

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Thèse de Doctorat

Présentée à l'Université 8 Mai 1945 - Guelma
Faculté des Sciences et de la technologie

Département de : **Génie des Procédés**
Spécialité : **Chimie Industrielle**

Par : **CHEGHIB Nedjoua**

Sujet de thèse : Synthèse, structure et évaluation biologique de molécules anticancéreuses : les 8-hydroxyquinolines et les nitroso-sulfamides d'acides aminés naturels et leurs complexes d'inclusion.

JURY

Président :	A. M. AFFOUNE	Pr. Université de Guelma
Encadreur :	M. ABDAOUI	Pr. Université de Guelma
Co-encadreur:	J.L KRAUS	Pr. Université de la Méditerranée luminy-Marseille France
Examineurs :	N. AOUF	Pr. Université d'Annaba
	F. FERKOUS	Pr. Université d'Annaba
	D. E. BENOURETH	Pr. Université de Guelma

2012

« Je dédie ce travail à la mémoire de mes parents, sans qui je ne serais pas où j'en suis aujourd'hui »

Remerciements

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de chimie appliquée, à l'université de Guelma Algérie et au laboratoire de chimie biomoléculaire, appartenant à l'Unité UMR CNRS 6216, Institut de Biologie du développement de Marseille –luminy (IBDML).

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur le professeur Mohamed ABDAOUI et Monsieur le Professeur J.L. KRAUS qui m'ont fait l'honneur de diriger ce travail, aussi pour leur disponibilité, leur passion, leur patience et toute l'attention qu'ils m'ont accordée le long de la réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent dans l'aboutissement de ce travail le témoignage de ma profonde gratitude.

Je tiens également à remercier Monsieur le professeur A.M. AFFOUNE de l'université de Guelma, qui a bien voulu me faire l'honneur de présider le jury.

Je souhaite exprimer toute ma gratitude envers les membres du jury qui ont bien voulu consacrer à ma thèse une partie de leur temps : Monsieur N. AOUF et Monsieur F. FERKOUS Professeurs à l'Université d'Annaba, Monsieur D. E. BENOURETH Professeurs à l'université de Guelma.

*Je tiens aussi à remercier les chercheurs qui ont réalisé les évaluations biologiques *in vivo*, *in vitro* et *in silico* de mes produits. C'est grâce à leurs travaux remarquables que la chimiothèque que j'ai réalisée a pu être exploitée de manière optimale. Merci (de nouveau !) à Robert Kiss, Christophe Béclin, Thierry Cresteil, Marie Hélène Cordonnier, Magali Barthelemy, Jérôme Nugier et Vincent Peyrot.*

Il me tient à cœur de remercier très sincèrement Monsieur le professeur Mekki K., Monsieur le docteur Madonna Sébastien, M^{lle} Cristina RAMÍREZ et très particulièrement Monsieur le professeur Tegouiche M., pour leur aide et leurs conseils. Je tiens à vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi durant ces années. Vous étiez toujours disponible et à l'écoute. Je vous remercie également pour votre soutien et vos conseils avisés. Soyez assurées, de mon profond respect.

La réalisation de cette thèse a été possible grâce à une bourse du gouvernement Algérien. Je remercie les gens qui m'ont facilité cette tâche.

Je n'oublierai pas mon frère, mes sœurs et mes proches pour leurs encouragements au cours de toutes ces années. Merci pour avoir su me divertir et me soutenir jusqu'au bout. Enfin, un remerciement particulier à ma sœur Chahra pour avoir sans doute été « mon moteur ».

Résumé

On a abordé la synthèse et l'étude des propriétés anticancer de deux familles chimiques de composés qui appartiennent respectivement à la famille des nitrososulfamides et à la famille des 8-hydroxyquinolines.

On a synthétisé, de nouveaux prototypes appartenant à chacune des familles citées précédemment. Les structures de ces nouvelles molécules ont été totalement caractérisées par les techniques modernes d'analyse spectrales (RMN H^1 , spectrométrie de masse et leur pureté vérifiée par chromatographie.)

- ✚ Dans le cas des composés de la famille des nitrososulfamides, on a réussi complexer ces composés dans une matrice cyclodextrine pour permettre une meilleure pénétration membranaire de ces composés en vue d'optimiser leur activité anticancer dont on sait que le facteur pénétration est un facteur limitant pour l'activité recherchée.

Les premiers résultats biologiques obtenus avec cette famille de composés, montrent que certains de ces composés montrent une activité anticancéreuse spécifique de cellules de gliomes (U373) et de cellules adénocarcinome (A549). Ces résultats encourageants, vont être optimisés par la synthèse de nouveaux analogues comportant ce pharmacophore nitrososulfamide.

- ✚ Dans le cas des composés appartenant à la famille des 8-hydroxyquinolines, on a également réussi à synthétiser une mini chimiothèque de composés, totalement identifiés. Ces composés contiennent tous un pharmacophore 8-hydroxyquinoline couplé à une partie amine, aniline ou imine dont le rôle est d'augmenter la stabilité d'un intermédiaire quinone methide responsable des propriétés anticancéreuse associées à cette famille de composés. Les premiers résultats obtenus avec cette famille de composés montrent que certains des composés synthétisés ont une activité antitumorale sur des cellules KB3 entre 0.0013 et 10 μM .

Summary

We addressed the synthesis and study of the anticancer properties of two chemical compounds families which belong respectively to the following families: nitrososulfamides and 8-hydroxyquinolines.

We synthesized, new prototypes belonging to each of the two mentioned above families. The structures of these new compounds were fully characterized by modern spectral analytical techniques (^1H NMR, mass spectrometry and their purity were checked by chromatography.)

- ✚ In the case of nitrososulfamides compounds family, we managed to get these compounds complexed in cyclodextrin matrix in order to allow a better membrane penetration of these compounds to optimize their anticancer activity as we know that the penetration factor is a limiting factor for the desired activity.

The first biological results, obtained for this family of compounds, show that some of these compounds show a specific anticancer activity of glioma cells (U373) and of adenocarcinoma (A549). These encouraging results will be optimized by the synthesis of new analogs containing this nitrososulfamide pharmacophore.

- ✚ In the case of compounds belonging to the of 8-hydroxyquinoline family, we have, also, successfully synthesized a mini-chemo library of fully identified compounds. All these compounds contain an 8-hydroxy quinoline pharmacophore coupled to part (group) imine, amine or aniline whose role is to increase the quinone methide intermediate stability responsible of the anticancer properties associated to this family of compounds. The first obtained results, for this family of compounds, show that some of the synthesized compounds have antitumor activity on KB3 cells between 0.0013 and 10 μM .

ملخص

تناولنا في عملية التوليف ودراسة الخواص المضادة للسرطان لعائلتين من المركبات الكيميائية التي تنتمي على التوالي لعائتي النتروسيلفاميدات و8- هيدروكسي الكينولين. قمنا بتوليف نماذج جديدة تنتمي لكل من العائلتين السابق ذكرهما. الصيغ المفصلة لهذه المركبات الجديدة تم بشكل كامل بواسطة الطرق التحليلية الطيفية الحديثة (والرنين المغناطيسي النووي $^1\text{H RMN}$, الطيف الكتلي والنقاوة تم فحصها بالكروماتوغرافيا).

فيما يخص مركبات عائلة النتروسيلفاميدات تمكنا من تكوين معقدات لهذه المركبات بداخل مصفوفة السيكلودكسترين للسماح لأفضل اختراق غشائي لهذه المركبات و هذا لتحسين نشاطهم المضاد للسرطان حيث معلوم أن عامل الاختراق هو عامل محدد بالنسبة للنشاط المطلوب.

النتائج البيولوجية الأولية التي تم الحصول عليها بالنسبة لهذه العائلة من المركبات، تبين أن بعض هذه المركبات تظهر نشاط مضاد للسرطان خاص لخلايا الجيلوم (U373) غدية وخلايا (A549) . هذه النتائج المشجعة، سيتم تحسينها بتوليف مركبات نظيرة جديدة تحتوي على الفارماكوفور النتروسيلفاميدات.

أما في حالة مركبات عائلة ال 8 هيدروكسي الكينولينات تم تصنيع أيضا بنجاح مكتبة مصغرة لمركبات كيميائية تم تحديد صيغها تماما. هذه المركبات جميعها تحتوي على 8- هيدروكسي الكينولين المرتبط بمجموعة الايمين, لأمين أو الأنيلين التي دورها يتمثل في زيادة استقرار الوسيط ميثيد كينون المسؤولة عن الخصائص المضادة للسرطان الخاصة بهذه العائلة من المركبات .النتائج الأولية المحصل عليها لهذه العائلة من المركبات تبين أن بعض من هذه المركبات التي تم الحصول عليها لها نشاط مضاد للسرطان على الخلايا KB3 بين $10\text{ و}0.0013\ \mu\text{M}$.

SOMMAIRE

Introduction générale.....	01
----------------------------	----

PREMIERE PARTIE

Etude Bibliographique

Chapitre I: Le cancer et ses traitements

I.1. Introduction.....	05
I.2 Le cancer.....	05
1.3 Evolution d'un cancer : tumeur, angiogenèse, métastases.....	07
I.4 Méthodes actuelles de détection et de traitements des cancers.....	08
I.4.1 Méthodes de détections.....	08
I.4.2 Les différents traitements utilisés.....	08
I.4.2.1 La chirurgie.....	08
I.4.2.2 La radiothérapie.....	09
I.4.2.3 L'hormonothérapie.....	09
I.4.2.4 L'immunothérapie.....	09
I.4.2.5 Les ultrasons.....	10
I.4.2.6 Les thérapies ciblées.....	10
I.4.2.7 La Chimiothérapie.....	10
I.5 Résistance et phénotype MDR.....	14
I.6 Conclusion	15

Chapitre II: Les 2-Chloroéthylnitrososulfamides et leurs complexes d'inclusion par la β -cyclodextrine

II.1 Introduction.....	17
II.2 Les chloroéthylnitrososulfamides (CENS).....	18
II.3 Cinétique de décomposition des 2-Chloroéthylnitrososulfamides.....	21
II.3.1 La décomposition en milieu aqueux.....	21
II.3.2 La décomposition en milieu organique	22
II.3.3 La décomposition en milieu biologique.....	23
II.4 Les chloroéthylnitrosourées (CENU) et les chloroéthylnitroso-	

-sulfamides (CENS) dérivés d'ainoesters	25
II.4.1 Les CENU dérivés d'ainoesters.....	25
II.4.2 Les CENS dérivés d'ainoesters	26
II.5 Les cyclodextrines.....	26
II.5.1 Structure géométrique et propriétés.....	27
II.5.2 Formation de complexes.....	30
II.5.3 Interaction des cyclodextrines avec les membranes biologiques.....	31
II.5.4 Les complexe d'inclusion β -CD- CENS.....	32
II.6 Conclusion.....	33
Chapitre III: Les 8-hydroxyquinoléines	
III. 1 Généralités.....	34
III.2 Méthodes de synthèse des dérivés de la quinoléine.....	35
III.2.1 A partir d'arylamines et de composés 1,3-dicarbonyles.....	35
III.2.2 A partir d'amine aromatique, aldéhydes et acide pyruvique.....	36
III.2.3 A partir d'oaminobenzaldéhyde et l'acétaldéhyde.....	37
III.2.4 A partir d'une cycloaddition [4+2] d'une imine aromatique avec un alcène...	38
III.3 Synthèse du quinoléin-8-ol (ou 8-hydroxyquinoléine).....	39
III.4 Caractéristiques physiques et chimiques du quinoléin-8-ol.....	40
III.5 Les bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substitués.....	41
III.6 Conclusion.....	43

DEUXIEME PARTIE

Synthèse, Résultats & Discussion

Chapitre I : Synthèse des CENS dérivés d'ainoacides et de leurs complexes d'inclusion à l'état solide

I. 1 Introduction.....	44
I.2 Synthèse des 2-chloroéthylnitrososulfamides dérivés d'ainoacides.....	44
I. 2.1 Synthèse des carbamates : N-BOC, N'- sulfamoylaminosters de tertbutyle (1a-6a).....	45
I.2.1.1 Caractérisation des N-BOC sulfamoylaminosters de tertbutyle (1a-6a).....	46
I.2.2 Accès aux N-(N-BOC, N-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-ainoester de	

tertbutyle (1b-6b).....	47
I.2.2.1 Caractérisation des N-(N-BOC, N-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-aminoester de tertbutyle (1b-6b).....	48
I.2.3 Méthylation des N-(N-BOC, N-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-aminoester de tertbutyle (1b- 6b).....	49
I.2.3.1 Caractérisation des N-tertbutyloxycarbonyl, N (2-chloroéthyl), N ^o méthyl, N ^o -sulfamoylaminoesters de tertbutyle (1c-6c).....	50
I. 2.4 Accès aux N-(2-chloroéthyl), N ^o -méthyle, N ^o -sulfamoylaminoacides (1d -6d)	51
I.2.4.1Caractérisation des N-(2-chloroéthyl), N ^o -méthyl, N ^o -sulfamoylaminoacides (1d -6d).....	52
I.2.5 Accès aux N-nitroso, N-(2-chloroéthyl), N ^o -méthyl, N ^o sulfamoylaminoacides (1e -6 e).....	53
I.2.5.1 Caractérisation des N-nitroso, N-(2-chloroéthyl), N ^o -méthyl, N ^o - sulfamoyl Aminoacide (1 e- 6 e).....	54
I.3 Préparation des complexes d'inclusion CENS-β-CD à l'état solide.....	55
I.3.1 Caractérisation des complexes d'inclusion CENS-β-CD.....	57
I.3.1.1 Evolution des points de fusion des complexes d'inclusion.....	57
I.3.1.2 Etude des complexes d'inclusion par spectrométrie de masse.....	57
I.3.1.3 Etude des complexes d'inclusion par RMN ¹ H.....	59
I.4 Conclusion.....	61
Chapitre II : Synthèse de dérivés du mono et bis 8-hydroxyquinoléine	
II. 1 Introduction	63
II.2. Synthèse des composés bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substitués (HQNBA).....	64
II. 2.1 Caractérisation des bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substitués...	69
II. 3 Synthèse de dérivés du mono-quinoléin-8-ol.....	72
II.3. 1 Caractérisation de dérivés du mono-quinoléin-8-ol.....	73
II.4 Conclusion.....	74
Chapitre III : Synthèse des 5-méthyl-8-hydroxyquinolines dérivés des bases de Schiffs	
III.1 Introduction	75

III.2 Accès aux 5-méthyl-8-hydroxyquinolines dérivés des bases de Schiffs.....	77
III.2.1 Caractérisation des 5-méthyl-8-hydroxyquinolines dérivés des bases de Schiffs.....	79
III.3 Conclusion	80

Chapitre IV : Evaluation biologique des différents composés synthétisés

IV.1 Introduction.....	81
IV.2 Etude de l'activité biologique des CENS et de leurs complexes d'inclusion.....	81
IV. 3 Etude de l'activité biologique des dérivés du quinoléin-8-ol.....	88
IV.4 Etude du passage de la barrière hématoencéphalique.....	91
IV.5. Evaluation in vivo.....	94
IV.6 Mécanisme d'action.....	95
IV.6.1 Formation d'un quinone methide.....	95
IV.6.2 Action alkylante sur l'ADN.....	98
IV.6.3 Action alkylante sur les protéines.....	99
IV.7 Conclusion.....	100

Conclusion générale	102
----------------------------------	-----

TROISIEME PARTIE

Partie Expérimentale

I.1 Préparation des 2-chloéthylnitrososulfamides selon la voie A	106
I.1.1 Carbamoylation-sulfamoylation	106
I.1.2 Mode opératoire de la chloroéthylation.....	109
I.1.3 N.Méthylation.....	113
I.1.4 Déprotection du Boc.....	116
I.1.5 Nitrosation	119
I.2 Méthode de la préparation des complexes d'inclusion CENS- β -CD à l'état Solide.	123
II.1 Synthèse des dérivés du quinoléin-8-ol.....	126
II.1.1 chlorométhylation de la quinoléin-8-ol.....	126
II.1.2 Synthèse des composés bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substitués.....	126
II.1.3 Préparation de dérivés du mono-quinoléin-8-ol.....	135

II.2 Synthèse du quinoléin-8-ol dérivé des imines	136
II.2.1 Synthèse de 5-(aminométhyl) quinolin-8-ol	136
II.2.2 Préparation des dérivés imines.....	138
Références bibliographiques	140
Annexe I	149
Annexe II	158

Abréviations

ADN	<i>Acide désoxyribonucléique.</i>
ACD	<i>Développement de la chimie avancé.</i>
ATP	<i>Adénosine triphosphate.</i>
A549	Cancer du poumon.
Boc	<i>Tertiobutyleoxycarbonyle.</i>
B16F10	Cancer des lignées murines de mélanome
CENU	<i>2-chloroéthylnitrosouree.</i>
CENS	<i>2- chloroéthylnitrososulfamide.</i>
C.C.M	<i>Chromatographie sur couche mince.</i>
°C	<i>Degré(s) Celsius.</i>
CC₅₀	<i>Cytotoxique concentration 50 ou concentration cytotoxique à 50 %.</i>
DIAD	<i>Diisopropyleazodicaboxilate.</i>
DMSO	<i>Diméthylsulfoxyde.</i>
DMF	<i>Diméthylformamide.</i>
d	<i>Doublet.</i>
éq.	<i>Equivalent.</i>
g	<i>Gramme(s).</i>
Hs 683	Cancer d'oligodendrogliome.
h	<i>Heure(s).</i>
ICS	<i>Isocyanate de chlorosulfonyle.</i>
KB3	<i>Cancer du carcinome de l'épiderme de la bouche humaine.</i>
KF	<i>Fluorure de potassium.</i>
Log p	<i>Coefficient de partage.</i>
MCF7	Cancer du sein.
Me OH	<i>Méthanol.</i>
m	<i>Multiplet.</i>
m/z	<i>Rapport masse/charge.</i>
MTT	<i>bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium.</i>
μM	<i>Micromolaire (= 10⁻⁶ molaire).</i>
nm	<i>Nanomètre(s).</i>
OD490	<i>La densité à 490 nm.</i>
ph₃	<i>Triphénylphosphine.</i>

Pgp	<i>Glycoprotéine P.</i>
PC3	<i>Le cancer de la prostate.</i>
Rd	<i>Rendement.</i>
Rf	<i>Retention factor ou facteur de rétention.</i>
RMN	<i>Résonance Magnétique Nucléaire</i>
SKMEL	<i>Mélanome cancer de la peau</i>
SKMEL-28	<i>Mélanome.</i>
s	<i>Singulet.</i>
t-Bu	<i>Tertiobutyle.</i>
THF	<i>Tétrahydrofuranne.</i>
TEA	<i>Triéthylamine.</i>
TFA	<i>Acide trifluoroacétique.</i>
t	<i>Triplet.</i>
TEA	<i>Triéthylamine.</i>
U373	<i>Cancer du Gliome (glioblastome)</i>
U87	<i>Les cellules de glioblastome (cellules tumorales du cerveau)</i>
β-CD	<i>β -cyclodextrine.</i>
v	<i>Fréquence en I.R. (exprimée en cm^{-1})</i>
(δ)	<i>Déplacement chimique en RMN (exprimé en ppm).</i>

Liste des figures

Figure 1. Caractéristiques spécifiques acquises par les cellules cancéreuses.	06
Figure 2. Naissance de métastases.	08
Figure 3. Aperçu de la diversité structurale des antimétabolites.	11
Figure 4. Stabilisants des coupures de l'ADN.	12
Figure 5. Structures chimiques de Vincristine et Paclitaxel.	13
Figure 6. Aperçu de la diversité structurales des agents dits alkylants.	14
Figure 7. Exemples des N-(2-chloroéthyl) nitrosourées(CENU).	17
Figure 8. Quelques exemples des CENS connus	19
Figure 9. Exemple des CENU dérivés d'aminoacides.	25
Figure 10. Représentations de la structure chimique des cyclodextrines naturelles.	27
Figure 11. Structures tridimensionnelles des cyclodextrines naturelles (α , β et γ CD de gauche à droite), avec de haut en bas: une vue de la face des hydroxyles secondaires (« grand côté »), une vue latérale et, une vue de la face des hydroxyles primaires (« petit côté »). En bas, les dimensions respectives des CD obtenues d'après les données cristallographiques.	28
Figure12 . Représentations schématiques de complexes d'inclusion de stœchiométries différentes (Barillaro, 2006).	30
Figure 13. Exemple de complexes β CD+ CENS	33
Figure 14. Représentation des trois formes en milieu neutre du quinoléin 8ol ou 8 hydroxyquinoléine (8HQ).	41
Figure 15. Chélation de deux molécules de quinoléin 8 ol autour d'un métal.	41
Figure 16. Quelques exemples des bis (<i>N</i> (5méthyl)quinoléin 8ol) amine <i>N</i> - substitués déjà synthétisés.	43
Figure 17. Structure de la β -cyclodextrines et des CENS utilisés dans cette étude.	56
Figure 18. Spectre de masse en mode electrospray négatif de l'échantillon C5.	58
Figure 19. Spectre de masse en mode electrospray négatif de l'échantillon C6.	59
Figure 20. Bis (<i>N</i> (5-méthyl)quinoléin-8-ol)amine <i>N</i> -substituée.	63
Figure 21. Evaluation biologique du CENS _{réf} sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.	84
Figure 22. Evaluation biologique du composé 1 e sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.	85
Figure 23. Evaluation biologique du composé 2 e sur un large panel de lignées	

cellulaires cancéreuses.	85
Figure 24. Evaluation biologique du composé 3 e sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.	85
Figure 25. Evaluation biologique du composé 4 e sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.	86
Figure 26. Evaluation biologique du composé 5 e sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.	86
Figure 27. Evaluation biologique du composé 6 e sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.	86
Figure 28. Cultures cellulaires de type Hs683 traitées avec 500 nM du composé 16 à T=0 (A) et T=3 jours (B). Les contrôles à T=0 et à T=3 jours figurent respectivement en C et D.	91
Figure 29. Evaluation de l'activité <i>in vivo</i> sur des cellules Hs683.	94
Figure 30. Remplacement de l'amine de l'azote central de dérivés quinoléin-8 -ol par une fonction amide ou une fonction carbamate.	96
Figure 31. a- Protection de la fonction alcools de quinoléin-8-ol. b- Remplacement de quinoléin-8-ol par de la quinoléine.	96

Liste des schémas

Schéma 1. Prolifération anarchique des cellules.	05
Schéma 2. Décomposition des nitrosourées.	18
Schéma 3. Synthèse des CENS selon les trois voies A, B, C.	20
Schéma 4. Mécanisme de dénitrosation des CENS.	22
Schéma 5. Mécanisme de l'hydrolyse des CENS.	22
Schéma 6. Mécanisme de décomposition des CENS en milieu organique.	23
Schéma 7. Mécanisme de décomposition des CENS dans du sérum de vœu fœtal.	24
Schéma 8. Synthèse de Skraup.	35
Schéma 9. Synthèse des dérivés de la quinoléine selon Combes.	36
Schéma 10. Synthèse des dérivés de la quinoléine à partir d'aldéhydes β -cétoniques.	36
Schéma 11. Synthèse des acides quinoléinecarboxyliques.	37
Schéma 12. Synthèse de quinoléine selon Friedländer.	37
Schéma 13. Synthèse de Povarov.	38
Schéma 14. Synthèse du quinoléin 8ol (ou 8 hydroxyquinoléine).	39
Schéma 15. L'halométhylation d'une 8 hydroxyquinoléine via un cation chlorométhyle (A) et via la génération d'un cation hydroxyméthyle (B).	42
Schéma 16. Accès aux N-BOC sulfamoylaminoesters de <i>tert</i> butyle.	45
Schéma 17. Chloroéthylation via la réaction de Mitsunobu.	47
Schéma 18. Exemple de la réaction de nitrosation parasite d'un CENS issu d'un aminoester de <i>tert</i> butyle.	49
Schéma 19. Réaction de N-méthylation selon le procédé de Catt et Matier.	50
Schéma 20. Déprotection du N- <i>tert</i> butyloxycarbonyl, N (2-chloroéthyl), N ^{méthyl} , N ^{sulfamoylamino} esters de <i>tert</i> butyle.	52
Schéma 21. Nitrosation des N-(2-chloroéthyl), N ^{méthyl} , N ^{sulfamoyl} aminoacides.	54
Schéma 22. (i)Formaldéhyde, 0°C, 24h, HCl 32%,HClg (ii) R-NH ₂ ,K ₂ CO ₃ , CH ₃ CN,50°C (iii) Formaldéhyde, 180-190°C, 24h, (NH ₂ OH) ₂ ,H ₂ SO ₄ .	65
Schéma 23. Mécanisme de l'halométhylation d'un 8 hydroxyquinoléine via un cation chlorométhyle (A) et via la génération d'un cation hydroxyméthyle (B).	66
Schéma 24. Mécanisme de l'akylation des amines avec K ₂ CO ₃ .	68
Schéma 25. (i) R-NH ₂ ,K ₂ CO ₃ , CH ₃ CN,50°C	72

Schéma 26. Dérivés des bases de schiff contenant le motif 5-methyl-8-hydroxyquinoline génère l'intermédiaire méthide quinone.	76
Schéma 27. (i) Formaldéhyde, 0°C, 24h, HCl 32%,HClg (ii) DMF, phtalimide de potassium, 24h,180-190°C (iii) HCl 32%, 9h à reflux, (iv) R-CHO, MeOH, 24h à reflux.	77
Schéma 28. Equilibre tautomérique des 8-hydroxyquinoliène dérivés des bases de schiff.	79
Schéma 29. Réaction ayant lieu au sein de la mitochondrie.	82
Schéma 30. Hypothèse du mécanisme d'action générant le <i>quinone méthide</i> .	97
Schéma 31. Identification de l'intermédiaire <i>quinine methide</i> via un modèle chimique mimétique.	100

Liste des Tableau

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques des principales cyclodextrines.	29
Tableau 2: Caractéristiques physico-chimiques des <i>N</i> -BOC sulfamoylamoesters <i>tert</i> butyliques (1a-6a).	46
Tableau 3: Caractéristiques physico-chimiques des <i>N</i> -(<i>N</i> -BOC, <i>N</i> -(2-chloroéthyl) sulfamoyl)- aminoester de <i>tert</i> butyle (1b-6b).	48
Tableau 4: Caractéristiques physicochimiques des <i>N-tert</i> butyloxycarbonyl, <i>N</i> (2-chloroéthyl), <i>N</i> 'méthyle, <i>N</i> '-sulfamoylamoesters de <i>tert</i> butyle (1c-6c).	51
Tableau 5: Caractéristiques physico-chimiques des composés 1d-6d.	53
Tableau 6: Caractéristiques physicochimiques des <i>N</i> -nitroso, <i>N</i> -(2-chloroéthyl), <i>N</i> 'méthyl, <i>N</i> '- sulfamoylamoacide (CENS).	55
Tableau 7: Points de fusion des CENS, de la β -CD, et des complexes d'inclusion.	57
Tableau 8: Etude du complexe d'inclusion C5 par RMN ^1H .	60
Tableau 9 : Etude du complexe d'inclusion C6 par RMN ^1H .	61
Tableau 10 : Caractéristiques physico-chimiques des bis (<i>N</i> -(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine <i>N</i> -substitués.	70
Tableau 11 : Caractéristiques physico-chimiques des mono-quinoléin-8-ol	73
Tableau 12 : Caractéristiques physico-chimiques des composés (22-26).	80
Tableau 13: Valeur d'inhibition de croissance sur la lignée KB3 après 3 jours de culture en présence des CENS dérivé de la phénylalanine et l'isoleucine et leurs précurseurs.	83
Tableau 14: Valeur d'inhibition de croissance après 3 jours de culture en présence des CENS.	84
Tableau 15: Valeur d'inhibition de croissance après 3 jours de culture en présence des complexes d'inclusion CENS- β CD.	87
Tableau 16 : Effets cytotoxiques et cytostatiques des dérivés du quinoléin-8-ol sur les lignées cellulaires KB3-1 et U87.	89
Tableau 17 : Evaluation de l'affinité du composé 4 vis-à-vis de la Pgp.	93

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE


Le cancer forme un enjeu de **santé publique** fort. Un tiers des décès masculins et un quart des décès féminins lui sont dus. Bien que sa mortalité diminue depuis deux décennies, au moins pour certains types de cancer.


Notre vision des maladies en général et du cancer en particulier, a beaucoup évolué au cours du temps ainsi que les moyens de combattre ces infections. D'un point de vue historique, le diagnostic du cancer apparaît très tôt : dès l'antiquité les égyptiens puis les grecs caractérisent le cancer comme une tumeur envahissante conduisant à une mort inéluctable. Le mot cancer vient de *carcinus* qui signifie crabe en Grec car dans l'esprit des gens de l'antiquité le cancer y est comparé à un crabe dévorant les tissus.

Il est urgent de réagir face à cette épidémie, avec tous les moyens possibles, principalement par la promotion de la santé, la prévention primaire et la détection précoce, afin d'éviter ou de minimiser les conséquences collectives et personnelles de cette maladie dévastatrice, qui éteint plus de 7 millions de vies à chaque année dans le monde.

A l'heure actuelle environ la moitié des cancers sont guéris par les moyens thérapeutiques conventionnels combinant principalement la chirurgie, la radiothérapie et enfin la chimiothérapie. Concernant cette dernière, elle reste le traitement privilégié des situations malheureusement plus graves, cancers localement évolués et/ou métastatiques, en permettant un allongement certain de la survie des malades, associé le plus souvent à une amélioration de leur qualité de vie. Cependant, elle n'offre malheureusement toujours pas d'espoir de curabilité dans la majeure partie des cas. Le vrai défi dans la chimiothérapie des cancers reste la prédiction de la réponse thérapeutique en termes d'amélioration de l'efficacité du traitement, mais aussi du contrôle des effets toxiques qui peuvent, à l'extrême, mettre en danger la vie des patients.

Les deux grandes approches utilisées à ce jour pour tenter de pallier la résistance aux agents anticancéreux sont : ^{1, 2, 3.}

 La recherche de drogues nouvelles ayant une forte toxicité cellulaire ou des drogues qui ciblent sélectivement les cellules cancéreuses.

 La recherche d'inhibiteurs de l'efflux des drogues, qui sont des composés à utiliser en combinaison avec des anticancéreux, afin de resensibiliser la cellule aux traitements.

Notre objectif dans ce travail consiste à l'innovation moléculaire appliquée à la chimiothérapie anti-cancéreuse. Ce projet est le fruit d'un travail pluridisciplinaire impliquant une collaboration avec l'équipe du Professeur J.L. KRAUS, Laboratoire de Chimie Biomoléculaire, appartenant à l'Unité UMR CNRS 6216, Institut de Biologie du développement de Marseille –luminy (IBDML).

Notre rôle dans cette thématique a consisté à mettre en place les fondations d'un projet de recherche à savoir la conception, la synthèse, la validation biologique et l'étude du mécanisme d'action de nouvelles molécules thérapeutiques vis-à-vis des cancers en général et des glioblastomes en particulier. Les glioblastomes font partie des cancers du cerveau les plus agressifs et les plus résistants aux thérapies. Le seul médicament efficace développé à ce jour, le Témazolomide (ou *Temodar*) n'est utilisé qu'en combinaison à des traitements lourds (chirurgie et radiothérapie) et ceci pour des résultats mitigés.

Pour atteindre nos objectifs, on s'est intéressés à la synthèse et l'étude des propriétés anticancer de deux familles chimiques de composés qui appartiennent respectivement à la famille des nitrososulfamides et à la famille des 8-hydroxyquinolines.

Les nitrososulfamides ont montré un profil pharmacologique très significatif comparative aux 2-chloroéthylnitrosourées (CENU), une des principales classes de composés oncostatique utilisés en clinique dans le traitement des tumeurs solides⁴.

Dans ce cadre nous avons préparé une série de 2- Chloroéthylnitrososulfamides (CENS) issus d'acide libre dans le but d'introduire une possibilité de pharmacomodulation. Pour ceci nous avons envisagé de greffer le pharmacophore responsable de la cytotoxicité à des acides libres du fait qu'ils peuvent jouer un rôle de vecteur vers les cellules cibles et de transporteurs membranaires.

Leur stratégie de synthèse a été largement décrite, elle repose essentiellement sur l'aménagement polyfonctionnel du chlorosulfonyl d'isocyanate qui a été exploité pour fournir le motif sulfone inséré à la place du carbonyle décrit pour les analogues 2-chloroéthylnitrosourées (CENU).

Malheureusement, les composés ainsi formés sont peu solubles et relativement très instables et surtout qu'ils se présentent sous forme d'huile. Pour parer à ces inconvénients plusieurs techniques ont été mises en œuvre.

Pour notre part, on s'est intéressés à améliorer les propriétés de ces composés en procédant à leur complexation par la β -Cyclodextrine vu leur capacité à former des complexes avec des molécules hydrophobes. Elles sont notamment utilisées pour favoriser la solubilité de substances actives insolubles en milieu aqueux, pour augmenter leur biodisponibilité, pour améliorer dans certains cas la stabilité de molécules ou de formulations et pour diminuer des effets indésirables ainsi que pour leurs propriétés promotrices d'absorption.

Dans la famille des 8-hydroxyquinoline le motif bis (*N*-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine *N*-substitué a servi de pharmacophore de base pour l'élaboration de nouveaux types d'agents anticancéreux.

La stratégie de recherche favorisée par notre laboratoire est la « *Diversity Oriented Synthesis* »⁵, dans ce but, nous avons élaboré une chimiothèque focalisée de molécules basées sur ce que l'on nomme une structure privilégiée. Ce concept a émergé comme une approche complémentaire pour la recherche de nouvelles molécules bioactives. Ce sont des structures sélectionnées par le chimiste médicinal pour la présence de fonctionnalités chimiques particulières, qui leur confèrent leur réactivité chimique et par conséquent induisent de possibles activités biologiques. De plus, ces structures possèdent le plus souvent de bonnes propriétés de « drogabilité »⁶, certains de ces motifs étant eux-mêmes issues de médicaments mis sur le marché. Il en résulte que la synthèse de composés élaborés à partir de telles structures permet d'envisager le développement de chimiothèques à haute valeur ajoutée.

Ce manuscrit est composé de trois parties distinctes:

➤ La première partie, divisée en trois chapitres, ne présente pas de résultats de ce travail, mais situe le sujet par rapport aux connaissances actuelles et expose quelques notions nécessaires à connaître pour bien comprendre la suite du manuscrit.

- ✚ Le premier chapitre présente un aperçu général sur le cancer, sa détection et ses résistances aux médicaments anticancéreux.
- ✚ Le deuxième chapitre est réservé aux CENS, Cyclodextrine et les complexes d'inclusions sous forme d'une étude bibliographique des moyens utilisés par le passé pour améliorer les propriétés physico-chimiques des CENS.

- ✚ Le troisième chapitre est consacré aux 8-hydroxyquinoléine, les bis (*N*-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine *N*-substitués et leur importance comme nouvelle cible dans le domaine thérapeutique.
- La deuxième partie de cette thèse est consacrée aux travaux personnels et elle se divise en quatre chapitres qui étalent les résultats et abordent les discussions sur les synthèses, les caractérisations et l'évaluation biologique des composés obtenus.
- La troisième partie est réservée à la description des manipulations et des essais que nous avons conduits au cours de ce travail, ainsi que les caractéristiques des produits obtenus.
- Nous achevons ce travail par une conclusion générale.

PREMIERE PARTIE
Etude Bibliographique

CHAPITRE I

Le cancer et ses traitements

I.1. Introduction

Malgré de nombreux progrès réalisés dans le domaine de la recherche contre le cancer au cours de ces dernières années, cette maladie reste encore une des premières causes de mortalité dans les pays développés.

Le traitement d'un cancer comprend l'ensemble des soins médicaux destinés à combattre la maladie pour en limiter les conséquences, éviter la mort, rétablir la santé et entraîner la guérison. Le traitement requiert plusieurs stratégies : la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie.

La chimiothérapie occupe une place considérable dans le traitement des cancers, notamment pour ceux qui ne peuvent pas être traités par chirurgie ou radiothérapie, comme les lymphomes, leucémies et tumeurs métastatiques. Malheureusement, très peu parmi les patients traités auront une rémission prolongée à cause de la résistance fréquente des cellules cancéreuses à la chimiothérapie.

I.2 Le cancer

Le cancer est une maladie caractérisée par une prolifération anarchique et interrompue de cellules (schema1) qui échappent à certains mécanismes de régulation comme l'apoptose et la croissance cellulaire.

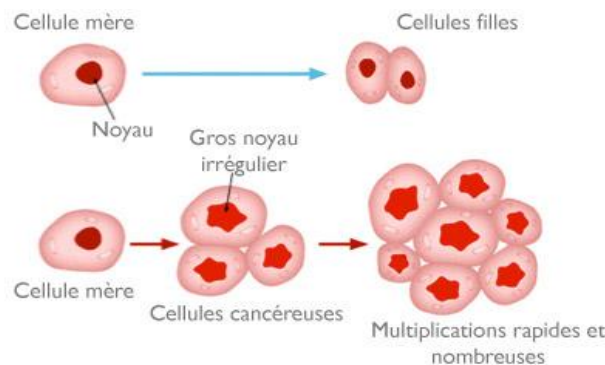


Schéma 1. Prolifération anarchique des cellules.

(Pris sur <http://www.membres.multimania.fr/journalscience/news/cancer.html>).

On distingue généralement trois types de cancer⁷ :

- Les carcinomes ou cancers des cellules épithéliales (cellules de revêtement, peau par exemple) qui représentent la grande majorité des cancers.

- Les sarcomes appelés aussi cancers du tissu conjonctif (tissu de soutien présent dans l'organisme, os ou muscles par exemple).
- Les hématosarcomes ou cancers des cellules sanguines (leucémies, myélomes et lymphomes).

Hanahan et Weinberg⁸ ont recensé six caractéristiques spécifiques acquises par les cellules cancéreuses (Figure 1).

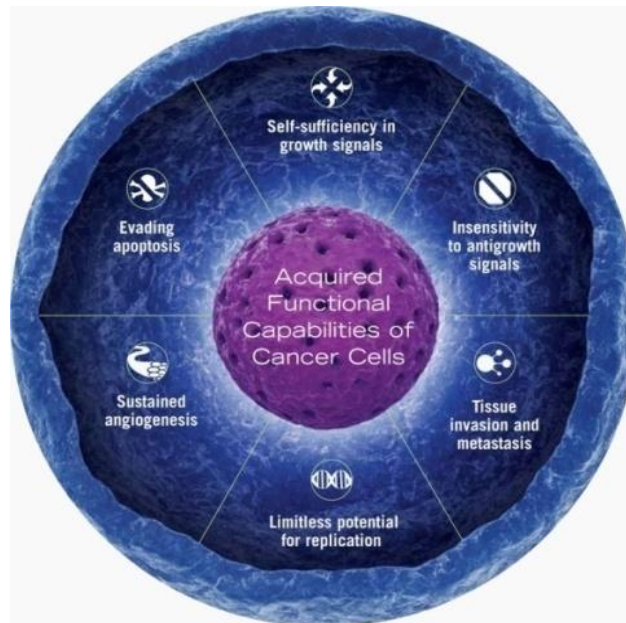


Figure 1. Caractéristiques spécifiques acquises par les cellules cancéreuses. (Pris sur <http://www.biooncology.com/images/pathways-lg.jpg>).

1. Indépendance vis-à-vis des signaux stimulant la prolifération : Normalement, les cellules ne se divisent que lorsqu'elles reçoivent un stimulus particulier mais dans les tumeurs, les cellules n'ont plus besoin de ce signal à cause de l'expression accrue et continue des gènes de la prolifération cellulaire.

2. Insensibilité aux signaux inhibiteurs de la prolifération cellulaire.

3. Abolition de l'apoptose ou mort cellulaire programmée. En cas de stress ou d'anomalie ne pouvant pas être éliminée, une cellule normale se suicide en utilisant l'apoptose. Les cellules tumorales ont inactivé tous ces mécanismes pour mieux survivre.

4. Capacité proliférative illimitée : le nombre usuel de divisions cellulaires pour une cellule humaine est de 50 à 60 (sénescence cellulaire, limite de Hayflick), après quoi elle cesse de pouvoir se diviser. Les cellules tumorales continuent de se diviser sans limite

visible grâce à l'activité de la télomérase qui est fortement active dans toutes les cellules cancéreuses. Les cellules deviennent immortelles.

5. Capacité de susciter l'angiogenèse. Les cellules tumorales (et la tumeur) ont un besoin important en oxygène et en nutriments pour survivre. Elles vont donc stimuler la formation de nouveaux vaisseaux sanguins afin d'alimenter la tumeur.

6. Acquisition d'un pouvoir invasif. Les cellules tumorales sont capables de passer à l'intérieur d'un vaisseau sanguin afin d'être transportées dans un autre organe où elles vont générer une seconde tumeur.

Une seule mutation^{9, 10, 11} ne suffit pas à créer le cancer. En effet, au cours de sa vie, le corps humain va connaître 10^{16} divisions cellulaires, donc autant de chance de connaître une mutation au niveau de l'ADN. Si une seule mutation était suffisante, alors l'espèce humaine ne devrait pas être viable.

1.3 Evolution d'un cancer : tumeur, angiogenèse, métastases^{12, 13, 14}

En se multipliant, les cellules cancéreuses vont alors former un amas de cellules transformées qu'on nomme tumeur. Cette tumeur primaire a une origine clonale car les cellules qui la composent sont toutes issues de la cellule mutée initiale.

Lorsque la tumeur grossit pour atteindre la taille d'1 cm² environ (ce qui correspond déjà à des milliards de cellules), la tumeur se répand dans l'organisme. Grâce à des facteurs chimiques, la tumeur peut attirer vers elle un vaisseau soit sanguin, soit lymphatique. Lorsque la tumeur est assez proche de celui-ci, elle libère des enzymes appelés protéases qui vont dégrader la membrane basale vasculaire (MBV- elle constitue le premier rempart contre l'invasion tumorale) et libérer ensuite des hormones de croissance qui vont provoquer la formation d'une nouvelle ramification de ce vaisseau ou néovaisseau, qui alimente la tumeur et lui permet encore de se développer. La formation d'un néovaisseau est appelée angiogenèse.

Après mutations génétiques, les cellules tumorales diffusent dans le sang. Ce processus de dissémination ainsi que les tumeurs secondaires qui en résultent sont appelé métastases. Le cancer devient invasif. La figure 2 montre comment une tumeur bénigne peut aboutir à la formation de métastases.

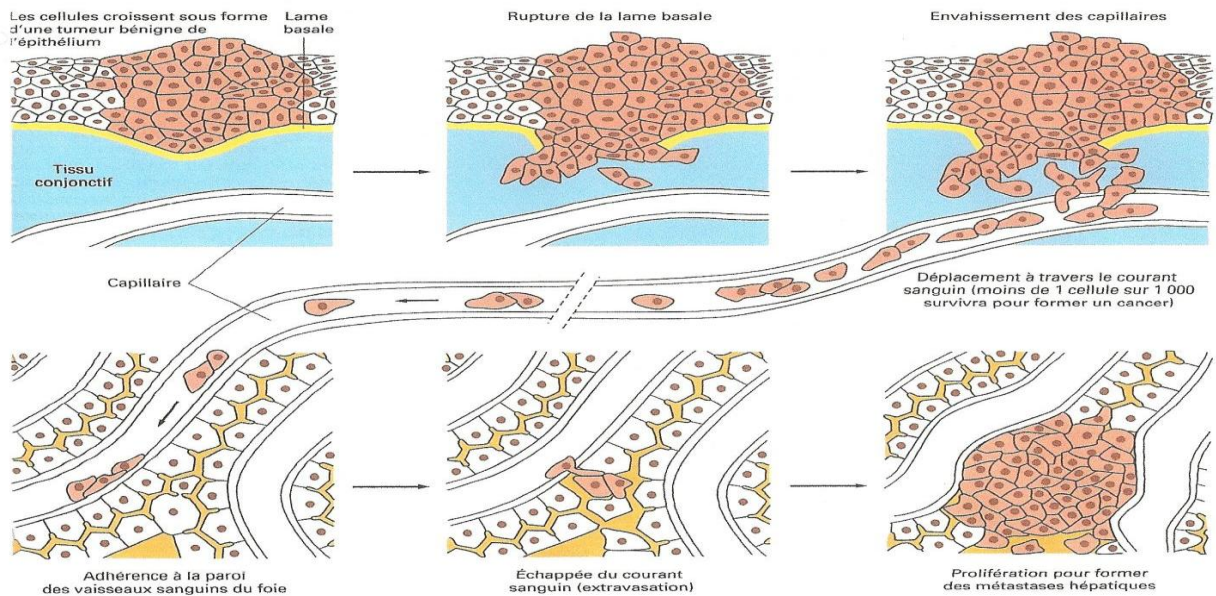


Figure 2. Naissance de métastases (*Pris sur Sébastien D., Thèse de Doctorat, Chimie-Biologie-Santé, Université de Toulouse III, Sciences de la Matière, 8 Octobre 2010.*)

I.4 Méthodes actuelles de détection et de traitements des cancers

I.4.1 Méthodes de détections¹⁵

La détection avancée des cancers est capitale pour permettre un traitement curatif efficace. Actuellement les méthodes utilisées pour le diagnostic sont généralement des techniques d'imagerie médicale et l'examen après prélèvements de tissus. Les méthodes d'imagerie médicale comprennent la radiographie (rayons X), l'échographie (ultrasons), l'IRM (résonance magnétique nucléaire) et les techniques nucléaires (radioactivités).

I.4.2 Les différents traitements utilisés

Le choix du traitement dépend d'une part de l'organe affecté, et d'autre part de l'avancement du cancer. Plusieurs méthodes de traitements thérapeutiques sont utilisées pour soigner les cancers mais la chirurgie reste le moyen le plus couramment utilisé pour les traiter (excepté pour les cancers hématopoïétiques).

I.4.2.1 La chirurgie^{16, 17}

C'est la première technique utilisée, elle peut servir soit à poser un diagnostic soit à enlever les cellules cancéreuses présentes dans l'organe. Les progrès technologiques ont permis une miniaturisation des outils de travail des chirurgiens qui grâce à des caméras peuvent travailler avec une minutie accrue et donc sauver un maximum de tissus sains

(dans plus de 50 % des cas, une femme traitée pour un cancer du sein n'est pas amputée). Cette technique ne peut donc être utilisée que pour des cancers localisés et avec une progression lente (cancer de la peau par exemple). La chirurgie n'a aucun effet sur les éventuelles métastases et donc doit être complétée par une technique dite « générale ».

I.4.2.2 La radiothérapie^{18, 19}

La radiothérapie est une technique qui consiste à détruire les cellules cancéreuses par irradiation. Elle peut être utilisée avant la chirurgie afin de diminuer la taille de la tumeur ou après, afin de détruire les éventuelles cellules cancéreuses ayant échappé aux bistouris afin d'éviter les récives. L'objectif est de déstabiliser l'ADN de la cellule cancéreuse, l'empêchant ainsi de se multiplier. On va irradier les organes cancéreux en dirigeant le faisceau de rayons. Les progrès techniques permettent de n'irradier que les organes malades et d'éviter les tissus sains. Cette technique indolore a néanmoins des effets secondaires, on observe parfois des brûlures au niveau de la peau.

I.4.2.3 L'hormonothérapie

L'hormonothérapie est une branche particulière de la chimiothérapie. Elle s'intéresse aux cancers liés au fonctionnement hormonal normal du corps humain. Les hormones jouent un rôle important dans la multiplication des cellules et donc des cellules cancéreuses. Ce traitement a donc pour but d'empêcher les cellules cancéreuses de capter et d'utiliser les hormones dont elles ont besoin. Les cancers du sein et de la prostate sont de bons candidats pour de tels traitements. Les effets secondaires sont ceux associés à la disparition d'hormones: andropause et ménopause.

I.4.2.4 L'immunothérapie

Tout le monde produit des cellules cancéreuses mais celles-ci sont naturellement éliminées par notre système immunitaire. Si un cancer a pu s'installer c'est que notre système immunitaire connaît une faille. L'immunothérapie met en place des réactions de défenses immunitaires en occasionnant toutefois, de nombreux effets secondaires indésirables. Son but principal est d'empêcher la progression d'un cancer en attendant de pouvoir le traiter.

I.4.2.5 Les ultrasons²⁰

Une étude récente réalisée sur des souris apporte des résultats encourageant pour ce type de traitement. L'exposition de tumeurs de souris à des ultrasons à permis de priver ces tumeurs d'apport sanguin via les vaisseaux nourriciers. Une tumeur développe son propre réseau sanguin qui est donc neuf et faible par rapport au réseau déjà en place. L'utilisation d'ultrasons à une puissance légèrement supérieure à celle utilisée pour l'observation d'images (échographie) mais inférieure à celle nécessaire au décollement des tissus, a permis de voir un effet profond sur l'apport de sang aux tumeurs et une diminution de celles-ci.

I.4.2.6 Les thérapies ciblées²¹

Le terme « thérapies ciblées » désigne des nouveaux traitements qui, comme leur nom l'indique, consistent à « cibler » précisément certaines caractéristiques des cellules cancéreuses. Les progrès de la connaissance en biologie des tumeurs ont en effet permis d'identifier avec précision le rôle joué par un certain nombre de molécules dans le développement d'un cancer et de ses métastases. En s'attaquant à ces molécules, les thérapies ciblées visent à une plus grande efficacité et, parce qu'elles ne sont pas dirigées vers les cellules saines, entraînent moins d'effets secondaires que les chimiothérapies classiques.

I.4.2.7 La Chimiothérapie^{22, 23, 24, 25, 26}

Toutes les techniques précédemment citées ont un intérêt particulier et les oncologues les utilisent en fonction de l'état du cancer. Néanmoins, la chimiothérapie est la technique la plus couramment utilisée. En effet, elle peut, avant une opération chirurgicale diminuer la taille de la tumeur et après l'ablation éviter les récives. Elle va traiter l'organe atteint mais aussi l'ensemble de l'organisme. Elle est donc souvent utilisée en traitement de fond.

La chimiothérapie est un traitement faisant intervenir des produit toxiques pour les cellules cancéreuses (on dit « cytotoxiques », de cyto = cellule). A la différence de la chirurgie, par exemple, il s'agit d'un traitement qualifié de « systémique » ou « général » parce qu'il concerne l'ensemble du corps, et non un organe particulier. Il a donc la capacité de détruire toute cellule cancéreuse, quelle que soit sa localisation dans l'organisme, qu'elle ait été repérée ou non par un examen.

Un large spectre de cancers pourra ainsi être traité grâce aux nombreuses molécules cytotoxiques actuellement sur le marché que l'on peut regrouper en quatre catégories principales.

a. Les antimétabolites

Ils inhibent la synthèse des acides nucléiques. Le plus souvent, ce sont des analogues de métabolites tels que les purines ou les pyrimidines, fondamentaux pour le fonctionnement de la cellule. Ils prennent la place de ces derniers mais ne peuvent s'incorporer à l'ADN lors de la phase S du cycle cellulaire, arrêtant ainsi le développement et la division cellulaire. Il existe trois groupes d'antimétabolites selon le type de cible qu'ils atteignent.

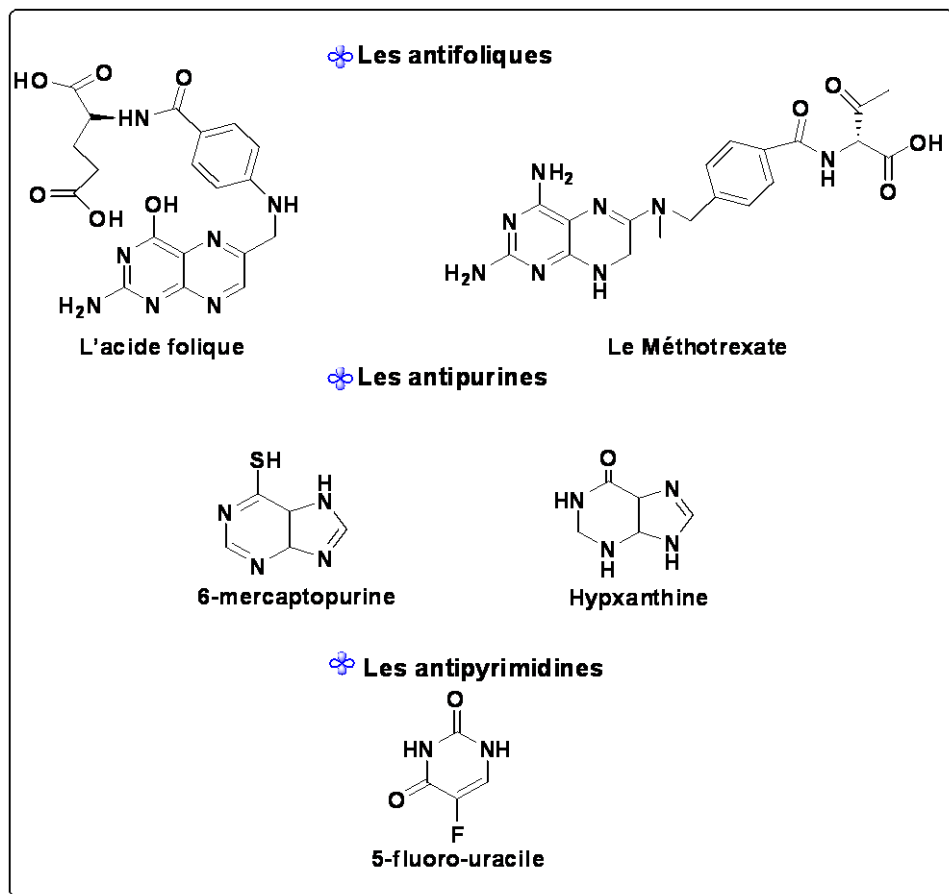


Figure 3. Aperçu de la diversité structurale des antimétabolites

b. Les agents induisant ou stabilisant des coupures de l'ADN

Ces agents interagissent avec des enzymes intervenant dans le cycle de transformation et de duplication de l'ADN (agents anti-topoisomérase) ou peuvent également induire des ruptures de l'ADN (poisons de l'ADN).

Les topoisomérases sont des enzymes capables après formation d'un complexe enzyme-ADN de couper un ou deux brins d'ADN, de faire passer un brin ou un segment à travers la coupure et de refermer la brèche. On distingue deux types de topoisomérases. Les topoisomérases I (monomériques) induisent des cassures monobrins permettant au brin intact de se désenrouler, tandis que les topoisomérases II (dimériques) induisent la coupure de deux brins pour permettre le passage d'un double brin intact à travers le pont ouvert.

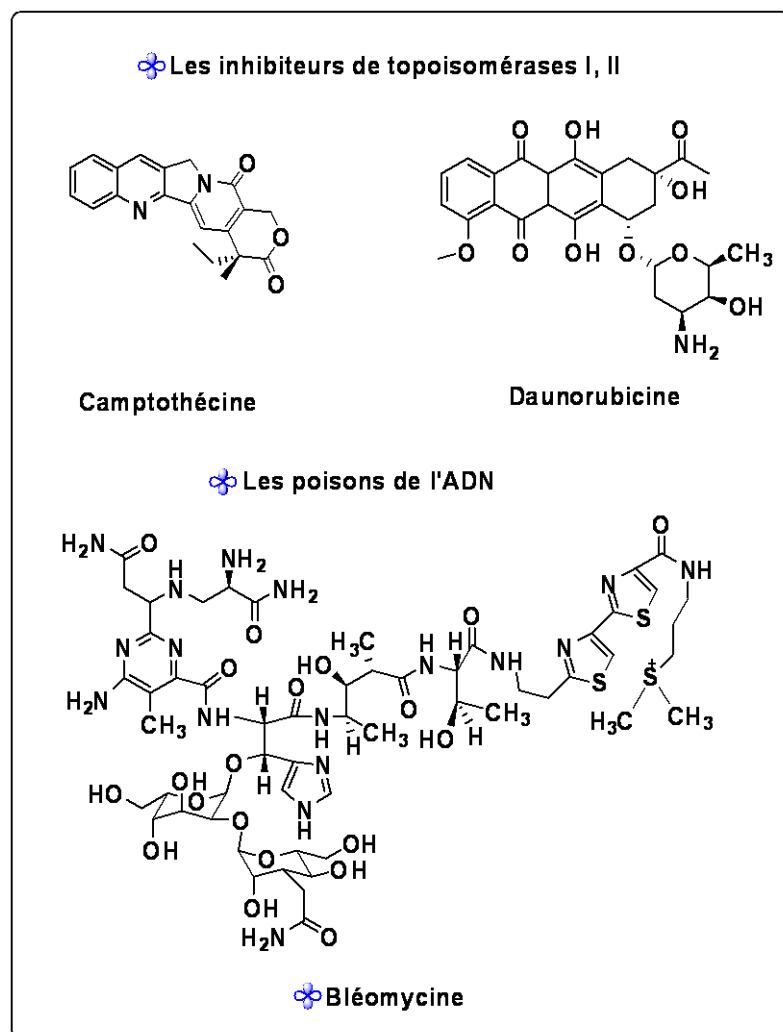


Figure 4. Stabilisants des coupures de l'ADN

c. Molécules actives au niveau de la mitose

Les agents antimitotiques bloquent la division cellulaire en empêchant la synthèse des microtubules et la formation du fuseau mitotique. Ce fuseau est vital pour la division cellulaire, qui ne peut alors plus s'effectuer.

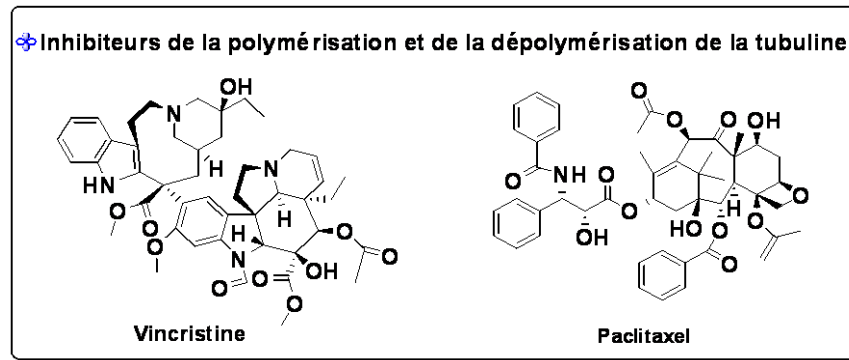


Figure 5. Structures chimiques de Vincristine et Paclitaxel.

d. Agents alkylants

Les agents alkylants sont des molécules capables de fixer un groupement alkyle sur une autre molécule. La guanine des ADN possède un fort pouvoir nucléophile du fait de son amine primaire et peut très facilement réagir avec un agent alkylant qui est une molécule très électrophile. Cette alkylation s'accompagne de la formation de ponts intercaténaux entre deux acides nucléotidiques proche du fait du caractère radicalaire de la réaction d'alkylation. Les alkylants provoquent aussi des cassures dans la chaîne d'ADN et des pontages ADN-protéines. Les liaisons chimiques fortes créées et les cassures du brin d'ADN vont alors empêcher une division mitotique normale, ce qui entraîne à terme la mort cellulaire. Les agents alkylants les plus utilisés sont répertoriés dans la figure 6.

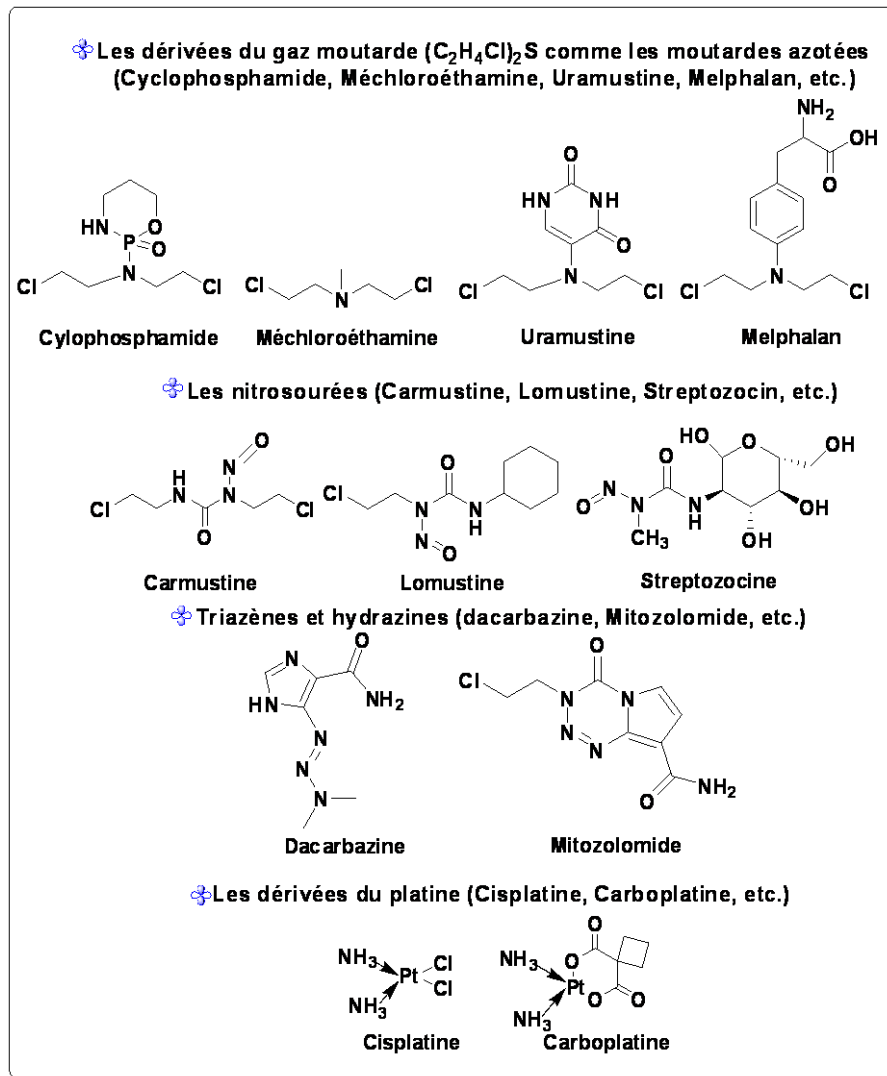


Figure 6. Aperçu de la diversité structurales des agents dits alkylants.

I.5 Résistance et phénotype MDR²⁷

La résistance des cellules tumorales aux médicaments anticancéreux est un problème majeur de la chimiothérapie. Les cellules cancéreuses possèdent ou acquièrent la possibilité de contourner les mécanismes d'action des médicaments chimio thérapeutiques. La résistance aux anticancéreux peut être naturelle ou acquise :

- Résistance naturelle : une tumeur ne répond pas d'emblée à un ou des traitements cytotoxiques.
- Résistance acquise : la tumeur est initialement sensible à la chimiothérapie anticancéreuse puis devient résistante en cours de traitement ou lors de la rechute.

Les mécanismes qui peuvent induire la résistance sont très complexes et très divers, et sont propres à chaque modèle cellulaire :

Tumeurs non accessibles par les médicaments :^{28, 29, 30}

- Mauvaise vascularisation.
- Tumeur protégée par une « barrière naturelle » (ex : barrière hémato-encéphalique du système nerveux central).

Altération du métabolisme du médicament :

- Augmentation de l'inactivation de la substance active par hyperactivité d'enzymes impliquées dans le métabolisme.
- Diminution de la formation de métabolites actifs par diminution de l'activation de médicaments de type « pro-drugs ».

Altération de la cible du médicament :

- Altération quantitative de la cible : surexpression ou diminution de l'expression de la cible.
- Altération qualitative de la cible : modification de la structure de la cible empêchant la reconnaissance.

Activation des mécanismes de réparation de l'ADN :

- Les anomalies induites par le médicament sont réparées par exacerbation des mécanismes de réparation.

Modification de l'expression des gènes apoptotiques :

- Surexpression des gènes anti-apoptotiques.
- Inactivation des gènes pro-apoptotiques.

Diminution de l'accumulation intracellulaire des médicaments :

- Diminution de l'entrée du médicament dans la cellule.
- Augmentation de l'efflux du médicament de la cellule.

Ce dernier mode de résistance est le mécanisme principal par lequel de nombreux cancers développent une résistance aux médicaments chimiothérapeutiques.

I.6 Conclusion

La lutte contre le cancer est plus que jamais un enjeu majeur en termes de santé publique. Les données publiées pour la période 1980-2005³¹ montrent que l'incidence des cancers est en forte augmentation. Les cancers les plus fréquents chez l'homme sont les cancers de la prostate, du poumon et du côlon rectum, tandis que chez la femme, le cancer du sein se place devant les cancers du côlon rectum et du poumon. Par ailleurs, la mortalité à également augmenté sur cette période, mais si l'on intègre la progression démographique,

la probabilité de mourir d'un cancer a diminué, notamment en raison des progrès dans le dépistage et le traitement de certains cancers.

A l'heure actuelle environ la moitié des cancers sont guéris par les moyens thérapeutiques conventionnels combinant principalement la chirurgie, la radiothérapie et enfin la chimiothérapie. Concernant cette dernière, elle reste le traitement privilégié des situations malheureusement plus graves. Cependant, elle n'offre malheureusement toujours pas d'espoir de curabilité dans la majeure partie des cas. Le vrai défi dans la chimiothérapie des cancers reste la prédiction de la réponse thérapeutique en termes d'amélioration de l'efficacité du traitement, mais aussi du contrôle des effets toxiques qui peuvent, à l'extrême, mettre en danger la vie des patients.

CHAPITRE II

Les CENS et leurs
complexes d'inclusion
par la β -CD

II.1 Introduction

Les progrès remarquables de la chimiothérapie antitumorale stimulent les recherches de l'amélioration des pharmacophores déjà connus et les investigations vers de nouvelles entités bioactives. Ainsi l'efficacité des agents alkylants sur les tumeurs solides a entraîné le développement de trois classes de composés agissant sur le matériel nucléaire:

- Les composés nitrosés, précurseurs de diazoalcanes³².
- Les composés contenant le motif chloroéthylhétéroatome (O, N, S) et les moutardes à l'azote.²
- Les esters de l'acide méthane sulfonique, tels que les diesters de butanediol³³.

L'association au sein d'une même molécule de deux ou plusieurs sites générateurs d'entités électrophiles a donné naissance à des nouvelles séries, de potentialité antimittotique supérieure. Depuis 1961, la chimiothérapie antitumorale s'est largement intéressée aux composés du type nitrosourée, et plus particulièrement aux N-(2-chloroéthyl) nitrosourées (CENU)^{34,35} (Figure 07), dont leur principe actif réside dans le fait que, lors de leur décomposition ils génèrent un agent alkylant qui sera responsable des propriétés antimittotiques.

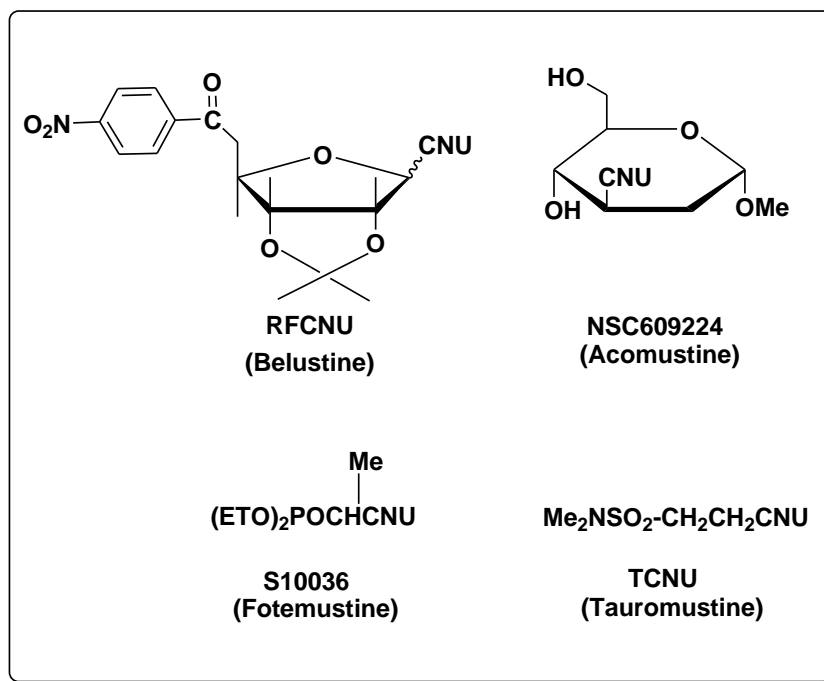


Figure 07. Exemples des N-(2-chloroéthyl) nitrosourées(CENU).

Plusieurs schémas de décomposition des CENU dans des conditions physiologiques ont été proposés par J.A.Motgomery³⁶, et par J.W.Lown³⁷. La mise en évidence d'une structure chélatée au niveau du motif nitrosourée^{38, 39, 40} a permis de proposer un schéma de décomposition qui montre la formation de deux espèces réactives: un isocyanate et un précurseur d'ion carbénium:

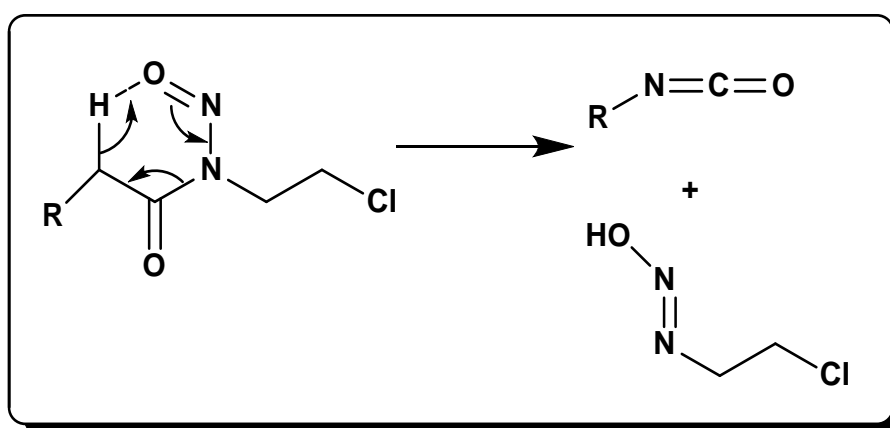


Schéma 2. Décomposition des nitrosourées

Les nitrosourées utilisées en clinique ne sont pas dépourvues de toxicité et présentent de nombreux inconvénients et effets secondaires:

Ces raisons justifient les efforts de recherche de nouvelles séries susceptibles de présenter une réactivité apparentée.

Une des voies de recherche dans ce domaine est la préparation de composés susceptibles de présenter un meilleur index thérapeutique est une formulation améliorée, les 2-chloroéthylnitrososulfamides (CENS).^{41, 42, 43} Par ailleurs, l'évaluation des propriétés pharmacologiques de ces dérivés a présenté une activité très significative comparative aux CENU afin d'introduire une possibilité de pharmacomodulation, nous avons envisagé de greffer le pharmacophore responsable de la cytotoxicité à des aminoacides du fait qu'ils peuvent jouer un rôle de vecteur vers les cellules cibles et de transporteurs membranaires. Considérant l'intérêt présenté par les CENS men tant que candidats potentiels en cancérologie, il nous a semblé intéressant de complexer les CENS par la β - cyclodextrine pour améliorer leur stabilité et leur hydrosolubilité.⁴⁴

II.2 Les chloroéthylnitrososulfamides (CENS)

L'analogie structuro fonctionnel entre les motifs carbonyle et sulfonyle évoquée dans la littérature a permis de remplacer le motif carbonyle des chloéthylnitrosourées par le motif sulfonyle, ce qui a donné naissance à cette famille de composé les 2 Chloroéthylnitrososulfamides. L'intérêt présenté par de telle structure est la suppression lors de la décomposition in vivo de la formation d'espèces carbamoylantes, à savoir les isocyanates responsables des effets secondaires observés avec les CENU.

Les essais pharmacologiques réalisés⁴¹ sur les CENS ont été tout à fait encourageants, ils indiquent qu'ils sont doués d'activité cytostatique comparable ou supérieure à celle des CENU. Cependant, on a constaté que la majorité des CENS sont des huiles instables et non hydrosolubles, ce qui peut limiter leur utilisation.

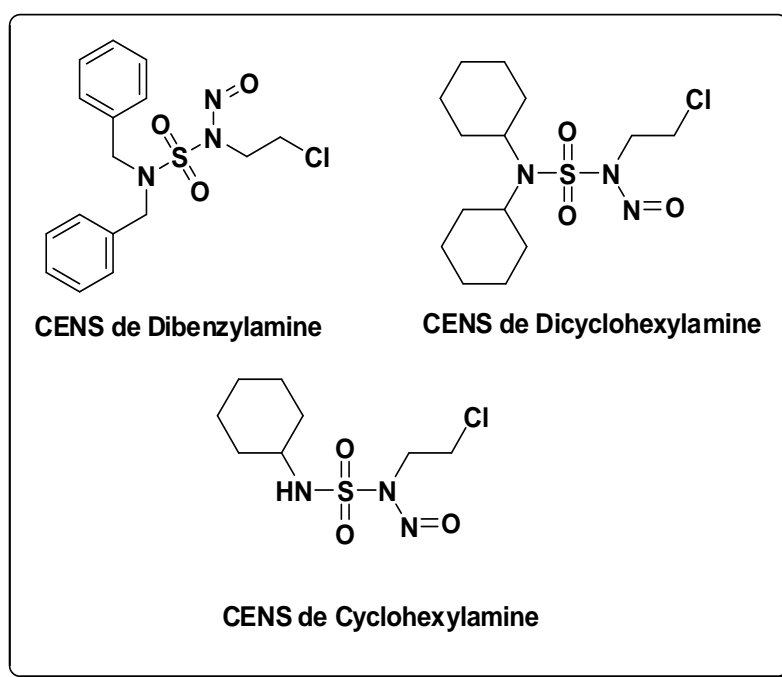


Figure 08. Quelques exemples des CENS connus.

Trois approches synthétiques connue^{45, 41, 46} par les voies A, B et C, faisant intervenir l'aménagement fonctionnel de l'isocyanate de chlorosufonyle comme générateur du motif sulfonyle ont été mises au point pour la préparation des CENS selon le schéma réactionnel suivant :

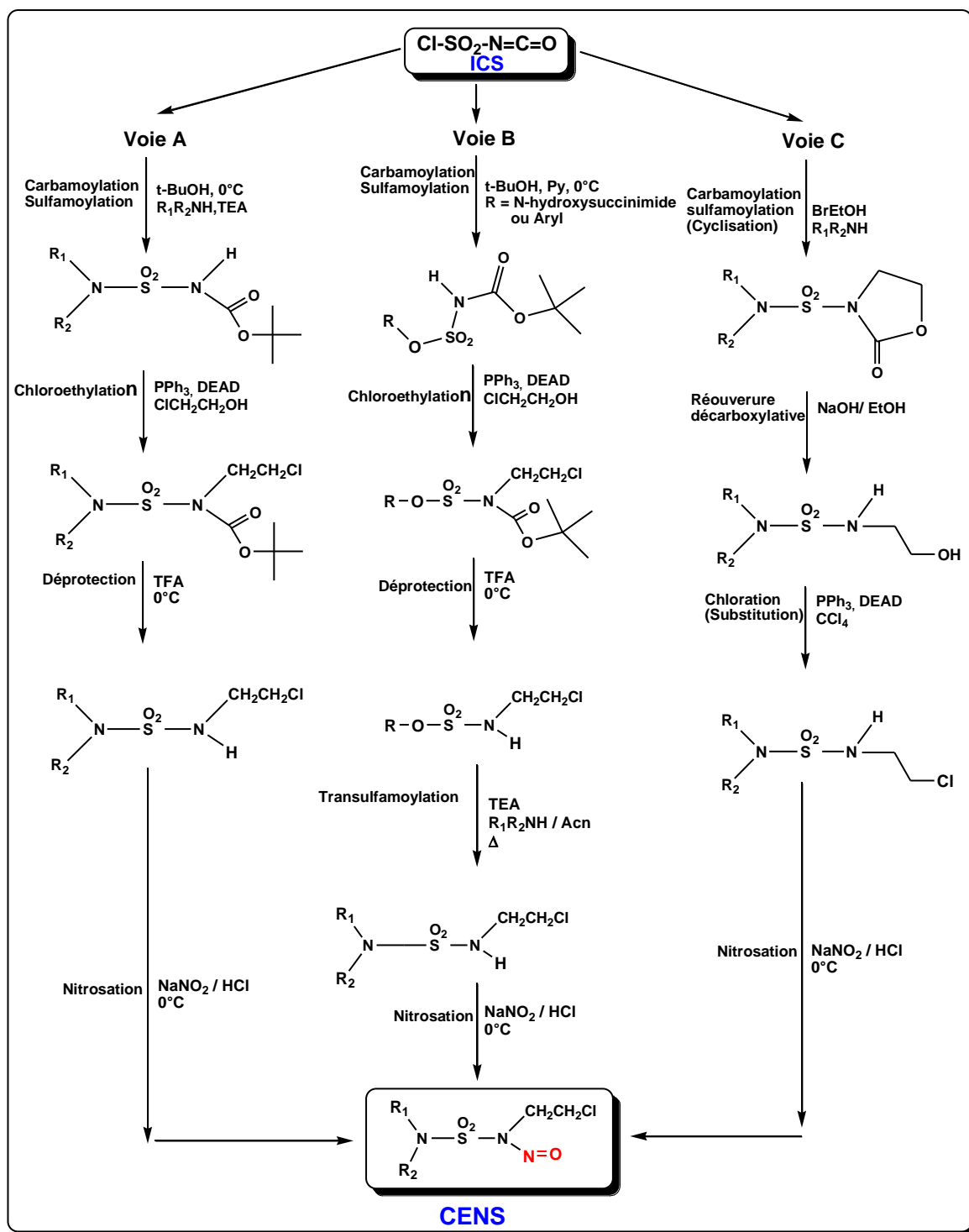


Schéma 3. Synthèse des CENS selon les trois voies A, B, C.

La voie A est une méthode de synthèse des CENS qui se décompose en quatre étapes linéaires, elle est utilisée dans le cas des amines secondaires, aminoacides et phénols.

La voie B ou la trans sulfamoylation est une voie de synthèse des CENS issus d'arylamine, de phénols, d'hydroxysuccinimide, d'oxazolidinones, et des perhydroxazinones, par analogie à ce qui a été effectué avec la série des nitrosourées activées, cette voie permet d'éviter le nombre d'étapes que comporte la voie A et les purifications qui en découlent.

La voie C ou la réouverture décarboxylative des oxazolidinones est la combinaison des deux précédentes. Elle se résume en une cyclisation et méthylation (dans le cas des amines primaires), et une réouverture des N-sulfamoyloxazolidinones. Par cette méthode on évitera donc les purifications dans la réaction de Mitsunobu et la régiospécificité de la nitrosation.

II.3 Cinétique de décomposition des 2-Chloroéthylnitrososulfamides

Une étude a été menée sur la cinétique de décomposition des CENS dans des milieux variés. En milieu aqueux, les CENS subissent une hydrolyse suivant une catalyse acido-basique généralisée.

Les réactions de décomposition dans l'acétonitrile, le méthanol, et dans le milieu mixte (acétonitrile + TFA, méthanol + TFA) sont relativement lentes.

En faisant recours aux diverses techniques analytiques telles que la spectrophotométrie UV Visible, la spectrométrie de masse, la RMN ^1H et RMN ^{15}N , la chromatographie liquide de haute performance et son couplage LC-ESI-MS, des mécanismes de décomposition ont été proposés pour les milieux aqueux, organique et biologique.

II.3.1 La décomposition en milieu aqueux^{47, 48}

En milieu aqueux, le chemin réactionnel de décomposition comporte deux phénomènes concurrentiels : l'hydrolyse et la dénitrosation. En revanche, les milieux organiques se caractérisent par des réarrangements et formation de nombreux produits dont deux plus remarquables qui sont le sulfamate et le chloroéthyl diazohydroxyde responsable de l'action alkylante de l'ADN.

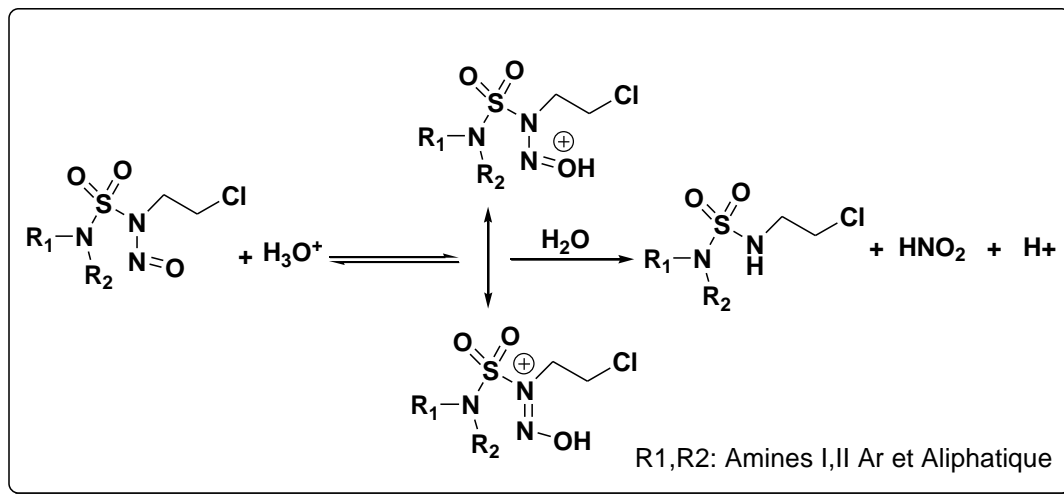


Schéma 4. Mécanisme de dénitrosation des CENS

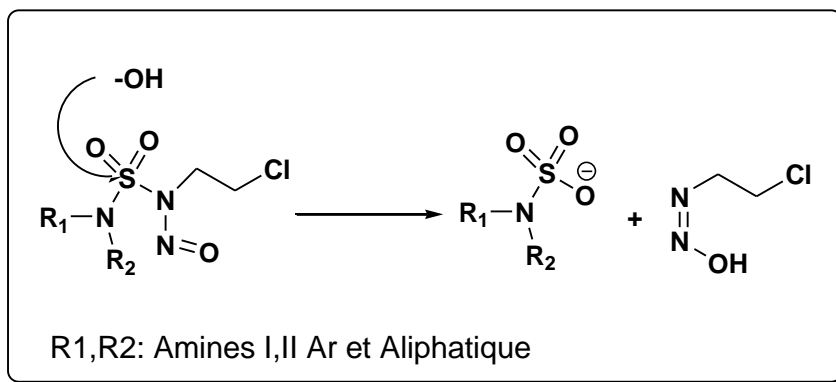


Schéma 5. Mécanisme de l'hydrolyse des CENS.

II.3.2 La décomposition en milieu organique^{47, 48}

Par ailleurs en milieu organique le mécanisme de décomposition a été posé comme suit :

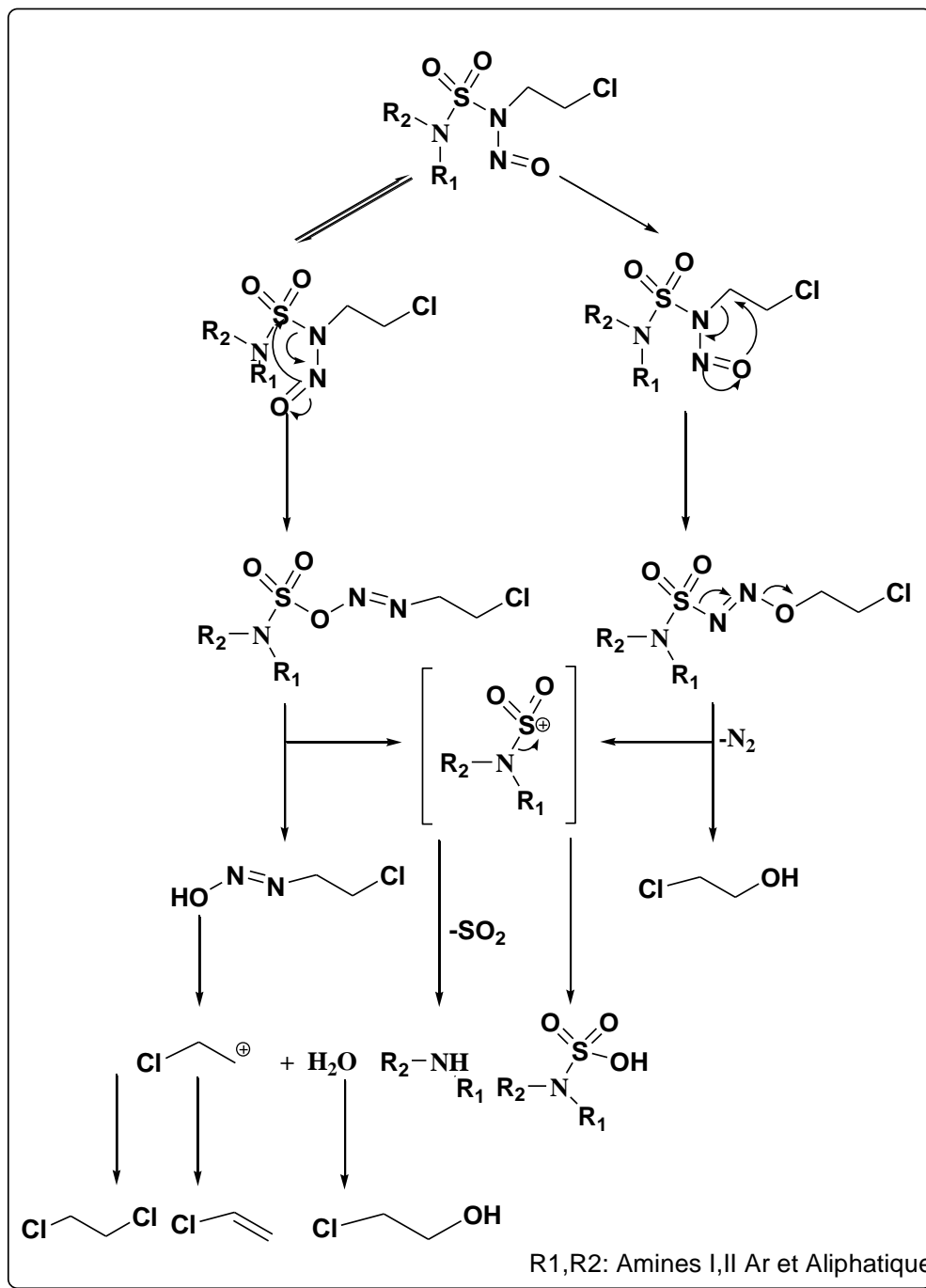


Schéma 6. Mécanisme de décomposition des CENS en milieu organique.

II.3.3 La décomposition en milieu biologique⁴⁹

En milieu biologique la situation semble être plus complexe. Un nettoyage en ligne (on-line solide phase extraction) pour éliminer les protéines doit précéder toute analyse cinétique faisant usage de la chromatographie liquide de haute performance.

La décomposition des CENS dans le sérum non décomplémenté du veau fœtal est plus rapide que dans les deux autres milieux. Ce phénomène a été interprété par l'action catalytique des enzymes et des protéines présentes dans le milieu d'incubation.

La corrélation vitesse de décomposition-lipophilie montre que moins le composé est lipophile plus il est instable.

Le mécanisme de décomposition est quelque peu complexe en raison des nombreuses interactions mises en jeu dans ce milieu.

Parmi les espèces détectées on cite le 2-hydroxyéthyl diazohydroxyde, le sulfamate et le chloroéthylsulfamide (CES). Il est instructif de remarquer que ces deux dernières espèces ont été également observées en milieu aqueux phosphaté.

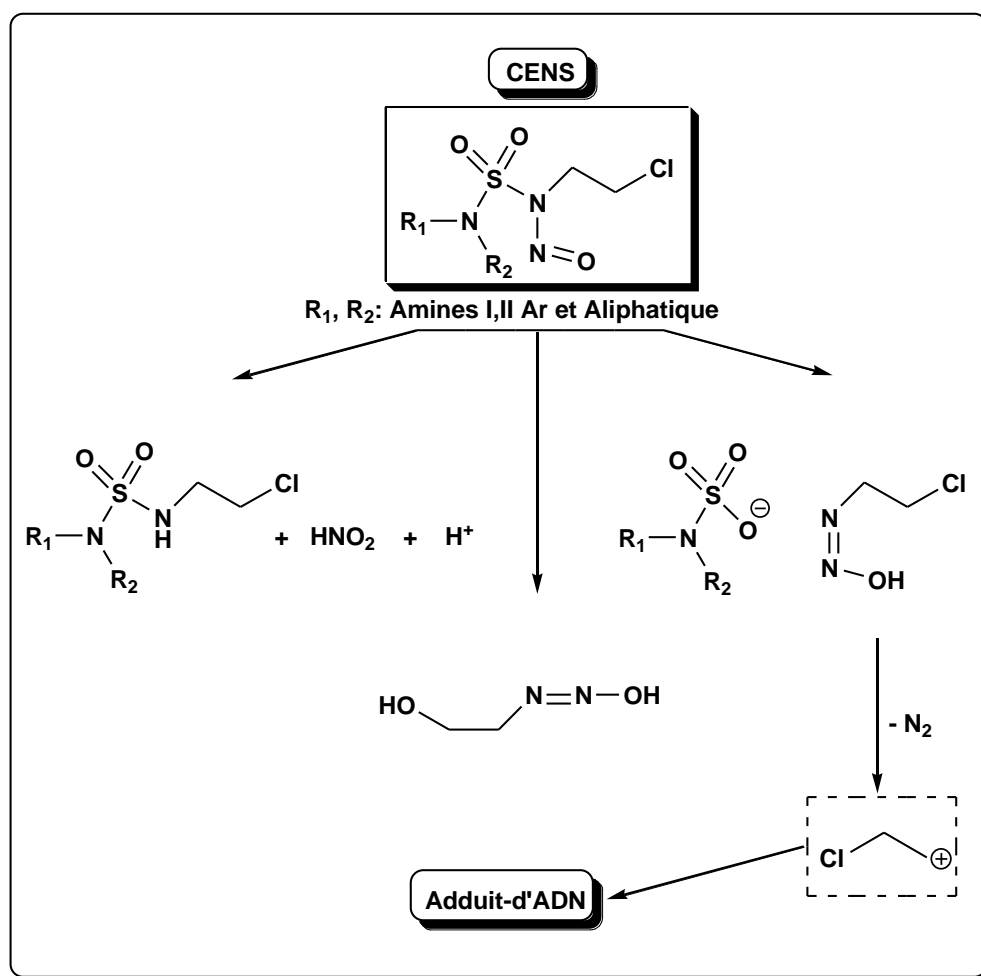
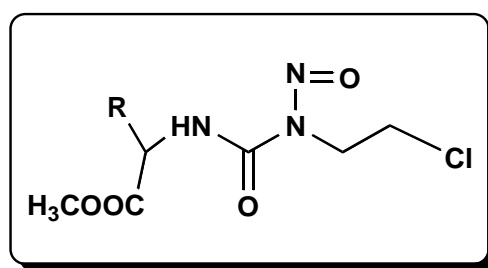


Schéma 7. Mécanisme de décomposition des CENS dans du sérum de veau fœtal.

II.4 Les chloroéthylnitrosourées (CENU) et les chloroéthylnitroso-sulfamides (CENS) dérivés d'ainoesters

II.4.1 Les CENU dérivés d'ainoesters^{50, 51}

Les chloro-2-éthylnitrosourées ont été associés à diverses entités chimiques pouvant jouer le rôle de vecteur (stéroïdes, oses...). L'adjonction d'un vecteur biologique à ce pharmacophore est souvent précieuse car elle en facilite le transport, et abaisse notablement la toxicité. Cependant des structures de type acide aminé ont été associées à l'entité nitrosourée. J.L Montéro et collaborateurs ont décrit la synthèse des chloro-2-éthylnitrosourées de la L- alanine , L- valine, L- leucine, L- méthionine et des acides aspartique, et L- glutamique.



R= CH₂-OH

CH₃-S-CH₂-CH₂-

CH₃OOC-CH₂-CH₂-

Figure 09. Exemple des CENU dérivés d'ainoacides.

Ces composés ont été testés d'une part sur le matériel végétal (inhibition de la croissance de la racine de *lipidium sativium*) et d'autre part in vivo sur la L1210 chez la souris.

A l'exception des dérivés de la leucine, de l'alanine, les nitrosourées décrites présentent dans le test de croissance végétale, une action inhibitrice inférieure à celle du composé de référence CCNU (cyclohexyl, chloro-2-éthylnitrosourées).

II.4.2 Les CENS dérivés d' aminoesters

Les progrès considérables de la chimiothérapie antitumorale durant ces dernières décennies reposent en grande partie sur les protocoles d'association de médicaments aux effets pharmacologiques complémentaires. Afin d'introduire des possibilités de pharmacomodulation, nous avons envisagé la préparation d'une seconde génération de CENS^{52, 53, 54, 55} associant le pharmacophore chloroéthylsulfamide à des aminoacides naturels, à l'instar de travaux préalablement développés⁵⁶ pour les CENU. Quatre raisons peuvent être avancées pour le choix d'une telle approche:

- 1) Lors de la dégradation, la partie aminoacide peut entrer dans le métabolisme général, sans générer a priori de catabolites toxiques.
- 2) Les aminoacides peuvent jouer dans ces conjugués un rôle de vecteur vers les cellules cible et de transporteur membranaire.
- 3) La nature de la chaîne latérale de l' aminoacide associé autorise une grande variabilité de la balance hydro- lipophile, élément déterminant de la biodisponibilité.
- 4) La fonction acide carboxylique disponible autorise un greffage ultérieur sur un polymère naturel ou synthétique, ce qui permet d'envisager un réglage contrôlé des monomères CENS et leur éventuelle association avec d'autres composés bioactifs.

II.5 Les cyclodextrines

Une cyclodextrine ou cycloamylose⁵⁷ est une molécule-cage d'origine naturelle qui permet d'encapsuler diverses molécules.

Les cyclodextrines d'intérêt pharmaceutique sont des oligosaccharides cycliques composés d'unités de dextrose reliées par des liaisons α 1-4. Les cyclodextrines comprenant six, sept et huit unités dextrose ont été nommées alpha-, beta- et gamma- cyclodextrine respectivement.

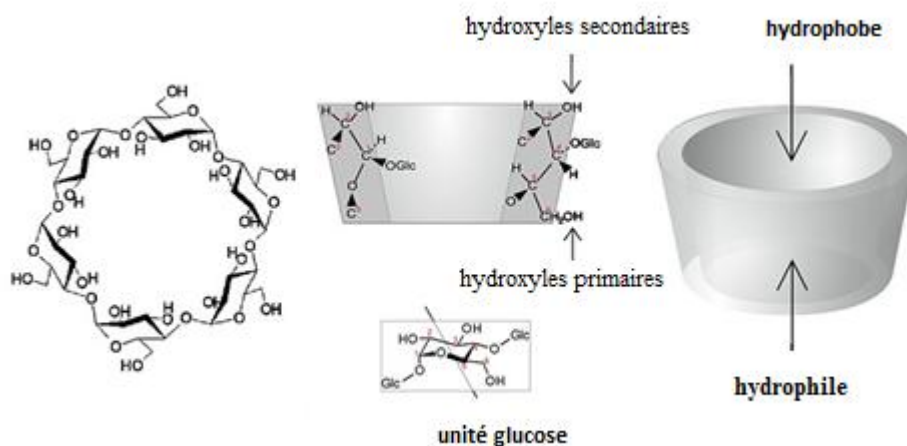


Figure 10 : Représentations de la structure chimique des cyclodextrines naturelles.
(Pris sur Uekama, K. ; Hirayama, F. ; Irie, T., *Cyclodextrin drug carrier systems. Chemical Reviews*, 1998,98, 2045-2076).

La β -cyclodextrine⁵⁸ et ses dérivés sont probablement les plus utilisées dans les formulations pharmaceutiques, ce sont par conséquent les plus étudiées chez l'homme. La γ -cyclodextrine est probablement la moins toxique, au moins parmi les trois principales cyclodextrines natives. Elle est principalement utilisée dans l'industrie alimentaire. Les cyclodextrines sont capables de former des complexes d'inclusion avec de nombreuses molécules. Ces complexes d'inclusion non covalents ont des propriétés physiques, chimiques et biologiques très différentes de celles de la molécule invitée ou de la cyclodextrine. Ces complexes peuvent, par exemple⁵⁹, augmenter la solubilité ou le taux de dissolution, diminuer la volatilité et augmenter la stabilité de la molécule complexée.

II.5.1 Structure géométrique et propriétés

Les structures tridimensionnelles des CDs ont pu être obtenues à partir de l'étude de leur monocristaux par diffraction des rayons X (et même, de quelques monocristaux de complexes CD- invitée) ce qui a permis de mettre en évidence la structure tronconique des CDs ainsi que de déterminer les dimensions des cavités de chacune d'elles.

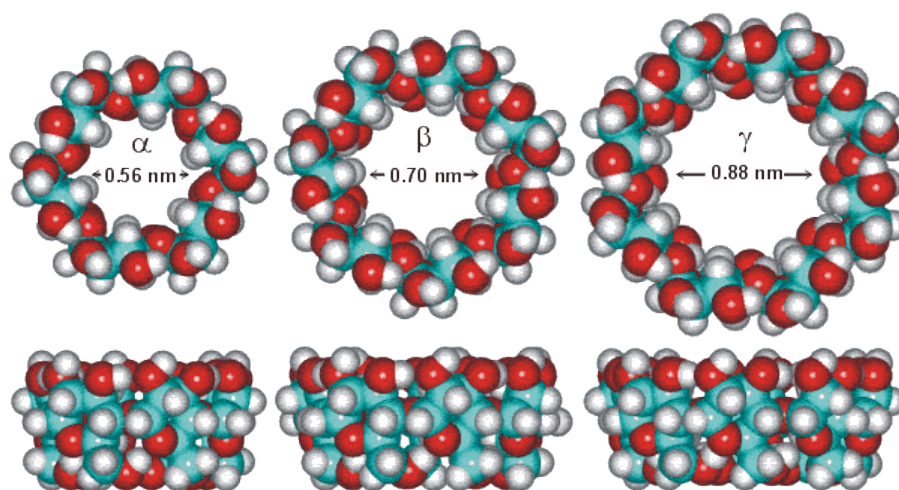


Figure 11. Structures tridimensionnelles des cyclodextrines naturelles (α , β et γ CD de gauche à droite), avec de haut en bas: une vue de la face des hydroxyles secondaires (« grand côté »), une vue latérale et, une vue de la face des hydroxyles primaires (« petit côté »). En bas, les dimensions respectives des CD obtenues d'après les données cristallographiques. (prise sur <http://french.alibaba.com/product-gs/beta-cyclodextrin-intermediate--212114331.html>).

Ces études^{60, 61} ont permis de montrer que l'extérieur des CDs est tapissé par les fonctions hydroxyles des unités glucose, tandis que les atomes de carbone et d'hydrogène tapissent l'intérieur de la cavité. La structure des cyclodextrines, alliée à l'orientation particulière adoptée par les diverses fonctions hydroxyles des unités glucopyranose, donnent aux CDs leurs caractères amphiphiles caractéristiques, dû à un extérieur relativement hydrophile (surface de contact avec le solvant) et un cœur relativement hydrophobe. Ce caractère permet aux cyclodextrines d'inclure dans leur cavité des molécules hydrophobes pour former des complexes d'inclusion solubles dans l'eau.

Les cyclodextrines présentent donc une forme torique, le côté le plus étroit étant appelé face primaire (les hydroxyles primaires y étant situés) et le côté le plus large, face secondaire (les deux groupes hydroxyles secondaires de chaque unité y étant localisés), de plus les hydroxyles primaires et secondaires forment un réseau dense de liaisons hydrogène, contribuant ainsi à la rigidité du macrocycle, et stabilisant la forme tronconique des molécules. Cette structure spatiale des CD est aussi responsable de certaines de leurs caractéristiques physico-chimiques.

La cavité interne du tore est relativement apolaire car tapissée de deux couronnes de groupes CH (protons C3-H près de la face secondaire et protons C5-H près de la face primaire), séparées par les oxygènes glucosidiques. On peut distinguer sur la figure 10 ci-dessus que tous les protons C3-H et C5-H des différentes unités glucose pointent vers l'intérieur de la cavité des CD.

La propriété la plus importante des CDs est leur aptitude à former des complexes d'inclusion.

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques des principales cyclodextrines.

Propriétés physicochimiques	α -CD	β -CD	γ -CD
Formule brute	C ₃₆ H ₆₀ O ₃₀	C ₄₂ H ₇₀ O ₃₅	C ₄₆ H ₆₀ O ₄₀
Diamètre de la cavité (Å°)	4.7-5.2	6.0-6.4	7.5-8.3
Diamètre extérieur (Å°)	14.6 ± 0.4	15.4 ± 0.4	17.5 ± 0.4
Hauteur du tore (Å°)	7.9	7.9	7.9
Volume de la cavité (Å°)	174	262	427
pKa, 25°C	12.332	12.202	12.081
Point de fusion (°C)	275	280	275
Solubilité (eau, 25°C), g/100ml	14.5	1.85	23.2
[α] _d 25°C	150 ± 0.5	162.5 ± 0.5	177.4 ± 0.5
ΔH° (ionisation), kcal. mol ⁻¹	8.36	9.98	11.22
ΔH° (solution), kcal. mol ⁻¹	7.67	8.31	7.73
Hydrolyse enzymatique	Nulle	Lente	Rapide

Il est à remarquer la faible solubilité de la β -CD en comparaison de celles de l' α - et de la γ -CD. Cette perte de solubilité, dont les causes n'ont pas été totalement éclaircies, semble due au réseau de liaison hydrogène particulièrement fort dans le cas de CD à 7 unités. Lors de synthèses⁶² de β -CD modifiées, mono- ou poly-modifications, les solubilités obtenues sont alors très largement augmentées par rapport à la CD naturelle, y compris après greffage de groupements relativement hydrophobes, renforçant l'hypothèse du réseau stabilisant.

II.5.2 Formation de complexes

Les cyclodextrines peuvent être considérées comme des capsules vides de taille variable (tableau 1) pouvant accueillir des molécules. Le terme « composé d'inclusion » a été présenté en 1950, il y a encore quelques autres noms utilisés dans la littérature⁶³, telles que l'additif, le clathrate, le cryptate. Lors de la formation du complexe d'inclusion, il n'y a aucune liaison covalente qui se forme.

Etant donné leur structure particulière et la dualité de leur polarité, les cyclodextrines sont capables d'augmenter la solubilité aqueuse de composés en formant des complexes d'inclusion. Possédant une cavité plutôt hydrophobe, elles peuvent encapsuler des substances ou des parties de molécules à caractère lipophile. Des complexes de stoechiométries diverses peuvent être formés (Figure 12). Les complexes d'inclusion les plus fréquents sont de type 1 :1. Si une molécule est trop volumineuse pour s'infiltrer entièrement au sein de la cavité, son autre extrémité laissée libre, peut alors à son tour être encapsulée par une autre molécule de cyclodextrine. On aboutit dans ce cas à la formation d'un complexe de type 2 :1⁶⁴. La littérature est riche en exemples de complexes de type 2 :2⁶⁵, 3 :1⁶⁶, 3 :2⁶⁷ ou 4 :5⁶⁸. Il est également possible que ce soit une même molécule de cyclodextrine qui interagisse avec plusieurs molécules pour former des complexes 1 :2⁶⁹ ou 1 :3⁷⁰.

La taille de la cavité et de la molécule invitée jouent donc un rôle important dans le processus de la complexation.

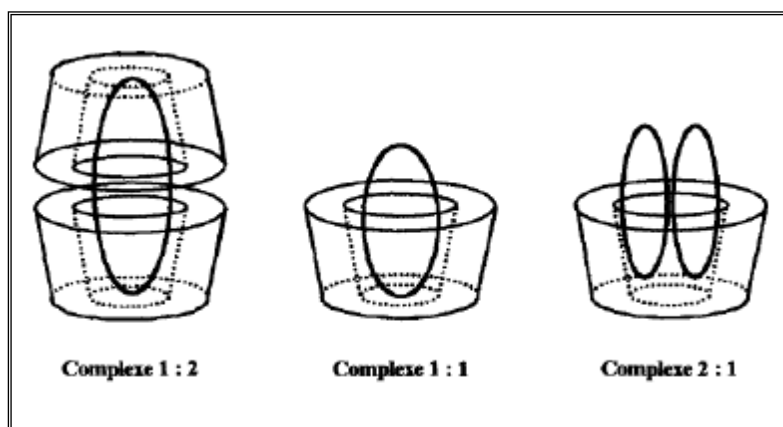


Figure 12. Représentations schématiques de complexes d'inclusion de stœchiométries différentes. (Pris sur Barillaro, V., Thèse de Doctorat, Sciences Pharmaceutiques, Université Université de Liège, 2006).

Outre⁷¹ la taille, des facteurs tels que l'encombrement stérique, la charge et la polarité de la molécule invitée sont importants pour la formation de complexes d'inclusion.

Il existe une corrélation directe entre le caractère hydrophobe de la molécule ou de certaines parties de celle-ci et la stabilité du complexe formé.

La principale force provoquant la formation des complexes est la stabilisation énergétique du système par le remplacement dans la cavité, des molécules d'eau à haute enthalpie par des molécules hydrophobes qui créent des associations apolaires-apolaires⁵⁸. Ce processus réversible (les molécules complexées sont en équilibre avec les molécules libres en solution) peut être quantifié par une constante d'équilibre appelée constante de stabilité (K_c ou $K_{n:m}$)^{63,72}.

L'équation générale d'équilibre peut s'écrire :



Des travaux récents⁷³ semblent montrer que les complexes d'inclusion sont une explication simplifiée d'un phénomène beaucoup plus compliqué. Les cyclodextrines seraient capables de former deux types de complexes (d'inclusion et de « non-inclusion »). Les groupements⁷⁴ hydroxyles présents sur leur surface externe peuvent former des liaisons hydrogènes avec d'autres molécules ce qui les rend capables, à l'instar d'oligosaccharides non-cycliques et de polysaccharides, de former des complexes avec des substances lipophiles insolubles dans l'eau.

De plus⁷³, les cyclodextrines et leurs complexes pourraient former en solution aqueuse des agrégats solubles capables de solubiliser les molécules lipophiles insolubles par une structure ressemblant à celle des micelles.

II.5.3 Interaction des cyclodextrines avec les membranes biologiques^{75, 76, 77}

Les membranes biologiques forment une barrière lipophile vis à vis de la pénétration de principes actifs. Les principes actifs relativement lipophiles sont capables de passer à travers ces membranes par diffusion passive. La possibilité de passage des CD à travers les membranes biologiques a longtemps été considérée comme très improbable du fait de leur hydrophilie et de leur haut poids moléculaire.

Il est généralement reconnu que les CD se comportent comme de véritables vecteurs en gardant le principe actif en solution et en le distribuant dans les membranes biologiques. Les membranes lipophiles ayant peu d'affinité pour les cyclodextrines, la

majeure partie de celles-ci reste dans le milieu aqueux extérieur. Les promoteurs d'absorption classiques, comme les alcools ou les acides gras, agissent en bouleversant les couches lipidiques de la membrane. Mais ce n'est pas le cas pour les cyclodextrines, malgré leur faculté à inclure dans leur cavité le cholestérol et les lipides, car on sait que le prétraitement de la peau par une solution de cyclodextrines n'améliore pas le passage cutané d'un principe actif.

Les cyclodextrines exercent leur rôle de promoteur d'absorption en augmentant la solubilité du principe actif et donc la quantité disponible à la surface de la barrière biologique. En effet, la dissolution du principe actif est indispensable pour son absorption. Pourtant il a été rapporté qu'un excès de cyclodextrines provoquait une moindre absorption au travers de la peau ou de la cornée. Le mécanisme d'action des CD semble donc complexe. En général, la diffusion à travers la peau est lente et requiert plusieurs heures avant que le principe actif ne puisse être détecté dans la phase réceptrice.

II.5.4 Les complexes d'inclusion β -CD- CENS

Les 2-chloroéthylnitrososulfamides sont doués d'une activité oncostatique encourageante, malheureusement, ces composés présentent une stabilité et solubilité réduite ce qui rend leur utilisation limitée. Ces inconvénients ont constitué une préoccupation urgente de notre laboratoire de recherche⁷⁸.

Dans le but d'améliorer leur stabilité, leur hydrosolubilité, ainsi que leur biodisponibilité et de réduire enfin leurs effets secondaires indésirables, plusieurs techniques peuvent être proposées, à savoir :

- ✓ L'utilisation des cyclodextrine modifiées par des CENS.⁷⁹
- ✓ La formation des complexes d'inclusion avec la β -cyclodextrine.

Dans des travaux antérieurs⁴⁴ une série des CENS issus des amines secondaires (pipéridine, dibenzyle, dicyclohexyle, prolonte de méthyle) a été complexé par la β -CD (Figure 13). Les complexes d'inclusion formés entre les CENS et la β -CD sont des complexes de type <<Host : Guest>>. La mise en évidence de la formation de ces complexes d'inclusion est confirmée par différentes techniques spectroscopiques (UV-Visible, IR, RMN ¹H, etc.).

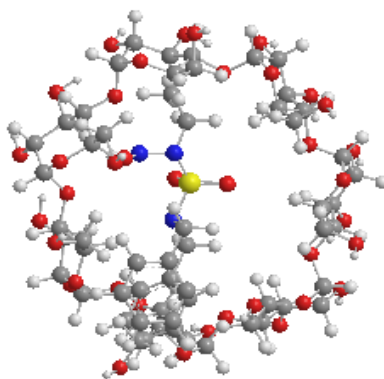


Figure 13. Exemple de complexes β CD+ CENS

Les résultats de cette étude en solution montrent que les CENS et la β CD forment des complexes de différentes stœchiométries, lesquels présentent une stabilité qui dépend aussi bien de la nature du solvant que celle du CENS. Par ailleurs les mesures de l'hydrosolubilité des CENS et de leurs complexes d'inclusion, nous ont permis de constater que la complexation des CENS par la β CD améliore d'une façon remarquable leur hydrosolubilité.

II.6 Conclusion

Parmi les différentes méthodes proposées pour l'augmentation de l'efficacité et la sélectivité des CENS, tout en réduisant leurs effets secondaires indésirables, la vectorisation est probablement la plus connue. La notion de vectorisation implique l'utilisation d'un vecteur dont le rôle est de transporter la molécule vers la cible, tout en la protégeant et en masquant ou en améliorant ses propriétés physico-chimiques afin qu'elle puisse passer outre les barrières physiologiques.

Beaucoup d'études et de tentatives d'emploi des glucides comme les cyclodextrines dans un but de vectorisation soit par inclusion soit par greffage de principes actifs ont été réalisées.

Les cyclodextrines naturelles exercent leur rôle de promoteur d'absorption en augmentant la solubilité du principe actif et donc sa quantité disponible à la surface de la barrière biologique tout en réduisant ses effets secondaires.

CHAPITRE III

Les 8-hydroxyquinoléines

Ce volet est lié aux travaux entamés au laboratoire de chimie Biomoléculaire, appartenant à l'Unité UMR CNRS 6216, Institut de Biologie du développement de Marseille – Luminy (IBDML), sous la direction du professeur J.L. KRAUS, dans le cadre du programme franco-algérien de formation supérieure (PROFAS), catégorie B- Thèses franco-algérienne.

III. 1 Généralités

On ne saurait trop souligner l'importance de la chimie hétérocyclique. Elle occupe en effet une place prédominante dans l'industrie des colorants et des produits pharmaceutiques, et son rôle s'accroît constamment dans le domaine des plastiques, des produits chimiques agricoles et dans divers autres secteurs.

Les hétérocycles quinoléiques sont parmi les divisions classiques de la chimie organique qui se développe le plus rapidement. Cette découverte s'est traduite par la synthèse d'un grand nombre de composés nouveaux. Ainsi l'introduction de groupements fonctionnels nouveaux hétérocycliques dans des structures quinoléiques, par exemple, a permis la préparation d'une large variété de composés.

Les dérivés de la quinoléine ont montré un profil pharmacologique plus favorable et un pouvoir bactéricide confirmé sur certaines souches sensibles.

En effet, les dérivés quinoléiques ont été souvent utilisés en pharmacopée dans le traitement de la malaria et des tumeurs. Les activités anti-inflammatoires, antibactériennes, immuno-modulatrice et autres ont été également prouvées. D'autre part, les propriétés chimiques des dérivés quinoléiques ont été exploitées aussi bien dans le domaine de la synthèse organique que dans l'industrie.

Pour notre travail qui consiste à concevoir et développer des chimiothèques focalisées sur les cancers. On s'intéresse plus précisément à la préparation d'un dérivé de la quinoléine : la quinoléin-8-ol ou la 8-hydroxyquinoléine.

Ce motif quinoléin-8-ol a été choisi en tant que motif privilégié à la suite d'études préliminaires menées par notre laboratoire dans le cadre de la synthèse de dérivés inspirés du Clioquinol (ou 5-Chloro-7-iodoquinoléin-8-ol). Cette molécule a été utilisée en premier lieu en tant qu'antiparasitaire avant que des publications^{80, 81} fassent état de son activité dans le cadre de maladies neurodégénératives tel Alzheimer.

III.2 Méthodes de synthèse des dérivés de la quinoléine⁸²

Les quinoléines sont des hétérocycles qui se retrouvent très souvent dans la nature (faune et flore) en tant que sous-unité structurale de nombreux alcaloïdes. C'est aussi un pharmacophore très important, notamment dans le cas de médicaments anti-paludéens. Elle est synthétisée par condensation entre l'aniline et l'acroléine en milieu acide:

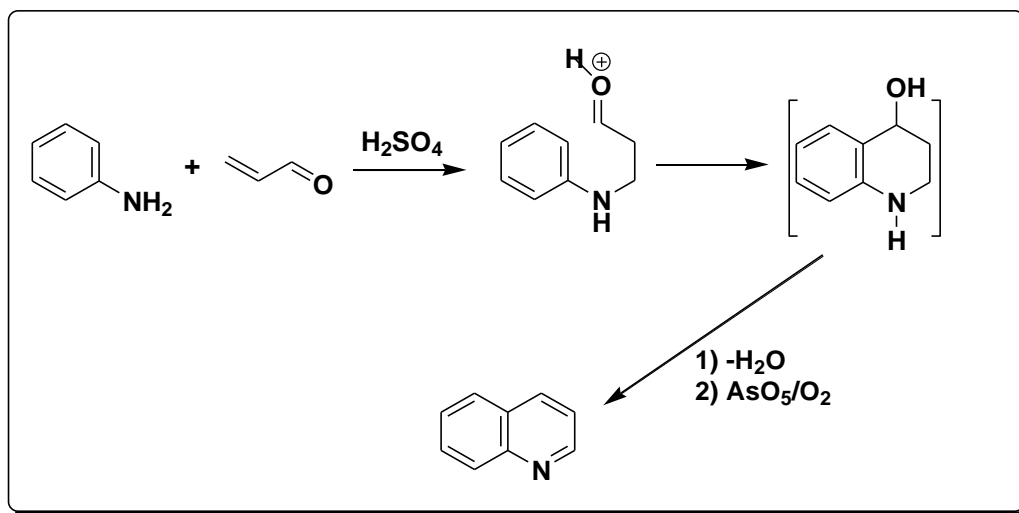


Schéma 8. Synthèse de Skraup.

Les méthodes de synthèse de dérivés de quinoléine ont fait l'objet de nombreuses recherches.

III.2.1 A partir d'arylamines et de composés 1,3-dicarbonyles

Les β -dicétones ou les aldéhydes β -cétoniques se condensent avec les arylamines, par chauffage à 100 °C, pour former des β -aminoènonnes. En présence d'acide fort, elles sont O-protonées ce qui permet une substitution électrophile du cycle aromatique avec production de quinoléines. C'est la synthèse de Combes.

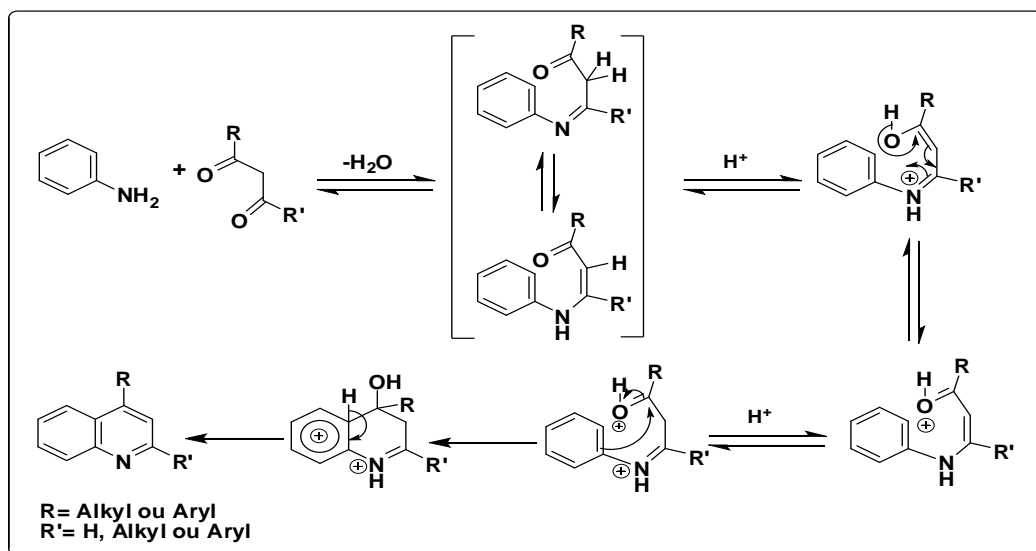


Schéma 9. Synthèse des dérivés de la quinoléine selon Combes.

Pour les aldéhydes β -cétoniques, il est préférable d'effectuer la réaction avec un chlorhydrate d'amine et le chlorure de zinc comme catalyseur. Dans ce cas, le mécanisme est un peu différent.

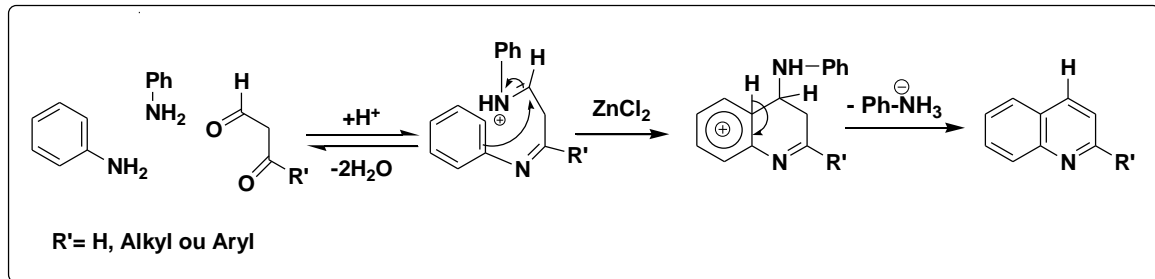


Schéma 10. Synthèse des dérivés de la quinoléine à partir d'aldéhydes β -cétoniques.

Dans cette réaction, un β -cétoester peut remplacer une 1,3-dicétone. Selon les conditions de la réaction, les produits formés sont différents.

III.2.2 A partir d'amine aromatique, aldéhydes et acide pyruvique

Les amines aromatiques se condensent avec les aldéhydes et l'acide pyruvique pour former des acides quinoléinecarboxyliques.

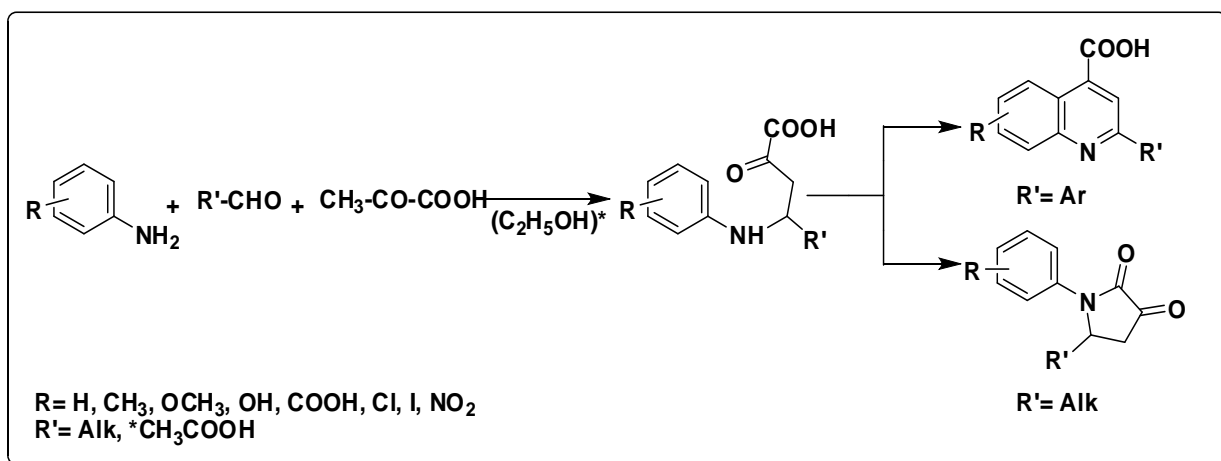


Schéma 11. Synthèse des acides quinoléinocarboxyliques.

III.2.3 A partir d'oaminobenzaldéhyde et l'acétaldéhyde :

Cette réaction est étendue à la condensation d'o-aminophénylcétone et de composés contenant un groupe à méthylène actif comme les aldéhydes, cétones, acides carboxyliques, esters, amides voire nitriles ou aldoximes (schéma 12).

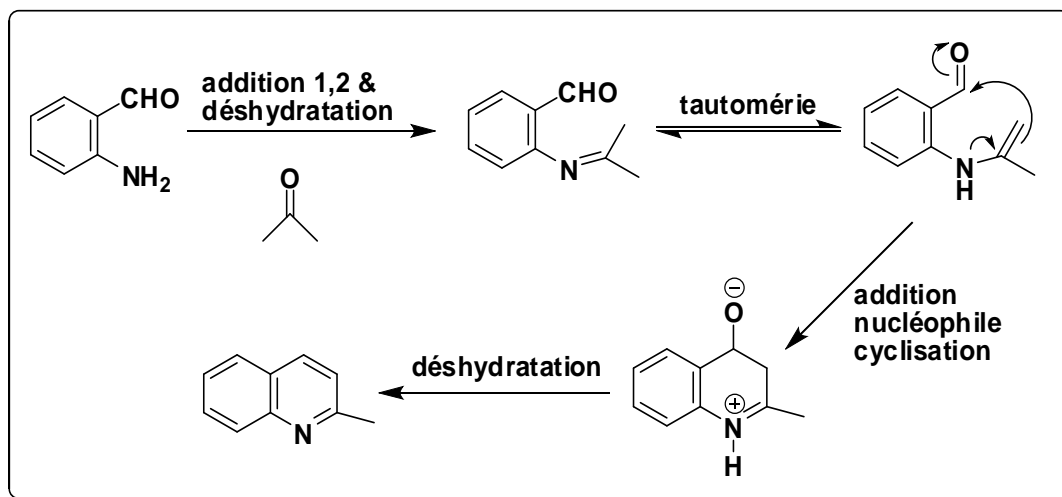


Schéma 12. Synthèse de quinoléine selon Friedländer.

Le groupe méthylène étant plus ou moins activé, il est parfois nécessaire d'utiliser des catalyseurs (acides ou bases) ou bien d'augmenter la température de réaction. L'énamine formé (schéma 12), riche en électron, réalise une addition nucléophile sur

l'aldéhyde (ou la cétone) pour donner un produit de cyclisation intramoléculaire. Ce produit, non isolable, se transforme en quinoléine par déshydratation.

III.2.4 A partir d'une cycloaddition [4+2] d'une imine aromatique avec un alcène :

La réaction de Povarov (schéma 13) consiste en une cycloaddition [4+2] d'une imine aromatique avec un alcène (réaction de type Diels-Alder). L'alcène doit être riche en électrons, c'est pourquoi l'on utilise des énamines, des éthers d'énol, etc...

Généralement, la réaction de Povarov conduit à une tétrahydroquinoléine, mais qui subit une élimination par l'emploi d'un acide de Lewis (BF_3 , OTf_3 , etc.). Ici encore la dihydroquinoléine **b** (schéma 13) doit s'oxyder pour conduire à la quinoléine ce qui limite l'intérêt de la réaction de Povarov.

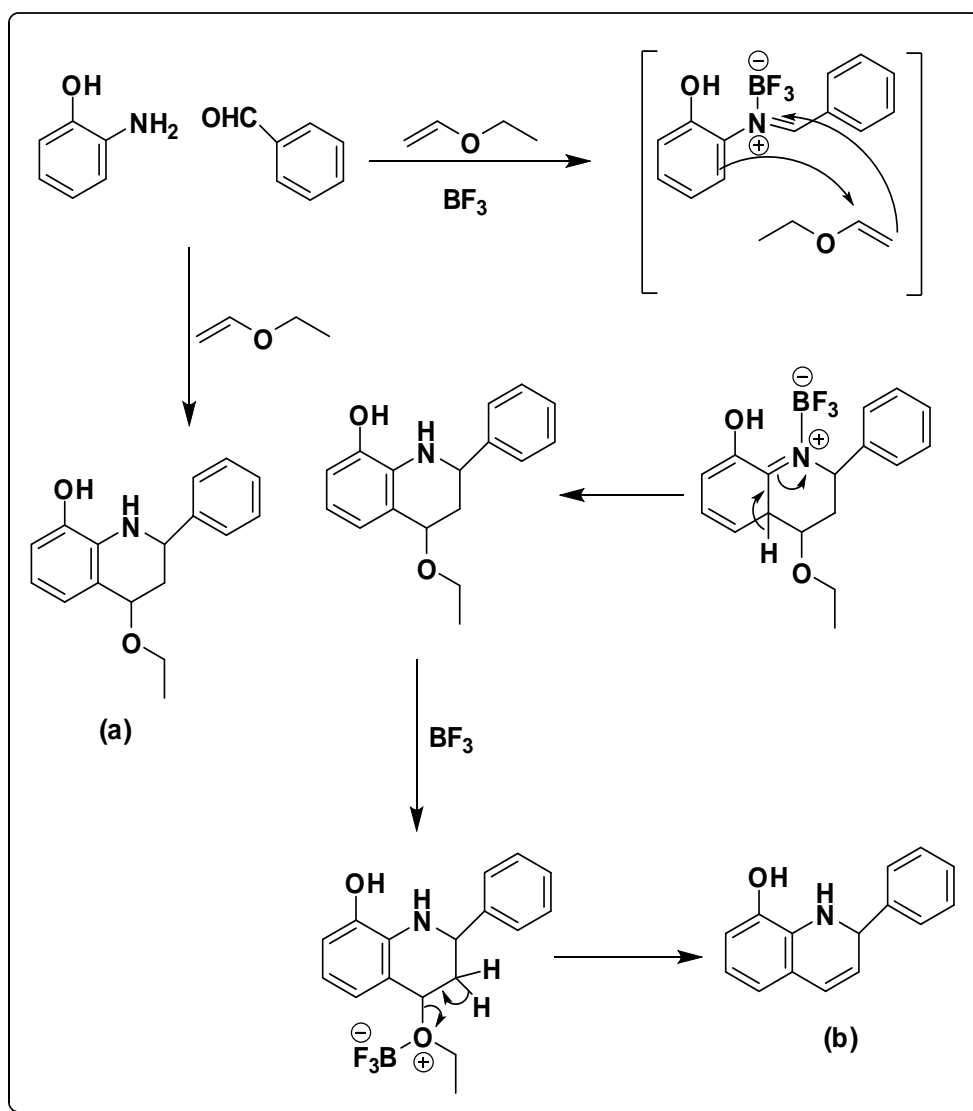


Schéma 13. Synthèse de Povarov.

III.3 Synthèse du quinoléin-8-ol (ou 8-hydroxyquinoléine)

Le quinoléin-8-ol ou 8-hydroxyquinoléine est un hétérocycle. La méthode de synthèse du quinoléin-8-ol la plus ancienne et la plus utilisée est la synthèse de Skraup^{83, 84, 85} (1880), elle consiste à faire réagir le 2-aminophénol, en présence d'acide sulfurique, de propane-1, 2,3-triol (glycérol) et d'un oxydant doux en quantité catalytique (2-nitrophénol) à plus de 100 °C. Le glycérol, chauffé avec de l'acide sulfurique à 100°C, se déshydrate en acroléine. En présence de 2-aminophénol, l'acroléine s'additionne sur l'aniline pour conduire à la formation de 1,2-dihydroquinoléine. Elle est très facilement oxydée et aromatisée en quinoléine par un oxydant doux comme le nitrophénol. On peut ajouter du sulfate ferreux pour rendre la réaction moins violente. L'acroléine ne peut se former qu'*in situ* du fait de sa tendance très importante à se polymériser. Le mécanisme complet de la synthèse du quinoléin-8-ol (ou 8-hydroxyquinoléine) est détaillé dans le schéma 14.

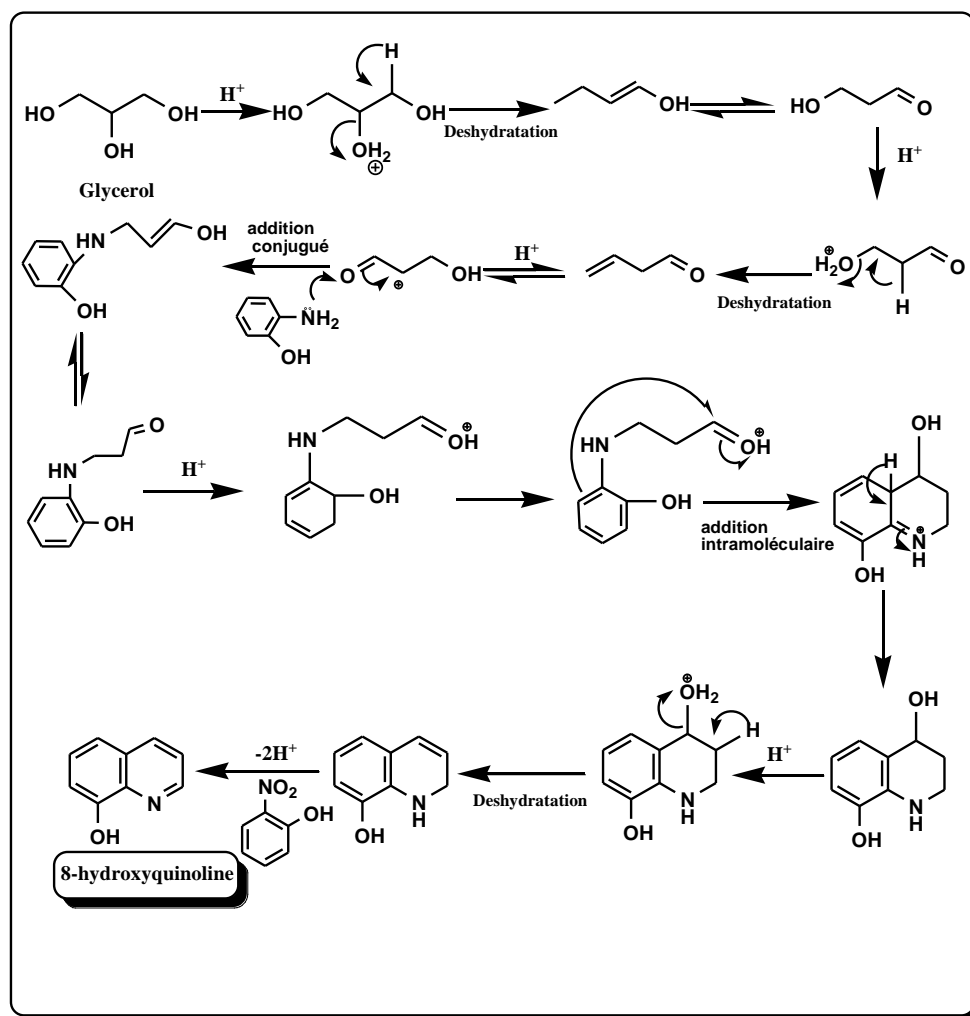


Schéma 14. Synthèse du quinoléin 8ol (ou 8 hydroxyquinoléine).

III.4 Caractéristiques physiques et chimiques du quinoléin-8-ol

La présence d'une pyridine liée à un phénol offre au quinoléin-8-ol à la fois des capacités basique et acide, il s'agit donc d'une molécule amphotère capable de perdre ou gagner un proton selon le pH ambiant. L'aromaticité du quinoléin-8-ol augmente le caractère acide (via la stabilisation par mésomérie de l'ion phénate) et réduit le caractère basique (via une délocalisation partielle de la charge de l'azote) des fonctions alcool et amine, les pKa sont respectivement de 5.13 et 9.89. La paire libre de l'azote étant dans une orbitale sp^2 dans le plan de la molécule, elle n'est pas délocalisée sur le reste du système aromatique et seul un électron dans l'orbital p peut compléter l'arrangement électronique de manière à rendre le cycle aromatique. L'azote ne fait donc pas jouer son caractère mésomère donneur, et seul son caractère inductif attracteur influence le reste du système p. L'atome d'azote exerce ainsi dans le cycle un effet uniquement attracteur.

Le quinoléin-8-ol a la capacité de créer des liaisons intermoléculaires et intramoléculaires. Ce sont des liaisons faibles de type liaison hydrogène qui se forment entre l'alcool et l'azote des quinoléin-8-ols. En effet, l'effet inducteur $-I$ de l'oxygène entraîne la création d'une charge partielle positive sur l'atome d'hydrogène d'où le caractère acide des alcools. Cette charge partielle positive donne la possibilité à l'hydrogène de former des associations moléculaires inter ou intramoléculaires de type liaisons hydrogènes avec des hétéroéléments porteurs de charges partielles négatives azote, oxygène ou fluor.

Les liaisons intermoléculaires impliquent deux molécules de quinoléin-8-ol qui forment un couple de dimère via l'interaction de leurs fonctions alcool et amine respectives. L'apparition d'une dimérisation entraîne une augmentation des constantes physiques (comme les températures de fusion, d'ébullition) tandis que l'établissement de liaisons intramoléculaires va au contraire faire diminuer ces constantes physiques.

Les liaisons intramoléculaires sont facilement réalisables dans le cas du quinoléin-8-ol du fait de la position très rapprochée de l'alcool et de l'amine. Ce type de liaison a aussi un impact important sur les propriétés chimiques : la liaison hydrogène du quinoléin-8-ol rend l'hydrogène moins disponible, ce qui fait décroître l'acidité.

Il est à noter que la proximité des fonctions amines et alcools peut entraîner le captage de l'hydrogène de l'alcool par l'atome d'azote pour former un ion zwitteron. Le quinoléin-8-ol a ainsi 5 formes : la forme cationique, la forme anionique, la forme neutre (α) alpha, la forme neutre (β) ⁸⁶ beta et la forme zwitterion. La forme zwitteron ainsi que les formes neutres α et β sont représentées dans la figure 14.



Figure 14. Représentation des trois formes en milieu neutre du quinoléin-8-ol ou 8-hydroxyquinoléine (8HQ).

De plus, il a été démontré dans des études antérieures^{74, 87} que les quinoléin-8-ols ont une forte affinité avec de nombreux métaux, affinité due à la création de liaisons métalliques et à la chélation des métaux. Le « chélate » se distingue du simple « complexe » par le fait que le cation métallique est fixé au chélateur par au moins deux liaisons de coordination définissant un cycle avec le métal, à la manière d'une pince.

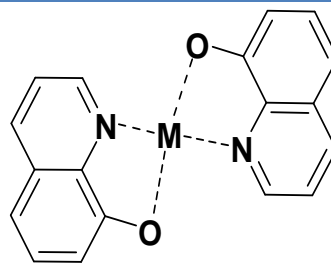


Figure 15. Chélation de deux molécules de quinoléin-8-ol autour d'un métal.

Cette capacité conjuguée au fait que le quinoléin-8-ol peut traverser la barrière hématoencéphalique, a été utilisée dans le cadre du traitement de la maladie d'Alzheimer. La complexation des atomes de cuivre du cerveau réduit de manière sensible l'apparition de plaques séniles. Cette caractéristique a eu des conséquences d'ordre biologique avec l'utilisation thérapeutique du Clioquinol (un agent chélatant tridentate dérivé du quinoléin-8-ol). Toutefois aucune preuve n'a pu être trouvée pour démontrer qu'un tel mécanisme s'applique dans le cadre d'une activité anticancéreuse. Un exemple de chélation impliquant deux molécules de quinoléin-8-ol est représenté sur la figure 15.

III.5 Les bis (*N*-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine *N*-substitués

La réalisation de cette série de molécules focalisées sur la quinoléin-8-ol s'est faite en deux étapes : une première étape de chlorométhylation de la quinoléin-8-ol⁸⁸ et une

deuxième étape où le dérivé chloré est mis en réaction pour une substitution nucléophile avec des dérivés aminés.

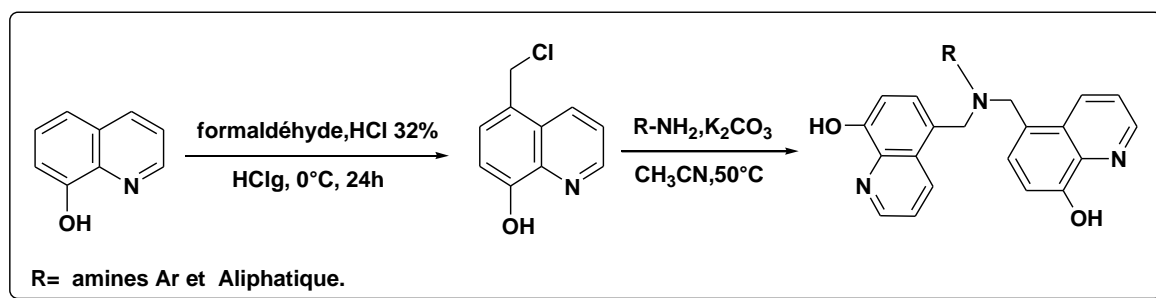


Schéma 15. L'halométhylation d'une 8 hydroxyquinoléine via un cation chlorométhyle (A) et via la génération d'un cation hydroxyméthyle (B).

Lors de l'étape de chlorométhylation, la quinoléin-8-ol réagit avec le formaldéhyde en présence d'acide chlorhydrique à 0°C pour conduire au 5-chlorométhylquinoléin-8-ol. Après une nuit sous agitation le produit attendu précipite et est récupéré par simple filtration avec 90% de rendement.

Lors de la deuxième étape de la synthèse, l'amine (nucléophile) va attaquer l'atome de carbone électrophile portant le chlore de la 5-chlorométhyl-quinoléin-8-ol et déclencher le départ de l'halogène. Comme le carbonate de potassium est une base faible, la déprotonation a lieu après la substitution nucléophile et se réalisera sur l'intermédiaire ion ammonium dont le pKa est significativement plus acide que celui de l'amine d'origine. L'alkylation compétitive de l'amine sur le dérivé chloré en présence de carbonate mène à la formation d'une amine secondaire puis d'une amine tertiaire.

Dans des travaux antérieurs^{89, 90, 91} une série des bis (*N*-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine *N*-substitués a été synthétisée. Les essais pharmacologiques réalisés sur cette nouvelle famille ont été tout à fait encourageants, ils indiquent qu'ils sont doués d'activité cytostatique comparable à celle de Docétaxel ce dernier est un anticancéreux déjà utilisé en clinique.

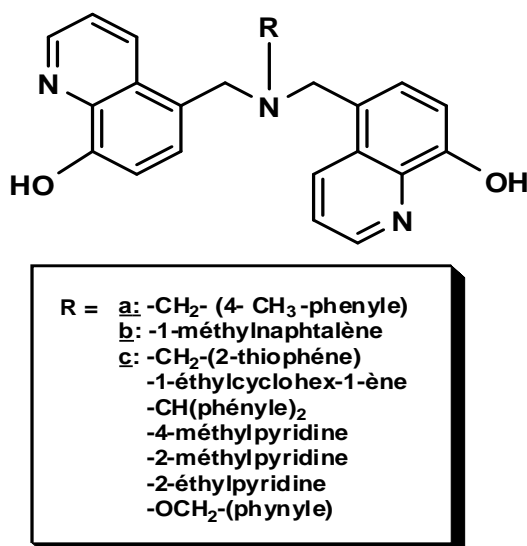


Figure 16. Quelques exemples des bis (*N* (5méthyl)quinoléin 8ol) amine *N*-substitués déjà synthétisés.

La complexité et la diversité structurale ont une grande importance car faire varier le nombre et la position des fonctions organiques a une influence directe sur les capacités (transport, excrétion et sélectivité) de ces molécules organiques à se lier à des récepteurs ou des enzymes.

III.6 Conclusion

Les composés appartenant à la famille de la quinoléine sont utilisés dans divers domaines et en particulier dans celui de la pharmacie comme antibiotiques, antalgiques, anti-tumoraux, anti-inflammatoires, etc. Ainsi une large partie de l'activité de recherche de notre laboratoire s'articule autour de la préparation d'une gamme variée de molécules de cette famille.

Dans ce chapitre nous avons présenté l'intérêt biologique de la quinoléine et ses dérivés, un aperçu des différentes méthodes de synthèses décrites dans la littérature a été également décrit.

DEUXIEME PARTIE

Synthèse, Résultats & Discussion

CHAPITRE I

Synthèse des CENS dérivés d'acides aminés et de leurs complexes d'inclusion à l'état solide

I. 1 Introduction

Dans le but d'introduire des possibilités de pharmacomodulation, nous avons envisagé la préparation d'une seconde génération de CENS associant le pharmacophore chloroéthylsulfamide à des acides aminés naturels. L'intérêt biologique des acides aminés fait d'eux des précurseurs intéressants pour l'élaboration des pseudo- biomolécules.

L'association des 2-chloroéthylnitrososulfamides à des acides aminés⁴⁹ nous permettra sans doute d'améliorer l'index thérapeutique de ces molécules (transporteur membranaire, vecteur, etc.). L'approche utilisant des biomolécules comme vecteur biologique a fait l'objet de nombreux travaux.

La méthodologie suivie dans notre travail consiste à synthétiser une série des N-(2-chloroéthyl),N- nitrososulfamides (CENS) dérivés d'acides aminés naturels, les caractériser et par la suite les complexer par la β -cyclodextrine connue par son aptitude à former des complexes d'inclusion avec des molécules peu hydrosolubles.

I. 2 Synthèse des 2-chloroéthylnitrososulfamides dérivés d'acides aminés

Les composés auxquels nous nous sommes intéressés concernent les CENS issus d'acides aminés libres, il s'agit en l'occurrence des composés suivants :

- ✓ N-nitroso,N-(2-chloroéthyl), N'-méthyl, N'-sulfamoylphénylalanine (**1e**).
- ✓ N-nitroso,N-(2-chloroéthyl), N'-méthyl, N'-sulfamoylalanine (**2e**).
- ✓ N-nitroso,N-(2-chloroéthyl), N'-sulfamoylproline (**3e**).
- ✓ N-nitroso,N-(2-chloroéthyl), N'-méthyl, N'-sulfamoylglycine (**4e**).
- ✓ N-nitroso,N-(2-chloroéthyl), N'-méthyl, N'-sulfamoylleucine (**5e**).
- ✓ N-nitroso,N-(2-chloroéthyl), N'-méthyl, N'-sulfamoylisoleucine (**6e**).

Nous avons choisi la voie (A) pour la synthèse des composés portée dans le chapitre II, car elle nous a donné des rendements satisfaisants. Nous avons respecté les mêmes étapes décrites dans la littérature³⁵ à savoir :

- ✓ Formation du sulfamide activé (réaction de carbamoylation suivie d'une réaction de sulfamoylation).

- ✓ Alkylation par la réaction de Mitsunobu.
- ✓ Méthylation au niveau de l'azote de l'acide aminé.
- ✓ Clivage du groupement Boc.
- ✓ Nitrosation.

Cette voie de synthèse a montré quelques limites d'utilisation pendant l'élimination des produits d'oxydoréduction à la réaction de Mitsunobu en plus du nombre d'étape qu'elle comporte.

I. 2. 1 Synthèse des carbamates : N-BOC, N'- sulfamoylamoesters de *tert*butyle (1a-6a)

Les dérivés sulfamoylés activés^{37, 39} obtenus à partir de l'aménagement polyfonctionnel de l'isocyanate de chlorosulfonyl (ICS) comme générateur du motif sulfonyl (-NH-SO₂-).

Le sulfamoylé activé est obtenu par l'addition du *tert*butanol sur l'ICS suivie d'une sulfamoylation par l'amoester *tert*butylique dans la triéthylamine schéma 16.

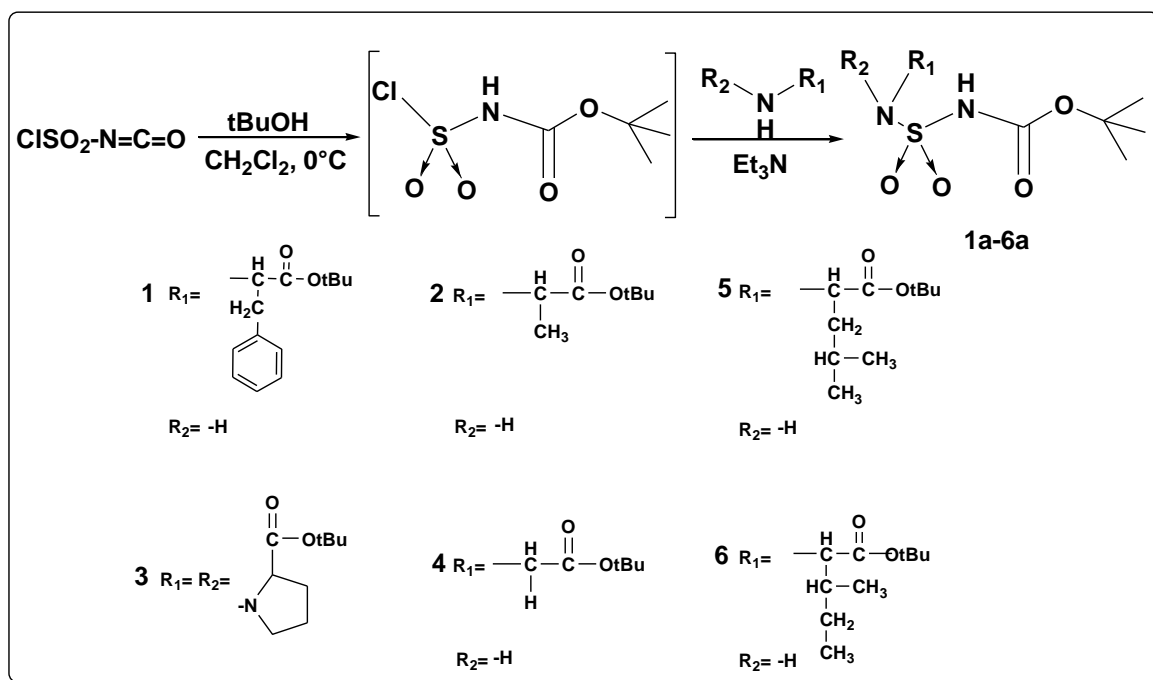


Schéma 16. Accès aux N-BOC sulfamoylamoesters de *tert*butyle.

La réaction de carbamoylation doit s'effectuer dans des conditions strictement anhydres pour éviter, ou limiter la formation de carbamate par perte du groupement sulfochlorure.

1.2.1.1 Caractérisation des N-BOC sulfamoylamoesters de *tert*butyle (1a-6a)

Ces composés se présentent sous forme de solides blancs, recristallisables dans le dichlorométhane-éther. Ils sont révélés à la ninhydrine, bien solubles dans des solvants polaires et insolubles dans l'éther et l'hexane.

Les caractéristiques physico-chimiques des sulfamoyles activés (*N*-BOC sulfamoylamoesters de *tert*butyle (1a-6a) sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 2: Caractéristiques physico-chimiques des *N*-BOC sulfamoylamoesters *tert*butyliques (1a-6a).

Ref	Pf (°C)	Rf (*)	Rd(%)	RMN ¹ H (CDCl ₃ -d, δ ppm)
1a	108	0.80	80	7.04(s, 5H, Ar-H), 3.97(t, 1H, C [*] H), 2.89(m, 2H, CH ₂), 1.33(s, 9H, 3CH ₃), 1.16(s, 9H, 3CH ₃).
2a	130.50	0.59	75	7.07(s, 1H, NHBOC), 5.64(d, 1H, NHC [*]), 4.04(q, 1H, C [*] H), 1.99(d, 3H, CH ₃), 1.30(s, 18H, 6CH ₃).
3a	120	0.60	65	7.16(s, 1H, NH), 4.42(dd, 1H, C [*] H), 3.46(m, 2H, CH ₂ N), 3.06(m, 4H, 2CH ₂), 1.37(s, 18H, 6CH ₃).
4a	134.80	0.47	83	7.05(s, 1H, NH), 3.62(d, 2H, CH ₂), 1.29(s, 18H, 6CH ₃).
5a	150.13	0.31	81	6.90(s, H, NHBOC), 5.40(s, H, NC [*]), 4.09(q, H, C [*] H), 1.67(m, 3H, CH+CH ₂), 1.36(s, 9H, 3 CH ₃), 1.33(s, 9H, 3 CH ₃), 0.82(d, 3H, CH ₃), 0.79(d, 3H, CH ₃).
6a	147	0.40	85	6.80(s, H, NHBOC), 5.40(d, 1H, NHC [*]), 3.70(t, 1H, C [*] H), 1.28(s, 9H, 3CH ₃), 1.26(s, 9H, 3CH ₃), 0.74(m, 8H, 2CH ₃ +CH ₂).

(*)Dichloromethane

I.2.2 Accès aux N-(N-BOC, N-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-aminoester de *tert*butyle (1b-6b)

La présence d'un proton labile et la charge anionique^{92, 93} sur l'azote carbamique du carboxylsulfamides (**1a-6a**) dérivant d'acide amino lui confère un excellent pouvoir nucléophile. Le groupement Boc exerce un effet électroattracteur qui augmente de façon remarquable la mobilité du proton associé par rapport à celle de l'autre azote.

La différence de caractère nucléophile permet une chloroéthylation régiospécifique dans les conditions de la réaction de Mitsunobu⁹⁴ utilisant le chloroéthanol pour conduire aux sulfamides trisubstitués. La réaction se fait à la température ambiante, comme l'indique le schéma suivant :

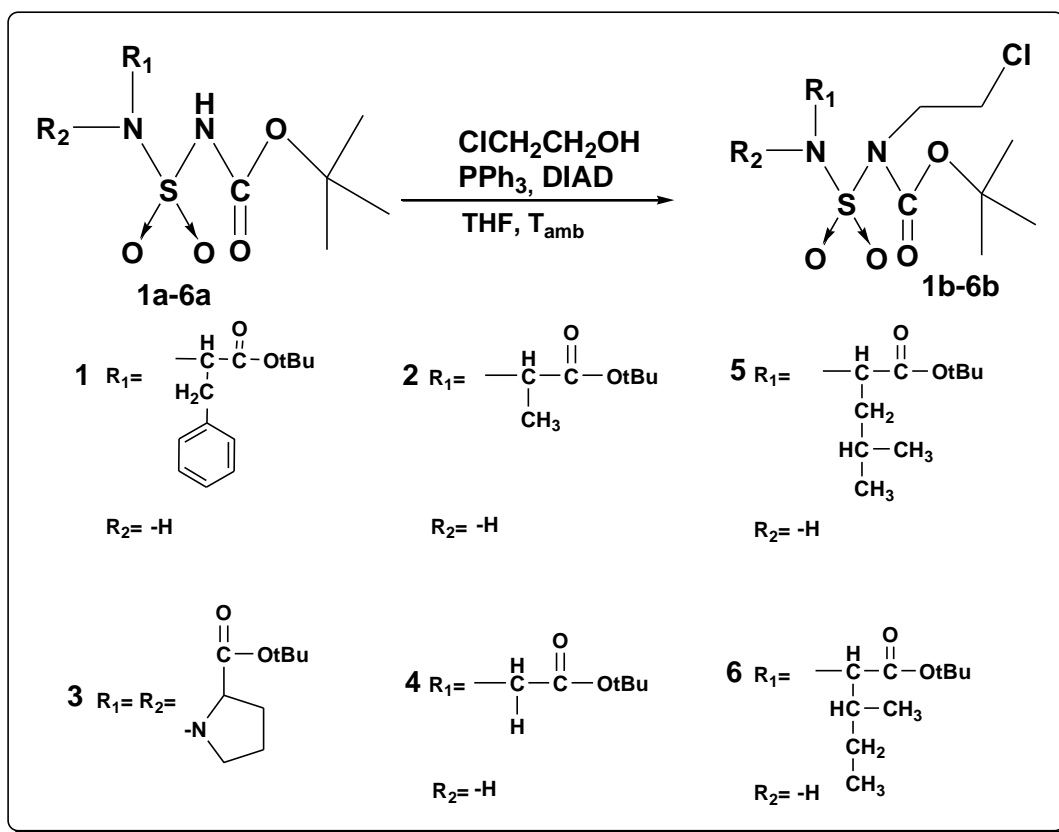


Schéma 17. Chloroéthylation via la réaction de Mitsunobu.

Les produits d'alkylation sont obtenus après purification sur colonne de gel de slice élués par le dichlorométhane qui donne successivement le triphénylphosphine (PPh₃), les

produits des substitutions et éventuellement le OPPh_3 qui reste après une précipitation à l'éther diéthylique.

1.2.2.1 Caractérisation des N-(N-BOC, N-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-aminoester de *tert*butyle (**1b-6b**)

Ces produits sont généralement des solides. Leurs spots sont révélés à la ninhydrine et ils cristallisent dans le mélange éther-éther de pétrole. Les caractéristiques physico-chimiques de ces produits sont rassemblées dans le tableau 3.

Tableau 3: Caractéristiques physico-chimiques des N-(N-BOC, N-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)- aminoester de *tert*butyle (**1b-6b**).

Ref	Pf(°C)	Rf(*)	Rd (%)	RMN ^1H ($\text{CDCl}_3\text{-d}$, δ ppm)
1b	129.49	0.85	65	7.19(s, 5H, Ar-H), 4.15(t, 1H, C [*] H), 3.87(t, 2H, CH ₂ N), 3.57(t, 2H, CH ₂ Cl), 3.02(m, 2H, CH ₂), 1.35(s, 9H, 3CH ₃), 1.25(s, 9H, 3CH ₃).
2b	162.50	0.61	54	6.06(d, 1H, NHC [*]), 3.98(m, 3H, CH ₂ N + C [*] H), 3.66(t, 2H, CH ₂ Cl), 2.19(s, 3H, CH ₃), 1.56(s, 9H, 3CH ₃), 1.48(s, 9H, 3CH ₃).
3b	149.36	0.72	75	4.32(dd, 1H, C [*] H), 3.80(t, 2H, CH ₂ N), 3.48(t, 2H, CH ₂ Cl), 3.24(m, 2H, CH ₂ N), 2.00(m, 4H, 2CH ₂), 1.30(s, 18H, 6CH ₃).
4b	166.60	0.62	47	7.29(s, 1H, NH), 4.00(t, 2H, CH ₂ N), 3.80(d, 2H, CH ₂), 3.67(t, 2H, CH ₂ Cl), 1.58(s, 9H, 3CH ₃), 1.50(s, 9H, 3CH ₃).
5b	182.40	0.68	60	5.77(d, 1H, NHC [*]), 3.89(m, 3H, C [*] H+ CH ₂ N), 3.56(t, 2H, CH ₂ Cl), 1.77(m, 3H, CH+CH ₂), 1.49(s, 9H, 3 CH ₃), 1.40(s, 9H, 3 CH ₃), 0.89(d, 3H, CH ₃), 0.87(d, 3H, CH ₃).
6b	181.55	0.78	58	5.86(d, 1H, NHC [*]), 3.87(t, 2H, CH ₂ N), 3.78(t, 1H, C [*] H), 3.56(t, 2H, CH ₂ Cl), 1.49(s, 9H, 3CH ₃), 1.40 (s, 9H, 3CH ₃), 0.86 (m, 8H, 2CH ₃ +CH ₂).

(*)Dichloromethane

I.2.3 Méthylation des N-(N-BOC, N-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-aminoester de *tert*-butyle (1b- 6b)

Dans des travaux antérieurs⁴⁹, il a été montré que l'existence de la réaction de nitrosation parasite dans la synthèse des CENS dérivés d'acides aminés, est directement liée à la présence de deux sites nucléophiles (NH) qui donnent un mélange de deux régioisomères a et b, le mono et le dinitrosé schéma 18 après nitrosation ce qui diminue considérablement le rendement de la réaction.

C'est pour cette raison que nous avons envisagé de synthétiser une série de CENS dérivée d'acides aminés, dont l'azote de l'aminoester est préalablement protégé pour avoir une nitrosation régiosélective.

Cette voie de synthèse qui comporte quatre étapes successives elle comprend une étape essentielle de « N-méthylation » au niveau de l'azote de l'aminoester pour avoir une nitrosation régiosélective.

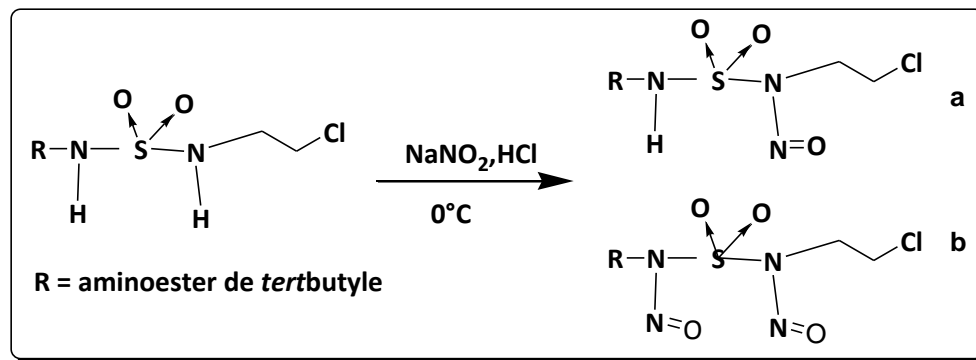


Schéma 18. Exemple de la réaction de nitrosation parasite d'un CENS issu d'un aminoester de *tert*butyle.

Le caractère labile du proton NH de l'acide aminé a permis la préparation des dérivés méthylés des composés 1c-6c (sauf le composé 3c). Ces composés sont obtenus par le procédé de Catt et Matier⁹⁵, qui utilise le mélange iodure de méthyle - carbonate de potassium dans l'acétone à température ambiante selon le Schéma 19.

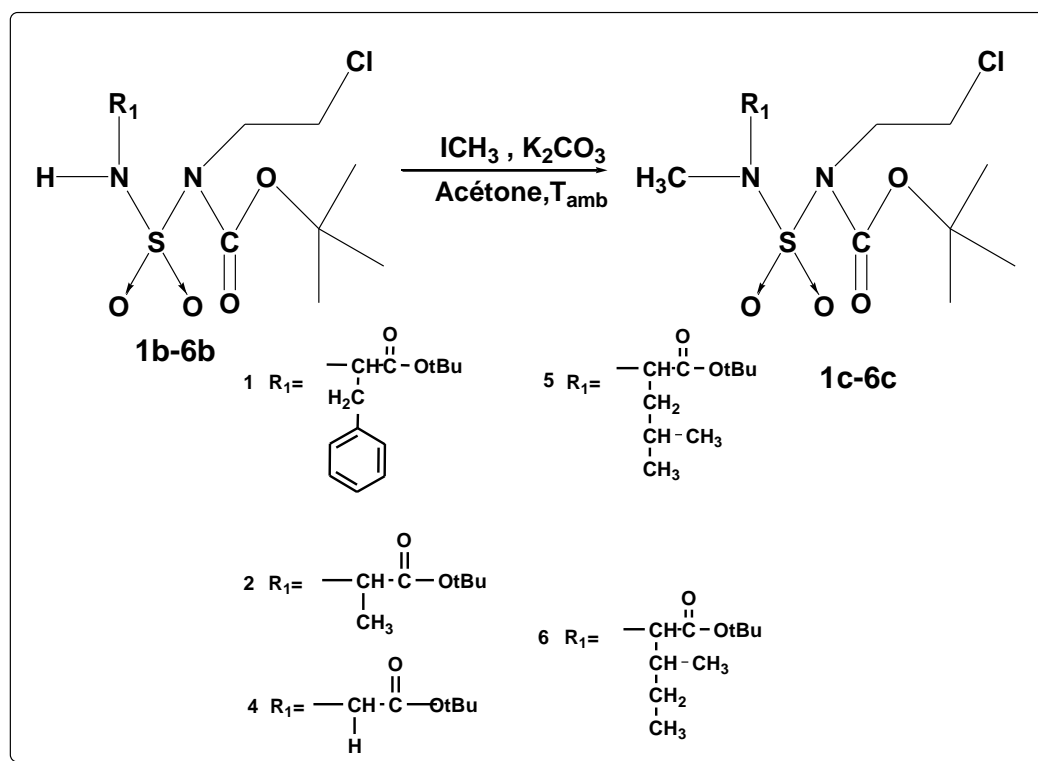


Schéma 19. Réaction de N-méthylation selon le procédé de Catt et Matier.

I.2.3.1 Caractérisation des N-*tert*butyloxycarbonyl, N (2-chloroéthyl), N'méthyl, N'-sulfamoylamineoesters de *tert*butyle (1c-6c)

La méthylation au niveau de l'azote libre est révélée, en infra-rouge par la disparition de la bande d'absorption NH à $3200\text{-}3350\text{ cm}^{-1}$, en RMN du proton par l'absence du signal NH et l'apparition du signal N-CH₃ à 2.60-3.05 ppm et en CCM par l'apparition d'une nouvelle tache moins polaire et de la disparition progressive du composé de départ. Les caractéristiques physicochimiques des composés N-méthylés sont regroupées dans le tableau 4.

Tableau 4: Caractéristiques physicochimiques des N-*tert*butyloxycarbonyl, N (2-chloroéthyl), N'-méthyle, N'-sulfamoylaminoesters de *tert*butyle (**1c-6c**).

.Ref	Pf (°C)	Rf (*)	Rd (%)	RMN ¹ H (CDCl ₃ -d, δ ppm)
1c	120	0.87	93	7.19(s, 5H, Ar-H), 4.62(t, 1H, C [*] H), 3.81(t, 2H, CH ₂ N), 3.54(t, 2H, CH ₂ Cl), 3.02(m, 5H, CH ₂ + NCH ₃), 1.43(s, 9H, 3CH ₃), 1.31(s, 9H, 3CH ₃).
2c	153.68	0.70	95	4.51(q, 1H, C [*] H), 3.90(t, 2H, CH ₂ N), 3.59(t, 2H, CH ₂ Cl), 2.91(s, 6H, CH ₃ + NCH ₃), 1.45(s, 9H, 3CH ₃), 1.40(s, 9H, 3CH ₃).
4c	158 °C.	0.72	89	3.88(m, 4H, CH ₂ N + CH ₂), 3.59(t, 2H, CH ₂ Cl), 2.94(s, 3H, NCH ₃), 1.46(s, 9H, 3CH ₃), 1.40(s, 9H, 3CH ₃).
5c	172.50	0.88	86	4.29(q, 1H, C [*] H), 3.88(t, 2H, CH ₂ N), 3.58(t, 2H, CH ₂ Cl), 2.98(s, 3H, NCH ₃), 1.56(m, 3H, CH+CH ₂), 1.45(s, 9H, 3 CH ₃), 1.39(s, 9H, 3 CH ₃), 0.90(d, 6H, 2CH ₃).
6c	174	0.84	90	3.90(t, 2H, CH ₂ N), 3.72(t, 1H, C [*] H), 3.60(t, 2H, CH ₂ Cl), 3.04(s, 3H, NCH ₃), 1.44(s, 9H, 3CH ₃), 1.40 (s, 9H, 3CH ₃), 0.87 (m, 8H, 2CH ₃ +CH ₂).

(*)Dichloromethane

I. 2.4 Accès aux N-(2-chloroéthyl), N'-méthyle, N'-sulfamoylaminoacides (**1d -6d**)

Le groupement *tert*butyloxycarbonyl qui a joué un rôle ambivalent, protecteur dans les composés chloroéthylés, et activateur de l'azote carbamique est facilement éliminé par un traitement à l'acide trifluoroacétique³⁹ dans le dichlorométhane (25/75), (schéma **20**) pour conduire aux composés **1d-6d** doublement déprotégés sur le carbamate et l'ester avec des bons rendements.

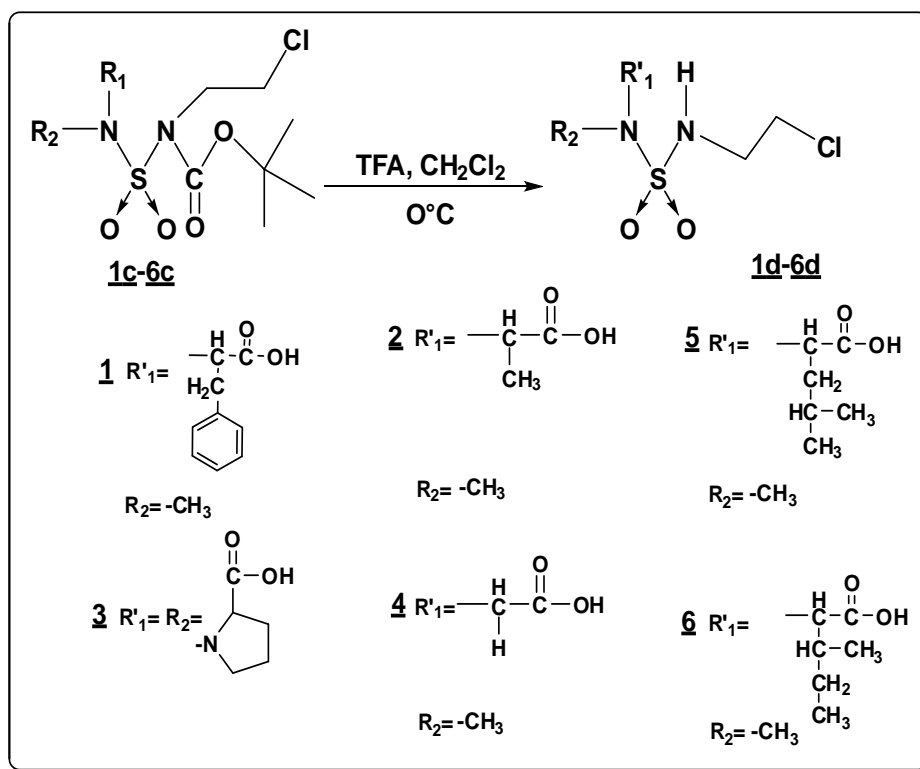


Schéma 20. Déprotection du N-*tert*butyloxycarbonyl, N (2-chloroéthyl), N^ométhyl, N^o-sulfamoylaminosulfonates de *tert*butyle.

I.2.4.1 Caractérisation des N-(2-chloroéthyl), N^o-méthyl, N^o-sulfamoylaminosulfonates (1d-6d)

Les composés déprotégés trouvés (tableau 5) sont généralement des huiles cristallisables, ils sont plus polaires que leurs précurseurs. La déprotection se traduit en RMN par le blindage des signaux des protons (CH₂N) qui apparaissent sous forme de quadriplet et d'un moindre déblindage des signaux des protons (CH₂Cl).

Tableau 5: Caractéristiques physico-chimiques des composés **1d-6d**.

Ref	Pf (°C)	Rf (*)	Rd (%)	RMN ¹ H (CDCl ₃ -d, δ ppm)
1d	Huile	0.30	80	7.22(s, 5H, Ar-H), 4.85(t, 1H, C [*] H), 3.30(m, 4H, CH ₂ Cl, CH ₂ N), 2.80(s, 3H, NCH ₃), 2.68(m, 2H, CH ₂).
2d	150	0.20	75	7.19(s, 1H, NH), 4.65(q, 1H, CH [*]), 3.62(q, 2H, CH ₂ N), 3.36(t, 2H, CH ₂ Cl), 2.80(m, 6H, CH ₃ + NCH ₃).
3d	Huile	0.22	70	7.05(s, 1H, NH), 4.24(dd, 1H, C [*] H), 3.48(t, 2H, CH ₂ N), 3.27(m, 4H, CH ₂ Cl + CH ₂ Npro), 2.00(m, 4H, 2CH ₂).
4d	Huile	0.23	68	7.840(s, H, NH), 4.09 (d, 2H, CH ₂), 3.69(q, 2H, CH ₂ N), 3.47(t, 2H, CH ₂ Cl), 2.96(s, 3H, NCH ₃).
5d	Huile	0.25	73	4.85(s, 1H, NH), 4.46(q, 1H, C [*] H), 3.45(q, 2H, CH ₂ N), 3.20(t, 2H, CH ₂ Cl), 2.61(s, 3H, NCH ₃), 1.45(m, 3H, CH+CH ₂), 0.76(d, 6H, 2CH ₃).
6d	Huile	0.26	82	4.07 (q, 2H, CH ₂ N), 3.49(t, 1H, C [*] H), 3.20(t, 2H, CH ₂ Cl), 2.74(s, 3H, NCH ₃), 1.43 (m, 1H, CH), 0.80 (m, 8H, 2CH ₃ +CH ₂).

(*)Dichloromethane

I.2.5 Accès aux N-nitroso, N-(2-chloroéthyl), N¹-méthyl, N¹-sulfamoylaminoacides (**1e-6e**)

La nitrosation des chloroéthylsulfamides^{35, 39, 40} est réalisée en milieu biphasique par la méthode habituelle à froid (0°C) au moyen du nitrite de sodium en présence d'acide chlorhydrique (schéma **21**). Après filtration de la suspension formée, la solution est lavée à l'eau, et le solvant est ensuite évaporé selon le schéma général de synthèse.

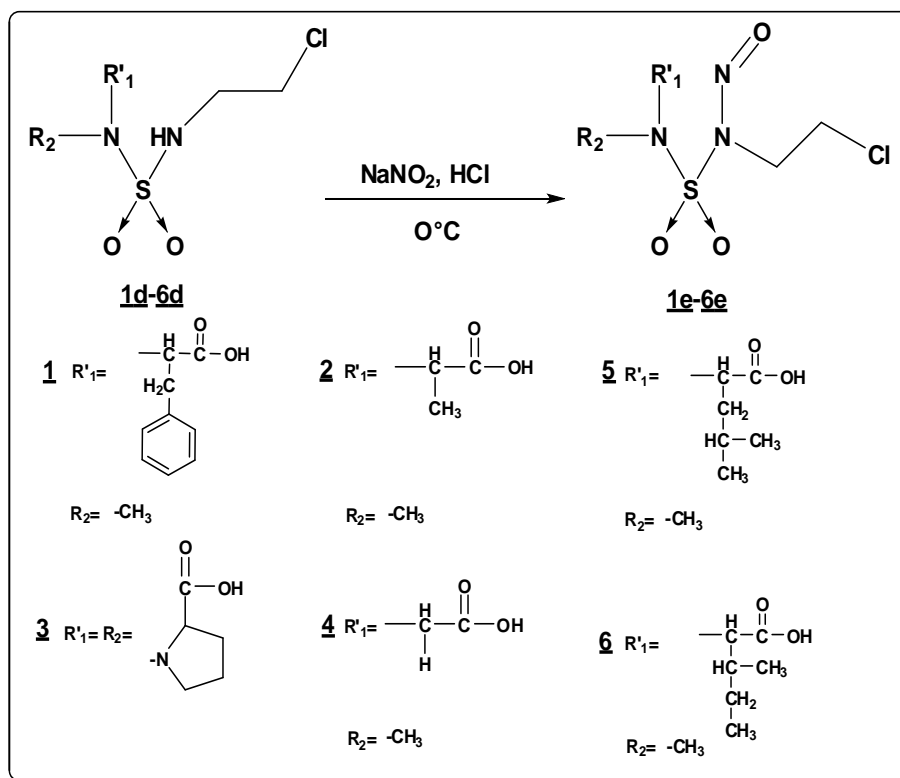


Schéma 21. Nitrosation des N-(2-chloroéthyl), N'-méthyl, N'-sulfamoyl aminoacides.

I.2.5.1 Caractérisation des N-nitroso, N-(2-chloroéthyl), N'-méthyl, N'-sulfamoyl

Aminoacide (1 e- 6 e)

Les produits nitrosés sont moins polaires que leurs précurseurs, possédant des bons chromophores en UV en raison de la présence du groupement (NO), ils sont bien révélés à la ninhydrine. Ils se présentent sous forme d'huiles instables.

Ils sont facilement identifiés, en RMN, par l'absence des protons échangeables et la présence de deux triplets sous forme de système A2X2 à 3,60 ppm ($\text{CH}_2\text{N-NO}$) et 3.30 ppm (CH_2Cl). Il est à noter que les CH_2Cl (triplet) qui étaient moins blindés que les CH_2N triplet dans leurs précurseurs respectifs sont devenus plus blindés dans les composés nitrosés, et apparaissent tous les deux sous forme de triplets uniquement. Ce qui a été largement démontré dans des travaux précédents de notre groupe. Le tableau 6 regroupe toutes les caractéristiques physicochimiques et spectrales qui ont été utilisés pour l'identification de ces composés.

Tableau 6: Caractéristiques physicochimiques des N-nitroso, N-(2-chloroéthyl), N'méthyl, N'-sulfamoylaminoacide (CENS).

Ref	Pf (°C)	Rf(*)	Rd (%)	RMN ¹ H (CDCl ₃ -d, δ ppm)
1e	Huile	0.35	65	7.20(s, 5H, Ar-H), 4.82(t, 1H, C [*] H), 3.42(t, 2H, CH ₂ NNO), 3.28(t, 2H, CH ₂ Cl), 2.78(s, 3H, NCH ₃), 2.55(m, 2H, CH ₂).
2e	Huile	0.25	53	4.63(q, 1H, CH [*]), 3.61(t, 2H, CH ₂ NNO), 3.35(t, 2H, CH ₂ Cl), 2.79(m, 6H, CH ₃ + NCH ₃).
3e	Huile	0.30	50	4.45(dd, 1H, C [*] H), 3.75(t, 2H, CH ₂ N), 3.55(m, 4H, CH ₂ Cl + CH ₂ Npro), 2.00(m, 4H, 2CH ₂).
4e	Huile	0.26	59	4.10 (d, 2H, CH ₂), 3.72(t, 3H, CH ₂ NNO), 3.49(t, 3H, CH ₂ Cl); 2.99(s, 3H, NCH ₃)
5e	Huile	0.40	67	4.59 (q, 1H, C [*] H), 3.61(t, 2H, CH ₂ Cl), 3.42(t, 2H, CH ₂ NNO), 2.99(s, 3H, NCH ₃), 1.66 (m, 3H, CH+CH ₂), 0.90 (d, 6H, 2CH ₃).
6e	Huile	0.35	73	4.22(t, 2H, CH ₂ Cl), 3.60(t, 1H, C [*] H), 3.40(t, 2H, CH ₂ NNO), 3.08(s, 3H, NCH ₃), 1.59 (m, 1H, CH), 0.93 (m, 8H, 2CH ₃ +CH ₂).

(*)Dichloromethane

I.3 Préparation des complexes d'inclusion CENS-β-CD à l'état solide

Au-delà de la chimie moléculaire, il existe un domaine appelé chimie supramoléculaire⁹⁶ avec des associations de molécules qui sont capables de former des complexes moléculaires. Parmi les molécules qui peuvent jouer ces rôles, on peut citer les éthers couronnes, les clathrates, les zéolithes, les porphyrines, les cryptates, les cyclophanes et enfin, celles qui feront l'objet de notre étude les cyclodextrines.

Dans des travaux antérieurs^{38, 97} au sein de notre laboratoire une série de complexes d'inclusion β-CD-CENS issus des amines secondaires a été préparée et étudiée à l'état solide et en solution (stœchiométrie, constante de stabilité). Les résultats obtenus sont tout à fait encourageants de point de vue amélioration de la solubilité et de la stabilité des CENS.

De notre part, nous nous sommes intéressés à la complexation des CENS dérivés d'acide aminé par la β -CD (Figure 17). Le principe de cette méthode consiste à ajouter 1 éq. de composé invité (CENS) dissout dans peu de méthanol sur une solution à 2% de β -CD dans l'eau, le mélange est agité à température ambiante pendant 24 heures. Les solutions troubles formées ont été filtrées, une poudre blanche est récupérée, séchée puis caractérisée par les méthodes spectroscopiques usuelles (IR, RMN ^1H , SM-ESI).

Les auteurs indiquent que d'après la littérature⁹⁸ la présence de méthanol n'influence pas la constante d'association.

En solution aqueuse la cavité légèrement apolaire des CD est occupée par des molécules d'eau, énergétiquement défavorisées (interaction polaire -apolaire), et peuvent donc être rapidement remplacé par des molécules invitées moins polaires que l'eau tels que les CENS.

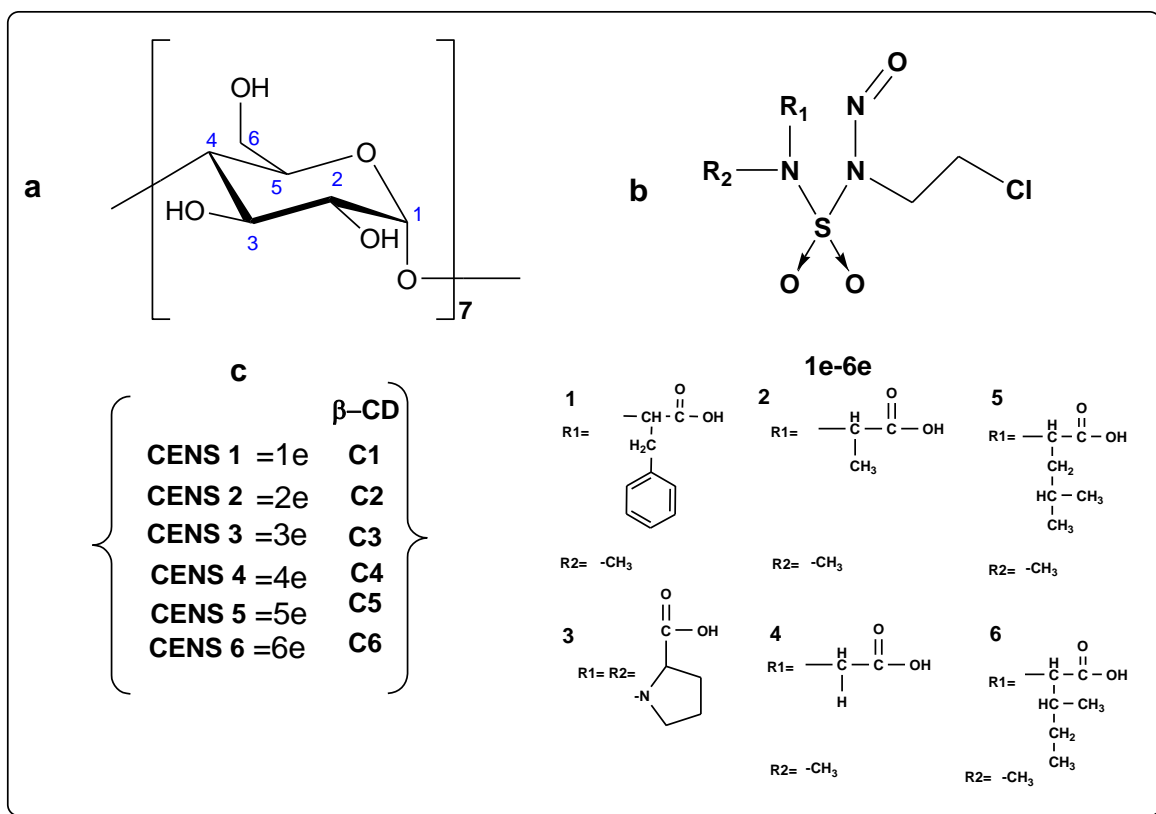


Figure 17. Structure de la β -cyclodextrines et des CENS utilisés dans cette étude.

I.3.1 Caractérisation des complexes d'inclusion CENS- β -CD

Il est important de souligner qu'une analyse complète et efficace d'un complexe d'inclusion potentiel doit fournir des réponses concernant la réalité de l'inclusion, sa stoechiométrie, sa constante d'association et devrait aussi proposer une structure tridimensionnelle de la supramolécule. Or, parmi les techniques d'analyse couramment utilisées, peu peuvent répondre à ces questions. Ceci est dû le plus souvent à des limitations techniques ou théoriques mais dans un certain nombre de situations les incohérences relevées dans la littérature⁹⁹ peuvent venir d'une mauvaise interprétation des données expérimentales.

I.3.1.1 Evolution des points de fusion des complexes d'inclusion

Les complexes CENS - β -CD sont des solides à point de fusion élevé⁹⁷ généralement compris entre ceux des CENS libres et de la β -CD.

Tableau 7: Points de fusion des CENS, de la β -CD, et des complexes d'inclusion.

	β -CD	1 e	2 e	3 e	4 e	5 e	6 e	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Pf (°C)	280	huile	huile	huile	huile	huile	huile	268	245	210	230	225	228

On comparant les valeurs des points de fusion des cyclodextrines et des CENS libres avec ceux de leurs complexes correspondants, on constate qu'ils sont totalement différents, ce qui suppose que l'inclusion a eu lieu.

I.3.1.2 Etude des complexes d'inclusion par spectrométrie de masse

La spectroscopie de masse utilisée pour la détermination de la structure des complexes d'inclusion a été réalisée par la méthode de pulvérisation ionique (Electrospray Ionisation Mass Spectroscopy : MS ESI/ ESI⁺) en mode positif et négatif.

Le complexe **C5** et **C6** présente des spectrogrammes en mode négatif successivement avec les résultats suivants:

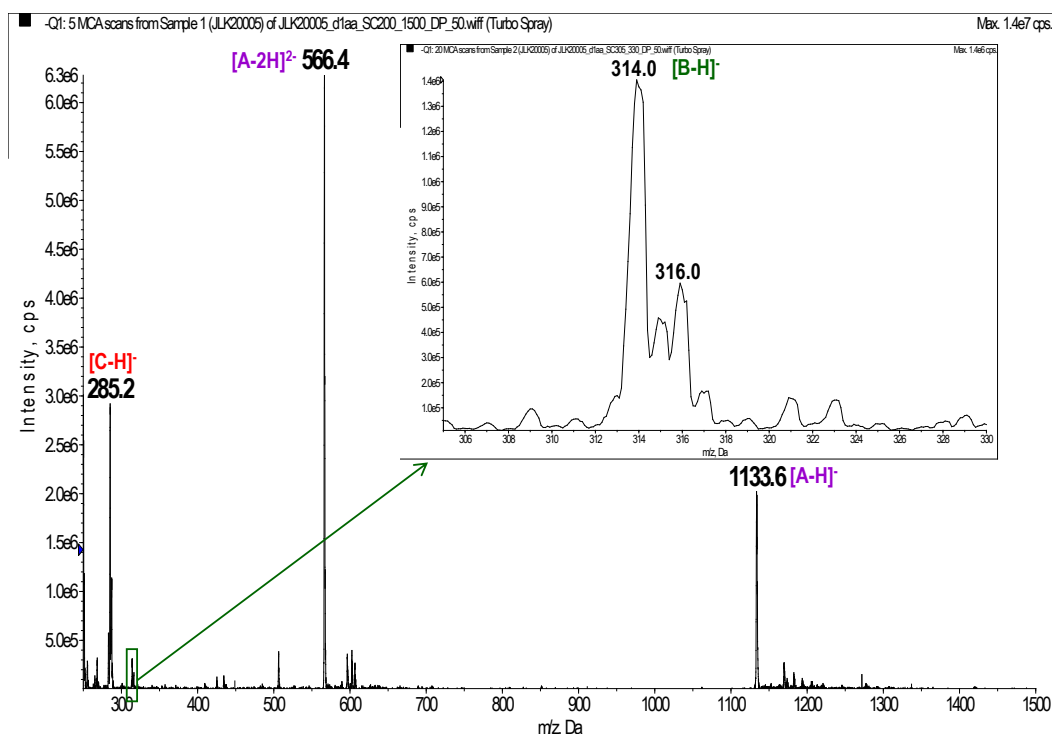


Figure 18. Spectre de masse en mode Electrospray négatif de l'échantillon C5.

Les signaux observés lors de l'ionisation Electrospray en mode positif et en mode négatif de l'échantillon C5, permettent de conclure :

- ✓ il existe en solution un composé de masse molaire 1134 Da et possédant au moins deux H à caractères acides. Il pourrait donc s'agir de la β -CD proposée dans la structure.
- ✓ il existe en solution un composé de masse monoisotopique 315 Da possédant un atome de chlore et un H à caractère acide. Il pourrait donc s'agir du composé 6e recherché.

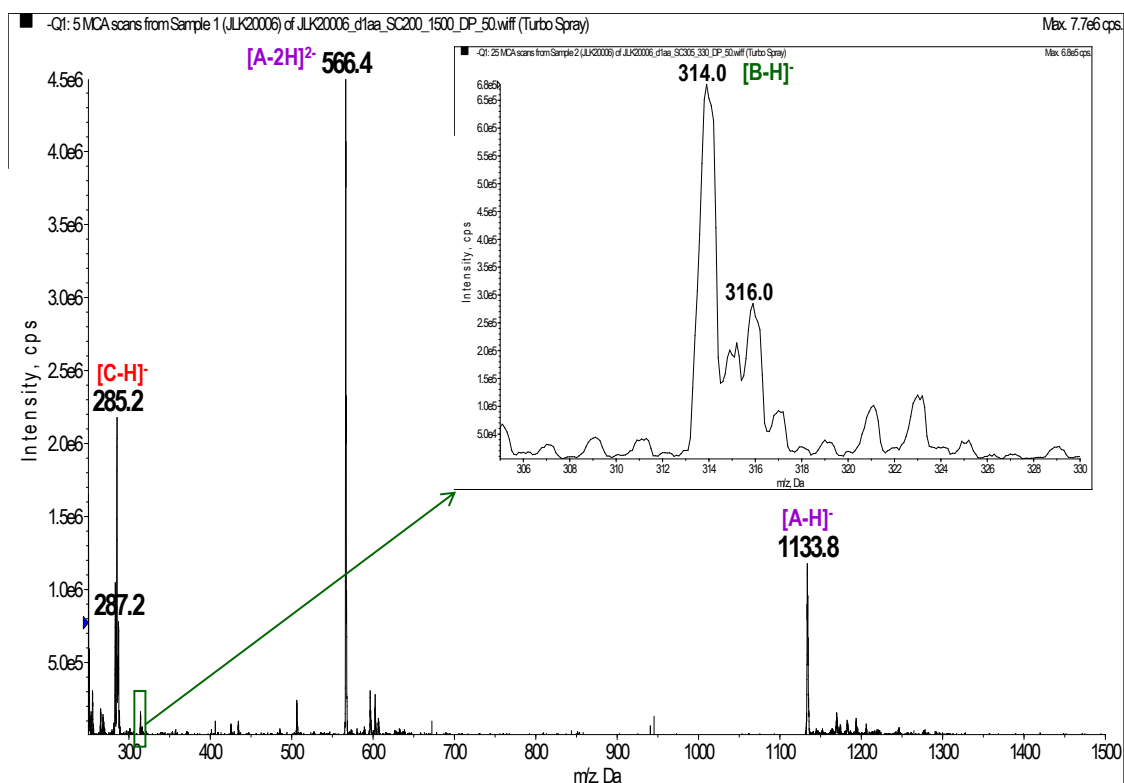


Figure 19. Spectre de masse en mode électrospray négatif de l'échantillon C6.

Les signaux observés lors de l'ionisation Electrospray en mode positif et en mode négatif de l'échantillon C6, permettent de conclure :

- ✓ il existe en solution un composé de masse molaire 1134 Da et possédant au moins deux H à caractères acides. Il pourrait donc s'agir de la β -CD proposée dans la structure.
- ✓ il existe en solution un composé de masse monoisotopique 315 Da possédant un atome de chlore et un H à caractère acide. Il pourrait donc s'agir du composé 6e recherché.

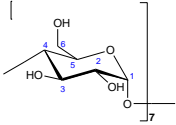
I.3.1.3 Etude des complexes d'inclusion par RMN ^1H

La RMN du proton permet d'identifier une molécule d'après le déplacement chimique de ses protons. Toute modification de l'environnement du noyau, comme par exemple l'approche d'une autre molécule provoquera des modifications de son déplacement chimique. Ceci est particulièrement intéressant pour les cyclodextrines^{100, 101} pour

lesquelles il est possible de repérer les variations de déplacements chimiques des protons situés à l'intérieur de la cavité (H₃, H₅). Lorsqu'il y a inclusion, ceux-ci sont les plus affectés alors que les protons situés à l'extérieur sont peu affectés.

Le but de cette étude consiste à mettre en évidence le phénomène de l'inclusion. Ceci est montré sans ambiguïté par la comparaison des spectres RMN proton des cyclodextrines et des CENS libres avec ceux de leurs complexes correspondants. Par conséquent, de très grandes différences ont été constatées pour tous les cas.

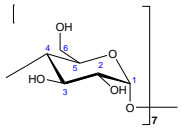
Tableau 8: Etude du complexe d'inclusion C5 par RMN ¹H.

Protons	H ₁ (d)	H ₂ (dd)	H ₃ (t)	H ₄ (t)	H _{5,6} (m)	2CH ₃ (t)	CH+CH ₂ (m)	CH ₃ N (s)	CH ₂ NNO (t)	CH ₂ Cl (t)	C*H (q)
β-CD  (δ en ppm)	4.84	3.4	3.68	3.31	3.58- 3.61	-	-	-	-	-	-
Complexe C5 (δ en ppm)	4.81	3.55	3.70	3.35	3.45- 3.60	0.88	1.09- 1.23	2.95	3.2	3.80	4.52
Leu-CENS (5 e) (δ en ppm)	-	-	-	-	-	0.90	1.66	2.99	3.42	3.61	4.59

On constate l'apparition d'une bande large à $\delta = 3.45\text{--}3.60$ ppm qui est due au chevauchement des multiplets du H₅, H₆ et aux interactions entre les protons dirigés vers l'intérieur de la cavité hydrophobe de la cyclodextrine.

La stœchiométrie 1 :1 du complexe formé est confirmée par les calculs des intégrations.

Tableau 9 : Etude du complexe d'inclusion **C6** par RMN ^1H .

Protons	H ₁ (d)	H ₂ (dd)	H ₃ (t)	H ₄ (t)	H _{5,6} (m)	2CH ₃ + CH ₂ (t)	CH (m)	CH ₃ N (s)	CH ₂ NNO (t)	C [*] H (t)	CH ₂ Cl (t)
β-CD  (δ en ppm)	4.84	3.4	3.68	3.31	3.60	-	-	-	-	-	-
Complexe(C6) (δ en ppm)	4.84	3.50	3.72	3.35	3.59	0.88	1.16	2.98	3.65	3.54	4.50
lLeu-CENS (6e) (δ en ppm)	-	-	-	-	-	0.93	1.59	3.08	3.40	3.60	4.22

Tous les protons du complexe d'inclusion sont plus blindés vers les valeurs inférieures des déplacements chimiques.

Les deux triplets des groupements (CH₂NNO et CH₂Cl) du complexe ont subi respectivement un déblindage de $\Delta\delta = 0.25$ et de $\Delta\delta = 0.28$ ppm par rapport à la molécule du CENS libre, ce qui laisse penser que la molécule est incluse dans la cavité macromoléculaire par telle orientation où CH₂CH₂Cl entre en premier.

I.4 Conclusion

Une série de six chloroéthylnitrososulfamides issus d'acides aminés (L-phénylalanine, L-alanine, L-proline, L-glycine, L-leucine, L-isoleucine) a été synthétisée à partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle comme donneur du motif sulfonyle en cinq étapes successives dont une étape essentielle de « N-méthylation » au niveau de l'azote de l'acide aminé.

Par ailleurs, nous avons utilisé des cyclodextrines, comme molécules cages pour l'inclusion des CENS ayant une activité très significative. Pour cela nous avons pensé à

synthétiser, caractériser et étudier une série de complexes d'inclusions à l'état solide de CENS par la β -CD.

Les caractéristiques physico-chimiques et spectrales des CENS et de leurs complexes d'inclusion à l'état solide (Rf, Pf, spectrométrie de masse et RMN ^1H) nous ont permis d'élucider les structures propres des composés synthétisés.

La formation des complexes d'inclusion a été confirmée par spectrométrie de masse et par l'examen des spectres RMN de ^1H .

Les températures de fusions des différents complexes, montrent que les valeurs des points de fusion sont différentes de celles des CENS libres et de la β -cyclodextrines, de ce fait la confirmation de l'inclusion a été établie.

En RMN du proton, pour les six complexes nous avons noté l'aspect d'une grande bande entre 3.50 – 3.80 ppm due au chevauchement de H_3 , H_5 et les deux multiplets de protons de H_6 et les interactions entre les protons H_3 et H_5 .

CHAPITRE II

Synthèse de dérivés du mono et bis

8-hydroxyquinoléine

II. 1 Introduction

Les glioblastomes font partie des cancers du cerveau les plus agressifs et les plus résistants aux thérapies. Le seul médicament efficace développé à ce jour, le Témazolomide (ou Temodar) n'est utilisé qu'en combinaison à des traitements lourds (chirurgie et radiothérapie) et ceci pour des résultats mitigés. La recherche^{102, 103} de nouveaux médicaments visant à lutter contre les glioblastomes apparaît donc comme une priorité.

La chimie thérapeutique nécessite aussi l'étude des relations entre la structure chimique et l'activité biologique ainsi que la compréhension des mécanismes d'action chimique et biologique des composés. La complexité et la diversité structurale ont une grande importance car faire varier le nombre et la position des fonctions organiques a une influence directe sur les capacités de ces molécules organiques à se lier à des récepteurs ou des enzymes. Le développement dans un premier temps de la méthode D.O.S¹⁰⁴ (Diversity Oriented. Synthesis) permet l'accès aux chimistes à une chimiothèque importante et suffisamment diversifiée. L'utilité de cette méthode dans la découverte de nouvelles biomolécules a été prouvée à maintes reprises¹⁰⁵. Elle permet d'avoir à sa disposition un ensemble de molécules ayant une complexité et une diversité structurale très importante autour d'un motif fixe, le pharmacophore. La diversité structurale influe sur le transport, l'excrétion et la sélectivité tandis que le pharmacophore génère l'activité biologique. Depuis l'apparition de cette terminologie, de nombreux groupes¹⁰⁶ ont présenté des structures répondant à ces caractéristiques et appartenant à des composés biologiquement actifs. Pour notre travail qui consiste à concevoir et développer des chimiothèques focalisées sur les cancers, nous avons sélectionné la structure privilégiée bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substituée (Figure 20).

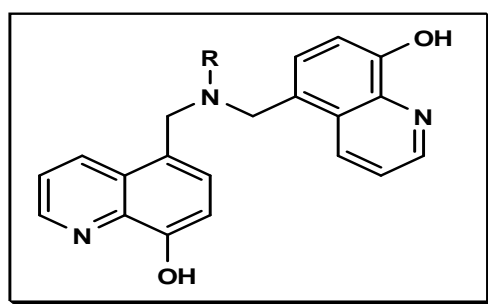


Figure 20. Bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substituée.

Dans cette structure on remarque, la présence de deux motifs 5-méthylquinoléin-8-ol, dont on montrera que la présence simultanée sur l'hétérocycle quinoléine d'un groupement hydroxyle en position 8 et d'un groupement aminométhyle en position 5 va conférer une réactivité biologique à la base des activités antiprolifératives. Ce motif quinoléin-8-ol a été choisi en tant que motif privilégié à la suite d'études préliminaires menées par le laboratoire de chimie biomoléculaire (IBDML-CNRS-Université de la méditerranée-Marseille) dans le cadre de la synthèse de dérivés inspirés du Clioquinol (ou 5-Chloro-7-iodoquinoléin-8-ol). Cette molécule a été utilisée en premier lieu en tant qu'antiparasitaire avant que des publications^{73, 74} fassent état de son activité dans le cadre de maladies neurodégénératives tel Alzheimer.

Conçus initialement pour augmenter l'activité biologique vis-à-vis de cette maladie, nos dérivés ont montré une activité cytotoxique et antiproliférative sur une large gamme de cellules cancéreuses ce qui nous a poussé à continuer dans cette voie. Par le passé, les molécules à base de quinoléin-8-ol (8-hydroxyquinoléine) ont été surtout utilisées pour leur capacité à complexer les métaux, en particulier le Cu et le Zn⁷³. Il faut toutefois souligner que même si l'on retrouve le motif quinoléin-8-ol dans de nombreuses molécules biologiquement actives et ce depuis les années 1960^{107, 108, 109, 110, 111} la structure privilégiée bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substituée, développée dans ce travail se distingue très largement des autres structures quinoléin-8-ol qui ont été à la base de différents médicaments.

II.2. Synthèse des composés bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substitués (HQNBA)

Le choix des substituant fixés sur la partie aminée de la molécule (Figure 20) a été établi en tenant compte des critères physico-chimiques de Lipinski. Grâce à des études statistiques de milliers de molécules thérapeutiques, Lipinski^{112, 113} a montré que la majorité des molécules thérapeutiques ont un poids moléculaire inférieur à 500, un log P inférieur à 5, moins de 5 possibilités de donner une liaison hydrogène (soit la somme des fonctions alcool et amine), moins de 10 possibilités d'accepter une liaison hydrogène (soit la somme des atomes d'oxygène et d'azote) et moins de 5 liaisons libres à la rotation. Ces observations issues d'études statistiques sont justifiées : Il y a nécessité d'avoir une balance entre l'hydrophobicité et l'hydrophilie, ainsi l'hydrophobicité est nécessaire pour qu'une molécule soit capable d'établir des liaisons hydrophobes avec sa cible et puisse

passer la membrane cellulaire mais une certaine hydrophilie est obligatoire pour que la molécule thérapeutique puisse être soluble dans le milieu aqueux (sang, liquide interstitiel et cytoplasme). La prise en compte des paramètres décrits par Lipinski ne constitue en aucun cas une assurance de la biodisponibilité de la molécule résultante mais l'intégration de ces règles associées au choix d'une structure privilégiée permet d'optimiser les chances pour une molécule d'être biodisponible.

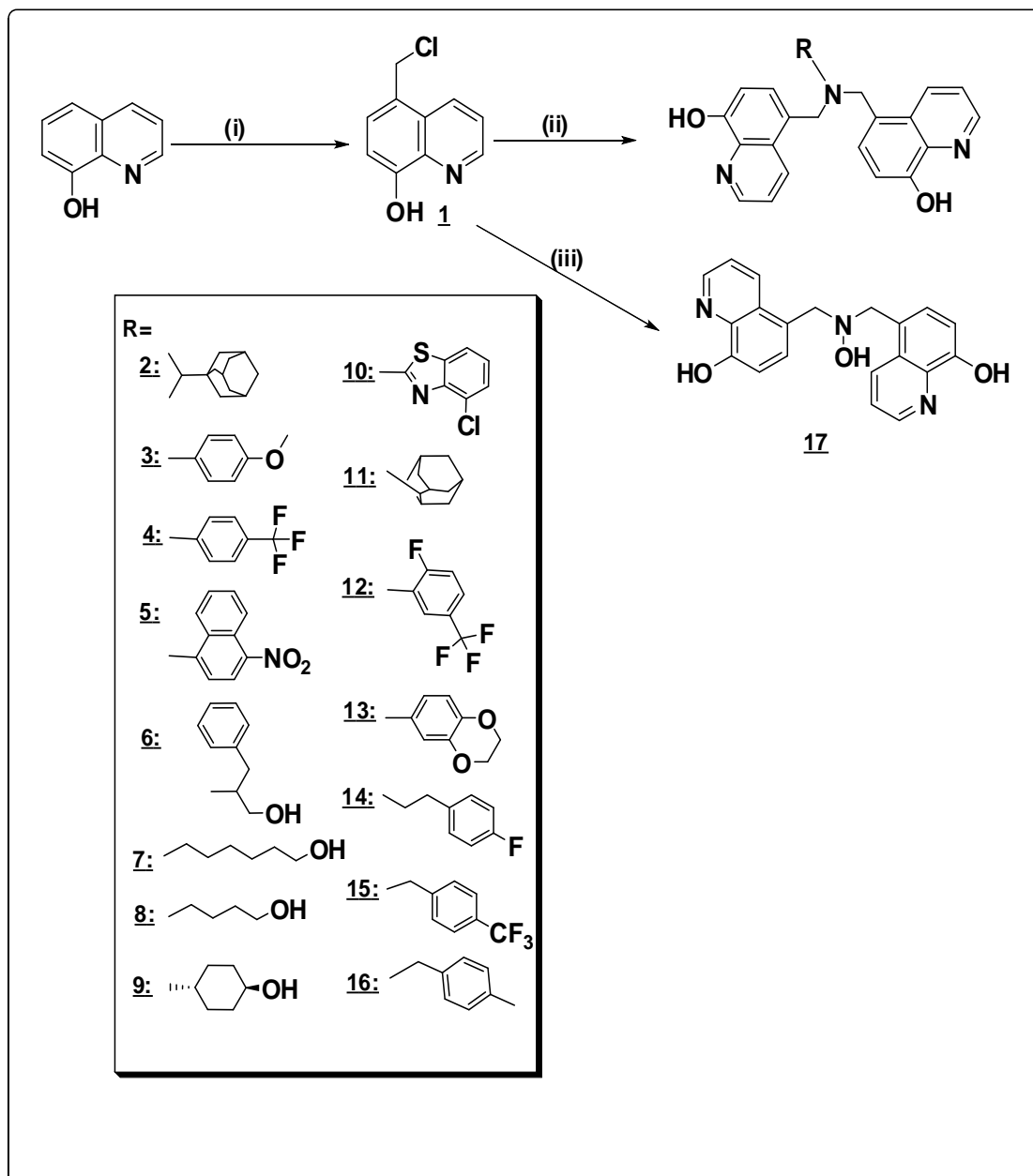


Schéma 22. (i) Formaldéhyde, 0°C, 24h, HCl 32%, HClg (ii) R-NH₂, K₂CO₃, CH₃CN, 50°C (iii) Formaldéhyde, 180-190°C, 24h, (NH₂OH)₂, H₂SO₄.

La synthèse a consisté à créer des molécules possédant deux motifs 5-méthylquinoléin-8-ol (schéma 22), reliés via un azote central. Le troisième groupement fixé sur l'atome d'azote variera au fil des synthèses. C'est cette variation qui engendrera des différences d'activités biologiques et qui permettra d'optimiser au mieux les capacités thérapeutiques de nos molécules. Il faut rappeler qu'il est essentiel pour mettre au point une molécule d'intérêt clinique, que celle-ci possède des propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) requises ainsi qu'une sélectivité suffisante ; ces propriétés peuvent être optimisées via des modifications structurales ne touchant pas le pharmacophore.

La réalisation de cette série de molécules focalisées sur le quinoléin-8-ol s'est faite en deux étapes :

- 1- Le quinoléin-8-ol réagit avec le formaldéhyde en présence d'acide chlorhydrique à température ambiante pour conduire au 5-chlorométhylquinoléin- 8-ol (composé 1). Après une nuit sous agitation le produit attendu précipite et est récupéré par simple filtration avec 95 % de rendement. Le mécanisme de la réaction est décrit ci-dessous, il s'agit d'une réaction de Friedel Crafts c'est-à-dire une substitution électrophile. D'une part le groupement carbonyle du formaldéhyde est activé par le proton H^+ de l'acide chlorhydrique ce qui rend le carbone très électrophile, d'autre part le doublet libre de l'oxygène du quinoléin-8-ol favorise l'attaque sur le carbone activé du formaldéhyde, toutefois il est possible d'envisager deux mécanismes ioniques pour la chlorométhylation :

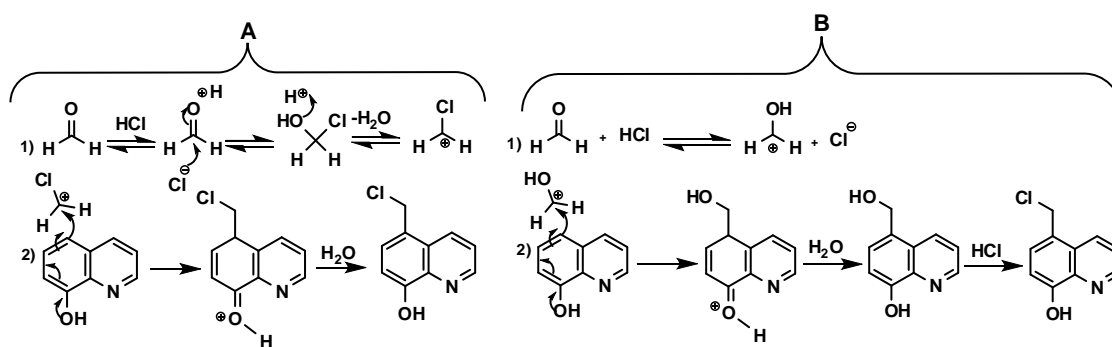


Schéma 23. Mécanisme de l'halométhylation d'un 8 hydroxyquinoléine via un cation chlorométhyle (A) et via la génération d'un cation hydroxyméthyle (B).

L'exemple **A** du schéma **23** envisage la formation directe d'un cation chlorométhyle CH_2^+Cl en guise d'agent électrophile de la chlorométhylation. On constate la formation de dichlorométhane en guise de produit secondaire. Le solvant principal utilisé est l'eau car dans des solvants protiques polaires, les dimères de la quinoléin-8-ol sont complètement dissociés. Il est à noter que la forme tautomère zwitteron est présente en milieu polaire.

L'autre hypothèse (représentée dans l'exemple **B** du schéma **23**) considère la participation d'un cation hydroxyméthyle CH_2^+OH . L'attaque se fait en position para du OH qui donne en premier lieu un dérivé hydroxyméthylé qui est dans un second temps converti en dérivé chlorométhylé.

La deuxième hypothèse est peu probable du fait de l'absence de dichlorométhane à la fin des manipulations. De plus, l'acidité très importante du milieu facilite l'apparition de CH_2^+OH vis-à-vis du CH_2^+Cl ⁸⁸. Une fois qu'elle a été chlorométhylée, la molécule devenue très apolaire (et donc insoluble avec le milieu réactionnel) va pouvoir précipiter. Plus aucune réaction secondaire ne peut alors se produire.

- 2- Le dérivé chloré est mis en réaction pour une substitution nucléophile avec un large panel de dérivés aminés. Lors de la synthèse, l'amine (nucléophile) va attaquer l'atome de carbone électrophile portant le chlore de la 5-chlorométhyl-quinoléin-8-ol (composé **1**) et déclencher le départ de l'halogène. Comme le carbonate de potassium est une base faible, la déprotonation a lieu après la substitution nucléophile et se réalisera sur l'intermédiaire ion ammonium dont le pKa est significativement plus acide que celui de l'amine d'origine. L'alkylation compétitive de l'amine sur le dérivé chloré en présence de carbonate mène à la formation d'une amine secondaire puis d'une amine tertiaire. Le mécanisme est donné dans le schéma **24** ci dessous.

Il est à noter que les atomes d'azotes aromatiques des molécules de quinoléin-8-ol sont peu réactifs vis-à-vis des groupements électrophiles : bien que les doublets non liant des azotes ne soient pas délocalisés sur le cycle aromatique, ils seront nettement moins disponibles que les doublets des amines primaires et secondaires. En effet, à cause de l'hybridation sp^2 et donc de l'augmentation du caractère s, les doublets non liants des azotes pyridiniques seront situés bien plus près du noyau chargé positivement de l'atome d'azote.

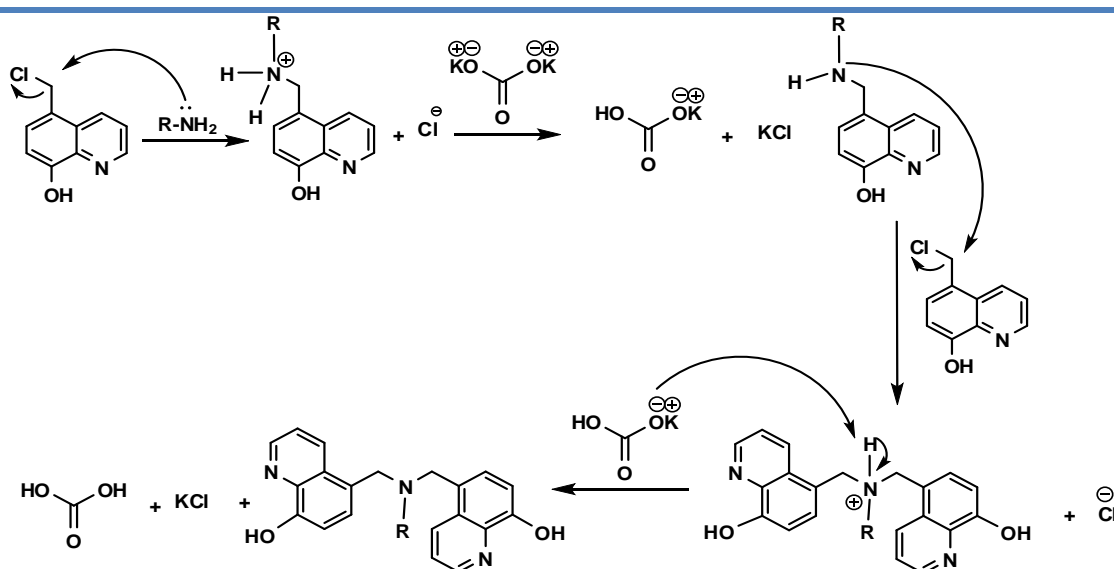


Schéma 24. Mécanisme de l'alkylation des amines avec K_2CO_3 .

Le sel K_2CO_3 qui joue le rôle de base doit, en plus de promouvoir la substitution nucléophile, neutraliser les molécules de chlorure d'hydrogène HCl complexées avec la 5-chlorométhyl-quinoléin-8-ol. Ainsi, la quantité de K_2CO_3 doit être de 1 équivalent pour 1 équivalent du 5-chlorométhyl-quinoléin-8-ol, toutefois un léger excès de K_2CO_3 peut être ajouté pour optimiser les rendements. Le mécanisme de l'alkylation des amines via le K_2CO_3 est représenté sur le schéma 24.

L'alkylation des amines primaires en amine secondaire puis tertiaire est favorisée par le fait que l'alkylation d'une amine la rend plus nucléophile. Toutefois, ce type de réaction peut être dirigé en modulant les proportions des réactifs. Ainsi, un excès de l'halogénure d'alkyle (le 5-chlorométhyl-quinoléin-8-ol) peut favoriser l'apparition du sel d'ammonium quaternaire à l'inverse un excès du dérivé aminé favorisera une alkylation incomplète. Le résultat de ce type de synthèses est un mélange d'amines aux différents stades d'alkylation, d'où l'importance de l'ajustement précis du nombre d'équivalent des réactifs.

Le mécanisme d'action de l'attaque nucléophile peut être soit de type SN_1 , soit de type SN_2 . Il est à noter qu'il n'y a jamais de substitution uniquement d'ordre 1 ou d'ordre 2 ; par contre les conditions, le solvant, la base, la structure de l'électrophile et du nucléophile font pencher la balance vers un type de substitution en particulier. Dans le cadre de la réaction d'une amine sur la 5-chlorométhyl-quinoléin-8-ol, nous avons très clairement un mécanisme de type substitution nucléophile 2 (SN_2) majoritaire : En effet, le carbone

subissant l'attaque du nucléophile est un carbone primaire peu encombré ce qui favorise l'attaque du côté opposé au groupement partant via une substitution nucléophile de type 2. De plus, dans le cadre de ce type de réaction, le choix du solvant est important. Les solvants polaires protiques comme l'eau ou le méthanol stabilisent à la fois les cations (via leurs atomes nucléophiles comme l'oxygène ou l'azote) mais aussi les anions (via leurs atomes d'hydrogènes qui forment des liaisons faibles avec les anions) tandis que les solvants polaires aprotiques stabilisent les cations mais étant incapable de créer des liaisons hydrogènes ils ne peuvent stabiliser les anions, l'anion est « nu » et sa nucléophilie est augmentée. La réaction de SN1 passant par une étape de dissociation puis de solvation des cations et des anions est favorisée par les solvants protiques polaires mais pas la réaction de type SN2. Les solvants utilisés lors de cette étape sont des solvants polaires aprotique (acétonitrile et acétate d'éthyle) qui vont favoriser la SN2.

Le composé **17** est synthétisé à partir du composé **1** et l'hydroxylamine sulfate. Cette synthèse a été réalisée dans le solvant formaldéhyde à reflux.

La recherche d'activité biologique étant la colonne vertébrale de notre étude, nous avons tenté de diversifier au maximum leurs structures et les fonctions qui les constituent.

II. 2.1 Caractérisation des bis (*N*-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine *N*-substitués

Plusieurs méthodes physicochimiques et spectrométriques ont été utilisées pour l'identification des produits obtenus.

Tableau 10 : Caractéristiques physico-chimiques des bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substitués.

Ref	Masse (g/mol)	R _f	Rd (%)	ESI-MS m/z, [M +H] ⁺	RMN ¹ H (CDCl ₃ , δ ppm)
1	229.01	0.42 ^b	95	-	9.21-9.10 (m, 2H), 8.09 (m, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.47 (m, 1H), 5.31 (s, 2H)
2	493.3	0.76 ^a	78	494.3	0.99 (d, 1H, CH), 1.10 (d, 3H, CH ₃), 1.22 (m, 4H, 4CH), 1.56 (m, 6H, 6CH), 1.97 (m, 1H, CH), 2.75 (q, 1H, CH), 3.37 (s, 4H, 2CH ₂), 6.93 (d, 2H, Ar-H), 7.17 (d, 2H, Ar-H), 7.55 (m, 2H, Ar-H), 8.56 (d, 2H, Ar-H), 8.84 (d, 2H, Ar-H).
3	437.49	0.48 ^b		438.2	3.88 (s, 3H, CH ₃), 4.69 (s, 4H, 2CH ₂), 6.83 (d, 2H, Ar-H), 6.91 (d, 2H, Ar-H), 7.23 (d, 2H, Ar-H), 7.39 (d, 2H, Ar-H), 7.57 (m, 2H, Ar-H), 8.31 (d, 2H, Ar-H), 8.56 (d, 2H, Ar-H), 8.92 (s, 2H, OH)
4	475.46	0.73 ^c	58	476.1	4.58 (s, 4H, 2CH ₂), 6.63 (d, 2H, Ar-H), 7.10 (d, 4H, Ar-H), 7.39 (d, 2H, Ar-H), 7.46 (m, 2H, Ar-H), 8.33 (d, 2H, Ar-H), 8.77 (d, 2H, Ar-H)
5	341	0.44 ^b	64	342	4.87 (s, 2H, CH ₂), 6.85 (m, 2H, Ar-H), 7.11 (m, 1H, Ar-H), 7.38 (m, 2H, Ar-H), 8.32 (d, 1H, Ar-H), 8.50 (d, 1H, Ar-H), 8.64 (d, 1H, Ar-H)
6	465.54	55 ^b	55	466.2	2.68 (d, 2H, CH ₂), 3.30 (m, 1H, NCH), 3.60 (s, 4H, 2CH ₂), 3.93 (d, 2H, OCH ₂), 4.82 (s, 1H, OH), 6.90 (d, 2H, Ar-H), 7.02 (d, 2H, Ar-H), 7.20 (m, 2H, Ar-H), 8.04 (d, 2H, Ar-H), 8.58 (d, 2H, Ar-H)
7	431.53	0.59 ^c	62	432.1	1.28 (m, 4H, 2CH ₂), 1.52 (m, 4H, 2CH ₂), 2.16 (t, 2H, NCH ₂), 3.22 (t, 2H, OCH ₂), 3.57 (s, 4H, 2CH ₂), 4.17 (s, 1H, OH), 6.99 (d, 2H, Ar-H), 7.21 (d, 2H, Ar-H), 7.40 (m, 2H, Ar-H), 8.23 (d, 2H, Ar-H), 8.74 (d, 2H, Ar-H)

8	403.47	0.37 ^c	58	404.2	1.66 (m, 2H, CH ₂), 1.80 (m, 2H, CH ₂), 3.00 (t, 2H, CH ₂), 3.64 (t, 2H, CH ₂), 4.87 (s, 5H, 2CH ₂ , OH), 7.41 (d, 2H, Ar-H), 7.96 (d, 2H, Ar-H), 8.05 (m, 2H, Ar-H), 9.07 (d, 2H, Ar-H), 9.22 (d, 2H, Ar-H)
9	429.51	0.40 ^c	60	430.3	1.62 (m, 4H, 2CH ₂), 1.94 (m, 4H, 2CH ₂), 2.51 (m, 1H, NCH), 3.49 (m, 1H, OCH), 3.90 (s, 4H, 2CH ₂), 4.45 (s, 1H, OH), 7.05 (d, 2H, Ar-H), 7.26 (d, 2H, Ar-H), 7.86 (m, 2H, Ar-H), 8.19 (d, 2H, Ar-H), 8.71 (d, 2H, Ar-H)
10	498.98	0.62 ^c	61	499.1	5.03 (s, 4H, 2CH ₂), 7.18 (m, 3H, Ar-H), 7.46 (m, 3H, Ar-H), 7.63 (m, 3H, Ar-H), 8.38 (d, 2H, Ar-H), 8.72 (d, 2H, Ar-H)
11	465.59	0.56 ^b	62	466.2	1.24 (m, 3H, CH), 1.58 (m, 7H, 5CH, 1CH ₂), 1.99 (m, 2H, CH), 2.19 (m, 2H, CH), 2.97 (t, 1H, CH), 4.22 (s, 4H, 2CH ₂), 7.05 (d, 2H, Ar-H), 7.21 (d, 2H, Ar-H), 7.47 (m, 2H, Ar-H), 8.60 (d, 2H, Ar-H), 8.72 (d, 2H, Ar-H)
12	493.45	0.81 ^c	54	494.1	4.59 (s, 4H, 2CH ₂), 6.63 (m, 3H, Ar-H), 6.77 (d, 2H, Ar-H), 6.86 (d, 2H, Ar-H), 7.26 (m, 2H, Ar-H), 8.47 (d, 2H, Ar-H), 8.56 (d, 2H, Ar-H)
13	465.50	0.78 ^d	55	466.1	3.29 (s, 4H, 2CH ₂), 4.47 (s, 4H, 2CH ₂), 5.63 (s, 1H, Ar-H), 6.36 (d, 1H, Ar-H), 6.57 (d, 1H, Ar-H), 7.00 (d, 2H, Ar-H), 7.43 (d, 2H, Ar-H), 7.56 (m, 2H, Ar-H), 8.50 (d, 2H, Ar-H), 8.85 (d, 2H, Ar-H), 9.59 (d, 2H, 2OH)
14	453.51	0.62 ^e	78	454.2	2.50 (t, 2H, CH ₂), 2.79 (t, 2H, CH ₂), 3.05 (s, 4H, 2CH ₂), 6.79 (d, 2H, Ar-H), 6.92 (d, 4H, Ar-H), 7.05 (d, 2H, Ar-H), 7.46 (m, 2H, Ar-H), 8.51 (d, 2H, Ar-H), 8.68 (d, 2H, Ar-H), 9.15 (s, 2H, OH)
15	489.49	0.4 ^b	91	490	3.55 (s, 2H, CH ₂), 3.84 (s, 4H, Ar-H), 7.12-7.07 (m, 4H, Ar-H), 7.17 (m, 2H, Ar-H), 7.41 (m, 2H, Ar-H), 7.51 (m, 2H, Ar-H), 7.86 (d, 2H, Ar-H),

					8,73 (d, 2H, Ar-H).
16	435.52	0.37 ^b	89	436	2,30 (s, 3H, CH ₃), 3,43 (s, 2H, CH ₂), 3,79 (s, 4H, 2CH ₂), 7,06-6,98 (m, 8H, Ar-H), 7,38-7,35 (m, 2H, Ar-H), 7,92-7,87 (m, 2H, Ar-H), 8,69-8,67 (m, 2H, Ar-H).
17	347.37	0.63 ^f	92	–	3.20(S, 2H, -CH ₂). 7.07(d, 1H, Ar-H), 7.63(m, 1H, Ar-H), 7.86(d, 1H, Ar-H), 8.38(d, 1H, Ar-H), 8.84(d, 1H, Ar-H),

a :AcOEt /MeOH/NH₃ (12/3/1), b: DCM/MeOH (95/5), c:AcOEt (100%), d:AcOEt/DCM (50/50), e: DCM/MeOH (99/1), f :MeOH/TEA (99/1).

Les spectres de masse en mode Electrospray Ionisation (ESI) obtenus confirment la présence d'ions diagnostiques des composés attendus, les pics moléculaires sont donnés à 30V et à 20V sous forme de [M+H]⁺ selon le tableau 10.

II. 3 Synthèse de dérivés du mono-quinoléin-8-ol

Dans le but de diversifier notre chimiothèque et de pouvoir établir de nouvelles corrélations structures-activités, une série de composés de type mono-quinoléin-8-ol (composés **18,19** et **20**) ont été synthétisés. Le schéma 25 récapitule l'ensemble des synthèses réalisées dans cette série.

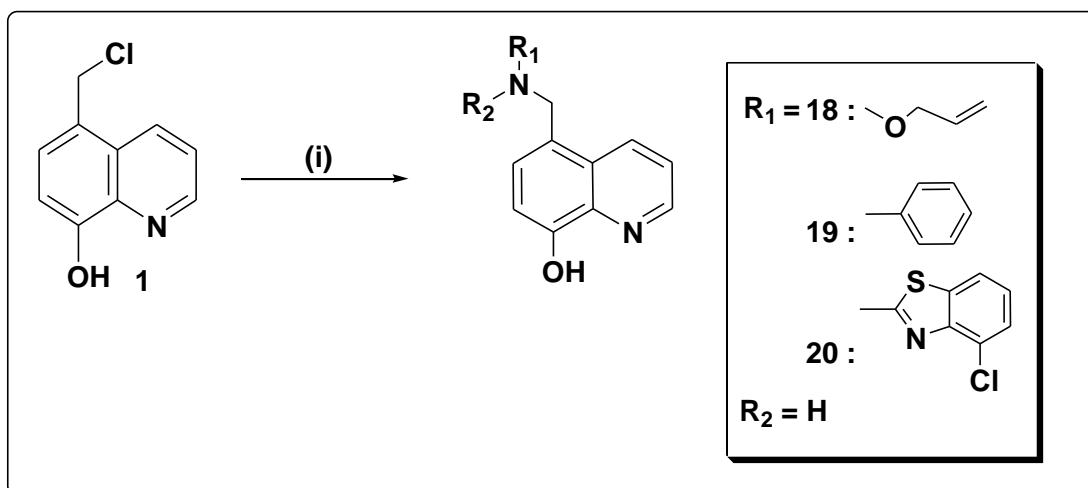


Schéma 25. (i) R-NH₂, K₂CO₃, CH₃CN, 50°C

Les composés **18** à **20**, comme précédemment, ont été synthétisés à partir du composé **1** et de différents dérivés aminés. Il s'agit ici aussi d'une substitution nucléophile de type 2. Le composé **20** est un produit secondaire récupéré à la suite de la synthèse de composés **10**.

II.3. 1 Caractérisation de dérivés du mono-quinoléin-8-ol

Toutes les réactions en été contrôlées par chromatographie sur couches minces (CCM) et les produits obtenues sont fortement révélées à la ninhydrine. Les caractéristiques structurales propres à tous les composés ont été confirmées par l'RMN du proton et La spectrométrie de masse en mode Electrospray ionisation qui montre l'apparition du pic moléculaire (tableau **11**).

Tableau 11 : Caractéristiques physico-chimiques des mono-quinoléin-8-ol.

Ref	Masse (g/mol)	Rf	Rd (%)	ESI-MS m/z, [M +H] ⁺	RMN ¹ H (CDCl ₃ , δ ppm)
18	230.26	0.50a	72	231.2	2.31 (s, 1H, NH), 3.33(s, 2H, CH ₂), 4.18 (d, 2H,OCH), 4.46(d,2H,=CH ₂), 4.75(m, 1H, =CH), 7.83 (d, 1H, Ar-H), 8.24 (d, 1H, Ar-H), 8.35 (m, 1H, Ar-H), 8.52(d, 1H, Ar-H), 9.31 (d, 1H, Ar-H),9.67(S, 1H, OH)
19	250.3	0.26b	81	251.2	(s, 2H, CH ₂), 6.52 (d, 2H, Ar-H), 6.98 (m, 5H, Ar-H),7.56(m, 1H, Ar-H), 8.46 (d, 1H, Ar-H), 8.88 (d, 1H, Ar-H), 9.67 (S, 1H, OH)
20	341	0.44c	64	342	4.87 (S, 2H, CH ₂), 6.85(m, 2H, Ar-H), 7.11(m, 1H, Ar-H), 7.38 (m, 2H, Ar-H), 8.32 (d, 1H, Ar-H), 8.50(d, 1H, Ar-H), 8.64 (d, 1H, Ar-H)

a: AcOEt /MeOH/NH₃ (12/3/1), b: AcoEt (100%), c:DCM/MeOH (99/1).

II.4 Conclusion

Nous avons élaboré une chimiothèque focalisée de plus d'une trentaine de molécules basée sur ce que l'on nomme une structure privilégiée¹¹⁴ tantôt pour établir des relations structure-activité, tantôt pour des buts mécanistiques. Ce concept a émergé comme une approche complémentaire pour la recherche de nouvelles molécules bioactives.

Le motif mono et bis N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substituée a servi de pharmacophore de base pour l'élaboration de cette nouvelle famille d'agents anticancéreux.

La réalisation de cette nouvelle série de molécules s'est faite en deux étapes : une première étape de chlorométhylation de la quinoléin-8-ol et une deuxième étape où le dérivé chloré est mis en réaction pour une substitution nucléophile avec un large panel de dérivés aminés.

Dans le cadre de la réaction d'une amine sur la 5-chlorométhyl-quinoléin-8-ol, nous avons très clairement un mécanisme de type substitution nucléophile 2 (SN2).

L'ensemble des composés synthétisés ont été identifiés, caractérisés par l'RMN du proton et La spectrométrie de masse en mode électrospray ionisation (RMN, SM), et isolés via une chromatographie sur colonne ou une CCM préparative.

CHAPITRE III

Synthèse des 5-méthyl-8-hydroxyquinolines dérivés des bases de Schiffs

III.1 Introduction

Il a été reporté¹¹⁵ que la base de schiff des médicaments anti cancer sont plus actif que le médicament parent aldéhyde correspondant. Comme exemple, l'éthylimine du gossypol a été trouvé plus actif, par presque un log que gossypol lui-même sur les différentes lignes cellulaires malveillantes comme sur KB, ou MCF7-ADR. La cytotoxicité des gossypol bases de schiff correspondantes est principalement due à l'oxydation de ces moietés polyphenoliques dans les intermédiaires quinone méthide, ce qui peut subir une cyclisation redox et la réaction avec la glutathione¹¹⁶. Une des raisons postulées pour cette augmentation de la toxicité par les dérivés des bases de Schiff correspondantes est la possible inhibition des isoenzymes spécifiques, Glutathione-S- transférase, couplées à une possible modulation d'expression de la protéine hsp-70¹¹⁷.

Hsp-70 est une protéine de choc thermique, connue comme un mécanisme général de refuge pour protéger les molécules dénaturées ou misfolded signalantes des agrégats repliés au lieu du chemin de dégradation.

Récemment il a été reporté^{89, 90} la synthèse et l'activité anti-proliférative puissante des N,N-bis-(8-hydroxyquinoline-5-yl methyl)-benzyl substituées (HQNBA) (voir figure 20 chapitre II).

L'introduction de différents substituants ayant des propriétés physico-chimiques différentes (polarité, dimension, propriétés électroniques et hydrophobicité) sur l'atome d'azote exocyclique, nous avons sélectionné le composé **15** portant le substituent 4-trifluoro méthyl benzyl sur l'atome d'azote exocyclique (R¹) comme molécule représentative de cette série de composés pour son activité anti proliférative.

Ce dernier est actif sur différents lignes des cellules cancéreuses et plus spécifiquement, sur la ligne de la cellule KB3 dans l'intervalle nanomolaire. Les études du mécanisme de l'action ont clairement montré que les analogues de HQNBA peuvent subir une génération des intermédiaires quinone methide réactives, qui préférentiellement réagit avec les nucléophiles tels que thiols, par apport aux nucléophiles représentés par les positions O6 et N7 des guanines de l'ADN¹¹⁸.

De l'autre côté, en tenant compte de ce qui a été reporté par la littérature^{89, 90} montrant l'amélioration de l'activité anticancéreuse des bases de schiff des médicaments anticancéreux par rapport celles des médicaments parents, et de l'autre coté la capacité du

bis-(N,N-8-Hydroxyquinoline)-5- méthylbenzyl amine substitué, nous reportons la synthèse et les propriétés antiprolifératives des nouvelles dérivés des bases de schiff renfermant le motif 5-méthyl-8-hydroxyquinoline (**23-26**), et l'activité antiproliférative des intermédiaires (Composé **1**, **21**, **22**) nécessaires pour la synthèse de ces bases de schiff, respectivement. La totalité des composés hétérocycliques synthétisés sont susceptibles de générer les intermédiaires methide quinone comme l'indique le schéma **26**.

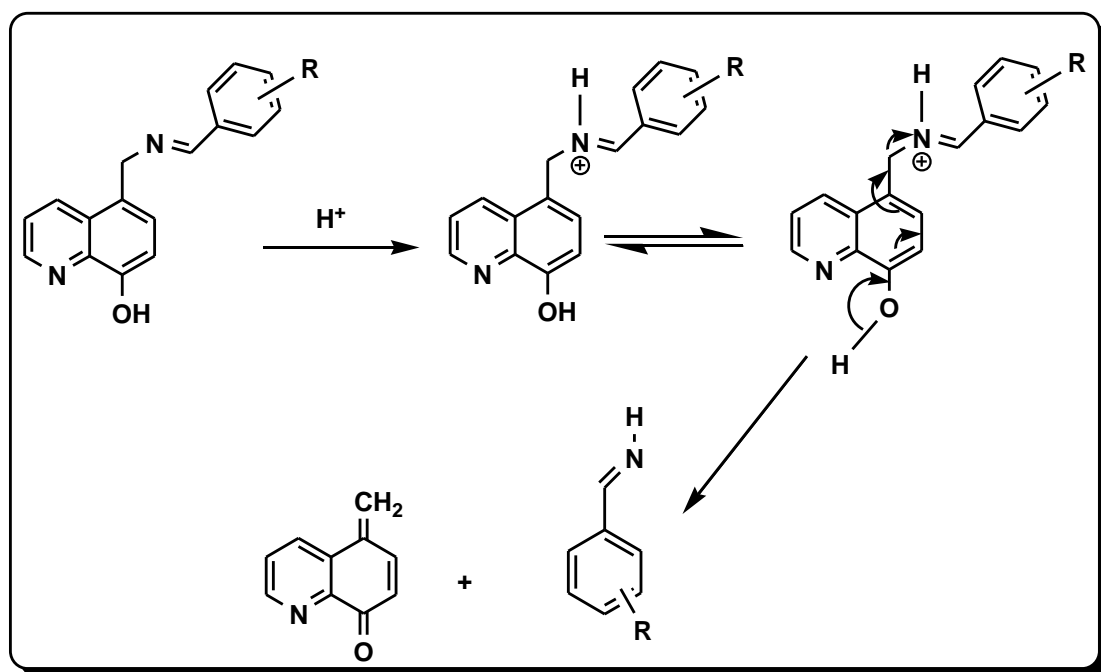


Schéma 26. Dérivés des bases de schiff contenant le motif 5-méthyl-8- hydroxyquinoline génère l'intermédiaire méthide quinone.

L'idée qui support la conception de nouvelles séries d'analogues est d'étudier l'effet d'un centre insaturé lié directement à l'atome d'azote exocyclique sur l'activité antiproliférative des composés obtenus. L'introduction d'un centre insaturé peut aider la génération et/ou la stabilisation des intermédiaires plus réactifs possibles (schéma **26**). L'introduction d'une fonction imine par une extension de résonance dans le noyau hétérocyclique peut favoriser ou entraver la formation de ces intermédiaires et aussi moduler leurs réactivité vers les nucléophiles biologique.

On doit souligner que la stabilité de l'imine dépend de plusieurs paramètres tels que le pH du milieu, la basicité des amines (aromatique ou aliphatique). L'interrelation entre les structures des amines et des aldéhydes et la stabilité des imines résultants a été proposée¹¹⁹.

En outre, *in vitro*, l'activité anticancéreuse observée pour gossypol ethyl imine et le gossypol lui-même explique une stabilité suffisante des dérivées de l'imine au moins dans les conditions de cultures reportées⁸⁹.

III.2 Accès aux 5-méthyl-8-hydroxyquinolines dérivés des bases de Schiffs

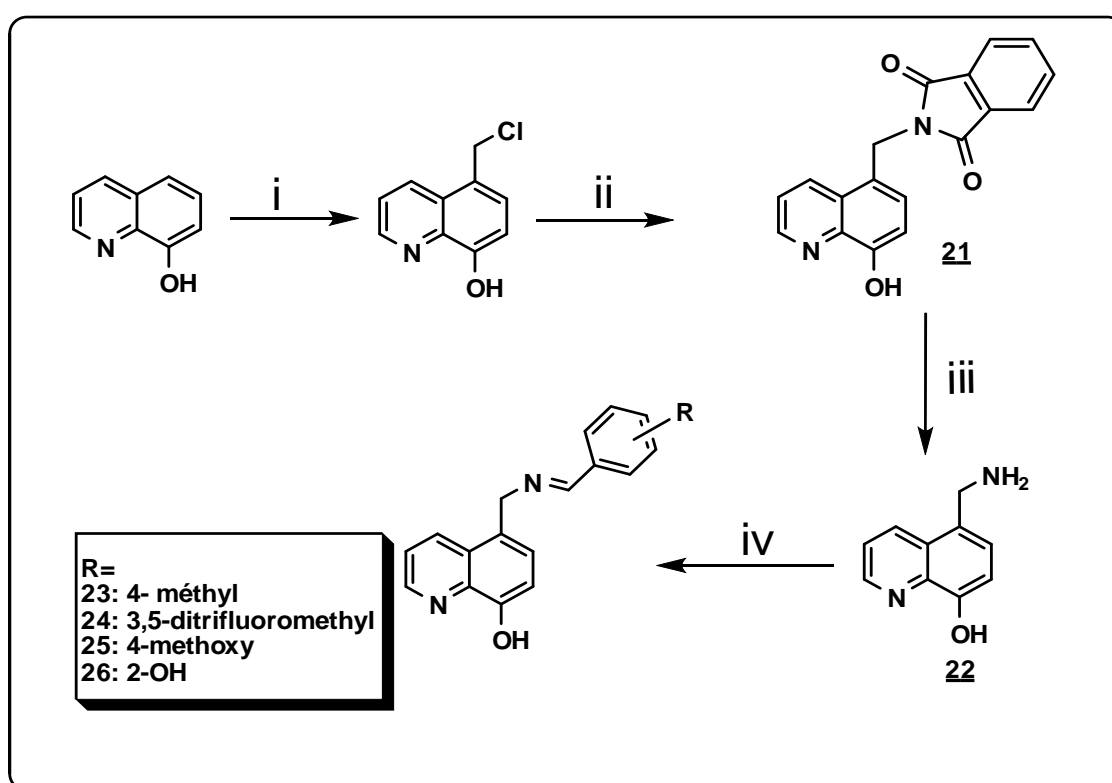


Schéma 27. (i) Formaldéhyde, 0°C, 24h, HCl 32%, HClg (ii) DMF, phthalimide de potassium, 24h, 180-190°C (iii) HCl 32%, 9h à reflux, (iv) R-CHO, MeOH, 24h à reflux.

Les nouveaux analogues d'imines (**23-26**) ont été synthétisés comme indiqué dans le schéma **27**. Les analogues nécessitent en premier lieu la synthèse de l'intermédiaire 8-hydroxy-5-méthylamino quinoline (composé **22**). La synthèse des composés aux quels nous sommes intéressés a été conduite selon quatre étapes :

Chloromethylation du 8-hydroxyquinoline, commercialement disponible, en utilisant le formaldéhyde et l'acide chlorhydrique gaz. Suivi par condensation avec le phtalimide de potassium dans le DMF et la déprotection du phtalimide résultant dans des conditions acides standard le rendement global après les trois étapes est de 37%. Les aldehydes aromatiques sont ensuite condensés avec le 8-hydroxy-5- méthylamines quinoline (**22**) à reflux dans le méthanol comme solvant pendant une nuit. Il est à souligner que, comme déjà signalé¹¹⁹, en utilisant un rapport molaire aldéhyde/amine variant de 1 à 10 pour obtenir les dérivés des bases de schiff avec de meilleurs rendements. Les données RMN pour les protons caractéristiques tels que HC=N (δ ppm) pour les composés imines dérivés (composés **23-26**) ont été trouvées entre 7.8 et 8.5 ppm, valeurs qui sont très en accord avec ceux reportés pour les imines décrit par Lehn et al¹¹⁸. Les valeurs des déplacements chimique observés sont caractéristiques des dérivés imines isolé comme E-conformation thermodynamiquement stable.

Les imines sont des bases faibles dont leurs basicités sont entre ceux de la pyridine et la triéthylamine. Elles peuvent être protonées dans des différents solvants et peuvent être hydrolysées lentement ou complètement stable est ceci dépend de leurs structures aromatiques et de l'effet stérique du cation imine^{120, 121}. Protonation, des imines (**23-26**) peut les transformer en intermédiaires methide quinone, selon le mécanisme déjà montré sur Schéma **26**.

Le cas spécifique de l'analogue (composé **26**), qui appartient a la famille des bases de Schiff O-hydroxyaryl, est d'un intérêt particulier. Effectivement, cet analogue (**26**) qui porte un substituent hydroxy en position 2 par apport au groupement iminobenzyl peut générer des espèces alkylantes via deux mécanismes différents comme souligné dans le schéma **28**. La liaison hydrogène intermoléculaire concernant 2-OH aryl favorise le tautomérisme imine cétoamine qui donne naissance à une cétoamine réactive après protonation de l'imine secondaire en présence du noyau 8-hydroxyquinoline peut générer l'intermédiaire quinone méthide ; les intermédiaires réactives peuvent alkyler une variété de nucléophiles biologiques (-SH, OH, NH₂).

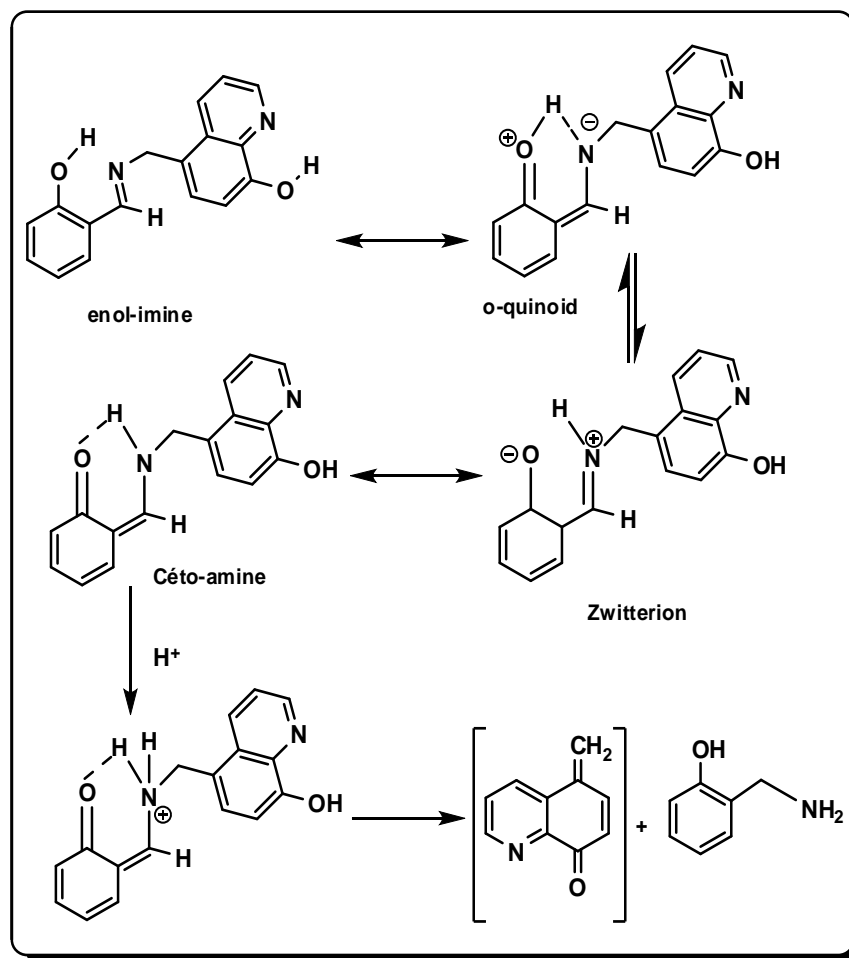


Schéma 28. Equilibre tautomérique des 8-hydroxyquinolines dérivés des bases de Schiff

La capacité du composé (**23-26**) génère ces différents types d'intermédiaires méthide quinone réactives est d'un intérêt particulier en termes de réponses d'alkylation biologiques. En effet, les activités biologiques des bases de Schiff ortho-hydrox aryl (OHASB) ont été étudiées pour plus de 40 ans^{122, 123} et il a été montré que dépendant du N-substituant porté par l'imine, large variété de produit pharmaceutiques intéressants a émergé¹²² et les formes sont signalés. Tous les composés contenant le pharmacophore 8-hydroxyquinoline ont été scannés pour leurs activité antiproliférative sur des lignés cellulaires KB3 (ligné cellulaire d'adénocarcinome) les résultats sont regroupés dans le chapitre suivant.

III. 2.1 Caractérisation des 5-méthyl-8-hydroxyquinolines dérivés des bases de Schiffs

Les composés ont été purifiés par chromatographie et leurs structures sont complètement caractérisées par les méthodes analytiques (RMN, analyse élémentaire).

Tableau 12 : Caractéristiques physico-chimiques des composés (22-26).

Ref	Masse (g/mol)	Rf *	Rd (%)	RMN ¹ H (MeOH- d ₄ , ppm)
22	174.20	0.26	37	8.05 (d, 1H, Ar-H), 7.74 (d, 1H, Ar-H), 7.64 (d, 1H, Ar-H), 6.65 (m, 1H, Ar-H), 6.37 (d, 1H, Ar-H), 3.28(S, 2H, -CH ₂).
23	276.33	0.68**	51	8.75(d, 1H, Ar-H), 8.52(d, 1H, Ar-H), 8.11 (d, 1H, CH), 7.78(d, 1H, Ar-H), 7.56 (m, 1H, Ar-H), 7.17(d, 1H, Ar-H), 2.30(S, 2H, CH ₂).
24	398.30	0.33	73	8.71(d, 1H, Ar-H), 8.53(d, 1H, Ar-H), 8.39(S, 1H, Ar-H aldéhyde), 8.22(S, 1H, Ar-H aldéhyde), 8.11 (d, 1H, CH), 7.93(d, 1H, Ar-H), 7.44(m, 1H, Ar-H), 7.34(d, 1H, Ar-H), 6.98(S, 1H, Ar-H aldéhyde), 2.09(S, 2H, CH ₂).
25	292.33	0.63	37	8.73(d, 1H, Ar-H _{amine}), 8.50(d, 1H, Ar-H _{amine}), 8.14 (d, 1H, CH), 7.76(d, 2H, Ar-H _{amine} + Ar-H _{aldéhyde}), 7.50(m, 1H, Ar-H), 7.23(d, 1H, Ar-H _{amine}), 6.80(d, 1H, Ar-H _{aldéhyde}), 3.80(S, 1H, -CH ₃), 3.29(S, 2H, -CH ₂).
26	278.31	0.29	69	8.11 (d, 1H, CH), 7.61(d, 1H, Ar-H _{amine}), 7.53(d, 1H, Ar-H _{amine}), 7.24 (d, 2H, Ar-H _{amine} +Ar-H _{aldéhyde}), 6.97(m, 3H, Ar-H _{amine} + Ar-H _{aldéhyde}), 6.73(d, 2H, Ar-H _{amine} + Ar-H _{aldéhyde}), 2.90(S, 1H, -CH ₂).

*: MeOH/TEA (99/1) **: MeOH/TEA (90/10).

III.3 Conclusion

A partir des résultats précédents on peut conclure que :

- ✓ Au niveau chimique, les bases de schiff sont stables dans les conditions biologiques (pH, expérience pendant la nuit, température, milieu aqueux) ; elles ne sont pas hydrolysées pour donner les précurseurs aldéhydes et amines.
- ✓ L'analogue **26**, dans lequel une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'ortho-OH de l'aromatique aldéhyde et l'atome d'azote exocyclique favorise la génération de l'espèce methide quinone (schéma **26**), n'est pas plus cytotoxique que des autres analogues des bases de schiff.

CHAPITRE IV

Evaluation biologique des différents composés synthétisés

IV.1 Introduction

Pour des raisons de fiabilité, il y a nécessité de réaliser les évaluations de l'activité biologique sur un modèle biologique cohérent, c'est-à-dire le plus proche de l'homme. Toutefois, les évaluations sur les hommes pour des raisons éthiques et économiques ne peuvent intervenir que lorsque l'on a la certitude que les effets négatifs sur la santé humaine sont faibles ou inexistants. Pour palier à ce problème, les évaluations biologiques sont réalisées sous deux formes : *in vitro* (sur des tissus ou des souches cellulaires humaines) pour repérer les composés les plus intéressants à développer et *in vivo* (sur des animaux vivants) pour vérifier leurs activités sur des organismes complets.

L'évaluation de l'activité antiproliférative des différents composés synthétisés (CENS, CENS-CD et dérivés du bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substitués) a été réalisée par diverses équipes de biologistes et de pharmacologues (équipe IMVT-IBDML sous la direction du Dr. Christophe Béclin, équipe du Dr Thierry Cresteil ICSN-Gif/yvette, et équipe du professeur Robert Kiss, université libre de Bruxelles). L'objectif du criblage antiprolifératif est d'étudier *in vitro* la cytotoxicité des molécules vis-à-vis de différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines en phase exponentielle de croissance, de la comparer à celle obtenue vis-à-vis des cellules non tumorales en phase stationnaire et également d'établir des activités antiprolifératives comparées avec des drogues antitumorales connues et cliniquement utilisées).

IV.2 Etude de l'activité biologique des CENS et de leurs complexes d'inclusion

L'évaluation de l'activité anti-tumorale *in vitro* en termes d'inhibition de la croissance cellulaire a été réalisée à l'aide du test colorimétrique¹²⁴ au bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium (sels de tétrazolium MTT) qui permet indirectement de mesurer l'effet de composés potentiellement anti-cancéreux sur la croissance globale de lignées cellulaires issues de différentes origines. Il est basé sur la capacité d'une cellule vivante à réduire les sels de tétrazolium MTT, produit jaune, en formazan, produit bleu, grâce à une réaction de réduction ayant lieu au sein des mitochondries (Schéma 29). La quantité de formazan est alors évaluée par spectrophotométrie UV-Visible.

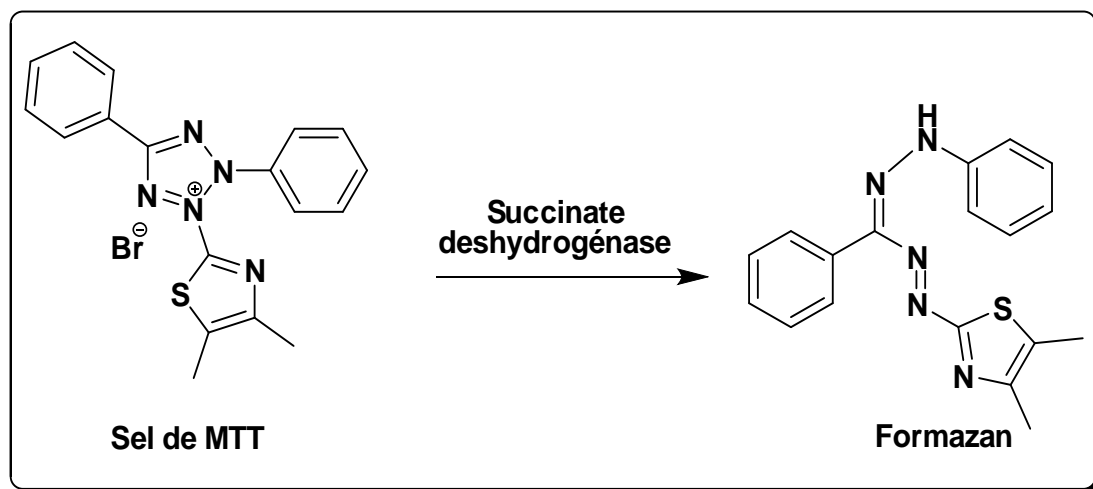


Schéma 29. Réaction ayant lieu au sein de la mitochondrie.

On peut ainsi quantifier la croissance cellulaire en fonction de la concentration en produit à tester. Pour chaque composé, à une concentration donnée, la quantité de cellule viable est rapporté à celle de l'expérience contrôle réalisée dans les mêmes conditions mais sans le produit à tester. En rassemblant les valeurs obtenues en fonction de la concentration on peut déterminer l'IC₅₀, concentration en produit qui réduit de 50 % la croissance de la population cellulaire.

Le test colorimétrique MTT permet de déterminer la concentration qui réduit de 50% la croissance d'une lignée cellulaire donnée traitée par un produit donné.

Les valeurs sont obtenues au moyen de l'analyse colorimétrique de MTT sur la lignée KB3 adénocarcinome à 10⁻⁵M, 10⁻⁶M (Tableau 13) et sur 5 variétés de cellule humaines distinctes de cancer (A549 Poumon, H₅683 Oligodendrogliome, PC3 Prostate, SKMEL Mélanome, U373 Glioblastome) (Tableau 14). Les cellules cancéreuses ont été cultivées pendant trois jours en présence des composés **1a**, **1b**, **1c**, **1d**, **1e**, **2e**, **3e**, **4e**, **5e**, **6a**, **6b**, **6c**, **6d**, **6e**, CENS de référence^{35, 97} (N-Nitroso, N-(2-Chloroéthyl), N', N'dibenzylsulfamide) ce dernier présente une activité oncostatique particulièrement encourageante sur deux modèles de culture tissulaire, des lignées A549 provenant de la culture d'un tissu carcinomateux pulmonaire apparu chez un coca sien de 58 ans et également des lignées MCF issue d'une métastase pleurale d'un adénocarcinome mammaire humaine apparu chez une femme ménopausée.

Tableau 13: Valeur d'inhibition de croissance sur la lignée KB3 après 3 jours de culture en présence des CENS dérivé de la phénylalanine et l'isoleucine et leurs précurseurs.

% IC ₅₀ Valeur d'inhibition de la croissance cellulaire après 3 jours de culture		
Composé	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ M
CENS _{réf}	93±1	26±3
1a	0±5	9±4
1b	66±3	25±3
1c	71±5	28±7
1d	2±5	14±4
1e	41±7	26±8
6a	19±15	5±4
6b	57±4	33±4
6c	30±9	19±2
6d	16±3	14±5
6e	52±4	55±4

Le tableau **13** ci-dessus rassemble les évaluations des propriétés anticancéreuses sur les cellules KB3 d'après ces résultats ces composés présentent des inhibitions de la prolifération cellulaire variables à 10⁻⁵ M, mais sont peu ou pas actives à 10⁻⁶ M.

Tableau 14: Valeur d'inhibition de croissance après 3 jours de culture en présence des CENS.

% IC ₅₀ Valeur d'inhibition de croissance après 3 jours de culture à 10 ⁻⁵ M					
Composés	Variétés de cellule humaine de Cancer				
	A549	Hs683	PC3	SKMEL	U373
	NSCLC	Glioma	Prostate	Melanome	Glioma
CENS _{réf}	98 ± 2	>100	>100	90 ± 4	92 ± 1
1 e	>100	>100	>100	>100	>100
2 e	>100	>100	>100	>100	>100
3 e	76 ± 3	>100	>100	>100	>100
4 e	30 ± 2	57 ± 4	>100	>100	>100
5 e	>100	>100	>100	>100	>100
6 e	>100	>100	>100	>100	>100

Les résultats du Tableau 14 sont présentés dans les courbes suivantes (Figure 21-27) :

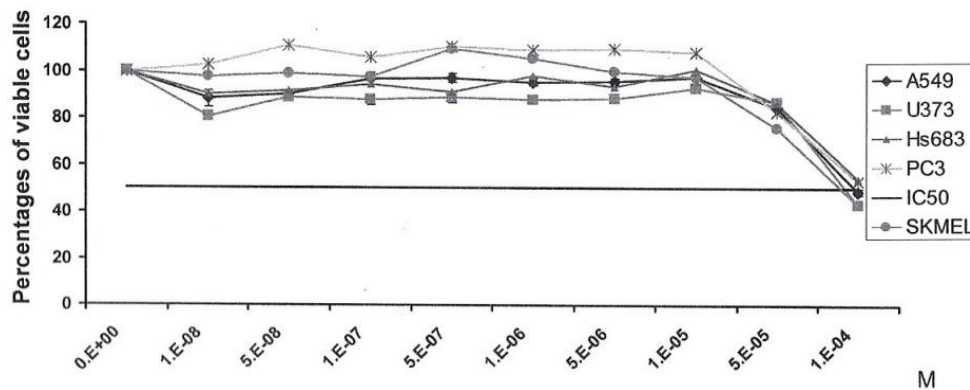


Figure 21. Evaluation biologique du CENS_{réf} sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.

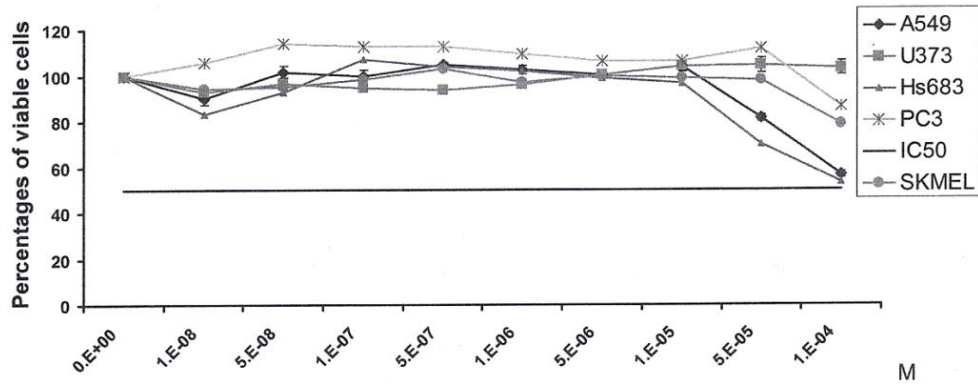


Figure 22. Evaluation biologique du composé 1 e sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.

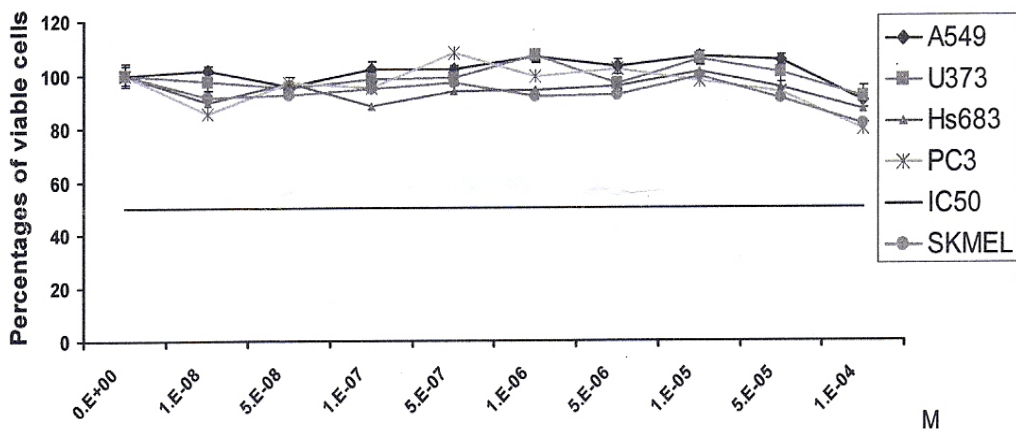


Figure 23. Evaluation biologique du composé 2 e sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.

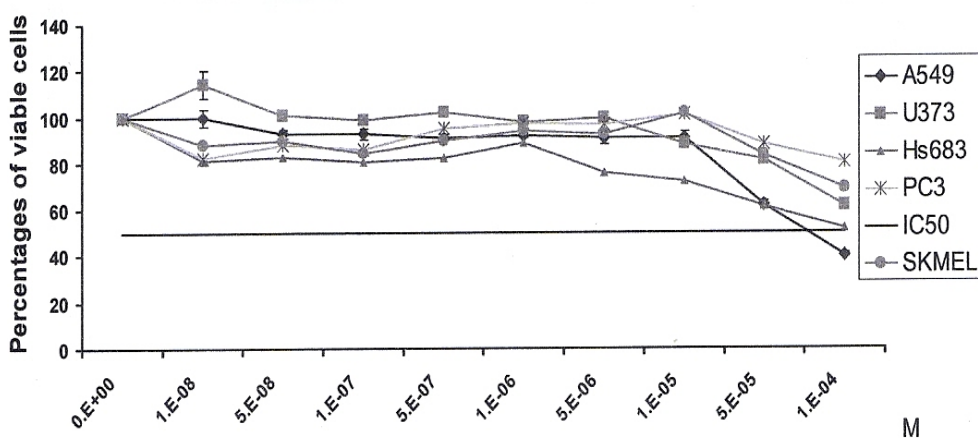


Figure 24. Evaluation biologique du composé 3 e sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.

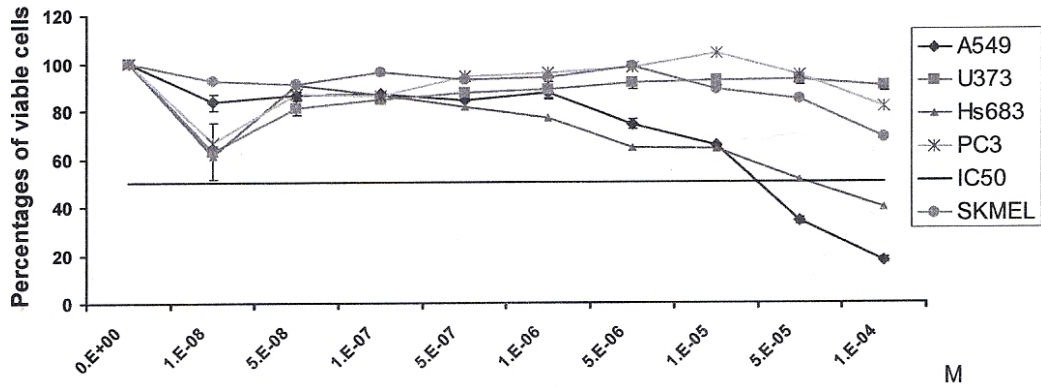


Figure 25. Evaluation biologique du composé **4 e** sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.

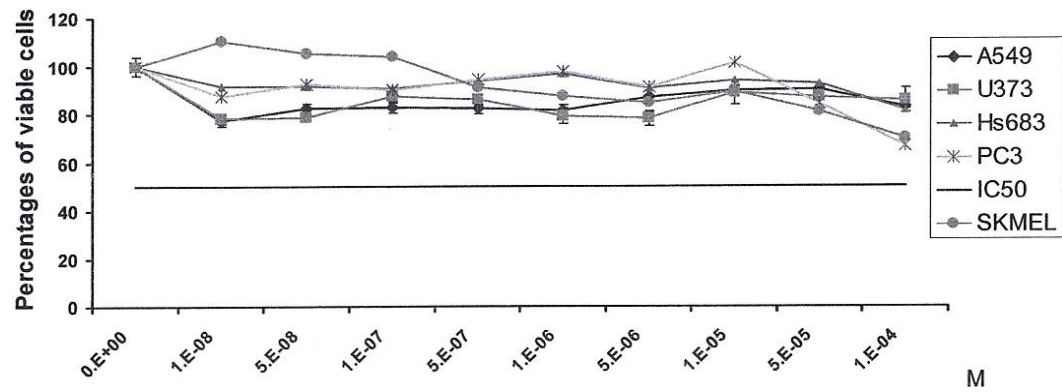


Figure 26. Evaluation biologique du composé **5 e** sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.

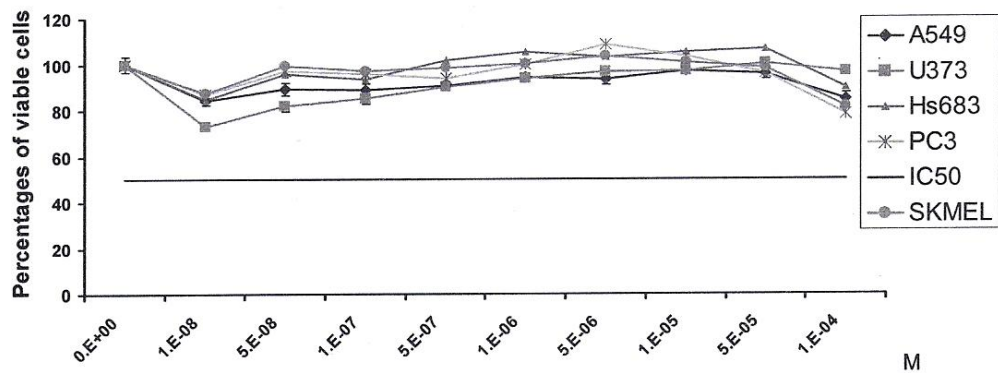


Figure 27. Evaluation biologique du composé **6 e** sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses.

A partir de l'ensemble des résultats obtenus on peut en déduire les observations suivantes :

- ✓ Tous les composés ont été testés sur un large panel de lignées cellulaires de manière à s'assurer que l'activité biologique détectée ne soit pas uniquement due à un type cellulaire spécifique.
- ✓ La majeure partie des molécules possèdent des activités relativement faibles.
- ✓ D'après ces testes certaines molécules (composés **3 e** et **4 e**) présentent une activité oncostatique particulièrement encourageante par rapport au CENS de référence sur deux modèles de culture tissulaire (A549, H₅683).
- ✓ Aucune molécule synthétisée n'est plus active que le composé **4 e** de point de vue cytotoxique (Figure **25**).

L'activité est en corrélation avec la taille et la nature de l'amine, qui détermine évidemment la lipophilie de la molécule. La nature hydro-lipophile du groupement alkyle sur l'amine semble bien être le facteur déterminant pour le choix des substituant appropriés.

Dans la continuité de cette étude nous avons repris l'étude de l'activité biologique des complexes d'inclusion (CENS- β CD) sur un large panel de lignées cellulaires cancéreuses (MCF7, A549, SKMEL-28, B16F10, Hs683, U373, KB3) à 10^{-5} M, les résultats trouvés sont récapitulés dans le tableau **15**.

Tableau 15: Valeur d'inhibition de croissance après 3 jours de culture en présence des complexes d'inclusion CENS- β CD.

Composés	IC ₅₀ Valeur d'inhibition de croissance après 3 jours de culture à 10^{-5} M						
	MCF7	A549	SKMEL-28	B16F10	Hs683	U373	KB3
1C	58	20	>100	32	26	27	14
2C	>100	12	>100	33	27	21	29
3C	>100	88	>100	>100	70	>100	24
4C	>100	>100	>100	98	>100	>100	3
5C	>100	>100	>100	92	>100	>100	38
6C	>100	>100	>100	>100	>100	>100	41

Les premières évaluations biologiques concernant l'activité anti-tumorale ont mis en évidence que certains des composés obtenus possèdent des propriétés cytotoxiques intéressantes.

- ✓ Comparant les résultats obtenus des CENS libre avec ceux de leurs complexes correspondants sur les mêmes lignes cellulaires et dans les mêmes conditions, on constate qu'ils y a une augmentation de la cytotoxicité (composés **2 e** inactif, **2C** **12%** de cellules viables).
- ✓ Les évaluations biologiques ayant prouvé que l'inclusion des CENS dans des cyclodextrines affecte les activités des drogues, ce type d'encapsulation peut être un outil prometteur pour l'usage pharmaceutique de ces drogues anticancéreuses.

IV. 3 Etude de l'activité biologique des dérivés du quinoléin-8-ol

La ligne de cellule du carcinome (KB3) de l'épiderme de la bouche humaine a été incubée pendant 72h avec des médicaments à différentes concentrations. Le volume final dans chaque expérience a été formé avec un environnement contenant du DMSO 1% du volume final. Docetaxel a été utilisé comme control positif. Les expériences ont été réalisées dans le triplicata.

La concentration cytotoxique (CC_{50}) d'inhibition de la croissance cellulaire a été déterminée via le test MTT. Le MTT est un composé qui est bioréduit par les cellules en un produit coloré : le Formazan qui est soluble et dont on peut mesurer la quantité en mesurant l'absorbance à 490 nm; De plus cette quantité est proportionnelle au nombre de cellules vivantes en culture car le MTT est un réactif métabolisé par les cellules vivantes et ne mesure donc que la viabilité cellulaire. L'index de cytotoxicité [égale à $(OD_{490\text{traité}}/OD_{490\text{contrôle}}) \times 100$] a été déterminé à partir de 50 % de mort cellulaire dans des concentrations comprises entre 10 à 0.5 nM (l'expérience a été triplée).

Le tableau **16** ci-dessous rassemble les évaluations des propriétés anticancéreuses sur les cellules KB3 des molécules possédant le motif bis (N-(5-méthyl)- quinoléin-8-ol) amine N-substitué. Les valeurs des activités anti-tumorales du Clioquinol et du Docétaxel (pour les lignées KB3) à été aussi incluses dans le tableau à titre de comparaison. On peut noter que pour des molécules relativement proches d'un point de vue structural, les variations au niveau de l'activité biologique peuvent être très importantes, plusieurs valeurs de log.

Tableau 16. Effets cytotoxiques et cytostatiques des dérivés du quinoléin-8-ol sur les lignées cellulaires KB3-1 et U87.

Composés	CC ₅₀ (μM)*	ED ₅₀ (μM)	clogP ***
	KB3-1	U87**	
1	Inactif à 100μM	-	2.63
2	0.007/0.009	-	8.24
15	50± 3 % d'inhibition à 0.0013 μM	<0.2	6.17
16	0.0026	<0.2	5.78
17	72± 2 % d'inhibition à 1 μM	-	2.16
18	0.014	-	2.18
19	0.07/0.08	-	3.02
22	50± 10 % d'inhibition à 1 μM	-	1.03
23	27± 7 % d'inhibition à 10 μM	-	4.22
24	84± 1 % d'inhibition à 10 μM	-	5.11
25	64± 8 % d'inhibition à 10 μM	-	3.68
26	45± 12 % d'inhibition à 10 μM	-	3.58
Clioquinol	50± 10 % d'inhibition à 1 μM	-	3.73
Docétaxel	0.00025 μM	-	-

*La concentration cytotoxique (CC₅₀) d'inhibition de la croissance cellulaire. Les valeurs d'inhibition de l'évolution reportées dans ce tableau sont obtenues sur 4 valeurs distinctes.

**La dose efficace de l'activité antiproliférative est donnée comme ED₅₀, l'effet antiproliférative (U87-GFPcells) est mesuré par fluorescence utilisant une cytophotométrie flash. Dans ces tests, l'effet antiprolifératif a été observé à différentes concentrations (0.1, 1, 5 et 10 μM). La plus basse concentration générant un ED₅₀ est donnée. (L'expérience a été quadruplée).

*** La détermination des valeurs clogp a été obtenue en utilisant ACD (Advanced Chemistry Development).

A partir des données des *screenings* effectués sur les lignées cellulaires KB3 avec l'ensemble des dérivés testés, nous avons pu établir un ensemble de corrélations structures activités, desquelles on peut en déduire les observations :

- ✓ Dans le tableau **16**, on notera la différence très significative d'activité entre des dérivés de type mono quinoléin-8-ol et bis quinoléin- 8-ol (composés **2**, **15,16**).
- ✓ La majeure partie des molécules possèdent des activités cytotoxiques (entre 0.007 et 10 μM) *in vitro* significative.
- ✓ Aucune molécule synthétisée n'est plus active que le composé **15** de point de vue cytotoxique (CC₅₀ = 0.007 μM sur KB3-1).

- ✓ Les autres composés parmi les plus actifs sur les lignées cellulaires KB3 sont les analogues **2**, **15**, **16**, **18** et **19** avec respectivement des valeurs IC₅₀ de 0.007, 0.0013, 0.0026, 0.014 et 0.07 µM, soit moins actif que l'anticancéreux Docétaxel dont la valeur est de 0.00025 µM et plus actif que l'anticancéreux Clioquinol dont la valeur est de 1 µM.
- ✓ Les résultats obtenus montrent clairement que les dérivés des bases de schiff (**23-26**) sont des analogues à activité antiproliférative moins importante que le composé de référence **15** renferment la bis (8-hydroxyquinoline) dans sa structure. L'activité de l'analogue **26**, pouvant être transformé en l'espèce *quinone méthide* comme reporté dans le schéma **28** (Chapitre III), a été trouvé moins actif que le composé de référence **15**, et son activité est identique a celle du substituant sur l'aryl aldéhyde. En plus, l'analogue (clioquinol), et le composé **1** sont seulement des agents antiprolifératives faibles.
- ✓ L'analogue **26**, dans lequel une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'ortho-OH de l'aromatique aldéhyde et l'atome d'azote exocyclique favorise la génération de l'espèce *quinone méthide* (schéma **26**), n'est pas plus cytotoxique que des autres analogues des bases de schiff. le résultat suggère que la présence de l'imine entrave la formation des deux intermédiaires méthide quinone et cependant élimine leurs propriétés alkylantes vers les nucléophiles biologiques.
- ✓ Les valeurs clogP pour les différents dérivés suggère que la perméabilité des membranes cellulaires du médicament ne peut pas expliquer les différences dans l'activité proliférative observées entre tous les analogues. Exemple, analogue **17** et **15** dont les valeurs clogP sont assez différentes, **17** est beaucoup plus hydrophile que **15** le plus hydrophobe composé, sont les composés les plus actifs.

La figure **28** contient quatre clichés montrant l'évolution de la croissance cellulaire sur des cellules Hs683 (lignée cellulaire de gliomes), l'inhibition de la croissance cellulaire suite à l'ajout du composé **16** (Figure **28-B**) est clairement visible vis-à-vis du contrôle (Figure **28-D**) : c'est cette différence entre la culture cellulaire traitée et celle de contrôle non traitée qui va déterminer l'inhibition cellulaire.

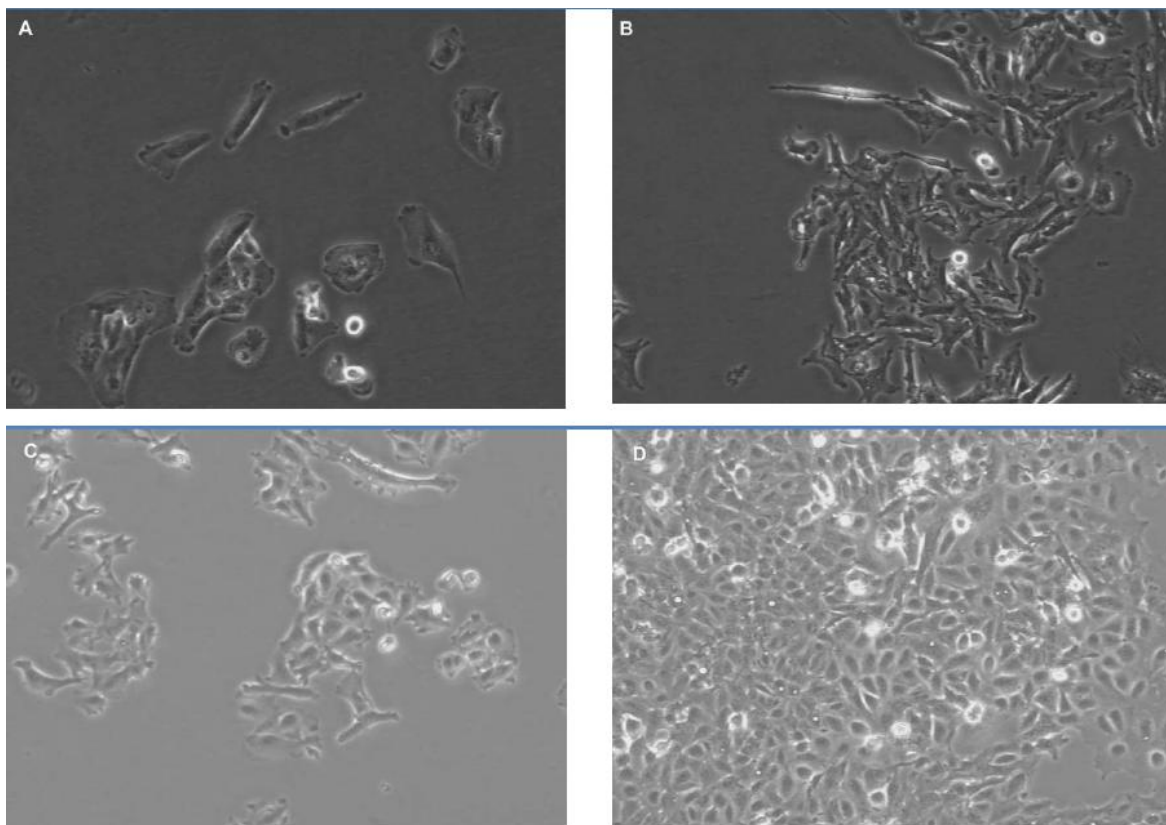


Figure 28 : Cultures cellulaires de type Hs683 traitées avec 500 nM du composé 16 à T=0 (A) et T=3 jours (B). Les contrôles à T=0 et à T=3 jours figurent respectivement en C et D.

IV.4 Etude du passage de la barrière hématoencéphalique

Bien que nous nous sommes intéressés aux traitements du cancer dans sa globalité, les cancers du cerveau du fait de leurs létalités importantes et de l'absence de traitement efficace sont un objectif thérapeutique extrêmement valable. Nous avons donc cherché à déterminer si nos molécules remplissaient les conditions nécessaires pour agir sur les tumeurs du cerveau. Les évaluations *in vitro* réalisées précédemment à partir de la lignée cellulaire U87 (glioblastomes) ont montré une activité biologique conséquente, ce qui démontre la capacité des dérivées de la quinoléin -8-ol à agir sur des tumeurs cérébrales réputées pour leurs chimiorésistances¹²⁵. Toutefois, la difficulté principale des traitements visant le cerveau est le passage de la barrière hématoencéphalique. La barrière hématoencéphalique est une barrière physiologique présente dans le cerveau et qui permet de séparer ce dernier de la circulation des échanges de nutriments, et d'oxygènes entre le cerveau et le reste de l'organisme. L'utilité de cette barrière réside aussi dans la protection qu'elle assure au cerveau vis-à-vis des agents pathogènes, des toxines et des hormones,

mais cette protection très efficace empêche aussi la plupart des molécules anticancéreuses d'atteindre le cerveau. La régulation des échanges entre le cerveau et le milieu sanguin repose sur une série de processus qui vont concourir à filtrer sélectivement le passage jusqu'au cerveau : la diffusion, le passage par canaux, le transport vésiculaire et le transport actif.

Dans le but d'évaluer la capacité du composé **15** à passer la barrière hématoencéphalique, nous avons mené deux types d'expériences :

- Une évaluation *in vivo* visant à quantifier le passage de la barrière hématoencéphalique par le composé **15**.
- Une évaluation *in vitro* visant à déterminer si le processus de détoxification est capable d'éliminer le composé **15** du système nerveux central.

Dans le cadre de l'étude *in vivo*, le fluide cérébrospinal de rats traités avec le composé **15** (16 mM) a été extrait et analysé via HPLC. Dans le but de faciliter l'interprétation des temps de rétention de la chromatographie obtenue, des molécules de contrôle ont été ajoutées (acide dihydrophénylacétique, acide homovanillique, acide 5-hydroxyindolacétique, 5-hydroxytryptamine, Dopamine, Témzolomide, et Noradrénaline).

A partir de l'aire des pics obtenus par chromatographie, nous avons déterminé que la quantité de composé **15** présent dans le fluide cérébrospinal était de 0.037 mM, c'est à dire seulement 0.23 % de la quantité injectée tandis que la quantité global contenu dans le cerveau est de 0.352 mM (2.2 %).

Du fait de ces résultats, la cause de la faible présence du composé **15** dans le système nerveux central a été recherchée. Pour cela une étude *in vitro* s'est focalisée sur la possibilité de détoxification du composé **15** via la protéine Pgp. Cette dernière est un élément clé dans les interactions pharmacocinétiques des médicaments. Son rôle est d'expulser les molécules potentiellement toxiques vers le milieu sanguin. Il a été déterminé que l'inhibition de la Pgp peut augmenter fortement la biodisponibilité de médicaments anticancéreux¹²⁶. De plus, il a été aussi montré que dans le cadre de cancers du cerveau chimiorésistant, les cellules tumorales réduisent considérablement la toxicité des agents anticancéreux via une surexpression de la protéine Pgp¹²⁷. La Pgp est une pompe ATP-dépendante présentant une activité ATPasique. Cette activité ATPasique étant fonction de la présence de substrat de la Pgp¹²⁸, on peut donc estimer la capacité de transport d'une

molécule par la Pgp en observant l'activité ATPasique de ces protéines. Dans ce but, nous avons évalué la capacité du composé **15** à être un substrat de la Pgp, en comparant l'activité ATPase obtenu avec celles de molécules connues pour être de bon substrat de la Pgp comme la Vérapamil, la Progestérone ou la Vinblastine. L'affinité du composé **15** à la Pgp a été évaluée à des concentrations de 1 et 10 μM via un test enzymatique en présence de Vérapamil, Progestérone, ou de Vinblastine à des concentrations de 30, 60, et 5 μM , ces valeurs correspondant à leurs concentrations maximale d'activation (*maximal activating concentrations*).

Tableau 17 : Evaluation de l'affinité du composé **4** vis-à-vis de la Pgp.

Echantillon	Composé 4 (μM)	Activité (nmol/mg/min)	Activité relative
Activité basale	Non	30.2	1.0
	1	31.3	1.0
	10	33.1	1.1
Vérapamil (30 μM)	Non	90.7	3.0
	1	84.5	0.9
	10	77.1	0.8
Progestérone (60 μM)	Non	61.5	2.0
	1	54.8	0.9
	10	51.8	0.8
Vinblastine (5 μM)	Non	42.8	1.4
	1	34.3	0.8
	10	30.8	0.7

L'activité ATPase basale a d'abord été mesurée en l'absence du composé **15** mais en présence des molécules thérapeutiques de référence décrite dans le tableau **15**. L'activité ATPase de ces molécules a ensuite été mesurée en présence du composé **15** à 1 et 10 μM . On constate ainsi que 1 μM du composé **15** apporte une inhibition de moins 10 % de l'activité ATPase induite par la Vérapamil et de 25 % dans le cas de la Vinblastine tandis qu'à 10 μM , le composé **15** dans les mêmes conditions entraînent une inhibition de 25 et 31 %. La méthodologie utilisée tend à considérer un taux de modulation entre 0 et 30 % comme faible et peu significatif, ce qui sous tend l'idée que la faible présence dans le

cerveau est dû à des difficultés de passage de la barrière hématoencéphalique et non à un phénomène de détoxification.

IV.5. Evaluation *in vivo*

Dans le but de recueillir des informations sur le degré de tolérance de nos produits sur des organismes vivants, une expérience de xénogreffes orthotopiques a été réalisée à partir de cellules du gliome humain Hs683 sur des cerveaux immuno-déficient de souris selon un mode opératoire précédemment établi^{129, 130}. Les xénogreffes orthotopiques consistent à implanter des cellules, des tissus ou des organes d'une espèce animale (généralement des mammifères) sur un organisme appartenant à une autre espèce animale à leurs emplacements habituels.

Un groupe de souris greffées a subi l'administration de Témzolomide (molécule thérapeutique la plus utilisée dans le cadre des cancers du cerveau) tandis qu'un autre groupe a été traité avec le composé **15**. Ce composé a été sélectionné pour ce test au vu de son activité *in vitro*.

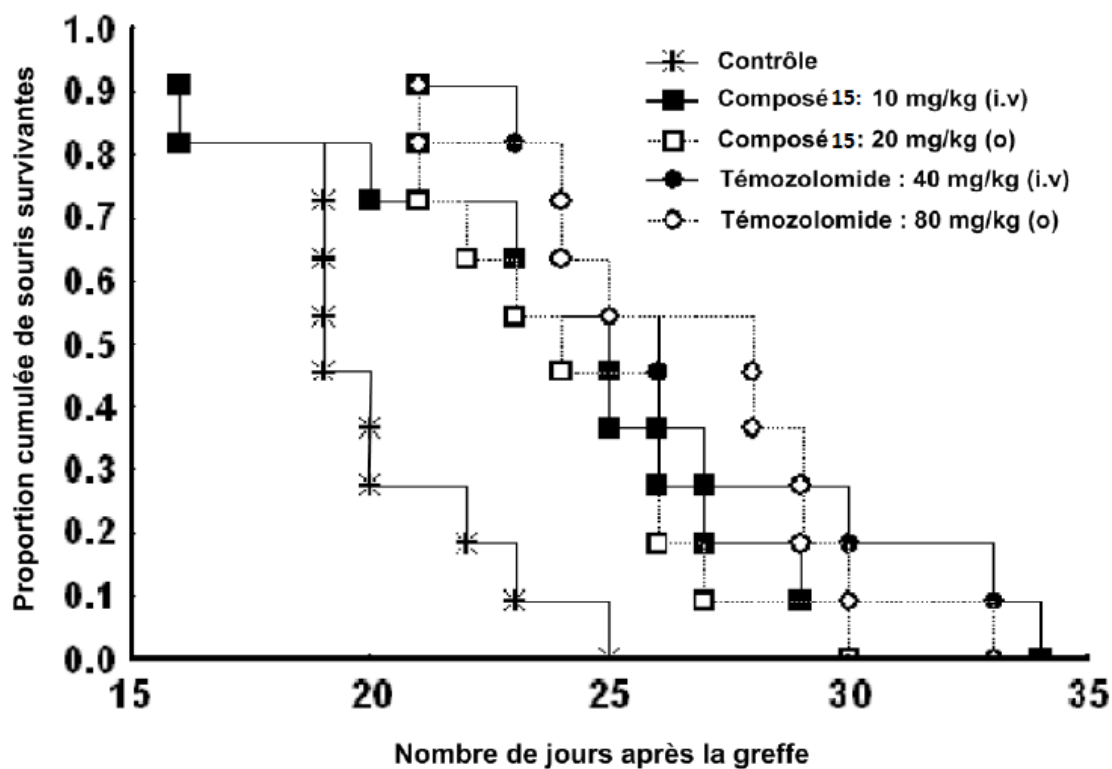


Figure 29. Evaluation de l'activité *in vivo* sur des cellules Hs683.^{90, 91}

Les MTD ou *maximal tolerated dose* obtenues sont de 80 mg/kg (soit 160 mg/kg d'os) pour le Témazolomide et de 20 mg/kg (soit 40 mg/kg d'os) pour le composé **15**, ce qui tend à prouver que nos composés sont mieux tolérés que le Témazolomide sur ce modèle biologique.

La mise en parallèle (Figure **29**) de l'activité du Témazolomide avec celle du composé **15** nous permet d'observer la similarité très importante de ces deux activités.

IV.6 Mécanisme d'action

Pour compléter cette étude, nous avons étudié le mécanisme d'action chimique de nos molécules. Au vu des similarités électroniques et chimiques du motif bis (*N*-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol)amine *N*-benzylé avec des exemples de molécules alkylantes issues de la littérature,^{131, 132-139} la possibilité que ce motif puisse générer un *quinone methide*, un type d'agent alkylant, a été envisagée. Les propriétés alkylantes des dérivés du bis-quinoléin-8-ol n'ont toutefois jamais été reportées dans la littérature. Pour tenter de le démontrer, nous avons apporté des modifications ciblées au motif quinoléin-8-ol, modifications ciblées auxquelles nous avons combiné la chimie mimétique et des tests *in-vitro*.

IV.6.1 Formation d'un quinone methide

De nombreuses études¹⁴⁰ ont démontré les mécanismes de formation des *quinones methides* et leur activité en tant qu'électrophile. Pande *et al.*^{141, 142} a mis en évidence que la *O*-(tertbutyldiméthylsilyl)-2-bromo-méthylphénol peut générer une ortho-*quinone methide* en présence de fluorure anionique dans un mélange DMF/H₂O, ce modèle a été extrapolé à nos molécules et le composé **15** a été placé dans les conditions précédemment citées. La spectroscopie de masse a démontré la présence à la suite de la réaction du *quinone methide* recherché ($M/z [M+H]^+ = 158$) ainsi qu'une molécule ayant le poids du composé **15** avec un motif quinoléin-8-ol en moins ($M/z [M+H]^+ = 333$) et une molécule ayant le poids du composé 4-trifluorobenzylamine suggérant qu'un second intermédiaire *quinone methide* peut être généré. Les composés **16** et **15** ont généré au cours de l'étude la plus grande activité anticancéreuse et ils ont servi de base pour réaliser une étude des relations structure-activité autour du mécanisme d'action supposé : pour cela des additions de groupements sur des positions bien spécifique sur le pharmacophore ont eu lieu, de manière à rassembler assez d'indices pour bâtir des hypothèses sur le mécanisme d'action

mis en jeu. Les molécules ont été testées sur des cellules U87 et KB3 et les variations d'activité semblent indiquer que l'activité biologique est dépendante d'un certain nombre de paramètres.

Dans des travaux antérieurs⁹¹, le remplacement de l'amine de l'azote central par une fonction amide ou une fonction carbamate (Figure 30) a fait baisser de manière sensible l'activité. Ceci peut être expliqué par le fait que les fonctions amides et carbamates ne sont pas des fonctions protonables : la protonation de l'azote central serait une étape obligatoire du mécanisme d'action.

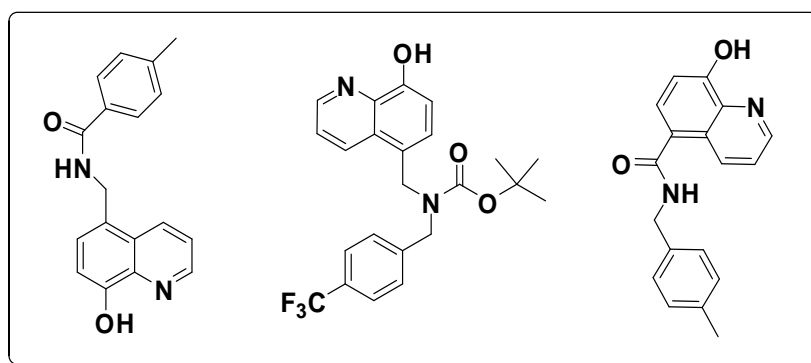


Figure 30. Remplacement de l'amine de l'azote central de dérivés quinoléin-8-ol par une fonction amide ou une fonction carbamate.

Les deux groupements alcools ont été protégés grâce à des méthyles et le quinoléin-8-ol a été remplacé par de la quinoléine (Figure 31), ces composés ont été trouvés complètement inactifs à 10 μ M. La perte de l'activité biologique de ces composés laisse à penser que la fonction alcool est nécessaire pour générer l'activité biologique.

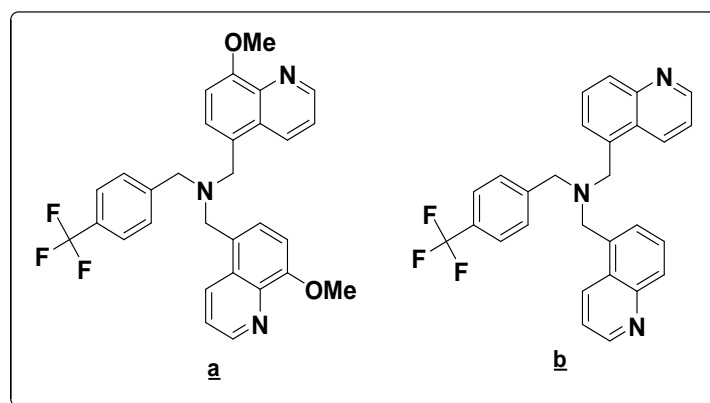


Figure 31. a- Protection de la fonction alcools de quinoléin-8-ol.
b- Remplacement de quinoléin-8-ol par de la quinoléine.

L'ensemble de ces informations ont permis d'envisager une hypothèse de mécanisme d'action, directement inspirée de la littérature¹⁴³.

La première étape de la formation de ces *quinones methides* requiert la protonation de l'amine tertiaire. Il s'en suit la déprotonation des fonctions alcools et la génération via la stabilisation par résonance d'un intermédiaire *quinone methide* qui peut jouer le rôle d'une espèce alkylante. Cette espèce alkylante peut potentiellement alkyler des substrats chimiques ou des macromolécules biologiques tel des acides nucléiques ou des protéines via une addition de Michaël 1-4. Cette espèce alkylante est stabilisée par la présence d'un noyau quinoléine. Un second intermédiaire *quinone methide* peut être générée. La protonation de l'amine mène à la formation de (4- (trifluorométhyl) phényl) méthanimine et d'un second intermédiaire *quinone methide*. Cette dernière hypothèse se base sur la cytotoxicité réduite mais néanmoins bien présente des composés mono (*N*-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine *N*-substitués comparé aux analogues bis. Le mécanisme proposé est représenté dans le schéma 31.

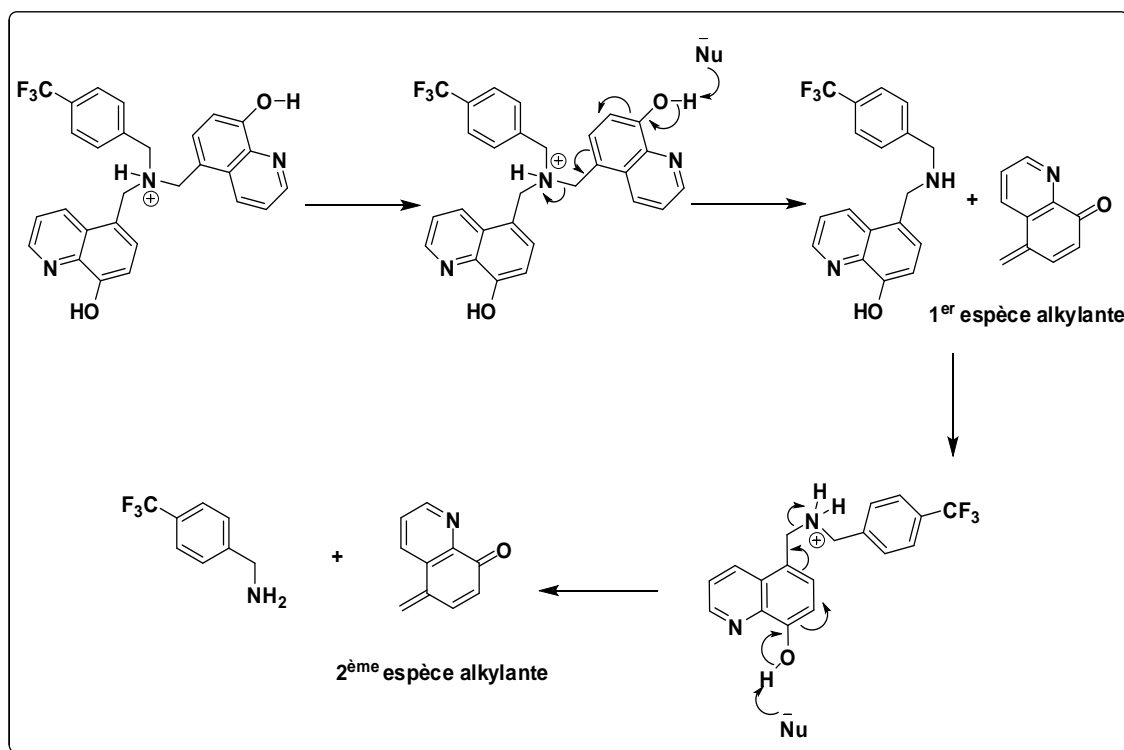


Schéma 30. Hypothèse du mécanisme d'action générant le *quinone méthide*.

IV.6.2 Action alkylante sur l'ADN

L'ADN est la cible principale de l'attaque des molécules alkylantes. Nous avons utilisé différentes approches, chimiques et biologiques pour tenter de démontrer si les composés étudiés, susceptibles de générer des intermédiaires *quinone methide*, pouvaient alkyliser l'ADN.

Notre première tentative a consisté à mimer chimiquement les conditions dans lequel une alkylation a lieu dans les cellules. Nous avons pour cela de nouveau utilisé le modèle de Pande *et al.*,^{141, 142} décrit précédemment, un modèle chimique qui dans des conditions spécifiques (50 °C, DMF/H₂O, addition de KF) peut déclencher la formation d'espèce alkylante sous forme de *quinone methide*. Le composé **16** a été placé dans les conditions décrites par Pande *et al.*^{141, 142} et mis en présence de didésoxyadénosine pour mimer l'ADN.

Dans ces conditions, les analyses via la HPLC et la spectrométrie de masse ont démontré l'absence des adduits qui auraient dû résulter de l'addition de l'intermédiaire *quinone methide* sur la didésoxyadénosine. Une augmentation du temps de réaction et de la température a conduit à un résultat identique. Une étude de chimie mimétique complémentaire a été réalisée avec le composé **16** qui a été incubé avec de la désoxyguanosine (37 °C, 24 h dans 1 mM d'acétate d'ammonium, pH 7.15) selon un mode opératoire déjà décrit^{144, 145}. La spectroscopie de masse des adduits obtenus a confirmé l'absence d'alkylation des nucléotides par nos produits.

Ce modèle chimique a été complété en réalisant une expérience¹⁴⁶ semblable portant sur un brin d'ADN complet. Dans ce but de l'ADN-CT a été mis en présence du composé **16** pour évaluer l'alkylation potentiel de nos molécules *in vitro*. L'évaluation de l'alkylation a été réalisée via la spectrométrie UV/Visible, l'analyse du dichroïsme circulaire et les mesures du point de fusion de l'ADN. De plus, une électrophorèse sur gel de polyacrylamide a été réalisée pour déterminer si l'alkylation des guanines a lieu, comme dans de nombreux cas de nombreux agents alkylants, à un clivage de l'ADN.

Le composé **16** a aussi été mis en incubation avec de l'ADN radiomarqué¹⁴⁷ et l'évolution de la migration de l'ADN sur gel a été étudié via EMSA (Electrophoretic Mobility Shift Assay) pour repérer une éventuelle alkylation.

Toutes les analyses se sont révélées négatives, rejoignant ainsi les résultats obtenus avec le modèle chimique. Ces expériences suggèrent que les composés que nous avons développés n'alkylent pas l'ADN.

IV.6.3 Action alkylante sur les protéines

Dans la cellule, il existe un grand nombre de molécules pouvant générer assez de nucléophilie pour attaquer des intermédiaires *quinones methides* formés *in situ*. Nous avons donc cherché à savoir si des protéines pouvaient être alkylées par les dérivés étudiés. La littérature^{148, 149} a décrit des molécules thérapeutiques dont le mode d'action était basé sur des intermédiaires *quinones methide* comme étant capables d'inhiber la croissance cellulaire et d'induire l'apoptose via l'alkylation de certaines protéines. Cette caractéristique pourrait expliquer pourquoi nos composés sont à la fois cytostatiques et cytotoxiques^{150, 151}. Une réaction d'alkylation du *quinone methide* vis-à-vis d'une fonction nucléophile (thiol et amine principalement) contenue dans un acide aminé (comme la cystéine par exemple) d'une protéine affecte en premier lieu la faculté des acides aminés de la protéine à se replier. Ces mauvais repliements touchent à la structure tridimensionnelle de la protéine, or la structure 3D d'une protéine est intimement liée à sa fonction : lorsque cette structure est détruite par l'emploi d'agent dénaturant, la protéine perd sa fonction : elle est dénaturée. Ces protéines anormales vont alors s'accumuler dans le réticulum endoplasmique, entraînant un stress chimique importants¹⁵². L'étude via les *microarrays*⁹⁰ publiée par notre laboratoire, a montré que de nombreux gènes liés au stress oxydatif font parti des gènes induits par le composé **16**.

L'alkylation des protéines est rendue possible par le fait de la présence de groupement amines, thiols ou d'autres fonctions nucléophiles. Dans le but de mimer ces interactions, un modèle chimique a été réalisé en mettant le composé **16** et du 4-nitrothiophénol dans les conditions génératrices d'intermédiaires *quinone methide* décrites précédemment. Le 4-nitrothiophénol servant à mimer la nucléophilie des soufres présents dans des protéines (acide aminé cystéine notamment).

Parmi les nombreux produits obtenus, la spectroscopie de masse a révélé la présence d'adduits dont la masse ($M/z = 312$) correspond à l'alkylation du 4-nitrothiophénol par un intermédiaire *quinone methide*.

Pour corroborer nos hypothèses sur le mécanisme alkylant de nos molécules via la formation d'un *quinone methide*, nous avons évalué le caractère alkylant des dérivés étudiés sur des cultures cellulaires par l'intermédiaire du Glutathione (GSH). Le GSH^{153, 154} est une molécule naturellement présente dans les cellules connue pour être responsable de la résistance aux molécules thérapeutiques alkylantes. Son rôle est celui d'un tampon qui réalisera une attaque nucléophile sur les agents alkylants pour inhiber leurs caractères

électrophiles et les empêchera ainsi de réagir avec les nucléotides de l'ADN, ce qui pourrait conduire à des mutations.

Le composé **15** a été mis en incubation dans des cellules KB3 avec du GSH (M+H = 308) et en plus des Intermédiaires *quinones methides* (M+H = 158), un nouvel adduit a pu être détecté (M/z = 465) via la spectroscopie de masse. La masse de cette adduit (M/z = 465) correspond à la molécule issue de l'attaque nucléophile du GSH sur l'intermédiaire *quinone methide* précédemment évoqué. Le schéma **31** illustre l'hypothèse de formation de ce nouvel adduit.

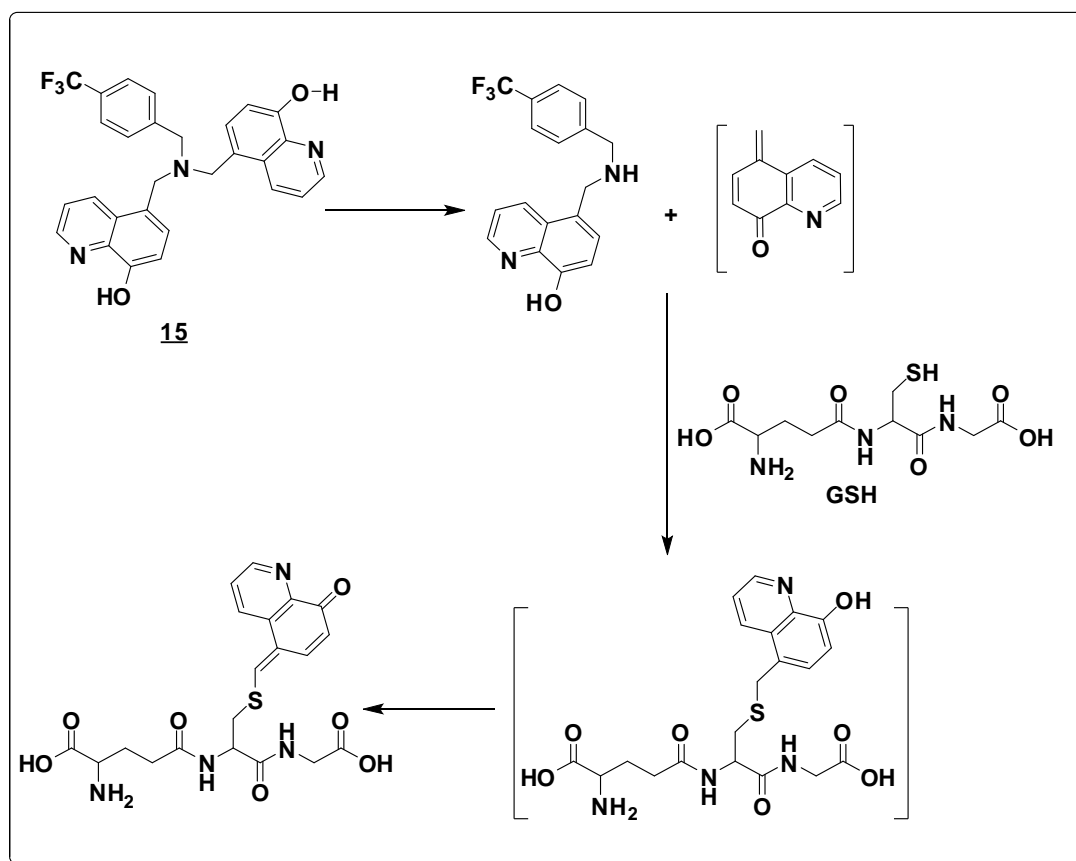


Schéma 31. Identification de l'intermédiaire *quinone methide* via un modèle chimique mimétique.

IV.7 Conclusion

L'évaluation biologique des composés synthétisés au cours de nos travaux a montré pour certains, ont une activité cytotoxique qui pourrait constituer un point de départ pour définir de nouveaux anticancéreux.

Au niveau Biologique :

Les premiers résultats obtenus avec la famille des nirososulfamide et leurs complexes d'inclusion montrent que certains de ces composés montrent une activité anticancéreuse spécifique de cellules de gliomes (U373, HS683) et de A549.

L'amélioration des propriétés de solubilité et de stabilité des CENS par formation des complexes d'inclusion a modifié leur toxicité vis-à-vis de cellules tumorales comparées aux CENS libres.

Les résultats obtenus dans la famille des 8-hydroxyquinoline expliquent de façon plus claire que la présence de deux 8-hydroxyquinoline sur l'azote exocyclique est presque devenue une nécessité structurale pour induire une activité antiproliférative optimale comme est le cas pour les composés **2**, **15** et **16**.

Les composés basés sur le pharmacophore bis (*N*-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine *N*-substitués sont probablement capables de former des intermédiaires *quinones methides* qui préférentiellement réagit avec les nucléophiles tels que thiols, par rapport aux nucléophiles représentés par les positions O6 et N7 des guanines de l'ADN¹¹⁸. Ces derniers ne sont pas assez électrophiles pour pouvoir réagir avec l'ADN.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Ce mémoire de thèse avait pour but de proposer de nouvelles perspectives dans le domaine de la chimiothérapie cancéreuse à partir de modifications structurales variées, nous avons cherché à développer un nouveau type de molécule anticancéreuse. Dans cette optique, nous avons envisagé la synthèse et l'étude des propriétés anticancer de deux familles chimiques de composés qui appartiennent respectivement à la famille des nitrososulfamides d'acides aminés libres et à la famille des 8-hydroxyquinolines autour d'une structure privilégiée.

Ce travail a nécessité la mise au point et l'optimisation de méthodologies de synthèses variées: choix des groupements protecteurs, recherche des agents de couplage les plus adaptés, optimisation des rendements et réalisation de molécules stratégiques dans un minimum d'étapes. La chimiothèque a ainsi pu être pourvue de molécules ayant une diversité structurale importante basée autour d'un motif structural le pharmacophore 2-chloroéthylnitrososulfamide pour la famille des nitrososulfamides et le pharmacophore bis (*N*-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine *N*-substitué pour la famille des 8-hydroxyquinoline générateur de l'activité biologique recherchée.

L'ensemble des composés synthétisés ont été identifiés, caractérisés sur le plan structural par RMN et par SM, et isolés via une chromatographie sur colonne ou une CCM préparative. Au niveau chimique, nous avons atteint notre objectif. Nous avons réussi à mettre au point des molécules simples et suffisamment nombreuses pour que des études comparatives au niveau de l'activité biologique aient pu être menées.

- ✚ Dans le cas des composés de la famille des nitrososulfamides d'acides aminés libres, on a réussi à complexer ces composés dans une matrice cyclodextrine pour permettre une meilleure pénétration membranaire de ces composés en vue d'optimiser leur activité anticancer dont on sait que le facteur pénétration est un facteur limitant pour l'activité recherchée. Les premiers résultats biologiques obtenus avec cette famille de composés en collaboration avec l'équipe du professeur R. Kiss (laboratoire d'oncologie de l'Université libre de Bruxelles) montrent que certains de ces composés ont une activité anticancéreuse spécifique de cellules de gliomes (U373) et de cellules adénocarcinome (A549). Ces résultats

encourageants, vont être optimisés par la synthèse de nouveaux analogues comportant ce pharmacophore nitrososulfamide.

- ✓ L'amélioration des propriétés de solubilité et de stabilité des CENS dérivés d'acides aminés par formation des complexes d'inclusion a modifié leur toxicité vis-à-vis de cellules tumorales comparées aux CENS libres.
- ✓ Les évaluations biologiques ayant prouvé que l'amélioration des propriétés de solubilité et de stabilité des CENS dérivés d'acides aminés par formation des complexes d'inclusion affecte les activités des drogues, comparant les résultats obtenus des CENS libres avec ceux de leurs complexes correspondants sur les mêmes lignes cellulaires et dans les mêmes conditions. Ce type d'encapsulation peut être un outil prometteur pour l'usage pharmaceutique de ces drogues anticancéreuses.
- ✚ Dans le cas des composés appartenant à la famille des 8-hydroxyquinoline, on a également réussi à synthétiser une chimiothèque de composés, totalement identifiés. Ces composés contiennent tous un pharmacophore 8-hydroxyquinoline couplé à une partie amine ou imine.

L'intérêt de coupler le pharmacophore 8-hydroxyquinoline à des imines est d'augmenter la stabilité d'un intermédiaire quinone méthide responsable des propriétés anticancéreuse associées à cette famille de composés. Les premiers résultats obtenus avec cette famille de composés, en collaboration avec l'ICSN (Institut de chimie des substances naturelles, Gif / Yvette sous la responsabilité du Dr T.Cresteil) montrent que certains des composés synthétisés ont une activité antitumorale sur des cellules KB3 comprise entre 1 et 10 μM .

Les bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substitués ont été testés sur des cultures cancéreuses *in vitro* puis *in vivo* pour les molécules les plus actives. Les évaluations réalisées sur les lignes des cellules du carcinome (KB3) ont permis de sélectionner des molécules thérapeutiques prometteuses, de bâtir des hypothèses d'action au niveau des cibles biologiques et du mécanisme d'action. Les résultats ont démontré une activité biologique importante de la part de notre famille de molécules, avec des valeurs situées vers 0.0013-10 μM pour les cellules de type KB3.

Les composés parmi les plus actifs sur les lignées cellulaires KB3 sont les analogues **2**, **15**, avec respectivement des valeurs IC_{50} de 0.007, 0.0013 μM , soit une activité supérieure à celles obtenus avec l'anticancéreux Clioquinol dont la valeur est de 1 μM , sur ces mêmes lignées cellulaires.

L'étude du caractère anticancéreux de nos composés pourra être approfondie *in vivo* en changeant de modèle animal et en réalisant une étude pharmacologique approfondie. En effet, les informations biologiques recueillies (toxicité, solubilité, métabolisme, diffusion et effets secondaires) seront nécessaires pour l'optimisation et l'identification ultérieure d'une molécule chef de file qui aura en plus d'une activité biologique importante *in vitro* et *in vivo*, des effets secondaires clairement identifiés.

TROISIEME PARTIE
Partie Expérimentale

Conditions générales

Les composés synthétisés, décrits dans ce travail ont été identifiés suivant des techniques classiques d'analyse, les principales étant l'IR, la RMN ^1H et la spectrométrie de masse.

Les spectres de la RMN ^1H ont été enregistrés sur un appareil BRUKER AMX-250 par le laboratoire de chimie biomoléculaire université de la méditerranée Aix-Marseille II. Les spectres RMN ^1H des complexes d'inclusion ont été enregistrés sur un appareil Bruker 400 MHz. Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées (δ) en parties par million (ppm) avec le TMS (tétraméthylsilane) comme valeur de référence. Les constantes de couplage (J) sont exprimées en hertz (Hz).

Les spectres de masse et les spectres de la RMN ^1H des complexes d'inclusion ont été réalisés par le laboratoire de Mesures Physiques de l'université d'Aix-Marseille – Fédération des sciences chimiques de Marseille. Les spectres de masse ont été effectués avec un spectromètre de masse 3200 QTRAP (Applied Biosystems SCIEX).

Les chromatographies de type "flash" sur colonne ont été réalisées avec du gel de silice Merck G60 (230-240 mesh), l'élution étant accélérée par de l'air comprimé.

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées avec du silicagel 60F254 Merck sur des plaques d'aluminium de 0,2 mm d'épaisseur.

En plus de l'irradiation via les ultraviolets à (254 nm et 365 nm), des révélateurs ont été utilisés pour affiner la détection des produits formés :

- **CERICDIP** : 100 mL d'acide sulfurique concentré + 900 mL d'eau distillée + 25 g d'acide molybdique + 10 g de sulfate de cérium hydraté.
- **Ninhydrine** : 12 mL d'acide acétique concentré + 400 mL de butan-1-ol + 1,2 g de ninhydrine.

Les modes opératoires des molécules synthétisées au cours de cette thèse sont décrits ci-dessous avec leurs nomenclatures IUPAC et leurs structures chimiques.

Il est à noter que les produits obtenus des dérivés du quinoléin-8-ol n'ont pas été cristallisés, il s'agit de poudres amorphes et de ce fait leurs points de fusion ne sont pas significatifs.

I.1 Préparation des 2-chloéthylnitrososulfamides selon la voie A

I.1.1 Carbamoylation-sulfamoylation

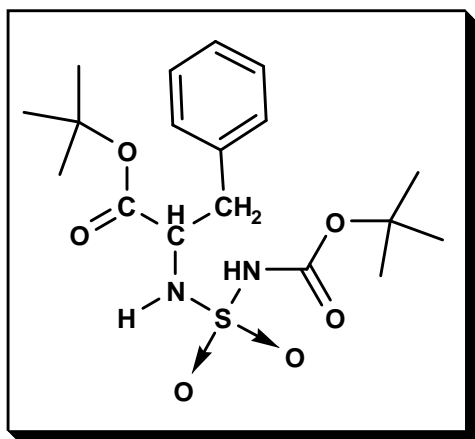
A une solution de 1.1 équivalent des aminoacides (phénylalanine, alanine, proline, glycine, leucine, isoleucine) dans peu de dichlorométhane, et ajouté un équivalent de chlorosulfonyl carbamate de tertiobutyle préparé extemporanément par addition de 1 équivalent de tertiobutanol dans le dichlorométhane anhydre à une solution de 5 g de ICS dans le même solvant.

La sulfamoylation est conduite en présence de 1.1 équivalent de triéthylamine pour neutraliser l'acide chlorhydrique formé, elle est suivie par CCM, qui montre l'apparition d'un produit révélé à la ninhydrine. Le milieu réactionnel est dilué au dichlorométhane, lavé par trois fractions d'HCl 0.1N et puis à l'eau jusqu'à pH neutre. La phase aqueuse est séchée sur sulfate de sodium, et le solvant est évaporé sous pression réduite.

Ces composés se présentent sous forme de solides blancs, recristallisables dans le dichlorométhane-éther. Ils sont révélés à la ninhydrine et bien solubles dans les solvants polaires, et insolubles dans l'éther et l'hexane.

Composé 1a: *N-t-butyloxycarbonyl, N'-sulfamoylphénylalaninate de t-butyle.*

(*t-butyl 2-(N-(t-butoxycarbonyl)sulfamoylamino)-3-phenylpropanoate*)



Formule chimique : $C_{18}H_{28}N_2O_6S$

Poids moléculaire : 400,49 g/mol

Rd = 80 %.

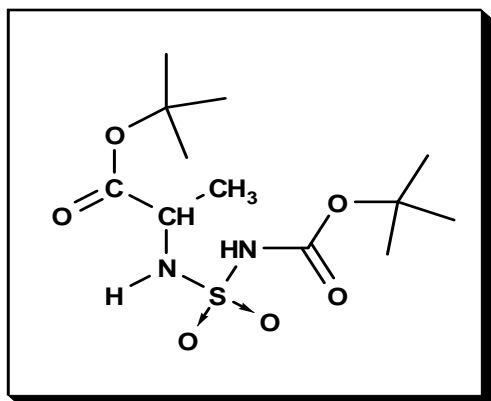
Pf = 108 °C.

Rf = 0.80 (CH₂Cl₂).

RMN (CDCl₃, ppm): δ= 7.04(s, 5H, Ar-H), 3.97(t, 1H, C^{*}H), 2.89(m, 2H, CH₂), 1.33(s, 9H, 3CH₃), 1.16(s, 9H, 3CH₃).

Composé 2a: *N-t-butyloxycarbonyl, N'-sulfamoylalaninate de t-butyle.*

(*t-butyl 2-(N-(t-butoxycarbonyl)sulfamoylamino)propanoate*).



Formule chimique : $C_{12}H_{24}N_2O_6S$

Poids moléculaire : 324,39 g/mol

Rd = 61 % .

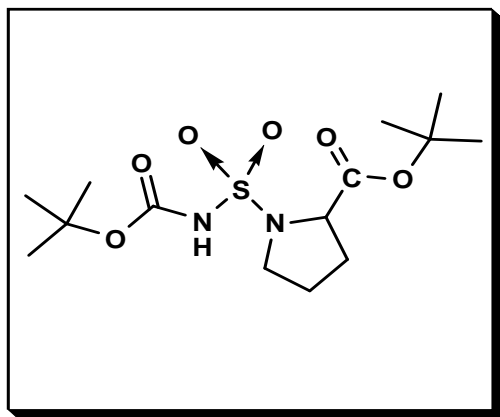
Rf = 0.83 (CH_2Cl_2).

Pf= 130.50°C.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 7.07(s, 1H, NHBoc), 5.64(d, 1H, NHC*), 4.04(q, 1H, C*H), 1.99(d, 3H, CH_3), 1.30(s, 18H, 6 CH_3).

Composé 3a: *N-t-butyloxycarbonyl, N'-sulfamoylprolinate de t-butyle.*

(*t-butyl 1-(N-(t-butoxycarbonyl)sulfamoyl)pyrrolidine-2-carboxylate*).



Formule chimique : $C_{14}H_{26}N_2O_6S$

Poids moléculaire : 350,43 g/mol

Rd = 91 %.

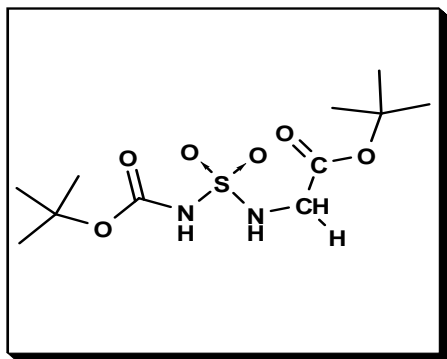
Pf= 120°C.

Rf = 0.60 (CH_2Cl_2).

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 7.16(s, 1H, NH), 4.42(dd, 1H, C*H), 3.46(m, 2H, CH_2N), 3.06(m, 4H, 2 CH_2), 1.37(s, 18H, 6 CH_3).

Composé 4a: *N*-*t*-butyloxycarbonyl, *N'*-sulfamoylglycinate de *t*-butyle.

(*t*-butyl 2-(*N*-(*t*-butoxycarbonyl)sulfamoylamino)acetate).



Formule chimique : $C_{11}H_{22}N_2O_6S$

Poids moléculaire : 310,37g/mol

Rd = 83 %.

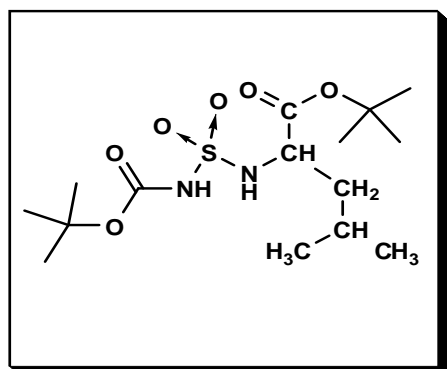
Pf= 134.80 °C.

Rf = 0.47 (CH₂Cl₂).

RMN (CDCl₃, ppm): δ= 7.05(s, 1H, NH), 3.62(d, 2H, CH₂), 1.29(s, 18H, 6CH₃).

Composé 5a: *N*-*t*-butyloxycarbonyl, *N'*-sulfamoylleucinate de *t*-butyle.

(*t*-butyl 2-(*N*-(*t*-butoxycarbonyl)sulfamoylamino)-4-methylpentanoate).



Formule chimique : $C_{15}H_{30}N_2O_6S$

Poids moléculaire : 366,47g/mol

Rd = 81 %.

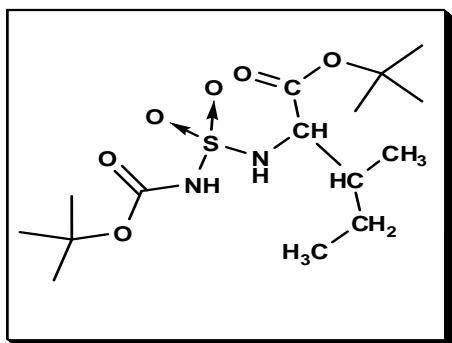
Rf = 0.31 (CH₂Cl₂).

Pf= 150.13 °C.

RMN (CDCl₃, ppm): δ= 6.90(s, H, NHBOC), 5.40(s, H, NC*), 4.09(q, H, C*H), 1.67(m, 3H, CH+CH₂), 1.36(s, 9H, 3 CH₃), 1.33(s, 9H, 3 CH₃), 0.82(d, 3H, CH₃), 0.79(d, 3H, CH₃).

Composé 6a: N-*t*-butyloxycarbonyl, N'-sulfamoylisoleucinate de *t*-butyle.

(*t*-butyl 2-(N-(*t*-butoxycarbonyl)sulfamoylamino)-3-methylpentanoate).



Formule chimique : $C_{15}H_{30}N_2O_6S$

Poids moléculaire : 366,47g/mol

Rd = 85%.

Rf = 0.40 (CH_2Cl_2).

Pf = 147 °C.

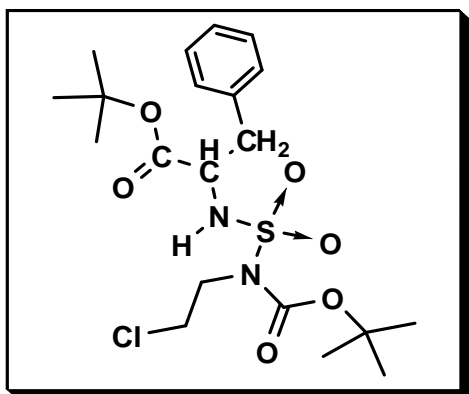
RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 6.80(s, H, NHBOC), 5.40(d, 1H, NHC*), 3.70(t, 1H, C*H), 1.28(s, 9H, 3CH₃), 1.26(s, 9H, 3CH₃), 0.74(m, 8H, 2CH₃+CH₂).

I.1.2 Mode opératoire de la chloroéthylation

Une solution d'azodicarboxylate de diéthyle ou de diisopropyle (1.1 éq.) dans du tétrahydrofurane (THF) anhydre est ajoutée goutte à goutte à une solution 1.1 éq. de chloroéthanol, 1.1 éq. de triphénylphosphine et un équivalent de N-*t*-butyloxycarbonylsulfamate dans un minimum du même solvant à température ambiante et sous agitation magnétique (la concentration influe directement sur le temps de la réaction). Le traitement consiste, en une précipitation à l'éther et filtration des produits secondaires de l'oxydoréduction (oxyde de triphényl phosphine hydrazinobiscarbonate de dialkyle), suivie d'une chromatographie sur colonne de gel de silice éluée au dichlorométhane qui apporte successivement le produit substitué puis les traces éventuelles du sulfamide qui n'a pas réagit.

Ces produits d'alkylation sont obtenus après une purification sur colonne de gel de silice qui donne successivement le Ph₃ en excès, le produit de substitution et le Ph₃O qui reste après une précipitation à l'éther. Tous ces composés sont des solides. Ils sont révélés aussi à la ninhydrine et cristallisent dans le mélange éther-éther de pétrole.

Composé 1b: *N*-(*N*-BOC, *N*-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-phenylalaninate de *t*-butyle.
(*t*-butyl2-(*N*-(*t*-butoxycarbonyl)-*N*-(2-chloroéthyl) sulfamoylamino)-3phenyl
Propanoate).



Formule chimique : $C_{20}H_{31}ClN_2O_6S$

Poids moléculaire : 462,99 g/mol

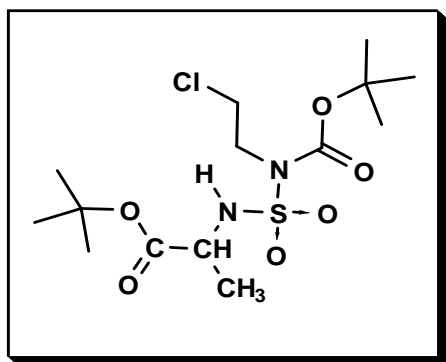
Rd = 65 %.

Pf= 129.49°C.

Rf = 0.85 (CH₂Cl₂).

RMN (CDCl₃, ppm): δ= RMN7.19(s, 5H, Ar-H), 4.15(t, 1H, C*H), 3.87(t, 2H, CH₂N), 3.57(t, 2H, CH₂Cl), 3.02(m, 2H, CH₂), 1.35(s, 9H, 3CH₃), 1.25(s, 9H, 3CH₃).

Composé 2b: *N*-(*N*-BOC, *N*-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-alaninate de *t*-butyle.
(*t*-butyl2-(*N*-(*t*-butoxycarbonyl)-*N*-(2 chloroéthyl) sulfamoylamino) Propanoate).



Formule chimique : $C_{14}H_{27}ClN_2O_6S$

Poids moléculaire : 386,89 g/mol

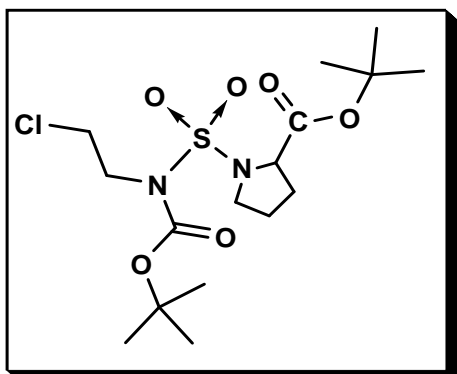
Rd = 54 %.

Rf = 0.61 (CH₂Cl₂).

Pf= 162.50°C.

RMN (CDCl₃, ppm): δ= 6.06(d, 1H, NHC*), 3.98(m, 3H, CH₂N + C*H), 3.66(t, 2H, CH₂Cl), 2.19(s, 3H, CH₃), 1.56(s, 9H, 3CH₃), 1.48(s, 9H, 3CH₃).

Composé 3b: *N*-(*N*-BOC, *N*-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-proline de *t*-butyle.
(*t*-butyl 1-(*N*-(*t*-butoxycarbonyl)-*N*-(2-chloroéthyl)sulfamoyl)Pyrrolidine)-2-carboxylate)



Formule chimique : $C_{16}H_{29}ClN_2O_6S$

Poids moléculaire : 412,93 g/mol

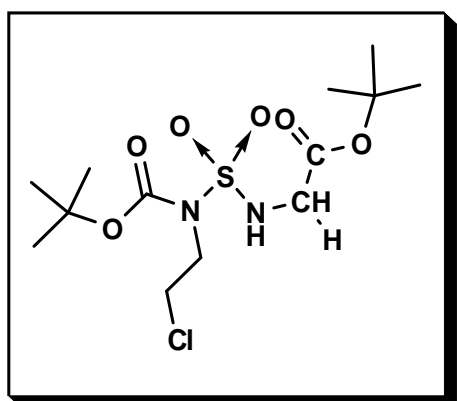
Rd = 54 %.

Pf= 149.36°C.

Rf = 0.61 (CH₂Cl₂).

RMN (CDCl₃, ppm): δ= 4.32(dd, 1H, C^{*}H), 3.80(t, 2H, CH₂N), 3.48(t, 2H, CH₂Cl), 3.24(m, 2H, CH₂N), 2.00(m, 4H, 2CH₂), 1.30(s, 18H, 6CH₃).

Composé 4b: *N*-(*N*-BOC, *N*-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-glycinate de *t*-butyle.
(*t*-butyl 2-(*N*-(*t*-butoxycarbonyl)-*N*-(2-chloroéthyl) sulfamoylamino) acetate).



Formule chimique : $C_{13}H_{25}ClN_2O_6S$

Poids moléculaire : 372,87 g/mol

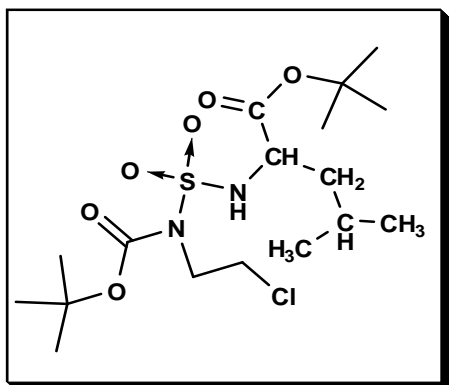
Rd = 47 %.

Rf = 0.62 (CH₂Cl₂).

Pf= 166.60°C.

RMN (CDCl₃, ppm): δ= 7.29(s, 1H, NH), 4.00(t, 2H, CH₂N), 3.80(d, 2H, CH₂), 3.67(t, 2H, CH₂Cl), 1.58(s, 9H, 3CH₃), 1.50(s, 9H, 3CH₃).

Composé 5b: *N*-(*N*-BOC, *N*-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-leucinate de *t*-butyle.
(*t*-butyl 2-(*N*-(*t*-butoxycarbonyl)-*N*-(2-chloroéthyl) sulfamoylamino)-4-méthyl Pentanoate).



Formule chimique : $C_{17}H_{33}ClN_2O_6S$

Poids moléculaire : 428,97 g/mol

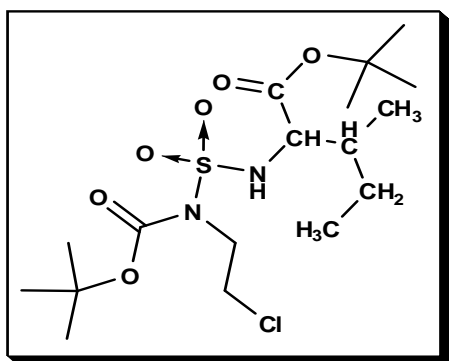
Rd = 60 %

Rf = 0.68 (CH_2Cl_2).

Pf = 182.40 °C.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 5.77(d, 1H, NHC^*), 3.89(m, 3H, $C^*H + CH_2N$), 3.56(t, 2H, CH_2Cl), 1.77(m, 3H, $CH + CH_2$), 1.49(s, 9H, 3 CH_3), 1.40(s, 9H, 3 CH_3), 0.89(d, 3H, CH_3), 0.87(d, 3H, CH_3).

Composé 6b: *N*-(*N*-BOC, *N*-(2-chloroéthyl)-sulfamoyl)-isoleucinate de *t*-butyle.
(*t*-butyl 2-(*N*-(*t*-butoxycarbonyl)-*N*-(2-chloroéthyl) sulfamoylamino)-3-méthyl pentanoate)



Formule chimique : $C_{17}H_{33}ClN_2O_6S$

Poids moléculaire : 428,97 g/mol

Rd = 58 %.

Rf = 0.78 (CH_2Cl_2).

Pf = 181.55 °C.

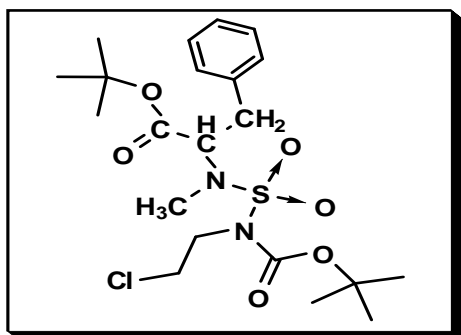
RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 5.86(d, 1H, NHC^*), 3.87(t, 2H, CH_2N), 3.78(t, 1H, C^*H), 3.56(t, 2H, CH_2Cl), 1.49(s, 9H, 3 CH_3), 1.40 (s, 9H, 3 CH_3), 0.86 (m, 8H, 2 $CH_3 + CH_2$).

I.1.3 N.Méthylation

Dans un ballon protégé par une garde à chlorure de calcium, 3 éq. de carbonate de potassium en solution dans l'acétone anhydre sont ajoutés à température ambiante et sous agitation magnétique à 1 éq. de N-t-butyloxycarbonyl, N-(2-chloroéthyl) N'-sulfamoyl aminoester et 3 éq. d'iodure de méthyle. La réaction est contrôlée par C.C.M qui montre l'apparition d'un produit moins polaire que leur précurseur. Dès que la réaction est terminée (1 heure) la solution est filtrée, diluée au dichlorométhane et lavée à l'acide chlorhydrique 0.1 N puis à l'eau jusqu' à pH neutre. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre et le solvant est évaporé sous pression réduite.

Composé 1c: *N*-BOC, *N* (2-chloroéthyl), *N'*méthyl, *N'*-sulfamoylphenylalaninate de tertbutyle.

(*t*-butyl 2-((*N*-(*t*-butoxycarbonyl)-*N*-(2-chloroéthyl) sulfamoyl)(methyl)amino)-3-phenyl propanoate)



Formule chimique: $C_{21}H_{33}ClN_2O_6S$

Poids moléculaire: 477, 01 g/mol

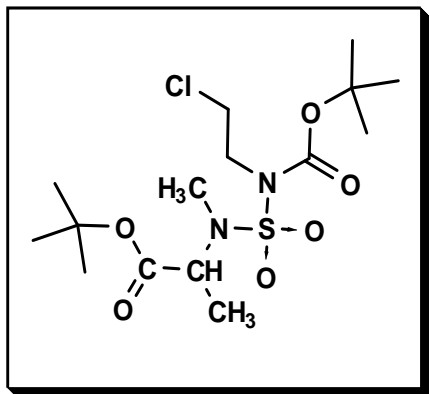
Rd = 93 %.

Pf= 120°C.

Rf = 0.87 (CH₂Cl₂).

RMN (CDCl₃, ppm): δ= 7.19(s, 5H, Ar-H), 4.62(t, 1H, C*H), 3.81(t, 2H, CH₂N), 3.54(t, 2H, CH₂Cl), 3.02(m, 5H, CH₂ + NCH₃), 1.43(s, 9H, 3CH₃), 1.31(s, 9H, 3CH₃).

Composé 2c: *N*-BOC, *N* (2-chloroéthyl), *N*'méthyl, *N*'-sulfamoylalaninate de tertbutyle.
(*t*-butyl 2-((*N*-(*t*-butoxycarbonyl)-*N*-(2-chloroéthyl) sulfamoyl) (methyl)amino) propanoate)



Formule chimique : $C_{15}H_{29}ClN_2O_6S$

Poids moléculaire: 400,92 g/mol

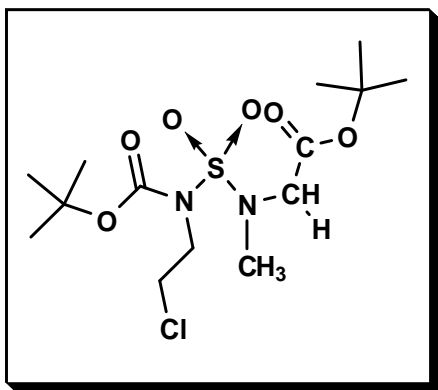
Rd = 95 %.

Rf = 0.70 (CH_2Cl_2).

Pf = 153.68 °C.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 4.51(q, 1H, C^*H), 3.90(t, 2H, CH_2N), 3.59(t, 2H, CH_2Cl), 2.91(s, 6H, $CH_3 + NCH_3$), 1.45(s, 9H, $3CH_3$), 1.40(s, 9H, $3CH_3$).

Composé 4c: *N*-BOC, *N* (2-chloroéthyl), *N*'méthyl, *N*'-sulfamoylprolinate de tertbutyle.
(*t*-butyl 2-((*N*-(*t*-butoxycarbonyl)-*N*-(2-chloroéthyl) sulfamoyl)(methyl)amino) Acetate).



Formule chimique : $C_{14}H_{27}ClN_2O_6S$

Poids moléculaire: 386,89 g/mol

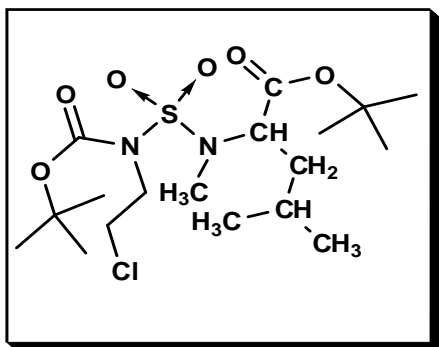
Rd = 89 %.

Rf = 0.72 (CH_2Cl_2).

Pf = 158 °C.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 3.88(m, 4H, $CH_2N + CH_2$), 3.59(t, 2H, CH_2Cl), 2.94(s, 3H, NCH_3), 1.46(s, 9H, $3CH_3$), 1.40(s, 9H, $3CH_3$).

Composé 5c: *N*-BOC, *N* (2-chloroéthyl), *N'*méthyl, *N'*-sulfamoylleucinate de tertbutyle. (*tert*-butyl2-((*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*N*-(2-chloroéthyl) sulfamoyl) (methyl)amino)-4-methylpentanoate).



Formule chimique : $C_{18}H_{35}ClN_2O_6S$

Poids moléculaire: 443,00 g/mol

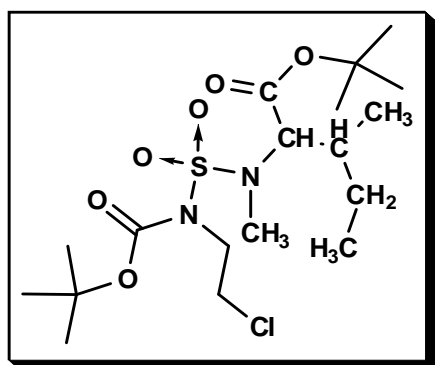
Rd = 86 %.

Rf = 0.88 (CH_2Cl_2).

Pf = 172.50 °C.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 4.29(q, 1H, *CH), 3.88(t, 2H, CH_2N), 3.58(t, 2H, CH_2Cl), 2.98(s, 3H, NCH_3), 1.56(m, 3H, $CH+CH_2$), 1.45(s, 9H, 3 CH_3), 1.39(s, 9H, 3 CH_3), 0.90(d, 6H, 2 CH_3).

Composé 6c: *N*-BOC, *N* (2-chloroéthyl), *N'*méthyl, *N'*-sulfamoylisoleucinate de tertbutyle. (*tert*-butyl2-((*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*N*-(2-chloroéthyl) sulfamoyl) (methyl) amino)-3-Methylpentanoate).



Formule chimique : $C_{18}H_{35}ClN_2O_6S$

Poids moléculaire: 443,00 g/mol

Rd = 90 %.

Rf = 0.84 (CH_2Cl_2).

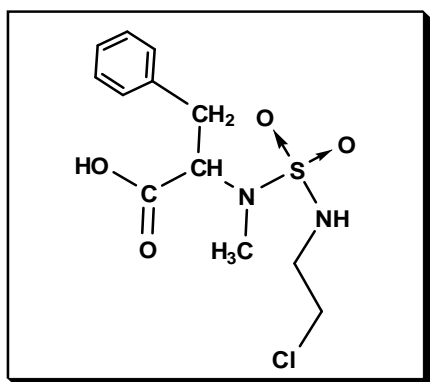
Pf = 174 °C.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 3.90(t, 2H, CH_2N), 3.72(t, 1H, C^*H), 3.60(t, 2H, CH_2Cl), 3.04(s, 3H, NCH_3), 1.44(s, 9H, 3 CH_3), 1.40 (s, 9H, 3 CH_3), 0.87 (m, 8H, 2 CH_3+CH_2).

I.1.4 Déprotection du Boc

Les N-t-butyloxycarbonyl, N-(2-chloroéthyl), N'-méthyl, N'-sulfamoylamoesters de tertibutyle (1 g), sont placés sous agitation magnétique dans 10 ml de dichlorométhane anhydre à 0°C. Une solution à 50% d'acide trifluoroacétique (6 éq.) dans du dichlorométhane anhydre est ajoutée goutte à goutte jusqu'à disparition de l'ester carbamique. La réaction est suivie sur plaque de silice éluee dans du dichlorométhane, on note l'apparition de deux produits : le produit de demi-déprotection et le produit déprotection, ce dernier étant le plus polaire. Le milieu réactionnel est distillé sous pression réduite et le résidu est coévaporé deux fois à l'éther diéthylique anhydre. Ces composés sont plus polaires que leurs précurseurs (CCM).

Composé 1d : *N*-(2-chloroéthyl), *N'*-méthyle, *N'*-sulfamoylphenylalanine.
(2-((*N*-(2-chloroéthyl)sulfamoyl)(méthyl)amino)-3-phenylpropanoic acid).



Formule chimique: $C_{12}H_{17}ClN_2O_4S$

Poids moléculaire: 320,79 g/mol

Rd = 80 %.

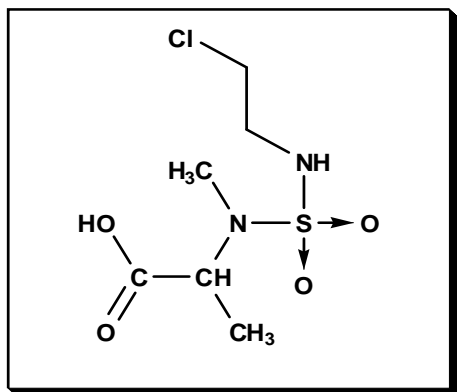
Rf = 0.30 (CH_2Cl_2).

Pf = huile.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 7.22(s, 5H, Ar-H), 4.85(t, 1H, C^*H), 3.30(m, 4H, CH_2Cl , CH_2N), 2.80(s, 3H, NCH_3), 2.68(m, 2H, CH_2).

Composé 2d: *N*-(2-chloroéthyl), *N'*-méthyle, *N'*-sulfamoylalanine.

(2-((*N*-(2-chloroéthyl)sulfamoyl)(methyl)amino)propanoic acid).



Formule chimique : $C_6H_{13}ClN_2O_4S$

Poids moléculaire: 244,70 g/mol

Rd = 75 %.

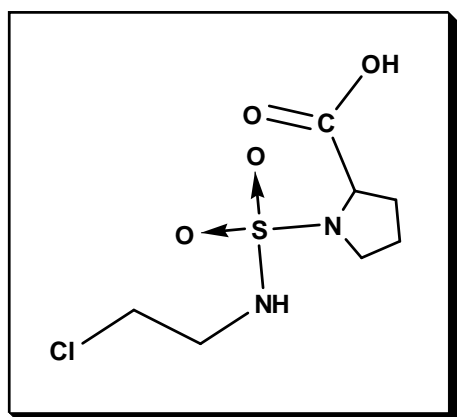
Rf = 0.20 (CH_2Cl_2).

Pf = 150 °C.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 7.19(s, 1H, NH), 4.65(q, 1H, CH^*), 3.62(q, 2H, CH_2N), 3.36(t, 2H, CH_2Cl), 2.80(m, 6H, $CH_3 + NCH_3$).

Composé 3d: *N*-(2-chloroéthyl), *N'*-méthyle, *N'*-sulfamoylproline..

(1-(*N*-(2-chloroéthyl)sulfamoyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid).



Formule chimique : $C_7H_{13}ClN_2O_4S$

Poids moléculaire: 256,71 g/mol

Rd = 70 %

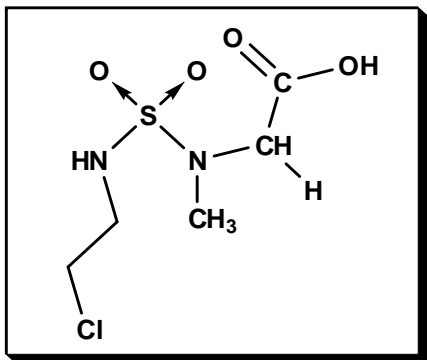
Rf = 0.22 (CH_2Cl_2).

Pf = huile.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 7.05(s, 1H, NH), 4.24(dd, 1H, C^*H), 3.48(q, 2H, CH_2N), 3.27(m, 4H, $CH_2Cl + CH_2Npro$), 2.00(m, 4H, $2CH_2$).

Composé 4d: *N*-(2-chloroéthyl), *N'*-méthyle, *N'*-sulfamoylglycine.

(2-((*N*-(2-chloroéthyl)sulfamoyl)amino)acetic acid).



Formule chimique : $C_4H_9ClN_2O_4S$

Poids moléculaire: 216,64 g/mol

Rd = 68 %.

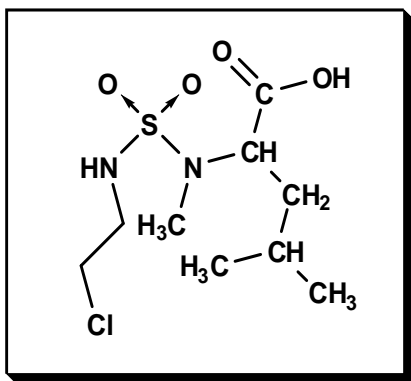
Rf = 0.23 (CH_2Cl_2).

Pf = huile.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 7.40(s, 1H, NH), 4.09 (d, 2H, CH_2), 3.69(q, 2H, CH_2N), 3.47(t, 2H, CH_2Cl), 2.96(s, 3H, NCH_3).

Composé 5d: *N*-(2-chloroéthyl), *N'*-méthyle, *N'*-sulfamoylleucine.

(2-((*N*-(2-chloroéthyl)sulfamoyl)(methyl)amino)-4-methylpentanoic acid).



Formule chimique : $C_9H_{19}ClN_2O_4S$

Poids moléculaire: 286,78 g/mol

Rd = 73 %.

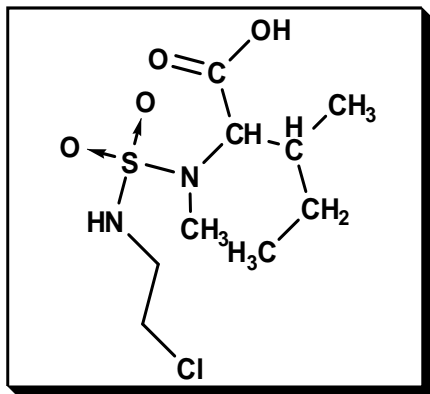
Rf = 0.25 (CH_2Cl_2).

Pf = huile.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 4.85(s, 1H, NH), 4.46(q, 1H, C^*H), 3.45(q, 2H, CH_2N), 3.20(t, 2H, CH_2Cl), 2.61(s, 3H, NCH_3), 1.45(m, 3H, $CH+CH_2$), 0.76(d, 6H, $2CH_3$).

Composé 6d: *N*-(2-chloroéthyl), *N'*-méthyle, *N'*-sulfamoylisoleucine.

(2-((*N*-(2-chloroéthyl)sulfamoyl)(méthyl)amino)-3-méthylpentanoic acid).



Formule chimique : $C_9H_{19}ClN_2O_4S$

Poids moléculaire: 286,78 g/mol

Rd = 82 %.

Rf = 0.26 (CH_2Cl_2).

Pf = huile.

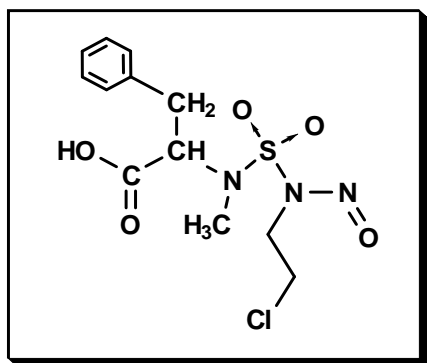
RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 4.07 (q, 2H, CH_2N), 3.49(t, 1H, C^*H), 3.20(t, 2H, CH_2Cl), 2.74(s, 3H, NCH_3), 1.43 (m, 1H, CH), 0.80 (m, 8H, $2CH_3+CH_2$).

I.1.5 Nitrosation :

Le *N*-(2-chloroéthyl) sulfamoylaminoacide (1éq.) est dissous dans un minimum de dichlorométhane à 0°C. auquel, Sont ajoutés successivement 3ml d'acide chlorhydrique concentré et trois équivalents de $NaNO_2$ par petites fractions pendant 15 à 30 min. La réaction est suivie sur plaque de silice, éluee dans le dichlorométhane. La suspension de $NaCl$ est éliminée par filtration La phase organique lavée à l'eau distillée, séchée sur sulfate de sodium anhydre, et le solvant est évaporé sous pression réduite.

Les produits nitrosés sont moins polaires que leurs précurseurs, et bien révélés à la ninhydrine. Ils se présentent sous forme d'huile. Ils sont instables en solution.

Composé 1e: *N-nitroso,N-(2-chloroéthyl), N'-métyl, N'-sulfamoylphenylalanine.*
 (2-((N-(2-chloroéthyl)-N-nitrososulfamoyl) (methyl)amino)-3-phenyl propanoic acid).



Formule chimique: $C_{12}H_{16}ClN_3O_5S$

Poids moléculaire: 349,79 g/mol

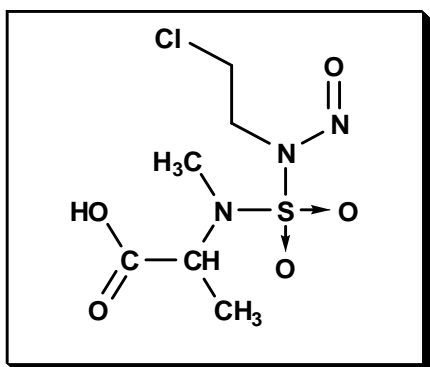
Rd = 65 %.

Rf = 0.35 (CH_2Cl_2).

Pf = huile.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 7.20(s, 5H, Ar-H), 4.82(t, 1H, C^*H), 3.42(t, 2H, CH_2NNO), 3.28(t, 2H, CH_2Cl), 2.78(s, 3H, NCH_3), 2.55(m, 2H, CH_2).

Composé 2e: *N-nitroso,N-(2-chloroéthyl), N'-métyl, N'-sulfamoylalanine.*
 (2-((N-(2-chloroéthyl)-N-nitrososulfamoyl)(methyl)amino)propanoic acid).



Formule chimique: $C_6H_{12}ClN_3O_5S$

Poids moléculaire: 273,69 g/mol

Rd = 53 %.

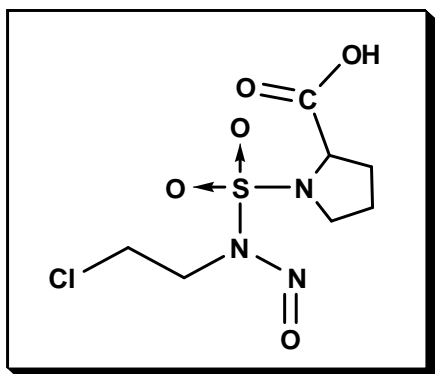
Rf = 0.25 (CH_2Cl_2).

Pf = huile.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 4.63(q, 1H, CH^*), 3.61(t, 2H, CH_2NNO), 3.35(t, 2H, CH_2Cl), 2.79(m, 6H, $CH_3 + NCH_3$).

Composé 3e: *N*-nitroso,*N*-(2-chloroéthyl), *N'*-sulfamoylproline.

(1-(*N*-(2-chloroéthyl)-*N*-nitrososulfamoyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid).



Formule chimique: $C_7H_{12}ClN_3O_5S$

Poids moléculaire: 285,71 g/mol

Rd = 50 %.

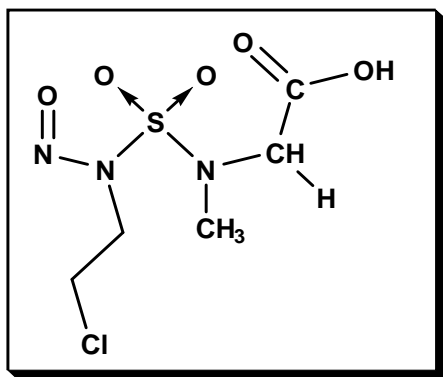
Rf = 0.30 (CH_2Cl_2).

Pf = huile.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 4.45(dd, 1H, C^*H), 3.75(t, 2H, CH_2N), 3.55(m, 4H, CH_2Cl + CH_2Npro), 2.00(m, 4H, $2CH_2$).

Composé 4e: *N*-nitroso,*N*-(2-chloroéthyl), *N'*-métyl, *N'*-sulfamoyl glycine.

(2-((*N*-(2-chloroéthyl)-*N*-nitrososulfamoyl)(methyl)amino)acetic acid).



Formule chimique: $C_5H_{10}ClN_3O_5S$

Poids moléculaire: 259,67 g/mol

Rd = 59 %.

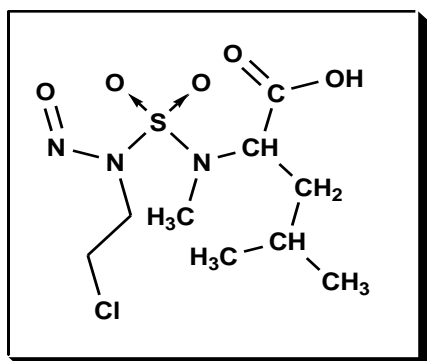
Rf = 0.26 (CH_2Cl_2).

Pf = huile.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 4.10 (d, 2H, CH_2), 3.72(t, 3H, CH_2NNO), 3.49(t, 3H, CH_2Cl); 2.99(s, 3H, NCH_3).

Composé 5e: *N*-nitroso,*N*-(2-chloroéthyl), *N*'-méthyl, *N*'-sulfamoylleucine.

(2-((*N*-(2-chloroéthyl)-*N*-nitrososulfamoyl)(méthyl)amino)-4-méthylpentanoic Acid).



Formule chimique: $C_9H_{18}ClN_3O_5S$

Poids moléculaire: 315,77 g/mol

Rd = 67 %.

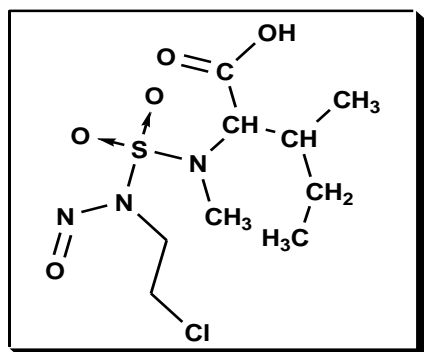
Rf = 0.40 (CH_2Cl_2).

Pf = huile.

RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 4.59 (q, 1H, C^*H), 3.61 (t, 2H, CH_2Cl), 3.42 (t, 2H, CH_2NNO), 2.99 (s, 3H, NCH_3), 1.66 (m, 3H, $CH+CH_2$), 0.90 (d, 6H, $2CH_3$).

Composé 6e: *N*-nitroso,*N*-(2-chloroéthyl), *N*'-méthyl, *N*'-sulfamoylIsoleucine.

(2-((*N*-(2-chloroéthyl)-*N*-nitrososulfamoyl)(méthyl)amino)-3-méthylpentanoic Acid).



Formule chimique: $C_9H_{18}ClN_3O_5S$

Poids moléculaire: 315,77 g/mol

Rd = 73 %.

Rf = 0.35 (CH_2Cl_2).

Pf = huile.

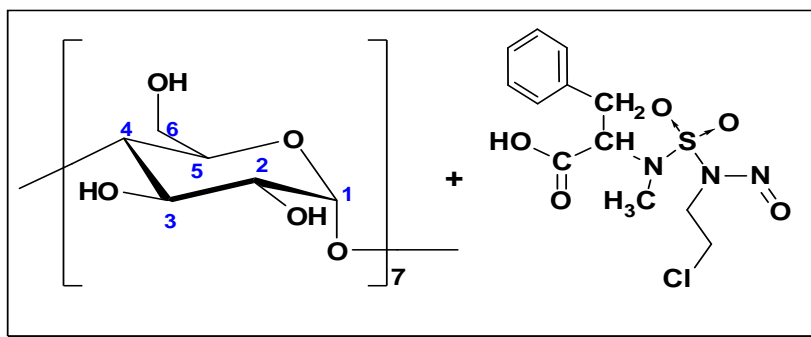
RMN ($CDCl_3$, ppm): δ = 4.22 (t, 2H, CH_2Cl), 3.60 (t, 1H, C^*H), 3.40 (t, 2H, CH_2NNO), 3.08 (s, 3H, NCH_3), 1.59 (m, 1H, CH), 0.93 (m, 8H, $2CH_3+CH_2$).

I.2 Méthode de la préparation des complexes d'inclusion CENS- β -CD à l'état Solide

La préparation des complexes d'inclusion à l'état solide des CENS dérivés d'acide aminé (phénylalanine, alanine, proline, glycine, leucine, isoleucine) consiste à préparer une solution de 2% de β -CD dans l'eau et sous agitation magnétique on ajoute 1 éq de CENS dans peu de méthanol. La réaction a été suivie par CCM qui montre l'apparition d'un nouveau produit et disparition des précurseurs.

Le mélange est laissé pendant 24 heures à température ambiante et sous agitation magnétique à l'air libre pendant 24 heures, jusqu'à l'apparition d'un précipité, ce dernier est filtré, rincé avec peu d'eau distillé froid pour éliminer l'excès de La β -CD qui ne réagit puis sèche sous vide.

C1 \equiv Complexe d'Inclusion (β -CD + CENS1).



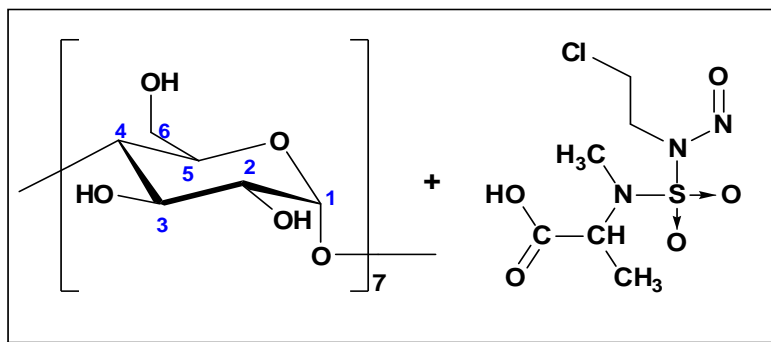
Poids moléculaire: 1684.79 g/mol

R_f = 0.79 (CH₃Cl/ HCl : 99/1).

P_f = 268°C

IR (KBr, ν cm⁻¹): OH à 3410, N=O à 1615, SO₂ à 1335, 1154.

C2 \equiv Complexe d'Inclusion (β -CD + CENS2).



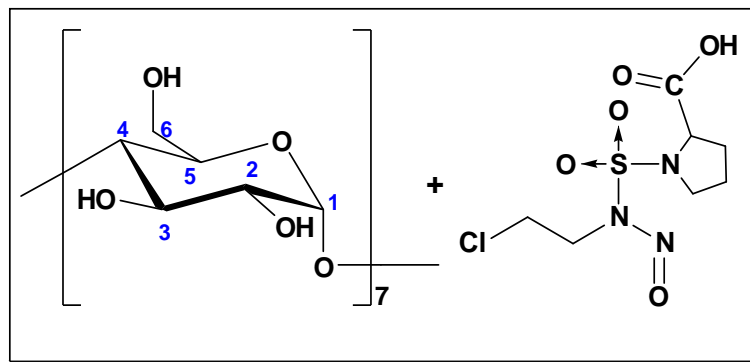
Poids moléculaire: 1608.69 g/mol

Rf = 0.45 (CH₃Cl/ HCl : 99/1).

Pf = 245°C

IR(KBr, ν cm⁻¹): OH à 3350, N=O à 1620, SO₂ à 1355, 1143.

C3 ≡ Complexe d'Inclusion (β-CD + CENS3).



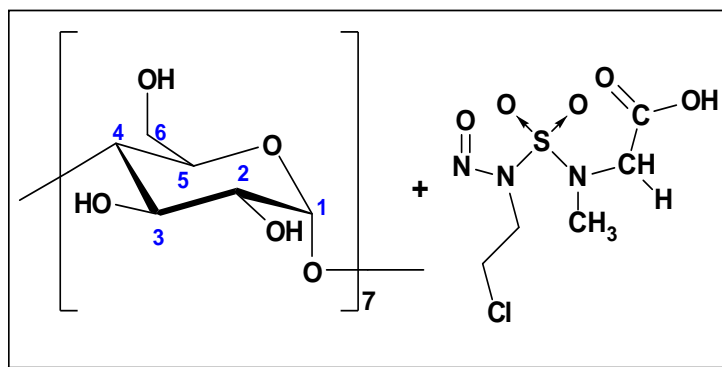
Poids moléculaire: 1620.71 g/mol

Rf = 0.60 (CH₃Cl/ HCl : 99/1).

Pf = 210°C.

IR(KBr, ν cm⁻¹): OH à 3347, N=O à 1637, SO₂ à 1382, 1157.

C4 ≡ Complexe d'Inclusion (β-CD + CENS4).



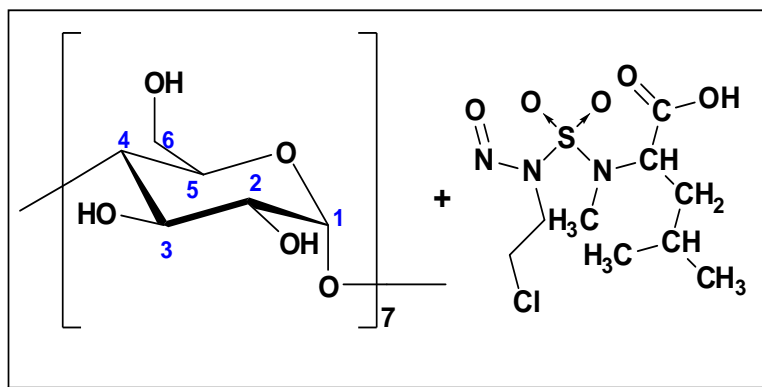
Poids moléculaire: 1594.67 g/mol

Rf = 0.39 (CHCl₃/ HCl : 99/1).

Pf = 230°C.

IR(KBr, ν cm⁻¹): OH à 3300, N=O à 1615, SO₂ à 1381, 1131

C5 ≡ Complexe d'Inclusion (β -CD + CENS5).



Poids moléculaire: 1650.77 g/mol

Rf = 0.70 (CH₃Cl/ HCl : 99/1).

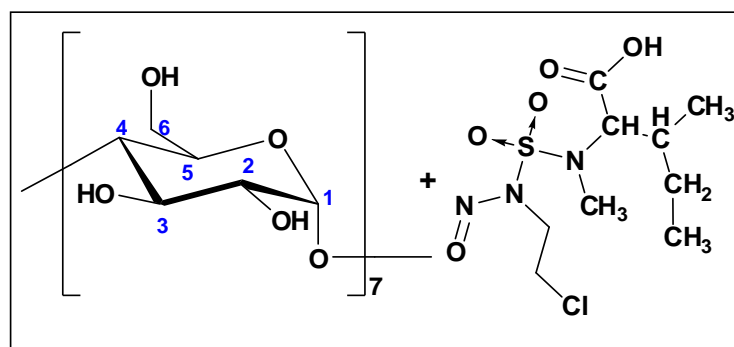
Pf = 225°C.

IR(KBr, ν cm⁻¹): OH à 3347, N=O à 1637, SO₂ à 1397, 1157.

RMN (CDCl₃, ppm): δ = 4.81 (d, 1H, H₁), 4.52 (q, 1H, C^{*}H), 3.80 (t, 2H, CH₂Cl), 3.70 (t, 1H, H₃), 3.60 (m, 2H, H_{5,6}), 3.55 (dd, 1H, H₂), 3.35 (t, 1H, H₄), 3.2 (t, 2H, CH₂NNO), 2.95 (s, 3H, CH₃N), 1.09-1.23 (m, 3H, CH+CH₂), 0.88 (t, 6H, 2CH₃).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z (β -CD) = 1134 [M + H]⁻, m/z (5 e) = 315 [M + H]⁻.

C6 ≡ Complexe d'Inclusion (β -CD + CENS6).



Poids moléculaire: 1650.77 g/mol

Rf = 0.72 (CH₃Cl/ HCl : 99/1).

Pf = 228°C.

IR(KBr, ν cm⁻¹): OH à 3344, N=O à 1635, SO₂ à 1394, 1155.

RMN (CDCl₃, ppm): δ = 4.84 (d, 1H, H₁), 4.50 (t, 2H, CH₂Cl), 3.72 (t, 1H, H₃), 3.65 (t, 2H, CH₂NNO), 3.59 (m, 2H, H_{5,6}), 3.54 (t, 1H, C^{*}H), 3.50 (dd, 1H, H₂), 3.35 (t, 1H, H₄), 2.98 (s, 3H, CH₃N), 1.09-1.23 (m, H, CH), 0.88 (t, 8H, CH₂ + 2CH₃).

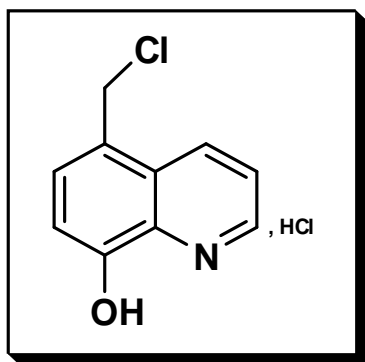
SM (ESI/ESI⁺) : m/z (β -CD) = 1134 [M + H]⁻, m/z (6 e) = 315 [M + H]⁻.

II.1 Synthèse des dérivés du quinoléin-8-ol

II.1.1 chlorométhylation de la quinoléin-8-ol

Un mélange de 10 g de quinoléin-8-ol (ou 8-hydroxyquinoléine), 10 ml de formaldéhyde à 37 % et 10 ml d'acide chlorhydrique à 32 % a été traité par ajout de chlorure d'hydrogène gazeux pendant 30 min sous agitation et dans un bain eau- glace. La solution a ensuite été laissée sous agitation à température ambiante pendant 24 h. Le mélange a été ensuite filtré et le composé **1** a été obtenu sous forme d'un solide jaune, lavé à l'eau puis séché.

Composé **1** : 5-(chlorométhyl) quinolin-8-ol



Formule chimique: $C_{10}H_9Cl_2NO$

Poids moléculaire: 229, 01 g/mol

Rd= 95%

Rf (CH₂Cl₂/MeOH: 95/ 5) = 0, 42

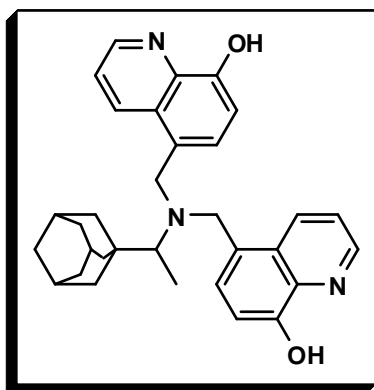
Pf = 138–140 °C.

IR (cm⁻¹): 3031, 2726, 1578, 1522, 1430, 1338, 1000.

RMN ¹H (DMSO-d₆, ppm): δ= 8.85 (d, 1H, Ar-H), 8.51(d, 1H, Ar-H), 7.57 (m, 1H, Ar-H), 7.40 (d, 1H, Ar-H), 7.00 (d, 1H, Ar-H), 4.82 (s, 2H, ArCH₂OH).

II.1.2 Synthèse des composés bis (N-(5-méthyl)-quinoléin-8-ol) amine N-substitués

1eq. de dérivés aminés, 2 eq. du composé **1** et 3 eq de K₂CO₃ ont été solubilisés dans 25 ml d'acétonitrile. Les réactifs ont été chauffés à 50 °C. Après 24 h, le mélange a été refroidi puis filtré, le lavage a été réalisé avec 3 x 30 ml d'AcOEt. Le filtrat a été récupéré et évaporé. Le produit a ensuite été purifié par une chromatographie sur colonne de silice (CH₂Cl₂/MeOH 95 : 5). Le produit à été obtenu sous forme d'un solide amorphe.

Composé 2: 5,5'-(1-(1-adamantyl)ethylaminylazanediyl) bis (methylene) diquinolin-8-ol

Formule chimique: $C_{32}H_{35}N_3O_2$

Poids moléculaire: 493.3 g/mol.

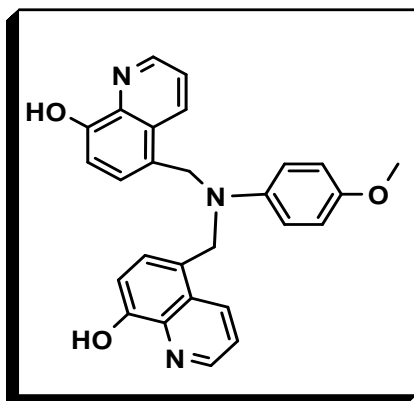
m = 0.18 g

Rd = 78%

Rf = 0.76 (AcOEt / MeOH / NH₃ (12/3/1)).

RMN ¹H (DMSO-d₆, ppm): δ = 0.99 (d, 1H, CH), 1.10 (d, 3H, CH₃), 1.22 (m, 4H, 4CH), 1.56 (m, 6H, 6CH), 1.97 (m, 1H, CH), 2.75 (q, 1H, CH), 3.37 (s, 4H, 2CH₂), 6.93 (d, 2H, Ar-H), 7.17 (d, 2H, Ar-H), 7.55 (m, 2H, Ar-H), 8.56 (d, 2H, Ar-H), 8.84 (d, 2H, Ar-H).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z = 494.3 [M + H]⁺.

Composé 3 : 5, 5' (4-methoxyphenylazanediyl) bis (methylene) diquinolin-8-ol

Formule chimique: $C_{27}H_{23}N_3O_3$

Poids moléculaire: 437.49 g/mol.

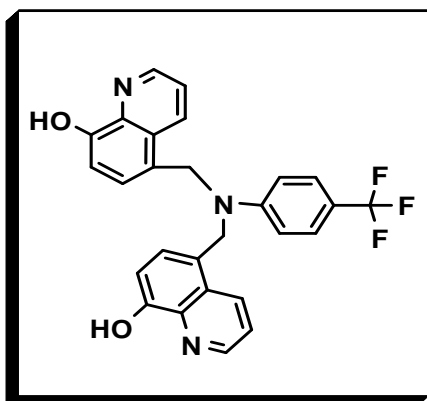
m = 1 g.

Rd = 56%.

Rf = 0.48 (DCM/MeOH (95/5)).

RMN ¹H (CDCl₃, ppm): δ = 3.88 (s, 3H, CH₃), 4.69 (s, 4H, 2CH₂), 6.83 (d, 2H, Ar-H), 6.91 (d, 2H, Ar-H), 7.23 (d, 2H, Ar-H), 7.39 (d, 2H, Ar-H), 7.57 (m, 2H, Ar-H), 8.31 (d, 2H, Ar-H), 8.56 (d, 2H, Ar-H), 8.92 (s, 2H, OH).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z = 438.2 [M + H]⁺, 460.1 [M + Na]⁺.

Composé 4: 5,5' (4-(trifluorométhyl) phénylazanediy) bis (méthylène) diquinolin-8-ol

Formule chimique: $C_{27}H_{20}F_3N_3O_2$

Poids moléculaire: 475.46 g/mol

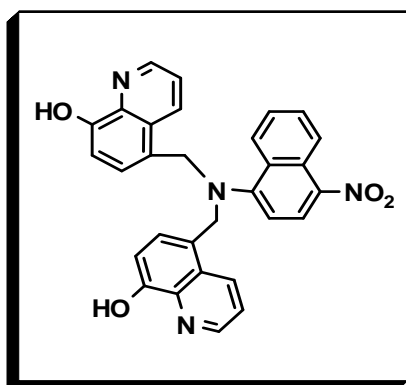
m = 0.17 g.

Rd = 58%.

Rf = 0.73 (AcOEt (100%)).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): δ = 4.58 (s, 4H, 2CH₂), 6.63 (d, 2H, Ar-H), 7.10 (d, 4H, Ar-H), 7.39 (d, 2H, Ar-H), 7.46 (m, 2H, Ar-H), 8.33 (d, 2H, Ar-H), 8.77 (d, 2H, Ar-H).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z = 476.1 [M + H]⁺.

Composé 5 : 5,5' (4-nitronaphtalène-1-ylazanediy) bis (méthylène) diquinolin-8-ol

Formule chimique: $C_{30}H_{22}N_4O_4$

Poids moléculaire: 502.52 g/mol.

m = 0.83 g.

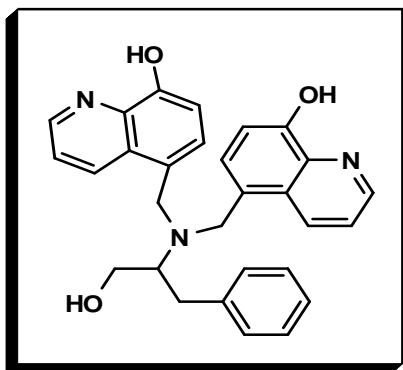
Rd = 61%.

Rf = 0.68 (DCM/MeOH (95/5)).

RMN 1H (MeOH- d_4 , ppm): δ = 4.60 (s, 4H, 2CH₂), 6.83 (m, 5H, Ar-H), 7.31 (m, 4H, Ar-H), 8.25 (m, 4H, Ar-H), 8.71 (m, 3H, Ar-H).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z = 503.1 [M + H]⁺, 525.2 [M + Na]⁺.

Composé 6: 5,5'-(1-hydroxy-3-phenylpropan-2-ylazanediyl) bis (methylene) diquinolin-8-ol



Formule chimique: $C_{29}H_{27}N_3O_3$

Poids moléculaire: 465.54 g/mol

m = 1.7g.

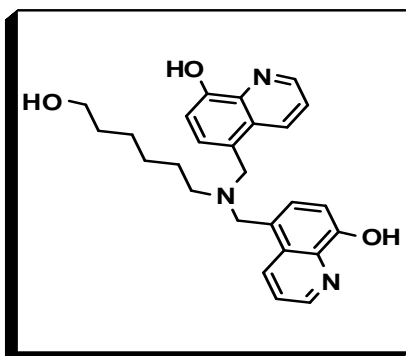
Rd: 55%

Rf = 0.64 (DCM/MeOH (95/5)).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): δ = 2.68 (d, 2H, CH_2), 3.30 (m, 1H, NCH), 3.60 (s, 4H, $2CH_2$), 3.93(d, 2H, OCH_2), 4.82 (s, 1H, OH), 6.90 (d, 2H, Ar-H), 7.02 (d, 2H, Ar-H), 7.20 (m, 2H, Ar-H), 8.04 (d, 2H, Ar-H), 8.58 (d, 2H, Ar-H).

SM (ESI/ESI $^+$) : m/z = 466.2 $[M + H]^+$.

Composé 7 : 5-5'-(6-hydroxyhexylazanediyl) bis (methylene) diquinolin-8-ol



Formule chimique: $C_{26}H_{29}N_3O_3$

Poids moléculaire: 431.53 g/mol

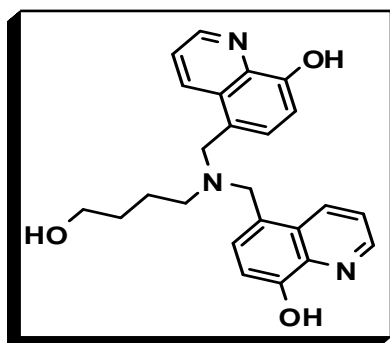
m = 0.7 g.

Rd = 62%.

Rf = 0.59 (AcOEt (100%)).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): δ = 1.28 (m, 4H, $2CH_2$), 1.52 (m, 4H, $2CH_2$), 2.16 (t, 2H, NCH_2), 3.22 (t, 2H, OCH_2), 3.57 (s, 4H, $2CH_2$), 4.17 (s, 1H, OH), 6.99 (d, 2H, Ar-H), 7.21 (d, 2H, Ar-H), 7.40 (m, 2H, Ar-H), 8.23 (d, 2H, Ar-H), 8.74 (d, 2H, Ar-H).

SM (ESI/ESI $^+$) : m/z = 432.1 $[M + H]^+$.

Composé 8 : 5-5'-(4-hydroxybutylazanediyl)bis(méthylène)diquinolin-8-ol

Formule chimique: $C_{24}H_{25}N_3O_3$

Poids moléculaire: 403.47 g/mol

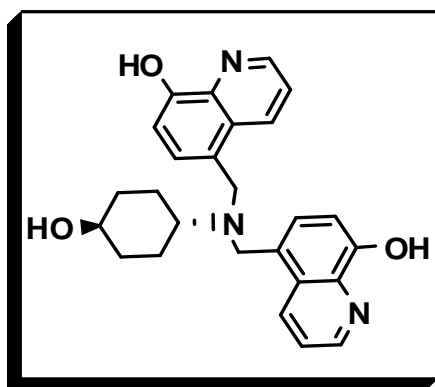
m = 0.78 g.

Rd = 58%

Rf = 0.37 (AcOEt (100%)).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): δ = 1.66 (m, 2H, CH_2), 1.80 (m, 2H, CH_2), 3.00 (t, 2H, CH_2), 3.64 (t, 2H, CH_2), 4.87 (s, 5H, 2 CH_2 , OH), 7.41 (d, 2H, Ar-H), 7.96 (d, 2H, Ar-H), 8.05 (m, 2H, Ar-H), 9.07 (d, 2H, Ar-H), 9.22 (d, 2H, Ar-H).

SM (ESI/ESI $^+$) : m/z = 404.2 [M + H] $^+$.

Composé 9 : 5,5'-((1r, 4r)-4-hydroxycyclohexylazanediyl) bis (méthylène) diquinolin-8-ol

Formule chimique: $C_{26}H_{27}N_3O_3$

Poids moléculaire: 429.51 g/mol

m = 0.66 g.

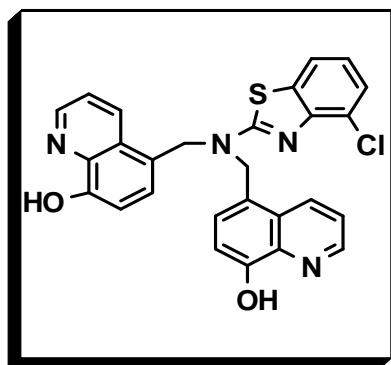
Rd = 60%

Rf = 0.40 (AcOEt (100%))

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): δ = 1.62 (m, 4H, 2 CH_2), 1.94 (m, 4H, 2 CH_2), 2.51 (m, 1H, NCH), 3.49 (m, 1H, OCH), 3.90 (s, 4H, 2 CH_2), 4.45 (s, 1H, OH), 7.05 (d, 2H, Ar-H), 7.26 (d, 2H, Ar-H), 7.86 (m, 2H, Ar-H), 8.19 (d, 2H, Ar-H), 8.71 (d, 2H, Ar-H).

SM (ESI/ESI $^+$) : m/z = 430.3 [M + H] $^+$

Composé 10 : 5, 5'-(4-chlorobenzo[d]thiazol-2-ylazanediyl) bis (methylene) diquinolin-8-ol



Formule chimique: $C_{27}H_{19}ClN_4O_2S$

Poids moléculaire: 498.98 g/mol.

m = 0.82 g.

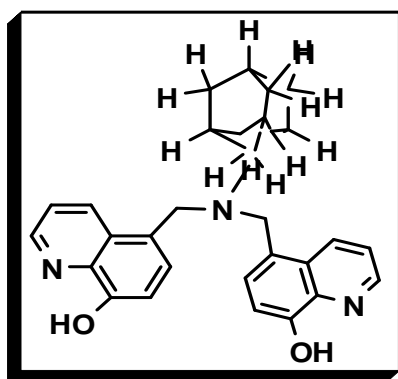
Rd = 61%

Rf = 0.62 (AcOEt (100%)).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): δ = 5.03 (s, 4H, 2CH₂), 7.18 (m, 3H, Ar-H), 7.46 (m, 3H, Ar-H), 7.63 (m, 3H, Ar-H), 8.38 (d, 2H, Ar-H), 8.72 (d, 2H, Ar-H).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z = 499.1 [M + H]⁺.

Composé 11 : 5,5'-(2-Adamantanaminylazanediyl) bis (methylene) diquinolin-8-ol.



Formule chimique: $C_{30}H_{31}N_3O_2$

Poids moléculaire: 465.59 g/mol

m = 0.95 g.

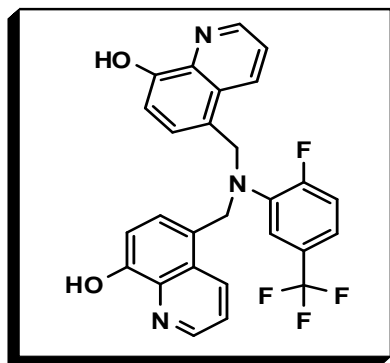
Rd = 62%.

Rf = 0.56 (DCM/MeOH (95/5)).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): δ = 1.24 (m, 3H, CH), 1.58 (m, 7H, 5CH, 1CH₂), 1.99 (m, 2H, CH), 2.19 (m, 2H, CH), 2.97 (t, H, CH), 4.22 (s, 4H, 2CH₂), 7.05 (d, 2H, Ar-H), 7.21 (d, 2H, Ar-H), 7.47 (m, 2H, Ar-H), 8.60 (d, 2H, Ar-H), 8.72 (d, 2H, Ar-H).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z = 466.2 [M + H]⁺.

Composé 12 : 5,5'-(2-fluoro-5-(trifluorométhyl) phenylazanediy) bis (méthylène) diquinolin-8-ol



Formule chimique: $C_{27}H_{19}F_4N_3O_2$

Poids moléculaire: 493.45 g/mol.

m = 0.75 g.

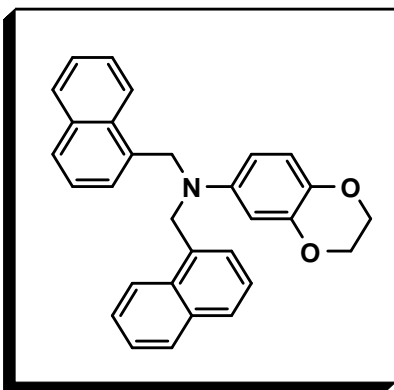
Rd = 54%.

Rf = 0.81 (AcoEt (100%)).

RM N 1H ($CDCl_3$, ppm): δ = 4.59 (s, 4H, 2CH₂), 6.63 (m, 3H, Ar-H), 6.77 (d, 2H, Ar-H), 6.86 (d, 2H, Ar-H), 7.26 (m, 2H, Ar-H), 8.47 (d, 2H, Ar-H), 8.56 (d, 2H, Ar-H).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z = 494.1 [M + H]⁺.

Composé 13 : N, N-bis (naphthalen-1-ylméthyl)-2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-amine.



Formule chimique: $C_{30}H_{25}NO_2$

Poids moléculaire: 465.50 g/mol.

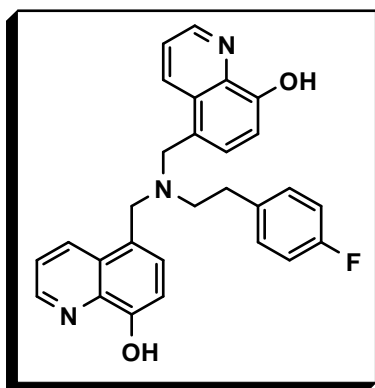
m = 0.84 g.

Rd = 55%.

Rf = 0.78 (AcOEt/DCM (50/50)).

RNM 1H ($CDCl_3$, ppm): δ = 3.29 (s, 4H, 2CH₂), 4.47 (s, 4H, 2CH₂), 5.63 (s, 1H, Ar-H), 6.36 (d, 1H, Ar-H), 6.57 (d, 1H, Ar-H), 7.00 (d, 2H, Ar-H), 7.43 (d, 2H, Ar-H), 7.56 (m, 2H, Ar-H), 8.50 (d, 2H, Ar-H), 8.85 (d, 2H, Ar-H), 9.59 (d, 2H, 2OH).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z = 466.1 [M + H]⁺.

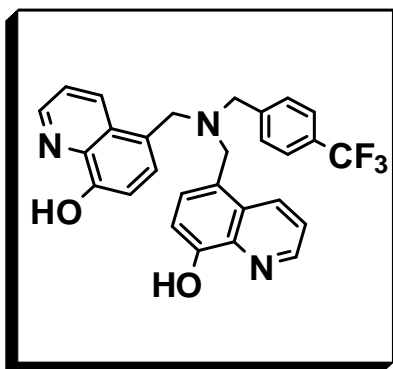
Composé 14 : 5, 5'-(4-fluorophenethylazanediyl) bis (methylene)diquinolin-8-ol**Formule chimique:** $C_{28}H_{24}FN_3O_2$ **Poids moléculaire:** 453.51 g/mol.

m = 1.27 g.

Rd = 78%

Rf = 0.62 (DCM/MeOH (99/1)).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): δ = 2.50 (t, 2H, CH_2), 2.79 (t, 2H, CH_2), 3.05 (s, 4H, $2CH_2$), 6.79 (d, 2H, Ar-H), 6.92 (d, 4H, Ar-H), 7.05 (d, 2H, Ar-H), 7.46 (m, 2H, Ar-H), 8.51 (d, 2H, Ar-H), 8.68 (d, 2H, Ar-H), 9.15 (s, 2H, OH).

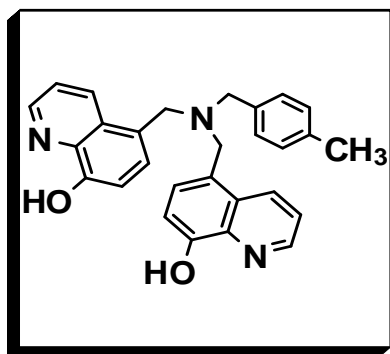
SM (ESI/ESI $^+$) : m/z = 454.2 $[M + H]^+$.**Composé 15** : 5,5'-(4-(trifluorométhyl) benzylazanediyl) bis (methylene)diquinolin-8-ol**Formule chimique:** $C_{28}H_{22}F_3N_3O_2$ **Poids moléculaire:** 489,49 g/mol

Rd = 91 %.

Rf (CH_2Cl_2 /MeOH 95/5) = 0.4.

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): δ = 3,55 (s, 2H, CH_2), 3,84 (s, 4H, Ar-H), 7,12-7,07 (m, 4H, Ar-H), 7,17 (m, 2H, Ar-H), 7,41 (m, 2H, Ar-H), 7,51 (m, 2H, Ar-H), 7,86 (d, 2H, Ar-H), 8,73 (d, 2H, Ar-H).

SM (ESI/ESI $^+$) : m/z = 490 $[M + H]^+$.

Composé 16 : 5,5'-(4-(methyl) benzylazanediy) bis (methylene)diquinolín-8-ol

Formule chimique : $C_{28}H_{25}N_3O_2$

Poids moléculaire : 435,52 g/mol

Rd = 89 %.

Rf (CH₂Cl₂/MeOH 95 / 5) = 0,37.

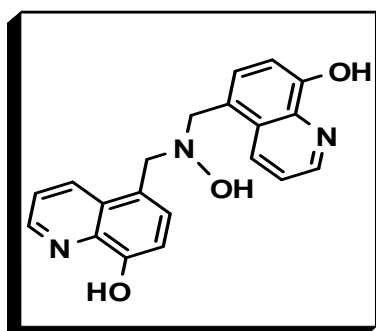
RMN 1H (CDCl₃, ppm) = 2,30 (s, 3H, CH₃), 3,43 (s, 2H, CH₂), 3,79 (s, 4H, 2CH₂), 7,06-6,98 (m, 8H, Ar-H), 7,38-7,35 (m, 2H, Ar-H), 7,92-7,87 (m, 2H, Ar-H), 8,69-8,67 (m, 2H, Ar-H).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z = 436[M+H]⁺.

Composé 17 : 5-5'-(hydroxyazanediy) bis (methylene) diquinolín-8-ol

A une suspension de 3 eq de 5-chlorométhyl-8-hydroxyquinolilne dans du DMF anhydre (20 ml) et ajouté 1éq de hydroxylamine sulfate sous agitation magnétique et atmosphère d'azote. Après 24h de chauffage au reflux de DMF (180-190°C), le milieu réactionnel est filtré (élimination de KCl formé lors de la réaction) et le filtrat refroidi a l'aide d'un bain d'eau glacée, on additionne de l'eau par petites portions jusqu'à la formation d'un précipité.

Le solide est récupéré par filtration et la phase aqueuse est extrait avec de l'acétate d'éthyle et évaporées sous pression réduite pour récupérer la quantité restante du produit.



Formule chimique: $C_{20}H_{17}N_3O_3$

Poids moléculaire: 347,37 g/mol

m = 0.7 g.

Rd = 92%.

Rf = 0.63 (MeOH/TEA (99/1))

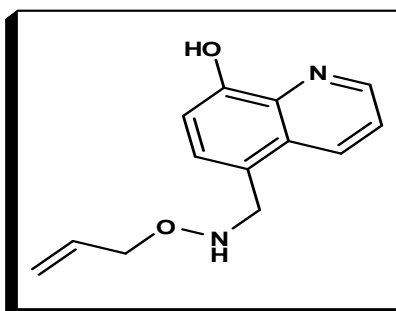
$^1\text{H NMR}$ (MeOH- d_4 , ppm): δ = 8.84 (d, 1H, Ar-H), 8.38 (d, 1H, Ar-H), 7.86 (d, 1H, Ar-H), 7.63 (m, 1H, Ar-H), 7.07 (d, 1H, Ar-H), 3.20 (s, 2H, $-\text{CH}_2$).

II.1.3 Préparation de dérivés du mono-quinoléin-8-ol

1 eq. de dérivés aminés, 1.1 eq. du composé **1** et 1.5 eq. de K_2CO_3 ont été solubilisés dans 20 ml de CH_3CN . Les réactifs ont été chauffés à 50 °C. Après 48 h, le mélange a été refroidi puis filtré, le lavage a été réalisé avec 3 x 60 ml d'AcOEt. Le filtrat a été récupéré et évaporé. Le produit a ensuite été purifié par une chromatographie sur colonne de silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 90 : 10).

Le composé **20** est respectivement l'un des produits secondaires récupérés à la suite de la chromatographie sur colonne de silice lors de la synthèse du composé **10**.

Composé **18** : 5-((allyloxyamino) methyl) quinolin-8-ol



Formule chimique: $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$

Poids moléculaire: 230.26 g/mol

m = 0.15 g.

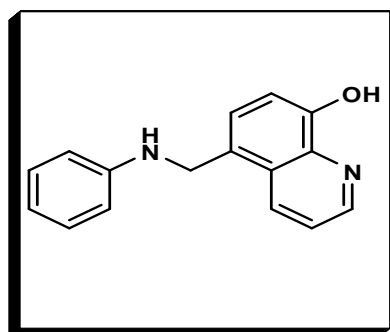
Rd = 72 %.

Rf = 0.50 (AcOEt / MeOH/ NH_3 (12/3/1)).

RMN^1H (DMSO- d_6 , ppm): δ = 2.31 (s, 1H, NH), 3.33 (s, 2H, CH_2), 4.18 (d, 2H, OCH), 4.46 (d, 2H, $=\text{CH}_2$), 4.75 (m, 1H, $=\text{CH}$), 7.83 (d, 1H, Ar-H), 8.24 (d, 1H, Ar-H), 8.35 (m, 1H, Ar-H), 8.52 (d, 1H, Ar-H), 9.31 (d, 1H, Ar-H), 9.67 (s, 1H, OH).

SM (ESI/ESI $^+$) : m/z = 231.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 269.1 $[\text{M} + \text{K}]^+$.

Composé **19** : 5-((phenylamino) methyl) quinolin-8-ol



Formule chimique: $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$

Poids moléculaire: 250.3 g/mol

m = 0.2 g.

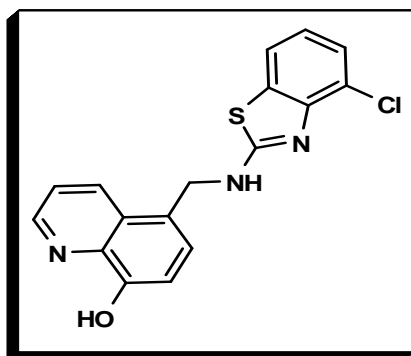
Rd = 81 %).

Rf = 0.26 (AcoEt (100%)).

RMN ¹H (DMSO-d₆, ppm): δ= (s, 2H, CH₂), 6.52 (d, 2H, Ar-H), 6.98 (m, 5H, Ar-H), 7.56(m, 1H, Ar-H), 8.46 (d, 1H, Ar-H), 8.88 (d, 1H, Ar-H), 9.67 (S, 1H, OH).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z = 251.2 [M + H]⁺

Composé 20 : 5-((4-chlorobenzo[d]thiazol-2-ylamino)methyl)quinolin-8-ol



Formule chimique: C₁₇H₁₂ClN₃OS

Poids moléculaire: 341 g/mol

m = 0.59 g.

Rd = 64%.

Rf= 0.44 (DCM/MeOH (99/1)).

RMN ¹H (MeOH-d₄, ppm): δ= 4.87 (S, 2H, CH₂), 6.85 (m, 2H, Ar-H), 7.11 (m, 1H, Ar-H), 7.38 (m, 2H, Ar-H), 8.32 (d, 1H, Ar-H), 8.50 (d, 1H, Ar-H), 8.64 (d, 1H, Ar-H).

SM (ESI/ESI⁺) : m/z =342 [M + H]⁺ , 364 [M + Na]⁺

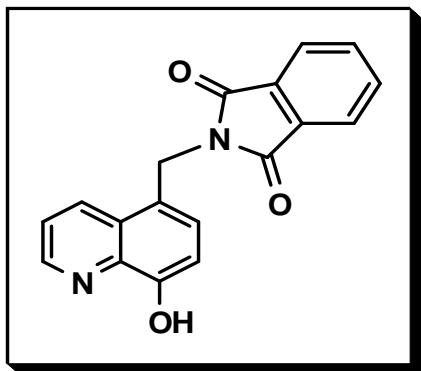
II.2 Synthèse du quinoléin-8-ol dérivé des imines

II.2.1 Synthèse de 5-(aminométhyl) quinolin-8-ol

a- Préparation de 2-((8hydroxyquinoline-5-yl)méthyl)isoindoline-1,3-dione

A une suspension de 1.1 eq de 5-chlorométhyl-8-hydroxyquinolinolne dans du DMF anhydre (20ml) et ajouté 1.5éq de phtalimidure de potassium sous agitation magnétique et azote. Après 24h de chauffage au reflux de DMF (180-190°C), le milieu réactionnel est filtré (élimination de KCl formé lors de la réaction) et le filtrat refroidi a l'aide d'un bain d'eau glacée, on additionne de l'eau par petites portions jusqu'à la formation d'un précipité.

Le solide est récupéré par filtration et la phase aqueuse est extrait avec de l'acétate d'éthyle et évaporées sous pression réduite pour récupérer la quantité restante du produit.

Composé 21 : 2-((8-hydroxyquinolin-5-yl)méthyl)isoindoline-1,3-dione

Formule chimique: $C_{18}H_{12}N_2O_3$

Poids moléculaire: 304,30 g/mol

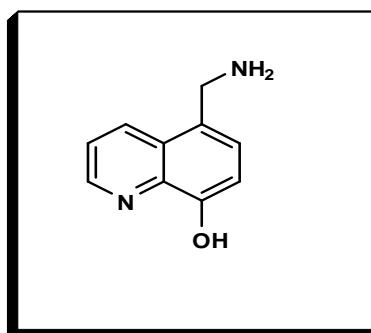
m = 1.00 g.

Rd = 86 %.

Rf = 0.74 (MeOH/TEA (99/1)).

b- Déprotection de 2-((8-hydroxyquinolin-5-yl)méthyl)isoindoline-1,3-dione

Le 2-((8hydroxyquinoline-5-yl) méthyl) isoindoline-1,3-dione (1g) est additionné à 20ml d'HCl 32 % sous atmosphère d'azote. Le mélange réactionnel est agité pendant 9h à reflux jusqu'à ce que le mélange est devenu transparent, après refroidissement à température ambiante, le solide obtenue est filtré et lavé avec un minimum d'eau. On récupère le composé sous la forme d'un solide marron.

Composé 22 : 5-(aminométhyl)quinolin-8-ol.

Formule chimique: $C_{10}H_{10}N_2O$

Poids moléculaire: 174,20 g/mol

m = 0.90g.

Rd = 37%.

Rf = 0.26 (MeOH/TEA (99/1)).

RMN 1H (MeOH- d_4 , ppm): δ = 8.05 (d, 1H, Ar-H), 7.74 (d, 1H, Ar-H), 7.64 (d, 1H, Ar-H), 6.65 (m, 1H, Ar-H), 6.37 (d, 1H, Ar-H), 3.28(s, 2H, $-CH_2$).

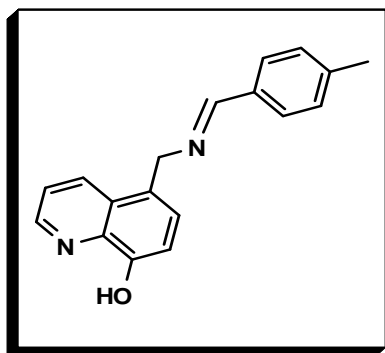
SM (ESI/ESI $^+$) : m/z = 175 [M + H] $^+$.

II.2.2 Préparation des dérivés imines

Dans un ballon de 50ml on introduit le 5-(aminométhyl) quinolin-8-ol (100mg, 1eq) l'aldéhyde (1eq), puis on rajoute le minimum de méthanol sec le milieu réactionnel est porté au reflux pendant 6-24h et sous agitation magnétique.

Le traitement de la réaction consiste à une évaporation de méthanol puis une purification sur plaque de silice. On récupère le composé sous forme de solide jaune qui est placé au dessiccateur sous atmosphère de P₂O₅ pendant une nuit.

Composé 23: 5-((4-méthylbenzylidèneamino) méthyl) quinoline-8-ol



Formule chimique: C₁₈H₁₆N₂O

Poids moléculaire: 276,33 g/mol

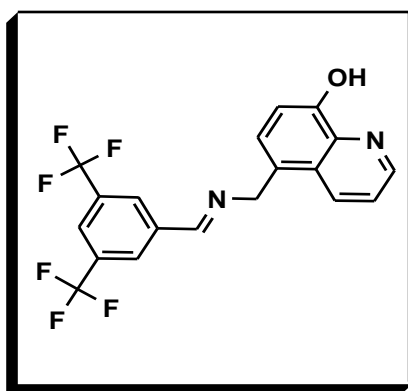
m = 0.07g

Rd = 51%.

Rf = 0.68 (MeOH/TEA (90/10)).

RMN ¹H (MeOH- d₄, ppm): δ = 8.75(d, 1H, Ar-H), 8.52(d, 1H, Ar-H), 8.11 (d, 1H, CH), 7.78 (d, 1H, Ar-H), 7.56 (m, 1H, Ar-H), 7.17(d, 1H, Ar-H), 2.30 (s, 2H, CH₂).

Composé 24: 5-((3, 5-bis (trifluorométhyl) benzylidèneamino) méthyl) quinolin-8-ol



Formule chimique: C₁₉H₁₂F₆N₂O

Poids moléculaire: 398,30 g/mol

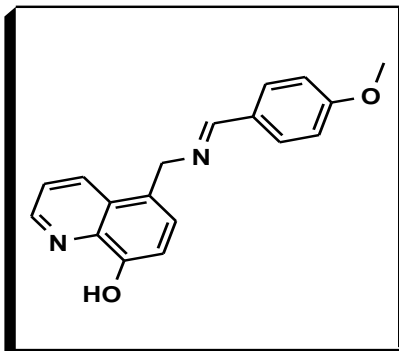
m = 0.150 g.

Rd = 73%.

Rf = 0.33 (MeOH/TEA (99/1)).

RMN ^1H (MeOH- d_4 , ppm): δ = 8.71(d, 1H, Ar-H), 8.53(d, 1H, Ar-H), 8.39(S, 1H, Ar-H aldéhyde), 8.22(S, 1H, Ar-H aldéhyde), 8.11 (d, 1H, CH), 7.93(d, 1H, Ar-H), 7.44(m, 1H, Ar-H), 7.34(d, 1H, Ar-H), 6.98(S, 1H, Ar-H aldéhyde), 2.09(S, 2H, CH₂).

Composé 25: 5-((4-methoxybenzylideneamino) methyl) quinolin-8-ol



Formule chimique: C₁₈H₁₆N₂O₂

Poids moléculaire: 292,33 g/mol

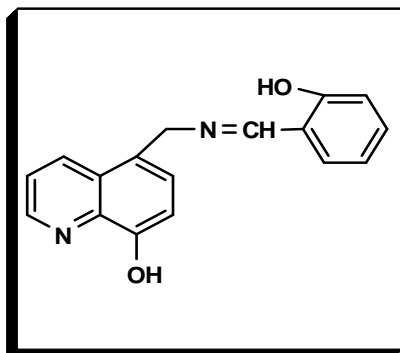
m = 0.0545 g

Rd = 37%.

Rf = 0.63 (MeOH/TEA (99/1)).

RMN ^1H (MeOH- d_4 , ppm): δ = 8.73(d, 1H, Ar-H_{amine}), 8.50(d, 1H, Ar-H_{amine}), 8.14 (d, 1H, CH), 7.76(d, 2H, Ar-H_{amine}+ Ar-H_{aldéhyde}), 7.50(m, 1H, Ar-H), 7.23(d, 1H, Ar-H_{amine}), 6.80(d, 1H, Ar-H_{aldéhyde}), 3.80(S, 1H, -CH₃), 3.29(S, 2H, -CH₂).

Composé 26: 5-((2-hydroxybenzylideneamino) methyl) quinolin-8-ol



Formule chimique: C₁₇H₁₄N₂O₂

Poids moléculaire: 278,31 g/mol

m = 0.1 g.

Rd = 69%.

Rf = 0.29 (MeOH/TEA (99/1)).

RMN ^1H (MeOH- d_4 , ppm): δ = 8.11 (d, 1H, CH), 7.61(d, 1H, Ar-H_{amine}), 7.53(d, 1H, Ar-H_{amine}), 7.24 (d, 2H, Ar-H_{amine}+Ar-H_{aldéhyde}), 6.97(m, 3H, Ar-H_{amine}+ Ar-H_{aldéhyde}), 6.73(d, 2H, Ar-H_{amine}+ Ar-H_{aldéhyde}), 2.90(S, 1H, -CH₂).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1]. Schreiber, S. L., Target-oriented and diversity-oriented organic synthesis in drug discovery. *Science* 2000, 287 (5460), 1964-1969.
- [2]. Hann, M. M.; Oprea, T. I., Pursuing the leadlikeness concept in pharmaceutical research. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2004, 8 (3), 255-263.
- [3]. Xiang, X. D.; Sun, X. D.; Briceno, G.; Lou, Y. L.; Wang, K. A.; Chang, H. Y.; Wallacefreedman, W. G.; Chen, S. W.; Schultz, P. G., A Combinatorial Approach to Materials Discovery. *Science* 1995, 268 (5218), 1738-1740.
- [4]. Gnewuch, C.T. ; Sosnovsky, G., *Chem. Rev.* 1997, 97, 829-1013.
- [5]. Pelish, H. E.; Westwood, N. J.; Feng, Y.; Kirchhausen, T.; Shair, M. D., Use of biomimetic diversity-oriented synthesis to discover galanthamine-like molecules with biological properties beyond those of the natural product. *Journal of the American Chemical Society* 2001, 123 (27), 6740-6741.
- [6]. Owens, J., Target validation - Determining druggability. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007, 6 (3), 187-187.
- [7]. Cathrine, D., Cancer une clef pour combattre, *Editions Dangles* 19 novembre **2008**.
- [8]. Hanahan, D.; Weinberg, R. A., The hallmarks of cancer, *Cell* **2000**, 100 (1), 57-70.
- [9]. Meijer, L., *Oncologie* **2003**, 5, 311-326.
- [10]. Murray, A. W.; Hunt, T., The cell cycle: an introduction, *Oxford University Press* **1993**.
- [11]. Viallard, J. F.; Lacombe, F.; Belloc, F.; Pellegrin, J. L.; Reiffers, J., *Cancer/Radio-thérapie* **2001**, 5, 109-129.
- [12]. Alberts, B.; Wilson, J.; Collectif; Hunt, T., *Biologie moléculaire de la cellule*, 2 volumes : Livre de cours, Livre: d'exercices, *Flammarion Médecine-Sciences* **2004**.
- [13]. Delcourt, J., *Science et Vie* **1998**, 968, 100-106.
- [14]. Weinberg, R., *Pour la science* **1996**, 229, 34-46.
- [15]. Gambhir, S. S., Molecular imaging of cancer with positron emission tomography, *Nat Rev. Cancer* **2002**, 2 (9), 683-693.
- [16]. Delcourt, J., *Science et Vie* **1998**, 968, 109-113.
- [17]. Hellman, S.; Vokes, E., *Pour la science* **1996**, 229, 86-90.
- [18]. Deslandes, S., Thèse de Doctorat, *Chimie-Biologie-Santé, Université Toulouse III, Sciences de la Matière, UPS* **2010**.
- [19]. Hellman, S.; Vokes, E., *Pour la science* **1996**, 229, 86-90.

- [20]. Wood, A. K.; Ansaloni, S.; Ziemer, L. S.; Lee, W. M.; Feldman, M. D.; Sehgal, C. M., *Ultrasound in Medicine & Biology* **2005**, *31*, 1403-1410.
- [21]. Gambhir, S. S., Molecular imaging of cancer with positron emission tomography, *Nat Rev Cancer* **2002**, *2* (9), 683-693.
- [22]. Neal, M., Pharmacologie médicale, *De Boeck* **2003**.
- [23]. Moulin, M.; Coquerel, A., Pharmacologie, *Elsevier Masson* **2002**.
- [24]. Avendaño, C.; Menéndez, J. C., Medicinal chemistry of anticancer drugs, *Elsevier* **2008**.
- [25]. Heron, J.F., Chimiothérapie des Cancers. **2003**, 7-34.
- [26]. Avendaño, C.; Menéndez, J. C., Medicinal chemistry of anticancer drugs, *Elsevier* **2008**.
- [27]. Florin, A.; Boutonnat, J.; Boumendjel, A., Overcoming BCRP-mediated multidrug resistance, *Drugs Fut.* **2008**, *33*(6):533.
- [28]. Cole, S .P.C.; Sparks, K.E.; Fraser, K.; Loe, D.W.; Grant, C.E.; Wilson, G.M.; Deeley, R.G., *Cancer Res.* **1994**, *54*(22), 5902-5910.
- [29]. Tromprier, D. ; Chang, X. ; Barattin, R., du Moulinet d'Hardemare A, Di Pietro A, Baubichon- Cortay H., *Cancer Res.* **2004**, *64*(14), 4950-4956.
- [30]. Dean, M.; Hamon, Y. Chimini, G., *J. Lipid. Res.* **2001**, *42*(7), 1007-1017.
- [31]. Belot, A.; Grosclaude, P.; Bossard, N.; Jouglà, E.; Benhamou, E.; Delafosse, P.; Guizard, A.V.; Molinie, F.; Danzon, A.; Bara, S.; Bouvier, A.M.; Tretarre, B.; Binder Foucard, F.; Colonna, M.; Daubisse, L.; Hedelin, G.; Iannoy, G.; Le Stang, N.; Maynadie, M.; MonnerEAU, A.; Troussard, X.; Faivre, J.; Collignon, A.; Janory, I.; Arveux, P.; Buemi, A.; Raverdy, N.; Schvartz, C.; Bovet, M.; Cherie- Challine, L.; Esteve, J., Remontet, L.; Velten, M., *Rev Epidemiol Sante Publique* **2008**, *56*, 159-175.
- [32]. Skipper, E. ; Schabel, Jr. F. M. ; Trader, M. W. et Thomson, J. R., *Cancer Res.* **1961**, *21*, 1154.
- [33]. Roberts, J.J.; Warwick, G. P., *Nature* **1959**, *184*, 1298.
- [34]. Johnston, T. P.; Mcaleb, G. S.; Opliger, P. S.; Laster, W. R. Jr.; Montgomery, J. A., *Journal of Medicinal Chemistry* **1971**, *14*, 600.
- [35]. Dulude, H.; Salvador, R.; Gallant, G., *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, *6*, 151.
- [36]. Montgomery, J. A.; James, R.; Caleb, M. c.; Johnston, T. P., *J. Med Chem.* **1967**, *10*, 668.
- [37]. Lown, J. W.; Chuhan, M. S., *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 5309.

- [38]. Snyder, J. K.; Stock, L. M., *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 1990.
- [39]. Montero, J. L. ; Leydet, A. ; Dewynter, G. ; Messier, A., *Ann. Univ. Abidjan, série C* **1983**, 19.
- [40]. Tang, W.; Eisenbrand, G., *Arch. Pharm. Weinheim* **1981**, 314, 910.
- [41]. Abdaoui M.; Dewynter G.; Aouf N.; Favre G.; Morère A. and Montero J.-L., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter* **1996**, 4, 1227-1235.
- [42]. Abdaoui, M; Dewynter, G; Aouf, N; Montero, J.L. *Phosphorus Sulfur and Silicon*, **1996**, 118, 38-47.
- [43]. Abdaoui, M.; Dewynter, G.; and Montero, J. L., *Tetrahedron letters* **1996**, 37, 5695-5698.
- [44]. Kadri M.; Dhaoui N.; Abdaoui M.; Winum J.-Y. and Montero J.-L., *European Journal of Medicinal Chemistry* **2004**, 39, 79.
- [45]. Dewynter, G. F.; Montero, J. L., *CR. Acad. Sci. Paris, t 315, Série II* 1992, 89, 1675.
- [46]. Dwynter,G. ; Abdaoui, M. ; Toupet, L. et Montero, J.L., *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38 (50), 8691-8694.
- [47]. Seridi, A.; Kadri, M.; Abdaoui, M.; Winum, J.Y. and Montero, J.L., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 1021–1027.
- [48]. Seridi, A.; Winum, J.Y.; Kadri, M.; Abdaoui, M. and Montero, J.L., *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2006**,339, 521–526.
- [49]. Abdaoui. M, Thèse de Doctorat, Chimie Moléculaire, Université Montpellier II, *Science et Technique* **1997**.
- [50]. Montero, J. L.; Leydet, A.; Dewynter, G., *Eur.J. Med. Chem*, **1982**, 17 (3), 257-263.
- [51]. Montero, J. L.; Leydet, A.; Dewynter, G. ; Munoz-Messier, A. et Imbach, J. L., **1983**, 193-204.
- [52]. Montero, J. L. ; Leydet, A. ; Dewynter, G. F. ; Messier, A. ; Imbach, J. L., *Ann. Univ. Cote d'Ivoire, Série C* **1983**, XIX, 193.
- [53]. Montero, J. L. ; Leydet, A. ; Messier- Munoz, A., *Ann. Univ. Abidjan, série C* **1981**,113.
- [54]. Montero, J. L. ; Leydet, A. ; Dewynter, G-F. ; *Eur. J. Med Chem.* **1982**, 17, 257.
- [55]. Montero, J. L.; Leydet, A.; Dewynter, G., *Eur.J. Med. Chem*, **1982**, 17 (3), 257-263.
- [56]. Abdaoui, M.; Dewynter, G.; Toupet, L. ; Mottero, J.L., *Tetrahedron* **2000**, 56, 2427-2435.
- [57]. Manuel, S.; Joly, J.-P.; Courcot, B.; Elysée, J.; Ghermani, N.-E.; Marsua, A.,

Tetrahedron **2006**, 67 (7), 1706-1714.

[58]. Del Valle, E.M.M., *Process Biochemistry* **2004**, 39, 1033-1046.

[59]. Loftsson, T.; Brewster, M.E., *J. Pharm. Sci.* **1996**, 85, 1017-1025.

[60]. Jacob, J.; Gebler, K.; Hoffmann, D.; Sanbe, H.; Koizumi, K., Smith, S.M.; Takaha, T.; Saenger, W., *Angw. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 606.

[61]. Saenger, W.; Jacob, J.; Gebler, K.; Steiner, T.; Hoffm, D.; Sanbe, H.; Koizumi, K.; Smith, S. M.; Takaha, T., *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1787.

[62]. Bonnet, P., Thèse de doctorat, Université d'Orléans **2001**.

[63]. Brewster, M.E.; Loftsson, T., *Advanced Drug Delivery Reviews* **2007**, 59, 645-666.

[64]. Kikuchi. M; Uemura.Y; Hirayama.F; Otagiri.M; Uekama.K., *J.Incl.Phenom.***1984**, 2, 623.

[65]. Schiller.R.L; Lincoln.S.F; Coates J.H, *J. Chem. Soc. Faraday Trans***1987**, 83 (11), 3237- 3248.

[66]. Andersen. F. M.; Bundgaard. H, *Arch. Pharm. Chem.* **1983**, 11, 7.

[67]. Chow,D.D; Karara,A.H, *Int.J. Pharm.* **1986**, 28, 95.

[68]. Nakai, Y.; Yamamoto, K.; Terada, K.; Watanabe,D., *Chem. Pharm. Bull.*, **1987**, 35, 4609.

[69]. Briggner, L. E.; Ni. X. R; Tempest, F.; Wadsö , I., *Thermochim. Acta*, **1986**, 109, 139.

[70]. Kano, K.; Hashimoto, S.; Imai, A.; Ogawa, T., *J. Incl. Phenom.* **1984**, 2, 737.

[71]. Szejtli, J. Cyclodextrin Technology; Kluwer: Dordrecht, *The Netherlands* **1988**.

[72]. Loftsson, T.; Jarho, P.; Másson, M.; Järvinen, T., *Expert Opinion on Drug Delivery* **2005**, 2, 335-351.

[73]. Loftsson, T.; Masson, M.; Brewster, M.E., *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2004**, 93, 1091-1099.

[74]. Loftsson, T.; Duchêne, D., *International Journal of Pharmaceutics* **2007**, 329, 1-11.

[75]. Arima, H.; Adachi, H.; Irie, T. & Uekama, K., *Drug. Invest* **1990**, 2, 155-161.

[76]. Vollmer, U.; Müller, B. W.; Peeters, J.; Mesens, J.; Wilfert, B. & Peters, T. A., *J.Pharm. Pharmacol.* **1994**, 46, 19-22.

[77]. Loftsson, T.; Masson, M.; Sigurdsson, H. H.; Magnusson, P. & Goffic, F. L., *Pharmazie* **1998**, 53, 137.

[78]. Abdaoui, M.; Messadi,D.; Dewynder,G., *Bull.Soc.Chem.Belg.* **1995**, 104, 375-381.

[79]. Stiti, M.; Cecchi, A.; Rami, M.; Abdaoui, M.; Barragan-Montero, V.; Scozzafava, A.;

Guari, Y. ; Winum, J.Y.; Supuran, C.T., *Journal of the American Chemical Society* **2008**,130 (48), 16130-16131.

[80]. Ji, H. F.; Zhang, H. Y., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, 15 (1), 21-24.

[81]. Moret, V.; Laras, Y.; Pietrancosta, N.; Garino, C.; Quelever, G.; Rolland, A.; Mallet, B.; Norreel, J. C.; Kraus, J. L., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2006**, 16 (12), 3298-3301.

[82]. Vatsouro K. ; Michtchenko G. ; Réactions Organiques Classées par auteurs ; *Edition de Mascou* **1981**.

[83]. Moret, V.; Laras, Y.; Cresteil, T.; Aubert, G.; Ping, D. Q.; Di, C.; Barthelemy-Requin, M.; Beclin, C.; Peyrot, V.; Allegro, D.; Rolland, A.; De Angelis, F.; Gatti, E.; Pierre, P.; Pasquini, L.; Petrucci, E.; Testa, U.; Kraus, J. L., *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, 44 (2), 558-567.

[84]. Skraup, Z. H., *Chem. Ber* **1880**, (13), 2086.

[85]. Manske, R. H., *Chemical Reviews* **1942**, 30, 113-144.

[86]. Filip, E. M.; Humelnicu, I. V., *Acta Chemicaiasi* **2009**, 17, 85-96.

[87]. Wu, H.; Dong, X. W.; Liu, H. Y.; Ma, J. F., *Acta Crystallogr. Sect. E.-Struct Rep. Online* **2006**, 62, M281-M282.

[88]. Nazarov, N.; Semenovskiy, A. V., *Russian Chemical Bulletin* **1957**, 6 (8), 997-999.

[89]. Vincent. M.; Younes. L.; Thierry. C.; Geneviève, A.; Dou, Q. Ping, Chen Di; Magali, B.R.; Christophe, B.; Vincent, P. ; Diane, A. ; Amandine, R. ; Francesca, A. ; Evelina, G. ; Philippe, P., Luca P.; Eleonora P.; Ugo, T. ; Jean-Louis, K., *European journal of medicinal chemistry* **2009**, 44,558-567.

[90]. Sébastien, M.; Younes, L.; Vincent, M.; Magali, B. R.; Christophe, B.; Aline, M.; Delphine, L.T. ; Jacques, D. ; Robert, K. ; Marie, H. ; David, C. ; Thierry, C. ; Geneviève, A. and Jean-Louis, K., *European journal of medicinal chemistry* **2010**, 45, 623-638.

[91]. Sebastian, M.; Younes, L.; Vincent, M.; Alain, C. B.; Aubert, G.; Cresteil, T. and Jean-Louis, K., *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2010**, 47, 719-723.

[92]. Dewynter, G. F. ; Aouf, N. ; Montero, J.L. ; *tetrahedron* **1991**, 32, 6545.

[93]. Dewynter, G. F. ; Aouf, N. ; Montero, J.L., *Rel. Trav. Chim. Pays-Bas* **1992**, 048, PC CR.

[94]. Mitsunobu, O., *Synthesis* **1981**, 1.

[95]. Catt, J.D.; Matier, W. L., *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 3526.

- [96]. Alehn J-M., la chimie supramoléculaire : concepts et perspectives », traductions française, *Ed. Deboeck université*, **1997**.
- [97]. Dahoui, N. ; Fatfat, M. ; Abdaoui, M. ; Montero, V. B., *Letters in Organic Chemistry*, **2009**,6,37,40.
- [98]. WEISSE, S., thèse de doctorat, Université Paris XI, faculté de pharmacie de châtenay-malabry **2002**.
- [99]. Djedaïni, F.; Perly, B., *J.Pharm.Sci.* **1991**, 80, 1157.
- [100]. Günther, B.; Armin, M.; Joachim, N. K., *Journal of Separation Science* **1993**, 16, 254–257.
- [101]. Duchêne, D. and Wouessidjewe D., *Drug Development and Industrial Pharmacy* **1990**, 16 (17), 2487-2499.
- [102]. Desimone, R. W.; Currie, K. S.; Mitchell, S. A.; Darrow, J. W.; Pippin, D. A., *Comb. Chem. High Throughput Screen* **2004**, 7 (5), 473-493.
- [103]. Owens, J., *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, 6 (3), 187-187.
- [104]. Pelish, H. E.; Westwood, N. J.; Feng, Y.; Kirchhausen, T.; Shair, M. D., *Journal of the American Chemical Society* **2001**, 123 (27), 6740-6741.
- [105]. Schreiber, S. L., *Science* **2000**, 287 (5460), 1964-1969.
- [106]. Patchett, A. A.; Nargund, R. P., *In Annual Reports in Medicinal Chemistry*, Academic Press Inc: San Diego **2000**, 35, 289-298.
- [107]. Adlard, P. A.; Cherny, R. A.; Finkelstein, D. I.; Gautier, E.; Robb, E.; Cortes, M.; Volitakis, I.; Liu, X.; Smith, J. P.; Perez, K.; Laughton, K.; Li, Q. X.; Charman, S. A.; Nicolazzo, J. A.; Wilkins, S.; Deleva, K.; Lynch, T.; Kok, G.; Ritchie, C. W.; Tanzi, R. E.; Cappai, R.; Masters, C. L.; Barnham, K. J.; Bush, A. I., *Neuron* **2008**, 59 (1), 43-55.
- [108]. Thompson, P. E.; Reinertson, J. W., *American Journal of Tropical Medicine* **1951**, 31 (6), 707-717.
- [109]. Oien, N. L.; Brideau, R. J.; Hopkins, T. A.; Wieber, J. L.; Knechtel, M. L.; Shelly, J. A.; Anstadt, R. A.; Wells, P. A.; Poorman, R. A.; Huang, A.; Vaillancourt, V. A.; Clayton, T. L.; Tucker, J. A.; Wathen, M. W., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2002**, 46 (3), 724-730.
- [110]. Matsumura, M. I., *J. Org. Chem* **1963**, (25), 853.
- [111]. Chen, D.; Cui, Q. C.; Yang, H.; Barrea, R. A.; Sarkar, F. H.; Sheng, S.; Yan, B.; Reddy, G. P.; Dou, Q. P., *Cancer research* **2007**, 67 (4), 1636-44.
- [112]. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J., *Adv. Drug Deliv. Rev.*

1997, 23 (1-3), 3-25.

[113]. Lipinski, C. A., *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **2000**, 44 (1), 235-249.

[114]. Dao, V.; M. Dowd, M.-T.; Martin, C.; Gaspard, M. Mayer and Michelot. R., *European Journal of Medicinal Chemistry* **2004**, 39, 619–624.

[115]. Inbaraj, J. J.; Chignell C. F., *Chemical Research in Toxicology* **2004**, 17, 55–62.

[116]. Gao, T.; Newton, A. C., *The Journal of Biological Chemistry* **2006**, 281, 32461–32468.

[117]. Moret, V.; Laras, Y.; Cresteil, T.; Aubert, G.; Ping, D. G.; Barthelemy- Requin, M.; Beclin, C.; Peyrot, V.; Allegro, D.; Rolland, A.; De-Angelis, F.; Gatti, E.; Pierre, P.; Pasquini, L ;Petrucci, E. ; Testa, U. and Jean-Louis, K., *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, 44, 558–567.

[118]. Ostermann, S.; Csajka, C.; Buclin, T.; Leyvraz, S.; Lejeune, F.; Decosterd, L. A. and Stupp, R., *Clinical Cancer Research* **2004**, 10, 3728–3736.

[119]. Godoy-Alcantar, C.; Yatsimirsky, A. and Lehn, J-M., *J. Phys. Org. Chem.* **2005**, 18, 979–985.

[120]. Knorr, R.; Frechland, K. and Hoang, T. P., *Liebigs Annalen der Chemie* **1994**, 943–948.

[121]. Knorr, R.; Ferchland, K., *Liebigs Annalen* **1995**, 419–425.

[122]. Filarowsky, A.; Koll, A. and Sobczyk, L., *Current Organic Chemistry*, **2009**, 13, 172–193.

[123]. Sanjeev, K.; Lamani, S.; Kotresh, O.; Shafi, M.; Phaniband, A. and Kadakol, J. C., *E-Journal of Chemistry* **2009**, 6(S1), S239–S246.

[124]. Weinstein, J.; Kohn, K.; Grever, M.; Viswanadhan, V.; Rubinstein, L.; Monks, A.; Scudiero, D.; Welch, L.; Koutsoukos, A.; Chiausa, A., *Science* **1992**, 258, 447-451.

[125]. Servidei, T.; Riccardi, A.; Mozzetti, S.; Ferlini, C.; Riccardi, R., *International journal of cancer* **2008**, 123 (12), 2939-2949.

[126]. Belhoussine, R.; Morjani, H.; Manfait, M., *Bulletin Du Cancer* 1997, 84 (4), 343-349.

[127]. Hill, B. T.; Deuchars, K.; Hosking, L. K.; Ling, V.; Whelan, R. D. H., *International Journal of Radiation Biology* **1990**, 58 (5), 903-903.

[128]. Scarborough, G. A., *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* **1995**, 27 (1), 37-41.

[129]. Branle, F.; Lefranc, F.; Camby, I.; Jeuken, J.; Geurts-Moespot, A.; Sprenger, S.;

- Sweep, F.; Kiss, R.; Salmon, I., *Cancer* **2002**, 95 (3), 641-655.
- [130]. Lamoral-Theys, D.; Le Mercier, M.; le Calve, B.; Rynkowski, M. A.; Bruyere, C.; Deacestecker, C.; Haibe-Kains, B.; Bontempi, G.; Dubois, J.; Lefranc, F.; Kiss, R., *Neoplasia* 12 (1), 69-79.
- [131]. Li, T.; Zeng, Q.; Rokita, S. E., *Bioconjugate Chem* **1994**, 5 (6), 497-500.
- [132]. Chen, D.; Cui, Q. C.; Yang, H.; Barrea, R. A.; Sarkar, F. H.; Sheng, S.; Yan, B.; Reddy, G. P.; Dou, Q. P., *Cancer Res* **2007**, 67 (4), 1636-44.
- [133]. Hurley, L. H.; Reynolds, V. L.; Swenson, D. H.; Petzold, G. L.; Scahill, T. A., *Science* **1984**, 226 (4676), 843-4.
- [143]. Bolton, J. L.; Shen, L., *Carcinogenesis* **1996**, 17 (5), 925-9.
- [135]. Zhou, Q.; Rokita, S. E., *Proc Natl Acad Sci U S A* **2003**, 100 (26), 15452-7.
- [136]. Chiang, Y.; Kresge, A. J., *Org Biomol Chem* **2004**, 2 (7), 1090-2.
- [137]. Song, Y.; Tian, T.; Wang, P.; He, H.; Liu, W.; Zhou, X.; Cao, X.; Zhang, X. L.; Zhou, X., *Org Biomol Chem* **2006**, 4 (17), 3358-66.
- [138]. Thompson, D. C.; Perera, K.; London, R., *Chem Biol Interact* **2000**, 126 (1), 1-14.
- [139]. Williams, R. M.; Herberich, B., *Journal of the American Chemical Society* **1998**, 120 (39), 10272-10273.
- [140]. Lewis, M. A.; Yoerg, D. G.; Bolton, J. L.; Thompson, J. A., *Chem Res Toxicol* **1996**, 9 (8), 1368-74.
- [141]. Pande, P.; Shearer, J.; Yang, J. H.; Greenberg, W. A.; Rokita, S. E., *J Am Chem Soc* **1999**, 121 (29), 6773-6779.
- [142]. Brimble, M. A.; Nairn, M. R., *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions I* **2000**, (3), 317-322.
- [143]. Rokita, S. E., *Quinone Methides*. Wiley.
- [144]. Cnubben, N. H. P.; Rommens, A. J. M.; Oudshoorn, M. J.; Van Bladeren, P. J., *Cancer research* **1998**, 58 (20), 4616-4623.
- [145]. Chiang, Y.; Kresge, A. J., *Organic & biomolecular chemistry* **2004**, 2 (7), 1090-2.
- [146]. David-Cordonnier, M. H.; Hildebrand, M. P.; Baldeyrou, B.; Lansiaux, A.; Keuser, C.; Benzschawel, K.; Lemster, T.; Pindur, U., *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42 (6), 752-71.
- [147]. David-Cordonnier, M. H.; Laine, W.; Lansiaux, A.; Kouach, M.; Briand, G.; Pierre, A.; Hickman, J. A.; Bailly, C., *Biochemistry* **2002**, 41 (31), 9911-20.
- [148]. Kar, S.; Lefterov, I. M.; Wang, M.; Lazo, J. S.; Scott, C. N.; Wilcox, C. S.; Carr, B. I., *Biochemistry* **2003**, 42 (35), 10490-7.

- [149]. Nishikawa, Y.; Carr, B. I.; Wang, M.; Kar, S.; Finn, F.; Dowd, P.; Zheng, Z. B.; Kerns, J.; Naganathan, S., *J. Biol. Chem.* **1995**, 270 (47), 28304-10.
- [150]. Dowers, T. S.; Qin, Z. H.; Thatcher, G. R.; Bolton, J. L., *Chem Res Toxicol* **2006**, 19 (9), 1125-37.
- [151]. Dunlap, T.; Chandrasena, R. E.; Wang, Z.; Sinha, V.; Wang, Z.; Thatcher, G. R., *Chem Res Toxicol* **2007**, 20 (12), 1903-12.
- [152]. Wu, Y.; Zhang, H.; Dong, Y.; Park, Y. M.; Ip, C., *Cancer Res* **2005**, 65 (19), 9073-9.
- [153]. Cnubben, N. H.; Rommens, A. J.; Oudshoorn, M. J.; Van Bladeren, P. J., *Cancer Res* **1998**, 58 (20), 4616-23.
- [154]. David-Cordonnier, M. H.; Laine, W.; Joubert, A.; Tardy, C.; Goossens, J. F.; Kouach, M.; Briand, G.; Thi Mai, H. D.; Michel, S.; Tillequin, F.; Koch, M.; Leonce, S.; Pierre, A.; Bailly, C., *Eur J Biochem* **2003**, 270 (13), 2848-59.

ANNEXE I

Annexe I. Spectres des CENS dérivés d'acides aminés et de leurs complexes d'inclusion

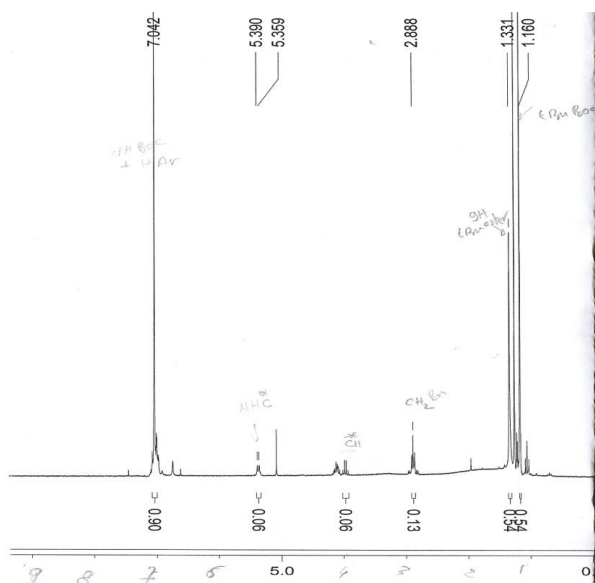


Figure A.I.1. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **1a**.

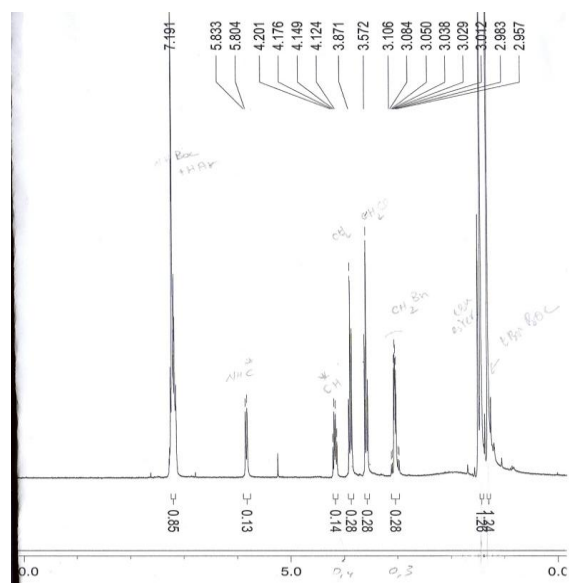


Figure A.I.2. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **1b**.

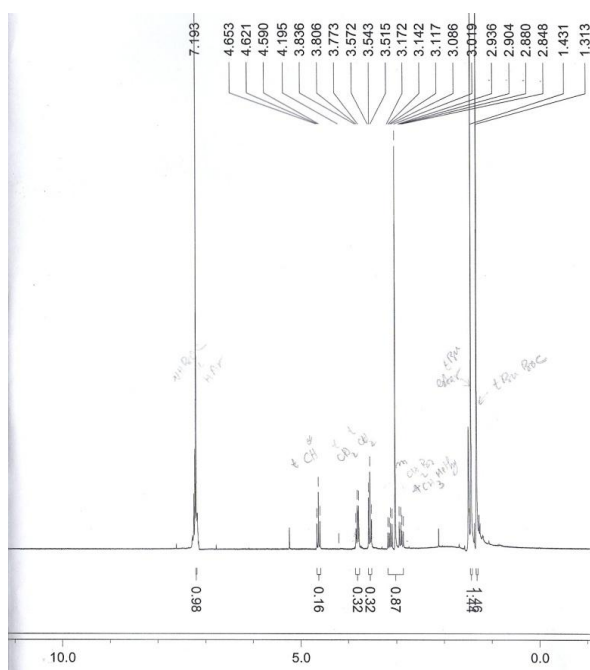


Figure A.I.3. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **1c**.

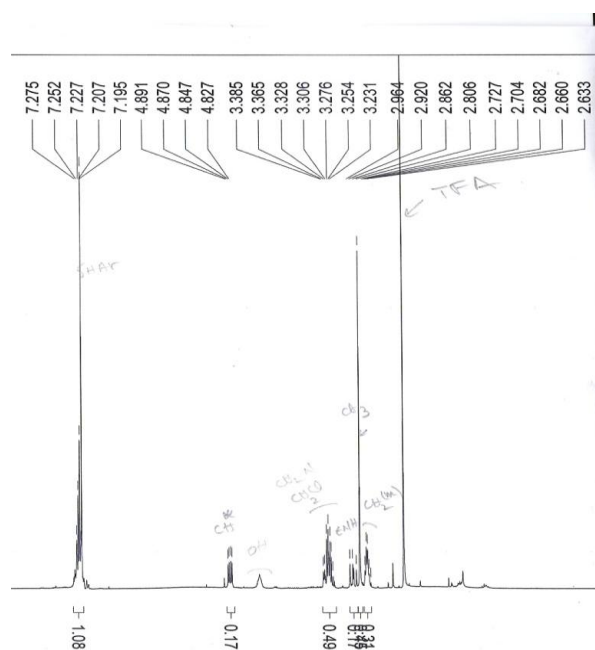


Figure A.I.4. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **1d**.

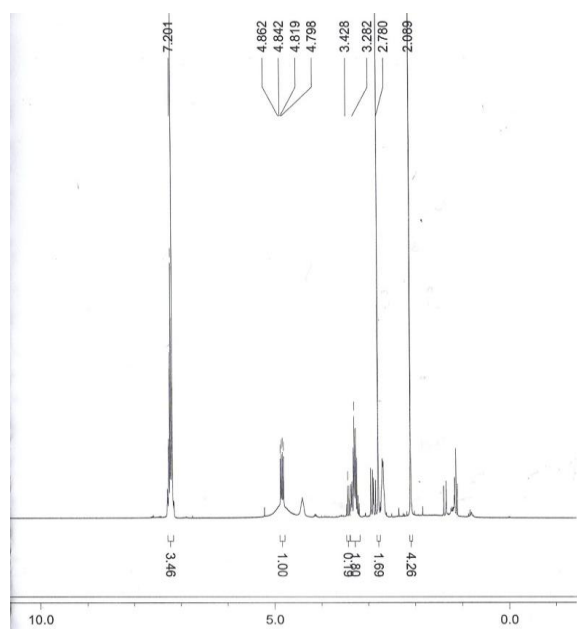


Figure A.I.5. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **1e**.

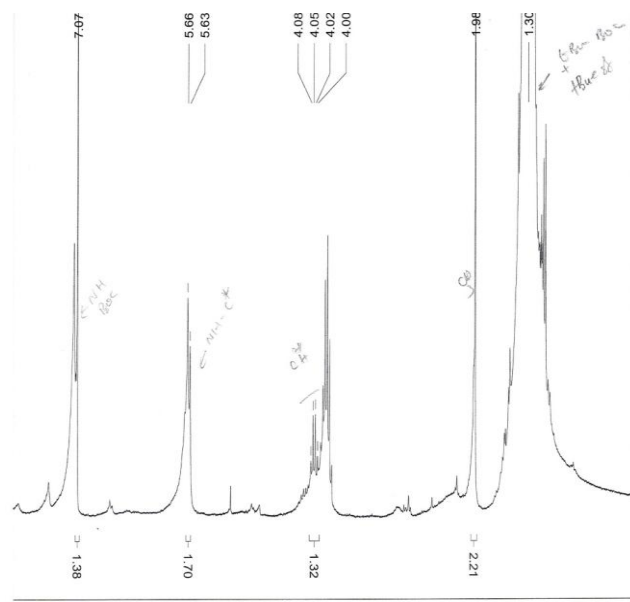


Figure A.I.6. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **2a**.



Figure A.I.7. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **2b**.

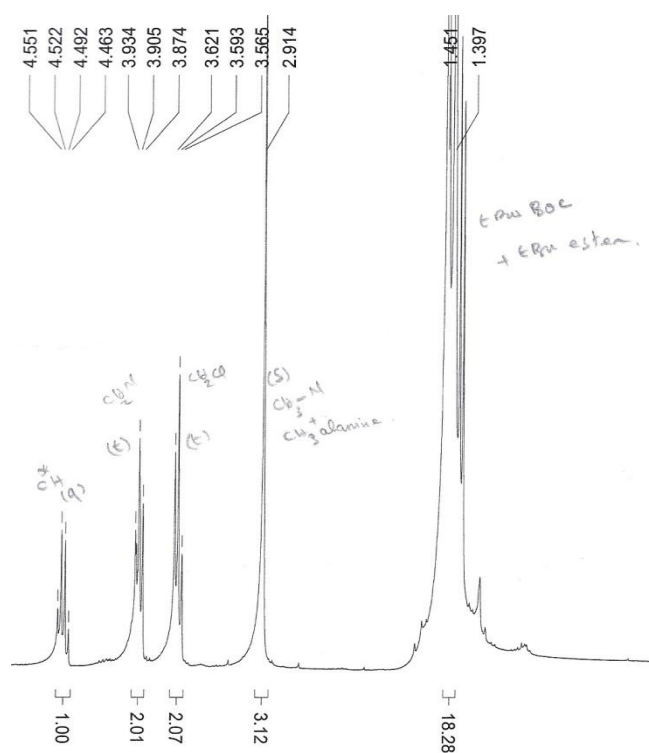


Figure A.I.8. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **2c**.

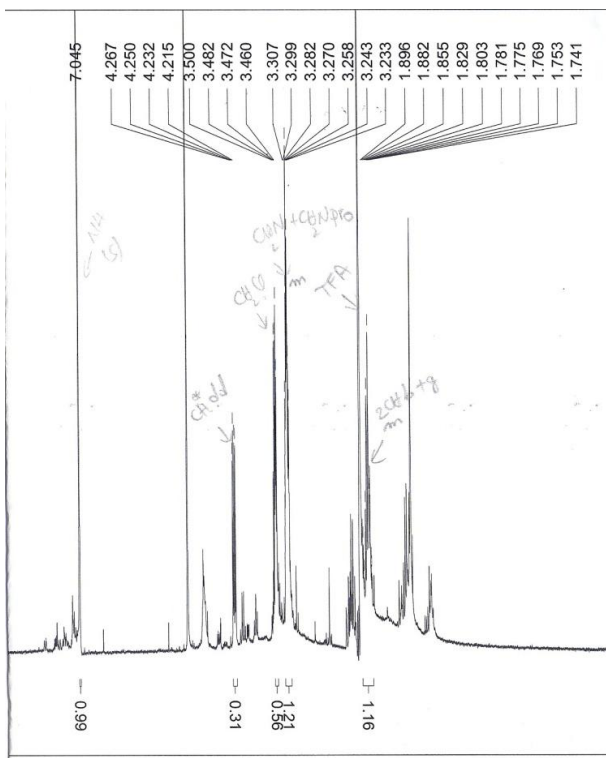


Figure A.I.13. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **3d**.

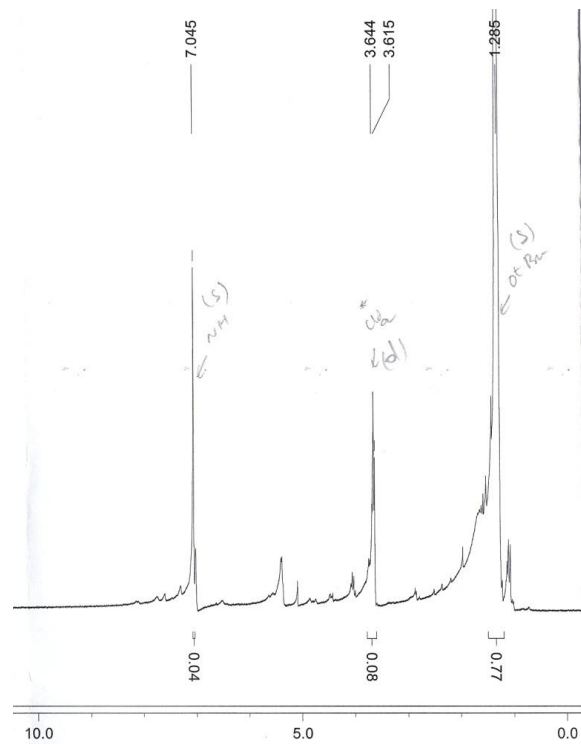


Figure A.I.14. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **4a**.

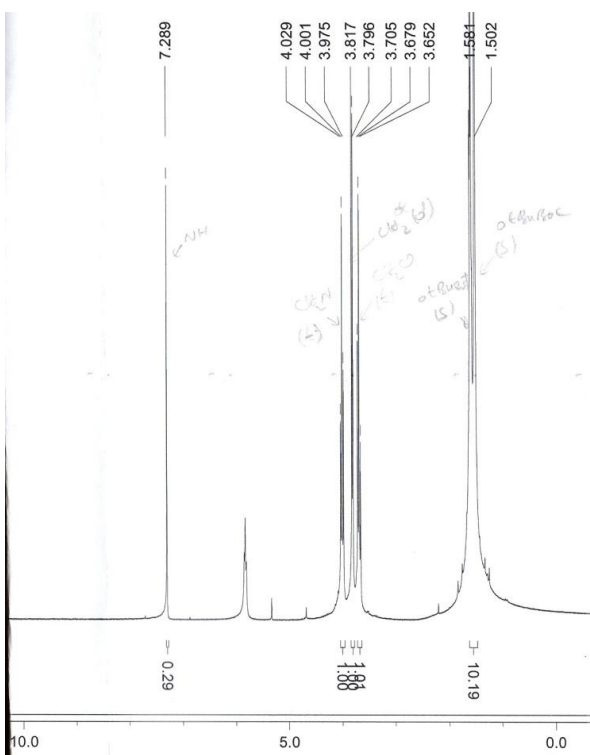


Figure A.I.15. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **4b**.

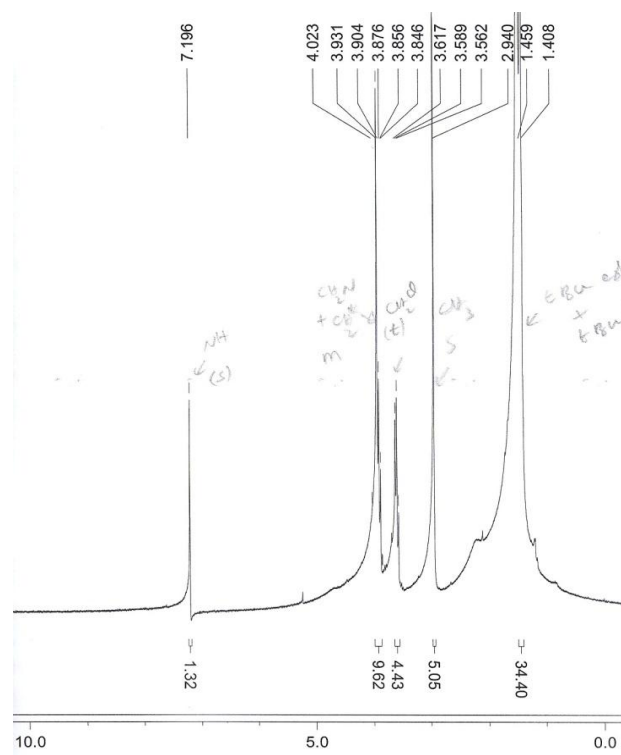


Figure A.I.16. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **4c**.

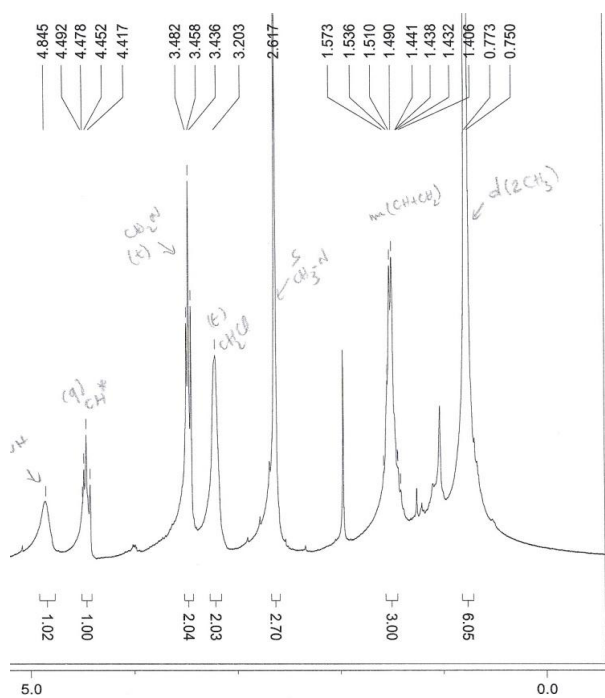


Figure A.I.21. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **5d**.

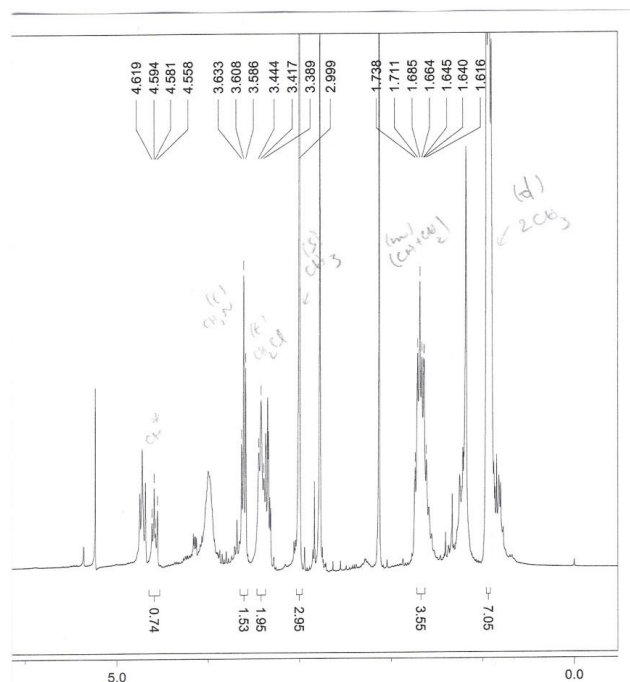


Figure A.I.22. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **5e**.

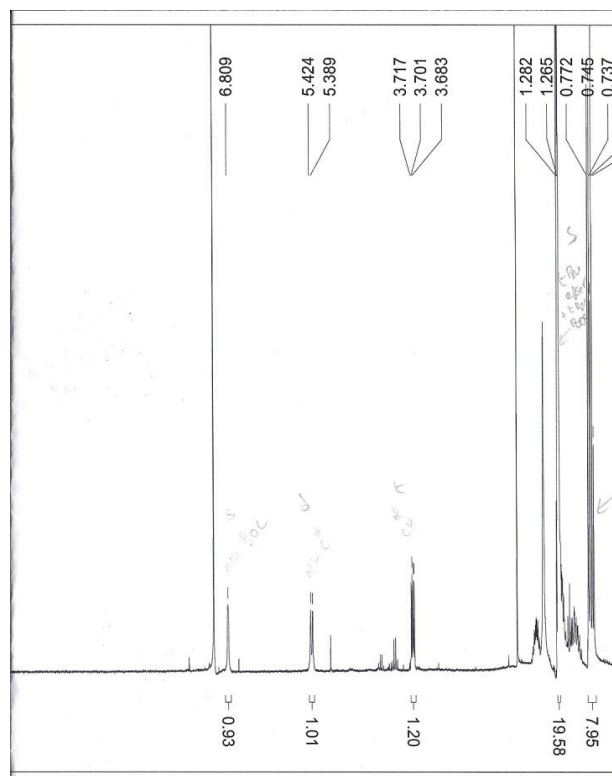


Figure A.I.23. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **6a**.

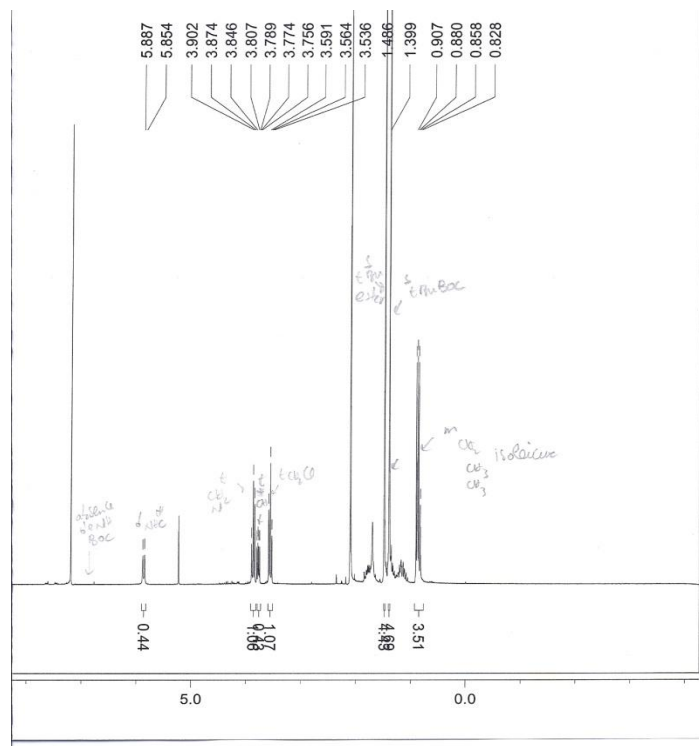


Figure A.I.24. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **6b**.

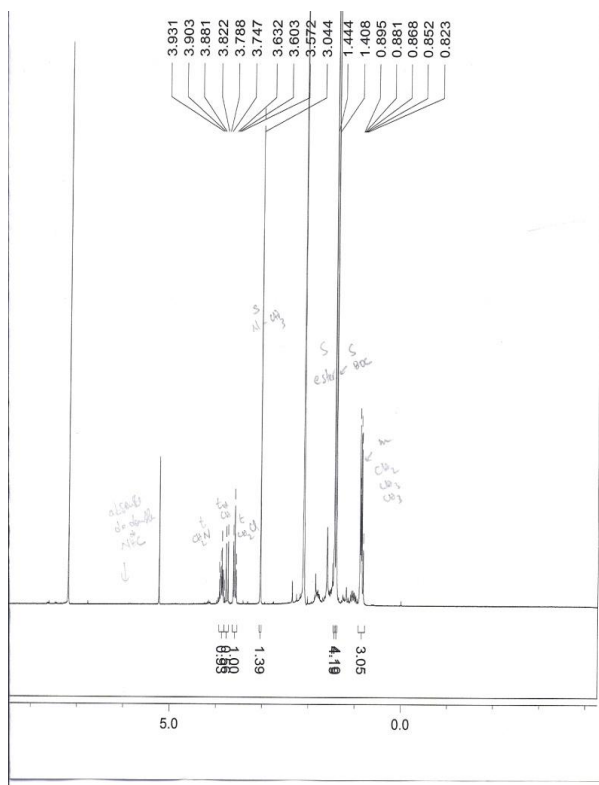


Figure A.I.25. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **6c**.

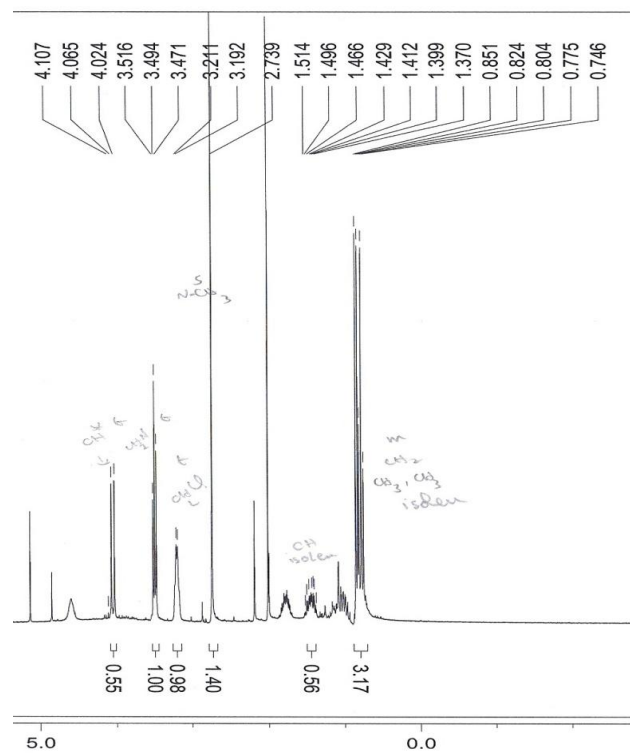


Figure A.I.26. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **6d**.

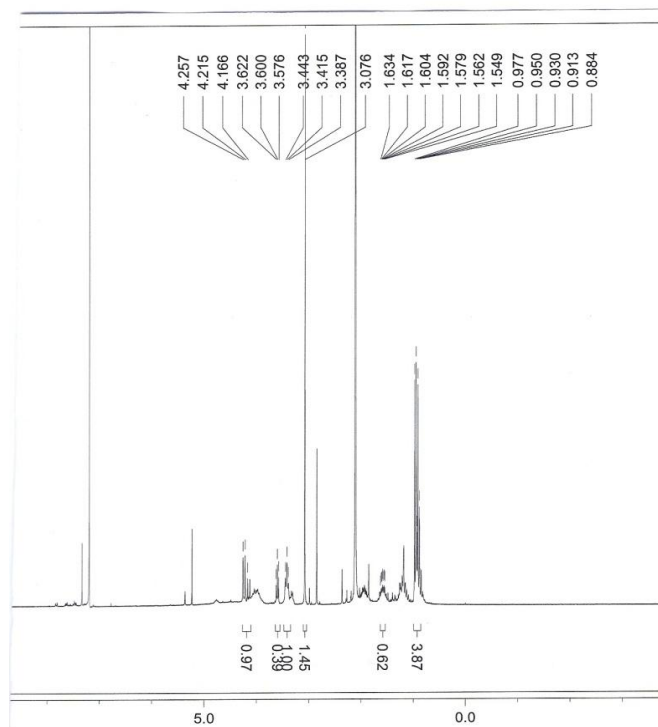


Figure A.I.27. Spectre RMN ^1H de l'échantillon **6e**.

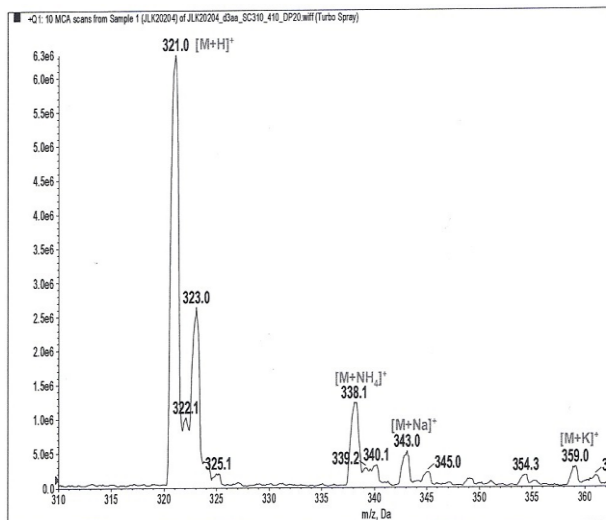


Figure A.I.28. Spectre de masse en mode Electro spray positif de l'échantillon **1d**.

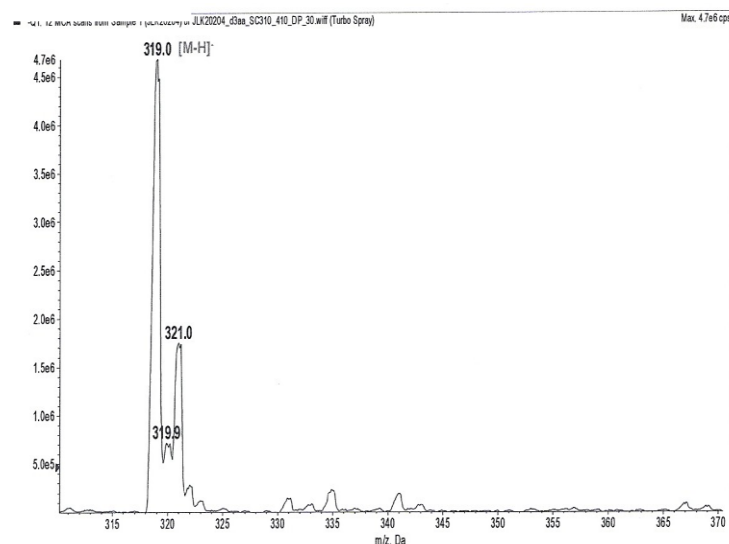


Figure A.I.29. Spectre de masse en mode Electro spray négatif de l'échantillon **1d**.

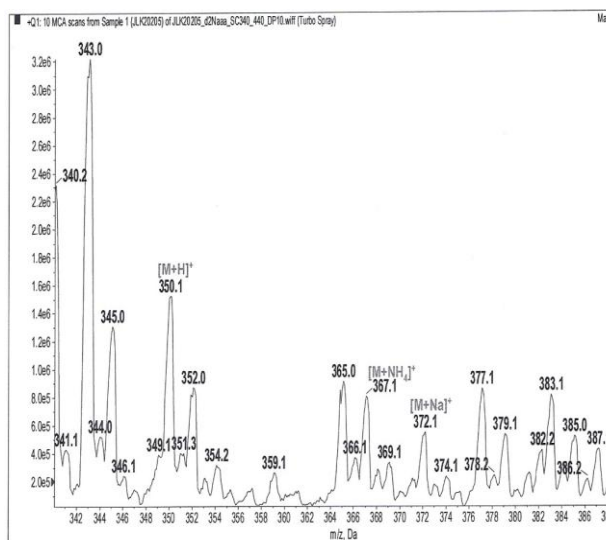


Figure A.I. 30 Spectre de masse en mode Electro spray positif de l'échantillon **1e**.

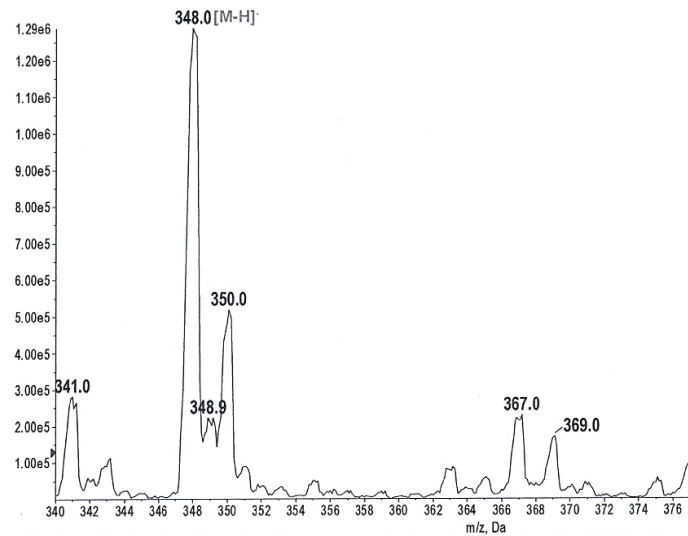


Figure A.I. 31. Spectre de masse en mode Electro spray négatif de l'échantillon **1e**

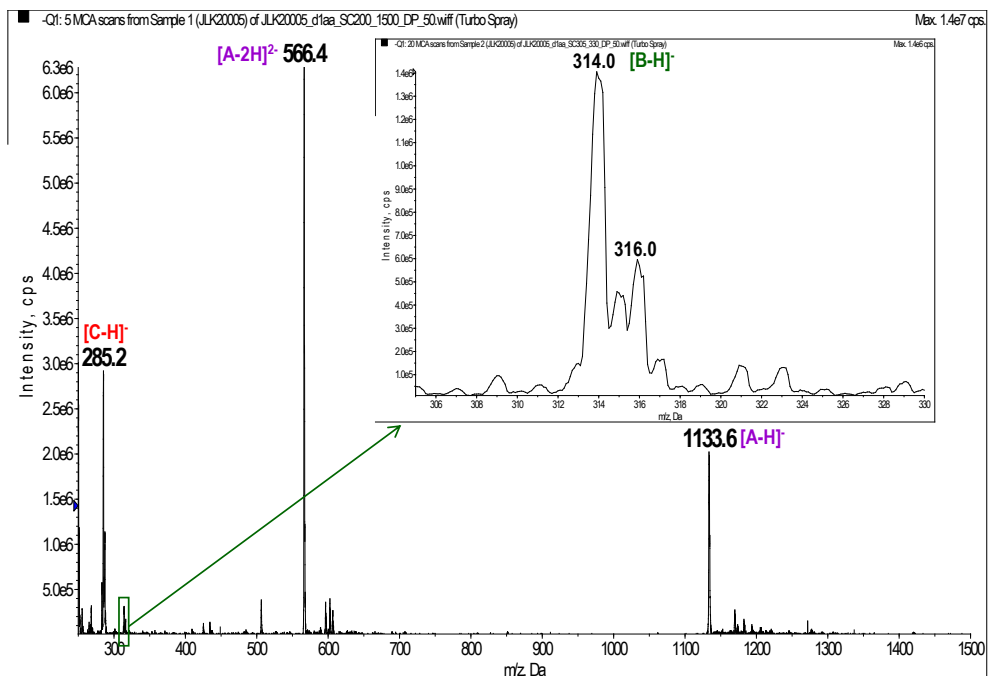


Figure A.I.32. Spectre de masse en mode Electrospray négatif de l'échantillon C5.

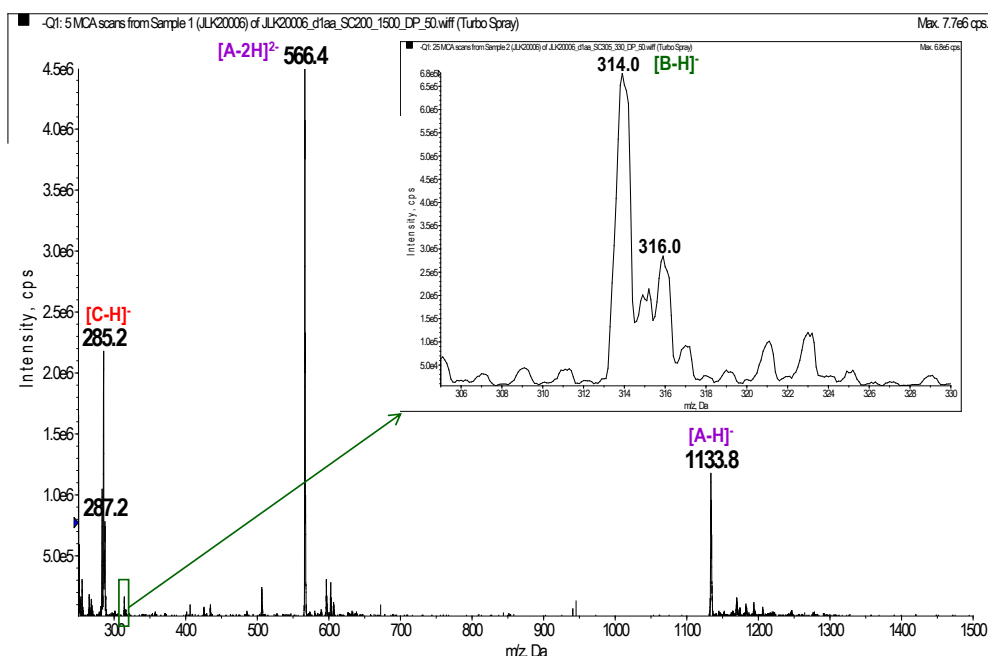


Figure A.I.33. Spectre de masse en mode Electrospray négatif de l'échantillon C6.

ANNEXE II

Annexe II. Spectres des 8-hydroxyquinoléines

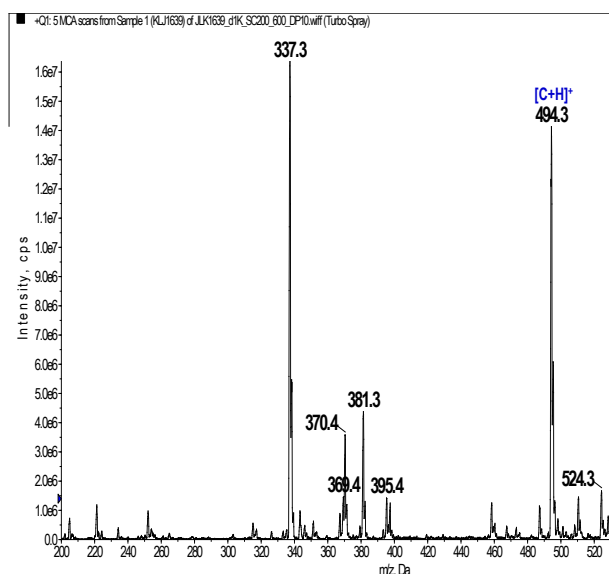


Figure A.II.1. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **2**.

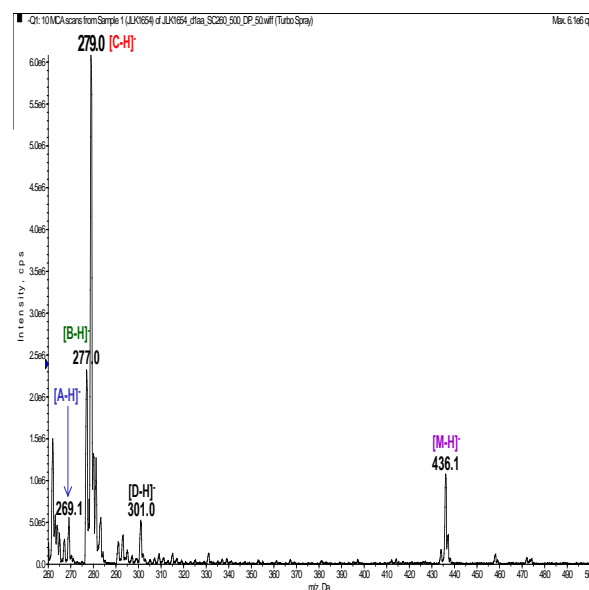


Figure A.II.2. Spectre de masse en mode électrospray négatif du composé **3**.

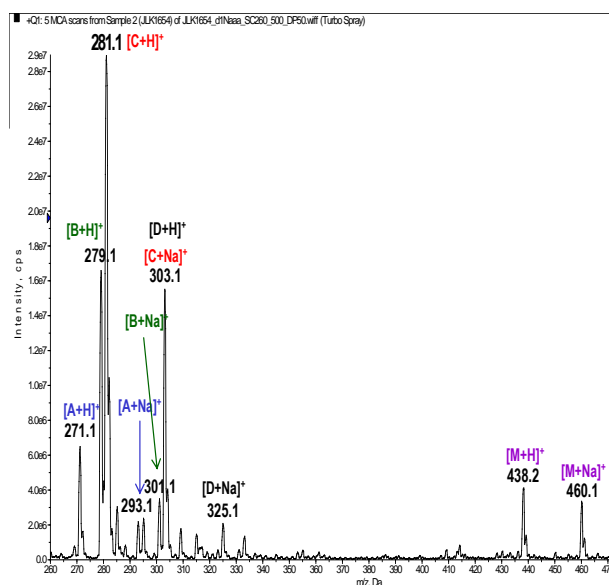


Figure A.II.3. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **3**.

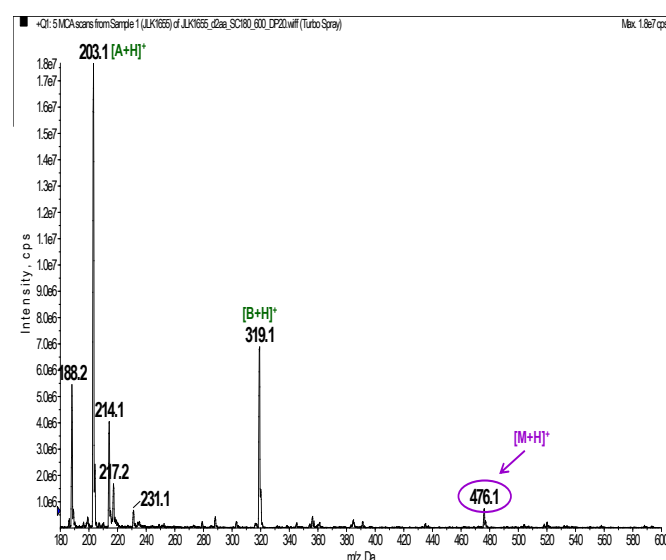


Figure A.II.4. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **4**. L'ion m/z 214 est issu de la source d'ionisation et n'est donc pas propre à l'échantillon.

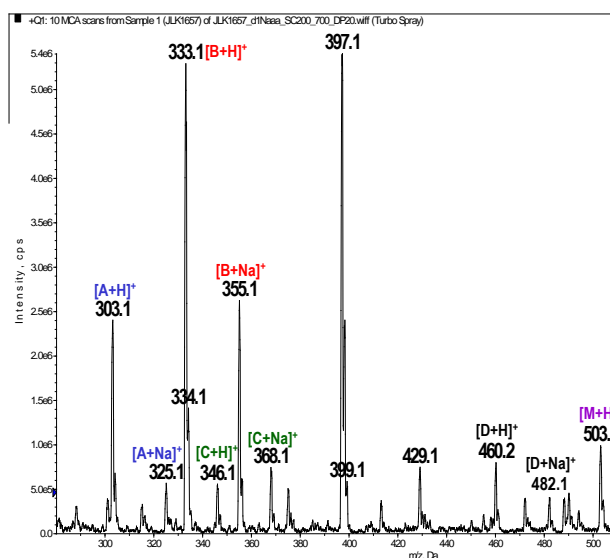


Figure A.II.5. Spectre de masse en mode electrospray positif du composé **5**.

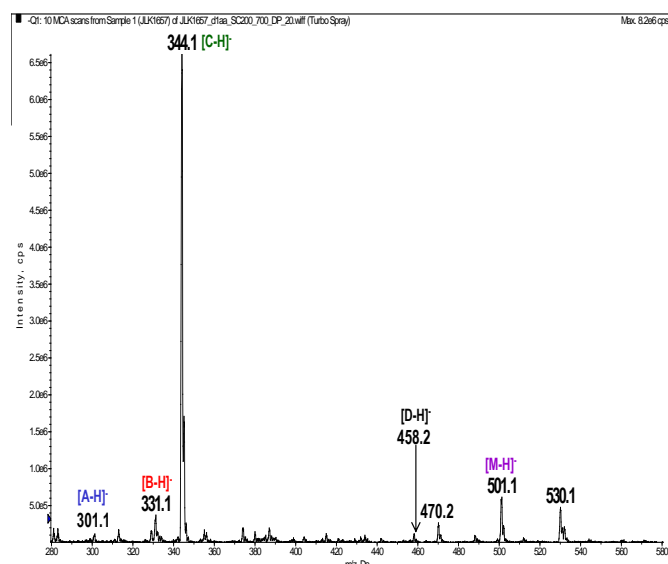


Figure A.II.6. Spectre de masse en mode electrospray négatif du composé **5**.

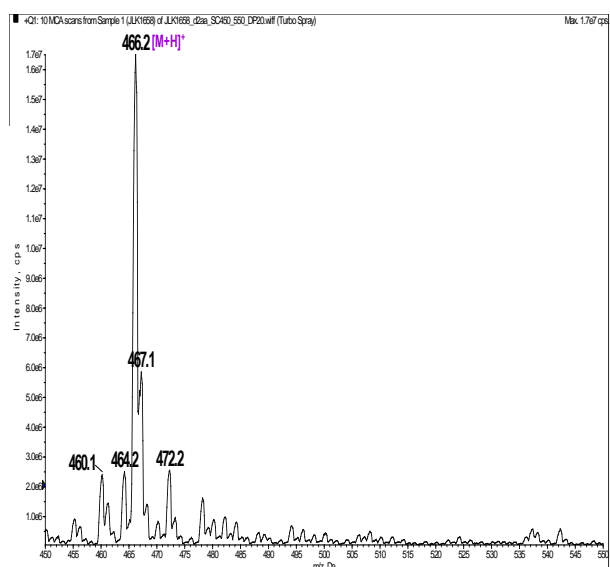


Figure A.II.7. Spectre de masse en mode electrospray positif du composé **6**.

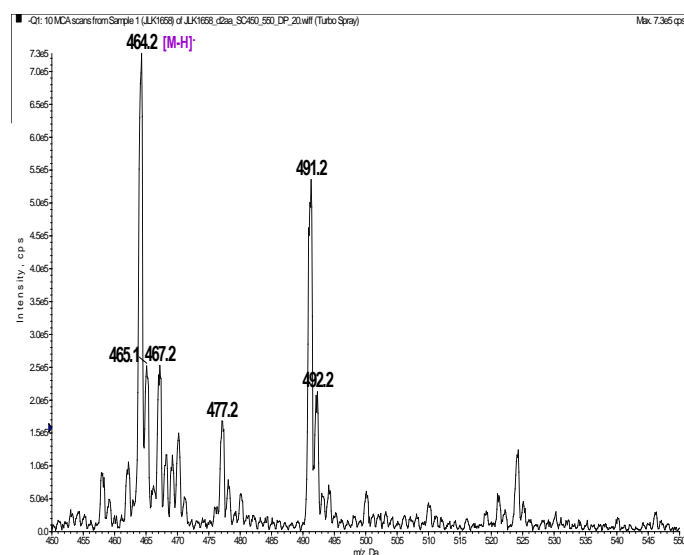


Figure A.II.8. Spectre de masse en mode electrospray négatif du composé **6**.

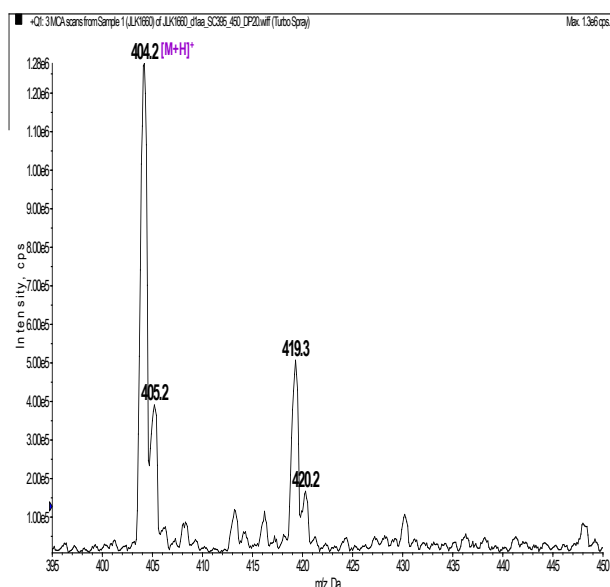


Figure A.II.9. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **8** sur la gamme m/z 395-450.

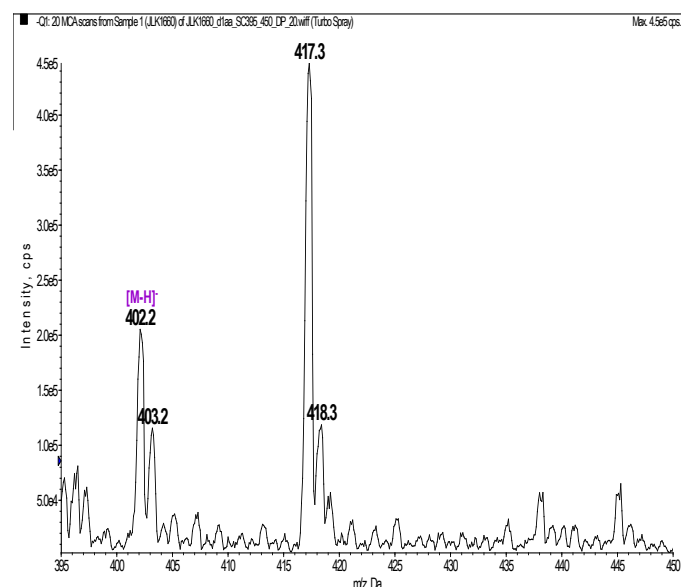


Figure A.II. 10. Spectre de masse en mode électrospray négatif du composé **8** sur la gamme m/z 395-450

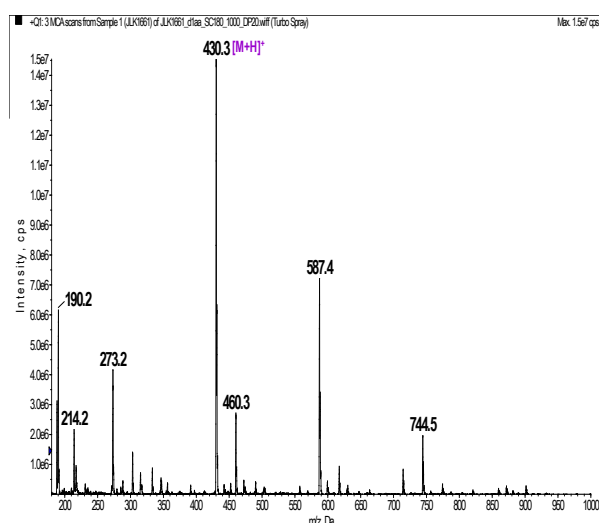


Figure A.II. 11. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **9**. L'ion m/z 214 est issu de la source d'ionisation et n'est donc pas propre à l'échantillon.

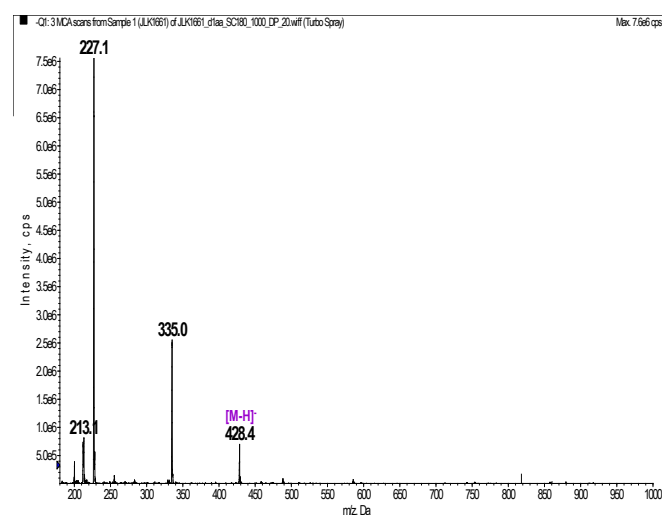


Figure A.II.12. Spectre de masse en mode électrospray négatif du composé **9**.

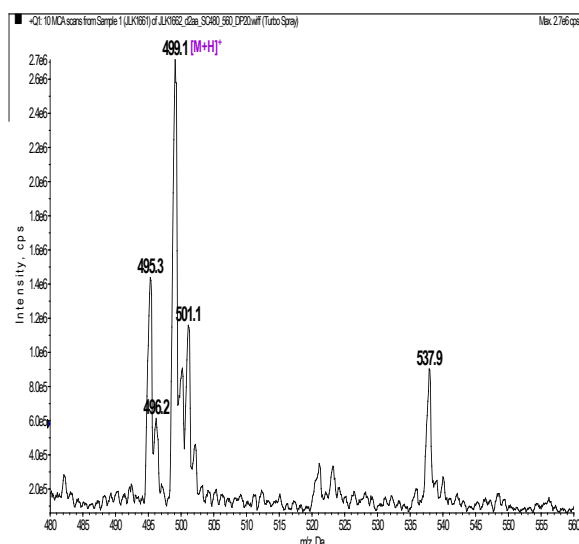


Figure A.II. 13. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **10** sur la gamme m/z 480-560.

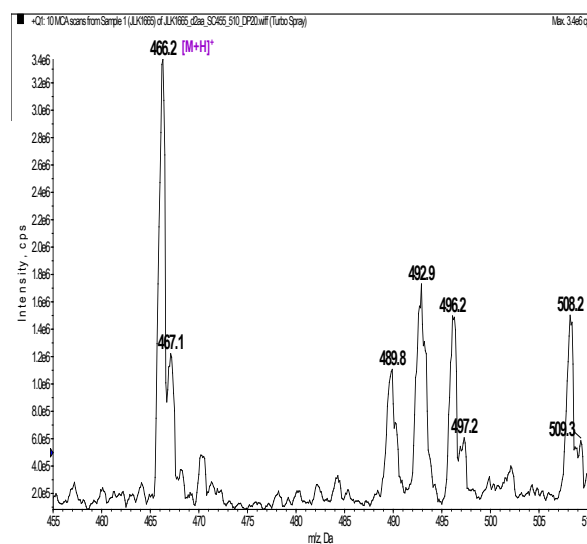


Figure A.II. 14. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **11** (gamme m/z 455-510).

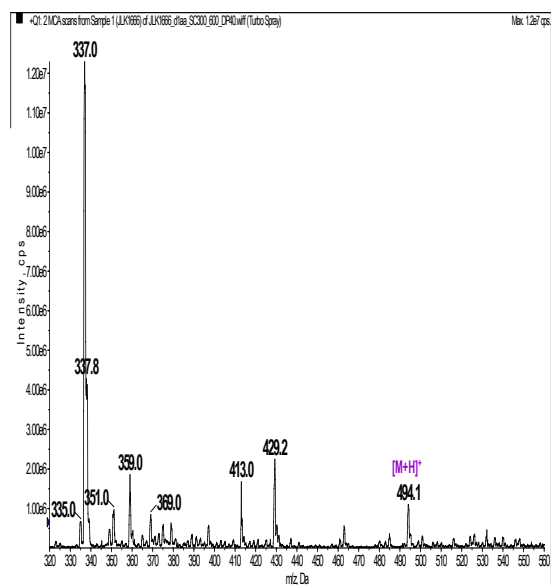


Figure A.II. 15. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **12**.

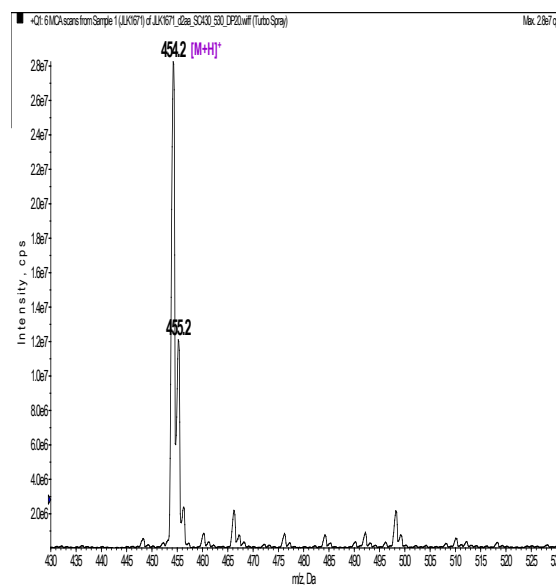


Figure A.II. 16. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **14**.

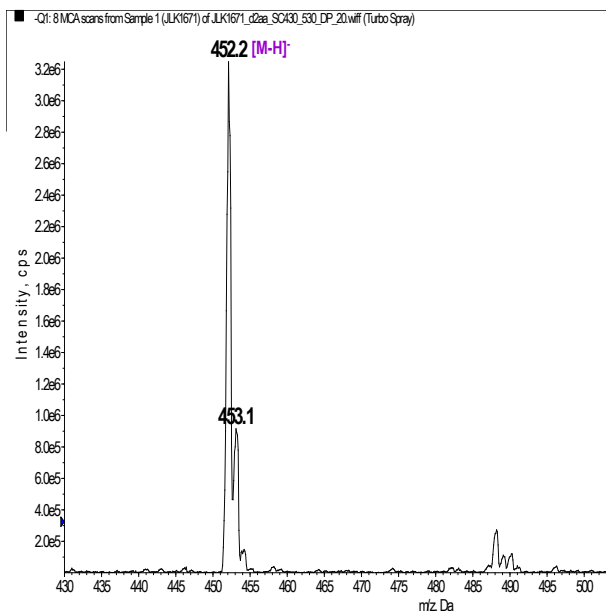


Figure A.II. 17. Spectre de masse en mode électrospray négatif du composé **14**.

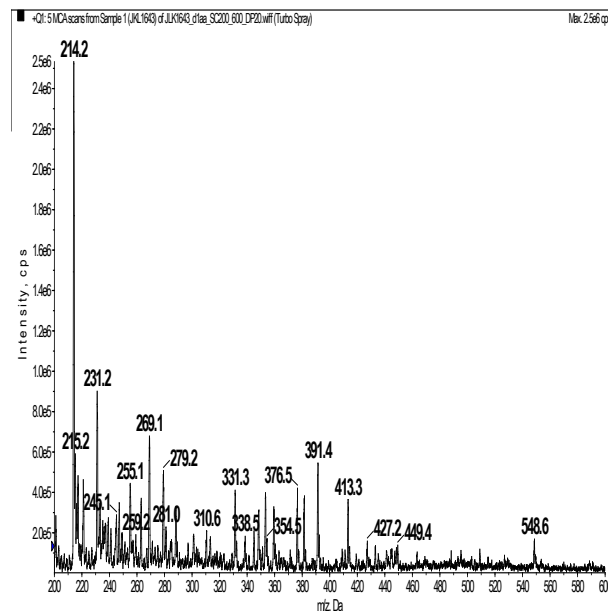


Figure A.II. 18. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **18**.
L'ion m/z 214 observé sur ce spectre est issu de la présence de phtalate dans la source d'ionisation.

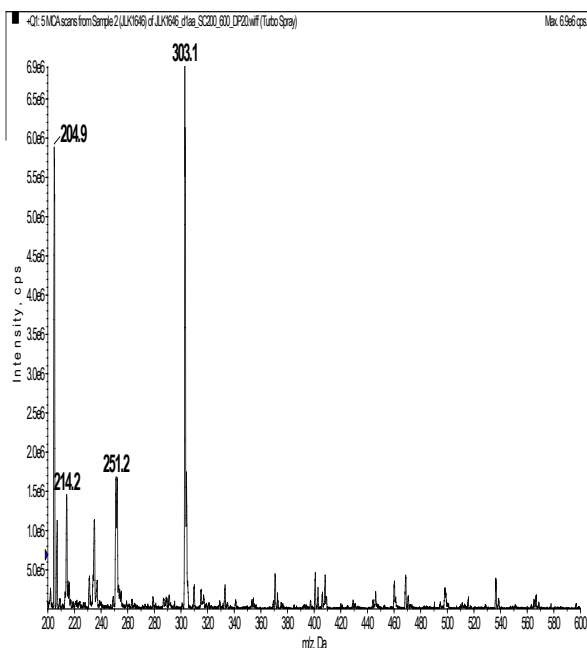


Figure A.II. 19. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **19**.

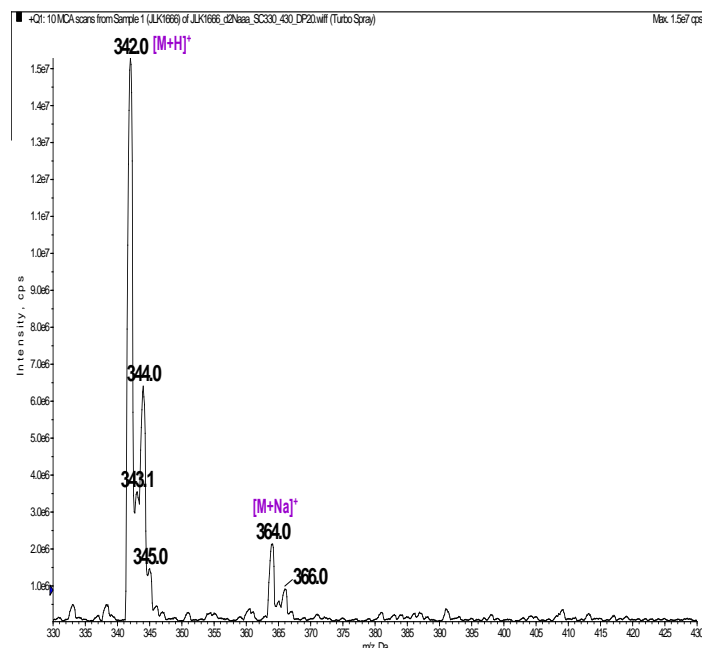
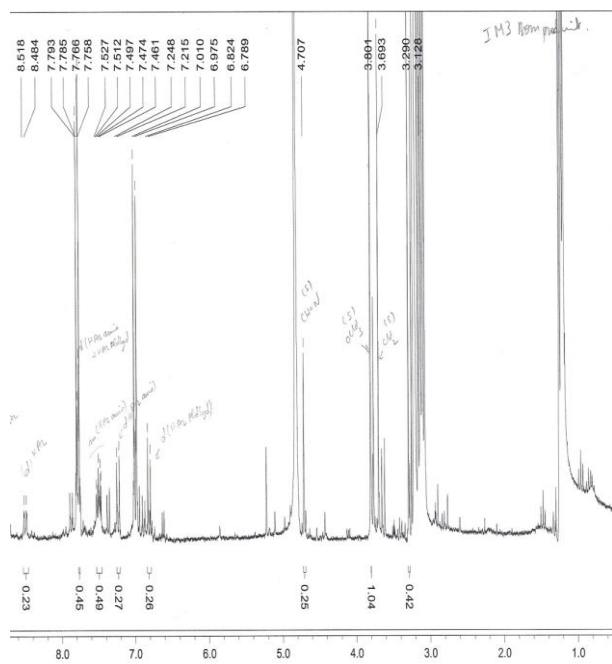


Figure A.II. 20. Spectre de masse en mode électrospray positif du composé **20**.



PUBLICATIONS

Publications

Ce travail de recherche a déjà donné lieu aux publications une internationale et l'autre nationale et quelques communications:

- ✚ Synthesis and Anti-Proliferative Activity of Novel Quinolin-8-ol Derivatives, ***Polycyclic Aromatic Compounds***, [Vol 31](#), [Issue 3](#), 2011, pp.143-153, "Copyright C _ Taylor & Francis Group, LLC"

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/10406638.2011.581261>

- ✚ Synthèse et mesure de l'hydrosolubilité du complexe d'inclusion des chloroéthylnitrososulfamides de la L-leucinate de méthyl et de la L-glycinate de méthyl dans la β -Cyclodextrine. ; ***Algerian journal of Advanced Materials***, **5**, 73, **2008**