



HAL
open science

Élaboration de nouvelles stratégies de traitement du cancer du foie par l'utilisation de molécules libérant du monoxyde de carbone (CORMs).

Marcel Annereau

► To cite this version:

Marcel Annereau. Élaboration de nouvelles stratégies de traitement du cancer du foie par l'utilisation de molécules libérant du monoxyde de carbone (CORMs).. Chimie de coordination. Sorbonne Université, 2024. Français. <NNT : 2024SORUS265>. <tel-05041595>

HAL Id: tel-05041595

<https://theses.hal.science/tel-05041595v1>

Submitted on 21 Apr 2025

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.



HAL Authorization



SORBONNE UNIVERSITÉ

**ÉCOLE DOCTORALE 406 : Chimie moléculaire de Paris-Centre
Institut Parisien de Chimie Moléculaire (IPCM)**

THÈSE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ SORBONNE UNIVERSITÉ

Discipline : Chimie

Présentée et soutenue par :

Marcel ANNEREAU

le : 18 octobre 2024

**Elaboration de nouvelles stratégies de traitement du
cancer du foie par l'utilisation de molécules libérant
du monoxyde de carbone (CORMs)**

Sous la direction de :

Mme Michèle SALMAIN - DR CNRS, Sorbonne Université et M. Vincent Corcé- MC,
Sorbonne Université

Membres du jury :

M. Eric BENOIST – Professeur, Université de Toulouse III- Paul Sabatier – Président, rapporteur
Mme Sylvie CHARDON – Directrice de Recherche CNRS, Université Grenoble Alpes – Rapporteur
M. Michaël RIVARD – Maître de Conférences - HDR, Université Paris-Est Créteil – Examinateur
Mme Hélène BERTRAND – Maître de Conférences - HDR, Sorbonne Université ENS-PSL – Examinatrice
Mme Michèle SALMAIN – Directrice de Recherche CNRS, Sorbonne Université – Directrice de thèse
M. Vincent CORCÉ – Maître de Conférences, Sorbonne Université – Co-encadrant de thèse

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury, à savoir, le Dr. Michaël Rivard, le Pr. Eric Benoist, le Dr. Hélène Bertrand et le Dr. Sylvie Chardon pour avoir accepté de juger mes travaux de thèse.

Je vais continuer en remerciant l'École Doctorale 406 (ED 406) ainsi que le ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche pour le financement de ces trois années de thèse.

Je vais poursuivre en remerciant plus particulièrement mes encadrants de thèse. Tout d'abord, je souhaite exprimer ma reconnaissance aux deux pour m'avoir permis d'effectuer ce doctorat et m'avoir accordé leur confiance pour prendre en charge ce projet passionnant. Un grand merci au Dr. Michèle Salmain, tu as été une directrice de thèse en or, ta patience, ta gentillesse et tes conseils m'ont permis d'entreprendre et d'effectuer ces trois années dans les meilleures conditions et également de m'épanouir pleinement dans cet environnement de recherche, une mention spéciale pour m'avoir partagé ta passion pour le thé qui bien entendue continuera de perdurer après mon départ. Vincent, avant de débiter cette thèse, je pense que je n'aurais jamais pu espérer meilleur encadrement que celui que tu m'as fourni, tu as su me laisser une grande autonomie tout en restant toujours disponible quand j'en avais besoin, ensemble nous avons partagé d'enrichissantes discussions scientifiques qui m'ont permis de me former et de grandir en tant que chimiste, tu m'as offert un traitement que j'estime être privilégié en me considérant dès le début comme un chercheur, en prenant toujours compte de mes idées ainsi que mes remarques, tout ça mis bout à bout a fait de ce doctorat une expérience inoubliable.

À vous deux, je tiens encore à vous remercier pour tout, travailler avec vous fut pour moi un privilège et un honneur.

Je souhaiterais remercier les membres de l'équipe ChemBio de l'IPCM pour leur accueil exemplaire et ces magnifiques moments passés. Je souhaite remercier personnellement mes camarades doctorants, en commençant par le Pr. Dr. Élodie David, tu as été pendant deux ans ma voisine de bureau, mais également une collègue incroyable toujours à l'écoute et disponible. Je remercie également Océane Rondot, pour ton dynamisme et ta bonne humeur. Je remercie également Clément Soep qui est une personne incroyable toujours partant pour aller boire un verre un jeudi soir, mais sur qui on peut toujours compter pour avoir des réflexions scientifiques passionnantes. Je remercie également Tom Lacoma, avec Océane, nous avons formé le groupe des trois mousquetaires de l'équipe ChemBio et je te souhaite bonne chance pour tes deux

prochaines années. Je remercie pour finir tous les doctorants que j'ai pu côtoyer tels que le Dr. Anissa Beghenou, le Dr. Robin Ramos et le Dr. Zihua Yang. Ensuite, je souhaiterais faire un remerciement général aux autres membres de l'équipe le Dr. Anne Vessières pour ses conseils et son expérience, le Dr. Luc Dechoux pour tous ces bons moments passés au restaurant ainsi que nos discussions passionnantes, le Dr. Candice Botuha pour ton énergie contagieuse et pour nous avoir transmis ta passion pour le « Magistrale », le Dr. Nathalie Durand pour ton grand soutien et ton aide de mon arrivée jusqu'à la fin, le Dr. Benoit Bertrand pour ses conseils en chimie et sa bonne humeur générale, le Pr. Serge Thorimbert pour ses conseils et le partage de son immense expérience, le Dr. Pascal Pigeon pour sa gentillesse et sa bonne humeur et pour finir Franck Martial pour avoir été mon camarade de déjeuner et pour ces discussions enrichissantes qu'on a pu partager. Je souhaiterais bien entendu remercier les stagiaires qui ont participé à ce projet, Elisa Meron, Anne Le Mire, Katarzyna Szafrńska et Yanis Tigherghar, ça a été un plaisir de travailler avec vous et je vous souhaite à tous une bonne continuation dans vos futurs projets.

Je vais donc poursuivre en remerciant les membres de l'Institut Parisien de Chimie Moléculaire (IPCM), avec une attention particulière pour mes camarades de l'équipe de polymère Emma Mongkhoun, le Dr. Robin Troiville et le Dr. Kevin Mall avec qui j'ai partagé de superbes moments et qui ont rendu ces trois années encore plus inoubliables.

Je vais remercier tous les membres des plateformes avec qui sans eux rien de tout ceci n'aurait pu être possible, tout d'abord Claire Troufflard et Régina Maruchenko de la plateforme RMN, Lise-Marie Chamoreau, Geoffrey Gontard et Jérémy Forté de la plateforme RX mais également Gilles Clodic de la plateforme de spectrométrie de masse.

Je vais clôturer cette partie en remerciant mes amis et ma famille, pour leur soutien et leur présence peu importe les situations, une grande partie des efforts que j'ai effectué ont été grâce à vous, vous avez toujours été là et le serez toujours et je vous remercie pour tout ça.

Table des matières

Remerciements	- 1 -
Abréviations	7
Introduction générale.....	9
Chapitre 1. Le cancer du foie : traitements et perspectives.....	14
1.1 Le cancer du foie et les traitements actuels	14
1.1.1 Le carcinome hépatocellulaire	15
1.1.2 Différents traitements à différents stades	18
1.2 Le monoxyde de carbone, une solution ?	24
1.2.1 Biologie du monoxyde de carbone et sa toxicité.....	24
1.2.2 La biologie du monoxyde de carbone	27
1.2.3 Les premiers essais du CO gazeux en thérapie et les limites	28
1.3 Les molécules libératrices de CO (CORMs)	31
1.3.1 Présentation générale des CORMs	32
1.3.2 Libération du CO par échange de ligand.....	34
1.3.3 Libération du CO par processus enzymatique.....	36
1.3.4 Libération du CO par processus d'oxydo-réduction	37
1.3.5 Libération du CO par effet de pH.....	40
1.3.6 Libération du CO par irradiation lumineuse	42
1.4 Conclusion et perspectives	47
1.4.1 L'intérêt général des photoCORMs.....	47
1.4.2 Optimisation pour une meilleure vectorisation	47
1.5 Références	50
Chapitre 2. Synthèse, propriétés physico-chimiques et études biologiques de nouveaux CORMs à base de Manganèse.....	56
2.1 Présentation de la série [Mn(8-HQ)(CO) ₃ R-Imd]	56
2.1.1 Conception et choix de la structure des complexes.....	56
2.1.2 Synthèse des complexes [Mn(8-HQ)(CO) ₃ R-Imd]	58
2.1.3 Etude des structures cristallines des complexes [Mn(8-HQ)(CO) ₃ R-Imd].....	63
2.2 Etudes photo-physiques et de libération de CO.....	69
2.2.1 Etudes cinétiques de la libération de CO sous irradiation.....	70
2.2.2 Détermination du nombre de CO libérés par complexe	73
2.2.3 Elucidation du devenir du complexe après irradiation.....	76
2.3 Etudes biologiques préliminaires.....	79
2.3.1 Test MTT du complexe [Mn(8-HQ)(CO) ₃ Me-Imd].....	80

2.3.2	Conclusion de ces tests et nouvelle direction.....	82
2.4	Références	83
Chapitre 3.	Intérêt des ROS en thérapie anticancéreuse	86
3.1	Les ROS, une cible déjà bien connue en thérapie anticancéreuse.....	86
3.1.1	Traitement par une diminution du niveau de ROS.....	89
3.1.2	Traitements par une augmentation du niveau de ROS	91
3.1.3	Traitements <i>via</i> une inhibition de l'activité antioxydante	95
3.2	Etude de réactivité du complexe [Mn(8-HQ)(CO) ₃ (Me-Imd)] avec H ₂ O ₂	96
3.2.1	Approches spectroscopiques et théoriques.....	96
3.2.2	Approche électrochimique	100
3.2.3	Approche biologique et mécanisme d'action.	102
3.3	Conclusion et perspectives	104
3.4	Références	105
Chapitre 4.	Développement de CORMs glycoconjugués (GlycoCORMs) pour de la thérapie ciblée	108
4.1	L'intérêt de la thérapie ciblée.....	108
4.1.1	Historique de la stratégie.....	108
4.1.2	Ciblage par des molécules de faible poids moléculaire	109
4.1.3	Ciblage par la vaccination	110
4.1.4	Ciblage par thérapie génique.....	111
4.1.5	Ciblage par anticorps monoclonaux.....	113
4.1.6	Ciblage <i>via</i> les carbohydrates.....	116
4.2	Synthèse des glycoCORMs	122
4.2.1	Les premiers glycoCORMs.....	122
4.2.2	Synthèse des ligands.....	124
4.2.3	Complexation et obtention des glycoCORMs.....	128
4.3	Etudes biologiques.....	131
4.3.1	Mesure de la cytotoxicité des glycoCORMs.....	131
4.3.2	Etudes du mode d'internalisation	135
4.4	Conclusion.....	138
4.5	Références	140
Chapitre 5.	Les photoCORMs pour la carbonylation	146
5.1	La carbonylation par du CO gazeux et ses limites	146
5.2	Améliorations récentes	151
5.2.1	Développement des substituts de CO.....	151

5.2.2	Intérêt du $[\text{Mn}(8\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{Me-Imd}]$	153
5.3	Développement de la réaction d'aminocarbonylation <i>via</i> l'utilisation du complexe $[\text{Mn}(8\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{Me-Imd}]$	154
5.3.1	Optimisation du protocole	154
5.3.2	Exemplification des substrats	158
5.3.3	Conclusion et perspectives	163
5.4	Références	165
	Conclusion générale et perspectives.....	167
	Partie expérimentale	172
7.1	General information.....	172
7.2	Synthesis and characterization of compounds	174
7.2.1	PhotoCORMs	174
7.2.2	Synthesis of carbohydrate ligands	181
7.2.3	Synthesis of GlycoCORMs	186
7.2.4	Carbonylation products	191
7.3	References	205
Annexes	206

Abréviations

Abs : Absorbance	DPAP : 2,2-Dimethoxy-2-phenylacetophenone
ADC : Antibody-drug conjugates	EdU : 5-éthynyl-2'-désoxyuridine
ADN : Acide désoxyribonucléique	ECS : Electrode au calomel saturé
AEM : Agence européenne des médicaments	FDA : Food and Drug Administration
ARF : Ablation par radiofréquence	FDG : 2-désoxy-2-(¹⁸ F)fluoro-D-glucose
ARN : Acide ribonucléique	GalNAc : N-acétylgalactosamine
ASGPR : Asialoglycoprotein receptor	GLUT : Glucose transporter
ASOR : Asialoorosomucoïd	GPX : Glutathion peroxydase
ATP : Adénosine triphosphate	GSH : Glutathion
BCLC : The Barcelona Clinic Liver Cancer	Hb : Hémoglobine
BODIPY : Bore-dipyrrométhène	HO : Hème oxygénase
BrDU : 5'-bromo-2'-deoxyuridine	HOMO : Highest occupied molecular orbital
BSO : Buthionine sulfoximine	8-HQ : 8-Hydroxyquinoléine
CHC : Carcinome Hépatocellulaire	HRMS : High Resolution Mass Spectrometry
CORM : Carbon monoxide-releasing molecules	HSP : Heat shock protein
CRISPR : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats	IC ₅₀ : Concentration inhibitrice médiane
DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène	iCCA : intrahepatic Cholangiocarcinoma
dCCA : distal Cholangiocarcinoma	iCORM : inactivated CORM
DCM : Dichlorométhane	Imd : Imidazole
DEB-TACE : Drug-eluting bead transarterial chemoembolization	IR : Infrarouge
2-DG : 2-désoxy-glucose	LC : Ligand-centered
DMEM : Dulbecco's Modified Eagle medium	LLCT : Ligand-to-ligand-charge transfer
DMF : N,N-Diméthylformamide	LMCT : ligand-to-metal-charge-transfer
DMSO : diméthylsulfoxyde	Mb : Myoglobine
	MC : Metal-centered
	MLCT : metal-to-ligand-charge-transfer

MTT : bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium

NAC : N-acétylcystéine

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NTCP : Sodium taurocholate co-transporting polypeptide

OMS : Organisation mondiale de la Santé

PBS : Phosphate-buffered saline

pCCA : perihilar Cholangiocarcinoma.

PD-L1 : Programmed death-ligand 1

PDGFR : Platelet-derived growth factor receptor

PDT : Photodynamic therapy

PET : Positron emission tomography

pimq : 2-phenyliminomethyl)quinoline

pmtpm : 2-quinoline-N-(2'-methylthiophenyl)methyleneimine

PPAR : Peroxisome proliferator-activated receptor

PRDX : Peroxiredoxin

qmtpm : 2-quinoline-N-(2'-methylthiophenyl)methyleneimine

RMN : Résonance magnétique nucléaire

ROS : Reactive oxygen species

RPE : Résonance paramagnétique électronique.

SDH : Succinate déshydrogénase

siRNA : small interfering RNA

SOD : Superoxyde dismutase.

TACE : Transarterial Chemoembolization

TAE : Transarterial embolization

TD-DFT : Time-dependent density functional theory

TEA : Triéthylamine

TEMPO : 2,2,6,6-tétraméthylpipéridin-1-yl)oxy

THF : tétrahydrofurane

TNF : Tumeur necrosis factor

Tpm : Tris(pyrazolyl)methane

VEGFR : Vascular Endothelial Growth Factor

VHB : Virus de l'hépatite B

VHC : Virus de l'hépatite C

Introduction générale

Parmi les pathologies existantes, le cancer se distingue parmi les plus mortelles. En effet, dans le monde, 20 millions de nouveaux cas diagnostiqués en 2022 et environ 10 millions de décès ont été rapportés la même année, démontrant ainsi le caractère létal de cette maladie. Cependant, il est important de souligner que, malgré l'augmentation constante du nombre de cas ces 30 dernières années qui est d'ailleurs corrélée avec le vieillissement de la population, la mortalité a quant à elle diminué. Cela est dû aux importants progrès effectués en matière de prise en charge des malades, mais également aux méthodes de diagnostic permettant ainsi de détecter les cancers à un stade précoce. Toutefois, en dépit de tous les efforts accomplis à ce jour, certains cancers restent des défis de taille, présentant des taux de survie des malades inférieurs à 20%, parmi ces derniers peut être cité le cancer du foie.

Le cancer du foie se divise majoritairement en deux types : le premier, qui représente 15% des cas est le cholangiocarcinome appelé aussi cancer des voies biliaires ; le second correspondant à 80% des cas et qui fera l'objet de cette thèse est le carcinome hépatocellulaire (CHC), il est quant à lui un cancer se développant à partir des hépatocytes. En fonction de l'évolution des cancers de manière générale, les chances de survie des malades sont plus ou moins encourageantes, cependant, le cancer du foie fait partie de ceux pour qui les patients au stade avancé n'ont aucune chance de survie à ce jour. Ce paramètre fataliste est la raison pour laquelle développer de nouvelles stratégies est un défi de santé publique majeur. Ainsi dans le cadre de ces travaux de thèse, l'alternative explorée et proposée pour répondre à ce défi est l'utilisation du monoxyde de carbone (CO) comme agent thérapeutique.

Au premier abord, il peut être difficile de concevoir l'idée qu'un gaz mortel tel que le monoxyde de carbone puisse être utilisé en thérapie. En réalité, il est connu depuis une cinquantaine d'années que cette molécule est produite naturellement par l'organisme. Au fil des décennies qui ont suivi, le CO s'est révélé être un gazotransmetteur, démontrant des propriétés bénéfiques et essentielles dans divers processus biologiques et présentant des propriétés anti-inflammatoires et vasodilatatrices. Par-dessus tout, une activité anticancéreuse lui a été attribuée lorsqu'il est introduit dans les cellules tumorales en quantité optimale. Néanmoins, une difficulté subsiste du fait de l'état gazeux du monoxyde de carbone ne permettant pas ou difficilement son administration contrôlée. Toutefois, afin de surmonter cet obstacle, R. Motterlini a introduit au début des années 2000, l'utilisation du CO en thérapie sous forme de prodrogue *via* l'exploitation de molécules libérant du CO (CORM) sous l'effet de stimuli

externes. Cette étude a ouvert la voie au développement de nombreux CORMs de structures variées, activables grâce à différents stimuli et présentant des activités thérapeutiques intéressantes. Cependant, afin d'envisager une application en clinique et réduire au minimum les effets secondaires, la question de la sélectivité vis-à-vis des cellules cancéreuses doit être considérée.

Dans la première partie de ce manuscrit, un état de l'art sera exposé. Celui-ci décrira les traitements existants pour le CHC et les limites de ces derniers. Ensuite s'en suivra une description détaillée de la double facette du CO, concernant d'une part son caractère toxique et d'une autre part, ses propriétés d'intérêt pour la thérapie et en l'occurrence en thérapie anticancéreuse. Un troisième point portera sur la présentation des CORMs en biologie ainsi que leur développement durant ces vingt dernières années, ce dernier contiendra un exposé détaillé des grandes familles de CORMs en fonction de leurs modes d'activation.

Le chapitre deux exposera la synthèse efficace d'une nouvelle famille de CORMs à base de manganèse de formule générale $[Mn(8-HQ)(CO)_3R-Imd]$ ainsi que les analyses structurales et photo-physiques correspondantes. Cela sera suivi des tests de toxicité de ces composés sur différentes lignées cellulaires saines et cancéreuses. Le troisième chapitre quant à lui présentera l'importante investigation effectuée sur la détermination du mécanisme d'action de ces composés. En effet ces complexes se sont révélés être capables de libérer du CO par l'action d'espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species, ROS). C'est pourquoi un premier point dépeindra le rôle des ROS dans les cellules et leur intérêt en thérapie anticancéreuse, et sera suivi d'une étude sur l'élucidation et la caractérisation des réactions mises en jeu, du mécanisme et des produits éventuellement formés.

Dans le quatrième chapitre, la synthèse et l'optimisation de ces nouveaux CORMs seront présentées, avec des fonctions vectrices de type carbohydrate dans le but d'améliorer la sélectivité et la toxicité de ces composés. Dans un premier temps, les intérêts de la thérapie ciblée en cancérologie et la raison pour laquelle les carbohydrates suscitent une attention particulière dans ce domaine seront discutés. Après cette brève introduction, la conception des CORMs glycoconjugués (GlycoCORM) avec différentes unités glycosidiques (glucose, galactose, *N*-acetylgalactosamine (GalNAc), 2-deoxyglucose) constituera la seconde partie et sera suivie par des analyses biologiques de toxicité.

Le dernier chapitre discutera de l'utilisation de cette nouvelle série de complexes pour des réactions de carbonylation. En effet le complexe $[Mn(8-HQ)(CO)_3Me-Imd]$ s'est révélé être un

excellent substitut de CO, permettant d'effectuer des réactions d'aminocarbonylation pallado-catalysées avec de bons rendements avec une quantité sub-stœchiométrique de complexe, à température ambiante et tout cela sous irradiation lumineuse, ce qui jusque-là n'avait jamais été décrit.

Chapitre 1

Le cancer du foie : traitements et perspectives

Chapitre 1. Le cancer du foie : traitements et perspectives

1.1 Le cancer du foie et les traitements actuels

Avant d'entrer pleinement dans l'état de l'art, il est nécessaire de comprendre que le cancer du foie se distingue majoritairement en deux types composant 95% des cas, le cholangiocarcinome (15%) et le carcinome hépatocellulaire (80%), les 5% restants correspondant à des cancers primitifs du foie très rares tels que l'hépatoblastome, l'angiosarcome ou encore l'hépatome pour n'en citer que quelques-uns.¹

Concernant le cholangiocarcinome, il fait partie des cancers à très mauvais pronostic, pour lesquels seule l'intervention chirurgicale peut offrir des chances de survie. Cependant, l'espérance de vie des patients atteints et non opérables varie de quelques mois à quelques années². Cette tumeur se développe principalement à partir des cellules épithéliales de la voie biliaire appelés également cholangiocytes. Le développement de ces tumeurs peut entraîner une obstruction des voies biliaires conduisant ainsi à un dérèglement de l'activité hépatique. Néanmoins, il doit être souligné que le cholangiocarcinome peut affecter toutes les zones de la voie biliaire. En fonction de la zone concernée, on distingue trois sous-types : le cholangiocarcinome intrahépatique (iCCA) localisé à l'intérieur du foie, le perihilaire (pCCA) qui se trouve en sortie du foie et l'extrahépatique (dCCA) à l'extérieur du foie³ (Figure 1).

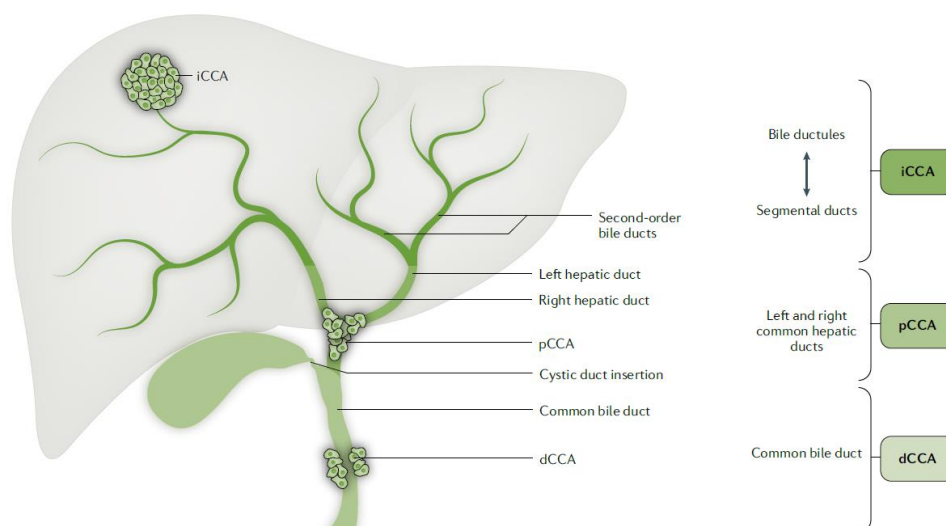


Figure 1. Représentation des zones de développement du cholangiocarcinome³. Image issue de la référence 3.

Du fait de son caractère multi-localisé, plusieurs types cellulaires peuvent être impliqués dans le développement du carcinome. C'est pourquoi il est difficile de concevoir une méthode de

thérapie ciblée afin d’atteindre spécifiquement la tumeur. D’autre part, compte tenu de sa faible prévalence en comparaison du CHC, le choix a été d’écarter cette pathologie et de se concentrer sur l’étude et la mise en place d’une stratégie de traitement du carcinome hépatocellulaire qui, comme indiqué précédemment, constitue 80% des cas de cancer du foie.

1.1.1 Le carcinome hépatocellulaire

1.1.1.1 L’épidémiologie du CHC

Le carcinome hépatocellulaire est un cancer primitif du foie, c’est-à-dire qu’il se développe à partir des hépatocytes. Du point de vue de son épidémiologie mondiale, le CHC est le sixième cancer le plus fréquent et le troisième le plus mortel (Figure 2) démontrant ainsi la forte présence de cette pathologie dans notre société et également justifiant le fait qu’il constitue un défi de santé publique majeur.

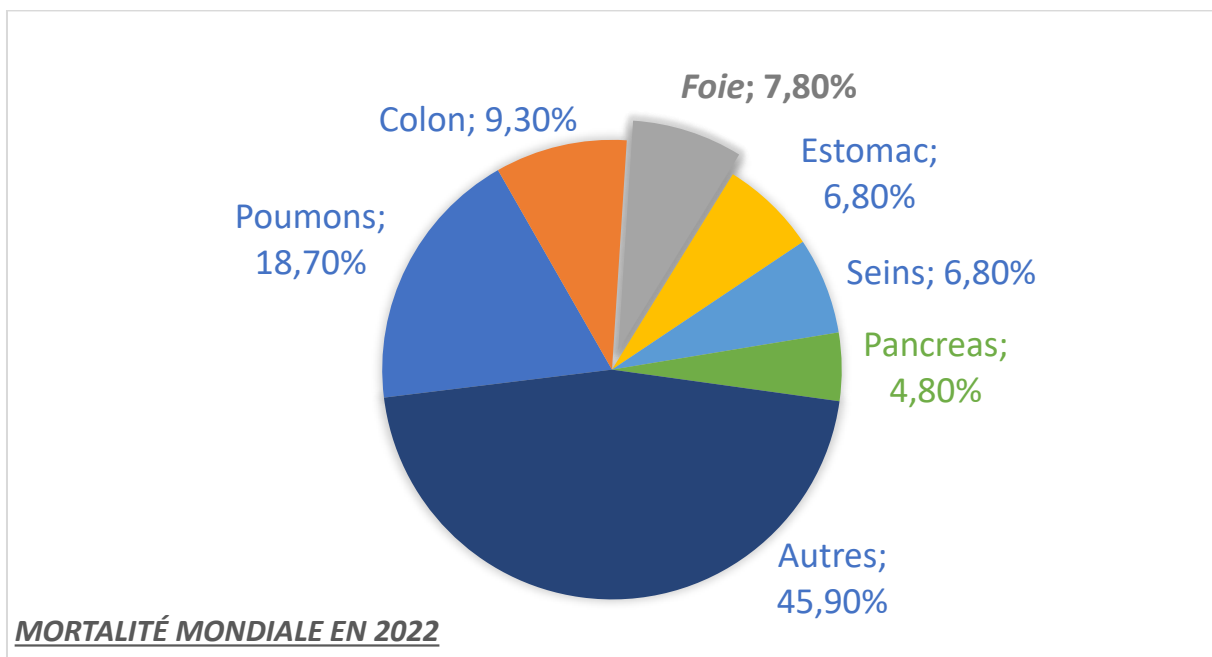


Figure 2. Représentation épidémiologique du cancer du foie dans le monde en fonction de la mortalité. Données issues du site de OMS à la date du 17/03/2024.

(https://qco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1).

Cette pathologie est principalement présente dans certaines zones du globe notamment en Asie qui concentre environ 70% des cas. Le pays ayant le plus haut taux d’incidence est la Mongolie avec 94 cas pour 100000 habitants, et la Chine en recense le plus grand nombre avec environ

300000 cas en 2022. Toutefois il doit être noté qu'entre 1978 et 2012, le taux d'incidence du CHC a diminué dans plusieurs pays d'Asie comme en Chine ou au Japon, tandis qu'il a augmenté dans d'autres régions telles que les Amériques, l'Océanie et l'Europe durant cette même période.^{4,5}

L'âge correspondant à la majorité des cas diagnostiqués du CHC est d'environ 75 ans ce qui corréle bien l'augmentation générale du nombre de cas dans le monde avec le vieillissement de la population. Malgré tout, certains pays contrastent comme par exemple l'Egypte où l'âge médian des personnes diagnostiquées est de 58 ans ou encore la Thaïlande où la majorité des cas diagnostiqués est autour de 45 ans.⁶

Cependant afin d'expliquer et de comprendre les raisons de cette importante disparité en fonction des pays, il est nécessaire d'étudier l'étiologie de ce cancer dans le but d'évaluer les facteurs de risque conduisant à cette maladie.

1.1.1.2 Facteurs de risque

Les facteurs de risque pouvant entraîner le développement d'un CHC sont divers, cependant parmi tous les paramètres pouvant être à l'origine, les virus de l'hépatite B et C concernent la large majorité des cas. Dans cette sous-partie, sera détaillée l'étiologie générale du CHC.

1.1.1.2.1 Virus de l'hépatite B (VHB)

Le VHB est un virus à ADN double brin connu chez l'homme pour provoquer l'hépatite B. L'Institut Pasteur estime qu'environ deux milliards de personnes ont été infectés par ce virus et qu'entre 350 et 400 millions de personnes (5% de la population mondiale) vivent avec une infection chronique, les rendant porteurs avec la capacité de transmettre le VHB^{7,8}. De par son mode de transmission mais également des caractéristiques démographiques (genre, ethnicité...), les personnes les plus touchées sont majoritairement les hommes issus de pays en voie de développement ou à ressources limitées (Afrique subsaharienne, Asie).⁴

Ce virus se transmet par la voie parentérale via les liquides, sécrétions biologiques, à travers des aiguilles souillées ou encore les instruments chirurgicaux mal stérilisés. Le VHB infecte préférentiellement les hépatocytes en reconnaissant les récepteurs NTCP (sodium taurocholate

co-transporting Polypeptide) exclusivement exprimés à leur surface, une fois qu'il pénètre le foie⁹ le virus va s'y multiplier entraînant une réponse du système immunitaire qui va déclencher la destruction des cellules infectées ce qui conduira à une inflammation du foie (hépatite). Cette infection peut être aiguë ou chronique, et c'est dans le cas d'une infection chronique que peut survenir le CHC.⁵

En effet, dans le cas d'une infection chronique, le VHB va intégrer le génome de son hôte, et comme expliqué précédemment cela induira une réponse immunitaire déclenchant une maladie chronique inflammatoire. Cela va mener au développement d'un cycle de nécrose et de régénération des hépatocytes entraînant des mutations qui initieront la carcinogenèse hépatique et donc le CHC¹⁰. Parmi tous les cas de CHC recensés, il a été montré que 50% étaient dus à un VHB chronique.⁵

1.1.1.2.2 Virus de l'hépatite C (VHC)

Le VHC est un virus à ARN simple brin étant à l'origine de l'hépatite C. Ce virus touche environ 3% de la population mondiale. Les régions les plus touchées sont certains pays d'Afrique tels que l'Égypte où 22% de la population sont infectés¹¹. Tout comme le VHB, le mode de transmission est parentéral et se partage par une exposition au sang.

Il est estimé qu'entre 75 et 85% des infections au VHC deviennent chroniques du fait de la présence continue de l'ARN du VHC. Cependant contrairement au VHB, son matériel génétique n'intègre pas le génome et n'induit pas directement la carcinogenèse hépatique. Le virus cause des dommages à répétition des hépatocytes suivis de leur régénération conduisant à des fibroses et donc au développement de cirrhoses du foie, ce qui peut entraîner le développement du CHC. En effet, 90% des cas de CHC induits par le VHC sont précédés par une cirrhose hépatique.¹² Dans le monde, le VHC serait la cause de 20% des cas de CHC, nombre qui s'avère être en augmentation depuis une trentaine d'années en l'occurrence aux États-Unis où le nombre de cas a augmenté de plus de 130% entre 1990 et 2009.⁵

1.1.1.2.3 Consommation excessive d'alcool

Une consommation d'alcool est considérée excessive lorsqu'elle dépasse quatre verres par jour pour les hommes et trois verres pour les femmes. Il est largement admis que la consommation

excessive d'alcool est associée à l'apparition de CHC. Cependant, le doute persiste sur l'implication directe ou secondaire de l'alcool en initiant au préalable une cirrhose hépatique. En effet, il a été observé qu'elle augmente le risque de CHC par 1.5 à 3, de plus ce paramètre est également dépendant de la quantité ingérée, avec une augmentation du risque de 46% pour 50 g d'éthanol et 66% pour 100 g. Entre 13 et 23% des cas de CHC peuvent être dus à une consommation excessive d'alcool, néanmoins des co-morbidités telles que le diabète et l'obésité sont souvent associées lors de l'apparition du cancer.¹³

1.1.1.2.4 Aflatoxine B₁

L'aflatoxine est une mycotoxine produite par certains champignons de l'espèce *Aspergillus flavus*. Cette toxine contamine les grains, les noix, que ce soit durant les récoltes, le transport ou le stockage de ces derniers. Parmi les différents types d'aflatoxine, l'aflatoxine B₁ se démarque par sa toxicité. L'aflatoxine B₁ est produite principalement dans les régions chaudes et humides. Cette substance est reconnue comme étant cancérigène, et combinée à une infection au VHB, le facteur de risque se voit multiplié par 54 contre six pour l'aflatoxine B₁ seule. L'association des deux représente l'une des principales causes de CHC dans les pays asiatiques.¹⁴

1.1.1.2.5 Syndrome métabolique

Les syndromes métaboliques comme le diabète, l'obésité ou encore l'hypertension ont été reconnus comme augmentant le risque de développement du CHC de près de 80%. Dans le cas du diabète, il a été rapporté qu'il augmenterait les risques de CHC par deux ou trois. Cependant il n'y a pas de lien entre la sévérité du diabète et le CHC. Toutefois, il a été remarqué qu'en fonction du traitement du diabète, le risque pouvait être accru par exemple avec de l'insuline, tandis qu'il serait réduit avec l'utilisation de Metformin¹⁵. L'obésité s'est également révélée être un facteur de risque. En effet il a été rapporté que l'obésité chez les jeunes adultes multiplierait le risque de CHC par deux ou trois.⁶

1.1.2 Différents traitements à différents stades

Comme tout cancer, plus la détection du CHC s'effectue précocement et plus les chances de survie sont bonnes. Toutefois les progrès effectués en matière de traitement permettent de soigner même à des stades non-précoces.

Dans le cadre du CHC, les méthodes de traitement vont dépendre de l'étape d'avancée du cancer. Le stade du cancer est déterminé selon la classification BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer), qui discrimine cinq stades : 0, A, B, C, D ¹⁶(Fig. 3).

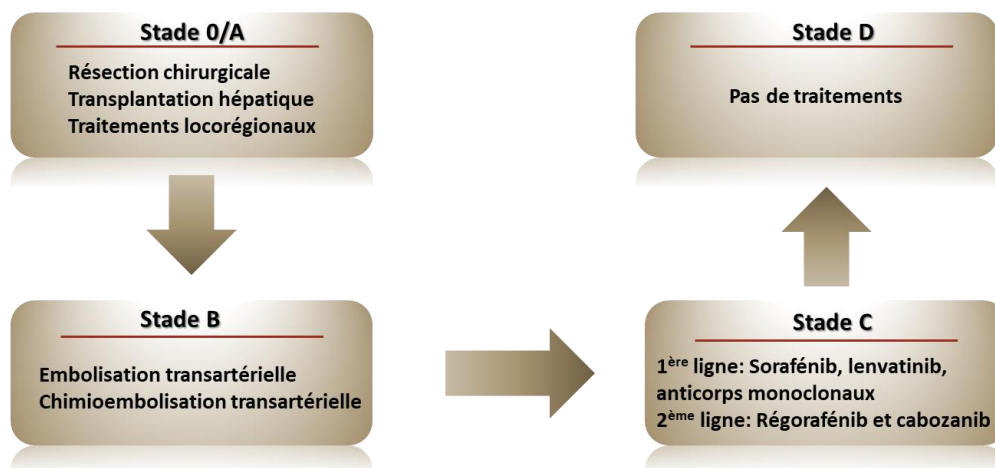


Figure 3. Présentation des traitements en fonction des stades d'avancée du CHC¹⁷

1.1.2.1.1 Stades 0/A

Les stades 0 et A sont des stades qualifiés de très précoces et précoces. Dans ces deux cas de figure, la tumeur mesure moins de trois centimètres et les patients ne présentent aucun symptôme. Pour ces stades, différentes stratégies de traitement sont proposées comme la résection chirurgicale, la transplantation hépatique ou encore des traitements locorégionaux tels que l'ablation par radiofréquence, ablation par micro-ondes et l'injection percutanée d'éthanol.

- *Réssection chirurgicale*

La résection chirurgicale, résection hépatique ou encore hépatectomie est une opération chirurgicale qui vise à retirer une partie du foie. Ce traitement est recommandé pour les patients conservant une activité hépatique normale et un CHC ne présentant pas plus de trois lésions inférieures à trois centimètres ou une lésion inférieure à cinq centimètres. Le taux de survie à

cinq ans des patients traités se situe entre 60 et 70%.^{17,18, 19} Malgré un excellent taux de survie à cinq ans, des phénomènes de rechute sont observés comme la récurrence locale intrahépatique ou encore l'apparition d'une seconde lésion. Dans ces cas de figure, il est possible de réitérer l'hépatectomie ou de procéder à une transplantation hépatique.

- *Transplantation hépatique*

La transplantation hépatique consiste tout simplement en une greffe de foie, ce qui signifie que le foie malade est remplacé par un foie sain. Contrairement à l'hépatectomie, cette méthode permet d'éviter tous les problèmes sous-jacents liés au foie malade. Cette méthode est un traitement de choix pour les CHC au stade précoce ayant montré un taux de survie de 85 % à quatre ans chez les patients, dont 92% d'entre eux n'ont pas présenté de phénomène de récurrence. Les critères de sélection pour bénéficier de cette intervention sont, d'avoir une lésion de moins de cinq centimètres ou trois lésions de moins de trois centimètres et de ne pas avoir de maladie extra hépatique.²⁰

- *Traitements locorégionaux*

Les traitements locorégionaux sont des traitements visant à agir directement sur la zone tumorale sans toucher aux cellules saines. Dans le cadre du CHC, des stratégies telles qu'une injection d'éthanol, l'ablation par radiofréquences (ARF) ou encore par micro-ondes peuvent être des traitements de choix pour les CHC non opérables mais peuvent également servir d'intervention préliminaire afin de permettre une intervention chirurgicale. Dans le cas des tumeurs de taille inférieure à quatre centimètres, une étude a démontré les traitements par ARF permettent une survie globale similaire à la résection hépatique, cependant pour les tumeurs allant jusqu'à cinq centimètres, elle se révèle être plus faible (45% à 3 ans contre 65% pour la résection hépatique).^{21,22,23} Du fait de l'absence de bénéfice de ces traitements pour les patients comparé à la chirurgie, ce type d'intervention n'est recommandé que pour les CHC non opérables.²⁴

1.1.2.1.2 Stade B

Le stade B correspond à un niveau d'avancée du CHC où plus de trois tumeurs dans le foie sont observées. Cependant, à ce stade, les patients ne présentent aucun symptôme et il n'y a pas d'invasion dans les vaisseaux ou de propagation extra-hépatique. L'embolisation transartérielle

(TAE) est le traitement de choix pour ce stade. Il consiste à effectuer une embolisation, c'est-à-dire à bloquer ou ralentir de façon localisée l'arrivée du sang par les vaisseaux sanguins vers les tumeurs, diminuant leur approvisionnement et entraînant ainsi la mort de ces dernières par nécrose ischémique. Ces agents emboliques peuvent être couplés avec une molécule chimiothérapeutique (doxorubicine, figure 4) afin d'obtenir un effet synergique combinant activité cytotoxique et ischémie, on parle alors de chimioembolisation transartérielle (TACE).²⁵

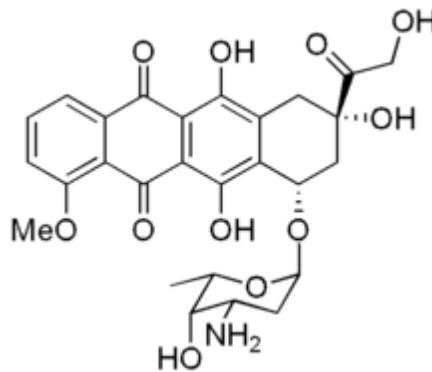


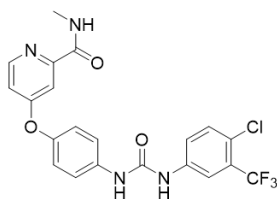
Figure 4. Structure de la doxorubicine

Ces méthodes montrent des taux de survie à deux ans modestes (24 à 63%) mais surtout d'importants effets secondaires sont rapportés tels que des cirrhoses avancées ou des thromboses de la veine porte. Cependant, une nouvelle méthode de TACE a été récemment développée utilisant des microbilles chargées d'une drogue cytotoxique (DEB-TACE). Bien que cette technique présente la même efficacité que la TACE, elle a cependant permis de réduire significativement les effets secondaires.²⁶

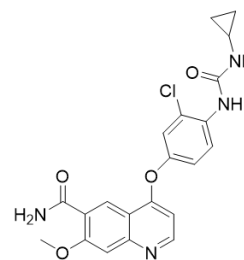
1.1.2.1.3 Stade C

Le stade C du CHC indique que le cancer a envahi les gros vaisseaux sanguins du foie ou s'est propagé hors du foie, à ce niveau d'avancé, les patients présentent des symptômes. Dans le cas du stade C, il n'est plus possible d'effectuer des interventions chirurgicales ou thérapies locorégionales. De ce fait, les solutions proposées sont des traitements pharmacologiques systémiques, dont la chimiothérapie, avec comme traitement de première ligne l'utilisation du sorafénib et lenvatinib et en deuxième ligne, le régorafénib et cabozanib (Figure 5).

1^{ère} ligne:

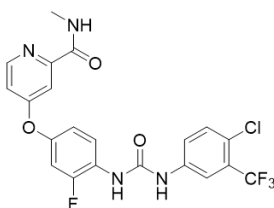


Sorafénib

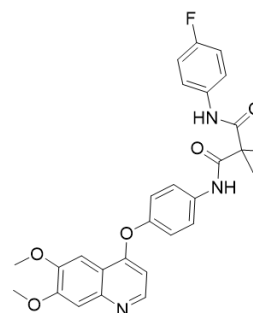


Lenvatinib

2^{ème} ligne:



Régorafenib



Cabozantinib

Figure 5. Molécules utilisées pour le traitement du CHC avancé en première et seconde ligne.

- *Sorafénib*

La première molécule approuvée pour le traitement de patients atteints de CHC avancé est le sorafénib. Le sorafénib est un inhibiteur de tyrosine kinase multicible vendu par Bayer sous le nom de Nexavar® approuvé par la FDA (Food and Drug Administration) et l'AEM (Agence Européenne du Médicament) en 2007 sur la base de résultats obtenus lors des deux essais cliniques SHARP et ORIENTAL.¹⁷ Le sorafénib est utilisé historiquement pour les traitements systémiques de première ligne du CHC avancé, il inhibe l'activité de diverses tyrosine kinases telles que VEGFR-2/3, PDGFR, Flt3 ou encore Raf kinases, qui sont des protéines impliquées dans l'angiogenèse et la progression des tumeurs.²⁷

L'effet thérapeutique bénéfique de la molécule a été démontré à travers deux études randomisées en double aveugle, l'essai SHARP (Europe et Etats-Unis) et ORIENTAL (Asie). Dans le cas de l'essai SHARP, l'étude a été effectuée sur une cohorte de 602 patients présentant un CHC avancé, avec d'une part un groupe sorafénib et de l'autre un groupe placebo. La survie globale observé chez ceux ayant pris le sorafénib est de 10,7 mois contre 7,9 mois pour le groupe placebo. L'essai ORIENTAL quant à lui, a montré sur une cohorte de 271 patients une survie globale de 6,5 mois pour le groupe sorafénib et 4,2 pour le groupe placebo. Ces études ont donc permis de démontrer l'efficacité du composé, cependant la dure réalité est qu'elle ne

permet pas de soigner les patients mais uniquement de prolonger leur espérance de vie d'environ trois mois.^{28,29}

- *Lenvatinib*

Tout comme le sorafénib, le lenvatinib est un inhibiteur de tyrosine kinase inhibant des protéines comme la VEGFR1-3 ou encore FGFR1-4 qui sont impliqués dans le développement du cancer. L'étude multicentrique de non-infériorité (étude d'évaluation de la non-infériorité de l'efficacité d'un nouveau traitement par rapport à celle du traitement de référence) REFLECT (Europe, Asie, Amérique du Nord) entreprise sur 954 patients a démontré que le lenvatinib est non-inférieur vis-à-vis du sorafénib avec des survies globales respectives de 13,6 mois et 12,3 mois. Cet essai a pu mettre en avant le lenvatinib comme potentiel substitut du sorafénib. Cependant en termes d'effets secondaires, le lenvatinib présente sensiblement les mêmes que ceux causés par le sorafénib, à savoir de l'hypertension, diarrhée, perte d'appétit et perte de poids.³⁰

- *Régorafénib et Cabozantinib*

Le régorafénib et le cabozantinib sont également des inhibiteurs de tyrosine kinase. Ces molécules sont utilisées en deuxième ligne de traitement, c'est-à-dire lorsque les patients présentent une faible tolérance au sorafénib. Les essais cliniques RESORCE et CELESTIAL ont montré que ces molécules permettaient de prolonger l'espérance de vie des patients d'environ deux mois.^{31,32}

- *Anticorps monoclonaux*

Les anticorps monoclonaux atezolizumab et bevacizumab représentent des stratégies de traitements de thérapie ciblée approuvés par la FDA et l'AEM et sont devenues depuis quelque années les traitements standards en première ligne au dépend du sorafénib. L'atezolizumab est un anticorps anti-PD-L1 (Programmed death-ligand 1), une protéine exprimée à la surface des macrophages associés aux tumeurs et le bevacizumab quant à lui est un anticorps ciblant VEGF (Vascular endothelial growth factor), qui est une protéine jouant un rôle dans la croissance tumorale. La combinaison de ces deux anticorps en tant que traitement a montré chez les patients atteints de CHC avancé une survie d'environ 6,5 mois contre trois mois pour le sorafénib.³³ Malgré de bien meilleurs résultats vis-à-vis du sorafénib, ce traitement ne permet toujours pas de soigner les patients au stade C, signifiant qu'à ce jour un patient qui atteint ce niveau d'avancée de la maladie est condamné.

1.1.2.1.4 Stade D

Dans le cadre du stade D, les patients présentent de sévères symptômes, le cancer s'est ici propagé dans les gros vaisseaux sanguins et également vers d'autres parties du corps. Il n'y a à ce jour aucun traitement correspondant à ce stade, dans ce cas de figure les patients sont sous soins palliatifs afin de tenter d'améliorer la qualité de vie cependant l'issue reste sans appel.¹⁷

Dans cette partie nous avons pu explorer la diversité des traitements du CHC en fonction de son stade d'avancée, en mettant l'accent sur la nécessité d'un diagnostic précoce pour espérer avoir des chances de survie. En effet, pour les stades C et D aucun traitement curatif n'existe à ce jour, ce qui constitue une situation problématique qui doit être résolue par la proposition de stratégies alternatives. C'est dans ce contexte que le monoxyde de carbone peut représenter cette alternative, et la raison du pourquoi sera discutée dans la seconde partie.

1.2 Le monoxyde de carbone, une solution ?

Le monoxyde de carbone est connu dans la culture populaire comme un gaz toxique et mortel, responsable de milliers de cas d'empoisonnement chaque année. Cependant, des études ont montré que le CO était produit naturellement par l'organisme et que son administration contrôlée peut permettre de traiter certaines pathologies voire même tuer les cellules cancéreuses. Cette partie traitera en détail la toxicité et la biologie entourant le monoxyde de carbone, et tentera d'expliquer la raison pour laquelle le CO est un candidat intéressant pour une thérapie anticancéreuse.

1.2.1 Biologie du monoxyde de carbone et sa toxicité

Le monoxyde de carbone est un gaz incolore, inodore, non-irritant mais cependant hautement toxique ce qui lui a valu le surnom de « tueur silencieux ». En effet, d'après Santé Publique France, il y a chaque année environ 1300 cas d'empoisonnement au CO impliquant environ 3000 personnes et responsables d'environ une centaine de décès.³⁴

Le CO est le sous-produit de réactions de combustion incomplète (Figure 6). Les sources de CO sont majoritairement les appareils consommant des combustibles tels que le gaz naturel, bois, charbon, essence pouvant provenir de véhicules ou de radiateurs ménagers.

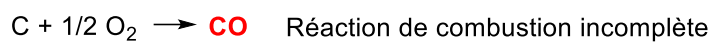


Figure 6. Réaction de combustion incomplète (formation de CO) et complète (formation de CO₂).

L'exposition au CO dans les lieux clos est surtout due à un dysfonctionnement des appareils de chauffage ou encore une mauvaise évacuation de la fumée des cheminées. Ces empoisonnements ont été principalement reportés durant les périodes de froid important, d'ouragan ou autre.³⁵

1.2.1.1 Mécanisme d'action du monoxyde de carbone

Une fois que le monoxyde de carbone est introduit dans l'organisme, il va se lier à l'hémoglobine (Hb, protéine responsable du transport de l'oxygène) conduisant à la formation de carboxyhémoglobine (HbCO), entraînant ainsi une diminution de l'apport en oxygène au sein des cellules menant donc au développement de phénomènes d'hypoxie pouvant entraîner une cascade de symptômes en fonction de la quantité de CO ambient (Figure 7).³⁶

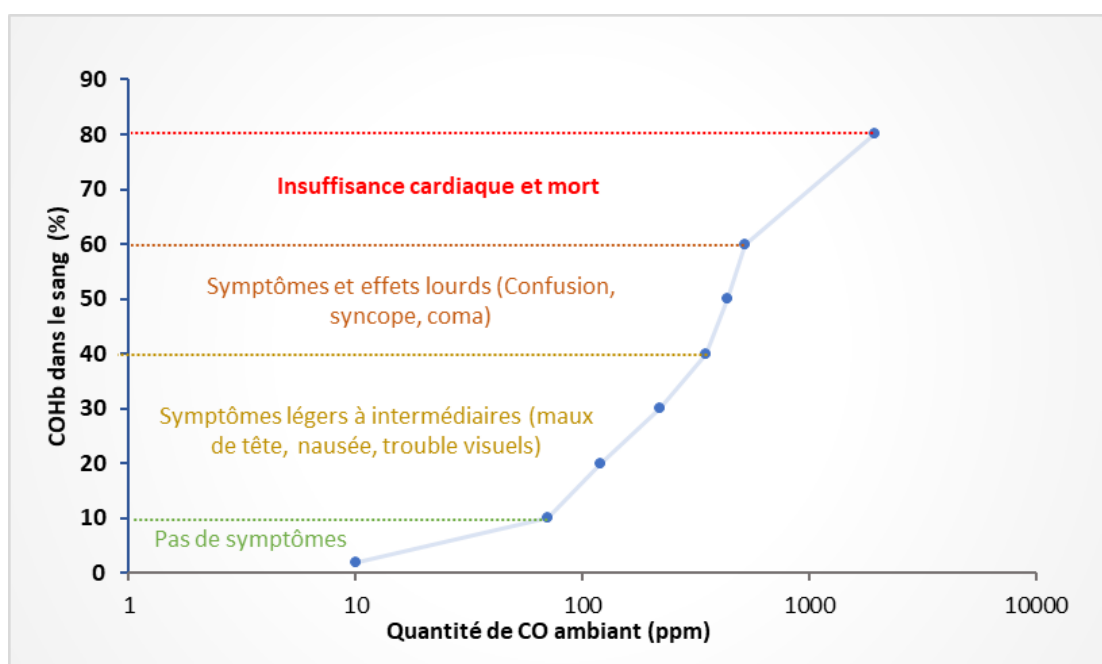


Figure 7. Courbe de relation des effets physiques sur l'homme pour une quantité de HbCO donnée en fonction de la quantité de CO dans l'air (en ppm).

Après que le monoxyde de carbone est inhalé, il se diffuse à partir des alvéoles pulmonaires vers le sang à travers la membrane alvéolocapillaire. Une fois dans le sang, le CO va se lier très rapidement à l'hémoglobine prenant la place du dioxygène. La substitution du dioxygène par

le CO est favorisée car en effet, l'affinité de l'hémoglobine pour le CO est de 200 à 250 fois supérieure à celle pour l'O₂. La quantité de HbCO formée dépend directement du temps d'exposition et de la concentration en CO présent dans l'air, et l'augmentation de la présence de cette dernière entraîne une diminution de la quantité de O₂³⁷(Figure 8).

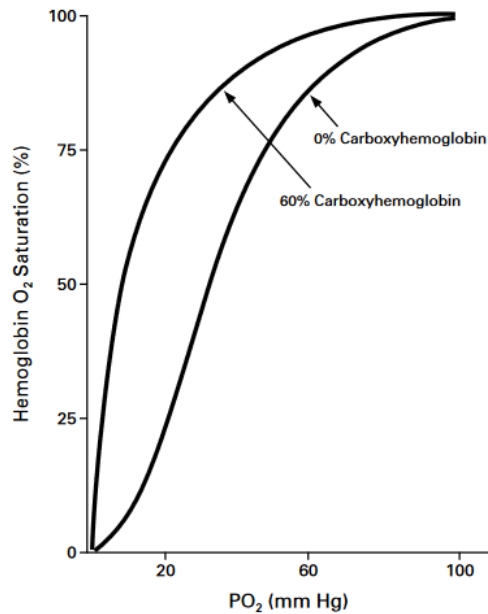


Figure 8. Courbe de dissociation du complexe Oxygène-Hémoglobine. La présence de carboxyhémoglobine entraîne une diminution de la quantité de O₂ libéré. Schéma issu de la référence 37.

Une fois le CO internalisé dans les cellules, il va se lier au cytochrome c oxydase (complexe IV de la chaîne de respiration mitochondriale, Figure 9) et autres hémoprotéines, empêchant la réduction du O₂ en H₂O ce qui par conséquent, va dégrader les fonctions mitochondriales et diminuer l'apport d'énergie vers les muscles du cœur. C'est pourquoi les personnes ayant des problèmes cardiaques sont plus sujettes aux risques d'arythmie et de crise cardiaque des suites d'un empoisonnement au CO.^{35,38}

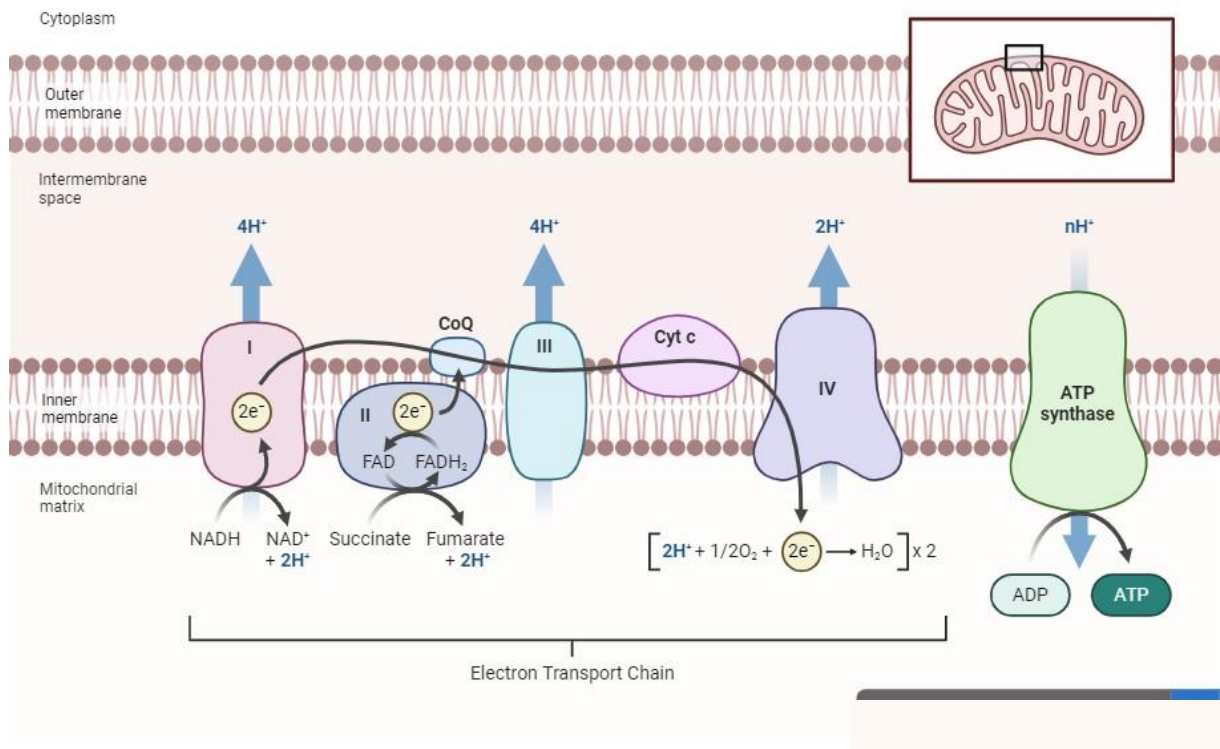


Figure 9. Schéma illustrant le processus de respiration cellulaire au sein des mitochondries. Image issue de Biorender.com.

Il est globalement admis que le taux de HbCO présent dans le sang est corrélé au niveau d'intoxication. Cependant, une étude effectuée sur des chiens a montré que même pour des concentrations artificielles en HbCO allant jusqu'à 80% les chiens survivent tandis que, lorsqu'ils sont placés sous une atmosphère de CO à 13%, cela entraîne la mort de tous les chiens au bout de 15 minutes. Cette étude montre que l'internalisation dans les cellules de la HbCO n'est pas favorisée et qu'un équilibre Hb libre/HbCO est nécessaire pour induire la toxicité attendue.^{39,40}

1.2.2 La biologie du monoxyde de carbone

Les travaux de T. Sjöstrand publiés en 1949 ont marqué un tournant dans l'étude du CO. En effet, il a décrit que le CO est produit de façon endogène par l'organisme.⁴¹ Un peu moins de deux décennies plus tard, R. Tenhunen et collaborateurs ont précisé que la génération de CO a lieu lors de la dégradation des globules rouges.⁴² En effet, la libération de CO se produit lors du catabolisme de l'hème, processus en deux étapes catalysées par l'hème oxygénase et la biliverdine réductase (Schéma 1).⁴³

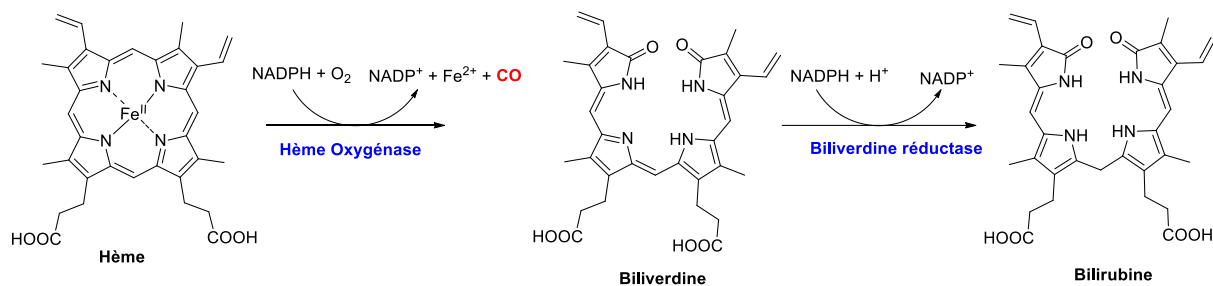


Schéma 1. Catabolisme de l'hème en bilirubine. Processus en deux étapes catalysées successivement par l'hème oxygénase et la biliverdine réductase.

L'hème libre est une molécule toxique pour l'organisme, responsable de phénomènes tels qu'un stress oxydant entraînant la production de ROS ou encore d'hémolyse (destruction des globules rouges)⁴⁴, ce qui explique pourquoi l'organisme va naturellement dégrader la molécule.

Dans un premier temps, l'hème va être oxydée en biliverdine, la réaction est catalysée par l'hème oxygénase (HO) et s'effectue en présence de dioxygène et NADPH, libérant ainsi du Fer(II), du NADP^+ et du CO. La biliverdine est ensuite réduite en bilirubine, la réaction est catalysée par la biliverdine réductase en présence de NADPH et H^+ .⁴³ La libération de CO est donc exclusivement due à l'action de l'hème oxygénase.

La HO existe sous deux isoformes. HO-1 est une isoforme induite en réponse à des stress (ischémie, déplétion en glutathion, radiation, hypoxie) et est exprimée dans tous les types cellulaires, et HO-2 est quant à elle une isoforme constitutive exprimée naturellement dans le cerveau, les testicules et les vaisseaux sanguins.⁴³ Cependant ces deux enzymes assurent le même rôle catalytique d'oxydation de l'hème. Cependant la sous-expression d'HO-1 a été associée au développement de phénomènes d'inflammation chronique, et cette déficience a même été reportée dans le cas d'un patient décédé des suites de syndromes inflammatoires.^{45,46}

Différents travaux effectués sur des modèles d'ischémie cardiaque, d'inflammation pulmonaire ou encore d'hypertension ont montré qu'une expression de HO-1 permet une action cryoprotectrice et homéostatique.^{47,48,49} De ce fait, l'administration des produits de réaction comme la bilirubine et la biliverdine a été explorée, cependant ils sont soit difficiles à produire ou à formuler et ont une faible biodisponibilité,^{50,51} à l'exception du CO, qui est peu coûteux, facile à produire et non réactif, faisant ainsi de lui un candidat de choix.

1.2.3 Les premiers essais du CO gazeux en thérapie et les limites

Comme vu précédemment, le CO est produit naturellement par l'organisme et il présente un rôle bénéfique dans le cas d'une sous-expression d'HO-1. Néanmoins, en 1993, Snyder et

collaborateurs ont découvert que le monoxyde de carbone possède également les caractéristiques d'un gazotransmetteur.⁵²

De manière générale, les gazotransmetteurs sont des gaz produits par l'organisme et qui assurent diverses fonctions physiologiques. Il en existe trois, le monoxyde d'azote (NO), le sulfure de dihydrogène (H₂S) et le monoxyde de carbone. Leur rôle principal est de maintenir l'intégrité du système cardiovasculaire et d'autres parties du corps via des processus de signalisation, d'activation et de régulation d'hormones et autres molécules biologiques.⁵³

Dans le cas du CO, il est responsable de la modulation de l'expression de protéines telles que la guanylate cyclase, des récepteurs activés par les proliférateurs de peroxydase (PPAR γ), de protéine de choc thermique (HSP) ou encore de facteur induit par l'hypoxie (HIF) pour en citer quelques-unes, et toutes sont impliquées dans des processus de protection cellulaire et homéostasie (Figure 10).⁵⁴ Cependant, il est nécessaire de préciser que ces effets bénéfiques se produisent pour des concentrations en CO contrôlées. A trop forte concentration, la toxicité du CO prend le dessus.

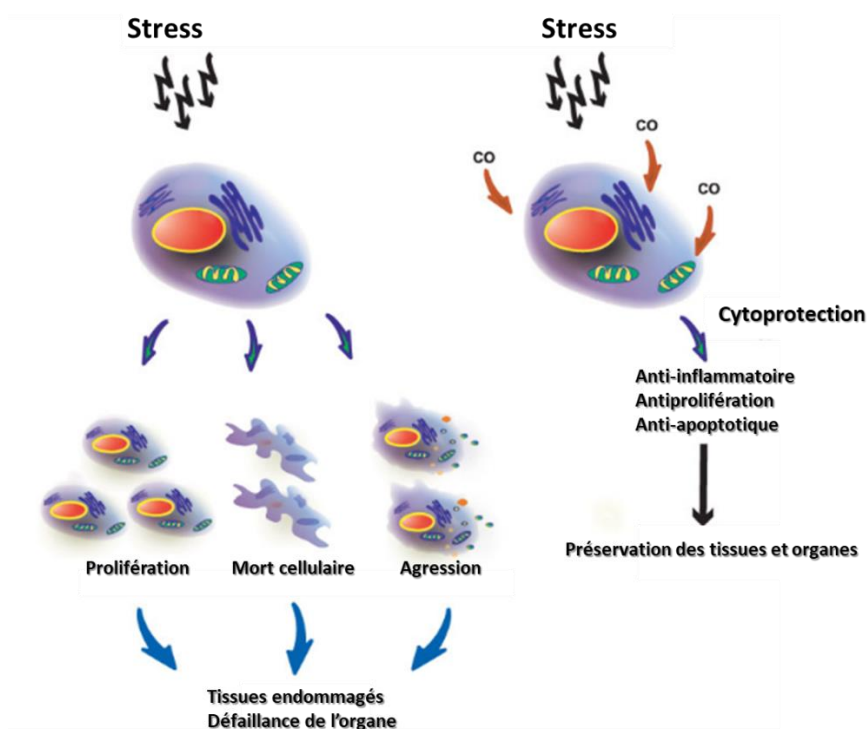


Figure 10. Comparaison des effets de stress environnementaux sur les cellules sans ou avec la présence de CO. Image issue et modifiée de la référence 54.

En 2000, L. Otterbein et collaborateurs ont pu démontrer les propriétés anti-inflammatoires du CO *in vivo*. En effet, ils ont dans un premier temps prouvé que le CO inhibe l'expression de cytokines pro-inflammatoires TNF- α et interleukine-1 β tout en augmentant simultanément

l'expression de l'interleukine-10, une cytokine anti-inflammatoire dans des macrophages RAW 264.7. Ces résultats ont été confirmés sur des modèles murins.⁵⁵ L'effet anti-apoptotique du CO a également été démontré par X. Zhang et collaborateurs sur des modèles *in vivo* de souris, où ils ont observé que lorsque du CO était administré à faible concentration, il inhibait l'apoptose induite par ischémie-reperfusion pulmonaire.⁵⁶

Le premier essai thérapeutique randomisé de phase 1 impliquant le CO gazeux, était une étude d'innocuité permettant de vérifier la toxicité ou non d'une administration de CO gazeux et l'efficacité du matériel d'injection utilisé, le *Covox DS*. Dans cette étude, le CO a été administré à trois milligrammes par kilogramme par heure pour des durées allant d'une heure à 10 jours. Les niveaux de HbCO détectés ont atteint au maximum environ 12%, ce qui est tout à fait acceptable⁵⁷ (cf. Fig. 7). Une seconde étude sur 20 anciens fumeurs atteints de bronchopneumopathie chronique obstructive (affection pulmonaire réduisant le flux d'air et causant des problèmes respiratoires) a révélé que l'administration de 100-125 ppm de CO pendant deux heures sur quatre jours est bien tolérée et qu'aucune complication n'était à signaler, cependant, ils n'ont pas pu conclure d'un réel effet thérapeutique du CO.⁵⁸

Dans le cadre des cellules cancéreuses telles que celles issues de patients atteints de CHC, il a été rapporté qu'une importante quantité de HO-1 était exprimée, impliquant une production plus élevée de CO dans celles-ci. Ils concluent que ces paramètres amélioreraient la croissance et la propagation des tumeurs.⁵⁹ Inhiber l'activité de l'enzyme *via* par exemple l'introduction exogène de produits de catalyse ou tout simplement supprimer l'expression de l'enzyme devrait altérer l'activité tumorale. Effectivement, une étude complémentaire a confirmé ces observations en inhibant l'expression de HO-1 *via* l'utilisation de siRNA. Dans cette étude, ils ont observé que dans le cas des cellules dont l'expression de HO-1 était inhibée, la croissance et la prolifération associées étaient beaucoup plus lentes en comparaison avec les cellules non-modifiées.⁶⁰

D'un autre côté, il a été montré par L. Otterbein et collaborateurs qu'une administration intracellulaire importante de CO inhalé pouvait également avoir un effet cytotoxique. En effet, comme dit précédemment, le CO affecte l'activité mitochondriale en complexant les différentes hémoprotéines constituant la chaîne de respiration mitochondriale, entraînant ainsi une surproduction de ROS conduisant à une toxicité induite pouvant entraîner la mort des cellules.^{60,61}

Malgré des résultats intéressants *in vitro* et *in vivo*, la mise en place d'une telle stratégie de traitement fait face à un mur. En effet, persiste le problème du CO et sa toxicité. Les résultats biologiques ont montré qu'à faible dose, le CO ne présente pas de toxicité chez l'homme cependant afin de présenter un effet cytotoxique, la dose nécessaire est bien plus élevée se rapprochant même dangereusement des doses toxiques. À cause de ce faible indice thérapeutique mais aussi à la perception générale sur l'utilisation d'un gaz toxique comme traitement, l'administration de CO en thérapie anti-cancéreuse semble impossible (Tableau 1).

Cible et mécanisme biologique du CO	Approches thérapeutiques	Avantages	Inconvénients
La surproduction de CO dans les tumeurs entraîne une cytoprotection et des effets pro-prolifératifs et anxiogènes.	Inhibition sélective de HO-1.	❖ Sélectivité partielle. ❖ Peut être combiné avec de la chimiothérapie.	❖ Possible effets secondaires.
Administration d'une importante quantité de CO dans les cellules tumorales nuit à leur métabolisme et déclenche un effet anticancéreux.	CO administré sous forme gazeuse.	❖ Forte probabilité d'une réponse sur les cellules tumorales. ❖ Le CO diffuse très bien dans l'organisme et peut donc facilement entrer dans le tissu tumoral.	❖ L'indice thérapeutique du CO inhalé peut être assez faible. ❖ La toxicité systémique doit être suivie (contrôle du taux de COHb).

Tableau 1. Présentation des avantages et inconvénients des stratégies anticancéreuses impliquant l'utilisation du CO gazeux. *Tableau construit à partir de la référence 60.*

Une alternative permettant de pallier ces difficultés, serait la conception et l'administration de CO sous forme de prodrogue dont l'action thérapeutique n'aurait lieu qu'à l'intérieur des cellules cancéreuses sous l'effet d'un stimulus externe.

1.3 Les molécules libératrices de CO (CORMs)

L'utilisation de monoxyde de carbone à l'état gazeux présente des effets bénéfiques mais d'importants inconvénients du fait de sa toxicité et la difficulté à contrôler son administration. Afin de pallier cette difficulté, les scientifiques ont développé l'utilisation d'une plateforme moléculaire liée de façon covalente au CO et pouvant le libérer sous l'effet d'un stimulus extérieur (Figure 11). Ces composés sont les molécules libératrices de monoxyde de carbone ou encore CORMs (CO-Releasing Molecules).

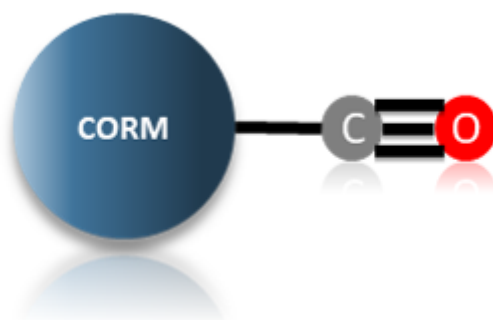


Figure 11. Schéma général d'un CORM lié à une molécule de CO

1.3.1 Présentation générale des CORMs

Le CO est sans aucun doute l'un des gaz diatomiques les plus importants et les plus utilisés, que ce soit en milieu académique ou industriel durant les dernières décennies.⁶² En effet, le CO est une molécule gazeuse neutre et stable composé de dix électrons de valence où selon l'une de ses formes de résonance sont réparties sur trois liaisons et un doublet non-liant pour chaque atome, rappelant la structure du N₂ (Figure 12). Cependant, même si le N₂ est reconnu comme étant une molécule très stable, la liaison CO possède l'énergie de dissociation la plus élevée avec 1072 kJ/mol contre 942 kJ/mol.⁶² Contrairement au N₂, le CO présente des charges localisées avec un moment dipolaire non-nul rendant la molécule réactive et lui permettant ainsi de faire des liaisons.



Figure 12. Représentation des formes de résonance du CO. Comparaison avec la molécule de N₂.

Le CO est principalement connu pour coordiner des métaux de transition de basse valence, du fait de sa capacité à faire une liaison σ par le doublet non-liant situé sur le carbone mais également à accepter les électrons des orbitales d du métal *via* ses orbitales π^* , on parle ici de retro-donation (Figure 13). Ces interactions entre le CO et le métal rendent la liaison extrêmement stable, expliquant la forte affinité entre le CO et l'hème (Fe²⁺) en comparaison avec O₂.

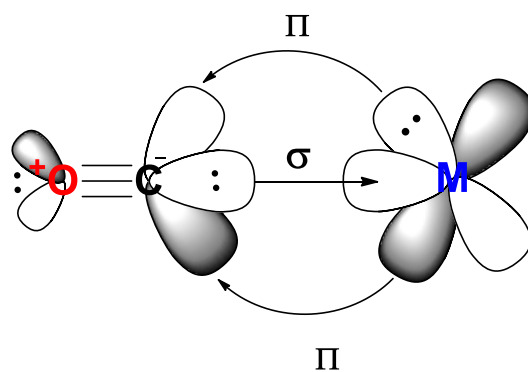


Figure 13. Représentation du modèle d'interaction ligand CO -Métal.

Développer une molécule ou complexe portant le CO sous la forme de ligand carbonyle semble être l'alternative de choix pour contourner le problème de sa nature gazeuse, cependant cette liaison étant très stable, il reste maintenant à trouver une solution pour déclencher sa rupture.

Le premier complexe métal-carbonyle fut décrit par L. Mond en 1890 et a pour formule $[\text{Ni}(\text{CO})_4]$. Ce complexe fut obtenu en faisant réagir du CO gazeux sur du nickel métallique.⁶³ Cependant, même s'il remplit la condition d'être lié à du CO, ce complexe est intrinsèquement extrêmement toxique, et beaucoup de complexes métal-CO développés dans les années suivantes tels que $[\text{Mo}(\text{CO})_6]$ et $[\text{Cr}(\text{CO})_6]$ (Figure 14) sont également très toxiques, les rendant inutiles pour une application thérapeutique.

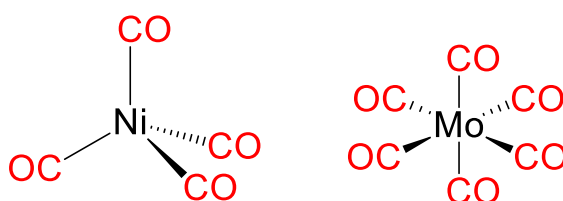


Figure 14. Structures des complexes $[\text{Ni}(\text{CO})_4]$ et $[\text{Mo}(\text{CO})_6]$.

Néanmoins, par la suite des complexes métal-carbonyle biocompatibles ont été développés, ils ont pour formule générale $[\text{Re}(\text{CO})_3\text{L}_3]^+$ ou encore $[\text{}^{99}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{L}_3]^+$, et ont été étudiés dans le cadre d'applications en bio-imagerie. Cependant, leur stabilité étant trop importante, il n'est pas possible d'induire la libération de CO dans des conditions douces, ce qui ne permet pas de les compter parmi les candidats pour une application biologique autre que l'imagerie.^{64,65}

En effet, pour que ces composés puissent avoir un réel intérêt thérapeutique, ils doivent être solubles et/ou stables en solution aqueuse, après administration, ils ne doivent pas être dégradés durant la circulation et arriver intacts dans les cellules cibles, une fois internalisés, ils doivent être capables de répondre au stimulus très rapidement.⁴⁰

R. Motterlini fut le premier, en 2002, à décrire l'identification, la caractérisation et les études biologiques des complexes métal-carbonyle en tant que CORMs. Les complexes étudiés dans ces travaux sont $[\text{Mn}_2(\text{CO})_{10}]$, $[\text{Ru}(\text{CO})_3(\text{Cl})_2]_2$ et $[\text{Fe}(\text{CO})_5]$, aux deux premiers seront attribuées les dénominations respectives de CORM-1 et CORM-2 (Figure 15).⁶⁶ CORM-1 et le complexe de Fer, sont des CORMs photoactivables (photoCORM) avec des temps de demi-vie de décomposition de l'ordre de la minute (en fonction de la longueur d'onde utilisée, 365 nm dans l'étude), cependant CORM-2 libère ses CO par échange de ligand avec les hémoprotéines un temps de demi-vie d'une minute comme démontré dans l'étude à travers un test à la myoglobine.^{57,66}

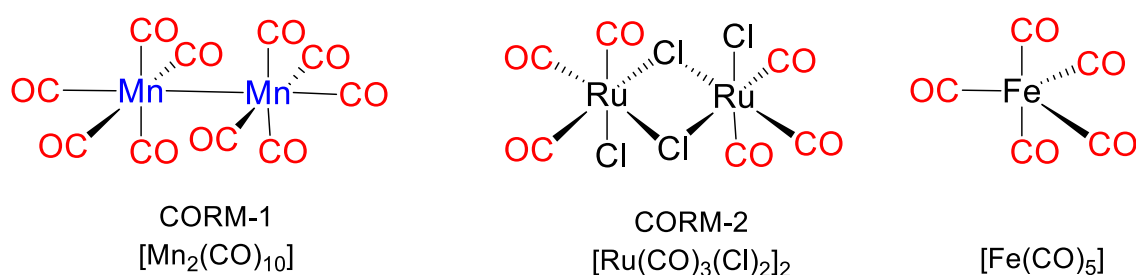


Figure 15. Structures moléculaires des trois premiers CORMs étudiés.

Dans les années qui ont suivi et jusqu'à nos jours, des centaines de CORMs de structures différentes ont été étudiés. Toutefois, un paramètre déterminant au-delà de leurs structures les discrimine, il s'agit du mode d'activation. En effet, dans la stratégie CORMs, le stimulus utilisé pour déclencher la libération de CO est sans doute le paramètre le plus important pour un futur contrôle spatial, temporel et quantitatif du processus de relargage du CO. Les points suivants vont traiter de différents modes d'activation développés dans la stratégie CORMs au cours des dernières décennies.

1.3.2 Libération du CO par échange de ligand

Le premier composé ayant démontré la capacité de la stratégie CORM dans le cadre d'applications biologiques est le complexe $[\text{Ru}(\text{CO})_3(\text{Cl})_2]_2$ (CORM-2). Comme dit précédemment, le processus de libération de CO s'effectue par le biais d'un échange spontané de ligand. Les effets associés à la libération de CO dans le cadre de CORM-2 se sont révélés être l'induction de processus de vasodilatation, une activité anti-inflammatoire, une protection contre l'ischémie mais également présente un intérêt dans le cadre d'hypertension pulmonaire.^{67,68} Cependant, même si ce composé possède des propriétés intéressantes, il n'est pas hydrosoluble ce qui peut présenter un important inconvénient pour une réelle application thérapeutique.

Toutefois, afin de contrer cette problématique de solubilité, la structure de cette molécule a été optimisée et un nouveau complexe de formule $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{glycinate})]$ (CORM-3) a vu le jour (Figure 16).

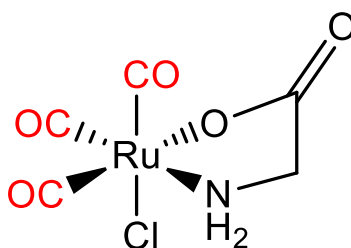


Figure 16. Structure du complexe $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{glycinate})]$ CORM-3

Ce composé, connu sous le nom de CORM-3, est sans aucun doute le CORM le plus étudié au cours de ces 20 dernières années. Comme pour CORM-2, cette molécule est à base de ruthénium (II). Le complexe adopte une géométrie octaédrique autour duquel trois CO sont en position faciale, deux sites de coordination sont occupés par le glycinate et le dernier par un ion chlorure. L'avantage de CORM-3 comparé à beaucoup d'autres est qu'il est hydrosoluble le rendant tout de suite plus attrayant pour un statut de potentiel candidat en thérapie. Ce composé a pu être étudié lors d'essais précliniques où les différentes études ont démontré qu'il permettait une amélioration des fonctions hépatiques et pulmonaires après transplantation, il possède également une activité anti-inflammatoire, vasodilatatrice, il est également efficace dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et améliore les fonctions rénales.^{67,69,70}

CORM-3 a permis de confirmer l'intérêt de ce type de molécule dans le cadre d'une potentielle thérapie médiée par le CO. Toutefois, ce complexe ne permet pas d'avoir un contrôle spatiotemporel complet du relargage de CO. En effet, il a été remarqué qu'il libère ses CO également dans les conditions physiologiques (37°C, pH= 7,4) en moins d'une minute. Cette caractéristique de contrôle spatiotemporel est primordiale, afin d'éviter les potentiels effets secondaires et de contrôler au mieux le dosage.⁷¹

Par conséquent, malgré les excellents résultats biologiques obtenus pour ces CORMs, il reste encore à optimiser certains paramètres afin d'avoir un meilleur contrôle. Pour cela dans un premier temps peut être envisagé un relargage du CO par une réaction endogène, en l'occurrence par le biais d'une catalyse enzymatique.

1.3.3 Libération du CO par processus enzymatique

La libération de CO par l'intermédiaire d'une réaction enzymatique est une idée astucieuse, car en effet cela permet de s'affranchir de tous les processus parasites pouvant survenir en solution et ainsi entraîner une libération de CO non contrôlée. C'est dans cette idée qu'ont été conçus les ET-CORMs (enzyme-triggered CO-releasing molecules).

H-G. Schmalz et collaborateurs sont les premiers à développer cette classe de CORMs avec la conception d'un complexe fer-tricarbonyle coordonné par un ligand acyloxybutadiène (Schéma 2). Ce composé est activé par les estérases, phosphatases ou encore protéases intracellulaires entraînant la formation d'un ligand instable hydroxybutadiène fragilisant complètement le complexe et induisant la libération de trois CO.⁷²

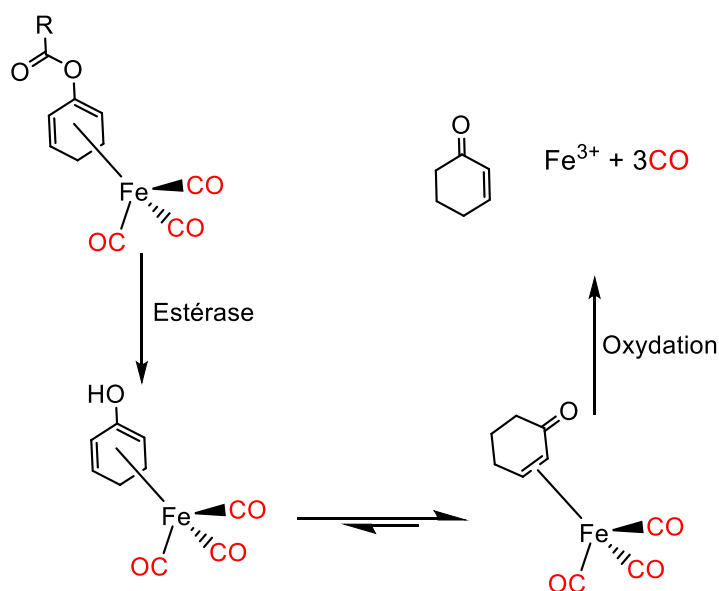


Schéma 2. Structure des complexes ET-CORMs développés par Schmalz et coll. Mécanisme de libération du CO induit par réaction enzymatique.

Dans les années qui suivirent, B. Wang et collaborateurs conçurent une nouvelle série de ET-CORMs, cette fois entièrement organiques. Le principe est basé sur la présence d'une lactone à 7 chaînons qui réagit en présence d'une estérase permettant une cycloaddition de Diels-Alder entraînant la libération de CO (Schéma 3).⁷³

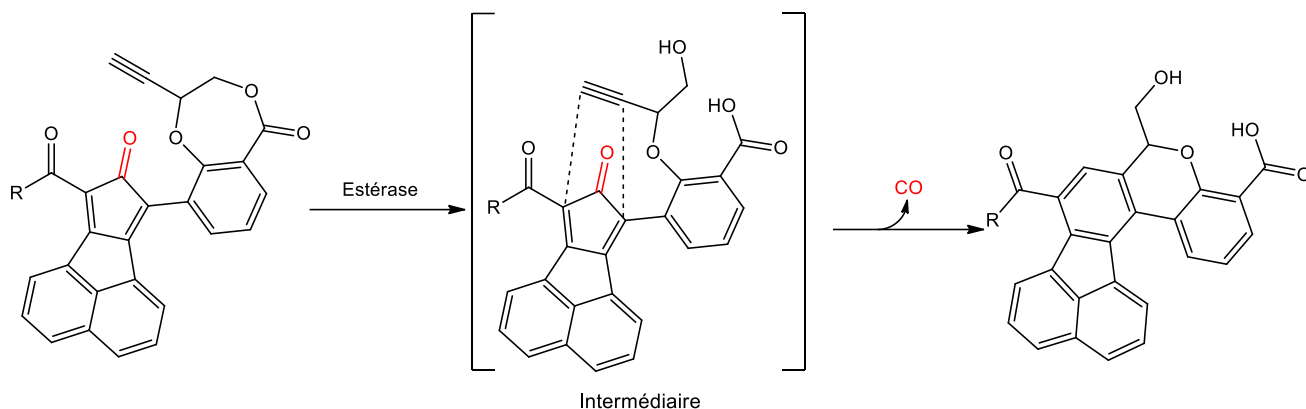


Schéma 3. Mécanisme de libération activé par une réaction enzymatique sur les molécules développées par Wang et coll.

Concernant leurs propriétés biologiques, ces composés présentent une activité anti-inflammatoire mais présentent également certains inconvénients. Tout d'abord, ils ne sont pas solubles dans l'eau ce qui comme expliqué précédemment, peut être un facteur limitant. De plus, la cinétique de libération des CO varie de cinq minutes à huit heures en fonction des substituants pour le complexe de fer, ce qui peut être assez long et rentrer en compétition avec la cinétique de diffusion des molécules (internalisation/externalisation).

Afin d'améliorer ce paramètre, l'exploitation de processus à cinétique élevée comme les réactions acido-basiques ou d'oxydo-réductions peut être envisagée. C'est pourquoi les quatrièmes et cinquièmes points traiteront de l'implication et de l'utilisation de ces derniers dans la libération de CO.

1.3.4 Libération du CO par processus d'oxydo-réduction

F. Zobi et collaborateurs ont décrit en 2010 une nouvelle série de CORM à base de rhénium libérant le CO *via* un mécanisme d'oxydo-réduction. Ces CORMs appelés ReCO-RM-1 et B₁₂-ReCO-RM-2 (Figure 17) sont des complexes de Rhénium (II) qui présentent l'immense avantage d'être hydrosolubles et stables dans les conditions aérobies.⁷⁴

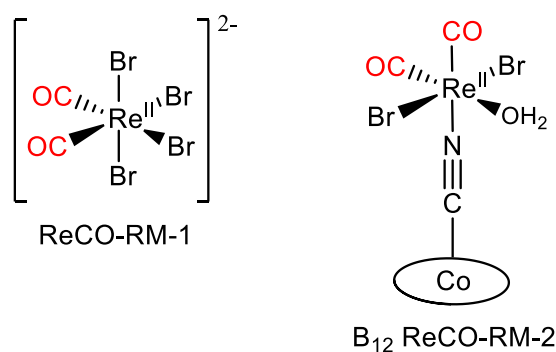


Figure 17. Structure moléculaire des complexes ReCO-RM-1 et B₁₂-ReCO-RM-2.

Le mécanisme entraînant la libération de CO débute par un échange de ligand où trois bromures sont remplacés par trois molécules d'eau. Le complexe cationique résultant va être réduit en un complexe neutre de rhénium(I) par le biais d'un processus croisé d'oxydation d'une demi-mole de bromure en conditions protiques formant l'hypobromite correspondant et générant un électron. S'en suit une réaction acido-basique avec déprotonation d'un ligand aqua formant ainsi le ligand hydroxo correspondant entraînant le passage d'un complexe neutre en un complexe anionique de formule $cis\text{-}[\text{Re}^{\text{I}}(\text{CO})_2\text{Br}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})]^-$. Ce dernier va libérer une molécule de CO selon un mécanisme non connu à ce jour (Schéma 4), cependant F. Zobi a identifié par infrarouge la présence d'un intermédiaire monocarbonylé qui serait l'espèce subissant la dernière oxydation formant ainsi un complexe anionique ReO_4^- .⁷⁴

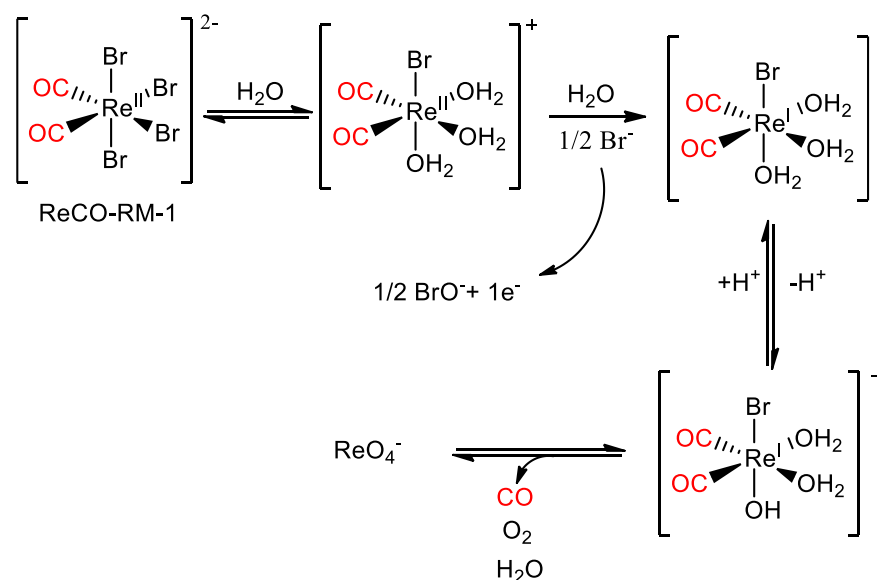


Schéma 4. Mécanisme proposé par F. Zobi de la libération du CO de ReCO-RM-1 selon un processus d'oxydo-réduction.

Ces complexes ont démontré des propriétés antioxydantes sur des cardiomyocytes de rats néonataux les protégeant d'ischémie et diminuant la mortalité cellulaire de 80%.^{67,74} Toutefois même si la vitesse de relargage de CO reste acceptable, allant de 6 à 30 min, à la vue du

mécanisme, le contrôle spatiotemporel complet semble difficile vu que le processus débute par une solvolysse qui peut avoir lieu à n'importe quel moment.

Un autre mécanisme de libération de CO médié par les ROS (Reactive Oxygen Species) a été mis en avant par A. Schiller et collaborateurs sur des complexes cationiques de manganèse (I) (Figure 18) connus pour libérer le CO sous irradiation lumineuse. Ici les auteurs ont démontré que ces composés étaient également sensibles à H_2O_2 , qui est un ROS généré en plus importante quantité dans les cellules cancéreuses,⁷⁵ avec une cinétique de libération d'environ 25 minutes.

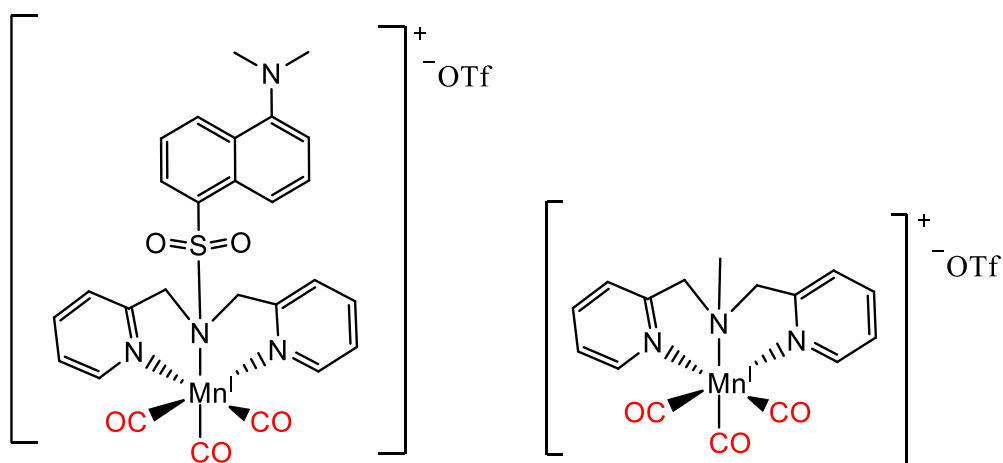


Figure 18. Structures des CORMs étudié par A. Schiller et al.

Des travaux complémentaires confirmant et proposant le mécanisme de ce phénomène ont été publiés par Q. He et collaborateurs sur le complexe CORM-1 encapsulé dans des nanoparticules de silice mésoporeuse. Dans cette étude, ils ont montré qu'en présence de H_2O_2 intracellulaire, du CO est libéré avec une cinétique d'environ une heure entraînant la formation d'un complexe de manganèse (III) de formule Mn_2O_3 . Dans cette publication, ils émettent l'hypothèse que ce complexe de manganèse catalyserait une réaction de type Fenton, c'est-à-dire de décomposition du H_2O_2 en HO^\cdot , et HO^\cdot réagirait ensuite avec le CORM pour déclencher la libération de CO (Schéma 5).⁷⁶

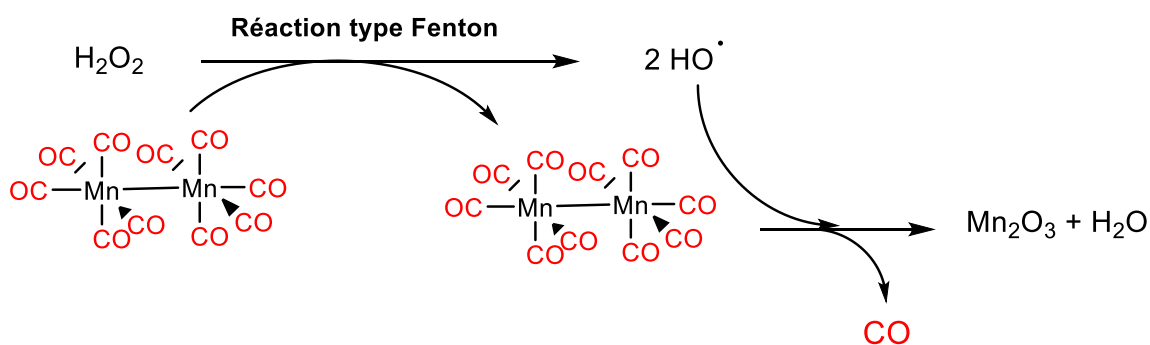


Schéma 5. Mécanisme proposé de libération de CO médiée par H_2O_2 .

Ces composés ont révélé présenter une activité anti-cancéreuse sur les lignées cellulaires du cancer du foie (HepG2) ou encore cancer du côlon (HCT116) mais également *in vivo* sur des modèles de souris, rendant très prometteuse cette stratégie médiée par les ROS qui sont naturellement surproduits par les cellules cancéreuses. Cependant dans ce cas de figure, il reste à déterminer si la toxicité est réellement due au CO ou aux ROS produits.

Comme introduit précédemment, l'autre mode d'activation favorable cinétiquement est la réaction acido-basique, et ce paramètre sera détaillé dans le point suivant.

1.3.5 Libération du CO par effet de pH

En 2004, R. Motterlini et collaborateurs ont publié l'étude d'une nouvelle série de CORMs 100% organique de la famille des boranocarbonates de formule $\text{Na}_2[\text{H}_3\text{BCO}_2]$ (CORM-A1) et $\text{Na}[\text{H}_3\text{BCONRR}_1]$ (Figure 19).

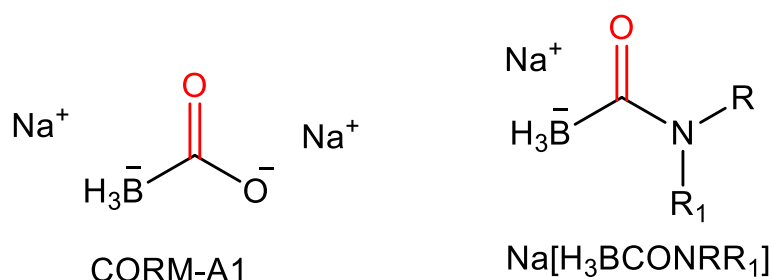


Figure 19. Structures des CORMs, CORM-A1 et $\text{Na}[\text{H}_3\text{BCONRR}_2]$.

Ces composés sont intéressants dû à la faible toxicité du bore et l'intérêt général envers les molécules organiques par rapport aux métaux en biologie. Ces CORMs sont à la fois hydrosolubles et capables de libérer du CO dans les conditions biologiques. En effet, à des pH neutres (6.8-8), l'acide ou l'amine vont se protoner entraînant le départ d'une molécule d'eau ou de l'amine correspondante. L'intermédiaire monocarbonylé formé va se dissocier avec une cinétique très rapide, impliquant la libération d'une molécule de CO (Schéma 6).

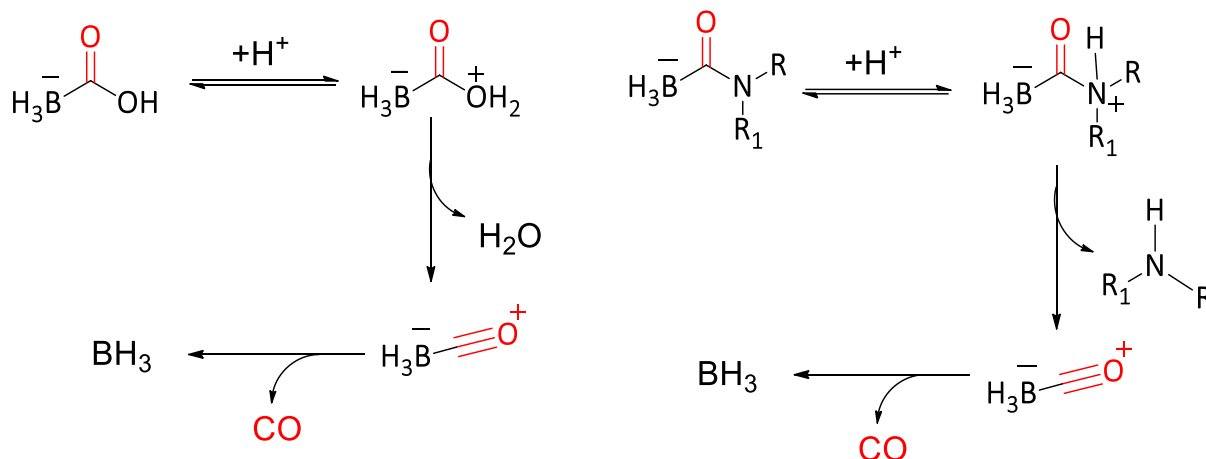


Schéma 6. Mécanisme de libération du CO à partir de CORM-A1 et Na[H₃BCONRR₁] par effet de pH.

CORM-A1 a montré avoir une activité neuroprotectrice dans le cadre de traitement de crises d'épilepsie, et également comme beaucoup d'autres CORMs il a une activité vasodilatatrice et anti-inflammatoire. L'inconvénient principal de ces molécules est leur cinétique de libération relativement lente, avec des temps de demi-vie allant de 21 à 63 min à pH (6,8).^{77,78}

Un second CORM appelé BW-CO-201-205 sensible au pH a été développé par B. Wang et collaborateurs. Le principe du mécanisme de libération de CO consiste en une réaction d'élimination suivie d'une aromatisation entraînant la libération de CO et la formation d'un dérivé benzaldéhyde (Schéma 7).

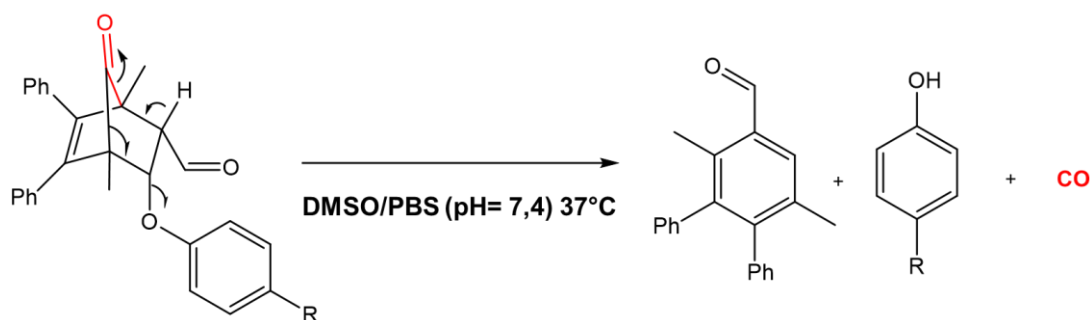


Schéma 7. Mécanisme de libération de CO par effet de pH du CORM BW-CO-201-205.

Les études biologiques effectuées sur ces composés ont révélé qu'ils présentent également une activité anti-inflammatoire, cependant contrairement à CORM-A1, ces CORMs ne sont pas hydrosolubles et ont un temps de demi-vie de libération de CO allant de 20 à 80 min environ.⁷⁹

Même si ces CORMs présentent l'avantage de ne pas présenter de métal, ils ne remplissent pas l'une des plus importantes conditions pour un CORMs qui est le contrôle spatiotemporel du relargage du CO. En effet seule l'irradiation lumineuse permettrait d'assurer à la fois une

complète livraison de la prodrogue et une activation localisée. Ces CORMs photoinductibles ou photoCORMs feront l'objet du dernier point de cette partie.

1.3.6 Libération du CO par irradiation lumineuse

L'exploitation de processus photochimiques en thérapie était déjà bien connue avant l'émergence des photoCORMs, en particulier à travers l'utilisation d'agents de thérapie photodynamique qui sous irradiation permettent la production d'oxygène singulet capable de tuer les cellules cancéreuses.⁸⁰

Dans le cadre de la libération de CO par irradiation lumineuse, le phénomène consiste en un transfert de charge c'est-à-dire de la migration d'un électron d'une orbitale localisée sur le métal vers une orbitale non-occupée localisée sur un ligand. Ce type de transfert est appelé MLCT (Metal-to-Ligand-Charge-Transfert) et entraîne une déstabilisation de la structure électronique du métal donc une diminution de sa capacité à effectuer la π -rétrodonation entraînant une labilisation de la liaison métal-carbonyle ce qui résulte du départ de ce dernier.

Le terme photoCORM a été introduit pour la première fois par Peter Ford,⁸¹ cependant les premières molécules répondant à la définition de photoCORMs en biologie ont été décrites par R. Motterlini comme indiqué précédemment, avec les complexes CORM-1 et $[\text{Fe}(\text{CO})_5]$ où la libération de CO se produit sous l'effet d'une irradiation à 365 nm.⁶⁶ Cependant, dû à leur insolubilité en solution aqueuse et donc leur faible biodisponibilité, plusieurs travaux ont été menés dans la conception de complexes photosensibles portant des fonctions polaires.

U. Schatzschneider fut le premier à décrire un photoCORM hydrosoluble. Celui-ci est un complexe cationique de manganèse de formule $[\text{Mn}(\text{CO})_3(\text{tpm})]^+$ (tpm= tris(pyrazolyl)methane) (Figure 20) capable d'induire la libération de CO par irradiation à 365 nm. Le temps de photolyse complète est de 20 min impliquant la libération de deux CO par molécule, cependant, la structure du produit de photolyse n'a pas été élucidée. La cytotoxicité du complexe a été évaluée sur des cellules du cancer du côlon (HT29). En effet, dans le noir et à 100 μM le complexe ne présente aucune activité anti-cancéreuse, cependant lorsqu'une irradiation de dix minutes à 365 nm est appliquée une diminution de 75% de cellules vivantes est observée.^{82,83} Dans les années qui suivirent, un nombre conséquent d'études décrivant de nouveaux photoCORMs a vu le jour, la majorité des complexes étant à base de manganèse⁸⁴ et même si certains comme le complexe $[\text{Mn}(\text{CO})_3(\text{bpy})\text{L}]^+$ (L = dérivé imidazole) décrits par E. Üstün et

collaborateurs ont montré des activités anticancéreuses intéressantes, la longueur d'onde d'irradiation nécessaire pour initier le départ de CO est de 365 nm, ce qui présente un faible intérêt pour une application biologique.⁸⁵

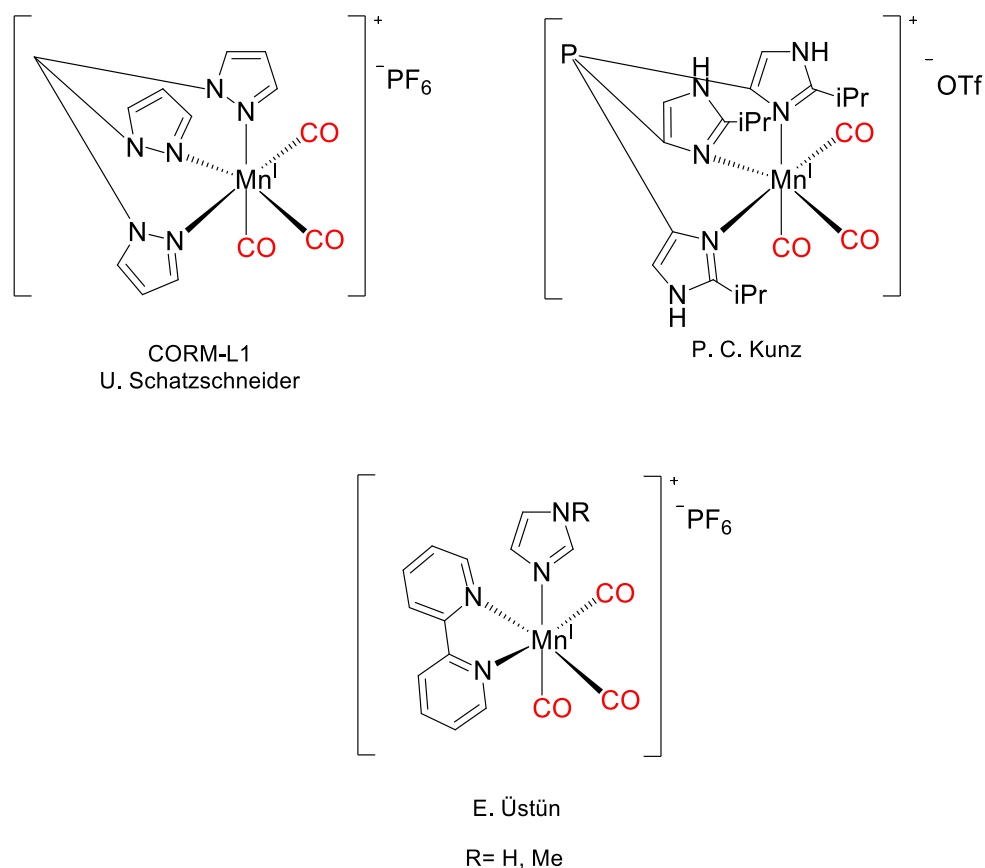


Figure 20. Structures des premiers photoCORMs hydrosolubles CORM-L1 et les complexes de P. C. Kunz et E. Üstün.

En effet, d'après la loi de De Broglie, la longueur d'onde est inversement proportionnelle à l'énergie signifiant que pour une grande valeur de longueur d'onde l'énergie correspondante sera plus faible. Plus l'énergie de l'onde électromagnétique est élevée et plus le risque d'endommagement des tissus est important (Figure 21).

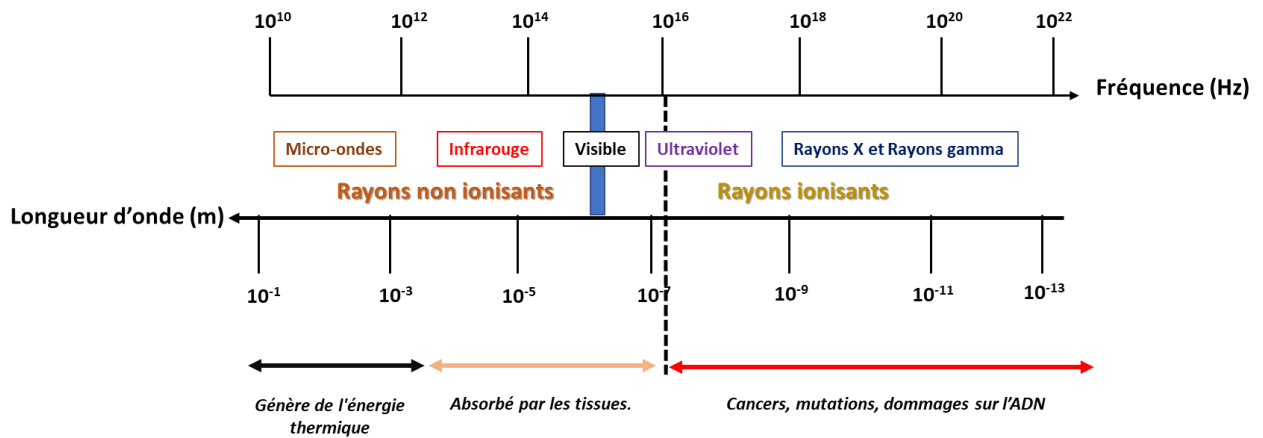


Figure 21. Représentation du spectre électromagnétique en fonction de la fréquence (énergie), et longueur d'onde, associé aux effets sur l'organisme.⁸⁶

De plus, les faibles longueurs d'onde étant très énergétiques et incapables de passer la barrière cutanée, sont relativement peu compatibles avec une application thérapeutique. C'est pourquoi, l'un des principaux défis dans la conception de nouveaux photoCORMs est d'atteindre l'activation dans le rouge, voire le proche infrarouge qui sont les longueurs d'onde pour lesquelles la profondeur de pénétration de la lumière est la plus importante (Figure 22).

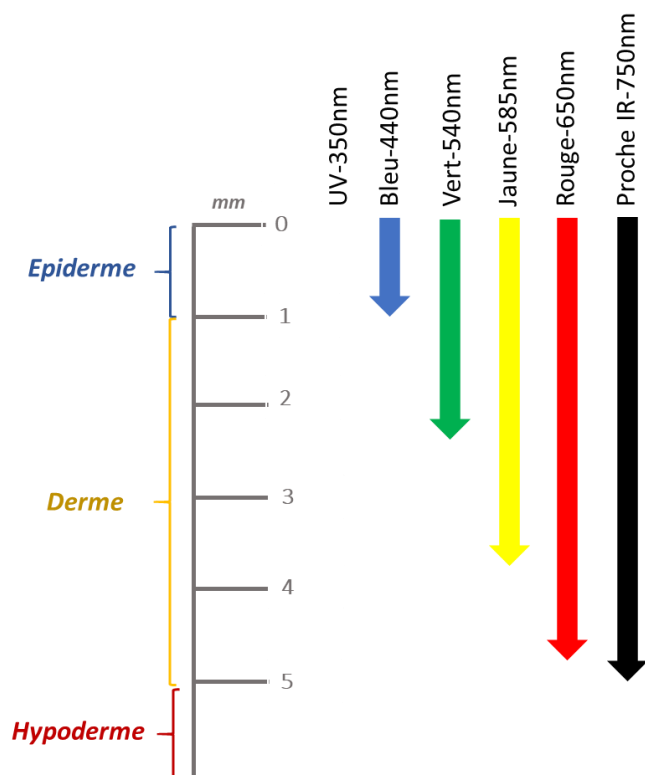


Figure 22. Distance de pénétration dans la peau des différentes longueurs d'onde.⁸⁷

Le premier photoCORM activable dans le visible a été décrit par M. Westerhausen en 2011. Ce complexe nommé CORM-S1 est un complexe de fer (II) hydrosoluble dicarboxylé entouré de deux cystéamines capable de libérer ses ligands CO sous une irradiation de quelques minutes à 470 nm.⁸⁸ Dans cette lancée, ont été développées d'autres séries de photoCORMs hydrosolubles et s'activant dans le visible, on peut citer le dimère de manganèse (I) $[\{(CO)_3Mn\}_2(\mu-SCH_2CH_2NH_3)]^{+2}$ (CORM-EDE1)⁸⁹ ou encore le $[(\mu-SCH_2CH_2COO)-Fe(CO)_3]_2$ développé par Fan et collaborateurs (Figure 23).^{84,90}

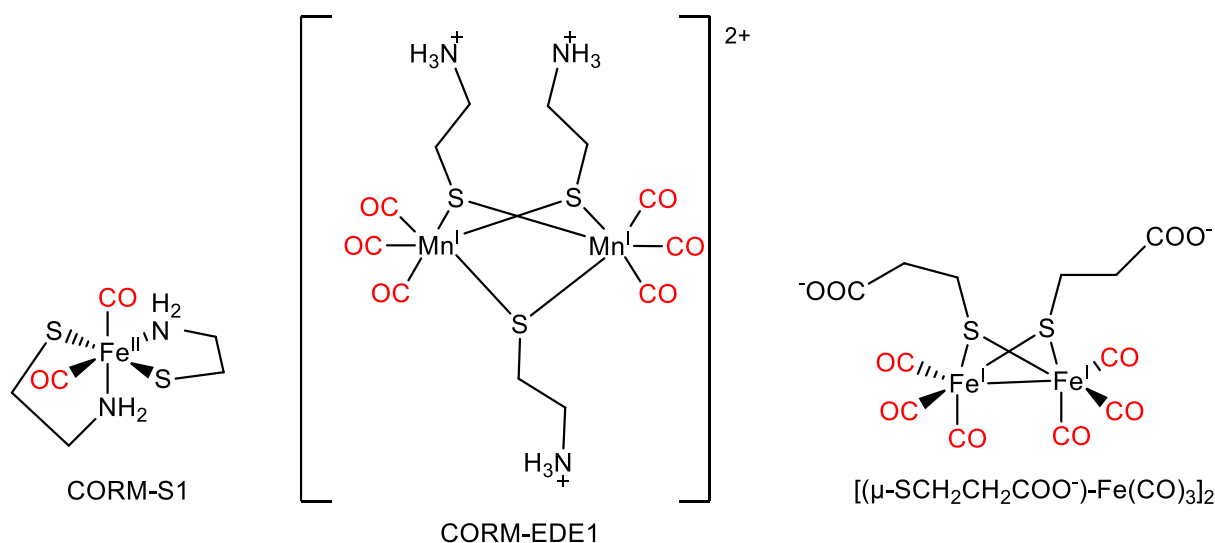


Figure 23. Structures des premiers CORMs hydrosolubles photoactivables dans le visible, CORM-S1, CORM-EDE1 et le complexe le $[(\mu-SCH_2CH_2COO)-Fe(CO)_3]_2$.

Le groupe de P. Mascharak a ensuite rapporté la synthèse de complexes à base de manganèse coordonné par une base de Schiff conjuguée (2-phenyliminomethyl)quinoline = pimq, 2-quinoline-N-(2'-methylthiophenyl)methyleneimine = qmtpm, 2-quinoline-N-(2'-methylthiophenyl)methyleneimine = pmtpm) ayant pour formule $[Mn(pimq)(CO)_3(MeCN)]^+$, $[Mn(qmtpm)(CO)_3(MeCN)]^+$, $[Mn(pmtpm)(CO)_3(MeCN)]^+$ et $[Mn(pmtpm)(CO)_3Br]$, $[Mn(qmtpm)(CO)_3Br]$ et présentant une MLCT entre 390 et 535 nm (Figure 24)⁹¹. Ces composés ont pu démontrer l'importance des effets de la structure des ligands sur la position de la MLCT, et par conséquent la variation des longueurs d'onde potentielles d'activation pour des ligands possédant des systèmes π étendus plus ou moins importants. Cependant, par le biais de cette stratégie, une MLCT à environ 580 nm semble être la limite dans le cadre des complexes métaux-carbonyle.

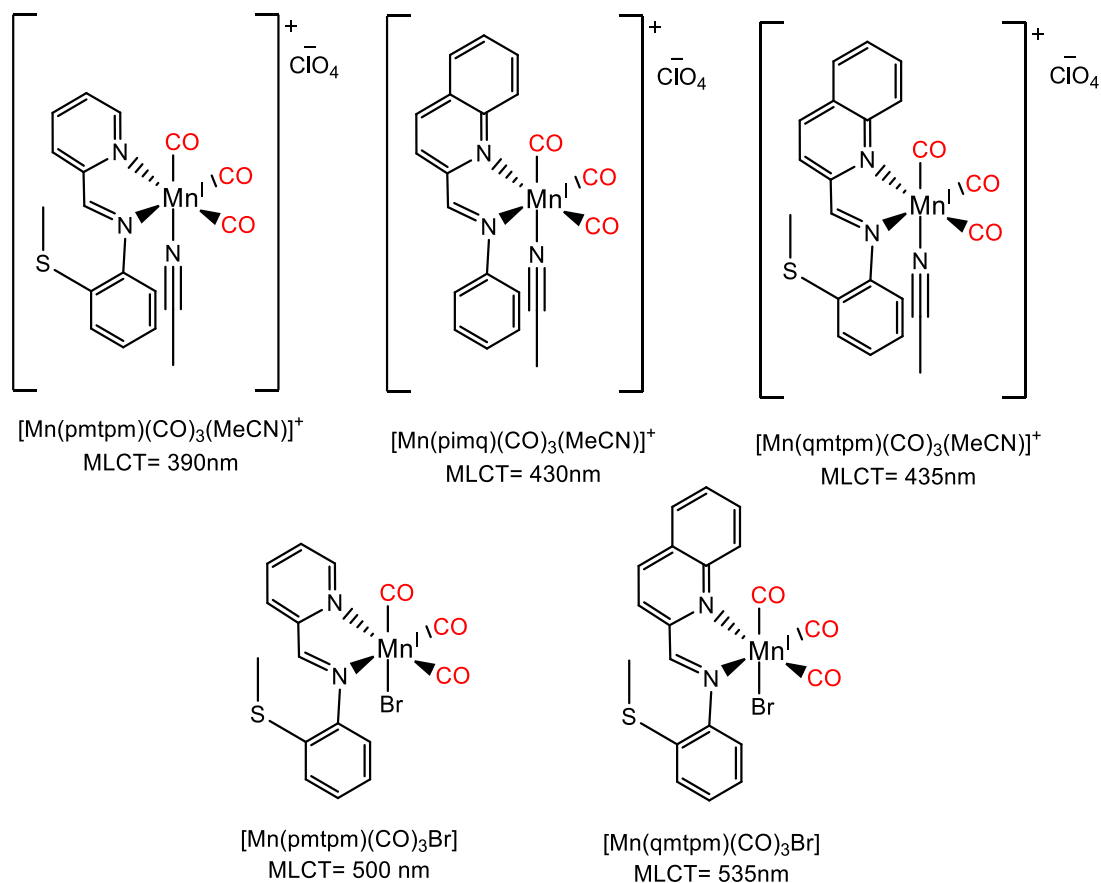


Figure 24. Structures des complexes de P. Mascharak illustrant l'influence du système π -conjugué du ligand sur la position de la MLCT.

Une alternative à cela a été proposée par P. Ford, *via* l'exploitation du processus d'upconversion. Cette technique consiste à convertir un photon de faible énergie en un nouveau d'énergie plus importante par le biais d'entités atomiques ou moléculaires telles que des lanthanides ou des chromophores. Pour cela le système va se composer d'une espèce absorbant la longueur d'onde d'irradiation et d'une entité émettrice qui va convertir l'énergie des photons absorbés et émettre un photon de plus haute énergie.

Dans son étude, il décrit l'encapsulation d'un complexe $[Mn(bpy)(CO)_2(PPh_3)_2]^+$ (λ photolyse = 470 nm) dans une nanoparticule de NaGdF₄, dopées à l'ytterbium (20 %) (espèce absorbante) et thulium (0,1%) (émetteur). Avec ce système nanoparticulaire, il démontre que sous irradiation à 980 nm, le complexe libère ses deux CO.⁹² Une autre étude publiée par X. Liu, décrit le greffage d'un photoCORM de formule initiale $[Fe(\eta^5-Cp)(CO)_2I]$ sur une nanoparticule composée de lanthanide pour assurer l'upconversion. Ils démontrent que le processus de libération de CO fonctionne après une irradiation à 980 nm, mais également que ces composés sont biocompatibles même à grande concentration (200 μ g/mL) avec une viabilité de plus de 80%.⁹³ Cependant le problème majeur avec ce type de système d'upconversion est

que les sources lumineuses sont des lasers très puissants avec lesquels une irradiation continue peut entraîner un endommagement des tissus et du matériel biologique.

1.4 Conclusion et perspectives

1.4.1 L'intérêt général des photoCORMs

Comme expliqué dans la partie précédente, la recherche concernant l'élaboration de nouveaux CORMs est concentrée sur l'hydrosolubilité et surtout le mode d'activation de ces derniers. Parmi tous ceux explorés, seuls deux permettent théoriquement un contrôle réel de libération après internalisation, les ROS induit et les photoCORMs. Cependant, seuls les photoCORMs permettent un contrôle spatiotemporel, c'est-à-dire que la libération de CO ne se produit qu'après irradiation et à l'endroit irradié.

C'est pourquoi dans le cadre de ce projet de thèse nous avons décidé de travailler sur la conception de nouveaux photoCORMs pour traiter le cancer du foie.

1.4.2 Optimisation pour une meilleure vectorisation

L'un des problèmes majeurs en thérapie anticancéreuse est la sélectivité. En effet, les conséquences d'un non ciblage des cellules à traiter sont des effets secondaires dus à la destruction de cellules saines, mais également une diminution de l'efficacité du médicament employé.

Afin de contrer cela, des stratégies de thérapie ciblée ont été développées, et même si les résultats sont encourageants, les vecteurs utilisés sont souvent très coûteux et difficiles à produire. Néanmoins une autre classe de vecteurs présente un grand intérêt de par leur faible coût et leur biocompatibilité, ce sont les carbohydrates.

En effet, ce projet de thèse s'est concentré sur le développement de CORMs glycoconjugués afin de cibler sélectivement les cellules cancéreuses du foie. Afin de valider la preuve de concept, quatre carbohydrates ont été sélectionnés. D'abord, le glucose et le 2-déoxyglucose, dû au fait que les cellules cancéreuses, afin de produire de l'énergie, internalisent naturellement plus de glucose, et pour ce faire, surexpriment les récepteurs transmembranaires GLUTs sélectifs des motifs glucose. Le 2-DG quant à lui est internalisé par ces mêmes GLUTs, cependant il va avoir un deuxième effet en inhibant la glycolyse et donc en altérant la production

d'énergie.⁹⁴ D'un autre côté ont été sélectionnées les molécules de galactose et *N*-acétylgalactosamine qui quant à elles vont permettre de cibler sélectivement les récepteurs au asialoglycoprotéine (ASGPR) exprimés quasiment exclusivement à la surface des hépatocytes⁹⁵ (Figure 25).

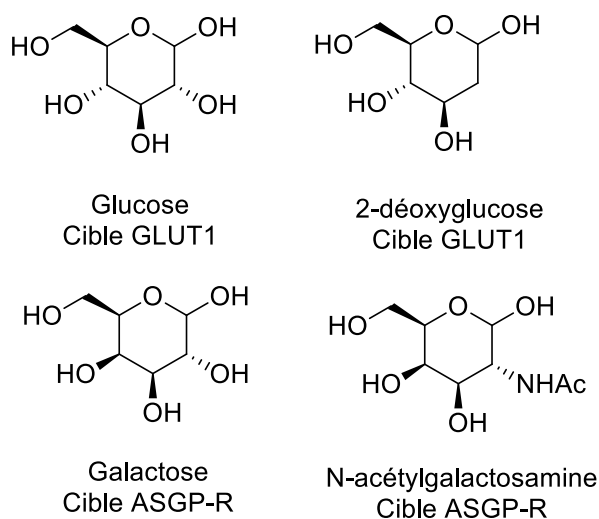


Figure 25. Structures des différents carbohydrates sélectionnés et leurs cibles.

Pour résumer, dans cette première partie la problématique entourant le CHC a été exposée. En effet, ce cancer est dans la majeure partie des cas, détecté après apparition de symptômes qui surviennent lorsque le CHC a atteint le stade C. Malgré les différentes stratégies de traitements proposées pour soigner les patients à ce stade, aucune ne permet d'éradiquer la maladie, c'est pourquoi l'alternative du CO est proposée. Même s'il est vrai qu'il est connu comme étant un gaz toxique, il présente également des propriétés thérapeutiques intéressantes lorsque qu'il est introduit de manière contrôlée. Toutefois son état gazeux rendant difficile son administration maîtrisée, l'utilisation de CORM est donc envisagée afin de contourner ce problème. Ces CORMs sont des molécules capables de libérer du CO sous l'effet d'un stimulus extérieur, parmi ces stimuli la lumière se révèle être un candidat de choix. En effet, comme indiqué précédemment elle permet d'avoir un contrôle spatio-temporel parfait du relargage du CO.

C'est pourquoi l'objectif de ce projet est de développer une stratégie de traitement du CHC par l'utilisation de CO sous forme de prodrogue. Pour cela, le CO sera lié de façon covalente à un métal qui sous l'effet d'une irradiation lumineuse peut rompre cette liaison et ainsi libérer le CO (photoCORMs). Toutefois, la plus-value de ces travaux réside dans le développement de photoCORMs glycoconjugués qui vont permettre une internalisation sélective de ces composés dans les hépatocytes cancéreux (Figure 26).

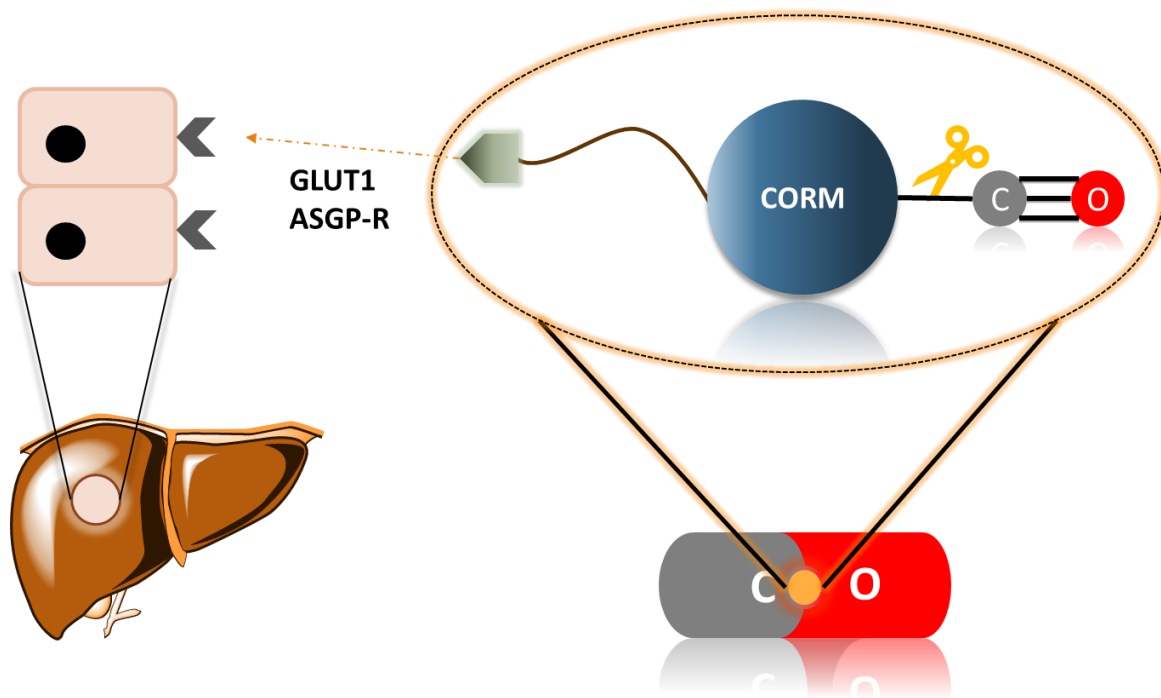


Figure 26. Illustration de l'objectif du projet de thèse. Fixation du CO sur le CORM décoré avec une molécule vectrice permettant le ciblage sélectif.

1.5 Références

- [1] H. Rungay, J. Ferlay, C. de Martel, D. Georges, A. S. Ibrahim, R. Zheng, W. Wei, V. E.P.P. Lemmens and I. Soerjomataram, *Eur. J. Cancer*, **2022**, 161, 108-118.
- [2] J. Valle, H. Wasan, D. H. Palmer, D. Cunningham, A. Anthoney, S. Madhusudan, T. Iveson, S. Hughes, S. P. Pereira, M. Roughton, and J. Bridgewater, *N. Engl. J. Med.*, **2010**, 362, 1273-1281.
- [3] P. J. Brindley, M. Bachini, S. I. Ilyas, S. A. Khan, A. Loukas, A. E. Sirica, B. T. Teh, S. Wongkham and G. J. Gores, *Nat Rev Dis Primers*, **2021**, 7, 65.
- [4] J. L. Petrick, A. A. Florio, A. Znaor, D. Ruggieri, M. Laversanne, C. S. Alvarez, J. Ferlay, P. C. Valery, F. Bray and K. A. McGlynn, *Int. J. Cancer*, **2020**, 147, 317-330.
- [5] H. B. El-serag, Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *The Liver: Biology and Pathobiology*, Wiley, **2020**, pp. 758-772.
- [6] K. A. McGlynn, J. I. Petrick and H. B. El-Serag, *Hepatology*, **2021**, 73, 4-13
- [7] M. Iannacone and L. G. Guidotti, *Nat. Rev. Immunol.*, **2022**, 22, 19-32.
- [8] M-F. Yuen, D-S. Chen, G. M. Dusheiko, H. L. A. Janssen, D. T. Y. Lau, S. A. Locarnini, M. G. Peters and C-L. Lai, *Nat. Rev. Dis. Primers*, **2018**, 4, 18035.
- [9] H. Yan, G. Zhong, G. Xu, W. He, Z. Jing, Z. Gao, Y. Huang, Y. Qi, B. Peng, H. Wang, L. Fu, M. Song, P. Chen, W. Gao, B. Ren, Y. Sun, T. Cai, X. Feng, J. Sui and W. Li, *eLife*, **2012**, 1, e00049.
- [10] E. Tabor, *J. Med. Virol.*, **1994**,42(4), 357–365.
- [11] T. Sy and M.M. Jamal, *Int. J. Med. Sci.* **2006**, 3, 41-46
- [12] S. Chidambaranathan-Reghupaty, P. B. Fisher and D. Sarkar, *Adv. Cancer Rev.*, **2021**, 149, 1-61.
- [13] N.N. Massarweh and H.B. El-Serag, *Cancer Control*, **2017**;24, 1073274817729245
- [14] A. N. Mekuria, M. N. Routledge, Y.Y. Gong and M. Sisay, *BMC Pharmacology and Toxicology*, **2020**, 21, 39
- [15] H.B. El-Serag, T. Tran and J.E. Everhart. *Gastroenterology* **2004**, 126, 460-468
- [16] J. M. Llovet, M. D. Concepcio Bru and J. Bruix, *Semin. Liver Dis.*, **1999**, 19, 329-338.
- [17] Z. Chen, H. Xie, M. Hu, T. Huang, Y. Hu, N. Sang and Y. Zhao, *Am. J. Cancer. Res.* **2020**, 10, 2993-3036.
- [18] J.H Zhong, G. Torzilli, H. Xing, C. Li, J. Han, L. Liang, H. Zhang, S.Y. Dai, L.Q. Li, F. Shen and T. Yang *BBA Clin*, **2016**, 6, 125-130.
- [19] J.A. Marrero, L.M. Kulik, C.B. Sirlin, A.X. Zhu, R.S. Finn, M.M. Abecassis, L.R. Roberts and J.K. Heimbach, *Hepatology* **2018**, 68, 723-750.
- [20] N.E. Rich, N.D. Parikh and A.G. Singal, *Curr Treat Options Gastroenterol* **2017**, 15, 296-304.
- [21] W. Luo, Y. Zhang, G. He, M. Yu, M. Zheng, L. Liu and X. Zhou, *J Surg Oncol*, **2017**, 15, 126.
- [22] S.M.Lin, C.J. Lin, C.C. Lin, C.W. Hsu and Y.C.Chen, *Gut*. **2005**, 54, 1151–6.
- [23] M.S. Chen, J.Q. Li, Y. Zheng, R.P. Guo, H.H. Liang, Y.Q. Zhang, X.J. Lin, W.Y. Lau, *Ann. Surg.*, **2006**, 243, 321-328.
- [24] D. Suresh, A.N. Srinivas, A. Prashant, K.B. Harikumar and D.P. Kumar, *Clinical and Experimental Medicine*, **2023**, 13, 1-6.

- [25] C.Y. Liu, K-F Chen and P-F. Chen, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, **2015**, 5, a021535.
- [26] R. Lencioni, T. de Baere, M. Burrel, J.G. Caridi, J. Lammer, K. Malagari, R.C. Martin, E. O’Grady, M.I. Real, T.J. Vogl, A. Watkinson and J-F. H. Geschwind. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.*, **2012**, 35: 980–985.
- [27] M. Cervello, D. Bachvarov, N. Lampiasi, A. Cusimano, A. Azzolina, J.A. McCubrey and G. Montalto. *Cell Cycle* **2012**, 11, 2843-2855.
- [28] J.M. Llovet, S. Ricci, V. Mazzaferro, P. Hilgard, E. Gane, J.F. Blanc, A.C. de Oliveira, A. Santoro, J.L. Raoul, A. Forner, M. Schwartz, C. Porta, S. Zeuzem, L. Bolondi, T.F. Greten, P.R. Galle, J.F. Seitz, I. Borbath, D. Häussinger, T. Giannaris, M. Shan, M. Moscovici, D. Voliotis and J. Bruix, *N. Engl. J. Med.*, **2008**; 359: 378-390.
- [29] A.L. Cheng, Y.K. Kang, Z. Chen, C.J. Tsao, S. Qin, J.S. Kim, R. Luo, J. Feng, S. Ye, T.S. Yang, J. Xu, Y. Sun, H. Liang, J. Liu, J. Wang, W.Y. Tak, H. Pan, K. Burock, J. Zou, D. Voliotis and Z. Guan, *Lancet Oncol* **2009**; 10: 25-34.
- [30] M. Kudo, R.S. Finn, S. Qin, K.H. Han, K. Ikeda, F. Piscaglia, A. Baron, J.W. Park, G. Han, J. Jassem, J.F. Blanc, A. Vogel, D. Komov, T.R.J. Evans, C. Lopez, C. Dutcus, M. Guo, K. Saito, S. Kraljevic, T. Tamai, M. Ren and A.L. Cheng, *Lancet* **2018**, 391, 1163-1173.
- [31] J. Bruix, S. Qin, P. Merle, A. Granito, Y.H. Huang, G. Bodoky, M. Pracht, O. Yokosuka, O. Rosmorduc, V. Breder, R. Gerolami, G. Masi, P.J. Ross, T. Song, J.P. Bronowicki, I. Ollivier-Hourmand, M. Kudo, A.L. Cheng, J.M. Llovet, R.S. Finn, M.A. LeBerre, A. Baumhauer, G. Meinhardt and G. Han, *Lancet*, **2017**; 389: 56-66.
- [32] G.K. Abou-Alfa, T. Meyer, A.L. Cheng, A.B. El-Khoueiry, L. Rimassa, B.Y. Ryoo, I. Cicin, P. Merle, Y. Chen, J.W. Park, J.F. Blanc, L. Bolondi, H.J. Klumpen, S.L. Chan, V. Zagonel, T. Pressiani, M.H. Ryu, A.P. Venook, C. Hessel, A.E. Borgman-Hagey, G. Schwab and R.K. Kelley, *N Engl J Med*, **2018**, 379, 54-63.
- [33] V. Himmelsbach, M. Pinter, B. Scheiner, M. Venerito, F. Sinner, C. Zimpel, J. U. Marquardt, J. Trojan, O. Waidmann and F. Finkelmeier, *Cancers*, **2022**, 14(7), 1722.
- [34] Santé public France, <https://www.santepubliquefrance.fr/presse/2019/les-intoxications-au-monoxyde-de-carbone-peuvent-concerner-chacun-de-nous.-adoptez-les-bons-gestes-pour-reduire-les-risques>. Consulté le 01/04/2024.
- [35] L. D. Prockop and R. I. Chichkova, *J. Neurol. Sci.*, **2007**, 262, 122-130.
- [36] S. T. Omaye, *Toxicology*, **2002**, 180, 139-150.
- [37] A. Ernst and J.D. Zibrak, *N. Engl. J. Med.*, **1998**, 339, 1603-8.
- [38] L.K. Weaver, *N. Eng. J. Med.*, **2009**, 360, 1217-25
- [39] L. R. Goldbaum, R. G. Ramirez and K. B. Absalon, *Aviat. Space Environ. Med.*, **1975**, 46, 1289-1291
- [40] C. C. Romão, W. A. Blättler, J. D. Seixas and G. J. L. Bernardes, *Chem Soc. Rev.*, **2012**, 41, 3571-3583
- [41] T. Sjöstrand, *Nature*, **1949**, 164, 580.
- [42] R. Tenhunen, H. S. Marver and R. Schmid, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1968**, 61, 748–755.
- [43] M.D. Maines, *FASEB J.*, **1988** 2, 2557–2568.
- [44] S. Kumar and U. Bandyopadhyay, *Toxicol. Lett.*, **2005**, 157, 175-188
- [45] K.D. Poss and S. Tonegawa, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1997**, 94, 10919–10924

- [46] A. Yachie, Y. Niida, T. Wada, N. Igarashi, H. Kaneda, T. Toma, K. Ohta, Y. Kasahara and S. Koizumi. *J. Clin. Invest.*, **1999**, 103, 129–135
- [47] T. Minamino, H. Christou, C-M. Hsieh, Y. Liu, V. Dhawan, N. G. Abraham, M. A. Parrella, S.A. Mitsialis and S. Kourembanas, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2001**, 98, 8798–8803
- [48] S-F. Yet, R. Tian, M. D. Layne, Z. Y. Wang, K. Maemura, M. Solovyeva, B. Ith, L. G. Melo, L. Zhang, J. S. Ingwall, V. J. Dzau, M-E. Lee and M. A. Parrella, *Circ. Res.*, **2001**, 89, 168–173
- [49] T. Fujita, K. Toda, A. Karimova, S-F. Yan, Y. Naka, S-F. Yet and D. J. Pinsky, *Nat. Med.*, **2001**, 7, 598–604
- [50] R. Stocker, *Antioxid. Redox. Signal.*, **2004**, 6, 841–849.
- [51] R. Ollinger, P. Kogler, J. Troppmair, M. Hermann, M. Wurm, A. Drasche, I. Konigsrainer, A. Amberger, H. Weiss, D. Ofner, F. H. Bach and R. Margreiter, *Cell Cycle* **6**, **2007**, 6, 39–43.
- [52] A. Verma, D. J. Hirsch, C. E. Glatt, G. V. Ronnett and S. H. Snyder, *Science*, **1993**, 259, 381–384.
- [53] A. Natarajan and J. G. Winner, *Int. J. Basic. Clin. Pharmacol.*, **2023**, 12, 607–615.
- [54] S.W. Ryter and L. E. Otterbein, *Bioessays*, **2004**, 26, 270–280.
- [55] I. Petrache, L.E. Otterbein, J. Alam, G.W. Wiegand and A.M. Choi. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, **2000**, 278, L312–L319.
- [56] X. Zhang, P. Shan, J. Alam, R.J. Davis, R.A. Flavell, P.J. Lee, *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278, 22061–22070.
- [57] R. Motterlini and L. E. Otterbein, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2010**, 9, 728–743.
- [58] E. Bathoorn, D-J. Slebos, D.S. Postma, G.H. Koeter, A.J.M. van Oosterhout, M. van der Toorn, H.M. Boezen and H.A.M. Kerstjens, *Eur. Respir. J.*, **2007**, 30, 1131–1137.
- [59] H. Was, J. Dulal and A. Jozkowicz, *Current Drug targets*, **2010**, 11, 1551–1570.
- [60] C. Szabo, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2016**, 15, 185–203.
- [61] B. Wegiel, D. Gallo, E. Csizmadia, C. Harris, J. Belcher, G. M. Vercellotti, N. Penacho, P. Seth, V. Sukhatme, A. Ahmed, P. P. Pandolfi, L. Helczynski, A. Bjartell, J. L. Persson and L. E. Otterbein, *Cancer Res.*, **2013**, 73, 7009–7021.
- [62] J-B. Peng, H-Q. Geng and X-F. Wu, *Chem*, **2019**, 5, 526–552.
- [63] L. Mond, C. Langer, and F.J. Quincke, *Chem. Soc. Trans.*, **1890**, 57, 749–753.
- [64] Z. Huang and J. J. Wilson, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2021**, 1312–1324
- [65] R. Alberto, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2009**, 21–31.
- [66] R. Motterlini, J. E. Clark, R. Foresti, P. Sarathchandra, B. E. Mann and C. J. Green, *Circ. Res.*, **2002**, 90, e17–e24.
- [67] F. Zobi, *Future Med. Chem.*, **2013**, 5, 175–188.
- [68] B.W. Sun, H. Sun, C. Liu, J. Shen, Z.Y. Chen and X. Chen, *J. Surg. Res.*, **2007**, 139, 128–135.
- [69] J.E. Clark, P. Naughton, S. Shurey, C.J. Green, T.R. Johnson, B.E. Mann, R. Foresti, and R. Motterlini, *Circ. Res.*, **2003**, 93, e2–e8.
- [70] M. Seveso, M. Vadori, E. Bosio, F. Fante, F. Besenon, L. Ravarotto, S. Bedendo, T.R. Johnson, B.E. Mann, R. Motterlini, E. Cozzi, E. Ancona, *Am. J. Transplant.*, **2005**, 5, 306.

- [71] S.H. Heinemann, T. Hoshi, M. Westerhausen and A. Schiller, *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 3644–3660.
- [72] S. Romanski, B. Kraus, M. Guttentag, W. Schlundt, H. Rücker, A. Adler, J-M. Neudörfl, R. Alberto, S. Amslinger and H-G. Schmalz, *Dalton Trans.*, **2012**, 41, 13862–13875.
- [73] X. Ji, K. Ji, V. Chittavong, B. Yu, Z. Pan and B. Wang, *Chem. Commun.*, **2017**, 53, 8296–8299.
- [74] F. Zobi, A. Degonda, M. C. Schaub and A. Y. Bogdanova, *Inorg. Chem.*, **2010**, 49, 7313–7322.
- [75] U. Reddy G, J. Axthelm, P. Hoffmann, N. Taye, S. Gläser, H. Görls, S.L. Hopkins, W. Plass, U. Neugebauer, S. Bonnet and A. Schiller, *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139, 4991-4994.
- [76] Z. Jin, Y. Wen, L. Xiong, T. Yang, P. Zhao, L. Tan, T. Wang, Z. Qian, B-L. Sud and Q. He, *Chem. Commun.*, **2017**, 53, 5557-5560.
- [77] R. Motterlini, P. Sawle, S. Bains, J. Hammad, R. Alberto, R. Foresti and C.J. Green, *Faseb J.*, **2005**, 19.
- [78] T.S. Pitchumony, B. Spingler, R. Motterlini and R. Alberto, *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, 8, 4849-4854.
- [79] X. Ji, L. K. C. De La Cruz, Z. Pan, V. C. and B. Wang, *Chem. Commun.*, **2017**, 53, 9628-9631.
- [80] T.J. Dougherty, C.J. Gomer, B.W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan and Q. Peng, *J. Natl. Cancer Inst.*, **1998**, 90, 889-905.
- [81] R. D. Rimmer, H. Richter and P. C. Ford, *Inorg. Chem.*, **2010**, 49, 1180-1185.
- [82] U. Schatzschneider, *Inorg. Chim. Acta*, **2011**, 374, 19-23.
- [83] J. Niesel, A. Pinto, H.W. Peindy N'Dongo, K. Merz, I. Ott, R. Gust, U. Schatzschneider, *Chem. Commun.*, **2008**, 1798-1800.
- [84] E. Kottelat and F. Zobi, *Inorganics*, **2017**, 5, 24.
- [85] E. Üstün, A. Özgür, K. A. Coşkun, S. Demir, I. Özdemir and Y.Tutar, *J. Coord. Chem.*, **2016**, 69, 3384-3394.
- [86] A. Zamanian and C. Hardiman, *High Frequency Electronics*, **2005**, 4, 16-26.
- [87] C. Ash, M. Dubec, K. Donne and T. Bashford, *Lasers Med Sci*, **2017**, 32, 1909–1918.
- [88] R. Kretschmer, G. Gessner, H. Görls, S.H. Heinemann and M. Westerhausen, *J. Inorg. Biochem.*, **2011**, 105, 6-9.
- [89] R. Mede, M. Klein, R. A. Claus, S. Kriek, S. Quickert, H. Görls, U. Neugebauer, M. Schmitt, G. Gessner, S. H. Heinemann, J. Popp, M. Bauer and M. Westerhausen, *Inorg. Chem.*, **2016**, 55, 104-113.
- [90] H.T. Poh, B.T. Sim, T.S. Chwee, W.K. Leong and W.Y. Fan, *Organometallics*, **2014**, 33, 959-963.
- [91] M.A. Gonzalez, S.J. Carrington, N.L. Fry, J.L. Martinez, and P.K. Mascharak, *Inorg. Chem.*, **2012**, 51, 11930–11940.
- [92] A.E. Pierri, P-J. Huang, J.V. Garcia, J.G. Stanfill, M. Chui, G. Wu, N. Zheng and P.C. Ford, *Chem. Commun.*, **2015**, 51, 2072—2075.

[93] J. Ou, W. Zheng, Z. Xiao, Y. Yan, X. Jiang, Y. Dou, R. Jiang and X. Liu, *J. Mater. Chem. B.*, **2017**, 5, 8161-8168.

[94] M.B. Calvo, A. Figueroa, E. G. Pulido, R.G. Campelo, L.A. Aparicio, *Int. J. Endocrinol.*, **2010**, 2010, 205357.

[95] C.P. Stowell, R.T. Lee and Y.C. Lee, *Biochemistry*, **1980**, 19, 4904-4908.

Chapitre 2

Synthèse, propriétés physico-chimiques et études biologiques de nouveaux CORMs à base de Manganèse

Chapitre 2. Synthèse, propriétés physico-chimiques et études biologiques de nouveaux CORMs à base de Manganèse

2.1 Présentation de la série [Mn(8-HQ)(CO)₃R-Imd]

2.1.1 Conception et choix de la structure des complexes

La première étape de la conception de cette nouvelle série de photoCORMs est le choix du métal. En effet, le candidat idéal doit préférablement être abondant et de faible coût, il doit présenter une faible toxicité pour l'organisme, et si possible être connu comme ayant des propriétés photosensibles. Ce sont les raisons pour lesquelles le manganèse a été choisi comme base métallique dans l'élaboration de nos complexes. En effet, le manganèse est le troisième métal de transition le plus abondant et le moins cher après le titane et le fer⁹⁶ (Figure 27).

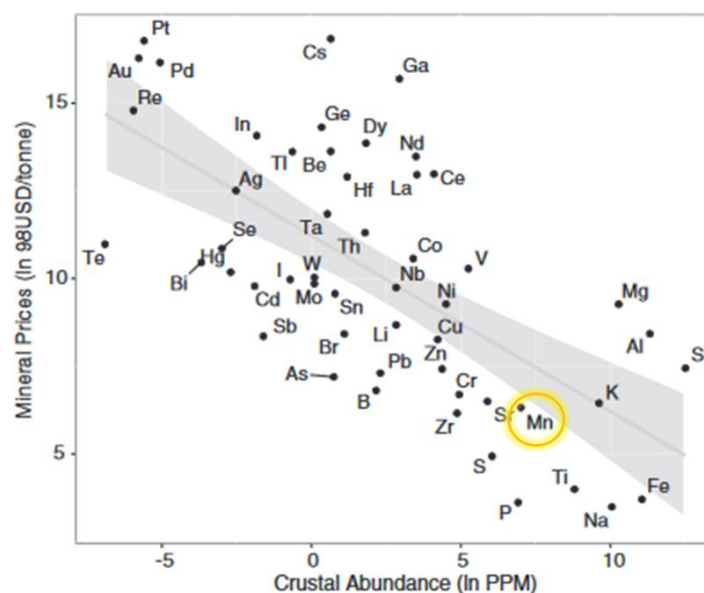


Figure 27. Coût des éléments en fonction de leur abondance.

De plus, le manganèse est présent naturellement dans l'organisme le rendant ainsi biocompatible. Le troisième paramètre qui scelle définitivement le choix est le fait que la majorité des photoCORMs sont à base de manganèse (cf. 1.3.6) ce qui constitue une solide base de travail facilitant ainsi la conception de nouveaux composés.

La deuxième étape est le choix des ligands. Ici leur sélection est basée sur leur capacité à permettre un transfert de charge dans le visible et également la mise en place d'une large diversité de fonctions réactives qui pourront servir par la suite de point de fixation pour des

vecteurs biologiques. C'est pourquoi la 8-hydroxyquinoléine (8-HQ) et l'imidazole ont été choisis (Figure 28).

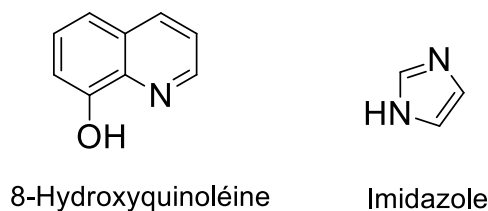


Figure 28. Structure des molécules, 8-Hydroxyquinoléine et imidazole.

La 8-HQ est un ligand bidentate avec une excellente capacité de chélation *via* le doublet non-liant de l'azote sous forme de ligand L et également *via* le groupe phénolate qui coordine les ions métalliques en tant que ligand X. En plus de sa caractéristique de ligand LX, elle est capable d'accepter la π -retro-donation grâce à son orbitale anti-liante présente sur la partie quinoléine, ces paramètres lui ont valu d'être étudiée dans la production d'une large variété de complexes.⁹⁷ En effet, du fait des propriétés décrites précédemment, les complexes formés vont présenter une MLCT correspondant à une absorption dans le visible, ce qui justifie l'intérêt porté dans le cadre de cette thèse. Le ligand imidazole quant à lui, présente aussi des propriétés de coordination en tant que ligand L par le biais de l'atome d'azote (N3), mais surtout il permet de greffer sur le second atome d'azote une large diversité de fonctions qui serviront de point d'ancrage pour lier les vecteurs. Ainsi, l'objectif consiste en la formation de complexes octaédriques tricarbonylés de manganèse(I) chélatés par la 8-HQ et un dérivé imidazole, ces complexes ont pour formule générique $[\text{Mn}(8\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{R-Imd}]$ (Figure 29).

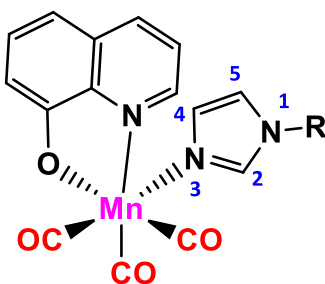


Figure 29. Structure finale souhaitée de la série $[\text{Mn}(8\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{R-Imd}]$.

La stratégie de synthèse de ces composés repose sur les travaux de P.J. Parker et A. Wojciki, qui ont décrit la synthèse du complexe $[\text{Mn}(8\text{-HQ})(\text{CO})_4]$ à partir d'hydroxyquinolate de sodium et de $[\text{MnBr}(\text{CO})_5]$. Ils ont également démontré que lorsque ce complexe réagit avec un nucléophile tel qu'une pyridine ou des phosphines (Nu), un ligand CO est substitué afin de former le complexe $[\text{Mn}(8\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{Nu}]$ ^{98,99} (Schéma 8).

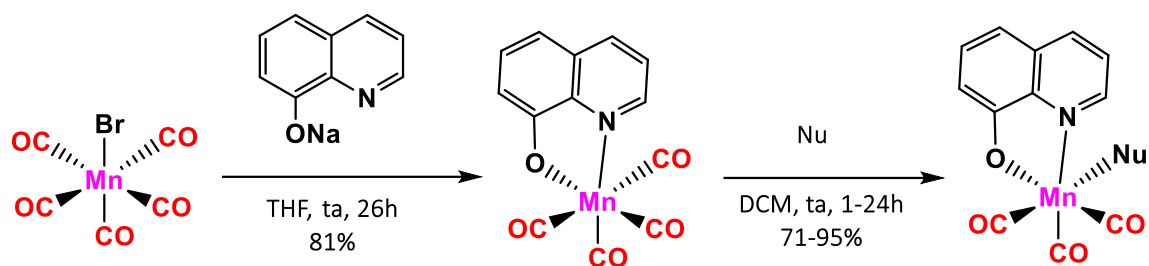


Schéma 8. Synthèse des complexes $[Mn(8-HQ)(CO)_4]$ et $[Mn(8-HQ)(CO)_3Nu]$ rapportée par P.J. Parker et A. Wojciki.

A partir de ces résultats, l'objectif, dans un premier temps, a été de suivre la même voie de synthèse, en remplaçant cependant le nucléophile par un dérivé imidazole.

2.1.2 Synthèse des complexes $[Mn(8-HQ)(CO)_3R-Imd]$

La première étape de synthèse consiste en la formation de l'hydroxyquinolate de sodium. Pour cela, l'hydroxyquinoléine réagit avec un équivalent de soude *via* une réaction acido-basique dans l'acétone. Cette réaction est quasiment instantanée et permet l'obtention du sel correspondant avec un rendement de 80%. Ensuite, l'hydroxyquinolate est engagé dans une réaction de complexation avec le complexe $[MnBr(CO)_5]$ mais malgré plusieurs tentatives, le complexe $[Mn(8-HQ)(CO)_4]$ n'a jamais été observé. A la place, le dimère **1** de formule $[Mn_2(8-HQ)_2(CO)_6]$ a été isolé après purification avec un rendement de 57% (Schéma 9).

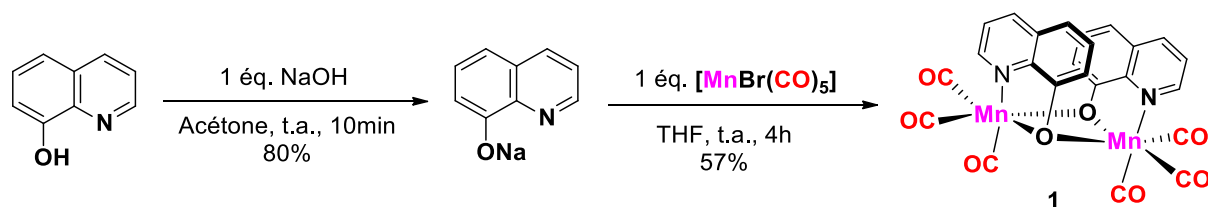


Schéma 9. Schéma de synthèse du dimère $[Mn_2(8-HQ)_2(CO)_6]$.

Le composé **1** s'avère être instable dans les solvants coordinants tels que l'acétonitrile ou l'eau mais est cependant stable à l'état solide. La structure du dimère **1** a été résolue par diffraction des rayons X confirmant les hypothèses de structure effectuées par J. Rochford et collaborateurs et étant en accord avec leurs résultats décrits sur le complexe de dirhénium $[Re_2(5.7-DiMe-8-HQ)_2(CO)_6]$ ^{100, 101} (Figure 30).

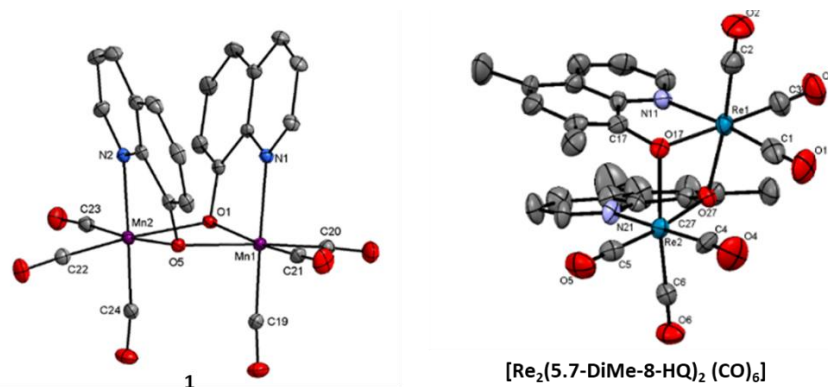
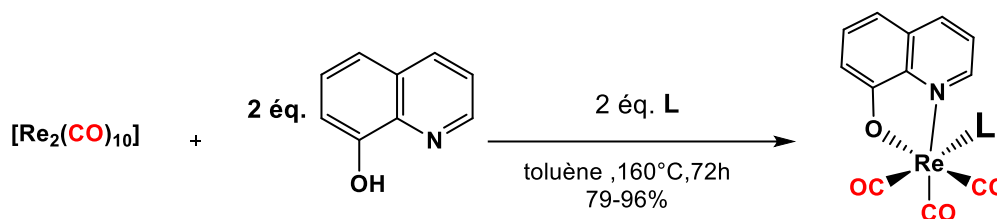


Figure 30. Structures moléculaires du dimère **1** et $[\text{Re}_2(5.7\text{-DiMe-8-HQ})_2(\text{CO})_6]$ issu des travaux de J. Rochford ¹⁰¹.

En 2018, Y-P. Lee et collaborateurs ont présenté la réaction «one-pot» entre le complexe $[\text{Re}_2(\text{CO})_{10}]$, la 8-HQ et des ligands N-donneurs tels que la phénylimidazole, l'imidazole et la 4-hydroxypyridine (ligand L), les complexes de formule générale $[\text{Re}(8\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{L}]$ sont obtenus avec des rendements respectifs de 84, 96 et 79% (Schéma 10).¹⁰² Cette étude a servi d'inspiration dans la synthèse de nos photoCORMs.



L = Phénylimidazole, imidazole, 4-hydroxypyridine

Schéma 10. Synthèse des complexes $[\text{Re}(8\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{L}]$ selon Y-P. Lee et collaborateurs.¹⁰²

A partir du dimère **1**, une optimisation des conditions de réaction a été entreprise. Pour ce faire, le composé *N*-méthylimidazole a été sélectionné comme modèle. La première tentative consistait en la réaction directe du dimère **1** en présence de deux équivalents de *N*-méthylimidazole dans du dichlorométhane à température ambiante pendant 3 h. Le complexe $[\text{Mn}(8\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{MeImd}]$ **2** a été obtenu avec un rendement de 50%. Afin d'améliorer le rendement, le solvant a été remplacé par le tétrahydrofurane (THF) qui est un solvant coordonnant, pouvant jouer le rôle d'intermédiaire stabilisant dans la réaction (Schéma 11).

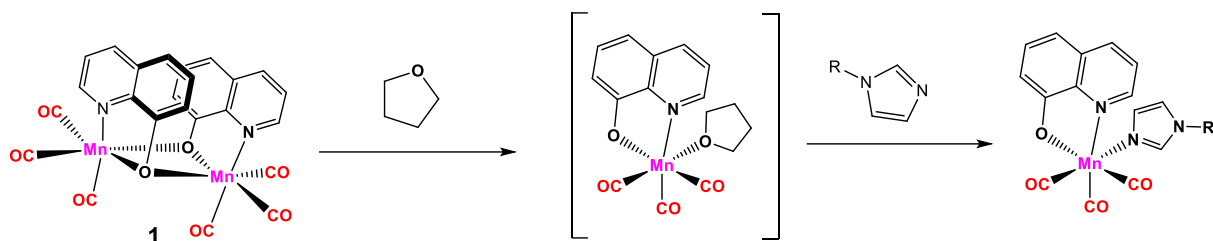


Schéma 11. Mécanisme supposé de formation du complexe $[\text{Mn}(\mathbf{8}\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{R-Imd}]$ dans le THF.

L'hypothèse est que le THF permet l'ouverture du dimère **1** en occupant un site de coordination et est ensuite substitué par le dérivé imidazole qui a une meilleure capacité de coordination. Dans ces conditions, le complexe **2** a pu être isolé avec un rendement de 77% après 2 h de réaction à température ambiante. Cette condition a donc été retenue pour la synthèse des différents complexes (Schéma 12).

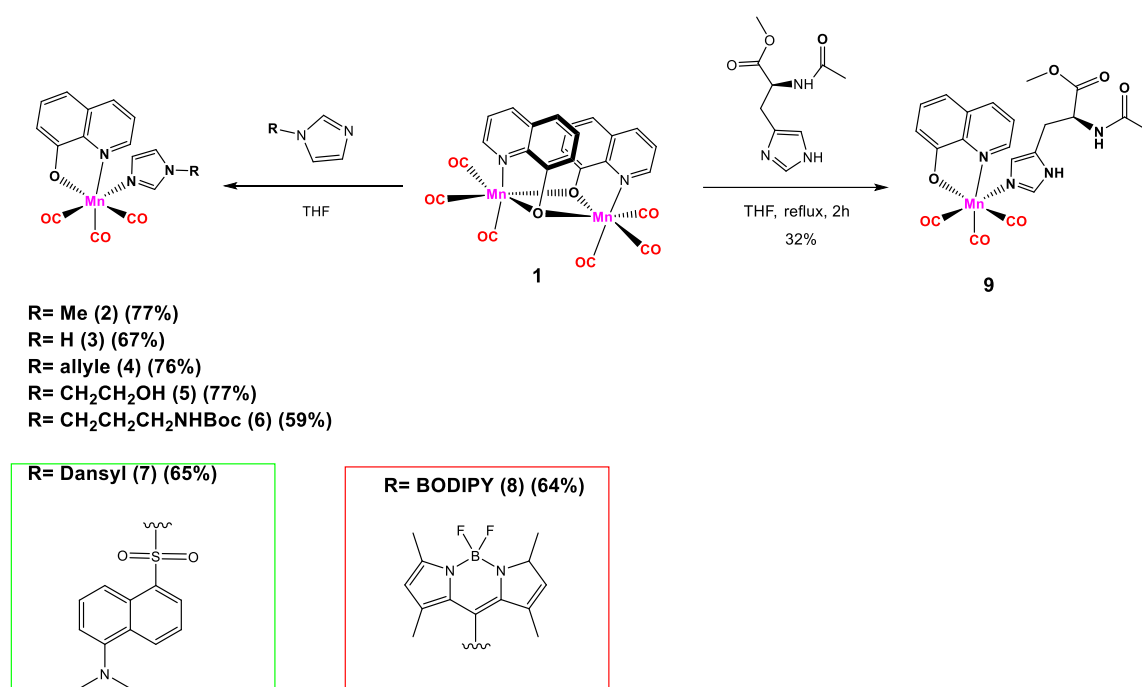
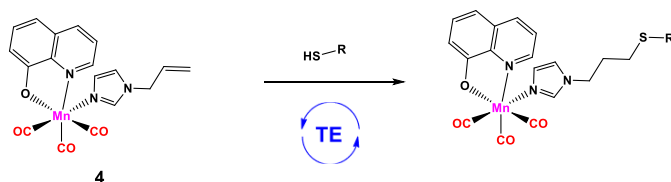


Schéma 12. Synthèse de la série de photoCORMs de formule $[\text{Mn}(\mathbf{8}\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{R-Imd}]$.

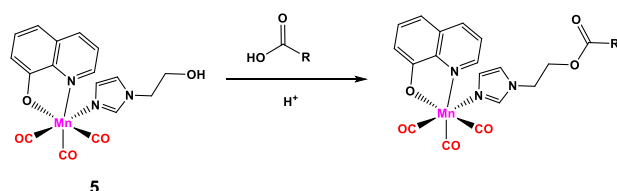
En effet, une large variété de dérivés imidazole avec diverses fonctions chimiques a été engagée en réaction allant de l'imidazole **3** à l'allyle-imidazole **4** à partir duquel pourraient être réalisées des réactions de métathèse ou encore de couplage thiol-ène. De plus, les complexes hydroxyethyl-imidazole **5** et aminopropyl-imidazole **6** ont également été obtenus, ces fonctions chimiques pourraient être engagées, pour le premier, dans une réaction d'estérification et pour le second dans la formation de liaisons amide, urée ou encore thio-urée (Schéma 13). Dans des perspectives d'imagerie ou de théranostique, des groupements fluorescents ont également été installés sur le motif imidazole tels que le dansyl **7** ou encore le BODIPY **8**. Pour finir, la

complexation d'un dérivé histidine di-protégé **9** a pu être effectuée, ouvrant la porte à de possibles réactions de fonctionnalisation de peptides ou protéines (« late-stage functionalization »).¹⁰³

a) Thiol-ène à partir du complexe $[\text{Mn}(\text{8-HQ})(\text{CO})_3\text{Allyl-Imd}]$



b) Estérification à partir du complexe $[\text{Mn}(\text{8-HQ})(\text{CO})_3\text{HO-Et-Imd}]$



c) Synthèse d'amide, urée et thiourée à partir du complexe $[\text{Mn}(\text{8-HQ})(\text{CO})_3\text{BocNH-Pr-Imd}]$

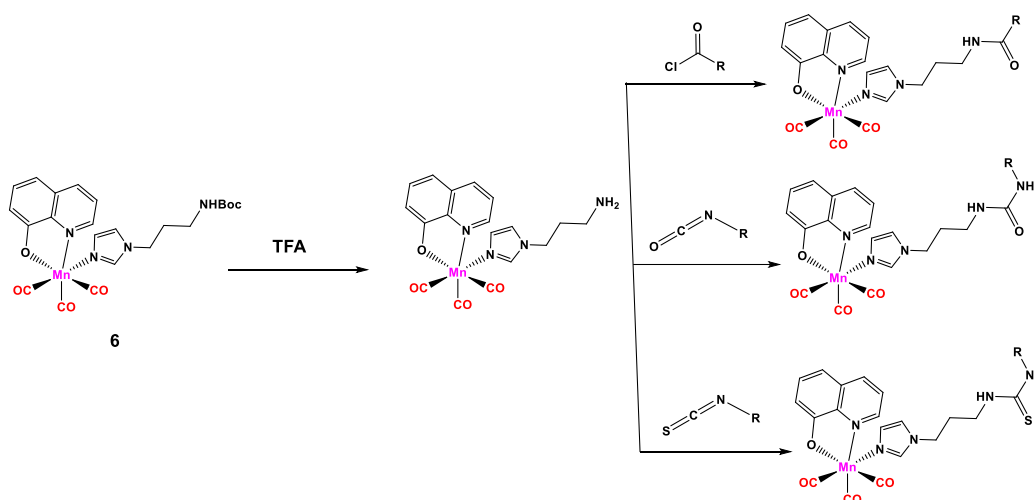


Schéma 13. Exemples de perspectives possibles, concernant l'exploitation de ces composés pour l'ancrage de fonctions d'intérêt.

Afin de comparer l'effet de la 8-HQ sur la MLCT ainsi que la réactivité du complexe, il a été envisagé de modifier sa structure en positionnant des substituants électrodonneurs et électroattracteurs et d'évaluer les effets qui en découlent. Concernant les groupements électrodonneurs, le choix s'est porté dans un premier temps sur des substituants tertio-butyle en positions 5 et 7. La stratégie de synthèse, ici, consiste de partir d'un pyrocatechol et d'effectuer une réaction de dialkylation en présence de trois équivalents de tert-butanol en milieu acide afin d'obtenir le composé 3,5-ditertbutylcatéchol correspondant **10** avec un rendement de 72%. Ce

composé est ensuite engagé dans une réaction d'oxydation avec 2 équivalents de NaNO_2 en milieu acide permettant l'obtention de la 1,2-benzoquinone **11** correspondante avec un rendement de 70%. Les étapes suivantes consistent en une amination réductrice régiosélective suivie d'une réaction de Skraup. Cependant l'espèce réduite n'a jamais pu être obtenue malgré plusieurs tentatives¹⁰⁴ (Schéma 14).

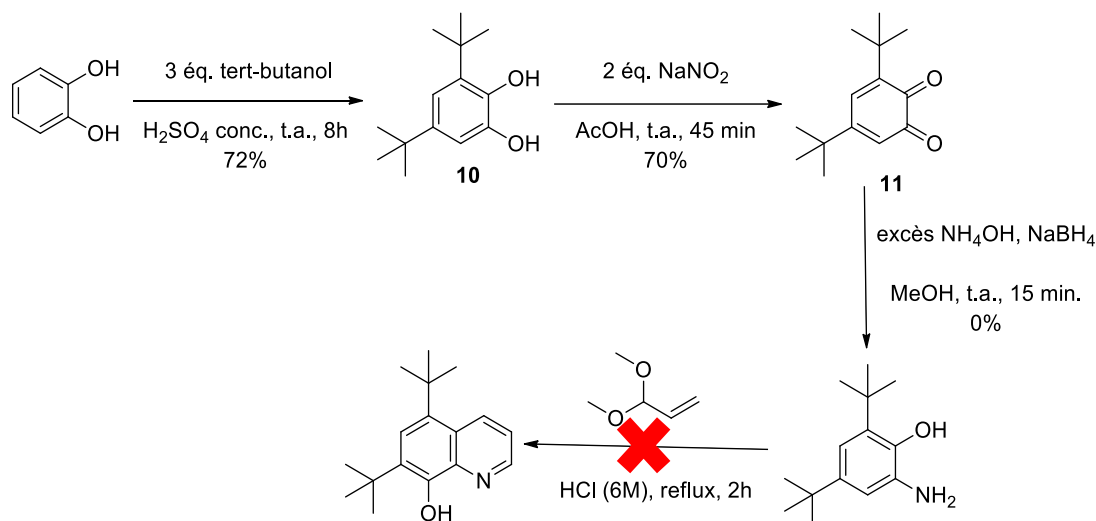


Schéma 14. Synthèse envisagée de la 5,7-ditBu-8-HQ.

L'alternative à cette voie de synthèse a donc été d'effectuer une réaction de Friedel-Craft à partir de la 8-HQ. Dans ces conditions, la 8-HQ réagit avec trois équivalents de tert-butanol en milieu acide à 70°C, cependant l'espèce souhaitée n'a pas pu être formée. Le groupement tert-butyle a été remplacé par des groupements isopropyle qui sont plus réactifs. A partir des mêmes conditions que celles décrites précédemment, le composé 5,7-diisopropyle-8-HQ **12** a été obtenu avec un rendement de 21%.¹⁰⁵ A partir du composé **12**, l'étape suivante consiste en la formation du sel de sodium correspondant afin de synthétiser le dimère, cependant le dimère n'a jamais pu être formé, certainement dû à l'encombrement stérique des groupements isopropyles (Schéma 15).

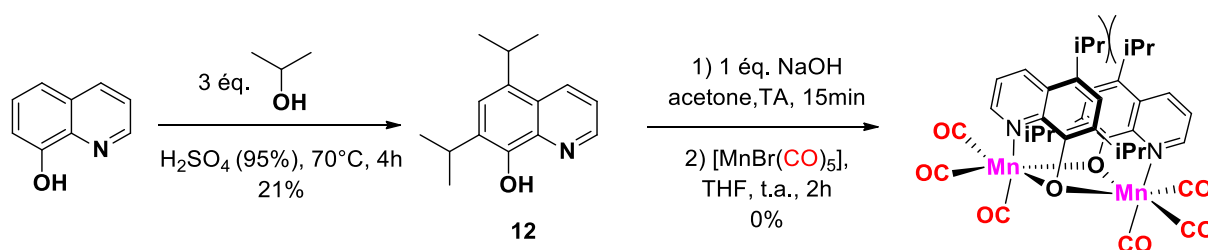


Schéma 15. Tentative de synthèse du dimère $[\text{Mn}_2(5,7\text{-diiPr-8-HQ})_2(\text{CO})_6]$.

Une réaction en « one-pot » a donc été effectuée, où le composé **12** est engagé avec un équivalent de $[\text{MnBr}(\text{CO})_5]$, un équivalent de KOH et un équivalent de *N*-methylimidazole dans du diméthylformamide (DMF) à 40°C, permettant ainsi la formation du complexe $[\text{Mn}(5,7\text{-diiPr-8-HQ})(\text{CO})_3\text{Me-Imd}]$ **13** avec un rendement de 56% (Schéma 16).

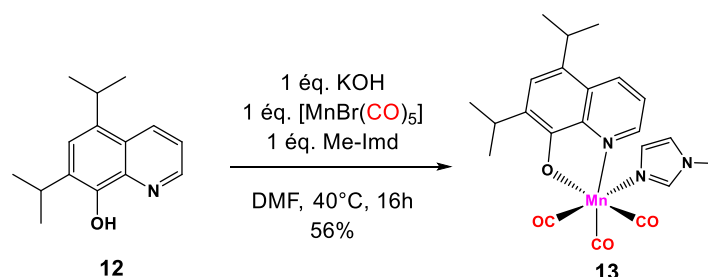


Schéma 16. Synthèse du complexe **13**.

Afin de fonctionnaliser la 8-HQ avec des groupements électroattracteurs, une réaction de nitration a été effectuée. Pour cela, la 8-HQ est mise en réaction dans une solution aqueuse de HNO_3 (65%) à 40°C pendant 1 h. Le composé 5,7-dinitro-8-HQ **14** est ainsi obtenu avec un rendement de 47%.¹⁰⁶ Le composé **14** est ensuite engagé dans une réaction de complexation en présence d'un équivalent de $[\text{MnBr}(\text{CO})_5]$, un équivalent de KOH et un équivalent de *N*-methylimidazole dans du DMF à 40°C. Ainsi, le complexe $[\text{Mn}(5,7\text{-dinitro-8-HQ})(\text{CO})_3\text{MeImd}]$ **15** est obtenu avec un rendement de 89% (Schéma 17).

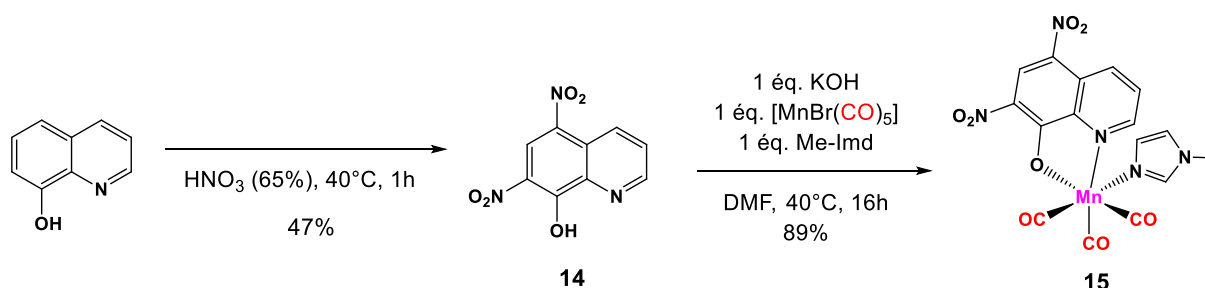


Schéma 17. Synthèse du complexe **15**.

Une fois cette nouvelle série de complexes synthétisée, ils ont pu pour la majorité d'entre eux être cristallisés, ce qui a permis l'élucidation de leur structure par diffraction des rayons X. Le second point de cette partie discutera en détail de la structure de ces différents composés.

2.1.3 Etude des structures cristallines des complexes $[\text{Mn}(8\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{R-Imd}]$.

Des monocristaux des complexes **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **7**, **8**, **9** et **15** ont été obtenus par diffusion lente de pentane dans une solution de ces derniers dans du dichlorométhane à température ambiante. Les structures moléculaires ont été résolues par diffraction des rayons X.

Concernant le dimère **1**, la structure envisagée était une disposition en trans des motifs 8-HQ afin de minimiser les gênes stériques. Cependant, après résolution de la structure, il s'avère que les deux motifs sont en cis l'un par rapport à l'autre en se faisant face. En effet, la distance entre les deux noyaux aromatiques étant de 3.6855 Å, elle permet la formation d'interactions de type empilement π - π expliquant ainsi la stabilité de de cette configuration¹⁰⁷ (Figure 31).

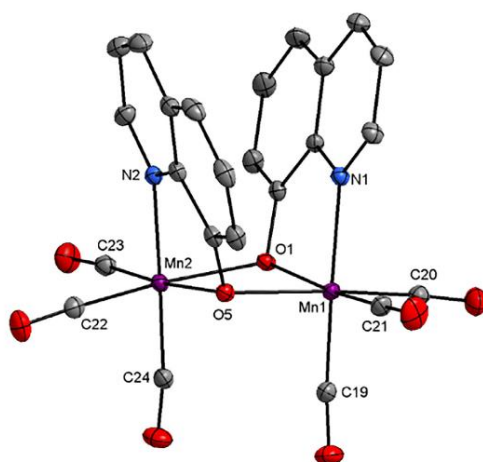


Figure 31. Représentation de la structure cristalline du dimère **1**. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés pour plus de clarté. Ellipsoïdes à 30 % de probabilité.

Concernant les paramètres de la structure, les deux atomes de manganèse sont séparés par une distance de 3.1667 Å, et la sphère de coordination autour des deux métaux adopte une géométrie octaédrique. Les ligands carbonyles sont positionnés selon une isomérisie faciale, l'azote de la 8-HQ va également occuper un site de coordination en position axiale, tandis que l'oxygène lui va avoir un caractère de ligand pontant en position équatoriale, permettant d'occuper les deux derniers sites de coordination du complexe. Les longueurs des liaisons manganèse-carbone sont d'environ 1,80 Å, celles des liaisons manganèse-azote sont d'environ 2,06 Å tandis que celles des liaisons Mn-O sont de 2,03 Å et 2,09 Å (tableau 2). Une distorsion des angles peut être observée, principalement au niveau du motif hydroxyquinoléine où, par exemple, l'angle O1-Mn1-N1 est d'environ 80° contre 90° dans le cadre d'un octaèdre parfait altérant ainsi tous les autres angles de liaison (Tableau 2).

Longueurs de liaison (Å)

Mn1-O1	2,0301(14)	Mn2-O5	2,0431(14)
Mn1-N1	2,0624(18)	Mn2-N2	2,0560(17)
Mn1-C19	1,814(2)	Mn2-C24	1,805(2)
Mn1-C20	1,794(2)	Mn2-C22	1,802(2)
Mn1-C21	1,792(2)	Mn2-C23	1,803(2)
Mn1-O5	2,0919(14)	Mn2-O1	2,0860(14)

Angles de liaison (°)

O1-Mn1-N1	80,10(6)	O5-Mn2-N2	79,58(6)
O1-Mn1-C19	88,60(9)	O5-Mn2-C24	99,12(8)
O1-Mn1-C20	91,71(8)	O5-Mn2-C22	94,82(8)
O1-Mn1-C21	171,09(9)	O5-Mn2-C23	174,76(8)
O1-Mn1-O5	78,94(6)	O5-Mn2-O1	78,79(5)
N1-Mn1-C19	176,84(10)	N2-Mn2-C24	177,28(8)
N1-Mn1-C20	89,97(9)	N2-Mn2-C22	90,90(8)
N1-Mn1-C21	93,72(9)	N2-Mn2-C23	96,00(9)
N1-Mn1-O5	93,45(6)	N2-Mn2-O1	91,03(6)
C19-Mn1-C20	87,35(10)	C24-Mn2-C22	86,81(10)
C19-Mn1-C21	87,89(11)	C24-Mn2-C23	85,42(10)
C19-Mn1-O5	89,11(8)	C24-Mn2-O1	91,06(8)
C20-Mn1-C21	88,63(11)	C22-Mn2-C23	88,0(1)
C20-Mn1-O5	174,71(8)	C22-Mn2-O1	172,88(8)
C21-Mn1-O5	95,16(9)	C23-Mn2-O1	98,61(9)

Tableau 2. Longueurs et angles de liaisons du dimère **1**

Les complexes **2-5**, et **7-9** présentent tous les mêmes caractéristiques structurales que le dimère, c'est-à-dire que les longueurs de liaison restent pratiquement inchangées, la distance manganèse-azote de l'imidazole est d'environ 2,08 Å dans tous les cas de figure et ils présentent également la même distorsion causée par l'hydroxyquinoléine (Figures 32-38).

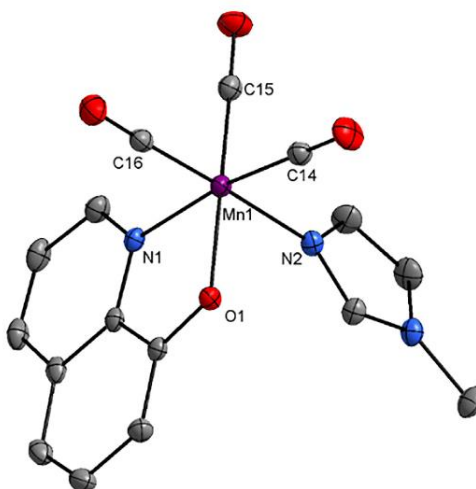


Figure 32. Représentation de la structure cristalline du complexe **2**. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés pour plus de clarté. Ellipsoïdes à 30 % de probabilité.

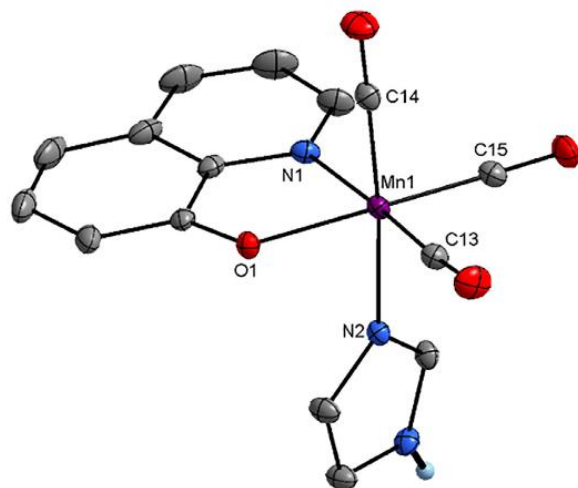


Figure 33. Représentation de la structure cristalline du complexe **3**. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés pour plus de clarté. Ellipsoïdes à 30 % de probabilité.

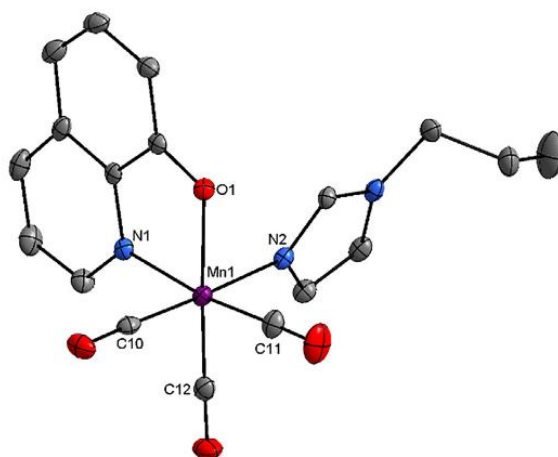


Figure 34. Représentation de la structure cristalline du complexe **4**. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés pour plus de clarté. Ellipsoïdes à 30 % de probabilité.

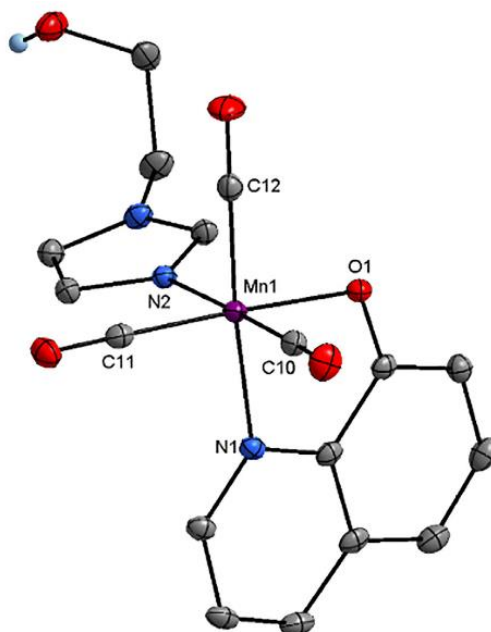


Figure 35. Représentation de la structure cristalline du complexe **5**. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés pour plus de clarté. Ellipsoïdes à 30 % de probabilité.

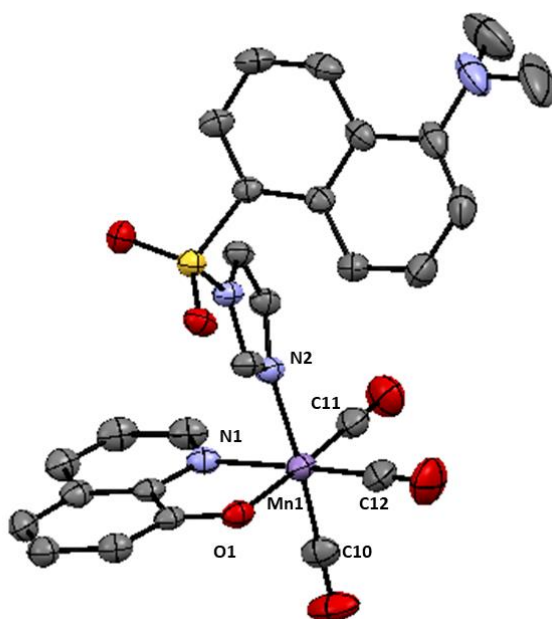


Figure 36. Représentation de la structure cristalline du complexe **7**. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés pour plus de clarté. Ellipsoïdes à 30 % de probabilité.

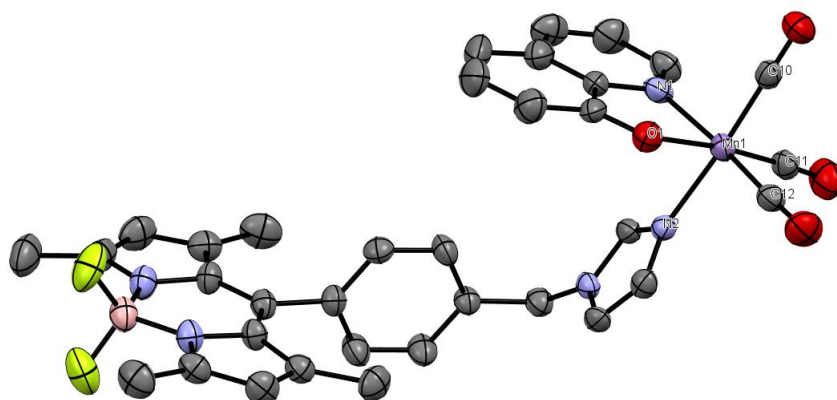


Figure 37. Représentation de la structure cristalline du complexe **8**. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés pour plus de clarté. Ellipsoïdes à 30 % de probabilité.

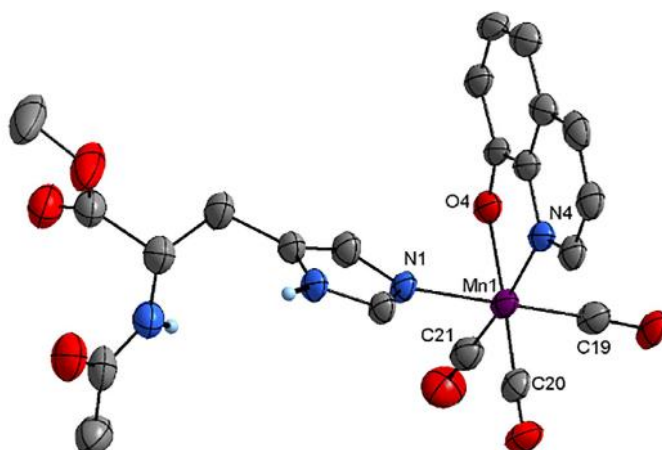


Figure 38. Représentation de la structure cristalline du complexe **9**. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés pour plus de clarté. Ellipsoïdes à 30 % de probabilité.

Le complexe **15** quant à lui présente la même structure générale, cependant, dû à la présence des deux groupements nitro, une importante distorsion du noyau aromatique est observée, réduisant la longueur de la liaison manganèse-oxygène à environ 1,9 Å (contre 2,0 Å), ainsi que la liaison en trans manganèse-carbone qui mesure 1,7 Å contre 1,8 Å pour les complexes de la famille 8-HQ. Les angles de liaison sont également affectés, au regard par exemple de l'angle de morsure de la 8-HQ qui se retrouve légèrement élargi mesurant 86° contre 80° en général pour la série (Figure 39).

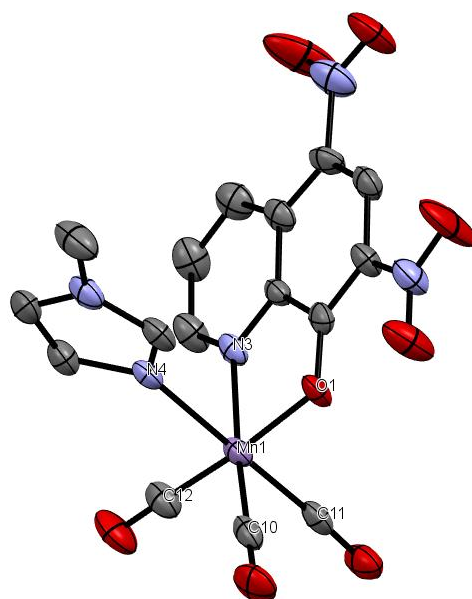


Figure 39. Représentation de la structure cristalline du complexe **15**. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés pour plus de clarté. Ellipsoïdes à 30 % de probabilité.

La structure de cette nouvelle série a pu être discutée dans cette partie, les modifications apportées sur le noyau HQ influent directement sur la structure du complexe, cela dû aux effets mésomères des groupements nitro, tandis que la partie imidazole n'a aucune influence et ce peu importe les groupements présents. La suite va maintenant consister à étudier les propriétés photo-physiques de ces complexes, ainsi qu'évaluer leur capacité de libération de CO sous irradiation lumineuse.

2.2 Etudes photo-physiques et de libération de CO

Afin de s'assurer du caractère photoCORM de ces complexes, il est nécessaire d'évaluer certains paramètres essentiels, tels que la longueur d'onde d'irradiation, qui est définie par la MLCT ainsi que le temps de demi-vie des complexes. Afin de contrôler au mieux la quantité de CO libérée, le nombre de CO relargués par CORM doit également être mesuré, tout comme le devenir de la molécule après le départ de ces derniers (le photoproduit). Les points suivants discuteront de ces paramètres en détail, toutefois, du fait que les complexes ont tous les mêmes propriétés spectrales, une partie des investigations a été faite uniquement sur le complexe **2**, en admettant que le même comportement peut être transposé aux autres complexes.

2.2.1 Etudes cinétiques de la libération de CO sous irradiation

Les spectres uv-visible des composés **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **7**, **8**, **9**, **14** et **15** ont été mesurés dans l'acétonitrile. Pour les complexes portant la 8-HQ non modifiée, le même profil spectral est observé avec 2 bandes d'absorption à 345 nm et 430 nm (Figures 40 et A1-A5).

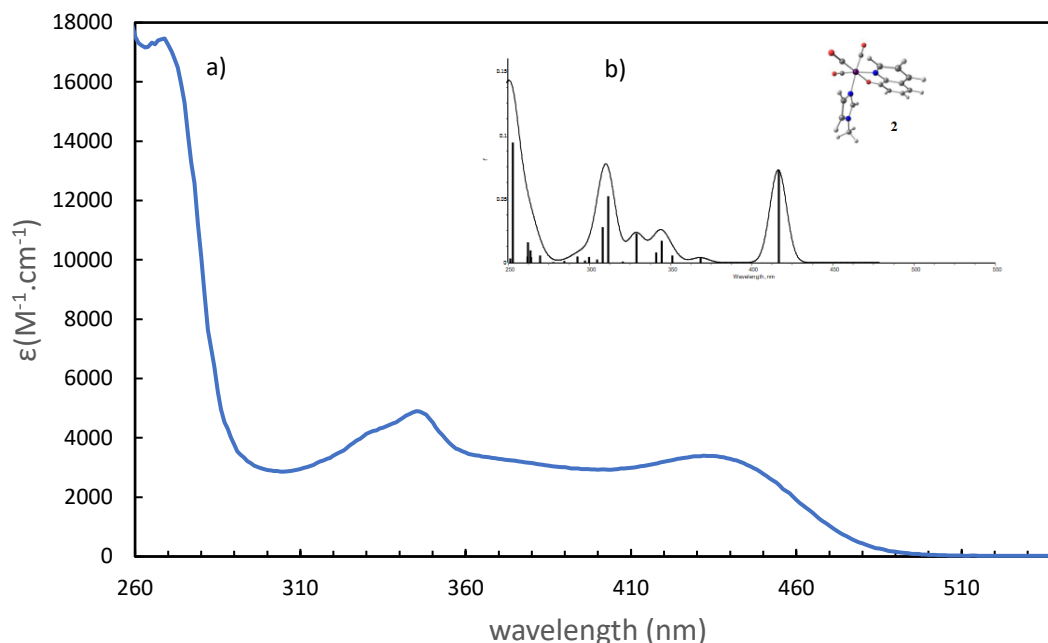


Figure 40. a) Spectre d'absorption du complexe **2** dans l'acétonitrile ; b) Spectre d'absorption du complexe **2** calculé par TD-DFT dans l'intervalle 250-550 nm.

En collaboration avec le Dr Héloïse Dossmann de l'équipe CSOB de notre laboratoire, des études computationnelles ont été effectuées sur les complexes afin de déterminer les transferts de charge impliqués. En effet, les calculs TD-DFT ont montré un profil d'absorption similaire avec une absorption générale entre 250 et 550 nm contenant deux bandes dominantes situées à 315 et 415 nm. Cette étude a permis de constater que le ligand imidazole n'a pratiquement aucune contribution dans le transfert de charge, expliquant ainsi les similitudes entre les spectres des composés. Les transitions majeures présentes sont principalement centrées sur le ligand et sur le métal mais également de type MLCT (transfert de charge du métal vers le ligand) pour la région entre 250 nm et 480 nm (Figure 41).

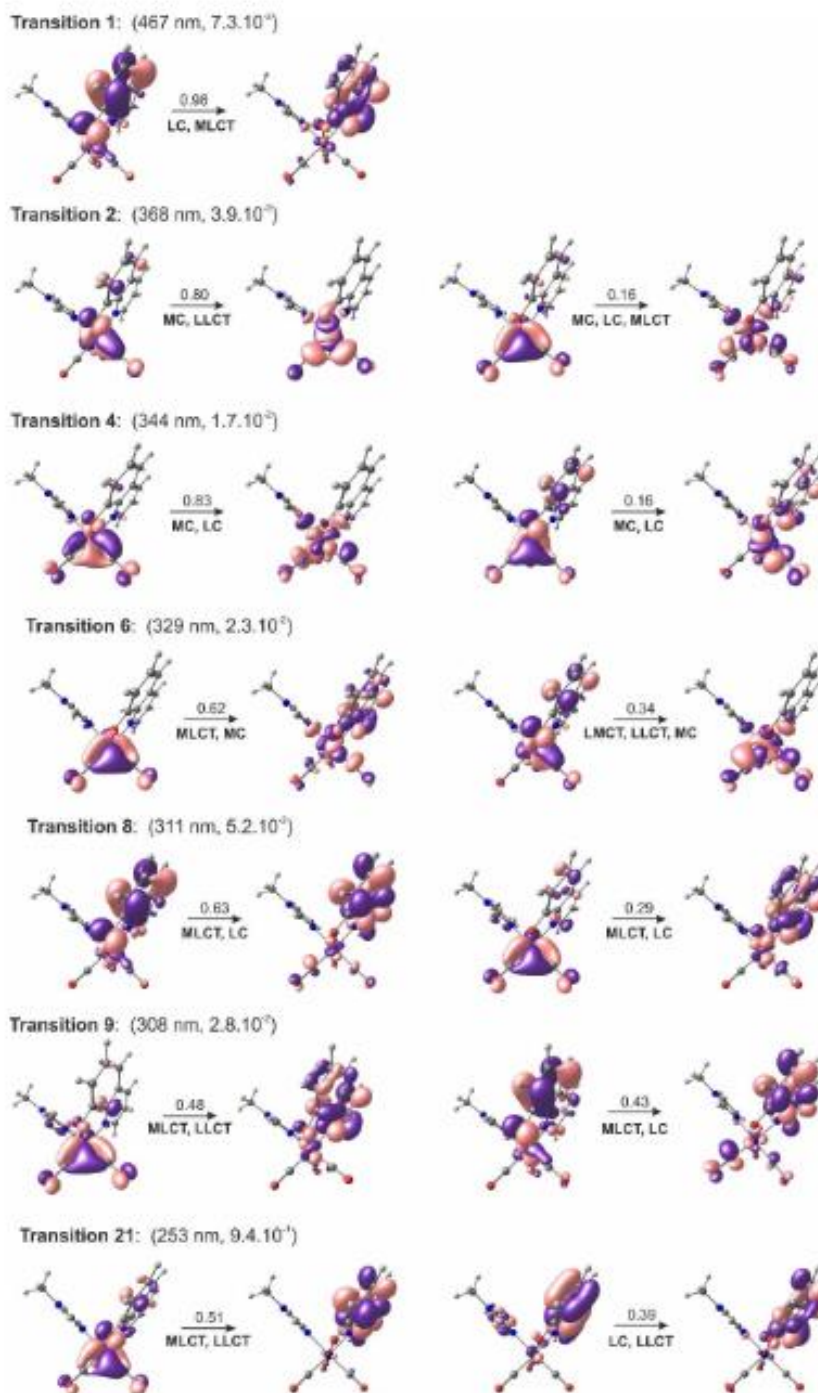


Figure 41. Représentation des transitions énergétiques impliquées en fonction des longueurs d'onde d'excitation pour le complexe **2** dans l'intervalle de longueurs d'onde 250-480 nm. Pour chaque transition, celles principalement impliquées sont indiquées sous la flèche (MLCT pour « metal-to-ligand-charge-transfer », LMCT pour « ligand-to-metal-charge-transfer », MC pour « metal-centered », LC et « ligand-centered » et LLCT pour « ligand-to-ligand-charge transfer ».

Grace à ces résultats, il a été possible d'estimer la longueur d'onde suffisante d'irradiation pour induire la libération de CO, c'est-à-dire 430 nm. Cependant, avant d'étudier la cinétique de décomposition des complexes sous irradiation, la stabilité de ces derniers dans l'obscurité a été vérifiée. En effet, durant l'incubation des complexes dans l'acétonitrile à l'obscurité, leur

spectre uv-visible a été enregistré toutes les heures pendant 18 h. Aucune modification des spectres n'a été observée durant cet intervalle de temps suggérant que ces complexes sont stables en solution à l'abri de la lumière.

L'étude cinétique de libération de CO a donc été entreprise. Elle consiste en la préparation d'une solution de complexe dans l'acétonitrile (concentration de 100 μM) suivie d'une irradiation pendant 10 s à 450 nm. Après cet intervalle de temps, l'acquisition du spectre est effectuée et l'opération est répétée jusqu'à ce qu'aucune évolution des bandes d'absorption ne soit observée.

Comme attendu, tous les composés présentent le même profil durant et après irradiation. En effet, durant l'irradiation, une diminution progressive des bandes à 430 et 345 nm est observée avec l'apparition simultanée d'une bande à environ 380 nm pouvant correspondre à la formation d'un complexe de type $\text{Mn}^{\text{II}}(8\text{-HQ})$ (Figure 42)¹⁰⁸.

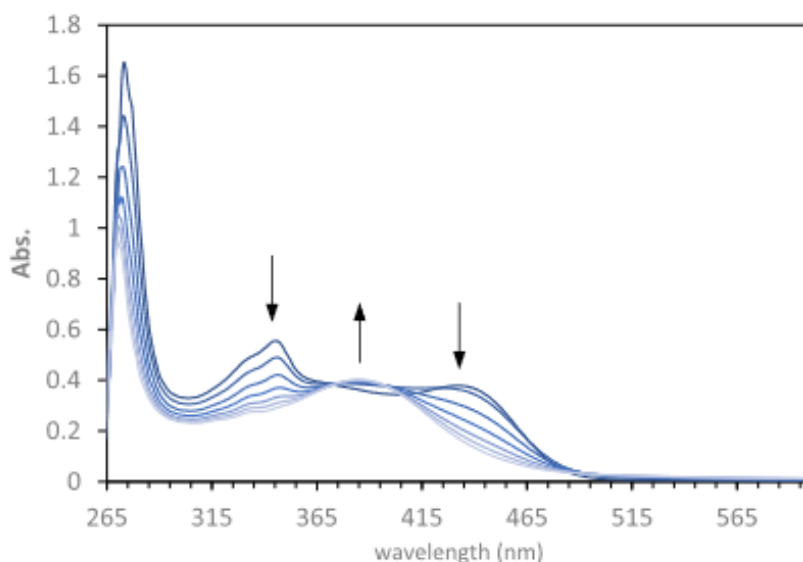


Figure 42. Spectres uv-visible du complexe **2** (100 μM) dans l'acétonitrile mesurés après irradiations successives de 10 s pour un temps total de 1 min à $\lambda = 450$ nm.

Afin de mimer au mieux les conditions physiologiques, la même expérience a été effectuée dans du tampon phosphate (PBS, pH 7,4), et le même profil cinétique de dégradation est observé. En faisant l'hypothèse d'une cinétique d'ordre 1, le temps de demi-vie des complexes a pu être déterminé, et aucun n'excède la minute, ce qui représente un excellent point pour une éventuelle application thérapeutique, limitant ainsi le temps d'exposition des patients vis-à-vis de l'irradiation (Tableau 3).

Complexe	Acétonitrile	PBS
	$t_{1/2}$ (s)	$t_{1/2}$ (s)
2	47,6	47,6
3	32,6	45,5
4	33,5	38,7
5	29,2	45,5
6	33,5	38,7
9	39,1	39,5

Tableau 3. Temps de demi-vie des complexes **2**, **3**, **4**, **5**, **6** et **9** dans l'acétonitrile et le PBS sous irradiation à 450 nm.

Afin d'évaluer l'influence des substituants sur le noyau 8-HQ, le spectre uv-visible des composés **13** et **15** a été enregistré, et comme attendu, la présence de groupements électrodonneurs induit un léger effet bathochrome avec un maximum d'absorption à 460 nm pour le complexe **13** tandis qu'un effet hypsochrome est observé pour le composé **15** avec un maximum à 410 nm (Figure 43).

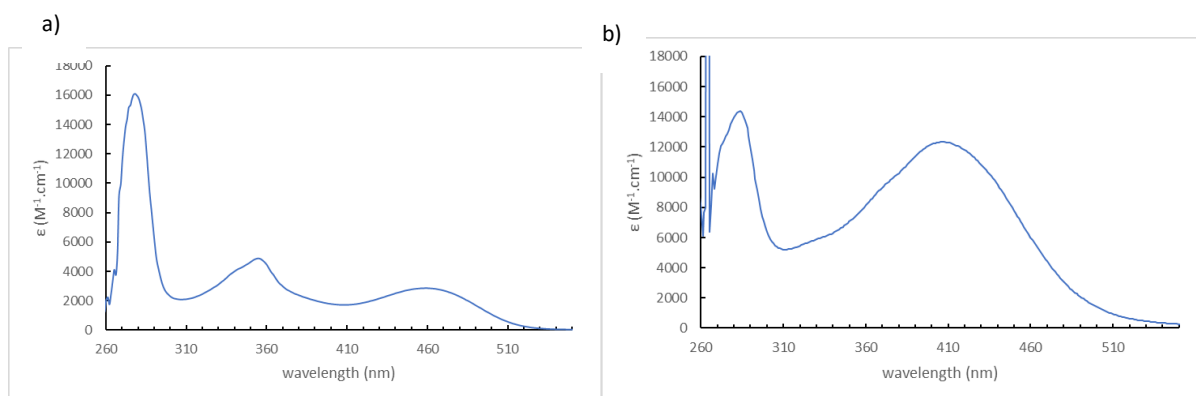


Figure 43. Spectres uv-visible du complexe **13** (a) et du complexe **15** (b) dans l'acétonitrile.

L'effet de substituants sur les propriétés photo-physiques de la 8-HQ étant modéré, les études suivantes ont porté sur la série 8-HQ uniquement. Les études uv-visible de ces complexes ayant été effectuées, la suite va consister à déterminer le mécanisme de libération des CO et le nombre de CO libérés par complexe, ce qui sera le propos du second point de cette partie.

2.2.2 Détermination du nombre de CO libérés par complexe

La cinétique de libération de CO ayant été déterminée, l'objectif a ensuite été d'étudier le mécanisme de libération des CO ainsi que le nombre de CO relargués par complexe. Pour vérifier le premier point, une étude par spectroscopie infrarouge en temps réel a été effectuée à l'aide du React-IR. Dans celle-ci, l'évolution des bandes d'élongation des ligands CO a été suivie pour le complexe **2** en solution dans l'acétonitrile. Un premier contrôle dans le noir (20

min) a permis de confirmer la stabilité du complexe en solution car, en effet, aucune variation d'intensité des bandes n'est observée. Cependant, sous irradiation continue à 450 nm, une diminution progressive et simultanée des trois bandes d'élongation est observée, suggérant qu'aucune modification de la symétrie du complexe n'a lieu durant le processus et signifiant ainsi que le complexe libère ses trois CO en même temps dans l'échelle de temps de l'étude (Figure 44).

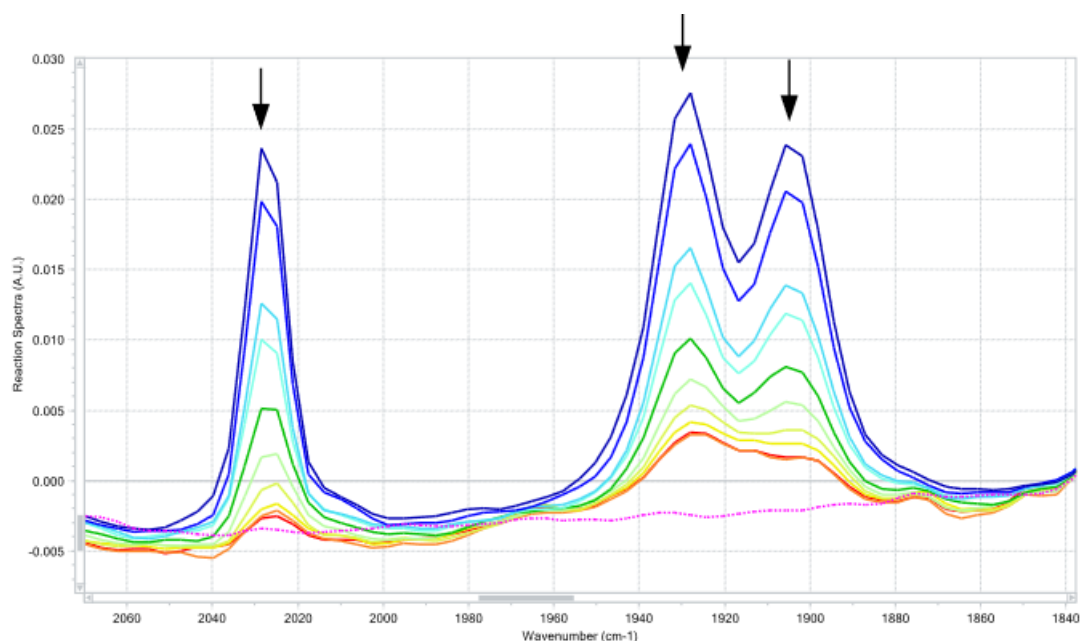


Figure 44. Evolution du spectre infrarouge du composé **2** sous irradiation à $\lambda = 450$ nm durant 5 min (acquisition toute les 30 s).

Il est décrit dans la littérature que les complexes manganèse-tricarbonyle ont tendance à libérer un ligand CO formant ainsi le complexe dicarbonyle correspondant et qui libère ensuite les 2 CO restant sous une irradiation maintenue¹⁰⁹. Bien entendu, le mécanisme de libération observé est dépendant de l'échelle de temps de l'étude. Cependant, même si dans le cas du complexe **2**, un intermédiaire dicarbonylé est formé, son temps de vie est trop court pour être détecté sur une échelle de temps de l'ordre de la seconde.

Afin de confirmer la libération des trois CO, un test complémentaire à la myoglobine a été effectué pour les complexes **2**, **3**, **4**, **5**, **6** et **9**. Ce test consiste dans le dosage de la carboxy-myoglobine formée en présence de CO à partir de désoxy-myoglobine réduite. La formation de carboxy-myoglobine est suivie par spectroscopie UV-visible au niveau de la bande Q avec l'apparition de deux bandes d'absorption à 540 et 577 nm. La concentration de carboxy-myoglobine résultante est déterminée *via* la formule suivante¹¹⁰.

$$[MbCO]_t = \left(\frac{Abs_t}{l} - \frac{Abs_{t0}}{l} \right) * \frac{1}{\left(\epsilon_{540nm}(MbCO) - \frac{Abs_{t0}}{[Mb]_0 * l} \right)}$$

Avec **Abs_t** l'absorbance mesurée à un instant *t*, **Abs_{t0}** l'absorbance mesurée à *t*= 0, *l*, la longueur de la cuve (1 cm), $\epsilon_{540nm}(MbCO)$ le coefficient d'extinction molaire de la carboxymyoglobine à 540 nm (15400 L.mol⁻¹.cm⁻¹) et **[Mb]₀** la concentration initiale de myoglobine.

Ici, les composés ont été incubés avec de la myoglobine en présence de dithionite de sodium (0,1%) dans du tampon phosphate dégazé. Comme espéré, sans irradiation aucun changement dans la région de la bande Q n'est détecté. Cependant, sous irradiation l'apparition des bandes caractéristiques de la carboxymyoglobine à 540 et 577 nm est observée (Figures 45 et A6-A10).

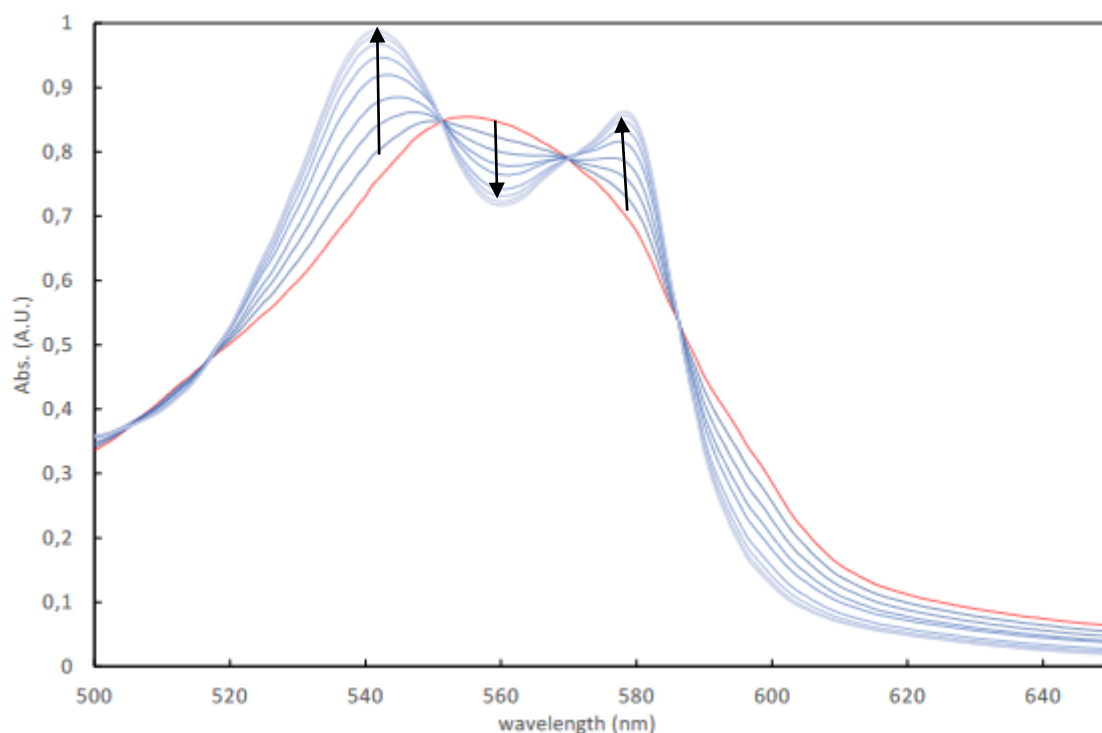


Figure 45. Evolution du spectre uv-visible de la région de la bande Q de la myoglobine (65 µM) en présence du composé **2** (20 µM) dans du PBS. La solution est irradiée pendant 5 min à $\lambda = 450$ nm, les spectres sont enregistrés toutes les 30 s.

A partir de l'absorbance à 540 nm, la concentration en carboxymyoglobine formée a pu être déterminée et par conséquent le nombre de CO libérés lors de l'irradiation. Les résultats confirment bien que trois moles de CO sont libérées par mole de complexe, et les temps de demi-vie observés se situent entre 100 et 150 s, ce qui est supérieur à ceux observés pour la photolyse. Cependant, ces valeurs sont cohérentes du fait que dans ce cas de figure, c'est la formation de MbCO qui est étudiée (Tableau 4).

Complexe	Equivalents de CO libérés	t _{1/2} (s)
2	2,70	142
3	2,85	133
4	3,00	109
5	2,95	107
6	2,93	120
9	2,85	117

Tableau 4. Tableau rassemblant le nombre d'équivalents de CO libérés par mole de complexe et temps de demi-vie correspondant déterminés à l'issue du test à la myoglobine.

Les études concernant le processus et la quantification de libération de CO ayant été faites, les étapes suivantes consistent en la compréhension et la détermination du devenir du CORM après irradiation, ce qui constitue un point clé dans le développement de telles molécules.

2.2.3 Elucidation du devenir du complexe après irradiation

Déterminer la structure des produits de photolyse constitue un défi de taille dans le domaine des CORMs. En effet cette information permettrait d'anticiper et de comprendre une éventuelle réactivité ou toxicité induite par le produit de décomposition, si sa composition est connue.

Kurz et collaborateurs ont démontré dans le cadre de CORMs à base de manganèse, que la libération de CO induit une oxydation du manganèse (I) en manganèse (II) et (III) qui sont des espèces paramagnétiques¹¹¹. Afin de détecter la formation de composés paramagnétiques, une expérience de résonance paramagnétique électronique a été effectuée en collaboration avec le Pr Sébastien Blanchard de l'équipe E-POM de notre laboratoire. Avant irradiation, un très faible signal correspondant au manganèse (II) présent à l'état de trace est observé en accord avec le caractère majoritairement diamagnétique du composé. Après 30 s d'irradiation, une intensification du signal est remarquée, ainsi qu'à l'apparition d'un signal caractéristique associé à la formation d'un radical organique durant la photolyse. Après 5 min d'irradiation, la signature du manganèse (II) a significativement augmenté (trace bleue, intensité divisée par 100) démontrant ainsi que le processus de libération des CO est associé à une oxydation du manganèse et à la formation de manganèse (II) (Figure 46).

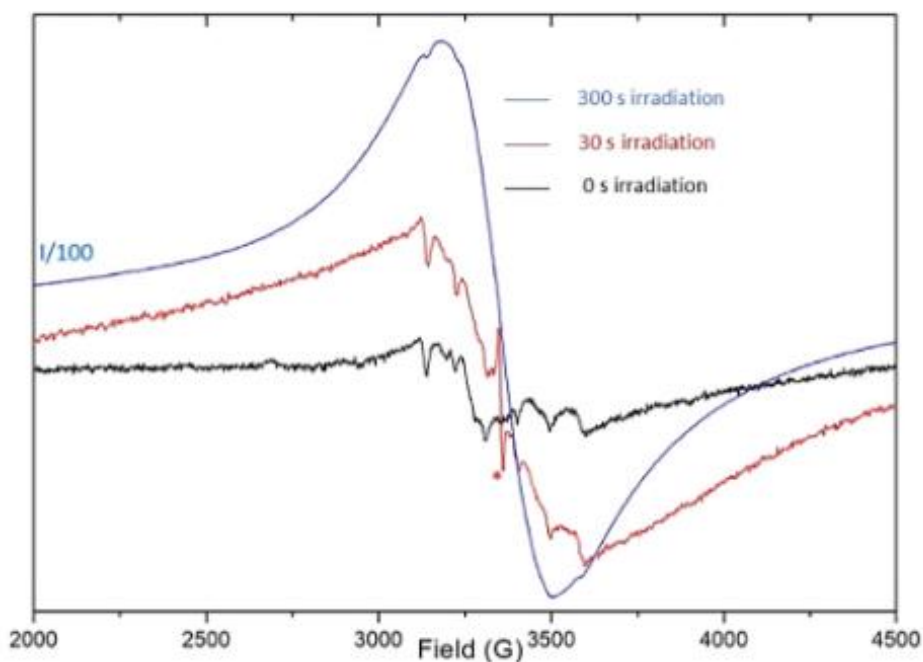


Figure 46. Spectre RPE du complexe **2** enregistré avant (tracé noir), après 30 s (tracé rouge) et 5 min (tracé bleu) d'irradiation à $\lambda = 450$ nm.

Même si les analyses RPE prouvent la formation d'une espèce manganèse (II), elles ne permettent pas de déterminer l'état de spin du complexe formé. L'énergie d'appariement étant relativement élevée dans le cadre du manganèse (II), les complexes bas-spin sont assez rares ou nécessitent la présence de ligand à champ fort. Effectivement, le complexe $[\text{Mn}(\text{8-HQ})_2]$ est décrit dans la littérature comme étant haut spin¹⁰⁶ indiquant que le caractère champ fort du ligand 8-HQ n'est pas suffisant pour obtenir un complexe manganèse (II) bas spin. De plus, s'ils étaient bas-spin, les complexes de manganèse (II) devraient présenter une transition d-d dans le visible, qui, comme observé dans la figure n'est pas présente. Afin de le vérifier expérimentalement, un test d'Evans a été effectué sur le complexe **2**. Pour cela, une solution à 10 mM du complexe **2** dans l'acétonitrile deutéré a été préparée. Elle a ensuite été irradiée pendant 60 min afin d'obtenir le composé photolysé et la solution a été analysée par RMN. Cette méthode permet de déterminer la susceptibilité magnétique d'un composé, c'est-à-dire la capacité d'un composé à s'aimanter. Pour cela, la différence de déplacement chimique de l'acétonitrile résiduel est exploitée afin de déterminer la susceptibilité magnétique molaire et donc le moment magnétique effectif μ_{eff} via l'équation d'Evans (Figure 47).

$$\text{a) } X_m = \frac{6}{1000} \frac{1}{C} \frac{\Delta f}{f}$$

$$\text{b) } \mu_{eff} = 798 \sqrt{X_m T}$$

Figure 47. a) Equation de détermination de la susceptibilité magnétique molaire X_m avec C , la concentration (mol/L), Δf , la différence de déplacement chimique des protons de l'acétonitrile (Hz) et f , la fréquence du spectromètre (Hz). b) Equation de détermination du moment magnétique effectif μ_{eff} avec T , la température (K).

Grace à cette méthode, un moment magnétique effectif de 5,09 a pu être calculé. La valeur théorique pour un complexe de manganèse (II) bas spin étant de 1,73 et 5,92 pour un complexe haut spin. Cette expérience a donc permis de confirmer que le complexe photolysé ne peut pas être bas spin (Figure 48).

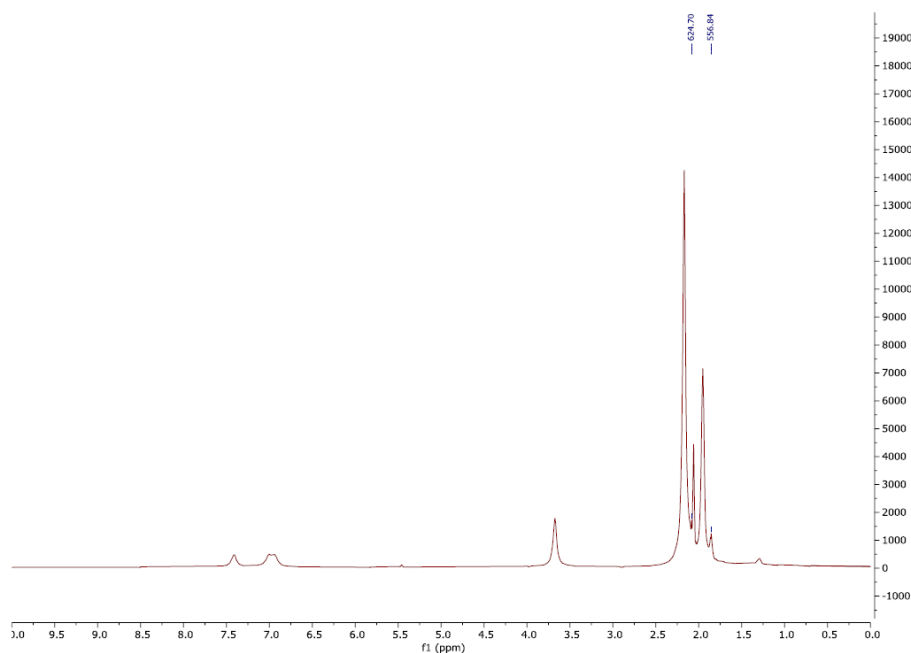


Figure 48. Spectre RMN ^1H du complexe **2** dans l'acétonitrile après 60 min d'irradiation à $\lambda = 450$ nm. Malgré plusieurs tentatives de cristallisation, je n'ai pas pu obtenir des monocristaux du complexe photolysé et donc élucider sa structure. En collaboration avec le Dr Héloïse Dossmann de l'équipe CSOB de notre laboratoire, une expérience de spectrométrie de masse a été entreprise afin de déterminer la composition du ou des produits de photolyse. Pour cette analyse, une solution à 10 μM du complexe **2** est préparée et irradiée pendant 60 min puis analysée par spectrométrie de masse haute résolution (HRMS) (Figure 49).

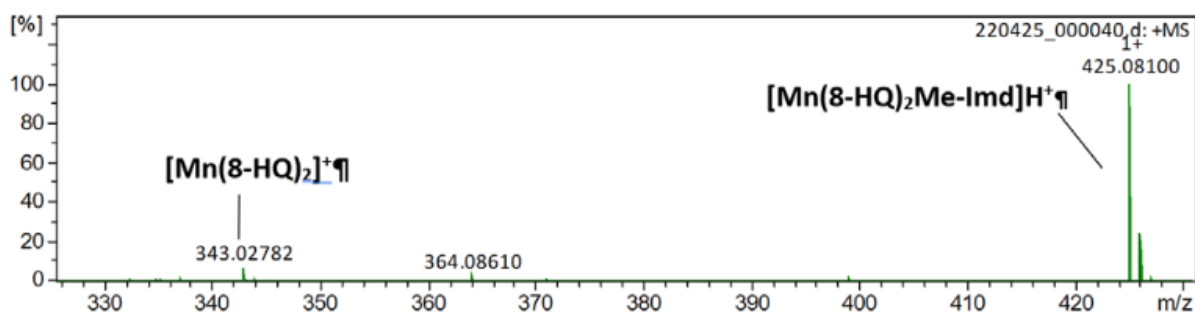


Figure 49. Spectre HR-MS du complexe **2** (10 μ M, MeCN) après 60 min d'irradiation.

Le spectre obtenu présente un pic principal (pic de base) correspondant à un rapport m/z de 425 attribué au complexe $[\text{Mn(II)(8-HQ)}_2\text{Me-Imd}]^+\text{H}^+$ et un second de rapport m/z 343 attribué au complexe $[\text{Mn(III)(8-HQ)}_2]^+$. De par l'abondance du composé $[\text{Mn(8-HQ)}_2\text{Me-Imd}]$, il est fortement probable qu'il corresponde au composé photolysé. Cependant, pour $[\text{Mn(8-HQ)}_2]^+$ il a probablement dû être formé lors du processus d'ionisation dans la source du spectromètre à partir de $[\text{Mn(8-HQ)}_2\text{Me-Imd}]$.

Dans ce point, les analyses structurales et les études de libération de CO ont été exposées, cette nouvelle famille de photoCORMs s'est révélée avoir une cinétique rapide de libération de CO principalement causée par la présence du ligand 8-HQ. Le devenir des complexes a été étudié. En effet après irradiation le métal s'oxyde en manganèse (II) induisant la formation d'un complexe de formule $[\text{Mn(8-HQ)}_2\text{Me-Imd}]$. Cependant, du fait de la présence de deux ligands 8-HQ sur un manganèse, la question se pose de ce qu'il advient du second, cependant le devenir de ce dernier n'a jamais pu être élucidé à ce jour.

Sur la base de ces résultats, les étapes suivantes sont donc l'étude biologique de ces CORMs et plus particulièrement l'évaluation de leur toxicité sur cellules cancéreuses.

2.3 Etudes biologiques préliminaires

Concernant les tests de toxicité, deux points importants devaient être vérifiés :

- Le premier consiste à s'assurer que nos photoCORMs présentent une cytotoxicité.
- Le second doit confirmer que cette toxicité n'est induite que *via* l'application d'une irradiation lumineuse.

Cette partie présentera les résultats obtenus dans le cas du complexe témoin $[\text{Mn(8-HQ)(CO)}_3\text{Me-Imd}]$ **2**.

2.3.1 Test MTT du complexe [Mn(8-HQ)(CO)₃Me-Imd]

Afin d'évaluer la toxicité de ce composé sur cellules cancéreuses, différents tests existent tels que le test à la BrdU (5-bromo-2'-désoxyuridine), l'EdU (5-éthynyl-2'-désoxyuridine), cependant, ils présentent comme inconvénient d'avoir des protocoles assez complexes, associés à des coûts de réactifs relativement élevés. C'est pourquoi, le choix s'est porté sur le test au MTT (Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl-tétrazolium). Le MTT est une molécule toxique qui va être réduite par la succinate déshydrogénase (SDH, complexe II) présente à la surface des mitochondries, entraînant ainsi la formation de formazan (Schéma 18). Le formazan une fois dissous dans le DMSO donne une solution de couleur violette donc l'absorbance à 570 nm est proportionnelle au nombre de cellules vivantes.

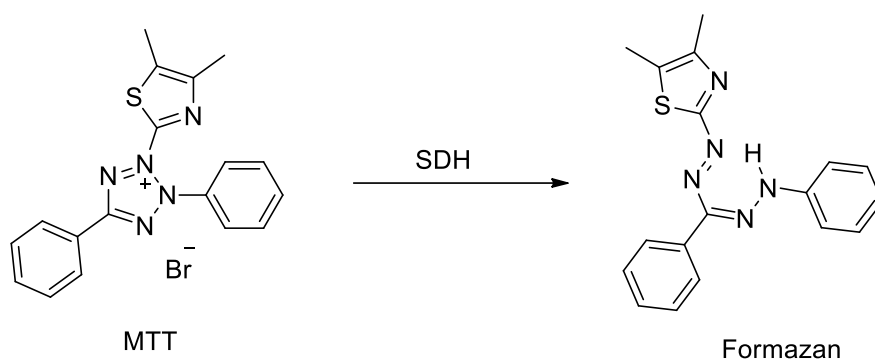


Schéma 18. Réduction du MTT en formazan par la SDH.

Comme expliqué précédemment, le complexe **2** a été testé afin de mesurer sa cytotoxicité. Une incubation de différentes concentrations de **2** avec des cellules MDA-MB-231 (lignée cellulaire de cancer du sein triple négatif) a été effectuée. Après 2 h d'incubation du complexe avec les cellules, la plaque est irradiée à 450 nm pendant 60 min, et est remise à incuber pendant 72 h à 37°C sous 5% CO₂. Après ces 72 h, le test au MTT est effectué et une IC₅₀ de 7,5 μM est déterminée. En parallèle, l'effet de l'irradiation seul sur les cellules a également été évalué et elle s'est révélé ne pas être toxique. Une fois la toxicité après irradiation vérifiée, il reste à confirmer si le composé est toxique sans irradiation. Étonnamment, sans irradiation, le composé **2** se révèle donner exactement le même profil de toxicité, signifiant ainsi, qu'un autre stimulus pourrait être à l'origine de la libération de CO (Figure 50).

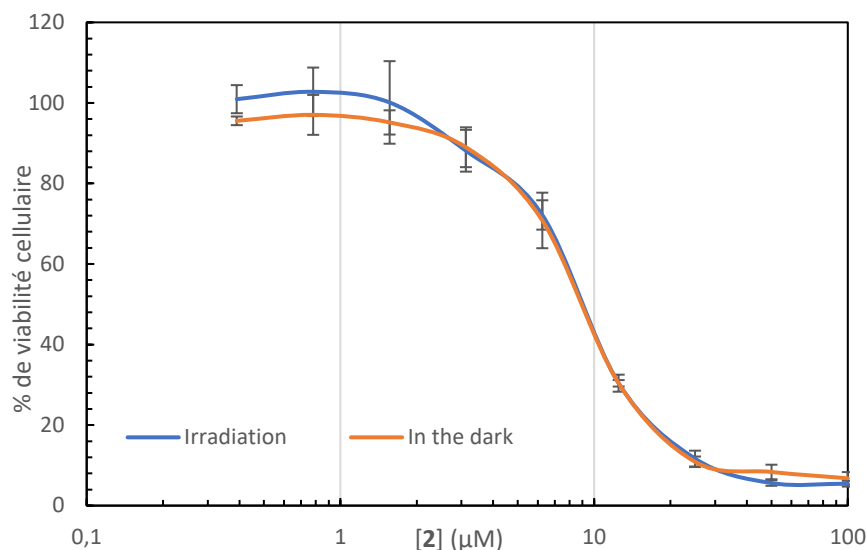


Figure 50. Evolution du pourcentage de viabilité cellulaire (lignée cellulaire MDA-MB-231) en fonction de la concentration en complexe **2** avec irradiation (courbe bleue, $\lambda= 450$ nm) et sans irradiation (courbe orange).

Sur la base de la littérature, en l'occurrence des travaux de A. Schiller ou encore Q. He, les ROS ont été soupçonnées d'être l'autre stimulus responsable de la libération de CO.^{75,76} La toxicité du complexe **2**, possiblement induite par la production intracellulaire de ROS a ainsi été évaluée par une co-incubation avec une concentration croissante de *N*-acétylcystéine (NAC) qui est un antioxydant. Pour des concentrations croissantes en NAC, une augmentation progressive de l'IC₅₀ est observée (11,4 μM (1 mM en NAC), 14,5 μM (5 mM en NAC), 19,8 μM (10 mM en NAC)), en accord avec la diminution de la toxicité du complexe **2** (Figure 51). Ces résultats représentent un tournant dans la stratégie mise en place concernant ces photoCORMs, où effectivement, ces composés semblent être également sensibles aux ROS, faisant d'eux non plus de simples photoCORMs mais également des « ROS-induced CO Releasing Molecules » que nous appellerons « ROS-CORMs ».

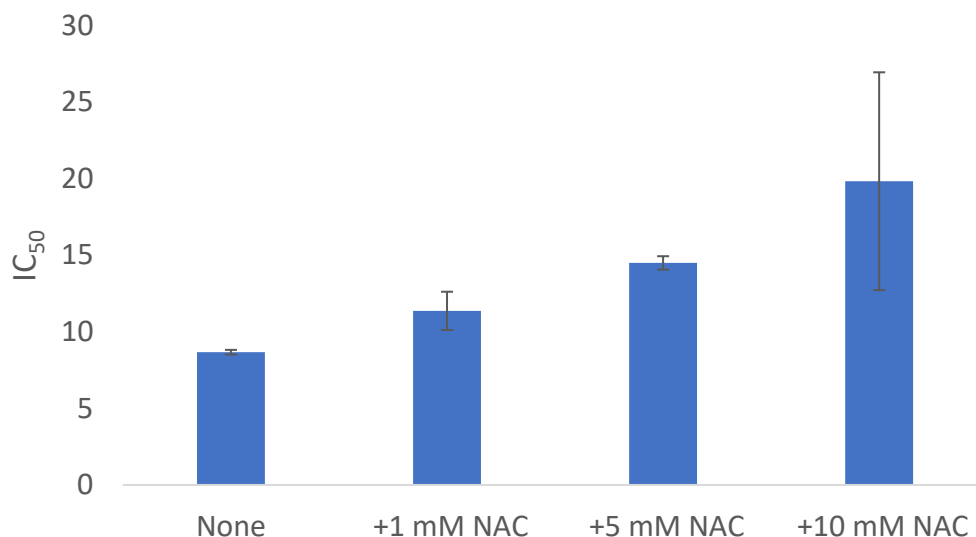


Figure 51. Evolution de l'IC₅₀ du complexe **2** sur MDA-MB-231 en présence de concentrations croissantes de NAC.

2.3.2 Conclusion de ces tests et nouvelle direction

Dans cette partie, la cytotoxicité du complexe **2** sous irradiation lumineuse a été démontrée. Cependant, le composé s'est avéré être toxique en l'absence d'irradiation, impliquant l'existence d'un autre stimulus. La mesure de la viabilité cellulaire après co-incubation du complexe et de la NAC suggère l'implication des ROS dans le mécanisme de toxicité, cependant la question sous-jacente est maintenant comment développer et exploiter ces résultats afin de valoriser ces composés en thérapie anticancéreuse. Le chapitre 3 traitera en détail de la réactivité de ces CORMs en présence de ROS (H₂O₂) et présentera une tentative d'élucidation du mécanisme d'action impliqué permettant de justifier la toxicité observée.

2.4 Références

- [96] B.J. Watson and R.G. Eggert, *J. Ind. Ecol.*, **2021**, 25, 890-899.
- [97] M. Albrecht, M. Fiege and O. Osetska, *Coord. Chem. Rev.*, **2008**, 252, 812-824.
- [98] P. J. Parker and A. Wojcicki, *Inorg. Chim. Acta* **1974**, 11, 17-23.
- [99] P. J. Parker and A. Wojcicki, *Inorg. Chim. Acta* **1974**, 11, 9-16.
- [100] M. McKinnon, K. T. Ngo, S. Sobottka, B. Sarkar, M. Z. Ertem, D. C. Grills, J. Rochford, *Organometallics*, **2019**, 38, 1317-1329.
- [101] H. C. Zhao, B. Mello, B.-L. Fu, H. Chowdhury, D. J. Szalda, M.-K. Tsai, D. C. Grills, J. Rochford, *Organometallics*, **2013**, 32, 1832-1841.
- [102] T.-W. Tseng, S. Mendiratta, T.-T. Luo, T.-W. Chen and Y.-P. Lee, *Inorg. Chim. Acta*, **2018**, 477, 312-317.
- [103] M. Annereau, F. Martial, J. Forté, G. Gontard, S. Blanchard, H. Dossmann, M. Salmain and V. Corcé, *Appl. Organomet. Chem.*, **2023**, 37, e7171.
- [104] T.M. Khomenko, O.V. Salomatina, S.Yu. Kurbakova, I.V. Il'ina, K.P. Volchoa, N.I. Komarova, D.V. Korchagina, N.F. Salakhutdinova and A.G. Tolstikov, *Russ. J. Organomet. Chem.*, **2006**, 42, 1653-1661.
- [105] J.D. Searey, *An acid alkylation of 8-hydroxyquinoline*, Ph. D. Dissertation, Morehead State University, Morehead, KY, **1972**.
- [106] S. Clavier, Ø. Rist, S. Hansen, L.-O. Gerlach, T. Högberg and J. Bergman, *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, 1, 4248-4253.
- [107] K. Carter-Fenk and J.M. Herbert, *Chem. Sci.*, **2020**, 11, 6758-6765.
- [108] L. M. A. Monzon, F. Burke and J. M. D. Coey, *J. Phys. Chem. C*, **2011**, 115, 9182-9192.
- [109] V. C. Weiss, G. Farias, A. L. Amorim, F. R. Xavier, T. P. Camargo, M. B. Bregalda, M. Haukka, E. Nordlander, B. deSouza, R. A. Peralta, *Inorg. Chem.*, **2020**, 59, 13078-13090.
- [110] C. Bischof, T. Joshi, A. Dimri, L. Spiccia, U. Schatzschneider, *Inorg. Chem.*, **2013**, 52, 9297.
- [111] H.-M. Berends and P. Kurz, *Inorg. Chim. Acta*, **2012**, 380, 141-147.
- [112] Y. Zhou, W. Yu, J. Cao and H. Gao, *Biomaterials*, **2020**, 255, 120193.

Chapitre 3

Intérêt des ROS en thérapie anticancéreuse

Chapitre 3. Intérêt des ROS en thérapie anticancéreuse

3.1 Les ROS, une cible déjà bien connue en thérapie anticancéreuse

Les « reactive oxygen species » (ROS) sont des espèces issues du métabolisme du dioxygène dans l'organisme. Les ROS principaux sont le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical anion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle ($HO\cdot$) et l'oxygène singulet (1O_2). Ces espèces sont produites majoritairement par deux entités cellulaires, la NADPH oxydase et les mitochondries.

La NADPH oxydase est une protéine transmembranaire présente à la fois dans les phagocytes, les cellules épithéliales mais également dans certains organites tels que les mitochondries, le noyau ou encore le réticulum endoplasmique. Cette enzyme catalyse la production de superoxyde à partir de O_2 et NADPH. Le O_2^- formé est rapidement converti en H_2O_2 par la superoxyde dismutase (SOD). La présence de la SOD, qui a pour rôle spécifique de produire des ROS (H_2O_2) suggère que les ROS ont un rôle particulier dans l'organisme. En effet, les ROS se sont révélés être impliqués dans des processus biologiques tels que la régénération des tissus blessés ou encore la prolifération cellulaire.^{113,114}

L'organite majoritairement responsable de la production de ROS est la mitochondrie. En effet, le premier ROS formé est le radical anion superoxyde. Il est produit à partir de O_2 au niveau des complexes I, II et III de la chaîne de respiration mitochondriale. Il est important de souligner que les complexes I et II ne libèrent le superoxyde qu'à l'intérieur de la matrice mitochondriale tandis que le complexe III va être capable d'orienter sa production des deux côtés donc également vers le cytosol. Le superoxyde étant une espèce extrêmement réactive, elle va être rapidement convertie par les superoxydes dismutases (SOD1 dans le cytosol, SOD2 dans la matrice mitochondriale) en H_2O_2 . Le H_2O_2 étant moins réactif que les autres ROS, il va diffuser à travers les membranes et même avoir des effets à des distances éloignées de sa zone de production. Il est le ROS le plus abondant et est la première cause d'oxydation des protéines par les ROS. Il a été montré qu'à des concentrations situées entre 1-10 nM, il joue un rôle important dans la signalisation cellulaire, permettant la prolifération cellulaire ou encore l'angiogenèse. Cependant, pour des concentrations supérieures à 100 nM il entraîne un stress oxydant pouvant conduire à la mort des cellules^{115,116} (Figure 52).

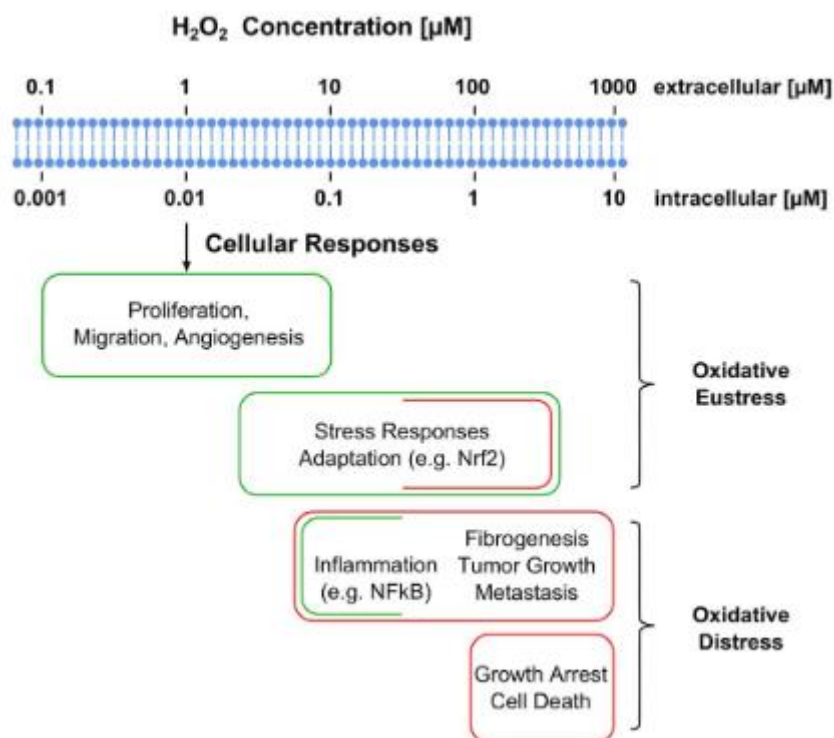


Figure 52. Effets de la concentration intracellulaire et extracellulaire en H₂O₂ sur les cellules. Schéma issu de la référence 115.

Une fois H₂O₂ dans le cytosol, il peut soit être réduit en eau par le biais d'enzymes telles que la catalase, la glutathion peroxydase (GPX) ou encore la peroxirédoxine (PRDX) ou être converti en radical hydroxyle HO[•] par la réaction de Fenton en présence de Fe²⁺ libre. Le HO[•] formé est le ROS le plus réactif, et va entraîner des dommages sur les protéines, l'ADN et surtout les lipides. En effet, HO[•] va réagir avec les lipides dont les lipides transmembranaires formant ainsi des radicaux lipidiques (L[•]) qui en présence de dioxygène, vont former des radicaux peroxydes lipidiques (LOO[•]) qui vont réagir avec les lipides transmembranaires formant ainsi des peroxydes lipidiques (LOOH) et des radicaux L[•] poursuivant ainsi le processus. Il doit être souligné que la peroxydation excessive des lipides de la membrane constitue une étape clé dans le processus de ferroptose. HO[•] peut également être produit à partir de O₂⁻ en présence de Fe³⁺ et de NO entraînant la formation de peroxynitrite NO₃⁻ qui va se décomposer en milieu protique en NO₂ et HO[•]¹¹⁷ (Figure 53 a)).

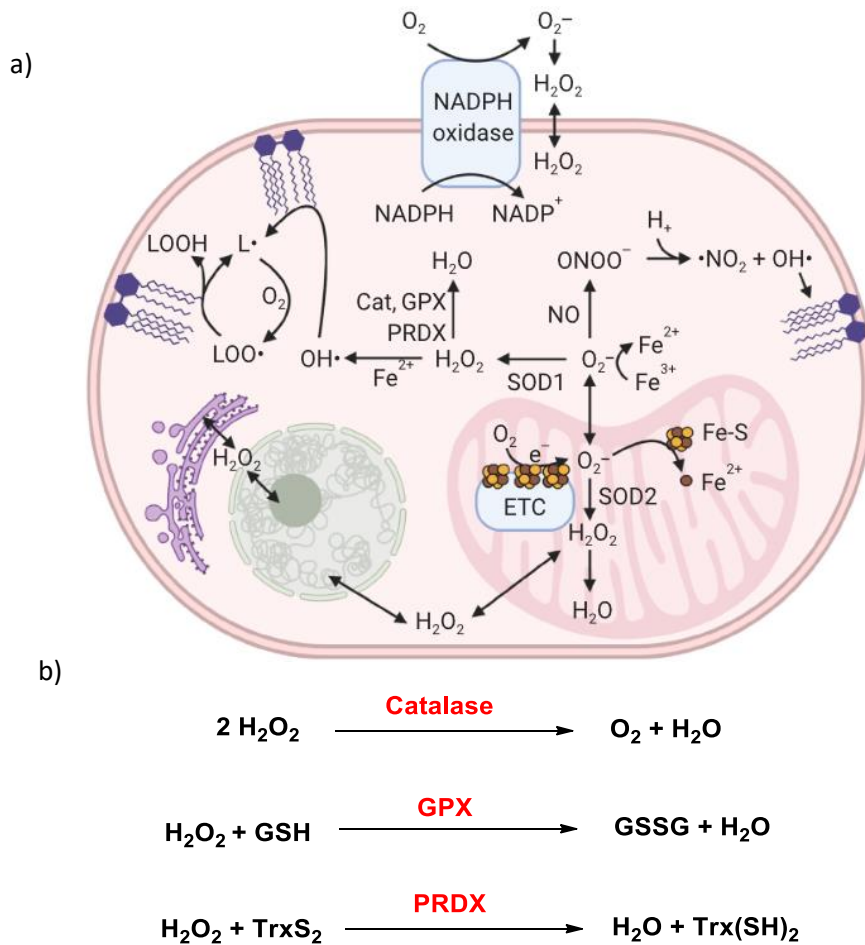


Figure 53. a) Métabolisme du O_2 , formation et effet des ROS dans la cellule b) Réactions de réduction du H_2O_2 en eau catalysées par la catalase, la GPX et la PRDX. Figure issue de la référence 117.

Comme décrit précédemment, un niveau minimal de ROS est nécessaire pour assurer l'activation de voies de signalisation permettant de réguler de façon contrôlée les processus de différenciation ou encore de prolifération cellulaire. Cependant les cellules cancéreuses présentent un niveau de ROS bien supérieur, entraînant une suractivation des voies de signalisation responsables de leur prolifération incontrôlée. En effet, il est admis que les ROS ont un rôle non négligeable dans l'initiation de la tumorigenèse et son développement. Les ROS vont endommager l'ADN entraînant ainsi l'apparition de mutations. Si les gènes impliqués dans ces mutations sont les oncogènes ou encore les gènes suppresseurs de tumeur, cela va entraîner l'initiation et la progression du cancer. Cependant, les ROS pouvant induire des processus de ferroptose, une certaine limite ne doit pas être dépassée, c'est pourquoi, les cellules cancéreuses vont compenser cette accumulation de ROS par la production et l'expression d'espèces antioxydantes telles que la SOD afin de convertir l'anion superoxyde en H_2O_2 mais également la PRDX, GPX ou encore les catalases qui permettront la réduction du H_2O_2 en eau maintenant ainsi un équilibre bénéfique^{116,118} (Figure 54).

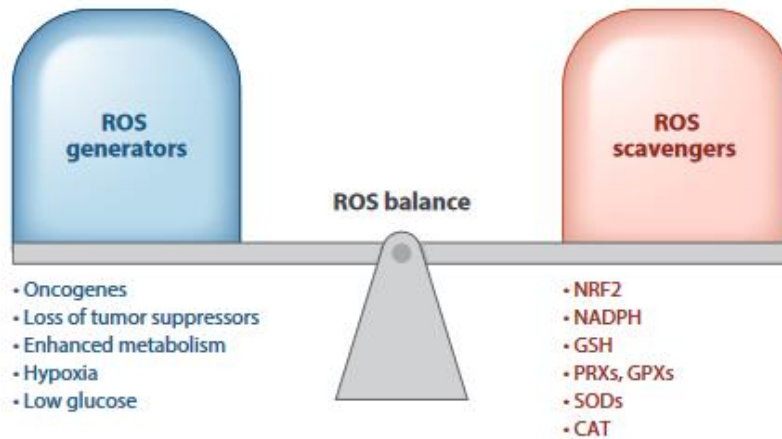


Figure 54. Équilibre intracellulaire de la production de ROS et d'entités antioxydantes dans le cadre des cellules cancéreuses. Figure issue de la référence 116.

3.1.1 Traitement par une diminution du niveau de ROS

Les ROS ayant un rôle essentiel dans le développement du cancer, il est tout naturel que les chercheurs se soient penchés sur l'exploitation de cette balance redox dans le but de tuer les cellules cancéreuses. Du fait de leur activité pro-tumorigénique, une première option est l'inhibition de la production ou de l'activité de ROS *via* l'utilisation d'antioxydants. En effet, afin de réduire le taux de ROS, les méthodes envisagées ont consisté en l'utilisation d'antioxydants exogènes et endogènes ou encore de méthodes diminuant le stress oxydant en perturbant la chaîne de respiration mitochondriale.^{119,120} Par exemple peuvent être citées, l'utilisation d'antioxydants tels que la *N*-acétylcystéine (NAC) ou encore la vitamine C qui ont montré diminuer la tumorigénèse *in vivo*¹²¹, ou encore la surexpression de SOD qui a été démontrée comme permettant l'inhibition de métastases de cancer du sein chez la souris.¹²² Toutefois, la plupart des essais cliniques exploitant cette stratégie ont échoué à montrer les effets bénéfiques de ce type de traitement.^{123,124} En effet, certains antioxydants comme la vitamine A, E, la β -carotène (Figure 55) ou encore la NAC ont révélé augmenter le risque de cancer, voire même dans le cas de la NAC induire une accélération de la progression de la maladie.^{119,125-128}

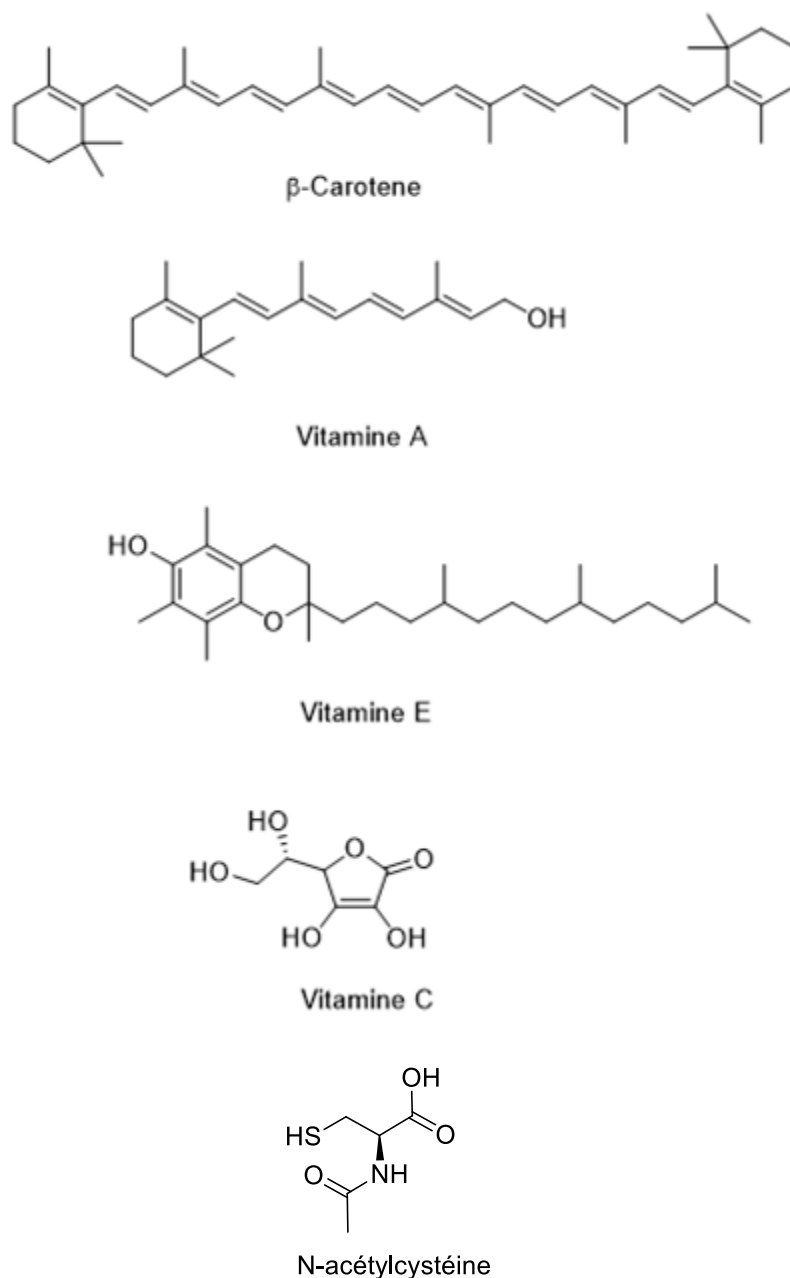


Figure 55. Structures des antioxydants, β -carotène, vitamine A, E, C et N-acétylcystéine.

Les résultats peu encourageants obtenus par la stratégie via les antioxydants ont donc forcé les scientifiques à contourner le problème en se concentrant non plus sur une inhibition des ROS mais sur leur surproduction. En effet, comme expliqué précédemment, une importante quantité de ROS peut induire la mort des cellules. Ainsi, une augmentation du niveau de ROS ou une diminution de la quantité en espèce antioxydante est une stratégie prometteuse pour tuer sélectivement les cellules cancéreuses qui contrairement aux cellules saines présentent des niveaux de ROS et espèces antioxydantes très élevés (Figure 56).

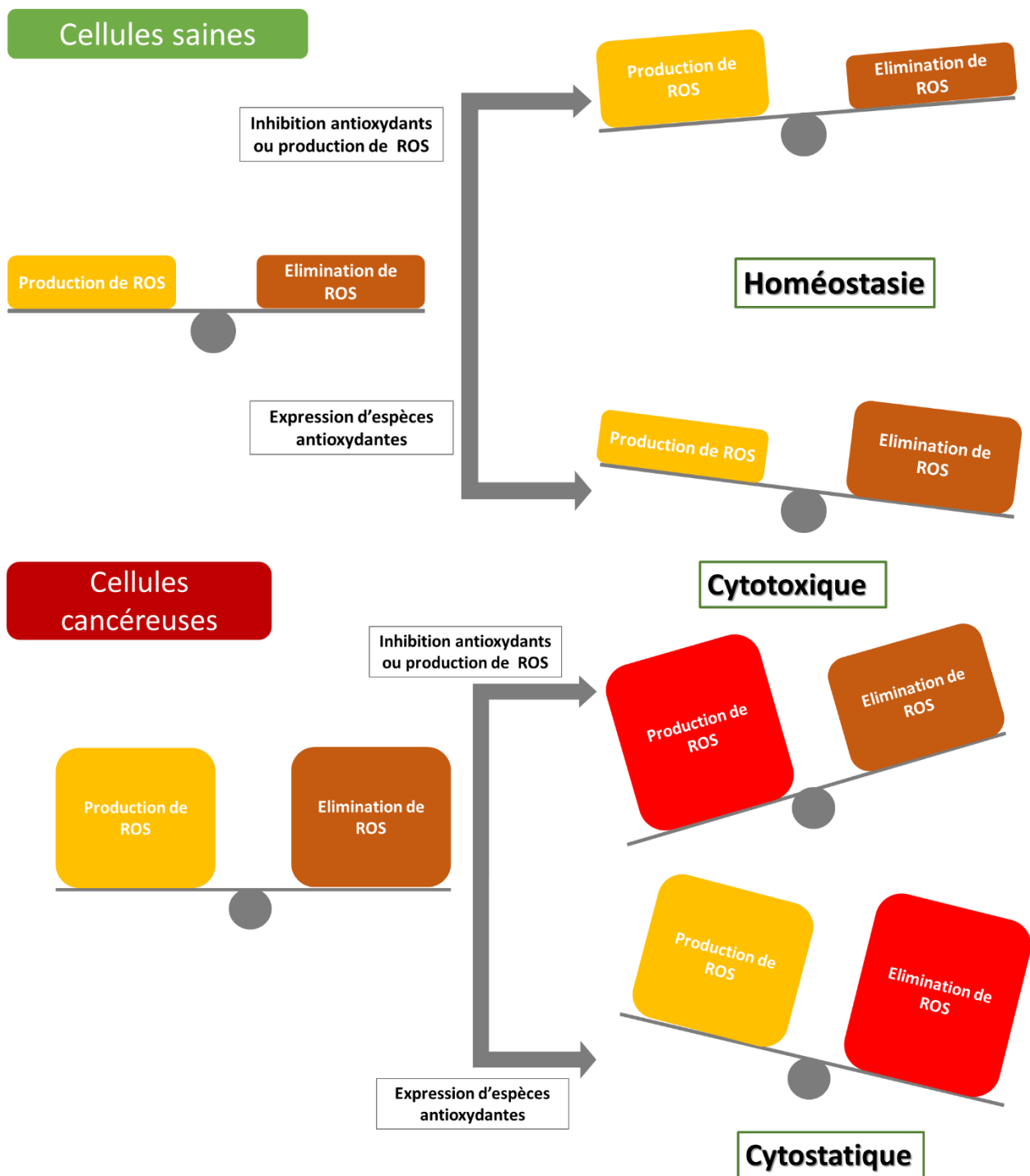


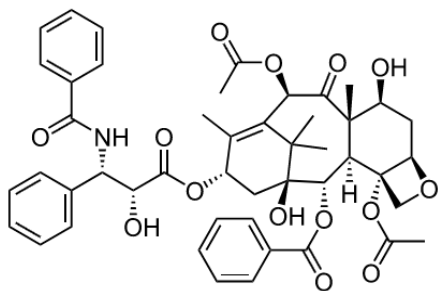
Figure 56. Effets d'une altération de la quantité intracellulaire de ROS et d'espèces antioxydantes dans les cellules saines et cancéreuses.

3.1.2 Traitements par une augmentation du niveau de ROS

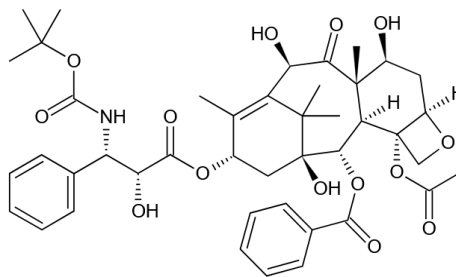
Une grande partie des thérapies anticancéreuses, que ce soit par des agents chimiothérapeutiques ou des radiations ionisantes, justifie leurs effets par une production directe ou

indirecte de ROS. En effet, les familles historiques d'anticancéreux comme les taxanes (paclitaxel ou docetaxel), les vinca-alcaloïdes (vincristine et vinblastine) et antimétabolites (anti-folates) qui sont connus pour promouvoir la libération du cytochrome c induisant ainsi l'apoptose, se sont également révélés interagir avec la chaîne de transport des électrons entraînant la formation de ROS.¹²⁹ D'autres agents de chimiothérapie très utilisés comme les complexes de platine (cisplatine, carboplatine et oxaliplatine) ou encore les anthracyclines (doxorubicine, epirubicine) (Figure 57) induisent également une importante production de ROS responsables de leurs effets anticancéreux.¹³⁰ On peut également citer le trioxyde d'arsenic (As_2O_3) utilisé pour le traitement de certaines leucémies qui lui aussi interagit avec les mitochondries, augmentant ainsi la production de superoxyde.¹³¹

a) Taxanes

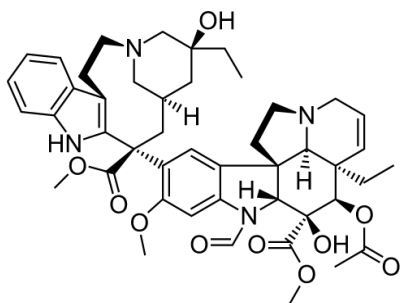


Paclitaxel (Taxol)

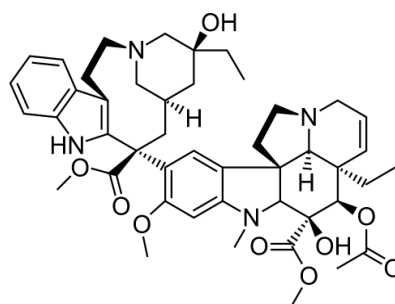


Docétaxel (Taxotère)

b) Vinca-alcaloïde

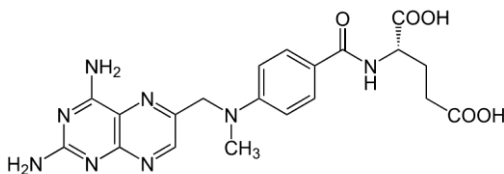


Vincristine



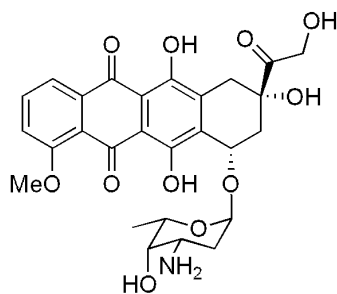
Vinblastine

c) Antifolate

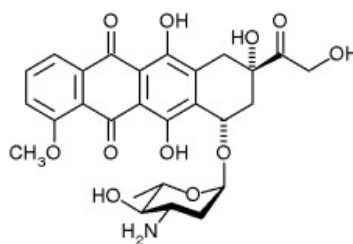


Antifolate (Methotrexate)

d) Anthracyclines

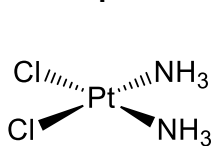


Doxorubicine

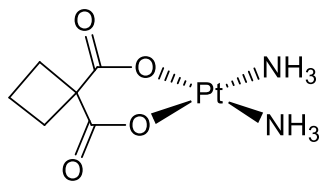


Epirubicine

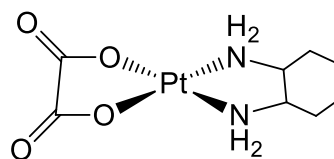
e) Complexes de platine



Cisplatine



Carboplatine



Oxaliplatine

Figure 57. Structures des agents composant les différentes familles d'anticancéreux.

Une autre méthode utilisée en thérapie anticancéreuse fonctionnant *via* une production excessive de ROS, est la radiothérapie par l'utilisation de radiations ionisantes. Il en existe deux types, la première va utiliser des photons (photons γ) générés à partir de cobalt ou de césium radioactifs et la seconde va exploiter des particules telles que des électrons, protons, neutrons, particules- α et β . L'irradiation par ces rayonnements va induire un stress oxydant permanent résultant en une production très importante de ROS.^{132,133}

Une autre stratégie de traitement par production de ROS pouvant être citée, est la thérapie photodynamique (PDT). Cette thérapie consiste en l'administration d'un photosensibilisateur qui, sous irradiation, va être excité et permettre la conversion d'oxygène triplet en oxygène singulet qui est hautement réactif et va ainsi entraîner la mort des cellules cancéreuses. La majorité des photosensibilisateurs sont des dérivés de porphyrine, comme par exemple le Laserphyrin (talaporfine) utilisé pour le traitement du cancer du poumon et développé par Novartis et Meiji Seika ou encore le Foscan (temoporfin) pour le cancer des voies aérodigestives supérieures et développé par Biolitec¹³⁴ (Figure 58).

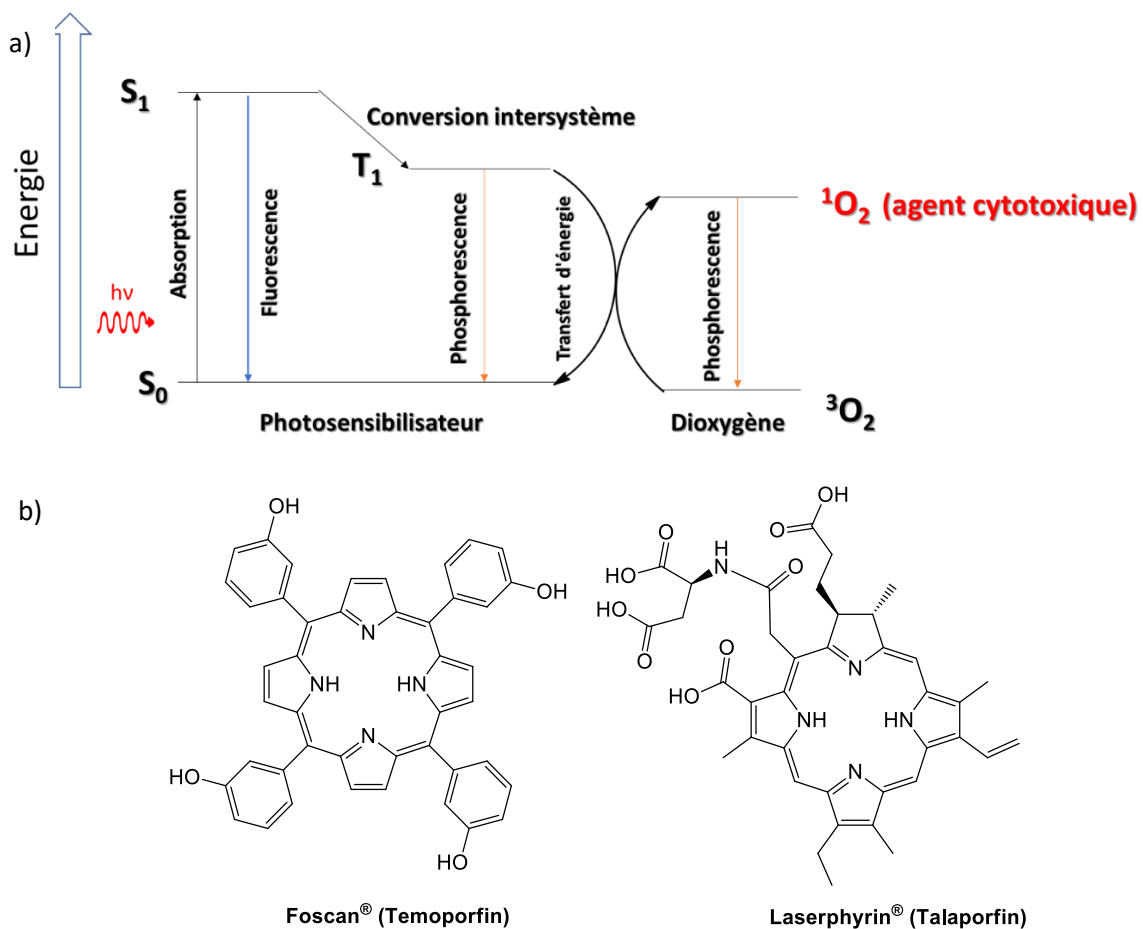


Figure 58. a) Diagramme de Jablonski présentant le principe de la PDT. b) Exemples d'agents de PDT utilisés en thérapie anticancéreuse.

Toutefois, l'un des problèmes de ces agents de chimiothérapie, est leur faible sélectivité. En effet, malgré la capacité des cellules saines à s'adapter à une augmentation de la quantité de ROS, si cette augmentation est trop importante les cellules vont être affectées de la même manière, ce qui représente une limite. Le second problème, est que les cellules cancéreuses finissent par s'adapter à l'augmentation de ROS *via* une production plus importante d'antioxydants. On peut citer par exemple l'étude effectuée sur des cellules leucémiques promyélocyaires HL-60 où cette lignée a montré être capable d'augmenter significativement son activité catalase après traitement avec des oxydants comme H₂O₂ ou encore l'hydroperoxyde de tert-butyle.¹³⁵ C'est pourquoi, une autre stratégie a été explorée afin de contourner ce problème, au travers de l'inhibition de l'activité antioxydante.

3.1.3 Traitements *via* une inhibition de l'activité antioxydante

Une stratégie de traitement basée sur une inhibition de l'activité antioxydante peut avoir une importante sélectivité envers les cellules cancéreuses du fait de leur niveau élevé de ROS présent comparé aux cellules saines. C'est pourquoi, des études ont été entreprises dans la recherche de molécules pouvant remplir cette tâche. On peut citer comme premier exemple la buthionine-sulfoximine (BSO) qui est un inhibiteur de la glutamylcystéine synthétase, une enzyme impliquée dans la synthèse du glutathion (GSH).¹³⁶ En effet, la BSO entraîne une diminution de la production de GSH ce qui va conduire à une augmentation de la quantité de ROS et donc induire la mort cellulaire. La BSO a également présenté des résultats intéressants lorsqu'elle est combinée avec des pro-oxydants tels que le trioxyde d'arsenic ou encore le cisplatine.¹³⁷⁻¹³⁹ Dans le même registre peut être cité l'Imexon (Amplimexon®) (Figure 59), qui est une molécule capable de se lier aux thiols diminuant ainsi la quantité de GSH disponible et donc réduisant la capacité antioxydante des cellules. Cette molécule a révélé avoir une activité anticancéreuse lors d'essais cliniques de phase I sur des lymphomes non hodgkiniens ou encore en combinaison avec le docetaxel pour le traitement des cancers du sein, du poumon et de la prostate.¹⁴⁰⁻¹⁴²

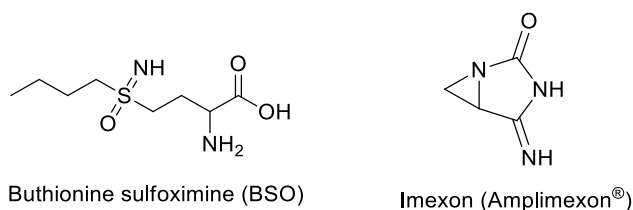


Figure 59. Structures de la BSO et de l'Imexon.

Dans ce premier point, l'origine et le rôle des ROS dans l'organisme ont été présentés. En effet, même si ces espèces peuvent avoir un rôle bénéfique dans l'organisme du point de vue du développement et de la prolifération des cellules, ils sont également très réactifs et peuvent induire des processus de mort cellulaire. Dans le cas des cellules cancéreuses, la quantité de ROS intracellulaires est bien plus importante en comparaison avec les cellules saines ce qui justifie leur grande capacité de prolifération. Toutefois, afin de ne pas être confronté au caractère toxique des ROS, les cellules cancéreuses vont adapter leur activité antioxydante en conséquence. C'est donc sur cette base que diverses stratégies de thérapie anticancéreuse ont émergé et même si le but premier n'était pas d'affecter la balance redox, les études ont montré que pour la grande majorité des traitements fournis à ce jour, ils impliquent une augmentation de la quantité de ROS *in fine*. Cette partie a ainsi montré l'importance des ROS dans une stratégie anticancéreuse et à quel point jouer sur cette balance ROS/antioxydant peut être bénéfique. Le point suivant va donc présenter, sur la base de la littérature, comment le CO peut altérer cette balance redox et induire la mort des cellules cancéreuses.

3.2 Etude de réactivité du complexe [Mn(8-HQ)(CO)₃(Me-Imd)] avec H₂O₂

3.2.1 Approches spectroscopiques et théoriques

Dans un premier temps, afin de comprendre le comportement du CORM **2** vis-à-vis des ROS, sa réactivité en présence d'H₂O₂ a été étudiée. Pour cela une analyse UV-visible du complexe **2** a été effectuée dans du PBS en présence de dix équivalents d'H₂O₂. Le spectre UV-visible a été enregistré toutes les 15 secondes et sur ce dernier, on peut constater une diminution progressive des bandes d'absorption du complexe ; cependant, contrairement au profil observé dans l'acétonitrile (Figure 40), il n'y a pas d'apparition d'une nouvelle bande, suggérant la formation d'une espèce différente dans le PBS (Figure 60). Néanmoins, en comparant avec le spectre obtenu sous irradiation à $\lambda = 450$ nm, les profils obtenus sont identiques confirmant que la même espèce est obtenue à la fin de ces deux activations. Le H₂O₂ semble agir en tant que stimulus extérieur dans le cadre de la dégradation du CORM.

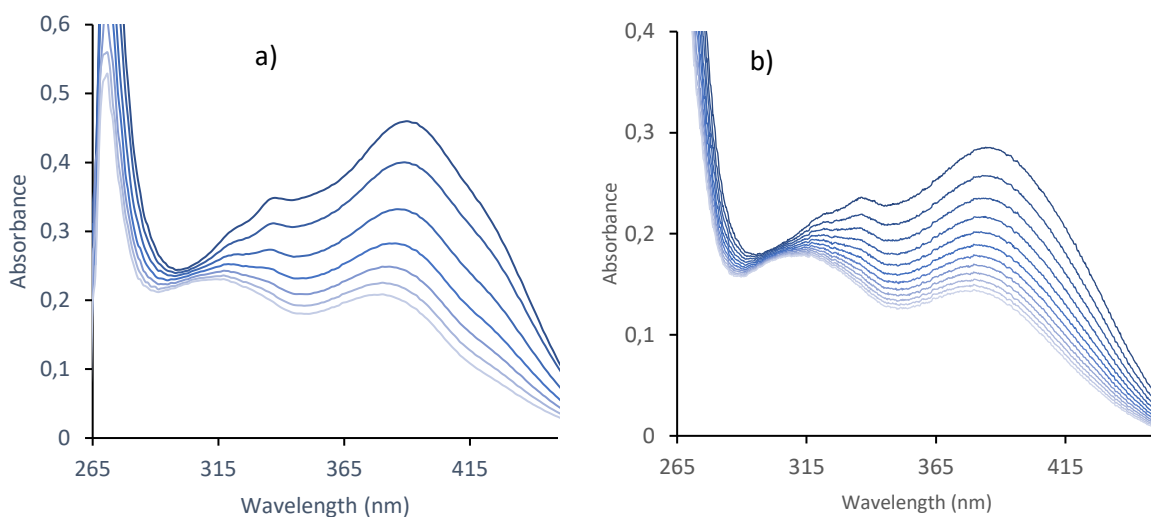


Figure 60. a) Evolution du profil UV-visible du complexe **2** (100 μM dans PBS) sous irradiation à $\lambda = 450 \text{ nm}$; b) Evolution du profil UV-visible du complexe **2** (50 μM) en présence de H_2O_2 (500 μM).

Afin de tenter d'élucider la structure du iCORM, une réaction test de **2** en présence de dix équivalents H_2O_2 et vingt équivalents d' HCl (1 M dans de l'eau) a été effectuée (Schéma 19.a)), le nombre d'équivalents a été déterminé grâce à l'équation théorique de réduction d' H_2O_2 en H_2O où 1 mole d' H_2O_2 donne 2 moles d' H_2O en présence de 2 équivalents d' H^+ (schéma 19.b)). A l'issue de la réaction, une poudre verte est obtenue et est analysée par IR, et comme attendu le composé ne présente plus aucune bande νCO . Cependant, la structure de ce composé n'a pas pu être élucidée, en effet l'analyse par RMN du proton révèle un spectre très peu résolu présentant des signaux élargis, ce qui peut être associé à la présence d'une espèce paramagnétique. De plus des tentatives de cristallisation de cette espèce ont été réalisées mais ont été infructueuses.

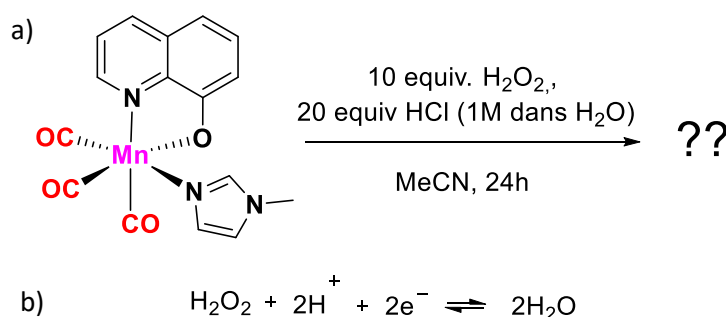


Schéma 19. a) Réaction d'oxydation du complexe **2** par H_2O_2 . b) Équilibre redox du couple $\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$.

Une seconde réaction test, sans HCl, a également été effectuée. Dans ces conditions, le complexe **2** est récupéré majoritairement, néanmoins, un sous-produit **16** a été isolé et sa structure a été élucidée par diffraction des rayons X. Sur cette dernière, nous pouvons voir que le noyau 8-HQ est oxydé (Figure 61.a)). Cette espèce n'est peut-être pas un intermédiaire du processus réel se produisant en milieu biologique. Cependant, il permet de confirmer le caractère non-innocent de ce ligand. En effet, il est en général admis que les processus d'oxydoréduction impliquant des complexes organométalliques sont localisés exclusivement sur le métal. Cependant, il a été montré, dans certains cas que ce processus redox se produit exclusivement ou dans un premier temps sur le ligand, ces derniers sont ainsi qualifiés de non-innocents¹⁴³. Parmi eux, sont inclus les ligands 8-HQ et dérivés qui ont montré par exemple dans le cadre de réaction d'oxydation la capacité d'induire un processus de délocalisation de lacune électronique où dans un premier temps un électron est retiré sur le ligand formant ainsi un radical cation qui est ensuite stabilisé par la migration d'un électron du métal vers cette lacune, oxydant ainsi dans un second temps le métal¹⁴⁴ (Figure 61.b)).

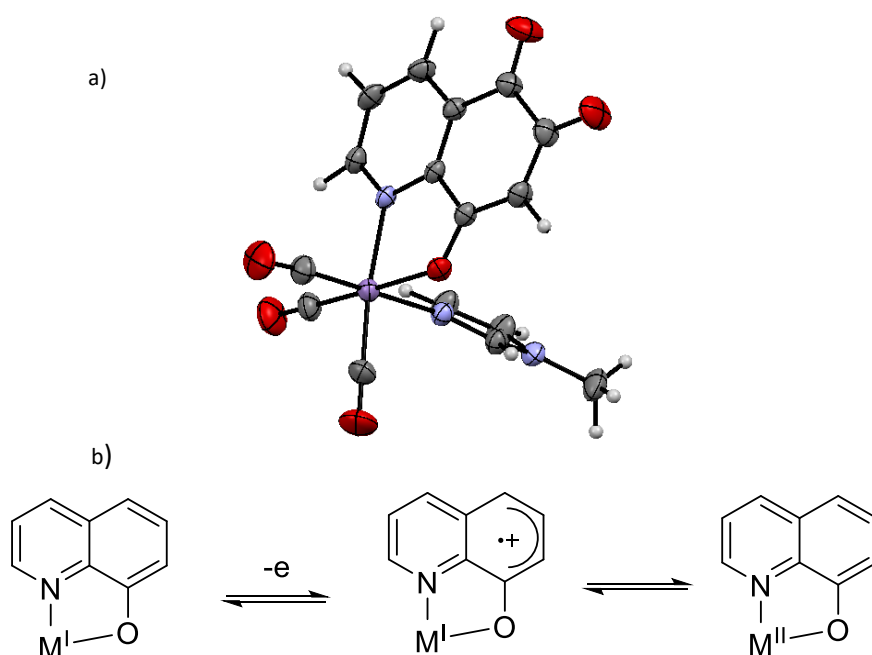


Figure 61. a) Représentation de la structure cristalline du complexe **16**. Ellipsoïdes à 30 % de probabilité. b) Processus de délocalisation de lacune électronique entre le ligand 8-hydroxyquinoléine et un métal.

Dans le but de corroborer ces résultats et surtout le caractère non-innocent du noyau 8-HQ, des analyses théoriques ont été entreprises en collaboration avec le Dr. Héloïse Dossmann et ont permis de confirmer que le processus d'oxydation du complexe était centré sur le ligand (Figure

62). En effet, par cette étude, il a pu être déterminé que l'orbitale la plus haute occupée (HOMO) se situe sur le noyau 8-HQ qui ainsi subirait l'abstraction d'un électron. Afin de compléter ce résultat, un autre calcul théorique consistant à identifier les zones les plus perturbées par le retrait d'un électron a été entreprise. Comme attendu, par le biais d'une analyse des charges partielles, l'unité 8-HQ se révèle être celle pour laquelle la plus grande densité électronique disparaît, confirmant le caractère non-innocent et l'implication du ligand dans le processus de libération de CO par oxydation.

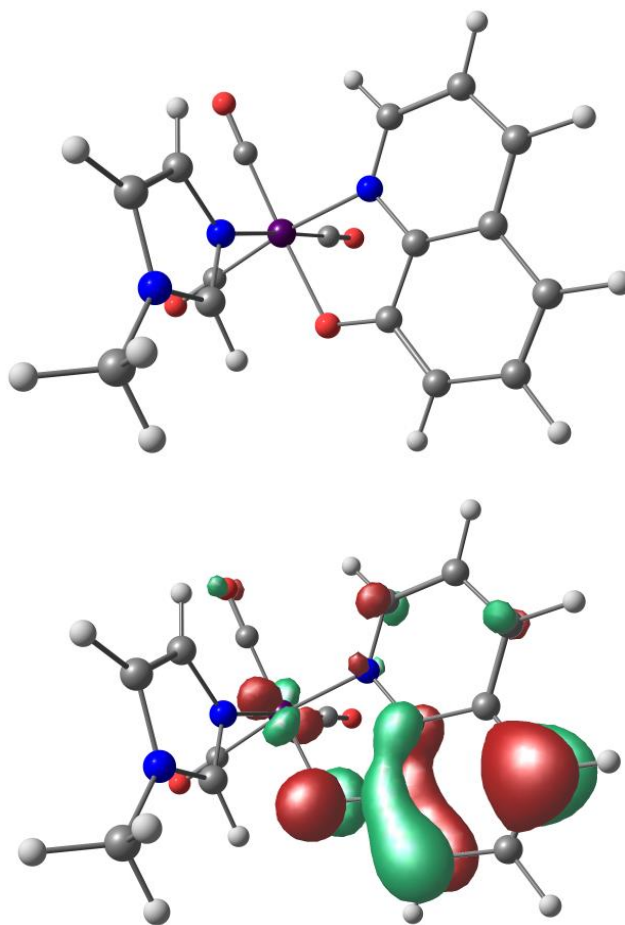


Figure 62. Représentation de la HOMO du complexe **2**, déterminée par calcul TD-DFT (B3LYP/Def2-tzvp), avec un surface d'isodensité de 0.051.

Afin de comprendre le processus de libération de CO, différentes expériences ont été entreprises, la première est une analyse infrarouge en temps réel effectuée dans l'acétonitrile. A travers cette analyse, deux informations importantes peuvent être extraites. La première est que, de façon similaire au test sous irradiation, une diminution progressive et simultanée de l'intensité des trois bandes ν_{CO} est observée après ajout de H_2O_2 et HCl , sans apparition

intermédiaire de nouvelles bandes, indiquant donc qu'il n'y a pas de modification de la symétrie du complexe impliquant ainsi une libération simultanée des 3 CO (Figure 62.a)). Dans un second temps, l'évolution de l'intensité de la bande νCO à 1950 cm^{-1} a été tracée en fonction du temps. Pour cette dernière, il peut être observé qu'avant addition d' H_2O_2 , aucune variation de l'intensité de la bande n'est observée. Toutefois dès l'ajout de l'oxydant, une diminution immédiate est constatée, confirmant la seule implication de H_2O_2 dans l'induction de la libération de CO (Figure 63.b)).

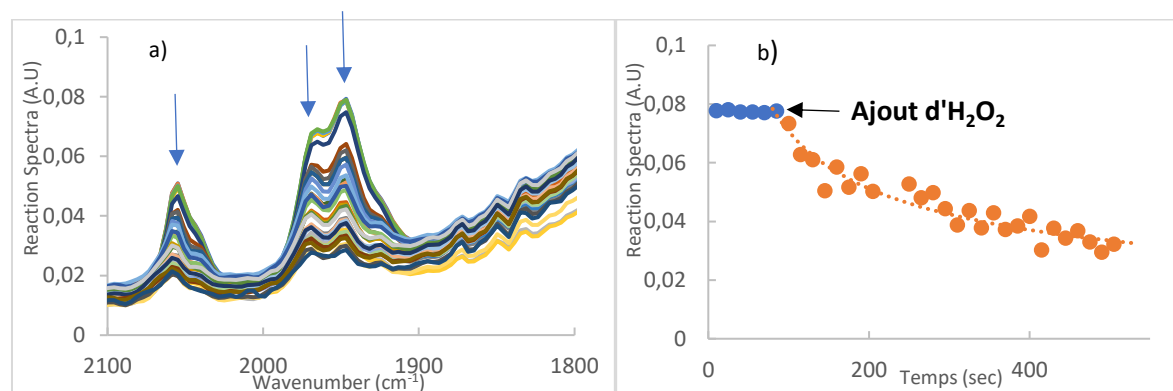


Figure 63. a) Spectre infrarouge en temps réel du complexe **2** en présence de 10 équivalents de H_2O_2 et 20 équivalents de HCl dans l'acétonitrile. b) Évolution de l'intensité de la bande νCO à 1950 cm^{-1} au cours du temps, Tracé bleu : sans H_2O_2 . Tracé orange : Après ajout d' H_2O_2 .

3.2.2 Approche électrochimique

Il est fait l'hypothèse que le mécanisme supposé de cette réaction et de la toxicité du complexe passe par un processus d'oxydo-réduction. Afin de vérifier cette hypothèse, les potentiels redox des complexes **2**, **13** et **15** ont été déterminés par voltampérométrie cyclique en collaboration avec le Pr. Sébastien Blanchard. Ici l'idée est de mesurer les potentiels de ces différents complexes portant des 8-HQ enrichis ou appauvris en électrons, de les comparer et de vérifier s'il y a une corrélation entre le potentiel et la toxicité afin de confirmer que le mécanisme d'action implique une réaction d'oxydoréduction. Pour ce faire, un système électrochimique à trois électrodes est utilisé, avec comme électrode de travail une électrode au carbone vitreux, une électrode au calomel saturé (ECS) comme électrode de référence et une électrode au platine comme contre-électrode. Le complexe **2** est ensuite dissous dans l'acétonitrile contenant de l'hexafluorophosphate de tétrabutylammonium (100 mM) en guise d'électrolyte porteur. Le voltamogramme cyclique est enregistré à une vitesse de balayage de $100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. A l'issue de cette expérience, l'influence des substituants sur le motif 8-HQ se vérifie et confirme d'autant

plus le caractère non-innocent de ce ligand. En effet, un potentiel d'oxydation de 0,9 V est déterminé dans le cas du complexe **2**, associé à un processus irréversible qui s'explique par la perte des CO qui en découle. Le complexe **15** (8-HQ dinitrée) quant à lui présente un potentiel d'oxydation de 1,07 V (vs. ECS), ce qui est cohérent car un appauvrissement électronique du noyau 8-HQ implique une plus grande difficulté à perdre un électron, et cela se traduit par un potentiel plus élevé et toujours *via* un processus irréversible. Le composé **13** (8-HQ diisopropyle), comme attendu, présente un potentiel d'oxydation plus bas de 0,68 V (vs. ECS) associé à un processus quasi réversible. En effet, le caractère enrichi en électrons dû à l'effet inductif donneur des groupements isopropyle permet une stabilisation de l'espèce radical cation formée qui présente donc un temps de vie suffisamment long pour subir le processus de réduction inverse (Figure 64).

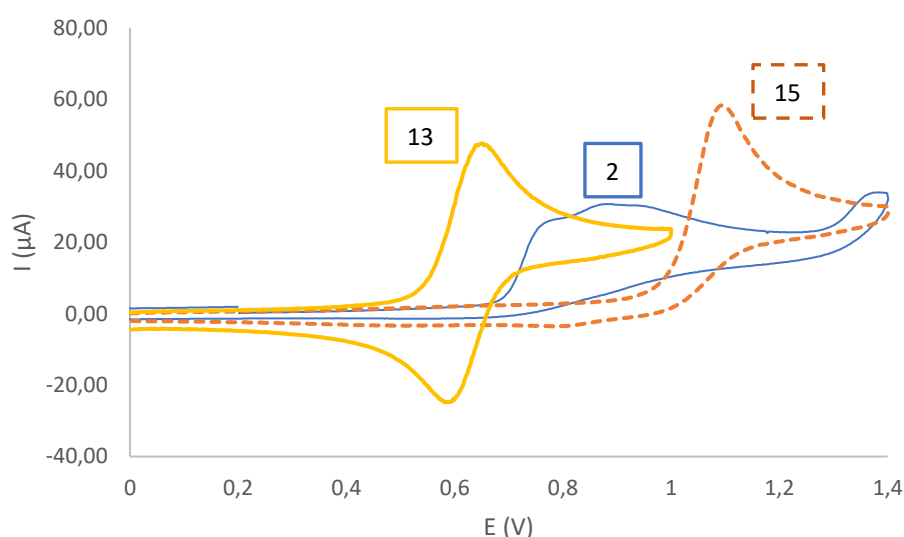


Figure 64. Voltampérométrie cyclique des composés **2**, **13** et **15** (1 mM) dans MeCN en présence de TBAPF₆ (100 mM) versus ECS ; vitesse de balayage $v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ à température ambiante.

A l'issue de cette analyse, un mécanisme de libération de CO peut être proposé où la première étape consiste en l'oxydation du motif 8-HQ entraînant la formation du radical cation correspondant. Ensuite, afin d'être stabilisé, un transfert électronique du métal vers la 8-HQ se produit formant ainsi un manganèse (II) qui ne sera plus capable s'assurer une bonne rétrodonation π conduisant à un affaiblissement de la liaison Mn-CO et entraîne le départ de ces derniers (Schéma 20).

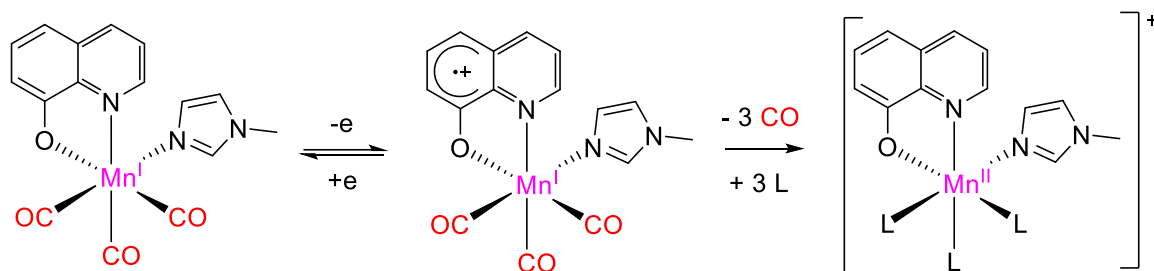


Schéma 20. Mécanisme proposé de libération des CO du complexe **2** par processus d'oxydoréduction.

3.2.3 Approche biologique et mécanisme d'action.

Comme expliqué dans le point précédent, afin d'aller plus en profondeur dans l'élucidation du mécanisme d'action, des tests de viabilité sur cellules cancéreuses MDA-MB-231 ont été entrepris avec les complexes **13** et **15** afin de déterminer la relation entre leur potentiel d'oxydation et leur cytotoxicité. Dans un premier temps, lorsque la toxicité du complexe **13** est comparée à celle de **2**, aucune différence significative n'est observée. Cependant, une augmentation de l'IC₅₀ par presque 2 est constatée dans le cas du complexe **15**, montrant ainsi l'influence du potentiel sur la toxicité. Pour le complexe **13**, le fait qu'aucune différence de toxicité ne soit observée après traitement par rapport au complexe **2** peut s'expliquer par une différence de potentiel redox déjà suffisante avec le couple H₂O₂/H₂O (1,54 V vs ECS) (Tableau 5).

	 R= H, iPr, NO ₂		
Composé	2 (-H)	13 (-iPr)	15 (-NO₂)
MDA-MB-231	7,4 ± 1,6 μM	7,3 ± 0,4 μM	12,7 ± 1,1 μM

Tableau 5. Valeurs d'IC₅₀ de **2**, **13** et **15** obtenues par un test au MTT après 72 h d'incubation à 37°C sur la lignée cellulaire MDA-MB-231 (cancer du sein triple négatif).

A travers les analyses effectuées, les résultats obtenus ont permis la proposition d'un mécanisme d'action de nos composés sur les cellules. En effet, comme vu dans la première partie de ce chapitre, les ROS sont produits majoritairement par les mitochondries, et on estime que 1% de la consommation totale de dioxygène sert à produire des ROS et en l'occurrence du superoxyde.¹¹² La production de superoxyde quant à elle, est assurée majoritairement par les

complexes I (NADH déshydrogénase) et III (coenzyme Q-cytochrome c réductase) de la chaîne de transport des électrons.¹⁴⁵⁻¹⁴⁶ Il est important de rappeler que le CO possède une forte affinité pour l'hème, qui est environ 200 fois supérieure à celle du dioxygène, et en effet, les complexes II (succinate déshydrogénase) et IV (cytochrome c oxydase) sont des hémoprotéines et représentent ainsi des cibles pour le CO. Ainsi, le H₂O₂ extra-mitochondrial réagirait avec nos complexes et induirait la libération de CO. Le CO libéré interagirait ensuite avec les complexes II et IV, perturbant l'activité mitochondriale et entraînant une accumulation d'électrons sur les complexes I et III et résultant en une surproduction de superoxyde¹⁴⁷. Les anions superoxyde libérés seraient convertis en H₂O₂, et le même processus se produirait en boucle jusqu'à consommation totale du complexe dans la cellule et la mort des cellules cancéreuses. (Figure 65).

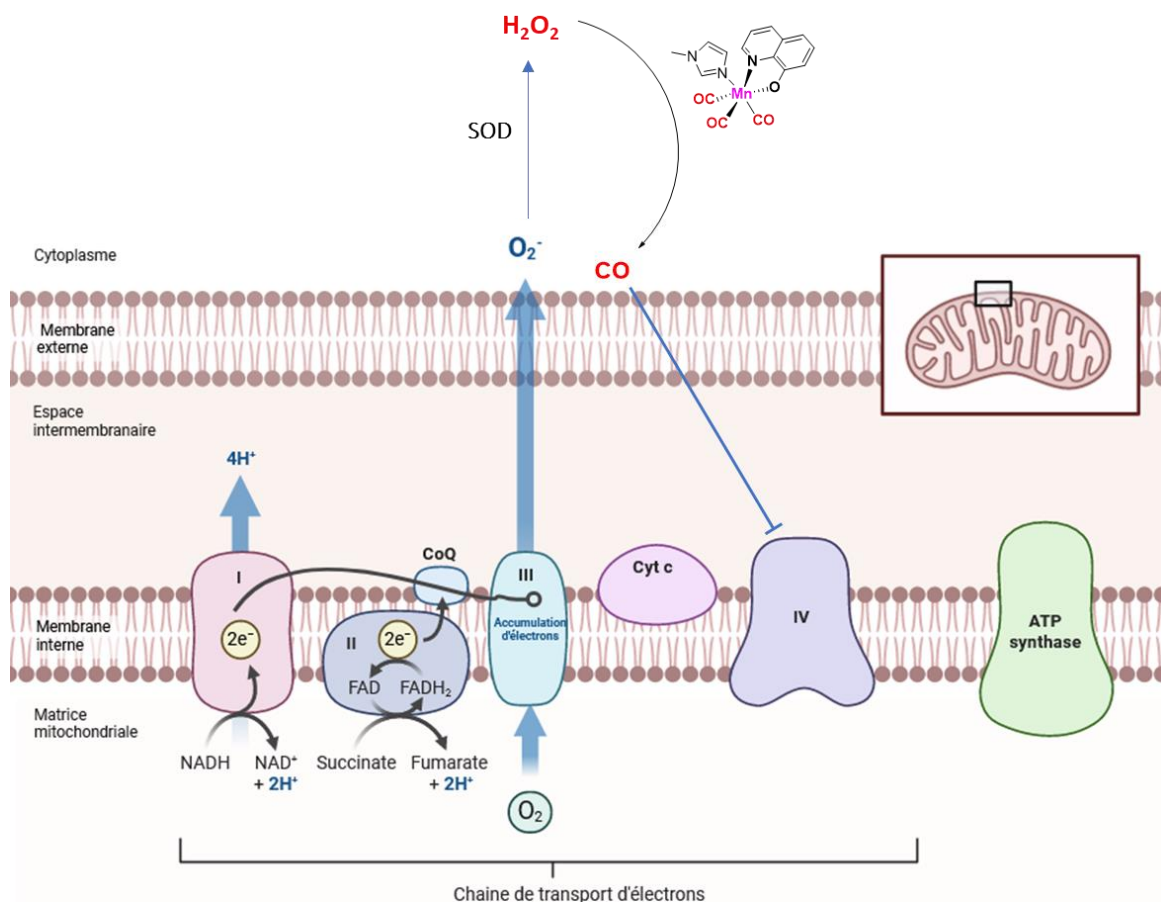


Figure 65. Potentiel mécanisme d'action des CORMs [Mn(8-HQ)(CO)₃R-Imd sur les cellules. Figure issue de biorender.com.

3.3 Conclusion et perspectives

Dans ce chapitre, l'importance des ROS dans le cadre du développement et du traitement des cellules cancéreuses a été exposée. En effet, les ROS jouent un rôle central dans ces dernières, ce qui a permis l'introduction de stratégies visant à les cibler afin d'induire la mort des cellules tumorales. Les CORMs présentés ont démontré une sensibilité à H_2O_2 au travers d'une libération de CO par réaction avec ce dernier. Cela a pu être vérifié par spectroscopie UV-Visible et par IR en temps réel grâce auxquelles la capacité du H_2O_2 à dégrader le complexe mais également à induire la libération de CO a pu être confirmée. Ensuite, des études approfondies sur le mécanisme de libération de CO ont été entreprises et ont permis de déterminer que l'oxydation avait lieu principalement sur le ligand 8-HQ avant l'oxydation de l'ion métallique et ainsi induire la libération de CO. Afin de vérifier et confirmer cette hypothèse, les complexes **13** et **15** présentant des 8-HQ respectivement enrichis et appauvris en électrons ont été étudiés en parallèle du complexe **2**. Leur potentiel d'oxydation a été déterminé et comme attendu il est augmenté dans le cadre du complexe **15** (1,07 V) et diminué pour le complexe **13** (0,67 V). Cette différence de potentiel a pu être corrélée aux IC_{50} des 3 complexes sur une lignée cellulaire cancéreuse, démontrant que le complexe **15** avec le plus haut potentiel présente la toxicité la plus faible, confirmant ainsi le caractère redox du processus de libération de CO intracellulaire.

L'étude mécanistique de libération de CO du complexe **2** par H_2O_2 étant effectuée, l'objectif suivant va consister à tenter d'améliorer la sélectivité en espérant permettre par la même occasion d'augmenter la toxicité. Cet aspect fera l'objet du chapitre suivant.

3.4 Références

- [113] L. B. Sullivan and N. S. Chandel, *Cancer & Metabolism*, **2014**, 2, 17.
- [114] F. Jiang, Y. Zhang and G.J. Dusting, *Pharmacol. Rev.* **2011**, 63, 218-242.
- [115] H. Sies, *Redox Biol.*, **2017**, 11, 613-619.
- [116] C. R. Reczek and N. S. Chandel, *Annu. Rev. Cancer Biol.*, **2017**, 1, 79-98.
- [117] I. S. Harris et G. M. DeNicola, *Trends Cell. Biol.*, **2020**, 30, 440-451
- [118] M. Schieber, N.S. Chandel, *Curr. Biol.*, **2014** 24, R453–R462
- [119] A. Glasauer and N. S. Chandel, *Biochem. Pharmacol.*, **2014**, 92, 90-101.
- [120] S.K. Nelson, S.K. Bose, G.K. Grunwald, P. Myhill and J.M. McCord, *Free Radic. Biol. & Med.*, **2006**, 40, 341–347.
- [121] P. Gao, H. Zhang, R. Dinavahi, F. Li, Y. Xiang, V. Raman, Z. M. Bhujwala, D.W. Felsher, L. Cheng, J. Pevsner, L. A. Lee, G. L. Semenza and C. V. Dang, *Cancer Cell*, **2007**, 12, 230–238.
- [122] M.L. Teoh-Fitzgerald, M.P. Fitzgerald, W. Zhong, R.W. Askeland and F.E. Domann, *Oncogene*, **2014**, 33, 358–368.
- [123] K.T. Khaw, S. Bingham, A. Welch, R. Luben, N. Wareham and S. Oakes, N. Day, *Lancet* **2001**, 357, 657–663.
- [124] M. Burr, P. Appleby, T. Key and M. Thorogood, *Lancet*, **2001**, 357, 2135–2136.
- [125] The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. *N. Engl. J. Med.* **1994**, 330, 1029-1035.
- [126] J. Sceneay, M.C. Liu, A. Chen, C.S. Wong, D.D. Bowtell, A. Moller. *PLoS One*, **2013**, 8, e66388.
- [127] V.I. Sayin, M.X. Ibrahim, E. Larsson, J.A. Nilsson, P. Lindahl and M.O. Bergo, *Sci. Transl. Med.*, **2014**, 6, 221ra15.
- [128] I.M. Lee, N.R. Cook, J.E. Manson, J.E. Buring and C.H. Hennekens. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1999**, 91, 2102–2106.
- [129] S. H. Kaufmann and W.C. Earnshaw, *Exp. Cell Res.*, **2000**, 256, 42–49.
- [130] K.A. Conklin, *Cancer Ther.*, **2004**, 3, 294–300.
- [131] W. H. Miller, H. M. Schipper, J. S. Lee, J. Singer and S. Waxman, *Cancer Res.*, **2002**, 62, 3893–3903.
- [132] T. Yoshida, S. Goto, M. Kawakatsu, Y. Urata and T.S. Li, *Free Radic. Res.*, **2012**, 46, 147–153.
- [133] C. Gorrini, I.S. Harris, T.W. Mak, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2013**, 12, 931-947.
- [134] J. F. Algorri, M. Ochoa, P. Roldán-Varona, L. Rodríguez-Cobo and J.M. López-Higuera, *Cancers*, **2021**, 13, 4447.

- [135] P.F. Lenehan, P.L. Gutierrez, J.L. Wagner, N. Milak, G.R. Fisher, D.D. Ross, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **1995**, 35, 377-386.
- [136] O.W. Griffith and A. Meister, *J. Biol. Chem.*, **1979**, 254, 7558-7560.
- [137] H.H. Bailey, G. Ripple, K.D. Tutsch, R.Z. Arzoomanian, D. Alberti, C. Feierabend, D. Mahvi, J. Schink, M. Pomplun, R.T. Mulcahy and G. Wilding, *J. Natl Cancer Inst.*, **1997**, 89, 1789-1796.
- [138] H. Maeda, S. Hori, H. Ohizumi, T. Segawa, Y. Kakehi, O. Ogawa and A. Kakizuka, *Cell Death Differ.*, **2004**, 11, 737-746.
- [139] R.H. Engel and A.M. Evens, *Front. Biosci.*, **2006**, 11, 300-312.
- [140] S. Moulder, N. Dhillon, C. Ng, D. Hong, J. Wheler, A. Naing, S. Tse, A.L. Paglia, R. Dorr, E. Hersh, M. Boytim and R. Kurzrock, *Invest. New Drugs*, **2010**, 28, 634-640.
- [141] E.V. Sheveleva, T.H. Landowski, B.K. Samulitis, G. Bartholomeusz, G. Powis, and R. T. Dorr, *Mol. Cancer Res.*, **2012**, 10,392-400.
- [142] T. Dragovich, M. Gordon, D. Mendelson, L. Wong, M. Modiano, H.H.S. Chow, B. Samulitis, S. O'Day, K. Grenier, E. Hersh and R. Dorr, *J. Clin. Oncol.*, **2007**, 25, 1779-1784.
- [143] M. C. Aragoni, C. Caltagirone, V. Lippolis, E. Podda, A.M.Z. Slawin, J.D. Woolins, A. Pintus and M. Arca, *Inorg. Chem.*, **2020**, 59, 17385-17401.
- [144] S. Bellinger-Buckley, T.-C. Chang, S. Bag, D. Schweinfurth, W. Zhou B. Torok, B. Sarkar, M.-K. Tsai, and J. Rochford, *Inorg. Chem.*, **2014**, 53, 5556-5567.
- [145] F. L. Muller, Y. Liu and H. Ven Remmen, *J. Biol. Chem.*, **2004**, 279, 49064-49073.
- [146] M. P. Murphy, *Biochem. J.*, **2009**, 417, 1-13.
- [147] M. Desmard, J. Boczkowski, J. Poderoso and R. Motterlini, *Antioxid. Redox Signal.*, **2007**, 9, 2139-2155.

Chapitre 4

Développement de CORMs
glycoconjugués (GlycoCORMs) pour de la
thérapie ciblée

Chapitre 4. Développement de CORMs glycoconjugués (GlycoCORMs) pour de la thérapie ciblée

4.1 L'intérêt de la thérapie ciblée

Comme expliqué précédemment, l'un des problèmes majeurs de la thérapie anticancéreuse est le manque de sélectivité des agents de chimiothérapie vis-à-vis des cellules tumorales. C'est pourquoi un des grands défis de ces dernières années a été de développer des stratégies de traitements permettant un ciblage spécifique afin de permettre de réduire considérablement les effets secondaires mais également d'augmenter l'effet thérapeutique et peut être même permettre de traiter les cancers à des stades avancés. Cette stratégie porte le nom de thérapie ciblée, et implique l'utilisation d'une molécule naturelle ou synthétique qui va cibler des entités moléculaires cellulaires surexprimées et présentes spécifiquement dans les cellules cancéreuses entraînant une toxicité dans ces dernières et conduisant à leur mort. Dans ce chapitre, l'historique de la thérapie ciblée en oncologie sera présenté. S'en suivra une description des cibles sur lesquelles nous avons choisi de travailler. Ensuite, la conception de la nouvelle série de CORMs vectorisés constituera un point important de ce chapitre, expliquant le raisonnement dans leur design mais également les difficultés synthétiques rencontrées et les résultats obtenus. Dans un second temps, les tests de viabilité cellulaire réalisés sur ces complexes seront discutés et comparés avec ceux obtenus avec le complexe **2** non fonctionnalisé.

4.1.1 Historique de la stratégie

Le Dr Paul Ehrlich a décrit pour la première fois à la fin du 19^{ème} siècle le concept de thérapie ciblée avec le concept de « balle magique » qui à l'époque était censé décrire une molécule permettant de cibler spécifiquement les microorganismes.¹⁴⁸ C'est seulement 80 ans plus tard, que le concept a été étendu aux thérapies anticancéreuses.¹⁴⁹ L'un des points déterminants dans le succès d'une stratégie de thérapie ciblée est l'identification de la cible. L'apparition des cancers de manière générale est associée à une altération du génome conduisant à des mutations ou la surexpression de protéines pouvant induire la survie et la prolifération cellulaire. Ces altérations génétiques font partie des facteurs clé permettant la distinction entre cellules cancéreuses et cellules saines, et ce sont ces paramètres qui vont être exploités pour le développement de vecteurs moléculaires. La première étape avant la conception d'agents de thérapie ciblée est l'identification des cibles cellulaires. Un grand nombre d'études a été

entrepris dans le but de déterminer ces marqueurs, et c'est à travers le séquençage de l'ADN que des variations génétiques entre les cellules saines et cancéreuses ont pu être élucidées et ont permis de mettre en avant certaines protéines en tant que potentielles cibles. Parmi les cibles peuvent être citées, les facteurs de croissance, les protéines du cycle cellulaire, les modulateurs de l'apoptose ou encore les molécules promouvant l'angiogenèse.¹⁵⁰⁻¹⁵¹

Afin de toucher ces différents marqueurs, différentes familles de molécules et stratégies ont été développées et étudiées. On peut citer les petites molécules, les anticorps monoclonaux, les vaccins contre le cancer, la thérapie génique ou encore les carbohydrates. Les points qui suivront détailleront de chacune de ces méthodes de thérapie ciblée.

4.1.2 Ciblage par des molécules de faible poids moléculaire

Les petites molécules en thérapie ciblée sont définies comme étant des molécules ayant une masse molaire inférieure à 900 g/mol, capable de pénétrer la membrane plasmique afin de cibler spécifiquement certaines protéines présentes dans les cellules et à leur surface.¹⁴⁸ La plupart des enzymes ciblées sont des kinases. Les kinases sont des enzymes qui assurent le transfert de groupements phosphates à partir d'ATP fonctionnant de pair avec les phosphatases qui hydrolysent les groupements phosphates. A elles deux, ces classes d'enzymes modulent de nombreux processus cellulaires et sont par exemple fortement impliquées dans la prolifération cellulaire¹⁵² (Schéma 21).

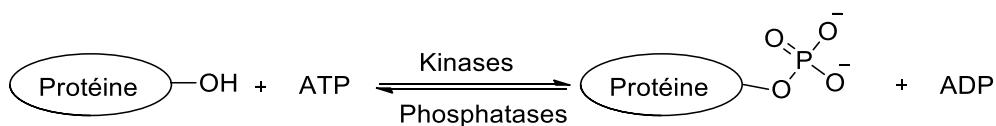


Schéma 21. Réactions catalysées par les kinases et phosphatases.

La grande majorité des cancers sont connus pour surexprimer les protéines kinases, c'est pourquoi elles ont tout naturellement été associées au phénomène d'oncogenèse.¹⁵³ Le kinome, c'est-à-dire l'ensemble des protéines kinases exprimées dans les cellules, est devenu un sujet d'étude important dans la recherche pour le traitement de nombreux cancers. L'un des challenges dans le développement d'inhibiteurs de kinases, est l'identification de la ou des protéines offrant les meilleurs effets thérapeutiques, cependant des centaines de kinases présentent un rôle important dans l'initiation, la survie et la prolifération des cellules cancéreuses. C'est pourquoi les kinases ont été divisées en quatre groupes selon leurs rôles biologiques précis.^{152,154-158}

Les inhibiteurs de kinases représentent l'une des classes les plus importantes d'anticancéreux en stratégie de thérapie ciblée. Le Imatinib (Glivec®) est le premier inhibiteur de kinase ciblant la tyrosine kinase d'Abelson (ABL) approuvée pour le traitement de la leucémie myéloïde chronique.¹⁵⁹ Aujourd'hui, un quart de la recherche et des médicaments développés dans le monde sont des inhibiteurs de kinases, en effet, 31 molécules ont été approuvées par la FDA depuis lors (Tableau 6). Ces molécules ciblent une large variété de kinases dont celles décrites ci-dessus telles que l'EGFR, VEGFRs, ABL ou encore SRC pour en citer quelques-unes, et toutes présentent de très bons résultats.¹⁶⁰ La majorité de ces inhibiteurs sont compétitifs par interaction avec le site de reconnaissance de l'ATP permettant d'empêcher la prolifération des cellules et *in fine*, de soigner les patients.^{162,163}

Drug target	Protein substrate	Drug
ALK	Tyrosine	Crizotinib, Ceritinib, Alectinib, Brigatinib
BCR-Abl	Tyrosine	Bosutinib, Dasatinib, Imatinib, Nilotinib, Ponatinib
B-Raf	Serine/threonine	Vemurafenib, Dabrafenib
BTK	Tyrosine	Ibrutinib
CDK family	Serine/threonine	Palbociclib, Sorafenib, Ribociclib
c-Met	Tyrosine	Crizotinib, Cabozantinib
EGFR family	Tyrosine	Gefitinib, Erlotinib, Lapatinib, Vandetanib, Afatinib, Osimertinib
JAK family	Tyrosine	Ruxolitinib, Tofacitinib
MEK1/2	Dual specificity	Trametinib
PDGFR α/β	Tyrosine	Axitinib, Gefitinib, Imatinib, Lenvatinib, Nintedanib, Pazopanib, Regorafenib, Sorafenib, Sunitinib
RET	Tyrosine	Vandetanib
Src family	Tyrosine	Bosutinib, Dasatinib, Ponatinib, Vandetanib
VEGFR family	Tyrosine	Axitinib, Lenvatinib, Nintedanib, Regorafenib, Pazopanib, Sorafenib, Sunitinib

Tableau 6. Liste des différentes protéines kinases ciblées en thérapie anti-cancéreuse et les molécules les ciblant. Tableau issu de la référence 152.

Malgré d'excellents résultats obtenus, ces molécules présentent certains inconvénients, dont le principal est la résistance des cellules cancéreuses après traitement, où un traitement qui était initialement efficace, finit par ne plus faire effet. Ceci est dû à l'importante capacité des cellules cancéreuses à s'adapter et muter en réponse à un traitement, empêchant ainsi la reconnaissance et rendant inefficace ces molécules.¹⁶⁴⁻¹⁶⁶

4.1.3 Ciblage par la vaccination

La stratégie via des vaccins contre le cancer consiste à cibler la réponse immunitaire contre les cellules cancéreuses. La stratégie est divisée en deux types, la thérapie patient-spécifique où le vaccin est conçu à partir des cellules cancéreuses du patient et la thérapie non-spécifique pour laquelle un vaccin va induire une réponse immunitaire généralisée par l'utilisation d'un vaccin peptidique par exemple.¹⁶⁷

Les vaccins thérapeutiques anticancéreux vont induire une réponse immunitaire dirigée contre les cellules cancéreuses par l'administration d'antigènes associés aux tumeurs et très souvent surexprimés par celles-ci. L'administration de ces derniers va permettre de déclencher une réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T cytotoxiques qui, après reconnaissance de la tumeur, vont entraîner son élimination.¹⁶⁸

Le sipuleucel-T (Provenge[®]) est le premier vaccin thérapeutique pour le traitement du cancer à avoir été approuvé par la FDA en 2010 et par l'EMA en 2013 dans le cadre du cancer de la prostate. Cependant, aucun autre exemple de thérapie vaccinale n'a été approuvé. En effet, une légère augmentation de la survie des patients a été constatée dans le cadre du sipuleucel-T et même certains essais cliniques de phase III impliquant d'autres vaccins ont présenté des résultats négatifs.¹⁶⁹⁻¹⁷¹ Cela s'explique de différentes façons. Premièrement, le complexe tumeur-hôte et les facteurs environnementaux ont révélé ne pas avoir d'influence directe sur l'immunité spécifique de la tumeur signifiant que la conception de vaccins anticancéreux ne prend pas compte tous les mécanismes impliqués dans la réponse immunitaire. De plus, les vaccins se sont avérés être incapables de générer une quantité suffisante de lymphocytes T requise pour avoir un réel effet anticancéreux.^{172, 173}

C'est pourquoi, malgré le fait que les vaccins anticancéreux soient une stratégie prometteuse, la recherche a continué d'avancer sur le développement d'autres thérapies pouvant éviter les limites de cette dernière, en l'occurrence la thérapie génique qui constituera le troisième point.

4.1.4 Ciblage par thérapie génique

La thérapie génique consiste en l'introduction de matériel génétique qui peut être de l'ADN ou de l'ARN par le biais de vecteurs qui peuvent être viraux ou non. La thérapie génique peut être exploitée dans différents types de pathologies comme les maladies génétiques par exemple, mais peut présenter un grand intérêt en thérapie anticancéreuse. En effet, la thérapie génique peut permettre par le biais de matériel génétique, d'introduire ou de remplacer des gènes suppresseurs de tumeur mutés, d'inhiber l'expression d'oncogènes par siRNA (« small

interfering RNA ») ou des oligonucléotides antisens afin de stimuler la réponse immunitaire et inhiber le processus d'angiogenèse associé aux tumeurs, dans le but final de tuer les cellules tumorales ou d'inhiber leur croissance.^{148, 174}

Le premier essai clinique en thérapie génique chez l'homme a été effectué en 1989 par Rosenberg et collaborateurs afin de soigner des patients présentant un mélanome avancé. L'essai consistait à injecter à l'intérieur des sites cancéreux des malades des lymphocytes d'infiltration tumorale (TILs), où avait été introduit un gène favorisant la mort des cellules tumorales. Les résultats de cette étude ont montré que les tumeurs ne se développaient plus au niveau du site d'injection.¹⁷⁵

L'une des stratégies prometteuses de thérapie génique en thérapie anticancéreuse est à travers l'utilisation de la technologie CRISPR-Cas9 (« Clustered Regularly Interspaced Pallindromic Repeats »). Cette stratégie mis au point par Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna a été récompensée du prix Nobel de chimie en 2020. Cette technologie permet la reconnaissance spécifique de séquence d'ADN par le biais de CRISPR qui est une séquence d'ARN court, et également la coupure de l'ADN en question grâce à la protéine Cas9^{176, 177}(Figure 66).

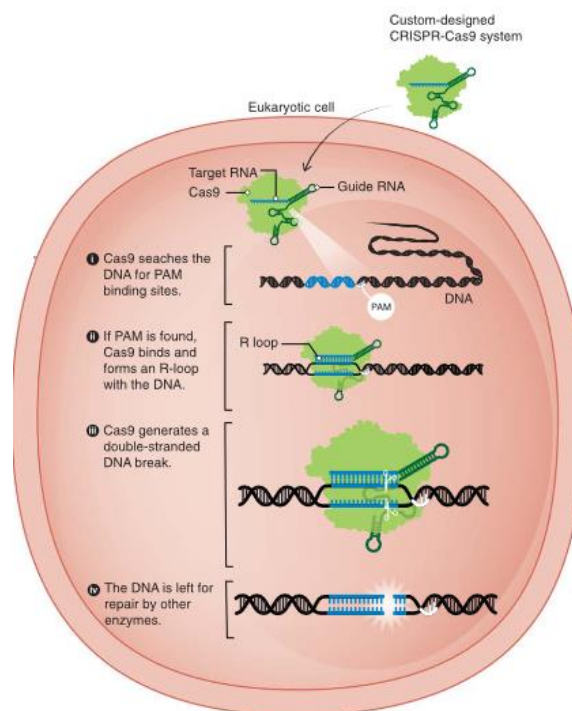


Figure 66. Processus d'édition de gène par CRISPR-Cas9. Figure issue de la référence 177.

Une étude effectuée par Z.-H. Cheng et collaborateurs a présenté l'utilisation de CRISPR-Cas9 afin d'introduire un gène codant pour la thymidine kinase HSV1-tk dans le génome de cellules cancéreuses remplaçant ainsi l'ADN muté par un gène suicide entraînant la mort des cellules

cancéreuses du foie de type Hep3B et Huh7.¹⁷⁸ Une autre étude de Su et collaborateurs a présentée l'utilisation de CRISPR-Cas9 afin de perturber le gène codant pour la protéine PD-1 responsable en partie de la régulation négative de l'activité des lymphocytes T. L'altération du gène de la protéine PD-1 permet ainsi de réactiver les lymphocytes T afin qu'ils puissent s'attaquer aux cellules cancéreuses.¹⁷⁹ Ces études ont permis de mettre en avant l'intérêt de la stratégie par thérapie génique à travers l'exploitation de CRISPR-Cas9 en thérapie anti-cancéreuse, plusieurs essais cliniques sont en cours principalement aux Etats-Unis et en Chine sur différents types de cancers tels que les lymphomes ou le cancer du sein en couplant la technologie CRISPR-Cas9 avec de l'immunothérapie (CAR-T cell), montrant ainsi l'engouement entourant cette technique.¹⁸⁰

4.1.5 Ciblage par anticorps monoclonaux

La stratégie de ciblage par les anticorps ou conjugués anticorps-médicament (ADC = «antibody-drug conjugate») consiste en l'utilisation d'anticorps monoclonaux liés de façon covalente à un agent thérapeutique. Ces composés vont combiner le caractère hautement cytotoxique d'une petite molécule avec la sélectivité, la stabilité et l'excellent profil pharmacocinétique des anticorps monoclonaux. En effet, les anticorps vont permettre une reconnaissance spécifique des antigènes surexprimés ou uniquement exprimés sur les cellules cancéreuses réduisant ainsi drastiquement les effets secondaires non ciblés. Une fois l'anticorps lié à l'antigène, le complexe anticorps-molécule cytotoxique est internalisé par endocytose, et ainsi, la liaison anticorps-molécule cytotoxique va être rompu par le biais de réactions chimiques ou enzymatiques, permettant ainsi induire la mort de la cellule^{181, 182} (Figure 67).

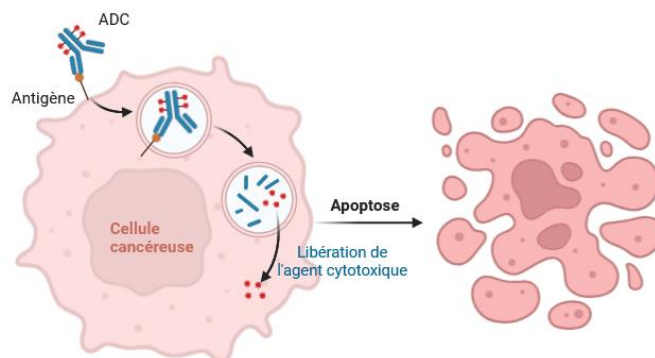


Figure 67. Fonctionnement général des ADC. Figure issue de Biorender.com

Concernant la conception de ces composés, trois paramètres clés sont à sélectionner, l'agent cytotoxique, le bras espaceur et l'anticorps. En effet, la grande majorité des agents cytotoxiques utilisés sont les auristatines et les maytansinoïdes, pour la simple et bonne raison que toutes les autres familles de composés comme les vinca-alcaloïdes ou anthracyclines ont échoué lors des tests cliniques. En effet, ces composés doivent avoir un fort potentiel cytotoxique ($IC_{50} < nM$), une bonne hydrophilie ainsi qu'être facilement modifiables chimiquement afin de pouvoir être couplés à l'anticorps. Le bras espaceur quant à lui, doit être suffisamment stable pour assurer le lien avec l'anticorps lors de circulation dans le sang jusqu'à l'arrivée aux cellules tumorales. Il peut être cité comme exemple, l'utilisation d'un lien thiosuccinimide avec les résidus cystéines. Néanmoins, le problème de ce dernier réside dans la possibilité de phénomènes d'échange de thiols, observés avec d'autres cystéines ou le glutathion induisant la libération précoce du médicament¹⁸¹ (Figure 68).

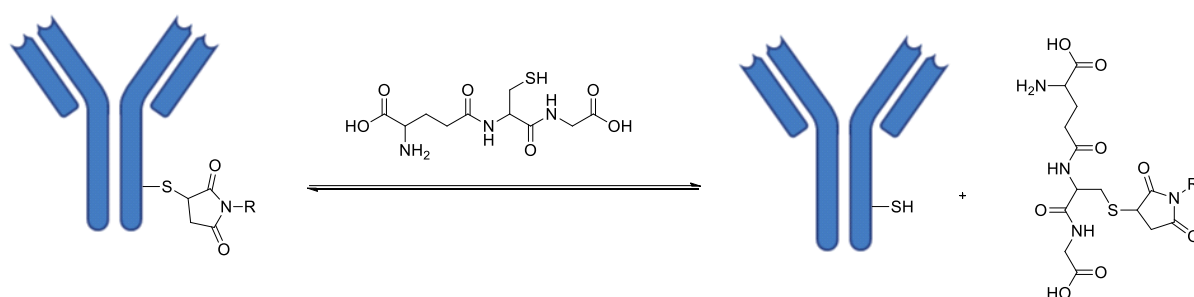


Figure 68. Échange de thiols entre un résidu cystéine et du glutathion.

L'autre point central concerne le choix de l'anticorps, et dans le cas des ADC, cela signifie le choix de l'antigène. En l'occurrence, un bon antigène signifie qu'il doit être exprimé ou surexprimé par les cellules cancéreuses en comparaison aux cellules saines. Une importante partie du développement des ADC a consisté et consiste encore à chercher ces antigènes, et à l'issue de ces travaux, certains ont été reconnus comme étant spécifiques des cellules tumorales. Nous pouvons citer par exemple le récepteur 5T4 surexprimé par les tumeurs solides¹⁸³, CD138 dans différents myélomes¹⁸⁴, ou encore HER2 pour le cancer du sein et qui est l'objet de ciblage de deux ADC mis sur le marché (Trastuzumab emtansine, Loncastuximab tesirine)¹⁸². Un deuxième point important est que l'antigène ciblé doit être présent à la surface de la cellule afin d'être accessible pour l'anticorps et surtout il doit être un antigène internalisant permettant ainsi d'introduire l'agent cytotoxique à l'intérieur de la cellule.¹⁸¹

Les premiers exemples de couplage covalent de molécules à des anticorps monoclonaux date de la fin des années 50 où G. Mathé coupla le méthotrexate avec un anticorps ciblant les cellules

leucémiques.¹⁸⁵ En 2000, la FDA approuva le premier ADC, le gemtuzumab ozogamicin développé par Wyeth (maintenant Pfizer) (Figure 69). Ce composé combine un anticorps anti-CD33 avec la calicheamicine pour le traitement de patients atteints d'une leucémie aigüe myéloïde. Cependant, après une étude complémentaire, ce composé n'a pas montré une réelle augmentation de la survie et surtout montrait une toxicité plus importante que la chimiothérapie seule, ce qui a entraîné son retrait du marché en 2010 (réapprouvé en 2017). Dans les années qui suivirent, neuf nouveaux ADC ont été approuvés par la FDA et l'AEM.¹⁸²

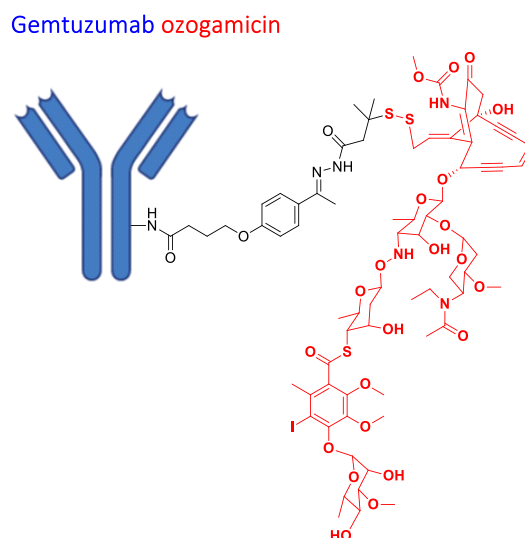


Figure 69. Structure du premier ADC approuvé par la FDA gemtuzumab ozogamicin.

Les ADC représentent une stratégie de traitement révolutionnaire dont l'engouement ne cesse d'augmenter, à la vue du nombre croissant d'essais cliniques impliquant ces composés mais également le nombre de composés approuvés ces 10 dernières années. Cependant, les ADC présentent certaines limitations : premièrement, la présence d'effets secondaires dus à la libération des agents cytotoxiques avant d'atteindre les cellules cibles. Le deuxième est la clairance trop importante de ces composés dû à leur hydrophobie causé par une sur-fonctionnalisation des anticorps. L'inconvénient majeur des ADC est leur tendance à s'agréger, causée par leur hydrophobie, entraînant des modifications structurales altérant ainsi la capacité de l'anticorps à reconnaître les antigènes diminuant donc drastiquement l'efficacité du médicament.¹⁸⁶

Afin de contourner ce problème d'agrégation et de diminution de la reconnaissance des récepteurs, il est donc nécessaire de diminuer le taux de fonctionnalisation des anticorps, ou de changer de stratégie en exploitant des vecteurs plus petits avec une fonctionnalisation contrôlée.

C'est pourquoi le dernier point traitera des carbohydrates comme vecteurs et expliquera pourquoi nous les avons sélectionnés pour la conception de CORMs glycoconjugués.

4.1.6 Ciblage *via* les carbohydrates

Les carbohydrates sont des molécules organiques essentielles pour le vivant contenant un groupement carbonyle (aldéhyde ou cétone (aldose et cétose)) et au moins deux groupements hydroxyyles et ont pour formule générale $C_nH_{2n}O_n$ avec $n \geq 3$. Ils sont présents sous la forme de monomères, dimères, oligomères et polymères appelés respectivement monosaccharides (glucose, galactose), disaccharides (lactose, maltose), oligosaccharides (cyclodextrine) et polysaccharides (cellulose) (Figure 70 a b).). Ils ont des rôles clés dans plusieurs processus cellulaires tels que la reconnaissance ou la signalisation cellulaire. De plus, ces composés entrent dans la composition de l'ADN et l'ARN et sont l'une des premières sources d'énergie dans l'organisme à travers la glycolyse¹⁸⁷ (Figure 70 c)).

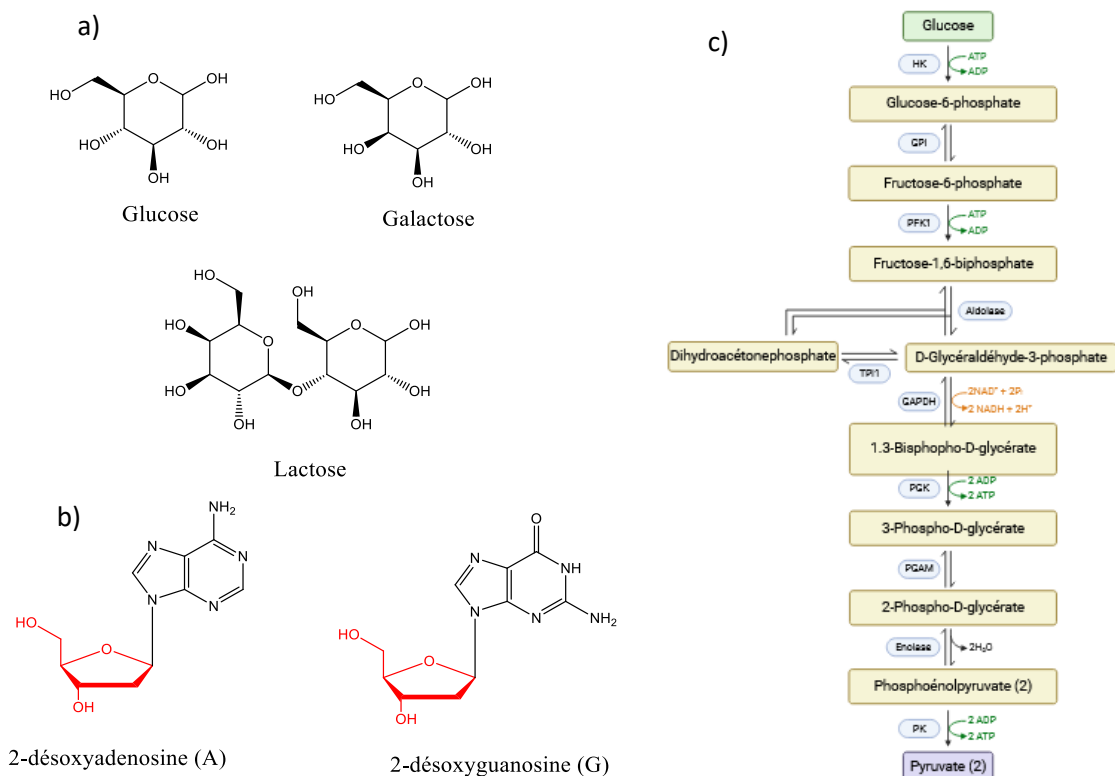
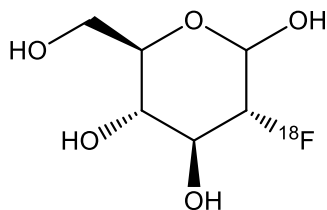


Figure 70. a) Structure des molécules de glucose, galactose et lactose. b) Structure des nucléosides 2-désoxyadénosine et 2-désoxyguanosine qui composent l'ADN avec en rouge l'unité osidique 2-désoxyribose ; c) Schéma de la glycolyse représentant la dégradation du glucose en pyruvate. Figure issue de Biorender.com.

4.1.6.1 Ciblage des GLUTs

Une caractéristique importante des cellules cancéreuses est leur tendance à surexprimer les récepteurs à glucose (GLUT) en comparaison aux cellules saines. La famille des GLUT est composée de treize protéines transmembranaires nommées GLUT 1 à 13. Cette famille peut être divisée en trois classes, la classe I connue sous le nom de transporteurs à glucose correspondant aux récepteurs GLUT 1 à 4, la classe II représentant les récepteurs à fructose correspondant aux GLUT 5, 7, 9 et 11 et la classe III correspondant aux GLUT 6, 8, 10, 12 et 13. Le rôle des GLUTs est de faciliter l'internalisation du glucose et dérivés afin d'être métabolisés par les cellules. Les organes exprimant la majorité des GLUTs sont le foie, la rate et le cerveau.¹⁸⁸

Dans les années 20, Otto Warburg observa que les cellules cancéreuses utilisaient la glycolyse comme source principale d'énergie au lieu du processus habituel passant par les mitochondries. Cependant la production d'ATP par la glycolyse est bien plus faible (2 molécules d'ATP par molécule de glucose) en comparaison du processus aérobique classique (38 molécules d'ATP par molécule de glucose). Pour ce faire, les cellules cancéreuses vont donc métaboliser une quantité bien plus importante de glucose en surexprimant les récepteurs GLUTs et en particulier le récepteur GLUT1, à leur surface. Ce phénomène porte le nom d'effet Warburg. C'est donc naturellement que beaucoup de scientifiques ont tenté d'exploiter ce phénomène, dans le cadre de la thérapie anticancéreuse comme moyen de cibler spécifiquement les cellules tumorales.¹⁸⁹⁻¹⁹¹ Un des tournants dans le développement de tels composés a été la conception de glucose radiomarqué au fluor 18, le 2-désoxy-2-(¹⁸F) fluoro-D-glucose (¹⁸F-FDG) (Figure 71), qui est un agent d'imagerie pour le diagnostic et l'observation de l'évolution du cancer par le biais de la technique de tomographie par émission de positrons (PET).^{178, 192}



2-désoxy-2-(¹⁸F)fluoro-D-glucose

Figure 71. Structure du ¹⁸F-FDG.

L'effet Warburg a également ouvert la porte à une nouvelle génération d'agents de thérapie ciblée. C'est en 1995 que Wiessler et collaborateurs ont synthétisé le glufosfamide, la version

glycoconjuguée de l'ifosfamide qui est un anticancéreux agissant comme agent alkylant (Figure 72). Le glufosfamide a montré une toxicité environ quatre fois moins élevée que l'ifosfamide et une meilleure sélectivité sur des modèles de rats sains.¹⁹³ Sur cette base, le premier essai clinique de phase I a été entrepris deux ans plus tard en Europe sur vingt patients présentant divers cancers. Les résultats de l'étude ont été très encourageants surtout dus à la rémission d'un patient présentant un cancer du pancréas après quatre années de traitement. Dans les années qui ont suivi, plusieurs essais cliniques ont été entrepris aux Etats-Unis et au Japon.¹⁹⁴

195

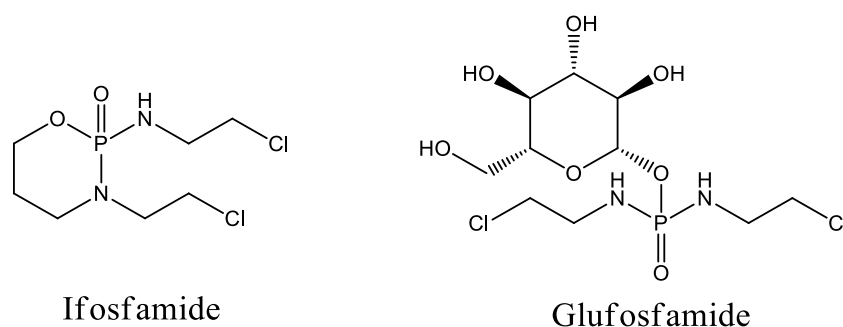


Figure 72. Structures de l'ifosfamidine et du glufosfamidine.

Dans les années qui suivirent, beaucoup d'autres anticancéreux tels que le paclitaxel, le docétaxel et d'autres agents alkylants ont été glycoconjugués et ont globalement tous montré de meilleures activités sur lignées cellulaires comparé à leurs versions non-glycoconjuguées. Une autre étude intéressante faite par S.J Lippard et collaborateurs a présenté des dérivés glycoconjugués de l'oxaliplatine. Dans cette étude le motif glucose est fonctionnalisé en différentes positions (Figure 73), et l'efficacité de chacun des analogues a ainsi été testée sur les lignées cancéreuses DU145 (cancer de la prostate), A2780 (cancer de l'ovaire), SKOV3 (cancer de l'ovaire) et A549 (cancer du poumon). Dans cette étude, S.J. Lippard conclut que la position fonctionnalisée présentant la meilleure activité est sur le C2, augmentant drastiquement l'internalisation en comparaison à l'oxaliplatine sur cellules et sur modèle de souris *in vivo*.¹⁹⁵

196

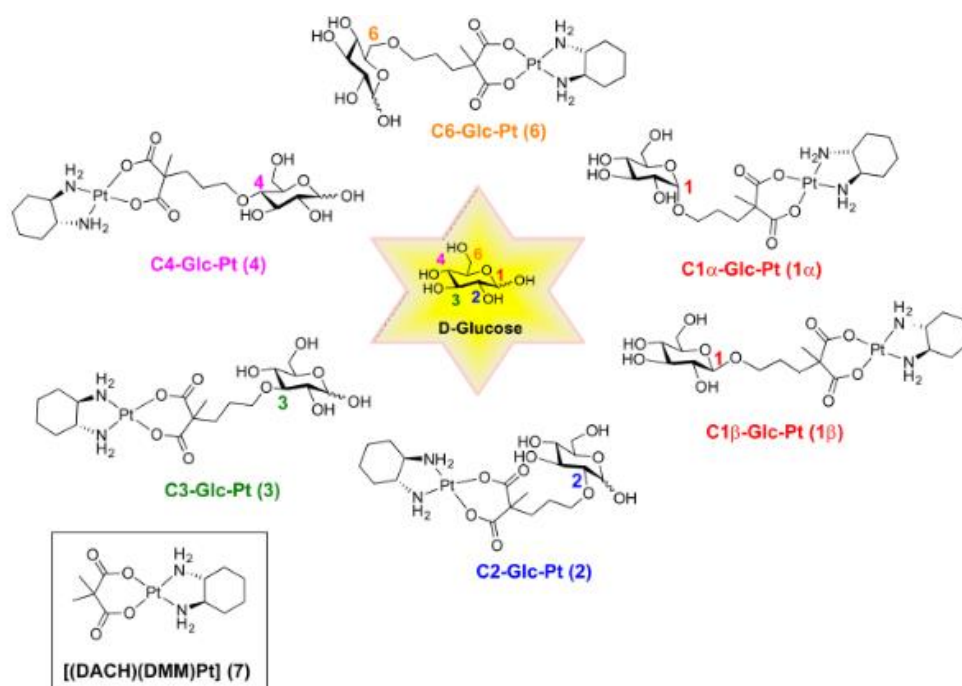


Figure 73. Structures des différents composés dérivés de l'oxalipatine synthétisés et testés par S.J. Lippard. Figure issue de la référence 196.

Dans ce point, nous avons pu voir que la thérapie ciblée par l'utilisation de glucose est une stratégie très prometteuse, et qui mérite d'être étudiée encore plus en profondeur. En effet, les études effectuées sur les anticancéreux modifiés, les analogues glycoconjugués correspondants ont présenté des activités anticancéreuses similaires mais surtout, une meilleure sélectivité. Cela représente la raison qui nous a conduit à choisir cette stratégie pour le développement des glycoCORMs. Cependant, afin d'exploiter tout le champ du possible pour le cancer du foie, nous avons également choisi d'étudier les récepteurs aux ASGP qui sont exclusivement exprimés à la surface des cellules de foie. Le point suivant les décrira brièvement.

4.1.6.2 Ciblage des récepteurs ASGP

Le récepteur aux asialoglycoprotéines (ASGP-R) aussi connu sous le nom du récepteur d'Ashwell-Morell est la première lectine animale découverte et identifiée, par G. Ashwell et A. Morell en 1974¹⁹⁷. Les lectines sont des protéines présentes chez l'animal et les plantes, se liant sélectivement et de manière réversible aux carbohydrates par leur domaine de reconnaissance. Les lectines ont des rôles importants dans divers processus biologiques comme dans l'immunité *via* la reconnaissance de motifs osidiques présents dans certains virus ou bactéries, dans la régulation de l'adhésion cellulaire ou encore dans la synthèse de glycoprotéines. Il existe différentes classes de lectines classées selon la structure de leur domaine de reconnaissance et

ainsi les différents sucres qu'elles reconnaissent. Parmi ces classes, peuvent être citées les lectines de type C (« calcium dépendant ») dont font partie les récepteurs ASGP.¹⁹⁸

Les récepteurs ASGP sont exprimés majoritairement à la surface des hépatocytes, et ce, même si une très faible quantité a pu être détectée sur certaines cellules extra-hépatiques telles que les cellules épithéliales de l'intestin ou encore les monocytes, la quantité de récepteurs ASGP à la surface des hépatocytes est largement supérieure, à hauteur de 500000 récepteurs ASGP par hépatocyte contre une centaine sur les autres types cellulaires.¹⁹⁹ Chez l'homme, ce récepteur est composé de deux sous unités nommées H1 et H2 de masses respectives 46 et 50kDa. Les ASGP-R sont des hétéro-oligomères composés de deux sous-unités H1 et une sous -unité H2. Le domaine de reconnaissance des carbohydrates (DRC) des ASGPR appartient à la famille des lectines de type-C, c'est-à-dire qu'elles sont dépendantes du calcium (Figure 74).^{199, 200}

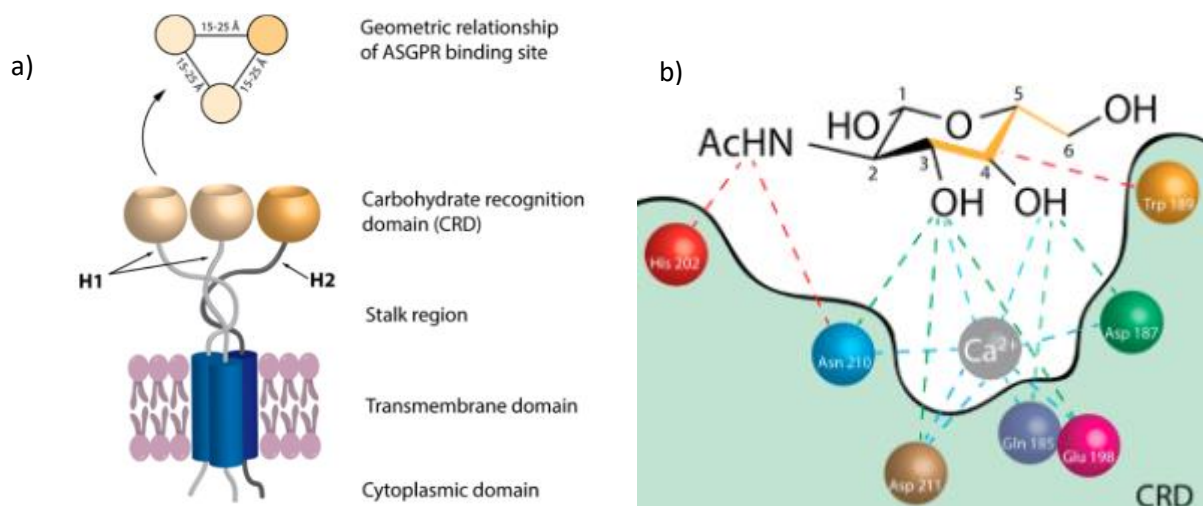


Figure 74. a) Structure simplifiée de l'ASGPR. b) Interaction dépendante du calcium d'une molécule de GalNAc. Figures issues de la référence 200.

L'ASGP-R est également connu sous le nom de récepteur au galactose, car en effet, il présente une très forte affinité pour les motifs galactose et *N*-acétylgalactosamine (GalNAc) avec des K_D respectifs d'environ 100 et 10 μ M. Les ligands naturels de ces récepteurs sont les asialoglycoprotéines, c'est-à-dire des glycoprotéines dont l'acide sialique terminal a été retiré laissant comme sucre libre une unité galactose qui sera reconnue par l'ASGP-R. Nous pouvons citer comme exemple d'ASGP l'asialoorosomocoïde (ASOR) ou encore l'asialofétuine. Après reconnaissance du sucre, l'internalisation s'effectue avec une cinétique très rapide, avec un temps de demi-vie d'environ 3 min par un processus d'endocytose médiée par les protéines clathrines.¹⁹⁹

Cette affinité des ASGP-R pour les dérivés galactose et GalNAc a motivé le développement d'un grand nombre de composés à visée thérapeutique ciblant les hépatocytes. Nous pouvons citer par exemple les travaux de D. Deniaud et collaborateurs dans le cadre de la vectorisation de virus adénoassociés par le biais de motif *N*-acétylgalactosamine en thérapie génique²⁰¹ ou encore ceux de S.K. Wang et collaborateurs, où des nanoparticules lipidiques ont été fonctionnalisées avec des galactoses afin de délivrer des siRNA dans des modèles cellulaires de cancer du foie (Hep3B, HCA-1). Dans cette étude, une augmentation de l'internalisation ainsi que l'activité antitumorale sont observées dans le cas des composés fonctionnalisés²⁰². Ces quelques exemples montrent le potentiel de cette stratégie pour la vectorisation aux hépatocytes. Toutefois, cette affinité peut être améliorée par le biais de plateformes multivalentes. En effet, les récepteurs ASGP étant trimériques, ils vont privilégier les interactions avec les ligands multivalents, on parle d'ici d'effet cluster.²⁰³ Cet effet possède une influence significative, et se voit particulièrement à travers la constante de dissociation K_D . En effet, pour un motif monovalent il présente une valeur de l'ordre du micromolaire voir de la centaine de micromolaires tandis que, pour les motifs trivalents elle est de l'ordre du nanomolaire. Cette stratégie de multivalence a été largement développée ces dernières années et a présenté de très bons résultats. En effet, nous pouvons citer les travaux de C.-C. Lin et collaborateurs, dans lesquels ils ont conçu des nanoparticules de silice fluorescente fonctionnalisées avec un motif trivalent composé de trois unités galactose et une partie thérapeutique avec le greffage de paclitaxel (Figure 75). Les études d'internalisation et de toxicité ont été effectuées sur des cellules HepG2, et elles ont permis de conclure que ces deux paramètres sont améliorés dans le cas des nanoparticules portant les vecteurs.²⁰⁴

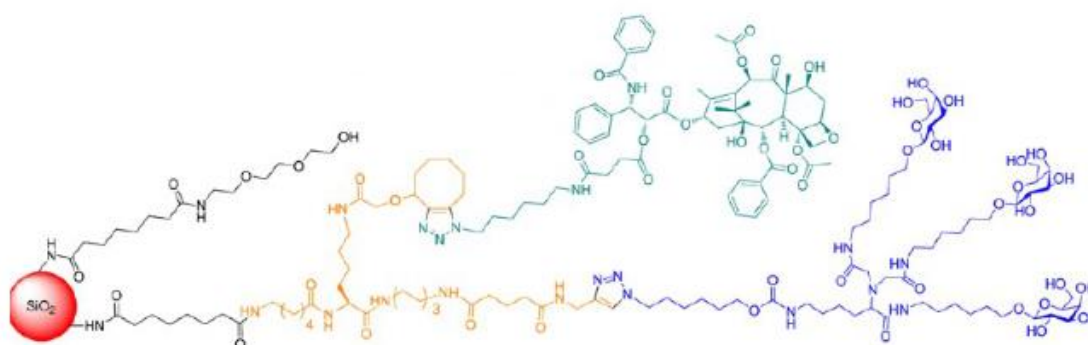


Figure 75. Structure du composé développé par C.-C. Lin avec en bleu la plateforme multivalente et en vert le paclitaxel. Figure issue de la référence 204.

En 2018, J.A. Doudna et collaborateurs ont présenté la fonctionnalisation de l'endonucléase CRISPR-Cas9 par une plateforme trivalente de dérivés GalNAc modifiés pour une vectorisation

aux cellules HepG2. De façon similaire à l'étude de C-C Lin, ils concluent que l'internalisation est largement améliorée pour ces composés dans les cellules HepG2 par rapport aux cellules skHep qui expriment très peu les récepteurs ASGP, confirmant de la même manière que le processus d'internalisation s'effectue par le biais de ces récepteurs.²⁰⁵ Ces deux exemples ne représentent qu'une infime partie des travaux effectués autour du développement de ces plateformes, cependant, un des événements marquants a été l'approbation du Givlaari (givosiran) par la FDA en 2019 et l'AEM en 2020 pour le traitement de la porphyrie hépatique. Ce composé est un siRNA fonctionnalisé avec une plateforme trivalente composée d'unités GalNAc, et il a permis de prouver l'intérêt et l'efficacité de la méthode pour la thérapie ciblée.²⁰⁶

Ces études ont largement motivé notre intérêt sur l'utilisation de tels motifs pour le développement des glycoCORMs. La synthèse et l'étude de ces composés constituera les points suivants.

4.2 Synthèse des glycoCORMs

4.2.1 Les premiers glycoCORMs

Les premiers glycoCORMs ont été rapportés en 2018 par D. He et collaborateurs dans le cadre du ciblage des ASGPRs. Pour cela, ils ont présenté la synthèse et l'évaluation biologique de complexes de cobalt glycoconjugués à des fins de thérapie anticancéreuse.²⁰⁷ Dans cette étude, ils ont montré que les complexes portant des motifs galactose et GalNAc présentent une toxicité plus importante contre la lignée cancéreuse du foie HepG2 (respectivement IC_{50} de 5,7 μ M et 7,7 μ M) en comparaison aux autres lignées testées (poumon A549, sein MCF-7, colon HT-29 et col de l'utérus HeLa) où les IC_{50} sont doublées voir triplées. Cependant, même si la toxicité observée est prometteuse, l'implication du CO dans celle-ci n'est pas clairement exposée et l'effet CORM de ces complexes semble limité. En effet, ces complexes libèrent du CO par échange de ligand, et afin de vérifier cela, des tests à la myoglobine ont été effectués. Même si effectivement des changements sont observés sur le profil spectral au niveau de la bande Q, les bandes de la MbCO observées sont très peu intenses, suggérant une très faible conversion de la myoglobine en MbCO (Figure 76).

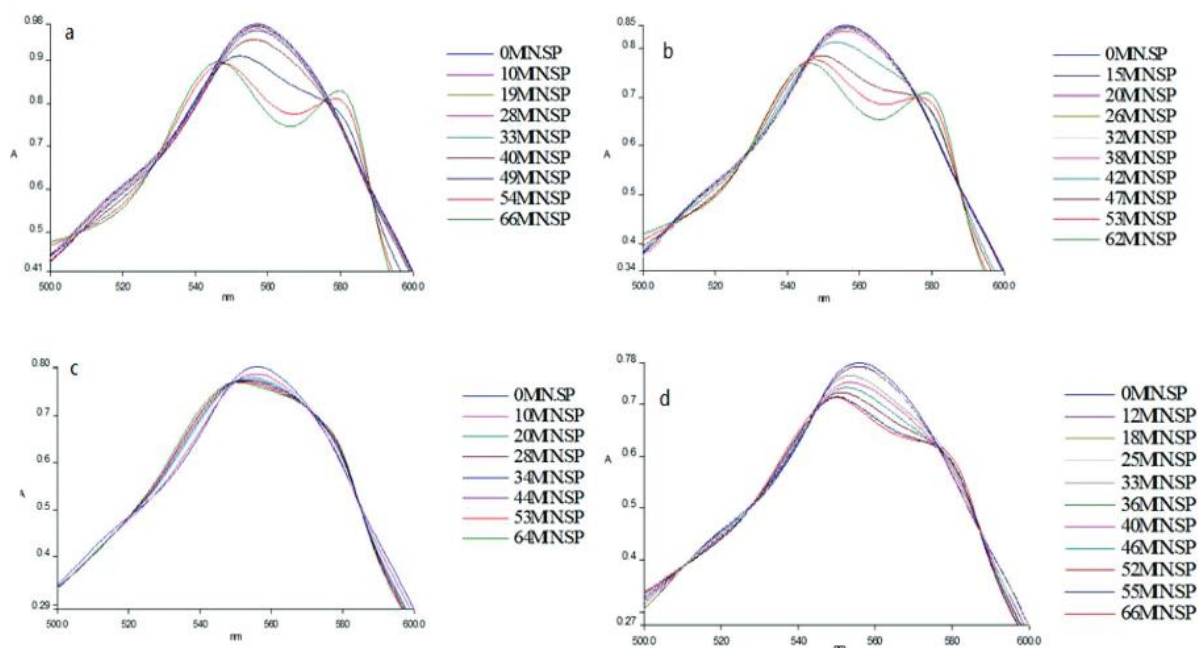
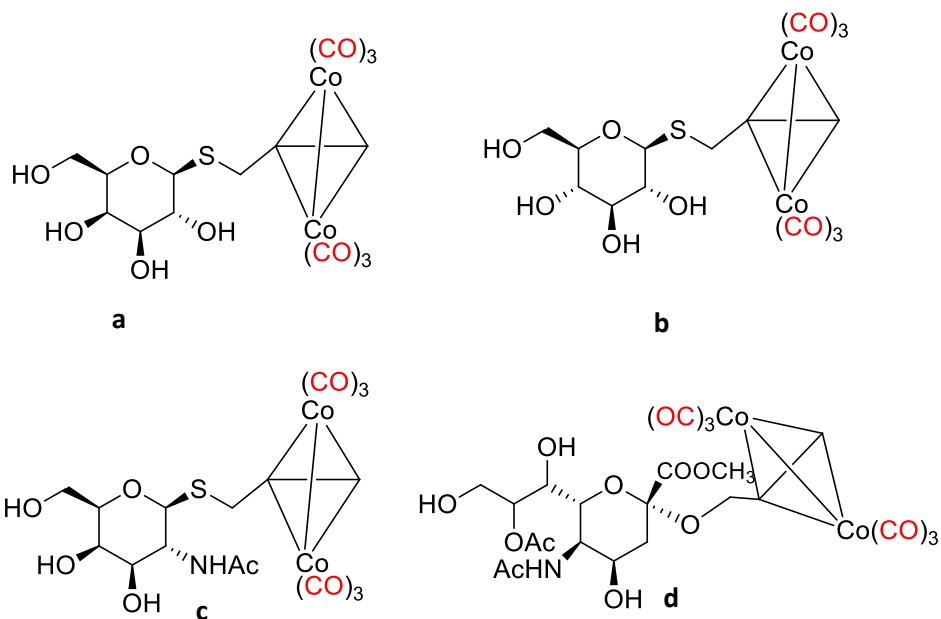


Figure 76. Structures des CORMs glycoconjugués développés par D. He et collaborateurs avec les tests à la myoglobine correspondants²⁰⁷. Spectres issus de la référence 207.

Le terme « glycoCORMs » a été introduit pour la première fois en 2023 par R. Motterlini et collaborateurs dans le cadre du développement d'un complexe de manganèse glycoconjugué pour le traitement contre l'obésité. En effet, dans une de leurs précédentes études, leur complexe CORM-401 avait présenté promouvoir la perte de poids sur un modèle de souris obèses.²⁰⁸ Et afin d'améliorer cet effet, ils ont décidé de combiner l'effet du CORM-401 avec la capacité du dextrane (polysaccharide de glucose, 40 à 70 kDa) à cibler les tissus adipeux (Figure 77).²⁰⁹

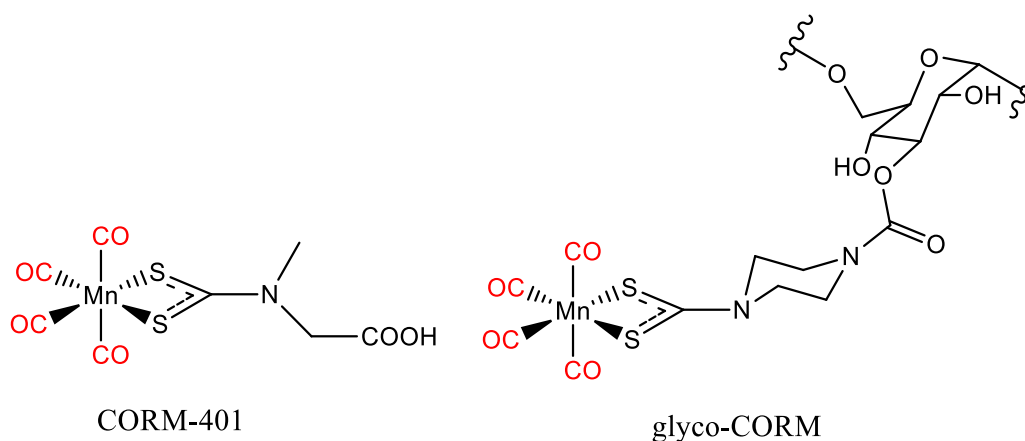


Figure 77. Structure de CORM-401 et du glyco-CORM.

Dans cette étude, ils ont retrouvé la même activité que celle du CORM-401 sur la perte de poids, néanmoins, aucune sélectivité particulière n'a été observée pour les tissus adipeux, en effet, une accumulation massive est constatée dans des organes comme le foie ou la rate.

Ces deux études représentent la toute première description de CORMs glycoconjugués montrant ainsi la faisabilité dans la conception de tels composés²¹⁰, et encourageant la conception de nouvelles molécules dans l'optique d'améliorer l'indice thérapeutique.

4.2.2 Synthèse des ligands

Sur la base des études exposées dans les points précédents, nous avons sélectionné le glucose, le galactose et le GalNAc, mais en plus, le 2-désoxyglucose a été ajouté à la liste. En effet, le 2-désoxyglucose est une molécule proche structurellement du glucose, à l'exception qu'elle ne présente pas de groupement alcool sur le carbone 2. De par sa similitude de structure avec le glucose, le 2-DG est ainsi capable d'être internalisé par les récepteurs GLUT cependant la modification en position C2 permet au 2-DG d'être un inhibiteur de la glycolyse et à montrer une activité anticancéreuse.²¹¹

La stratégie de formation du glycoCORM s'effectue en deux temps, formation du ligand suivie de la complexation. Afin de conserver l'utilisation de la synthèse développée dans le chapitre 2, le ligand doit être composé d'une partie imidazole conjuguée avec l'unité osidique. Pour ce faire, la première tentative a été d'effectuer une réaction de glycosylation entre le glucose peracétylé (glu-perOAc) et le *N*-hydroxyéthylimidazole. Ainsi, le glu-perOAc est engagé avec 1.5 équivalents de *N*-hydroxyéthylimidazole en présence de 1.5 équivalents de diéthyléthérate de trifluorure de bore (BF₃.Et₂O) dans du DCM. Cependant, dans ces conditions, le composé

souhaité n'a pas pu être obtenu. Le nombre d'équivalents de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ a alors été augmenté jusqu'à 7 équivalents, mais malgré cela, aucune réaction n'est observée et le sucre de départ est récupéré (Schéma 22).

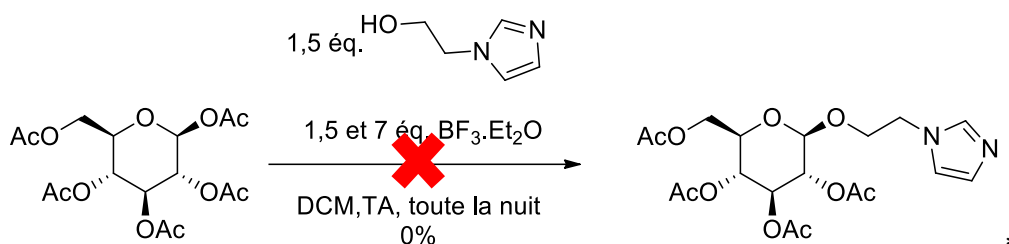


Schéma 22. Première tentative de glycosylation entre le *N*-hydroxyéthylimidazole et le glu-perOAc.

La raison supposée de l'échec de cette réaction, est due à la partie imidazole qui est susceptible de réduire la nucléophilie de l'hydroxyle par le biais de liaisons hydrogène. Pour contourner cela, la réaction a été envisagée en deux temps.²¹² Premièrement, la glycosylation est réalisée en présence de 1,5 équivalents de 2-bromoéthanol et 3 équivalents de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, et permet l'obtention du glycoside **17** correspondant avec un rendement de 53 %. Ensuite, une réaction de substitution nucléophile a été tentée. Pour cela, le composé **17** est mis en réaction avec de 2 équivalents d'imidazole, 1,5 équivalents de carbonate de potassium ainsi que 0,5 équivalent d'iodure de potassium. La réaction a été réalisée dans l'acétone au reflux cependant, les sels n'étant pas capables de se dissoudre la réaction n'a pas fonctionné. Afin de favoriser la solubilité, l'acétone a été remplacée par du DMF, mais malgré ça, seul **17** est récupéré (Schéma 23).

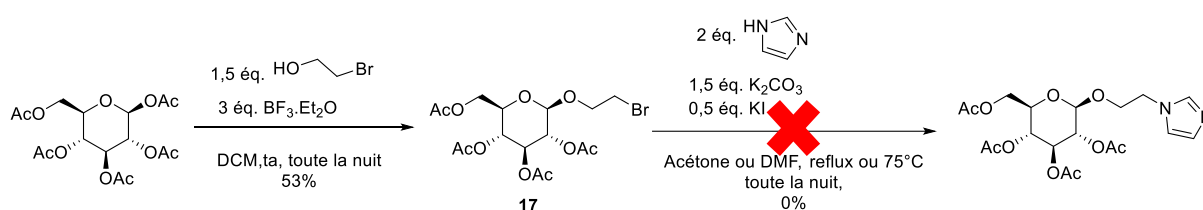


Schéma 23. Tentative d'obtention du ligand glycosidique en deux temps, avec dans un premier temps la glycosylation avec le 2-bromoéthanol suivi d'une substitution nucléophile du brome par l'imidazole.

L'absence complète de substitution peut s'expliquer par le caractère faiblement basique du K_2CO_3 ($\text{pK}_a = 10,3$). De ce fait une autre tentative a été réalisée en utilisant comme base l'hydrure de sodium ($\text{pK}_a = 35$). Cependant comme précédemment, le composé souhaité n'a pu être obtenu. Comme alternative, il a donc été envisagé d'effectuer la substitution directement sur le carbohydate.²¹³ Pour ce faire, une réaction de type Koenigs-Knorr est effectuée. Pour

cela, le glu-perOAc est mis en réaction avec 5 équivalents d'acide bromhydrique dans du DCM. Le bromoglycoside **18** correspondant est ainsi obtenu avec un rendement quantitatif, puis engagé directement en réaction avec 1 équivalent d'imidazole en présence de 1,5 équivalents de NaH dans du 1,4-dioxane. Cependant, le composé souhaité n'est pas récupéré, et ce même lorsque le dioxane est remplacé par du DCM et aucune conversion n'est observée (Schéma 24).

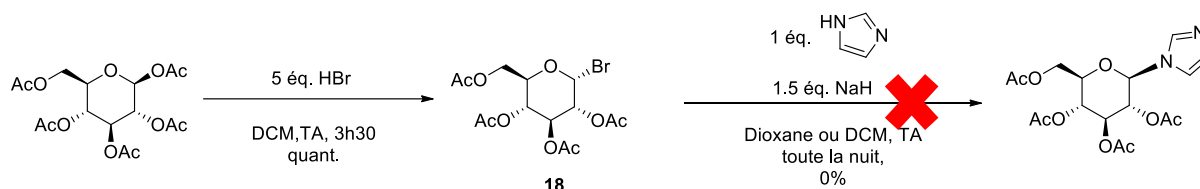


Schéma 24. Synthèse du ligand à partir du dérivé bromé **18** par une réaction de type Koenigs-Knorr.

Suite à ces échecs, il a donc été décidé de changer la stratégie de formation de ces ligands. En effet, que ce soit en condition acide ou basique, le couplage sucre / imidazole n'a jamais porté ses fruits, c'est pourquoi, sur la base des travaux d'A. Dondoni, il a été décidé de passer par la voie radicalaire. A. Dondoni a rapporté la synthèse d'oligosaccharides entre un alcène et un thioglycoside par couplage thiol-ène avec d'excellents rendements.²¹⁴ En effet la réaction thiol-ène consiste dans un premier temps à effectuer une étape d'initiation permettant la formation d'un radical thiyle par le biais d'un initiateur radicalaire tels de le 2,2-diméthoxy-2-phényl-acétophénone (DPAP) par exemple. S'en suit l'étape de propagation, avec une addition anti-Markovnikov sur un dérivé alcène formant un nouveau radical sur le carbone central qui va ensuite abstraire l'hydrogène du thiol régénérant ainsi le radical thiyle, permettant ainsi de répéter le processus, jusqu'à consommation complète du thiol (Schéma 25).

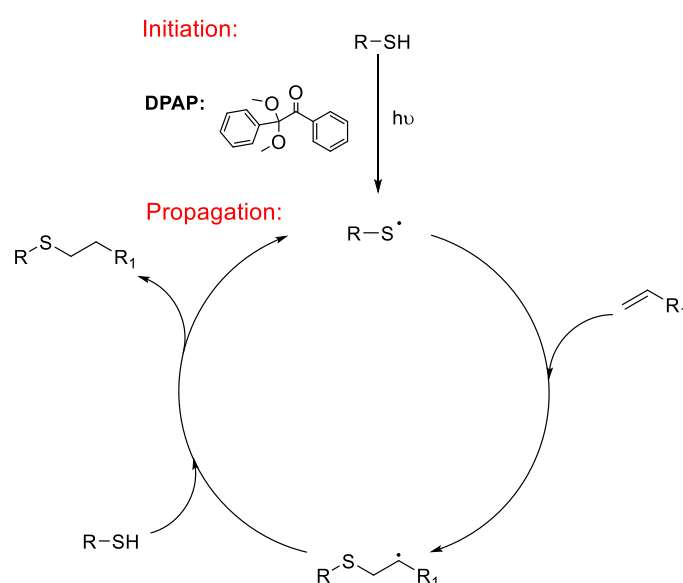


Schéma 25. Mécanisme général de la réaction thiol-ène par initiation radicalaire avec le DPAP

La première étape consiste en la formation du thioglycoside. Pour cette synthèse, le premier protocole exploité a été celui de F.M. Ibatullin.²¹⁵ Pour ce faire, le bromoglucose **18** est mis en réaction avec 1,1 équivalent de thiourée afin de former le sel de thiouronium intermédiaire correspondant. Ensuite, le thiouronium est mis en réaction avec la TEA pour former le thiol correspondant, cependant dans ces conditions, le composé souhaité n'a jamais pu être obtenu et le thiouronium est récupéré (Schéma 26).

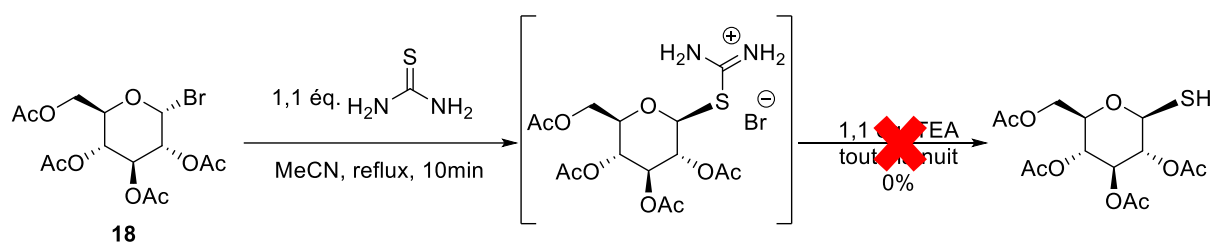


Schéma 26. Tentative de synthèse du thioglycoside par la méthode de F.M. Ibatullin.

Comme alternative, une autre méthode de synthèse de thioglycosides publiée par S. Messaoudi et M. Alami a été entreprise.²¹⁶ De façon similaire à la méthode précédente, la séquence réactionnelle est initiée par la synthèse d'un intermédiaire thiouronium. Le thiouronium est ici réduit en présence d'un léger excès de métabisulfite de sodium dans un mélange biphasique DCM/H₂O (2/1) permettant l'obtention du thioglycoside **25** avec un rendement de 66%. Cette méthode a été appliquée à la formation des thioglycosides **23** (2-DG), **24** (Gal) et **25** (GalNAc), la plupart ont été obtenus avec de bons rendements, sauf le dérivé 2-DG **23**. En effet, le 1-bromo-2-désoxyglucose est extrêmement réactif et se décompose très rapidement au contact de l'air, de ce fait, le composé **23** n'a pu être obtenu qu'avec un rendement de 22% sous forme d'un mélange d'anomères α/β (1/1) (Schéma 27).

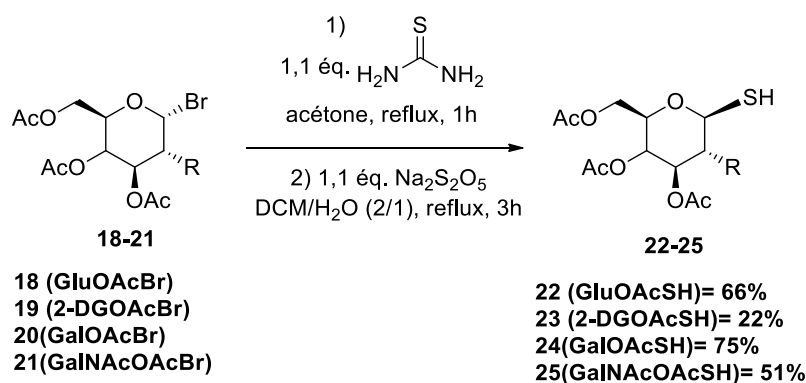


Schéma 27. Synthèse des thioglycosides **22-25** via la méthode développée par S. Messaoudi.

Afin d'obtenir les sucres déprotégés, une méthanolyse de Zemplén a été tentée selon de protocole de S. Messaoudi. Étonnamment, cette méthode n'a jamais fonctionné, le méthanolate de sodium a donc été remplacé par la soude mais sans succès. Les sucres peracétylés ont donc

été engagés dans la réaction de thiol-ène selon les conditions développées par A. Dondoni.²¹⁴ Le composé **22** est mis en solution dans le DCM en présence de 0,7 équivalent d'*N*-allylimidazole et 0,1 équivalent de DPAP comme amorceur radicalaire. La réaction est effectuée sous irradiation à l'aide d'un photoréacteur de type Rayonet à 365 nm pendant 30 min, et le produit de thiol-ène **26** est ainsi récupéré avec un rendement de 95%. Grâce à cette méthode, tous les dérivés ont pu être obtenus avec d'excellents rendements. Afin d'obtenir les composés déprotégés, une méthanolyse de Zemplen a été effectuée, et les dérivés déprotégés ont ainsi été obtenus avec de très bons rendements (Schéma 28).

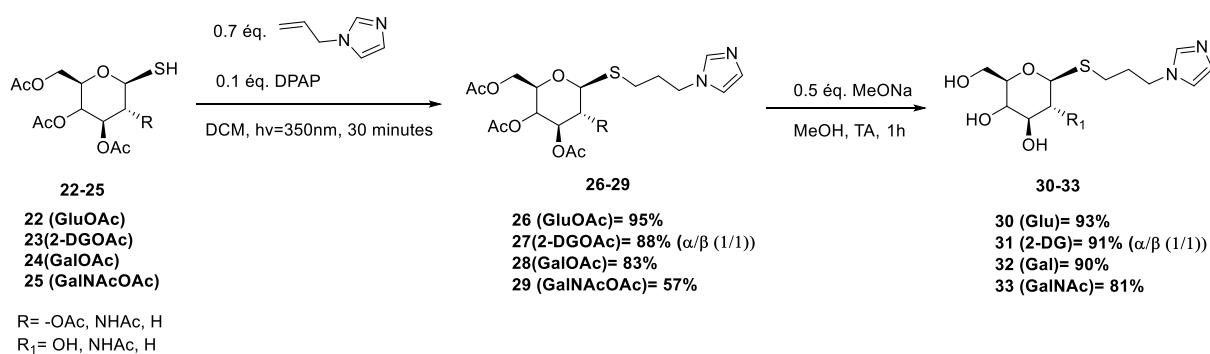


Schéma 28. Synthèse des ligands protégés et déprotégés par thiol-ène et méthanolyse.

Dans ce point, la synthèse et l'optimisation des ligands imidazoles glycoconjugués ont été présentées, ces ligands ont pu être obtenus avec de bons rendements. Les étapes suivantes vont donc consister en la formation des glycoCORMs correspondants à partir du dimère **1**.

4.2.3 Complexation et obtention des glycoCORMs

Concernant la synthèse des glycoCORMs, la stratégie consiste en l'application simple du protocole présenté dans le chapitre 2. Cependant, le choix a été de concevoir deux séries de glycoCORMs : une série avec les sucres protégés et une avec les sucres déprotégés. L'intérêt pour les sucres protégés est basé sur les travaux de J.C. Paulson et collaborateurs, où ils ont présenté le fait que les carbohydrates protégés passaient les membranes par diffusion passive, mais qu'une fois internalisés, les estérases intracellulaires vont déprotéger les fonctions hydroxyles séquestrant ainsi les sucres à l'intérieur de la cellule (Figure 78).²¹⁷

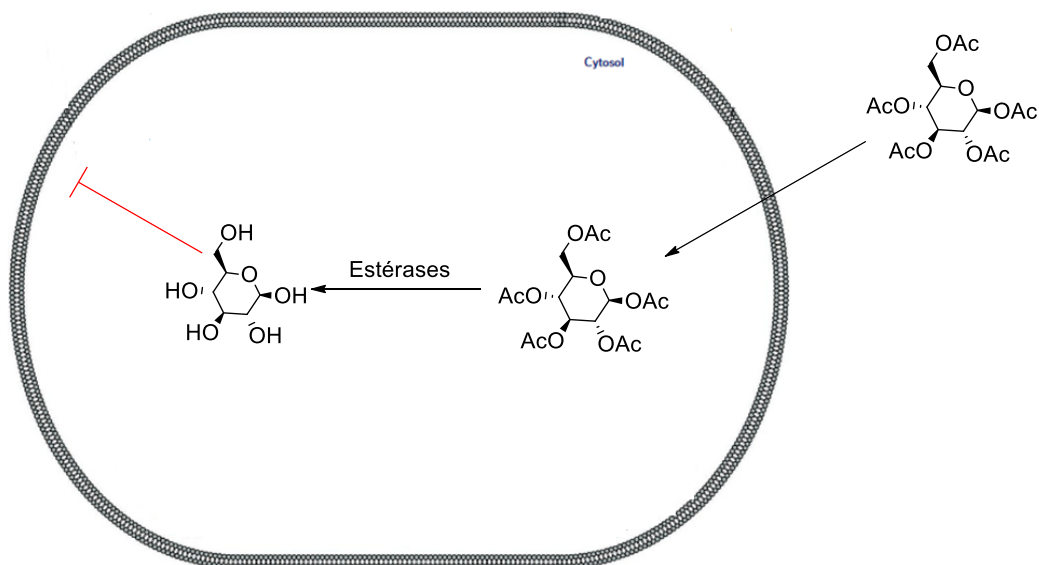


Figure 78. Représentation simplifiée de la diffusion passive des sucres protégés, suivie de leur séquestration après clivage des fonctions acétate.²¹⁷

De ce fait, pour la synthèse des glycoCORMs protégés, le dimère **1** réagit donc avec 2 équivalents de ligands protégés dans du THF. Ainsi, les glycoCORMs protégés **34-37** ont pu être obtenus avec d'excellents rendements (Schéma 20). Il est important de souligner que les carbohydrates sont des molécules possédant des centres stéréogènes, le produit de réaction est donc obtenu sous la forme d'un mélange de diastéréoisomères, ce qui est confirmé en RMN du proton avec un dédoublement des signaux. Néanmoins, les stéréoisomères n'ont pas pu être séparés.

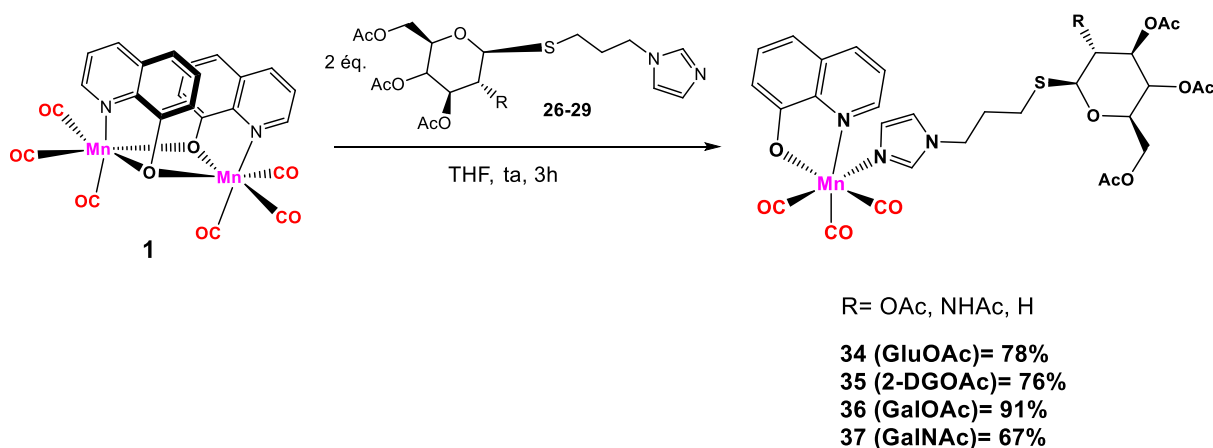


Schéma 29. Synthèse des glycoCORMs **34-37** protégés à partir des ligands protégés.

Afin d'obtenir les glycoCORMs déprotégés, le même protocole a été appliqué. Cependant les complexes correspondants n'ont pas pu être formés. L'hypothèse de cette absence de réactivité a été expliquée par la très faible solubilité des ligands déprotégés dans le THF. Afin, de contourner ce problème, la réaction a été effectuée dans d'autres solvants tels que l'acétonitrile

ou le DMF. Malgré ça, la réaction n'évolue pas et le dimère **1** est récupéré et ce, même après des temps de réaction de plus de 24 h (Schéma 30).

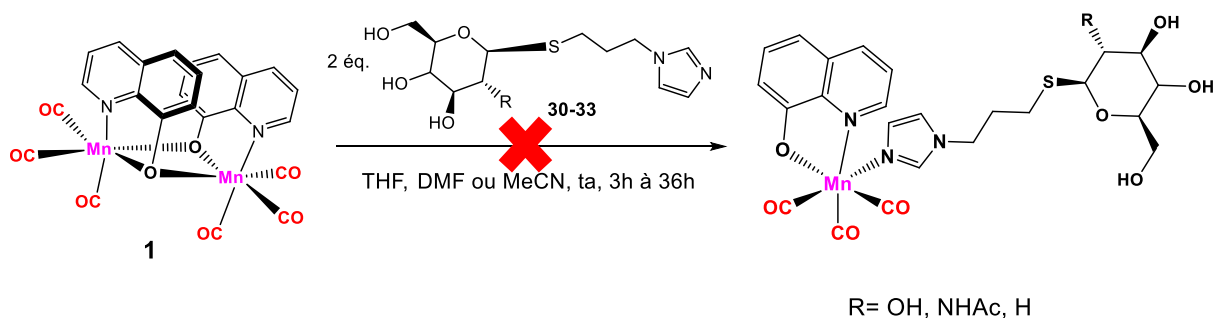


Schéma 30. Tentative de synthèse des glycoCORMs à partir des ligands déprotégés.

A partir de ces résultats, nous avons conclu que la formation des glycoCORMs déprotégés à partir des ligands correspondants ne fonctionne pas. Une hypothèse serait une diminution de la nucléophilie du noyau imidazole à cause de potentielles liaisons hydrogènes avec les hydroxyles portés par la partie osidique. De ce fait, la stratégie a été modifiée et nous avons choisi de déprotéger les sucres directement après la formation des glycoCORMs. Pour ce faire, une méthanolyse de Zemplén a donc été effectuée mais malheureusement, ces conditions se sont révélées inappropriées. La RMN du proton a montré que même si les signaux de la 8-HQ restent présent, le sucre semble dégradé et les acétates sont toujours présents, indiquant que la réaction souhaitée n'a pas eu lieu (Schéma 31).

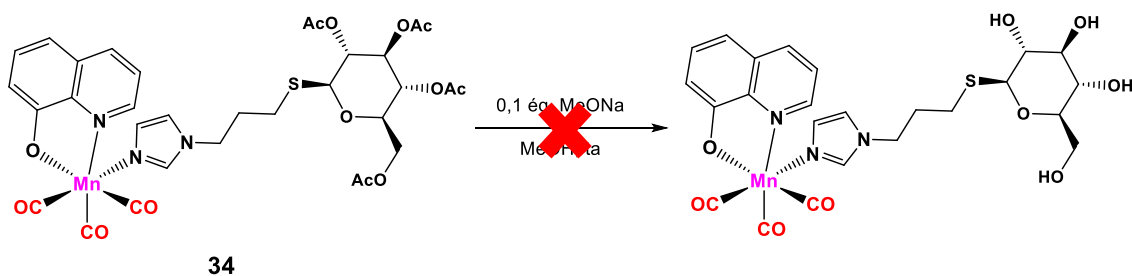


Schéma 31. Tentative de synthèse des glycoCORMs déprotégés par méthanolyse sur **34**.

La déprotection des acétates par solvolèse étant une méthode qui théoriquement fonctionne bien, il a été nécessaire de rendre les conditions plus « douces ». En effet, le méthanolate a ainsi été remplacé par la soude (NaOH). Ainsi, le composé **34** est dissous en présence de 1 équivalent de NaOH dans du méthanol et le milieu est maintenu sous agitation pendant 30 min à température ambiante. Grâce à cette méthode, le glycoCORM déprotégé **38** a pu être formé et isolé avec un rendement de 63%. Ce même protocole a été appliqué pour les autres

glycoCORMs protégés, et tous les complexes déprotégés correspondants ont pu être obtenus avec des rendements modérés (Schéma 32).

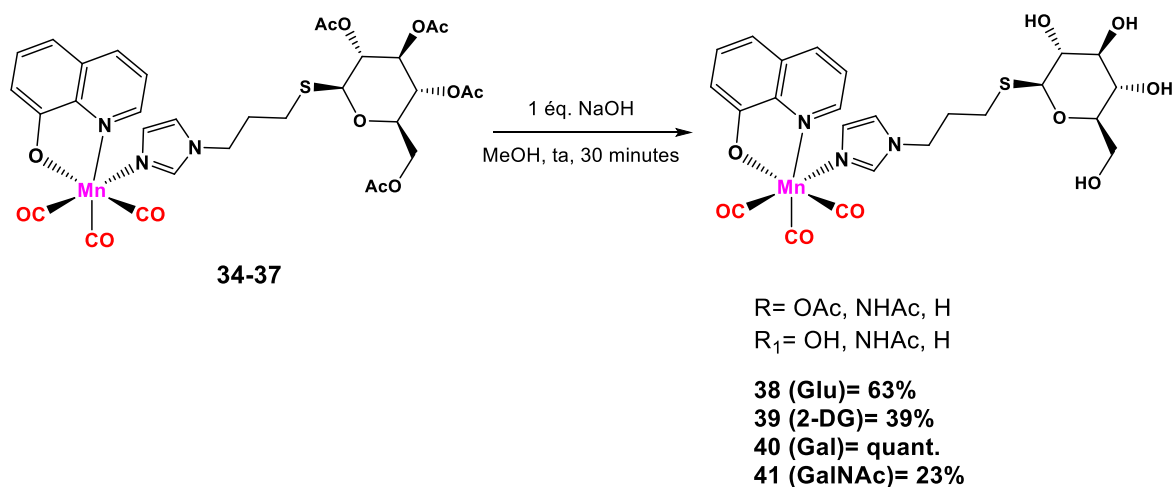


Schéma 32. Synthèse des glycoCORMs déprotégés.

Ainsi, tous les glycoCORMs ciblés ont pu être formés par une synthèse en cinq étapes (maximum) avec de bons rendements. Les étapes restantes et qui clôtureront ce chapitre sont les études biologiques de ces composés.

4.3 Etudes biologiques

4.3.1 Mesure de la cytotoxicité des glycoCORMs

La cytotoxicité des glycoCORMs a été évaluée par un test MTT sur différentes lignées cancéreuses du sein (MDA-MB-231), du poumon (A549) du foie (HepG2 et HuH7) et également une lignée non cancéreuse du sein (MCF-10A). En effet, comme présenté précédemment, les cellules cancéreuses surexpriment les récepteurs GLUT afin d'internaliser le plus de glucose possible afin de produire suffisamment d'énergie pour leur développement. Les cellules HepG2 quant à elles, sont des cellules du cancer du foie et plus précisément du CHC, par conséquent elles expriment à la fois les récepteurs GLUT et ASGP. La toxicité des glycoCORMs a été comparée avec celle du complexe modèle **2**, afin d'évaluer l'influence des carbohydrates sur le ligand imidazole (Figure 79).

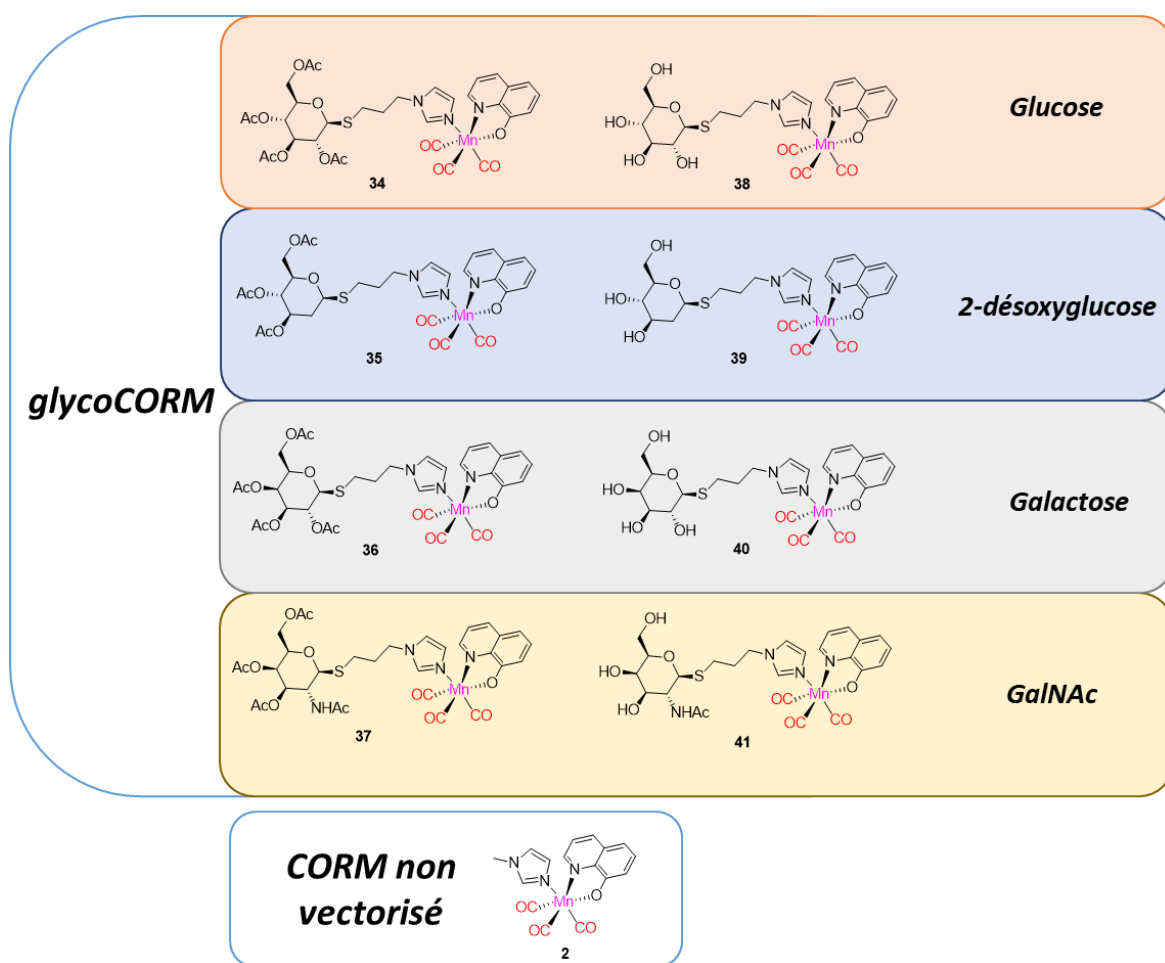


Figure 79. Structure des glycoCORMs synthétisés **34-41**, et du CORM modèle **2**.

Dans un premier temps, la toxicité du composé **2** a été évaluée sur toutes les lignées cellulaires citées. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau 7. Sur toutes les lignées cancéreuses testées, le composé **2** présente une IC_{50} du même ordre de grandeur, rationalisant le fait que les cellules cancéreuses produisent une importante quantité de ROS et qu'une variation de cette balance ROS / antioxydant affecte différents types de cellules cancéreuses de la même manière. Ce résultat est d'autant plus intéressant que la toxicité observée sur les cellules non cancéreuses MCF-10A est environ 3 fois plus faible, ce qui confirme notre hypothèse initiale et l'intérêt de notre stratégie.

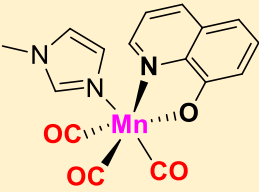
	
Lignée cellulaire	IC ₅₀ (μM)
MDA-MB-321	7,4 ± 1,6
A549	8,6 ± 0,7
HepG2	7,4 ± 1,6
HuH7	6,8 ± 1,0
MCF-10A	17,8 ± 2,3

Tableau 7. Valeurs d'IC₅₀ de **2** obtenues par un test au MTT après 72 h d'incubation à 37°C, sur les lignées cellulaires MDA-MB-231 (cancer du sein), A549 (cancer du poumon), HepG2 et HuH-7 (CHC) et MCF-10A (cellules épithéliales mammaires).

La cytotoxicité des ligands protégés et déprotégés a ensuite été évaluée. Ces composés possèdent une faible solubilité dans l'eau de ce fait, ils ont été solubilisés dans du DMSO au préalable avant d'être introduits sur les cellules. La viabilité cellulaire a été mesurée de la même manière que précédemment avec une incubation de 72 h à 37°C sous 5% CO₂, suivie du test au MTT. Aucune toxicité n'a été observée pour tous les ligands, ce qui nous a permis d'éliminer une potentielle toxicité induite par le produit de décomposition. De la même manière, la toxicité des glycoCORMs protégés a été évaluée. Les résultats obtenus par cette série sont assez mitigés. En effet, dans le cas de toutes les lignées cellulaires testées, une tendance est constatée. Les glycoCORMs protégés sont globalement légèrement plus toxiques que le complexe **2** à l'exception du composé **36** qui présente des IC₅₀ nettement supérieurs à ceux de **2**. Ce résultat est difficilement rationalisable, car en effet, cette tendance est présente pour toutes les lignées cellulaires. Un résultat intéressant est celui obtenu sur les cellules non cancéreuses, où tous les glycoCORMs testés présentent une cytotoxicité est plus faible par rapport aux lignées cellulaires cancéreuses (Tableau 8).

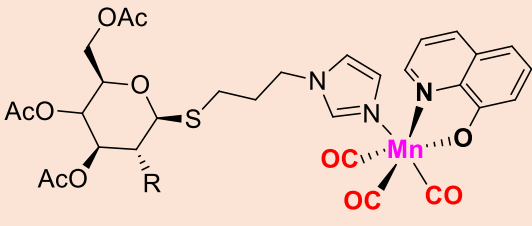
	 R= OAc, NHAc, H			
	IC ₅₀ (μM)			
Lignée cellulaire	34 (GluOAc)	36 (GalOAc)	37 (GalNAcOAc)	35 (2-DGOAc)
MDA-MB-231	5,2 ± 2,1	12,9 ± 3,4	3,2 ± 2,5	2,7 ± 1,6
A549	8,6 ± 0,2	14,1 ± 3,2	7,5 ± 0,9	7,7 ± 0,1
HepG2	5,5 ± 1,5	8,3 ± 1,9	4,6 ± 0,7	3,6 ± 1,4
MCF-10A	16,0 ± 2,1	25,0 ± 1,4	12,7 ± 1,2	9,3 ± 1,2

Tableau 8. Valeurs d'IC₅₀ de **34-37** obtenues par un test au MTT après 72 h d'incubation à 37°C, sur les lignées cellulaires MDA-MB-231 (cancer du sein), A549 (cancer du poumon), HepG2 (CHC) et MCF-10A (cellules épithéliales mammaires).

Le dernier test a été celui des glycoCORMs déprotégés. En comparant avec les résultats obtenus pour le complexe **2**, la toxicité des composés **38-41** est de manière générale plus importante sur toutes les lignées testées. Nous pouvons remarquer que l'effet est deux fois plus important sur les lignées MDA-MB-231 et HepG2, mais reste limité sur la lignée A549. Il est intéressant de noter qu'encore une fois l'IC₅₀ est multipliée par 2 pour la lignée non-tumorale MCF-10A. L'autre point important concerne la lignée HepG2, où nous pouvons constater que c'est la lignée cellulaire pour laquelle la toxicité des glycoCORMs est globalement la plus élevée, ce qui est encourageant dans une optique de thérapie du CHC (Tableau 9).

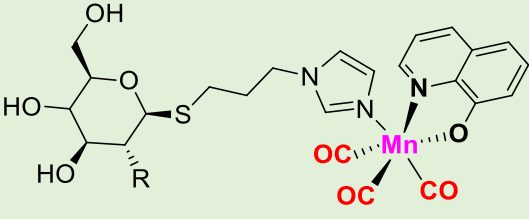
	 <p>R= OH, NHAc, H</p>			
	IC₅₀ (μM)			
Lignée cellulaire	38 (Glu)	40 (Gal)	41 (GalNAc)	39 (2-DG)
MDA-MB-231	3,8 ± 2,0	4,5 ± 2,5	6,0 ± 0,1	5,9 ± 2,2
A549	6,4 ± 0,1	7,7 ± 0,7	6,2 ± 0,1	7,3 ± 0,8
HepG2	4,5 ± 0,4	4,2 ± 1,1	4,2 ± 0,9	4,0 ± 0,5
MCF-10A	11,1 ± 1,3	12,1 ± 1,0	10,5 ± 0,7	9,8 ± 0,4

Tableau 9. Valeurs d'IC₅₀ de **38 - 41** obtenus par un test au MTT après 72 h d'incubation à 37°C, sur les lignées cellulaires MDA-MB-231 (cancer du sein), A549 (cancer du poumon), HepG2 (CHC) et MCF-10A (cellules épithéliales mammaires).

Dans ce point, l'activité cytotoxique des glycoCORMs a pu être confirmée. En effet, ils ont globalement montré une activité supérieure par rapport au CORM non-vectorisé **2**. De plus, ils s'avèrent tous être moins toxiques sur les cellules non-cancéreuses, ce qui s'expliquerait par le fait d'une production plus faible de ROS. A ce stade, ce comportement serait justifié par une internalisation plus importante des composés par le biais des récepteurs GLUT surexprimés par les cellules cancéreuses, mais également les ASGPR surexprimés par les hépatocytes. Afin de s'assurer de cela, il est nécessaire d'effectuer des analyses complémentaires d'inhibition ou d'activation de ces récepteurs, ce qui devrait théoriquement affecter directement la toxicité et donc les IC₅₀ associées. Ces travaux constitueront le dernier point de cette partie.

4.3.2 Etudes du mode d'internalisation

Afin de vérifier l'implication des récepteurs GLUT dans l'internalisation des glycoCORMs, nous avons choisi de les inhiber. Deux stratégies ont été envisagées : la première en augmentant

la quantité de glucose dans le milieu afin de rentrer en compétition avec le composé et la seconde en utilisant un inhibiteur des transporteurs, la quercétine.^{218, 219} En effet, la quercétine est une molécule naturelle présente dans de nombreux fruits et légumes, cependant il a été rapporté qu'elle est également un inhibiteur compétitif de GLUT1 empêchant ainsi l'entrée du glucose et du 2-DG. Cette caractéristique lui a ainsi permise d'être utilisée à cet effet afin d'évaluer le mode d'internalisation de molécules glycoconjuguées par les GLUT1.²¹⁸⁻²²⁰

Pour la première stratégie, un milieu DMEM est préparé avec un ajout supplémentaire de glucose de façon à avoir une concentration finale de 5 g/L. Les composés **38** et **39** ont été testés, et après 24 h d'incubation la cytotoxicité est évaluée selon le protocole rapporté par S. Lippard²¹⁸. Les résultats observés sont assez mitigés, en effet, dans le cas du composé **38** aucune variation d'IC₅₀ n'est observée, et pour **39**, la toxicité est augmentée en milieu à haute concentration en glucose ce qui représente l'inverse du résultat attendu (Tableau 10).

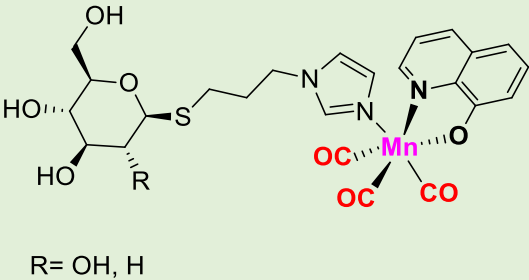
	 <p>R= OH, H</p>	
	IC₅₀ (μM)	
composé	38 (Glu)	39 (2-DG)
D-Glu (-)	6	8,4
D-Glu (+)	6,5	4,4

Tableau 10. Valeurs d'IC₅₀ de **38** - **39** obtenues par un test au MTT après 24 h d'incubation à 37°C en présence d'une concentration de D-glucose de 5 g/L et sans ajout de D-glucose, sur la lignée cellulaire MDA-MB-231 (cancer du sein).

Ces résultats contradictoires peuvent s'expliquer de deux façons. Soit la quantité de glucose introduite n'est pas suffisante pour avoir une réelle inhibition des GLUT ou cela pourrait être lié au temps d'incubation qui est trop long pour observer le phénomène d'inhibition. En effet, il peut être envisagé que même si une importante quantité de glucose va diminuer la vitesse d'internalisation des composés, sur une longue durée la vitesse n'a plus d'influence car les glycoCORMs finissent par être internalisés malgré tout par d'autres mécanismes.

En parallèle, afin d'évaluer l'influence des récepteurs ASGP, les composés **38** et **39** ont été testés sur la lignée Huh-7 qui sont des cellules cancéreuses du foie exprimant très peu les ASGPR (environ 3000 ASGPR par hépatocyte contre 76000 pour les HepG2).^{198,221, 222} Néanmoins, à l'issue de cette expérience, aucune tendance ne se dessine. En effet, les IC₅₀ observées sont équivalentes à celles obtenues pour les cellules HepG2 (Tableau 11). Comme pour l'expérience précédente, le temps d'incubation peut être la cause de l'absence de différence de toxicité, ou bien, cela pourrait être dû aux GLUT en l'occurrence GLUT1, qui présente également une affinité pour les motifs galactose et dérivés.²²³


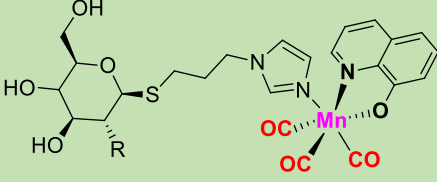
			 R= NHAc, OH, H.		
	IC₅₀ (μM)				
Lignée cellulaire	2	38 (Glu)	39 (2DG)	40 (Gal)	41 (GalNAc)
HepG2	7,4 ± 1,6	4,5 ± 0,4	4,0 ± 0,5	4,2 ± 1,1	4,2 ± 0,9
Huh-7	6,8 ± 1,0	3,6 ± 0,8	4,2 ± 1,4	4,5 ± 1,2	3,9 ± 0,7

Tableau 11. Valeurs d'IC₅₀ de **2** et **38 - 41** obtenues par un test au MTT après 72h d'incubation à 37°C, sur les lignées cellulaires HepG2 et HUH7 (CHC).

Afin de vérifier l'implication des GLUTs dans le processus d'internalisation, la quercétine, un inhibiteur de GLUT1, a été utilisée.²²² Pour cette expérience, les complexes **2**, **36**, **37**, **38** et **39** ont été incubés en présence de 20 μM de quercétine pendant 72 h, et les résultats ont été comparés avec ceux obtenus sans quercétine. A l'issue de l'expérience, nous pouvons constater que les IC₅₀ sur la lignée Huh-7 sont augmentés par co-incubation avec la quercétine, ce qui peut confirmer l'implication des GLUTs dans l'internalisation des glycoCORMs. Cependant, le même résultat est observé pour le complexe **2** ce qui ne peut être justifié par l'intervention des GLUTs (Tableau 12).


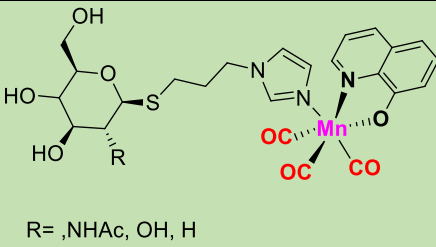
			 <p>R= ,NHAc, OH, H</p>		
	IC₅₀ (μM)				
	2	38 (Glu)	39 (2-DG)	40 (Gal)	41 (GalNAc)
Quercétine (+)	9,8 ± 0,5	6,7 ± 0,9	5,1 ± 1,6	7,3 ± 0,9	6,3 ± 2,1
Quercétine (-)	6,8 ± 1,0	3,6 ± 0,8	4,2 ± 1,4	4,5 ± 1,2	3,9 ± 0,7

Tableau 12. Valeurs d'IC₅₀ de **2** et **38 - 41** obtenues (en présence ou non de 20 μM quercétine) par un test au MTT après 72 h d'incubation à 37°C, sur la lignée cellulaire HuH7 (CHC).

4.4 Conclusion

Dans ce chapitre ont été exposés les intérêts de la thérapie ciblée ainsi qu'un bref état de l'art de ce qui existe et ce qui est proposé pour la thérapie contre le cancer. En effet, certaines de ces stratégies sont très prometteuses et sont même très présentes dans le cadre des traitements proposés et au niveau des essais cliniques (ADC, petites molécules). Cependant, les phénomènes de résistance ou encore les coûts élevés en production de ces composés exigent la recherche d'alternatives, et c'est pourquoi le développement de composés glycoconjugués suscite l'intérêt de beaucoup. En effet, les motifs glucose permettent un ciblage des récepteurs GLUT1 surexprimés à la surface des cellules cancéreuses et c'est la raison pour laquelle dans le cadre de cette thèse, a été décidé de développer des CORMs glycoconjugués (glycoCORMs). De plus, dans le cadre du cancer du foie, le ciblage des hépatocytes par les récepteurs ASGP grâce aux motifs galactose et GalNAc a été envisagé à travers la synthèse des glycoCORMs correspondants. Ainsi, dans ce chapitre, la synthèse en 4 étapes d'une nouvelle série de glycoCORMs a été présentée et la toxicité de ces derniers a été évaluée. Ces composés ont montré une cytotoxicité supérieure sur les lignées cellulaires cancéreuses en comparaison à celle du complexe **2** non vectorisé, confirmant ainsi l'intérêt des carbohydrates comme vecteurs. De plus cette toxicité est diminuée sur cellules non cancéreuses validant de la même manière le ciblage des ROS dans le mécanisme d'action de ces composés. Toutefois, malgré plusieurs tentatives, il n'a pas été possible de confirmer le mécanisme d'internalisation de ces composés même s'il est déjà bien décrit dans la littérature. En effet, que ce soit par les GLUT *via* une augmentation de la quantité de glucose dans le milieu de culture ou encore par l'utilisation de

la quercétine ou encore les récepteurs ASGP en effectuant l'expérience sur la lignée Huh-7, aucune différence sur la toxicité n'a été observée. Bien entendu, ces manipulations peuvent être améliorées à travers une optimisation des protocoles, mais force est de constater que cette augmentation semble être due à la présence des carbohydrates sur les CORMs.

4.5 Références

- [148] Y.T. Lee, Y.J. Tan and C.E. Oon, *Eur. J. Pharmacol.*, **2018**, 834, 188–196.
- [149] F.M. Brodsky, *Pharm. Res.*, **1988**, 5, 1-9.
- [150] D. Hanahan and R.A. Weinberg, *Cell*, **2000**, 100, 57-70.
- [151] M. De Palma and D. Hanahan, *Mol. Oncol.* **2012**, 6, 111-127.
- [152] B.A. Chabner and T.G. Robert Jr, *Nat. Rev. Cancer*, **2005**, 5, 65-72.
- [153] K. S. Bhullar, N. O. Lagaron, E.M. McGowan, I. Parmar, A. Jha, B.P. Hubbard and V. Rupasinghe, *Molecular Cancer*, **2018**, 17, 48.
- [154] G. Maurer, B. Tarkowsk and M. Baccarini, *Oncogene*, **2011**, 30, 3477-3477.
- [155] Y. Samuels, Z. Wang, A. Bardelli, N. Silliman, J. Ptak, S. Szabo, H. Yan, A. Gazdar, S.M. Powell and G.J. Riggins, *Science*, **2004**, 304, 554.
- [156] M.P. Czech, *Cell*, **2000**, 100, 603-606.
- [157] T. Marumoto, D. Zhang and H. Saya, *Nat. Rev. Cancer*, **2005**, 5, 42-50.
- [158] D.T. Jones, B. Hutter, N. Jäger, A. Korshunov, M. Kool, H-J. Warnatz, T. Zichner, S.R. Lambert, M. Ryzhova and D.A.K. Quang, *Nat. Genet.*, **2013**, 45, 927-932.
- [159] P. Blume-Jensen and T. Hunter, *Nature*, **2001**, 411, 355-365.
- [160] R. Capdeville, S. Silberman and S. Dimitrijevic, *Eur. J. Cancer*, **2002**, 38, S77-S82.
- [161] M.A. Fabian, W.H. Biggs, D.K. Treiber, C.E. Atteridge, M.D. Azimioara, M.G. Benedetti, T.A. Carter, P. Ciceri, P.T. Edeen, M.A. Floyd, *Nat. Biotechnol.*, **2005**, 23, 329-336.
- [162] M.W. Karaman, S. Herrgard, D.K. Treiber, P. Gallant, C.E. Atteridge, B.T. Campbell, K.W. Chan, P. Ciceri, M.I. Davis and P.T. Edeen, *Nat. Biotechnol.*
- [163] S. Shukla, R.W. Robey, S.E. Bates and S.V. Ambudkar, *Drug Metab. Dispos.*, **2009**, 37, 359-365.
- [164] T.R. Wilson, J. Fridlyand, Y. Yan, E. Penuel, L. Burton, E. Chan J. Peng, E. Lin, Y. Wang and J. Sosman, *Nature*, **2012**, 487, 505-509.
- [165] P. Lito, N. Rosen and D.B. Solit, *Nat Med*, **2013**, 19 1401-1409.
- [166] V. Chell, K. Balmanno, A. Little, M. Wilson, S. Andrews, L. Blockley, M. Hampson, P. Gavine and S. Cook, *Oncogene*, **2013**, 32, 3059-3070.
- [167] M. Bilusic, R.A. Madan, *Am. J. Ther.*, **2012**, 19, e172
- [168] J. Schlom, J.W. Hodge, C. Palena, K-Y. Tsang, C. Jochems, J.W. Greiner, B. Farsaci, R.A. Madan, C.R. Heery, J.L. Gulley, *Advances in Cancer Research*, **2014**, 121, 67–124.
- [169] P.W. Kantoff, C.S. Higano, N.D. Shore, E.R. Berger, E.J. Small, D.F. Penson, C.H. Redfern, A.C. Ferrari, R. Dreicer, R.B. Sims, Y. Xu, M.W. Frohlich, and P.F. Schellhammer, *N. Engl. J. Med.*, **2010**, 363, 411–422.

- [170] G. Giaccone, L.A. Bazhenova, J. Nemunaitis, M. Tan, E. Juhasz, R. Ramlau, M.M. van den Heuvel, R. Lal, G.H Kloecker, K.D. Eaton, Q. Chu, D.J. Dunlop, M. Jain, E.B. Garon, C.S. Davis, E. Carrier, S.C. Moses, D.L. Shawler, H. Fakhrai, *Eur. J. Cancer*, **2015**, 51, 2321–2329.
- [171] D.H. Lawson, S. Lee, F. Zhao, A.A. Tarhini, K.A. Margolin, M.S. Ernstoff, M.B. Atkins, G.I. Cohen, T.L. Whiteside, L.H. Butterfield, and J.M. Kirkwood, *J. Clin. Oncol.*, **2015**, 33, 4066–4076.
- [172] M. Saxena, S.H. van der Burg, C.J.M. Melief and N. Bhardwaj, *Nat. Rev. Cancer*, **2021**, 21, 360–378.
- [173] D.S. Chen and I. Mellman, *Nature*, **2017**, 541, 321–330.
- [174] T. Wirth, N. Parker, S. Ylä-Herttuala, *Gene*, **2013**, 525, 162–169.
- [175] S.A. Rosenberg, P. Aebbersold, K. Cornetta, A. Kasid, R. A. Morgan, R. Moen, E. M. Karson, M. T. Lotze, J. C. Yang, S. L. Topalian, M. J. Merino, K. Culver, A. D. Miller, R. M. Blaese et W. F. Anderson, *N. Engl. J. Med.*, **1990**, 323, 570-578.
- [176] M. Jinek, K. Chylinski, I. Fonfara, M. Hauer, J.A. Doudna, E. Charpentier, *Science*, **2012**, 337, 816–821.
- [177] J.Y. Wang and J.A. Doudna, *Science*, **2023**, 379, 251.
- [178] Z.-H. Chen, P.Y. Yan, Z.-H. Zuo, J.B. Nelson, G.K. Michalopoulos, S. Monga, S. Liu, G. Tseng, J.-H. Luo, *Nat. Biotechnol.*, **2017** 35, 543–550.
- [179] S. Su, B. Hu, J. Shao, B. Shen, J. Du, Y. Du, J. Zhou, L. Yu, L. Zhang, F. Chen, H. Sha, L. Cheng, F. Meng, Z. Zou, X. Huang and B. Liu, *Sci. Rep.*, **2016**, 6.
- [180] R. Tao, X. Han, X. Bai, J. Yu, Y. Ma, W. Chen, D. Zhang and Z. Li, *Front. Immunol.*, **2024**, 15, 1354825.
- [181] A. Beck, L. Goetsch, C. Dumontet and N. Corvaia, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2017**, 16, 315–337.
- [182] V. Metrangolo and L.H. Engelholm, *Cancers*, **2024**, 16, 447.
- [183] B. Shor, J. Kahler, M. Dougher, J. Xu, M. Mack, E. Rosfjord, F. Wang, E. Melamud, P. Sapra, *Clin. Cancer Res.*, **2016**, 22, 383–394.
- [184] E.J. ter Weele, A.G.T. Terwisscha van Scheltinga, J.G.W. Kosterink, L. Pot, S.R. Vedelaar, L.E. Lamberts, S.P. Williams, M.N. Lub-de Hooge, and E.G.E. de Vries, *Oncotarget.*, **2015**, 6, 42081–42090.
- [185] G. Mathé, T.B. Loc, J. Bernard, C.R. Acad. Sci., **1958**, 246, 1626–1628.
- [186] C.M. Mckertish and V. Kayser, *Biomedicines*, **2021**, 9, 872.
- [187] H. Ghazarian, B. Itoni, S.B. Oppenheimer, *Acta Histochem.*, **2011**, 113, 236–247.
- [188] M.B. Calvo, A. Figueroa, E.G. Pulido, R.G. Campelo and L.A. Aparicio, *Int. J. Endocrinol.* **2010**.
- [189] T. Asmann and C. Hellerbrand, *Expert Opin. Ther. Targets*, **2009**, 13, 1411-1427.
- [190] J.W. Kim and C.V. Dang, *Cancer Res.*, **2006**, 33, 725-735.
- [191] M.C. Brahimi-Horn, J. Chiche and J. Pouyssegur, *Curr. Opin Cell. Biol.*, **2007**, 19, 223-229.
- [192] Y.H. Kong, C.J. Han, S.D. Lee, W.S. Sohn, M.J. Kim, S.S. Ki, J. Kim, S.H. Jeong, Y.C. Kim, J.O. Lee, G.J. Cheon, C.W. Choi, S.M. Lim, *Korean J. Hepatol.*, **2004**, 10, 279-287.

- [193] J. Pohl, B. Bertram, P. Hilgram, M.R. Nowroussian, J. Stuben and M. Wiessler, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **1995**, 35, 364-370.
- [194] E. Briasoulis, I. Judson, N. Pavlidis, P. Beale, J. Wanders, Y. Groot, G. Veerman, M. Schuessler, G. Niebch, K. Siamopoulos, E. Tzamakou, D. Rammou, L. Wolf, R. Walker and A. Hanauske, *J. Clin. Oncol.*, **2000**, 18, 3535–3544.
- [195] F. Hossain and P.R. Andreana, *Pharmaceuticals*, **2019**, 12, 84.
- [196] M. Patra, S.G. Awuah and S.J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, 138, 12541-12551.
- [197] R.L. Hudgin, W.E. Pricer, G. Ashwell, R.J. Stockert and A.G. Morell, *J. Biol. Chem.*, **1974**, 249, 5536-5543.
- [198] K. Drickamer, *Annu. Rev. Cell Biol.*, **1993**, 9, 237-264.
- [199] A.A. D'Souza and P.V. Devarajan, *J. Control. Release*, **2015**, 209, 126-139.
- [200] X. Huang, J.C. Leroux and B. Castagner, *Bioconjugate Chem.*, **2017**, 28, 283-295.
- [201] M. Mevel, M. Bouzelha, A. Leray, S. Pacouret, M. Guilbaud, M. Penaud-Budloo, D. Alvarez-Dorta, L. Dubreil, S.G. Gouin, J.P. Combal, M. Hommel, G. Gonzalez-Aseguinolaza, V. Blouin, P. Moullier, O. Adjali, D. Deniaud and E. Ayuso, *Chem. Sci.*, **2020** 11, 1122–1131.
- [202] K.-W. Huang, Y.-T. Lai, G.-J. Chern, S.-F. Huang, C.-L. Tsai, Y.-C. Sung, C.-C. Chiang, P.-B. Hwang, T.-L. Ho, R.-L. Huang, T.-Y. Shiue, Y. Chen and S.-K. Wang, *Biomacromolecules*, **2018**, 19, 2330–2339.
- [203] S. Cecioni, A. Imberty and S. Vidal, *Chem. Rev.* **2015**, 115, 525–561.
- [204] C.-H. Lai, T.-C. Chang, Y.-J. Chuang, D.-L. Tzou and C.-C. Lin, *Bioconjugate Chem.* **2013**, 24, 1698–1709.
- [205] R. Rouet, B.A. Thuma, M.D. Roy, N.G. Lintner, D.M. Rubitski, J.E. Finley, H.M. Wisniewska, R. Mendonsa, A. Hirsh, L. de Oñate, J. Compte Barrón, T.J. McLellan, J. Bellenger, X. Feng, A. Varghese, B.A. Chrnyk, K. Borzilleri, K.D. Hesp, K. Zhou, N. Ma, M. Tu, R. Dullea, K.F. McClure, R.C. Wilson, S. Liras, V. Mascitti, and J.A. Doudna, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 6596–6603.
- [206] M. Balwani, E. Sardh, P. Ventura, P. Aguilera Peiró, D.C. Rees, U. Stölzel, M. Bissell, H.L. Bonkovsky, J. Windyga, K.E. Anderson, C. Parker, S.M. Silver, S.B. Keel, J. Der Wang, P.E. Stein, P. Harper, D. Vassiliou, B. Wang, J. Phillips, A. Ivanova, J.G. Langendonk, R. Kauppinen, E. Minder, Y. Horie, C. Penz, J. Chen, S. Liu, J.J. Ko, M.T. Sweetser, P. Garg, A. Vaishnav, J.B. Kim, A.R. Simon and L. Gouya, *N. Engl. J. Med.*, **2020**, 382, 2289–2301.
- [207] J. Li, J. Zhang, Q. Zhang, Z. Bai, Q. Zhao, D. He, Z. Wang, Y. Chen and B. Liu, *Org. Biomol. Chem.*, **2018**, 16, 8115–8129.
- [208] L. Braud, M. Pini, L. Muchova, S. Manin, H. Kitagishi, D. Sawaki, G. Czibik, J. Ternacle, G. Derumeaux, R. Foresti and R. Motterlini, *JCI Insight*, **2018**, 3, e123485.
- [209] L. Ma, T.W. Liu, M.A. Wallig, I.T. Dobrucki, L.W. Dobrucki, E.R. Nelson, K. S. Swanson and A.M. Smith, *ACS Nano*, **2016**, 10, 6952–6962.
- [210] S. Mohan, L.-A. Barel, D.E. Benrahla, B. Do, Q. Mao, H. Kitagishi, M. Rivard, R. Motterlini and R. Foresti, *Pharmacol. Res.*, **2023**, 191, 106770.
- [211] M. Kurtoglu, J.C. Maher, T.J. Lampidis, *Antioxid. Redox Signal.*, **2007**, 9, 1383–1390.
- [212] K. Baumann, L. Kordic, M. Mocibob, G. Šinko and S. Tomić, *Molecules* **2019**, 24, 2833.

- [213] Z. Zhou, Y. Zhao, H. Zhen, Z. Lin and Q. Ling, *Appl. Organometal. Chem.* **2016**, 30, 924–931.
- [214] M. Fiore, A. Marra and A. Dondoni, *J. Org. Chem.*, **2009**, 11, 4422-4425.
- [215] F.M. Ibatullin, K.A. Shabalin, J.V. Jänis and A.G. Shavva, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 7961–7964.
- [216] A. Bruneau, M. Roche, A. Hamze, J.-D. Brion, M. Alami and S. Messaoudi, *Chem. Eur.J.*, **2015**, 21, 8375 –8379.
- [217] C.D. Rillahan, A. Antonopoulos, C.T. Lefort, R. Sonon, P. Azadi, K. Ley, A. Dell, S.M. Haslam and J.C. Paulson, *Nat. Chem. Biol.*, **2012**, 8, 661–668.
- [218] M. Patra, T.C. Johnstone, K. Suntharalingam and S.J. Lippard, *Angew. Chem.*, **2016**, 128, 2596 –2600.
- [219] J. Han, X. Gao, R. Liu, J. Yang, M. Zhang, Y. Mi, Y. Shi and Q. Gao, *Chem. Biol. Drug Des.*, **2016**, 87, 867–877.
- [220] K.E. Hamilton, J.F. Rekman, L.K. Gunnink, B.M. Busscher, J.L. Scott, A.M. Tidball, N.R. Stehouwer, G.N. Johncheck, B.D. Looyenga, L.L. Louters, *Biochimie*, **2018**, 151, 107-114.
- [221] Y. Li, G. Huang, J. Diakur and L.I. Wiebe, *Curr. Drug Deliv.*, **2008**, 5, 299-302.
- [222] M. Wu, H. Li, R. Liu , X. Gao, M. Zhang, P. Liu, Z. Fu, J. Yang, D. Zhang-Negrerie, Q. Gao, *Eur. J. Med. Chem.*, **2016**, 110, 32-42.
- [223] M. Wang, Z. Li, F. Liu, Q. Yi, C. Pu, Y. Li, T. Luo, J. Liang, and J. Wang, *J. Med. Chem.*, **2021**, 64, 19, 14793–14808.

Chapitre 5

Les photoCORMs pour la carbonylation

Chapitre 5. Les photoCORMs pour la carbonylation

5.1 La carbonylation par du CO gazeux et ses limites

La réaction de carbonylation consiste en l'insertion de CO dans une molécule organique ou inorganique. La première réaction de carbonylation connue est la synthèse du complexe $[\text{Ni}(\text{CO})_4]$ décrit par L. Mond en 1890. Sept ans plus tard, L. Gattermann et J.A. Koch ont développé une réaction de formylation du toluène à partir de CO gazeux en présence de HCl et une quantité catalytique d' AlCl_3 et de CuCl_2 en tant qu'acides de Lewis. Dans cette dernière, le CO est d'abord protoné par HCl, ensuite l'oxygène va interagir avec l'acide de Lewis (AlCl_3) augmentant ainsi le caractère électrophile du carbone et permettant la SE_{Ar} et la formation du dérivé aldéhyde correspondant. Cette réaction est maintenant connue sous le nom de réaction de Gattermann-Koch²²⁴ (Schéma 33).

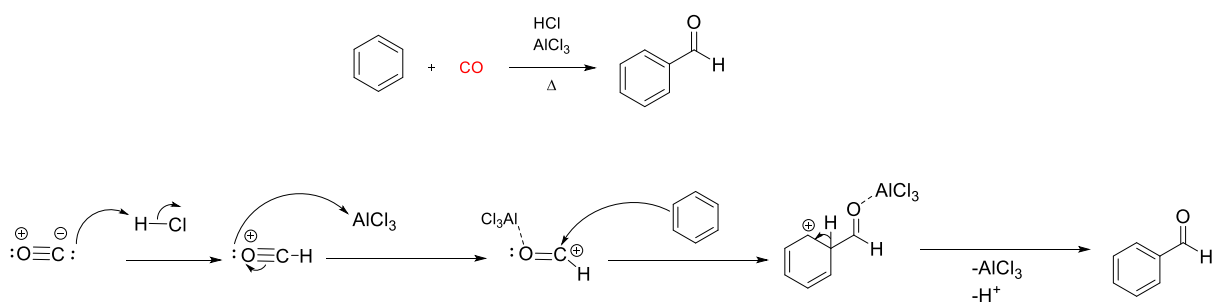


Schéma 33. Mécanisme réactionnel de la réaction de Gattermann-Koch.

La première réaction de carbonylation catalysée par un complexe métal-carbonyle a été décrite par O. Roelen en 1938. Cette réaction consiste dans la réduction et la formylation d'éthylène sous atmosphère de CO et H_2 (200-300 bars), en présence d'un catalyseur de cobalt (I) $[\text{CoH}(\text{CO})_4]$ afin d'obtenir l'aldéhyde correspondant. Dans cette réaction, le complexe actif de Co(I) subit une substitution de ligand, où un CO est remplacé par l'éthylène. Cela est suivi par une insertion-migration de l'hydrure sur l'éthylène libérant un site de coordination qui est directement occupé par un CO. L'étape suivante consiste en une seconde insertion-migration avec formation du ligand acyle correspondant, libérant un site de coordination. Ce complexe intermédiaire va ensuite subir une addition oxydante par H_2 formant un complexe de Co(III), et s'en suit une élimination réductrice permettant la formation de l'aldéhyde et la régénération du complexe actif de Co(I). Cette réaction est connue sous le nom d'hydroformylation, et a été très utilisée dans l'industrie pour la synthèse d'aldéhydes à partir d'alcènes²²⁵ (Schéma 34).

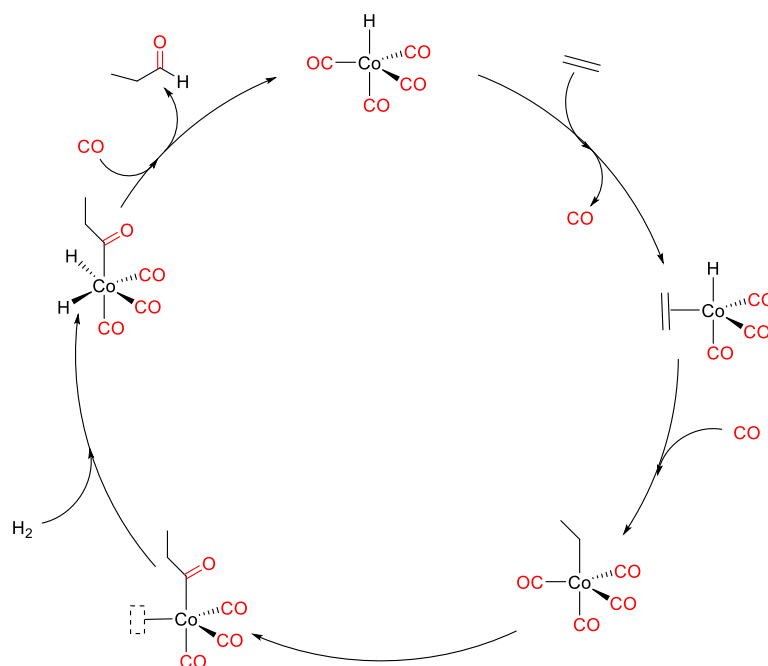


Schéma 34. Cycle catalytique de la réaction d'hydroformylation catalysée par le complexe $[\text{CoH}(\text{CO})_4]$.

Un évènement majeur dans l'histoire de la réaction de carbonylation est la synthèse de l'acide acétique à partir de méthanol. En effet, de par une demande mondiale en acide acétique d'environ 13 millions de tonnes en 2015²²⁶, un immense intérêt est né dans l'industrie concernant l'optimisation de sa méthode de production. Initialement, le processus de production d'acide acétique se faisait par pyrolyse du bois. Cela présente comme inconvénients d'avoir un faible rendement et de former une importante quantité de sous-produits. Comme autre méthode historique, peut être citée la fermentation aérobie d'éthanol qui a comme principal défaut d'être un processus extrêmement lent (environ une semaine). Le premier processus de carbonylation du méthanol en acide acétique a été développé par BASF²²⁷ en 1960. Pour cela, le méthanol ainsi qu'un catalyseur de cobalt (II) de formule $[\text{CoI}_2]$ sont mis sous forte pression de CO (entre 600 et 700 bars) et également à haute température (230°C) afin d'obtenir l'acide acétique avec 90 % de sélectivité, les sous-produits étant le méthane, l'acétaldéhyde, l'éthanol et l'éther (Schéma 35). Concernant le mécanisme, $[\text{CoI}_2]$ réagit avec H_2O et CO afin de former le complexe catalytiquement actif $[\text{HCo}(\text{CO})_4]$ mais également quatre moles de HI. Dans un premier temps, le complexe $[\text{HCo}(\text{CO})_4]$ va subir un échange de ligand en réagissant avec du iodométhane, où l'hydrogène est remplacé par le méthyle libérant HI. L'étape suivante est une insertion-migration du CO formant le ligand acyle correspondant, entraînant la libération d'un site de coordination qui sera ensuite occupé par un CO. La dernière étape avant la régénération du catalyseur est la substitution du ligand acyle par un hydrogène apporté par le HI formant l'iodure d'acétyle qui va réagir avec H_2O formant ainsi l'acide acétique et du HI. La molécule

d'HI formée, va réagir avec le méthanol afin de former l'iodométhane qui sera réengagé dans le cycle catalytique. L'un des inconvénients majeurs de cette méthode est la nécessité de travailler à une pression de CO très importante et également à haute température, c'est pourquoi, la majorité des travaux qui ont suivi, ont visé à optimiser ces conditions.

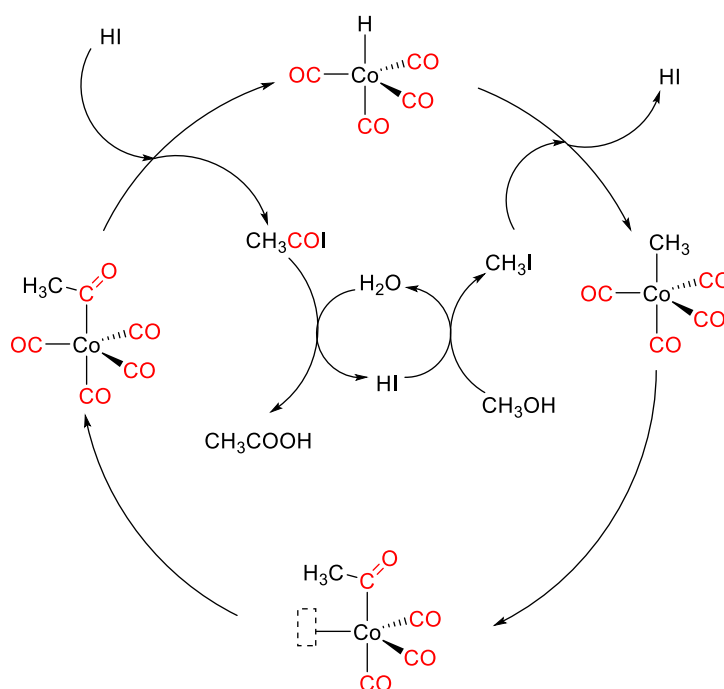
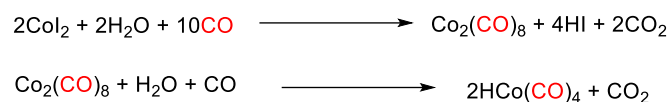


Schéma 35. Cycle catalytique du processus de carbonylation du méthanol en acide acétique en présence de $[\text{CoH}(\text{CO})_4]$.

Une autre alternative a été l'utilisation de complexe de nickel comme catalyseur. En effet, à partir de $[\text{NiI}_2]$, un complexe $[\text{Ni}(\text{CO})_4]$ est formé sous atmosphère de CO. Ce complexe de nickel(0) est le catalyseur qui permet la réaction de carbonylation selon un mécanisme similaire que celui décrit dans le cas du cobalt. L'avantage de l'utilisation du complexe de nickel est l'adoucissement des conditions de réaction. En effet, cette réaction a été décrite comme fonctionnant sous une pression de 35 bars et à 150°C .²²⁸ Cependant du fait de l'importante toxicité du complexe $[\text{Ni}(\text{CO})_4]$, ce procédé n'a pas été appliqué industriellement.

L'un des procédés qui a représenté un tournant dans l'univers de la carbonylation et surtout de la synthèse d'acide acétique, est le procédé Monsanto mis au point en 1967.²²⁷ En effet, par l'utilisation d'un catalyseur à base de rhodium, la réaction peut être effectuée sous une pression de 30 à 60 bars et à une température située entre 150 et 200°C . De plus cette méthode permet

l'obtention d'acide acétique avec une sélectivité de 99%. L'espèce réactive ici est l'anion $[\text{Rh}(\text{CO})_2\text{I}_2]^-$ et le mécanisme est similaire à la réaction catalysée au cobalt (Schéma 36).

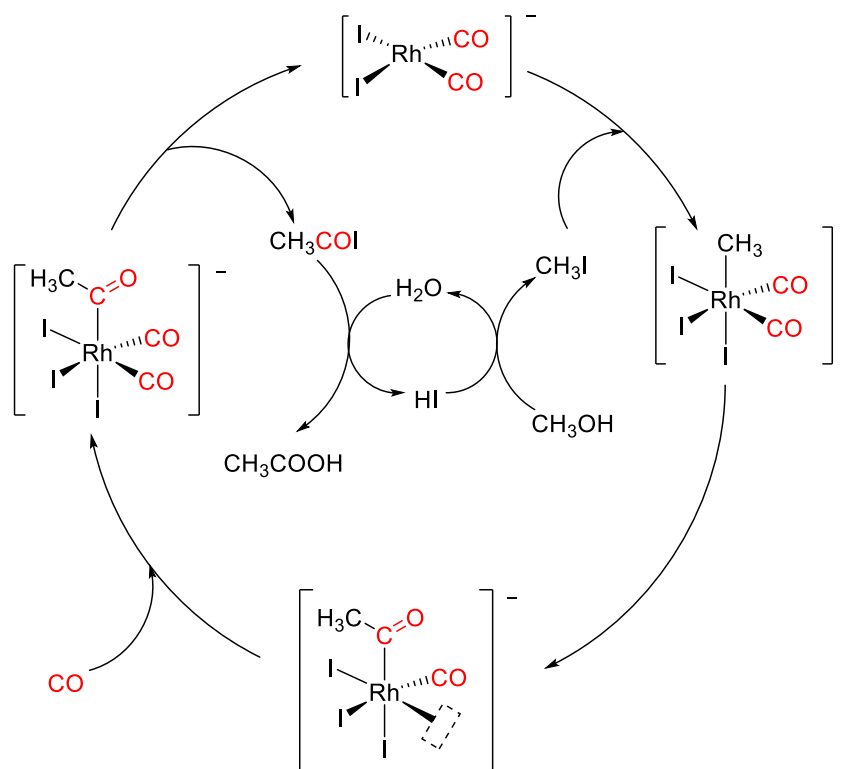


Schéma 36. Cycle catalytique du processus de carbonylation du méthanol en acide acétique en présence de $[\text{Rh}(\text{CO})_2\text{I}_2]^-$.

Cependant de nos jours, ce procédé a été mis de côté au profit du procédé Cativa développé en 1996, qui s'effectue en présence d'un complexe d'iridium (I) de formule $[\text{IrI}_2(\text{CO})_2]^-$. Ce procédé est préféré pour des raisons de coût du catalyseur d'iridium vis-à-vis du rhodium mais également car il nécessite des quantités d'eau moins élevées, évitant ainsi la formation de sous-produits.²²⁹

En 1973, I. U. K. Khand et P. L. Pauson développent la synthèse de cyclopentènone à travers une cycloaddition $[2+2+1]$ en faisant réagir un alcène, un alcyne en présence d'un complexe bimétallique de cobalt $[\text{Co}_2(\text{CO})_8]$ sous atmosphère de CO ²³⁰ (Schéma 37). Cette réaction, connue sous le nom de réaction de Pauson-Khand, est une référence parmi les réactions de carbonylation.

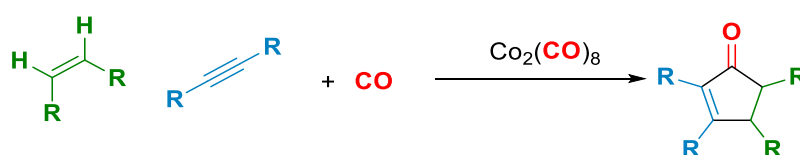


Schéma 37. Schéma de la réaction de Pauson-Khand.

Le premier exemple de réaction de carbonylation pallado-catalysée a été rapporté par Heck et collaborateurs²³¹ en 1974. Cette étude a servi de base à la synthèse de nombreux composés mais également dans des études visant à l'optimisation de cette dernière.²³² En effet, ce type de réaction permet la synthèse d'une large variété de dérivés carbonylés tels que des amides (aminocarbonylation), des esters (alcoylocarbonylation) ou encore des cétones (carbonylation par des réactions de type Suzuki-Miyura ou Sonogashira) (Figure 80). Toutes les méthodes historiques de carbonylation ont pour point commun l'utilisation de CO gazeux. La forte toxicité du CO gazeux impose de prendre d'une part, d'importantes précautions par l'utilisation de matériels spécifiques (détecteur de CO, travail sous pression) afin d'assurer la sécurité des manipulateurs. D'autre part, la formation très fréquente de sous-produits et l'utilisation de quantité stœchiométrique de catalyseurs dans certains cas sont des aspects importants à gérer. C'est la raison pour laquelle, au début des années 2000, les chercheurs ont développé l'utilisation de substitués de CO dans le cadre de réactions de carbonylation et cela constituera le second point, qui présentera un bref historique des substitués développés ces 20 dernières années.

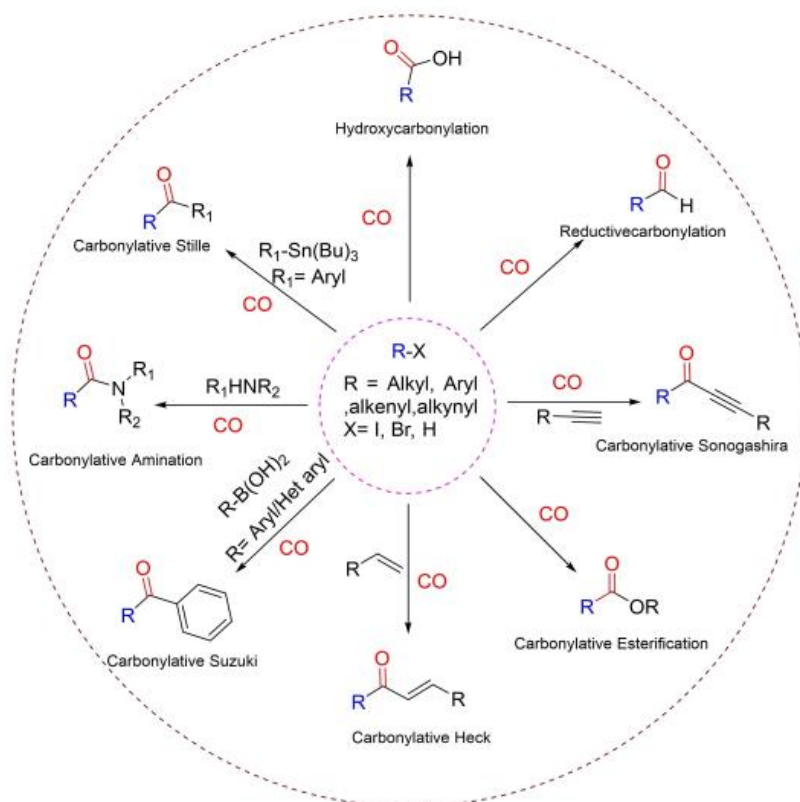


Figure 80. Exemples de réactions de carbonylation catalysées au palladium. Figure issue de la référence 232.

5.2 Améliorations récentes

5.2.1 Développement des substituts de CO

La première utilisation d'un substitut de CO dans le cadre d'une réaction de carbonylation a été décrite par M. Larhed et collaborateurs en 2003. Dans ces travaux, il utilise comme donneur de CO, le complexe hexacarbonyle de molybdène ($[\text{Mo}(\text{CO})_6]$) afin d'effectuer une réaction d'aminocarbonylation entre des halogénures d'aryle et des amines en présence d'un complexe de palladium (II) en quantité catalytique et trois équivalents de DBU dans du THF (Schéma 38). Afin d'induire la libération de CO, la réaction doit être chauffée à 150°C pendant 15 min. Grâce à ce protocole, une large variété de produits a pu être obtenue avec de bons rendements dans l'ensemble. Cependant, ce protocole présente certains inconvénients, d'une part le complexe $[\text{Mo}(\text{CO})_6]$ est très toxique et doit être utilisé en quantité stœchiométrique, ce qui, pour des manipulations à grande échelle, pose un sérieux problème et de plus, la réaction a besoin d'être chauffée à des températures élevées.²³³

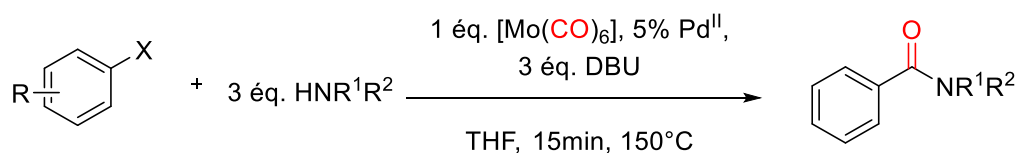


Schéma 38. Réaction d'aminocarbonylation développée par M. Larhed.

La première percée dans le monde des substituts de CO a été effectuée par T. Skrydstrup et collaborateurs en 2011 avec l'utilisation du COgen et du COware. Dans leur méthode, la génération de CO s'effectue par le biais d'un chlorure d'acyle à 80°C en présence de palladium. Cependant le chlorure d'acyle étant sensible aux nucléophiles, la génération de CO ne peut pas avoir lieu dans le même milieu que la carbonylation (génération *ex-situ*). C'est la raison pour laquelle a été développé le COware qui est un système à deux chambres reliées par un conduit afin de permettre au CO de rejoindre l'espace où aura lieu la carbonylation (Figure 81). En effet, dans une première chambre se trouve le chlorure d'acyle en présence d'un catalyseur de palladium et de base, tandis que dans l'autre chambre se trouve le nucléophile, l'iodure d'aryle, le complexe de palladium ainsi que la base. Afin d'induire la libération de CO, le milieu est chauffé à 80°C et les produits de carbonylation correspondants sont obtenus avec de très bons rendements dans l'ensemble²³⁴ (Schéma 39).

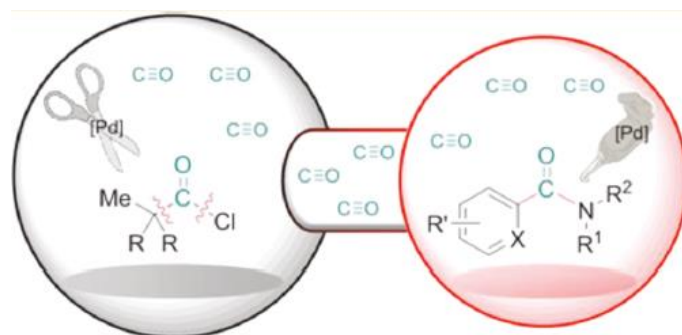


Figure 81. Principe du COware. Figure issue de la référence 234.

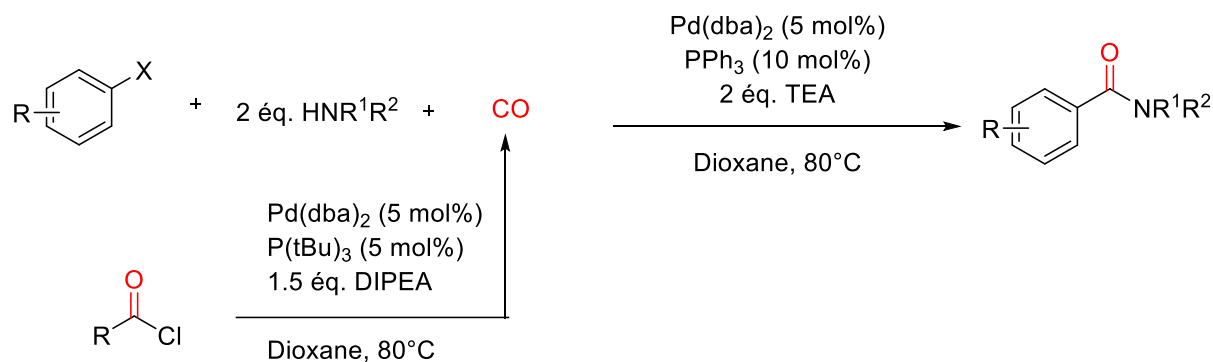


Schéma 39. Réaction de d'aminocarbonylation développée par T. Skrydstруп.

En 2013, K. Manabe et collaborateurs ont proposé l'utilisation de la *N*-formylsaccharine comme donneur de CO. Ce composé a démontré une bonne stabilité en tant que donneur de CO comparé aux chlorures d'acyle, car en effet, il permet une génération de CO dans le même environnement que la réaction de carbonylation (génération *in-situ*), et a montré d'excellents rendements dans le cadre de la réaction de formylation.²³⁵ De la même manière en 2016, X.F. Wu et collaborateurs ont proposé l'utilisation de triformate de benzene-1,3,5-triyle (TFBen) qui s'est révélé être également un très bon substitut de CO compatible avec une large variété de réactions de carbonylation.²³⁶ Comme dernier exemple peuvent être cités, les travaux d'A. Yudin et collaborateurs publiés en 2021, présentant l'utilisation d'un carboxyboronate comme générateur de CO et démontrant sa compatibilité aussi bien pour une réaction de carbonylation *in situ* que *ex situ* (COware).²³⁷ Néanmoins, même si ces trois travaux ont présenté l'utilisation de très bons substituts de CO, ils possèdent tous l'inconvénient de générer le CO et de réaliser la carbonylation à haute température (plus de 80°C) avec une quantité stœchiométrique de substitut (Figure 82).

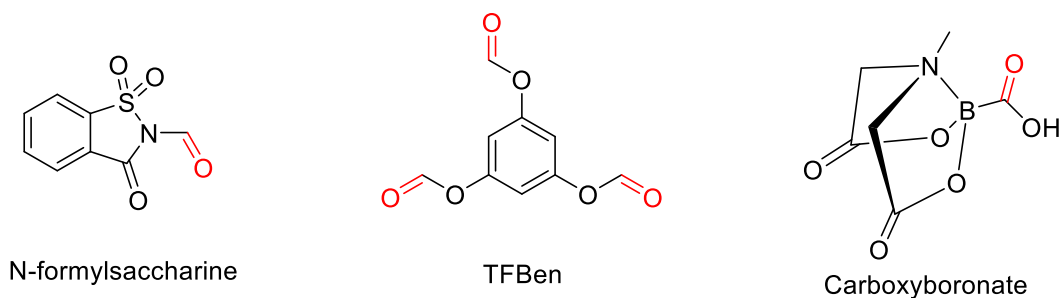


Figure 82. Structure des différents substitués de CO développés par K. Manabe, X.F. Wu et A. Yudin.

En 2022, X. Yang et B. Wang ont présenté l'utilisation d'une 1,2-dicétone (CO-501) dans le cadre de réactions de carbonylation photoinduites. Cette étude est la première étude complète présentant la compatibilité d'une carbonylation photoinduite avec un large spectre de substrats et réactions. En effet, ce composé a montré d'excellents rendements dans différents types de carbonylation (aminocarbonylation, Suzuki-Miyaura, Sonogashira), cependant, sa sensibilité vis-à-vis des nucléophiles force le protocole à s'effectuer en deux temps. La génération de CO est tout d'abord initiée par la lumière, puis le nucléophile est introduit pour que la réaction de carbonylation puisse avoir lieu²³⁸ (Figure 83).

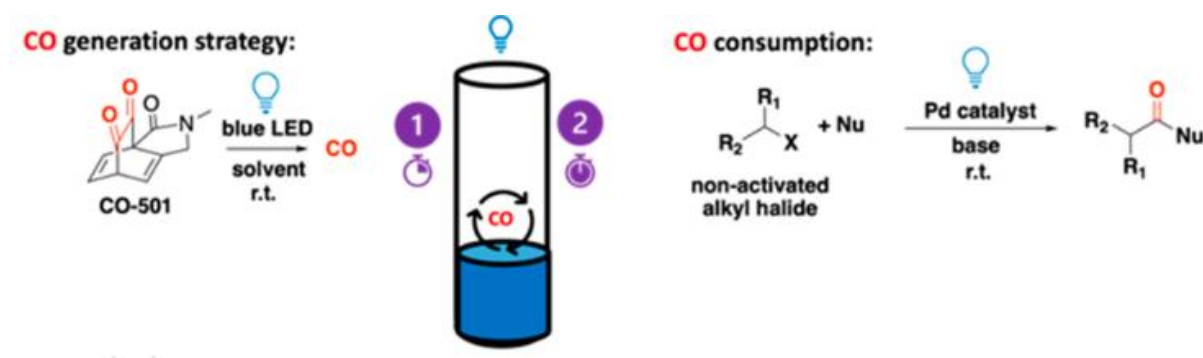


Figure 83. Structure de la dicétone et processus de libération du CO développé par B. Wang et X. Yang. Figure issue de la référence 238.

5.2.2 Intérêt du [Mn(8-HQ)(CO)₃Me-Imd]

Les substitués de CO n'étant ni plus ni moins que des CORMs d'une certaine manière, l'idée nous est venue d'utiliser nos CORMs dans le cadre de réactions de carbonylation. En effet, nos composés présentent une cinétique de libération de CO rapide (temps de demi vie d'environ 40 secondes) avec la production de trois moles de CO par mole de complexe sous une irradiation lumineuse (450 nm). De plus, ils sont facilement synthétisables (2 étapes), pour la plupart d'entre eux, ils sont solubles dans pratiquement tous les solvants organiques standards, et surtout, ces complexes ne sont pas sensibles aux nucléophiles permettant une génération de CO *in situ* et sans chauffage supplémentaire. Tous ces points ont motivé le développement de ce

projet parallèle, qui d'une part propose l'utilisation de substitués de CO plus confortables que ceux décrits à ce jour dans la littérature, mais également démontre le caractère multifacette de ces CORMs en chimie et même en science de manière générale (Figure 84).

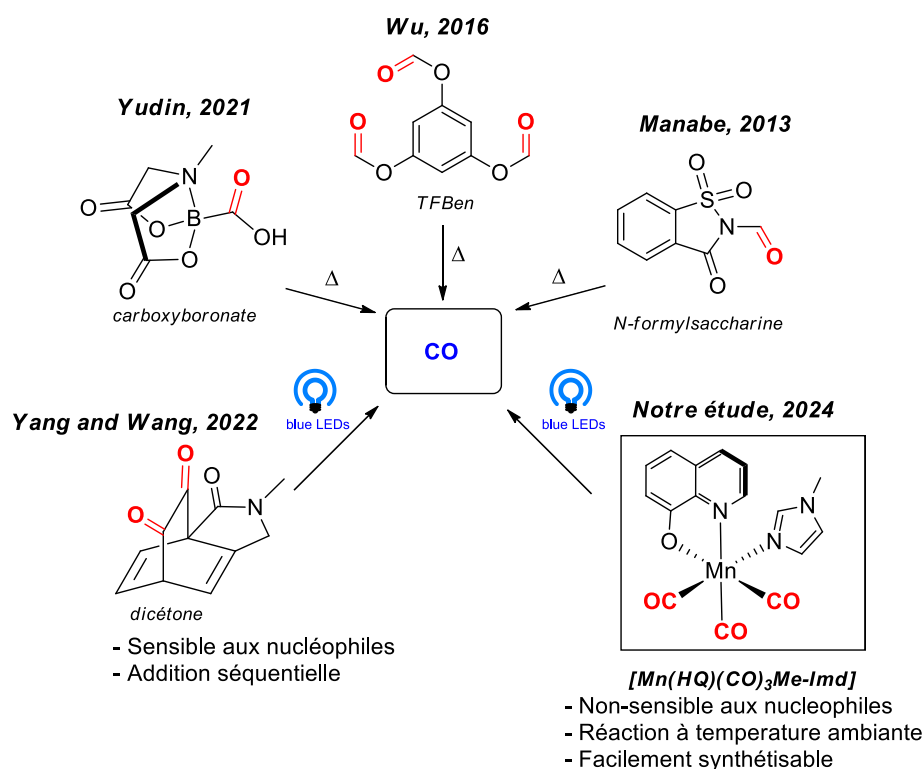


Figure 84. Présentation des différents substitués de CO développés ces 10 dernières années.

Le choix du substitut s'est porté sur le complexe **2** par rapport aux autres analogues synthétisés, ce dernier a été motivé par la simplicité d'accès au niveau de sa synthèse mais également au caractère inerte du groupement méthyle vis-à-vis d'une réaction de carbonylation en comparaison des fonctions allyle et hydroxyle. La partie qui suit traitera de l'utilisation du complexe **2** dans le cadre de réactions d'aminocarbonylation catalysées au palladium. Dans un premier temps, l'optimisation du protocole sera présentée, suivie de sa compatibilité sur une large variété d'amines et d'iodures d'aryle.²³⁹

5.3 Développement de la réaction d'aminocarbonylation *via* l'utilisation du complexe $[Mn(8-HQ)(CO)_3Me-Imd]$

5.3.1 Optimisation du protocole

Avant même d'optimiser le protocole, la première étape consiste en la vérification de la faisabilité de la réaction à travers un montage simple à mettre en œuvre (Figure 85).

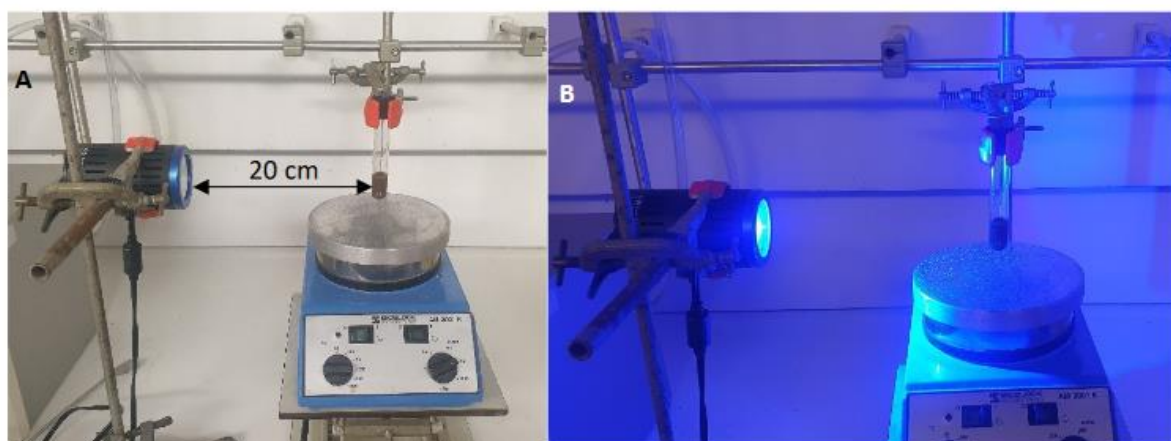


Figure 85. Montage de la réaction de carbonylation photoinduite. **A.** Montage sans irradiation lumineuse. **B.** Montage de la réaction sous irradiation à 450 nm.

Pour la réaction test, la 4-iodoacétophénone et la pipéridine ont été sélectionnées comme substrats modèles. Les deux partenaires ont été engagés en présence de 0,5 équivalent du complexe **2**, 5 mol% de palladium(0) tétrakistriphénylphosphine ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$) et la triéthylamine comme base dans l'acétonitrile. A l'issue de cette réaction, le produit d'aminocarbonylation a été obtenu, cependant, le produit de dicarbonylation a également été récupéré, ainsi que l'acétophénone correspondant à la réaction de déshalogénéation de l'iodure d'aryle (Schéma 40).

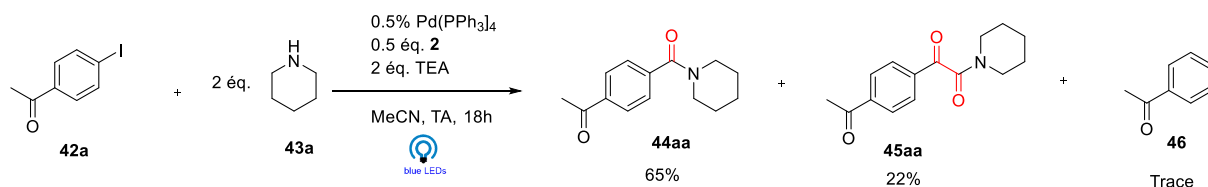


Schéma 40. Réaction test d'aminocarbonylation photoinduite catalysée au palladium avec le complexe **2** comme source de CO.

Ce phénomène s'expliquerait par le caractère très réducteur du $\text{Mn}(\text{I})$ formé après perte des CO. C'est pourquoi, afin d'éviter cette réaction secondaire, l'idée a été d'utiliser le TEMPO comme accepteur sacrificiel d'électrons. Dans ces conditions, une légère augmentation du rendement est observée, cependant le substrat n'est pas complètement converti. En changeant de source de palladium pour du palladium (II) $[\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$, une augmentation du rendement ainsi qu'une conversion complète sont observées, néanmoins la formation de produit de dicarbonylation est toujours constatée. L'utilisation des phosphines bidentes telles que la 1,2-bis(diphénylphosphino)ethane (dppe), 1,2-bis(diphénylphosphino)propane (dppp) ou encore la 1,10-bis-(diphénylphino)ferrocène (dppf) (Figure 86) s'est montré être défavorable pour la catalyse, avec une chute drastique des rendements.

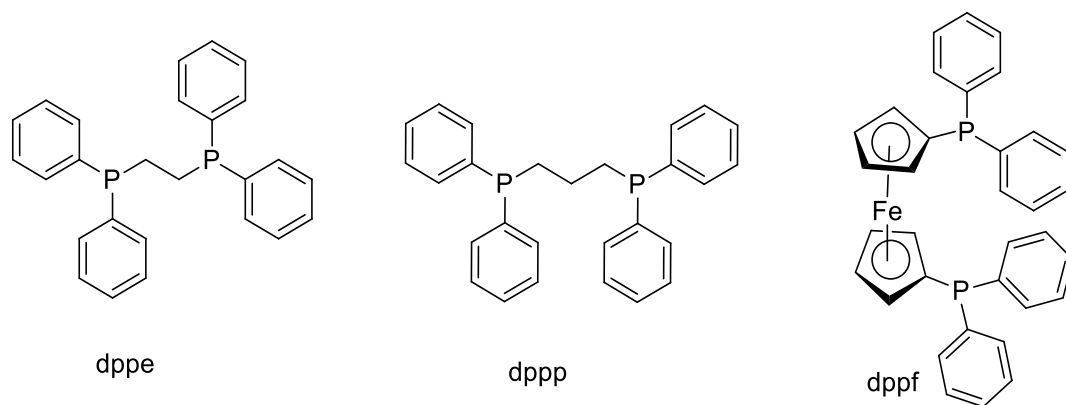


Figure 86. Structure des différentes phosphines testées.

Un autre paramètre essentiel est le choix de la base. En effet lorsque la TEA est remplacée par du DABCO ou du carbonate de potassium, aucune formation de produit de dicarbonylation est observée, cependant entre 20 et 30 % de substrat restent à l'issue de la réaction. Toutefois, lorsque la DBU est utilisée, un meilleur rendement et une meilleure conversion sont observés. Différents solvants ont également été testés, en l'occurrence le 1,4-dioxane, le THF ainsi que le toluène. Les trois ont donné de très bons résultats avec de bons rendements, de bonnes conversions et également aucune formation de produit de dicarbonylation. Ce résultat a montré que les solvants organiques standards sont tout à fait compatibles avec la réaction de carbonylation. Le pourcentage molaire en catalyseurs a été évalué, et ici, une diminution du rendement et de la conversion sont observés lorsque le pourcentage diminue. Plusieurs réactions contrôles ont également été réalisées. La réaction a été réalisée dans le noir, et comme attendu, aucune réaction n'a eu lieu, l'iodure d'aryle a été récupéré en totalité. Afin de vérifier la nécessité de l'irradiation, un test à la lumière de la pièce (lumière ambiante) a été effectué, et dans ce dernier, une très faible conversion d'environ 20% est observée (Tableau 13). Ce protocole s'est également révélé être compatible avec une synthèse à l'échelle du gramme sans réellement affecter le rendement.

Expérience	Solvant	Base	Source de Pd	Additif	Rendement en 44aa ^a	Rendement en 45aa ^a	42a ^a
1	CH ₃ CN	Et ₃ N	Pd(PPh ₃) ₄ 5%	/	65%	22%	/
2	CH ₃ CN	Et ₃ N	Pd(PPh ₃) ₄ 5%	TEMPO	72%	13%	14%
3	CH ₃ CN	Et ₃ N	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ 5%	TEMPO	87%	11%	/
4	CH ₃ CN	Et ₃ N	PdCl ₂ (dppf) 5%	TEMPO	22%	/	75%
5	CH ₃ CN	Et ₃ N	PdCl ₂ (dppp) 5%	TEMPO	46%	8%	45%
6	CH ₃ CN	Et ₃ N	PdCl ₂ (dppf) 5%	TEMPO	72%	10%	11%
7	CH ₃ CN	DABCO	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ 5%	TEMPO	68%	/	27%
8	CH ₃ CN	K ₂ CO ₃	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ 5%	TEMPO	69%	/	18%
9	CH₃CN	DBU	PdCl₂(PPh₃)₂ 5%	TEMPO	92% (86%^b, 87%^c)	/	4%
10	1,4-dioxane	DBU	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ 5%	TEMPO	86%	/	3%
11	THF	DBU	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ 5%	TEMPO	77%	/	4%
12	Toluène	DBU	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ 5%	TEMPO	83%	/	12%
13	CH ₃ CN	DBU	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ 2%	TEMPO	40%	/	56%
14	CH ₃ CN	DBU	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ 1%	TEMPO	28%	/	53%
15	CH ₃ CN	DBU	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ 5%	/	43%	/	/
16^d	CH ₃ CN	DBU	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ 5%	TEMPO	/	/	98%
17^e	CH ₃ CN	DBU	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ 5%	TEMPO	16%	/	80%

Tableau 13. Optimisation de la réaction d'aminocarbonylation photoinduite catalysée au palladium avec comme source de CO le complexe 2. ^a Rendement RMN, le 1,3,5-triméthoxybenzène est utilisé comme étalon. ^b Rendement isolé. ^c Rendement isolé pour la manipulation à l'échelle du gramme. ^d Sans irradiation, dans l'obscurité. ^e Lumière de la pièce, sans irradiation à 450 nm.

Au bilan de ces étapes d'optimisation, le protocole retenu pour la réaction de carbonylation utilise [PdCl₂(PPh₃)₂] comme source de palladium, la DBU comme base et le TEMPO comme

additif qui fait office d'accepteur sacrificiel d'électrons. Du point de vue du mécanisme, comme la plupart des couplages pallado-catalysés, le catalyseur réactif est le palladium (0) subit une addition oxydante par l'iodure d'aryle entraînant la formation d'un complexe intermédiaire de palladium(II) **A**. Le CO généré par le complexe **2** s'insère ensuite dans la liaison Csp²-palladium formant ainsi un ligand acyle et ainsi le complexe intermédiaire **B**. S'en suit une substitution de ligand, où l'iode est remplacé par l'amine assistée par la présence de la base, permettant ainsi la formation de l'intermédiaire **C**. La dernière étape est l'élimination réductrice entraînant la formation du produit de carbonylation et régénérant le catalyseur (Schéma 41).

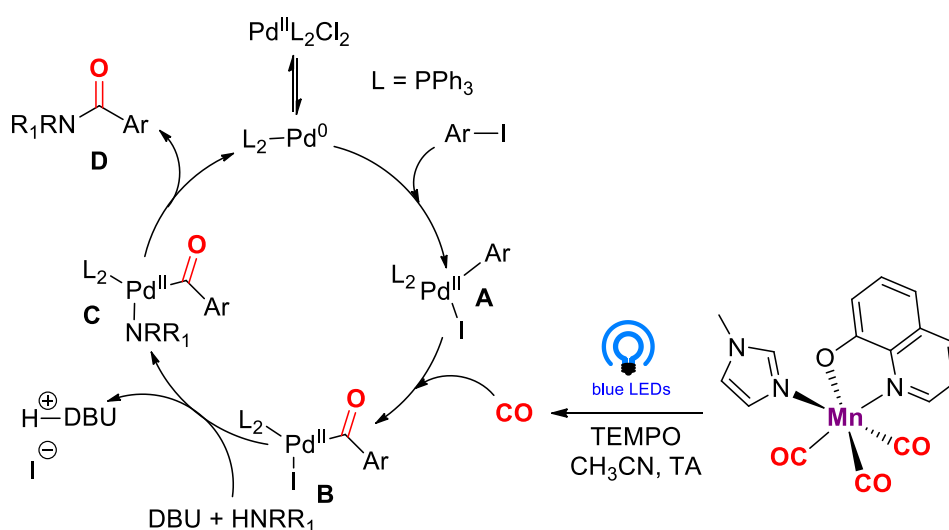


Schéma 41. Cycle catalytique de la réaction d'aminocarbonylation catalysée au palladium avec comme substitut de CO le complexe **2**.

L'un des autres avantages de cette méthode est l'utilisation d'une quantité sous-stœchiométrique de complexe de manganèse du fait de la libération de 3 moles de CO par mole de complexe. De plus, le Mn(II) formé à l'issue de la réaction peut être éliminé par simple lavage aqueux, facilitant ainsi grandement l'étape de purification.

Un fois les conditions optimales déterminées, les étapes suivantes vont consister en l'exemplification des iodures d'aryle compatibles ainsi que les dérivés amines.

5.3.2 Exemplification des substrats

Dans un premier temps, une large variété d'iodures d'aryle a été testée avec la pipéridine comme nucléophile fixe. Une large variété de dérivés aryles a été engagée et tous se sont révélés être compatibles avec la méthode. Les iodures d'aryle para-substitués par des halogènes ont pu

être convertis et isolés avec de très bons rendements montrant de la même manière, la très bonne chimiosélectivité de la réaction car en effet, même lorsque les halogènes en para sont un chlore ou un brome, la réaction n'a lieu que sur la partie iodo, ce qui peut permettre d'envisager une seconde fonctionnalisation *via* un couplage palladié sur les positions bromo et chloro restantes. Un résultat intéressant a été également observé sur le dérivé 1,4-diiodobenzène, où une double fonctionnalisation a pu être effectuée permettant l'obtention du diamide correspondant avec un rendement de 56 %. Lorsque des groupements électroattracteurs tels que le trifluorométhyle, cyano, ester ou encore nitro sont positionnés en position para, de très bons rendements sont observés. Toutefois, dans le cas de iodoaryles ortho-substitués, des rendements plus faibles sont constatés, ceci étant dû à la plus faible réactivité de ces derniers à cause de l'encombrement stérique induit par le groupement en position ortho (Schéma 42).

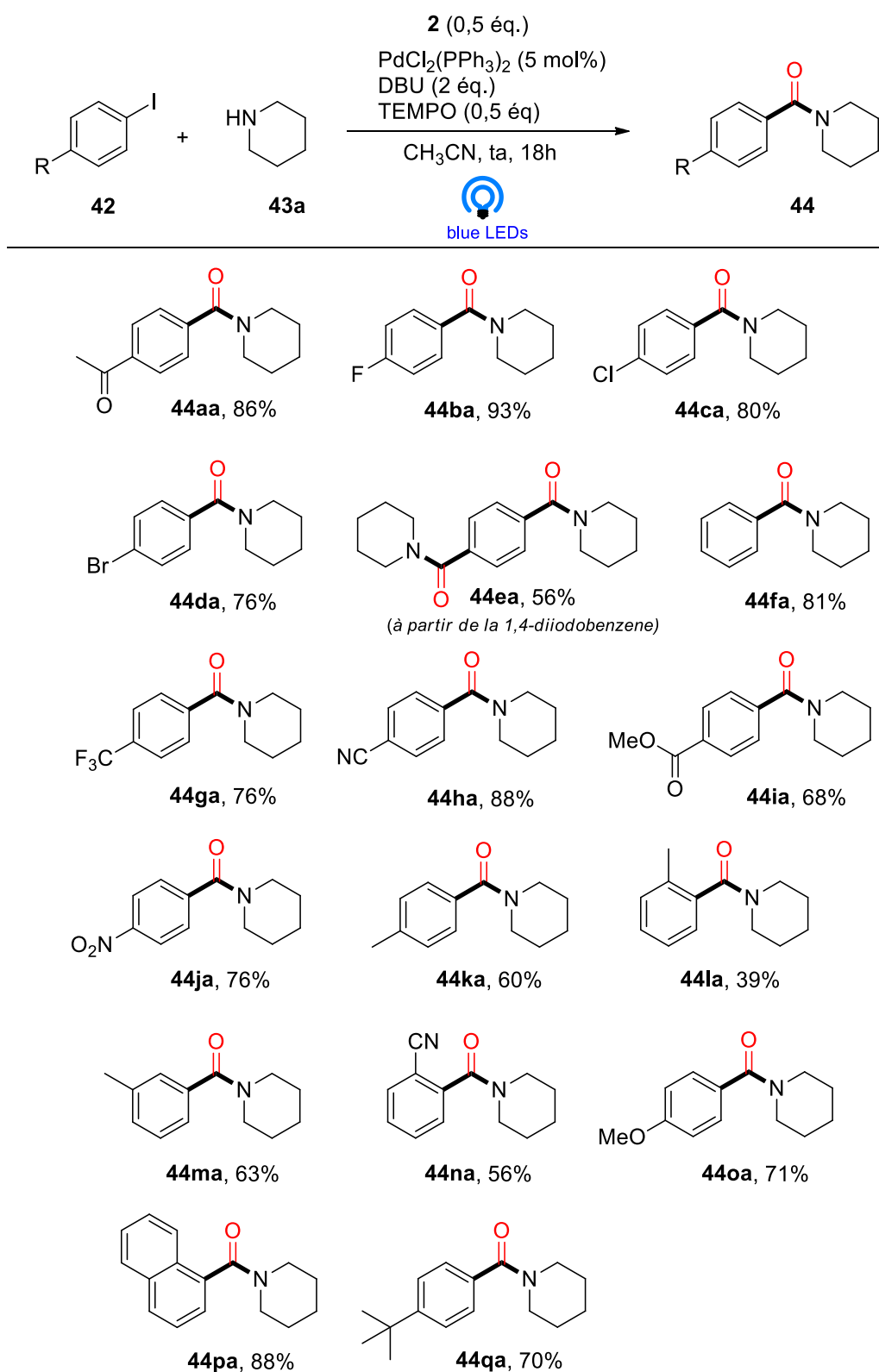


Schéma 42. Exemplification des iodoaryles pour la réaction d'aminocarbonylation catalysée au palladium, à partir de la pipéridine **43a** et le complexe **2** comme substitut de CO.

L'exemplification des amines a été effectuée en maintenant comme électrophile le 4-iodobenzonitrile. Les amines cycliques telles que la pyrrolidine et la morpholine ont permis d'obtenir les amides correspondants avec de bons rendements. Les amines secondaires telles

que la diéthylamine permettent également la formation du produit souhaité, cependant lorsque l'amine devient trop encombrée comme dans le cas de la diisopropylamine aucune réactivité n'est observée, et l'amide correspondant n'est pas formé. Les amines primaires testées, la phenyléthylamine, la benzylamine l'isopentylamine ont montré une réactivité plus modérée avec des rendements légèrement plus faibles mis à part pour la butan-2-amine pour laquelle l'amide correspondant est obtenu avec un très bon rendement. Dans le cas d'amines primaires encombrées comme l'adamantylamine ou encore la tert-butylamine, une diminution du rendement est également observée, ce qui était attendu du fait d'une diminution de la nucléophilie. La grande limitation se trouve être les amines aromatiques comme l'aniline et la para-methoxyaniline, pour lesquelles, aucune réactivité n'est observée (Schéma 43).

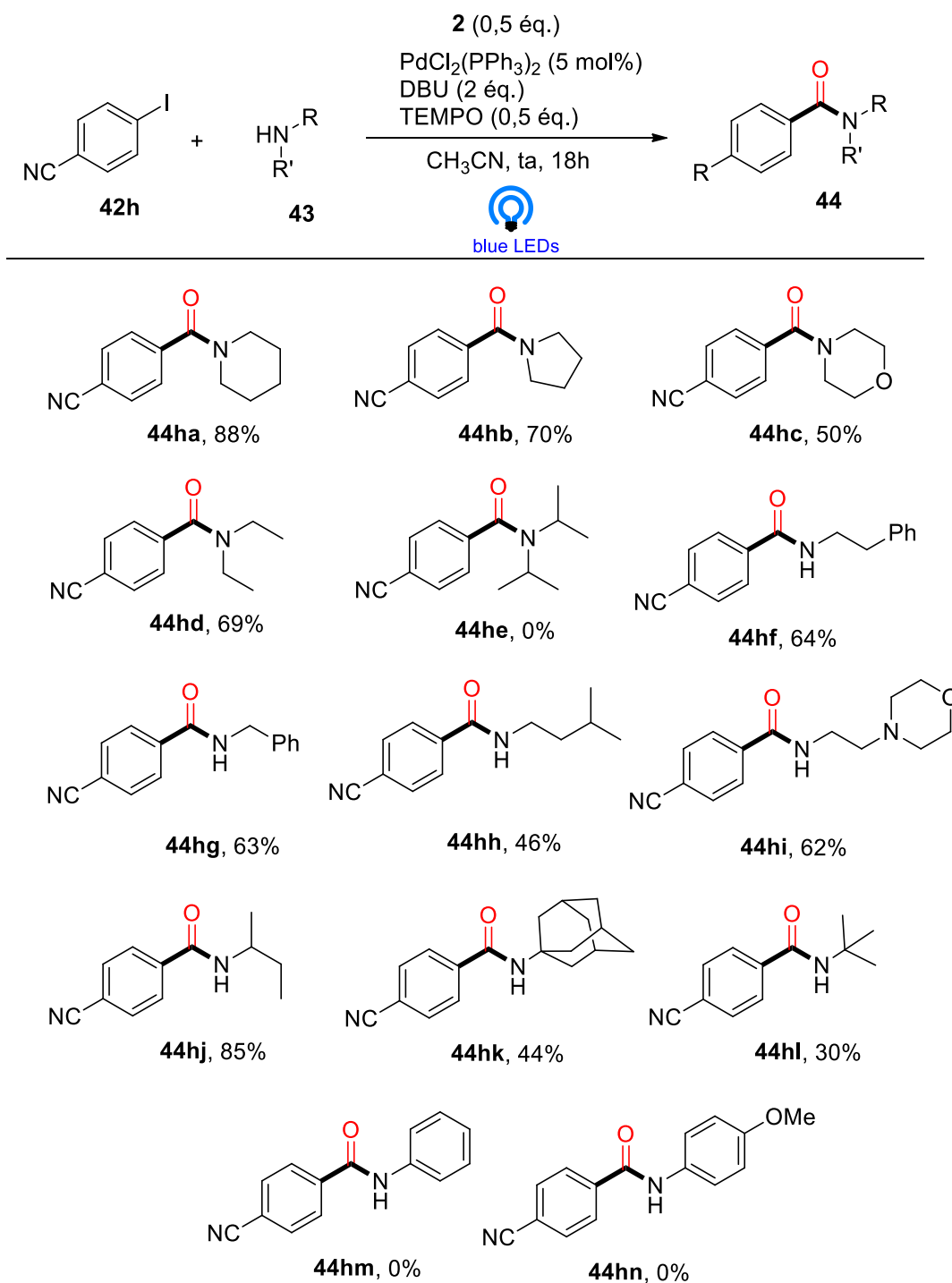


Schéma 43. Exemplification des amines pour la réaction d'aminocarbonylation catalysée au palladium, à partir du 4-iodobenzonitrile **42h** et le complexe **2** comme substitut de CO.

Afin de prouver l'utilité synthétique de cette méthode, ce même protocole a été appliqué à la synthèse du moclobémide qui est un composé pharmacologiquement actif, inhibiteur de la monoamine oxydase et utilisé pour le traitement de troubles dépressifs. Grâce à ce protocole, le

moclobémide a pu être obtenu en une étape à partir de deux composés commerciaux avec un rendement de 79% (Schéma 44).

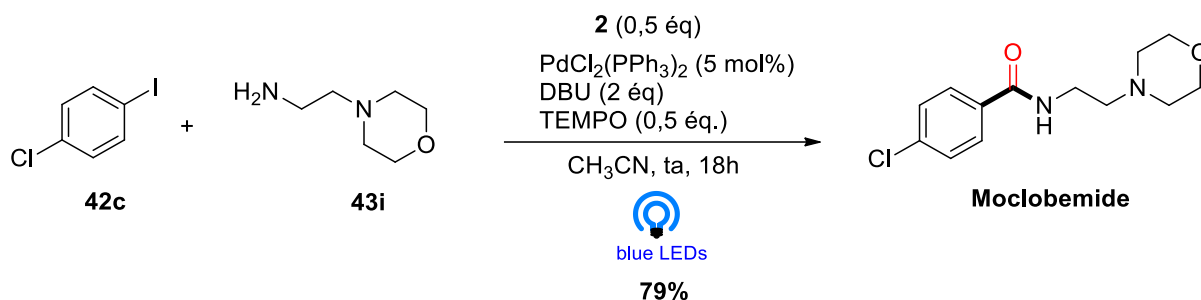


Schéma 44. Synthèse du Moclobémide par aminocarbonylation catalysée au palladium selon notre protocole.

5.3.3 Conclusion et perspectives

Pour conclure, dans ce chapitre, une nouvelle méthode d'aminocarbonylation pallado-catalysée photoinduite de dérivés iodoarènes a été présentée. En effet, les enjeux de la carbonylation ont été exposés et ont permis de constater l'importance de l'introduction de motif CO de manière générale dans la chimie que ce soit industriel ou académique. Le développement de méthodes permettant d'éviter l'utilisation de CO gazeux a été le défi de ces 20 dernières années à travers la mise en avant de substituts de CO. Même si ces molécules permettent d'effectuer des réactions de carbonylation avec de très bons rendements, elles sont soit toxiques, sensibles aux nucléophiles ou encore nécessitent d'être chauffées à haute température pour pouvoir fonctionner. C'est dans l'objectif de contourner ces inconvénients, qu'a été proposée l'utilisation du complexe **2** comme substitut de CO. En effet, ce composé est inerte vis-à-vis de pratiquement tous types de substrats, permettant ainsi une génération photoinduite de CO *in situ*. En utilisant le complexe **2** en tant que substitut de CO, une large variété de substrats a pu être convertie en amide, que ce soit avec différents iodures d'aryle ou amines. De plus, cette méthode s'est montrée être compatible pour une réaction à plus grande échelle (gramme), mais également, son intérêt a été prouvé par la synthèse du composé biologiquement actif moclobémide. Afin d'aller plus loin, les perspectives seraient d'utiliser ce photoCORM dans le cadre d'autres réactions de carbonylation palladocatalysées²³⁹(Schéma 45).

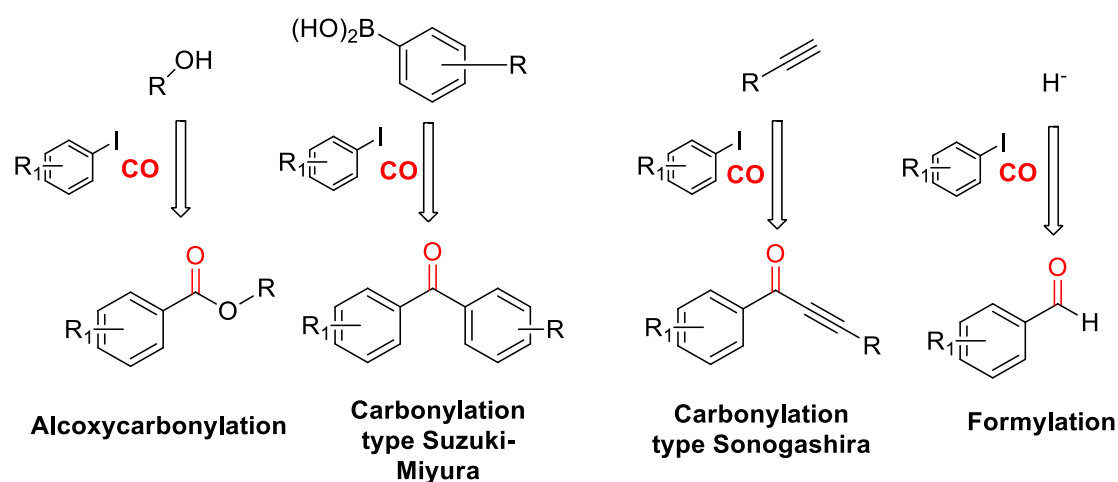


Schéma 45. Perspectives de réactions de carbonylation envisageables

Quelques résultats préliminaires ont été obtenus pour la carbonylation de type Suzuki-Miyura. Dans le cadre de la réaction de Suzuki-Miyura, une première tentative a été effectuée afin d'évaluer la faisabilité de la réaction. Pour cela, le iodobenzène et l'acide phénylboronique ont été sélectionnés comme substrats test, avec du carbonate de potassium comme base oxygénée et le toluène comme solvant. Concernant le catalyseur, le palladium(II) a été conservé ainsi, que l'utilisation de TEMPO comme accepteur sacrificiel d'électron. Selon le même principe que l'aminocarbonylation, la benzophénone correspondante a pu être obtenue avec une conversion complète (Schéma 46). Cela signifie que le composé **2** est compatible avec les conditions de réaction de Suzuki-Miyura. Il reste maintenant à optimiser certains paramètres comme la base (NaOH, tert-butanolate de sodium) ou encore le solvant.

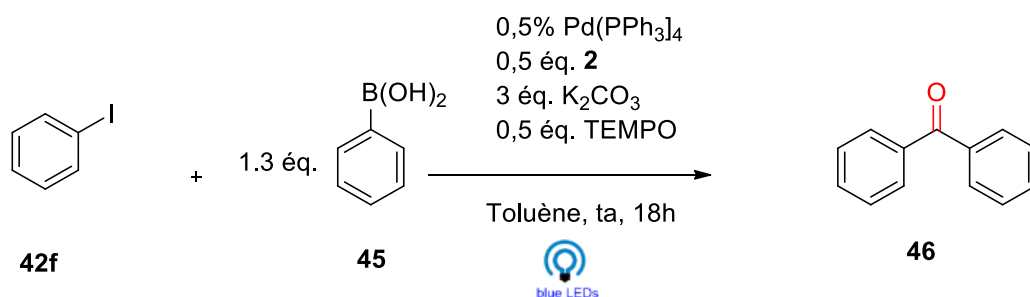


Schéma 46. Réaction test de carbonylation de type Suzuki-Miyura photoinduite catalysée au palladium avec le complexe **2** comme source de CO

5.4 Références

- [224] L. Gattermann., and J.A. Koch, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1897** 30, 1622–1624.
- [225] O. Roelen, (1938). German patent 849.548, filed 1938 and granted 1952.
- [226] P. Pal and J. Nayak, *Sep. Purif. Rev.*, **2016**, 46, 44-61.
- [227] C.M. Thomas, G. Süß-Fink, *Coord. Chem. Rev.*, **2003**, 243, 125-142.
- [228] H.J. Hagemeyer, *Chem. Abstr.*, **1956**, 50, 16835d
- [229] A. Haynes, P.M. Maitlis, G.E. Morris, G.J. Sunley, H. Adams, P.W. Badger, C.M. Bowers, D.B. Cook, P.I.P. Elliott, T. Ghaffar, H. Green, T.R. Griffin, M. Payne, J. M. Pearson, M.J. Taylor, P.W. Vickers and R. J. Watt. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 2847–2861.
- [230] I.U. Khand, G.R. Knox, P.L. Pauson, W.E. Watts and M.I. Foreman, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1973**, 1, 977–981.
- [231] A. Schoenberg, I. Bartoletti and R.F. Heck, *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 3318–3326.
- [232] N. Hussain, A.K. Chhalodia, A. Ahmed, and D. Mukherjee, *ChemistrySelect*, **2020**, 5, 11272–11290
- [233] J. Wannberg and M. Larhed, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 5750-5753.
- [234] P. Hermange, A.T. Lindhardt, R. H. Taaning, K. Bjerglund, D. Lupp, and T. Skrydstrup, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 6061–6071.
- [235] T. Ueda, H. Konishi, and K. Manabe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 8611 –8615
- [236] L.-B. Jiang, X. Qi and X.-F. Wu, *Tetrahedron Lett.*, **2016**, 57, 3368–3370
- [237] C.-H. Tien, A. Trofimova, A. Holownia, B.S. Kwak, R.T. Larson, and A.K. Yudin, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, 60, 4342-4349.
- [238] L. K. De La Cruz, N. Bauer, A. Cachuela, W. S. Tam, R. Tripathi, X. Yang and B. Wang, *Org. Lett.*, **2022**, 24, 4902–4907.
- [239] M. Annereau, M. Salmain and V. Corcé, *Chem. Commun*, **2024**, 60, 3934-3937.

Chapitre 6. Conclusion générale et perspectives

Pour conclure ce manuscrit, dans un premier temps a été présentée la problématique de l'absence de traitement efficace du carcinome hépatocellulaire en stade avancé (C et D). A partir de ce constat, la proposition d'une alternative afin d'y pallier est primordiale, et c'est pourquoi le CO est envisagé comme piste éventuelle. En effet, l'intérêt du CO en thérapie de manière générale a été présenté mais surtout son activité anti-cancéreuse a été démontrée lorsqu'il est introduit de manière contrôlée et à un dosage optimal. Cependant, son caractère gazeux rendant difficile son administration maîtrisée, les CORMs, des prodrogues permettant sa libération sous l'effet de stimuli externes ont été développés en conséquence. C'est dans cette idée qu'a été développée au sein du laboratoire une nouvelle série de CORMs photo-activables de formule **[Mn(8-HQ)(CO)₃R-Imd]**. La synthèse en deux étapes de ces derniers a été exposée dans le chapitre 2, cette dernière permet l'obtention d'une large variété de complexes portant des fonctions chimiques plus ou moins élaborées avec de bons rendements. Les études structurales et de libération de CO ont été réalisées, et ces complexes se sont montrés être des photoCORMs efficaces avec une cinétique de libération rapide sous irradiation ainsi qu'une libération des 3 CO de manière simultanée. Cependant, le devenir du complexe après irradiation n'a pas pu être déterminé avec certitude. En effet, même si l'analyse par spectrométrie de masse a permis d'observer un photo-produit de formule **[Mn(8-HQ)₂Me-Imd]** le fait que deux ligands 8-HQ soient présents autour du même manganèse implique qu'un autre se retrouve « nu » cependant la structure ou même la présence ce dernier n'ont jamais pu être démontrées. Dans un second temps, la toxicité du complexe **[Mn(8-HQ)(CO)₃Me-Imd]** sous irradiation a été confirmée par un test MTT, cependant lors du test contrôle dans le noir, ce même composé a présenté la même toxicité impliquant l'existence d'un second stimulus, qui, à la suite de différentes expériences s'est révélé être les ROS. Le ROS le plus abondant étant H₂O₂, des tests de dégradation du complexe **2** et de libération de CO en présence d'un excès de H₂O₂ ont été faits et ont confirmé le caractère ROS induit de ce CORM. En allant plus loin dans la détermination du mécanisme de libération de CO, l'implication de la 8-HQ s'est montré être essentielle dans le cadre de la libération de CO et dans la toxicité du complexe justifiant bien que le mécanisme passe par un processus d'oxydo-réduction médié par les ROS. Afin d'augmenter la toxicité ainsi que la sélectivité, la synthèse en 4 étapes à partir du dimère **1** de CORMs glycoconjugués a été discutée. Ces composés ont montré une cytotoxicité plus élevée sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses par rapport au composé non conjugué **2** et plus particulièrement sur les lignées du cancer du foie (HepG2 et HuH7). En termes de perspectives pour ce projet, l'idée serait

maintenant de développer des glycoCORMs multivalents afin d'augmenter la capacité d'internalisation de ces complexes par effet multivalent et ainsi augmenter la sélectivité. Pour ce faire, l'unité osidique choisie est le galactose, et la stratégie synthétique employée est celle décrite par J. Wang et collaborateurs.²⁴⁰ Ici, le tris(hydroxyméthyl)aminométhane (Tris) est protégé par un groupement Boc afin d'obtenir l'amine protégée **48**. Une réaction de type Williamson est ensuite effectuée entre les fonctions hydroxyles du Tris protégées et 6 équivalents de bromure de propargyle en présence de potasse, permettant ainsi l'obtention du composé **49** avec un rendement de 45%. En parallèle, le galactose bromé **23** est engagé dans une réaction de substitution nucléophile en présence de 1,1 équivalents d'azoture de sodium formant ainsi le dérivé azoturé **47** isolé avec un rendement de 50%. Afin de rassembler les sucres sur la plateforme, une réaction de « click-chemistry » a été effectuée et a permis d'obtenir le produit souhaité **50** avec un rendement de 91% (Schéma 47).

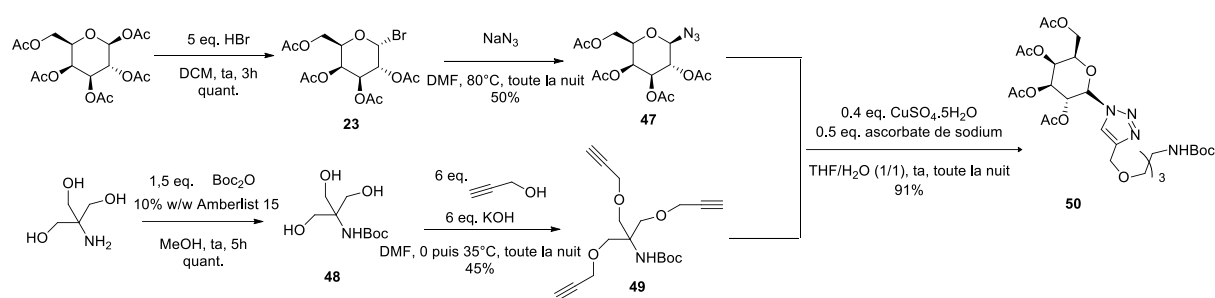


Schéma 47. Schéma de synthèse de la plateforme trivalente **50**.

Afin d'obtenir le complexe final, la stratégie sera dans un premier temps de déprotéger l'amine par l'acide trifluoroacétique (TFA), d'effectuer ensuite un couplage entre l'amine et un chlorure d'acyle (chlorure de 2-chloroacétyle) et terminer par une substitution nucléophile entre la *N*-aminoethyl-imidazole afin d'obtenir le ligand trivalent. Les étapes suivantes consisteront en la même complexation que celle développée au cours de cette thèse, suivie de la déprotection des acétates par la soude (Schéma 48).

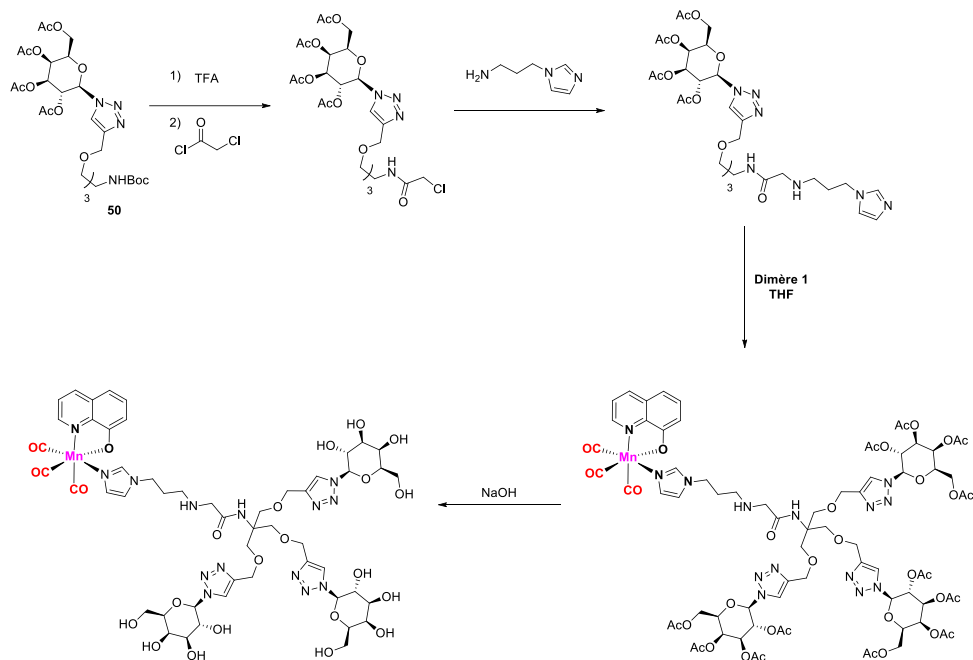


Schéma 48. Suite synthétique hypothétique du glycoCORM trivalent à partir de **50**.

Une autre perspective serait de changer de série de complexes en développant de nouveaux photoCORMs mais cette fois-ci insensibles aux ROS, et photoactivables *via* une irradiation dans le rouge ou l'infrarouge. Pour ce faire, la stratégie d'annihilation triplet-triplet est envisagée. Dans ce processus, comme expliqué dans le chapitre 1, un photon de faible énergie est converti en photon de haute énergie à travers des échanges d'énergie entre un photosensibilisateur et un annihilateur. Les complexes de formule $[\text{Mn}(\text{X})\text{bpy}(\text{CO})_3]$ sont envisagés comme CORMs et le système photosensibilisateur-annihilateur choisi est le système BODIPY-anthracène (Figure 87).

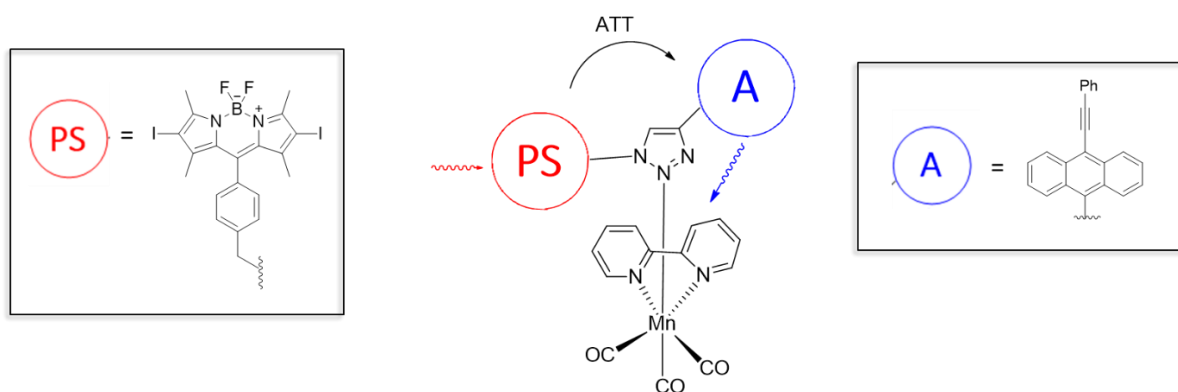


Figure 87. Structure du complexe envisagé pour la stratégie d'up-conversion par annihilation triplet-triplet avec les motifs BODIPY comme photosensibilisateur (PS) et phenyl-anthracène comme annihilateur (A).

Partie expérimentale

Partie expérimentale

6.1 General information

All commercial reagents were used without further purifications. Reactions were performed under argon using standard Schlenk techniques. Brown glassware was employed for the synthesis of the CORMs and usual glassware was used for the synthesis of ligands. Manganese pentacarbonyl bromide ($[\text{Mn}(\text{CO})_5\text{Br}]$) was purchased from Strem Chemicals. Sodium 8-hydroxyquinolate ligand was synthesized as described by J.R. Marshall²⁴¹. Solvents were freshly distilled before use, according to standard procedures. All analysis under irradiation have been performed using a Kessil lamp A160WE tuna blue model ($\lambda = 450 \text{ nm}$, 20 mW/cm^2 at 20 cm). Infrared (IR) spectra were recorded on a Bruker Tensor 27 (equipped with ATR accessory, Pike) FT-IR spectrometer. ^1H , ^{19}F , and ^{13}C NMR spectra were recorded at room temperature at 400 or 300, 377, and 100 or 75 MHz respectively, on Bruker AVANCE 400 or Bruker AVANCE 300 spectrometers. Chemical shifts (δ) are reported in ppm and coupling constants (J) are given in Hertz (Hz). Abbreviations used for peak multiplicity are: s (singlet); bs (broad singlet); d (doublet); t (triplet); q (quartet); quint (quintet); sept (septet); m (multiplet). Thin layer chromatography (TLC) was performed on Merck silica gel 60 F 254 and revealed with a UV lamp ($\lambda = 254 \text{ nm}$) and KMnO_4 or vanillin staining. Flash Column Chromatography was conducted on silica Geduran[®] Si 60 Å ($40 - 63 \mu\text{m}$). High resolution mass spectrometry was performed a LTQ Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific) instrument equipped with an electrospray ion source in the positive mode.

DFT calculations were performed with the GAUSSIAN 16 software. The level of theory PBE0/Def2-TZVP was applied for geometry optimizations, frequency and single-point energy calculations. The polarizable continuum model (PCM) was used to mimic the MeCN solvent effect. The same method was applied for time-dependent (TD)-DFT calculations. Transitions associated to specific excited states are qualitatively described using natural transition orbitals (NTOs). Computed structures shown in this work are depicted using the Chemcraft software.

In situ IR was performed with a React-IR 15 apparatus (Mettler Toledo) equipped with an MCT detector using HappGenzel apodization to collect IR spectra. The instrument was fitted with a DiComp (diamond) probe connected via $6 \text{ mm} \times 1.5 \text{ m}$ silver halide fiber. All data was collected at 8 cm^{-1} resolution from 4000 to 650 cm^{-1} . Scan intervals ranged from 0.5 to 1 min. An air

background was collected prior to the experiments, and Mettler Toledo iCIR version 4.3 was used for instrument control and data analysis.

HPLC was performed on an instrument comprising PU- 2080 and PU-2087 pumps and UV-2075 detector (Jasco) using a Nucleodur C18ec column, 5 μm , 150 x 4.6 mm, 100 Å (Macherey-Nagel) with H₂O/MeOH 3:7 as mobile phase at 0.8 mL/min with detection set at 254 nm. Injection volume: 20 μL of a 100 μM solution in MeOH.

X-band electron paramagnetic resonance (EPR) spectra were recorded in non-saturating conditions on a Bruker ELEXSYS 500 spectrometer equipped with an Oxford instrument continuous-flow liquid-helium cryostat and a temperature control system. Typical conditions were 20 K, 1G amplitude modulation, 9.40 GHz, microwave power 1.26 mW.

The myoglobin assay was used to study CO release from the CORMs. In the assay, conversion from deoxy-myoglobin (deoxy-Mb) to carbonmonoxy-myoglobin (MbCO) is monitored spectroscopically. The amount of CO liberated is quantified by measuring the absorbance of the MbCO Q band at 540 nm and then fitting this data with Excel, from which the amount of CO equivalents released per mole of metal complex and the half-life can be calculated. For a typical measurement, a few crystals of myoglobin were dissolved in a few hundred microliters of 0.1 M phosphate buffer (PBS, pH = 7.3), placed in a quartz cuvette, and degassed with argon. Subsequently, an excess of sodium dithionite was added to convert Mb to deoxy-Mb and the concentration of deoxy-Mb determined spectrophotometrically at 560 nm using an extinction coefficient of 13 800 L.mol⁻¹.cm⁻¹.

The MTT assay was carried out to determine the cytotoxicity of the compounds. Cells (4000/well in 100 μL medium (DMEM (10% FBS and 1% kanamycin) for MDA-MB-231, A549, HepG2 and HuH7) and DMEM F12 (5% horse serum, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ insulin, 20 ng/mL EGF, 100 ng/mL cholera toxin and 500 ng/mL hydrocortisone) for MCF-10A)) were seeded in a 96-well plate and incubated for 24 h. Then, the medium was removed and freshly prepared solutions of compounds (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56, 0.78 and 0.39 μM) in DMEM or DMEM-F12 were added and incubated for 72 h (total volume 100 $\mu\text{L}/\text{well}$) at 37°C under 5% CO₂. Subsequently, 10 μL of a 5 mg/mL solution of MTT was added, and the plate was incubated for an additional 2-3 h. The DMEM/MTT or DMEM-F12/MTT mixture was removed and 100 μL of DMSO was added to dissolve the resulting formazan crystals. The absorbance at 570 nm of the solution in each well was read using a Thermo Fisher Scientific Varioskan LUX microplate plate reader. Absorbance values were normalized to control wells and plotted as

concentration of test compound versus % cell viability. IC₅₀ values were interpolated from the resulting dose-dependence curves. The reported IC₅₀ values are the average from at least three experiments, each of which consisted of three replicates per concentration level.

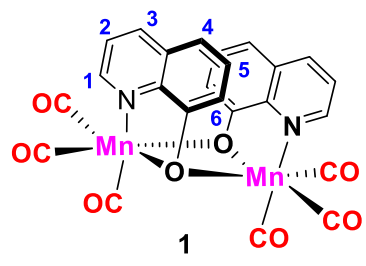
For the GLUT mediated cytotoxicity analysis, Huh-7 cells were seeded at 8000 cells/well in 100 μ L of DMEM and incubated for 24 h. Next, the medium was replaced by a glucose-free DMEM and the cells were incubated for an additional 2 h. The medium was then removed, and freshly prepared solutions of compounds in DMEM with quercetin (20 μ M) were introduced and the plates were incubated for 72 h at 37° under 5% CO₂. The cell viability was determined by the MTT assay in the same way as described above.

6.2 Synthesis and characterization of compounds.

Compounds **10**, **11**, **12** and **14** were synthesized according to protocols described in the literature¹⁰⁴⁻¹⁰⁶.

6.2.1 PhotoCORMs

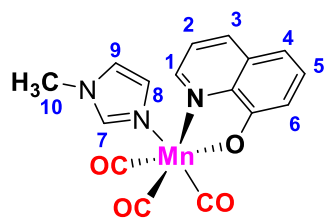
Compound 1 [Mn₂(8-HQ)₂(CO)₆]



Sodium 8-hydroxyquinolinolate (1 equiv., 8.05 mmol, 1.42 g) was solubilized in THF (25 mL) at room temperature and manganese pentacarbonyl bromide ([Mn (CO)₅Br]) (1 equiv., 8.05 mmol, 2.336 mg) was added in one portion. The solution was stirred under argon for 4 h at room temperature with exclusion of light. Sodium bromide was filtered off and rinsed with THF (2 mL). The solvent was removed by rotatory evaporation with the heating bath at 25 °C to afford a yellow solid. The product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 99:1) yielding the dimer **1** as a yellow powder (1.39 g, 57%). Slow diffusion of pentane into a dichloromethane solution of **1** afforded yellow blade-like crystals suitable for X-ray diffraction analysis.

RP-HPLC: retention time, 5.7 min; purity, 92.4%. **¹H NMR (400 MHz, Methylene Chloride-d₂)** δ 7.94 (dd, J = 4.9, 1.4 Hz, 2H, H₁), 7.68 (dd, J = 8.4, 1.4 Hz, 2H, H₃), 7.48 (t, J = 7.9 Hz, 2H, H₅), 7.39 (dd, J = 7.7, 1.2 Hz, 2H, H₄), 6.93 (dd, J = 8.0, 1.2 Hz, 2H, H₆), 6.79 (dd, J = 8.3, 4.9 Hz, 2H, H₂) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, Methylene Chloride-d₂)** δ 168.1, 151.4, 144.5, 137.0, 129.5, 128.8, 122.1, 117.6, 116.3 ppm. **IR (v, cm⁻¹):** 2031, 2016, 1926, 1893, 1759. **HRMS (ESI⁺),** m/z calcd. For [M+H⁺] C₂₄H₁₂Mn₂N₂O₈H 566.9427 found 566.9417.

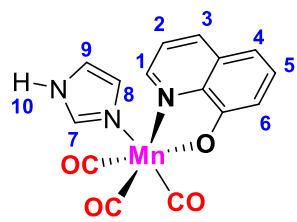
Compound 2 [Mn(8-HQ)(CO)₃Me-Imd]



A mixture of [Mn₂(8-HQ)₂(CO)₆] (1 equiv., 0.3 mmol, 181 mg) and 1-methylimidazole (2 equiv., 0.6 mmol, 72 μL) in THF (3 mL) was stirred for 2 h. The solvent was removed under vacuum, and the residue was washed thoroughly with pentane. The product was purified by silica gel chromatography (cyclohexane/ethyl acetate 4:6) to yield the complex **2** as a yellow powder (181 mg, 77%). Slow diffusion of pentane into a dichloromethane solution of **2** afforded yellow blade-like crystals suitable for X-ray diffraction analysis.

RP-HPLC: retention time, 5.75 min; purity, 99.9%. **λ_{max} (nm) (ε [M⁻¹ .cm⁻¹]) in CH₃CN:** 346 (4060), 433 (2700). **¹H NMR (300 MHz, Chloroform-d)** δ 8.93 (d, J = 4.5 Hz, 1H, H₁), 8.06 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H₃), 7.37 (m, 2H, H₄, H₇), 7.32–7.27 (m, 1H, H₂), 7.05 (m, 1H, H₄), 6.94 (s, 1H, H₉), 6.83 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H₆), 6.65 (s, 1H, H₈), 3.49 (s, 3H, H₁₀) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-d)** δ 147.6, 138.7, 137.0, 130.3, 130.25, 130.1, 121.5, 121.0, 109.4, 34.4 ppm. **IR (v, cm⁻¹):** 2026, 1925, 1905. **HRMS (ESI⁺),** m/z calcd. for [M+H⁺] C₁₆H₁₃MnN₃O₄H 366.02810 found 366.02813.

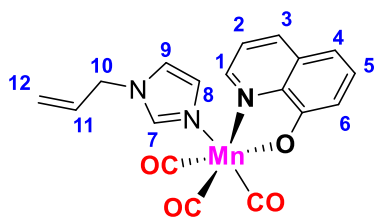
Compound 3 [Mn(8-HQ)(CO)₃H-Imd]



A mixture of $[\text{Mn}_2(8\text{-HQ})_2(\text{CO})_6]$ (1 equiv., 0.18 mmol, 104.6 mg) and imidazole (2.1 equiv., 0.38 mmol, 226 mg) in THF (6 mL) was stirred for 2 h. The solvent was removed under vacuum, and the residue was washed thoroughly with pentane to afford complex **3** as a yellow powder (83 mg, 67%). Slow diffusion of pentane into a dichloromethane solution of **3** afforded yellow blade-like crystals suitable for X-ray diffraction analysis.

RP-HPLC: retention time, 5.76 min; purity, 99.0%. λ_{max} (nm) (ϵ [$\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]) in CH_3CN : 348 (6800), 435 (4600). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.51 (s, 1H, NH), 9.00 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, H_1), 8.24 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H_3), 7.71 (s, 1H, H_7), 7.47 (dd, $J = 8.4, 4.7$ Hz, 1H, H_2), 7.28 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, H_5), 7.05 (s, 1H, H_9), 6.96–6.52 (m, 3H, $\text{H}_4, \text{H}_6, \text{H}_8$) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 169.3, 148.2, 143.5, 137.1, 137.0, 129.8, 127.8, 122.3, 117.7, 113.5, 108.6 ppm. **IR** (ν, cm^{-1}): 2026, 1925, 1905. **HRMS** (ESI^+), m/z calcd. for $[\text{M}+\text{H}^+]$ $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{MnN}_3\text{O}_4\text{H}$ 352.0125 found 352.0126.

Compound 4 $[\text{Mn}(8\text{-HQ})(\text{CO})_3\text{Allyl-Imd}]$

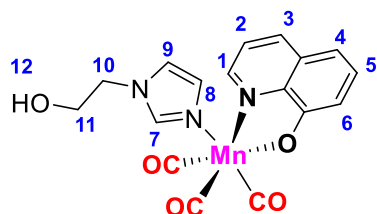


A mixture of $[\text{Mn}_2(8\text{-HQ})_2(\text{CO})_6]$ (1 equiv., 0.35 mmol, 200 mg) and allyl imidazole (2 equiv., 0.7 mmol, 75 μL) in THF (3 mL) was stirred for 3.5 h. The solvent was removed under vacuum, and the residue was washed thoroughly with pentane. The product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 98:2) to yield complex **4** as a yellow-orange powder (208 mg, 76%). Slow diffusion of pentane into a dichloromethane solution of **4** afforded yellow blade-like crystals suitable for X-ray diffraction analysis.

RP-HPLC: retention time, 5.83 min; purity, 98.8%. λ_{max} (nm) (ϵ [$\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]) in CH_3CN : 347 (5940), 433 (4000). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{Chloroform}-d$) δ 8.94 (dd, $J = 4.8, 1.4$ Hz, 1H, H_1), 8.06 (dd, $J = 8.3, 1.4$ Hz, 1H, H_3), 7.44 (s, 1H, H_7), 7.37 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, H_5), 7.31–7.27 (m, 1H, H_2), 7.03 (dd, $J = 7.9, 1.1$ Hz, 1H, H_4), 6.94 (s, 1H, H_9), 6.82 (dd, $J = 8.0, 1.0$ Hz, 1H, H_6), 6.66 (s, 1H, H_8), 5.86–5.65 (m, 1H, H_{11}), 5.19 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, H_{12a}), 4.96 (d, $J = 17.1$ Hz, 1H, H_{12b}), 4.33 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H, H_{10}) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, $\text{Chloroform}-d$) δ 169.55, 147.6, 144.5, 138.2, 137.0, 131.4, 130.35, 130.3, 130.1, 121.5, 119.9, 119.8, 114.7, 109.4, 50.4

ppm. **IR** (ν , cm^{-1}): 2020, 1920, 1897. **HRMS** (ESI^+), m/z calcd. for $[\text{M}+\text{H}^+]$ $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{MnN}_3\text{O}_4\text{H}$ 392.0438 found 392.0438.

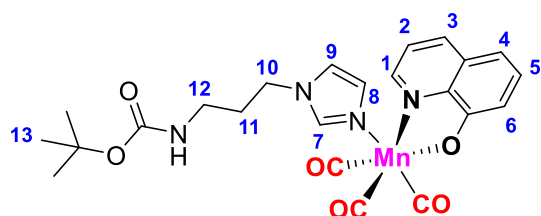
Compound 5 $[\text{Mn}(\text{8-HQ})(\text{CO})_3\text{HO-Et-Imd}]$



A mixture of $[\text{Mn}_2(\text{8-HQ})_2(\text{CO})_6]$ (1 equiv., 0.32 mmol, 181 mg) and 1-(2-hydroxyethyl)imidazole (2 equiv., 0.64 mmol, 72 mg) in THF (3 mL) was stirred for 2 h. The solvent was removed under vacuum, and the residue was washed thoroughly with pentane to yield complex **5** as a yellow powder (196 mg, 77%). Slow diffusion of pentane into a dichloromethane solution of **5** afforded yellow blade-like crystals suitable for X-ray diffraction analysis.

RP-HPLC: retention time, 5.73 min; purity, 99.9%. λ_{max} (nm) (ϵ [$\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]) in CH_3CN : 347 (5500), 433 (3650). **^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)** δ 8.99 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, H_1), 8.25 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H_3), 7.80 (s, 1H, H_7), 7.49 (dd, $J = 8.4, 4.7$ Hz, 1H, H_2), 7.29 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, H_5), 7.10 (s, 1H, H_9), 6.81 (m, 2H, H_4, H_6), 6.74 (s, 1H, H_8), 4.90 (t, $J = 5.0$ Hz, 1H, H_{12}), 3.90 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H, H_{10}), 3.51 (q, $J = 5.1$ Hz, 2H, H_{11}) ppm. **^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)** δ 169.4, 148.2, 143.6, 139.0, 137.1, 129.8, 127.8, 122.3, 121.1, 113.5, 108.6, 60.0, 49.7 ppm. **IR** (ν , cm^{-1}): 2019, 1919, 1891. **HRMS** (ESI^+), m/z calcd. for $[\text{M}+\text{H}^+]$ $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{MnN}_3\text{O}_5\text{H}$ 418.0208 found 418.0208.

Compound 6 $[\text{Mn}(\text{8-HQ})(\text{CO})_3\text{BocNH-Pr-Imd}]$

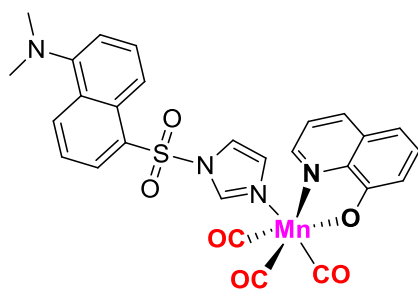


A mixture of $[\text{Mn}_2(\text{8-HQ})_2(\text{CO})_6]$ (1 equiv., 0.35 mmol, 200 mg) and 1H-imidazol-1-yl)propyl)carbamate (2 equiv., 0.7 mmol, 158 mg) in THF (3 mL) was stirred for 2 h. The solvent was removed under vacuum, and the residue was washed thoroughly with pentane. The

product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 99:1) to yield complex **6** as a yellow powder (211 mg, 59%).

RP-HPLC: retention time, 5.77 min; purity, 99.9%. λ_{max} (nm) (ϵ [$\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$]) in CH_3CN : 347 (5400), 433 (3650). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.97 (dd, $J = 4.8, 1.4$ Hz, 1H, H_1), 8.07 (dd, $J = 8.3, 1.4$ Hz, 1H, H_3), 7.49 (s, 1H, H_7), 7.38 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, H_5), 7.33–7.29 (m, 1H, H_2), 7.05 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H_4), 6.95 (s, 1H, H_9), 6.84 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H_6), 6.72 (s, 1H, H_8), 4.48 (s, 1H, NH), 3.80 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, H_{10}), 3.00–2.58 (m, 2H, H_{12}), 1.78 (m, 2H, H_{12}), 1.45 (s, 9H, H_{13}) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 169.45, 147.7, 144.4, 138.3, 137.0, 130.3, 130.3, 130.2, 121.6, 119.7, 114.55, 109.5, 77.4, 45.3, 31.1, 28.5 ppm. **IR** (ν , cm^{-1}): 2019, 1909, 1895. **HRMS** (ESI⁺), m/z calcd. For $[\text{M}+\text{H}^+]$ $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{MnN}_4\text{O}_6\text{H}$ 509.1227 found 509.1225.

Compound 7 [Mn(8-HQ)(CO)₃Dansyl-Imd]

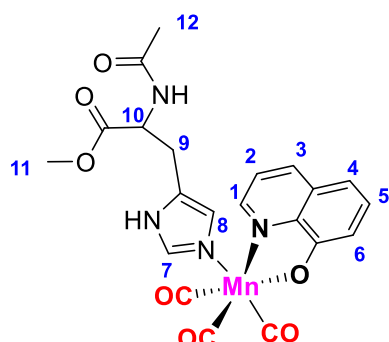


A mixture of $[\text{Mn}_2(8\text{-HQ})_2(\text{CO})_6]$ (1 equiv., 0.26 mmol, 150 mg) and dansyl-imidazole (2 equiv., 0.52 mmol, 157 mg) in THF (3 mL) was stirred for 2 h. The solvent was removed under vacuum, and the residue was washed thoroughly with pentane to yield complex **7** as a yellow powder (197 mg, 65%). Slow diffusion of pentane into a dichloromethane solution of **7** afforded yellow blade-like crystals suitable for X-ray diffraction analysis.

λ_{max} (nm) (ϵ [$\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$]) in CH_3CN : 362 (4200), 420 (1040). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, Methylene Chloride-*d*₂) δ 8.87 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 8.64 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 8.24 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.04 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.53 (t, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.47 – 7.20 (m, 3H), 7.16 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.91 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 2.86 (s, 6H) ppm. **IR** (ν , cm^{-1}): 2018, 1923, 1890. **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for $[\text{M}+\text{H}^+]$ $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{MnN}_4\text{O}_6\text{SH}$ 585.0635 found 585.0635.

Compound 8 [Mn(8-HQ)(CO)₃BODIPY-Imd]

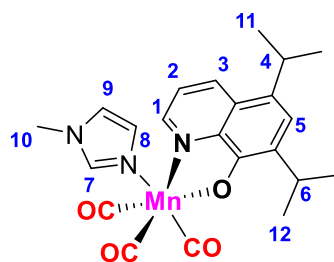
Compound 9 [Mn(8-HQ)(CO)₃NAc-His-OMe]



A mixture of [Mn₂(8-HQ)₂(CO)₆] (1 equiv., 0.34 mmol, 192 mg) and di-protected histidine (2 equiv., 0.68 mmol, 144 mg) in THF (5 mL) was stirred for 2 h under reflux. The solvent was removed under vacuum, and the residue was washed thoroughly with pentane. The product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 95:5) to yield complex **9** as a yellow powder (106 mg, 32%). Slow diffusion of pentane into a dichloromethane solution of **9** afforded yellow blade-like crystals suitable for X-ray diffraction analysis.

RP-HPLC: retention time, 5.79 min; purity, 99.9%. λ_{max} (nm) (ϵ [M⁻¹.cm⁻¹]) in CH₃CN: 347 (6060), 433 (4100). **¹H NMR (400 MHz, Methylene Chloride-*d*₂)** δ 11.87 (s, 1H, NH_{imd}), 8.95 (d, J = 4.7 Hz, 1H, H₁), 8.21–7.91 (m, 1H, H₃), 7.51–7.11 (m, 3H, H₂, H₅, H₇), 6.84 (m, 2H, H₄, H₆), 6.64 (m, 2H, NH, H₈), 4.61 (s, 1H, H₁₀), 3.49 (m, 3H, H₁₁), 3.15–2.70 (m, 2H, H₉), 1.81 (m, 3H, H₁₂) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Methylene Chloride-*d*₂)** δ 172.0, 169.1, 148.6, 144.6, 137.6, 130.8, 130.5, 127.5, 127.4, 122.3, 114.6, 110.5, 53.0, 52.9, 52.6, 28.7, 23.2 ppm. **IR (v, cm⁻¹)**: 2023, 1921, 1897. **HRMS (ESI⁺)**, m/z calcd. for [M+H⁺] C₂₁H₂₀MnN₄O₇H 495.0707 found 495.0705.

Compound 13 [Mn(5,7-diiPr-8-HQ)(CO)₃Me-Imd]

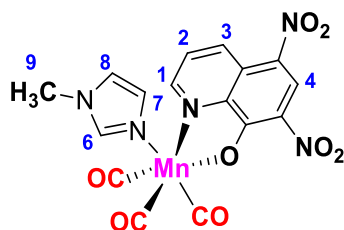


A mixture of [MnBr(CO)₅] (1 equiv., 0.55 mmol, 150 mg), Me-Imd (1 equiv., 0.55 mmol, 45 mg), KOH (1 equiv. 0.55 mmol, 31 mg) and **12** (1 equiv. 0.55 mmol, 125 mg) in DMF (5 mL)

was stirred overnight under reflux. The solvent was removed under vacuum, and the residue was dissolved in DCM and then washed with water, dried over MgSO₄ and concentrated under reduce pressure. The product was purified by silica gel chromatography (DCM) to yield complex **13** as an orange powder (137 mg, 56%).

RP-HPLC: retention time, 6.89 min; purity, 97.6%. λ_{max} (nm) (ϵ [$\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$]) in CH₃CN: 358 (4700), 460 (2800). **¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*)** δ 8.93 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, H₁), 8.31 – 8.22 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H₃), 7.41 (s, 1H, H₇), 7.30 (s, 1H, H₅), 7.21 (dd, *J* = 8.5, 4.8 Hz, 1H, H₂), 6.98 (s, 1H, H₉), 6.63 (s, 1H, H₈), 3.89 – 3.75 (m, 1H, H₄), 3.49 (s, 3H, H₁₀), 3.48 – 3.37 (m, 1H, H₆), 1.43 – 1.20 (m, 12H, H₁₁, H₁₂) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 164.3, 146.8, 144.3, 138.8, 133.7, 132.8, 130.2, 126.0, 125.6, 123.1, 120.8, 119.9, 34.4, 31.1, 27.9, 26.7, 24.4, 23.7, 22.9 ppm. **IR (v, cm⁻¹):** 2017, 1901 **HRMS (ESI⁺),** *m/z* calcd. for [M+H⁺] C₂₂H₂₄MnN₃O₄H 450.1220 found 450.1207.

Compound **15** [Mn(5,7-dinitro-8-HQ)(CO)₃MeImd]



A mixture of [MnBr(CO)₅] (1 equiv., 0.7 mmol, 200 mg), Me-Imd (1 equiv., 0.7 mmol, 58 mg), KOH (1 equiv. 0.7 mmol, 39 mg) and **14** (1 equiv. 0.7 mmol, 170 mg) in DMF (7 mL) was stirred overnight under reflux. The solvent was removed under vacuum, and the residue was dissolved in DCM and then washed with water, dried over MgSO₄ and concentrated under reduce pressure. The product was purified by silica gel chromatography (DCM) to yield complex **15** as an orange powder (283 mg, 89%). Slow diffusion of pentane into a dichloromethane solution of **15** afforded yellow blade-like crystals suitable for X-ray diffraction analysis.

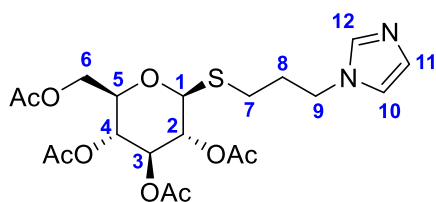
RP-HPLC: retention time, 3.87 min; purity, 98.1%. λ_{max} (nm) (ϵ [$\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$]) in CH₃CN: 283 (14400), 410 (12330). **¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)** δ 9.40 (dd, *J* = 5.0, 1.3 Hz, 1H, H₃), 9.30 (dd, *J* = 8.9, 1.3 Hz, 1H, H₁), 9.08 (s, 1H, H₄), 8.05 (dd, *J* = 8.9, 4.9 Hz, 1H, H₂), 7.86 – 7.79 (m, 1H, H₆), 7.15 (t, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₈), 6.81 (t, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₇), 3.55 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR (DMSO, 75 MHz):** δ 171.0, 152.2, 146.0, 139.8, 134.9, 131.6, 128.3, 128.3, 127.4,

126.6, 126.4, 122.7, 34.0 ppm. IR (v, cm⁻¹): 2030, 1946, 1932, 1922, 1910 HRMS (ESI⁺), m/z calcd. for [M + Na⁺] C₁₆H₁₀MnN₅O₈Na 477.9802 found 477.9796.

6.2.2 Synthesis of carbohydrate ligands

Compounds **17**, **18**, **19**, **20**, **21**, **22**, **23**, **24** and **25** were synthesized according to protocols described in the literature^{212, 216, 242}.

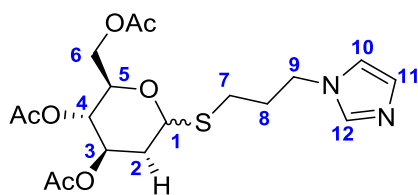
Compound 26, (2S,3R,4S,5R,6R)-2-((3-(1H-imidazol-1-yl)propyl)thio)-6-(acetoxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triyl triacetate



To a mixture of **18** (1 equiv., 1.8mmol) and **DPAP** (10 mol%) in DCM, **allyl imidazole** (0.7 equiv., 1.32 mmol) was added and the solution was put under argon atmosphere. The solution was then irradiated under stirring for 30 min at 350 nm. The complete consumption of allyl imidazole was observed by ¹H NMR. The mixture was then purified through silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 97/3) to give the desired compound **26** (594 mg, 95%) as a colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.47 (s, 1H, H₁₂), 7.04 (s, 1H, H₁₁), 6.91 (s, 1H, H₁₀), 5.20 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H, H₃), 5.09 – 4.96 (m, 2H, H₂, H₄), 4.45 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, H₁), 4.22 (dd, *J* = 12.4, 4.9 Hz, 1H, H_{6a}), 4.12 (dd, *J* = 12.4, 2.4 Hz, 1H, H_{6b}), 4.06 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, H₉), 3.68 (ddd, *J* = 10.1, 4.9, 2.4 Hz, 1H, H₅), 2.73 – 2.54 (m, 2H, H₇), 2.11 – 2.02 (m, 8H, 2xOAc, H₈), 2.01 (s, 3H, OAc), 1.99 (s, 3H, OAc) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 170.6, 170.2, 169.5, 169.5, 137.3, 129.8, 118.9, 83.6, 76.2, 73.8, 69.7, 68.3, 62.1, 45.1, 30.9, 26.7, 20.8, 20.8, 20.7, 20.7 ppm. HRMS (ESI⁺): *m/z* calculated for [M+H⁺] C₂₀H₂₈N₂O₉SH 473.1588 found 473.1581.

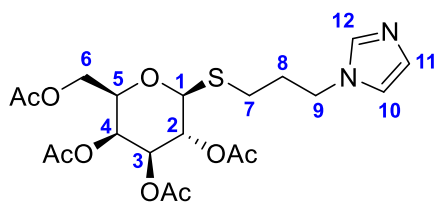
Compound 27, (2R,3S,4R,6S)-6-((3-(1H-imidazol-1-yl)propyl)thio)-2-(acetoxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4-diyl diacetate



To a mixture of **19** (1 equiv., 0.3 mmol) and **DPAP** (10 mol%) in DCM, **allyl imidazole** (0.8 equiv., 0.24 mmol) was added and the solution was put under argon atmosphere. The solution was then irradiated under stirring for 30 min at 350 nm. The complete consumption of allyl imidazole was observed by ^1H NMR. The mixture was then purified through silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 98/2) to give the desired compound **27** (134 mg, 88%) as a colorless oil.

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.43 (s, 1H, H₁₂), 7.00 (s, 1H, H₁₀), 6.88 (s, 1H, H₁₁), 5.33 (d, $J = 5.6$ Hz, 0.5H, H_{1 α}), 5.16 (m, 0.5H, H_{3 α} or H_{3 β}), 4.99 – 4.87 (m, 1.5H, H_{3 α} or H_{3 β} , H_{4 α} and H_{4 β}), 4.55 (dd, $J = 11.8, 2.0$ Hz, 0.5H, H_{1 β}), 4.31 – 4.22 (m, 1H, H_{6 α}), 4.17 (dd, $J = 12.3, 5.2$ Hz, 0.5H, H_{6 β}), 4.09 – 3.90 (m, 3H, H_{5 α} , H_{6 β} , H₉), 3.56 (dq, $J = 7.3, 2.6$ Hz, 0.5H, H_{5 β}), 2.70 – 1.70 (m, 15H, H_{2 α} , H_{2 β} , H₇, H₈, OAc _{α} and OAc _{β}) ppm. HRMS (ESI⁺): m/z calculated for [M+H⁺] C₁₈H₂₆N₂O₇SH 415.1533 found 415.1531.

Compound 28. (2S,3R,4S,5S,6R)-2-((3-(1H-imidazol-1-yl)propyl)thio)-6-(acetoxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triyl triacetate

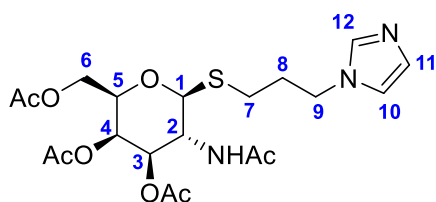


To a mixture of **20** (1 equiv., 3.0 mmol) and **DPAP** (10 mol%) in DCM, **allyl imidazole** (0.7 equiv., 2.1 mmol) was added and the solution was put under argon atmosphere. The solution was then irradiated under stirring for 60 min at 350 nm. The complete consumption of allyl imidazole was observed by ^1H NMR. The mixture was then purified through silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 99/1) to give the desired compound **28** (818 mg, 83%) as a colorless oil.

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.51 (s, 1H, H₁₂), 7.08 (s, 1H, H₁₁), 6.95 (s, 1H, H₁₀), 5.42 (dd, $J = 3.4, 1.0$ Hz, 1H, H₄), 5.21 (t, $J = 10.0$ Hz, 1H, H₂), 5.03 (dd, $J = 10.0, 3.4$ Hz, 1H,

H₃), 4.44 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, H₁), 4.18 – 4.02 (m, 4H, H₆, H₉), 3.97 – 3.87 (m, 1H, H₅), 2.75 – 2.56 (m, 2H, H₇), 2.14 (s, 3H, OAc), 2.06 (m, 5H, OAc, H₈), 2.02 (s, 3H, OAc), 1.97 (s, 3H, OAc) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 170.4, 170.1, 170.0, 169.6, 84.0, 74.6, 71.7, 67.2, 67.0, 61.5, 45.1, 30.8, 26.7, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 ppm. HRMS (ESI⁺): *m/z* calculated for [M+H⁺] C₂₀H₂₈N₂O₉SH 473.1588 found 473.1586.

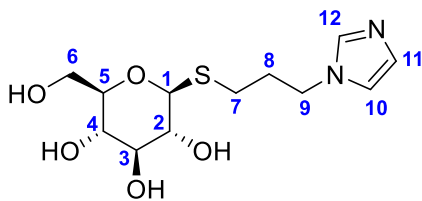
Compound 29, (2R,3R,4R,5R,6S)-6-((3-(1H-imidazol-1-yl)propyl)thio)-5-acetamido-2-(acetoxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4-diyl diacetate



To a mixture of **21** (1 equiv., 0.7 mmol) and **DPAP** (10 mol%) in DCM, **allyl imidazole** (0.7 equiv., 0.52 mmol) was added and the solution was put under argon atmosphere. The solution was then irradiated under stirring for 60 min at 350 nm. The complete consumption of allyl imidazole was observed by ¹H NMR. The mixture was then purified through silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 95/5) to give the desired compound **29** (212 mg, 87%) as a colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.51 (s, 1H, H₁₂), 7.03 (s, 1H, H₁₁), 6.93 (s, 1H, H₁₀), 6.42 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, NH), 5.36 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, H₄), 5.11 (dd, *J* = 10.8, 3.3 Hz, 1H, H₃), 4.57 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H, H₂), 4.25 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H, H₁), 4.15 – 4.02 (m, 4H, H₉, H₆), 3.93 – 3.85 (m, 1H, H₅), 2.75 – 2.60 (m, 2H, H₇), 2.14 (s, 3H, NHAc), 2.13 – 2.03 (m, 2H, H₈), 2.01 (s, 3H, OAc), 1.99 (s, 3H, OAc), 1.95 (s, 3H, OAc) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 170.7, 170.7, 170.5, 170.4, 137.4, 129.4, 119.0, 85.3, 74.7, 71.3, 67.0, 61.8, 49.4, 45.2, 30.7, 26.9, 23.4, 20.8, 20.8, 20.8 ppm. HRMS (ESI⁺): *m/z* calculated for [M+H⁺] C₂₀H₂₉N₃O₈SH 472.1748 found 472.1745.

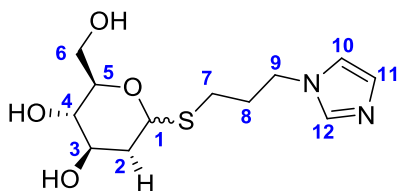
Compound 30, (2S,3R,4S,5S,6R)-2-((3-(1H-imidazol-1-yl)propyl)thio)-6-(hydroxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triol



To a solution of **26** (1 equiv., 0.75 mmol) in methanol, sodium methoxide (0.5 equiv., 0.37 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 40 min. Then, the mixture was quenched with DOWEX-H⁺ resin. After filtration, the solvent was removed by concentration under vacuum to give the corresponding unprotected glycoside **30** (228 mg, 93%) as a colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7.79 (s, 1H, H₁₂), 7.21 (s, 1H, H₁₁), 7.02 (s, 1H, H₁₀), 4.36 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H, H₁), 4.20 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H₉), 3.86 (dd, *J* = 12.0, 1.7 Hz, 1H, H_{6a}), 3.66 (dd, *J* = 12.0, 5.2 Hz, 1H, H_{6b}), 3.41 – 3.26 (m, 3H, H₃, H₄, H₅), 3.21 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H, H₂), 2.80 – 2.56 (m, 2H, H₇), 2.14 (p, *J* = 7.0 Hz, 2H, H₈) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Methanol-*d*₄)** δ 138.5, 128.5, 120.9, 87.2, 82.0, 79.6, 74.3, 71.4, 62.8, 46.6, 32.1, 27.7 ppm. **HRMS (ESI⁺):** *m/z* calculated for [M+H⁺] C₁₂H₂₀N₂O₅SH 305.1166 found 305.1165.

Compound 31, (2R,3S,4R,6S)-6-((3-(1H-imidazol-1-yl)propyl)thio)-2-(hydroxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4-diol

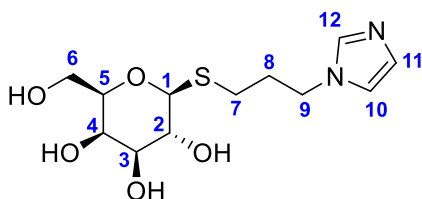


To a solution of **27** (1 equiv., 0.16 mmol) in methanol, sodium methoxide (0.5 equiv., 0.08 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 30 min. Then, the mixture was quenched with DOWEX-H⁺ resin. After filtration, the solvent was removed by concentration under vacuum to give the corresponding unprotected glycoside **31** (42 mg, 91%) as a colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7.85 – 7.65 (m, 1H, H₁₂), 7.28 – 7.11 (m, 1H, H₁₀), 7.01 (s, 1H, H₁₁), 5.39 (d, *J* = 5.0 Hz, 0.5H, H_{1α}), 4.65 (dd, *J* = 11.7, 1.9 Hz, 0.5H, H_{1β}), 4.16 (m, 2H, H₉), 3.95 – 3.50 (m, 4H, H_{3α}, H_{3β}, H_{4α}, H_{4β}, H_{6α}, H_{6β}), 3.26 – 3.16 (m, 1H, H_{5α}, H_{5β}), 2.60 (m, 2H, H₇), 2.25 – 1.90 (m, 3.5H, H₈, H_{2α}, H_{2β}), 1.58 (m, 0.5H, H_{2β}) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Methanol-*d*₄)** δ 138.2, 127.9, 121.0, 82.1, 81.4, 74.5, 73.7, 73.6, 72.9, 70.5, 63.0, 62.8, 47.1,

46.9, 40.7, 39.3, 32.0, 31.6, 28.6, 28.4 ppm. **HRMS (ESI⁺):** m/z calculated for [M+H⁺] C₁₂H₂₀N₂O₄SH 289.1217 found 289.1216.

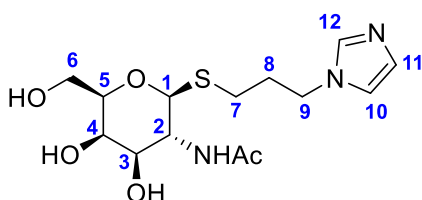
Compound 32, (2S,3R,4S,5R,6R)-2-((3-(1H-imidazol-1-yl)propyl)thio)-6-(hydroxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triol



To a solution of **28** (1 equiv, 1.35 mmol) in methanol, **sodium methoxide** (0.5 equiv., 0.67 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 2 h. Then, the mixture was quenched with DOWEX-H⁺ resin. After filtration, the solvent was removed by concentration under vacuum to give the corresponding unprotected glycoside **32** (333 mg, 81%) as a colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7.96 (s, 1H, H₁₂), 7.28 (s, 1H, H₁₁), 7.10 (s, 1H, H₁₀), 4.31 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, H₁), 4.28 – 4.21 (m, 2H, H₉), 3.88 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H, H_{6a}), 3.78 – 3.65 (m, 2H, H_{6b}, H₅), 3.60 – 3.42 (m, 3H, H₂, H₃, H₄), 2.82 – 2.58 (m, 2H, H₇), 2.16 (p, $J = 6.9$ Hz, 2H, H₈) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Methanol-*d*₄)** δ 87.7, 80.7, 76.2, 71.3, 70.5, 62.7, 47.0, 32.1, 27.7 ppm. **HRMS (ESI⁺):** m/z calculated for [M+H⁺] C₁₂H₂₀N₂O₅SH 305.1166 found 305.1166.

Compound 33, N-((2S,3R,4R,5R,6R)-2-((3-(1H-imidazol-1-yl)propyl)thio)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3-yl)acetamide.



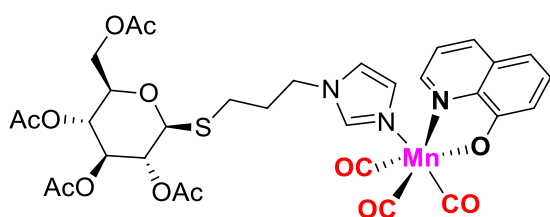
To a solution of **29** (1 equiv, 0.37mmol) in methanol, **sodium methoxide** (0.5 equiv., 0.19 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 1 hours. Then, the mixture was quenched with DOWEX-H⁺ resin. After filtration, the solvent was removed by concentration

under vacuum to give the corresponding unprotected glycoside **33** (127 mg, quant.) as a colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7.89 (s, 1H, H₁₂), 7.24 (s, 1H, H₁₁), 7.06 (s, 1H, H₁₀), 4.43 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H, H₁), 4.19 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H₉), 4.05 (t, *J* = 10.2 Hz, 1H, H₂), 3.88 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H, H_{6a}), 3.78 – 3.67 (m, 2H, H_{6b}, H₅), 3.57 (dd, *J* = 10.2, 3.2 Hz, 1H, H₃), 3.54 – 3.47 (m, 1H, H₄), 2.82 – 2.54 (m, 2H, H₇), 2.13 (p, *J* = 7.0 Hz, 2H, H₈), 1.97 (s, 3H, NHAc) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Methanol-*d*₄)** δ 173.8, 138.3, 127.8, 121.1, 86.1, 80.8, 74.2, 69.8, 62.8, 52.6, 46.9, 32.0, 27.6, 23.0 ppm. **HRMS (ESI⁺):** *m/z* calculated for [M+H⁺] C₁₄H₂₃N₃O₅SH 346.1431 found 305.1430.

6.2.3 Synthesis of GlycoCORMs

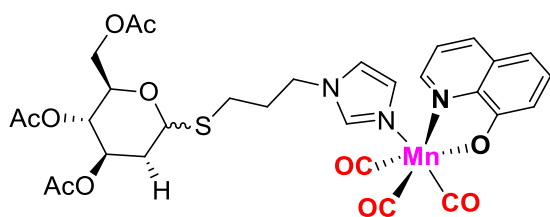
Compound **34**, [Mn(8-HQ)(CO)₃Glu-perOAc-Imd]



A mixture of [Mn₂(8-HQ)₂(CO)₆] (1 equiv., 0.88 mmol, 500 mg) and **26** (2 equiv., 1.77 mmol) in THF (8 mL) was stirred for 3 h. The solvent was removed under vacuum, and the residue was washed thoroughly with pentane. The product was purified by chromatography on SiO₂(DCM/MeOH 98:2) to yield complex **34** as a yellow powder (1.174 g, 88%).

RP-HPLC: retention time, 3.89 min; purity, 99.9%. **¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)** δ 8.93 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.40 – 7.27 (m, 2H), 7.01 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.82 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.69 (m, 1H), 5.25 – 5.14 (m, 1H), 5.06 – 4.88 (m, 2H), 4.36 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 4.22 – 4.02 (m, 2H), 3.91 – 3.80 (m, 2H), 3.69 – 3.54 (m, 1H), 2.56 – 2.25 (m, 2H), 2.08 – 1.94 (m, 12H), 1.93 – 1.83 (m, 2H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*)** δ 170.5, 170.2, 169.5, 169.5, 147.6, 144.4, 138.2, 138.2, 137.0, 130.3, 130.2, 130.1, 121.6, 119.8, 119.8, 114.6, 109.5, 83.7, 83.6, 76.2, 76.1, 73.7, 69.6, 68.3, 68.2, 62.1, 62.0, 46.1, 46.0, 30.5, 30.4, 26.6, 26.4, 20.8, 20.7, 20.7 ppm. **IR (ν, cm⁻¹):** 2023, 1920, 1892, 1749 **HRMS (ESI⁺):** *m/z* calculated for [M+H⁺] C₃₂H₃₄MnN₃O₁₃SH 756.1266. Found 756.1668.

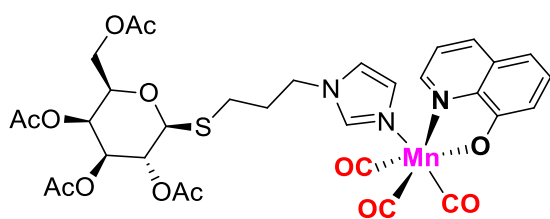
Compound 35, [Mn(8-HQ)(CO)₃2-DG-perOAc-Imd]



A mixture of [Mn₂(8-HQ)₂(CO)₆] (1 equiv., 0.1 mmol, 58 mg) and **27** (2 equiv., 0.2 mmol, 85 mg) in THF (8 mL) was stirred for 3 h. The solvent was removed under vacuum, and the residue was washed thoroughly with pentane. The product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 99:1) to yield the complex **35** as a yellow powder (106 mg, 76%).

RP-HPLC: retention time, 4.11 min; purity, 99.9%. **¹H NMR (400 MHz, Chloroform-d)** δ 8.97 (m, 1H), 8.14 – 8.03 (m, 1H), 7.57 – 7.29 (m, 3H), 7.10 – 6.62 (m, 4H), 5.38 – 5.13 (m, 1H), 5.10 – 4.86 (m, 1H), 4.59 – 3.40 (m, 5H), 2.54 – 1.72 (m, 15H) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-d)** δ 170.7, 170.2, 169.4, 147.6, 144.4, 138.3, 137.1, 130.3, 130.2, 121.6, 119.6, 114.7, 109.5, 80.3, 80.2, 69.6, 69.3, 68.6, 62.4, 46.3, 36.4, 35.3, 30.0, 30.0, 27.4, 22.5, 21.0, 21.0, 20.8, 20.8, 14.2 ppm. **IR (v, cm⁻¹):** 2022, 1923, 1895, 1742. **HRMS (ESI⁺):** m/z calculated for [M+H⁺] C₃₀H₃₂MnN₃O₁₁SH 698.1211 found 698.1215.

Compound 36, [Mn(8-HQ)(CO)₃Gal-perOAc-Imd]

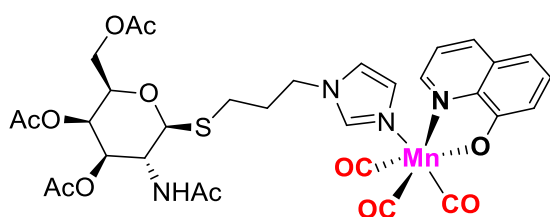


A mixture of [Mn₂(8-HQ)₂(CO)₆] (1 equiv., 0.27 mmol, 155 mg) and **28** (2 equiv., 0.55 mmol, 200mg) in THF (8 mL) was stirred for 2 h. The solvent was removed under vacuum, and the residue was washed thoroughly with pentane. The product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 99:1) to yield the complex **36** as a yellow powder (378 mg, 91%).

RP-HPLC: retention time, 3.9 min; purity, 96.4%. **¹H NMR (300 MHz, Chloroform-d)** δ 8.94 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.50 – 7.43 (m, 1H), 7.41 – 7.27 (m, 2H), 7.08 – 6.97 (m, 1H), 6.95 – 6.88 (m, 1H), 6.82 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 5.45 – 5.37 (m, 1H),

5.24 – 5.11 (m, 1H), 5.07 – 4.98 (m, 1H), 4.42 – 4.29 (m, 1H), 4.13 – 4.01 (m, 2H), 3.93 – 3.79 (m, 3H), 2.63 – 2.31 (m, 2H), 2.13 – 2.06 (m, 6H), 1.99 – 1.92 (m, 8H) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 170.5, 170.4, 170.4, 170.2, 170.1, 170.1, 169.8, 169.7, 147.7, 141.5, 141.4, 138.3, 137.1, 132.1, 132.1, 130.3, 130.2, 130.2, 130.1, 121.6, 119.8, 119.8, 119.7, 109.5, 84.3, 84.2, 84.2, 74.8, 71.8, 67.3, 67.3, 67.0, 61.6, 61.5, 46.2, 46.2, 46.1, 30.6, 30.5, 26.9, 26.8, 21.0, 20.9, 20.9, 20.8, 20.8, 20.7, 20.7 ppm. **IR (v, cm⁻¹):** 2022, 1922, 1895, 1747. **HRMS (ESI⁺):** *m/z* calculated for [M+H⁺] C₃₂H₃₄MnN₃O₁₃SH 756.1266 found 756.1675.

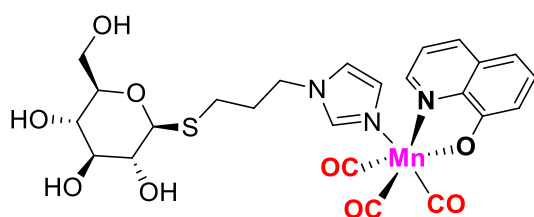
Compound 37, [Mn(8-HQ)(CO)₃GalNAc-perOAc-Imd]



A mixture of [Mn₂(8-HQ)₂(CO)₆] (1 equiv., 0.10 mmol, 57 mg) and **29** (2 equiv., 0.20 mmol, 100mg) in THF (1 mL) was stirred for 3 h. The solvent was removed under vacuum, and the residue was washed thoroughly with pentane. The product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 98:2) to yield the complex **37** as a yellow powder (100 mg, 67%).

RP-HPLC: retention time, 3.85 min; purity, 99.9%. **¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*)** δ 8.96 (m, 1H), 8.07 (m, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.33 (m, 1H), 7.01 (m, 1H), 6.94 – 6.82 (m, 2H), 6.71 (s, 1H), 6.49 – 5.99 (m, 1H), 5.14 (m, 1H), 4.56 (m, 1H), 4.32 – 3.74 (m, 7H), 2.48 (m, 2H), 2.13 (s, 3H), 2.07 – 1.81 (m, 9H) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 170.7, 170.4, 170.2, 147.8, 144.2, 138.4, 138.3, 137.0, 137.0, 130.1, 129.9, 129.8, 121.6, 119.8, 119.7, 114.4, 109.8, 109.7, 85.3, 74.5, 74.5, 71.1, 71.0, 66.9, 66.8, 61.7, 61.6, 49.4, 45.9, 45.8, 30.1, 29.8, 26.8, 26.7, 23.4, 23.4, 20.7, 20.7, 20.6 ppm. **IR (v, cm⁻¹):** 2023, 1923, 1897, 1746. **HRMS (ESI⁺):** *m/z* calculated for [M+H⁺] C₃₂H₃₅MnN₄O₁₂SH 755.1425 found 755.1445.

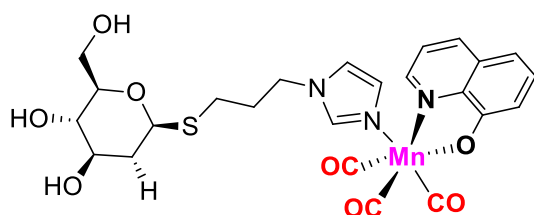
Compound 38, [Mn(8-HQ)(CO)₃Glu -Imd]



A mixture of **34** (1 equiv., 0.74 mmol, 560 mg) and NaOH (1 equiv., 30 mg) in MeOH (2 mL) was stirred for 30 min. Then, the solution was quenched with DOWEX H⁺. The mixture was then filtered and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 97:3) to yield complex **38** as a yellow powder (272 mg, 62%).

RP-HPLC: retention time, 7.11 min; purity, 99.9%. **¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄)** δ 9.07 (m, 1H), 8.21 (m, 1H), 7.61 (m, 1H), 7.45 (m, 1H), 7.35 (m, 1H), 6.95 (m, 3H), 6.85 (m, 1H), 4.23 (m, 1H), 3.99 (m, 2H), 3.81 (m, 1H), 3.60 (dd, 1H), 3.31 – 3.03 (m, 2H), 2.31 (m, 2H), 1.90 (m, 2H) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Methanol-*d*₄)**: δ 167.0, 148.6, 143.2, 138.6, 137.1, 130.1, 129.5, 128.9, 121.8, 120.1, 113.9, 111.0, 85.9, 80.6, 78.2, 72.9, 70.0, 61.4, 30.4, 30.3, 26.3, 26.2 ppm. **IR (ν, cm⁻¹)**: 3334, 2023, 1922, 1897. **HRMS (ESI⁺)**: *m/z* calculated for [M+H⁺] C₂₄H₂₆MnN₃O₉S 588.0843 found 588.0854.

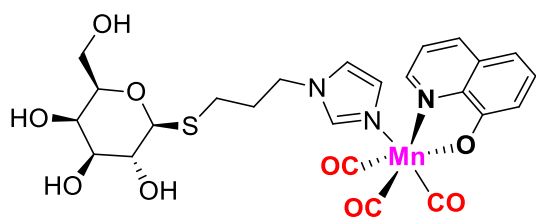
Compound **39**, [Mn(8-HQ)(CO)₃2-DG-Imd]



A mixture of **35** (1 equiv., 0.13 mmol, 90 mg) and NaOH (1 equiv., 5 mg) in MeOH (2 mL) was stirred for 30 min. Then, the solution was quenched with DOWEX H⁺. The mixture was then filtered and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 97:3) to yield complex **39** as a yellow powder (29 mg, 39%).

RP-HPLC: retention time, 4.08 min; purity, 94.9%. **¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄)** δ 9.13 – 9.01 (m, 1H), 8.21 (m, 1H), 7.63 – 7.28 (m, 4H), 6.95 (m, 3H), 5.20 (m, 0.5H), 4.57 – 4.34 (m, 0.5H), 3.95 (m, 2H), 3.86 – 3.48 (m, 4H), 3.17 (m, 2H), 2.56 – 1.71 (m, 6H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, Methanol-*d*₄)** δ 168.3, 150.0, 144.6, 140.0, 138.5, 131.5, 130.9, 130.5, 123.2, 121.4, 115.3, 112.4, 82.0, 74.4, 73.6, 70.5, 62.7, 47.2, 40.6, 39.3, 31.7, 31.1, 28.2 ppm. **HRMS (ESI⁺)**: *m/z* calculated for [M+H⁺] C₂₄H₂₆MnN₃O₈S 572.0894 found 572.0895.

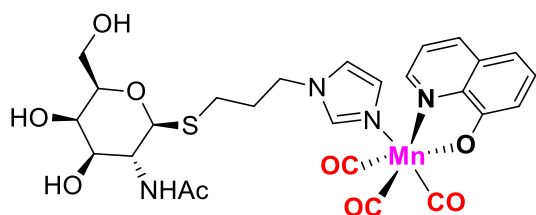
Compound 40, [Mn(8-HQ)(CO)₃Gal-Imd]



A mixture of **36** (1 equiv., 0.22 mmol, 162 mg) and NaOH (1 equiv., 9 mg) in MeOH (3 mL) was stirred for 40 minutes. Then, the solution was quenched with DOWEX H⁺. The mixture was then filtered and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 97:3) to yield complex **40** as a yellow powder (124 mg, quant.).

RP-HPLC: retention time, 7.06 min; purity, 99.9%. **¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄)** δ 9.06 (dd, J = 4.8, 1.2 Hz, 1H), 8.21 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.45 (dd, J = 8.4, 4.8 Hz, 1H), 7.35 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.95 (m, 3H), 6.85 (s, 1H), 4.19 (d, J = 9.4 Hz, 1H), 4.00 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 3.87 (m, 1H), 3.67 (m, 2H), 3.55 – 3.39 (m, 3H), 2.52 – 2.11 (m, 2H), 1.91 (p, J = 6.8 Hz, 2H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, Methanol-*d*₄)**: δ 168.3, 150.0, 144.6, 140.0, 138.5, 131.5, 130.9, 130.3, 123.2, 121.5, 115.3, 112.4, 87.8, 80.6, 76.3, 71.3, 70.5, 62.7, 47.0, 31.8, 27.6, 27.6 ppm. **IR (ν, cm⁻¹)**: 3280, 2024, 1920, 1895. **HRMS (ESI⁺)**: *m/z* calculated for [M+H⁺] C₂₄H₂₆MnN₃O₉SH 588.0843 found 588.0845.

Compound 41, [Mn(8-HQ)(CO)₃GalNAc-Imd]



A mixture of **37** (1 equiv., 0.22 mmol, 167 mg) and NaOH (1 equiv., 9 mg) in MeOH (2 mL) was stirred for 30 minutes. Then, the solution was quenched with DOWEX H⁺. The mixture was then filtered and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 97:3) to yield complex **41** as a yellow powder (32 mg, 23%).

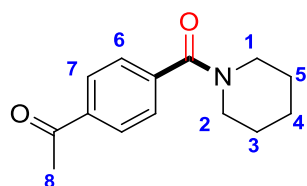
RP-HPLC: retention time, 7.12 min; purity, 99.9%. **¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄)** δ 9.08 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 8.23 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.51 – 7.28 (m, 2H), 7.04 – 6.81 (m, 4H), 4.38 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.08 – 3.41 (m, 9H), 2.69 – 2.19 (m, 2H), 1.95 (m, 5H) ppm. **IR (v, cm⁻¹):** 3294, 2024, 1924, 1900. **HRMS (ESI⁺):** *m/z* calculated for [M+H⁺] C₂₄H₂₉MnN₄O₉SH 629.1108 found 629.1109.

6.2.4 Carbonylation products

General procedure for the aminocarbonylation reaction

In a screw tube was successively added the aryl iodide **42** (1 equiv., 0.5 mmol), TEMPO (0.5 equiv., 0.25 mmol, 39 mg), complex **2** (0.5 equiv., 0.25 mmol, 91 mg), PdCl₂(PPh₃)₂ (5 mol %, 0.025 mmol, 17 mg), amine **43** (2 equiv., 1 mmol) and DBU (2 equiv., 1 mmol, 150 μ L). Acetonitrile (2 mL) was added and the tube was screwed. The reaction mixture was irradiated with blue LEDs under stirring for 18h at room temperature. The reaction mixture was diluted with ethyl acetate (50 mL) and partitioned with a 1 M aqueous solution of hydrochloric acid (25 mL). The mixture was put under vigorous stirring until two clear phases were obtained. The organic layer was washed with 1 M HCl (25 mL), water (25 mL), brine (25 mL) dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography on silica gel to afford the expected amide **44**.

Compound 44aa, 1-(4-(piperidine-1-carbonyl)phenyl)ethanone

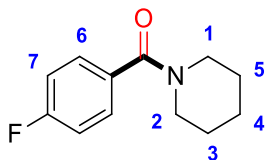


Following the general procedure with 4'-iodoacetophenone **42a** (0.5 mmol, 123 mg) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:4) to afford **44aa** as a white powder (100 mg, 86%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴³.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.95 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H₇), 7.44 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H₆), 3.68 (bs, 2H, H₁), 3.26 (bs, 2H, H₂), 2.58 (s, 3H, H₈), 1.73 – 1.41 (m, 6H, H₃, H₄, H₅)

ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 197.5, 169.1, 141.0, 137.6, 128.5, 127.0, 48.7, 43.1, 26.7, 26.5, 25.6, 24.5 ppm.

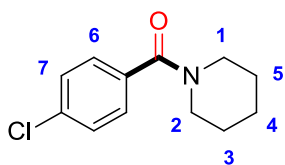
Compound 44ba, (4-fluorophenyl)(piperidin-1-yl)methanone



Following the general procedure with 4-fluoriodobenzene **42b** (0.5 mmol, 58 μL) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μL). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44ba** as a yellow oil (96 mg, 93%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁴.

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.36 (dd, $J = 8.5, 5.5$ Hz, 2H, H_6), 7.04 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H, H_7), 3.65 (s, 2H, H_1), 3.32 (m, 2H, H_2), 1.86 – 1.41 (m, 6H, $\text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_5$) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 169.4, 163.2 (d, $J = 249.1$ Hz), 132.5 (d, $J = 3.4$ Hz), 129.1 (d, $J = 8.4$ Hz), 115.5 (d, $J = 21.7$ Hz), 48.9, 43.3, 26.5, 25.7, 24.6 ppm. ^{19}F NMR (376 MHz, Chloroform-*d*) δ -110.97 ppm.

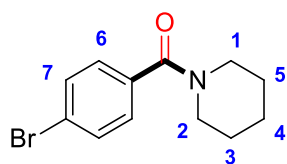
Compound 44ca, (4-chlorophenyl)(piperidin-1-yl)methanone



Following the general procedure with 1-chloro-4-iodobenzene **42c** (0.5 mmol, 120 mg) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μL). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44ca** as a brown solid (90 mg, 80%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁴.

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.47 – 7.29 (m, 4H, H_7, H_6), 3.67 (s, 2H, H_1), 3.31 (s, 2H, H_2), 1.81 – 1.41 (m, 6H, $\text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_5$) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 169.8, 135.4, 134.9, 128.7, 128.4, 48.9, 43.3, 26.6, 25.7, 24.6 ppm.

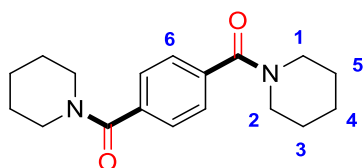
Compound 44da, (4-bromophenyl)(piperidin-1-yl)methanone



Following the general procedure with 1-bromo-4-iodobenzene **42d** (0.5 mmol, 142 mg) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44da** as a yellow powder (102 mg, 76%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁵.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.53 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₇), 7.27 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₆), 3.68 (bs, 2H, H₁), 3.32 (bs, 2H, H₂), 1.97 – 1.43 (m, 6H, H₃, H₄, H₅) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 169.4, 135.4, 131.8, 128.7, 123.7, 48.9, 43.4, 26.6, 25.7, 24.7 ppm.

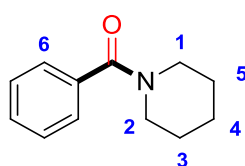
Compound 44ea, 1,4-phenylenebis(piperidin-1-ylmethanone)



Following the general procedure with 1,4-diiodobenzene **42e** (0.5 mmol, 165 mg) and piperidine **43a** (2 mmol, 200 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/ethyl acetate 1:4) to afford **44ea** as an orange solid (80 mg, 53%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁶.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.40 (s, 4H, H₆), 3.70 (br, 4H, H₁), 3.31 (br, 4H, H₂), 1.67 (br, 8H, H₃, H₅), 1.49 (br, 4H, H₄) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 169.7, 137.6, 132.0, 128.7, 128.6, 127.0, 48.8, 43.2, 26.6, 25.7, 24.6 ppm.

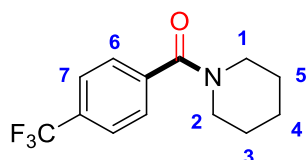
Compound 44fa, phenyl(piperidin-1-yl)methanone



Following the general procedure with iodobenzene **42f** (0.5 mmol, 56 μ L) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44fa** as a colorless solid (77 mg, 81%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁴.

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.38 (s, 5H, H₆), 3.70 (br, 2H, H₁), 3.34 (br, 2H, H₂), 1.80 – 1.60 (br, 4H, H₃, H₅), 1.52 (br, 2H, H₄) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*)** δ 170.4, 136.7, 129.5, 128.5, 126.9, 48.9, 43.2, 26.7, 25.8, 24.7 ppm.

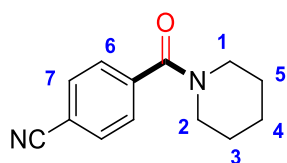
Compound 44ga, piperidin-1-yl(4-(trifluoromethyl)phenyl)methanone



Following the general procedure with 4-iodobenzotrifluoride **42g** (0.5 mmol, 74 μ L mg) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44ga** as a pale yellow solid (98 mg, 76%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁵.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.66 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H₆), 7.50 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H₇), 3.72 (bs, 2H, H₁), 3.29 (bs, 2H, H₂), 1.60 (m, 6H, H₃, H₄, H₅) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 168.9, 140.2, 131.48 (q, *J* = 32.7 Hz), 127.3, 125.7 (q, *J* = 3.8 Hz), 123.9 (q, *J* = 272.3 Hz), 48.8, 43.3, 26.7, 25.7, 24.6 ppm. **¹⁹F NMR (376 MHz, Chloroform-*d*)** δ -63.81 ppm.

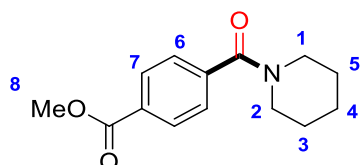
Compound 44ha, 4-(piperidine-1-carbonyl)benzotrile



Following the general procedure with 4-iodobenzotrile **42h** (0.5 mmol, 114 mg) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 2:3) to afford **44ha** as a yellow powder (95 mg, 88%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁵.

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.70 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H_6), 7.48 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H_7), 3.71 (bs, 2H, H_1), 3.27 (bs, 2H, H_2), 1.69 (bs, 4H, H_3 , H_5), 1.51 (bs, 2H, H_4) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 168.3, 141.0, 132.5, 127.6, 118.3, 113.3, 48.8, 43.3, 26.6, 25.6, 24.5 ppm.

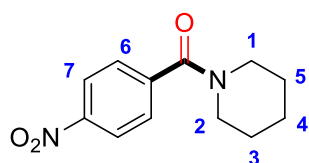
Compound 44ia, methyl 4-(piperidine-1-carbonyl)benzoate



Following the general procedure with methyl 4-iodobenzoate **42i** (0.5 mmol, 131 mg) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μL). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44ia** as a beige powder (85 mg, 68%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁵.

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.06 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H_6), 7.44 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H_7), 3.92 (s, 3H, H_8), 3.71 (bs, 2H, H_1), 3.28 (bs, 2H, H_2), 1.68 (bs, 4H, H_3 , H_5), 1.50 (bs, 2H, H_4) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 169.3, 166.6, 141.0, 131.0, 129.9, 126.9, 52.4, 48.8, 43.2, 26.6, 25.7, 24.6 ppm.

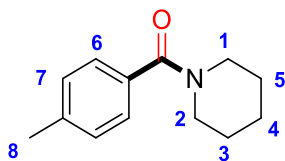
Compound 44ja, (4-nitrophenyl)(piperidin-1-yl)methanone



Following the general procedure with 1-iodo-4-nitrobenzene **42j** (0.5 mmol, 124 mg) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μL). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 3:7) to afford **44ja** as a yellow solid (89 mg, 76%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁵.

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.27 (d, J = 7.7 Hz, 2H, H_6), 7.55 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H_7), 3.73 (s, 2H, H_1), 3.28 (s, 2H, H_2), 1.87 – 1.45 (m, 6H, H_3 , H_4 , H_5) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 168.0, 148.4, 142.9, 127.9, 124.0, 48.8, 43.3, 26.7, 25.6, 24.6 ppm.

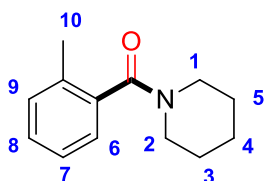
Compound 44ka, piperidin-1-yl(p-tolyl)methanone



Following the general procedure with 4-iodotoluene **42k** (0.5 mmol, 109 mg) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44ka** as a reddish solid (60 mg, 60%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁴.

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.28 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H_6), 7.18 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, H_7), 3.67 (br, 2H, H_1), 3.37 (br, 2H, H_2), 2.36 (s, 3H, H_8), 1.70 – 1.65 (br, 4H, H_3, H_5), 1.57 (br, 2H, H_4) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 170.6, 139.5, 133.7, 129.1, 127.0, 48.9, 43.3, 26.6, 25.8, 24.8, 21.5 ppm.

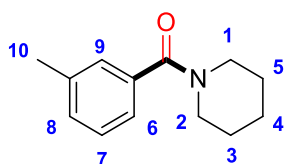
Compound 44la, piperidin-1-yl(o-tolyl)methanone



Following the general procedure with 2-iodotoluene **42l** (0.5 mmol, 64 μ L) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44la** as an orange powder (40 mg, 39%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁵.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.28 – 7.22 (m, 1H, H_9), 7.22 – 7.11 (m, 3H, H_6, H_7, H_8), 3.74 (m, 2H, H_1), 3.17 (m, 2H, H_2), 2.30 (s, 3H, H_{10}), 1.73 – 1.59 (m, 4H, H_3, H_5), 1.54 – 1.39 (m, 2H, H_4) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 170.0, 136.9, 134.1, 130.4, 128.7, 126.0, 125.7, 48.0, 42.5, 26.7, 25.9, 24.7, 19.1 ppm.

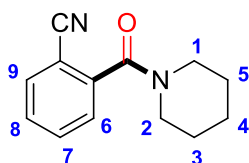
Compound 44ma, piperidin-1-yl(m-tolyl)methanone



Following the general procedure with 3-iodotoluene **42m** (0.5 mmol, 64 μ L) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44ma** as an orange oil (64 mg, 60%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁵.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.28 – 7.21 (m, 1H, H₇), 7.20 – 7.11 (m, 3H, H₆, H₈, H₉), 3.68 (br, 2H, H₁), 3.32 (br, 2H, H₂), 2.35 (s, 3H, H₁₀), 1.65 (br, 4H, H₃, H₅), 1.49 (br, 2H, H₄) ppm. **¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*)** δ 170.6, 138.3, 136.6, 130.1, 128.3, 127.5, 123.7, 48.8, 43.1, 26.6, 24.7, 21.5 ppm.

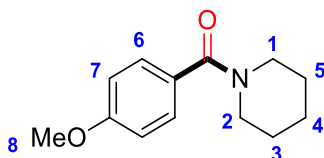
Compound 44na, 2-(piperidine-1-carbonyl)benzonitrile



Following the general procedure with 2-iodobenzonitrile **42n** (0.5 mmol, 114 mg) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 2:3) to afford **44na** as a brown powder (60 mg, 56%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁷.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.70 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H₆), 7.67 – 7.60 (m, 1H, H₈), 7.54 – 7.46 (m, 1H, H₇), 7.44 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H₉), 3.77 (t, *J* = 5.0 Hz, 2H, H₁), 3.24 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H, H₂), 1.93 – 1.49 (m, 6H, H₃, H₄, H₅) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 166.4, 140.9, 133.2, 133.1, 129.4, 127.4, 117.0, 110.0, 48.5, 43.2, 26.5, 25.5, 24.5 ppm.

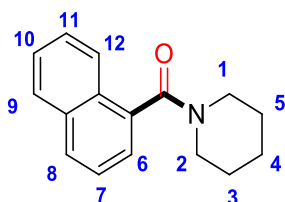
Compound 44oa, (4-methoxyphenyl)(piperidin-1-yl)methanone



Following the general procedure with 4-iodoanisole **42o** (0.5 mmol, 117 mg) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 3:7) to afford **44oa** as a yellow oil (78 mg, 71%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁵.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.34 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H₆), 6.87 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H₇), 3.80 (s, 3H, H₈), 3.71 – 3.34 (m, 4H, H₁, H₂), 1.71 – 1.45 (m, 6H, H₃, H₄, H₅) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 170.35, 160.55, 128.89, 128.65, 113.67, 55.37, 48.98, 43.46, 26.29, 24.70 ppm.

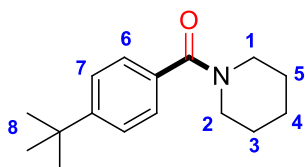
Compound 44pa, naphthalen-1-yl(piperidin-1-yl)methanone



Following the general procedure with 1-iodonaphthalene **42p** (0.5 mmol, 73 μ L) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44pa** as a brown powder (105 mg, 88%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁸.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.16 – 7.72 (m, 3H, H₆, H₇, H₈), 7.66 – 7.31 (m, 4H, H₉, H₁₀, H₁₁, H₁₂), 4.02 – 3.62 (m, 2H, H₁), 3.48 – 3.01 (m, 2H, H₂), 2.02 – 1.54 (m, 4H, H₃, H₅), 1.46 – 1.32 (m, 2H, H₄) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 169.4, 135.0, 133.6, 129.7, 128.9, 128.4, 126.9, 126.5, 125.3, 125.0, 123.5, 48.4, 42.8, 26.8, 26.0, 24.7 ppm.

Compound 44qa, (4-(tert-butyl)phenyl)(piperidin-1-yl)methanone



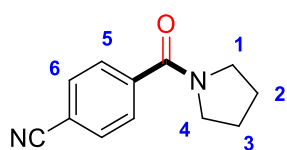
Following the general procedure with 1-iodonaphthalene **42p** (0.5 mmol, 73 μ L) and piperidine **43a** (1 mmol, 99 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography

(cyclohexane/ diethyl ether 1:1) to afford **44pa** as a brown powder (105 mg, 88%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁸.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.40 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H₆), 7.32 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H₇), 3.70 (bs, 2H, H₁), 3.38 (bs, 2H, H₂), 1.80 – 1.48 (m, 6H, H₃, H₄, H₅), 1.32 (s, 9H, H₈) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 170.6, 152.6, 133.7, 126.8, 125.4, 48.9, 43.2, 34.9, 31.3, 26.7, 25.8, 24.8 ppm.

Compound 44hb, 4-(pyrrolidine-1-carbonyl)benzonitrile

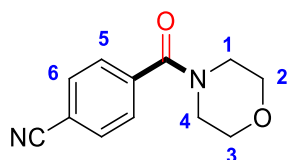


Following the general procedure with 4-iodobenzonitrile **42h** (0.5 mmol, 114 mg) and pyrrolidine **43b** (1 mmol, 84 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/ethyl acetate, 1:3) to afford **44hb** as a brownish solid (70 mg, 70%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁴⁹.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.66 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H₅), 7.60 – 7.54 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H₆), 3.60 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H₁), 3.33 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, H₄), 2.01 – 1.75 (m, 4H, H₂, H₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 167.5, 141.3, 132.2, 127.7, 118.1, 113.4, 49.3, 46.3, 26.3, 24.3 ppm.

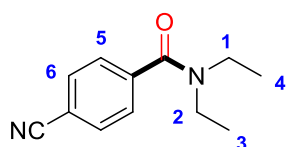
Compound 44hc, 4-(morpholine-4-carbonyl)benzonitrile



Following the general procedure with 4-iodobenzonitrile **42h** (0.5 mmol, 114 mg) and morpholine **43c** (1 mmol, 87 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/ethyl acetate 1:1) to afford **44hc** as a brown powder (54 mg, 50%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁵⁰.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.71 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H₅), 7.50 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H₆), 3.77 (s, 4H, H₂, H₃), 3.68 – 3.52 (m, 2H, H₁), 3.37 (s, 2H, H₄) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 168.3, 139.7, 132.5, 127.8, 118.0, 113.7, 66.7 ppm.

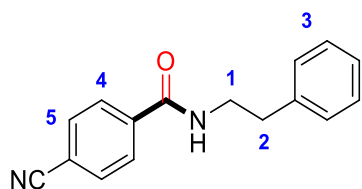
Compound 44hd, 4-cyano-N,N-diethylbenzamide



Following the general procedure with 4-iodobenzonitrile **42h** (0.5 mmol, 114 mg) and N,N-diethylamine **43d** (1 mmol, 103 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44hd** as a brown powder (70 mg, 69%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁵¹.

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.70 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H₅), 7.47 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H₆), 3.55 (bs, 2H, H₁), 3.20 (bs, 2H, H₂), 1.36 – 1.03 (m, 6H, H₃, H₄) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*)** δ 169.3, 141.7, 132.5, 127.2, 118.3, 113.2, 43.4, 39.6, 14.3, 13.0 ppm.

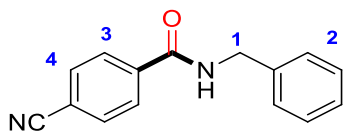
Compound 44hf, 4-cyano-N-phenethylbenzamide



Following the general procedure with 4-iodobenzonitrile **42h** (0.5 mmol, 114 mg) and phenethylamine **43f** (1 mmol, 126 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:3) to afford **44hf** as a yellow powder (80 mg, 64%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁵².

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.79 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H₄), 7.71 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₅), 7.39 – 7.20 (m, 5H, H₃), 6.27 (s, 1H, NH), 3.75 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, H₁), 2.97 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H₂) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 165.8, 138.7, 138.6, 132.6, 128.9, 128.9, 127.7, 126.9, 118.1, 115.1, 41.4, 35.6 ppm.

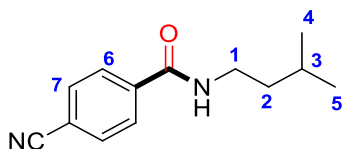
Compound 44hg, N-benzyl-4-cyanobenzamide



Following the general procedure with 4-iodobenzonitrile **42h** (0.5 mmol, 114 mg) and benzylamine **43g** (1 mmol, 109 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44hg** as a yellow powder (75 mg, 63%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁵².

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.87 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H₃), 7.70 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₄), 7.39 – 7.28 (m, 5H, H₂), 6.64 (s, 1H, NH), 4.63 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H, H₁) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 165.7, 138.4, 137.7, 132.6, 129.0, 128.1, 128.0, 127.8, 118.1, 115.2, 44.5 ppm.

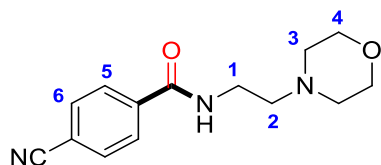
Compound 44hh, 4-cyano-N-isopentylbenzamide



Following the general procedure with 4-iodobenzonitrile **42h** (0.5 mmol, 114 mg) and isopentylamine **43h** (1 mmol, 116 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44hh** as a yellow solid (50 mg, 46%).

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₆), 7.70 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H₇), 6.39 (s, 1H, NH), 3.52 – 3.36 (m, 2H, H₁), 1.73 – 1.57 (m, 1H, H₃), 1.54 – 1.43 (m, 2H, H₂), 0.94 (s, 3H, H₄), 0.92 (s, 3H, H₅) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 165.8, 138.9, 132.5, 127.7, 118.1, 114.9, 38.8, 38.5, 26.0, 22.5 ppm. IR: ν (CN) 2230, ν (CO) 1636 cm^{-1} . **HRMS (ESI⁺)**: *m/z* calculated for C₁₃H₁₆N₂O [M+H⁺] 217.1335. Found 217.1335.

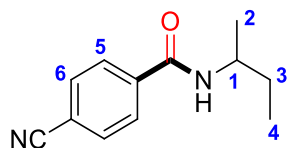
Compound 44hi, 4-cyano-N-(2-morpholinoethyl)benzamide



Following the general procedure with 4-iodobenzonitrile **42h** (0.5 mmol, 114 mg) and 4-(2-aminoethyl)morpholine **43i** (1 mmol, 131 μ L) but the work-up was performed with a 1 M solution of KOH instead of 1 M HCl. The crude product was purified by flash column chromatography (DCM/MeOH 98:2) to afford **44hi** as a yellow solid (80 mg, 62%).

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.87 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H_5), 7.74 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H_6), 6.86 (s, 1H, NH), 3.85 – 3.63 (m, 4H, H_4), 3.66 – 3.45 (m, 2H, H_1), 2.61 (t, J = 6.0 Hz, 2H, H_2), 2.56 – 2.51 (m, 4H, H_3) ppm. **^{13}C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 165.7, 138.6, 132.6, 127.8, 118.2, 115.2, 67.1, 56.8, 53.4, 36.3 ppm. **IR:** $\nu(\text{CN})$ 2235; $\nu(\text{CO})$ 1639 cm^{-1} . **HRMS (ESI $^+$):** m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2\text{H}$ [$\text{M}+\text{H}^+$] 260.1394. Found 260.1394.

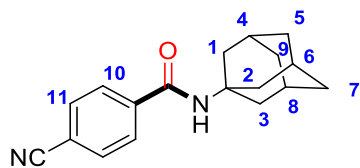
Compound 44hj, *N*-(sec-butyl)-4-cyanobenzamide



Following the general procedure with 4-iodobenzonitrile **42h** (0.5 mmol, 114 mg) and sec-butylamine **43j** (1 mmol, 101 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/ diethyl ether 1:1) to afford **44hj** as a beige powder (86 mg, 85%).

^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.85 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H_5), 7.72 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H_6), 5.98 (s, 1H, NH), 4.12 (dq, J = 8.4, 6.6 Hz, 1H, H_1), 1.59 (p, J = 7.3 Hz, 2H, H_3), 1.24 (d, J = 6.6 Hz, 3H, H_2), 0.96 (t, J = 7.4 Hz, 3H, H_4) ppm. **^{13}C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*)** δ 165.3, 139.1, 132.5, 127.7, 118.2, 115.0, 47.7, 29.8, 20.5, 10.5 ppm. **IR:** $\nu(\text{CN})$ 2235; $\nu(\text{CO})$ 1634 cm^{-1} . **HRMS (ESI $^+$):** m/z calculated for [$\text{M}+\text{H}^+$] $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{OH}$ 203.1179 found 203.1179.

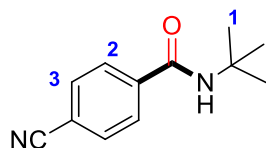
Compound 44hk, N-((3s,5s,7s)-adamantan-1-yl)-4-cyanobenzamide



Following the general procedure with 4-iodobenzonitrile **42h** (0.5 mmol, 114 mg) and adamantylamine **43k** (1 mmol, 151 mg). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 1:1) to afford **44hk** as a white powder (61 mg, 44%).

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.80 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₁₀), 7.70 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H₁₁), 5.82 (s, 1H, NH), 2.19 – 2.06 (m, 9H, H₁, H₂, H₃, H₄, H₆, H₈), 1.77 – 1.66 (m, 6H, H₅, H₇, H₉) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 164.9, 140.1, 132.5, 127.6, 118.2, 114.7, 53.0, 41.7, 36.4, 29.6 ppm. **IR:** ν (CN) 2229; ν (CO) 1640 cm⁻¹. **HRMS (ESI⁺):** *m/z* calculated for [M+H⁺] C₁₈H₂₀N₂OH 281.1648 found 281.1648.

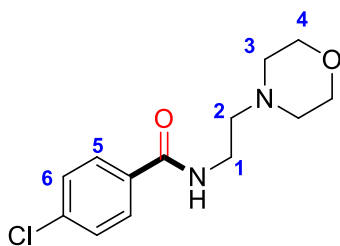
Compound 44hl, N-(tert-butyl)-4-cyanobenzamide



Following the general procedure with 4-iodobenzonitrile **42h** (0.5 mmol, 114 mg) and tert-butylamine **43l** (1 mmol, 105 μ L). The crude product was purified by flash column chromatography (cyclohexane/diethyl ether 3:2) to afford **44hl** as a yellow solid (30 mg, 30%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁵³.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.81 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H₂), 7.70 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H, H₃), 5.97 (s, 1H, NH), 1.47 (s, 9H, H₁) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 165.2, 140.0, 132.5, 127.6, 118.2, 114.8, 52.3, 28.9 ppm.

Moclobemide



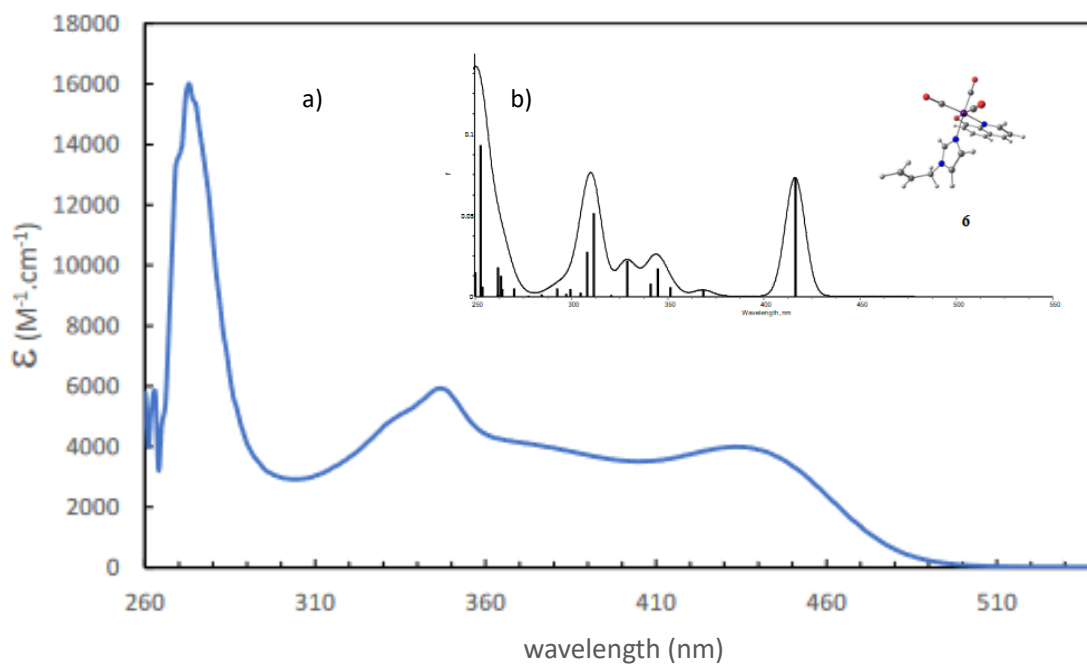
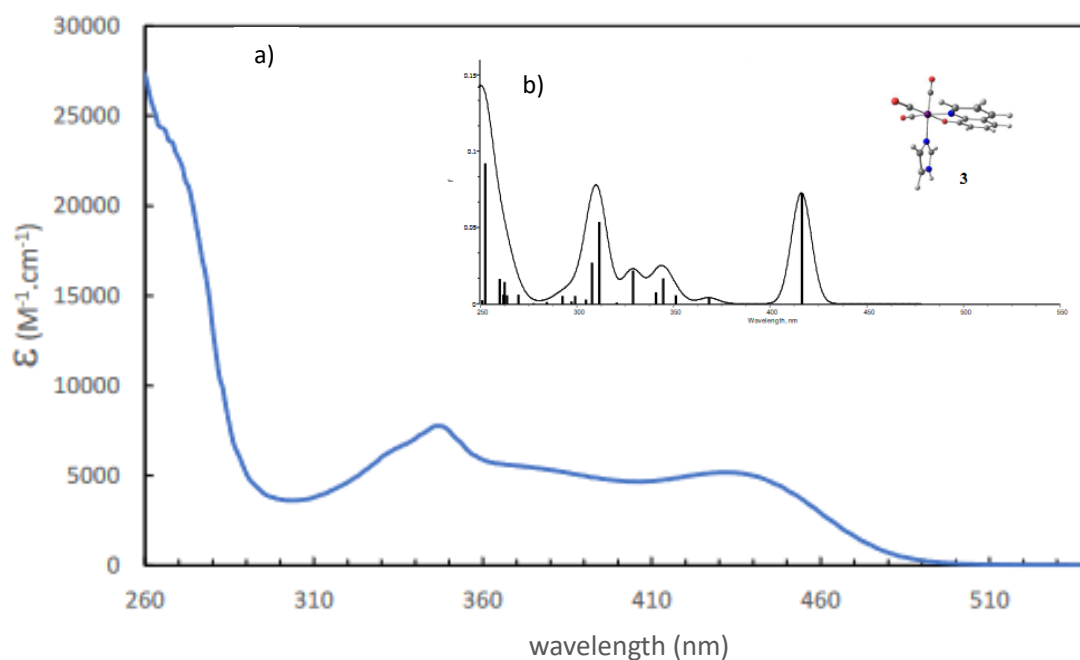
Following the general procedure with 4-chlorobenzene **42c** (0.5 mmol, 120 mg) and 4-(2-aminoethyl)morpholine **43i** (1 mmol, 131 μ L) but the work-up was performed with a 1 M solution of KOH instead of 1 M HCl. The crude product was purified by flash column chromatography (DCM/MeOH 97:3) to afford **Moclobemide** as a yellow solid (107 mg, 79%). The spectroscopic data are in agreement with those reported in the literature²⁵⁴.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.74 (d, J = 8.6 Hz, 2H, **H₅**), 7.44 (d, J = 8.5 Hz, 2H, **H₆**), 6.78 (s, 1H, NH), 3.92 – 3.73 (m, 4H, **H₄**), 3.61 – 3.46 (m, 2H, **H₁**), 2.62 (t, J = 6.0 Hz, 2H, **H₂**), 2.56 – 2.42 (m, 4H, **H₃**) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)** δ 166.3, 137.6, 133.0, 128.8, 128.4, 67.0, 56.8, 53.3, 36.1 ppm .

6.3 References

- [242] H. Streicher, L. Latxague, T. Wiemann, P. Rollin and J. Thiem, *Carbohydr. Res.*, **1995**, 278, 257-270.
- [243] H. L. Holland, T. A. Morris, P. J. Nava and M. Zabic, *Tetrahedron*, **1999**, 55, 7441–7460.
- [244] J. Li, F. Xu, Y. Zhang and Q. Shen, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 2575–2577.
- [245] M. Zhu, K. Fujita and R. Yamaguchi, *J. Org. Chem.*, **2012**, 77, 9102–9109.
- [246] J. A. Moore and S. Kaur, *Macromolecules*, **1997**, 30, 7086–7090.
- [247] W. Liu and L. Ackermann, *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 1878–1881.
- [248] F. Messa, A. N. Paparella, D. Veselý, J. Krajčovič, P. Papadia, S. Perrone and A. Salomone, *Eur. J. Org. Chem.*, **2023**, 26, e202300309.
- [249] K. Ekoue-Kovi and C. Wolf, *Org. Lett.*, **2007**, 9, 3429–3432.
- [250] D. Dvorak, *Organometallics*, **1995**, 14, 570–573.
- [251] R. S. Mane and B. M. Bhanage, *J. Org. Chem.*, **2016**, 81, 1223–1228.
- [252] T. Kumar Achar and P. Mal, *Adv. Synth. Catal.*, **2015**, 357, 3977–3985.
- [253] H. Jiang, B. Liu, Y. Li, A. Wang and H. Huang, *Org. Lett.*, **2011**, 13, 1028–1031.
- [254] A. Ghanbarpour, F. Hadizadeh, F. Piri and P. Rashidi-Ranjbar, *Pharm. Acta Helv.*, **1997**, 72, 119–122.

Chapitre 7. Annexes



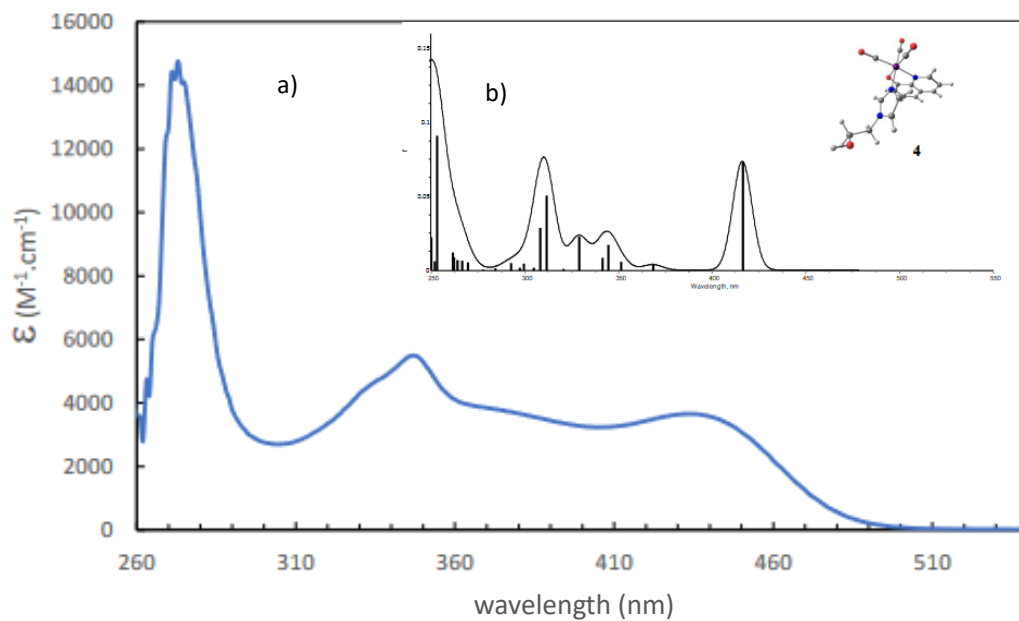


Figure A3. a) Spectre d'absorption du complexe **5** dans l'acétonitrile ; b) Spectre d'absorption du complexe **5** calculé par TD-DFT dans l'intervalle 250-550 nm.

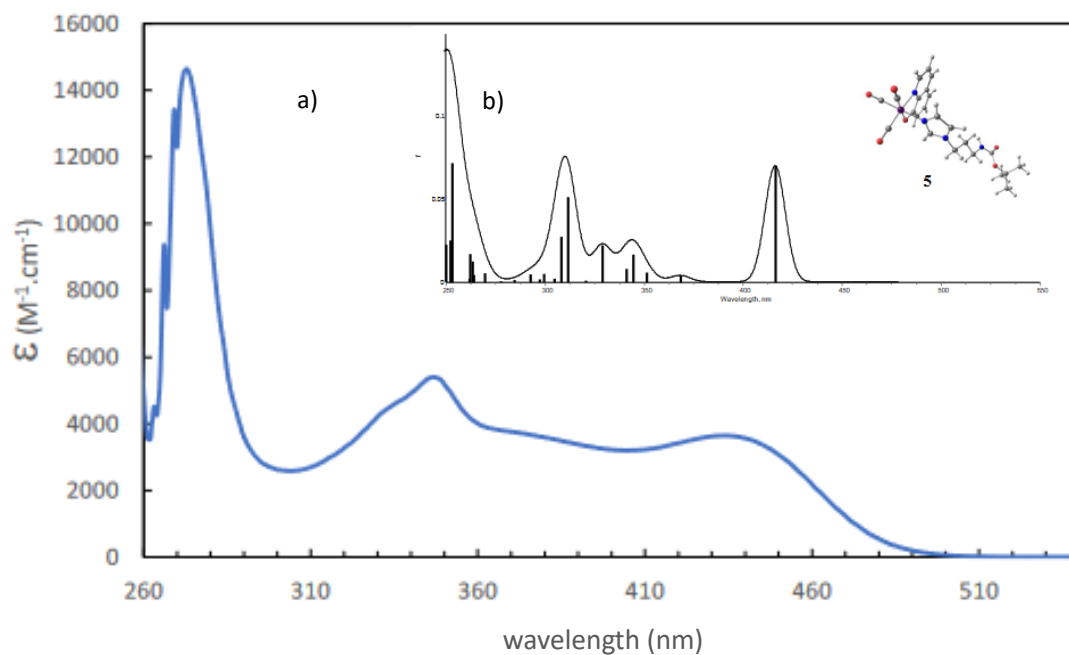


Figure A4. a) Spectre d'absorption du complexe **6** dans l'acétonitrile ; b) Spectre d'absorption du complexe **6** calculé par TD-DFT dans l'intervalle 250-550 nm.

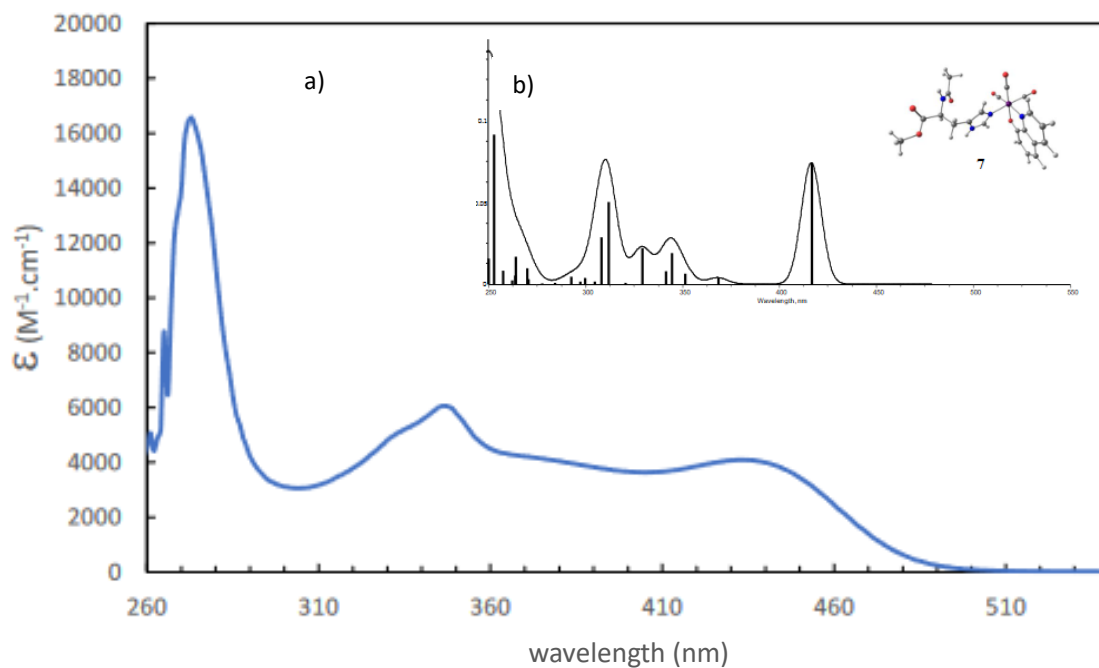


Figure A5. a) Spectre d'absorption du complexe **9** dans l'acétonitrile ; b) Spectre d'absorption du complexe **9** calculé par TD-DFT dans l'intervalle 250-550 nm.

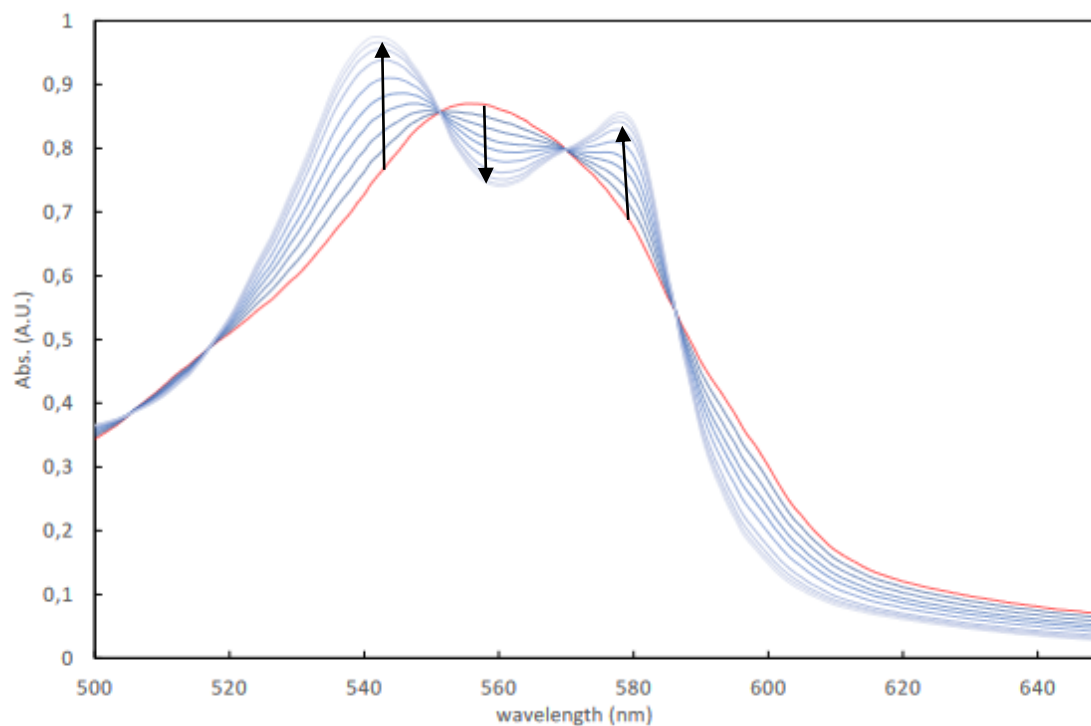


Figure A6. Evolution du spectre uv-visible de la région de la bande Q de la myoglobine (65 μM) en présence du composé **3** (20 μM) dans du PBS. La solution est irradiée pendant 5 min à $\lambda = 450$ nm, les spectres sont enregistrés toutes les 30 s.

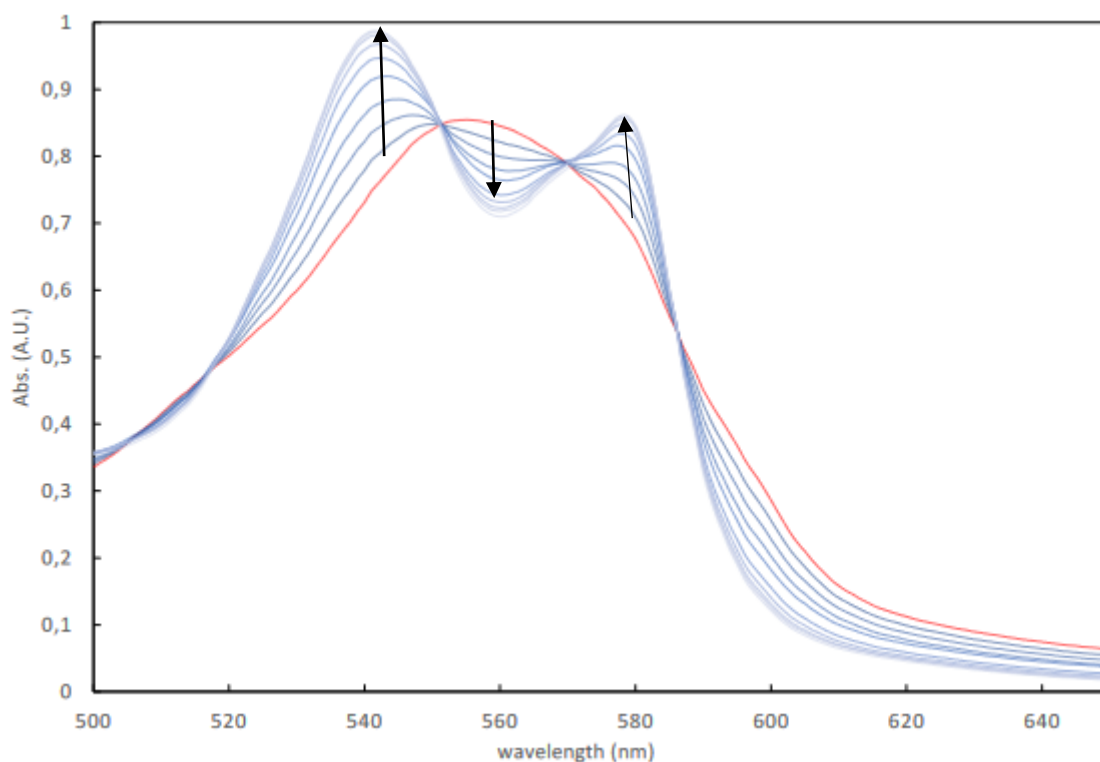


Figure A7. Evolution du spectre uv-visible de la région de la bande Q de la myoglobine (65 μM) en présence du composé **4** (20 μM) dans du PBS. La solution est irradiée pendant 5 min à $\lambda = 450$ nm, les spectres sont enregistrés toutes les 30 s.

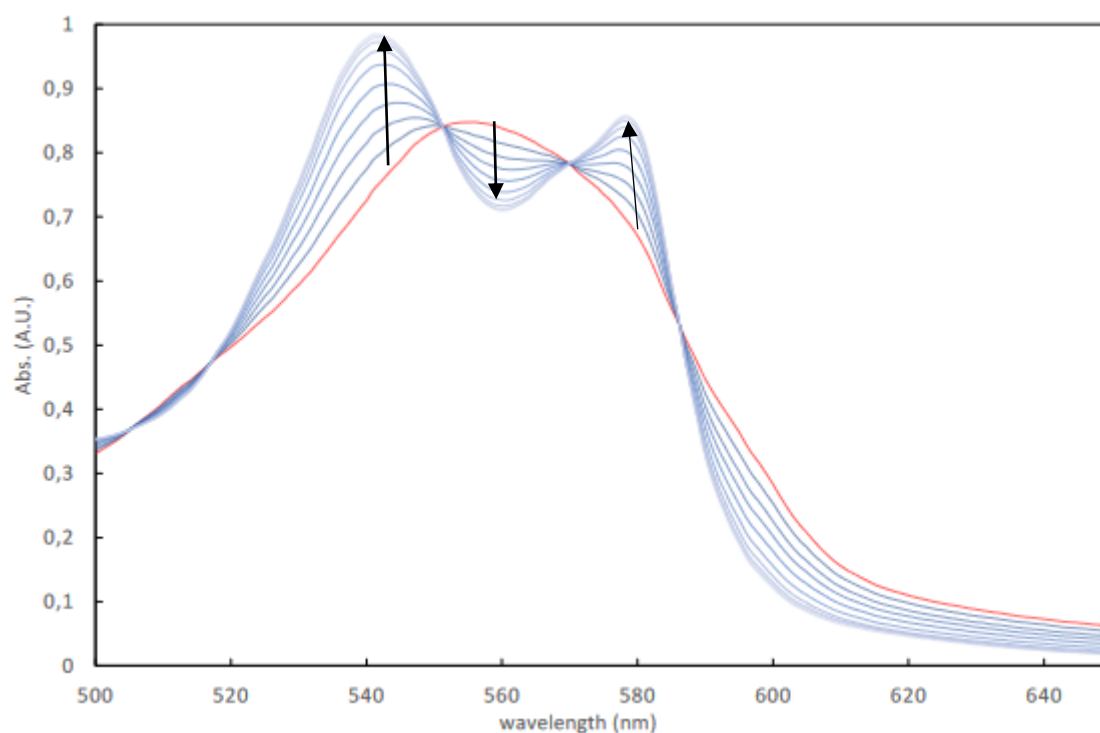


Figure A8. Evolution du spectre uv-visible de la région de la bande Q de la myoglobine (65 μM) en présence du composé **5** (20 μM) dans du PBS. La solution est irradiée pendant 5 min à $\lambda = 450$ nm, les spectres sont enregistrés toutes les 30 s.

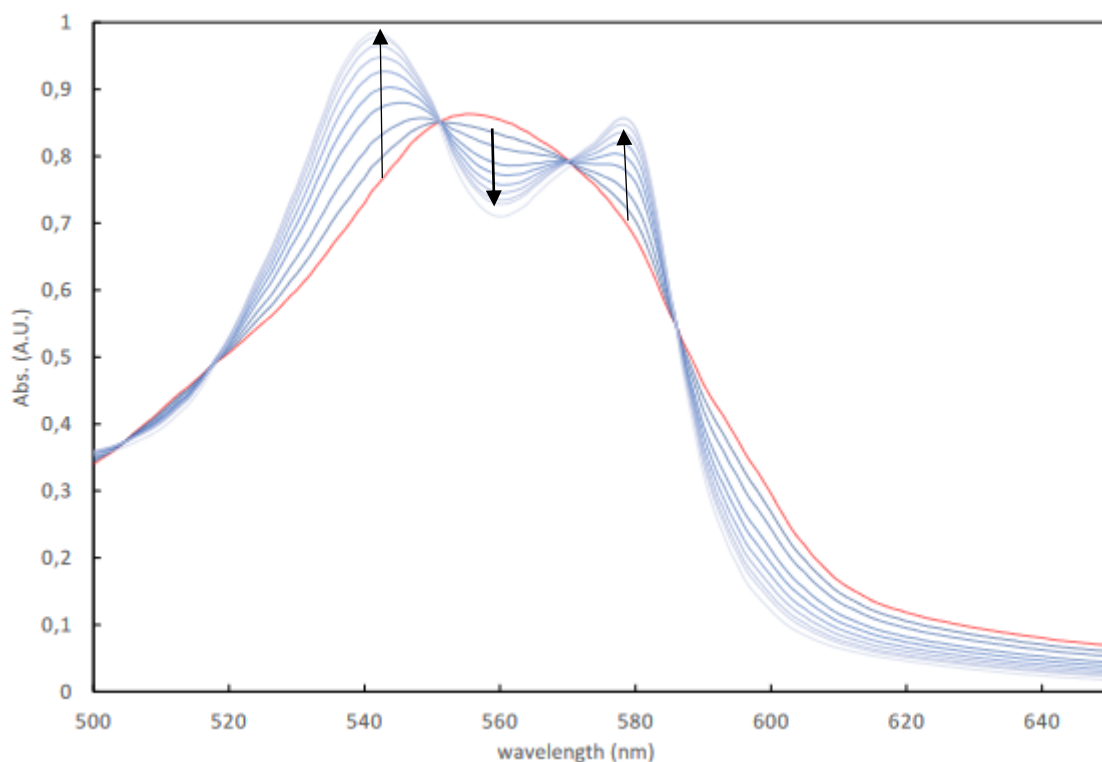


Figure A9. Evolution du spectre uv-visible de la région de la bande Q de la myoglobine (65 μM) en présence du composé **6** (20 μM) dans du PBS. La solution est irradiée pendant 5 min à $\lambda = 450$ nm, les spectres sont enregistrés toutes les 30 s.

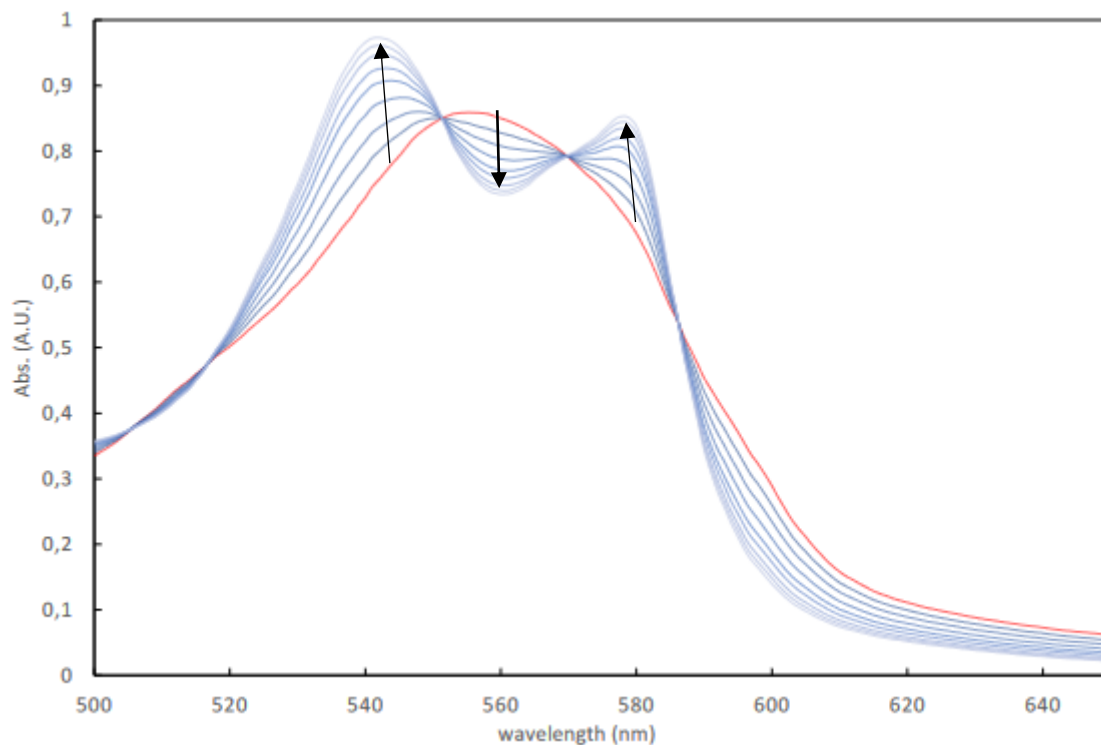


Figure A10. Evolution du spectre uv-visible de la région de la bande Q de la myoglobine (65 μM) en présence du composé **9** (20 μM) dans du PBS. La solution est irradiée pendant 5 min à $\lambda = 450$ nm, les spectres sont enregistrés toutes les 30 s.

Résumé :

Ce projet de thèse s'inscrit dans le développement d'une nouvelle stratégie de traitement du cancer du foie. En effet, le cancer du foie est l'un des cancers les plus mortels au monde, sans traitement efficace jusqu'à présent. Dans ce projet, nous avons proposé d'utiliser le monoxyde de carbone (CO) comme alternative. Le CO est connu comme étant un gaz mortel, lui valant le surnom de « tueur silencieux » cependant, depuis une dizaine d'années, le CO est décrit comme étant un agent thérapeutique prometteur entre autres pour le traitement du cancer lorsqu'il est administré à des concentrations optimales. Cependant, en raison de sa forme gazeuse, le CO reste difficile à manipuler. Pour résoudre ce problème et afin de faciliter son administration, des molécules libérant du monoxyde de carbone (CORM) ont été développées. Ces molécules sont pour la plupart des complexes organométalliques, permettant la libération de CO sous l'effet de stimulus externes, tel que la lumière visible par exemple. Dans la première partie, nous présentons la synthèse, les études de libération de CO et de cytotoxicité d'une nouvelle série de complexes photo-activables $[\text{Mn}(\text{8-hydroxyquinoline})(\text{CO})_3(\text{Imd})]$ (avec Imd = dérivés d'imidazole). En effet, nous avons développé une voie de synthèse en 2 étapes à partir du dimère $[\text{Mn}_2(\text{8-HQ})_2(\text{CO})_6]$ et greffé une série de ligands imidazoles. L'utilisation de divers ligands dérivés d'imidazole permet la synthèse d'une large gamme de complexes avec un haut degré de modularité grâce à la présence de groupes allyle, hydroxyle ou amine. Dans un second temps et dans le but d'améliorer l'effet thérapeutique, est présentée la synthèse de nouveaux CORM glycoconjugués (GlycoCORMs) afin permettre une administration ciblée du CO dans les cellules cancéreuses. Les premiers résultats biologiques ont montré une cytotoxicité accrue pour les GlycoCORMs par rapport à $[\text{Mn}(\text{8-HQ})(\text{CO})_3\text{Me-Imd}]$ avec des IC_{50} dans la gamme du μM , respectivement 5 μM et 9 μM , montrant le rôle positif de l'unité glycosidique dans l'activité biologique des glycoCORMs.

Mots clés : Monoxyde de carbone, CORMs, cancer du foie, manganèse, carbohydrates.

Abstract :

This PhD takes place in the context of the development of a new therapeutic strategy for liver cancer. The liver cancer is one of the deadliest cancers with no efficient treatment up to now. In this project, we have proposed to use carbon monoxide (CO) as an alternative. CO is known in the popular culture as a lethal gas, earning its name of "silent killer". Since the past decade, CO has emerged as a promising therapeutic agent for cancer treatment when administered at optimal concentrations. However, due to its gaseous form, CO remains difficult to handle. To overcome this issue, Carbon Monoxide Releasing Molecules (CORMs) have been introduced as a more convenient mode of administration. These molecules are mostly organometallic complexes, enabling the release of CO upon a given external stimulus. In this context, we first present the synthesis, CO release and cytotoxicity studies of a new series of photo-activatable complexes $[\text{Mn}(\text{8-hydroxyquinoline})(\text{CO})_3(\text{Imd})]$ with Imd = imidazole derivatives. We developed an expedite synthetic route from the dimeric structure $[\text{Mn}_2(\text{8-HQ})_2(\text{CO})_6]$ and applied a series of imidazole ligands. The use of various imidazole-based ancillary ligands allows the synthesis of a wide range of complexes with a high degree of modularity due to the presence of allyl, hydroxyl, or amine groups on the imidazole ring. Secondly, in order to increase the therapeutic effect, we synthesized a series of new glycoconjugated CORM (GlycoCORMs) allowing the enhancement of the delivery of CO toward cancer cells. The first biological results showed an enhanced cytotoxicity for the GlycoCORMs compared to $[\text{Mn}(\text{8-HQ})(\text{CO})_3\text{Me-Imd}]$ with IC_{50} in the μM range, respectively 5 μM and 9 μM , assessing the positive role of the carbohydrate moiety in the biological activity of the glycoCORMs.

Keywords : Carbon monoxide, CORMs, Liver cancer, manganese, carbohydrates.