 2H, **H**<sub>DACH</sub>), 2.25 (m, 2H, **H**<sub>DACH</sub>), 1.71 (m, 2H, **H**<sub>DACH</sub>), 1.53 (m, 2H, **H**<sub>DACH</sub>), 1.31 (m, 2H, **H**<sub>DACH</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{CN}$ , 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 162.89, 152.63, 152.47, 149.04, 147.85, 143.28, 142.09, 140.64, 137.57, 137.15, 131.68, 128.39, 127.78, 127.39, 121.81, 114.91, 62.88, 62.84, 33.15, 24.87. HRMS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{OPt}^{2+}$  291.0849, found 291.0862.

### Pt(2)

**71** (77 mg, 203  $\mu\text{mol}$ ) and **57** (40 mg, 203  $\mu\text{mol}$ ) were suspended in distilled water (18 mL) and the mixture was stirred at reflux overnight. The clear yellow solution was concentrated *in vacuo* until the volume reached around 2 mL. The product was purified on a Porapak Rxn RP 20cc column with water as eluent. The fractions containing product were combined and dried *in vacuo* to obtain a yellow solid. Yield: 39%.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) = 9.01 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 8.1 Hz,  $\text{H}_4$ ), 8.95 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 5.6 Hz,  $\text{H}_2$ ), 8.50 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 5.3 Hz,  $\text{H}_9$ ), 8.20 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 8.6 Hz,  $\text{H}_7$ ), 8.01 (dd, 1H,  $^3\text{J}_1$  = 5.7 Hz,  $^3\text{J}_2$  = 8.06 Hz,  $\text{H}_3$ ), 7.87 (dd, 1H,  $^3\text{J}_1$  = 5.4 Hz,  $^3\text{J}_2$  = 8.5 Hz,  $\text{H}_8$ ), 2.71-2.69 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{DACH}}$ ), 2.21 (d, 2H,  $^3\text{J}$  = 13 Hz,  $\text{H}_{\text{DACH}}$ ), 1.66 (d, 2H,  $^3\text{J}$  = 8.8 Hz,  $\text{H}_{\text{DACH}}$ ), 1.47 (d, 2H,  $^3\text{J}$  = 9.2 Hz,  $\text{H}_{\text{DACH}}$ ), 1.29-1.20 (q, 2H,  $^3\text{J}$  = 13 Hz,  $\text{H}_{\text{DACH}}$ ) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 161.08, 154.52, 154.50, 145.86, 139.87, 138.88, 135.44, 129.08, 128.56, 127.77, 125.51, 61.67, 61.64, 32.01, 31.97, 23.75 ppm. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{OPt}^{2+}$  253.07; found 253.07. Anal. Calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{OPt}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : C, 33.29; H, 4.11; N, 11.42; found C, 32.22; H, 4.10; N, 11.05.

### Pt(3) – Method 1 – $\text{PF}_6$ salt

$[\text{Pt}(1,4\text{-DACH})\text{Cl}_2]$  (60 mg, 158  $\mu\text{mol}$ ) was dissolved in DMF (4 mL).  $\text{AgNO}_3$  (59 mg, 347  $\mu\text{mol}$ ) was added and the mixture was stirred for 16h with light excluded. The mixture was centrifuged for 5 min at 4000 rpm. To the supernatant was added PhenD (37 mg, 189  $\mu\text{mol}$ ) and the mixture was stirred for 16 h and then for 24 h at 50°C. The yellow mixture was cooled to room temperature and centrifuged for 5 min at 4000 rpm. The yellow precipitate was washed with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x 5 mL) and air-dried. The residue was dissolved in water (10 mL), filtered and a saturated aqueous solution of  $\text{KPF}_6$  was added. The solution was concentrated *in vacuo* until a precipitate appeared. The mixture was allowed to rest O.N. with light excluded. The solid was centrifuged 5 min at 4000 rpm, the solid was washed with a 50:50 mixture of *i*PrOH:Et<sub>2</sub>O and air-dried. Yield: 16%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) = 8.83 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 8.01 Hz,  $\text{H}_4$ ), 8.64 (d, 1H,  $^3\text{J}$  = 5.2 Hz,  $\text{H}_2$ ), 7.99 (dd,  $^3\text{J}_1$  = 7.8 Hz,  $^3\text{J}_2$  = 5.8 Hz,  $\text{H}_3$ ), 7.93-7.88 (m, 2H,  $\text{H}_{7/9}$ ), 7.69 (dd,  $^3\text{J}_1$  = 8.6 Hz,  $^3\text{J}_2$  = 5.2 Hz,  $\text{H}_8$ ), 6.52 (s, 4H,  $\text{NH}_2$ ), 3.44 (s<sub>br</sub>, 2H,  $\text{CH-NH}_2$ ), 1.8-1.72 (m, 8H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ , 125 MHz):  $\delta$  (ppm) = 167.11, 154.11, 149.51, 140.46, 138.55, 137.86, 135.41, 126.65, 126.28, 125.11, 46.93, 46.83, 21.75, 21.70. MS (ESI) calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{OPt}^+ [\text{M} - \text{H}]^+$  505.13, found 505.13.

### Pt(3) – Method 2 – NO<sub>3</sub> salt

[Pt(1,4-DACH)Cl<sub>2</sub>] (50 mg, 130 μmol) was dissolved in DMF (3.5 mL). AgNO<sub>3</sub> (59 mg, 347 μmol) was added and the mixture was stirred for 16h with light excluded. The mixture was centrifuged for 5 min at 4000 rpm and the precipitate was discarded. A solution of **57** (31 mg, 160 μmol) in DMF (17 mL) was added to the mixture and the resulting solution was stirred at r.t. for 72h and at 35°C for 16h. An equivalent of **57** (25 mg, 130 μmol) was added and the mixture was stirred at 35°C for 48h. Another equivalent was added and the mixture was stirred for 16h at 35°C. The solvent was then removed *in vacuo*, the remaining ligand was separated by dissolution of the mixture in water and centrifugation. The supernatant was purified by column chromatography over reverse stationary phase (Porapak Rxn RP 6cc (0.4 g), water) to obtain a yellow solid (43 mg, 52%). <sup>1</sup>H NMR (MeOD, 500 MHz): δ (ppm) = 9.12 (dd, 1H, <sup>3</sup>J= 8.1 Hz, <sup>4</sup>J= 1.2 Hz, **H**<sub>4</sub>), 8.88 (dd, 1H, <sup>3</sup>J= 5.8 Hz, <sup>4</sup>J= 1.1 Hz, **H**<sub>2</sub>), 8.40 (dd, 1H, <sup>3</sup>J= 5.7 Hz, <sup>4</sup>J= 0.8 Hz, **H**<sub>9</sub>), 8.23 (dd, 1H, <sup>3</sup>J= 8.6 Hz, <sup>4</sup>J= 0.8 Hz, **H**<sub>7</sub>), 8.13 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1</sub>= 5.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2</sub>= 8.1 Hz, **H**<sub>3</sub>), 8.00 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1</sub>= 5.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2</sub>= 8.6 Hz, **H**<sub>8</sub>), 6.63 (s<sub>br</sub>, 4H, **NH**<sub>2</sub>), 3.61 (s<sub>br</sub>, 2H, **H**<sub>DACH</sub>), 2.00-1.86 (m, 8H, **H**<sub>DACH</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (MeOD, 125 MHz): δ (ppm) = 160.59, 156.23, 152.55, 143.65, 141.54, 140.14, 138.12, 129.53, 129.38, 128.04, 127.82, 22.69, 22.67 ppm. HRMS (ESI) calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>OPt<sup>2+</sup> 253.0692, found 253.0696.

### [Pt(**57**)Cl<sub>2</sub>]

**57** (50 mg, 254 μmol) was dissolved in MeOH (20 mL). **73** (107 mg, 254 μmol) was added and the mixture was stirred for 16h. The yellow precipitate which appeared was centrifuged 5 min at 4000 rpm, washed with Et<sub>2</sub>O and centrifuged three times. The yellow residue was then allowed to air-dry. The product was used without further purification for the next step. Yield: 82%

### Pt(4a)

[Pt(**57**)Cl<sub>2</sub>] (50 mg, 108 μmol) and (1*S*,2*S*)-1,2-dped (46 mg, 216 μmol) were suspended in water (100 mL) and stirred for 24 h at reflux. The mixture was allowed to

cool at room temperature and was concentrated *in vacuo* until 50 mL solvent remained. A saturated aqueous solution of KPF<sub>6</sub> was added until no precipitate formed anymore. The mixture was filtered on a fritted funnel, washed with water and Et<sub>2</sub>O to obtain a yellow powder. Yield: 38%. Crystals were obtained from MeCN/Et<sub>2</sub>O. T = 296(2) K; orthorhombic; space group P 2<sub>1</sub> 2<sub>1</sub> 2<sub>1</sub>; a = 6.6613(4) Å, b = 16.7503(10) Å, c = 32.2265(18) Å; α = β = γ = 90°; V = 3595.8(4) Å<sup>3</sup>; Z = 4; D<sub>calcd</sub> = 1.518 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 106407; R<sub>int</sub> = 0.0807; R<sub>1</sub>(F) (I > 2σ(I)) = 0.0556, wR<sub>2</sub>(F<sup>2</sup>) (all data) = 0.1337; GOF(F<sup>2</sup>) = 1.118. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>CN, 500 MHz): δ (ppm) = 8.75 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 8 Hz, **H<sub>4</sub>**), 8.13 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, **H<sub>2</sub>**), 7.73 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, **H<sub>7</sub>**), 7.67-7.66 (m, 5H, **H<sub>9</sub>,H<sub>Ph</sub>**), 7.39-7.33 (m, 7H, **H<sub>3</sub>,H<sub>Ph</sub>**), 7.13 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1</sub> = 8.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2</sub> = 5.2 Hz, **H<sub>8</sub>**), 6.43-6.09 (m<sub>br</sub>, 4H, **NH<sub>2</sub>**), 4.86 (s, 2H, **CH-NH<sub>2</sub>**). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>CN, 125 MHz): δ (ppm) = 168.89, 152.96, 152.09, 147.05, 142.17, 140.29, 137.70, 136.24, 136.16, 135.23, 130.11, 130.09, 129.74, 129.72, 129.02, 128.95, 127.56, 127.24, 126.30, 66.76, 66.47. MS (ESI) calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>OPt<sup>2+</sup> 302.08, found 302.08. Anal. Calcd for C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>F<sub>12</sub>N<sub>5</sub>OP<sub>2</sub>Pt•2MeCN•C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>: C, 38.31; H, 3.80; N, 9.48; found C, 39.13; H, 3.41; N, 9.12.

#### Pt(4b)

[Pt(**57**)Cl<sub>2</sub>] (46 mg, 99 μmol) and (1*R*,2*R*)-1,2-dped (42 mg, 199 μmol) were suspended in water (100 mL) and stirred for 24 h at reflux. The mixture was allowed to cool at room temperature and was concentrated *in vacuo* until 50 mL solvent remained. A saturated aqueous solution of KPF<sub>6</sub> was added until no precipitate formed anymore. The mixture was filtered on a fritted funnel, washed with water and Et<sub>2</sub>O to obtain a yellow powder. Yield: 43%. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>CN, 500 MHz): δ (ppm) = 8.80 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, **H<sub>4</sub>**), 7.99 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 4 Hz, **H<sub>2</sub>**), 7.87 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, **H<sub>7</sub>**), 7.70 (s<sub>br</sub>, 4H, **H<sub>Ph</sub>**), 7.66 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 4.5 Hz **H<sub>3</sub>**), 7.39-7.36 (m, 6H), 7.28-7.22 (m, 2H), 6.05-5.80 (m, 4H, **N-H**), 4.92 (s, 2H, **H<sub>DPED</sub>**) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>CN, 125 MHz): δ (ppm) = 169.76, 153.45, 152.22, 142.55, 140.74, 138.35, 136.67, 136.60, 136.50, 130.57, 130.17, 130.15, 129.44, 129.38, 128.10, 128.04, 126.60, 67.07, 66.94 ppm. MS (ESI) calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>OPt<sup>2+</sup> 302.08, found 302.08. Anal. Calcd for C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>F<sub>12</sub>N<sub>5</sub>OP<sub>2</sub>Pt•MeCN•C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>: C, 38.14; H, 3.80; N, 8.34; found C, 37.54; H, 3.26; N, 8.59.

### Structural data from 72

Crystals were obtained from MeCN/Et<sub>2</sub>O. T = 296(2) K; triclinic; space group P 1; a = 10.7786(3) Å, b = 12.5064(4) Å, c = 16.5915(6) Å;  $\alpha$  = 109.7330(10)°,  $\beta$  = 92.1980(10)°,  $\gamma$  = 102.0720(10)°; V = 2044.19(11) Å<sup>3</sup>; Z = 2; D<sub>calcd</sub> = 2.052 g/cm<sup>3</sup>; reflections collected: 53859; R<sub>int</sub> = 0.0611; R<sub>1</sub>(F) (I > 2σ(I)) = 0.0366, wR<sub>2</sub>(F<sup>2</sup>) (all data) = 0.0724; GOF(F<sup>2</sup>) = 1.006.

### PBS solution for hydrolytic stability tests.

Components and stock solution concentration (mM)		Concentration (g.L <sup>-1</sup> )
NaCl	137	8.0
KCl	2.7	0.2
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10	1.42
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.76	0.24





## Publications et Comuncations

### Publications

L. Barloy, B. Heinrich, L. Douce, M. Henry, M. Scarpi-Luttenauer, N. Kyritsakas and P. Mobian, *Dalton Trans.*, 2019, **48**, 1960. *A Robust Ti(IV)-Based Mesogen Constructed around a TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub> Core.*

M. Scarpi-Luttenauer, L. Geminiani, P. Lebrun, N. Kyritsakas, A. Chaumont, M. Henry and P. Mobian, *Inorg. Chem.*, 2020, **59**, 12005. *Bent 1,10-Phenanthroline Ligands within Octahedral Complexes Constructed around a TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub> Core.*

M. Scarpi-Luttenauer, N. Kyritsakas, A. Chaumont and P. Mobian, *Chem. Eur. J.*, 2021, **27**, 17910. *Chemistry on the complex: derivatization of TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub>-based complexes and application to multi-step synthesis.*

L. Barloy, B. Heinrich, M. Scarpi-Luttenauer, L. Douce, M. Henry, G. Khalil, D. Klein, N. Kyritsakas and P. Mobian, *Dalton Trans.*, 2021, **4**, 17008. *Modified pyridine-triazole and 2,2'-bipyrimidine ligands generating robust titanium complexes constructed around a TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub> core.*

E. Day, B. Kauffmann, M. Scarpi-Luttenauer, A. Chaumont, M. Henry and P. Mobian, *Chem. Eur. J.*, 2022, *An alternate [2x2] grid constructed around TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub> units.*

### **Acceptée**

M. Scarpi-Luttenauer, Laurent Barloy and P. Mobian, *Coord. Chem. Rev.*, 2022, *Synthesis, structure and functions of discrete titanium-based multinuclear architectures.* **Acceptée**

## Communications

### Orales

Journée de l'UMR 7140, 7 mai 2019. *Synthesis of Titanium(IV) Complexes for Anticancer Therapy.*

Strasbourg-Hokkaido Workshop, 18 décembre 2019, université de Strasbourg. *Distorted Phenanthroline Ligands within Titanium(IV) Complexes for Anticancer Therapy.*

Journée des doctorants de l'ED 222, 19 décembre 2019, université de Strasbourg. *Distorted Phenanthroline Ligands within Titanium(IV) Complexes for Anticancer Therapy.*

Journée de l'UMR 7140, 6 mai 2020, symposium en ligne, université de Strasbourg. *Cancer Therapy Targetting a Protein Kinase with a Titanium(IV) complex*

### Par affiche

Présentation « flash » d'un poster, 2<sup>nd</sup> Mini Interdisciplinary Student Symposium, 26 mars 2021, symposium en ligne, université du Québec, Trois-Rivières, Québec, Canada. *Chemistry on the Complex, Derivatization of TiO<sub>4</sub>N<sub>2</sub>-Based Complexes.* **Most Charming Award, prix: 110 CAD**

## Bibliographie

- [1] “Panorama des cancers en France,” can be found under <https://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Panorama-des-cancers-en-France-Edition-2021>, **2021**.
- [2] D. E. Brash, J. A. Rudolph, J. A. Simon, A. Lin, G. J. Mckenna, H. P. Baden, A. J. Halperin, J. Pontén, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1991**, *88*, 10124–10128.
- [3] E. Ron, J. H. Lubin, R. E. Shore, K. Mabuchi, B. Modan, L. M. Pottern, A. B. Schneider, M. A. Tucker, J. D. Boice, *Radiat. Res.* **1995**, *141*, 259–277.
- [4] P. N. Magee, J. M. Barnes, *Br. J. Cancer* **1956**, *10*, 114–122.
- [5] K. E. De Visser, A. Eichten, L. M. Coussens, *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6*, 24–37.
- [6] M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. D. Cronin, M. Mazur, J. Telser, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2007**, *39*, 44–84.
- [7] J. H. Houtgraaf, J. Versmissen, W. J. van der Giessen, *Cardiovasc. Revascularization Med.* **2006**, *7*, 165–172.
- [8] A. C. Schinzel, W. C. Hahn, *Front. Biosci.* **2008**, *13*, 71–84.
- [9] N. Beerewinkel, T. Antal, D. Dingli, A. Traulsen, K. W. Kinzler, V. E. Velculescu, B. Vogelstein, M. A. Nowak, *PLoS Comput. Biol.* **2007**, *3*, 2239–2246.
- [10] D. Hanahan, R. A. Weinberg, *Cell* **2011**, *144*, 646–674.
- [11] The American Cancer Society, “Oncogenes and tumor suppressor genes,” can be found under <https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/genetics/genes-and-cancer/oncogenes-tumor-suppressor-genes.html><https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/genetics/genes-and-cancer/oncogenes-tumor-suppressor-genes.html>, **2014**.
- [12] P. Meijnen, J. L. Peterse, N. Antonini, E. J. T. Rutgers, M. J. Van De Vijver, *Br. J. Cancer* **2008**, *98*, 137–142.
- [13] B. Vogelstein, D. Lane, A. J. Levine, *Nature* **2000**, *408*, 307–310.
- [14] G. Manning, D. B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, S. Sudarsanam, *Science*, **2002**, *298*, 1912–1934.
- [15] R. Roskoski, *Pharmacol. Res.* **2020**, *152*, 104609.
- [16] P. A. Schwartz, B. W. Murray, *Bioorg. Chem.* **2011**, *39*, 192–210.
- [17] R. Roskoski, *Pharmacol. Res.* **2016**, *103*, 26–48.
- [18] D. R. Knighton, J. Zheng, L. F. T. E. N. Eyck, V. A. Ashford, N. Xuong, S. S.

- Taylor, J. M. Sowadski, *Science* (80-. ). **1991**, 253, 407–414.
- [19] A. P. Kornev, S. S. Taylor, *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics* **2010**, 1804, 440–444.
- [20] Y. Liu, K. Shah, F. Yang, L. Witucki, K. M. Shokat, *Bioorganic Med. Chem.* **1998**, 6, 1219–1226.
- [21] N. R. Brown, M. E. M. Noble, J. A. Endicott, L. N. Johnson, *Nat. Cell Biol.* **1999**, 1, 438–443.
- [22] S. K. Hanks, T. Hunter, *FASEB J.* **1995**, 9, 576–596.
- [23] Madhusudan, E. A. Trafny, N. -H Xuong, J. A. Adams, L. F. T. Eyck, S. S. Taylor, J. M. Sowadski, *Protein Sci.* **1994**, 3, 176–187.
- [24] H. J. Su Huang, M. Nagane, C. K. Klingbeil, H. Lin, R. Nishikawa, X. D. Ji, C. M. Huang, G. N. Gill, H. S. Wiley, W. K. Cavenee, *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 2927–2935.
- [25] A. J. Wong, S. H. Bigner, D. D. Bigner, K. W. Kinzler, S. R. Hamilton, B. Vogelstein, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1987**, 84, 6899–6903.
- [26] D. M. Ornitz, N. Itoh, *Genome Biol.* **2001**, 2, reviews3005.1-3005.12.
- [27] R. Porta, R. Borea, A. Coelho, S. Khan, A. Araújo, P. Reclusa, T. Franchina, N. Van Der Steen, P. Van Dam, J. Ferri, R. Sirera, A. Naing, D. Hong, C. Rolfo, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2017**, 113, 256–267.
- [28] N. Ferrara, H. P. Gerber, J. LeCouter, *Nat. Med.* **2003**, 9, 669–676.
- [29] D. J. Hicklin, L. M. Ellis, *J. Clin. Oncol.* **2005**, 23, 1011–1027.
- [30] D. O. Morgan, *The Cell Cycle: Principles of Control - David Owen Morgan*, New Science Press, **2007**.
- [31] M. Malumbres, M. Barbacid, *Nat. Rev. Cancer* **2009**, 9, 153–166.
- [32] S. Ortega, M. Malumbres, M. Barbacid, *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Cancer* **2002**, 1602, 73–87.
- [33] A. S. Dhillon, S. Hagan, O. Rath, W. Kolch, *Oncogene* **2007**, 26, 3279–3290.
- [34] R. Roskoski, *Pharmacol. Res.* **2012**, 66, 105–143.
- [35] R. Seger, E. G. Krebs, *FASEB J.* **1995**, 9, 726–735.
- [36] R. Treisman, *Curr. Opin. Cell Biol.* **1996**, 8, 205–215.
- [37] L. M. Graves, H. I. Guy, P. Kozlowski, M. Huang, E. Lazarowski, R. M. Pope, M. A. Collins, E. N. Dahlstrand, H. S. Earp, D. R. Evans, *Nature* **2000**, 403, 328–332.
- [38] A. Palmer, A. C. Gavin, A. R. Nebreda, *EMBO J.* **1998**, 17, 5037–5047.

- [39] Z. Xia, M. Dickens, J. Raingeaud, R. J. Davis, M. E. Greenberg, *Science* (80-. ). **1995**, *270*, 1326–1331.
- [40] J. D. Benson, Y.-N. P. Chen, S. A. Cornell-Kennon, M. Dorsch, S. Kim, M. Leszczyniecka, W. R. Sellers, C. Lengauer, *Nature* **2006**, *441*, 451–456.
- [41] H. Davies, G. R. Bignell, C. Cox, P. Stephens, S. Edkins, S. Clegg, J. Teague, H. Woffendin, M. J. Garnett, W. Bottomley, N. Davis, E. Dicks, R. Ewing, Y. Floyd, K. Gray, S. Hall, R. Hawes, J. Hughes, V. Kosmidou, A. Menzies, C. Mould, A. Parker, C. Stevens, S. Watt, S. Hooper, H. Jayatilake, B. A. Gusterson, C. Cooper, J. Shipley, D. Hargrave, K. Pritchard-Jones, N. Maitland, G. Chenevix-Trench, G. J. Riggins, D. D. Bigner, G. Palmieri, A. Cossu, A. Flanagan, A. Nicholson, J. W. C. Ho, S. Y. Leung, S. T. Yuen, B. L. Weber, H. F. Seigler, T. L. Darrow, H. Paterson, R. Wooster, M. R. Stratton, P. A. Futreal, *Nature* **2002**, *417*, 949–954.
- [42] J. Downward, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 11–22.
- [43] J. S. Sebolt-Leopold, R. Herrera, *Nat. Rev. Cancer* **2004**, *4*, 937–947.
- [44] R. W. Justice, O. Zilian, D. F. Woods, M. Noll, P. J. Bryant, *Genes Dev.* **1995**, *9*, 534–546.
- [45] N. Tapon, K. F. Harvey, D. W. Bell, D. C. R. Wahrer, T. A. Schiripo, D. A. Haber, I. K. Hariharan, *Cell* **2002**, *110*, 467–478.
- [46] K. F. Harvey, C. M. Pfleger, I. K. Hariharan, *Cell* **2003**, *114*, 457–467.
- [47] J. Jia, W. Zhang, B. Wang, R. Trinko, J. Jiang, *Genes Dev.* **2003**, *17*, 2514–2519.
- [48] Z. C. Lai, X. Wei, T. Shimizu, E. Ramos, M. Rohrbaugh, N. Nikolaidis, L. L. Ho, Y. Li, *Cell* **2005**, *120*, 675–685.
- [49] J. Huang, S. Wu, J. Barrera, K. Matthews, D. Pan, *Cell* **2005**, *122*, 421–434.
- [50] L. Zhang, F. Ren, Q. Zhang, Y. Chen, B. Wang, J. Jiang, *Dev. Cell* **2008**, *14*, 377–387.
- [51] S. Wu, Y. Liu, Y. Zheng, J. Dong, D. Pan, *Dev. Cell* **2008**, *14*, 388–398.
- [52] J. Dong, G. Feldmann, J. Huang, S. Wu, N. Zhang, S. A. Comerford, M. F. F. Gayyed, R. A. Anders, A. Maitra, D. Pan, *Cell* **2007**, *130*, 1120–1133.
- [53] Y. Zheng, D. Pan, *Dev. Cell* **2019**, *50*, 264–282.
- [54] S. J. Bae, L. Ni, A. Osinski, D. R. Tomchick, C. A. Brautigam, X. Luo, *Elife* **2017**, *6*, 1–28.
- [55] A. Hergovich, *Genes (Basel)*. **2016**, *7*, 1–16.

- [56] Z. Meng, T. Moroishi, V. Mottier-Pavie, S. W. Plouffe, C. G. Hansen, A. W. Hong, H. W. Park, J.-S. Mo, W. Lu, S. Lu, F. Flores, F.-X. Yu, G. Halder, K.-L. Guan, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8357.
- [57] A. Komuro, M. Nagai, N. E. Navin, M. Sudol, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 33334–33341.
- [58] S. Basu, N. F. Totty, M. S. Irwin, M. Sudol, J. Downward, *Mol. Cell* **2003**, *11*, 11–23.
- [59] A. Vassilev, K. J. Kaneko, H. Shu, Y. Zhao, M. L. DePamphilis, *Genes Dev.* **2001**, *15*, 1229–1241.
- [60] R. Yagi, L. F. Chen, K. Shigesada, Y. Murakami, Y. Ito, *EMBO J.* **1999**, *18*, 2551–2562.
- [61] B. Zhao, X. Ye, J. Yu, L. Li, W. Li, S. Li, J. Yu, J. D. Lin, C. Y. Wang, A. M. Chinnaiyan, Z. C. Lai, K. L. Guan, *Genes Dev.* **2008**, *22*, 1962–1971.
- [62] M. Ota, H. Sasaki, *Development* **2008**, *135*, 4059–4069.
- [63] H. Zhang, C. Y. Liu, Z. Y. Zha, B. Zhao, J. Yao, S. Zhao, Y. Xiong, Q. Y. Lei, K. L. Guan, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 13355–13362.
- [64] S. W. Chan, C. J. Lim, L. S. Loo, Y. F. Chong, C. Huang, W. Hong, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 14347–14358.
- [65] B. Zhao, X. Wei, W. Li, R. S. Udan, Q. Yang, J. Kim, J. Xie, T. Ikenoue, J. Yu, L. Li, P. Zheng, K. Ye, A. Chinnaiyan, G. Halder, Z. C. Lai, K. L. Guan, *Genes Dev.* **2007**, *21*, 2747–2761.
- [66] J. Zhang, J. Y. Ji, M. Yu, M. Overholtzer, G. A. Smolen, R. Wang, J. S. Brugge, N. J. Dyson, D. A. Haber, *Nat. Cell Biol.* **2009**, *11*, 1444–1450.
- [67] B. Zhao, L. Li, K. Tumaneng, C. Y. Wang, K. L. Guan, *Genes Dev.* **2010**, *24*, 72–85.
- [68] J. C. Boggiano, P. J. Vanderzalm, R. G. Fehon, *Dev. Cell* **2011**, *21*, 888–895.
- [69] R. Baumgartner, I. Poernbacher, N. Buser, E. Hafen, H. Stocker, *Dev. Cell* **2010**, *18*, 309–316.
- [70] F. Hamaratoglu, M. Willecke, M. Kango-Singh, R. Nolo, E. Hyun, C. Tao, H. Jafar-Nejad, G. Halder, *Nat. Cell Biol.* **2006**, *8*, 27–36.
- [71] N. G. Kim, E. Koh, X. Chen, B. M. Gumbiner, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2011**, *108*, 11930–11935.
- [72] F. X. Yu, B. Zhao, N. Panupinthu, J. L. Jewell, I. Lian, L. H. Wang, J. Zhao, H. Yuan, K. Tumaneng, H. Li, X. D. Fu, G. B. Mills, K. L. Guan, *Cell* **2012**, *150*, 780–

791.

- [73] M. deRan, J. Yang, C. H. Shen, E. C. Peters, J. Fitamant, P. Chan, M. Hsieh, S. Zhu, J. M. Asara, B. Zheng, N. Bardeesy, J. Liu, X. Wu, *Cell Rep.* **2014**, *9*, 495–503.
- [74] J. S. Mo, Z. Meng, Y. C. Kim, H. W. Park, C. G. Hansen, S. Kim, D. S. Lim, K. L. Guan, *Nat. Cell Biol.* **2015**, *17*, 500–510.
- [75] W. Wang, Z. D. Xiao, X. Li, K. E. Aziz, B. Gan, R. L. Johnson, J. Chen, *Nat. Cell Biol.* **2015**, *17*, 490–499.
- [76] L. Zender, M. S. Spector, W. Xue, P. Flemming, C. Cordon-Cardo, J. Silke, S. T. Fan, J. M. Luk, M. Wigler, G. J. Hannon, D. Mu, R. Lucito, S. Powers, S. W. Lowe, *Cell* **2006**, *125*, 1253–1267.
- [77] J. Cai, X. Song, W. Wang, T. Watnick, Y. Pei, F. Qian, D. Pan, *Genes Dev.* **2018**, *32*, 781–793.
- [78] F. D. Camargo, S. Gokhale, J. B. Johnnidis, D. Fu, G. W. Bell, R. Jaenisch, T. R. Brummelkamp, *Curr. Biol.* **2007**, *17*, 2054–2060.
- [79] A. Fernandez-L, P. A. Northcott, J. Dalton, C. Fraga, D. Ellison, S. Angers, M. D. Taylor, A. M. Kenney, *Genes Dev.* **2009**, *23*, 2729–2741.
- [80] Z. Dai, W. G. Zhu, C. D. Morrison, R. M. Brena, D. J. Smiraglia, A. Raval, Y. Z. Wu, L. J. Rush, P. Ross, J. R. Molina, G. A. Otterson, C. Plass, *Hum. Mol. Genet.* **2003**, *12*, 791–801.
- [81] A. M. Snijders, B. L. Schmidt, J. Fridlyand, N. Dekker, D. Pinkel, R. C. K. Jordan, D. G. Albertson, *Oncogene* **2005**, *24*, 4232–4242.
- [82] M. D. Bashyam, R. Bair, Y. H. Kim, P. Wang, T. Hernandez-Boussard, C. A. Karikari, R. Tibshirani, A. Maitra, J. R. Pollack, *Neoplasia* **2005**, *7*, 556–562.
- [83] I. Imoto, Z. Q. Yang, A. Pimkhaokham, H. Tsuda, Y. Shimada, M. Imamura, M. Ohki, J. Inazawa, *Cancer Res.* **2001**, *61*, 6629–6634.
- [84] A. A. Steinhardt, M. F. Gayyed, A. P. Klein, J. Dong, A. Maitra, D. Pan, E. A. Montgomery, R. A. Anders, *Hum. Pathol.* **2008**, *39*, 1582–1589.
- [85] A. I. McClatchey, I. Saotome, K. Mercer, D. Crowley, J. F. Gusella, R. T. Bronson, T. Jacks, *Genes Dev.* **1998**, *12*, 1121–1133.
- [86] D. Lallemand, M. Curto, I. Saotome, M. Giovannini, A. I. McClatchey, *Genes Dev.* **2003**, *17*, 1090–1100.
- [87] W. W. Seidel, F. E. Hahn, *Bioinorg. Chem. Appl.* **2005**, *2005*, 69–80.
- [88] Z. Jiang, X. Li, J. Hu, W. Zhou, Y. Jiang, G. Li, D. Lu, *Neurosci. Res.* **2006**, *56*,



450–458.

- [89] Y. Takahashi, Y. Miyoshi, C. Takahata, N. Irahara, T. Taguchi, Y. Tamaki, S. Noguchi, *Clin. Cancer Res.* **2005**, *11*, 1380–1385.
- [90] P. Minoo, I. Zlobec, K. Baker, L. Tornillo, L. Terracciano, J. R. Jass, A. Lugli, *Mod. Pathol.* **2007**, *20*, 331–338.
- [91] B. Cinar, P. K. Fang, M. Lutchman, D. Di Vizio, R. M. Adam, N. Pavlova, M. A. Rubin, P. C. Yelick, M. R. Freeman, *EMBO J.* **2007**, *26*, 4523–4534.
- [92] B. Zhao, L. Li, L. Wang, C. Y. Wang, J. Yu, K. L. Guan, *Genes Dev.* **2012**, *26*, 54–68.
- [93] R. Roskoski Jr., “FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors,” can be found under <http://www.brimr.org/PKI/PKIs.htm>, **n.d.**
- [94] A. C. Dar, K. M. Shokat, *Annu. Rev. Biochem.* **2011**, *80*, 769–795.
- [95] M. I. Davis, J. P. Hunt, S. Herrgard, P. Ciceri, L. M. Wodicka, G. Pallares, M. Hocker, D. K. Treiber, P. P. Zarrinkar, *Nat. Biotechnol.* **2011**, *29*, 1046–1051.
- [96] J. Zhang, P. L. Yang, N. S. Gray, *Nat. Rev. Cancer* **2009**, *9*, 28–39.
- [97] O. P. J. Van Linden, A. J. Kooistra, R. Leurs, I. J. P. De Esch, C. De Graaf, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 249–277.
- [98] L. K. Gavrin, E. Saiah, *Medchemcomm* **2013**, *4*, 41–51.
- [99] S. Lee, J. Kim, J. Jo, J. W. Chang, J. Sim, H. Yun, *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *216*, 113318.
- [100] A. Abdeldayem, Y. S. Raouf, S. N. Constantinescu, R. Moriggl, P. T. Gunning, *Chem. Soc. Rev.* **2020**, *49*, 2617–2687.
- [101] R. A. Alderden, M. D. Hall, T. W. Hambley, *J. Chem. Educ.* **2006**, *83*, 728–734.
- [102] P. C. Bruijninx, P. J. Sadler, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 197–206.
- [103] L. Zeng, P. Gupta, Y. Chen, E. Wang, L. Ji, H. Chao, Z. S. Chen, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 5771–5804.
- [104] D. E. J. G. J. Dolmans, D. Fukumura, E. K. Jain, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 380–387.
- [105] M. Dörr, E. Meggers, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2014**, *19*, 76–81.
- [106] S. Omura, H. Tanaka, R. Oiwa, J. Awaya, R. Masuma, K. Tanaka, *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1977**, *30*, 908–916.
- [107] L. M. Toledo, N. B. Lydon, *Structure* **1997**, *5*, 1551–1556.
- [108] J. Berger, *Biochem. Biophys. Reseach Commun.* **1986**, *135*, 397–402.
- [109] M. W. Karaman, S. Herrgard, D. K. Treiber, P. Gallant, C. E. Atteridge, B. T.

- Campbell, K. W. Chan, P. Ciceri, M. I. Davis, P. T. Edeen, R. Faraoni, M. Floyd, J. P. Hunt, D. J. Lockhart, Z. V. Milanov, M. J. Morrison, G. Pallares, H. K. Patel, S. Pritchard, L. M. Wodicka, P. P. Zarrinkar, *Nat. Biotechnol.* **2008**, *26*, 127–132.
- [110] G. Caravatti, T. Meyer, A. Fredenhagen, U. Trinks, H. Mett, D. Fabbro, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 399–404.
- [111] O. A. B. S. M. Gani, R. A. Engh, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 489–498.
- [112] D. S. Williams, G. E. Atilla, H. Bregman, A. Arzoumanian, P. S. Klein, E. Meggers, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2005**, *44*, 1984–1987.
- [113] G. E. Atilla-Gokcumen, D. S. Williams, H. Bregman, N. Pagano, E. Meggers, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1443–1450.
- [114] H. Bregman, E. Meggers, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5465–5468.
- [115] K. S. M. Smalley, R. Contractor, N. K. Haass, A. N. Kulp, G. E. Atilla-Gokcumen, D. S. Williams, H. Bregman, K. T. Flaherty, M. S. Soengas, E. Meggers, M. Herlyn, *Cancer Res.* **2007**, *67*, 209–217.
- [116] G. E. Atilla-Gokcumen, N. Pagano, C. Streu, J. Maksimoska, P. Filippakopoulos, S. Knapp, E. Meggers, *ChemBioChem* **2008**, *10*, 198.
- [117] J. É. Debreczeni, A. N. Bullock, G. E. Atilla, D. S. Williams, H. Bregman, S. Knapp, E. Meggers, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2006**, *45*, 1580–1585.
- [118] R. Anand, J. Maksimoska, N. Pagano, E. Y. Wong, P. A. Gimotty, S. L. Diamond, E. Meggers, R. Marmorstein, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1602–1611.
- [119] P. Xie, C. Streu, J. Qin, H. Bregman, N. Pagano, E. Meggers, R. Marmorstein, *Biochemistry* **2009**, *48*, 5187–5198.
- [120] H. Bregman, P. J. Carroll, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 877–884.
- [121] S. Blanck, J. Maksimoska, J. Baumeister, K. Harms, R. Marmorstein, E. Meggers, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2012**, *51*, 5244–5246.
- [122] J. Maksimoska, L. Feng, K. Harms, C. Yi, J. Kissil, R. Marmorstein, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 15764–15765.
- [123] N. Pagano, E. Y. Wong, T. Breiding, H. Liu, A. Wilbuer, H. Bregman, S. L. Diamond, E. Meggers, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8997–9009.
- [124] S. Blanck, Y. Geisselbrecht, K. Kräling, S. Middel, T. Mietke, K. Harms, L. O. Essen, E. Meggers, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 9337–9348.
- [125] D. S. Williams, P. J. Carroll, E. Meggers, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 2944–2946.
- [126] J. Maksimoska, D. S. Williams, G. E. Atilla-Gokcumen, K. S. M. Smalley, P. J. Carroll, R. D. Webster, P. Filippakopoulos, S. Knapp, M. Herlyn, E. Meggers,

- Chem. - A Eur. J.* **2008**, *14*, 4816–4822.
- [127] S. Dieckmann, R. Riedel, K. Harms, E. Meggers, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 813–821.
- [128] R. Rajaratnam, E. K. Martin, M. Dörr, K. Harms, A. Casini, E. Meggers, *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 8111–8120.
- [129] S. Mollin, R. Riedel, K. Harms, E. Meggers, *J. Inorg. Biochem.* **2015**, *148*, 11–21.
- [130] J. Spencer, J. Amin, S. K. Callear, G. J. Tizzard, S. J. Coles, P. Coxhead, M. Guille, *Metallomics* **2011**, *3*, 600–608.
- [131] J. Amin, I. S. Chuckowree, M. Wang, G. J. Tizzard, S. J. Coles, J. Spencer, *Organometallics* **2013**, *32*, 5818–5825.
- [132] J. Amin, I. Chuckowree, G. J. Tizzard, S. J. Coles, M. Wang, J. P. Bingham, J. A. Hartley, J. Spencer, *Organometallics* **2013**, *32*, 509–513.
- [133] M. Wilde, D. Arzur, B. Baratte, D. Lefebvre, T. Robert, T. Roisnel, C. Le Jossic-Corcus, S. Bach, L. Corcos, W. Erb, *New J. Chem.* **2020**, *44*, 19723–19733.
- [134] A. Sharma, V. Luxami, K. Paul, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *93*, 414–422.
- [135] R. Lin, G. Chiu, Y. Yu, P. J. Connolly, S. Li, Y. Lu, M. Adams, A. R. Fuentes-Pesquera, S. L. Emanuel, L. M. Greenberger, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 4557–4561.
- [136] A. A. Magd-El-Din, H. A. Mousa, A. A. Labib, A. S. Hassan, A. S. Abd El-All, M. M. Ali, A. A. El-Rashedy, A. H. El-Desoky, *Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. C J. Biosci.* **2018**, *73*, 465–478.
- [137] H. Li, D. Xi, Y. Niu, C. Wang, F. Xu, L. Liang, P. Xu, *J. Inorg. Biochem.* **2019**, *195*, 174–181.
- [138] S. Tan, K. Han, Q. Li, L. Tong, Y. Yang, Z. Chen, H. Xie, J. Ding, X. Qian, Y. Xu, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *85*, 207–214.
- [139] M. Muñoz-Osses, F. Godoy, A. Fierro, A. Gómez, N. Metzler-Nolte, *Dalton Trans.* **2018**, *47*, 1233–1242.
- [140] W. F. Schmid, R. O. John, V. B. Arion, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, *Organometallics* **2007**, *26*, 6643–6652.
- [141] W. F. Schmid, R. O. John, G. Mühlgassner, P. Heffeter, M. A. Jakupec, M. Galanski, W. Berger, V. B. Arion, B. K. Keppler, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6343–6355.
- [142] M. Yang, A. J. Pickard, X. Qiao, M. J. Gueble, C. S. Day, G. L. Kucera, U.

- Bierbach, *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 3316–3324.
- [143] A. Bencini, V. Lippolis, *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 2096–2180.
- [144] F. P. Dwyer, I. K. Reid, A. Shulman, G. M. Laycock, S. Dixon, *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* **1969**, *47*, 203–218.
- [145] N. A. Berger, E. S. Johnson, A. M. Skinner, *Exp. Cell Res.* **1975**, *96*, 145–155.
- [146] A. Shulman, D. O. White, *Chem. Biol. Interact.* **1973**, *6*, 407–413.
- [147] K. H. Falchuk, A. Krishan, *Cancer Res.* **1977**, *37*, 2050–2056.
- [148] R. W. Byrnes, W. E. Antholine, D. H. Petering, *Free Radic. Biol. Med.* **1992**, *12*, 457–469.
- [149] A. Mohindru, J. M. Fisher, M. Rabinovitz, *Biochem. Pharmacol.* **1983**, *32*, 3627–3632.
- [150] D. Denoyer, S. Masaldan, S. La Fontaine, M. A. Cater, *Metallomics* **2015**, *7*, 1459–1476.
- [151] A. Hordyjewska, Ł. Popiołek, J. Kocot, *BioMetals* **2014**, *27*, 611–621.
- [152] P. Nunes, I. Correia, F. Marques, A. P. Matos, M. M. C. Dos Santos, C. G. Azevedo, J. L. Capelo, H. M. Santos, S. Gama, T. Pinheiro, I. Cavaco, J. C. Pessoa, *Inorg. Chem.* **2020**, *59*, 9116–9134.
- [153] A. C. Hachey, D. Havrylyuk, E. C. Glazer, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2021**, *61*, 191–202.
- [154] G. Papavassiliou, *Biochem. J.* **1995**, *305*, 345–357.
- [155] C. Deegan, B. Coyle, M. McCann, M. Devereux, D. A. Egan, *Chem. Biol. Interact.* **2006**, *164*, 115–125.
- [156] I. Correia, S. Roy, C. P. Matos, S. Borovic, N. Butenko, I. Cavaco, F. Marques, J. Lorenzo, A. Rodríguez, V. Moreno, J. C. Pessoa, *J. Inorg. Biochem.* **2015**, *147*, 134–146.
- [157] I. Gracia-Mora, L. Ruiz-Ramirez, C. Gomez-Ruiz, M. Tinoco-Mendez, A. Marquez-Quinones, L. Romero-De Lira, A. Marin-Hernandez, L. Macias-Rosales, M. E. Bravo-Gomez, *Met. Based Drugs* **2001**, *8*, 19–28.
- [158] M. E. Bravo-Gómez, S. Dávila-Manzanilla, J. Flood-Garibay, M. Á. Muciño-Hernández, Á. Mendoza, J. C. García-Ramos, R. Moreno-Esparza, L. Ruiz-Azuara, *J. Mex. Chem. Soc.* **2012**, *56*, 85–92.
- [159] M. E. Bravo-Gómez, J. C. García-Ramos, I. Gracia-Mora, L. Ruiz-Azuara, *J. Inorg. Biochem.* **2009**, *103*, 299–309.
- [160] M. B. Fleisher, K. C. Waterman, N. J. Turro, J. K. Barton, *Inorg. Chem.* **1986**, *22*,

3549–3551.

- [161] M. Pal, V. Ramu, D. Musib, A. Kunwar, A. Biswas, M. Roy, *Inorg. Chem.* **2021**, *60*, 6283–6297.
- [162] S. C. Marker, S. N. MacMillan, W. R. Zipfel, Z. Li, P. C. Ford, J. J. Wilson, *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 1311–1331.
- [163] E. Y. Tshuva, M. Miller, in *Met. Dev. Action Anticancer Agents* (Eds.: A. Sigel, H. Sigel, E. Freisinger, R.K.O. Sigel), De Gruyter, **2018**, pp. 219–250.
- [164] P. Mobian, N. Baradel, N. Kyritsakas, G. Khalil, M. Henry, *Chem. - A Eur. J.* **2015**, *21*, 2435–2441.
- [165] L. Barloy, B. Heinrich, L. Douce, M. Henry, M. Scarpi-Luttenauer, N. Kyritsakas, P. Mobian, *Dalton Trans.* **2019**, *48*, 1960–1963.
- [166] D. M. Weekes, N. Baradel, N. Kyritsakas, P. Mobian, M. Henry, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 5701–5713.
- [167] N. Baradel, P. Mobian, G. Khalil, M. Henry, *Dalton Trans.* **2017**, *46*, 7594–7602.
- [168] C. Diebold, P. Mobian, C. Huguenard, L. Allouche, M. Henry, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2009**, 10178–10180.
- [169] L. Barloy, B. Heinrich, M. Scarpi-Luttenauer, L. Douce, M. Henry, G. Khalil, D. Klein, N. Kyritsakas, P. Mobian, *Dalton Trans.* **2021**, *4*, DOI 10.1039/d1dt03172d.
- [170] C. Diebold, P. Mobian, C. Huguenard, L. Allouche, M. Henry, *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 6369–6371.
- [171] G. Khalil, L. Barloy, N. Kyritsakas, P. Mobian, M. Henry, *Dalton Trans.* **2018**, *47*, 11113–11122.
- [172] P. Mobian, N. Baradel, N. Kyritsakas, G. Khalil, M. Henry, *Chem. - A Eur. J.* **2015**, *21*, 2435–2441.
- [173] E. Day, B. Kauffmann, M. Scarpi-Luttenauer, A. Chaumont, M. Henry, P. Mobian, *Chem. - A Eur. J.* **2022**.
- [174] G. Khalil, C. Orvain, L. Fang, L. Barloy, A. Chaumont, C. Gaidon, M. Henry, N. Kyritsakas, P. Mobian, *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 19072–19085.
- [175] M. Hissler, W. B. Connick, D. K. Geiger, J. E. McGarrah, D. Lipa, R. J. Lachicotte, R. Eisenberg, *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 447–457.
- [176] J. P. W. Eggert, U. Lüning, C. Näther, *European J. Org. Chem.* **2005**, 1107–1112.
- [177] C. O. Dietrich-Buchecker, P. A. Marnot, J. P. Sauvage, *Tetrahedron Lett.* **1982**,

23, 5291–5294.

- [178] L. Barloy, B. Heinrich, L. Douce, M. Henry, M. Scarpi-Luttenauer, N. Kyritsakas, P. Mobian, *Dalton Trans.* **2019**, *48*, 1960–1963.
- [179] M. D. Hossain, M. Higuchi, *Synth.* **2013**, *45*, 753–758.
- [180] R. Giereth, I. Reim, W. Frey, H. Junge, S. Tschierlei, M. Karnahl, *Sustain. Energy Fuels* **2019**, *3*, 692–700.
- [181] J. B. Benedict, P. Coppens, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 2938–2944.
- [182] J. Da Chai, M. Head-Gordon, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 6615–6620.
- [183] P. J. Hay, W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **1985**, *82*, 299–310.
- [184] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648–5652.
- [185] F. Weigend, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 1057–1065.
- [186] and D. J. F. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ort, **2016**.
- [187] H. Yamatera, *Naturwissenschaften* **1957**, *44*, 1957.
- [188] H. Yamatera, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1958**, *31*, 95–108.
- [189] S. Kirschner, *Advances in the Chemistry of the Coordination Compounds*, New-York, **1961**.
- [190] G. Scalmani, M. J. Frisch, *J. Chem. Phys.* **2010**, *132*, 0–15.
- [191] H. J. Keller, B. Keppler, D. Schmähl, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **1983**, *105*, 109–110.
- [192] P. Köpf-Maier, H. Köpf, *Struct. Bond.* **1988**, *70*, 103.
- [193] D. Peri, S. Meker, C. M. Manna, E. Y. Tshuva, *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 1030–1038.
- [194] G. Khalil, C. Orvain, L. Fang, L. Barloy, A. Chaumont, C. Gaiddon, M. Henry, N. Kyritsakas, P. Mobian, *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 19072–19085.
- [195] T. Mede, M. Jäger, U. S. Schubert, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 7577–7627.
- [196] A. Gualandi, F. Calogero, A. Martinelli, A. Quintavalla, M. Marchini, P. Ceroni, M. Lombardo, P. G. Cozzi, *Dalt. Trans.* **2020**, *49*, 14497–14505.
- [197] P. Mobian, J. Kern, J. Sauvage, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 8633–8637.
- [198] A. Nasr, A. Winkler, M. Tamm, *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *316*, 68–124.
- [199] E. Bulatov, M. Haukka, *Dalton Trans.* **2019**, *48*, 3369–3379.
- [200] D. A. Roberts, B. S. Pilgrim, J. R. Nitschke, D. A. Roberts, *Chem. Soc. Rev.*

- 2018**, 47, 626–644.
- [201] R. Chakrabarty, P. J. Stang, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 1–4.
- [202] M. C. Young, A. M. Johnson, R. J. Hooley, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 1378–1380.
- [203] B. Eggers, U. Ziener, *Chem. - A Eur. J.* **2018**, 24, 14968–14973.
- [204] M. Wang, W.-J. Lan, Y.-R. Zheng, T. R. Cook, H. S. White, P. J. Stang, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 10752–10755.
- [205] M. Weck, B. Mohr, J. Sauvage, R. H. Grubbs, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 5463–5471.
- [206] W. Jia, X. Zhi, X. Li, J. Zhou, R. Zhong, H. Yu, R. Lee, *Inorg. Chem.* **2021**, 60, 4313–4321.
- [207] J. Pinkas, M. Lamač, *Coord. Chem. Rev.* **2015**, 296, 45–90.
- [208] J. Passays, C. Rubay, L. Marcélis, B. Elias, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, 2017, 623–629.
- [209] T. M. Kosak, H. A. Conrad, A. L. Korich, R. L. Lord, *European J. Org. Chem.* **2015**, 2015, 7460–7467.
- [210] A. Greguric, I. D. Greguric, T. W. Hambley, J. R. Aldrich-Wright, J. G. Collins, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2002**, 849–855.
- [211] A. de Meijere, F. Diederich, Eds., *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions*, Wiley, **2004**.
- [212] K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 50, 4467–4470.
- [213] V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. Van Maarseveen, *European J. Org. Chem.* **2006**, 51–68.
- [214] M. Meldal, C. W. Tomøe, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 2952–3015.
- [215] W. Beck, *Zeitschrift für Naturforsch.* **2009**, 64b, 1221–1245.
- [216] J. Pina, J. S. De Melo, F. Pina, C. Lodeiro, J. C. Lima, A. J. Parola, C. Soriano, M. P. Clares, M. T. Albelda, R. Aucejo, E. García-España, *Inorg. Chem.* **2005**, 44, 7449–7458.
- [217] S. Tashiro, S. Shimizu, M. Kuritani, M. Shionoya, *Dalton Trans.* **2020**, 49, 13948–13953.
- [218] M. L. Saha, S. Neogi, M. Schmittel, *Dalton Trans.* **2014**, 43, 3815–3834.
- [219] A. Goswami, M. Schmittel, **2020**, 12362–12366.
- [220] P. K. Biswas, S. Saha, S. Gaikwad, M. Schmittel, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 142, 7889–7897.

- [221] K. Hayashi, H. Akutsu, H. Sawai, *Chem. Commun.* **2004**, 4, 1386–1387.
- [222] L. E. Tucker, G. C. Littman, S. Uritis, J. W. Nugent, R. P. Thummel, J. H. Reibenspies, S. B. Jones, H. S. Lee, R. D. Hancock, *Inorg. Chem.* **2020**, 59, 13117–13127.
- [223] A. Juris, L. Prodi, A. Harriman, R. Ziessel, M. Hissler, A. El-ghayoury, F. Wu, E. C. Riesgo, R. P. Thummel, *Inorg. Chem.* **2000**, 39, 3590–3598.
- [224] G. Rapenne, C. Dietrich-Buchecker, J. P. Sauvage, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 994–1001.
- [225] M. Schmittel, A. Ganz, D. Fenske, V. Uni, *Org. Lett.* **2002**, 4, 2289–2292.
- [226] A. S. Hay, *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 3320–3321.
- [227] R. Ziessel, J. Suffert, M. T. Youinou, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 6535–6546.
- [228] D. J. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Li, X.; Caricato, M.; Marenich, A. V.; Bloino, J.; Janesko, B. G.; Gomperts, R.; Mennucci, B.; Hratch, **2009**, Gaussian 09, Revision D.01, Gaussian, Inc., Wallin.
- [229] P. J. Dunning, T. H. Jr. Hay, Plenum, New York, **1977**.
- [230] W. R. Wadt, P. J. Hay, *J. Chem. Phys.* **1985**, 82, 284–298.
- [231] P. J. Hay, W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **1985**, 82, 270–283.
- [232] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, *J. Chem. Phys.* **2010**, 132, 154104.
- [233] N. N. Sergeeva, M. Donnier-Marechal, G. Vaz, A. M. Davies, M. O. Senge, *J. Inorg. Biochem.* **2011**, 105, 1589–1595.
- [234] K. M. Buettner, A. M. Valentine, *Chem. Rev* **2012**, 112, 1863–1881.
- [235] M. Geetha, A. K. Singh, R. Asokamani, A. K. Gogia, *Prog. Mater. Sci.* **2009**, 54, 397–425.
- [236] M. Long, H. J. Rack, *Biomaterials* **1998**, 19, 1621–1639.
- [237] P. Tengvall, I. Lundström, *Clin. Mater.* **1992**, 9, 115–134.
- [238] M. Cini, T. D. Bradshaw, S. Woodward, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 1040–1051.
- [239] J. Pick, *Med. Klin.* **2** **1911**, 1270.
- [240] D. Abragan, *Compt. Rend.* **200** **1935**, 990.
- [241] B. Duffy, C. Schwieter, A. France, N. Mann, K. Culbertson, B. Harmon, J. P. Mccue, *Biol. Trace Elem. Res.* **1998**, 64, 197–213.
- [242] M. Tacke, L. T. Allen, L. Cuffe, W. M. Gallagher, Y. Lou, O. Mendoza, H. Müller-Bunz, F. J. K. Rehmann, N. Sweeney, *J. Organomet. Chem.* **2004**, 689, 2242–2249.



- [243] N. J. Sweeney, O. Mendoza, H. Müller-Bunz, C. Pampillón, F. J. K. Rehmman, K. Strohfeltdt, M. Tacke, *J. Organomet. Chem.* **2005**, 690, 4537–4544.
- [244] C. Pampillón, N. J. Sweeney, K. Strohfeltdt, M. Tacke, *J. Organomet. Chem.* **2007**, 692, 2153–2159.
- [245] H. Köpf, P. Köpf-Maier, *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1979**, 18, 477–478.
- [246] P. Köpf-Maier, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1994**, 47, 1–16.
- [247] A. Harstrick, H. J. Schmoll, H. Poliwoda, G. Sass, Y. Rustum, *Eur. J. Cancer* **1993**, 29, 1000–1002.
- [248] C. V. Christodoulou, A. G. Eliopoulos, L. S. Young, L. Hodgkins, D. R. Ferry, D. J. Kerr, *Br. J. Cancer* **1998**, 77, 2088–2097.
- [249] C. M. Kurbacher, W. Nagel, P. Mallmann, J. A. Kurbacher, G. Sass, H. Hubner, P. E. Andreotti, D. Krebs, *Anticancer Res.* **1994**, 14, 1529–1533.
- [250] C. M. Kurbacher, H. W. Bruckner, P. E. Andreotti, J. A. Kurbacher, G. Sass, D. Krebs, *Anticancer. Drugs* **1995**, 6, 697–704.
- [251] C. M. Kurbacher, P. Mallmann, J. A. Kurbacher, G. Sass, P. E. Andreotti, A. Rahmun, H. Hubner, D. Krebs, *Anticancer Res.* **1994**, 14, 1961–1965.
- [252] P. Köpf-Maier, S. Gerlach, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **1986**, 111, 243–247.
- [253] P. Köpf-Maier, B. Hesse, R. Voigtländer, H. Köpf, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **1980**, 97, 31–39.
- [254] D. P. Fairlie, M. W. Whitehouse, J. A. Broomhead, *Chem.-Biol. Interact.* **1987**, 61, 277–291.
- [255] P. Köpf-Maier, P. Erkenswick, *Toxicology* **1984**, 33, 171–181.
- [256] P. Köpf-Maier, S. Gerlach, *Anticancer Res.* **1986**, 6, 235–240.
- [257] P. Köpf-Maier, P. Funke-Kaiser, *Toxicology* **1986**, 38, 81–90.
- [258] A. Korfel, M. E. Sheulen, H. J. Schmoll, O. Gründel, A. Harstrick, M. Knoche, L. M. Fels, M. Skorzec, F. Bach, J. Baumgart, G. Sass, S. Seeber, E. Thiel, W. E. Berdel, *Clin. Cancer Res.* **1998**, 4, 2701–2708.
- [259] C. V. Christodoulou, D. R. Ferry, D. W. Fyfe, A. Young, J. Doran, T. M. T. Sheehan, A. Eliopoulos, K. Hale, J. Baumgart, G. Sass, D. J. Kerr, *J. Clin. Oncol.* **1998**, 16, 2761–2769.
- [260] K. Mross, P. Robben-Bathe, L. Edler, J. Baumgart, W. E. Berdel, H. Fiebig, C. Unger, *Onkologie* **2000**, 23, 576–579.
- [261] G. Lümme, H. Sperling, H. Luboldt, T. Otto, H. Rübber, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1998**, 42, 415–417.

- [262] N. Kröger, U. R. Kleeberg, K. Mross, L. Edler, G. Saß, D. K. Hossfeld, *Onkologie* **2000**, *23*, 60–62.
- [263] H. J. Keller, B. Keppler, D. Schmähl, *Arzneimittelforschung*. **1982**, *32*, 806–807.
- [264] B. K. Keppler, M. R. Berger, M. E. Heim, *Cancer Treat. Rev.* **1990**, *17*, 261–277.
- [265] H. Bischoff, M. R. Berger, B. K. Keppler, D. Schmähl, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **1987**, *113*, 446–450.
- [266] E. Y. Tshuva, M. Miller, in *Met. Dev. Action Anticancer Agents* (Eds.: A. Sigel, H. Sigel, E. Freisinger, R.K.O. Sigel), Berlin, Boston:, **2018**, pp. 219–250).
- [267] A. M. Pizarro, A. Habtemariam, P. J. Sadler, *Activation Mechanisms for Organometallic Anticancer Complexes*, **2010**.
- [268] S. Cuffe, C. M. Dowling, J. Claffey, C. Pampillön, M. Hogan, J. M. Fitzpatrick, M. P. Carty, M. Tacke, R. W. G. Watson, *Prostate* **2011**, *71*, 111–124.
- [269] S. Meker, K. Margulis-Goshen, E. Weiss, S. Magdassi, E. Y. Tshuva, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2012**, *51*, 10515–10517.
- [270] J. Schur, C. M. Manna, A. Deally, R. W. Köster, M. Tacke, E. Y. Tshuva, I. Ott, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 4785–4787.
- [271] S. Arribas, O. F. Wendt, S. Siegel, W. Kenneth, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 996–1001.
- [272] D. M. Weekes, C. Diebold, P. Mobian, C. Huguenard, L. Allouche, M. Henry, *Chem. - A Eur. J.* **2014**, *20*, 5092–5101.
- [273] M. Scarpi-Luttenauer, L. Geminiani, P. Lebrun, N. Kyritsakas, A. Chaumont, M. Henry, P. Mobian, *Inorg. Chem.* **2020**, *59*, 12005–12016.
- [274] M. J. Nowak, L. Lapinski, J. Fulara, A. Les, L. Adamowicz, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 1562–1569.
- [275] M. D. G. Faria, J. J. C. Teixeira-Dias, R. Fausto, *J. Mol. Struct.* **1991**, *263*, 87–94.
- [276] B. K. Oram, Monu, B. Bandyopadhyay, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2020**, *230*, 118070.
- [277] J. M. Rademaker-Lakhai, D. Van Den Bongard, D. Pluim, J. H. Beijnen, J. H. M. Schellens, *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 3717–3727.
- [278] S. Leijen, S. A. Burgers, P. Baas, D. Pluim, M. Tibben, E. Van Werkhoven, E. Alessio, G. Sava, J. H. Beijnen, J. H. M. Schellens, *Invest. New Drugs* **2015**, *33*, 201–214.
- [279] M. R. Berger, F. T. Garzon, B. K. Keppler, *Anticancer Res.* **1989**, *9*, 761–765.

- [280] R. Trondl, P. Heffeter, C. R. Kowol, M. A. Jakupec, W. Berger, B. K. Keppler, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 2925–2932.
- [281] H. A. Burris, S. Bakewell, J. C. Bendell, J. Infante, S. F. Jones, D. R. Spiegel, G. J. Weiss, R. K. Ramanathan, A. Ogden, D. Von Hoff, *ESMO Open* **2016**, *1*, 1–8.
- [282] G. Sava, S. Zorzet, C. Turrin, F. Vita, M. R. Soranzo, G. Zabucchi, M. Cocchietto, A. Bergamo, S. DiGiovine, G. Pezzoni, L. Sartor, S. Garbisa, *Clin. Cancer Res.* **2003**, *9*, 1898–1905.
- [283] A. Bergamo, R. Gagliardi, V. Scarcia, A. Furlani, E. Alessio, G. Mestroni, G. Sava, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *289*, 559–564.
- [284] L. S. Flocke, R. Trondl, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, *Invest. New Drugs* **2016**, *34*, 261–268.
- [285] H. K. Liu, P. J. Sadler, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 349–359.
- [286] K. Kalyanasundaram, *Coord. Chem. Rev.* **1982**, *46*, 159–244.
- [287] J. Karges, S. Kuang, F. Maschietto, O. Blacque, I. Ciofini, H. Chao, G. Gasser, *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 1–13.
- [288] J. Fong, K. Kasimova, Y. Arenas, P. Kaspler, S. Lazic, A. Mandel, L. Lilge, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2015**, *14*, 2014–2023.
- [289] C. Mari, V. Pierroz, S. Ferrari, G. Gasser, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 2660–2686.
- [290] F. Heinemann, J. Karges, G. Gasser, *Acc. Chem. Res.* **2017**, *50*, 2727–2736.
- [291] S. Estalayo-Adrián, S. Blasco, S. A. Bright, G. J. McManus, G. Orellana, D. C. Williams, J. M. Kelly, T. Gunnlaugsson, *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 9332–9335.
- [292] F. E. Poynton, S. A. Bright, S. Blasco, D. C. Williams, J. M. Kelly, T. Gunnlaugsson, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 7706–7756.
- [293] A. Gandioso, K. Purkait, G. Gasser, *Chim. Int. J. Chem.* **2021**, *75*, 845–855.
- [294] S. Monro, K. L. Colón, H. Yin, J. Roque, P. Konda, S. Gujar, R. P. Thummel, L. Lilge, C. G. Cameron, S. A. Mcfarland, S. Monro, K. L. Colo, S. Gujar, R. P. Thummel, L. Lilge, C. G. Cameron, S. A. Mcfarland, *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 797–828.
- [295] J. P. Djukic, J. B. Sortais, L. Barloy, M. Pfeffer, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, 817–853.
- [296] C. Gaiddon, I. Gross, X. Meng, M. Sidhoum, G. Mellitzer, B. Romain, J. B. Delhorme, A. Venkatasamy, A. C. Jung, M. Pfeffer, *Molecules* **2021**, *26*, DOI 10.3390/molecules26175386.

- [297] C. Gaiddon, P. Jeannequin, P. Bischoff, M. Pfeffer, C. Sirlin, J. P. Loeffler, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *315*, 1403–1411.
- [298] V. Vidimar, X. Meng, M. Klajner, C. Licona, L. Fetzer, S. Harlepp, P. Hébraud, M. Sidhoum, C. Sirlin, J. P. Loeffler, G. Mellitzer, G. Sava, M. Pfeffer, C. Gaiddon, *Biochem. Pharmacol.* **2012**, *84*, 1428–1436.
- [299] M. Creus, A. Pordea, T. Rossel, A. Sardo, C. Letondor, A. Ivanova, I. LeTrong, R. E. Stenkamp, T. R. Ward, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2008**, *47*, 1400–1404.
- [300] Y. Okamoto, R. Kojima, F. Schwizer, E. Bartolami, T. Heinisch, S. Matile, M. Fussenegger, T. R. Ward, *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 1–7.
- [301] R. González-Fernández, P. Crochet, V. Cadierno, *Inorganica Chim. Acta* **2020**, *517*, 45–47.
- [302] P. Kumar, R. K. Gupta, D. S. Pandey, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 707–733.
- [303] R. Castarlenas, C. Vovard, C. Fischmeister, P. H. Dixneuf, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4079–4089.
- [304] A. K. Singh, D. S. Pandey, Q. Xu, P. Braunstein, *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *270–271*, 31–56.
- [305] B. Therrien, *Arene Ruthenium Complexes in Supramolecular Chemistry*, Elsevier Inc., **2018**.
- [306] A. D. Liang, J. Serrano-Plana, R. L. Peterson, T. R. Ward, *Acc. Chem. Res.* **2019**, *52*, 585–595.
- [307] T. R. Ward, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 47–57.
- [308] F. Schwizer, Y. Okamoto, T. Heinisch, Y. Gu, M. M. Pellizzoni, V. Lebrun, R. Reuter, V. Köhler, J. C. Lewis, T. R. Ward, *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 142–231.
- [309] T. Heinisch, F. Schwizer, B. Garabedian, E. Csibra, M. Jeschek, J. Vallapurackal, V. B. Pinheiro, P. Marlière, S. Panke, T. R. Ward, *Chem. Sci.* **2018**, *9*, 5383–5388.
- [310] C. S. Allardyce, P. J. Dyson, D. J. Ellis, S. L. Heath, *Chem. Commun.* **2001**, *2*, 1396–1397.
- [311] R. E. Morris, R. E. Aird, P. del Soccorro Murdoch, H. Chen, J. Cummings, N. D. Hughes, S. Parsons, A. Parkin, G. Boyd, D. I. Jodrell, P. J. Sadler, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3616–3621.
- [312] A. A. Nazarov, C. G. Hartinger, P. J. Dyson, *J. Organomet. Chem.* **2014**, *751*, 251–260.
- [313] G. Süss-Fink, *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 1673–1688.

- [314] B. P. Sullivan, D. J. Salmon, T. J. Meyer, *Inorg. Chem.* **1978**, *17*, 3334–3341.
- [315] A. P. Halverson, T. A. Elmaaty, L. W. Castle, *J. Coord. Chem.* **2011**, *64*, 3693–3699.
- [316] N. Yoshikawa, S. Yamabe, S. Sakaki, N. Kanehisa, T. Inoue, H. Takashima, *J. Mol. Struct.* **2015**, *1094*, 98–108.
- [317] A. D. Ryabov, V. S. Sukbarev, L. Alexandrova, R. Le Lagadec, M. Pfeffer, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 6529–6532.
- [318] L. Leyva, C. Sirlin, L. Rubio, C. Franco, R. Le Lagadec, J. Spencer, P. Bischoff, C. Gaiddon, J. P. Loeffler, M. Pfeffer, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, 3055–3066.
- [319] B. Boff, M. Ali, L. Alexandrova, N. A. Espinosa-Jalapa, R. O. Saavedra-Díaz, R. Le Lagadec, M. Pfeffer, *Organometallics* **2013**, *32*, 5092–5097.
- [320] B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas, *Nature* **1965**, *205*, 698–699.
- [321] B. Rosenberg, in *Cisplatin Chem. Biochem. a Lead. Anticancer Drug* (Ed.: B. Lippert), Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland, **1999**, pp. 1–27.
- [322] B. Rosenberg, L. Van Camp, E. B. Grimley, A. J. Thomson, *J. Biol. Chem.* **1967**, *242*, 1347–1352.
- [323] B. Rosenberg, E. Renshaw, L. Vancamp, J. Hartwick, J. Drobnik, *J. Bacteriol.* **1967**, *93*, 716–721.
- [324] B. Rosenberg, L. VanCamp, J. E. Trosko, V. H. Mansour, *Nature* **1969**, *222*, 385–386.
- [325] B. Rosenberg, L. VanCamp, *Cancer Res.* **1970**, *30*, 1799–1802.
- [326] D. P. Gately, S. B. Howell, *Br. J. Cancer* **1993**, *67*, 1171–1176.
- [327] S. Ishida, J. Lee, D. J. Thiele, I. Herskowitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 14298–14302.
- [328] M. S. Davies, S. J. Berners-Price, T. W. Hambley, *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 5603–5613.
- [329] R. B. Martin, in *Cisplatin Chem. Biochem. a Lead. Anticancer Drug* (Ed.: B. Lippert), Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland, **1999**, pp. 183–206.
- [330] J. Arpalhti, in *Cisplatin Chem. Biochem. a Lead. Anticancer Drug* (Ed.: B. Lippert), Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland, **1999**, pp. 207–222.
- [331] F. Legendre, J.-C. Chottard, in *Cisplatin Chem. Biochem. a Lead. Anticancer Drug* (Ed.: B. Lippert), Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland, **1999**, pp. 223–246.
- [332] E. R. Jamieson, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2467–2498.

- [333] T. W. Hambley, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2001**, 2711–2718.
- [334] G. L. Cohen, J. A. Ledner, W. R. Bauer, H. M. Ushay, C. Caravana, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 2487–2488.
- [335] T. W. Hambley, *Coord. Chem. Rev.* **1997**, *166*, 181–223.
- [336] E. Wong, C. M. Giandomenico, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2451–2466.
- [337] R. B. Weiss, M. C. Christian, *Drugs* **1993**, *46*, 360–377.
- [338] P. J. O'Dwyer, J. P. Stevenson, S. W. Johnson, in *Cisplatin Chem. Biochem. a Lead. Anticancer Drug* (Ed.: B. Lippert), Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland, **1999**, pp. 29–69.
- [339] A. I. Ivanov, J. Christodoulou, J. A. Parkinson, K. J. Barnham, A. Tucker, J. Woodrow, P. J. Sadler, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 14721–14730.
- [340] K. J. Barnham, M. I. Djuran, P. D. S. Murdoch, J. D. Ranford, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1065–1072.
- [341] E. L. M. Lempers, J. Reedijk, *Adv. Inorg. Chem.* **1984**, *37*, 175–217.
- [342] P. A. Andrews, W. E. Wung, S. B. Howell, *Anal. Biochem.* **1984**, *143*, 46–56.
- [343] R. C. Dolman, G. B. Deacon, T. W. Hambley, *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *88*, 260–267.
- [344] R. F. Borch, M. E. Pleasants, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1979**, *76*, 6611–6614.
- [345] D. Lebowitz, R. Canetta, *Eur. J. Cancer* **1998**, *34*, 1522–1534.
- [346] I. Judson, L. R. Kelland, *Drugs* **2000**, *59*, 29–36.
- [347] B. J. Pages, F. Li, P. Wormell, D. L. Ang, J. K. Clegg, C. J. Kepert, L. K. Spare, S. Danchaiwijit, J. R. Aldrich-Wright, *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 15566–15575.
- [348] B. J. Pages, Y. Zhang, F. Li, J. Sakoff, J. Gilbert, J. R. Aldrich-Wright, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, *2015*, 4167–4175.
- [349] N. S. Ng, P. Leverett, D. E. Hibbs, Q. Yang, J. C. Bulanadi, M. Jie Wu, J. R. Aldrich-Wright, *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 3196–3209.
- [350] Y. Zhu, K. Luo, X. Li, H. Wang, C. Yang, H. Ni, Q. Li, *J. Lumin.* **2018**, *204*, 296–302.
- [351] J. C. Deaton, A. Chakraborty, R. Czerwiec, H. Yersin, F. N. Castellano, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2018**, *20*, 25096–25104.
- [352] Y. Ito, K. Yamashima, S. Arai, M. Takahashi, T. Itou, S. Iwatsuki, K. Ishihara, K. Matsumoto, *Inorganica Chim. Acta* **2020**, *513*, 119934.
- [353] P. R. Batista, L. C. Ducati, J. Autschbach, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2021**, *23*,

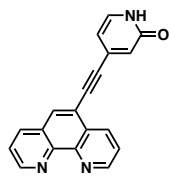
- 12864–12880.
- [354] R. Ranaldo, N. Margiotta, F. P. Intini, C. Pacifico, G. Natile, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 2820–2830.
- [355] B. J. Pages, J. Sakoff, J. Gilbert, Y. Zhang, S. M. Kelly, J. D. Hoeschele, J. R. Aldrich-Wright, *Dalton Trans.* **2018**, *47*, 2156–2163.
- [356] S. Campagna, F. Puntoriero, F. Nastasi, G. Bergamini, V. Balzani, *Top. Curr. Chem.* **2007**, *280*, 117–214.
- [357] R. J. Staniewicz, R. F. Sympson, D. G. Hendricker, *Inorg. Chem.* **1977**, *16*, 2166–2171.
- [358] V. M. Miskowski, V. H. Houlding, C. M. Che, Y. Wang, *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 2518–2524.
- [359] S. Roy, K. D. Hagen, P. U. Maheswari, M. Lutz, A. L. Spek, J. Reedijk, G. P. Van Wezel, *ChemMedChem* **2008**, *3*, 1427–1434.
- [360] B. S. Howerton, D. K. Heidary, E. C. Glazer, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 8324–8327.
- [361] M. Ganeshpandian, M. Palaniandavar, A. Muruganatham, S. K. Ghosh, A. Riyasdeen, M. A. Akbarsha, *Appl. Organomet. Chem.* **2018**, *32*, 1–17.
- [362] L. Fetzer, B. Boff, A. Moussa, X. Meng, J.-P. Collin, C. Sirlin, C. Gaiddon, M. Pfeffer, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 8869–8878.
- [363] D. M. Fisher, P. J. Bednarski, R. Grünert, P. Turner, R. R. Fenton, J. R. Aldrich-Wright, *ChemMedChem* **2007**, *2*, 488–495.
- [364] A. M. Krause-Heuer, R. Grunert, S. Kuhne, M. Buczkowska, N. J. Wheate, D. D. Le Pevelen, L. R. Boag, D. M. Fisher, J. Kasparkova, J. Malina, P. J. Bednarski, V. Brabec, J. R. Aldrich-Wright, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 5474–5484.
- [365] F. Fan, Z. He, L. L. Kong, Q. Chen, Q. Yuan, S. Zhang, J. Ye, H. Liu, X. Sun, J. Geng, L. Yuan, L. Hong, C. Xiao, W. Zhang, X. Sun, Y. Li, P. Wang, L. Huang, X. Wu, Z. Ji, Q. Wu, N. S. Xia, N. S. Gray, L. Chen, C. H. Yun, X. Deng, D. Zhou, *Sci. Transl. Med.* **2016**, *8*, 1–14.
- [366] I. M. Moya, G. Halder, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2019**, *20*, 211–226.
- [367] I. Ruvinsky, M. Katz, A. Dreazen, Y. Gielchinsky, A. Saada, N. Freedman, E. Mishani, G. Zimmerman, J. Kasir, O. Meyuhas, *PLoS One* **2009**, *4*, DOI 10.1371/journal.pone.0005618.
- [368] I. Ruvinsky, O. Meyuhas, *Trends Biochem. Sci.* **2006**, *31*, 342–348.
- [369] I. Ruvinsky, N. Sharon, T. Lerer, H. Cohen, M. Stolovich-Rain, T. Nir, Y. Dor, P.

- Zisman, O. Meyuhas, *Genes Dev.* **2005**, *19*, 2199–2211.
- [370] J. Qin, R. Rajaratnam, L. Feng, J. Salami, J. S. Barber-Rotenberg, J. Domsic, P. Reyes-Uribe, H. Liu, W. Dang, S. L. Berger, J. Villanueva, E. Meggers, R. Marmorstein, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 305–314.
- [371] B. A. Inc., **2001**.
- [372] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.* **2008**, *64*, 112–122.
- [373] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* **2015**, *71*, 3–8.
- [374] Bruker, **2016**.
- [375] A. L. Spek, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* **2015**, *71*, 9–18.

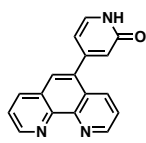




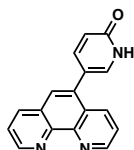
# Liste des complexes synthétisés dans le chapitre III



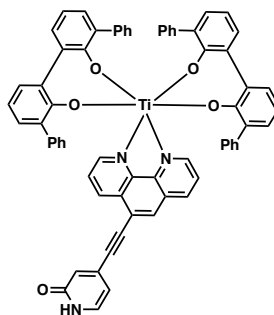
50



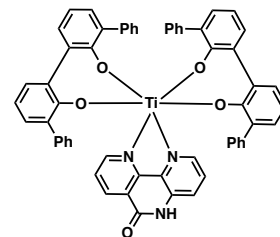
51



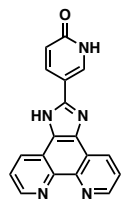
52



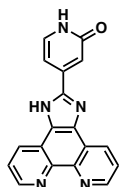
Ti(1)



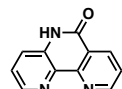
Ti(2)



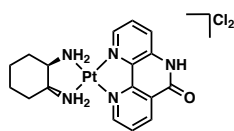
53



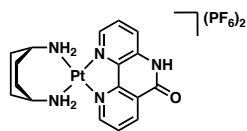
54



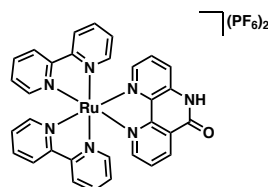
57



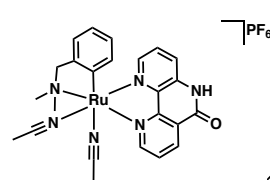
Pt(1)



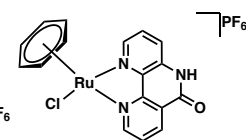
Pt(3)



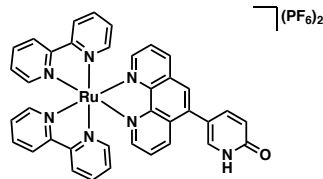
Ru(1)



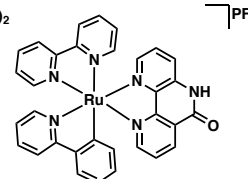
Ru(3)



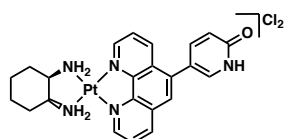
Ru(5)



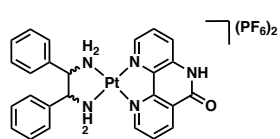
Ru(2)



Ru(4)



Pt(2)



Pt(4a)  
Pt(4b)

# Matthieu SCARPI-LUTTENAUER

## Complexes de coordination pour l'inhibition de protéine kinases de la voie Hippo

### Résumé

L'objectif de cette thèse a été le développement de complexes métalliques pour l'inhibition ciblée et compétitive de l'ATP des protéine kinases de la voie Hippo. Lors d'une étude préliminaire, la stabilité en milieu aqueux de complexes de titane(IV) construits autour d'un squelette  $TiO_4N_2$  incorporant des dérivés du ligand 1,10-phénanthroline a été évaluée. L'excellente stabilité de ces complexes nous a ensuite conduits à évaluer la compatibilité du squelette  $TiO_4N_2$  avec des conditions de réactions de synthèse organique classique. A partir des résultats obtenus, le complexe de titane(IV) a été utilisé comme groupement protecteur pour la synthèse multi-étapes d'une bis-1,10-phénanthroline originale. Dans un second temps, une série de ligands 1,10-phénanthroline fonctionnalisés avec un fragment pyridinone a été synthétisée. Des complexes de titane(IV), ruthénium(II) et platine(II) incorporant ces ligands phénanthroline substitués ainsi qu'une 2,2'-bipyridine dont les deux cycles sont fusionnés entre eux par un fragment amide ont été obtenus. Des tests de viabilité cellulaire ainsi que la modélisation de l'interaction des complexes avec la poche de fixation de la protéine kinase de la voie Hippo MST2 par docking ont été réalisées, afin de sélectionner deux complexes de ruthénium(II) et deux complexes de platine(II). Un des complexes de ruthénium(II) a montré une inhibition significative de la phosphorylation de la protéine YAP, élément central de la voie Hippo. De leur côté, les complexes de platine(II) ont montré une sélectivité pour l'inhibition de la protéine S6K1.

Mots clés : Inhibiteurs de protéine kinases, Voie Hippo, 1,10-Phénanthroline, Complexes métalliques, Titane(IV), Ruthénium(II), Platine(II)

### Résumé en anglais

The aim of this PhD project was to develop metal complexes as ATP-competitive Hippo pathway protein kinases inhibitors. In a preliminary study, the aqueous stability of titanium(IV) complexes constructed around a  $TiO_4N_2$  core incorporating 1,10-phenanthroline derivatives was evaluated. The excellent stability of these complexes enabled the screening of classical organic synthesis reactions in order to derivatize the phenanthroline ligand already coordinated on the titanium(IV) atom. Furthermore, the titanium(IV) complex was used a protecting group for the multi-step synthesis of a novel bis-1,10-phenanthroline ligand. In second step, a series of 1,10-phenanthroline ligands functionalized with a pyridinone fragment on the 5 and/or 6 position was obtained. Titanium(IV), ruthenium(II) and platinum(II) complexes incorporating these ligands or a 2,2'-bipyridine ligand with the two cycles fused by an amide group were prepared. Cell viability assays and docking of the complexes in the ATP binding pocket of the Hippo-related MST2 protein kinase allowed the selection of two ruthenium(II) and two platinum(II) complexes. One of the ruthenium(II) complexes exhibited significant YAP phosphorylation inhibition, which is a central component of the Hippo pathway. Regarding the platinum(II) complexes, they showed a selectivity for the inhibition of the S6K1 protein kinase.

Keywords: Protein kinase inhibitors, Hippo pathway, Phenanthroline, Metal complexes, Titanium(IV), Ruthenium(II), Platinum(II)