



Université Lille Nord de France

ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE SANTE DE LILLE  
UNIVERSITE LILLE NORD DE FRANCE

**THESE**

En vue de l'obtention du

**DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LILLE 2**

Spécialité : Chimie organique

Soutenue à huis clos par

**VIVIEN STOCKER**

Le vendredi 14 décembre 2012

**NOUVEAUX DERIVES DE LA  
COMBRETASTATINE A-4 A VISEE  
ANTIVASCULAIRE**

**MEMBRES DU JURY**

|                      |                                     |                    |
|----------------------|-------------------------------------|--------------------|
| Pr. Adam Daïch       | Université du Havre, Le Havre       | Rapporteur         |
| Dr. Joëlle Dubois    | CNRS, ICSN, Gif-sur-Yvette          | Examineur          |
| Dr. Philippe Gautret | HEI, Lille                          | Examineur          |
| Pr. Jean-Yves Merour | ICOA, Université d'Orléans, Orléans | Rapporteur         |
| Pr. Régis Millet     | ICPAL, Université de Lille 2, Lille | Directeur de thèse |

CONFIDENTIEL

*Cette thèse est entièrement dédiée à mon frère Nicolas, décédé en 2009 d'une maladie de Hodgkin, un cancer des ganglions lymphatiques.*

*« Il doit souvent en être ainsi, quand les choses sont en danger : quelqu'un doit y renoncer, les perdre de façon que d'autres puissent les conserver. » — J.R.R Tolkien.*

CONFIDENTIEL

## Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé au laboratoire de Pharmacochimie de l'École des Hautes Etudes d'Ingénieur, à Lille. Je tiens à remercier l'ensemble des personnes qui m'ont aidé et ont participé de près ou de loin à ces trois années de travail.

Pour commencer, je souhaite remercier mes deux directeurs de thèse ainsi que mon encadrant.

Pr. Benoît Rigo (HEI, Lille), je tiens à vous faire part de toute ma gratitude et tout mon respect pour m'avoir permis de réaliser cette thèse sous votre direction et dans votre laboratoire. Merci d'avoir été présent à chaque instant, lorsque j'avais besoin de vos conseils et de votre aide précieuse sur mon sujet. Merci également pour votre grande humanité et votre ouverture d'esprit au quotidien qui m'ont également aidé en dehors du laboratoire.

Pr. Régis Millet (ICPAL, Université de Lille 2), je vous remercie pour avoir accepté de codiriger ma thèse et de m'avoir apporté conseils et soutien lorsque j'en avais besoin. Merci également d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Dr. Philippe Gautret (HEI, Lille), mes remerciements les plus sincères pour avoir été mon encadrant tout au long de ces trois années. Merci pour votre disponibilité, vos conseils et les longues discussions constructives qui m'ont permis de présenter un manuscrit de thèse digne de ce nom. Merci également pour votre humour et votre culture générale autre que scientifique qui m'a permis de découvrir beaucoup de nouvelles choses durant ces trois ans à partager le même bureau que vous.

Je tiens également à remercier les deux rapporteurs de mon jury de thèse.

Pr. Adam Dařch (Université du Havre), je tiens à vous présenter mes remerciements pour avoir accepté d'être le rapporteur de ma thèse.

Pr. Jean-Yves Merour (Université d'Orléans), veuillez accepter toute ma gratitude pour avoir accepté de lire et juger ma thèse.

Je tenais aussi à faire part de ma gratitude au Dr. Joëlle Dubois (Directrice de recherches, ISCN, Gif-sur-Yvette) pour avoir accepté de présider mon jury de thèse et pour m'avoir permis de faire tester mes composés au sein de votre laboratoire.

Je tiens également à remercier le Dr. Amaury Farce (Université de Lille 2) pour avoir effectué les études de modélisation moléculaire d'une partie de mes composés, ainsi que les Dr. Joanna Bakala et Jérôme Bignon (ISCN, Gif-sur-Yvette) pour avoir étudié les propriétés antivasculaires et apoptotiques d'une partie de mes molécules.

Mes remerciements vont également à la région Nord-Pas-de-Calais et à l'école HEI pour avoir financé mon projet de thèse durant ces trois ans.

## Remerciements

Ma reconnaissance va également à l'ensemble de mes collègues du laboratoire de Pharmacochimie pour leur aide précieuse et leur accueil.

Dr. Alina Ghinet, tu as été d'une grande aide durant ces trois années. Je tenais à te remercier pour avoir partagé avec moi tes qualités scientifiques qui m'ont, plus d'une fois, permis de me sortir du pétrin. Merci également pour les bons moments passés en ta compagnie.

Dr. Nathalie Van Hijfte, merci d'avoir été là pour m'accueillir et m'intégrer dans ce mystérieux pays qu'est le Nord de la France. Tu m'as été d'une aide précieuse durant les deux années que nous avons partagées, aussi bien pour tes conseils quotidiens au laboratoire qui m'ont permis de « survivre » à cette thèse que pour l'aide personnelle que tu m'as apportée dans certains moments difficiles. Je suis fier de te compter parmi mes amis.

Dr. Christelle Claverie, je tenais à te remercier pour tes conseils avisés et ton aide mais surtout pour m'avoir supporté tout au long de l'année que nous avons partagée en voisins de paillasse et de bureau.

Dr. Jolanta Rousseau, la plus française des lituaniennes, à qui je dois beaucoup tant au niveau professionnel qu'au niveau personnel. Pendant ma première année de thèse, tu as été mon amie et confidente au quotidien, tu as partagé autant les douleurs et les joies que j'ai pu traverser et tu as souvent subi mes humeurs sans jamais plier et toujours en me pardonnant. Cette première année en ta compagnie a été intense et riche en émotions. Nos discussions passionnées sur des sujets aussi divers que nos goûts musicaux et littéraires ou bien que sur des techniques de laboratoire resteront sans doute les souvenirs les plus vivaces de mes trois années de thèse. Un simple merci ne saurait rendre compte totalement de l'immense gratitude que je te dois et encore moins de la grande amitié que je te porte.

Davy Baudalet, étudiant de deuxième année de thèse. Merci pour avoir apporté un peu de sang masculin dans ce laboratoire à majorité féminine. Je suis heureux d'avoir partagé ma dernière année en ta compagnie et te souhaite bon courage pour finir ta thèse.

Je remercie également l'ensemble des stagiaires que j'ai pu encadrer : Tanguy Battesti et Guillaume Chuffart, étudiants de l'IUT de Béthune et Laurine Méchain, étudiante de l'école d'HEI ; j'espère que ce fut aussi formateur pour vous que ce le fut pour moi.

Je tenais à faire un remerciement particulier à « mes » deux stagiaires de master 2, Marie Lemans et Camille Supper. Vous avez été chacune à l'origine d'une grande partie de cette thèse, en effectuant un travail que, pour ma part, j'estime être digne du niveau d'un thésard. J'ai déjà eu l'occasion de vous remercier de vive voix pour ça, mais ce sera désormais gravé dans le marbre.

## Remerciements

Mes remerciements vont également à toutes les autres personnes que j'ai pu côtoyer au cours de ces trois ans à HEI :

Les stagiaires, Marion Delattre, Mickaël Prudhomme, Jérémy Walter, Nadège Rondeau, Tracy Donné et Aurélien Tourteau.

L'ensemble du personnel d'HEI et de l'ICPAL.

Les stagiaires roumaines qui ont passé quelques mois parmi nous : Gina Mirabela Dimitriu, Cristina Abuhaie et particulièrement Liliana Lucescu qui m'ont fait découvrir une partie de leur culture et nous ont accueilli à leur tour dans leur ville de Iași. Mulțumesc !

Pour finir, je souhaite adresser mes remerciements à mes amis :

A mes chers amis angevins, Jérémy, Simon & Sarah, qui m'épaulez depuis tant d'années et qui me connaissez sans doute mieux que personne et ce malgré l'éloignement géographique.

A mes amies mancelles, Nathalie et Marie, vous qui avez subi la vie de thésard en même temps que moi.

A mes amis lillois, en particulier Héloïse et Thibaut qui m'ont donné leur amitié et leur soutien lorsque j'en avais cruellement besoin.

A mes chers Tolkiendili : Audrey, Laura et Romain en particulier. Il est rare de posséder une passion comme la nôtre et encore plus de la partager avec des gens aussi bons que vous. Pour le coup, Tolkien me donne les meilleurs mots que je peux trouver pour vous : « j'aime moins de la moitié d'entre vous à moitié aussi bien que vous le méritez ».

*Last but not least*, je tiens à remercier mes parents Eric et Katy, qui m'ont toujours poussé à faire des études et ont toujours cru en moi ; et mon frère Arnaud, qui je l'espère deviendra lui aussi un docteur dans le domaine des mathématiques. Je ne suis pas quelqu'un de très expressif lorsqu'il s'agit de vous parler mes sentiments mais sachez que je vous aime. J'espère que vous êtes fiers de moi, car moi je le suis de vous avoir comme famille.

« Rien ne vaut la recherche lorsqu'on veut trouver quelque chose. »

— J.R.R Tolkien —

CONFIDENTIEL



## Abréviations

|                  |  |
|------------------|--|
| AcOEt            | Acétate d'éthyle   |
| AcONa            | Acétate de sodium  |
| AIBN             | Azobisisobutyronitrile   |
| Ala              | Alanine  |
| Asp              | Acide aspartique   |
| BEC              | Biological Committee Evaluation                                      |
| CA               | Combrétastatine  |
| CAN              | Nitrate de cérium et d'ammonium                                      |
| Cys              | Cystéine   |
| DAPI             | 4',6'-Diamidino-2-phénylindole                                       |
| DC               | Déplacement de la colchicine   |
| DMSO             | Diméthylsulfoxyde  |
| DMT              | Dose minimale tolérée  |
| EGTA             | Acide éthylène glycol tétraacétique                                  |
| équiv.           | Équivalent   |
| equiv.           | Equivalent   |
| EtOAc            | Ethyl acetate  |
| <i>et al.</i>    | <i>et alii</i>   |
| GDP              | Guanosine diphosphate  |
| GI <sub>50</sub> | Growth inhibition  |
| GTP              | Guanosine triphosphate   |
| HMDS             | Hexaméthylidisilazane  |
| HMDSO            | Hexaméthylidisiloxane  |
| HPLC             | Chromatographie liquide haute performance                            |
| IC <sub>50</sub> | Inhibitory concentration   |
| Ile              | Isoleucine   |
| INCa             | Institut National du Cancer  |
| IR               | Infrarouges  |
| ITP              | Inhibition de la polymérisation de la tubuline                       |
| LC-MS            | Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse |
| Leu              | Leucine  |
| LiHMDS           | Hexaméthylidisilazide de lithium                                     |
| M                | Concentration molaire  |
| MES              | Acide 2-( <i>N</i> -morpholino)éthanesulfonique                      |
| Met              | Méthionine   |

## Abréviations

|                  |  |
|------------------|--|
| mp               | Melting point                          |
| N.A.             | Non actif                              |
| NBS              | <i>N</i> -bromosuccinimide             |
| NCI              | National Cancer Institute              |
| N.D.             | Non donné                              |
| NOAEL            | Dose sans effet toxique observable     |
| NOESY            | Nuclear Overhauser effect spectroscopy |
| N.R.             | Non réagi                              |
| N.T.             | Non testé                              |
| PPh <sub>3</sub> | Triphénylphosphine                     |
| R <sub>f</sub>   | Rapport frontal                        |
| RMN              | Résonance magnétique nucléaire         |
| rt               | Room temperature                       |
| ta               | Température ambiante                   |
| <i>t</i> BuOK    | <i>Tert</i> -butanolate de potassium   |
| TFAA             | Anhydride trifluoroacétique            |
| THF              | Tétrahydrofurane                       |
| Thr              | Thréonine                              |
| UV               | Ultraviolets                           |
| VDA <sub>s</sub> | Vascular Disrupting Agents             |
| VTAs             | Vascular Targeting Agents              |

## Sommaire

---

CONFIDENTIEL

CONFIDENTIEL

# Sommaire

## Sommaire

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Sommaire</b> .....  | <b>1</b>  |
| <b>Présentation générale</b> .....   | <b>5</b>  |
| Présentation du projet .....   | 5         |
| Présentation du manuscrit.....   | 5         |
| <b>Introduction</b> .....  | <b>9</b>  |
| 1. Le cancer : généralités .....   | 9         |
| 2. Étapes de cancérisation et traitements .....  | 11        |
| 3. La stratégie antivasculaire de type VDA .....   | 12        |
| 5. La tubuline .....   | 14        |
| <b>Inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline en tant que VDAs</b> .....                    | <b>21</b> |
| 1. Zybrestat™ (CA-4P, OXi2021, fosbretabuline) .....   | 21        |
| 2. CA-1P (OXi4503).....  | 24        |
| 3. Ombrabuline (AVE8062, AC7700) .....   | 26        |
| 4. ZD6126.....   | 26        |
| 5. Phenstatine.....  | 27        |
| 6. BNC105.....   | 32        |
| 7. <i>Isocombréstatine A-4</i> .....   | 33        |
| 8. CKD-516 .....   | 37        |
| 9. Crolibuline (EPC2407) .....   | 38        |
| 10. Dénibuline (MN-029).....   | 38        |
| 11. ABT-751 .....  | 39        |
| 12. Vérubuline (azixa, MPC-6827, EP128495) .....   | 40        |
| <b>Conception de nouveaux antivasculaires</b> .....  | <b>43</b> |
| Chapitre 1. Exigences structurales du site de la colchicine .....                                | 43        |
| Chapitre 2. Modifications du cycle A publiées dans la littérature .....                          | 46        |
| Chapitre 3. Conception de nouveaux composés .....  | 49        |
| 3. 1. <i>Intérêt des stilbènes azotés</i> .....  | 49        |
| 3. 2. <i>Intérêt des dérivés avec un cycle A méthylé</i> .....                                   | 53        |
| 3. 3. <i>Intérêt des dérivés tricycliques</i> .....  | 57        |
| <b>Stratégies de synthèse</b> .....  | <b>61</b> |
| Chapitre 1. Synthèse d'azacombréstatines .....   | 61        |
| 1. 1. <i>Série 2-chloro-6-méthoxypyridinique</i> .....   | 62        |
| 1. 2. <i>Série 4,5,6-triméthoxypyrimidique</i> .....   | 69        |
| 1. 3. <i>Annexe : étude d'alternatives à l'utilisation du méthoxymalonate de diméthyle</i> ..... | 80        |
| Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé .....                              | 85        |

## Sommaire

|   |            |
|---|------------|
| 2. 1. Synthèse du 2-méthoxy-5-[(Z)-2-(3,4,5-triméthylphényl)vinyl]phénol..... | 87         |
| 2. 2. Synthèse de dérivés méthylés de la phenstatine.....                     | 92         |
| 2. 3. Synthèse d'analogues méthylés de l'isoCA-4.....                         | 108        |
| 2. 4. Evaluation biologique des composés à cycle A méthylé.....               | 111        |
| 2. 5. Conclusion.....   | 132        |
| Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A.....                    | 134        |
| 3. 1. Synthèse de nouvelles isocombrétastatines.....                          | 134        |
| 3. 2. Tentative de réaction de Wittig : une réaction inattendue.....          | 141        |
| Chapitre 4. Formation de dérivés tricycliques.....                            | 149        |
| 4. 1. Voie de synthèse à partir de la benzophénone aminée.....                | 151        |
| 4. 2. Voie de synthèse à partir de la benzophénone nitrée.....                | 153        |
| <b>Conclusion générale et perspectives.....</b>                               | <b>159</b> |
| <b>Experimental part.....</b>   | <b>169</b> |
| Protocoles de synthèse.....   | 170        |
| Tests biologiques.....  | 254        |
| <i>Tests de cytotoxicités NCI.....</i>  | <i>254</i> |
| <i>Tests d'inhibition de la polymérisation de la tubuline.....</i>            | <i>255</i> |
| <i>Evaluation de la cytotoxicité des composés par le test résazurine.....</i> | <i>255</i> |
| <i>Etude du cycle cellulaire.....</i>   | <i>256</i> |
| <i>Etude de l'apoptose.....</i>   | <i>256</i> |
| <i>Evaluation in vitro de l'activité anti-vasculaire.....</i>                 | <i>257</i> |
| Modélisation moléculaire.....   | 258        |
| <b>Bibliographie.....</b>   | <b>261</b> |

# Présentation générale

---

CONFIDENTIEL

CONFIDENTIEL



# Présentation générale

## Présentation du projet

Depuis peu, la stratégie antivasculaire de type VDA (*Vascular Disrupting Agent*), consistant en la détérioration spécifique des vaisseaux alimentant les tumeurs, est développée comme nouvel outil de lutte contre le cancer. Cette activité a été observée avec plusieurs composés, notamment des dérivés de la combrétastatine A-4 (CA-4), dont certains sont actuellement en développement clinique. Le problème principal rencontré avec ces produits est généralement leur cardiotoxicité et/ou leur neurotoxicité.

En vue de diminuer les nombreux effets secondaires de cette nouvelle famille thérapeutique, de nombreux analogues structuraux de la CA-4 ont été publiés dans la littérature ; cependant, la plupart comporte le cycle 3,4,5-triméthoxyphényle inchangé, car celui-ci est généralement considéré comme nécessaire à l'activité biologique.

L'objectif de ce travail a consisté à concevoir, synthétiser et évaluer biologiquement des analogues de la combrétastatine A-4 dans lesquels le cycle 3,4,5-triméthoxyphényle était substitué par des hétérocycles ou dans lesquels les groupements méthoxy remplacés par des groupes plus stables métaboliquement. Deux nouvelles classes de dérivés de la combrétastatine ont ainsi été développées avec de remarquables activités antitubuliniques et cytotoxiques *in vitro*. L'un des composés est en cours d'essais précliniques sur des souris xéno greffées au *National Cancer Institute*.

## Présentation du manuscrit

Le présent manuscrit s'articule en sept parties :

Dans **la partie introductive** sont présentées la cible d'intérêt et la stratégie antivasculaire qui lui est associée.

La **seconde partie** présente les inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline de type VDA qui sont d'ores et déjà en essais cliniques ou qui possèdent un intérêt structural et biologique pour notre travail, en commençant par son chef de file, **la combrétastatine A-4**.

La **troisième partie** rapporte la conception de nouveaux analogues de la CA-4, inhibiteurs de la tubuline, possédant une activité antivasculaire et une stabilité métabolique potentiellement plus importantes que celles de la CA-4. Ces composés présentent une originalité de structure au niveau du cycle A, dont très peu de modifications structurales ont été publiées par le passé dans la

## Présentation générale

littérature. Le **premier chapitre** de cette partie présente le site de liaison de la colchicine à la tubuline et le pharmacophore associé aux composés se liant sur ce site. Dans un **second chapitre**, une courte bibliographie permettra de prendre connaissance des quelques exemples d'analogues de la CA-4 possédant un cycle A modifié publiés dans la littérature. Le **chapitre trois** rapporte la conception de la série des analogues à cycle A azoté, le **chapitre quatre**, les analogues à cycle A méthylé et enfin le **chapitre cinq**, une série d'analogues mixtes de la CA-4 et de la colchicine possédant une structure tricyclique.

La **partie synthèse** présente les différentes voies d'accès aux analogues mentionnés ci-dessus. Le **premier chapitre** s'attarde sur les voies de synthèse des composés possédant un cycle A azoté et le **chapitre deux** sur les composés à cycle A méthylé. Dans un **troisième chapitre**, sont présentés des analogues possédant diverses variations structurales du cycle A, ainsi qu'une réaction inattendue intervenue lors de nos travaux. Enfin, le **quatrième et dernier chapitre** de cette partie présente les premiers essais de synthèse des composés tricycliques. Pour chacune de ces séries, les activités biologiques des composés synthétisés sont présentées et analysées en fin de chapitre.

La **partie conclusive** revient sur les résultats chimiques et biologiques obtenus et ouvre des perspectives sur l'avenir de ces composés. Une trentaine de composés a été synthétisé et testé dont une quinzaine est particulièrement intéressante du point de vue relations structure-activité.

Enfin, l'ensemble des protocoles expérimentaux chimiques et biologiques ainsi que les caractéristiques physico-chimiques des composés sont réunis dans la **partie expérimentale**.

Le manuscrit se clôt sur une **partie bibliographie** regroupant l'ensemble des références utilisées dans le cadre de ce travail.

# Introduction

---

CONFIDENTIEL

CONFIDENTIEL

# Introduction

## 1. Le cancer : généralités

Le cancer est une maladie bien connue dans notre société. Depuis plusieurs années, elle est devenue la cause majeure de décès dans le monde. En 2008, le rapport GLOBOCAN rapporte que près de 7,6 millions de personnes en sont décédées et près de 13 millions de nouveaux cas ont été diagnostiqués dans le même temps<sup>1,2</sup>. En France, le nombre de nouveaux cas de cancer diagnostiqués en 2011 est estimé à 207.000 chez l'homme et 158.500 chez la femme et le nombre de décès associés à 84.500 chez l'homme et 63.000 chez la femme<sup>3</sup>.

Chez l'homme, ce sont les cancers de la prostate et du poumon qui arrivent en tête des cancers les plus fréquents avec respectivement 71.000 et 27.500 nouveaux cas ; mais en termes de mortalité c'est le cancer du dernier qui est le plus fréquent avec 21.000 décès contre 8.700 pour le cancer de la prostate et 9.200 pour le cancer colorectal.

Chez la femme, le cancer du sein est le cancer le plus diagnostiqué avec 53.000 nouveaux cas, suivi par le cancer colorectal (19.000 cas) et le cancer du poumon (12.000 cas). Même si le taux de mortalité du cancer du sein diminue depuis une quinzaine d'années, il reste le cancer le plus meurtrier avec 11.500 cas de décès répertoriés en 2011, suivi du cancer colorectal avec 8.300 décès puis du cancer du poumon avec 8.100 décès. Ce dernier taux est d'ailleurs en constante augmentation depuis quelques années<sup>3</sup>.

En 2000, Hanahan et Weinberg que tous les types de cancer présentaient des altérations communes au niveau de leurs cellules<sup>4</sup>. C'est ainsi qu'ils présentent six points essentiels, qui sont autant de points sur lesquels la lutte anticancéreuse peut se pencher (Figure 1):

- Autonomie de production des signaux de croissance,
- Insensibilité aux signaux d'inhibition de croissance,
- Résistance à la mort cellulaire programmée (apoptose),
- Potentiel réplcatif illimité,

---

<sup>1</sup> Bray, F. *et al. Int. J. Cancer.*, **2012**, *132*, 113-1145.

<sup>2</sup> Jemal, A. *et al. Cancer J. Clin.*, **2011**, *61*, 69-90.

<sup>3</sup> Projection de l'incidence et de la mortalité par cancer en France en 2011. Rapport technique. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2011. 78 p.

<sup>4</sup> Hanahan, D. *et al. Cell*, **2000**, *100*, 57-70.

## Introduction

- Angiogenèse soutenue,
- Capacité invasive des tissus et des métastases.

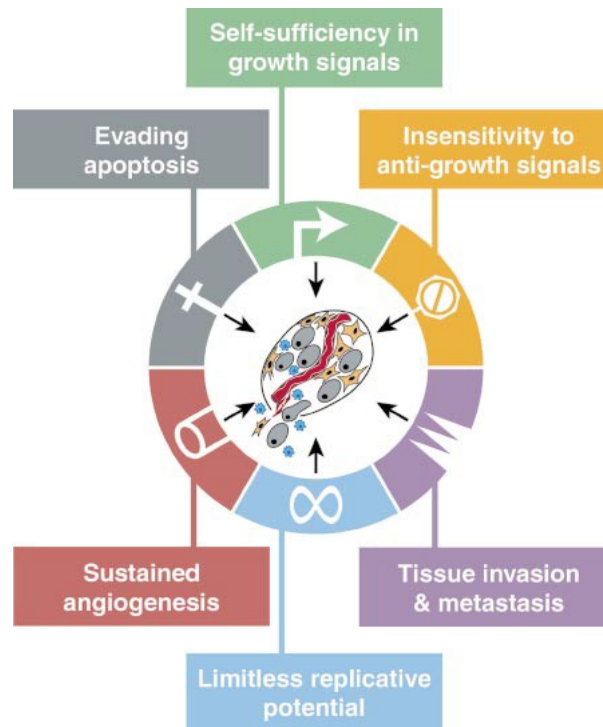


Figure 1 : Capacités du cancer<sup>4</sup>.

Il existe de nombreux facteurs prédisposant au cancer, appelés facteurs carcinogènes, qui sont soit endogènes, soit exogènes. Selon le *National Cancer Institute*, les principaux facteurs sont les suivants<sup>5</sup> :

- L'âge : la plupart des cancers interviennent après 65 ans,
- Le tabac,
- Les radiations, dont les rayonnements ultraviolets du soleil ou encore les rayons X,
- Les substances chimiques,
- Certains virus et bactéries, comme le *papillomavirus* responsable du cancer de l'utérus ou l'*helicobacter pylori*, qui provoque des ulcères gastriques qui peuvent mener à un cancer de l'estomac,
- Certaines hormones, comme celles prescrites aux femmes lors de la ménopause, suspectées d'augmenter le risque d'avoir un cancer du sein,

<sup>5</sup> Informations tirés du site du *NCI*, à l'url : <http://www.cancer.gov/cancertopics/wyntk/cancer/page3> (Consulté le 09 octobre 2012).

## Introduction

- Un facteur génétique héréditaire (présence de précédents dans la famille),
- L'alcool,
- Une mauvaise alimentation, le manque d'effort physique et le surpoids.

## 2. Étapes de cancérisation et traitements

Le cancer intervient en trois étapes : l'initiation, la promotion et la progression. Lors que l'initiation, l'ADN présent dans une cellule normale mute sous l'effet des facteurs carcinogènes. Durant la promotion, la cellule acquiert les caractéristiques de la cellule cancéreuse, et notamment son caractère de prolifération anarchique et sa résistance à l'apoptose, qui lui permettent, durant la promotion, de se multiplier de façon incontrôlée et d'envahir le reste du corps de l'hôte via les métastases (Figure 2).

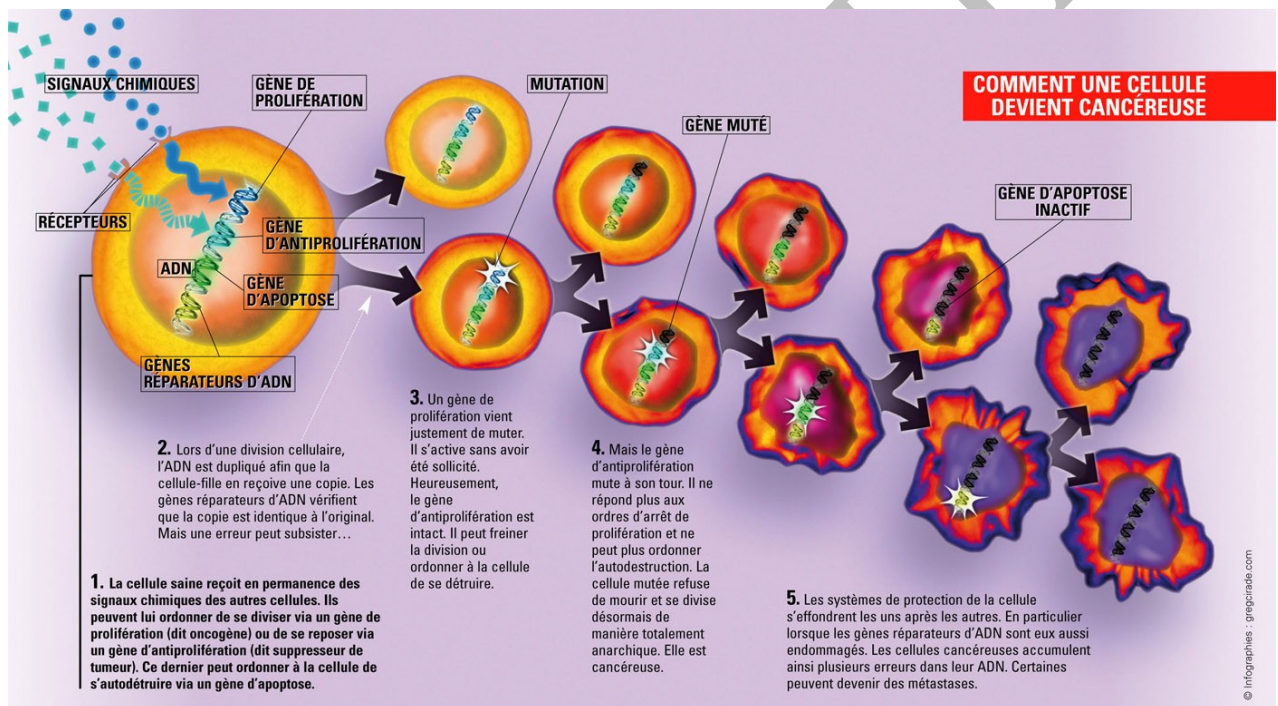


Figure 2 : Étapes de la cancérisation<sup>6</sup>.

<sup>6</sup> Image disponible sur le site du CNRS à l'url : [http://www2.cnrs.fr/sites/journal/image/infog\\_cancer\\_4\\_grand.jpg](http://www2.cnrs.fr/sites/journal/image/infog_cancer_4_grand.jpg) (Consultée le 08 octobre 2012).

## Introduction

Outre la guérison totale, les traitements désormais disponibles ont également pour but d'améliorer les conditions de vie des patients et d'en prolonger la vie. On distingue trois types de soins pour combattre le cancer :

- La chirurgie,
- La radiothérapie,
- Les traitements médicaux du type chimiothérapie, immunothérapie ou encore hormonothérapie.

La chimiothérapie conventionnelle est définie par l'Institut National du Cancer comme l'ensemble des *médicaments dont le mode d'action principal a pour cible les mécanismes impliqués dans la multiplication cellulaire [...] : cette action est dite « cytotoxique » ou « cytostatique »*<sup>7</sup>. Les classes de médicaments incluses dans ce groupe sont les antimétabolites, les alkylants, les inhibiteurs de topoisomérases, ou encore les antimitotiques. C'est dans cette dernière catégorie que s'inscrivent deux nouvelles approches s'attaquant au réseau vasculaire des tumeurs.

### 3. La stratégie antivasculaire de type VDA

Dans les cancers à tumeurs solides, à partir d'un volume supérieur à 1 ou 2 mm<sup>3</sup>, la tumeur cancéreuse développe des vaisseaux sanguins reliés au système vasculaire de l'hôte afin de s'alimenter en nutriments et en oxygène et d'évacuer ses déchets. Dans les moyens de lutte contre le cancer, deux approches s'attaquant au système vasculaire ont récemment vu le jour.

La première, la **stratégie antiangiogénique**, s'attache à empêcher la création de nouveaux vaisseaux sanguins immatures ; les cellules cancéreuses meurent alors par apoptose. Cette stratégie est utile en prévention ou dans les stades précoces de développement tumoral ou métastatique. Les molécules utilisées comme agents antiangiogéniques sont souvent désignées sous le terme de VTAs (*Vascular Targeting Agents*). Cette stratégie est particulièrement étudiée, et a déjà mené à la mise sur le marché de plusieurs produits, dont le Bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>), un anticorps monoclonal humanisé utilisé dans le traitement du cancer colorectal, le cancer du sein, du rein ou encore du cancer du poumon non à petites cellules. Cependant, la plupart des antiangiogéniques actuellement sur le marché ou en développement clinique possèdent des toxicités cardiaques et/ou hématologiques.

---

<sup>7</sup> *Situation de la chimiothérapie des cancers en 2011*. Collection Rapports & synthèses, ouvrage collectif édité par l'INCa, Boulogne-Billancourt, juin 2012.



## Introduction

La seconde approche, complémentaire de la première et qui nous intéresse particulièrement, s'attaque à la vascularisation tumorale préexistante. C'est la **stratégie antivasculaire**. Son principe d'action consiste à provoquer une ischémie, c'est-à-dire à réduire voire supprimer totalement l'afflux sanguin, afin d'asphyxier la tumeur. Privées de nutriments et d'oxygène, les cellules tumorales meurent par nécrose. Les agents utilisés dans ce cas, sont appelés **VDAs** (*Vascular Disrupting Agents*).

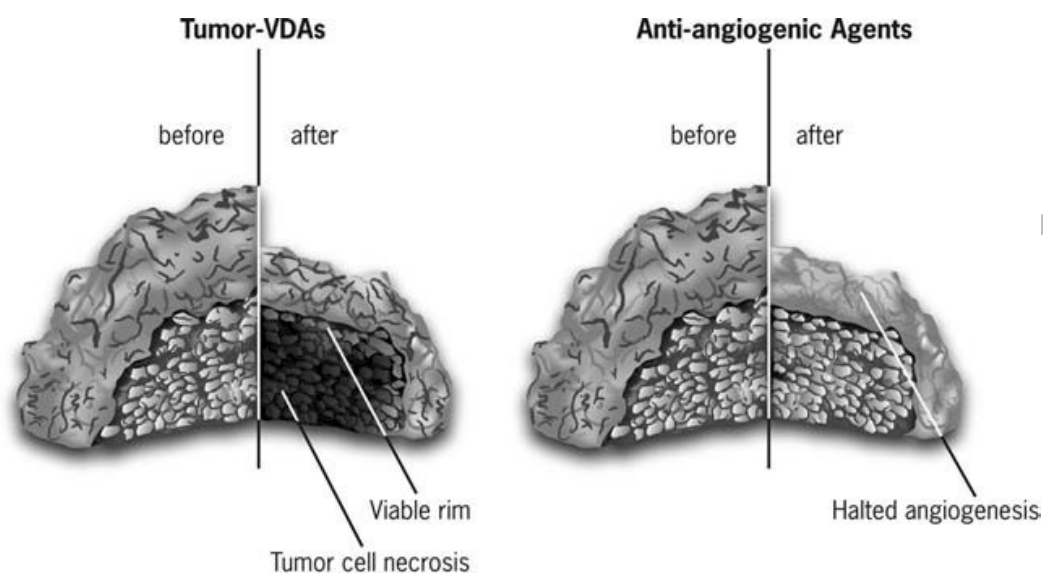


Figure 3 : Différence d'action entre les VDAs (à gauche) et les antiangiogéniques (à droite)<sup>8</sup>.

La stratégie antivasculaire a été pour la première fois mise en avant par le Pr. Juliana Denekamp en 1982<sup>9</sup>. Denekamp remarque que les cellules de l'endothélium tumoral possèdent une vitesse de prolifération près de vingt fois supérieure à celle des cellules des tissus normaux<sup>10</sup>. Les vaisseaux sanguins tumoraux sont généralement immatures et mal développés. Les cellules endothéliales sont mal agencées, provoquant une certaine perméabilité des vaisseaux ainsi qu'une pression vasculaire importante<sup>8</sup>. De plus, le réseau vasculaire tumoral est souvent désorganisé et hétérogène : il possède des schémas complexes et sans hiérarchie avec des vaisseaux se terminant abruptement, des constriction et des boucles, etc. Cela provoque un flux sanguin hétérogène<sup>11</sup>. Rechercher à détériorer spécifiquement les cellules endothéliales tumorales est ainsi devenu un enjeu majeur dans la stratégie antivasculaire.

<sup>8</sup> McKeage M. J. *et al. Cancer*, **2010**, 116, 1859-1871.

<sup>9</sup> *Antiangiogenic Cancer Therapy*; Davis, D. W.; Herbst, R. S.; Abbruzzese, J. L., Eds; CRC Press Taylor & Francis Group, 2008.

<sup>10</sup> Denekamp, J. *Br. J. Cancer*, **1982**, 45, 138-139.

<sup>11</sup> Mason, R. P. *et al. Integr. Biol.*, **2011**, 3, 375-387.

## Introduction

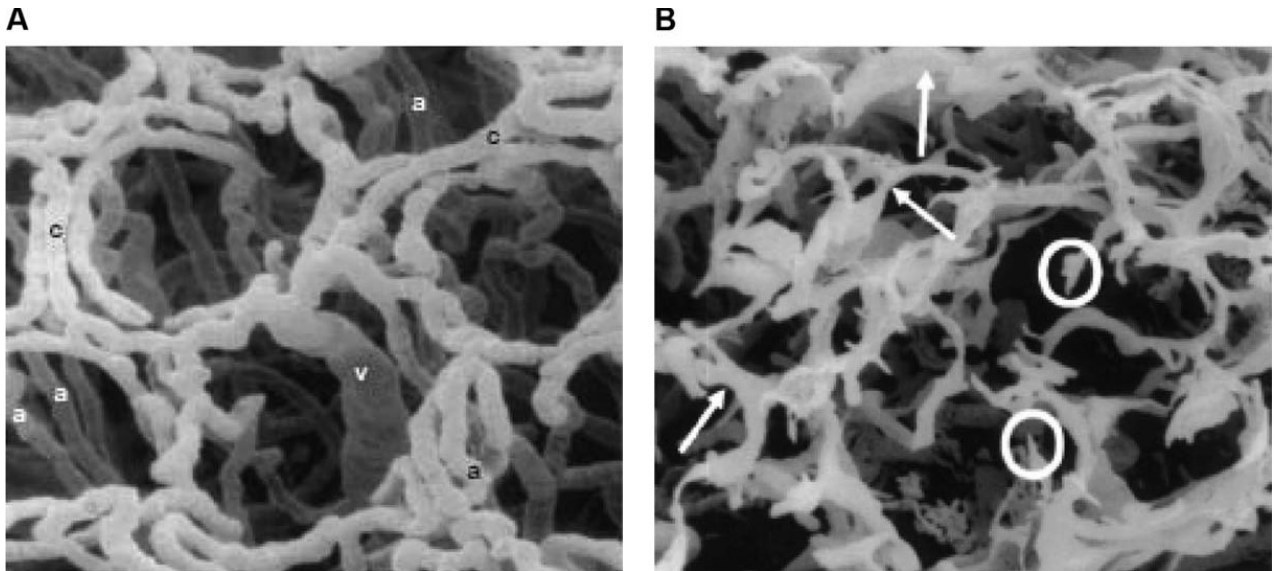


Figure 4 : Différence entre la vascularisation normale (A) et la vascularisation tumorale (B). On remarque une désorganisation complète de cette dernière avec des changements de section des vaisseaux (flèches) ou des terminaisons abruptes (cercles)<sup>8</sup>.

Actuellement, trois grandes familles de VDAs ont été mises en évidence :

- les inhibiteurs de N-cadhérine,
- les flavonoïdes synthétiques,
- les inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline.

C'est à cette dernière famille que nous allons nous intéresser.

### 5. La tubuline

La tubuline est une protéine cellulaire hétérodimérique formée par l'association de deux sous-unités d' $\alpha$  et  $\beta$ -tubuline. Ces dimères s'arrangent en protofilaments, la sous-unité  $\alpha$  d'un dimère s'associant à la sous-unité  $\beta$  du dimère suivant selon un intervalle de 8 nm. Treize protofilaments s'associent alors latéralement formant un microtubule, un cylindre creux d'un diamètre approximatif de 24 nm et de 5 nm d'épaisseur. Le microtubule final possède une structure hélicoïdale polarisée : la sous-unité  $\alpha$  représente l'extrémité (-) de la structure, de croissance lente, tandis que la sous-unité  $\beta$  représente l'extrémité (+) à croissance rapide.

## Introduction

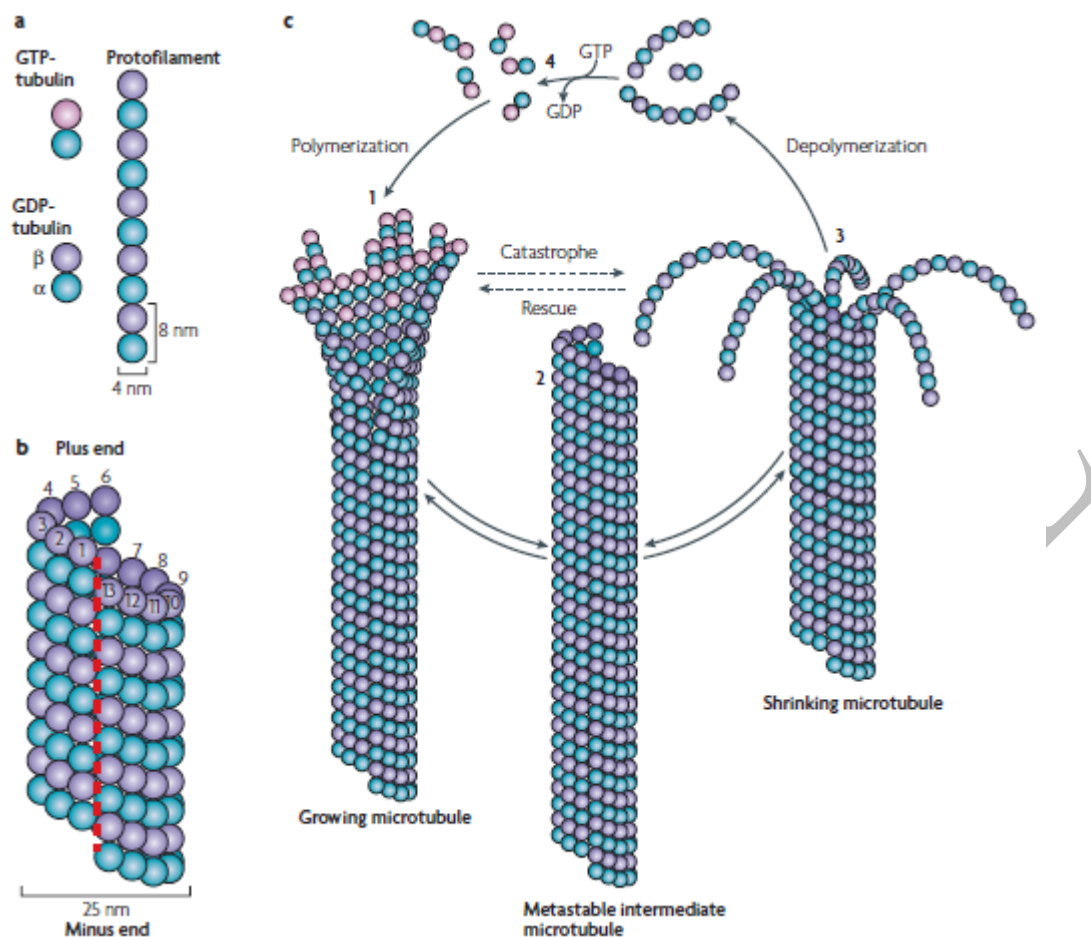


Figure 5 : Schéma de formation des microtubules<sup>12</sup>.

L'assemblage de dimères de tubuline exige la fixation d'une molécule GTP à la sous-unité  $\beta$ , à l'extrémité (+) (la plus dynamique), qui dirige en grande partie la stabilité de la polymérisation du microtubule. Le GTP est hydrolysé en GDP après l'incorporation du dimère au microtubule et le GDP reste ensuite lié au polymère formé. Les dimères de tubuline-GTP ont plus d'affinité les uns pour les autres que les dimères de tubuline-GDP. Par conséquent, la présence d'un groupe tubuline-GTP à l'extrémité d'un protofilament favorise la polymérisation, alors que la présence d'un dimère tubuline-GDP au même endroit favorise la dépolymérisation du microtubule par un changement de conformation. En réponse à un signal cellulaire, le GTP de la tubuline  $\beta$  peut s'hydrolyser pour former du GDP. Le microtubule devient instable ; il peut se dépolymériser en quelques secondes.

La formation des microtubules est un processus dynamique impliqué dans de nombreuses fonctions cellulaires essentielles comme le développement et le maintien de la forme des cellules, le transport intracellulaire, la signalisation cellulaire et la division cellulaire notamment par

<sup>12</sup> Akhmanova, A. *et al. Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2008**, 9, 309-322.

## Introduction

l'intermédiaire du fuseau mitotique. La perturbation de cette dynamique peut mener à l'arrêt du cycle cellulaire durant la métaphase, suivi de l'apoptose. Sachant que les cellules cancéreuses possèdent très généralement une vitesse de prolifération supérieure aux cellules normales, elles auront une vulnérabilité accrue vis-à-vis de la perturbation de la dynamique de leurs microtubules.

A ce jour, trois sites principaux de liaison à la tubuline différents ont été identifiés : le site des taxoïdes, le site de la colchicine et le site des vinca-alcaloïdes. Un certain nombre de ligands de structures très différentes, ont été reportés au fil des années. Ceci a permis d'élucider les modes de liaison des agents stabilisants et déstabilisants les microtubules. Ainsi, les substances capables de moduler l'association des microtubules peuvent être divisées en deux groupes (Figure 6) :

- Les agents stabilisant les microtubules, et donc empêchant leur dépolymérisation : les **taxanes**, dont le chef de file est le paclitaxel (ou Taxol<sup>®</sup>), qui se lie au site des taxoïdes. Les taxanes se lient à l'extrémité (+) du microtubule bloquant sa dépolymérisation et provoquant sa stabilisation. La mitose est alors interrompue juste avant l'anaphase et la cellule détruite par apoptose.
- Les agents déstabilisant les microtubules comprenant les **vinca-alcaloïdes** (vinblastine, vincristine, vindésine et vinorelbine) d'une part, et les composés interférant avec le site de la **colchicine** (colchicine, podophyllotoxine, combretastatine A-4, etc.) d'autre part.
  - Les **vinca-alcaloïdes** possèdent deux types d'action. Ils se lient à la sous-unité  $\beta$  de la tubuline, empêchant ainsi les dimères de se lier entre eux. A faibles concentrations, ils bloquent la dynamique des microtubules ; ce qui empêche la formation du fuseau mitotique conduisant à la mort par apoptose. Cependant à fortes concentrations, ils inhibent la polymérisation des dimères en microtubules et l'hydrolyse de la GTP en GDP ; ce qui détruit le fuseau mitotique bloquant ainsi le cycle de division cellulaire<sup>13</sup>.
  - La **colchicine**, quant à elle, se lie à la  $\beta$ -tubuline, et le complexe formé se lie à l'extrémité du microtubule à la place du complexe tubuline-GTP. L'affinité des dimères de tubuline étant moins bonne pour le complexe tubuline-colchicine, elle inhibe ainsi la polymérisation en microtubules.

---

<sup>13</sup> Brown, I.; Sangrithi-Wallace, J. N.; Scofield, A. C. Antimicrotubules Agents in *Anticancer Therapeutics*; Missailidis, S., Ed., John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2008, pp. 79-89.

## Introduction

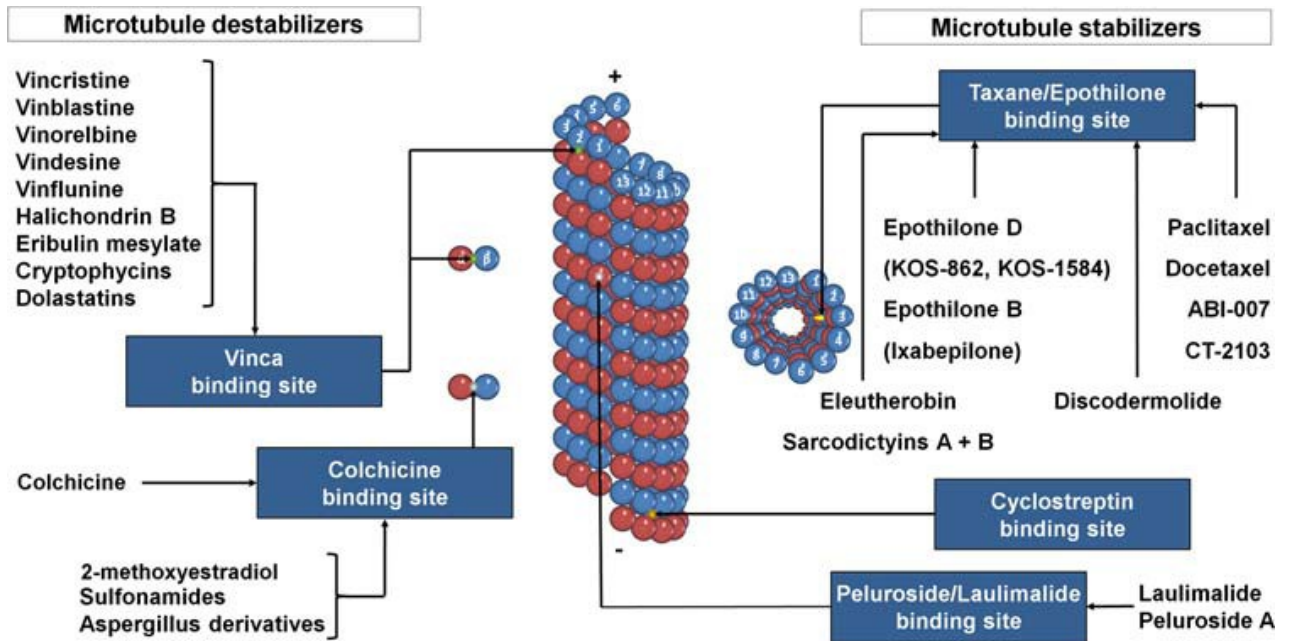


Figure 6 : Sites de liaison des différents inhibiteurs sur le microtubule<sup>14</sup>.

<sup>14</sup> Calligaris, D. *et al. Cell. Mol. Life Sci.*, **2010**, 67, 1089-1104.

CONFIDENTIEL

# **Inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline en tant que VDAs**

---

CONFIDENTIEL



## Inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline en tant que VDAs

Dans les années 1930, on découvre que, à des doses proches de la dose maximale tolérée, la colchicine (**1**) induit des nécroses hémorragiques sur les tumeurs cancéreuses, laissant supposer une activité antivasculaire par inhibition de la tubuline. Dans les années 1990, l'identification de nouveaux agents inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline de la famille des combrétastatines, possédant une activité antivasculaire à des doses très inférieures à la dose maximale tolérée, a permis d'accéder à une série de molécules actuellement en développement clinique.

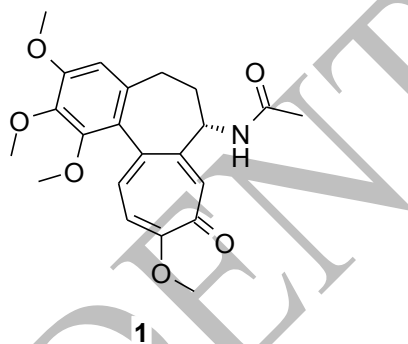


Figure 7 : Structure de la colchicine.

### 1. Zybrestat™ (CA-4P, OXi2021, fosbretabuline)

La combrétastatine A-4 (CA-4, **5**, Figure 8) est une molécule d'origine naturelle, de la famille chimique des stilbènes, qui a été isolée en 1989 par l'équipe de G. Pettit de l'écorce d'un arbre d'Afrique du Sud, le *Combretum caffrum*<sup>15</sup>. Ce composé est considéré comme le plus cytotoxique de la famille des combrétastatines naturelles, avec une activité *in vitro* cinq à dix fois supérieure aux CA-1 (**2**) et CA-2 (**3**).

<sup>15</sup> Pettit, G. R. *et al. J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 1688-1695.

## VDAs

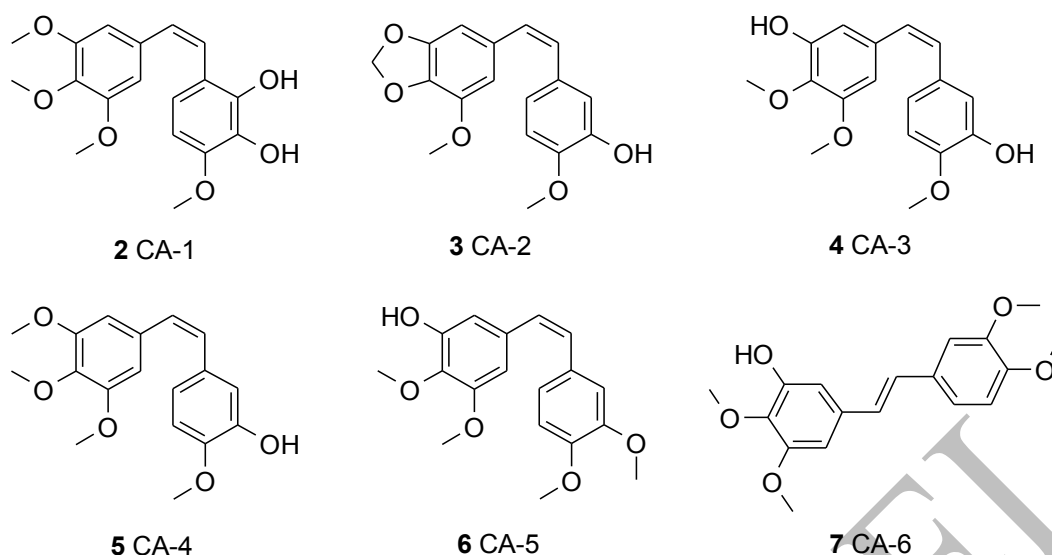


Figure 8 : Famille des combréstatines A.

La CA-4 est, par ailleurs, un bon inhibiteur de la polymérisation de la tubuline avec une  $IC_{50}$  de 2 à 3  $\mu M$ <sup>15</sup> et qui s'avère plus affin que la colchicine (1) vis-à-vis de la tubuline. La CA-4 possède également, tout comme la CA-1, une activité cytotoxique importante (Tableau 1). Parallèlement, il est important de noter que la présence de la liaison en configuration *cis* est nécessaire à l'activité ; en effet, l'isomère *trans* de la CA-4 est inactif.

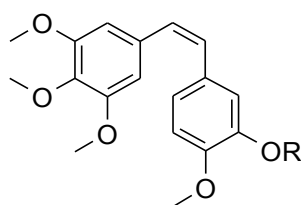
Tableau 1 : Comparaison des activités des CA-1 à 6<sup>15</sup>.

| Combréstatines | IPT ( $\mu M$ ) | Cytotoxicité sur<br>P388 ( $IC_{50}$ en $\mu M$ ) | Cytotoxicité sur L1210<br>( $IC_{50}$ en $\mu M$ ) | Panel NCI ( $GI_{50}$<br>en nM) |
|----------------|-----------------|---|--|---------------------------------|
| CA-1           | 2 – 3           | 3   | 0.6  | 16.2                            |
| CA-2           | 4 – 5           | 0.09  | 0.1  | 31.6                            |
| CA-3           | 4 - 5           | 0.086   | 0.04   | -                               |
| CA-4           | <b>2 – 3</b>    | <b>0.011</b>                                      | <b>0.003</b>                                       | <b>3.2</b>                      |
| CA-5           | 75 – 100        | 2.8   | 2  | 1650                            |
| CA-6           | > 100           | 57  | 30   | 100000                          |

**IPT** : Inhibition de la polymérisation de la tubuline. ;  **$IC_{50}$**  : Concentration nécessaire pour inhiber 50 % de la croissance cellulaire. ;  **$GI_{50}$**  : Moyenne d'inhibition de la croissance cellulaire ( $IC_{50}$ ) sur 60 souches de cellules cancéreuses du NCI.

L'un des inconvénients majeurs de la CA-4 est sa faible biodisponibilité dans les milieux biologiques ; ce qui a incité les chercheurs à concevoir des analogues possédant une meilleure hydrosolubilité. En 1995, l'équipe de Pettit publie la synthèse de la CA-4P (8, Figure 9) – une prodrogue phosphatée de la CA-4 – qui relargue la CA-4 sous l'action de phosphatases. Cette molécule est actuellement développée par les laboratoires Oxigene et Bristol-Myers Squibb.

## VDAs



5 R= H, **CA-4**

8 R = PO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>, **CA-4P**

Figure 9 : La CA-4 et sa prodroge phosphatée, la CA-4P.

La biotransformation de la CA-4 par des microsomes hépatiques humains et murins a été décrite par Aprile *et al.* en 2007<sup>16</sup>. Lors de cette étude, huit métabolites ont été détectés par LC-MS et séparés par HPLC. La correspondance des temps de rétention avec ceux des produits synthétisés dans leur laboratoire leur a permis d'identifier et d'attribuer une structure à chacun d'entre eux (Figure 10).

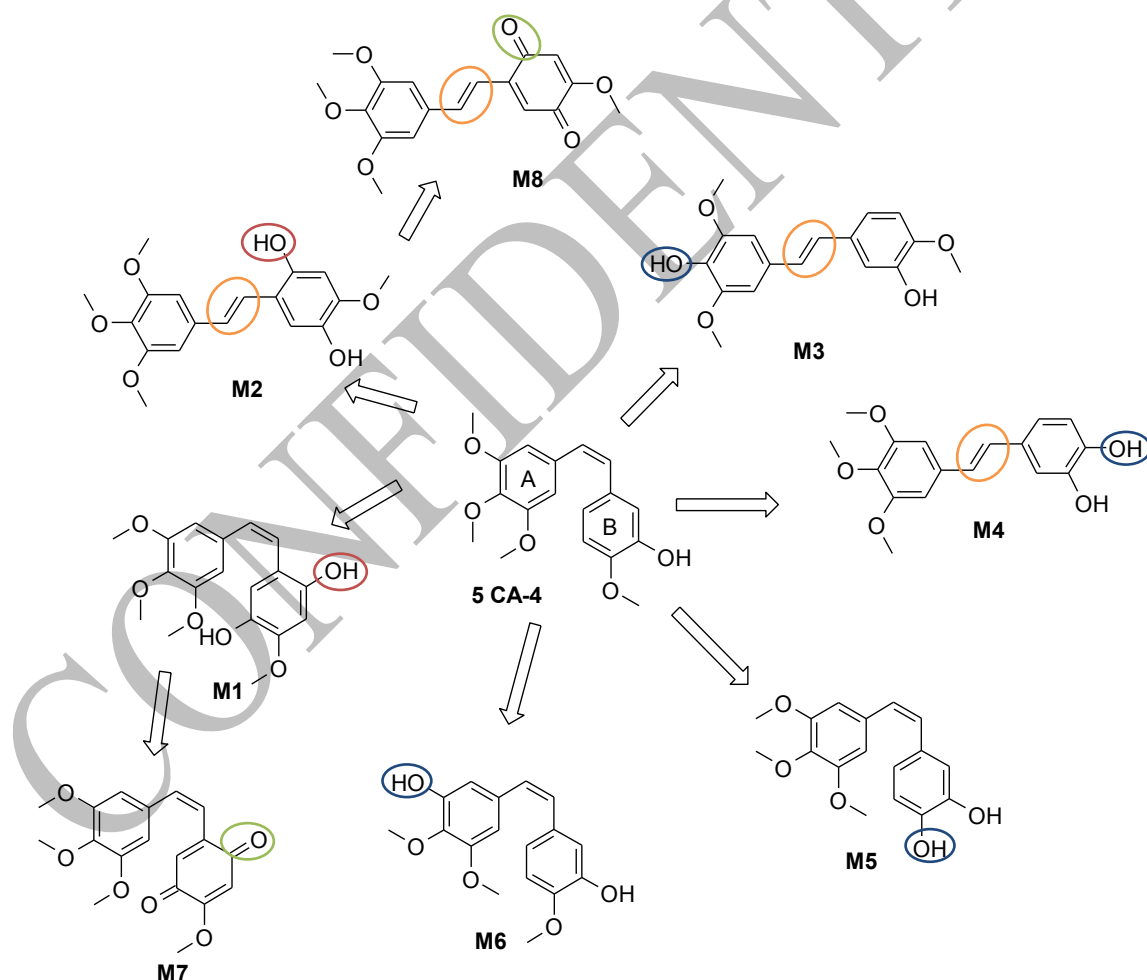


Figure 10 : Profil de métabolisation hépatique *in-vitro* de la CA-4 par des microsomes hépatiques<sup>16</sup> : O-déméthylations, hydroxylations aromatiques, oxydations, isomérisations *cis/trans*.

<sup>16</sup> Aprile, S. *et al.* *Drug. Metab. Dispos.*, **2007**, 35, 2252-2261.

## VDAs

Ainsi que le remarquent les auteurs, les deux principales métabolisations qui interviennent sur la combrétastatine A-4 sont des hydroxylations aromatiques, spécifiques au cycle B (**M1** et **M2**), et des *O*-déméthylations (**M3-6**). On remarque également que la double liaison est la cible d'une isomérisation *cis/trans*, qui conduit aux métabolites **M2**, **M3** et **M4**. L'hypothèse d'une isomérisation de la *Z*-CA-4 en *E*-CA-4 préalablement à la métabolisation a été écartée pour privilégier une isomérisation métabolique après *para-O*-déméthylation de l'un des deux cycles (d'où l'absence d'un métabolite isomère de **M6**) et lors d'une hydroxylation aromatique. D'une manière intéressante, les métabolites **M4** et **M5** ne forment pas d'*ortho*quinones. Cette remarque peut expliquer l'activité moindre de la CA-4P vis-à-vis de la périphérie de la tumeur, en comparaison avec la CA-1P qui formerait des *ortho*quinones actives s'attaquant également à cette région<sup>17</sup> (cf. 2. CA-1P (OXi4503)).

En 1997, Dark *et al.* mettent en évidence le caractère antivasculaire très rapide et sélectif de la CA-4 sur des tumeurs murines et humaines dans des tests *in vivo*<sup>18</sup>. Ainsi, l'arrêt de la vascularisation intervient dans les 20 minutes après l'injection du produit, et mène à une nécrose du centre de la tumeur dans les 24 heures qui suivent, et ce pour des doses allant de 25 à 1500 mg/kg. Les études cliniques de phase I de la CA-4P ont permis de mettre en évidence des **toxicités neurologique et cardiaque mais aucune toxicité hématologique**<sup>19</sup> et une dose maximum tolérée comprise entre 52 et 68 mg/m<sup>2</sup><sup>20</sup>. Néanmoins, la CA-4P est bien tolérée ; ce qui l'a conduite en phase III d'essais cliniques pour le cancer anaplastique de la thyroïde. Par ailleurs, des essais de phase II ont été engagés en combinaison avec du carboplatine, du paclitaxel et du Bevacizumab pour le cancer des ovaires et celui des poumons<sup>21</sup>, afin cibler également la périphérie de la tumeur laissée viable par la CA-4P. Les essais de phase III sont prévus en combinaison avec le carboplatine et le paclitaxel sur le cancer des ovaires résistant au platine<sup>22</sup>.

## 2. CA-1P (OXi4503)

L'OXi4503 (**9**, Figure 11), également développée par la société Oxigene, est la prodrogue diphosphatée de la combrétastatine A-1, synthétisée en 2000 par Pettit *et al.*<sup>23</sup>.

---

<sup>17</sup> Salmon, H. W. *et al. Clin Cancer Res.*, **2006**, *12*, 4090-4094.

<sup>18</sup> Dark, G. G. *et al. Cancer Res.*, **1997**, *57*, 1827-1834.

<sup>19</sup> Patterson, D. M. *et al. Drug Future*, **2007**, *32*, 1025-1032.

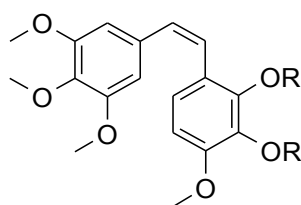
<sup>20</sup> Hinnen, P. *et al. J. Cancer*, **2007**, *96*, 1159-1165.

<sup>21</sup> Spear, M. A. *et al. Curr. Drug Targets*, **2011**, *12*, 2009-2015.

<sup>22</sup> Petrillo, M. *et al. Curr. Pharm. Des.*, **2012**, *18*, 2702-2712.

<sup>23</sup> Pettit, G.R. *et al. Anti-Cancer Drug Des.*, **2000**, *15*, 203-216.

## VDAs



**2** R= H, **CA-1**

**9** R = PO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>, **CA-1P**

Figure 11 : La CA-1 et sa prodrogue phosphatée, la CA-1P.

Les premières études précliniques ont permis de démontrer que la CA-1 possédait une activité antivasculaire plus efficace que la CA-4 (de l'ordre de 10 fois). Tout d'abord, l'effet de la CA-1 sur la vascularisation tumorale dure plus longtemps que pour la CA-4. La réduction tumorale qui en découle est supérieure avec la CA-1 qui, contrairement à la CA-4, cible également la couronne viable créée lors de la nécrose de l'intérieur de la tumeur. Cette attaque de la couronne viable entraîne une reformation du système vasculaire plus lente que dans le cas de la CA-4.<sup>17</sup> Il a été montré que la CA-1 est notamment métabolisée en l'*ortho*quinone **10** par l'action d'enzymes oxydatives. C'est cette *ortho*quinone qui expliquerait l'activité de la CA-1 dans la partie périphérique de la tumeur.

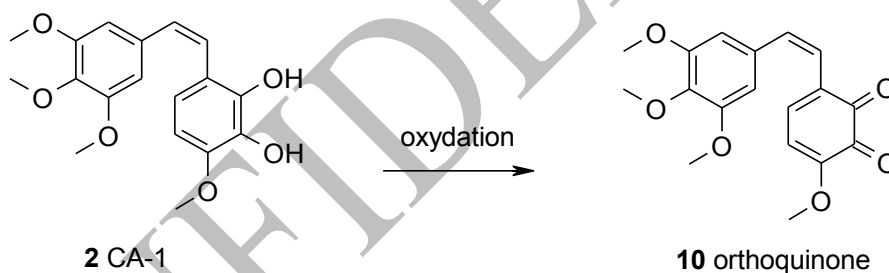


Schéma 1: Formation d'un métabolite actif de la CA-1.

Les études cliniques de phase I ont permis de montrer que la molécule ne possédait pas de **toxicités hématologique et cardiaque notables**. Toutefois une **neurotoxicité** momentanée, mais **réversible**, a été soulignée. Des essais cliniques de phase Ib/II sont planifiés pour étudier l'intérêt d'associer la CA-1P avec un agent antiangiogénique, le pazopanib, contre le cancer du sein<sup>24</sup>, et d'autre part, des patients sont en cours de recrutement pour des essais de phase I contre la leucémie aiguë myéloblastique<sup>25</sup>.

<sup>24</sup> Patterson, D. M. *et al. Clin. Cancer Res.*, **2012**, *18*, 1415-1425.

<sup>25</sup> Lu, Y. *et al. Pharm. Res.*, **2012**, *29*, 2943-2971.

### 3. Ombrabuline (AVE8062, AC7700)

En 1998, Ohsumi *et al.* présentent la synthèse de l'AVE8063 (**12**), un analogue de la CA-4 possédant un groupement amine à la place du phénol sur le cycle B<sup>26</sup>. La prodrogue hydrosoluble sérinamidée **11** est mise au point par les laboratoires Ajinomoto sous le nom d'ombrabuline ou AVE8062.

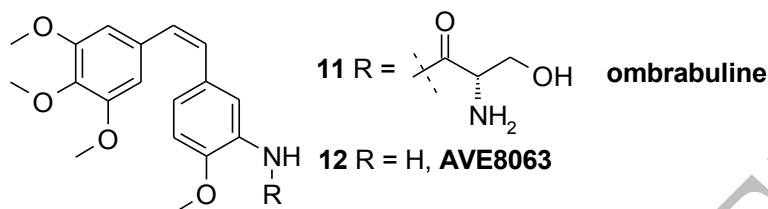


Figure 12 : Squelette de l'ombrabuline (AVE8062) et de son métabolite actif, l'AVE8063.

En 2002, Hori *et al.* montrent que l'ombrabuline possède une activité antivasculaire très rapide<sup>27</sup> et une activité antitubuline comparable à celle de la CA-4<sup>26</sup>. L'activité antivasculaire provoque un arrêt du flux sanguin en moyenne dans les 30 minutes qui suivent l'injection du produit, et même dès 3 minutes dans certains capillaires. Cela provoque une réduction de la tumeur par nécrose, qui est également observée en périphérie ; ce qui n'est pas le cas avec bons nombres d'analogues de la CA-4 qui laissent une couronne extérieure tumorale viable. Lors des essais de phase I, une **toxicité cardiaque** a été mise en évidence. Néanmoins, la molécule a pu continuer à être testée avec un contrôle strict de sa cardiotoxicité. Elle est désormais en phase III d'essais cliniques contre le sarcome et en phase II contre le cancer des ovaires et le cancer du poumon non à petites cellules<sup>28</sup> par Sanofi/Ajinomoto, ainsi qu'en essais cliniques en combinaison avec d'autres agents tels que des taxanes<sup>29</sup>.

### 4. ZD6126

Le ZD6126 (**13**) est la prodrogue phosphatée du *N*-acétylcolchicol, un analogue de la colchicine développé par AstraZeneca puis par Angiogene Pharmaceuticals. Comme la colchicine, le ZD6126 agit en tant qu'agent antivasculaire menant à la nécrose de l'intérieur de la tumeur, mais en laissant une couronne de cellules viables en périphérie<sup>30</sup>. Des études cliniques de ce composé en combinaison avec des agents ciblant cette couronne tels que le taxol, le cisplatine ou

<sup>26</sup> Ohsumi, K. *et al. J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 3022-3032.

<sup>27</sup> Hori, K. *et al. Br. J. Cancer*, **2002**, *86*, 1604-1614.

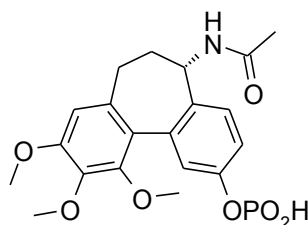
<sup>28</sup> Soria, J.-C. *VEGF Actus*, **2012**, *26*, 15-16.

<sup>29</sup> Kim, T. J. *et al. Cancer Res.*, **2007**, *67*, 9337-9345.

<sup>30</sup> Lippert, J. W. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 605-615.

## VDAs

la radiothérapie ont permis de montrer une régression plus importante de la tumeur<sup>30</sup>. Les essais cliniques de phase I n'ont pas mis en évidence d'effets secondaires, cependant les essais de phase II ont été stoppés suite à **une forte toxicité cardiaque**<sup>30,31</sup> lors des premiers essais réalisés par AstraZeneca. Angiogene semble avoir fourni une solution, et est actuellement à la recherche de partenaires pour relancer des essais cliniques<sup>32,33</sup>.



13 : ZD6126

Figure 13 : Le ZD6126, un analogue de la colchicine.

## 5. Phenstatine

En 1998, Petit *et al.* publient la synthèse de la phenstatine (14), un dérivé de la CA-4 comportant un groupe carbonyle à la place de la double liaison 1,2-éthylénique (Figure 14)<sup>34</sup>.

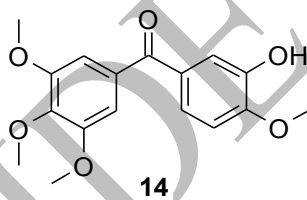


Figure 14 : Structure de la phenstatine.

Cette benzophénone a été isolée suite à la tentative d'époxydation de la CA-4 en présence du catalyseur de Jacobsen (Schéma 2).

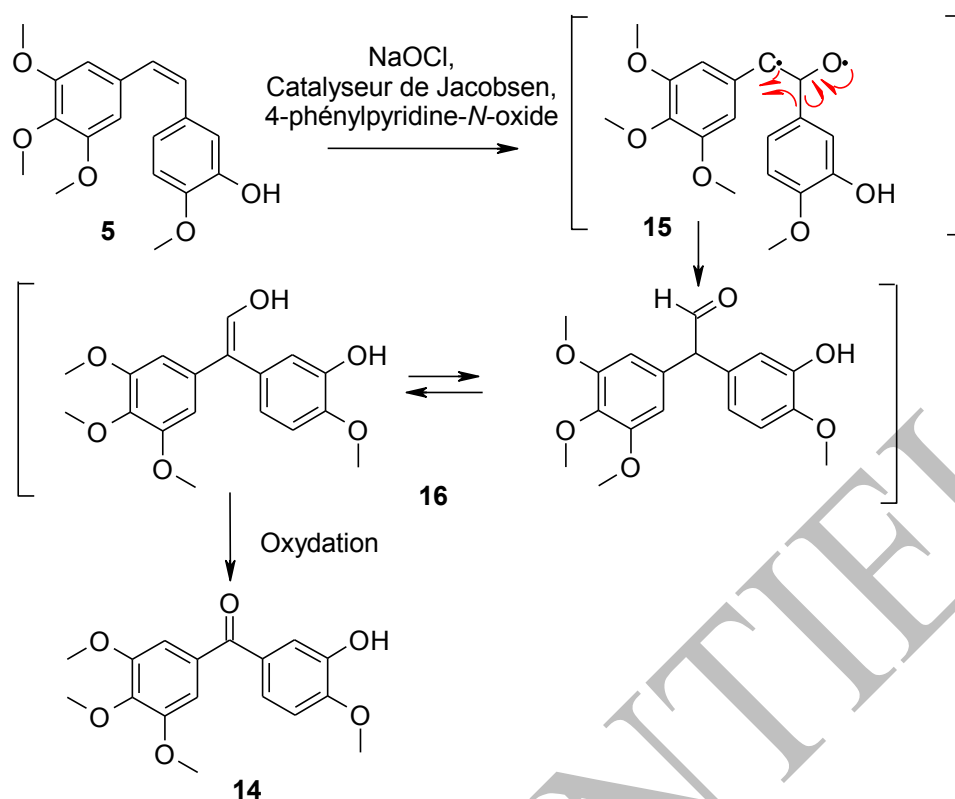
<sup>31</sup> Hasani, A. *et al. Clin. Lung Cancer*, **2011**, 12, 18-25.

<sup>32</sup> Kingston, D. G. I. *J. Nat. Prod.*, **2009**, 72, 507-515.

<sup>33</sup> Site d'Angiogene Pharmaceuticals : [www.angiogene.co.uk](http://www.angiogene.co.uk), sous les onglets Pipeline et Licensing, pages consultées le 17 juillet 2012.

<sup>34</sup> Pettit, G. R. *et al. J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 1688-1695.

## VDAs



Le composé, ainsi que sa prodrogue phosphatée **17**, présentent des activités cytotoxiques et antitubuliniques très intéressantes (Tableau 2).

**Tableau 2 : Cytotoxicités, activités d'inhibition de la polymérisation de la tubuline et d'inhibition de la liaison de la colchicine dans le site de la tubuline, de la phenstatine (14) et de sa prodrogue 17 comparées à celles de la CA-4 (5) et de la CA-4P (8)<sup>34,35</sup>.**

| Composé   | 5   | 8    | 14  | 17 |
|-----------|-----|------|-----|----|
| ITP* (µM) | 1.0 | > 80 | 1.0 | 21 |
| DC* (%)   | 98  | 4    | 86  | 37 |

| Type cellulaire                         | Lignée cellulaire | GI <sub>50</sub> * (µg/mL) |        |        |         |
|---|-------------------|----------------------------|--------|--------|---------|
| Leucémie                                | P388              | 0.0003                     | 0.0004 | 0.0033 | < 0.001 |
| Cancer du poumon non à petites cellules | NCI-H460          | 0.0006                     | 0.029  | 0.0057 | 0.035   |
| Cancer du côlon                         | KM20L2            | 0.34                       | 0.34   | 0.04   | 0.27    |
| Cancer du système nerveux central       | SF-295            | > 0.001                    | 0.036  | 0.052  | 0.012   |
| Mélanome                                | SK-MEL-5          | N.D.                       | 0.041  | 0.0038 | 0.0047  |
| Cancer de l'ovaire                      | OVCAR-3           | N.D.                       | 0.023  | 0.0023 | 0.0025  |
| Cancer du rein                          | A498              | N.D.                       | 0.041  | 0.38   | 0.05    |

ITP : inhibition de la polymérisation de la tubuline (en µM) ; DC : déplacement de la colchicine, capacité du composé à lier la tubuline comparé à la colchicine (en %) ; GI<sub>50</sub> : concentration pour inhiber 50 % de la croissance cellulaire (en µg/mL).

<sup>35</sup> Pettit, G. R. *et al. J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 2731-2737.



## VDAs

On constate que la phenstatine possède une activité inhibitrice de la polymérisation de la tubuline égale à celle de la CA-4. Par ailleurs, sa prodrogue présente une meilleure activité que la CA-4P. Concernant les cytotoxicités, les activités de la phenstatine sont du même ordre de grandeur que celles de la CA-4. D'un point de vue structural, elle présente donc l'avantage de s'affranchir de l'effet d'isomérisation de la double liaison de la CA-4 tout en conservant une activité intéressante.

En 2011, Le Broc-Ryckewaert *et al.* décrivent la biotransformation de la phenstatine par des microsomes hépatiques humains et murins<sup>36</sup>. Au cours de cette étude, huit métabolites ont été détectés par LC-MS et séparés par HPLC. La correspondance des temps de rétention avec ceux des produits synthétisés au laboratoire<sup>37</sup> a permis d'identifier et d'attribuer une structure à chacun d'entre eux (Figure 15).

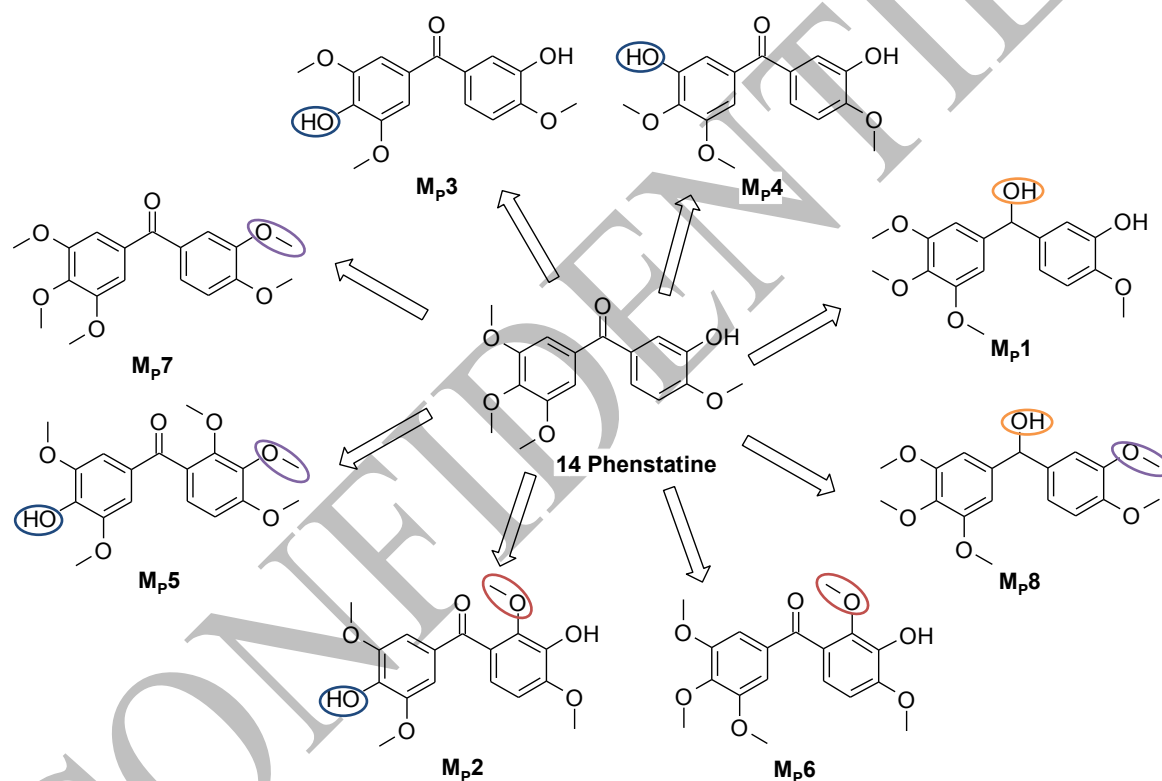


Figure 15 : Profil de métabolisation hépatique *in vitro* de la phenstatine par des microsomes hépatiques : O-déméthylations, hydroxylations aromatiques puis O-méthylations, réductions, O-méthylations.

<sup>36</sup> Le Broc-Ryckewaert, D. *et al. Drug Metab. Lett.*, **2011**, 5, 209-215.

<sup>37</sup> Ghinet, A. *et al. Bioorg. Med. Chem.*, **2011**, 19, 6042-6054.

## VDA<sub>s</sub>

Les principales métabolisations observées concernent les groupements méthoxy qui perdent leurs groupes méthyles sous l'action d'*O*-déméthylases (métabolites **M<sub>p</sub>2**, **3**, **4** et **5**). Cette métabolisation a également été observée sur la CA-4 dans le cas du méthoxy en *para* du cycle A, mais pas en position *mé*ta comme c'est le cas du métabolite **M<sub>p</sub>4**. A la différence de la CA-4, où l'on observe une déméthylation du méthoxy du cycle B, cette métabolisation n'est pas observée sur la phenstatine. Paradoxalement, on note la méthylation du groupement hydroxyle du cycle B (métabolites **M<sub>p</sub>5**, **7** et **8**) et des hydroxylations aromatiques suivies d'*O*-méthylations (métabolites **M<sub>p</sub>2** et **6**), métabolisations absentes chez la CA-4. Enfin, à l'image de la CA-4, et contrairement à la CA-1, la formation d'*ortho*quinones n'est pas observée.

Le métabolite **M<sub>p</sub>6** est particulièrement intéressant du fait de ses activités antitubulinique et cytotoxique plus importantes que celles de la phenstatine (Tableau 3).

CONFIDENTIEL

## VDAs

|   | Composé               | Phenstatine 14                               | M <sub>p</sub> 6 |
|---|-----------------------|--|------------------|
|   | ITP (μM) <sup>a</sup> | 15.0 ± 0.2                                   | 3.2 ± 0.2        |
| Type de cellule                         | Lignée cellulaire     | GI <sub>50</sub> (M) <sup>b,c</sup>          |                  |
| Leucémie                                | CCRF-CEM              | -  | 2.9 E-8          |
|   | HL-60(TB)             | -  | 2.3 E-8          |
|   | K-562                 | -  | < 1.0 E-8        |
| Cancer du poumon non à petites cellules | A549/ATCC             | -  | 4.1 E-8          |
|   | EKVX                  | -  | 6.1 E-7          |
|   | NCI-H322M             | -  | < 1.0 E-8        |
|   | NCI-H460              | 0.6 E-8 <sup>15</sup>                        | 5.1 E-8          |
|   | NCI-H522              | -  | < 1.0 E-8        |
| Cancer du côlon                         | COLO 205              | 4.9 E-6 <sup>35</sup>                        | 6.2 E-6          |
|   | HCC-2998              | -  | 2.1 E-7          |
|   | HCT-116               | -  | 3.2 E-8          |
|   | HCT-15                | -  | 1.1 E-8          |
|   | KM12                  | -  | < 1.0 E-8        |
| Cancer du SNC                           | SF-268                | -  | 2.1 E-8          |
|   | SF-295                | 5.2 E-8 <sup>15</sup>                        | 2.0 E-8          |
|   | SF-539                | -  | 1.5 E-8          |
| Mélanome                                | M14                   | -  | < 1.0 E-8        |
|   | MDA-MB-435            | -  | < 1.0 E-8        |
|   | SK-MEL-2              | -  | 2.7 E-8          |
|   | SK-MEL-28             | -  | > 1.0 E-4        |
|   | UACC-62               | -  | 2.7 E-8          |
| Cancer de l'ovaire                      | OVCAR-3               | 0.2 E-8 <sup>15</sup>                        | 2.2 E-8          |
|   | OVCAR-4               | -  | 7.3 E-8          |
|   | OVCAR-5               | -  | 6.5 E-7          |
|   | NCI/ADR-RES           | -  | < 1.0 E-8        |
|   | SK-OV-3               | -  | 9.0 E-8          |
| Cancer du rein                          | A498                  | 3.8 E-7 <sup>15</sup>                        | 2.7 E-6          |
|   | CAKI-1                | -  | 1.2 E-7          |
|   | RXF 393               | -  | 1.6 E-8          |
|   | SN12C                 | -  | 4.7 E-8          |
|   | ÜO-31                 | -  | 4.9 E-8          |
| Cancer de la prostate                   | DU-145                | 3.4 E-8 <sup>35</sup>                        | 2.1 E-8          |
| Cancer du sein                          | MCF7                  | 4.4 E-7 <sup>35</sup> /3.4 E-8 <sup>38</sup> | 2.6 E-8          |
|   | MDA-MB-231/ATCC       | -  | 2.5 E-8          |
|   | HS 578T               | -  | < 1.0 E-8        |
|   | MDA-MB-468            | -  | 2.5 E-7          |

**Tableau 3<sup>37</sup> : Activités cytotoxiques et antitubulinique du métabolite M<sub>p</sub>6** <sup>a</sup> ITP : Inhibition de la polymérisation de la tubuline, tests réalisés par l'équipe de Jean Pommery à l'Université Lille 2 ; <sup>b</sup> Tests NCI ; <sup>c</sup> GI<sub>50</sub> représente la concentration molaire en composé nécessaire à l'inhibition de 50 % de la croissance cellulaire.

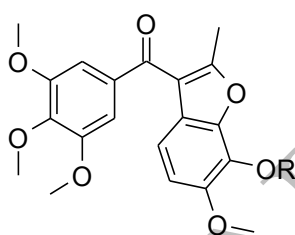
Néanmoins, malgré son intérêt, la phenstatine reste pour l'instant au stade des essais précliniques pour cause de résultats non concluants<sup>34</sup>.

<sup>38</sup> Barbosa, E. G. *et al. Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*, 2685-2688.

## 6. BNC105

En 2010, Kremmidiotis *et al.* évaluent par screening une chimiothèque d'une centaine d'analogues de la CA-4 possédant une cytotoxicité contre des cellules endothéliales en phase de prolifération<sup>39</sup>. Trois composés, identifiés durant cette étude, possèdent une sélectivité pour ces cellules, dont BNC105 (**18**) qui possède une activité 80 fois supérieure sur des cellules endothéliales en phase de prolifération que vis-à-vis de cellules endothéliales quiescentes<sup>39,40</sup>.

Comme la CA-4 et la phenstatine, BNC105 possède un groupe 3,4,5-triméthoxyphényle comme cycle A et un substituant phénol et méthoxy sur le cycle B. Le squelette de ce cycle B est un benzofurane.



**18** R = H : **BNC105**  
**19** R = PO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub> : **BNC105P**

Figure 16 : Formule de BNC-105 (**18**) et de sa prodrogue phosphatée (**19**).

Les tests *in vitro* montrent que BNC105 est capable d'inhiber la formation de nouveaux capillaires sanguins à une concentration de 1 nM, soit une concentration dix fois inférieure à celle de la CA-4. A cette concentration, cependant, il ne détruit pas les capillaires déjà formés. BNC105 agit comme un inhibiteur de la tubuline classique, réduisant la vascularisation tumorale et mène à la nécrose de l'intérieur de la tumeur par asphyxie sur des tumeurs solides d'origine humaine.

Afin d'augmenter sa solubilité, sa prodrogue phosphatée **19** a été synthétisée comme ce fut le cas avec la phenstatine et la CA-4. Comparée à cette dernière, BNC105P possède une fenêtre thérapeutique plus large : alors que la CA-4 produit 90 % de destruction vasculaire à sa *dose sans effet toxique observable* (NOAEL, 300 mg/kg), BNC105 occasionne 95 % à 1/8 de sa NOAEL (80 mg/kg) sur les modèles murins. Enfin, BNC-105 est retenue de façon préférentielle dans les tissus tumoraux plutôt que dans les tissus sains, provoquant un temps d'exposition plus long au produit. BNC105 est ainsi utilisable en tant qu'agent antitumoral seul<sup>39</sup>.

<sup>39</sup> Kremmidiotis, G. *et al.* *Mol. Cancer Ther.*, **2010**, *9*, 1562-1573.

<sup>40</sup> Flynn, B. L. *et al.* *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 6014-6027.

## VDAs

En 2011, le premier essai clinique de phase I mené par Bionomics a permis de recommander une dose d'administration de 16 mg/m<sup>2</sup>. Durant cette étude, **aucune toxicité cardiaque, neurologique ou hématologique** n'a été observée. Des études de phase II ont débuté sur le mésothéliome et sur le carcinome métastatique des cellules rénales<sup>41</sup> ainsi qu'en combinaison avec l'Everolimus contre le carcinome à cellules claires du rein<sup>25</sup>. Plus récemment, en avril 2012, des essais précliniques sur le cancer des ovaires ont été menés. Il a ainsi été montré que BNC-105P inhibait la croissance de tumeurs résistantes aux traitements au cisplatine et au carboplatine (Tableau 4) et conduisait à un meilleur taux de survie des animaux traités<sup>42</sup>.

Tableau 4 : Comparaison de l'inhibition de la prolifération observée durant l'exposition *in vitro* des lignées cellulaires A2780 et A2780cis du cancer de l'ovaire au BNC105, cisplatine et carboplatine<sup>42</sup>.

| Lignée cellulaire | A2780                   | A2780cis |
|-------------------|-------------------------|----------|
| Composé           | IC <sub>50</sub> * (nM) |          |
| BNC105            | 0.25                    | 0.13     |
| Cisplatine        | 312                     | 4231     |
| Carboplatine      | 9795                    | 83621    |

\* IC<sub>50</sub> représente la concentration molaire en composé nécessaire à l'inhibition de 50 % de la croissance cellulaire.

## 7. Isocombrétastatine A-4

La famille des *isocombrétastatines* a été découverte en 2009 par Messaoudi *et al*<sup>43</sup>. Les *isocombrétastatines* possèdent un squelette 1,1-diaryléthylène ; ce sont des isomères de position des *combrétastatines* ne possédant pas, à l'instar les *phenstatines*, l'inconvénient de s'isomériser.

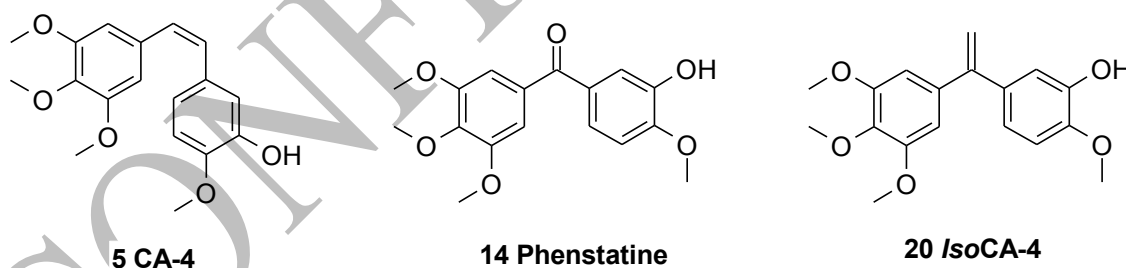


Figure 17 : L'*isoCA-4*, analogue commun à la *CA-4* et à la *phenstatine*.

L'*isocombrétastatine* A-4 (*isoCA-4*, **20**), l'analogue de la *combrétastatine* A-4, est obtenue par réaction de Buchwald-Hartwig entre une *N*-tosylhydrazone **22**, issue de la transformation de la

<sup>41</sup> Rischin, D. *et al. Clin. Cancer Res.*, **2011**, *17*, 5152-5160.

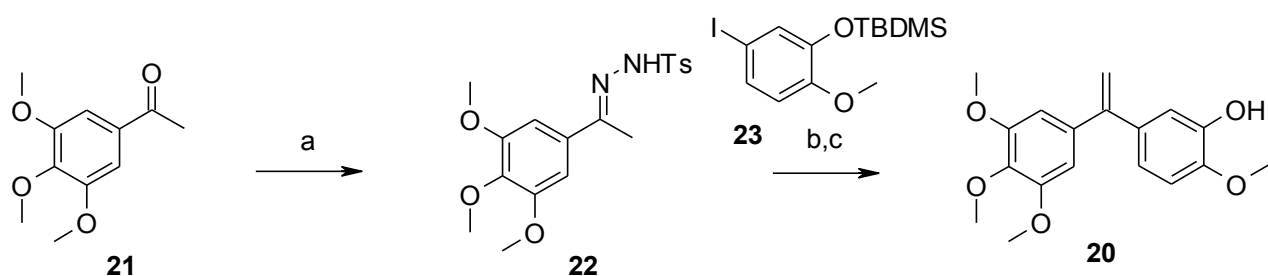
<sup>42</sup> Lavranos, T. C. *et al. AACR Annual Meeting 2012*, poster disponible en ligne à l'adresse :

<http://www.bionomics.com.au/siteFiles/files/AACR%202012%20Kremmidiotis%202774.pdf> (consulté le 09 avril 2012).

<sup>43</sup> Messaoudi S. *et al. J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 4538-4542.

## VDAs

3,4,5-triméthoxyacétophénone **21**, et le cycle aromatique **3** en présence de Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> et de 2-dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphényle (Xphos) (Schéma 3).



**Schéma 3** : (a) TsNHNH<sub>2</sub>, EtOH, reflux, 4 h, 79 % ; (b) **23**, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, Xphos, *t*BuOLi, dioxane, 70°C, 5 h. ; (c) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH, rt, 2 h, 69 %.

Les tests de cytotoxicité effectués sur les *isocombrétastatines* montrent notamment que l'*isoCA-4* possède une activité cytotoxique 10 fois supérieure à celle de la phenstatine (et de la colchicine), et similaire à celle de la CA-4 sur l'ensemble des lignées cellulaires testées (Tableau 5).

**Tableau 5** : Activités cytotoxiques sur des lignées cellulaires humaines et activité antitubuline de l'*isoCA-4* comparées à celles de la colchicine, de la CA-A et de la phenstatine<sup>43</sup>.

| Composé                      | IC <sub>50</sub> (nM) |      |       |           | ITP (μM) |
|------------------------------|-----------------------|------|-------|-----------|----------|
|                              | HCT116                | K562 | H1299 | MDA-MB231 |          |
| Colchicine ( <b>1</b> )      | 32                    | 29   | 30    | 26        | 2.1      |
| CA-4 ( <b>5</b> )            | 2.3                   | 3.6  | 5.0   | 3.0       | 1.0      |
| Phenstatine ( <b>14</b> )    | 33                    | 41   | 21    | 28        | 2.0      |
| <i>IsoCA-4</i> ( <b>20</b> ) | 2.5                   | 5.0  | 5.0   | 4.0       | 2.2      |

IC<sub>50</sub> : Concentration en composé nécessaire pour réduire la croissance cellulaire de 50 % ; IPT : Inhibition de la polymérisation de la tubuline.

Ces résultats d'activité montrent que le pont C=O de la phenstatine peut être remplacé par un groupe C=CH<sub>2</sub>. Son rôle, supposé intervenir dans la forte activité antitubuline, doit donc être relativisé. La géométrie nécessaire à l'insertion dans le site de la tubuline est préservée. Ainsi, la valeur de l'angle dièdre de l'*isoCA-4* prend une valeur de 68°, proche de celle de la CA-4 et de celle de la phenstatine. A partir de cette géométrie, déterminée par RX, Messaoudi *et al.* ont procédé à une étude de docking de l'*isoCA-4* dans le site de la tubuline (Figure 18). Il en ressort que l'*isoCA-4* s'intègre parfaitement au site de la colchicine : ses différents substituants occupent un espace similaire à ceux de la CA-4, en accord avec la géométrie du pharmacophore proposé par Nguyen *et al.*<sup>44</sup>.

<sup>44</sup> Nguyen, T. L. *et al. J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 6107-6116.

## VDA's

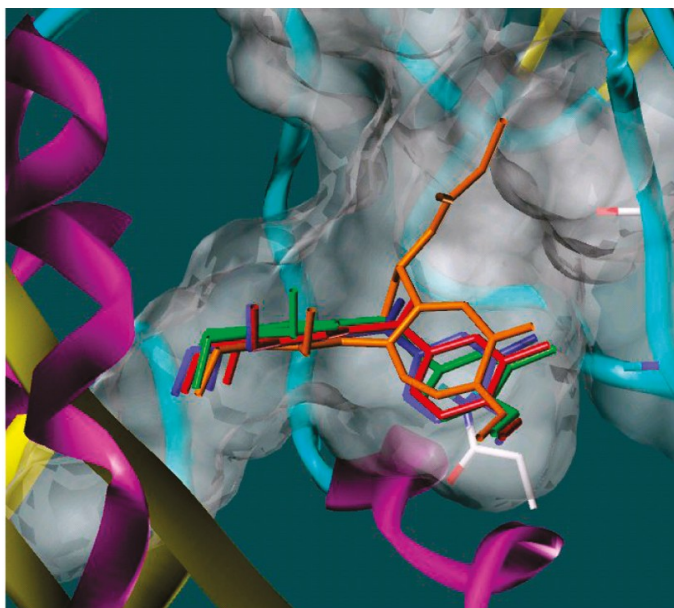
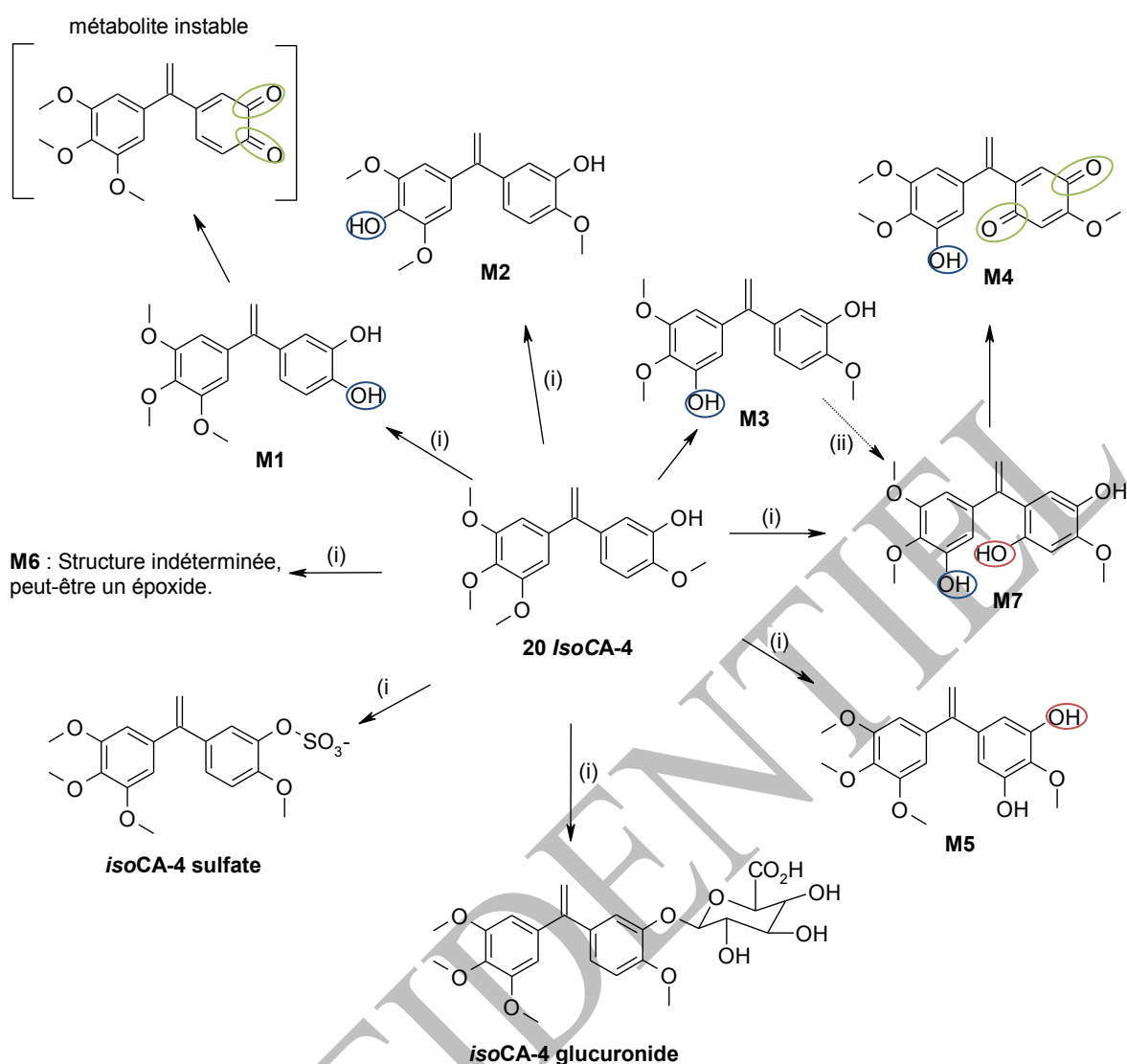


Figure 18 : Docking de l'*isoCA-4* (20), superposée à la *CA-4* (5), la *phenstatine* (14) et la *colchicine* (1) dans le site de la colchicine de la tubuline.

En 2011, la même équipe publie le profil métabolique de l'*isoCA-4*<sup>45</sup> incubée avec des microsomes hépatiques humains et murins. Sept métabolites ont été identifiés lors de la première étape de métabolisation, résultant principalement d'*O*-déméthylations et d'hydroxylations aromatiques comme c'est le cas lors de la métabolisation hépatique de la *CA-4*. Deux autres métabolites, un sulfate et un glucuronide ont également été révélés lors d'une seconde étape de métabolisation. Les métabolites ont été identifiés par LC-MS et séparés par HPLC en comparant leur temps de rétention avec des métabolites qui ont été synthétisés au laboratoire (Figure 19).

<sup>45</sup> Soussi, M. A. *et al. ChemMedChem*, 2011, 6, 1781-1788.

## VDAs



**Figure 19** : Métabolisation *in-vitro* de l'isocombrestatine A-4 (20) par des microsomes hépatiques : *O*-déméthylations, hydroxylations aromatiques, oxydations. (i) Voie de métabolisation envisagée par Soussi *et al.* et (ii) proposition de correction.

La métabolisation de l'isoCA-4 présente certaines des caractéristiques de celles de la CA-4 et de la phenstatine. Les métabolisations principales sont des hydroxylations aromatiques et des déméthylations. On observe ainsi la formation des métabolites **M4** et **M7** par hydroxylation aromatique en position *ortho* du cycle B, comme c'est le cas chez la CA-4, mais pas chez la phenstatine pour ensuite former une *para*-quinone **M4**. On observe également la formation d'un métabolite original **M5**, spécifique à l'isoCA-4, par hydroxylation aromatique en *méta*. La déméthylation intervient principalement avec les méthoxy du cycle A, en position *méta*, comme dans le cas de CA-4 (métabolites **M3** et **M7**). Dans le cas de ces deux métabolites, les auteurs ne relient pas la formation de **M7** à **M3**, pourtant, suivant leur structure, il serait logique d'envisager la formation préalable du métabolite **M3** par déméthylation suivie de l'hydroxylation aromatique pour parvenir à **M7** (solution proposée en flèche pointillée dans la Figure 19). L'hydroxylation en *para* similaire à ce qui se passe dans le cas de la phenstatine est observée pour le métabolite **M2**.



## VDAs

Enfin, a été isolé le métabolite **M1** issu de la déméthylation du méthoxy du cycle B, métabolite qui forme une *ortho*quinone instable. Ce type de déméthylation du méthoxy du cycle B n'est pas observé sur la phenstatine, mais la CA-4 possède ce type de métabolisation qui ne semble néanmoins pas conduire à une *ortho*quinone<sup>16,36,44</sup>.

## 8. CKD-516

Le CKD-516 (**24**) est une benzophénone publiée en 2010 par l'équipe de Lee<sup>46</sup>. Ce composé possède un cycle A triméthoxybenzénique comme pour la CA-4 et la phenstatine. Son originalité réside dans son cycle B, qui est substitué en *ortho* par un triazole, et en *para* par un 2-aminothiazole, à son tour substitué par une (L)-valine.

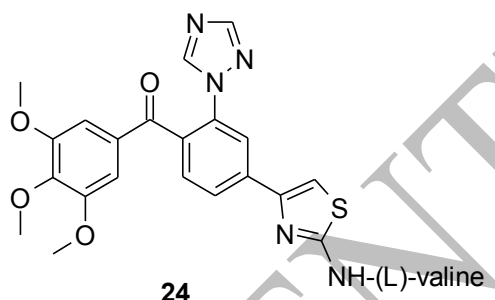


Figure 20 : Structure du CKD-516.

Cette molécule agit comme prodrogue hydrosoluble par coupure de la liaison entre le NH et la valine. Son métabolite actif aminé possède une activité cytotoxique plus importante que celle de l'AVE8063 sur les lignées cellulaires HL-60, HCT116 et HCT15. Sur la lignée HL-60, son activité cytotoxique est proche de celle de la CA-4 et s'avère trois fois plus importante que celle de l'AVE8063. Son activité antitubuline est également supérieure à celle de l'AVE8063 (Tableau 6).

Tableau 6 : Tableau des activités du métabolite actif de CKD-516<sup>46</sup>.

| Composé               | Lignée cellulaire, IC <sub>50</sub> (nM) |        |       | ITP (μM)          |
|-----------------------|--|--------|-------|-------------------|
|                       | HL-60                                    | HCT116 | HCT15 |                   |
| Métabolite de CKD-516 | 4.8                                      | 42.8   | 24.9  | 4.3               |
| AVE8063 (12)          | 12.0                                     | 269    | 45.2  | 6.5               |
| CA-4 (5)              | 4.0                                      | -      | -     | 2-3 <sup>15</sup> |

IC<sub>50</sub> : concentration pour inhiber 50 % de la croissance cellulaire ; ITP : inhibition de la polymérisation de la tubuline.

A l'issue de ces premiers résultats d'activités, CKD-516 a subi des tests *in vivo* sur des modèles murins xéno greffés. Sur des modèles greffés par la lignée HCT116, CKD-516 inhibe la

<sup>46</sup> Lee, J. et al. *J. Med. Chem.*, **2010**, 53, 6337-6354.

## VDAs

croissance cellulaire à des doses inférieures à celles de l'ombrabuline (prodrogue de l'AVE8063). En 2010, le CKD-516 a été engagé dans des essais cliniques de phase I pour des cancers à tumeurs cancéreuses solides par les laboratoires coréens Chong Kun Dan Pharm.

### 9. Crolibuline (EPC2407)

La crolibuline (anciennement dénommée crinobuline, **25**) est un 7,8-diamino-4-aryl-4*H*-chromène publié en 2005 par Kemnitzer *et al.*<sup>47</sup> et développé depuis par la firme EpiCept.

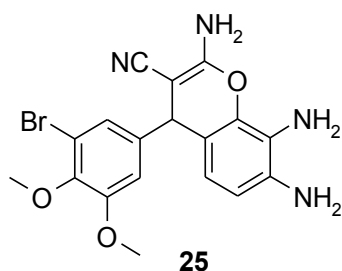


Figure 21 : Structure de la crolibuline.

C'est un inhibiteur de la polymérisation des microtubules qui a montré de bonnes activités antivasculaires et cytotoxiques lors des essais précliniques. Les premiers essais cliniques réalisés en 2009 n'ont pas mis en évidence de toxicité<sup>48</sup>. Le produit est actuellement en phase II des essais cliniques contre le cancer anaplastique de la thyroïde<sup>25</sup>.

### 10. Dénibuline (MN-029)

Le dénibuline (**26**) est une molécule développée par les laboratoires MediciNova depuis 2005<sup>49</sup>. L'un des deux noyaux aromatiques de ce composé est un benzène substitué par un amide en *para*. L'autre noyau est un imidazole avec un groupe carbamate. Ces deux cycles sont reliés par un atome de soufre (Figure 22).

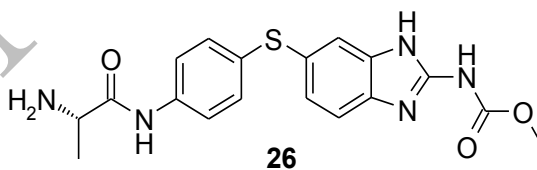


Figure 22 : Le dénibuline.

Le dénibuline est une prodrogue qui, par hydrolyse enzymatique de la L-alanine, libère son métabolite actif (MN-022). Les études précliniques ont montré que le dénibuline présentait,

<sup>47</sup> Kemnitzer, W. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 4745-4751.

<sup>48</sup> Site d'EpiCept : [http://www.epicept.com/Products\\_& Pipeline/Product Pipeline/Cancer/EPC2407](http://www.epicept.com/Products_& Pipeline/Product Pipeline/Cancer/EPC2407), site consulté le 17 juillet 2012.

<sup>49</sup> Medicinova Inc. *et al. WO2006076376*, **2006**.

## VDAs

comme de nombreux autres VDA, une bonne inhibition de la tubuline et une activité antivasculaire rapide, mais une sélectivité pour le centre des tumeurs laissant une couronne extérieure de cellules viables<sup>50</sup>. Le composé a montré une bonne tolérance de la part des patients lors des essais cliniques de phase I<sup>25</sup>.

### 11. ABT-751

L'ABT-751 (27) est un sulfonamide synthétisé en 1992 par Yoshino *et al.* de Tsukuba Research Laboratories Eisai Company<sup>51</sup> et développé depuis par la société Abbott. ABT-751 est un inhibiteur du site de la colchicine : le cycle méthoxybenzénique et le cycle pyridinique se placent dans les mêmes positions relatives que les cycles A et B de la colchicine (1) ou de la CA-4 (5) et sont reliés par un pont sulfonamide<sup>52</sup>.

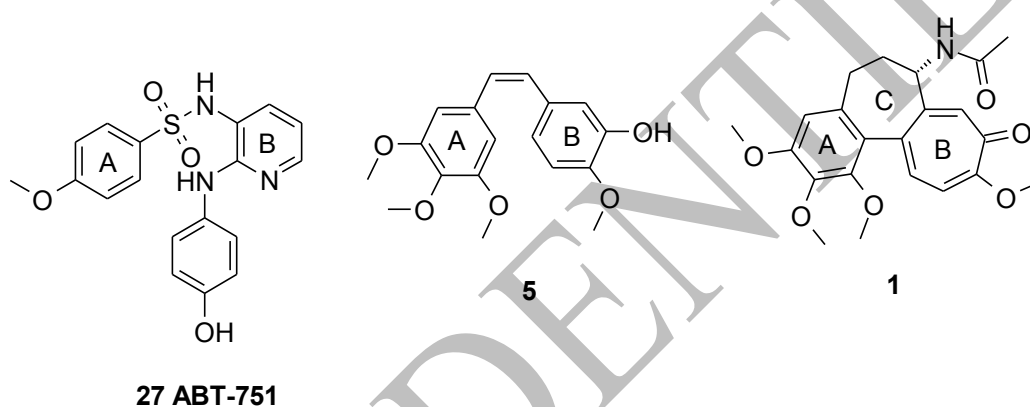


Figure 23 : L'ABT-751, analogue de la CA-4 et de la colchicine.

Ce composé a montré de très bonnes activités *in vitro* et *in vivo* notamment sur des tumeurs xénogreffées sur des modèles murins<sup>53</sup>. De plus, c'est un puissant antivasculaire qui cible spécifiquement le réseau vasculaire tumoral avec des effets négligeables sur le réseau vasculaire normal de l'hôte<sup>54</sup>.

<sup>50</sup> Shi, W. *et al.* *Anticancer Res.*, **2005**, 25, 3899-3904.

<sup>51</sup> Yoshino, H. *et al.* *J. Med. Chem.*, **1992**, 35, 2497-2500.

<sup>52</sup> Dorleans, A. *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2009**, 106, 13775-13779.

<sup>53</sup> Yoshimatsu, K. *et al.* *Cancer Res.*, **1997**, 57, 3208-3213.

<sup>54</sup> Segreti, J. A. *et al.* *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2004**, 54, 273-281.

## 12. Vérubuline (azixa, MPC-6827, EP128495)

En 2007, suite à l'optimisation chimique d'un chef de file précédemment identifié (Figure 24, MPI-0441138 où R = Cl), Sirisoma *et al.* synthétisent l'azixa (**29**), un candidat potentiel pour des essais cliniques<sup>55</sup>.

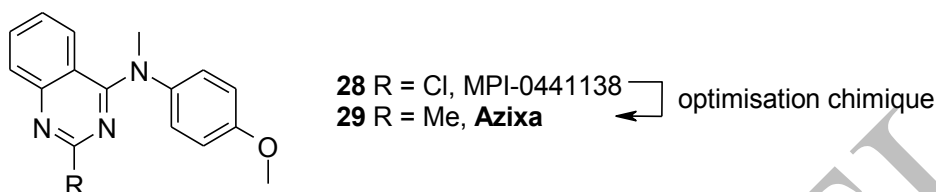


Figure 24 : L'azixa (**29**) et le chef de file de sa famille (**28**).

Dans une première étude, l'azixa et son précurseur ont été sélectionnés pour leur forte inhibition de la mitose à des concentrations de l'ordre du nanomolaire. Il a également été montré que l'azixa était un puissant inhibiteur de la polymérisation de la tubuline lors d'études *in vitro* sur une grande variété de lignées cellulaires tumorales. Par ailleurs, cette activité est du même ordre de grandeur sur des lignées cellulaires multirésistantes<sup>56</sup>. Parallèlement, il a été montré que l'azixa possédait une bonne cytotoxicité sur plusieurs lignées cellulaires endothéliales avec des IC<sub>50</sub> allant de 1,8 à 3,2 nM. Sur la lignée OVCAR-3 du carcinome épithélial de l'ovaire xéno greffé sur des souris, l'azixa a montré une destruction du système vasculaire suivie d'une nécrose tumorale au bout de 24 h, pour une concentration de 10 mg/kg<sup>57</sup>, résultats qui font actuellement l'objet d'études plus approfondies.

Les essais de phase I menés par Myriad Pharmaceuticals ont déjà permis de mettre en évidence que l'azixa était toléré jusqu'à la dose maximale de 3,3 mg/m<sup>2</sup> recommandée pour les essais de phase II. Au-delà de cette valeur, il a été observé une **toxicité cardiaque** se traduisant par un infarctus du myocarde pour 2 patients sur 48 (soit un pourcentage de 4,2 % contre 50 % dans les études concernant le ZD6126 **13**). Cependant, **aucune neurotoxicité ni myélotoxicité** n'ont été observées durant cette même étude<sup>58</sup>. En septembre 2011, les essais cliniques ont été stoppés<sup>25</sup>.

<sup>55</sup> Sirisoma, N. *et al. J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 2341-2351.

<sup>56</sup> Kasibhatla, S. *et al. Cancer Res.*, **2007**, 67, 5865-5871.

<sup>57</sup> Pleiman, C. M. *et al. AACR Annual Meeting 2007*, poster disponible en ligne à l'adresse : <http://www.myriad.com/downloads/AACR-2007-MPC-6827.pdf> (consulté le 09 avril 2012).

<sup>58</sup> Tsimberidou, A.-M. *et al. Mol. Cancer Ther.*, **2010**, 9, 3410-3419.

# Conception des composés

---

CONFIDENTIEL

CONFIDENTIEL

## Conception de nouveaux antivasculaires

### Chapitre 1. Exigences structurales du site de la colchicine

## Conception de nouveaux antivasculaires

### Chapitre 1. Exigences structurales du site de la colchicine

Suite à la description du site de liaison de la colchicine au sein de la tubuline<sup>59,60</sup>, complétée par les données cristallographiques du complexe  $\alpha/\beta$  tubuline avec un dérivé de la colchicine (le *N*-déacétyl-*N*-(2-mercaptoacétyl)colchicine) réalisées en 2004<sup>61,44</sup>, Nguyen *et al.* ont publié en 2005 des études de docking dans le site de la colchicine de divers composés connus pour inhiber la polymérisation de la tubuline. Il a ainsi été proposé un modèle de pharmacophore à sept points<sup>44</sup> (Figure 25). Ce modèle est formé de :

- trois groupes accepteurs de liaison hydrogène : **A1**, lié au H de l'azote de Val  $\alpha$ 181 ; **A2**, lié au H du soufre de Cys  $\beta$ 239 ; et **A3**, lié au H de l'azote d'Asp  $\beta$ 249 ou au H de l'azote d'Ala  $\beta$ 248 ;
- un donneur de liaison hydrogène **D1** lié à Thr  $\alpha$ 179 ;
- deux contacts hydrophobes : **H1**, en interaction avec les chaînes de Val  $\alpha$ 181 et de Met  $\beta$ 257 ; et un cycle **H2** en interaction avec les chaînes de Leu  $\beta$ 255, d'Ala  $\beta$ 316, de Val  $\beta$ 318 ou d'Ile  $\beta$ 378 ;
- un cycle plan **R1**.

---

<sup>59</sup> Uppuluri, S. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1993**, *90*, 11598-11602.

<sup>60</sup> Bai, R. *et al. J. Biol. Chem.*, **2000**, *275*, 40443-40452.

<sup>61</sup> Ravelli, R. B. *et al. Nature*, **2004**, *428*, 198-202.

# Conception de nouveaux antivasculaires

## Chapitre 1. Exigences structurales du site de la colchicine

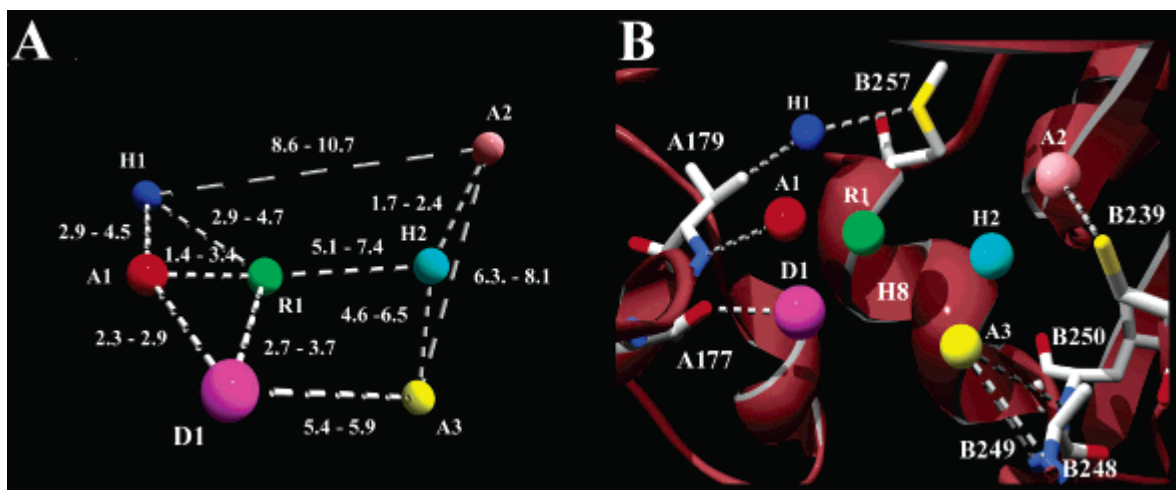


Figure 25 : (A) Modèle pharmacophorique proposé par Nguyen *et al.* Les distances sont données en Å. (B) Interactions entre le modèle et la structure de la tubuline<sup>44</sup>.

Parmi ces sept points, quatre sont considérés comme essentiels pour l'activité antitubuline : **A2**, **H1**, **H2** et **R1**. On les retrouve sur la colchicine (**1**) et la CA-4 (**5**, Figure 26) : le site de liaison hydrogène **A2** correspond au méthoxy en *para* du cycle A, **H1** au méthoxy voisin du phénol, **H2** au cycle triméthoxyphényle (A), et le cycle plan **R1** au cycle benzénique (B). Les cycles aromatiques sont séparés d'un angle dièdre de 53° dans le cas de la CA-4<sup>62</sup>. On remarque également la présence du point **A1** correspondant au phénol de la CA-4 (et au carbonyle de la colchicine).

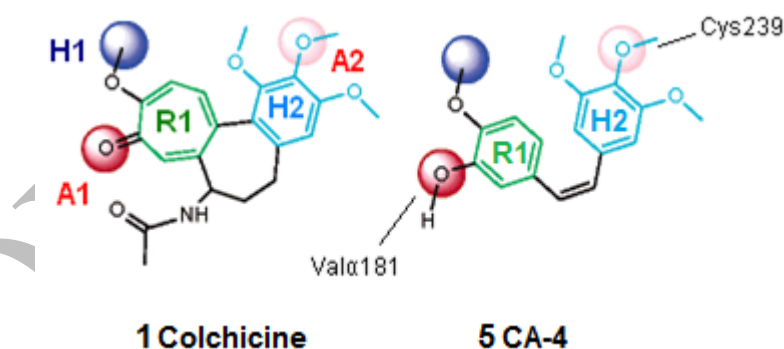


Figure 26 : Points pharmacophoriques de liaison à la tubuline de la colchicine (**1**) et de la CA-4 (**5**).

L'inconvénient principal de la CA-4 est sa double liaison éthylénique de configuration *cis*, qui s'isomérise facilement en *trans* en présence de lumière ainsi que dans les milieux biologiques, lui faisant perdre toute activité antitubuline<sup>63</sup>. Par ailleurs, la CA-4 possède une très mauvaise solubilité dans ces mêmes milieux biologiques. Aussi, de nombreuses équipes ont cherché à, d'une

<sup>62</sup> Rasolofonjatovo, E. *et al.* *Eur. J. Med. Chem.*, **2012**, *52*, 22-32.

<sup>63</sup> Cushman, M. *et al.* *J. Med. Chem.*, **1991**, *34*, 2579-2588.



# Conception de nouveaux antivasculaires

## Chapitre 1. Exigences structurales du site de la colchicine

part, s'affranchir de cette isomérisation en bloquant la configuration de la liaison éthylénique pour empêcher son isomérisation et, d'autre part, concevoir des analogues avec une meilleure solubilité dans les milieux biologiques.

Pour cela, deux types principaux de pharmacomodulations ont été décrites dans la littérature (Figure 27) :

- la modification du pont éthylénique : remplacement par une double liaison C=O ou C=CH<sub>2</sub> ou par un cycle bloquant la configuration ;
- la modification du cycle B : remplacement d'un ou plusieurs substituants du cycle ou remplacement de celui-ci par un hétérocycle.

La pharmacomodulation du cycle A a, quant à elle, été assez peu étudiée. En effet, le cycle triméthoxyphényle est généralement considéré comme nécessaire à l'activité de la CA-4 et les quelques remplacements et/ou modifications de ses substituants ont très souvent entraîné une diminution considérable de l'activité.

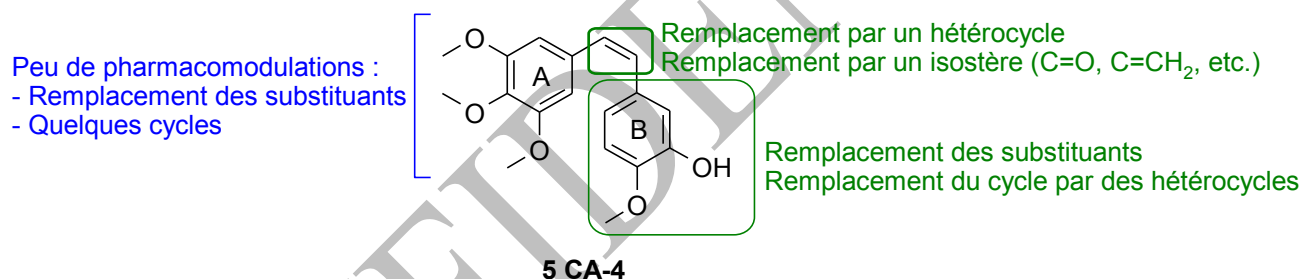


Figure 27 : Pharmacomodulations menées sur la CA-4.

Pour notre part, nous nous sommes notamment intéressés à la modification de ce cycle A qui n'a quasiment pas été envisagée. En particulier, nous avons cherché à obtenir des dérivés de la CA-4 possédant un cycle A soit substitué par d'autres groupements, soit remplacé par un hétérocycle azoté.

## Conception des composés

### Chapitre 2. Modifications du cycle A publiées dans la littérature

## Chapitre 2. Modifications du cycle A publiées dans la littérature

Les structures décrites dans la littérature montrent que le cycle 3,4,5-triméthoxyphényle est un motif très récurrent des analogues de la CA-4, et particulièrement des analogues passés en tests (pré)cliniques. Les quelques modifications du cycle A qui ont été réalisées portent sur ses substituants ou consistent à remplacer ce cycle carboné par un hétérocycle.

Les premières modifications qui ont été décrites ont consisté à supprimer les groupes méthoxy<sup>64</sup> ou à les remplacer par des groupes plus volumineux comme des groupes éthoxy<sup>65</sup> (Figure 28). Cependant, toutes ces modifications ont mené à une perte significative des activités biologiques<sup>66</sup>.

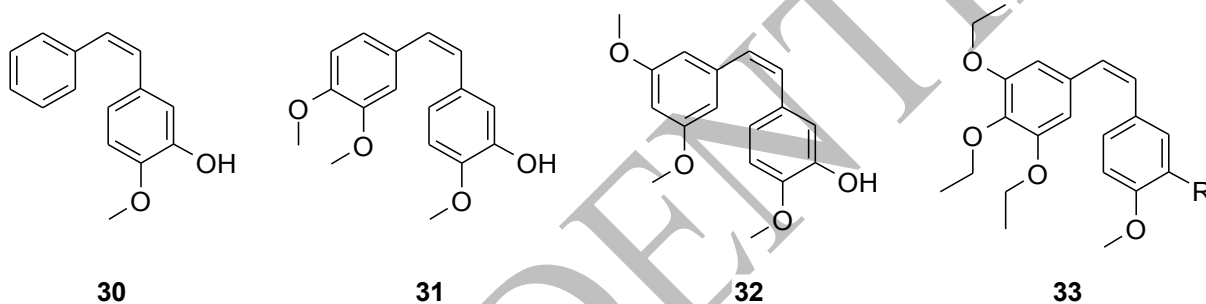


Figure 28 : Premières modifications réalisées.

Le cycle triméthoxyphényle a également été remplacé par des cycles lipophiles, du type naphthalène<sup>67</sup> ou 3,4,5-triméthylphényle<sup>65</sup> (Figure 29), dans l'objectif d'améliorer les interactions hydrophobiques potentielles avec le site de la tubuline. De plus, la présence de groupements méthyles sur un composé biologique permet, en plus d'augmenter la lipophilie, de moduler la métabolisation<sup>68</sup>.

<sup>64</sup> Cushman, M. *et al. J. Med. Chem.*, **2012**, *35*, 2293-2306.

<sup>65</sup> Gaukroger, K. *et al. Org. Biomol. Chem*, **2003**, *1*, 3033-3037.

<sup>66</sup> Tron, G. C. *et al. J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 3033-3044.

<sup>67</sup> Maya, A. B. S. *et al. J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 556-568.

<sup>68</sup> Barreiro, E. J. *et al. Chem. Rev.*, **2011**, *111*, 5215-5246.

## Conception des composés

### Chapitre 2. Modifications du cycle A publiées dans la littérature

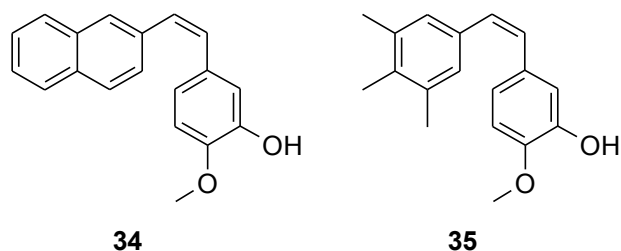


Figure 29 : Modifications des substituants pour augmenter la lipophilie des molécules.

Dans la majorité de ces cas, les activités cytotoxiques et antitubuliniques diminuent. Néanmoins, il est à noter que dans le cas du 2-méthoxy-5-[(Z)-2-(3,4,5-triméthylphényl)vinyl]phénol (**35**), l'activité antitubuline est augmentée bien que l'activité cytotoxique vis-à-vis de la lignée K562 de la leucémie soit plus faible<sup>65</sup>.

Des composés comportant des atomes d'halogène à la place des méthoxy ont également été synthétisés dans le but d'augmenter la lipophilie (Figure 30)<sup>65,69</sup>. Lorsqu'un seul groupe méthoxy est remplacé, les activités biologiques diminuent. Lorsque deux groupes méthoxy sont remplacés par un fluor, un chlore ou un brome, les activités diminuent également ( $F << Cl < Br < OMe$ ) mais le remplacement par des atomes d'iode potentialise les activités<sup>70,71</sup>. Enfin, le remplacement du cycle A par un trifluorobenzène diminue considérablement les activités<sup>65</sup>.

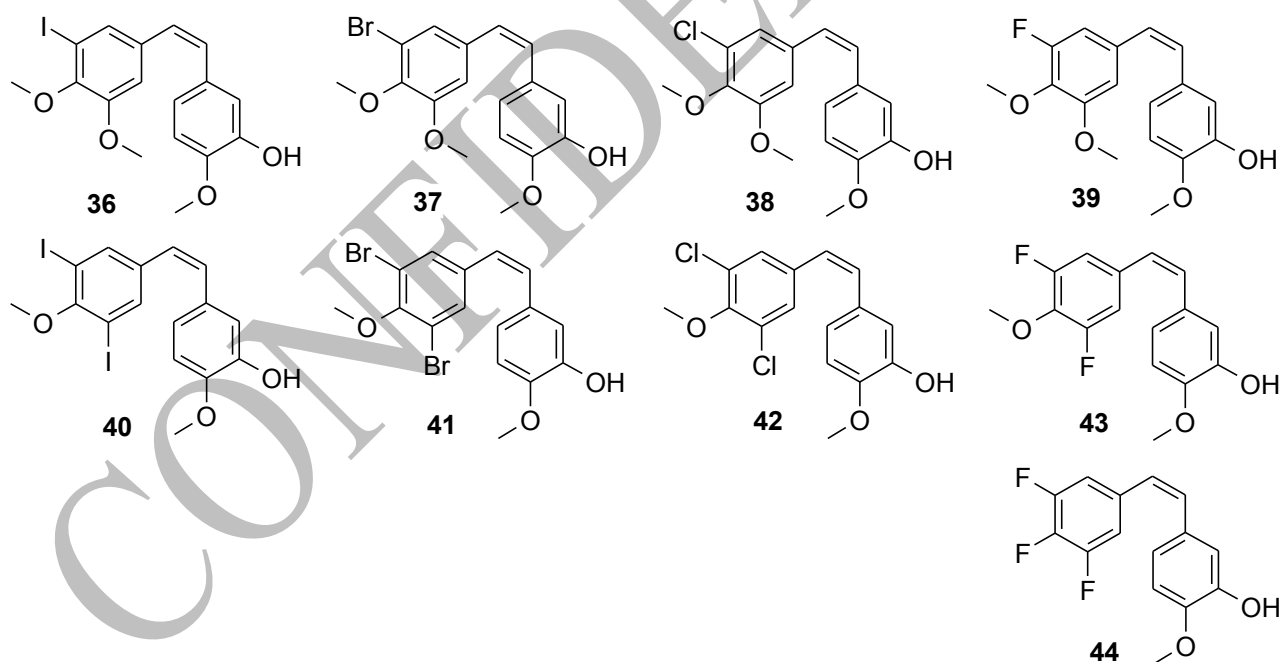


Figure 30 : Remplacement des groupes méthoxy par des halogènes.

<sup>69</sup> Pettit, G. R. *et al. J. Nat. Prod.*, **2005**, *68*, 1450-1458.

<sup>70</sup> Beale, T. M. *et al. MedChemComm.*, **2010**, *1*, 202-208.

<sup>71</sup> Pettit, G. R. *et al. J. Nat. Prod.*, **2012**, *75*, 395-393.

## Conception des composés

### Chapitre 2. Modifications du cycle A publiées dans la littérature

Enfin, les autres modifications décrites dans la littérature consistent à remplacer le cycle A par un hétérocycle. Les exemples rencontrés dans la littérature sont assez rares : remplacement par un benzofurane<sup>72</sup> ou un benzothiophène<sup>73</sup> (Figure 31). Leurs activités cytotoxiques sont généralement plus faibles que dans le cas de la CA-4, mais les activités antitubuline sont similaires voire meilleures<sup>73</sup>, **preuve de l'intérêt du remplacement du cycle 3,4,5-triméthoxyphényle par un hétérocycle.**

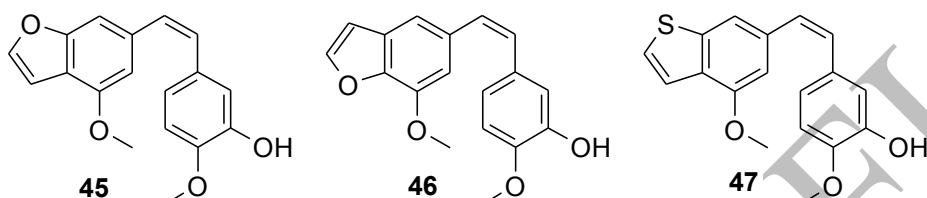


Figure 31 : Remplacement par un hétérocycle.

Aucune de ces modifications structurales ne place l'hétéroatome sur le cycle benzénique et, de plus, aucune modification ne met en jeu d'hétérocycle azoté hormis l'azixa (29), qui possède un hétérocycle azoté de type quinazoline, et qui est actuellement candidat aux essais cliniques.

<sup>72</sup> Shan, Y. *et al. Curr. Med. Chem.*, **2011**, *18*, 523-538.

<sup>73</sup> Marrelli, M. *et al. Curr. Med. Chem.*, **2011**, *18*, 3035-3081.

# Conception des composés

## Chapitre 3. Conception de nouveaux composés

### Chapitre 3. Conception de nouveaux composés

#### 3. 1. Intérêt des stilbènes azotés

Grâce à des études de modélisation moléculaire, il a été montré qu'il était pertinent de synthétiser des analogues de la CA-4 comportant un cycle A azoté. Cette modification structurale permettant de **diminuer la forte lipophilie de la CA-4 et d'augmenter sa solubilité dans les milieux biocompatibles, tout en conservant son activité sur la tubuline**. Par ailleurs, il a été montré que l'introduction d'un hétérocycle azoté pouvait améliorer la métabolisation de certains composés<sup>74</sup>. Ces travaux ont fait l'objet de la thèse du Dr. Souhila Oudir en 2009<sup>75</sup>.

Le Dr. Oudir s'est intéressée à la synthèse de dérivés de la CA-4 possédant un cycle A substitué par un, deux ou trois atomes d'azote et diversement substitué sur le cycle B (Figure 32).

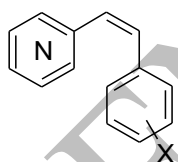


Figure 32 : Analogues synthétisés par le Dr. Souhila Oudir.

L'argument principal de ces remplacements était d'augmenter la solubilité de la molécule tout en potentialisant les activités biologiques. Il a ainsi été développé 5 séries d'azacombrétastatines de cycle A différents (Figure 33).

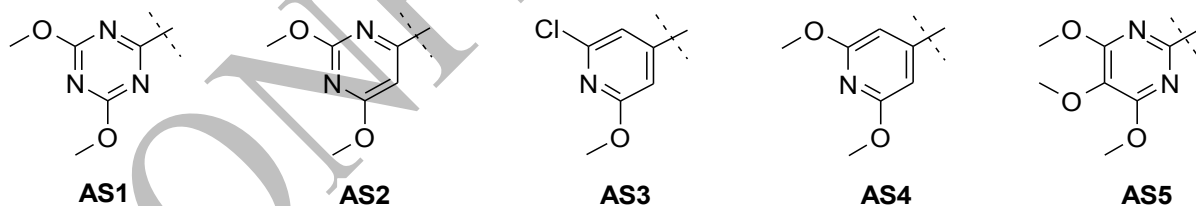


Figure 33 : Cycles A des séries d'azacombrétastatines développées.

Deux séries parmi ces 5 présentent des activités intéressantes : la série **AS3** et **AS5**. **AS3** possède des activités du même ordre qu'en série 3,4,5-triméthoxyphényle, tandis qu'**AS5** présente des activités supérieures.

<sup>74</sup> St. Jean, D. J. *et al. J. Med. Chem.*, **2012**, *55*, 6002-6020.

<sup>75</sup> Oudir, S. *Thèse de doctorat* « Conception et synthèse de (poly)azacombrétastatines à potentialité antivasculaire et/ou cytotoxique », Université de Lille 2, **2009**.

# Conception des composés

## Chapitre 3. Conception de nouveaux composés

### Série AS3 : cycle 2-chloro-6-méthoxy-pyridinique

L'introduction d'un atome de chlore en position *mé*ta permet de compenser la perte du groupement méthoxy en position *para*. Parmi les analogues synthétisés dans cette série, trois molécules se détachent par leur très bonne activité : **48**, analogue de la CA-4, **49**, analogue de l'AVE8063 et **50**, analogue de la CA-1 (Figure 34 et Tableau 7).

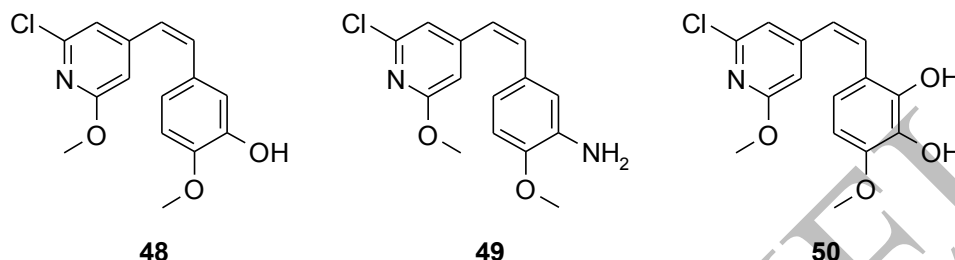


Figure 34 : Structures de 48, 49 et 50.

Tableau 7 : Activités de 48, 49 et 50.

| Lignée cellulaire       | CA-4       | 48 | 49   | 50            |       |
|-------------------------|------------|----|------|---------------|-------|
| IC <sub>50</sub> * (nM) | SR         | -  | < 10 | 26            | 42    |
|                         | HOP-62     | -  | 37   | 22            | > 100 |
|                         | SW-620     | 28 | 17   | 32            | 44    |
|                         | SF-295     | -  | 63   | 16            | > 100 |
|                         | MDA-MB-435 | 10 | < 10 | 14            | 44    |
|                         | OVCAR-3    | -  | 17   | 19            | 85    |
|                         | RXF 393    | -  | 21   | 20            | > 100 |
|                         | DU-145     | -  | 28   | 49            | > 100 |
|                         | HS 578T    | 15 | 18   | 24            | > 100 |
|                         | ITP* (μM)  | 11 | 22   | 20 < ITP < 30 | -     |

\*IC<sub>50</sub> : Concentration de composé nécessaire pour réduire la croissance cellulaire de 50 % ; IPT : Inhibition de la polymérisation de la tubuline, tests réalisés au laboratoire de Toxicologie à l'Université Lille 2.

Parmi ces trois analogues, **le 49 a été sélectionné par le NCI pour être testé dans des tests précliniques sur de petits animaux**. Il a donc fallu le resynthétiser.

## Conception des composés

### Chapitre 3. Conception de nouveaux composés

#### Série AS5 : 4,5,6-triméthoxypyrimidique

Dans cette série, le motif triméthoxy est gardé mais le cycle phényle est remplacé par une pyrimidine. Dans cette série, deux composés se sont détachés de par leurs bonnes activités : **51**, l'analogue de la CA-4 et **52**, l'analogue d'AVE8063 (Figure 35 et Tableau 8).

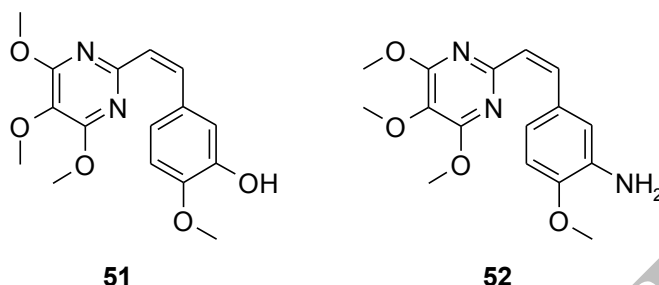


Figure 35 : Structures de 51 et 52.

Tableau 8 : Activités de 51 et 52.

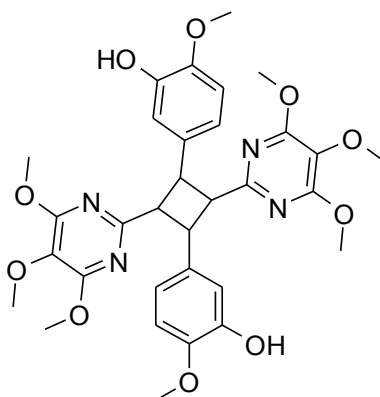
| Lignée cellulaire | CA-4 | 51   | 52  |
|-------------------|------|------|-----|
| SR                | -    | < 10 | 37  |
| HOP-92            | -    | 11   | 45  |
| SW-620            | 28   | < 10 | 38  |
| SF-295            | -    | 42   | 37  |
| MDA-MB-435        | 10   | < 10 | 22  |
| OVCAR-3           | -    | < 10 | 22  |
| RXF 393           | -    | 11   | 29  |
| DU-145            | -    | 26   | 34  |
| HS 578T           | 15   | 15   | 30  |
| <b>ITP* (μM)</b>  | 10.8 | 4.0  | 4.6 |

\***IC<sub>50</sub>** : Concentration de composé nécessaire pour réduire la croissance cellulaire de 50 % ; **ITP** : Inhibition de la polymérisation de la tubuline, tests réalisés au laboratoire de Toxicologie à l'Université Lille 2

Enfin, un troisième dérivé se détache de par sa structure et ses activités biologiques : il s'agit du dimère **53** de **51** obtenu par photoisomérisation de ce dernier (Figure 36).

## Conception des composés

### Chapitre 3. Conception de nouveaux composés



53

Figure 36 : Structure du dimère 53.

Ce dernier analogue a également été sélectionné pour des tests sur petits animaux, il a donc fallu le resynthétiser.

L'inconvénient de ces stilbènes, comme de la CA-4, est leur facilité à s'isomériser en *trans*-stilbènes, composés qui sont en général beaucoup moins actifs. Il a ainsi été envisagé la synthèse de dérivés non isomérisables possédant des cycles A variés.



## Conception des composés

### Chapitre 3. Conception de nouveaux composés

#### 3. 2. Intérêt des dérivés avec un cycle A méthylé

Le 2-méthoxy-5-[(Z)-2-(3,4,5-triméthylphényl)vinyl]phénol (**35**), un analogue triméthylé de la combrétastatine A-4, a été préparé<sup>65</sup>. Ce composé présente la particularité d'avoir une meilleure activité sur la tubuline que la CA-4, bien qu'il possède une cytotoxicité plus faible (Tableau 9). Le manque de corrélation entre ces deux propriétés est classique pour les ligands du site de la colchicine, même si ces causes ne sont pas parfaitement comprises<sup>66</sup>.

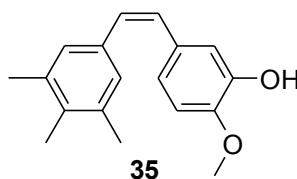


Figure 37 : 2-Méthoxy-5-[(Z)-2-(3,4,5-triméthylphényl)vinyl]phénol.

| Composé   | IC <sub>50</sub> K562 | IC <sub>50</sub> HUVEC | IC <sub>50</sub> ITP | IC <sub>50</sub> DC |
|-----------|-----------------------|------------------------|----------------------|---------------------|
| CA-4      | 0.001                 | 0.0026                 | 0.0175               | 3                   |
| <b>35</b> | 0.020                 | 0.05                   | 0.0120               | 10                  |

Tableau 9<sup>65</sup> : IC<sub>50</sub> : concentration pour inhiber 50 % de la croissance cellulaire sur les lignées cellulaires K562 et HUVEC (en μM) ; ITP : inhibition de la polymérisation de la tubuline (en μM) ; DC : Déplacement de la colchicine, capacité du composé à lier la tubuline comparé à la colchicine (en μM)<sup>65</sup>.

La modélisation moléculaire du 2-méthoxy-5-[(Z)-2-(3,4,5-triméthylphényl)vinyl]phénol **35** montre une conformation proche de celle de la CA-4 dans le site de la tubuline, avec la même liaison hydrogène entre le phénol et Val 181 (Figure 38).

# Conception des composés

## Chapitre 3. Conception de nouveaux composés

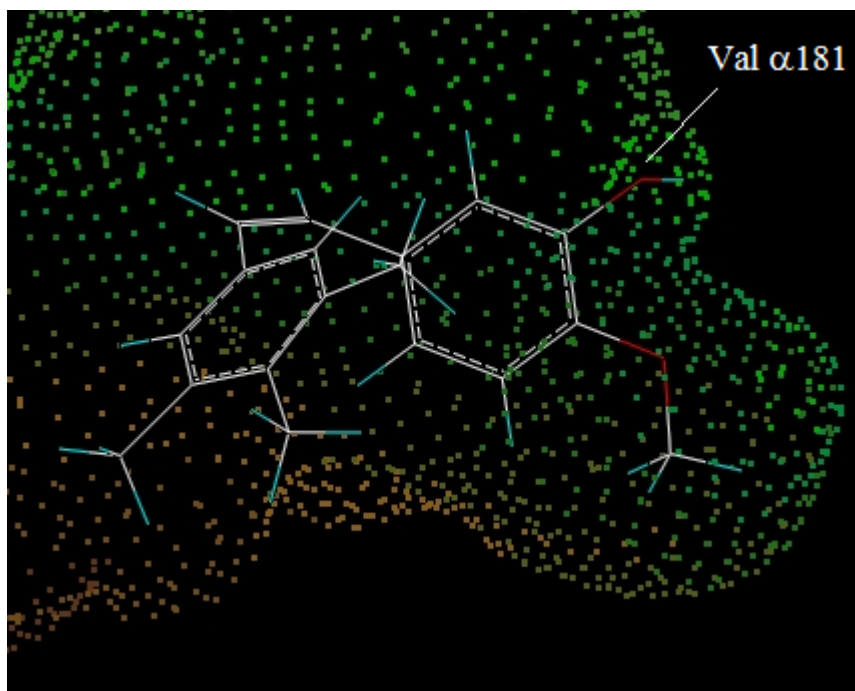


Figure 38 : Modélisation moléculaire du 2-méthoxy-5-[(Z)-2-(3,4,5-triméthylphényl)vinyl]phénol (35) dans le site de la tubuline.

Afin d'approfondir les relations structure-activité de ce type de composés, il a été envisagé la resynthèse de **35** et la synthèse de nouveaux analogues méthylés de type phenstatines et *isocombrétastatines* comportant un, deux ou trois groupements méthyles remplaçant les groupements méthoxy du cycle A (Figure 39).

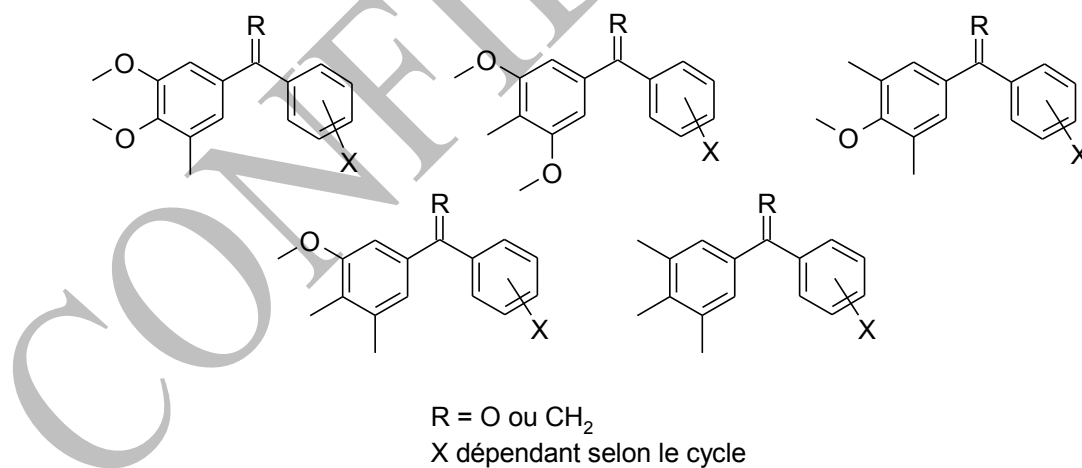
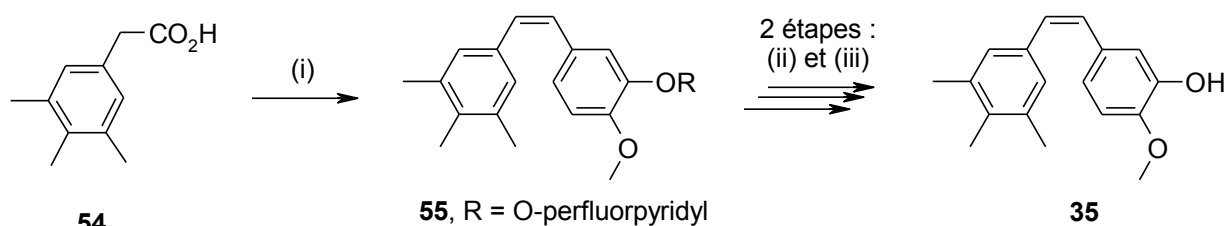


Figure 39 : Structures envisagées

## Conception des composés

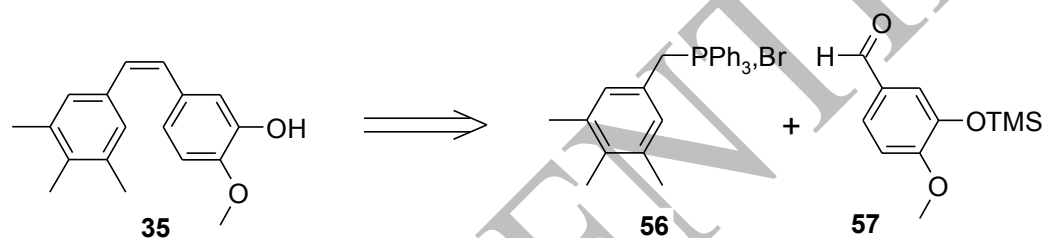
### Chapitre 3. Conception de nouveaux composés

Dans la littérature, la synthèse de **35** met en jeu un acide cinnamique obtenu *via* une réaction de Perkin<sup>65</sup> (Schéma 4).



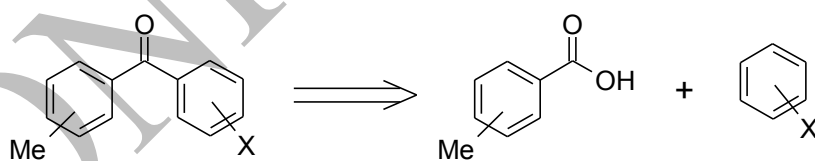
**Schéma 4 : Synthèse de 35<sup>65</sup>** : (i)  $\text{RCHO}$ ,  $\text{AC}_2\text{O}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ , reflux, 3 h, 23 % ; (ii)  $\text{Cu}$ , quinoline,  $200^\circ\text{C}$ , 2 h, 35 % ; (iii)  $\text{MeONa}$ ,  $\text{DMF}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $0^\circ\text{C}$ , 15 h, 48 %.

D'après les travaux du Dr. S. Oudir et se basant sur la synthèse de la CA-4, la resynthèse de **35** a été envisagée selon une réaction de Wittig entre un ylure **56** et l'isovanilline protégée **57** (Schéma 5).



**Schéma 5 : Schéma rétrosynthétique de 35.**

Les phenstatines méthylées ont été préparées selon la même méthode utilisée par le Dr. A. Ghinet dans sa thèse<sup>76</sup> : un acide benzoïque substitué par un ou plusieurs méthyles réagit sur un cycle aromatique par réaction de Friedel-Crafts en présence de réactif d'Eaton ou d' $\text{AlCl}_3$  (Schéma 6).



**Schéma 6 : Schéma rétrosynthétique pour accéder aux phenstatines méthylées.**

<sup>76</sup> Ghinet, A. *Thèse de doctorat* « Conception, synthèse et évaluation pharmacologique d'inhibiteurs mixtes de la farnésyltransférase et de la polymérisation de la tubuline », Université de Lille 2, **2010**.

## Conception des composés

### Chapitre 3. Conception de nouveaux composés

Les *isocombrétastatines* correspondantes sont obtenues par réaction de Wittig sur les *phenstatines*, en présence de bromure de méthyltriphénylphosphonium et d'une base (Schéma 7).

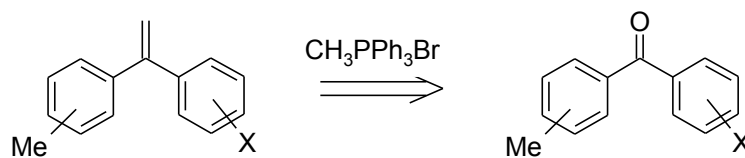


Schéma 7 : Schéma rétrosynthétique des *isocombrétastatines* méthylées.

CONFIDENTIEL

# Conception des composés

## Chapitre 3. Conception de nouveaux composés

### 3. 3. Intérêt des dérivés tricycliques

Parmi les nombreuses modifications structurales du pont éthylénique étudiées dans la littérature pour rigidifier la structure des analogues de la CA-4, il en est une qui se détache particulièrement de par ses activités très intéressantes. Il s'agit d'une structure tricyclique de type benzosubérène, analogue de la CA-4 mais également de la colchicine (Figure 40).

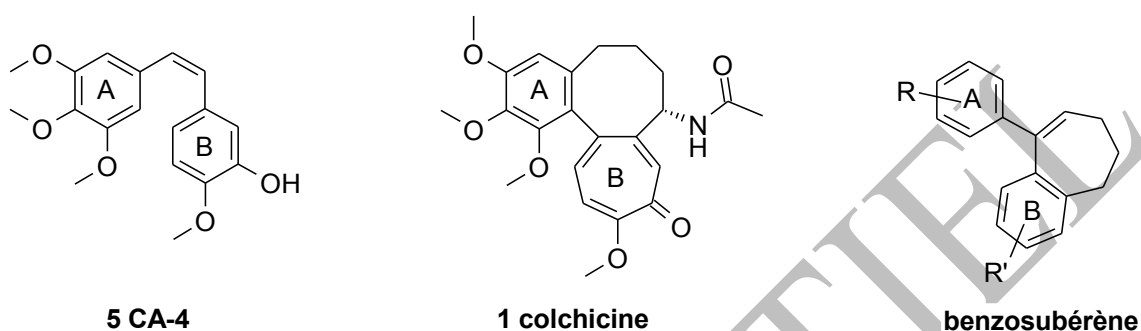


Figure 40 : Structure des analogues de type benzosubérène par rapport à la CA-4 (5) et à la colchicine (1).

Dès 2004, des composés analogues possédant un cycle à 6 carbones de squelette dihydronaphtalène sont publiés, dont les composés **58** et **59** qui présentent de bonnes activités<sup>77</sup> (Figure 41, Tableau 10). En 2008, la même équipe publie une série de benzosubérènes à 7 carbones dont **60**, l'analogue strict de la CA-4, qui est le plus actif<sup>78</sup> ainsi que le composé **61**, l'analogue strict de l'AVE8063 plus récemment<sup>79</sup> (Tableau 10).

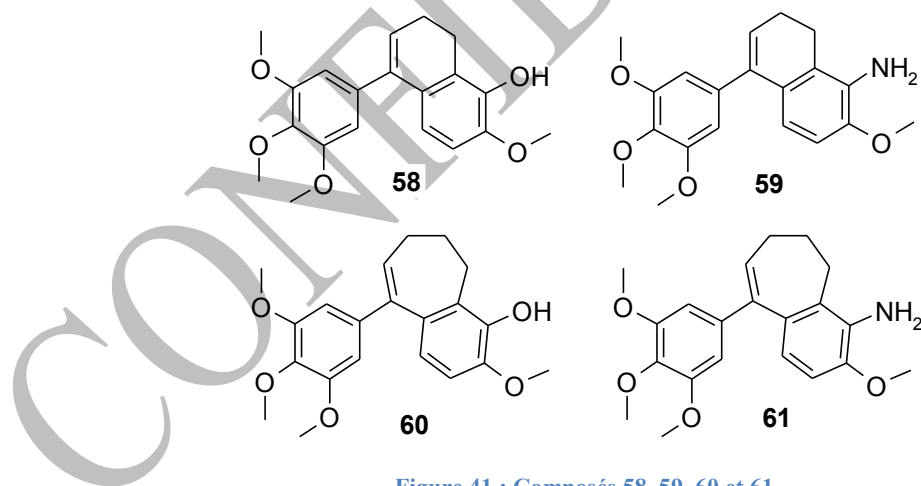


Figure 41 : Composés 58, 59, 60 et 61.

<sup>77</sup> Pinney, K. G. *et al.* *US2004/0043969*, **2004**.

<sup>78</sup> Sriram, M. *et al.* *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 8161-8171.

<sup>79</sup> Tanpure, R. P. *et al.* *MedChemComm*, **2012**, 3, 720-724.

# Conception des composés

## Chapitre 3. Conception de nouveaux composés

Tableau 10 : Activités cytotoxiques et antitubuliniques de 58, 59, 60 et 61<sup>77,78,79</sup>.

| Composé | IPT ( $\mu\text{M}$ ) | Lignée cellulaire, $\text{GI}_{50}$ (nM) |        |         |
|---------|-----------------------|--|--------|---------|
|         |                       | NCI-H460                                 | DU-145 | SK-OV-3 |
| CA-4    | 1.2                   | 2.0                                      | 2.0    | 0.13    |
| 58      | 1.0                   | 7.5                                      | 11.0   | N.D.    |
| 59      | 1.0                   | 9.3                                      | 1.1    | N.D.    |
| 60      | 1.7                   | 0.028                                    | 0.0032 | 0.03    |
| 61      | 1.2                   | 4.7                                      | 1.1    | 0.03    |

IPT : Inhibition de la polymérisation de la tubuline ;  $\text{GI}_{50}$  : Concentration en composé nécessaire pour réduire la croissance cellulaire de 50 %.

Dans le cadre de cette thèse, il a été envisagé de synthétiser des nouveaux analogues tricycliques possédant un cycle A substitué par des méthyles ou remplacé par un hétérocycle azoté (Figure 42).

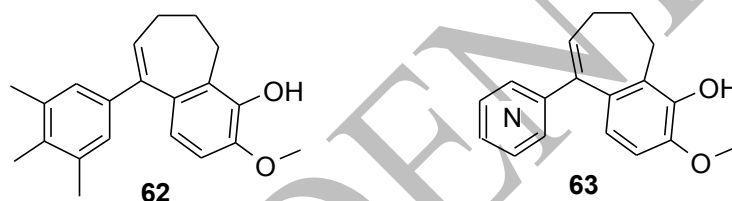


Figure 42 : Analogues envisagés en série tricyclique.

Plutôt que de suivre cette voie de synthèse, il a été envisagé de mener une réaction de Wittig entre une phenstatine substituée par un groupement amine et un sel de phosphonium substitué par une chaîne alkyle se terminant par un nitrile pour parvenir à l'intermédiaire alkylé (Schéma 8). La dernière étape de cette stratégie de synthèse consiste à faire réagir spécifiquement l'aniline en position *ortho* avec la fonction nitrile pour parvenir au tricycle attendu. Les fonctions amine et carbonyle sont fonctionnalisables, le cas échéant.

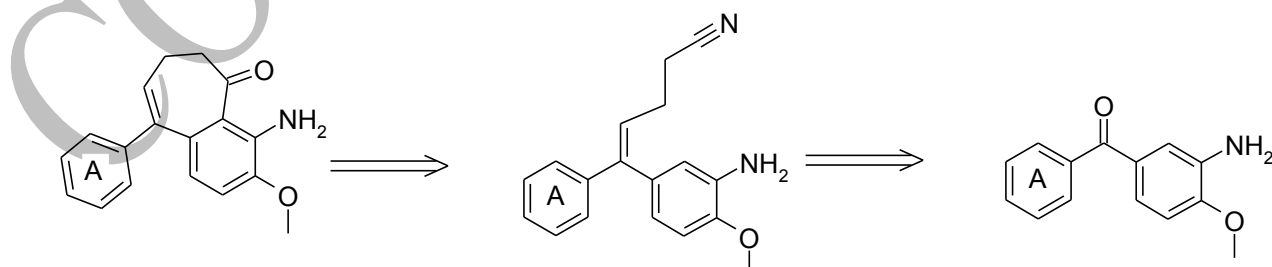


Schéma 8 : Schéma rétrosynthétique des dérivés tricycliques.

# Stratégies de synthèse

---

CONFIDENTIEL

CONFIDENTIEL



### Stratégies de synthèse

#### Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

En 2009, des travaux réalisés au laboratoire de Pharmacochimie d'HEI ont permis de mettre en évidence l'intérêt d'une nouvelle famille d'analogues de la combrétastatine possédant un ou plusieurs azotes sur le cycle A : les azacombrétastatines (Figure 43)<sup>75</sup>. Parmi cette large famille, deux séries prometteuses ont émergées : une série 2-chloro-6-méthoxypyridinique et une série 4,5,6-triméthoxypyrimidinique. Dans chacune d'elles, un produit a été sélectionné par le NCI pour des tests précliniques sur petits animaux : **49** et **53** (Figure 44).

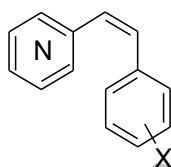


Figure 43 : Familles des combrétastatines azotées.

Pour réaliser ces tests précliniques, il s'est avéré nécessaire de resynthétiser **49** et **53**. Leur préparation met en jeu une réaction de Wittig entre un ylure de phosphonium substitué par le cycle A azoté et un benzaldéhyde. Cette réaction permet d'accéder à la double liaison de configuration *cis* comme c'est le cas dans la plupart des synthèses d'analogues stilbéniques de la CA-4.

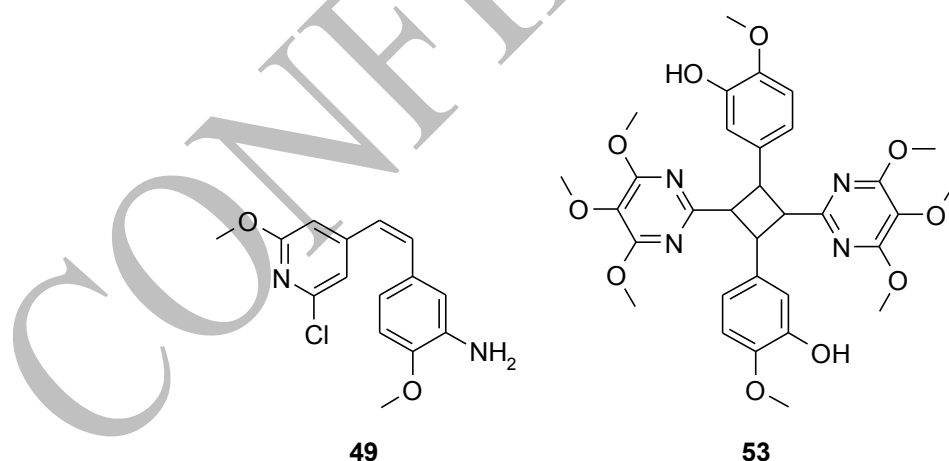


Figure 44 : Composés **49** et **53**, analogues azotés de la CA-4 retenus par le NCI pour des tests sur animaux.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

### 1. 1. Série 2-chloro-6-méthoxypyridinique

La synthèse de **49** débute par une chloration de l'acide citrazinique en chlorure d'acide isonicotinique **72**, qui est transformé en l'ester méthylique **70**. L'un des deux atomes de chlore est ensuite substitué par un méthoxy, puis l'ester **69** obtenu est réduit en alcool **68** qui est ensuite transformé en dérivé bromé **67** puis en sel de phosphonium **66**, synthon clé pour la suite de la voie de synthèse.

Ce sel de phosphonium **66** est engagé dans une réaction de Wittig en présence de 4-méthoxy-3-nitrobenzaldéhyde (**65**) pour parvenir au stilbène nitré **64** précurseur de l'amine **49**, analogue de l'AVE8063.

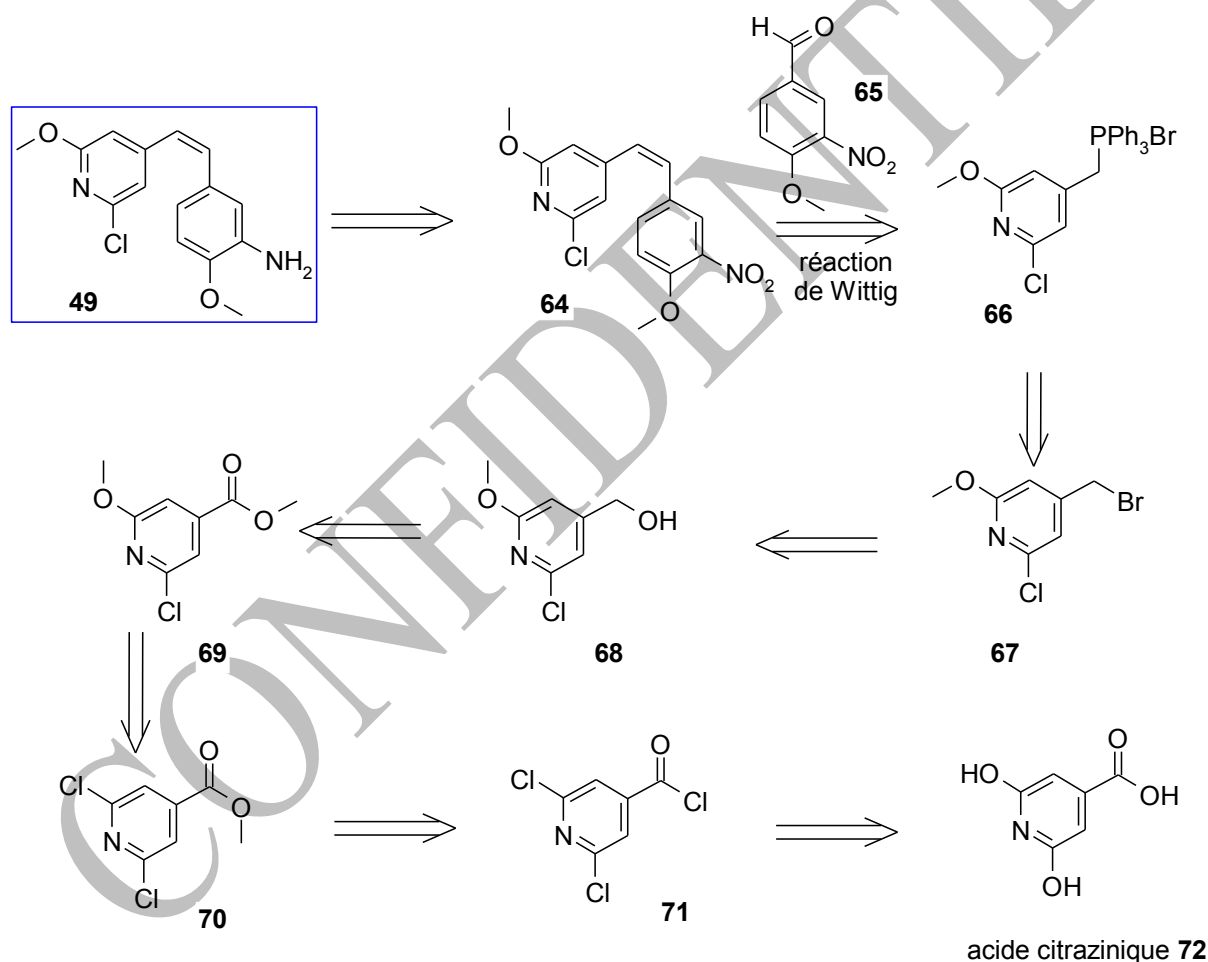


Schéma 9 : Schéma rétrosynthétique du composé **49** à partir de l'acide citrazinique **72**.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

### Synthèse de l'ester méthylique

L'acide citrazinique commercial **72** est transformé en chlorure d'acide isonicotinique **71** par réaction de 3 équivalents d'oxychlorure de phosphore en présence de chlorure de *N*-tétraméthylammonium, qui joue le rôle d'un agent de transfert de phase ; ce qui permet de solubiliser des ions chlorures dans le milieu. Le chlorure d'acide est purifié par distillation sous pression réduite (75°C à 0,1 mbar).

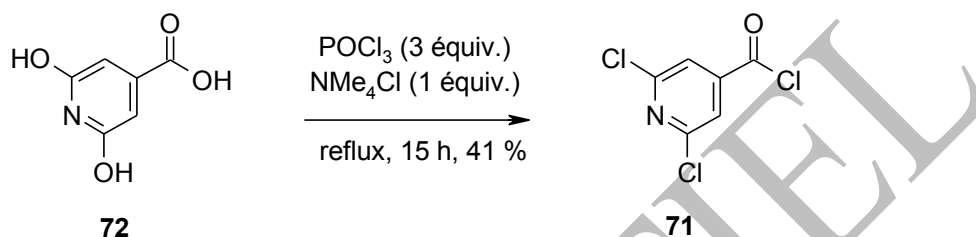


Schéma 10 : Synthèse du chlorure de l'acide isonicotinique **71**.

Le chlorure d'acide est ensuite mis à réagir avec du méthanol anhydre pour former l'ester **70**.

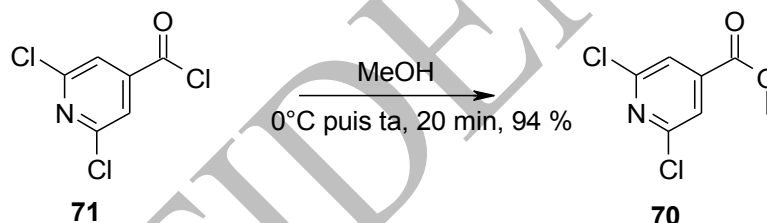


Schéma 11 : Formation de l'ester **70** à partir du chlorure d'acide isonicotinique **71**.

L'étape de chloration présente une difficulté notable, précisément lors de l'isolation du produit final par distillation. En effet, le milieu a tendance à prendre en masse, soit lors du refroidissement à la fin de la réaction, soit lors de l'évaporation du POCl<sub>3</sub> sous pression réduite. Cette prise en masse, due à la présence de l'agent de transfert de phase qui cristallise, empêche non seulement l'évaporation complète mais rend également non aisée la distillation conduisant à un rendement faible en chlorure d'acide.

Au vu des problèmes rencontrés lors de la distillation du chlorure d'acide, nous avons tenté de mener les étapes suivantes, nécessaires à la formation de l'ester **70**, sans le purifier. Dans un premier temps, nous l'avons traité directement par du méthanol<sup>80</sup> (Schéma 12).

<sup>80</sup> Mello, J. V. *et al. Org. Lett.*, **2001**, 3, 4263-4265.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

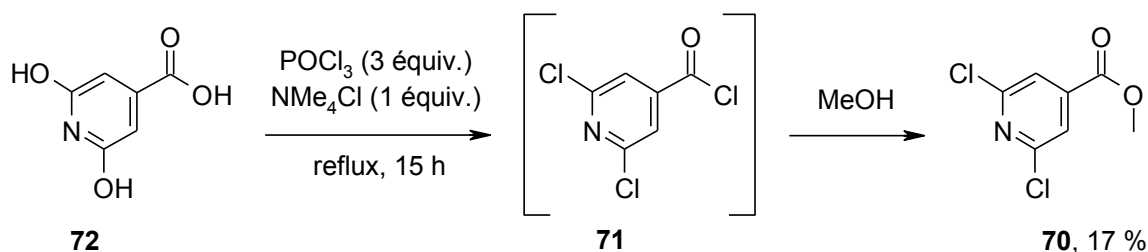


Schéma 12 : Formation de l'ester **70** en *one-pot* à partir de l'acide citrazinique **72**.

Cette voie conduit à l'ester **70** avec un rendement de seulement 16-17 % reproductible sur deux essais. Une seconde alternative consiste à hydrolyser le chlorure d'acide non purifié, puis à estérifier l'acide 2,6-dichloroisonicotinique formé (**73**)<sup>81</sup>.

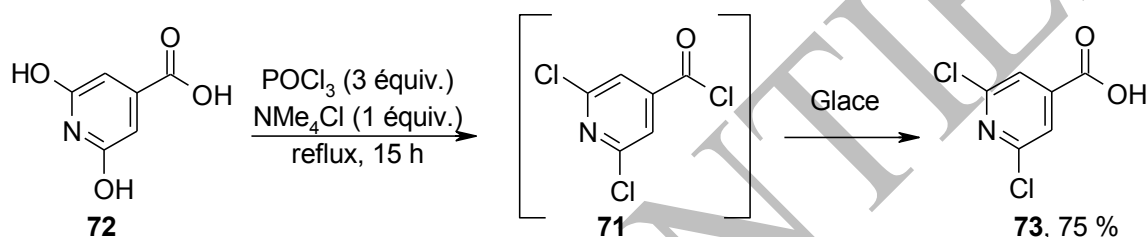


Schéma 13 : Synthèse de l'acide 2,6-dichloroisonicotinique **73**.

En menant l'hydrolyse avec de la glace, l'acide 2,6-dichloroisonicotinique (**73**) est obtenu avec un rendement de 75 %. Son estérification est réalisée en présence de méthanol et d'une catalyse acide, avec un rendement quantitatif<sup>82</sup>.

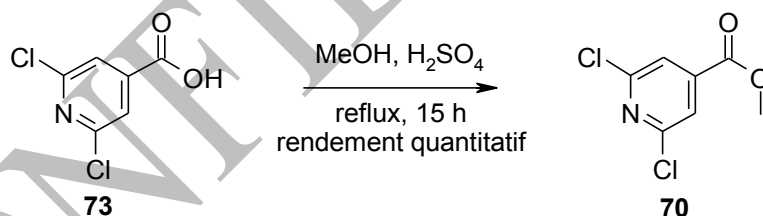


Schéma 14 : Formation de l'ester **70** à partir de l'acide 2,6-dichloroisonicotinique **73**.

### Obtention du sel de phosphonium

Après formation de l'ester méthylique de l'acide 2,6-dichloroisonicotinique (**70**), l'un des atomes de chlore est substitué par un groupe méthoxy, par réaction du méthanolate de sodium. L'ester 2-chloro-6-méthoxypyridinique (**69**) est obtenu avec un rendement quantitatif<sup>83</sup>.

<sup>81</sup> Henegar, K. E. *et al. J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6588-6597.

<sup>82</sup> Elhaïk, J. *et al. Tetrahedron*, **2007**, *63*, 291-298.

<sup>83</sup> Isler, O. *et al. Helv. Chim. Acta*, **1955**, *38*, 1033-1046.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

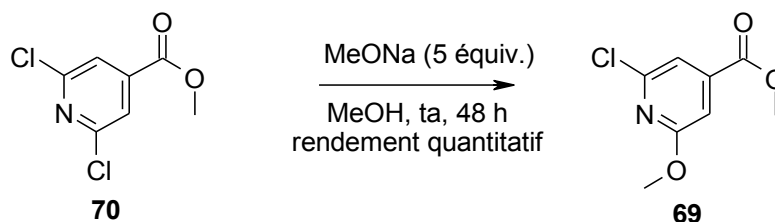


Schéma 15 : Substitution d'un atome de chlore.

L'ester **69** est ensuite réduit en alcool **68**<sup>84</sup> par action de NaBH<sub>4</sub> avec un rendement de 62 %.

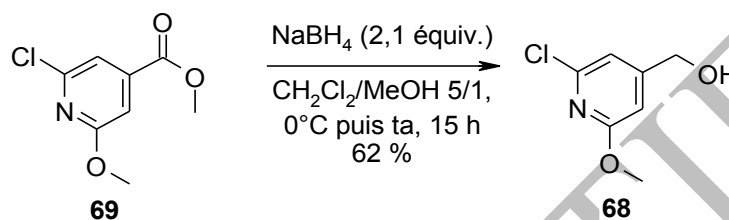


Schéma 16 : Réduction de l'ester 69.

L'alcool **68** est bromé en vue de parvenir par la suite au sel de phosphonium<sup>84</sup>, par réaction de tribromure de phosphore dans le dichlorométhane avec un rendement de 72 %.

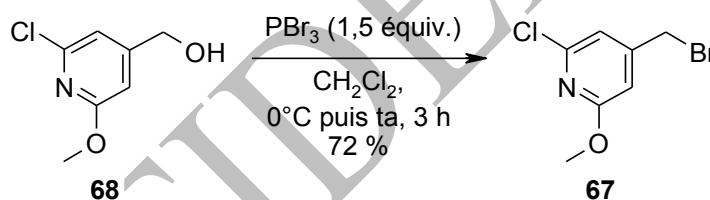


Schéma 17 : Formation du synthon bromé 67.

Le sel de phosphonium **66** est préparé en faisant réagir la triphénylphosphine sur le dérivé bromé précédent, dans le toluène à reflux durant 5 h. Le sel est obtenu quantitativement.

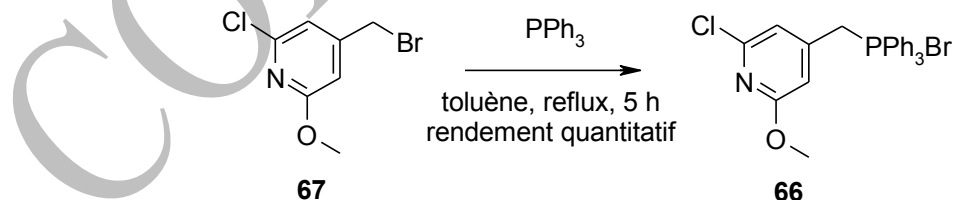


Schéma 18 : Obtention du sel de phosphonium 66, intermédiaire clé de la synthèse de 49.

<sup>84</sup> Wild, N. *et al. Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 22, 4445-4449.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

#### Accès à l'analogue de l'AVE8063 en série 2-chloro-6-méthoxy-pyridinique

Une réaction de Wittig est réalisée avec le sel de phosphonium **66** sur le 4-méthoxy-3-nitrobenzaldéhyde **65** en présence de triéthylamine<sup>75</sup>.

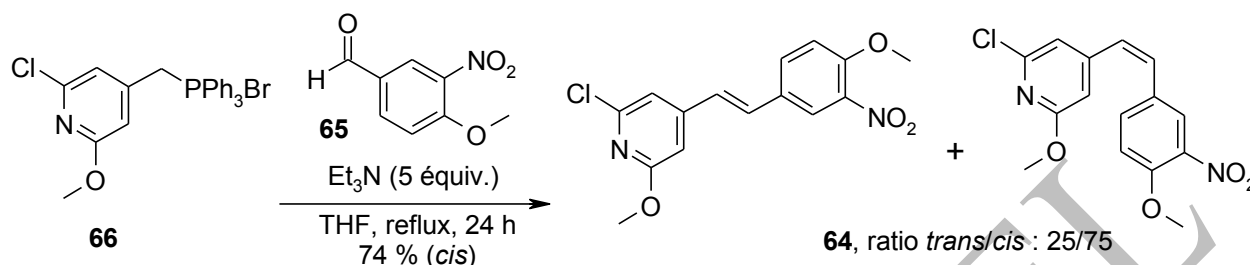


Schéma 19 : Réaction de formation de **64**.

L'inconvénient majeur de cette étape réside dans sa sensibilité à la lumière. En effet, le produit cinétique **64-cis** s'isomérise très rapidement en **64-trans** à la lumière du jour : le suivi RMN montre qu'en 4 heures à température ambiante, 10 % du produit s'isomérise en *trans*. La réaction doit donc être menée avec beaucoup de précautions dans l'obscurité, et ainsi que les étapes de traitement, de purification et de stockage. Dans la plupart des cas, le rapport *cis/trans* en cours de réaction tend vers un ratio 60/40. Néanmoins, dans le meilleur des cas, par une protection optimale de la verrerie à la lumière, ce ratio a pu être augmenté jusqu'à 75/25. Après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice, le produit nitré *cis* a été isolé avec un rendement maximal de 74 % et conservé en flacon opaque.

Le groupe nitro de l'isomère *cis* est ensuite réduit en amine pour parvenir à l'analogue strict de l'AVE8063 attendu. Pour éviter l'isomérisation en *trans*, la réduction est à nouveau menée à l'abri de la lumière. La réaction est effectuée dans des conditions mises au point au laboratoire<sup>85</sup> : **64-cis** est mis en solution dans l'éthanol en présence de disulfure de sodium anhydre. Au bout d'une heure à reflux, le produit réduit **49-cis** est obtenu avec un rendement de 62 %.

<sup>85</sup> Boisse, T. *Thèse de doctorat* « Conception, synthèse de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I dérivés de la Luotonine », Université de Lille 2, 2007.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

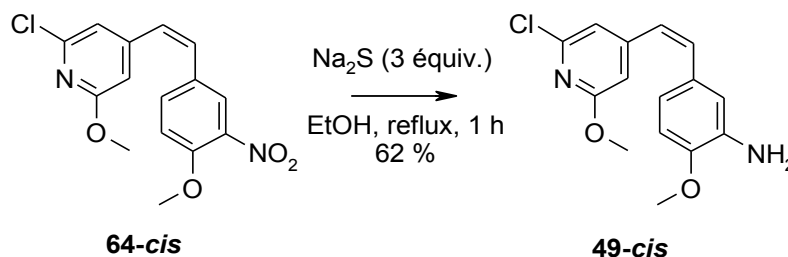


Figure 45 : Réduction du nitré **64** en amine **49** : obtention de l'analogue final de l'AVE8062 en série 2-chloro-6-méthoxypyridine.

### Résultats biologiques des composés **49** et **64**

L'activité d'inhibition de la prolifération cellulaire de **49** et de son précurseur **64** a été évaluée par le NCI sur 60 lignées cancéreuses. Le précurseur **64** possède des activités d'inhibition de la prolifération cellulaire relativement modestes. La molécule **49** possède, quant à elle, des activités de l'ordre du nanomolaire sur la plupart des 60 lignées de cellules souches (Tableau 12). **49** présente des cytotoxicités plus puissantes que la CA-4 sur les lignées NCI-H522 du cancer du poumon non à petites cellules ( $GI_{50} = 2,4 \cdot 10^{-8}$  M), SNB-75 du cancer du SNC ( $GI_{50} = 2,4 \cdot 10^{-8}$  M), MDA-MB-435 du mélanome ( $GI_{50} = 1,4 \cdot 10^{-8}$  M), A498 du cancer du rein ( $GI_{50} = 3,3 \cdot 10^{-8}$  M) et MCF7 du cancer du sein ( $GI_{50} = 3,4 \cdot 10^{-8}$  M).

Les cytotoxicités du composé **49** ont également été testées sur trois lignées cellulaires HCT116 (côlon), K562 (leucémie) et U87 (glioblastome) au laboratoire ISCN de Gif-sur-Yvette (Tableau 11). Pour les deux premières lignées, les activités sont du même ordre de grandeur que celles données par les tests NCI.

Tableau 11 : Cytotoxicités de **49** après 72 h de traitement sur les lignées HCT116 (côlon), K562 (leucémie) et U87 (glioblastome).

| IC <sub>50</sub> (nM) |      |     |
|-----------------------|------|-----|
| HCT116                | K562 | U87 |
| 65                    | 35   | 15  |

Au vu des bonnes activités de **49** vis-à-vis des 60 lignées cancéreuses, la molécule a été retenue pour des essais précliniques par le NCI et testée sur souris saines pour déterminer sa DMT. Aucune souris traitée avec des doses de 100 à 400 mg/kg n'a dû être sacrifiée, prouvant une très faible toxicité de la molécule. La DMT est donc supérieure à la valeur de 400 mg/kg.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

| Type cellulaire                         | Lignée cellulaire | GI <sub>50</sub> (M) <sup>a</sup> |                       |         |         |
|---|-------------------|-----------------------------------|-----------------------|---------|---------|
|   |                   | CA-4 (5)                          | AVE8063 (12)          | 64      | 49      |
| Leucémie                                | CCRF-CEM          | -                                 | -                     | 5.3 E-6 | 4.7 E-8 |
|   | HL-60(TB)         | 0.3 E-8 <sup>86</sup>             | -                     | 2.9 E-6 | 3.4 E-8 |
|   | K-562             | 0.4 E-8 <sup>43</sup>             | -                     | 1.2 E-6 | 3.6 E-8 |
|   | MOLT-4            | -                                 | -                     | 6.0 E-6 | 5.5 E-8 |
|   | SR                | -                                 | -                     | 1.1 E-6 | 2.6 E-8 |
| Cancer du poumon non à petites cellules | A549/ATCC         | 0.7 E-8                           | -                     | 4.3 E-6 | 6.7 E-8 |
|   | EKVX              | -                                 | -                     | 6.8 E-6 | 2.4 E-7 |
|   | HOP-62            | -                                 | -                     | 4.5 E-6 | 5.3 E-8 |
|   | HOP-92            | -                                 | -                     | 4.1 E-6 | 2.2 E-8 |
|   | NCI-H226          | -                                 | -                     | 2.5 E-6 | 1.5 E-6 |
|   | NCI-H23           | -                                 | -                     | 4.5 E-6 | 6.6 E-8 |
|   | NCI-H460          | 1.8 E-8 <sup>87</sup>             | 0.5 E-8 <sup>88</sup> | 3.2 E-6 | 3.6 E-8 |
| NCI-H522                                | 3.5 E-8           | -                                 | 2.4 E-6               | 2.4 E-8 |         |
| Cancer du côlon                         | COLO 205          | -                                 | -                     | 3.5 E-6 | 3.7 E-8 |
|   | HCC-2998          | -                                 | -                     | 4.7 E-6 | 1.5 E-7 |
|   | HCT-116           | 0.2 E-8 <sup>43</sup>             | -                     | 3.0 E-6 | 4.1 E-8 |
|   | HCT-15            | 0.1 E-9 <sup>89</sup>             | -                     | 2.5 E-6 | 3.5 E-8 |
|   | HT29              | -                                 | 0.5 E-8 <sup>90</sup> | 3.4 E-6 | 4.2 E-8 |
|   | KM12              | -                                 | -                     | 2.7 E-6 | 3.9 E-8 |
|   | SW-620            | 2.8 E-8 <sup>91</sup>             | -                     | 2.9 E-6 | 3.2 E-8 |
| Cancer du système nerveux central       | SF-268            | -                                 | -                     | 4.9 E-6 | 7.1 E-8 |
|   | SF-295            | -                                 | -                     | N.D.    | 1.6 E-8 |
|   | SF-539            | -                                 | -                     | 2.3 E-6 | 2.9 E-8 |
|   | SNB-19            | -                                 | -                     | 6.8 E-6 | 7.7 E-8 |
|   | SNB-75            | 8.3 E-7 <sup>91</sup>             | -                     | 2.7 E-6 | 2.4 E-8 |
|   | U251              | 0.6 E-8 <sup>91</sup>             | -                     | 3.2 E-6 | 3.7 E-8 |
| Mélanome                                | LOX IMV1          | -                                 | -                     | 4.3 E-6 | 6.6 E-8 |
|   | M14               | 0.1 E-9 <sup>91</sup>             | -                     | 2.6 E-6 | 3.2 E-8 |
|   | MDA-MB-435        | 3.2 E-8 <sup>37</sup>             | 0.3 E-8 <sup>37</sup> | 5.9 E-7 | 1.4 E-8 |
|   | SK-MEL-2          | -                                 | -                     | 3.5 E-6 | 5.6 E-8 |
|   | SK-MEL-28         | -                                 | -                     | 6.6 E-6 | 1.8 E-8 |
|   | SK-MEL-5          | -                                 | -                     | 2.8 E-6 | 3.1 E-8 |
|   | OVCAR-3           | -                                 | -                     | 2.2 E-6 | 1.9 E-8 |
|   | OVCAR-4           | -                                 | -                     | 7.9 E-6 | 4.2 E-8 |
|   | OVCAR-5           | -                                 | -                     | 2.1 E-5 | 2.7 E-8 |
|   | OVCAR-8           | -                                 | -                     | 6.1 E-6 | 5.7 E-8 |
|   | NCI/ADR-RES       | -                                 | -                     | 2.6 E-6 | 3.0 E-8 |
|   | SK-OV-3           | < 0.1 E-9 <sup>91</sup>           | -                     | 3.5 E-6 | 4.3 E-8 |
|   | Cancer du rein    | 786-0                             | -                     | -       | 5.1 E-6 |
| A498                                    |                   | 5.0 E-8                           | -                     | 2.7 E-6 | 3.3 E-8 |
| ACHN                                    |                   | -                                 | -                     | 5.6 E-6 | 6.1 E-8 |
| RXF 393                                 |                   | -                                 | -                     | 3.5 E-6 | 2.0 E-8 |
| SN12C                                   |                   | -                                 | -                     | 8.6 E-6 | 8.9 E-8 |
| TK-10                                   |                   | -                                 | -                     | 7.5 E-6 | 1.6 E-6 |
| UO-31                                   |                   | -                                 | -                     | 1.1 E-5 | 8.7 E-8 |
| Cancer de la prostate                   | PC-3              | 3.4 E-8                           | -                     | 5.3 E-6 | 6.0 E-8 |
|   | DU-145            | 2.0 E-8 <sup>78</sup>             | -                     | 5.4 E-6 | 4.9 E-8 |
| Cancer du sein                          | MCF7              | 4.0 E-8 <sup>37</sup>             | -                     | 3.1 E-6 | 3.4 E-8 |
|   | MDA-MB-231/ATCC   | 0.3 E-8 <sup>43</sup>             | -                     | 8.0 E-6 | 2.3 E-8 |
|   | HS 578T           | 1.5 E-8                           | -                     | 3.0 E-6 | 2.4 E-8 |

Tableau 12 : Cytotoxicité de 49 et 64 sur le panel de 60 cellules souches du NCI : <sup>a</sup> GI<sub>50</sub> représente la concentration molaire de composé inhibant 50 % de la croissance des cellules tumorales.

<sup>86</sup> Hamze, A. *et al. ChemMedChem*, **2009**, *4*, 1912-1924.

<sup>87</sup> Pettit, R. K. *et al. Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, *17*, 6606-6612.

<sup>88</sup> Alloatti, D. *et al. J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 2708-2721.

<sup>89</sup> Bellina, F. *et al. Bioorg. Med Chem Lett.*, **2006**, *16*, 5757-5762.

<sup>90</sup> Chang, J.-Y. *et al. J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 6412-6415.

<sup>91</sup> Sharma, V. M. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 1679-1682.



# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

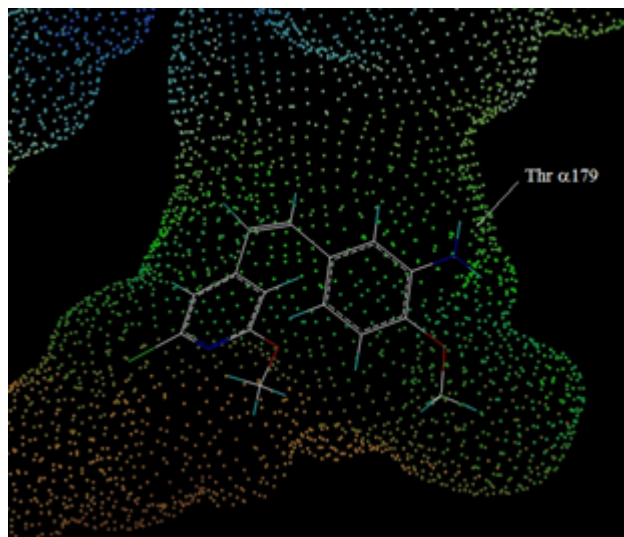


Figure 46 : Modélisation moléculaire de 49 dans le site de la tubuline.

La modélisation moléculaire de **49** dans le site de la colchicine met en évidence la formation d'une liaison hydrogène avec Thr  $\alpha$ 179 ; cela correspond au point **D1** du pharmacophore déterminé par Nguyen<sup>44</sup> (Figure 46).

### 1. 2. Série 4,5,6-triméthoxypyrimidique

Cette seconde série correspond au remplacement du cycle triméthoxybenzénique par un cycle analogue 4,5,6-triméthoxypyrimidinique.

En 2009, le Dr. Oudir, dans sa thèse, présente la synthèse de l'analogue strict de la CA-4 dans cette série (Schéma 20).

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

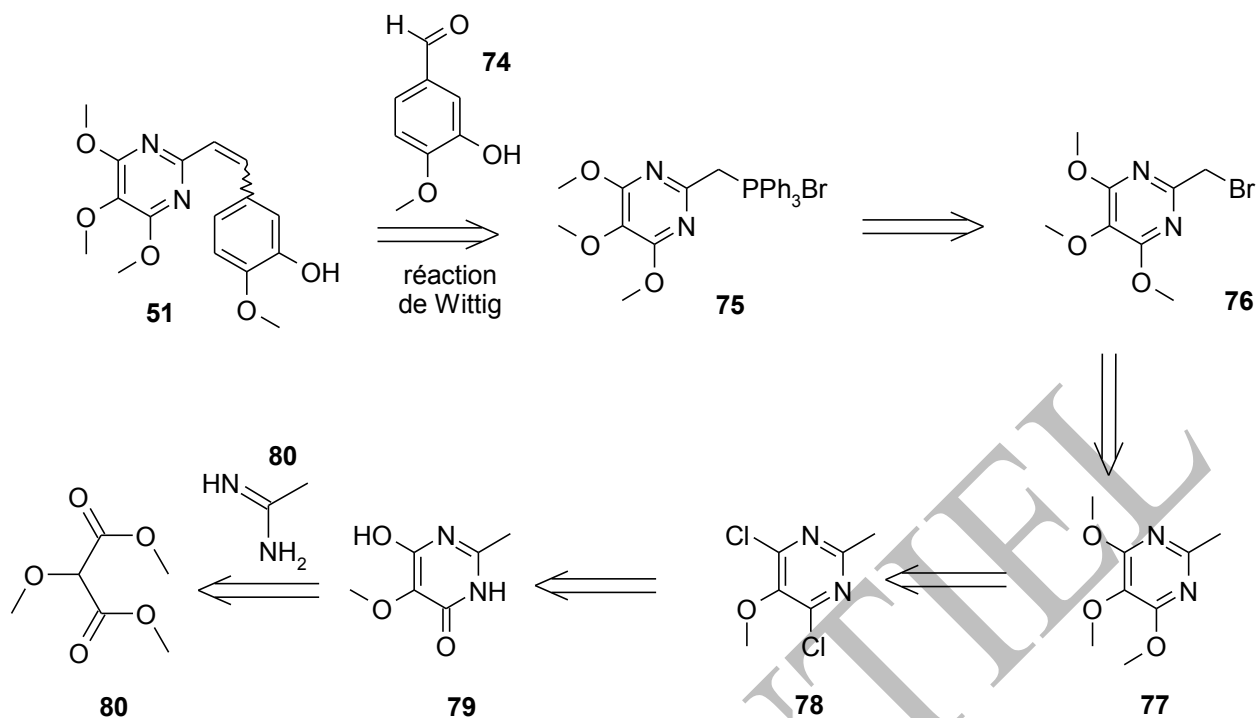


Schéma 20 : Schéma rétrosynthétique de 51 à partir du méthoxymalonate de diméthyle 77.

Après formation du mélange *cis/trans* de **51**, suit une étape de photoisomérisation permettant d'enrichir le mélange en isomère *cis*. Durant cette étape, outre l'enrichissement en *cis*, on observe la formation du dimère **53** (Schéma 21).

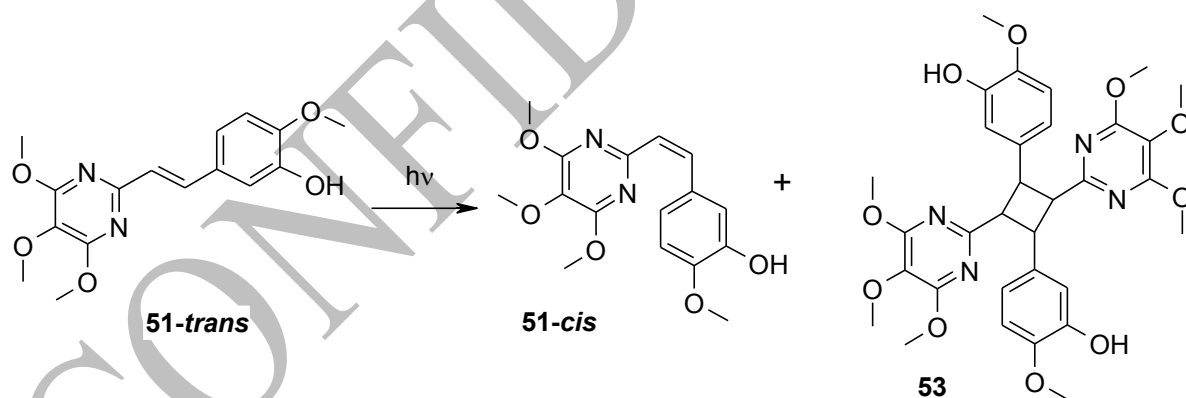


Schéma 21 : Obtention du dimère 53 lors de la photoisomérisation de 51.

### Formation du cycle 4,5,6-triméthoxypyrimidique

La première étape de la synthèse permet d'accéder au cycle pyrimidique, par condensation du chlorhydrate de l'acétamidine **80** sur le méthoxymalonate de diméthyle **81** en présence de méthanolate de sodium.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

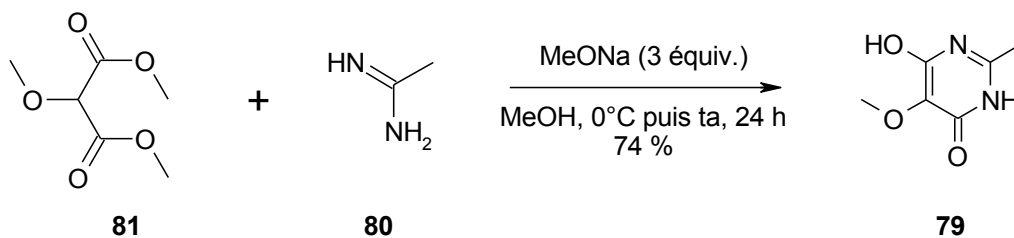


Schéma 22 : Formation du cycle pyrimidique.

Ainsi que le faisait remarquer le Dr. Oudir, le traitement de la réaction est délicat. Après une acidification jusqu'à pH 7 avec de l'HCl concentré, le solvant est évaporé. Un sel insoluble de NaCl piégeant le composé est obtenu. L'une des solutions employées pour récupérer l'hydroxypyrimidone était d'extraire le produit au méthanol à l'aide d'un montage de Soxhlet. Par cette méthode, la pyrimidine a été isolée avec un bon rendement de 74 %.

Une alternative consiste à engager le produit piégé dans les sels de méthanolate sans l'avoir isolé, dans l'étape suivante qui consiste en une chloration du cycle en présence de POCl<sub>3</sub>; ce dernier joue à la fois le rôle de solvant et réactif. Les ions méthanolates sont ainsi détruits par l'excès de POCl<sub>3</sub>. La pyrimidine pure est isolée, dans ce cas, par simple évaporation du solvant avec un bon rendement de 85 %.

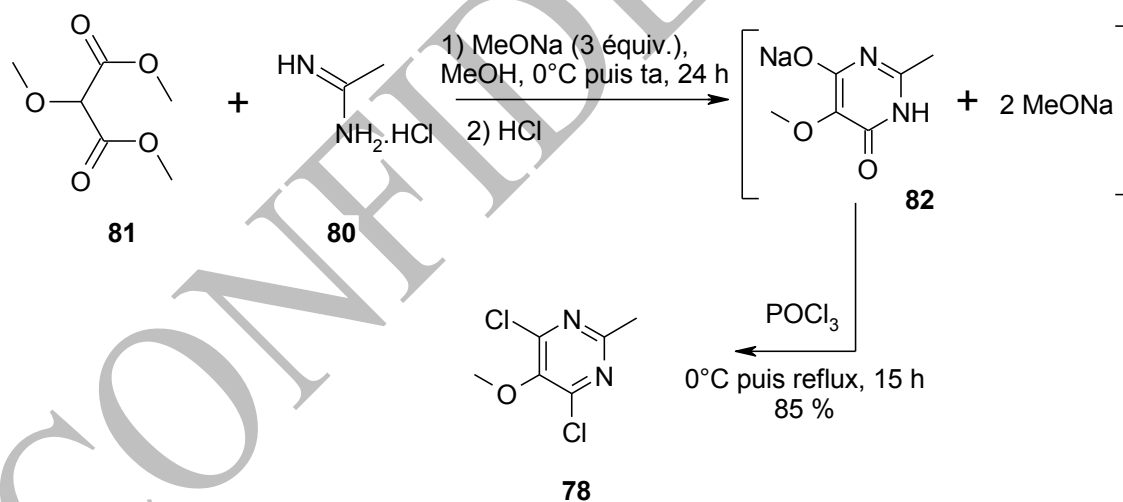


Schéma 23: Chloration du cycle.

Cette étape est également particulièrement délicate à mener à bien. En plus d'un dégagement d'HCl très important, il faut souligner que le produit formé a une odeur extrêmement forte qui, si elle n'est pas neutralisée correctement, imprègne la verrerie. Une solution est de traiter la totalité de la verrerie, après réaction, à l'eau de Javel ; ce qui permet d'éliminer toute odeur.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

Le cycle chloré **78** est ensuite transformé en 4,5,6-triméthoxy-2-méthylpyrimidine **77** en substituant les atomes de chlore par des groupes méthoxy en présence de méthanolate de sodium dans le méthanol à reflux.

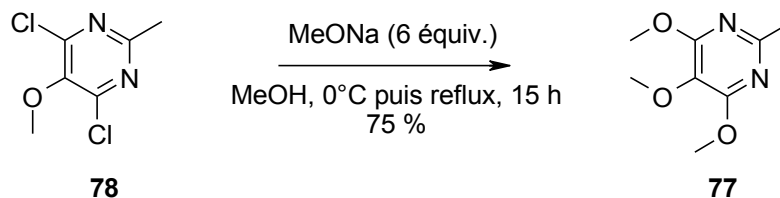


Schéma 24 : Substitution des atomes de chlore pour parvenir au cycle 4,5,6-triméthoxy-2-méthylpyrimidique **77**.

La réaction permet d'isoler l'hétérocycle attendu avec un bon rendement de 75 %. Aucune monosubstitution n'a été tentée, malgré l'intérêt que pourrait présenter une telle substitution.

### Accès au sel de phosphonium **75**

L'obtention du sel de phosphonium passe par la synthèse du dérivé monobromé **76**. Cette voie de synthèse, mise au point au laboratoire par Dr. Oudir, utilise le *N*-bromosuccinimide en présence d'un initiateur radicalaire en quantité catalytique (AIBN) dans le benzène à reflux. Le nombre d'équivalents de chacun des réactifs, ainsi que la durée de réaction, déterminent la proportion de chacun des dérivés bromés obtenus (Tableau 13).

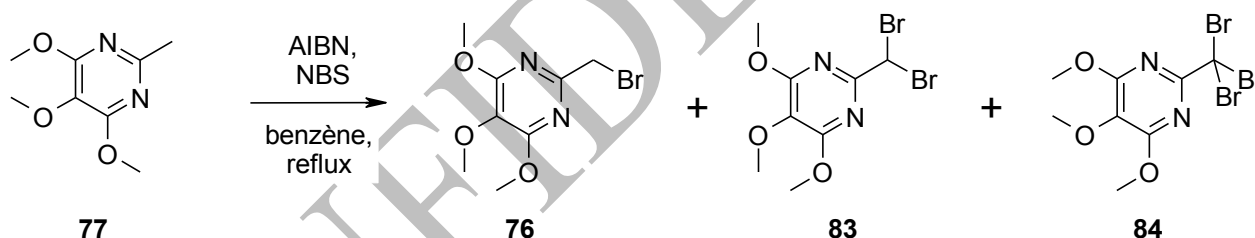


Schéma 25 : Bromation du cycle **77**, en présence d'AIBN et NBS.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

Tableau 13 : Etude des conditions de bromation pour parvenir au meilleur ratio en produit 77 monobromé.

| Entrée | Réactifs      |              | Durée  | Ratio (% , déterminé par RMN) |                 |                 |    |
|--------|---------------|--------------|--------|-------------------------------|-----------------|-----------------|----|
|        | AIBN (% mol.) | NBS (équiv.) |        | 77                            | 76              | 83              | 84 |
| 1      | 10            | 1.0          | 30 min | 44                            | 45              | 10              | 0  |
| 2      | 10            | 1.0          | 45 min | 48                            | 44              | 8               | 0  |
| 3      | 10            | 1.8          | 30 min | 45                            | 45 (44 % isolé) | 10              | 0  |
| 4      | 10            | 1.8          | 1 h    | 43                            | 48              | 9               | 0  |
| 5*     | 10            | 2.2          | 1 h    | 43                            | 49              | 8               | 0  |
| 6*     | 10            | 2.2          | 2 h    | 0                             | 38              | 8               | 54 |
| 7      | 10            | 3.0          | 3 h    | 11                            | 47              | 39              | 3  |
| 8      | 20            | 6.0          | 4 h    | 6                             | 40              | 45 (27 % isolé) | 6  |
| 9      | 20            | 6.0          | 15 h   | 7                             | 39              | 46              | 7  |

\* Valeurs déterminées par le Dr. S. Oudir, pour référence.

Ainsi, dans les conditions déterminées précédemment, le rapport en composés **77/76/83/84** est de 43/49/8/0 en présence de 10 % molaire d'AIBN et 2,2 équivalents de NBS à reflux du benzène pendant 1 heure (Tableau 13, Entrée 5). Ces valeurs sont sensiblement identiques à celles que nous avons déterminées si l'on réduit le nombre d'équivalents de NBS, passant de 2,2 à 1,8 ou 1 équivalent(s) et la durée de réaction de 1 heure à 30 minutes (Entrées 1 à 4).

Pour un reflux de deux heures en présence de 10 % molaire d'AIBN et 2,2 équivalents de NBS à reflux du benzène, le rapport déterminé par Dr. Oudir devient 0/38/8/54 (Entrée 6). A ce stade, nous avons voulu vérifier la réactivité de **77** en présence d'excès de NBS. En présence de 3 équivalents de NBS, nous observons un ratio 11/47/39/3 (Entrée 7) ; ce qui ne correspond pas aux observations faites précédemment. En effet, le ratio en composé dibromé **83** et tribromé **84** est inversé. Pour confirmer ces valeurs, nous avons testé la réaction avec 3 équivalents supplémentaires, soit 6 équivalents au total et en présence de 20 % molaire d'AIBN à reflux pendant 4 heures (Entrée 8) puis 15 heures (Entrée 9). On remarque que, dans ces conditions, au bout de 4 heures de reflux, le ratio est de 6/40/45/6. Ces résultats sont en accord avec ceux observés avec 3 équivalents.

Nous observons l'apparition du dérivé tribromé **84** que dans nos dernières conditions testées, à partir de 3 heures de reflux de benzène, et pour un ratio de seulement 3 %. Le produit de départ disparaît totalement et le ratio du dibromé **83** chute au profit de celui du tribromé **84**. Au vu des résultats des entrées 7 et 8, on peut envisager que la formation du tribromé **84** pourrait être favorisée par addition régulière d'initiateur AIBN dans le milieu.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

A la vue de ces résultats, il nous a semblé intéressant de garder le mode opératoire de Dr. Oudir avec 10 % molaire d'initiateur et 1 à 2,2 équivalents de NBS, et d'ajuster la durée de réaction selon le produit final désiré. Ainsi, afin d'isoler le produit monobromé **76** en mélange avec le produit de départ **77**, la durée de réaction n'excèdera pas une heure. Et, d'autre part, le composé dibromé **83**, produit également valorisable pour la synthèse de **51** (cf. Voie de synthèse alternative), peut être obtenu dans les mêmes conditions réactionnelles pour une durée de réaction supérieure à une heure, en mélange avec le produit monobromé **76**.

Le sel de phosphonium **75** est obtenu par réaction du dérivé monobromé **76** avec la triphénylphosphine dans le toluène à reflux.

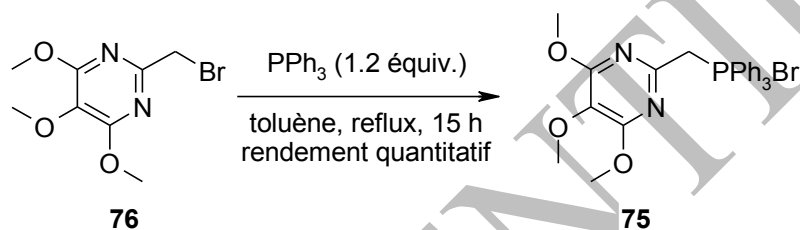


Schéma 26 : Etape finale conduisant à l'obtention du sel de phosphonium **75**.

Le produit pur est isolé de façon quantitative. Faute de temps, cette voie de synthèse n'a pas pu être terminée.

### Voie de synthèse alternative

En parallèle à la synthèse de ce sel de phosphonium **75**, une voie de synthèse alternative du stilbène **51** a été envisagée, faisant intervenir le dérivé dibromé **83** synthétisé précédemment transformé en aldéhyde **86** correspondant, puis mis en réaction de Wittig en présence du sel de phosphonium **85**.

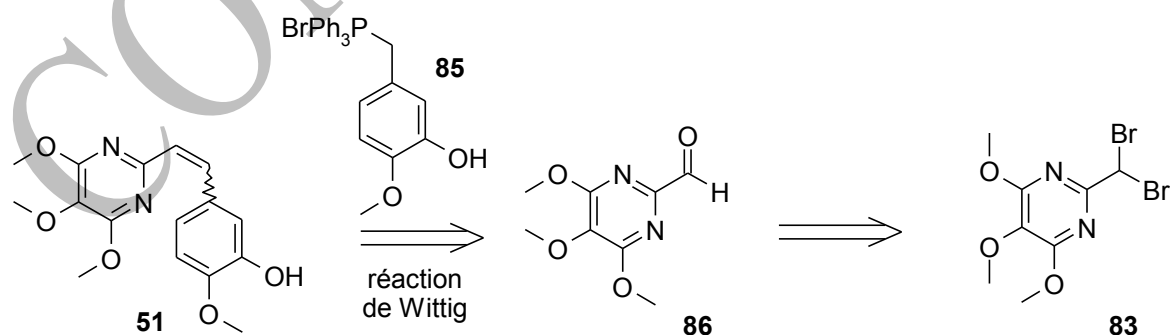


Schéma 27 : Rétrosynthèse alternative de **51**.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

Le dérivé dibromé **83** isolé précédemment est transformé en aldéhyde **86** en présence de nitrate d'argent selon un protocole utilisé dans la littérature sur des dérivés benzéniques<sup>92</sup>.

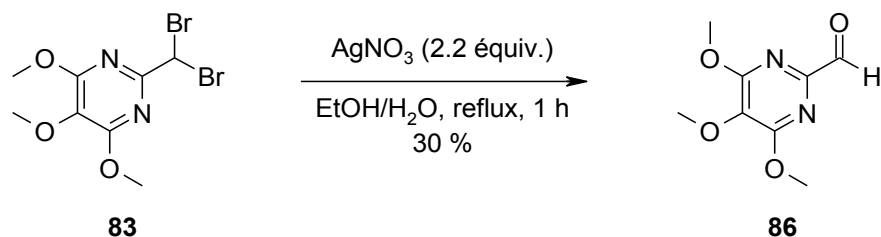


Schéma 28 : Formation de l'aldéhyde **86**.

L'aldéhyde **86** est isolé avec un rendement de 30 %.

Parallèlement, le sel de phosphonium **85** est préparé selon une méthode de la littérature<sup>93</sup> au départ de l'alcool 3-hydroxy-4-méthoxybenzylique **87**. L'alcool benzylique est bromé avec  $\text{PBr}_3$  puis transformé en sel de phosphonium, *in situ*, en présence de triphénylphosphine.

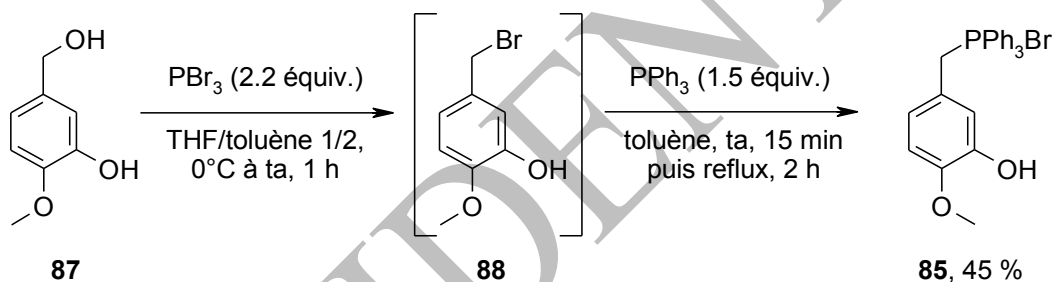


Schéma 29 : Obtention du sel de phosphonium **85**<sup>93</sup>.

Par RMN, on observe bien la formation du sel de phosphonium **85**. Néanmoins, malgré toutes nos tentatives de recristallisation dans un mélange éther/éthanol suivant le protocole de Pettit *et al.*, le produit n'a pas pu être obtenu pur. Faute de temps, la condensation de Wittig (Schéma 30), n'a pu être menée à bien.

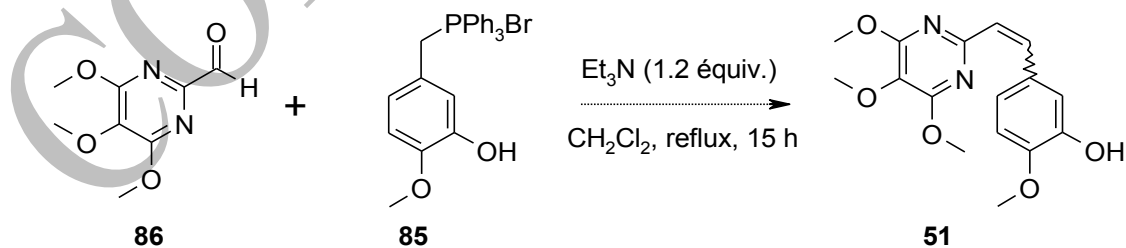


Schéma 30 : Réaction de Wittig alternative envisagée pour parvenir à **51**.

<sup>92</sup> Hill, R. A. *et al.* *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1987**, 1, 2209-2215.

<sup>93</sup> Pettit, G. R. *et al.* *Can. J. Chem.*, **1987**, 65, 2390-2396.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

#### Résultats biologiques des composés 51 et 53

Les activités cytotoxiques du composé **51** et du dimère **53** ont été évaluées par le NCI (Tableau 15).

Le composé **51** possède des activités cytotoxiques de l'ordre du nanomolaire pour la plupart des souches, avec une spécificité pour les lignées du mélanome. On remarque que la molécule est notamment plus active que la CA-4 sur les lignées MDA-MB-435 du mélanome ( $GI_{50} < 1,0 \cdot 10^{-8}$  M contre  $3,2 \cdot 10^{-8}$  M) et SW-620 du cancer du côlon ( $GI_{50} < 1,0 \cdot 10^{-8}$  M contre  $2,8 \cdot 10^{-8}$  M).

Par rapport à la CA-4, le dimère est, en moyenne, moins cytotoxique d'un facteur dix pour l'ensemble des lignées cellulaires à l'exception de la lignée SNB-75 du cancer du SNC ( $GI_{50} = 1,8 \cdot 10^{-7}$  M contre  $8,3 \cdot 10^{-7}$  M pour la CA-4).

Les cytotoxicités du composé **51** ont également été testées sur trois lignées cellulaires HCT116 (côlon), K562 (leucémie) et U87 (glioblastome) au laboratoire ISCN de Gif-sur-Yvette (Tableau 14). Pour les deux premières lignées, les activités sont du même ordre de grandeur que celles données par les tests NCI.

Tableau 14 : Cytotoxicités de 51 après 72 h de traitement sur les lignées HCT116 (côlon), K562 (leucémie) et U87 (glioblastome).

| IC <sub>50</sub> (nM) |      |     |
|-----------------------|------|-----|
| HCT116                | K562 | U87 |
| 25                    | 25   | 7   |

L'analyse de l'effet de **51** sur le cycle cellulaire sur des cellules HCT116 montre que la molécule induit un arrêt en phase G2/M (Figure 47). Par ailleurs, des tests d'induction de l'apoptose montrent qu'à une concentration de 25 nM, celle-ci est augmentée de 350 % et de 475 % à une concentration de 50 nM (Figure 48).



# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

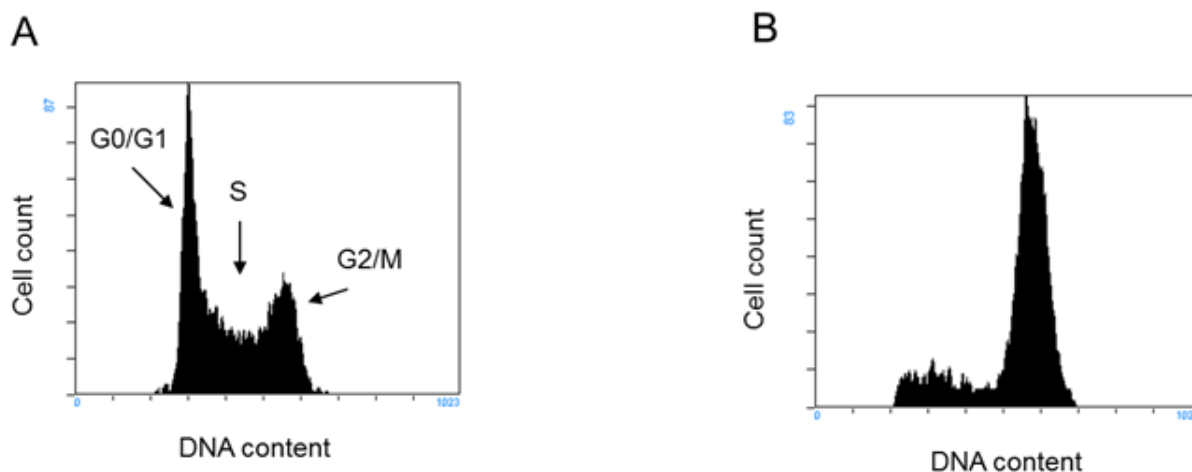


Figure 47 : Effets de 51 sur le cycle cellulaire de cellules HCT116. Les cellules ont été traitées 24 h à une concentration de 50 nM avec du DMSO (A) et 51 (B)

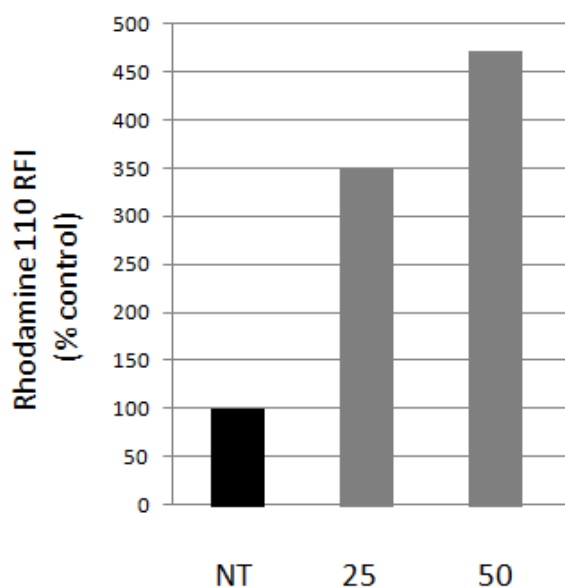


Figure 48 : Induction de l'apoptose sur des cellules HCT116 pour des concentrations de 25 et 50 nM en composé 51 (mesure de l'activité des caspases 3 et 7).

Le composé **51** a également été évalué au laboratoire ISCN de Gif-sur-Yvette pour déterminer son activité antivasculaire sur des tubes vasculaires formés par les cellules endothéliales du cordon ombilical HUVECsensemencées sur le Matrigel pour des concentrations de 10 nM, 50 nM (Figure 49) et 100 nM (Figure 50). Il en ressort que **51** possède une activité antivasculaire à une concentration de 50 nM au bout de quatre heures et dès deux heures à une concentration de 100 nM. Néanmoins, à la concentration de 100 nM, le composé affecte la viabilité cellulaire.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

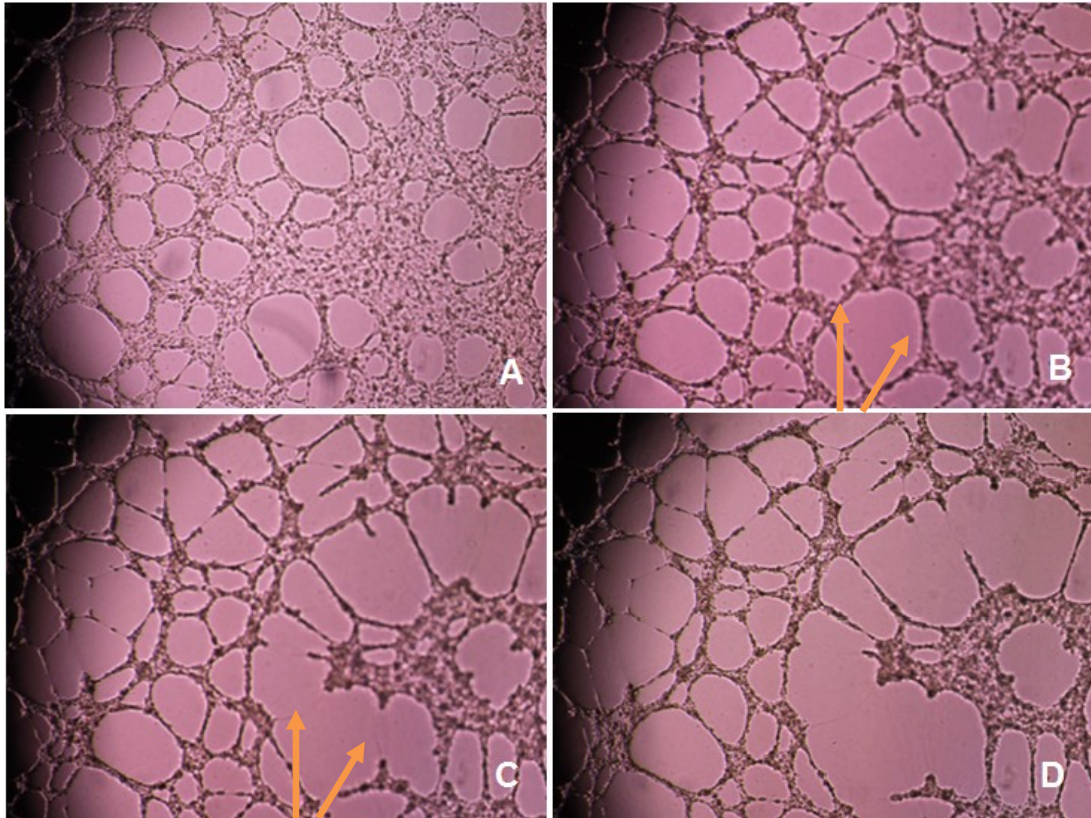


Figure 49 : Evaluation de l'activité antivascularielle de 51 pour une concentration de 50 nM pour des durées de 0 h (A), 2 h (B), 4 h (C) et 6 h (D).

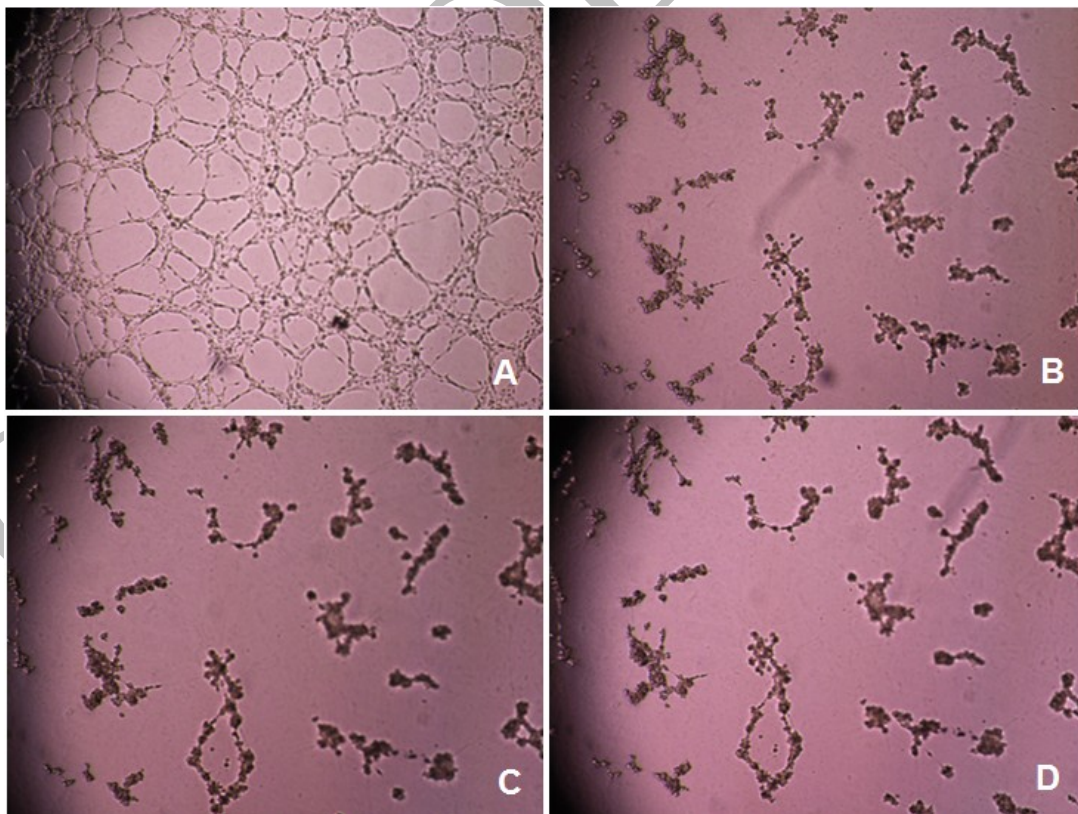


Figure 50 : Evaluation de l'activité antivascularielle de 51 pour une concentration de 100 nM pour des durées de 0 h (A), 2 h (B), 4 h (C) et 6 h (D).

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

**Tableau 15 : Cytotoxicités de 51 et 53 sur le panel de 60 cellules souches du NCI :** <sup>a</sup> GI<sub>50</sub> représente la concentration molaire de composé inhibant 50 % de la croissance des cellules tumorales.

| Type cellulaire                         | Lignée cellulaire       | GI <sub>50</sub> (M) <sup>a</sup> |           |         |
|---|-------------------------|-----------------------------------|-----------|---------|
|   |                         | CA-4 (5)                          | 51        | 53      |
| Leucémie                                | CCRF-CEM                | -                                 | 3.6 E-8   | 3.3 E-7 |
|   | HL-60(TB)               | 0.3 E-8 <sup>86</sup>             | < 1.0 E-8 | 2.0 E-7 |
|   | K-562                   | 0.4 E-8 <sup>43</sup>             | < 1.0 E-8 | 2.4 E-7 |
|   | MOLT-4                  | -                                 | 3.9 E-8   | 5.6 E-7 |
|   | RPMI-8226               | -                                 | 3.6 E-8   | 2.9 E-7 |
|   | SR                      | -                                 | < 1.0 E-8 | 1.7 E-7 |
| Cancer du poumon non à petites cellules | A549/ATCC               | 0.7 E-8 <sup>43</sup>             | 3.9 E-8   | 1.6 E-6 |
|   | EKVX                    | -                                 | 3.0 E-6   | 4.5 E-6 |
|   | HOP-62                  | -                                 | 3.7 E-8   | 6.2 E-7 |
|   | HOP-92                  | -                                 | 1.0 E-8   | 4.3 E-7 |
|   | NCI-H226                | -                                 | 2.7 E-7   | 1.1 E-5 |
|   | NCI-H23                 | -                                 | 3.3 E-8   | 6.3 E-7 |
|   | NCI-H322M               | -                                 | 5.2 E-7   | 1.6 E-6 |
|   | NCI-H460                | 1.8 E-8 <sup>87</sup>             | 2.7 E-8   | 5.4 E-7 |
| NCI-H522                                | 3.5 E-8                 | 1.2 E-8                           | 2.5 E-7   |         |
| Cancer du côlon                         | COLO 205                | -                                 | 4.0 E-6   | 8.0 E-6 |
|   | HCC-2998                | -                                 | 2.9 E-7   | 1.0 E-5 |
|   | HCT-116                 | 0.2 E-8 <sup>43</sup>             | < 1.0 E-8 | 3.0 E-7 |
|   | HCT-15                  | 0.1 E-9 <sup>89</sup>             | < 1.0 E-8 | 4.1 E-7 |
|   | HT29                    | -                                 | 6.8 E-7   | 3.7 E-6 |
|   | KM12                    | -                                 | 3.3 E-8   | 3.8 E-7 |
|   | SW-620                  | 2.8 E-8 <sup>91</sup>             | < 1.0 E-8 | 3.5 E-7 |
| Cancer du système nerveux central       | SF-268                  | -                                 | 3.7 E-8   | 3.4 E-7 |
|   | SF-295                  | -                                 | 2.4 E-8   | 6.1 E-7 |
|   | SF-539                  | -                                 | 1.1 E-8   | 2.0 E-7 |
|   | SNB-19                  | -                                 | 5.7 E-8   | 6.2 E-7 |
|   | SNB-75                  | 8.3 E-7                           | 3.1 E-8   | 1.8 E-7 |
|   | U251                    | 0.6 E-8 <sup>91</sup>             | < 1.0 E-8 | 3.6 E-7 |
| Mélanome                                | LOX IMVI                | -                                 | < 1.0 E-8 | 5.7 E-7 |
|   | M14                     | 0.1 E-9 <sup>91</sup>             | < 1.0 E-8 | 2.3 E-7 |
|   | MDA-MB-435              | 3.2 E-8 <sup>37</sup>             | < 1.0 E-8 | 2.0 E-7 |
|   | SK-MEL-2                | -                                 | 2.4 E-8   | 3.7 E-7 |
|   | SK-MEL-28               | -                                 | < 1.0 E-8 | 8.9 E-7 |
|   | SK-MEL-5                | -                                 | 1.4 E-8   | 4.1 E-7 |
|   | UACC-257                | -                                 | < 1.0 E-8 | 5.5 E-7 |
| UACC-62                                 | -                       | < 1.0 E-8                         | 8.5 E-7   |         |
| Cancer de l'ovaire                      | IGROV                   | -                                 | 3.3 E-8   | 5.0 E-7 |
|   | OVCAR-3                 | -                                 | < 1.0 E-8 | 2.2 E-7 |
|   | OVCAR-4                 | -                                 | 8.4 E-8   | 3.1 E-6 |
|   | OVCAR-5                 | -                                 | 8.5 E-8   | 3.7 E-6 |
|   | OVCAR-8                 | -                                 | 3.2 E-8   | 5.5 E-7 |
|   | NCI/ADR-RES             | -                                 | < 1.0 E-8 | 2.4 E-7 |
| SK-OV-3                                 | < 0.1 E 9 <sup>91</sup> | 3.9 E-8                           | 2.3 E-6   |         |
| Cancer du rein                          | 786-0                   | -                                 | 6.1 E-8   | 1.1 E-5 |
|   | A498                    | 5.0 E-8                           | 3.1 E-8   | 4.9 E-6 |
|   | ACHN                    | -                                 | 2.7 E-8   | 5.1 E-7 |
|   | CAKI-1                  | -                                 | 6.7 E-8   | 2.6 E-7 |
|   | RXF 393                 | -                                 | 1.1 E-8   | 3.0 E-7 |
|   | SN12C                   | -                                 | 3.8 E-8   | 6.2 E-7 |
|   | TK-10                   | -                                 | 7.5 E-5   | 1.2 E-5 |
|   | UO-31                   | -                                 | 5.9 E-8   | 4.1 E-7 |
| Cancer de la prostate                   | PC-3                    | 3.4 E-8                           | 2.4 E-8   | 3.8 E-7 |
|   | DU-145                  | 2.0 E-8 <sup>78</sup>             | 2.6 E-8   | 3.6 E-7 |
| Cancer du sein                          | MCF7                    | 4.0 E-8 <sup>37</sup>             | 2.0 E-7   | 2.6 E-6 |
|   | MDA-MB-231/ATCC         | 0.3 E-8 <sup>43</sup>             | 3.4 E-8   | 5.6 E-7 |
|   | HS 578T                 | 1.5 E-8                           | 1.5 E-8   | 2.0 E-7 |
|   | BT-549                  | -                                 | 2.3 E-8   | 3.7 E-7 |
|   | T-47D                   | -                                 | 2.1 E-5   | 1.5 E-5 |
|   | MDA-MB-468              | -                                 | 1.9 E-7   | 1.1 E-5 |

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

### 1. 3. Annexe : étude d'alternatives à l'utilisation du méthoxymalonate de diméthyle

Le cycle pyrimidique est formé par réaction du méthoxymalonate de diméthyle, qui est un produit commercial, en présence du chlorhydrate de l'acétamidine.

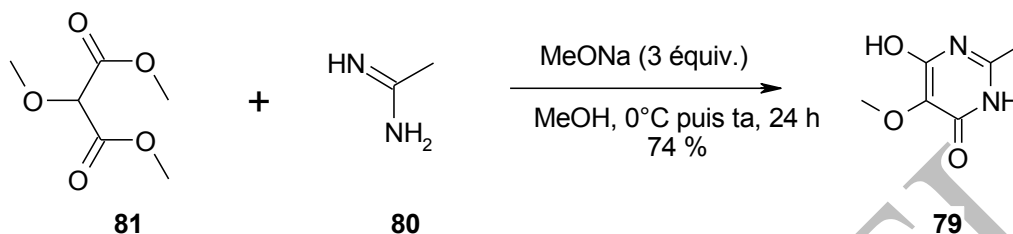


Schéma 31 : Etape utilisant le méthoxymalonate de diméthyle.

Suite à la rupture de stock du méthoxymalonate chez tous les fournisseurs, il a été envisagé la préparation de ce produit au laboratoire. Dans la littérature, la synthèse de ce composé passe par la formation d'un dérivé diazoïque **90**<sup>94</sup>, suivie d'une substitution par un groupement méthoxy<sup>95</sup>.

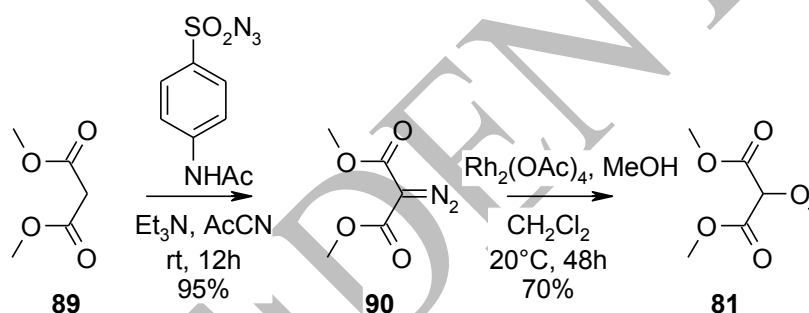


Schéma 32 : Voie de synthèse de la littérature.

Le dérivé diazoïque pouvant être explosif, d'autres voies de synthèse ont été étudiées. Tout d'abord, il a été envisagé de substituer l'atome d'halogène du chlorure ou du bromure de malonate de diéthyle, en présence d'une base telle que Et<sub>3</sub>N, MeONa ou NaHCO<sub>3</sub> en présence de méthanol. Dans tous ces cas (Tableau 16, Entrées 2 à 7), la réaction conduit à une transestérification des esters éthyliques en esters méthyliques, mais sans substitution de l'halogène. La réaction sur le bromomalonate de diméthyle avec le méthanol en présence d'Et<sub>3</sub>N est une réaction décrite dans la littérature<sup>96</sup> mais n'a pas fonctionné dans notre cas, que ce soit à reflux ou à température ambiante (Entrées 2 et 4) ou en utilisant le chlorure correspondant (Entrée 3). Afin de savoir si les halogènes étaient de bons groupes partant dans cette position précise, deux réactions menées en présence

<sup>94</sup> Baum, J. S. *et al. Synth. Commun.*, **1987**, *17*, 1709-1716.

<sup>95</sup> Shevchenko, V. V. *et al. Helv. Chim. Acta*, **2008**, *91*, 501-509.

<sup>96</sup> Wang, C. *et al. Chem. Res. Chin. Univ.*, **1988**, *9*, 1299-1301.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

d'un dérivé silylé, en excès, ont été menées. Même en présence d'un agent tel que  $n\text{Bu}_4\text{NF}$ , qui peut permettre d'activer le silylé<sup>97</sup>, aucune substitution n'a lieu.

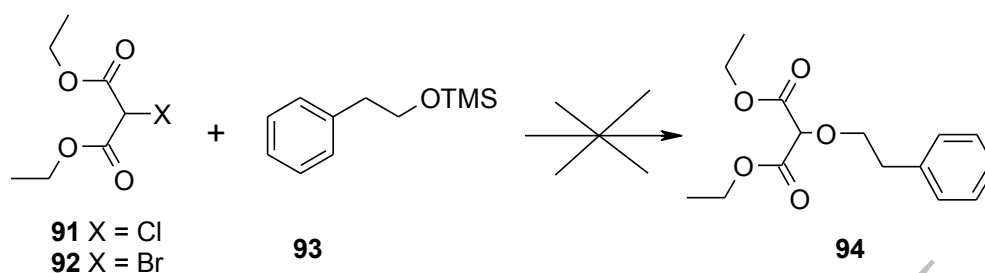


Schéma 33 : Réaction en présence d'un dérivé silylé 93.

De même, la présence d'un acide de Lewis du type  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$  ou  $\text{Mg}(\text{OMe})_2$  en excès ne permet pas de substituer l'halogène. Les tentatives en condition oxydative en présence de nitrate de cérium et d'ammonium (CAN) n'ont pas donné de meilleurs résultats<sup>98</sup>.

Néanmoins, la substitution a lieu en présence du benzoate de triéthylammonium **95** (Schéma 34).

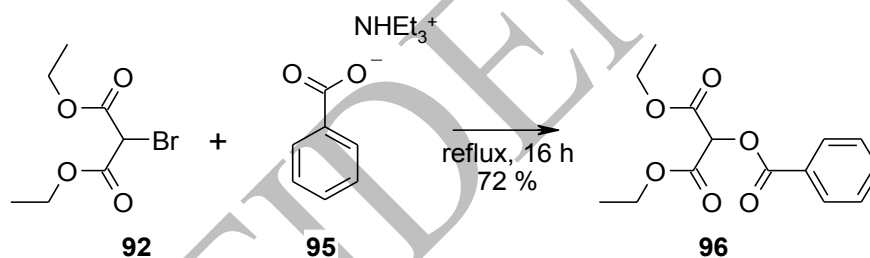


Schéma 34 : Substitution du brome par le benzoate de triéthylammonium 95.

Cela montre que la formation préférentielle du sel **97** est cause de la décomposition du composé initial, et que la présence d'un nucléophile peu basique **95** permet d'obtenir une réaction qui se limite à une substitution de l'halogène (Schéma 35).

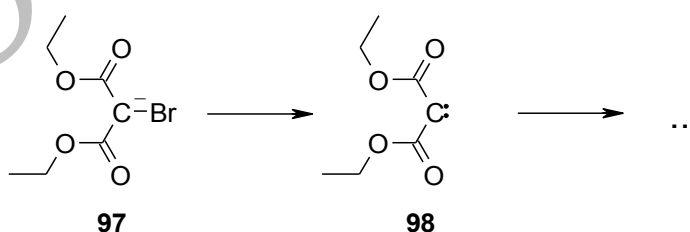


Schéma 35 : Décomposition du sel 97.

<sup>97</sup> Vorbrüggen, H. *Silicon-mediated Transformations of Functional Groups*, John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2006, p. 50.

<sup>98</sup> Tseng, C.-C. et al. *Tetrahedron*, **2002**, 58, 7625-7633.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

La condensation du produit **96** avec l'acétamidine **80** permet d'obtenir le composé attendu **99** avec un rendement de 35 %, mais la faible quantité obtenue n'a pas permis d'aller plus loin.

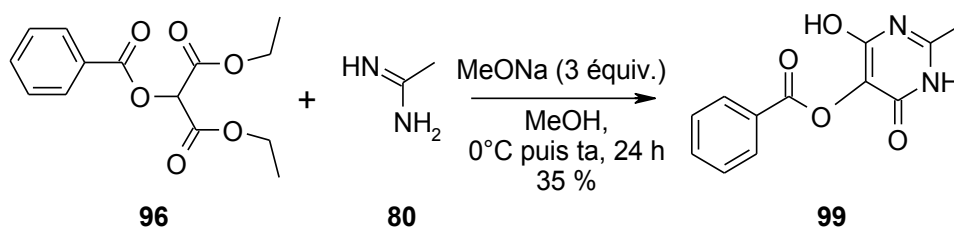


Schéma 36 : Synthèse du produit 99.

La synthèse du méthoxymalonate via une substitution sur l'ester de l'acide méthoxyacétique **101** a également été tentée (Schéma 37). Plusieurs conditions ont été étudiées selon les substitutions de R et R' sans succès (Tableau 17).

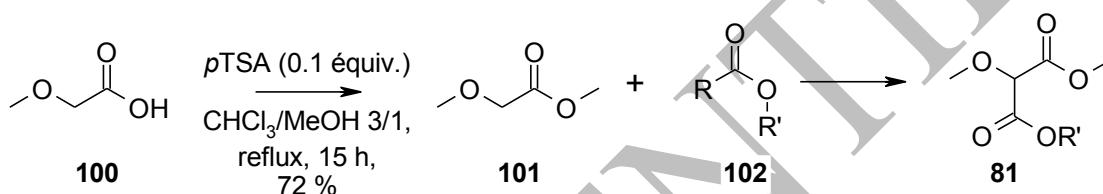
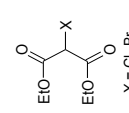
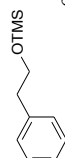
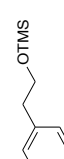
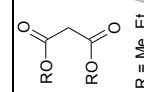
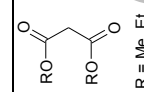


Schéma 37 : Tentative de synthèse du méthoxymalonate de diméthyle **81** au départ de l'acide méthoxyacétique **100**.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 1. Synthèse d'azacombrétastatines

Tableau 16 : Essais de synthèse de méthoxymalonate de diméthyle.

| Entrée | Produit initial   | Réactifs  | Solvant | Température | Temps  | Résultat            |
|--------|---|---|---------|-------------|--------|---------------------|
| 1      | X = Br  | -   | MeOH    | reflux      | 15 h   | pas de réaction     |
| 2      | X = Br  | Et <sub>3</sub> N (1.1 équiv.)  | MeOH    | reflux      | 15 h   | transestérification |
| 3      | X = Cl  | Et <sub>3</sub> N (1 équiv.)  | MeOH    | TA          | 15 h   | transestérification |
| 4      | X = Br  | Et <sub>3</sub> N (1 équiv.)  | MeOH    | TA          | 15 h   | transestérification |
| 5      | X = Br  | MeONa (1 équiv.)  | MeOH    | reflux      | 15 h   | transestérification |
| 6      | X = Cl  | MeONa (1 équiv.)  | MeOH    | reflux      | 15 h   | transestérification |
| 7      | X = Br  | NaHCO <sub>3</sub>  | MeOH    | TA          | 15 h   | transestérification |
| 8      | <br>X = Cl, Br   | <br>en excès                       | -       | TA          | 5 h    | pas de réaction     |
| 9      | X = Br  | <br>en excès / nBu <sub>4</sub> NF | -       | reflux      | 15 h   | pas de réaction     |
| 10     | X = Br  | BF <sub>3</sub> ·MeOH (2 équiv.)  | MeOH    | reflux      | 15 h   | transestérification |
| 11     | X = Br  | Mg(OMe) <sub>2</sub> (2 équiv.)   | MeOH    | reflux      | 15 h   | transestérification |
| 12     | X = Br  | Mg(OMe) <sub>2</sub> (2.5 équiv.)   | -       | 130°C       | 1 h    | pas de réaction     |
| 13     | X = Br  | Mg(OMe) <sub>2</sub> (2.5 équiv.)   | DMF     | 130°C       | 24 h   | transestérification |
| 14     | <br>R = Me, Et | CAN (1,1 équiv)   | MeOH    | TA          | 30 min | pas de réaction     |
| 15     | <br>R = Me, Et | BF <sub>3</sub> ·MeOH (2 équiv.)  | MeOH    | reflux      | 15 h   | pas de réaction     |

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 1. Synthèse d'azacombréstatatines

Tableau 17 : Conditions testées en présence de l'ester de l'acide méthoxyacétique.

| Entrée | Réactifs  | Température        | Durée            | Solvant  | Résultat        |
|--------|---|--------------------|------------------|----------|-----------------|
| 1      | Cl(C=O)OMe (1 équiv.), NaH (1 équiv.)   | 0°C puis ta        | 30 min           | THF      | pas de réaction |
| 2      | Cl(C=O)OMe (1 équiv.), LDA (1.1 équiv.)   | -70°C puis 50°C    | 30 min puis 15 h | THF      | pas de réaction |
| 3      | Cl(C=O)OMe (6.7 équiv.), K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (4 équiv.), Et <sub>3</sub> N (1 %) | reflux             | 15 h             | -        | pas de réaction |
| 4      | Cl(C=O)OMe (6 équiv.), DMAP (1 équiv.)  | reflux             | 15 h             | pyridine | pas de réaction |
| 5      | CO(OMe) <sub>2</sub> (3 équiv.), NaH (1 équiv.)   | reflux             | 15 h             | -        | pas de réaction |
| 6      | CO(OMe) <sub>2</sub> (4 équiv.), NaH (1.2 équiv.)   | TA                 | 15 h             | -        | pas de réaction |
| 7      | CO(OMe) <sub>2</sub> (4 équiv.), NaH (2 équiv.)   | TA                 | 15 h             | -        | pas de réaction |
| 8      | CO(OMe) <sub>2</sub> (4 équiv.), NaH (2.2 équiv.)   | 0°C à TA puis 50°C | 15 h puis 5 h    | -        | pas de réaction |
| 9      | CO(OMe) <sub>2</sub> (4 équiv.), NaH (2.2 équiv.)   | 0°C puis 40°C      | 2 h              | -        | pas de réaction |
| 10     | CO(OMe) <sub>2</sub> (1 équiv.), MeONa (1 équiv.)   | TA                 | 48 h             | -        | pas de réaction |
| 11     | ( <i>t</i> BuOCO) <sub>2</sub> O (1.1 équiv.), NaH (2 équiv.), DMAP (2 %)                   | reflux             | 15 h             | THF      | pas de réaction |



## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

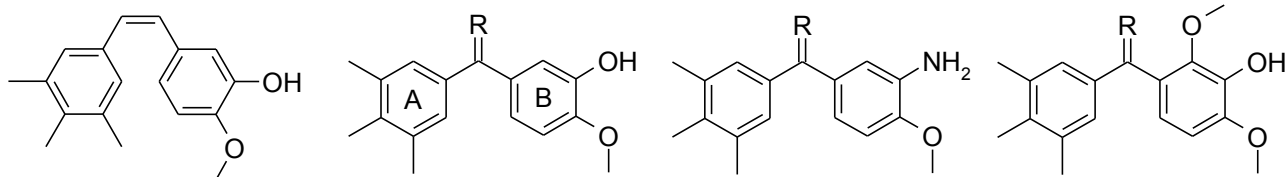
Afin d'étudier l'impact du remplacement des méthoxy par des méthyles, il a été préparé 16 nouveaux dérivés méthylés, répartis en 3 séries (Figure 51). Les cycles B ont été choisis parmi ceux qui, associés à un cycle A de type 3,4,5-triméthoxyphényle, ont montré un intérêt du point de vue activité biologique et/ou originalité structurale sur des dérivés précédemment synthétisés au laboratoire.

CONFIDENTIEL

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

### Série A : Cycle A - 3,4,5-triméthylphényle



35

103 R = O  
104 R = CH<sub>2</sub>  
Analogues stricts de la phenstatine et de l'*iso*CA-4 dans cette série.

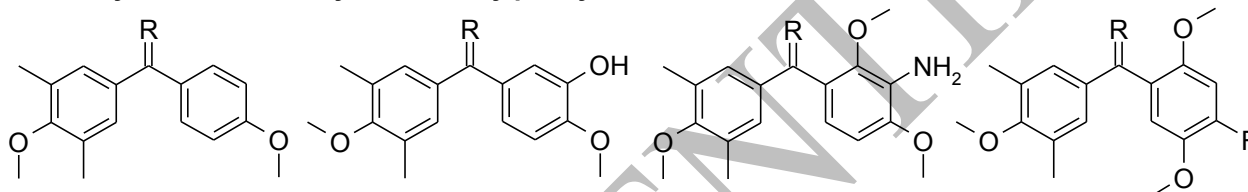
105 R = O, dérivé de l'AVE8063 dans cette série.

107 R = O, analogue strict du métabolite le plus actif de la phenstatine.

106 R = CH<sub>2</sub>

108 R = CH<sub>2</sub>

### Série B : Cycle A - 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle



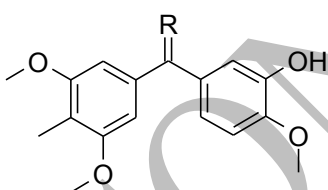
109 R = O  
110 R = CH<sub>2</sub>

111 R = O  
112 R = CH<sub>2</sub>  
Analogues stricts de la phenstatine et de l'*iso*CA-4 dans cette série.

113 R = O  
114 R = CH<sub>2</sub>

115 R = O  
116 R = CH<sub>2</sub>

### Série C : Cycle A - 3,5-diméthoxy-4-méthylphényle



117 R = O  
118 R = CH<sub>2</sub>

Analogues stricts de la phenstatine et de l'*iso*CA-4 dans cette série.

Figure 51 : Série d'analogues méthylés de la phenstatine et de l'*iso*CA-4 synthétisés.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

### 2. 1. Synthèse du 2-méthoxy-5-[(Z)-2-(3,4,5-triméthylphényl)vinyl]phénol

Afin de servir de référence pour nos tests biologiques, il a d'abord été envisagé la resynthèse du 2-méthoxy-5-[(Z)-2-(3,4,5-triméthylphényl)vinyl]phénol (**35**). Dans la littérature, ce composé est synthétisé au départ de l'acide 3,4,5-triméthylphénylacétique (**54**) via l'acide cinnamique protégé **119**<sup>65</sup>.

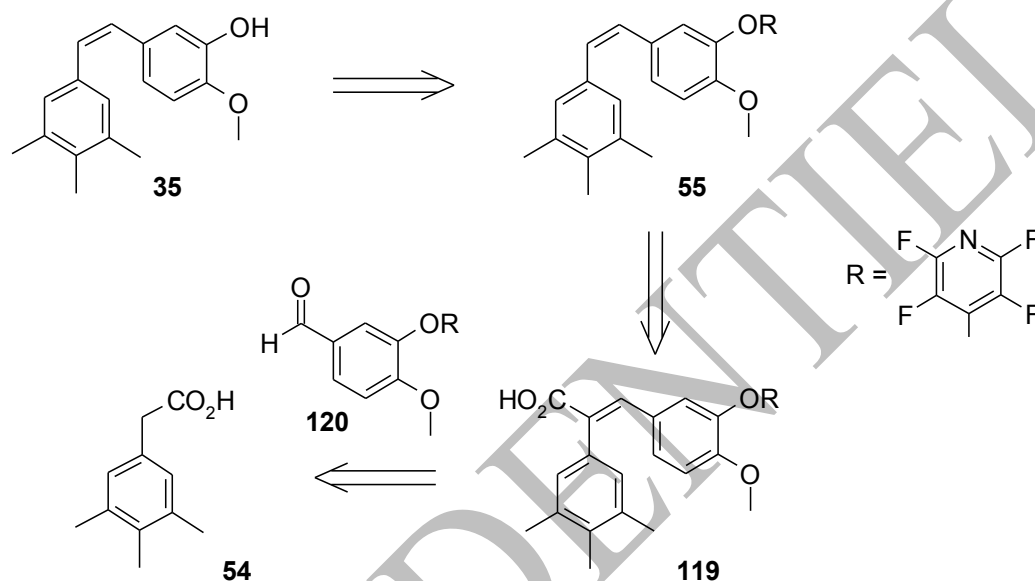


Schéma 38 : Rétrosynthèse décrite dans la littérature.

Au laboratoire, il a été envisagé sa resynthèse via une réaction de Wittig entre le sel de phosphonium **56** et l'aldéhyde **57** protégé, selon les méthodes mises au point par le Dr. S. Oudir durant sa thèse. La 2,4,6-triméthylacétophénone **125** est d'abord isomérisée pour donner la 3,4,5-triméthylacétophénone **124**. Celle-ci est ensuite transformée en acide **123** grâce à une réaction haloforme. L'acide est estérifié, réduit en alcool **122**, puis transformé en son dérivé bromé **127**. Ce composé subit une transformation en sel de phosphonium **56**, synthon clé de la réaction, qui est ensuite mis en jeu dans la réaction de Wittig en présence de l'aldéhyde protégé **57**, permettant de former la liaison éthylénique du stilbène **121**. La fonction hydroxyle du stilbène **121** est déprotégée pour parvenir à l'analogue attendu **35**.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

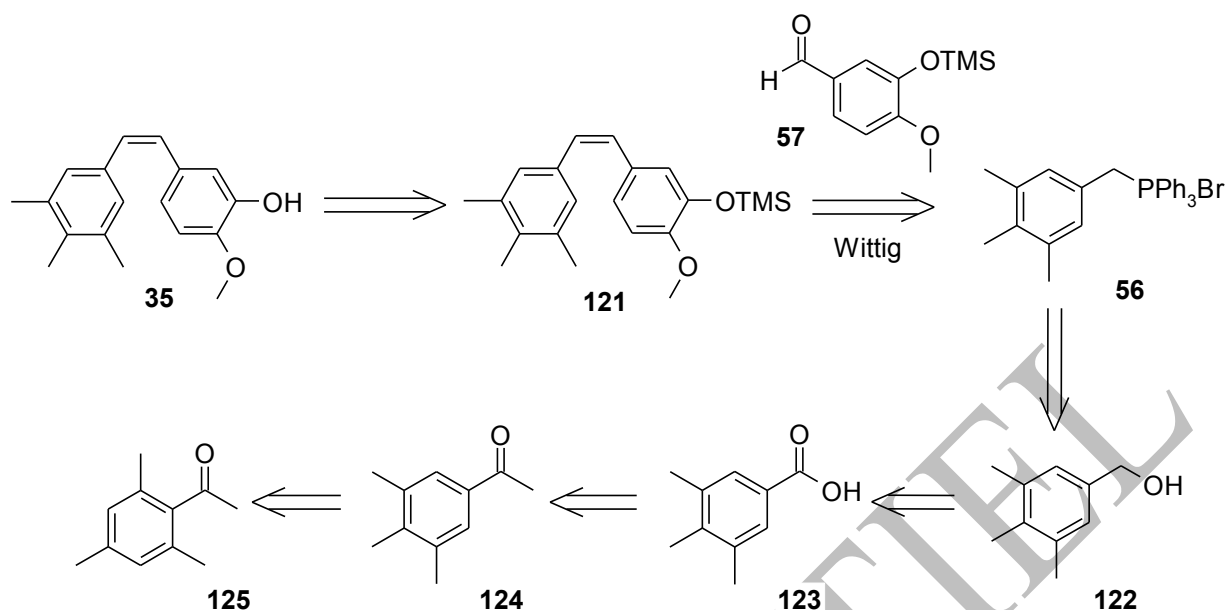


Schéma 39 : Rétrosynthèse envisagée au laboratoire.

#### 2. 1. 1. Isomérisation de l'acétophénone

La 2,4,6-triméthylacétophénone commerciale **125** est isomérisée en 3,4,5-triméthylacétophénone **124** par action de 2 équivalents d' $\text{AlCl}_3$  à  $170^\circ\text{C}$  pendant deux heures selon un mode opératoire décrit dans la littérature<sup>99,100</sup>. Au terme de ces deux heures, le taux de conversion stagne à 80 % d'isomère attendu.

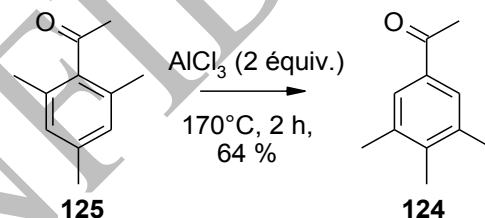


Schéma 40 : Isomérisation de la 2,4,6-triméthylacétophénone **125**.

Une chromatographie sur colonne de gel de silice permet d'isoler la 3,4,5-triméthylacétophénone **124** avec un rendement de 64 %.

#### 2. 1. 2. Réaction haloforme

L'acide 3,4,5-triméthylbenzoïque (**123**) est obtenu par réaction bromoforme<sup>100</sup>. L'hypobromite de sodium NaOBr est formé *in situ* par réaction du brome sur de l'hydroxyde de

<sup>99</sup> Baddeley, G. J. *Chem. Soc.*, **1944**, 232-236.

<sup>100</sup> Gaspar, P. P. *et al. Tetrahedron*, **1985**, *41*, 1479-1507.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

sodium à 0°C, puis est coulé sur l'acétophénone **123**. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant deux heures.

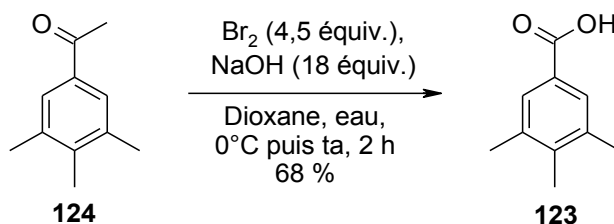


Schéma 41 : Obtention de l'acide 3,4,5-triméthylbenzoïque **123**.

L'acide **123** est précipité en milieu acide et est isolé avec un rendement de 68 %.

### 2. 1. 3. Estérification

L'acide précédemment obtenu est transformé en ester méthylique **126** en présence de méthanol et d'une catalyse acide<sup>101</sup>.

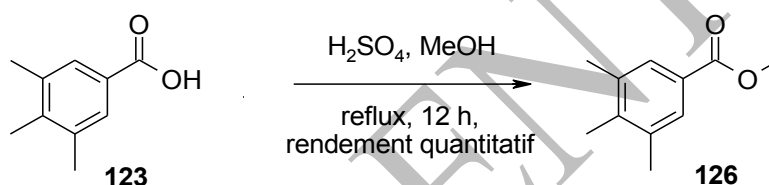


Schéma 42 : Estérification de **123**.

L'ester **126** est isolé avec un rendement quantitatif.

### 2. 1. 4. Réduction de l'ester

En premier lieu, la réduction en alcool a été testée en présence de NaBH<sub>4</sub> dans un mélange dichlorométhane/méthanol 8/2, selon une méthode du laboratoire.

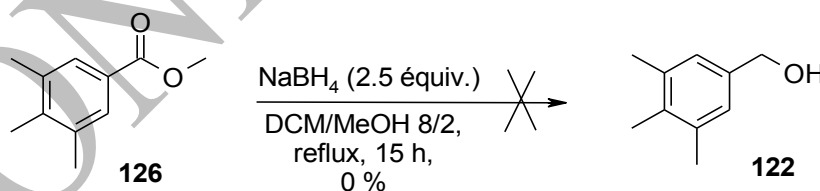


Schéma 43 : Essai de réduction de l'ester **126** en présence de borohydrure de sodium.

Malgré la présence de deux équivalents et demi de NaBH<sub>4</sub>, aucune conversion n'est observable au bout de 15 heures de réaction. Bien que ce type de réaction soit décrit, la réactivité

<sup>101</sup> Baciocchi, E. et al. *J. Org. Chem*, **1986**, 51, 4544-4548.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

des substrats est fortement dépendante des solvants et de l'hydrure utilisés<sup>102</sup>. Une seconde tentative est donc menée en présence de  $\text{LiAlH}_4$  dans l'éther.

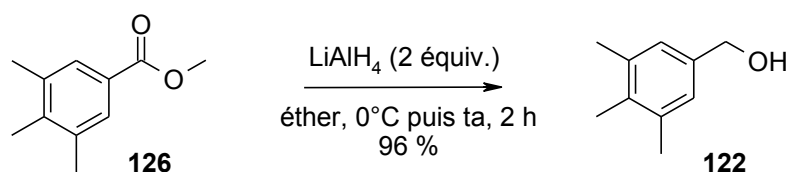


Schéma 44 : Réduction à l'hydrure de lithium aluminium.

Dans ces conditions, l'alcool **122** attendu<sup>103</sup> est obtenu avec un rendement de 96 %.

### 2. 1. 5. Substitution de la fonction hydroxyle par un brome

Cette étape est menée en présence de  $\text{PBr}_3$  dans le dichlorométhane.

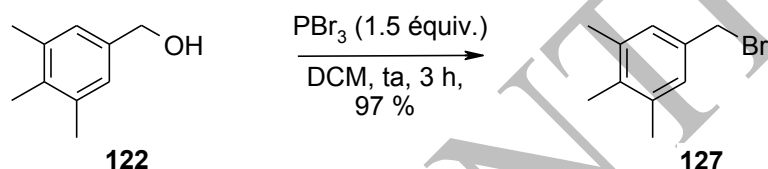


Schéma 45 : Obtention du composé bromé **127**.

Le bromé attendu<sup>104</sup> est isolé par précipitation avec un rendement de 97 %.

### 2. 1. 6. Obtention du sel de phosphonium

Cette dernière étape permet d'accéder au sel de phosphonium **56**, synthon clé pour la synthèse de l'analogue de la CA-4. Le dérivé bromé **127** est mis en présence de triphénylphosphine dans le toluène à reflux pendant 5 h.

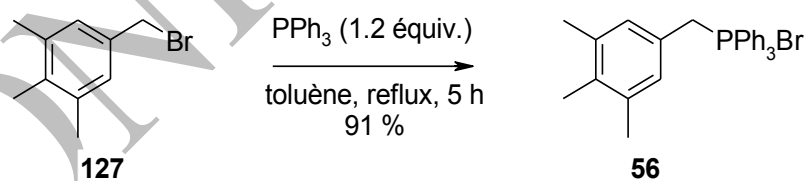


Schéma 46 : Formation du sel de phosphonium **127**.

Le produit **56**<sup>104</sup> est isolé avec un rendement de 91 %.

<sup>102</sup> Zanka, A. *et al. Synlett*, **1999**, 10, 1636-1638.

<sup>103</sup> Wigal, C. T. *et al. J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 8421 - 8423.

<sup>104</sup> Badjic, J. D. *et al. J. Phys. Chem. B*, **2000**, 104, 11081 - 11087.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

#### 2. 1. 7. Tentative de réaction de Wittig

##### 2. 1. 7. 1. Protection du 3-hydroxy-4-méthoxybenzaldéhyde

L'aldéhyde **74** est, préalablement à la réaction de Wittig, protégé par un groupement triméthylsilyle<sup>105</sup> selon la méthode utilisée par le Dr. Oudir dans sa thèse<sup>75</sup>.

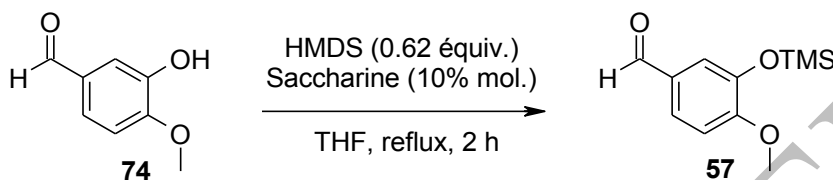


Schéma 47 : Protection de l'aldéhyde **74**.

##### 2. 1. 7. 2. Réaction de Wittig

La réaction de Wittig est menée en présence de *t*BuOK dans le THF à température ambiante.

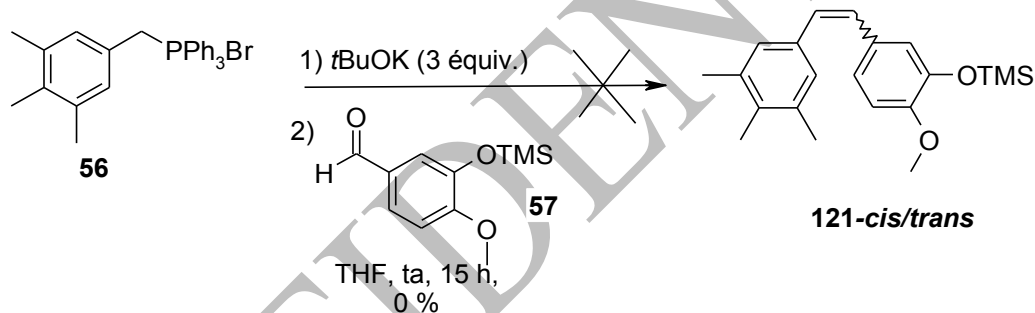


Schéma 48 : Réaction de Wittig.

Dans ces conditions, la réaction ne permet pas d'obtenir le composé **121** attendu. Lors de l'addition de la base au sel de phosphonium **56**, on observe un changement instantané de couleur du milieu qui, en général, atteste de la formation de ce type d'ylure. Le manque de réactivité ne peut vraisemblablement pas être dû à l'absence de la formation de l'ylure. Cela ne semble pas non plus venir de la dégradation de l'aldéhyde protégé **57** car le proton aldéhydique et le groupe méthylsilyle sont visibles sur le spectre RMN <sup>1</sup>H. La dernière hypothèse serait que la température ambiante ne serait pas suffisante pour permettre la réaction entre les deux substrats.

Faute de temps, cette synthèse n'a pas été poursuivie ; notre intérêt allant principalement vers la synthèse de dérivés méthylés de la phenstatine et de l'*isocombrétastatine*.

<sup>105</sup> Reimann, E. *Liebigs Ann.*, **1971**, 750, 109-127.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

### 2. 2. Synthèse de dérivés méthylés de la phenstatine

#### 2. 2. 1. Série A : Phenstatines possédant un cycle A – 3,4,5-triméthylphényle

Dans cette série, 3 analogues de la phenstatine ont été synthétisés : **103**, l'analogue strict de la phenstatine, **105**, l'analogue de l'AVE8063 possédant un groupement amine en position *mé*ta du cycle B et enfin **107**, possédant un cycle B – 2,4-méthoxy-3-phénol.

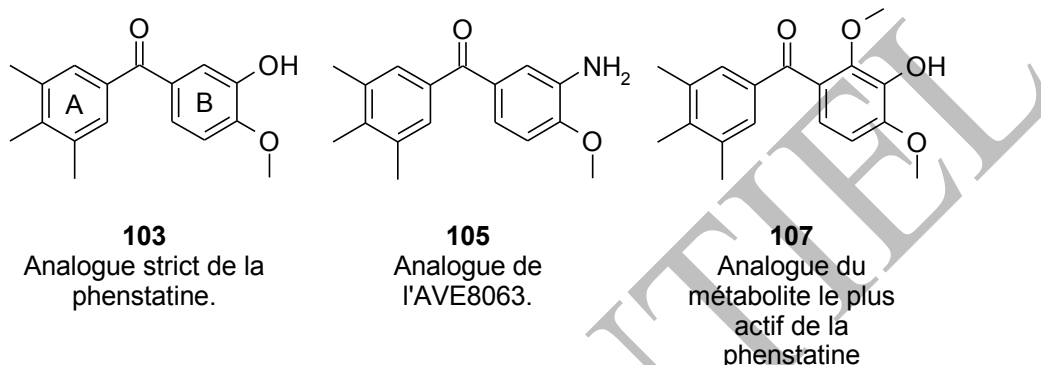


Figure 52 : Analogues de la phenstatine synthétisés dans cette série.

Une voie de synthèse commune à ces trois analogues est utilisée. L'acide 3,4,5-triméthylbenzoïque précédemment synthétisé est mis en jeu dans une acylation avec des cycles B aromatiques diversement substitués (Schéma 49), en présence du réactif d'Eaton.

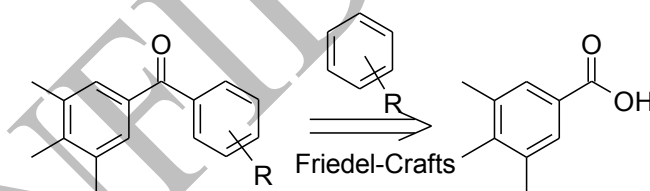


Schéma 49 : Rétrosynthèse des composés **103**, **105** et **107**.

De la même manière, à titre de comparaison, le composé **M<sub>P</sub>6**, qui est le métabolite le plus actif de la phenstatine<sup>37</sup> a été resynthétisé afin de parvenir à l'*isocombrétastatine* correspondante.

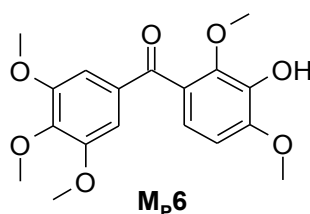


Figure 53 : Structure du métabolite le plus actif de la phenstatine.



# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

### 2. 2. 1. 3. Réaction de Friedel-Crafts en présence du réactif d'Eaton

Les benzophénones sont obtenues par une réaction d'acylation entre l'acide 3,4,5-triméthylbenzoïque **123** et les cycles aromatiques protégés **129**, **130**, et **131** en présence d'un excès de réactif d'Eaton (mélange de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> et d'acide méthanesulfonique 1/10) (Schéma 50).

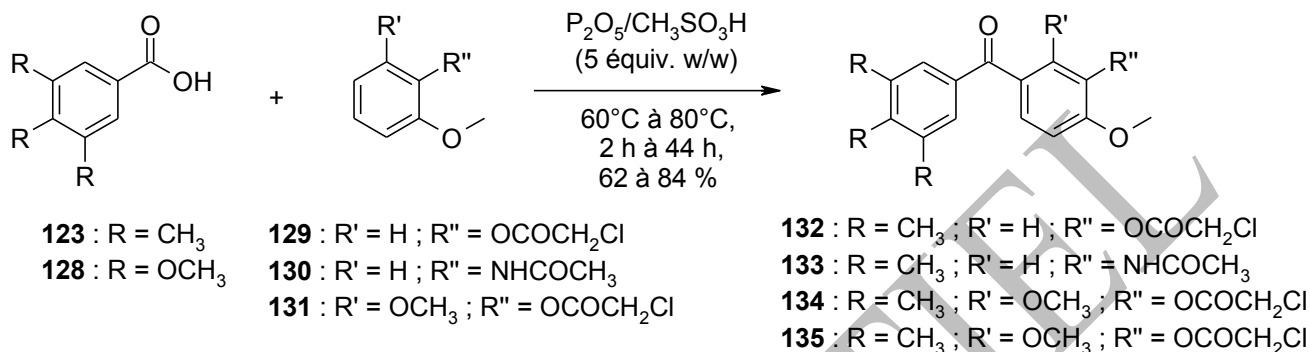


Schéma 50 : Formation des benzophénones **132**, **133**, **134** et **135**.

La protection des phénols sous forme d'ester monochloroacétique se justifie par sa stabilité en conditions d'Eaton<sup>37</sup>. La protection de l'amine sous forme d'acétamide permet d'éviter d'éventuelles réactions secondaires sur le groupement NH<sub>2</sub> tout en favorisant l'acylation de Friedel-Crafts<sup>76</sup>.

| Entrée | Acide A    | Cycle B    | Durée de réaction | Température | Produit    | Rendement |
|--------|------------|------------|-------------------|-------------|------------|-----------|
| 1      | <b>123</b> | <b>129</b> | 3 h               | 60°C        | <b>132</b> | 84 %      |
| 2      | <b>123</b> | <b>130</b> | 20 h              | 80°C        | <b>133</b> | 78 %      |
| 3      | <b>123</b> | <b>131</b> | 2 h               | 60°C        | <b>134</b> | 62 %      |
| 4      | <b>128</b> | <b>131</b> | 5 h               | 60°C        | <b>135</b> | 80 %      |

Tableau 18 : Conditions et rendements de synthèse des composés **132**, **133**, **134** et **135**.

On accède de cette manière aux benzophénones protégées **132**, **133** et **134** avec des rendements de 62 à 84 % (Tableau 18). La benzophénone **135**, précurseur du métabolite **Mp6** est obtenue de façon similaire à partir de l'acide 3,4,5-triméthoxybenzoïque **128**, à la place de l'acide 3,4,5-triméthylbenzoïque **123**, avec un rendement de 80 %.

Le composé **133** nécessite des conditions plus dures comparées aux autres analogues. En effet, l'acétamide **130** s'avère moins réactif vis-à-vis des conditions de Friedel-Crafts que les autres aromatiques.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

#### 2. 1. 1. 4. Déprotections : obtention des benzophénones finales

Les fonctions phénols des benzophénones **132**, **134** et **135** sont déprotégées en présence d'acétate de sodium dans le méthanol à chaud pendant 2 h<sup>37</sup>. La benzophénone **105** est obtenue par hydrolyse acide de l'amide en présence d'une solution d'acide chlorhydrique à 10 % dans le méthanol à reflux pendant 16 h. Les benzophénones finales sont isolées avec des rendements allant de 46 à 96 % (Figure 54 et Tableau 19).

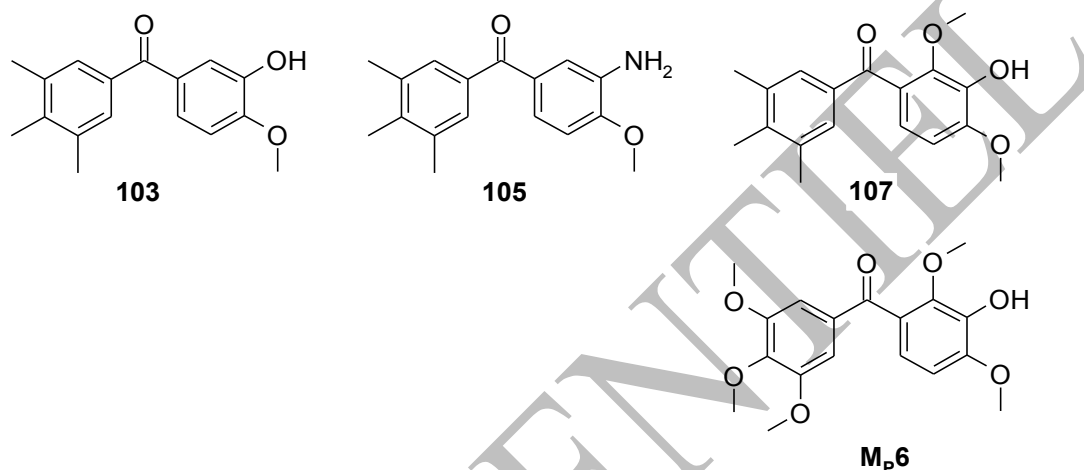


Figure 54 : Structures des benzophénones **103**, **105**, **107** et **M<sub>p</sub>6**.

| Entrée | Produit de départ | Réactifs                | Solvant | Durée de réaction | Température | Produit               | Rendement |
|--------|-------------------|-------------------------|---------|-------------------|-------------|-----------------------|-----------|
| 1      | <b>132</b>        | AcONa·3H <sub>2</sub> O | MeOH    | 2 h               | 70°C        | <b>103</b>            | 93 %      |
| 2      | <b>133</b>        | HCl 10 %                | MeOH    | 16 h              | 85°C        | <b>105</b>            | 46 %      |
| 3      | <b>134</b>        | AcONa·3H <sub>2</sub> O | MeOH    | 2 h               | 80°C        | <b>107</b>            | 96 %      |
| 4      | <b>135</b>        | AcONa·3H <sub>2</sub> O | MeOH    | 2 h               | 80°C        | <b>M<sub>p</sub>6</b> | 50 %      |

Tableau 19 : Conditions de déprotection.

#### 2. 1. 2. Série B : Phenstatines substituées par un cycle A – 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle

Dans cette série, 4 analogues de la phenstatine ont été synthétisés. D'une part, **109** un analogue ne possédant qu'un seul groupement méthoxy en position *para* du cycle B, synthétisé afin d'observer l'impact du groupe hydroxyle du cycle classique présent sur le composé **111**, l'analogue strict de la phenstatine dans cette série. Par ailleurs, deux analogues possédant des cycles B originaux ont été synthétisés : **113**, substitué par un cycle B de type 2-amino-1,3-diméthoxyphényle, et **115**, substitué par un cycle B de type 2,5-diméthoxy-4-fluorophényle. L'analogue **136** de ce dernier composé en série 3,4,5-triméthoxyphényle a également été resynthétisé dans le but d'accéder à son dérivé *isocombrétastatine* et ainsi comparer leurs activités.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

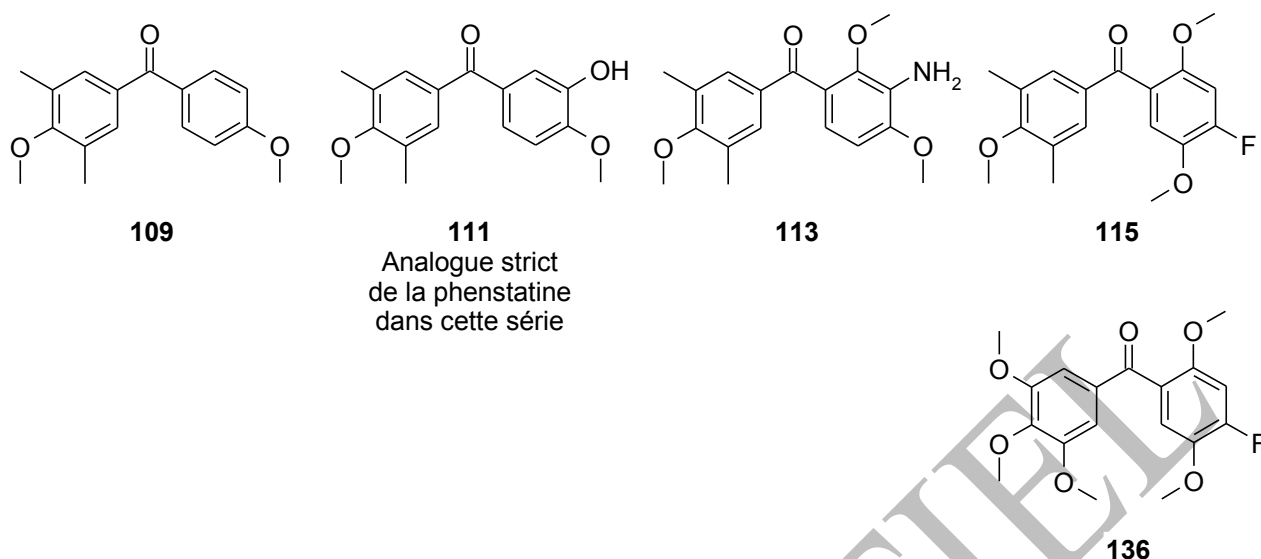


Figure 55 : Analogues de la phenstatine synthétisés dans cette série.

Une voie de synthèse commune à ces analogues est utilisée. L'acide 4-méthoxy-3,5-diméthylbenzoïque **137** est mis en jeu dans une acylation en présence du réactif d'Eaton avec des cycles B aromatiques diversement substitués (Schéma 51).

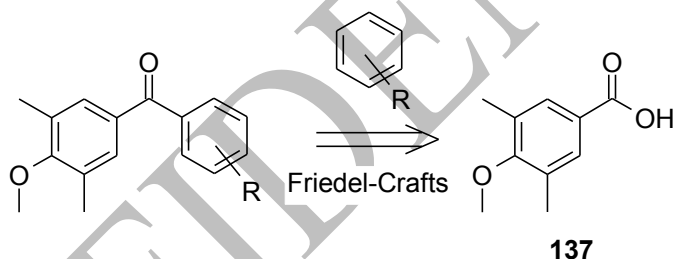


Schéma 51 : Rétrosynthèse des composés 109, 111, 113 et 115.

### 2. 1. 2. 1. Réaction de Friedel-Crafts en présence du réactif d'Eaton

Les 4 composés de cette série ont été synthétisés au laboratoire par réaction de Friedel-Crafts entre l'acide 4-méthoxy-3,5-diméthylbenzoïque commercial **137** et un cycle B aromatique substitué, éventuellement protégé (Schéma 52 et Tableau 20)<sup>37</sup>, en présence du réactif d'Eaton.

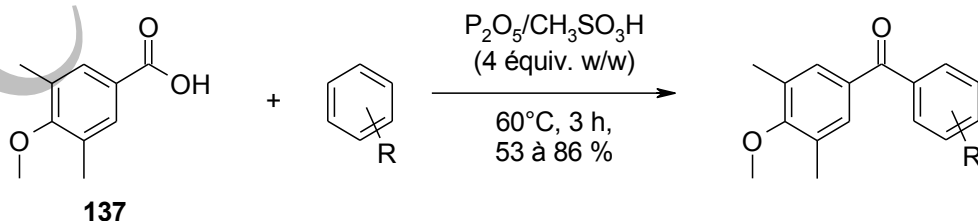


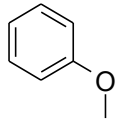
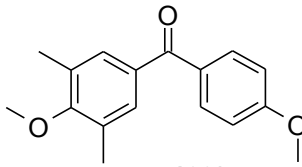
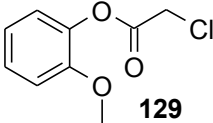
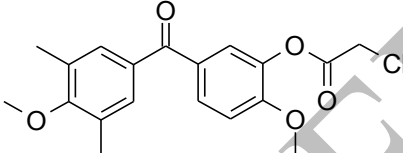
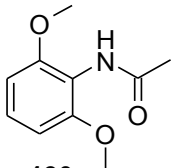
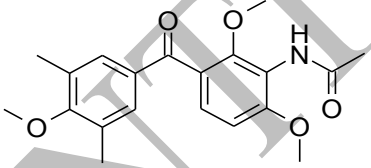
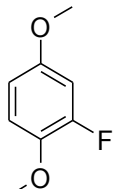
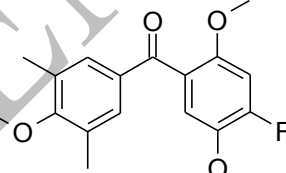
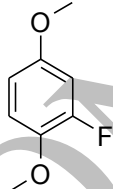
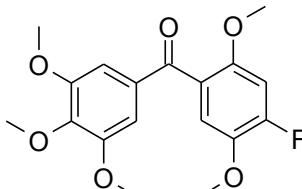
Schéma 52 : Synthèse des benzophénones substituées par un 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle.

Le composé **136** est obtenu de manière similaire, à partir de l'acide 3,4,5-triméthoxybenzoïque avec un rendement de 51 %.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

Tableau 20 : Conditions de réaction de Friedel-Crafts.

| Entrée | Cycle B  | Conditions                                      | Benzophénone   | Rendement |
|--------|--|---|--|-----------|
| 1      | <br>138   | réactif d'Eaton (4<br>équiv. w/w),<br>60°C, 3 h | <br>109*   | 53 %      |
| 2      | <br>129   | réactif d'Eaton (4<br>équiv. w/w),<br>60°C, 3 h | <br>139    | 62 %      |
| 3      | <br>130   | réactif d'Eaton (4<br>équiv. w/w),<br>60°C, 3 h | <br>140*   | 86 %      |
| 4      | <br>141 | réactif d'Eaton (4<br>équiv. w/w),<br>60°C, 3 h | <br>115* | 85 %      |
| 5      | <br>141 | réactif d'Eaton (4<br>équiv. w/w),<br>60°C, 2 h | <br>136  | 51 %      |

\* Produit précédemment synthétisé au laboratoire par le Dr. A. Ghinet.

Les benzophénones sont obtenues avec des rendements de 51 à 86 %. Les composés **139** et **140** sont ensuite déprotégés pour parvenir aux analogues finaux.

### 2. 1. 2. 2. Déprotections<sup>76</sup>

La fonction phénol de **139** est déprotégée en présence d'acétate de sodium dans le méthanol à chaud pendant 2 h.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

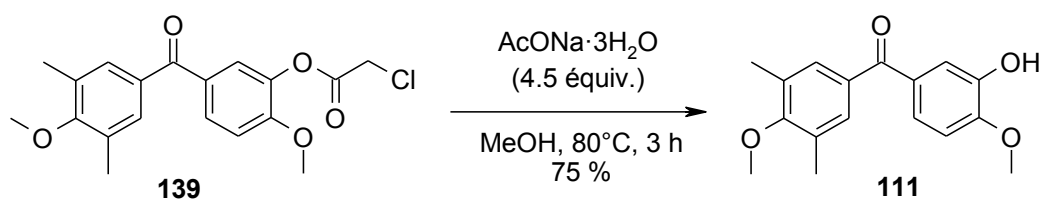


Schéma 53 : Déprotection de la fonction alcool de 139.

La benzophénone déprotégée **111** est isolée avec un rendement de 75 %.

La benzophénone **113** est obtenue par hydrolyse acide de l'amide **140** en présence d'une solution d'acide chlorhydrique à 10 % dans le méthanol à reflux pendant 16 h.

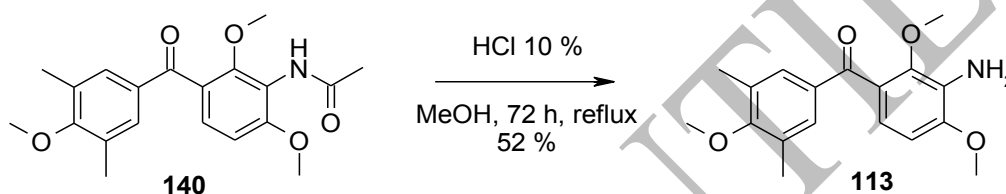


Schéma 54 : Obtention de la benzophénone 113.

La benzophénone **113** est obtenue avec un rendement de 52 %.

### 2. 1. 3. Série C : Phenstatine comportant un cycle A de type 3,5-diméthoxy-4-méthylphényle

La seule phenstatine synthétisée dans cette série a été obtenue de la même manière que les analogues précédents par réaction de Friedel-Crafts en utilisant le réactif d'Eaton entre l'acide 3,5-diméthoxy-4-méthylbenzoïque **143** et le guaiacol protégé **128** pour donner la benzophénone intermédiaire **142** qui est ensuite déprotégée.

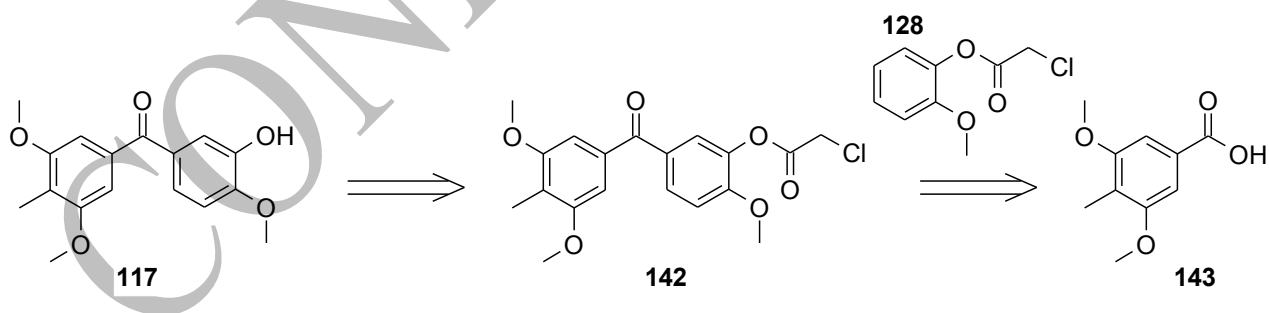


Schéma 55 : Rétrosynthèse du composé 117.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

#### 2. 1. 3. 1. Réaction de Friedel-Crafts en présence du réactif d'Eaton

La phenstatine méthylée **142** est obtenue par une réaction d'acylation en présence du réactif d'Eaton, de la même manière que pour les phenstatines précédentes (Schéma 56).

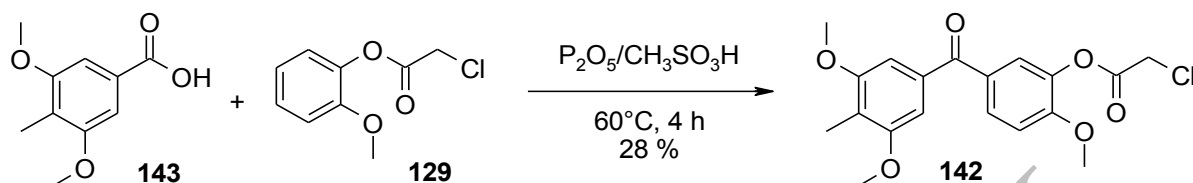


Schéma 56 : Synthèse du composé **142**.

Une analyse RMN <sup>1</sup>H permet de constater que le produit a été formé, accompagné d'un sous-produit **144** avec un rendement de 0,5 %. Une chromatographie sur gel de silice permet de séparer les deux composés et de les isoler.

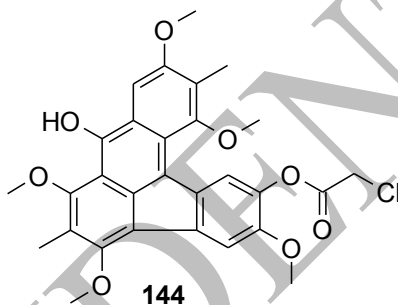


Figure 56 : Produit secondaire **144** formé lors de la réaction d'Eaton.

L'obtention de ce type de structure lors d'une réaction d'Eaton avait déjà été observée par le Dr. A. Ghinet lors de ses travaux de thèse. Ces composés, fortement conjugués, sont de couleur rouge. Le mécanisme de leur formation, qui a été proposé par le Dr. Ghinet dans sa thèse<sup>76</sup>, est présenté dans le Schéma 57.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

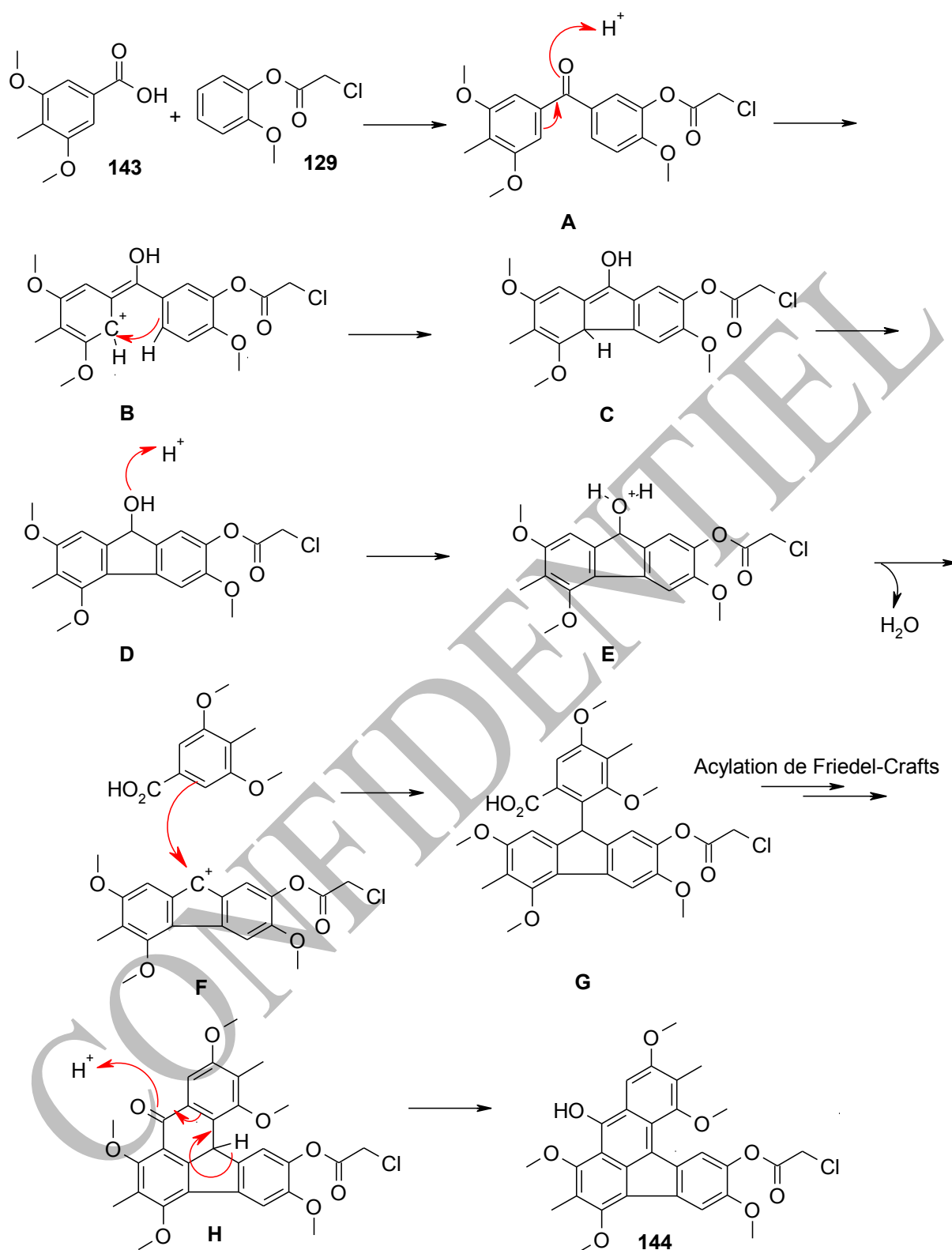


Schéma 57 : Mécanisme de formation du dérivé pentacyclique 144.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

#### 2. 1. 3. 2. Déprotection de la fonction alcool

Comme précédemment, la fonction alcool de la benzophénone **142** est déprotégée en présence d'acétate de sodium trihydraté dans le méthanol à 80°C pendant 2 h.

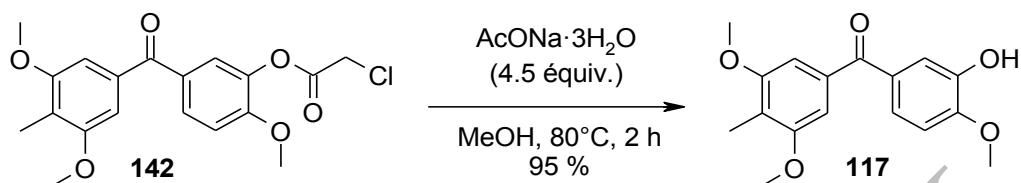


Schéma 58 : Obtention de la benzophénone **117**.

La benzophénone finale **117** est obtenue avec un rendement de 95 %.

#### 2. 1. 4. Autres substitutions envisagées

La synthèse de deux autres cycles A comportant des groupes méthyles remplaçant les groupes méthoxy a été entreprise au laboratoire : un cycle 3-méthoxy-4,5-diméthylphényle et un cycle 3,4-diméthoxy-5-méthylphényle.

##### 2. 1. 4. 1. Cycle A – 3-méthoxy-4,5-diméthylphényle : voie de synthèse envisagée

La synthèse de la benzophénone **145** est envisagée via une voie de synthèse en 7 étapes. Une nitration est réalisée sur l'acide 3,4-diméthylbenzoïque (**152**) afin d'obtenir l'acide 3,4-diméthyl-5-nitrobenzoïque (**151**). La fonction nitro est ensuite réduite en amine, transformée en sel de diazonium, puis en phénol pour donner l'acide 3-hydroxy-4,5-diméthylbenzoïque (**148**). Par la suite, la fonction phénol est méthylée. L'acide benzoïque **148** ainsi obtenu est mis en jeu avec le guaiacol protégé **128** en présence du réactif d'Eaton pour parvenir à la benzophénone protégée **146** qui donne la phenstatine finale par déprotection de la fonction alcool (Schéma 59).



# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

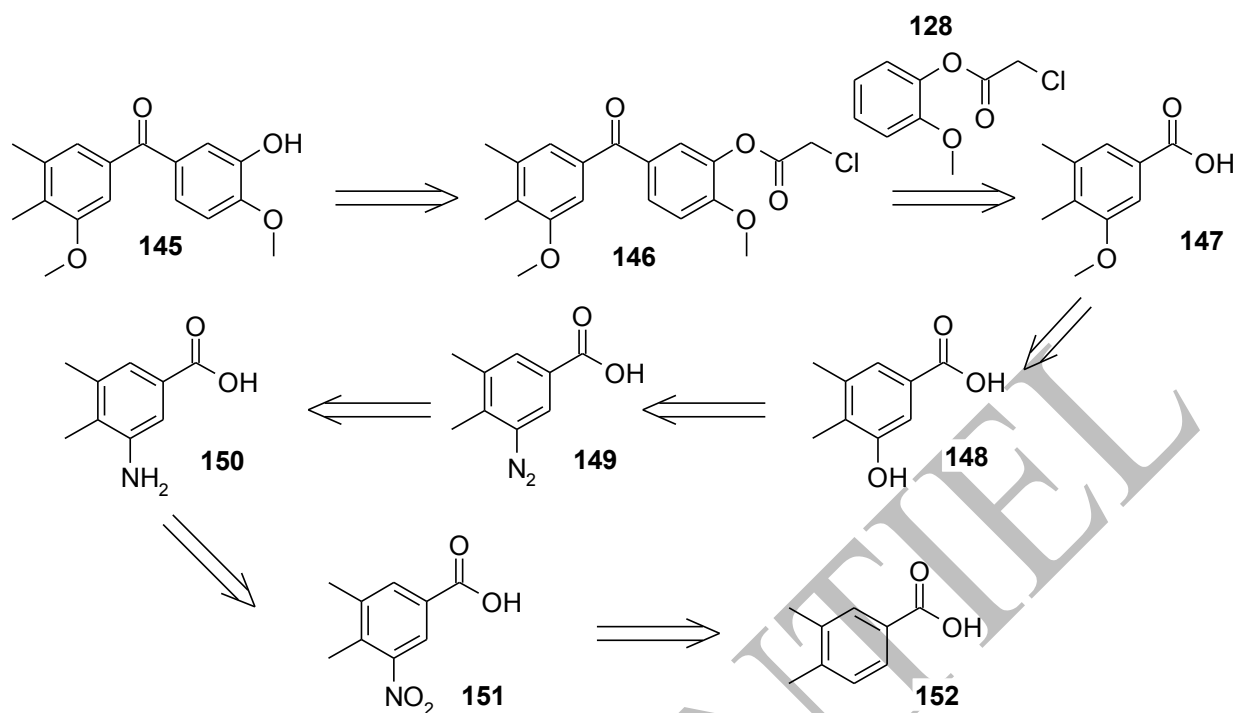


Schéma 59 : Rétrosynthèse envisagée pour le composé 145.

### Nitration de l'acide 3,4-diméthylbenzoïque

La réaction de nitration de l'acide benzoïque **152** est menée à une température comprise entre 5°C et 20°C dans l'acide sulfurique en présence de nitrate de potassium dans des proportions stœchiométriques<sup>106</sup>.

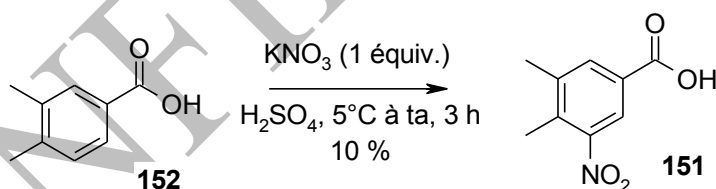


Schéma 60 : Synthèse du l'acide 3,4-diméthyl-5-nitrobenzoïque 151.

Dans les différents essais réalisés, les résultats obtenus diffèrent de ceux annoncés par Courtin *et al.* D'une part, le taux de conversion de l'acide de départ stagne à 81 %, selon le suivi RMN, et ce malgré une durée de réaction de près de 70 h (Tableau 21). D'autre part, le composé souhaité n'est pas le produit majoritairement obtenu (Tableau 21) et la méthode de séparation proposée des différents acides nitrés repose sur leur différence de pKa (Tableau 22).

<sup>106</sup> Courtin, A. *et al. Helv. Chim. Acta*, **1980**, *63*, 385-394.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

| Durée de réaction | Taux de conversion | Proportions de 151/153/154 |
|-------------------|--------------------|----------------------------|
| 4 h               | 81 %               | 15 % / 45 % / 21 %         |
| 70 h              | 81 %               | 16 % / 49 % / 16 %         |

Tableau 21 : Suivi par RMN  $^1H$  de la réaction de nitration.

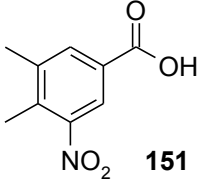
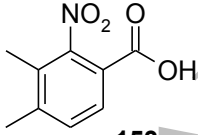
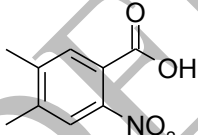
| Entrée | Composé   | pKa |
|--------|---|-----|
| 1      | <br><b>151</b>   | 4,4 |
| 2      | <br><b>153</b>   | 3,5 |
| 3      | <br><b>154</b> | 1,5 |

Tableau 22 : pKa des différents acides nitrés pouvant être obtenus.

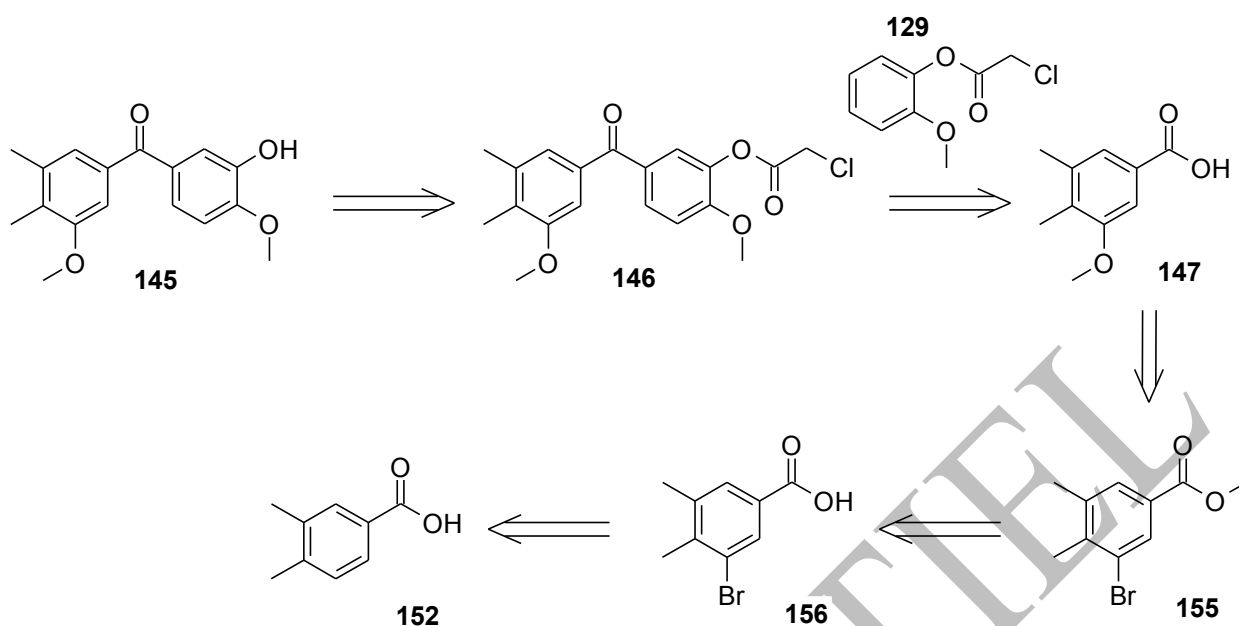
Malgré toutes nos tentatives de séparation, le produit **151** n'est isolé pur qu'avec un rendement de 10 %. Devant les résultats décevants de cette réaction, une seconde voie de synthèse a été envisagée.

### 2. 1. 4. 2. Cycle A – 3-méthoxy-4,5-diméthylphényle : seconde voie de synthèse envisagée

Cette nouvelle voie de synthèse débute par le même synthon commercial utilisé dans la méthode précédente : l'acide 3,4-diméthylbenzoïque **152** subit une bromation en *méta* de la fonction acide, puis un couplage au cuivre permet de substituer l'atome de brome par un groupement méthoxy et d'ainsi obtenir l'acide 4,5-diméthyl-3-méthoxybenzoïque (**147**) en deux étapes plutôt qu'en cinq. Tout comme dans la voie de synthèse précédente, ce dernier entre ensuite en jeu dans une acylation en présence du réactif d'Eaton avec le guaiacol protégé sous forme d'ester monochloroacétique (**129**) (Schéma 61).

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé



### 2. 1. 4. 2. 1. Bromation de l'acide 3,4-diméthylbenzoïque

L'addition d'un atome de brome en position 5 du cycle n'est pas favorisée par les effets électroniques des substituants du cycle aromatique. Néanmoins une méthode décrite dans la littérature permet de réaliser cette addition malgré un faible rendement<sup>107</sup>.



Le composé **156** est obtenu pur avec un rendement de 37 %, pour un rendement publié dans la littérature de 40 %<sup>107</sup>.

<sup>107</sup> Okada, S. *et al.* WO93/03012, 1993.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

#### 2. 1. 4. 2. 2. Tentative de conversion du brome en groupement méthoxy

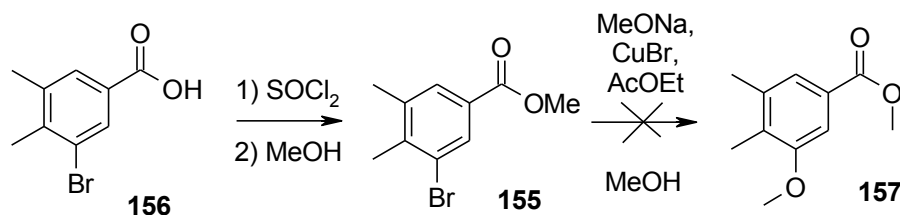


Schéma 63 : Conversion du brome en groupement méthoxy.

La fonction acide du composé **156** est préalablement protégée par estérification via une activation sous forme de chlorure d'acide en présence de  $\text{SOCl}_2$  puis réaction avec du méthanol (Schéma 50). Dans la littérature est reporté le remplacement de l'atome de brome d'aryles bromés par un groupement méthoxy, en présence de bromure de cuivre et d'acétate d'éthyle<sup>108</sup>. Toutefois, avec ces conditions, nous n'avons pas obtenu l'acide benzoïque désiré.

#### 2. 1. 4. 3. Cycle A – 3,4-diméthoxy-5-méthylphényle : voie de synthèse envisagée

Le composé **163** subit une acylation de Friedel-Crafts dans les mêmes conditions que précédemment afin de parvenir à l'acétophénone **161**. Cette dernière est convertie en acide benzoïque **160** par une réaction haloforme ( $\text{NaOBr}$  ou  $\text{NaOCl}$ ), qui est ensuite condensé en présence du réactif d'Eaton avec le guaiacol protégé **129** pour donner le composé **159** qui est ensuite déprotégé en la benzophénone **158** (Schéma 64).

<sup>108</sup> Capdevielle, P. *et al. Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34, 1007-1010

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

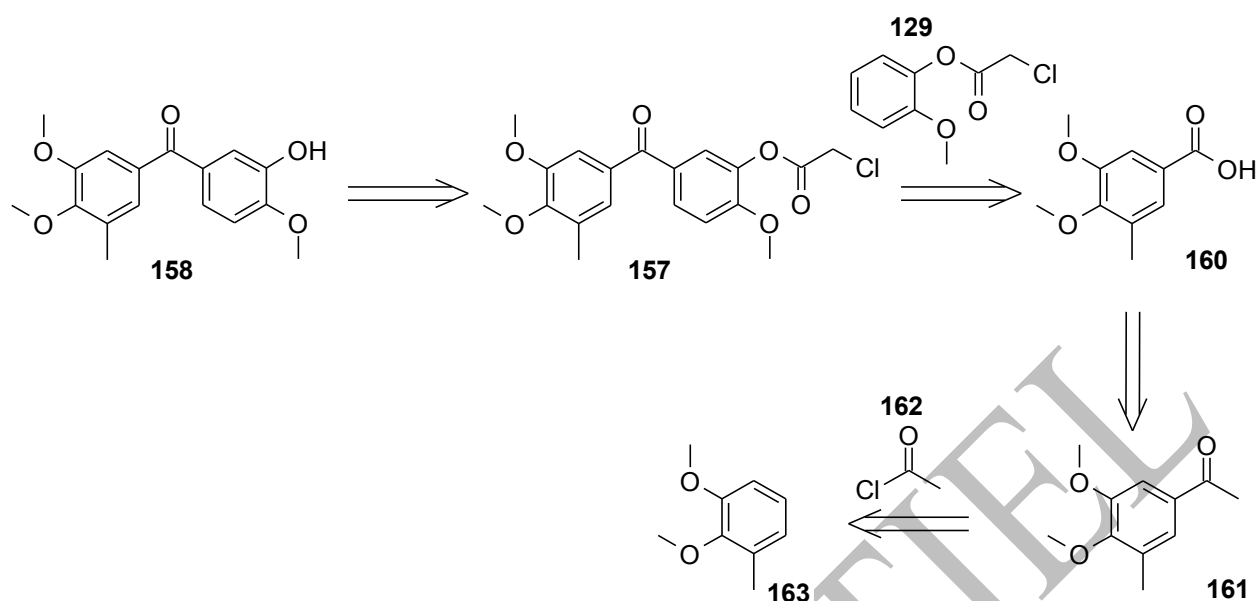


Schéma 64 : Seconde voie de synthèse imaginée pour l'obtention du composé 145.

#### 2. 1. 4. 3. 1. Acylation de Friedel-Crafts

La réaction est menée dans le nitrobenzène, en présence de trichlorure d'aluminium dans des proportions stœchiométriques selon des conditions décrites dans la littérature<sup>109</sup>. Le composé désiré est obtenu en mélange avec son isomère de position 164, dans un rapport 50/50 (d'après le spectre RMN <sup>1</sup>H). Le produit pur est obtenu après chromatographie sur gel de silice, avec un rendement de 28 %.

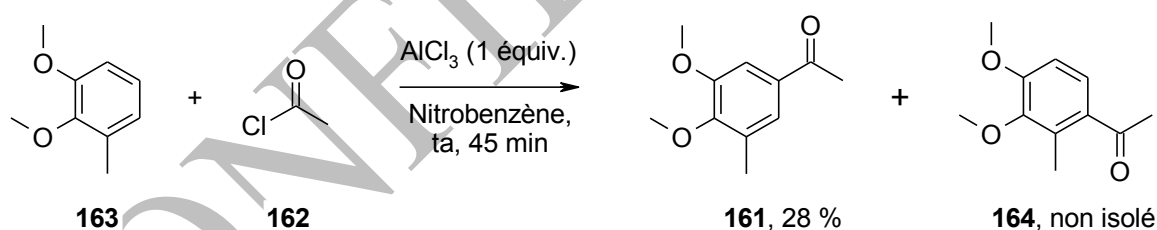


Schéma 65 : Acylation du 1,2-diméthoxy-3-méthylphényle 163.

#### 2. 1. 4. 3. 2. Réaction bromoforme

L'acide 3,4-diméthoxy-5-méthylbenzoïque (160) est obtenu par réaction de 4,5 équivalents de brome en présence de 18 équivalents de soude sur la 1-(3,4-diméthoxy-5-méthylphényl)éthanone selon la même méthode utilisée par Edwards *et al.*<sup>109</sup>. Le milieu réactionnel est agité à 70°C durant 24 heures au terme desquelles le taux de conversion ne dépasse pas les 20 %. En revanche, on observe la formation d'un sous-produit, l'acide 2-bromo-4,5-

<sup>109</sup> Edwards, J. D. *et al.* *J. Org. Chem.*, **1964**, *29*, 3028-3032.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

diméthoxy-3-méthylbenzoïque **165**, produit recensé dans les bases de données bibliographiques de SciFinder mais dont la synthèse et les propriétés physico-chimiques ne sont pas décrites.

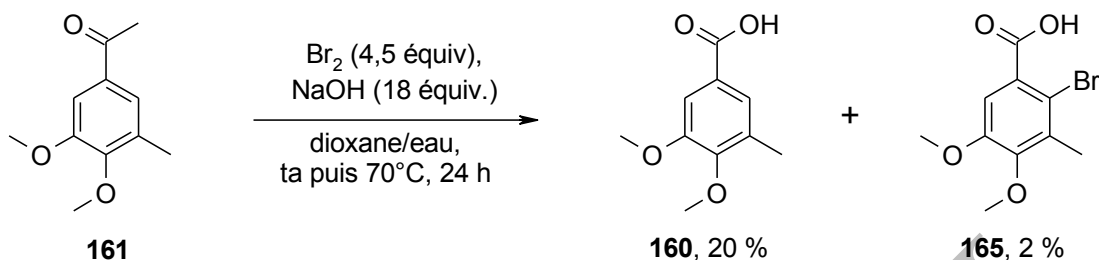


Schéma 66 : Conversion de l'acétophénone **161** en acide benzoïque **160** en présence de NaOBr.

Après traitement et purification par chromatographie sur gel de silice, seul ce sous-produit est obtenu pur. Devant le résultat de la réaction bromoforme, un essai de réaction chloroforme a été tenté.

#### 2. 1. 4. 3. Réaction chloroforme

L'acétophénone **161** est mise en réaction avec de l'hypochlorite de calcium en présence de soude et d'hydrogénocarbonate de potassium dans l'eau, à  $70^\circ\text{C}$ , pendant une heure<sup>110</sup>.

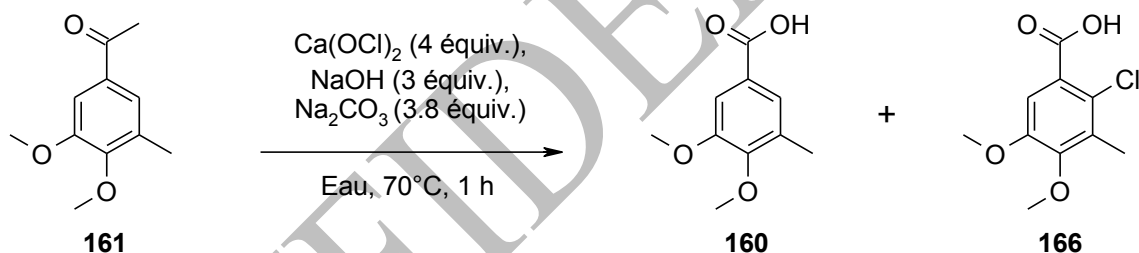


Schéma 67 : Conversion de l'acétophénone **161** en acide benzoïque **160** par un réactif NaOCl.

A l'issue de la réaction, un mélange de **160** et **166** (en proportion 40/60 selon la RMN  $^1\text{H}$ ), est obtenu (Schéma 67) qui, faute de séparation correcte, a été utilisé tel quel dans la réaction suivante.

<sup>110</sup> Borchardt, R. T. et al. *J. Med. Chem.*, **1982**, 25, 263-271.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

#### 2. 1. 4. 3. 4. Condensation de Friedel-Crafts en présence du réactif d'Eaton

L'acylation a été effectuée dans les mêmes conditions que pour les benzophénones précédentes,

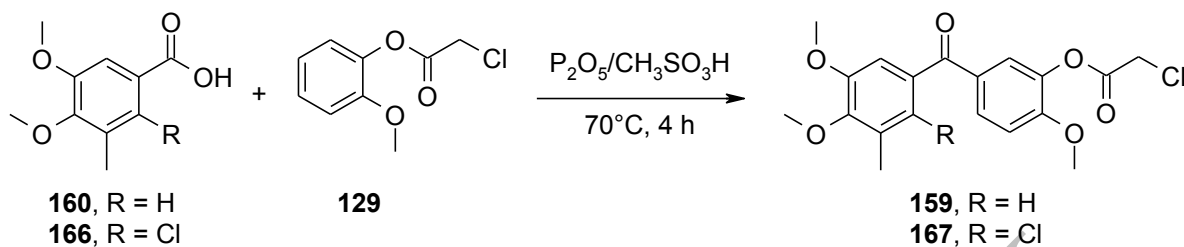


Schéma 68 : Réaction d'Eaton sur le mélange d'acides benzoïques.

La réaction conduit à un mélange dans les proportions 60/40 de deux composés **159** et **167** (Schéma 68). Les tentatives de purification par chromatographie sur gel de silice se sont révélées jusqu'ici infructueuses.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

#### 2. 3. Synthèse d'analogues méthylés de l'*isoCA-4*

L'ensemble des *isocombrétastatines* est obtenu par réaction de Wittig (Schéma 69) entre les benzophénones méthylées obtenues précédemment et deux équivalents d'ylure de méthyltriphenylphosphonium en présence de 5 équivalents de *tert*iobutanolate de potassium à température ambiante dans le THF ou à 80°C dans le toluène pendant 15 à 18 h selon les substituants.

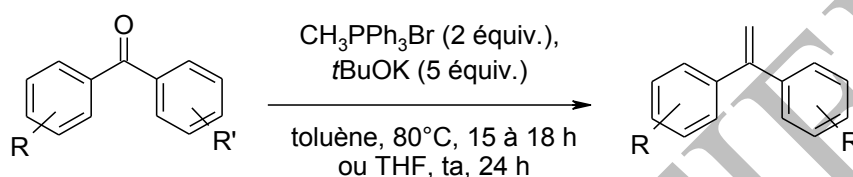


Schéma 69 : Schéma général de préparation des *isocombrétastatines* par la réaction de Wittig.

Les rendements varient en fonction de la substitution de la benzophénone de départ ; ils sont reportés dans le Tableau 23.



# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

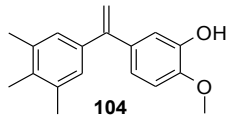
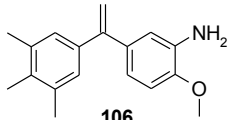
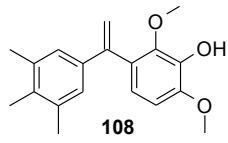
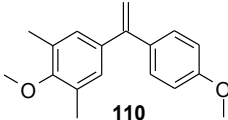
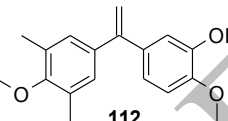
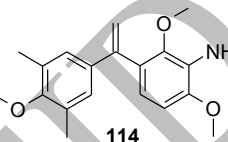
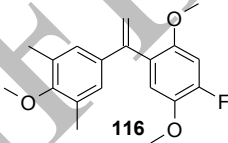
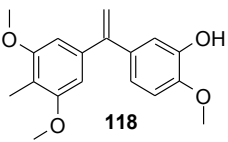
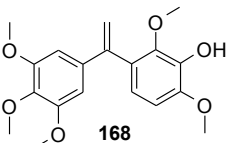
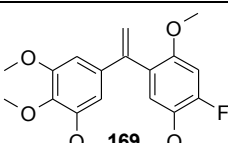
| Entrée | <i>Isocombretastatines</i>  | Conditions de réaction | Rendement |
|--------|---|------------------------|-----------|
| 1      | <br><b>104</b>   | toluène, 80°C,<br>18 h | 81 %      |
| 2      | <br><b>106</b>   | toluène, 80°C,<br>18 h | 15 %      |
| 3      | <br><b>108</b>   | toluène, 80°C,<br>18 h | 90 %      |
| 4      | <br><b>110</b>   | THF, rt, 24 h          | 99 %      |
| 5      | <br><b>112</b>  | THF, rt, 24 h          | 70 %      |
| 6      | <br><b>114</b> | toluène, 80°C,<br>15 h | 19 %      |
| 7      | <br><b>116</b> | toluène, 80°C,<br>15 h | 58 %      |
| 8      | <br><b>118</b> | toluène, 80°C,<br>18 h | 32 %      |
| 9      | <br><b>168</b> | toluène, 80°C,<br>15 h | 41 %      |
| 10     | <br><b>169</b> | toluène, 80°C,<br>15 h | 44 %      |

Tableau 23 : Rendements de synthèse des *isocombretastatines*.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

### Tentative de réaction de thio-Wittig

Afin d'obtenir nos *isocombrétastatines*, nous nous sommes penchés sur une voie alternative, passant par la thionation de nos benzophénones suivie d'une réaction de thio-Wittig sur des thiocétones. Selon la littérature, ce procédé est particulièrement adapté aux benzophénones qui sont généralement peu réactives dans les conditions de Wittig<sup>111</sup>. Sur un dérivé aussi simple que **170**, la thionation en présence de pentasulfure de phosphore ( $P_4S_{10}$ ) et d'hexaméthylidisiloxane (HMDSO)<sup>112</sup> permet de parvenir à la thiocétone **172**<sup>113</sup> avec un rendement de 89 %. La réaction de thio-Wittig permet d'accéder à l'*isocombrétastatine* **171**<sup>114</sup> avec un rendement supérieur à celui de la Wittig classique (80 % contre 73 %), néanmoins le rendement global sur les deux étapes n'est que de 71 % (contre 73 % par la voie en une seule étape) (Schéma 70). Enfin, nous observons une certaine instabilité de la thiocétone dans les conditions normales de stockage qui se traduit par la réversion en cétone **170**<sup>115</sup>.

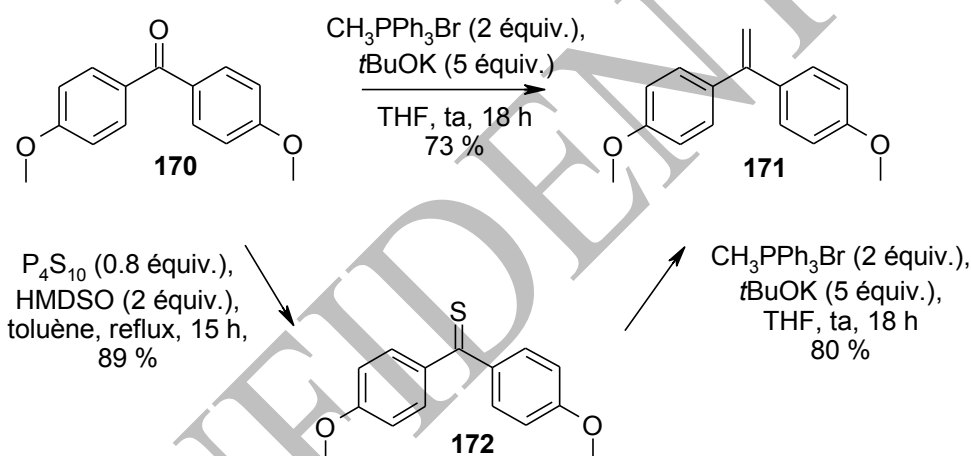


Schéma 70 : Thionation suivie de la réaction de thio-Wittig.

Néanmoins, une réaction de thionation sur le composé **111** a été tentée, dans l'idée de tester la thio-Wittig sur la thiocétone correspondante connue. Malheureusement, dans ces conditions, la thiocétone n'a pas pu être obtenue : aucune conversion n'est observée (Schéma 71).

<sup>111</sup> Erker, G. *et al. Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **1999**, 153, 79-97.

<sup>112</sup> Curphey, T. J. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 6461-6473.

<sup>113</sup> Pathak U. *et al. J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 2890-2893.

<sup>114</sup> Futamura, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1992**, 65, 1779-1783; *Chem. Abstr.*, **1992**, 117, 211805.

<sup>115</sup> Schönberg, A. *et al. Chem. Rev.*, **1947**, 40, 181-200.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

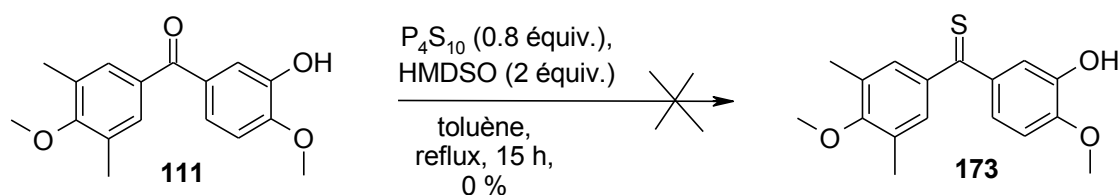


Schéma 71 : Réaction de thionation sur 111.

## 2. 4. Evaluation biologique des composés à cycle A méthylé

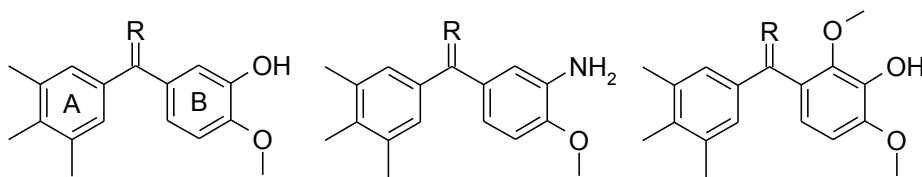
### 2. 4. 1. Résultats

L'ensemble des composés synthétisés (Figure 73) a été évalué biochimiquement sur la cible tubuline au laboratoire de chimie des substances naturelles du CNRS à Gif-sur-Yvette par le Dr. A. Ghinet, dans l'équipe du Dr. J. Dubois (sauf pour les composés **111**, **113** et **115** évalués au laboratoire de toxicologie de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lille 2, sous la direction du Dr. J. Pommery, valeurs présentées dans les tableaux avec le symbole \*). Leur cytotoxicité a été mesurée sur un panel de 60 souches tumorales au NCI. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux 24 à 28 et discutés par la suite.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

### Série A : Cycle A - 3,4,5-triméthylphényle

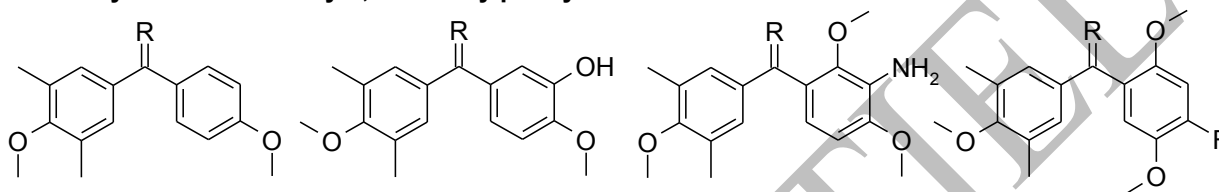


103 R = O  
104 R = CH<sub>2</sub>

105 R = O  
106 R = CH<sub>2</sub>

107 R = O  
108 R = CH<sub>2</sub>

### Série B : Cycle A - 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle



109 R = O  
110 R = CH<sub>2</sub>

111 R = O  
112 R = CH<sub>2</sub>

113 R = O  
114 R = CH<sub>2</sub>

115 R = O  
116 R = CH<sub>2</sub>

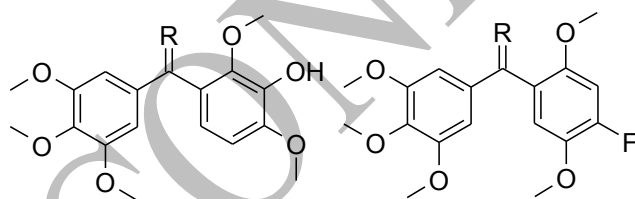
### Série C : Cycle A - 3,5-diméthoxy-4-méthylphényle



117 R = O  
118 R = CH<sub>2</sub>

144

### Composés en série 3,4,5-triméthoxyphényle pour référence



M<sub>p</sub>6 R = O  
168 R = CH<sub>2</sub>

136 R = O  
169 R = CH<sub>2</sub>

Figure 57 : Composés à cycle A méthylé synthétisés et testés biologiquement.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

|   |                   | Composé                                      | Phenstatine (14)      | IsoCA-4 (20)                 | 103           | 104           | 105           | 106            |
|---|-------------------|--|-----------------------|------------------------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
|   |                   | ITP ( $\mu\text{M}$ ) <sup>a</sup>           | 3.4 $\pm$ 0.7         | 2.0 $\pm$ 0.3 <sup>116</sup> | 2.4 $\pm$ 0.5 | 4.9 $\pm$ 1.0 | 5.1 $\pm$ 0.7 | 10.3 $\pm$ 0.8 |
| Type de cellule                         | Lignée cellulaire | GI <sub>50</sub> (M) <sup>b,c</sup>          |                       |                              |               |               |               |                |
| Leucémie                                | CCRF-CEM          | -  | -                     | -                            | 1.5 E-7       | 3.6 E-8       | 3.7 E-8       | 3.6 E-7        |
|   | HL-60(TB)         | -  | -                     | -                            | 2.5 E-8       | 3.2 E-8       | 2.6 E-8       | 3.6 E-7        |
|   | K-562             | 4.0 E-8 <sup>86</sup>                        | 0.5 E-8 <sup>86</sup> | -                            | 3.8 E-8       | 3.7 E-8       | 4.1 E-8       | 2.0 E-7        |
|   | MOLT-4            | -  | -                     | -                            | 4.1 E-7       | 5.0 E-8       | 7.2 E-8       | 5.4 E-7        |
|   | RPMI-8226         | -  | -                     | -                            | 3.5 E-8       | 4.6 E-8       | 8.5 E-8       | -              |
|   | SR                | -  | -                     | -                            | 4.7 E-8       | 3.2 E-8       | 4.3 E-8       | 1.8 E-7        |
| Cancer du poumon non à petites cellules | A549/ATCC         | -  | 0.8 E-8 <sup>86</sup> | -                            | 1.6 E-7       | 5.0 E-8       | 5.6 E-8       | 4.5 E-7        |
|   | EKVX              | -  | -                     | -                            | 1.4 E-5       | -             | 8.0 E-7       | -              |
|   | HOP-62            | -  | -                     | -                            | 7.9 E-8       | 4.9 E-8       | 5.3 E-8       | 5.0 E-7        |
|   | HOP-92            | -  | -                     | -                            | 6.8 E-8       | 2.1 E-8       | 5.1 E-8       | 1.7 E-7        |
|   | NCI-H226          | -  | -                     | -                            | 7.4 E-6       | 4.7 E-6       | 4.5 E-8       | -              |
|   | NCI-H23           | -  | -                     | -                            | 8.0 E-8       | 7.9 E-8       | 4.5 E-8       | 8.2 E-7        |
|   | NCI-H460          | 0.6 E-8 <sup>34</sup>                        | -                     | -                            | 4.5 E-8       | 3.7 E-8       | 4.4 E-8       | 3.5 E-7        |
| NCI-H522                                | -                 | -  | -                     | 3.3 E-8                      | 2.4 E-8       | 2.3 E-8       | 2.2 E-7       |                |
| Cancer du côlon                         | COLO 205          | 4.9 E-6 <sup>35</sup>                        | -                     | -                            | 4.8 E-6       | 1.1 E-6       | 4.0 E-8       | 3.1 E-7        |
|   | HCC-2998          | -  | -                     | -                            | 5.2 E-7       | 3.8 E-7       | 9.0 E-8       | 5.7 E-7        |
|   | HCT-116           | 3.3 E-8 <sup>116</sup>                       | 0.2 E-8 <sup>86</sup> | -                            | 3.9 E-8       | 5.2 E-8       | 3.5 E-8       | 3.7 E-7        |
|   | HCT-15            | -  | -                     | -                            | 4.7 E-8       | 4.3 E-8       | 4.5 E-8       | 3.9 E-7        |
|   | HT29              | -  | -                     | -                            | 3.0 E-6       | 2.0 E-6       | 4.5 E-8       | 4.0 E-7        |
|   | KM12              | -  | -                     | -                            | 5.3 E-8       | 5.1 E-8       | 4.4 E-8       | 2.5 E-7        |
|   | SW-620            | -  | -                     | -                            | 4.1 E-8       | 3.7 E-8       | 3.6 E-8       | 4.1 E-7        |
| Cancer du SNC                           | SF-268            | -  | -                     | -                            | 9.9 E-8       | 9.8 E-8       | 7.7 E-8       | 8.8 E-7        |
|   | SF-295            | 5.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                     | -                            | 6.0 E-7       | 2.2 E-7       | 3.9 E-8       | 2.7 E-7        |
|   | SF-539            | -  | -                     | -                            | 3.4 E-8       | 2.5 E-8       | 3.8 E-8       | 2.9 E-7        |
|   | SNB-19            | -  | -                     | -                            | 7.0 E-8       | 6.1 E-8       | 8.3 E-8       | 5.7 E-7        |
|   | SNB-75            | -  | -                     | -                            | 2.5 E-8       | 2.6 E-8       | 2.5 E-8       | 2.8 E-7        |
| Mélanome                                | LOX IMVI          | -  | -                     | -                            | 5.3 E-8       | 7.2 E-8       | 4.9 E-8       | 6.0 E-7        |
|   | MALME-3M          | -  | -                     | -                            | 1.8 E-5       | 5.0 E-8       | -             | 6.3 E-7        |
|   | M14               | -  | -                     | -                            | 3.4 E-8       | 3.2 E-8       | 3.5 E-8       | 2.5 E-7        |
|   | MDA-MB-435        | -  | 0.4 E-8 <sup>34</sup> | -                            | 2.1 E-8       | 1.9 E-8       | 1.7 E-8       | 3.5 E-8        |
|   | SK-MEL-2          | -  | -                     | -                            | 3.7 E-8       | 5.8 E-8       | 2.7 E-8       | 2.4 E-6        |
|   | SK-MEL-5          | 0.4 E-8 <sup>117</sup>                       | -                     | -                            | 3.3 E-8       | 1.8 E-8       | 5.0 E-8       | 4.2 E-7        |
|   | SK-MEL-28         | -  | -                     | -                            | -             | 6.3 E-8       | 3.2 E-8       | 4.5 E-7        |
|   | UACC-257          | -  | -                     | -                            | -             | 4.2 E-7       | 2.8 E-8       | 6.1 E-7        |
|   | UACC-62           | -  | -                     | -                            | 2.2 E-7       | 1.1 E-7       | 4.4 E-8       | 5.7 E-7        |
| Cancer de l'ovaire                      | IGROV1            | -  | -                     | -                            | 5.3 E-7       | 5.3 E-7       | 4.8 E-8       | 6.8 E-7        |
|   | OVCAR-3           | 0.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                     | -                            | 4.0 E-8       | 2.6 E-8       | 3.8 E-8       | 2.2 E-7        |
|   | OVCAR-4           | -  | -                     | -                            | 1.6 E-6       | 2.2 E-7       | 3.9 E-6       | -              |
|   | OVCAR-5           | -  | -                     | -                            | 6.1 E-7       | 1.5 E-6       | 1.4 E-7       | 8.6 E-7        |
|   | OVCAR-8           | -  | -                     | -                            | 7.8 E-8       | 4.8 E-8       | 5.4 E-8       | 5.0 E-7        |
|   | NCI/ADR-RES       | -  | -                     | -                            | 3.1 E-8       | 3.6 E-8       | 2.7 E-8       | 2.3 E-7        |
|   | SK-OV-3           | -  | -                     | -                            | 3.3 E-8       | 4.0 E-8       | 4.0 E-8       | 3.3 E-7        |
| Cancer du rein                          | 786-0             | -  | -                     | -                            | 3.5 E-7       | 4.8 E-7       | 5.7 E-8       | 5.3 E-7        |
|   | A498              | 3.8 E-7 <sup>117</sup>                       | -                     | -                            | 1.3 E-6       | 1.6 E-6       | 2.6 E-8       | 2.2 E-7        |
|   | ACHN              | -  | -                     | -                            | 7.5 E-8       | 7.5 E-8       | 7.0 E-8       | 1.7 E-6        |
|   | CAKI-1            | -  | -                     | -                            | 8.3 E-7       | 4.5 E-7       | 4.7 E-8       | 6.3 E-7        |
|   | RXF 393           | -  | -                     | -                            | 4.1 E-8       | 2.8 E-8       | 4.8 E-8       | 1.6 E-7        |
|   | SN12C             | -  | -                     | -                            | 8.3 E-8       | 6.8 E-8       | 7.0 E-8       | 6.9 E-7        |
|   | TK-10             | -  | -                     | -                            | 1.2 E-6       | 1.2 E-5       | 5.0 E-8       | 1.9 E-5        |
|   | UO-31             | -  | -                     | -                            | 2.6 E-6       | 2.4 E-6       | 6.9 E-8       | 1.1 E-7        |
| Cancer de la prostate                   | PC-3              | -  | -                     | -                            | 3.1 E-7       | 4.0 E-8       | 5.4 E-8       | 3.6 E-7        |
|   | DU-145            | 3.4 E-8 <sup>35</sup>                        | -                     | -                            | 5.6 E-8       | 4.3 E-8       | 1.2 E-7       | 4.0 E-7        |
| Cancer du sein                          | MCF7              | 4.4 E-7 <sup>35</sup> /3.4 E-8 <sup>38</sup> | -                     | -                            | 3.8 E-8       | 3.7 E-8       | 3.2 E-8       | 2.7 E-7        |
|   | MDA-MB-231/ATCC   | -  | 0.4 E-8 <sup>86</sup> | -                            | 1.2 E-7       | 4.8 E-8       | 9.4 E-8       | 6.5 E-7        |
|   | HS 578T           | -  | -                     | -                            | 3.2 E-8       | 5.0 E-8       | 3.8 E-8       | 3.1 E-7        |
|   | BT-549            | -  | -                     | -                            | 3.4 E-8       | 9.3 E-8       | 3.6 E-8       | 1.5 E-6        |
|   | T-47D             | -  | -                     | -                            | 3.2 E-7       | 1.0 E-5       | -             | 1.7 E-5        |
| MDA-MB-468                              | -                 | -  | -                     | 1.8 E-7                      | 1.0 E-7       | 1.9 E-8       | 2.4 E-7       |                |

**Tableau 24 : Activité antitubuline et activités cytotoxiques de la série A (1/2).** <sup>a</sup> ITP : inhibition de la polymérisation de la tubuline, réalisés au laboratoire de substances naturelles de Gif-sur-Yvette ; <sup>b</sup> Tests NCI ; <sup>c</sup> GI<sub>50</sub> représente la concentration molaire en composé nécessaire à l'inhibition de 50% de la croissance cellulaire.

<sup>116</sup> Messaoudi, S. *et al. ChemMedChem*, **2011**, *6*, 488-497

<sup>117</sup> Pettit, G. R. *et al. J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 1666-1672.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

| Composé                                 |                   | Phenstatine (14)                             | IsoCA-4 (20)             | M <sub>p</sub> 6 | 168       | 107       | 108        |
|---|-------------------|--|--------------------------|------------------|-----------|-----------|------------|
| ITP (μM) <sup>a</sup>                   |                   | 3.4 ± 0.7                                    | 2.0 ± 0.3 <sup>116</sup> | 1.2 ± 0.2        | 1.8 ± 0.2 | 6.2 ± 0.7 | 45.1 ± 0.7 |
| Type de cellule                         | Lignée cellulaire | GI <sub>50</sub> (M) <sup>b,c</sup>          |                          |                  |           |           |            |
| Leucémie                                | CCRF-CEM          | -  | -                        | 2.9 E-8          | 3.2 E-8   | 1.7 E-7   |            |
|   | HL-60(TB)         | -  | -                        | 2.3 E-8          | 2.3 E-8   | 1.3 E-7   |            |
|   | K-562             | 4.0 E-8 <sup>86</sup>                        | 0.5 E-8 <sup>86</sup>    | < 1.0 E-8        | 2.5 E-8   | 4.3 E-8   |            |
|   | MOLT-4            | -  | -                        | 3.6 E-8          | 3.8 E-8   | 4.7 E-7   |            |
|   | RPMI-8226         | -  | -                        | 3.7 E-8          | 3.2 E-8   | 4.0 E-7   |            |
|   | SR                | -  | -                        | -                | 2.4 E-8   | 4.5 E-8   |            |
| Cancer du poumon non à petites cellules | A549/ATCC         | -  | 0.8 E-8 <sup>86</sup>    | 4.1 E-8          | 4.2 E-8   | 3.7 E-7   |            |
|   | EKVX              | -  | -                        | 6.1 E-7          | 1.5 E-5   | 3.2 E-5   |            |
|   | HOP-62            | -  | -                        | 7.6 E-8          | 5.9 E-8   | 4.0 E-7   |            |
|   | NCI-H226          | -  | -                        | 3.8 E-5          | 1.0 E-5   | 1.2 E-5   |            |
|   | NCI-H23           | -  | -                        | 3.9 E-8          | 4.4 E-8   | 9.8 E-6   |            |
|   | NCI-H460          | 0.6 E-8 <sup>34</sup>                        | -                        | 5.1 E-8          | 3.7 E-8   | 4.3 E-7   |            |
| NCI-H522                                | -                 | -  | < 1.0 E-8                | 1.5 E-8          | 6.1 E-8   |           |            |
| Cancer du côlon                         | COLO 205          | 4.9 E-6 <sup>35</sup>                        | -                        | 6.2 E-6          | 2.2 E-6   | 1.2 E-5   |            |
|   | HCC-2998          | -  | -                        | 2.1 E-7          | 2.2 E-7   | 1.4 E-6   |            |
|   | HCT-116           | 3.3 E-8 <sup>116</sup>                       | 0.2 E-8 <sup>86</sup>    | 3.2 E-8          | 3.5 E-8   | 3.8 E-7   |            |
|   | HCT-15            | -  | -                        | 1.1 E-8          | 3.3 E-8   | 5.4 E-8   |            |
|   | HT29              | -  | -                        | 2.4 E-6          | 2.7 E-8   | 4.0 E-6   |            |
|   | KM12              | -  | -                        | < 1.0 E-8        | 2.3 E-8   | 5.4 E-8   |            |
|   | SW-620            | -  | -                        | 2.5 E-8          | 3.6 E-8   | 6.6 E-8   |            |
| Cancer du SNC                           | SF-268            | -  | -                        | 2.1 E-8          | 3.8 E-8   | 3.9 E-7   |            |
|   | SF-295            | 5.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                        | 2.0 E-8          | 6.1 E-7   | 2.7 E-6   |            |
|   | SF-539            | -  | -                        | 1.5 E-8          | 2.8 E-8   | 7.1 E-8   |            |
|   | SNB-19            | -  | -                        | 4.8 E-8          | 5.7 E-8   | 2.9 E-7   |            |
|   | SNB-75            | -  | -                        | -                | 3.3 E-8   | 4.6 E-8   |            |
| Mélanome                                | LOX IMVI          | -  | -                        | 2.7 E-8          | 3.7 E-8   | 4.8 E-7   |            |
|   | MALME-3M          | -  | -                        | 1.2 E-8          | 3.7 E-5   | N.D.      |            |
|   | M14               | -  | -                        | < 1.0 E-8        | 2.4 E-8   | 1.3 E-7   |            |
|   | MDA-MB-435        | -  | 0.4 E-8 <sup>116</sup>   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 | 2.3 E-8   |            |
|   | SK-MEL-2          | -  | -                        | 2.7 E-8          | 3.5 E-8   | 2.3 E-7   |            |
|   | SK-MEL-5          | 0.4 E-8 <sup>117</sup>                       | -                        | 2.6 E-8          | 3.2 E-8   | 4.7 E-7   |            |
|   | SK-MEL-28         | -  | -                        | > 1.0 E-4        | 7.2 E-8   | 1.5 E-7   |            |
|   | UACC-257          | -  | -                        | -                | 3.7 E-8   | 5.7 E-7   |            |
|   | UACC-62           | -  | -                        | 2.7 E-8          | 6.3 E-7   | 1.2 E-6   |            |
| Cancer de l'ovaire                      | IGROV1            | -  | -                        | -                | 3.5 E-7   | 6.4 E-7   |            |
|   | OVCAR-3           | 0.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                        | 2.2 E-8          | 2.6 E-8   | 2.1 E-7   |            |
|   | OVCAR-4           | -  | -                        | 7.3 E-8          | 4.9 E-7   | 1.6 E-5   |            |
|   | OVCAR-5           | -  | -                        | 6.5 E-7          | 6.3 E-7   | 2.6 E-6   |            |
|   | OVCAR-8           | -  | -                        | 2.9 E-8          | 3.5 E-8   | 2.9 E-7   |            |
|   | NCI/ADR-RES       | -  | -                        | < 1.0 E-8        | 1.9 E-8   | 1.3 E-7   |            |
|   | SK-OV-3           | -  | -                        | 9.0 E-8          | 2.6 E-8   | 4.1 E-8   |            |
| Cancer du rein                          | 786-0             | -  | -                        | 2.5 E-7          | 3.9 E-7   | 5.6 E-7   |            |
|   | A498              | 3.8 E-7 <sup>117</sup>                       | -                        | 2.7 E-6          | 1.7 E-6   | 3.1 E-6   |            |
|   | ACHN              | -  | -                        | 4.2 E-8          | 5.3 E-8   | 1.6 E-6   |            |
|   | CAKI-1            | -  | -                        | 1.2 E-7          | 4.2 E-7   | 1.2 E-5   |            |
|   | RXF 393           | -  | -                        | 1.6 E-8          | 2.7 E-8   | 2.4 E-7   |            |
|   | SN12C             | -  | -                        | 4.7 E-8          | 5.6 E-8   | 6.0 E-7   |            |
|   | TK-10             | -  | -                        | 1.0 E-6          | 6.4 E-7   | 4.0 E-6   |            |
|   | UO-31             | -  | -                        | 4.9 E-8          | 1.3 E-7   | 4.9 E-7   |            |
| Cancer de la prostate                   | PC-3              | -  | -                        | 2.6 E-8          | 3.5 E-8   | 4.3 E-7   |            |
|   | DU-145            | 3.4 E-8 <sup>35</sup>                        | -                        | 2.1 E-8          | 2.6 E-8   | 1.5 E-7   |            |
| Cancer du sein                          | MCF7              | 4.4 E-7 <sup>35</sup> /3.4 E-8 <sup>38</sup> | -                        | 2.6 E-8          | 3.3 E-8   | 2.5 E-7   |            |
|   | MDA-MB-231/ATCC   | -  | 0.4 E-8 <sup>86</sup>    | 2.5 E-8          | 3.3 E-8   | 1.4 E-7   |            |
|   | HS 578T           | -  | -                        | < 1.0 E-8        | 3.0 E-8   | 2.4 E-7   |            |
|   | BT-549            | -  | -                        | < 1.0 E-8        | 3.3 E-8   | 3.5 E-8   |            |
|   | T-47D             | -  | -                        | > 1.0 E-4        | 8.9 E-7   | 5.7 E-7   |            |
|   | MDA-MB-468        | -  | -                        | 2.5 E-7          | 2.3 E-7   | 2.6 E-7   |            |

**Tableau 25 : Activité antitubuline et activités cytotoxiques de la série A (2/2).** <sup>a</sup> ITP : inhibition de la polymérisation de la tubuline, réalisés au laboratoire de substances naturelles de Gif-sur-Yvette ; <sup>b</sup> Tests NCI ; <sup>c</sup> GI<sub>50</sub> représente la concentration molaire en composé nécessaire à l'inhibition de 50% de la croissance cellulaire.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

| Composé                                 |                   | Phenstatine (14)                             | IsoCA-4 (20)             | 109               | 110       | 111              | 112       |
|---|-------------------|--|--------------------------|-------------------|-----------|------------------|-----------|
| IPT (µM) <sup>a</sup>                   |                   | 3.4 ± 0.7 / 11.1 <sup>b</sup>                | 2.0 ± 0.3 <sup>116</sup> | N.T. <sup>c</sup> | 2.9 ± 0.3 | 6.3 <sup>b</sup> | 1.3 ± 0.1 |
| Type de cellule                         | Lignée cellulaire | GI <sub>50</sub> (M) <sup>d,e</sup>          |                          |                   |           |                  |           |
| Leucémie                                | CCRF-CEM          | -  | -                        | 8.2 E-8           | 2.8 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | HL-60(TB)         | -  | -                        | 3.8 E-8           | 2.2 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | K-562             | 4.0 E-8 <sup>86</sup>                        | 0.5 E-8 <sup>86</sup>    | 4.4 E-8           | 3.2 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | MOLT-4            | -  | -                        | 8.3 E-8           | 4.9 E-8   | 3.6 E-8          | < 1.0 E-8 |
|   | RPMI-8226         | -  | -                        | -                 | 3.7 E-8   | -                | < 1.0 E-8 |
|   | SR                | -  | -                        | 3.8 E-8           | -         | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
| Cancer du poumon non à petites cellules | A549/ATCC         | -  | 0.8 E-8 <sup>86</sup>    | 7.1 E-8           | 9.6 E-8   | 1.2 E-6          | < 1.0 E-8 |
|   | EKVX              | -  | -                        | 8.1 E-8           | 1.3 E-7   | 1.2 E-5          | 6.4 E-8   |
|   | HOP-62            | -  | -                        | 4.2 E-8           | 5.8 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | NCI-H226          | -  | -                        | -                 | 6.5 E-8   | 2.7 E-6          | 4.3 E-8   |
|   | NCI-H23           | -  | -                        | 2.9 E-7           | 3.4 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | NCI-H460          | 0.6 E-8 <sup>34</sup>                        | -                        | 4.3 E-8           | 4.0 E-8   | 3.5 E-8          | < 1.0 E-8 |
| Cancer du côlon                         | NCI-H522          | -  | -                        | 3.0 E-8           | 2.2 E-8   | -                | < 1.0 E-8 |
|   | COLO 205          | 4.9 E-6 <sup>35</sup>                        | -                        | 3.9 E-8           | 3.6 E-8   | 9.1 E-7          | 1.5 E-7   |
|   | HCC-2998          | -  | -                        | 2.6 E-7           | 1.1 E-7   | 7.7 E-8          | < 1.0 E-8 |
|   | HCT-116           | 3.3 E-8 <sup>116</sup>                       | 0.2 E-8 <sup>86</sup>    | 4.7 E-8           | 4.1 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | HCT-15            | -  | -                        | 4.9 E-8           | 4.3 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | HT29              | -  | -                        | 3.7 E-8           | 3.3 E-8   | 5.2 E-7          | 1.2 E-7   |
| Cancer du SNC                           | KM12              | -  | -                        | 4.3 E-8           | 3.9 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | SW-620            | -  | -                        | 4.5 E-8           | 3.9 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | SF-268            | -  | -                        | 1.1 E-6           | 6.3 E-8   | 1.3 E-8          | < 1.0 E-8 |
|   | SF-295            | 5.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                        | 4.5 E-8           | 2.9 E-8   | 4.6 E-8          | < 1.0 E-8 |
|   | SF-539            | -  | -                        | 8.4 E-8           | 2.6 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | SNB-19            | -  | -                        | 2.6 E-7           | 5.3 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
| Mélanome                                | SNB-75            | -  | -                        | 4.8 E-8           | 3.7 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | LOX IMVI          | -  | -                        | 6.8 E-8           | 6.2 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | MALME-3M          | -  | -                        | 6.7 E-8           | 9.0 E-8   | N.D.             | < 1.0 E-8 |
|   | M14               | -  | -                        | 4.1 E-8           | 3.6 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | MDA-MB-435        | -  | 0.4 E-8 <sup>116</sup>   | 1.8 E-8           | 1.9 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | SK-MEL-2          | -  | -                        | 7.1 E-8           | 2.5 E-8   | 4.9 E-8          | < 1.0 E-8 |
| Cancer de l'ovaire                      | SK-MEL-5          | 0.4 E-8 <sup>117</sup>                       | -                        | 4.7 E-8           | 2.9 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | SK-MEL-28         | -  | -                        | 9.4 E-8           | 8.7 E-8   | -                | < 1.0 E-8 |
|   | UACC-257          | -  | -                        | 2.9 E-7           | 4.0 E-8   | 7.4 E-8          | < 1.0 E-8 |
|   | UACC-62           | -  | -                        | 6.9 E-8           | 3.7 E-8   | 1.2 E-7          | < 1.0 E-8 |
|   | IGROV1            | -  | -                        | 9.8 E-8           | 6.6 E-8   | 7.9 E-8          | < 1.0 E-8 |
|   | OVCAR-3           | 0.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                        | 4.1 E-8           | 2.7 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
| Cancer du rein                          | OVCAR-4           | -  | -                        | -                 | 9.0 E-8   | 3.0 E-8          | < 1.0 E-8 |
|   | OVCAR-5           | -  | -                        | 7.9 E-8           | 7.8 E-8   | 5.6 E-6          | 1.2 E-8   |
|   | OVCAR-8           | -  | -                        | 2.1 E-7           | 1.2 E-7   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | NCI/ADR-RES       | -  | -                        | 4.0 E-8           | 3.3 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | SK-OV-3           | -  | -                        | 6.4 E-8           | 3.8 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | 786-0             | -  | -                        | 1.3 E-7           | 8.7 E-8   | 7.7 E-8          | < 1.0 E-8 |
| Cancer de la prostate                   | A498              | 3.8 E-7 <sup>117</sup>                       | -                        | 5.1 E-8           | 2.8 E-8   | 4.1 E-6          | 2.6 E-8   |
|   | ACHN              | -  | -                        | 1.7 E-6           | 7.4 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | CAKI-1            | -  | -                        | 1.1 E-7           | 5.4 E-8   | 4.4 E-6          | < 1.0 E-8 |
|   | RXF 393           | -  | -                        | 5.9 E-8           | 2.6 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | SN12C             | -  | -                        | 2.8 E-7           | 5.9 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | TK-10             | -  | -                        | 1.3 E-5           | 8.9 E-8   | 1.3 E-5          | 2.2 E-8   |
| Cancer du sein                          | UO-31             | -  | -                        | 5.1 E-6           | 7.6 E-8   | 2.4 E-7          | < 1.0 E-8 |
|   | PC-3              | -  | -                        | 1.5 E-7           | 4.1 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | DU-145            | 3.4 E-8 <sup>35</sup>                        | -                        | 2.1 E-7           | 3.5 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | MCF7              | 4.4 E-7 <sup>35</sup> /3.4 E-8 <sup>38</sup> | -                        | 3.6 E-8           | 4.1 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | MDA-MB-231/ATCC   | -  | 0.4 E-8 <sup>86</sup>    | 3.1 E-7           | 1.8 E-7   | 1.2 E-8          | < 1.0 E-8 |
|   | HS 578T           | -  | -                        | 2.1 E-7           | 1.8 E-7   | > 1.0 E-4        | < 1.0 E-8 |
| Cancer du sein                          | BT-549            | -  | -                        | -                 | 4.1 E-8   | < 1.0 E-8        | < 1.0 E-8 |
|   | T-47D             | -  | -                        | -                 | -         | -                | 1.0 E-5   |
|   | MDA-MB-468        | -  | -                        | 2.7 E-8           | 2.9 E-8   | 3.1 E-8          | < 1.0 E-8 |

**Tableau 26 : Activité antitubuline et activités cytotoxiques de la série B (1/2).** <sup>a</sup> IPT : inhibition de la polymérisation de la tubuline, réalisés au laboratoire de substances naturelles de Gif-sur-Yvette ; <sup>b</sup> Tests effectués à Lille 2 ; <sup>c</sup> N.T. : non testé ; <sup>d</sup> Tests NCI ; <sup>e</sup> GI<sub>50</sub> représente la concentration molaire en composé nécessaire à l'inhibition de 50% de la croissance cellulaire.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

| Composé                                 |                   | Phenstatine (14)                              | IsoCA-4 (20)             | 113               | 114        | 136        | 169            | 115               | 116                       |
|---|-------------------|---|--------------------------|-------------------|------------|------------|----------------|-------------------|---------------------------|
| ITP ( $\mu\text{M}$ ) <sup>a</sup>      |                   | 3.4 ± 0.7 / 11.1 <sup>b</sup>                 | 2.0 ± 0.3 <sup>116</sup> | 10.6 <sup>b</sup> | 16.3 ± 1.8 | 24.0 ± 5.7 | - <sup>c</sup> | 25.0 <sup>b</sup> | - <sup>d</sup>            |
| Type de cellule                         | Lignée cellulaire | GI <sub>50</sub> (M) <sup>e,f</sup>           |                          |                   |            |            |                |                   | GI % (10 <sup>-5</sup> M) |
| Leucémie                                | CCRF-CEM          | -   | -                        | 3.0 E-8           | 2.8 E-7    | 1.9 E-7    | 1.1 E-6        | 3.7 E-7           | 16.7                      |
|   | HL-60(TB)         | -   | -                        | 3.2 E-8           | 2.6 E-7    | 2.0 E-7    | 2.7 E-7        | 3.0 E-7           | 27.2                      |
|   | K-562             | 4.0 E-8 <sup>86</sup>                         | 0.5 E-8 <sup>86</sup>    | 1.4 E-8           | 4.4 E-8    | 4.5 E-8    | 3.4 E-7        | 1.1 E-7           | 66.3                      |
|   | MOLT-4            | -   | -                        | 5.5 E-8           | 4.0 E-7    | 4.1 E-7    | 1.8 E-6        | 6.2 E-7           | 27.4                      |
|   | RPMI-8226         | -   | -                        | 1.1 E-7           | 3.7 E-7    | 4.7 E-7    | 2.4 E-6        | -                 | 14.0                      |
|   | SR                | -   | -                        | < 1.0 E-8         | 4.4 E-8    | 4.3 E-8    | 4.5 E-7        | 1.1 E-7           | 82.9                      |
| Cancer du poumon non à petites cellules | A549/ATCC         | -   | 0.8 E-8 <sup>86</sup>    | 3.5 E-8           | 1.7 E-7    | -          | 8.8 E-7        | 1.4 E-6           | 20.9                      |
|   | EKVX              | -   | -                        | 7.4 E-8           | -          | 2.9 E-7    | 1.8 E-5        | 4.0 E-5           | -                         |
|   | HOP-62            | -   | -                        | 3.5 E-8           | 4.2 E-7    | 2.7 E-7    | 1.3 E-6        | 4.2 E-7           | 13.1                      |
|   | NCI-H226          | -   | -                        | 4.0 E-7           | 7.2 E-6    | 1.3 E-6    | 2.8 E-5        | 6.0 E-7           | 3.0                       |
|   | NCI-H23           | -   | -                        | 4.3 E-8           | 6.2 E-7    | 3.0 E-7    | 2.2 E-6        | 4.6 E-7           | 15.6                      |
|   | NCI-H460          | 0.6 E-8 <sup>34</sup>                         | -                        | 3.3 E-8           | 1.6 E-7    | 1.1 E-7    | 1.2 E-6        | 3.7 E-7           | 0                         |
|   | NCI-H522          | -   | -                        | 1.7 E-8           | 8.7 E-8    | 1.0 E-7    | 6.0 E-7        | 2.9 E-7           | 8.3                       |
| Cancer du côlon                         | COLO 205          | 4.9 E-6 <sup>35</sup>                         | -                        | 3.3 E-8           | 3.4 E-7    | 9.3 E-8    | 5.9 E-7        | 2.6 E-7           | 0                         |
|   | HCC-2998          | -   | -                        | 1.9 E-7           | 4.2 E-7    | 1.7 E-7    | 1.2 E-6        | 8.2 E-7           | 21.9                      |
|   | HCT-116           | 3.3 E-8 <sup>116</sup>                        | 0.2 E-8 <sup>86</sup>    | 4.4 E-8           | 1.2 E-7    | 8.5 E-8    | 6.4 E-7        | 4.6 E-7           | 23.1                      |
|   | HCT-15            | -   | -                        | 2.6 E-8           | 5.3 E-8    | 5.5 E-8    | 6.7 E-7        | 1.7 E-7           | 35.4                      |
|   | HT29              | -   | -                        | 3.9 E-8           | 3.5 E-7    | 3.9 E-8    | 3.6 E-7        | 3.1 E-7           | 27.3                      |
|   | KM12              | -   | -                        | 4.1 E-8           | 1.2 E-7    | 5.0 E-8    | 5.7 E-7        | 1.8 E-7           | 48.4                      |
|   | SW-620            | -   | -                        | 3.9 E-8           | 5.5 E-8    | 6.3 E-8    | 5.9 E-7        | 4.0 E-7           | 37.8                      |
| Cancer du SNC                           | SF-268            | -   | -                        | 7.8 E-8           | 1.6 E-6    | 7.5 E-7    | 2.7 E-6        | 7.1 E-7           | 0                         |
|   | SF-295            | 5.2 E-8 <sup>117</sup>                        | -                        | 1.7 E-8           | 1.7 E-7    | 6.8 E-8    | 9.5 E-7        | 2.0 E-7           | 22.1                      |
|   | SF-539            | -   | -                        | 2.7 E-8           | 1.2 E-7    | 1.6 E-7    | 2.2 E-6        | 3.9 E-7           | 12.0                      |
|   | SNB-19            | -   | -                        | 3.1 E-8           | -          | 3.5 E-7    | 3.3 E-6        | 5.6 E-7           | 11.0                      |
|   | SNB-75            | -   | -                        | 2.0 E-8           | 9.1 E-8    | 1.1 E-7    | 9.2 E-7        | 2.5 E-7           | 11.6                      |
| Mélanome                                | LOX IMVI          | -   | -                        | 3.1 E-8           | 9.2 E-7    | 2.2 E-7    | 6.3 E-7        | 3.2 E-7           | 18.2                      |
|   | MALME-3M          | -   | -                        | < 1.0 E-8         | -          | 4.3 E-7    | > 1.0 E-4      | 2.8 E-7           | 22.2                      |
|   | M14               | -   | -                        | 2.4 E-8           | 1.2 E-7    | 7.3 E-8    | 5.5 E-7        | 3.6 E-7           | 35.0                      |
|   | MDA-MB-435        | -   | 0.4 E-8 <sup>116</sup>   | < 1.0 E-8         | 2.5 E-8    | 2.5 E-8    | 2.6 E-7        | 3.5 E-8           | 107.23                    |
|   | SK-MEL-2          | -   | -                        | 3.0 E-8           | 7.6 E-7    | 1.1 E-7    | 6.5 E-7        | 6.0 E-7           | 0                         |
|   | SK-MEL-5          | 0.4 E-8 <sup>117</sup>                        | -                        | 2.2 E-8           | 6.8 E-8    | 5.6 E-8    | 9.9 E-7        | 2.6 E-7           | 9.7                       |
|   | SK-MEL-28         | -   | -                        | -                 | -          | 3.6 E-7    | 7.7 E-7        | 7.3 E-7           | 23.3                      |
|   | UACC-257          | -   | -                        | 4.2 E-5           | 1.1 E-5    | 7.9 E-5    | 8.8 E-7        | > 1.0 E-4         | 10.3                      |
|   | UACC-62           | -   | -                        | 5.5 E-8           | 6.9 E-8    | 7.7 E-8    | 5.9 E-7        | 3.9 E-7           | 33.7                      |
| Cancer de l'ovaire                      | IGROV1            | -   | -                        | 2.8 E-8           | 4.8 E-7    | 1.8 E-7    | 2.9 E-6        | 6.8 E-7           | 10.5                      |
|   | OVCAR-3           | 0.2 E-8 <sup>117</sup>                        | -                        | 2.8 E-8           | 1.4 E-7    | 4.4 E-8    | 5.2 E-7        | 2.2 E-7           | 6.4                       |
|   | OVCAR-4           | -   | -                        | 8.1 E-8           | 8.2 E-7    | 4.7 E-7    | 9.9 E-6        | 6.7 E-7           | 14.0                      |
|   | OVCAR-5           | -   | -                        | 7.0 E-8           | 3.8 E-7    | 4.6 E-7    | 4.5 E-6        | 1.6 E-6           | 0                         |
|   | OVCAR-8           | -   | -                        | 3.9 E-8           | 3.8 E-7    | 3.5 E-7    | 2.4 E-6        | 6.1 E-7           | 7.4                       |
|   | NCI/ADR-RES       | -   | -                        | 1.3 E-8           | 1.5 E-7    | 6.8 E-8    | 3.7 E-7        | 1.5 E-7           | 43.0                      |
|   | SK-OV-3           | -   | -                        | 3.4 E-8           | 3.9 E-7    | 2.1 E-7    | 1.0 E-6        | 3.2 E-7           | 5.7                       |
| Cancer du rein                          | 786-0             | -   | -                        | 3.5 E-8           | 6.2 E-7    | 1.1 E-7    | 4.1 E-6        | 5.5 E-7           | 7.7                       |
|   | A498              | 3.8 E-7 <sup>117</sup>                        | -                        | 1.9 E-8           | 3.9 E-8    | -          | 5.6 E-6        | 4.2 E-7           | 10.0                      |
|   | ACHN              | -   | -                        | 7.7 E-8           | 2.7 E-7    | 6.9 E-7    | 6.5 E-6        | 6.0 E-7           | 0                         |
|   | CAKI-1            | -   | -                        | 2.8 E-8           | 9.9 E-8    | 2.3 E-7    | 1.8 E-6        | 3.4 E-7           | 26.0                      |
|   | RXF 393           | -   | -                        | 2.5 E-8           | 1.1 E-7    | 1.4 E-7    | 2.2 E-6        | 2.1 E-7           | 2.8                       |
|   | SN12C             | -   | -                        | 7.3 E-8           | 5.0 E-7    | 6.0 E-7    | 5.0 E-6        | 6.6 E-7           | 3.8                       |
|   | TK-10             | -   | -                        | 5.1 E-8           | 2.2 E-5    | 3.6 E-7    | 4.6 E-6        | 6.1 E-7           | 0                         |
|   | UO-31             | -   | -                        | 6.0 E-8           | 2.3 E-6    | 5.4 E-7    | 2.2 E-6        | 4.0 E-7           | 7.6                       |
| Cancer de la prostate                   | PC-3              | -   | -                        | 3.7 E-8           | 2.5 E-7    | 2.1 E-7    | 2.2 E-6        | 3.7 E-7           | 15.2                      |
|   | DU-145            | 3.4 E-8 <sup>35</sup>                         | -                        | 3.4 E-8           | 3.5 E-7    | 2.6 E-7    | 2.4 E-6        | 5.3 E-7           | 0                         |
| Cancer du sein                          | MCF7              | 4.4 E-7 <sup>35</sup> /3.44 E-8 <sup>38</sup> | -                        | 2.0 E-8           | 4.4 E-8    | 4.0 E-8    | 5.1 E-7        | 3.2 E-7           | 41.6                      |
|   | MDA-MB-231/ATCC   | -   | 0.4 E-8 <sup>86</sup>    | 9.0 E-8           | 2.0 E-7    | 3.9 E-7    | 9.4 E-7        | 8.9 E-7           | 18.5                      |
|   | HS 578T           | -   | -                        | 5.6 E-8           | -          | 1.9 E-7    | 2.2 E-6        | 6.6 E-7           | 4.0                       |
|   | BT-549            | -   | -                        | 5.7 E-8           | 5.6 E-7    | 3.6 E-7    | 4.1 E-6        | 7.0 E-7           | 21.5                      |
|   | T-47D             | -   | -                        | 4.5 E-8           | 1.4 E-5    | 2.1 E-7    | 6.8 E-7        | 3.2 E-7           | 16.3                      |
|   | MDA-MB-468        | -   | -                        | 1.7 E-8           | 4.9 E-8    | 4.6 E-8    | 4.0 E-7        | 1.8 E-7           | 16.8                      |

**Tableau 27 : Activité antitubuline et activités cytotoxiques de la série B (2/2).** <sup>a</sup> ITP : inhibition de la polymérisation de la tubuline, réalisés au laboratoire de substances naturelles de Gif-sur-Yvette ; <sup>b</sup> Tests effectués à Lille 2 ; <sup>c</sup> 13% d'inhibition de la polymérisation de la tubuline à 100  $\mu\text{M}$  ; <sup>d</sup> 34% d'inhibition de la polymérisation de la tubuline à 100  $\mu\text{M}$  ; <sup>e</sup> Tests NCI ; <sup>f</sup> GI<sub>50</sub> représente la concentration molaire en composé nécessaire à l'inhibition de 50% de la croissance cellulaire.



# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

|   |                   | Composé                                      | Phenstatine (14)       | IsoCA-4 (20)                        | 117                       | 118           | 144               |
|---|-------------------|--|------------------------|-------------------------------------|---------------------------|---------------|-------------------|
|   |                   | ITP ( $\mu\text{M}$ ) <sup>a</sup>           | 3.4 $\pm$ 0.7          | 2.0 $\pm$ 0.3 <sup>116</sup>        | 7.0 $\pm$ 0.3             | 2.9 $\pm$ 0.4 | N.T. <sup>b</sup> |
| Type de cellule                         | Lignée cellulaire |  |                        | GI <sub>50</sub> (M) <sup>c,d</sup> | GI % (10 <sup>-5</sup> M) |               |                   |
| Leucémie                                | CCRF-CEM          | -  | -                      | -                                   | 2.9 E-7                   | 3.5 E-8       | 56.8              |
|   | HL-60(TB)         | -  | -                      | -                                   | 1.8 E-7                   | 3.4 E-8       | 34.2              |
|   | K-562             | 4.0 E-8 <sup>86</sup>                        | 0.5 E-8 <sup>86</sup>  | -                                   | 6.5 E-8                   | 3.3 E-8       | 34.1              |
|   | MOLT-4            | -  | -                      | -                                   | 6.5 E-7                   | 5.4 E-8       | 47.5              |
|   | RPMI-8226         | -  | -                      | -                                   | 3.0 E-7                   | -             | 31.5              |
|   | SR                | -  | -                      | -                                   | 4.6 E-8                   | < 1.0 E-8     | 28.0              |
| Cancer du poumon non à petites cellules | A549/ATCC         | -  | 0.8 E-8 <sup>86</sup>  | -                                   | 4.5 E-7                   | 5.9 E-8       | 29.4              |
|   | EKVX              | -  | -                      | -                                   | 1.8 E-5                   | -             | 14.4              |
|   | HOP-62            | -  | -                      | -                                   | 6.2 E-7                   | -             | 0                 |
|   | NCI-226           | -  | -                      | -                                   | 1.1 E-5                   | -             | 4.9               |
|   | NCI-H23           | -  | -                      | -                                   | 5.0 E-7                   | 9.2 E-8       | 16.0              |
|   | NCI-H460          | 0.6 E-8 <sup>34</sup>                        | -                      | -                                   | 3.7 E-7                   | 4.8 E-8       | 22.0              |
|   | NCI-H522          | -  | -                      | -                                   | 1.0 E-7                   | 1.7 E-8       | 43.3              |
| Cancer du côlon                         | COLO 205          | 4.9 E-6 <sup>35</sup>                        | -                      | -                                   | 8.3 E-6                   | 2.0 E-6       | 0                 |
|   | HCC-2998          | -  | -                      | -                                   | 1.6 E-6                   | 3.9 E-7       | 0                 |
|   | HCT-116           | 3.3 E-8 <sup>116</sup>                       | 0.2 E-8 <sup>86</sup>  | -                                   | 4.2 E-7                   | 4.5 E-8       | 23.0              |
|   | HCT-15            | -  | -                      | -                                   | 1.5 E-7                   | 4.3 E-8       | 28.6              |
|   | HT29              | -  | -                      | -                                   | 3.5 E-6                   | 1.6 E-6       | 0                 |
|   | KM12              | -  | -                      | -                                   | 1.5 E-7                   | 1.5 E-8       | 19.3              |
|   | SW-620            | -  | -                      | -                                   | 2.6 E-7                   | 4.0 E-8       | 12.4              |
| Cancer du SNC                           | SF-268            | -  | -                      | -                                   | 9.1 E-7                   | 4.7 E-8       | 18.1              |
|   | SF-295            | 5.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                      | -                                   | 2.5 E-6                   | 1.1 E-6       | 15.1              |
|   | SF-539            | -  | -                      | -                                   | 2.4 E-7                   | 3.0 E-8       | 0                 |
|   | SNB-19            | -  | -                      | -                                   | 5.4 E-7                   | 4.8 E-8       | 9.9               |
|   | SNB-75            | -  | -                      | -                                   | 1.4 E-7                   | 2.7 E-8       | 16.2              |
| Mélanome                                | LOX IMVI          | -  | -                      | -                                   | 3.8 E-7                   | 4.5 E-8       | 32.2              |
|   | MALME-3M          | -  | -                      | -                                   | 1.8 E-5                   | 1.1 E-7       | 19.6              |
|   | M14               | -  | -                      | -                                   | 1.2 E-7                   | 2.3 E-8       | 16.0              |
|   | MDA-MB-435        | -  | 0.4 E-8 <sup>116</sup> | -                                   | 2.4 E-8                   | < 1.0 E-8     | -                 |
|   | SK-MEL-2          | -  | -                      | -                                   | 5.0 E-7                   | 8.7 E-8       | 11.6              |
|   | SK-MEL-5          | 0.4 E-8 <sup>117</sup>                       | -                      | -                                   | 3.8 E-7                   | 4.8 E-8       | 31.2              |
|   | SK-MEL-28         | -  | -                      | -                                   | 4.8 E-7                   | -             | 8.3               |
|   | UACC-257          | -  | -                      | -                                   | 4.4 E-6                   | 5.3 E-7       | 5.4               |
|   | UACC-62           | -  | -                      | -                                   | 3.7 E-6                   | 1.7 E-6       | 22.6              |
| Cancer de l'ovaire                      | IGROV1            | -  | -                      | -                                   | 2.4 E-6                   | 1.9 E-6       | 16.0              |
|   | OVCAR-3           | 0.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                      | -                                   | 3.2 E-7                   | 2.7 E-8       | 25.2              |
|   | OVCAR-4           | -  | -                      | -                                   | 7.9 E-6                   | -             | 40.1              |
|   | OVCAR-5           | -  | -                      | -                                   | 3.5 E-6                   | 6.7 E-6       | 0                 |
|   | OVCAR-8           | -  | -                      | -                                   | 4.3 E-7                   | 4.3 E-8       | 52.4              |
|   | NCI/ADR-RES       | -  | -                      | -                                   | 1.7 E-7                   | 2.8 E-8       | 30.6              |
|   | SK-OV-3           | -  | -                      | -                                   | 2.7 E-7                   | 2.4 E-8       | 0                 |
| Cancer du rein                          | 786-0             | -  | -                      | -                                   | 1.2 E-6                   | 2.7 E-7       | 0                 |
|   | A498              | 3.8 E-7 <sup>117</sup>                       | -                      | -                                   | 2.3 E-6                   | 3.2 E-6       | -                 |
|   | ACHN              | -  | -                      | -                                   | 1.1 E-6                   | 1.1 E-7       | 10.9              |
|   | CAKI-1            | -  | -                      | -                                   | 6.6 E-6                   | 7.8 E-7       | 0                 |
|   | RXF 393           | -  | -                      | -                                   | 3.3 E-7                   | 2.1 E-8       | 11.6              |
|   | SN12C             | -  | -                      | -                                   | 7.7 E-7                   | 5.8 E-8       | 22.2              |
|   | TK-10             | -  | -                      | -                                   | 5.3 E-6                   | 1.2 E-5       | 0                 |
|   | UO-31             | -  | -                      | -                                   | 9.2 E-7                   | 8.7 E-8       | 28.7              |
| Cancer de la prostate                   | PC-3              | -  | -                      | -                                   | 3.7 E-7                   | 3.8 E-8       | 34.0              |
|   | DU-145            | 3.4 E-8 <sup>35</sup>                        | -                      | -                                   | 3.9 E-7                   | 3.5 E-8       | 9.2               |
| Cancer du sein                          | MCF7              | 4.4 E-7 <sup>35</sup> /3.4 E-8 <sup>38</sup> | -                      | -                                   | 3.2 E-7                   | 4.8 E-8       | 30.6              |
|   | MDA-MB-231/ATCC   | -  | 0.4 E-8 <sup>86</sup>  | -                                   | 2.5 E-7                   | 4.6 E-8       | 26.9              |
|   | HS 578T           | -  | -                      | -                                   | 1.8 E-7                   | 2.4 E-8       | -                 |
|   | BT-549            | -  | -                      | -                                   | 5.2 E-7                   | 1.4 E-7       | 18.5              |
|   | T-47D             | -  | -                      | -                                   | 1.0 E-5                   | 5.7 E-6       | 36.6              |
|   | MDA-MB-468        | -  | -                      | -                                   | 1.5 E-6                   | 5.8 E-7       | 19.2              |

**Tableau 28 : Activité antitubuline et activités cytotoxiques de la série C.** <sup>a</sup> ITP : inhibition de la polymérisation de la tubuline, réalisés au laboratoire de substances naturelles de Gif-sur-Yvette ; <sup>b</sup> N.T. : non testé ; <sup>c</sup> Tests NCI ; <sup>d</sup> GI<sub>50</sub> représente la concentration molaire en composé nécessaire à l'inhibition de 50 % de la croissance cellulaire.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

### 2. 4. 2. Discussion

#### 2. 4. 2. 1. Activité antitubuline

##### Série A : Cycle A – 3,4,5-triméthylphényle

Les six composés synthétisés dans cette série (**103**, **104**, **105**, **106**, **107**, **108**) possèdent tous une bonne, voire très bonne, activité antitubuline.

Un composé se détache particulièrement : l'analogue strict de la phenstatine présente à la fois la meilleure activité antitubuline parmi nos composés (**103** : 2,4  $\mu\text{M}$ ) et une activité plus importante que la phenstatine utilisée en référence dans nos conditions de test (phenstatine : 3,4  $\mu\text{M}$ ).

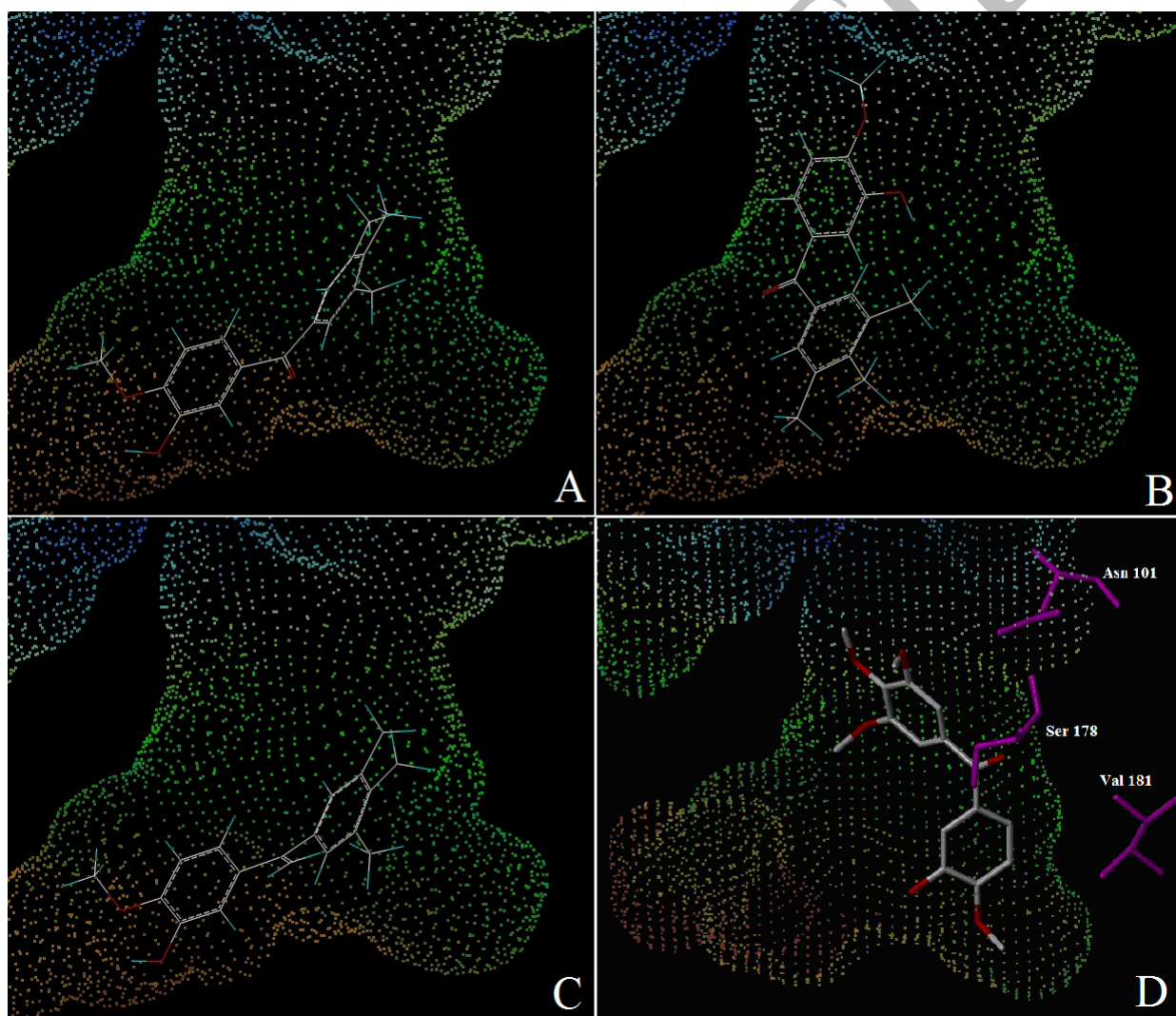


Figure 58 : Modélisation moléculaire de 103 (A et B), 104 (C) et de la phenstatine (D) dans le site de liaison de la tubuline.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

Etonnamment, le docking de **103** dans le site de liaison de la colchicine montre deux conformations principales (A et B, Figure 58) qui diffèrent des conformations de la phenstatine (D, Figure 58) et de la CA-4. La conformation A, dans laquelle le cycle méthylé A est positionné dans la poche du cycle B de la CA-4 présente une liaison hydrogène entre l'hydroxyle et Val 288 (non représentée).

Son dérivé *isocombrétastatine*, bien que moins actif que son précurseur et que la référence (ainsi que l'*isoCA-4*), possède une activité du même ordre de grandeur (**104** : 4,9  $\mu\text{M}$ ). Sa conformation la plus stable (C, Figure 58) est similaire à la conformation B de son précurseur et est également capable de former une liaison hydrogène entre son hydroxyle et Val 288.

Le meilleur cycle B reste le cycle classique 3'-hydroxy-4'-méthoxyphényle. Le remplacement de ce cycle par le cycle 3'-amino-4'-méthoxyphényle de l'AVE8063, ou par le cycle 3'-hydroxy-2',4'-diméthoxyphényle du métabolite le plus actif de la phenstatine permet de conserver des activités du même ordre de grandeur en série phenstatine (composés **105** et **107**, respectivement 5,1 et 6,2  $\mu\text{M}$ ), mais dès le passage en série *isocombrétastatine* avec ces substitutions, l'activité antitubuline chute (composés **106** et **108**). En comparaison avec le métabolite **M<sub>p</sub>6** et l'*isocombrétastatine* **167** correspondante en série classique – 3,4,5-triméthoxyphényle – la présence sur **107** et **108** du cycle 3,4,5-triméthylphényle altère l'activité antitubuline : on passe de 1,2  $\mu\text{M}$  (**M<sub>p</sub>6**) à 6,2  $\mu\text{M}$  (**107**) en série benzophénone et de 1,8  $\mu\text{M}$  (**168**) à 45,1  $\mu\text{M}$  (**108**) en série *isocombrétastatine*.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

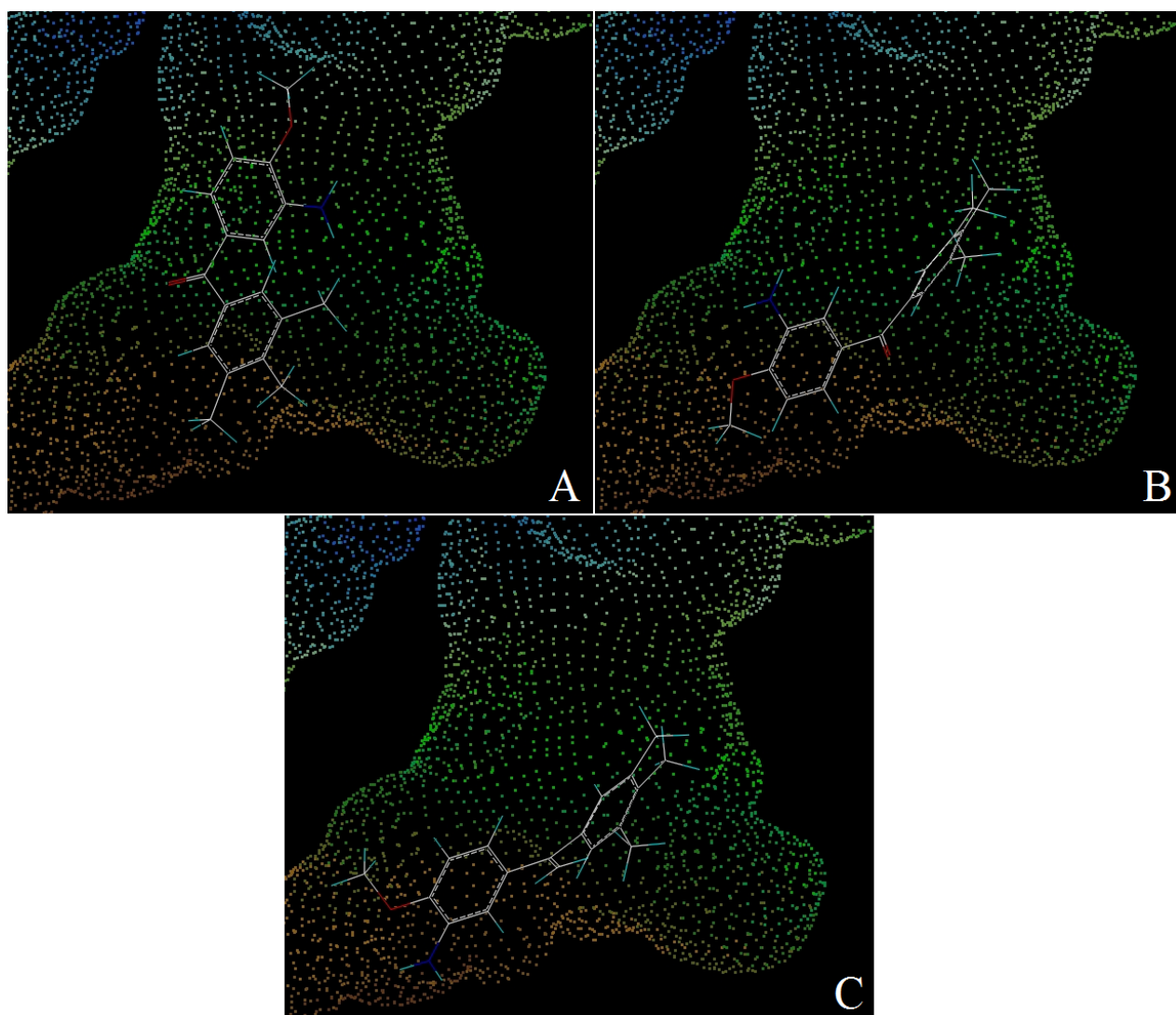
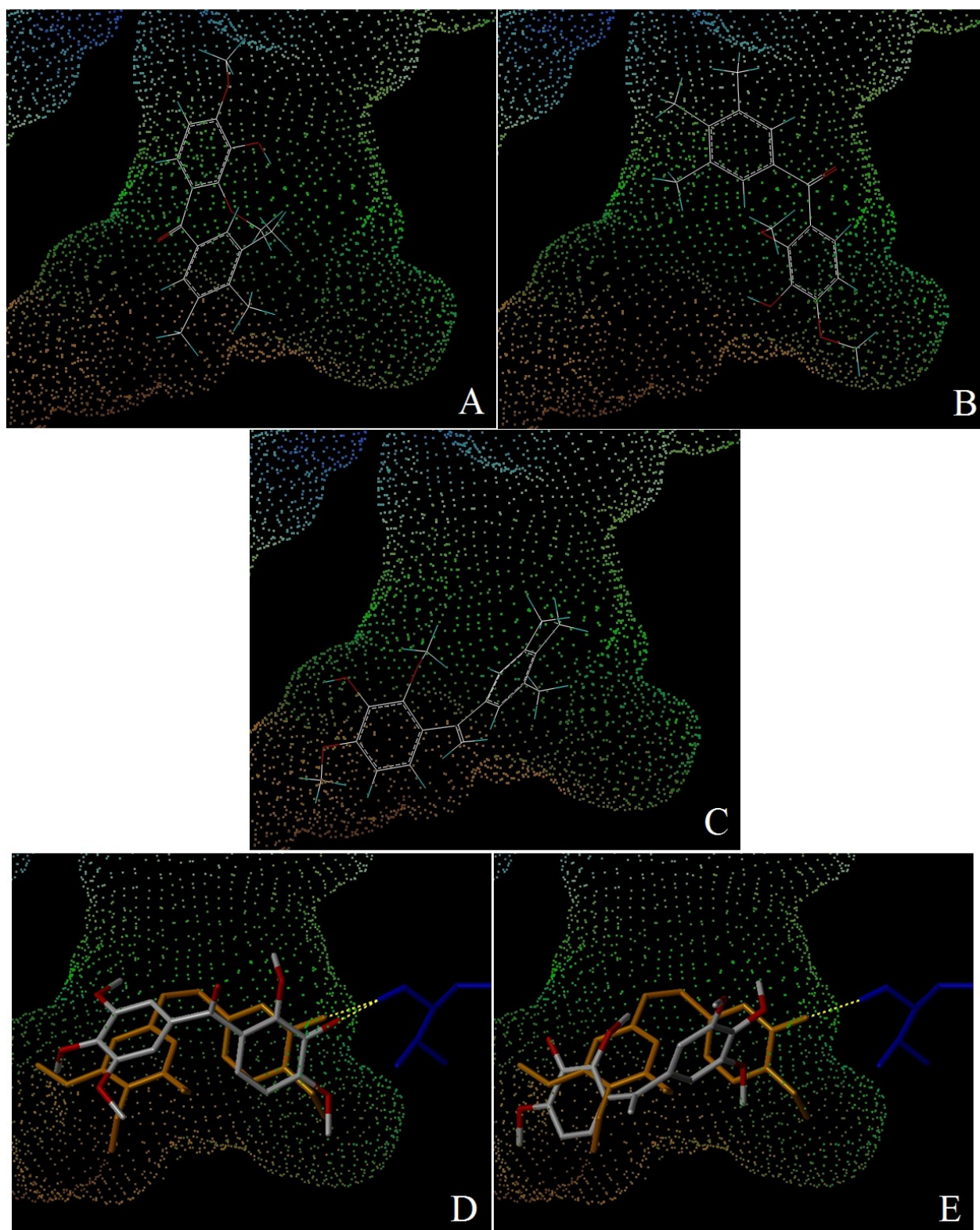


Figure 59 : Modélisation moléculaire de 105 (A et B) et 106 (C) dans le site de liaison de la tubuline.

On retrouve, là encore, deux conformations possibles pour **105** (A et B, Figure 59). Dans le cas de l'*isocombrétastatine* **106**, une seule conformation est stable (C, Figure 59), avec également la possibilité d'une liaison hydrogène avec Val 288 comme c'était le cas précédemment. Concernant la modélisation du composé **107**, on trouve encore deux conformations possibles (A et B, Figure 60) dont la B qui se superpose à la phenstatine mais qui diffère totalement de la conformation du métabolite **M<sub>P</sub>6**, son analogue strict, qui se positionne dans une orientation proche de celle de la CA-4, en faisant une liaison avec Val 181 (D, Figure 60).

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé



## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

L'*isocombrétastatine* **108** se positionne comme les deux précédentes molécules, établissant également une liaison entre le groupe hydroxyle et Val 288, de la même manière que son analogue **168** en série 3,4,5-triméthoxyphényle (E, Figure 60).

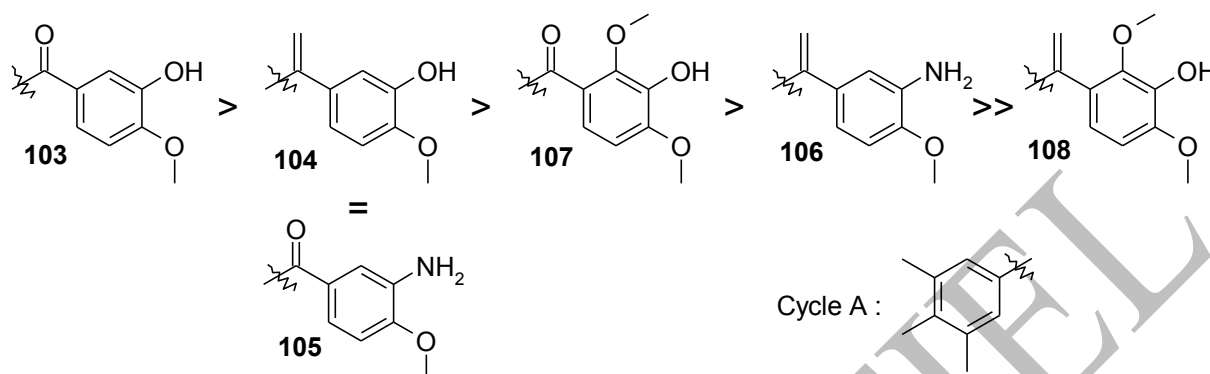


Figure 61 : Ordre décroissant de l'activité antitubuline selon le pont et le cycle B utilisés pour substituer le cycle A – 3,4,5-triméthylphényle.

#### Série B : Cycle A – 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle

Parmi les huit composés synthétisés dans cette série, quatre possèdent une activité supérieure à celle de la référence : **110**, **111**, **112** et **113**. Les composés **111** (6,3  $\mu$ M, tests Lille 2) et **112** (1,3  $\mu$ M, tests CNRS), analogues stricts de la phenstatine et de l'*isoCA-4* dans cette série sont les plus actifs de la série (phenstatine : 11,1  $\mu$ M, tests Lille 2 et 3,4  $\mu$ M, tests CNRS). Le composé **112** présente en fait la meilleure activité antitubuline parmi tous nos composés. De ces premiers résultats, on peut déduire que, là encore, le cycle B classique est le meilleur, associé à un cycle A méthylé, que ce soit en série phenstatine ou en série *isocombrétastatine*. Néanmoins, l'absence du groupement hydroxyle n'est pas un inconvénient en série *isocombrétastatine*, au vu de l'activité de **110** (son précurseur **109** doit encore être testé).

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

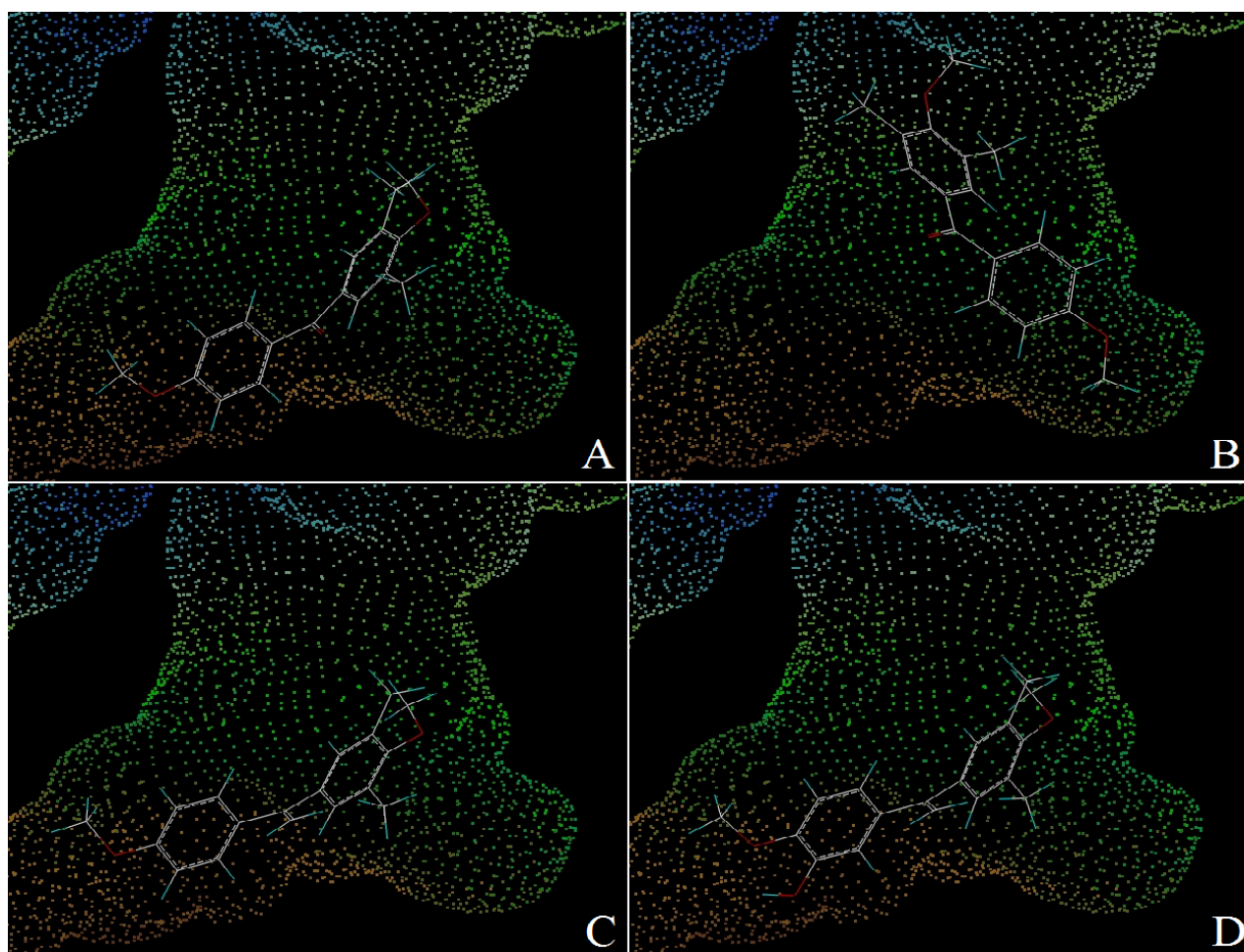


Figure 62 : Modélisation moléculaire de **109** (A et B), **110** (C) et **112** (D) dans le site de liaison de la tubuline.

Hormis pour **109** (conformation B), on retrouve la même conformation pour les trois dérivés (Figure 62). On peut en déduire que l'activité antitubuline de **109** sera du même ordre de grandeur que **110** et **112**.

En 2010, le Dr. A. Ghinet avait déjà remarqué que, pour le composé **113** portant un cycle 3'-amino-2',4'-diméthoxyphényle en cycle B, le remplacement du cycle A classique par un cycle 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle était possible sans faire chuter l'activité. En série *isocombrétastatine*, cette substitution permet de garder une bonne activité antitubuline (**114** : 16,3  $\mu\text{M}$ ) même si cette valeur est inférieure à celle de son précurseur et à celle de la référence. Le composé **114** présente deux conformations plus stables dans le site (Figure 63) : la conformation A étant similaire aux conformations habituelles observées chez les *isocombrétastatines* précédentes et la conformation B qui permet une liaison hydrogène entre l'amine du cycle B et

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

Thr  $\alpha$ 179. En cela, cette dernière conformation se rapproche de notre dérivé azoté **49** en série combrétastatine, qui présente également cette liaison avec Thr  $\alpha$ 179.

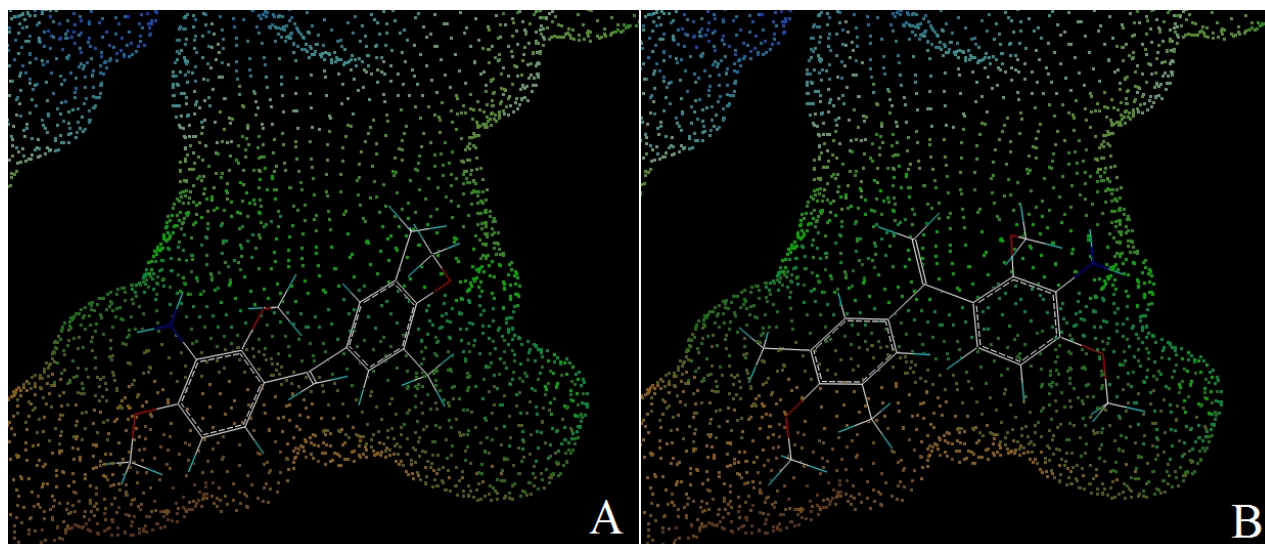


Figure 63 : Modélisation moléculaire de 114 (A et B) dans le site de liaison de la tubuline.

Les composés possédant un cycle B original 4'-fluoro-2',5'-diméthoxyphényle bien qu'ayant une bonne activité en série phenstatine (**115** : 25,0  $\mu$ M, tests Lille 2), perdent toute activité en série *isocombrétastatine* (**116** : 34 % d'inhibition à 100  $\mu$ M). Cette remarque est d'ailleurs confirmée par une même tendance observée en série classique – 3,4,5-triméthoxyphényle – dans laquelle la benzophénone **136** possède une activité antitubuline de 24  $\mu$ M, mais son *isocombrétastatine* n'est pas active (**169** : 13 % d'inhibition à 100  $\mu$ M).



# Stratégies de synthèse

## Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

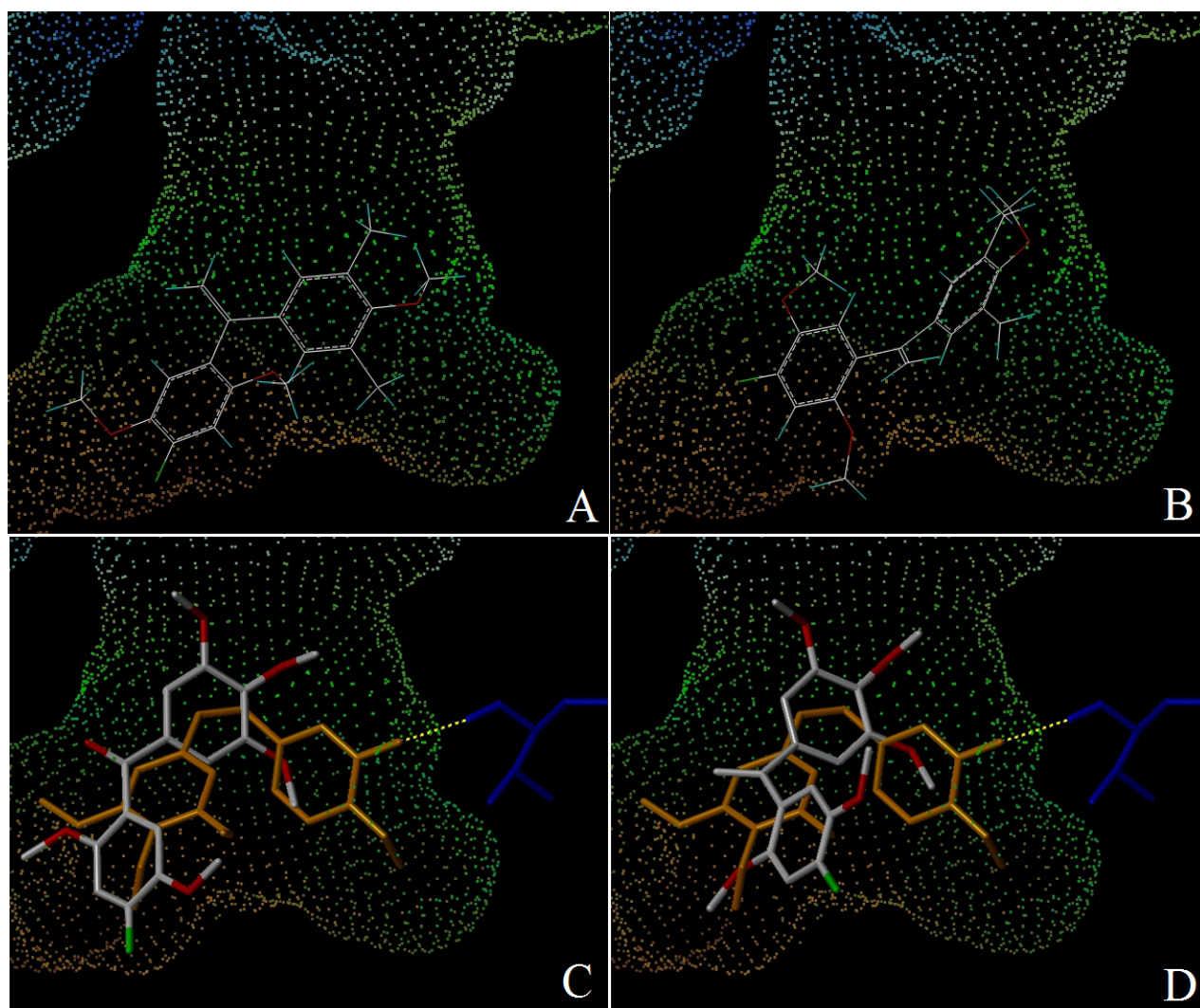


Figure 64 : Modélisation moléculaire de 116 (A et B), 136 (C) et 169 (D) dans le site de liaison de la tubuline. Dans les figures C et D, la CA-4 est représentée en orange, avec une liaison hydrogène entre son hydroxyle et la Val 181 en bleu.

Dans la série 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle, on peut également remettre en évidence l'analogue du métabolite le plus actif de la phenstatine **174** (Figure 65) synthétisée par le Dr. A. Ghinet, qui possède une activité supérieure à la phenstatine (6,3  $\mu\text{M}$  contre 11,1  $\mu\text{M}$ , tests Lille 2). Il serait intéressant d'étudier l'impact de cette substitution en série *isocombrétastatine*.

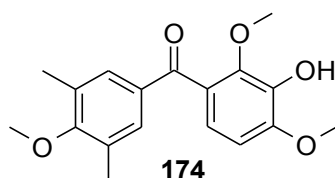


Figure 65 : Analogue **174** du métabolite le plus actif de la phenstatine, en série 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

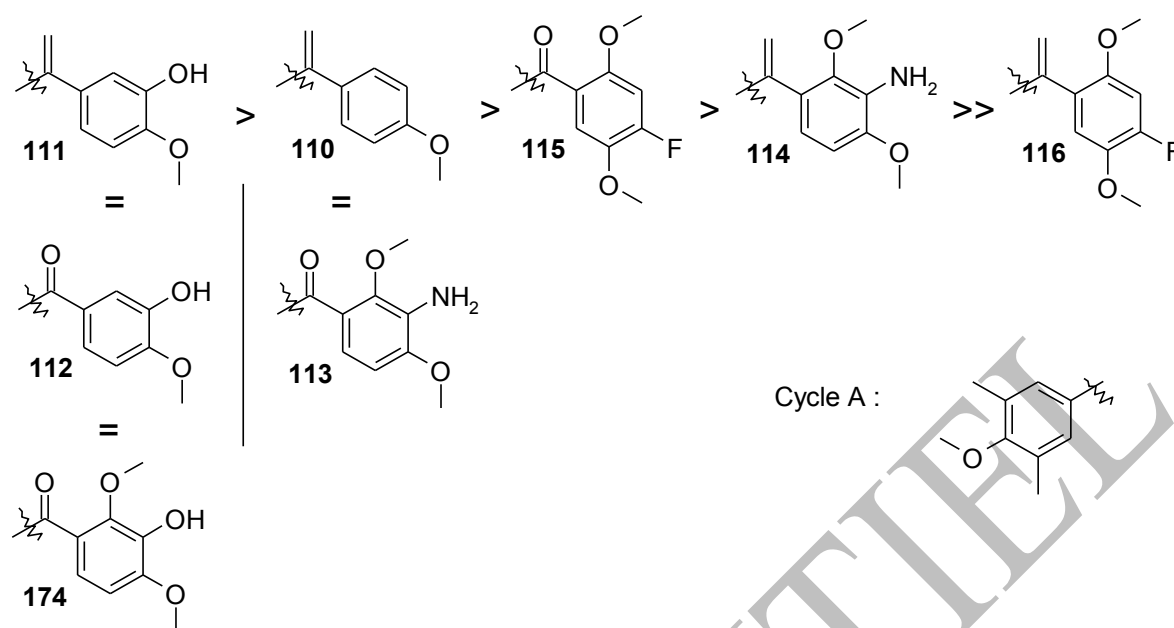


Figure 66 : Ordre décroissant d'activité selon la nature du cycle B et du pont pour la série B.

#### Série C : Cycle A – 3,5-diméthoxy-4-méthylphényle

Les deux analogues **117** et **118** préparés dans cette série ont de bonnes activités antitubuline. Le dérivé en série *isocombrétastatine* (**118** : 2,9  $\mu\text{M}$ ) possède une meilleure activité que la phenstatine elle-même (3,4  $\mu\text{M}$ ). Dans les deux cas, la conformation la plus stable adoptée par la molécule est celle qui permet une liaison hydrogène entre l'hydroxyle et Val 288 (A et B, Figure 67).

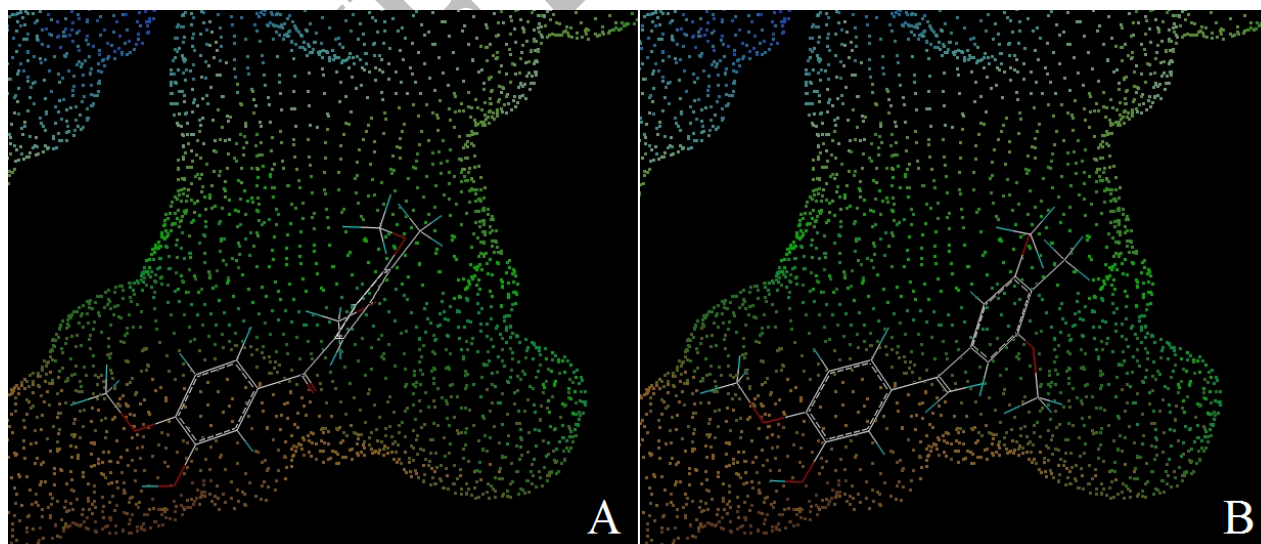


Figure 67 : Modélisation moléculaire de 117 (A) et 118 (B) dans le site de liaison de la tubuline.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

Il est à noter que l'analogue du métabolite le plus actif de la phenstatine **175** (Figure 68) dans cette série, synthétisé par le Dr. A. Ghinet, possède une activité du même ordre mais inférieure à la phenstatine (15,3  $\mu$ M contre 11,1  $\mu$ M, tests Lille 2). Il serait intéressant de synthétiser et d'évaluer son dérivé *isocombrétastatine*.

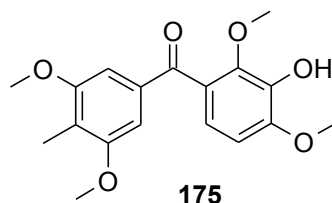


Figure 68 : Analogue **175** du métabolite le plus actif de la phenstatine, en série 3,5-diméthoxy-4-méthylphényle.

Le produit secondaire cyclique **144** n'a pas été testé dans pour son inhibition de la polymérisation de la tubuline car, vu sa taille, il est peu probable qu'il entre dans le site de liaison de la colchicine.

#### Comparaison des séries entre-elles

En comparant les analogues selon la substitution de leur pont et de leur cycle B, on peut ordonner les différents cycles A selon leur influence sur l'activité inhibitrice de la tubuline. Dans notre cas, nous ne pouvons comparer que les analogues substitués par un cycle B classique et par un cycle B de type 3'-hydroxy-2',4'-diméthoxyphényle.

Tableau 29 : Ordre décroissant d'activité selon la nature du cycle A.

| Cycle B | Pont | Cycles A                      |
|---------|------|-------------------------------|
|         |      | >             >             > |
|         |      | >             >             > |
|         |      | >             >             > |

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

On observe de meilleures activités pour les analogues possédant un cycle A de type 3,5-diméthyl-4-méthoxyphényle (le produit le plus actif est l'isocombrétastatine **112** puis son précurseur phenstatine **111**), suivi par le cycle 4-méthyl-3,5-diméthoxyphényle, puis par le cycle 3,4,5-triméthylphényle. On peut supposer que le cycle 3,5-diméthyl-4-méthoxyphényle présente un profil de lipophilie qui est le meilleur compromis entre le cycle 3,4,5-triméthylphényle et le 3,4,5-triméthoxyphényle, favorisant ainsi sa liaison au site.

#### 2. 4. 2. 2. Activité cytotoxique

##### Série A : Cycle A – 3,4,5-triméthylphényle

Dans cette série, 4 molécules ont été testées sur les 60 lignées : **103**, **104**, **105**, **106** et **107**. **108** n'a pas été sélectionné par le NCI.

Les 3 premières ont les meilleurs profils d'activité avec la plupart des lignées dans le nanomolaire. **106** et **107** sont globalement moins actives que les autres.

**103** (Tableau 24) présente de meilleures activités sur les lignées MDA-MB-435 du mélanome ( $GI_{50} = 2,1 \cdot 10^{-8}$  M), HL-60(TB) de la leucémie ( $GI_{50} = 2,5 \cdot 10^{-8}$  M) et SNB-75 du cancer du SNC ( $GI_{50} = 2,5 \cdot 10^{-8}$  M). **103** présente une activité du même ordre de grandeur que celle de la phenstatine sur les lignées K-562 de la leucémie ( $GI_{50} = 3,8 \cdot 10^{-8}$  M contre  $4,0 \cdot 10^{-8}$  M), HCT-116 du cancer du côlon ( $GI_{50} = 3,9 \cdot 10^{-8}$  M contre  $3,3 \cdot 10^{-8}$  M) et MCF-7 du cancer du sein ( $GI_{50} = 3,8 \cdot 10^{-8}$  M contre  $3,4 \cdot 10^{-8}$  M). Son isocombrétastatine **104** (Tableau 24) présente un profil similaire mais est globalement plus active. Elle présente de meilleures activités sur les lignées SK-MEL-5 de mélanome ( $GI_{50} = 1,8 \cdot 10^{-8}$  M), MDA-MB-435 du mélanome ( $GI_{50} = 1,9 \cdot 10^{-8}$  M), NCI-H522 du cancer du poumon non à petites cellules ( $GI_{50} = 2,4 \cdot 10^{-8}$  M) et SF-539 du cancer du SNC ( $GI_{50} = 2,5 \cdot 10^{-8}$  M). Elle présente des activités similaires à celles de la phenstatine et de son précurseur sur les lignées K-562 ( $GI_{50} = 3,7 \cdot 10^{-8}$  M) et MCF-7 ( $GI_{50} = 3,7 \cdot 10^{-8}$  M). Ce composé est actuellement examiné par le BEC (Biological Committee Evaluation) pour savoir s'il serait intéressant de le tester sur petits animaux.

Dans cette série, c'est le composé **105** (Tableau 24), possédant un cycle B de type 3'-amino-4'-méthoxyphényle, qui présente les activités cytotoxiques les plus importantes. Alors que les analogues présentaient des activités de l'ordre du micromolaire sur la lignée COLO 205 du cancer du côlon et sur la lignée MDA-MB-468 du cancer du sein, l'activité de **105** est de l'ordre du nanomolaire ( $GI_{50} = 4,0 \cdot 10^{-8}$  M et  $GI_{50} = 1,9 \cdot 10^{-8}$  M). C'est d'ailleurs sur cette dernière lignée et sur la lignée MDA-MB-435 du mélanome ( $GI_{50} = 1,7 \cdot 10^{-8}$  M) que le composé est le plus actif.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

**105** est, par ailleurs, plus actif que la phenstatine sur les lignées SF-295 du cancer du SNC ( $GI_{50} = 3,9 \cdot 10^{-8}$  M contre  $5,2 \cdot 10^{-8}$  M) et A498 du cancer du rein ( $GI_{50} = 2,6 \cdot 10^{-8}$  M contre  $3,8 \cdot 10^{-7}$  M). **106** est globalement moins active que son précurseur, avec des lignées principalement à  $10^{-7}$  M. On observe néanmoins une spécificité sur la lignée MDA-MB-435 du mélanome avec une  $GI_{50} = 3,5 \cdot 10^{-8}$  M (Tableau 24).

Ainsi que le faisait remarquer le Dr. Ghinet, le métabolite **M<sub>p</sub>6** présente des cytotoxicités significatives sur les lignées M14 et MDA-MB-435 du mélanome ( $GI_{50} < 1,0 \cdot 10^{-8}$  M)<sup>37</sup>. Des activités inférieures au nanomolaire sont également observées pour les lignées K-562 de la leucémie, NCI-H522 du cancer du poumon non à petites cellules, KM12 du cancer du côlon, NCI/ADR-RES du cancer de l'ovaire, et les lignées HS 578T et BT-549 du cancer du sein (Tableau 25). Son dérivé *isocombrétastatine* **168** (Tableau 25) montre également une activité inférieure au nanomolaire sur la lignée MDA-MB-435, mais est globalement moins active que son précurseur. Le remplacement du cycle A classique par le cycle 3,4,5-triméthylbenzène fait perdre toute activité en série phenstatine (**107**, Tableau 25). Son dérivé *isocombrétastatine* **108** n'a pas été sélectionné par le NCI pour ces tests.

#### Série B : Cycle A – 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle

Les produits **109**, **110**, **112**, **114**, et **117** ont été envoyés en tests cytotoxiques au NCI. **117** n'a été testé que pour une concentration de  $10^{-5}$  M (Tableau 28) et n'a pas été sélectionné des tests supplémentaires.

La phenstatine **109** (Tableau 26) possède des activités de l'ordre du nanomolaire pour la plupart des lignées cellulaires. Les lignées les plus réactives sont NCI-H522 de la leucémie ( $GI_{50} = 3,0 \cdot 10^{-8}$  M), HT29 du cancer du côlon ( $GI_{50} = 3,7 \cdot 10^{-8}$  M), MCF7 du cancer du sein ( $GI_{50} = 3,6 \cdot 10^{-8}$  M) et surtout, la lignée MDA-MB-435 du mélanome ( $GI_{50} = 1,8 \cdot 10^{-8}$  M).

L'*isocombrétastatine* **110**, le dérivé de **109**, possède des activités de l'ordre du nanomolaire pour la majorité des lignées cellulaires. Elle présente des activités importantes pour les lignées MDA-MB-435 du mélanome ( $GI_{50} = 1,9 \cdot 10^{-8}$  M), NCI-H522 du cancer du poumon non à petites cellules ( $GI_{50} = 2,2 \cdot 10^{-8}$  M) et HL-60(TB) de la leucémie ( $GI_{50} = 2,2 \cdot 10^{-8}$  M). Elle présente, par ailleurs, de meilleures activités que la phenstatine pour les lignées K-562 de la leucémie, COLO 205 du côlon et SF-295 du cancer du SNC.

Le composé **112** est le **plus actif de tous les composés méthylés** présentés dans ce chapitre. La plupart des activités sont inférieures au nanomolaire et la transformation en *isocombrétastatine* apporte un gain d'activité par rapport à son précurseur **111**, qui possédait déjà

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

des très bonnes activités dont certaines déjà inférieures au nanomolaire. Les lignées de la leucémie, du cancer du SNC, du mélanome et du cancer de la prostate répondent particulièrement bien à **112**.

Les cytotoxicités des composés **111** et **112** ont été confirmées sur trois lignées cellulaires HCT116 (côlon), K562 (leucémie) et U87 (glioblastome) au laboratoire Gif-sur-Yvette (Tableau 30). Pour les deux premières lignées, les activités sont du même ordre de grandeur que celles données par les tests NCI.

Tableau 30 : Cytotoxicités de **111** et **112** après 72 h de traitement sur les lignées HCT116 (côlon), K562 (leucémie) et U87 (glioblastome).

|            | IC <sub>50</sub> (nM) |      |     |
|------------|-----------------------|------|-----|
|            | HCT116                | K562 | U87 |
| <b>111</b> | 7                     | 8    | 4.3 |
| <b>112</b> | 7                     | 5,5  | 2,3 |

Le composé **113** est actif sous le nanomolaire pour quelques lignées (notamment SR mais également MALME-3M et MDA-MB-435 du mélanome). Ce composé est actuellement examiné par le BEC (Biological Committee Evaluation) pour savoir s'il serait intéressant de le tester sur petits animaux. La transformation en *isocombrétastatine* **114** diminue son activité. Les meilleures activités sont de l'ordre de  $4,0 \cdot 10^{-8}$  M (lignées A498 du cancer du rein, SR et K-562 de la leucémie, et MCF7 du cancer du rein). On observe encore une spécificité d'action sur la lignée MDA-MB-435 du mélanome ( $GI_{50} = 2,5 \cdot 10^{-8}$  M).

Enfin, comme dit précédemment, **116** n'a pas été retenu pour des tests sur les 60 lignées, vu ses activités à  $10^{-5}$  M. Si l'on compare à son analogue en série 3,4,5-triméthoxyphényle, on remarque que le passage de la benzophénone **136** à l'*isocombrétastatine* **169** engendre une importante perte d'activité. Vu les faibles cytotoxicités de **115**, il semble logique que **116** ne présente pas un profil intéressant.

#### Série C : Cycle A – 3,5-diméthoxy-4-méthylphényle

Les composés **117**, **118** et **144** ont tous trois été soumis au NCI. **118** et **144** ont été testés à  $10^{-5}$  M. Seul **118** a été testé à 5 doses au NCI.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

**117** présente des activités de l'ordre du nanomolaire pour les lignées K-562 de la leucémie ( $GI_{50} = 6,5 \cdot 10^{-8}$  M) et la lignée MDA-MB-435 du mélanome ( $GI_{50} = 2,4 \cdot 10^{-8}$  M).

Les premières cytotoxicités du composé **118** ont été réalisées sur trois lignées cellulaires HCT116 (côlon), K562 (leucémie) et U87 (glioblastome) au laboratoire Gif-sur-Yvette (Tableau 31).

Tableau 31 : Cytotoxicités de **118** après 72 h de traitement sur les lignées HCT116 (côlon), K562 (leucémie) et U87 (glioblastome).

|            | IC <sub>50</sub> (nM) |      |     |
|------------|-----------------------|------|-----|
|            | HCT116                | K562 | U87 |
| <b>118</b> | 65                    | 40   | 14  |

Les cytotoxicités NCI de **118** montrent un gain d'activité par rapport à **117**, avec la plupart des lignées de l'ordre du nanomolaire. Les lignées qui se détachent sont les lignées SR de la leucémie ( $GI_{50} < 1,0 \cdot 10^{-8}$  M) et MDA-MB-435 ( $GI_{50} < 1,0 \cdot 10^{-8}$  M), puis les lignées NCI-H522 du cancer du poumon non à petites cellules ( $GI_{50} = 1,7 \cdot 10^{-8}$  M) et KM12 du cancer du côlon ( $GI_{50} = 1,7 \cdot 10^{-8}$  M).

#### 2. 4. 2. 3. Activités supplémentaires pour les composés **111** et **112**

L'analyse de l'effet de **111** et **112** sur le cycle cellulaire sur des cellules HCT116 montre que les molécules induisent un arrêt en phase G2/M (Figure 69), **111** étant légèrement plus active que **112**.

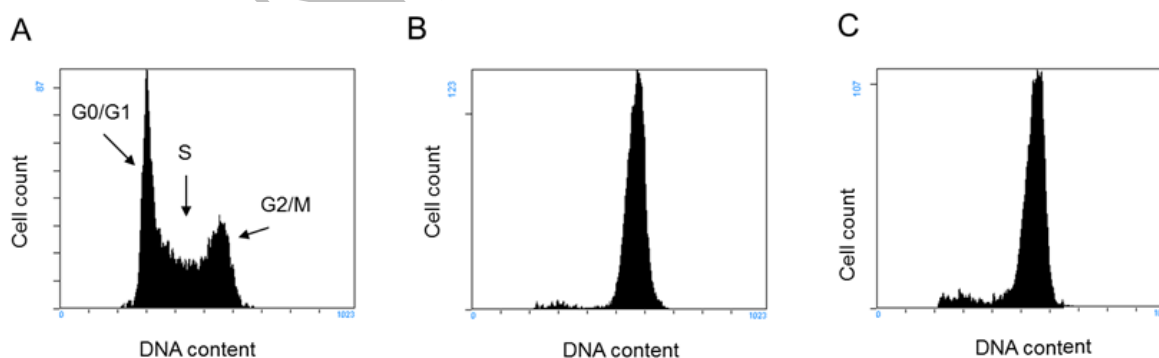


Figure 69 : Effets de **111** et **112** sur le cycle cellulaire de cellules HCT116. Les cellules ont été traitées 24 h à une concentration de 50 nM avec du DMSO (A), **111** (B) et **112** (C).

Par ailleurs, des tests d'induction de l'apoptose à des concentrations de 7,5 nM et 10 nM ont été effectués pour les deux composés. Concernant **111**, l'apoptose augmente de 325 % à 7,5

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

nM et de 350 % à 10 nM et pour **112** de 400 % à 7,5 nM et de 340 % à 10 nM (Figure 70). Il est à noter que l'*isocombrétastatine* **112** est plus active à une plus faible concentration alors que la tendance est inverse chez la phenstatine **111**.

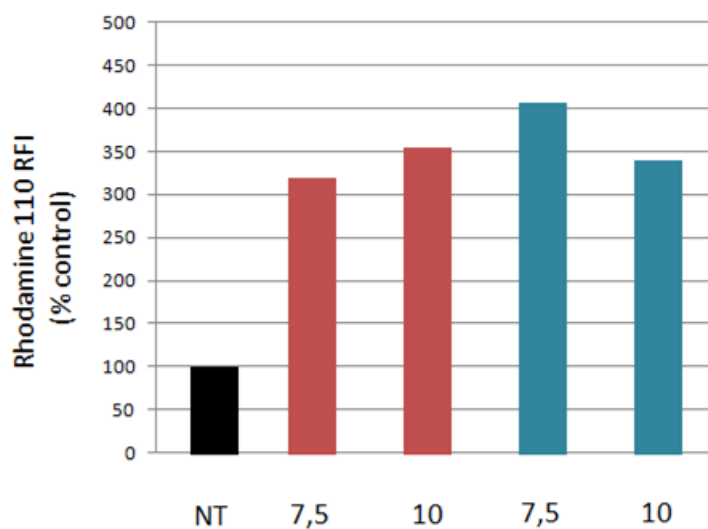


Figure 70 : Induction de l'apoptose sur des cellules HCT116 pour des concentrations de 7,5 et 10 nM en composés **111** (rouge) et **112** (bleu), par mesure de l'activité des caspases 3 et 7.

## 2. 5. Conclusion

15 composés (dont le produit cyclique **144** et les deux produits en série 3,4,5-triméthoxyphényle) ont été synthétisés et évalués biologiquement. Il en ressort que le remplacement des groupements méthoxy pour des groupes méthyles sur le cycle A est une modification qui se justifie pleinement au vu des activités de nos composés.

C'est notamment vrai pour les composés comportant le cycle B classique – 3'-hydroxy-4'-méthoxyphényle – qui présentent généralement les activités antitubuliniques et cytotoxiques les plus importantes de leur série. En série 3,4,5-triméthylphényle, c'est le composé **105**, comportant le cycle B de type 3'-amino-4'-méthoxyphényle qui est le plus actif mais les analogues **103** et **104** présentent malgré tout de très bonnes activités. On peut supposer que le cycle aminé apporte un caractère hydrophile plus important que dans le cas de **103** et **104** ; ce qui peut expliquer son activité plus marquée tant au niveau de la tubuline que de la cytotoxicité.

Mais le produit qui se détache particulièrement du lot est **112**, l'*isocombrétastatine* analogue directe de l'*isocombrétastatine* A-4 en série 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle. Ce composé présente à la fois la meilleure activité antitubuline et les meilleures activités cytotoxiques de tous nos analogues. Le cycle A de type 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle semble un bon



## Stratégies de synthèse

### Chapitre 2. Synthèse d'analogues possédant un cycle A méthylé

compromis entre le cycle 3,4,5-triméthoxyphényle très hydrophile et le cycle 3,4,5-triméthylphényle très lipophile dès lors que le cycle B est le cycle classique. Cette hypothèse est supportée par l'activité du composé **117**, qui possède un cycle A de type 3,5-diméthoxy-4-méthylphényle et qui est encore moins actif que le cycle 3,4,5-triméthylphényle.

Enfin, deux composés, **104** et **113**, sont actuellement évalués par le BEC du NCI afin de déterminer s'ils seront testés sur rongeurs.

CONFIDENTIEL

### Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

Outre les deux séries développées précédemment, un certain nombre d'analogues diversement substitués sur le cycle A a été synthétisé au laboratoire ; l'objectif étant de compléter les relations structure - activités. Ainsi, des dérivés de type *isocombrétastatine* possédant des cycles A et B avec des substituants originaux ont été synthétisés à partir de benzophénones par réaction de Wittig.

#### 3. 1. Synthèse de nouvelles *isocombrétastatines*

Le dérivé **176**, synthétisé au laboratoire par le Dr. A. Ghinet, possède pour cycle A original un 2,4,5-trifluoro-3-méthoxyphényle. Une telle substitution a été envisagée car la présence des atomes de fluor peut permettre d'augmenter la lipophilie<sup>65</sup> et de modifier sa métabolisation. Malheureusement, ce composé possède des activités cytotoxiques de l'ordre du micromolaire, plus faibles que pour la plupart des composés en série benzophénone (Tableau 32). Dans un but de comparaison, il a cependant semblé intéressant de synthétiser l'*isocombrétastatine* correspondante. Le composé **177** a été obtenu par réaction de Wittig sur la benzophénone **176**, dans les mêmes conditions que précédemment, avec un rendement de 34 %.

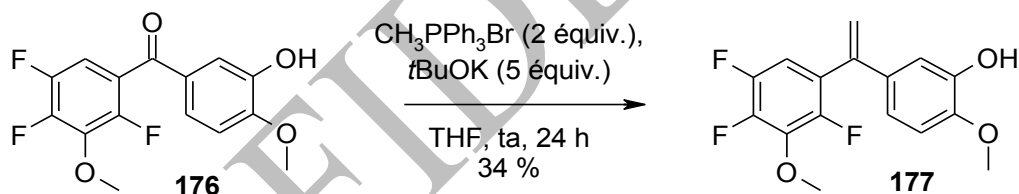


Schéma 72 : Réaction de Wittig sur le dérivé fluoré 177.

L'activité antitubuline et cytotoxique de **177** ont été évaluées. Il en ressort que la transformation en *isocombrétastatine* dans ce cas, apporte bien un gain d'activité cytotoxique (sauf sur deux lignées HCT-116 du cancer du côlon et T-47D du cancer du sein). Le composé semble avoir une spécificité pour les lignées cellulaires leucémiques et pour le cancer du SNC avec des activités de l'ordre du nanomolaire sur presque toutes les lignées. La lignée K-562 de la leucémie répond même mieux à notre produit qu'à la phenstatine ( $GI_{50} = 3,6 \cdot 10^{-8}$  M contre  $GI_{50} = 4,0 \cdot 10^{-8}$  M). Les lignées cellulaires SW-620 du cancer du côlon, MDA-MB-435 du mélanome et NCI/ADR-RES du cancer des ovaires semblent particulièrement sensibles à ces analogues ; l'activité étant meilleure pour le dérivé *isocombrétastatine* que pour le précurseur benzophénone. L'activité inhibitrice de la polymérisation de la tubuline reste plus faible d'un facteur 10 par rapport à la phenstatine.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

Selon les études de modélisation moléculaire, les deux molécules prennent des conformations similaires dans le site de la tubuline (Figure 71).

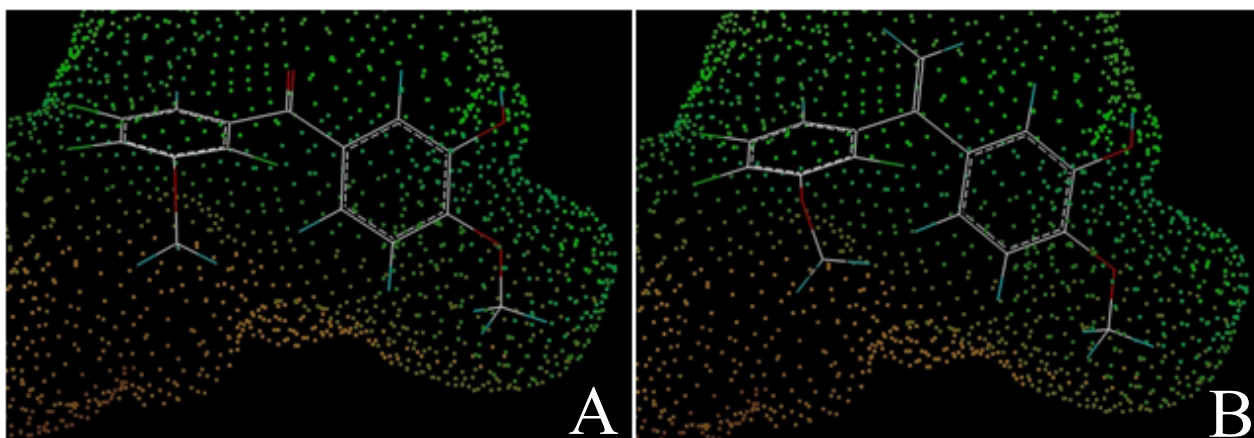


Figure 71 : Modélisation de 176 (A) et 177 (B) dans le site de la tubuline.

CONFIDENTIAL

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

|   |                   | Composé                                      | Phenstatine (14) | IsoCA-4 (20)             | 176          | 177        |
|---|-------------------|--|------------------|--------------------------|--------------|------------|
|   |                   | I <sub>TP</sub> (μM) <sup>a</sup>            | 3.4 ± 0.7        | 2.0 ± 0.3 <sup>116</sup> | <sup>b</sup> | 37.9 ± 7.4 |
| Type de cellule                         | Lignée cellulaire | GI <sub>50</sub> (M) <sup>c,d</sup>          |                  |                          |              |            |
| Leucémie                                | CCRF-CEM          | -  | -                | -                        | 3.3 E-6      | 3.6 E-8    |
|   | HL-60(TB)         | -  | -                | -                        | 2.0 E-6      | 2.3 E-8    |
|   | K-562             | 4.0 E-8 <sup>86</sup>                        | -                | 0.5 E-8 <sup>86</sup>    | 1.9 E-7      | 3.6 E-8    |
|   | MOLT-4            | -  | -                | -                        | 4.5 E-6      | 4.1 E-8    |
|   | RPMI-8226         | -  | -                | -                        | 4.7 E-6      | 1.3 E-7    |
|   | SR                | -  | -                | -                        | 9.7 E-7      | 1.5 E-8    |
| Cancer du poumon non à petites cellules | A549/ATCC         | -  | -                | 0.8 E-8 <sup>86</sup>    | 4.4 E-6      | 3.9 E-7    |
|   | EKVX              | -  | -                | -                        | 7.2 E-6      | 2.0 E-6    |
|   | HOP-62            | -  | -                | -                        | 2.8 E-6      | 4.2 E-7    |
|   | NCI-226           | -  | -                | -                        | 1.1 E-5      | 4.5 E-6    |
|   | NCI-H23           | -  | -                | -                        | 3.7 E-6      | 3.8 E-7    |
|   | NCI-H460          | 0.6 E-8 <sup>34</sup>                        | -                | -                        | 2.2 E-6      | 3.4 E-7    |
|   | NCI-H522          | -  | -                | -                        | 1.3 E-6      | 2.5 E-8    |
| Cancer du côlon                         | COLO 205          | 4.8 E-6 <sup>35</sup>                        | -                | -                        | 1.4 E-5      | 9.3 E-6    |
|   | HCC-2998          | -  | -                | -                        | 5.4 E-6      | 2.2 E-6    |
|   | HCT-116           | 3.3 E-8 <sup>116</sup>                       | -                | 0.2 E-8 <sup>86</sup>    | 1.9 E-6      | 3.6 E-6    |
|   | HCT-15            | -  | -                | -                        | 1.8 E-6      | 4.5 E-8    |
|   | HT29              | -  | -                | -                        | 2.0 E-5      | 3.9 E-6    |
|   | KM12              | -  | -                | -                        | 1.0 E-6      | 4.7 E-8    |
|   | SW-620            | -  | -                | -                        | 7.0 E-7      | 4.5 E-8    |
| Cancer du SNC                           | SF-268            | -  | -                | -                        | 3.8 E-6      | 7.5 E-8    |
|   | SF-295            | 5.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                | -                        | 2.6 E-6      | 4.0 E-7    |
|   | SF-539            | -  | -                | -                        | 2.5 E-6      | 3.1 E-8    |
|   | SNB-19            | -  | -                | -                        | 4.4 E-6      | 6.7 E-8    |
|   | SNB-75            | -  | -                | -                        | 1.7 E-6      | 5.5 E-8    |
| Mélanome                                | LOX IMVI          | -  | -                | -                        | 5.2 E-6      | 6.9 E-8    |
|   | MALME-3M          | -  | -                | -                        | 9.5 E-6      | 4.4 E-8    |
|   | M14               | -  | -                | -                        | 8.0 E-7      | 3.7 E-8    |
|   | MDA-MB-435        | -  | -                | 0.4 E-8 <sup>116</sup>   | 2.8 E-7      | 1.9 E-8    |
|   | SK-MEL-2          | -  | -                | -                        | 4.2 E-6      | 1.7 E-7    |
|   | SK-MEL-5          | 0.4 E-8 <sup>117</sup>                       | -                | -                        | 5.3 E-6      | 3.6 E-7    |
|   | SK-MEL-28         | -  | -                | -                        | 1.8 E-6      | 1.8 E-7    |
|   | UACC-257          | -  | -                | -                        | 5.1 E-6      | 1.6 E-6    |
|   | UACC-62           | -  | -                | -                        | 3.4 E-6      | 1.6 E-6    |
| Cancer de l'ovaire                      | IGROV1            | -  | -                | -                        | 2.3 E-6      | 2.2 E-6    |
|   | OVCAR-3           | 0.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                | -                        | 1.5 E-6      | 2.2 E-7    |
|   | OVCAR-4           | -  | -                | -                        | 4.9 E-6      | 6.7 E-7    |
|   | OVCAR-5           | -  | -                | -                        | 7.5 E-6      | 4.5 E-6    |
|   | OVCAR-8           | -  | -                | -                        | 3.5 E-6      | 3.1 E-7    |
|   | NCI/ADR-RES       | -  | -                | -                        | 7.9 E-7      | 3.8 E-8    |
|   | SK-OV-3           | -  | -                | -                        | 2.4 E-6      | 9.4 E-8    |
| Cancer du rein                          | 786-0             | -  | -                | -                        | 3.7 E-6      | 5.1 E-7    |
|   | A498              | 3.8 E-7 <sup>117</sup>                       | -                | -                        | 2.1 E-6      | 3.6 E-6    |
|   | ACHN              | -  | -                | -                        | 6.5 E-6      | 6.7 E-8    |
|   | CAKI-1            | -  | -                | -                        | 2.5 E-6      | 8.8 E-7    |
|   | RXF 393           | -  | -                | -                        | 2.5 E-6      | 1.8 E-7    |
|   | SN12C             | -  | -                | -                        | 5.2 E-6      | 2.1 E-7    |
|   | TK-10             | -  | -                | -                        | 7.1 E-6      | 2.6 E-6    |
| UO-31                                   | -                 | -  | -                | 6.1 E-6                  | 4.8 E-7      |            |
| Cancer de la prostate                   | PC-3              | -  | -                | -                        | 3.7 E-6      | 1.4 E-7    |
|   | DU-145            | 3.4 E-8 <sup>35</sup>                        | -                | -                        | 2.1 E-6      | 1.4 E-7    |
| Cancer du sein                          | MCF7              | 4.4 E-7 <sup>35</sup> /3.4 E-8 <sup>38</sup> | -                | -                        | 3.0 E-6      | 3.6 E-7    |
|   | MDA-MB-231/ATCC   | -  | -                | 0.4 E-8 <sup>86</sup>    | 2.1 E-6      | 9.4 E-8    |
|   | HS 578T           | -  | -                | -                        | 1.6 E-6      | 5.2 E-8    |
|   | BT-549            | -  | -                | -                        | 3.1 E-6      | 6.1 E-8    |
|   | T-47D             | -  | -                | -                        | 3.9 E-6      | 1.2 E-5    |
|   | MDA-MB-468        | -  | -                | -                        | 2.2 E-6      | 1.9 E-6    |

**Tableau 32 : Activité antitubuline et activités cytotoxiques des composés fluorés 176 et 177.** <sup>a</sup> I<sub>TP</sub> : inhibition de la polymérisation de la tubuline, réalisés au laboratoire de substances naturelles de Gif-sur-Yvette ; <sup>b</sup> Non testé ; <sup>c</sup> Tests NCI ; <sup>d</sup> GI<sub>50</sub> représente la concentration molaire en composé nécessaire à l'inhibition de 50% de la croissance cellulaire.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

Le composé carbonylé **178** a été synthétisé afin d'observer l'influence de l'absence des 2 groupements méthoxy en *mé*ta du cycle A par rapport au composé **M<sub>p</sub>6**, le métabolite le plus actif de la phenstatine (Figure 72).

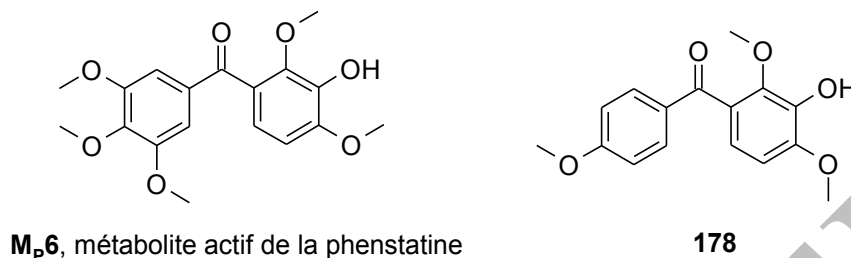


Figure 72 : Structure de **178**, comparé au métabolite le plus actif de la phenstatine.

Ainsi que l'on pouvait s'y attendre, cette modification structurale entraîne une perte considérable d'activité<sup>66</sup>. Néanmoins, il nous a semblé intéressant de se pencher sur l'effet qu'aurait sa transformation en *isocombrétastatine* sur l'activité. Ainsi **178** a été transformé en oléfine **179** par réaction de Wittig, selon la même méthode que précédemment (Schéma 73).

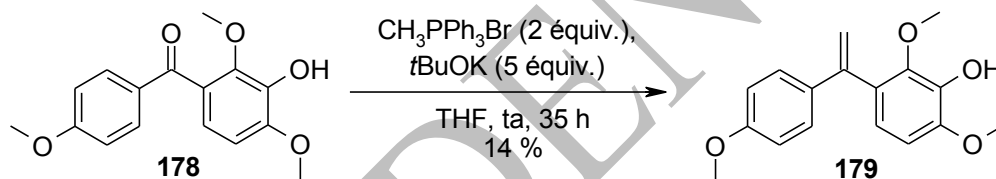


Schéma 73 : Transformation de **178** par réaction de Wittig.

Le composé **179** a été proposé au NCI, mais probablement à cause des faibles activités cytotoxiques de son précurseur, celui-ci a été refusé. L'évaluation de son inhibition de la polymérisation a été menée au laboratoire de Dr. Joëlle Dubois. A une concentration de 100  $\mu\text{M}$ , l'*isocombrétastatine* n'inhibe qu'à hauteur de 40 % la polymérisation de la tubuline ; c'est une valeur très faible comme pour son précurseur. En conclusion, l'absence des méthoxy en *mé*ta n'est pas compensée, même en série *isocombrétastatine*.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

En 2011, un cycle B de type 3'-chloro-4'-éthoxyphényle est décrit pour des analogues contraints de la CA-4 de type tétrazole 1,5-disubstitués avec de très bonnes activités cytotoxiques et antitubuline<sup>118</sup>. Il a donc semblé intéressant d'étudier une telle substitution sur des composés de type phenstatine et *isocombrétastatine*. Pour notre part, il a d'abord été envisagé la synthèse de l'analogue **180** par réaction d'acylation.

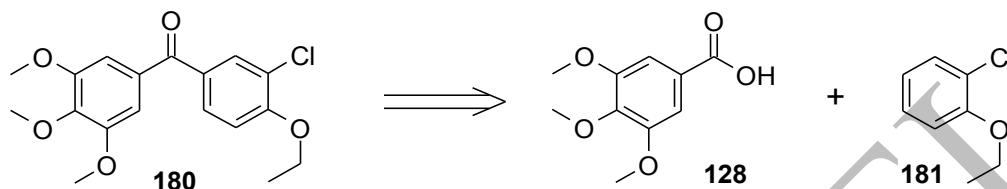


Schéma 74 : Rétrosynthèse de la benzophénone **180**.

Malheureusement, le cycle aromatique 3'-chloro-4'-éthoxyphényle n'existe que sous forme de l'acide benzoïque dans le commerce. La réaction a donc été menée entre l'acide 3'-chloro-4'-éthoxybenzoïque et le 3,4,5-triméthoxybenzène en présence du réactif d'Eaton, afin d'obtenir l'isomère de position **184** de **180**.

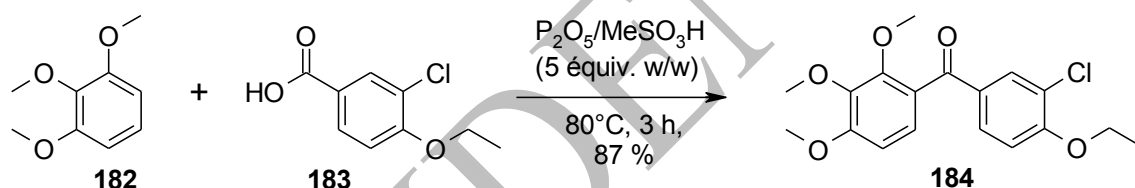


Schéma 75 : Réaction d'Eaton sur l'acide **183**.

La benzophénone **184** est obtenue avec un rendement de 87 %. Elle est ensuite transformée en *isocombrétastatine* **185** dans les conditions habituelles avec un rendement de 73 % (Schéma 76).

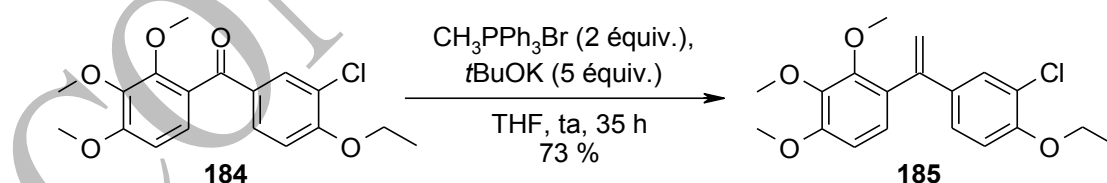


Schéma 76 : Obtention de l'*isocombrétastatine* **185**.

Les deux composés ont été évalués biologiquement. Il en ressort que l'activité antitubuline chute considérablement sans doute à cause de la substitution du cycle triméthoxyphényle qui ne correspond à la substitution classique de la CA-4 et de ses analogues. Néanmoins,

<sup>118</sup> Romagnoli, R. *et al. J. Med. Chem.*, **2012**, *55*, 475-488.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

l'*isocombrétastatine* **185** a un potentiel inhibiteur plus important que son précurseur **184**. Du côté des activités cytotoxiques, le passage en *isocombrétastatine* apporte un gain d'activité mais qui reste dans le dixième de micromolaire. Les deux composés possèdent une spécificité d'action sur la lignée MDA-MB-435 avec une  $GI_{50}$  de  $1,2 \cdot 10^{-6}$  M pour la phenstatine **184** et  $1,8 \cdot 10^{-7}$  M pour l'*isocombrétastatine* **185** (Tableau 33).

CONFIDENTIEL

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

| Composé                                 |                   | Phenstatine (14)                             | IsoCA-4 (20)             | 184            | 185            |
|---|-------------------|--|--------------------------|----------------|----------------|
| ITP (µM) <sup>a</sup>                   |                   | 3.4 ± 0.7                                    | 2.0 ± 0.3 <sup>116</sup> | - <sup>b</sup> | - <sup>c</sup> |
| Type de cellule                         | Lignée cellulaire | GI <sub>50</sub> (M) <sup>d,e</sup>          |                          |                |                |
| Leucémie                                | CCRF-CEM          | -  | -                        | 4.3 E-6        | 2.4 E-6        |
|   | HL-60(TB)         | -  | -                        | 4.9 E-6        | 3.1 E-6        |
|   | K-562             | 4.0 E-8 <sup>86</sup>                        | 0.5 E-8 <sup>86</sup>    | 2.9 E-6        | 4.6 E-7        |
|   | MOLT-4            | -  | -                        | 4.3 E-6        | 3.4 E-6        |
|   | RPMI-8226         | -  | -                        | 4.8 E-6        | 2.9 E-6        |
|   | SR                | -  | -                        | 1.8 E-6        | 4.0 E-7        |
| Cancer du poumon non à petites cellules | A549/ATCC         | -  | 0.8 E-8 <sup>86</sup>    | 4.5 E-6        | 1.3 E-6        |
|   | EKVX              | -  | -                        | -              | -              |
|   | HOP-62            | -  | -                        | 6.1 E-6        | 8.6 E-7        |
|   | NCI-226           | -  | -                        | 6.8 E-5        | 4.6 E-7        |
|   | NCI-H23           | -  | -                        | 6.9 E-6        | 3.2 E-6        |
|   | NCI-H460          | 0.6 E-8 <sup>117</sup>                       | -                        | 3.6 E-6        | 2.5 E-6        |
|   | NCI-H522          | -  | -                        | 3.9 E-6        | 5.2 E-6        |
| Cancer du côlon                         | COLO 205          | 4.9 E-6 <sup>35</sup>                        | -                        | 5.8 E-6        | 6.4 E-7        |
|   | HCC-2998          | -  | -                        | 2.1 E-5        | 2.9 E-6        |
|   | HCT-116           | 3.3 E-8 <sup>116</sup>                       | 0.2 E-8 <sup>86</sup>    | 4.4 E-6        | 1.4 E-6        |
|   | HCT-15            | -  | -                        | 3.7 E-6        | 5.4 E-7        |
|   | HT29              | -  | -                        | 4.2 E-6        | 1.7 E-6        |
|   | KM12              | -  | -                        | 4.4 E-6        | 1.2 E-6        |
|   | SW-620            | -  | -                        | 3.9 E-6        | 5.6 E-7        |
| Cancer du SNC                           | SF-268            | -  | -                        | 2.9 E-5        | 4.9 E-6        |
|   | SF-295            | 5.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                        | 3.7 E-6        | 9.4 E-7        |
|   | SF-539            | -  | -                        | 3.5 E-6        | 1.5 E-6        |
|   | SNB-19            | -  | -                        | 2.8 E-5        | 4.2 E-6        |
|   | SNB-75            | -  | -                        | 2.8 E-6        | 1.1 E-6        |
| Mélanome                                | LOX IMVI          | -  | -                        | 8.9 E-6        | 6.7 E-6        |
|   | MALME-3M          | -  | -                        | 4.4 E-6        | 3.0 E-6        |
|   | M14               | -  | -                        | 4.0 E-6        | 1.1 E-6        |
|   | MDA-MB-435        | -  | 0.4 E-8 <sup>116</sup>   | 1.2 E-6        | 1.8 E-7        |
|   | SK-MEL-2          | -  | -                        | 6.5 E-6        | 1.1 E-6        |
|   | SK-MEL-5          | 0.4 E-8 <sup>117</sup>                       | -                        | 3.1 E-6        | 1.7 E-6        |
|   | SK-MEL-28         | -  | -                        | 6.8 E-6        | 2.5 E-7        |
|   | UACC-257          | -  | -                        | 8.9 E-6        | 5.4 E-6        |
|   | UACC-62           | -  | -                        | 6.6 E-6        | 6.0 E-7        |
| Cancer de l'ovaire                      | IGROV1            | -  | -                        | 9.1 E-6        | 3.3 E-6        |
|   | OVCAR-3           | 0.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                        | 3.7 E-6        | 1.3 E-6        |
|   | OVCAR-4           | -  | -                        | 2.6 E-5        | 3.5 E-6        |
|   | OVCAR-5           | -  | -                        | 1.7 E-5        | 4.0 E-6        |
|   | OVCAR-8           | -  | -                        | 7.6 E-5        | 2.4 E-6        |
|   | NCI/ADR-RES       | -  | -                        | 4.1 E-6        | 1.2 E-6        |
|   | SK-OV-3           | -  | -                        | 9.1 E-6        | 5.8 E-7        |
| Cancer du rein                          | 786-0             | -  | -                        | 1.3 E-5        | 3.5 E-5        |
|   | A498              | 3.8 E-7 <sup>117</sup>                       | -                        | 1.8 E-6        | 6.4 E-7        |
|   | ACHN              | -  | -                        | 6.8 E-6        | 2.4 E-6        |
|   | CAKI-1            | -  | -                        | 4.5 E-6        | 2.3 E-6        |
|   | RXF 393           | -  | -                        | 3.3 E-6        | 2.2 E-7        |
|   | SN12C             | -  | -                        | 6.2 E-6        | 2.7 E-6        |
|   | TK-10             | -  | -                        | 3.2 E-6        | 4.7 E-6        |
|   | UO-31             | -  | -                        | 1.7 E-5        | 3.7 E-6        |
| Cancer de la prostate                   | PC-3              | -  | -                        | 7.6 E-6        | 2.8 E-6        |
|   | DU-145            | 3.4 E-8 <sup>35</sup>                        | -                        | 6.6 E-6        | 2.8 E-6        |
| Cancer du sein                          | MCF7              | 4.4 E-7 <sup>35</sup> /3.4 E-8 <sup>38</sup> | -                        | 3.7 E-6        | 5.5 E-7        |
|   | MDA-MB-231/ATCC   | -  | 0.4 E-8 <sup>86</sup>    | 7.0 E-6        | 1.8 E-6        |
|   | HS 578T           | -  | -                        | 3.9 E-6        | 3.6 E-6        |
|   | BT-549            | -  | -                        | 9.1 E-6        | 3.2 E-6        |
|   | T-47D             | -  | -                        | 5.4 E-6        | 8.3 E-7        |
|   | MDA-MB-468        | -  | -                        | 1.5 E-6        | 2.0 E-7        |

**Tableau 33 : Activité antitubuline et activités cytotoxiques des composés chlorés 184 et 185.** <sup>a</sup> ITP : inhibition de la polymérisation de la tubuline, réalisés au laboratoire de substances naturelles de Gif-sur-Yvette ; <sup>b</sup> 29 % d'inhibition de la polymérisation de la tubuline à 100 µM ; <sup>c</sup> 54 % d'inhibition de la polymérisation de la tubuline à 100 µM ; <sup>d</sup> Tests NCI ; <sup>e</sup> GI<sub>50</sub> représente la concentration molaire en composé nécessaire à l'inhibition de 50 % de la croissance cellulaire.



# Stratégies de synthèse

## Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

### 3. 2. Tentative de réaction de Wittig : une réaction inattendue

Toujours dans le but d'étudier les influences des substitutions des deux cycles aromatiques, il a été envisagé la synthèse d'*isocombrétastatines* possédant un cycle A méthoxylé substitué différemment du cycle habituel et avec un cycle B possédant une amine en position *para*. Il a donc été envisagé leur synthèse par formation de la benzophénone nitrée, puis sa transformation en *isocombrétastatine*, suivie par la réduction du groupement nitro en amine (Schéma 77).

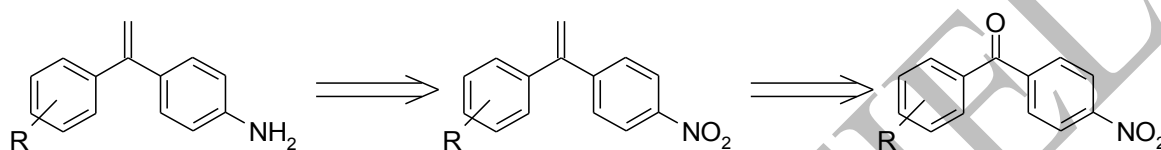


Schéma 77 : Rétrosynthèse des *isocombrétastatines* substituées par une amine en position *para* du cycle B.

La benzophénone **186** avait été précédemment synthétisée au laboratoire par le Dr. C. Waterlot<sup>119</sup>. Elle a été engagée dans une tentative de réaction de Wittig, dans les conditions mises au point précédemment, en présence de 2 équivalents de bromure de méthyltriphenylphosphonium et de 5 équivalents de *tert*iobutanolate de potassium (Schéma 78).

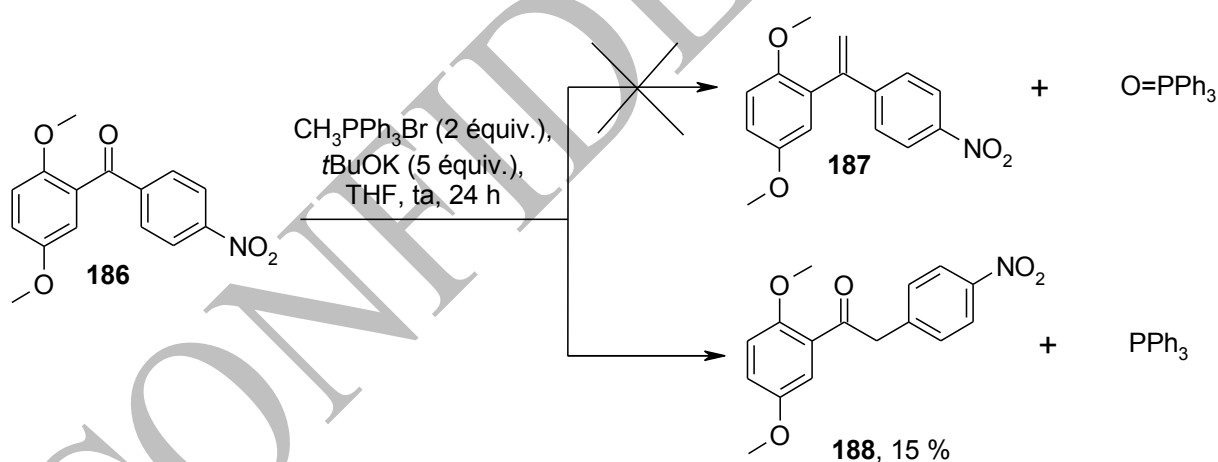


Schéma 78 : Tentative de réaction de Wittig sur **186**.

De façon inattendue, le produit obtenu n'est pas l'*isocombrétastatine* **187**. Par ailleurs, on observe la reformation de triphénylphosphine à partir de l'ylure (plutôt que d'oxyde de triphénylphosphine lors de la réaction de Wittig). Selon les différents spectres RMN réalisés, il a été démontré que le composé isolé est le produit **188**. Par RMN NOESY notamment, nous avons

<sup>119</sup> Waterlot, C. *et al. Tetrahedron*, **2001**, *57*, 4889-4901.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

pu caractériser la molécule de façon certaine en montrant une corrélation entre les protons du groupe CH<sub>2</sub> et ceux de l'aromatique portant le groupement nitro, prouvant que l'insertion du carbone avait lieu du côté de l'aromatique nitré (Figure 73).

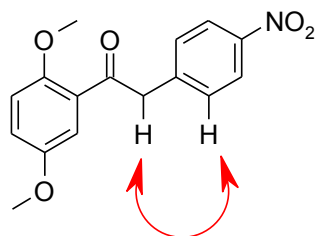
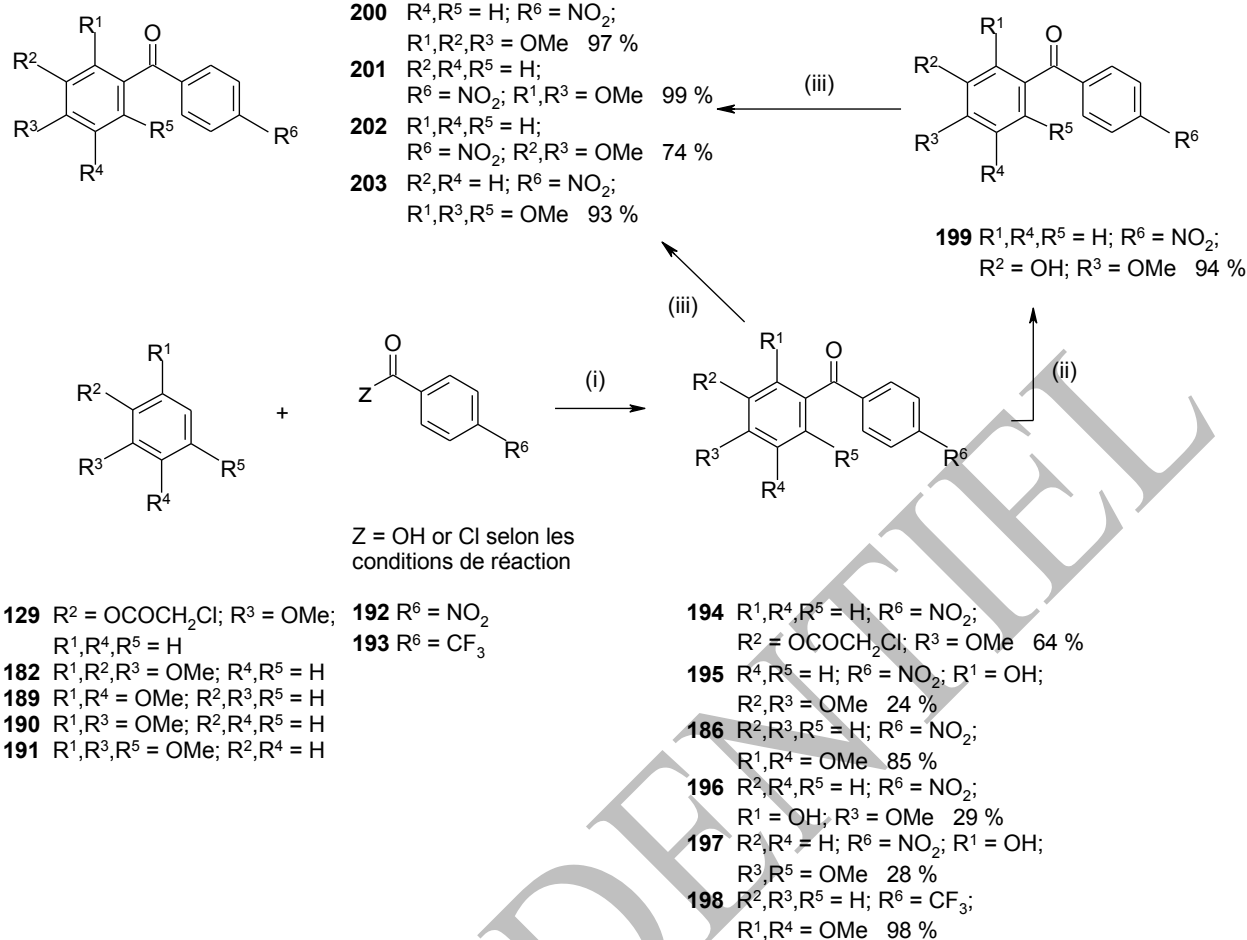


Figure 73 : Corrélation en RMN NOESY sur **188**.

Afin d'approfondir les caractéristiques de cette réaction, un certain nombre de benzophénones nitrées possédant un cycle A diversement substitué par des groupements méthoxy ont été synthétisés par réaction de Friedel-Crafts (en présence d'AlCl<sub>3</sub> pour les composés **186**, **195**, **196** et **197**, de BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O pour **195** et du réactif d'Eaton pour **198**). Ce dernier composé a été synthétisé afin d'étudier la spécificité de la réaction en remplaçant un groupement nitro par un autre groupement désactivant : un trifluorométhyle. Les composés **200**, **201** et **203** ont été obtenus directement à partir des composés **195**, **196** et **197** par méthylation en présence de sulfate de diméthyle. **202** est préparé par méthylation du composé **199**, obtenu après déprotection de **194** en présence d'AcONa.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A



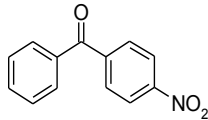
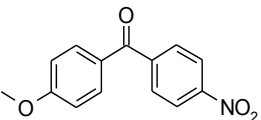
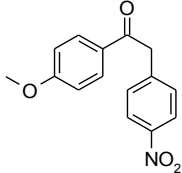
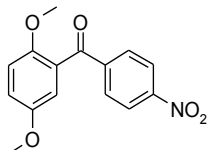
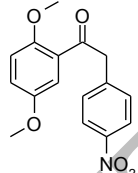
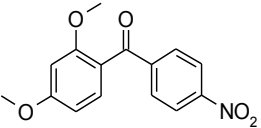
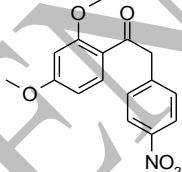
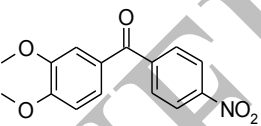
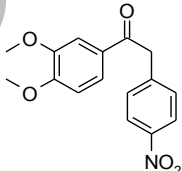
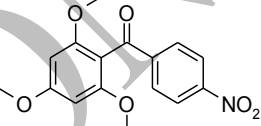
**Schéma 79 :** (i) Réaction de Friedel-Crafts : (Z = Cl) AlCl<sub>3</sub> (3 à 5 équiv.), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta pour les composés **186**, **194**, **196** et **197**; (Z = OH) BF<sub>3</sub>•Et<sub>2</sub>O (6 équiv.), TFAA (6 équiv.), 1,2-dichloroéthane, reflux pour le composé **195**; (Z = OH) réactif d'Eaton (4 équiv. w/w), 60°C pour le composé **198**, 10 h-18 h; (ii) AcONa•3H<sub>2</sub>O, MeOH, reflux, 1 h; (iii) Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, acétone, reflux, 18 h.

L'ensemble des composés **198** et **200** à **203** ainsi que les composés commerciaux **204** et **205** ont été engagés dans les mêmes conditions que précédemment. Les résultats sont présentés dans le Tableau 34.

Ainsi qu'on peut le remarquer, l'insertion du carbone n'intervient qu'en présence d'un groupement méthoxy en position R<sup>1</sup> et/ou R<sup>3</sup>, à l'exception du produit **203** et en présence d'un groupement nitro. Les rendements sont compris entre 12 et 51 %. Le produit **198** comportant le groupement CF<sub>3</sub> permet d'accéder à une *isocombrétastatine*. Le produit **204** ne comportant pas de méthoxy sur son cycle A ne permet pas d'accéder au produit d'insertion ni au produit de Wittig dans nos conditions.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

| Entrée | Cétones de départ  | % ITP <sup>a</sup> | Produit formé   | Rendement (%) | % ITP <sup>a</sup> |
|--------|--|--------------------|---|---------------|--------------------|
| 1      | <br>204                     | N.T. <sup>b</sup>  | N.R. <sup>b</sup>   | -             | N.T.               |
| 2      | <br>205                     | N.T.               | <br>206 <sup>120,121</sup>  | 12            | N.T.               |
| 3      | <br>186 <sup>119</sup>      | N.T.               | <br>188                     | 15            | N.T.               |
| 4      | <br>201 <sup>120,121</sup> | N.T.               | <br>207 <sup>120,121</sup> | 32            | 22                 |
| 5      | <br>202 <sup>122</sup>    | 25 <sup>c</sup>    | <br>208 <sup>123</sup>    | 51            | 18                 |
| 6      | <br>203 <sup>124</sup>    | 2                  | N.R.  | -             | -                  |

<sup>120</sup> Hajipour, A. R. *et al. Synth. Commun.*, **2009**, 39, 2702-2722.

<sup>121</sup> Zarei, A. *et al. Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 6715-6719.

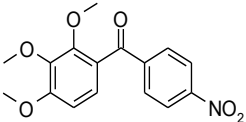
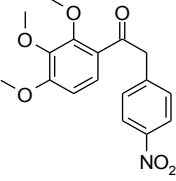
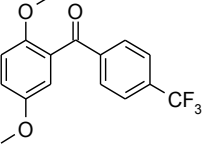
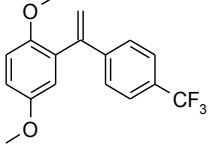
<sup>122</sup> Hemakumar, K. H. *et al. E-J. Chem.*, **2008**, 5, 114-119.

<sup>123</sup> Moreno, I *et al. Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 13, 2126-2135.

<sup>124</sup> Qiu, G. *et al. Hecheng Huaxue* **1997**, 5, 54-56; *Chem. Abstr.*, **1997**, 127, 680777.

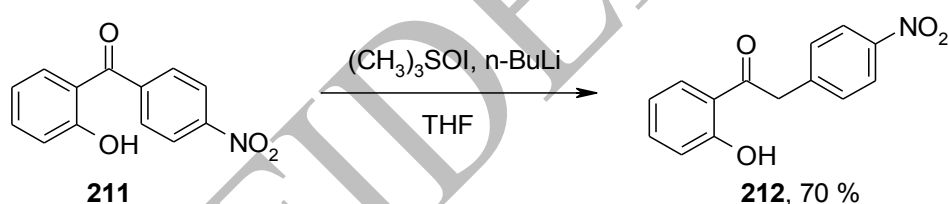
# Stratégies de synthèse

## Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

|   |   |    |  |    |    |
|---|---|----|--|----|----|
| 7 |  | 36 |  | 32 | 25 |
|   | <b>200</b>  |    | <b>209</b>   |    |    |
| 8 |  | 30 |  | 44 | 13 |
|   | <b>198<sup>125</sup></b>  |    | <b>210</b>   |    |    |

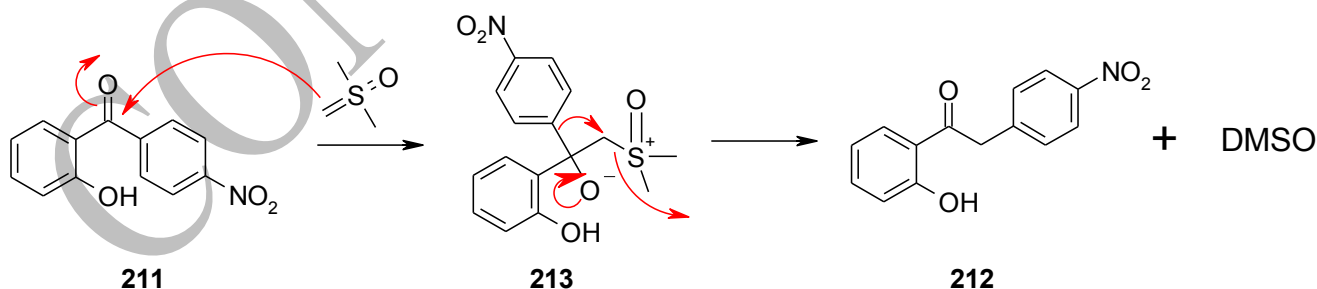
**Tableau 34 : Etude de la réaction d'insertion et activités antitubuline des composés d'insertion ;<sup>a</sup> IPT: pourcentage d'inhibition de la polymérisation de la tubuline à une concentration de 100  $\mu$ M ; <sup>b</sup> N.T.: Non testé, N.R.: non réagit.**

Dans la littérature, ce type de réaction n'est pas décrit en présence d'un ylure de phosphonium. On trouve des exemples de réactions similaires pour d'autres ylures. Ainsi, en présence du réactif de Corey-Chaykovsky, le méthylure de diméthylsulfoxonium, des 2-hydroxybenzophénones se réarrangent en méthylcétones par insertion d'un méthylène<sup>126</sup> (Schéma 80).



**Schéma 80 : Insertion d'un carbone lors d'une réaction en présence du réactif de Corey-Chaykovsky.**

Les auteurs supposent l'intervention d'un intermédiaire **213** qui se réarrange par déplacement du cycle substitué par le groupe nitro (Schéma 81).



**Schéma 81 : Mécanisme supposé de l'insertion en présence du réactif de Corey-Chaykovsky.**

<sup>125</sup> Neumann, H. *et al. Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, 3645-3652.

<sup>126</sup> Chittimalla, S. K. *et al. Tetrahedron*, **2008**, *64*, 2586-2595.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

Notre réaction pourrait éventuellement se dérouler de façon similaire. Une autre hypothèse pourrait envisager la formation d'un époxyde intermédiaire **214** (Schéma 82) qui se réarrangerait par déplacement du cycle nitré pour donner le produit d'insertion.

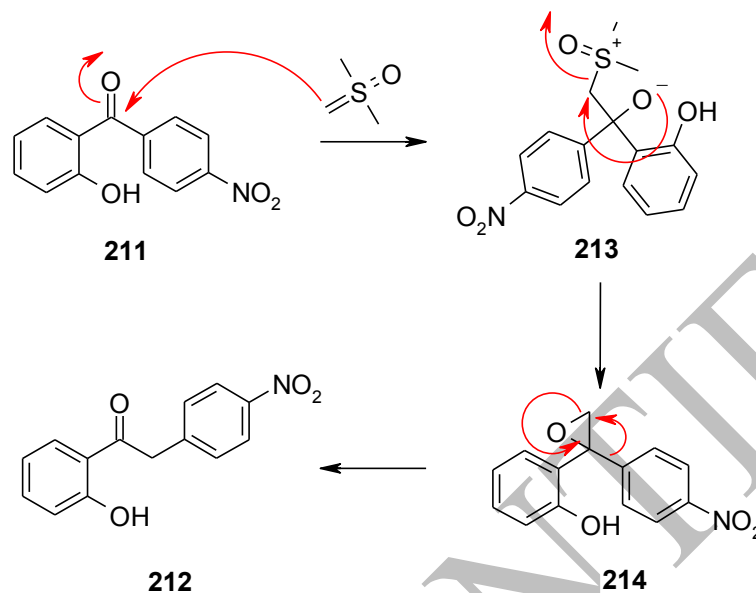


Schéma 82 : Mécanisme supposé d'insertion via un époxyde **214**.

Cependant ces deux mécanismes supposent une migration du cycle substitué par le groupe nitro, le plus déficient en électrons, plutôt qu'une migration du cycle le plus riche, substitué par les méthoxy. L'intermédiaire obtenu serait alors beaucoup moins stable. Il a donc été envisagé un autre mécanisme pour notre insertion (Schéma 83) : l'effet donneur du cycle substitué par un méthoxy en position R<sup>1</sup> (ou en position R<sup>3</sup> selon nos essais) défavorise fortement la formation de l'oxaphosphétane nécessaire à la réaction de Wittig et donc à la formation de la double liaison éthylénique de l'*isocombrétastatine*. A la place, la formation de l'intermédiaire **A** est favorisée : sous l'influence de l'effet désactivant du groupement nitro, le carbanion de l'ylure attaque en position *ipso* du cycle nitré. Ce type d'attaque en *ipso* a déjà été observé lors de l'attaque d'ylure de soufre sur le *p*-nitrobenzaldéhyde<sup>127,128</sup>. Les effets donneurs du groupement méthoxy en position 2 ou 4 permet la formation de l'intermédiairecycle **B** qui subit alors un réarrangement concerté pour donner le produit d'homologation **206**.

<sup>127</sup> Iwasaki, G. *et al. Chem. Lett.*, **1986**, 15, 173-176.

<sup>128</sup> Hodgson, D. M. *et al. J. J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 581-586.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

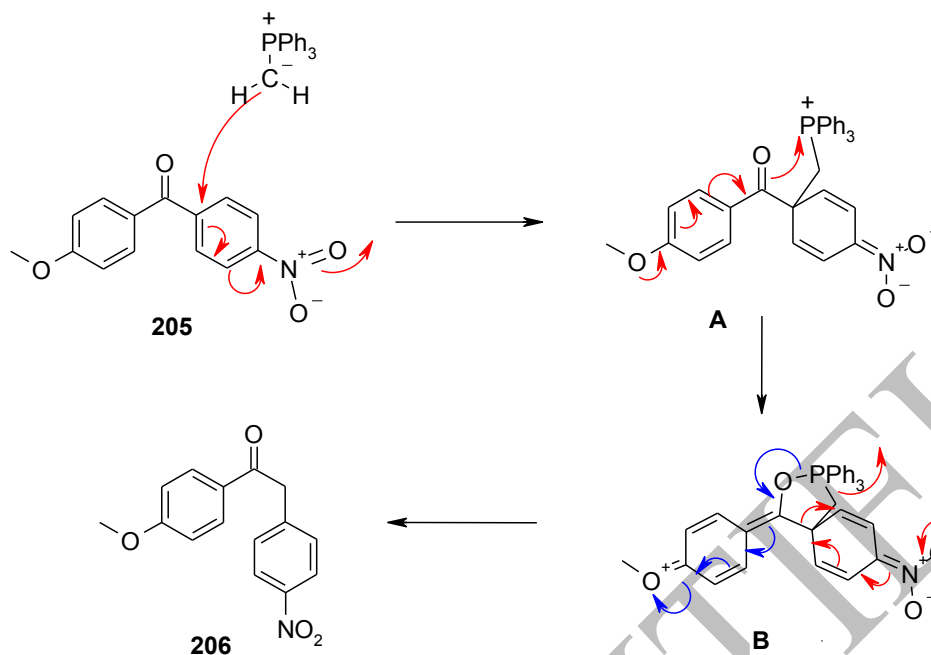


Schéma 83 : Mécanisme proposé pour l'insertion d'un carbone dans nos conditions réactionnelles.

L'absence de réactivité observée pour le produit **204** dans nos conditions peut s'expliquer par l'absence de groupement donneur sur son cycle A : l'attaque en *ipso* a bien lieu, mais l'intermédiaire **B** ne peut pas être formé, empêchant la formation du composé d'homologation. Le composé **203** très encombré stériquement avec ses deux groupements méthoxy en *ortho* doit empêcher l'approche soit de l'ylure soit du carbanion **A** et donc la formation de l'intermédiaire **B** ; ce qui explique qu'il ne réagisse pas dans nos conditions.

Un certain nombre des benzophénones de départ et des produits obtenus ont été testés pour évaluer leur inhibition de la polymérisation de la tubuline (Tableau 35). Le composé le plus intéressant est le **202**, possédant un 2,3,4-triméthoxyphényle comme cycle A, avec un pourcentage d'inhibition à 100  $\mu\text{M}$  de 36 %. Les activités cytotoxiques n'ont été évaluées que pour les dérivés substitués par un  $\text{CF}_3$  ; le NCI refusant généralement tout produit avec un groupement nitro. Cependant aucun n'a dépassé le stade des évaluations à une concentration de  $10^{-5}$  M (Tableau 35).

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 3. Autres variations structurales du cycle A

|   |                   | Composé                                      | Phenstatine (14)       | IsoCA-4 (20)                 | 198                       | 210            |
|---|-------------------|--|------------------------|------------------------------|---------------------------|----------------|
|   |                   | ITP ( $\mu\text{M}$ ) <sup>a</sup>           | 3.4 $\pm$ 0.7          | 2.0 $\pm$ 0.3 <sup>116</sup> | - <sup>b</sup>            | - <sup>c</sup> |
| Type de cellule                         | Lignée cellulaire | GI <sub>50</sub> (M) <sup>d,e</sup>          |                        |                              | GI % (10 <sup>-5</sup> M) |                |
| Leucémie                                | CCRF-CEM          | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | HL-60(TB)         | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | K-562             | 4.0 E-8 <sup>86</sup>                        | 0.5 E-8 <sup>86</sup>  | -                            | 0                         | 11.2           |
|   | MOLT-4            | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | RPMI-8226         | -  | -                      | -                            | 0                         | 13.3           |
|   | SR                | -  | -                      | -                            | 0                         | -              |
| Cancer du poumon non à petites cellules | A549/ATCC         | -  | 0.8 E-8 <sup>86</sup>  | -                            | 0                         | 6.6            |
|   | EKVX              | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | HOP-62            | -  | -                      | -                            | 0                         | 13.1           |
|   | NCI-226           | -  | -                      | -                            | 2.2                       | 0              |
|   | NCI-H23           | -  | -                      | -                            | 3.0                       | 6.1            |
|   | NCI-H460          | 0.6 E-8 <sup>34</sup>                        | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | NCI-H522          | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
| Cancer du côlon                         | COLO 205          | 4.9 E-6 <sup>35</sup>                        | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | HCC-2998          | -  | -                      | -                            | 0                         | 5.7            |
|   | HCT-116           | 3.3 E-8 <sup>116</sup>                       | 0.2 E-8 <sup>86</sup>  | -                            | 0                         | 17.5           |
|   | HCT-15            | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | HT29              | -  | -                      | -                            | 0                         | 2.0            |
|   | KM12              | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | SW-620            | -  | -                      | -                            | 0                         | 1.9            |
| Cancer du SNC                           | SF-268            | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | SF-295            | 5.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                      | -                            | 0                         | 1.8            |
|   | SF-539            | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | SNB-19            | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | SNB-75            | -  | -                      | -                            | 1.6                       | 0              |
| Mélanome                                | LOX IMVI          | -  | -                      | -                            | 3.6                       | 5.0            |
|   | MALME-3M          | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | M14               | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | MDA-MB-435        | -  | 0.4 E-8 <sup>116</sup> | -                            | 0                         | 0              |
|   | SK-MEL-2          | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | SK-MEL-5          | 0.4 E-8 <sup>117</sup>                       | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | SK-MEL-28         | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | UACC-257          | -  | -                      | -                            | 0                         | 6.1            |
|   | UACC-62           | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
| Cancer de l'ovaire                      | IGROV1            | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | OVCAR-3           | 0.2 E-8 <sup>117</sup>                       | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | OVCAR-4           | -  | -                      | -                            | 0                         | 5.4            |
|   | OVCAR-5           | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | OVCAR-8           | -  | -                      | -                            | 0                         | 3.8            |
|   | NCI/ADR-RES       | -  | -                      | -                            | 3.0                       | 0              |
|   | SK-OV-3           | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
| Cancer du rein                          | 786-0             | -  | -                      | -                            | 0.3                       | 5.5            |
|   | A498              | 3.8 E-7 <sup>117</sup>                       | -                      | -                            | 7.0                       | 2.6            |
|   | ACHN              | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | CAKI-1            | -  | -                      | -                            | 2.4                       | 2.8            |
|   | RXF 393           | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | SN12C             | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | TK-10             | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | UO-31             | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
| Cancer de la prostate                   | PC-3              | -  | -                      | -                            | 0                         | 14.4           |
|   | DU-145            | 3.4 E-8 <sup>35</sup>                        | -                      | -                            | 0                         | 0              |
| Cancer du sein                          | MCF7              | 4.4 E-7 <sup>35</sup> /3.4 E-8 <sup>38</sup> | -                      | -                            | 1.8                       | 17.2           |
|   | MDA-MB-231/ATCC   | -  | 0.4 E-8 <sup>86</sup>  | -                            | 0                         | 0              |
|   | HS 578T           | -  | -                      | -                            | 6.0                       | 0              |
|   | BT-549            | -  | -                      | -                            | 7.9                       | 10.4           |
|   | T-47D             | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |
|   | MDA-MB-468        | -  | -                      | -                            | 0                         | 0              |

**Tableau 35 : Activité antitubuline et activités cytotoxiques des composés chlorés 198 et 210.** <sup>a</sup> ITP : inhibition de la polymérisation de la tubuline, réalisés au laboratoire de substances naturelles de Gif-sur-Yvette ; <sup>b</sup> 30 % d'inhibition de la polymérisation de la tubuline à 100  $\mu\text{M}$  ; <sup>c</sup> 44 % d'inhibition de la polymérisation de la tubuline à 100  $\mu\text{M}$  ; <sup>d</sup> Tests NCI ; <sup>e</sup> GI<sub>50</sub> représente la concentration molaire en composé nécessaire à l'inhibition de 50 % de la croissance cellulaire.



### Chapitre 4. Formation de dérivés tricycliques

Il a été envisagé de synthétiser des nouveaux analogues tricycliques possédant un cycle A substitué par des méthyles ou remplacé par un hétérocycle azoté (Figure 74).

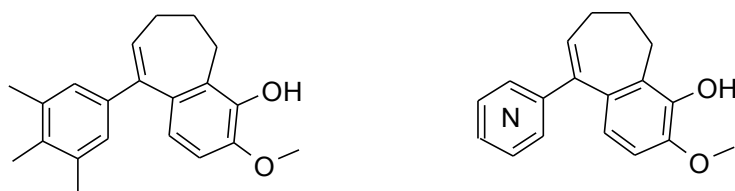


Figure 74 : Analogues envisagés en série tricyclique.

La voie de synthèse utilisée dans la littérature pour former les tricycles est la même pour les deux types de tricycles à 6 ou 7 carbones<sup>77</sup>. Elle passe par la synthèse d'une tétralone (n=1) ou d'une benzosubérone (n=2) **215** sur laquelle est condensé le dérivé bromé **216** par réaction d'un organolithien ; ce qui conduit à l'alcool tertiaire **217**. Par élimination d'eau en milieu acide, on parvient au tricycle attendu **218** (Schéma 84).

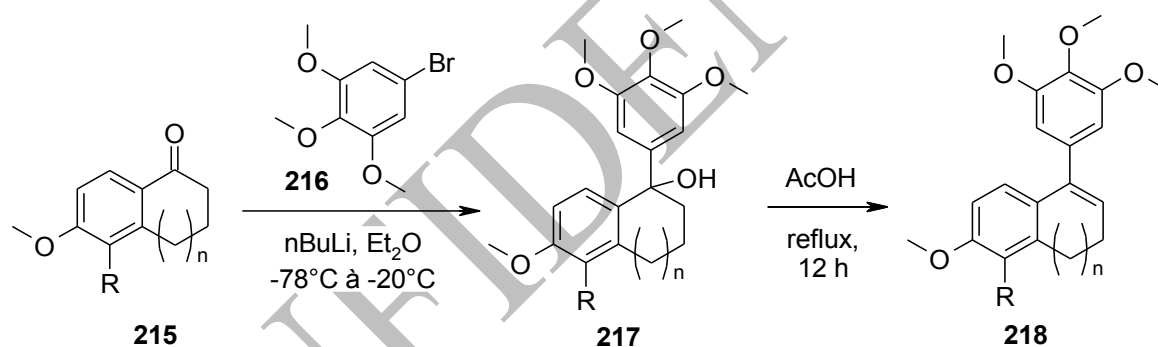


Schéma 84 : Synthèse des dérivés tricycliques<sup>77,78,79</sup>.

Les rendements globaux varient fortement selon les types de substitution du cycle B.

Une méthode légèrement différente a été publiée en 2012 par Chen *et al.* dans laquelle la benzosubérone **215** est transformée en un triflate **219** qui est condensé sur un acide boronique **220** par réaction de Suzuki<sup>129</sup>.

<sup>129</sup> Chen, Z. *et al. Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53, 64-66.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 4. Dérivés tricycliques

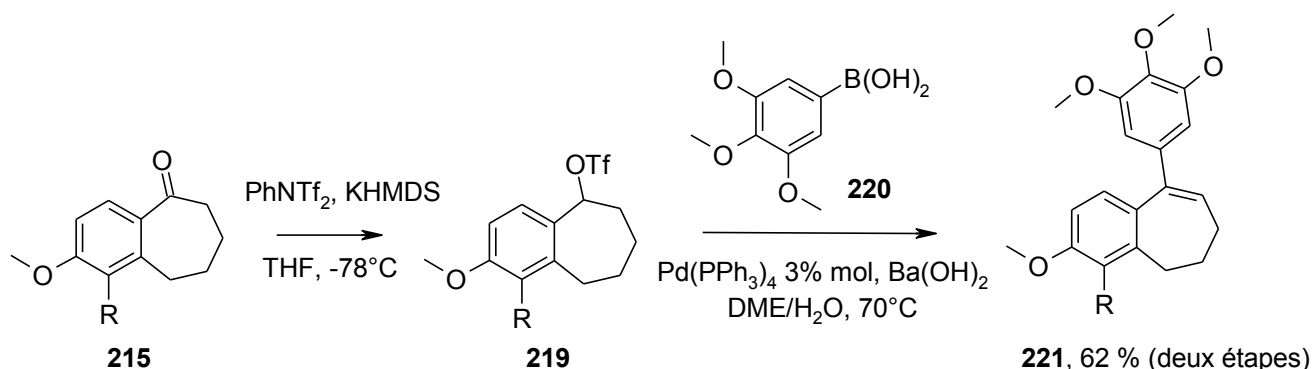


Schéma 85 : Méthode alternative d'accès au benzosubérène 221.

Dans le but de synthétiser des dérivés tricycliques analogues de **60**, une nouvelle voie de synthèse impliquant l'intermédiaire **222** a été envisagée. Les réactions ont d'abord été testées sur des analogues possédant le cycle A classique.

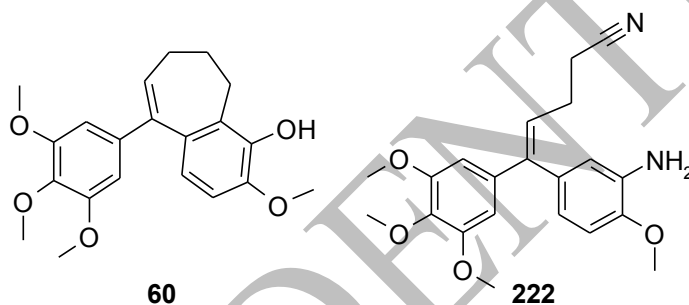


Figure 75 : Intermédiaire 222 nécessaire à l'obtention d'analogues de 60.

Nous avons cherché à cycliser ce dérivé **222**, possédant une chaîne alkyle terminée par un groupement nitrile, en  $\alpha$  du groupement amine en présence de  $\text{BCl}_3$  de manière similaire à ce qui a été décrit avec d'autres cycles benzéniques<sup>130,131,132</sup> (Schéma 86).

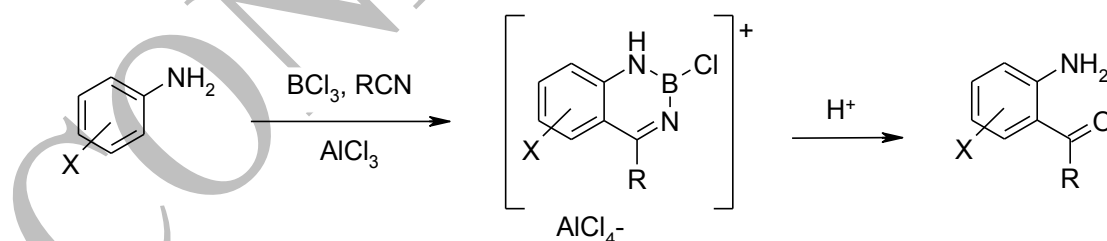


Schéma 86 : Acylation sélective en  $\alpha$  de l'amine.

<sup>130</sup> Sugasawa, T. *et al. J. Org. Chem.*, **1979**, *44*, 578-586.

<sup>131</sup> Jin, G. H. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 4092-4094.

<sup>132</sup> Raboisson, P. *et al. Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *18*, 5095-5100.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 4. Dérivés tricycliques

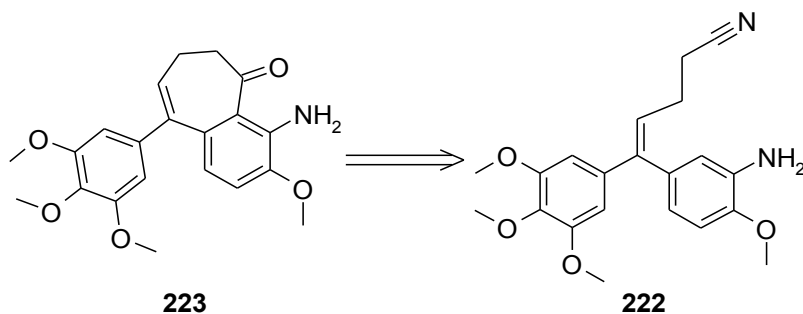


Schéma 87 : Schéma rétrosynthétique permettant de parvenir à des analogues de 60.

### 4. 1. Voie de synthèse à partir de la benzophénone aminée

Dans un premier temps, nous avons tenté de préparer la benzophénone aminée **225**. Pour cela, il a d'abord été envisagé la synthèse de son précurseur protégé **224** par une réaction de Friedel-Crafts, en présence du réactif d'Eaton, entre l'acide 3,4,5-triméthoxybenzoïque **128** et la *N*-(2-méthoxyphényl)acétamide **129** (Schéma 88).

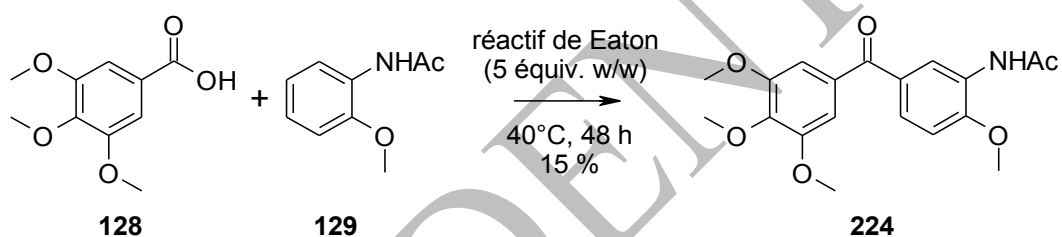


Schéma 88 : Formation de la benzophénone protégée 224.

Comme vu précédemment, l'aromatique protégé **129** est peu réactif vis-à-vis de l'acide en présence du réactif d'Eaton. En effet, le taux de conversion ne dépasse jamais 60 % selon le suivi RMN, et nous permet d'accéder au produit protégé **224** avec un rendement de seulement 15 % en produit isolé.

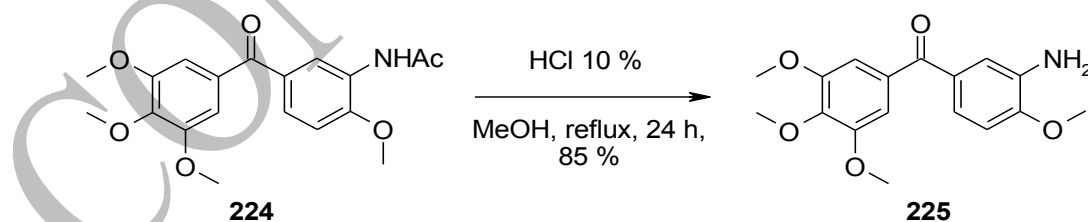


Schéma 89 : Obtention de 225 par déprotection.

Le produit attendu, la benzophénone **225**<sup>133</sup>, est ensuite obtenu par déprotection en milieu acide avec 85 % de rendement (Schéma 89).

<sup>133</sup> Liou, J.-P. et al. *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 2897-2905.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 4. Dérivés tricycliques

En parallèle, le sel de phosphonium **227** nécessaire à la réaction de Wittig avec cette benzophénone est synthétisé selon une méthode de la littérature<sup>134</sup> (Schéma 90).

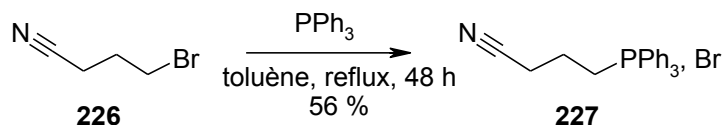


Schéma 90 : Formation du sel de phosphonium **227**.

Des tentatives de réaction de Wittig entre les dérivés **225** et **227** ont été menées avec *t*BuOK ou LiHMDS comme bases. (Schéma 91 et Tableau 36). Toutefois, nous n'avons trouvé aucune condition permettant d'obtenir le produit désiré (Tableau 36). Il a déjà été remarqué le manque de réactivité des benzophénones aminées vis-à-vis de la réaction de Wittig (cf. le rendement de la réaction de Wittig sur la benzophénone **106** en série triméthylphényle).

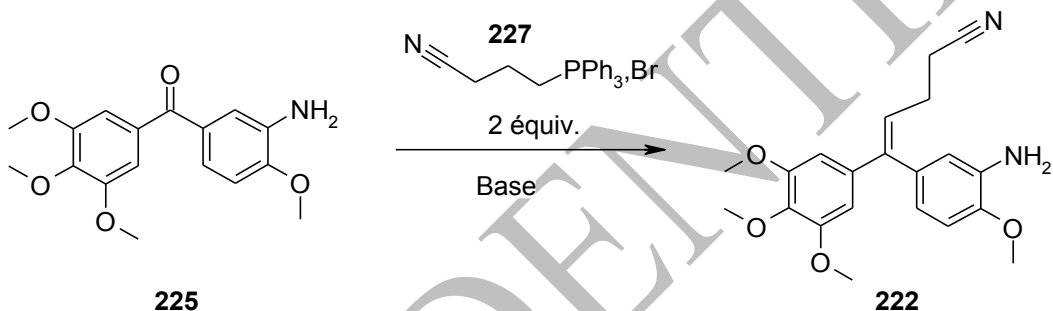


Schéma 91 : Réaction de Wittig.

Tableau 36 : Tableau des conditions de réaction de Wittig pour préparer **222**.

| Entrée | Base                                  | Solvant | Température        | Durée              | Résultats       |
|--------|---------------------------------------|---------|--------------------|--------------------|-----------------|
| 1      | <i>t</i> BuOK (5 équiv.)              | THF     | TA                 | 15 h               | Pas de réaction |
| 2      | <i>t</i> BuOK (5 équiv.)              | THF     | TA                 | 24 h               | Pas de réaction |
| 3      | <i>t</i> BuOK (2.1 équiv.)            | THF     | TA                 | 15 h               | Pas de réaction |
| 4      | LHMDS<br>1) 1.2 équiv.<br>2) 1 équiv. | THF     | 1) TA<br>2) reflux | 1) 15 h<br>2) 15 h | Pas de réaction |

Une seconde voie de synthèse a donc été envisagée pour parvenir à ces analogues.

<sup>134</sup> Bressy, C. *et al.* *ARKIVOC*, **2002**, V, 127-138.

# Stratégies de synthèse

## Chapitre 4. Dérivés tricycliques

### 4. 2. Voie de synthèse à partir de la benzophénone nitrée

Afin de pallier le problème de réactivité de la benzophénone aminée en conditions de Wittig, il a été envisagé de procéder à une réaction de Wittig sur son précurseur nitré **229**.

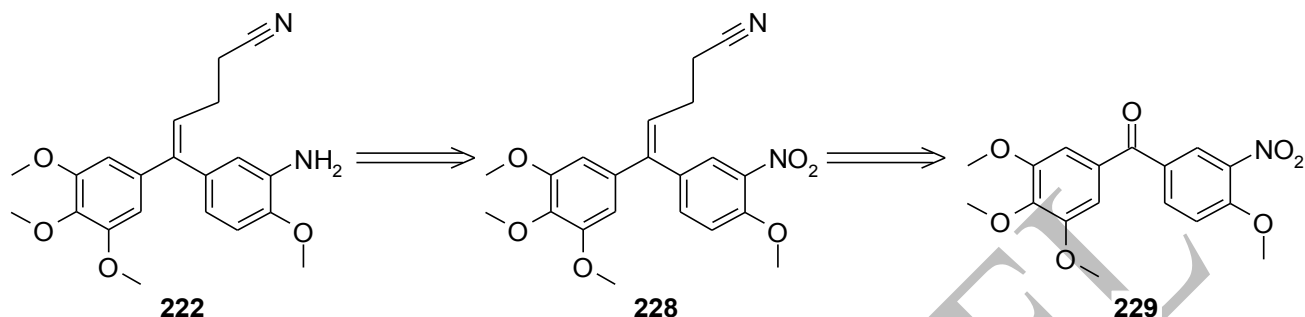
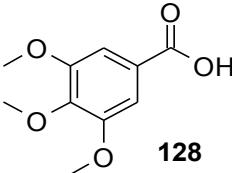
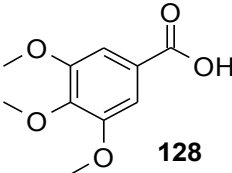
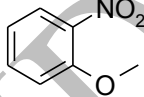
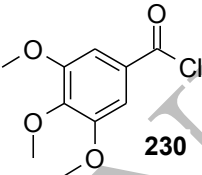
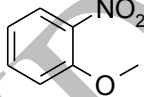
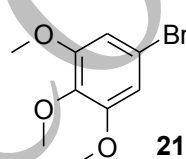
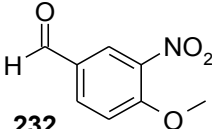
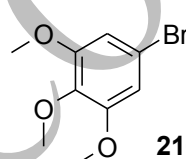
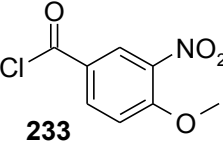
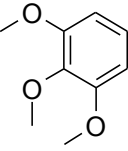
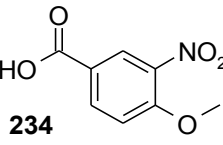


Schéma 92 : Rétrosynthèse modifiée de 222.

Pour préparer la benzophénone **229**, de multiples tentatives ont eu lieu (Tableau 37).

Tableau 37 : Tentatives de synthèse de 229.

| Entrée | Cycle A   | Cycle B   | Conditions   | Résultat                       |
|--------|---|---|--|--------------------------------|
| 1      |   |   | - Réactif d'Eaton (4 équiv. w/w), 70°C, 48 h   | pas de réaction                |
| 2      |   |  | - BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O (6 équiv.)<br>- (CF <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O (6 équiv.),<br>- 1,2-dichloroéthane, reflux, 15 h | pas de réaction                |
| 3      |  |  | - AlCl <sub>3</sub> (5 équiv.)<br>- CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , reflux, 24 h   | pas de réaction                |
| 4      |  |  | - Mg (1.2 à 2 équiv.)<br>- THF, TA à reflux, 15 h  | pas de réaction                |
| 5      |  |   | - <i>n</i> BuLi (1 à 2 équiv.)<br>- THF, -78°C à TA, 15 h  | pas de réaction                |
| 6      |   |  | - <i>n</i> BuLi (1.1 équiv.)<br>- THF, -78°C à TA, 15 h  | <b>235</b><br>Traces           |
| 7      |  |  | - (CF <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O (6 équiv.)<br>- BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O (6 équiv.)<br>- 1,2-dichloroéthane, reflux, 15 h  | <b>236</b><br>rendement = 66 % |

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 4. Dérivés tricycliques

Les premiers essais ont consisté en des réactions de Friedel-Crafts entre l'acide 3,4,5-triméthoxybenzoïque **128**, de son chlorure d'acide **230**, et le 2-nitroanisole **231**. Cependant, que ce soit en présence d' $\text{AlCl}_3$ , du réactif d'Eaton ou de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , aucune réaction n'a lieu (Tableau 37, Entrées 1 à 3).

De même, les tentatives de condensations entre le dérivé organolithien ou le dérivé organomagnésien de **216** et le 3-nitro-4-méthoxybenzaldéhyde **232** ont échoué (Entrées 4 et 5). Il est toutefois à noter que la réaction entre l'organolithien du bromé **216** et le chlorure de l'acide 3-nitro-4-méthoxybenzoïque **233** nous a conduit à la formation d'un composé inattendu : l'ester 3-nitro-4-méthoxybenzoate de 3,4,5-triméthoxyphényle **235** (Entrée 6 et Schéma 93). Sa formation fait sans doute intervenir une substitution nucléophile aromatique entre le bromobenzène **216**, via son benzyne **238**, et le carboxylate **237** (Schéma 93). Ce dernier proviendrait de l'hydrolyse du chlorure de l'acide **233** par un milieu réactionnel pas complètement anhydre (vaisselle ou réactifs mal séchés, par exemple).

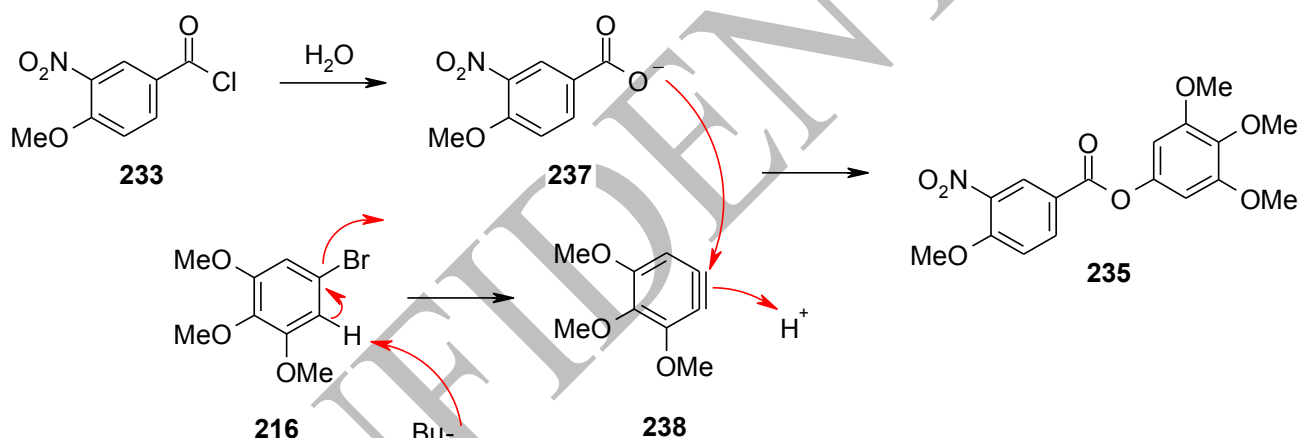


Schéma 93 : Formation de 235.

Devant la difficulté d'obtention de la benzophénone **229**, il a été envisagé d'utiliser son isomère **241** afin de préparer **239** à la place de **222** (Schéma 94).

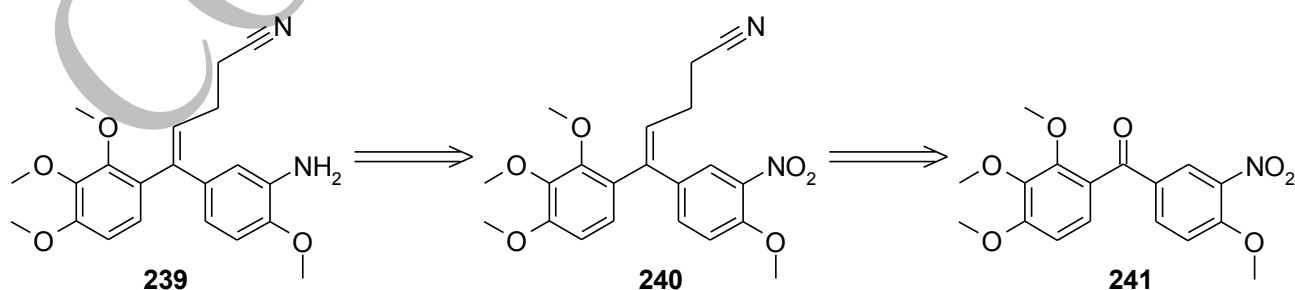


Schéma 94 : Rétrosynthèse à partir de l'isomère 241.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 4. Dérivés tricycliques

L'acide 3-nitro-4-méthoxybenzoïque se condense sur le 1,2,3-triméthoxyphényle en présence de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , pour donner la benzophénone **236** avec 66 % de rendement (Entrée 7 et Figure 76).

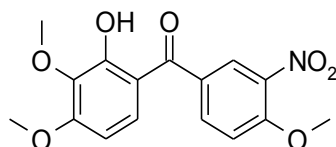


Figure 76 : Benzophénone **236**.

Par méthylation en présence de sulfate de diméthyle, on parvient à **241** qui est un isomère de position de la benzophénone attendue (Schéma 95). Par la suite, il serait intéressant de procéder à la réduction de ce produit afin d'obtenir son dérivé aminé qui pourrait présenter un intérêt biologique.

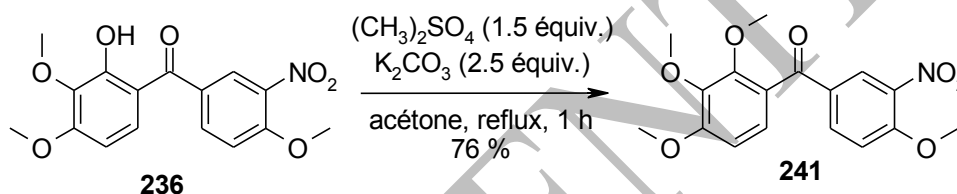


Schéma 95 : Méthylation de **236**.

Trois tentatives de réaction de Wittig ont été menées (Schéma 96 et Tableau 38).

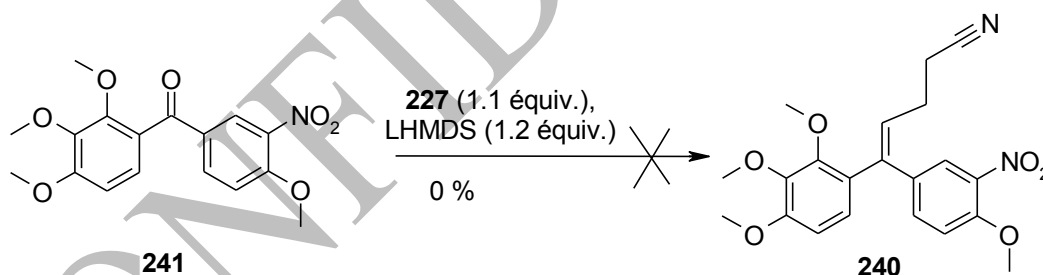


Schéma 96 : Tentative de réaction de Wittig sur **241**.

Tableau 38 : Conditions testées pour la réaction de Wittig sur **241**.

| Entrée | Solvant | Température | Durée | Résultats       |
|--------|---------|-------------|-------|-----------------|
| 1      | THF     | TA          | 15 h  | pas de réaction |
| 2      | toluène | 80°C        | 15 h  | pas de réaction |
| 3      | toluène | reflux      | 15 h  | pas de réaction |

Là encore, aucune condition n'a permis d'accéder au dérivé nitrilé. Par RMN, on ne note aucune conversion du produit de départ quelles que soient les conditions, alors même que l'ylure est formé en présence du LiHMDS.

## Stratégies de synthèse

### Chapitre 4. Dérivés tricycliques

Une alternative aurait été de passer par le dérivé soufré **242** obtenu dans les mêmes conditions que précédemment en présence de pentasulfure de phosphore ( $P_4S_{10}$ ) et d'hexaméthylidisiloxane (HMDSO)<sup>112</sup>.

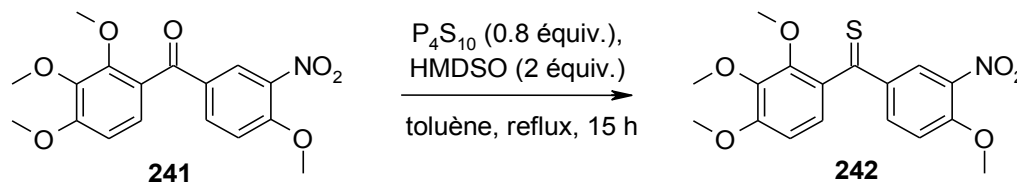


Schéma 97 : Thionation de **241**.

Malheureusement, le taux de conversion ne dépasse pas les 40 %. Malgré tous nos efforts, le produit soufré n'a pu être isolé pur. De plus, il se dégrade instantanément sur colonne de gel de silice, même avec de la silice neutralisée à la triéthylamine, et à l'air.

En conclusion, la synthèse des dérivés tricycliques n'a pu être menée plus avant.

CONFIDENTIEL



## **Conclusion générale et perspectives**

---

CONFIDENTIEL

## Conclusion

### Conclusion générale et perspectives

L'objectif de ce projet de thèse consistait en la conception, la synthèse et l'évaluation pharmacologique d'inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline, analogues de la CA-4, potentiellement antivasculaires et possédant un cycle A original. Après avoir souligné l'importance de la cible tubuline dans le cadre d'une stratégie antivasculaire dans la lutte contre le cancer, nous avons analysé les différents exemples d'analogues modifiés sur le cycle A publiés dans la littérature. Cette investigation nous a permis d'accéder à trois grandes séries de composés actifs.

#### Série des azacombréstatines

Dans cette série, les deux composés **49** et **53** devaient être resynthétisés afin d'être envoyés pour des tests complémentaires sur petits animaux au NCI (Figure 77).

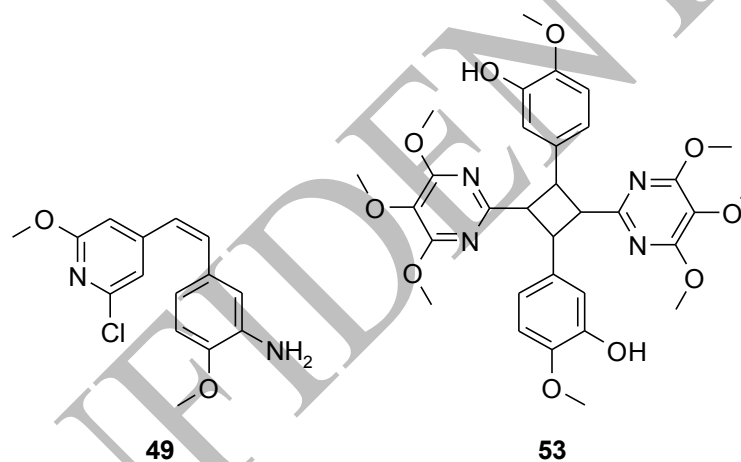


Figure 77 : Composés **49** et **53**, analogues azotés de la CA-4 retenus par le NCI pour des tests sur animaux.

La synthèse de **49** a été menée à bien avec succès. Sa synthèse a été optimisée, notamment lors de l'étape de réaction de Wittig, durant laquelle le dérivé *cis* s'isomérisait facilement en *trans* en présence de lumière. Cette étape a été réalisée avec succès en optimisant le taux de conversion en isomère *cis* et en limitant l'exposition à la lumière jusqu'à l'isolement du produit final. Le composé a été envoyé au NCI et les tests sur petits animaux sains ont permis de montrer que la molécule ne présentait pas de toxicité pour des doses inférieures à 400 mg/kg. Un nouvel échantillon de la molécule devra être envoyé au NCI pour qu'elle soit testée sur des souris xénogreffées.

Le dimère **53** n'a pu être isolé par manque de temps et à cause de difficultés dans la voie de synthèse, malgré l'optimisation de nombreuses étapes.

## Conclusion

### Série des composés à cycle A méthylés

Dans cette série, une quinzaine de composés a été synthétisée, de structure phenstatine et *isocombrétastatine* et un produit pentacyclique secondaire, dans le but d'observer l'impact du remplacement des groupements méthoxy par des méthyles. Parmi ces composés, quatre se détachent particulièrement du lot : **103**, **104**, **105** et **112** (Figure 78).

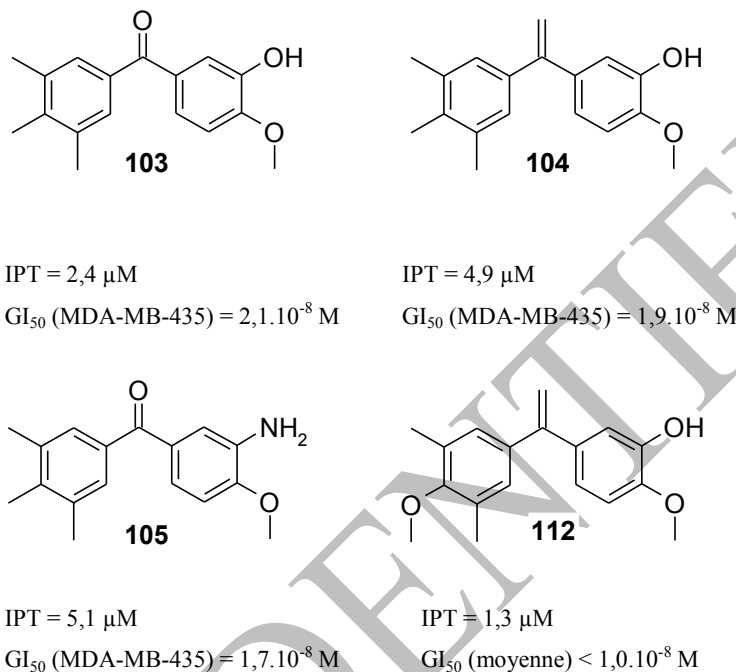


Figure 78 : Composés les plus actifs de la série.

L'étude de ces analogues méthylés a permis de montrer que le remplacement du cycle A classique par des cycles méthylés était possible en augmentant l'activité antitubuline et les activités cytotoxiques, à l'inverse de ce qui semble avoir lieu pour l'analogue de la combrétastatine A-4 en série triméthylphényle pour lequel l'activité cytotoxique diminue. On observe notamment une spécificité d'action sur la lignée MDA-MB-435 du mélanome.

Les composés **111** et **112** se révèlent les plus actifs de tous les composés confondus, avec la plupart de ses cytotoxicités inférieures à  $1,0 \cdot 10^{-8}$  M ainsi qu'une forte activité antitubuline ce qui semble montrer que le cycle 4-méthoxy-3,5-diméthylphényle présente le plus d'intérêt comme remplaçant du cycle triméthoxyphényle. Ces deux dérivés montrent une forte activité apoptotique et induisent un arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M.

Enfin les composés **104** et **113** (Figure 79) sont actuellement évalués par le BEC, au NCI, afin de déterminer s'ils seront testés sur rongeurs.

## Conclusion

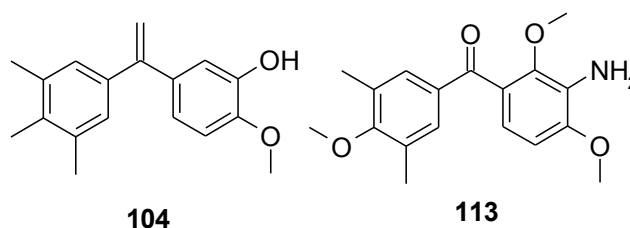


Figure 79 : Composés évalués par le BEC.

Dans le futur, ces composés devront être testés afin d'évaluer leur potentiel antivasculaire ainsi que leur éventuelle toxicité sur des êtres vivants. D'autre part, il serait intéressant de mener des études de métabolisation sur certains des composés les plus actifs, dont le composé **112**.

### Autres substitutions

Outre les cycles A azotés et méthylés, nous avons synthétisé quelques composés possédant divers cycles A, afin d'approfondir les relations structure-activité de ce type de composés.

En série classique, deux composés *isocombrétastatines* **167** et **168** ont été synthétisés, principalement à des fins de comparaison avec les composés des séries méthylées (Figure 80).

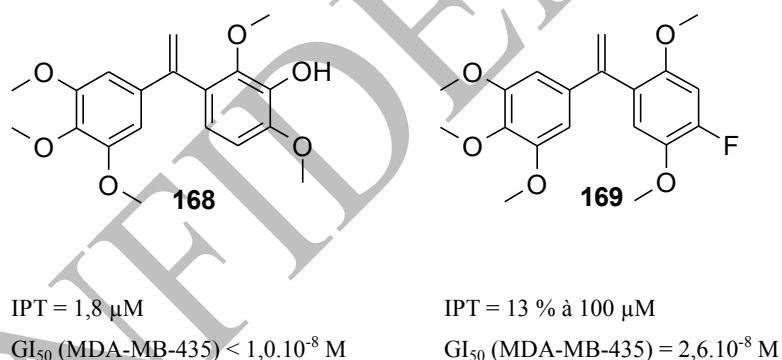


Figure 80 : *Isocombrétastatines* en série classique synthétisées.

L'*isocombrétastatine* **168** issue de **Mp6**, bien que moins active que son précurseur présente des cytotoxicités de l'ordre du nanomolaire, avec une spécificité pour la lignée MDA-MB-435 du mélanome. Elle présente, par ailleurs, l'une des meilleures activités antitubuline de l'ensemble de nos composés. L'*isocombrétastatine* **169** présente également une spécificité pour la lignée MDA-MB-435 du mélanome, mais avec des cytotoxicités très inférieures ; quant à son activité antitubuline, elle chute considérablement.

La modification de ce cycle, soit par suppression des méthoxy (composé **178**), soit par changement de leur position (composés **184** et **185**) affecte considérablement les activités de ce type de composés (Figure 81), notamment en ce qui concerne l'activité antitubuline. On observe

## Conclusion

néanmoins toujours l'activité spécifique sur la lignée MDA-MB-435 du mélanome. Le passage de **184** à **185** améliore néanmoins les activités cytotoxiques et antitubuline.

CONFIDENTIEL

## Conclusion

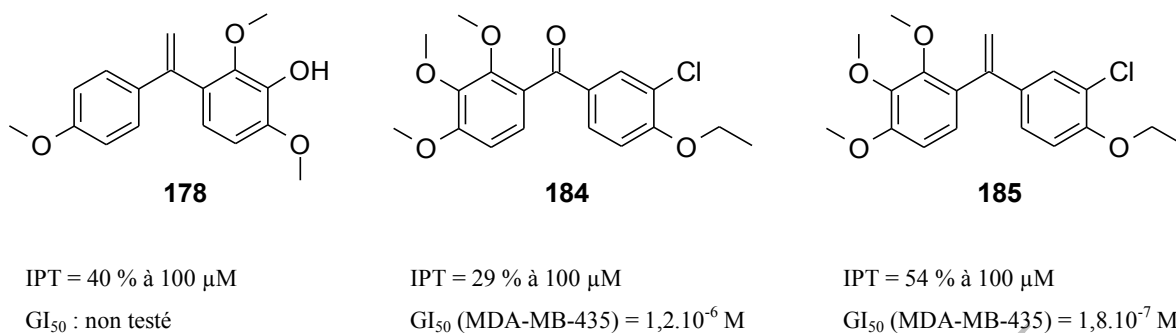
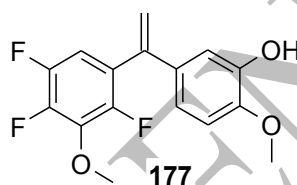


Figure 81 : Composés possédant des cycles A méthoxylés.

Enfin, en série 2,4,5-trifluoro-3-méthoxyphényle, le passage de la phenstatine à l'*isocombrétastatine* **177** amène un gain d'activités antitubulinique ainsi que cytotoxique même si celles-ci restent modestes par rapport à celles des autres composés des séries classique ou méthylée.



IPT = 37,9  $\mu$ M  
GI<sub>50</sub> (SR) = 1,5.10<sup>-8</sup> M

Figure 82 : *Isocombrétastatine* fluorée **177**.

### Réaction d'homologation de cétones

Au cours de la tentative de synthèse de l'*isocombrétastatine* **187**, nécessaire à l'obtention de l'*isocombrétastatine* **243** possédant un cycle A méthoxylé non classique et un groupement amine en *para* du cycle B (Figure 83), une réaction d'homologation de cétones intervenant à la place de la réaction de Wittig a été mise en évidence (Schéma 98).

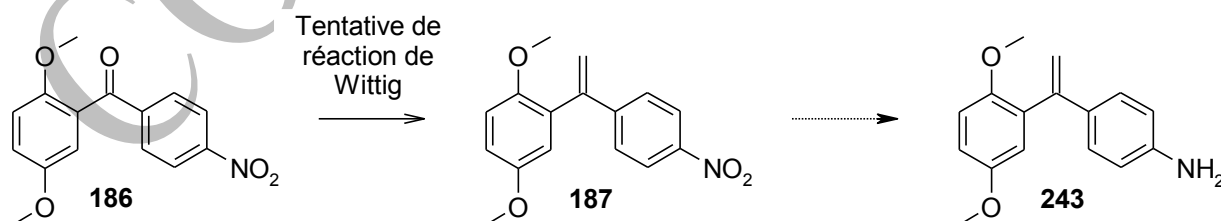


Figure 83 : Synthèse envisagée de l'*isocombrétastatine* **243** substituée par un groupement amine en position *para* du cycle B.

## Conclusion

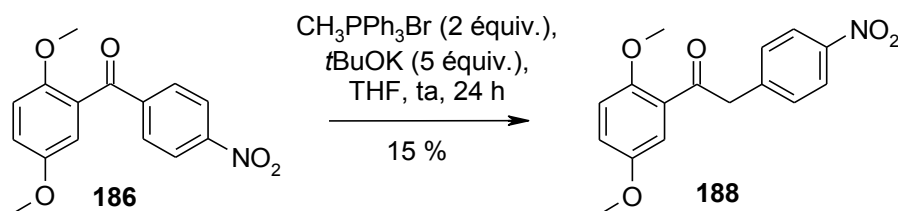


Schéma 98 : Réaction d'homologation mise en évidence lors de la tentative de réaction de Wittig sur le composé 186.

Une étude de réactivité a été menée afin de comprendre comment cette réaction intervenait. Selon le type de substitution et le nombre de groupements méthoxy, l'homologation de cétones a lieu avec des rendements de 12 à 51 %. De plus, le remplacement du groupement nitro par un groupe électroattracteur de type trifluorométhyle mène au produit de la réaction de Wittig plutôt qu'à l'homologation ; ce qui permet de supposer que la réaction est dépendante de la présence de ce groupement nitro. A la suite de ces investigations, un mécanisme général de la réaction a été proposé.

Les études de réactivité pourront être menées plus avant, en s'intéressant par exemple à l'effet d'autres substituants électrodonneurs sur le cycle A (NMe<sub>2</sub>, SMe, etc.), ainsi qu'en étudiant la réactivité de composés comportant un groupement nitro en position *ortho* ou *mé*ta du cycle B, ou plusieurs groupements électroattracteurs (2 NO<sub>2</sub>, 2 CF<sub>3</sub>, etc.). Il pourrait être également envisagé toute autre substitution ayant un effet donneur à la place du cycle aromatique A (Figure 84).

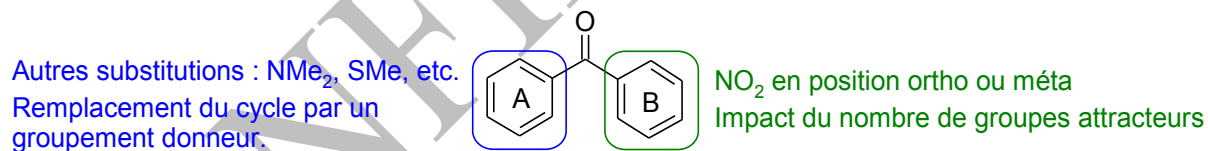


Figure 84 : Modifications envisageables pour étudier leur impact sur la réaction d'homologation.



## Conclusion

### Dérivés tricycliques

Enfin, il était envisagé la synthèse d'une série de composés tricycliques de squelette benzosubérène, analogues de la CA-4 et de la colchicine (Figure 85).

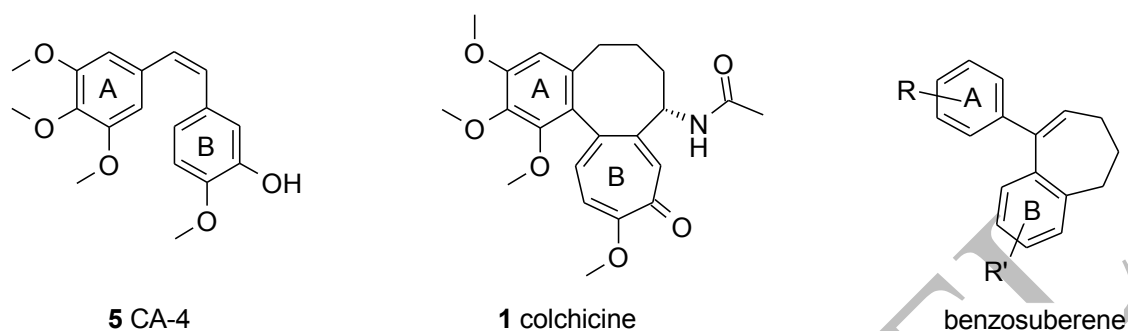


Figure 85 : Structure des analogues tricycliques.

Malgré toutes nos tentatives, l'intermédiaire **222** (Figure 86), nécessaire pour parvenir à nos dérivés tricycliques, n'a pu être isolé.

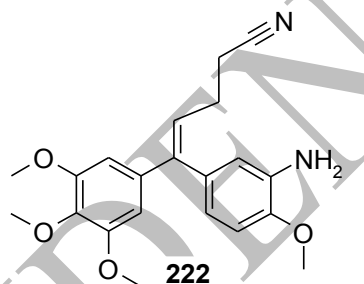


Figure 86 : Intermédiaire nécessaire à la cyclisation.

Il semble qu'avec un cycle A classique, la réaction de Wittig permettant d'y parvenir est très défavorisée. L'une des solutions envisageables serait de tester la réaction de Wittig sur les composés **133** ou **105** possédant un cycle A triméthylé, composés plus facilement synthétisable que leur analogue en série classique et qui pourraient être plus réactifs en réaction de Wittig.

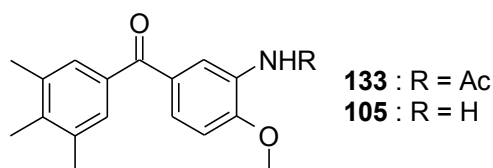


Figure 87 : Substrat sur lequel pourrait être testée la réaction de Wittig avec 133 ou 105.

## Conclusion

CONFIDENTIEL

## **Experimental part**

---

CONFIDENTIEL

CONFIDENTIEL

## Experimental part

### Experimental part

- Thin layer chromatographies were performed on Macherey Nagel silica gel plates with a fluorescent indicator UV<sub>254</sub> of thickness 0.2 mm (reference 811020) and were visualized with UV-lamp at 254 and 366 nm.
- Column chromatographies were performed on silica gel (40-60  $\mu\text{m}$ , Macherey-Nagel).
- Flash chromatographies were performed on silica (prepacked columns of 80 g of 15-40  $\mu\text{m}$  SiO<sub>2</sub>, Macherey-Nagel) on a Combi Flash Rf<sup>®</sup> apparatus.
- Melting points were measured in degrees Celsius ( $^{\circ}\text{C}$ ) on an OptiMelt MPA 100<sup>®</sup> apparatus and are uncorrected.
- Elemental analyses (C, H, N) were determined by “Service de Microanalyses”, Faculté de Sciences Mirande, Université de Bourgogne, Dijon, France.
- NMR spectra were acquired at 400 MHz for <sup>1</sup>H NMR at 100 MHz for <sup>13</sup>C NMR and at 376 MHz for <sup>19</sup>F NMR on a Varian 400 MHz Premium Shielded<sup>®</sup> spectrometer. Chemical shift  $\delta$  is expressed in parts per million (ppm) relative to TMS as internal standard. The coupling constants are expressed in Hertz (Hz). The following abbreviations are used for the interpretation of spectra: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet).

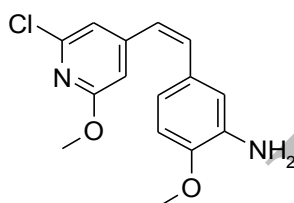
## Experimental part

### Protocoles de synthèse

#### 5-[(Z)-2-(2-Chloro-6-methoxypyridin-4-yl)vinyl]-2-methoxyphenylamine (49)

**Warning: the whole experiment must be conducted in the dark.**

A mixture of 2-chloro-6-methoxy-4-[(Z)-2-(4-methoxy-3-nitrophenyl)ethenyl]pyridine **64** (13.08 g, 41 mmol, 1 equiv.) and anhydrous sodium sulfide (9.6 g, 123 mmol, 3 equiv.) was stirred in EtOH at reflux for 1 hour. The mixture was quenched on iced water and extracted with dichloromethane. The organic layer was dried on MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed in vacuo. The pure product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 9/1 and 1% Et<sub>3</sub>N and was obtained as a yellow solid (7.35 g, 62%).

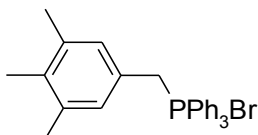


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid  |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 290.75 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 62%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.61 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                    | 70-71°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 3.73 (bs, 2H, NH <sub>2</sub> ); 3.84, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.89 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 6.24 (d, <i>J</i> = 12.2 Hz, 1H, CH); 6.54 (s, 1H, ArH); 6.63 (d, <i>J</i> = 12.2 Hz, 1H, CH); 6.54 (s, 1H, ArH); 6.59 (d, <i>J</i> = 2.8 Hz, 1H, ArH); 6.60 (dd, <i>J</i> = 8.1, 2.8 Hz, 1H, ArH); 6.63 (d, <i>J</i> = 12.2 Hz, 1H, CH); 6.67 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H, ArH); 6.80 (s, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 53.9 (CH <sub>3</sub> ); 55.5 (CH <sub>3</sub> ); 108.5 (CH) ; 110.1 (CH); 115.0 (CH); 116.4 (CH); 119.5 (CH); 124.5 (CH); 128.5 (C) ; 134.8 (CH); 136.0 (C); 147.3 (C); 148.2 (C); 150.8 (C); 164.1 (C)  |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%): C, 61.97; H, 5.20; N, 9.63<br>Found (%): C, 61.63; H, 5.62; N, 9.23   |

## Experimental part

### *Bromo(triphenyl)(3,4,5-trimethylbenzyl)phosphorane (56)*

A mixture of 5-(bromomethyl)-1,2,3-trimethylbenzene **127** (0.9 g, 4.2 mmol, 1 equiv.) and PPh<sub>3</sub> (1.3 g, 5.1 mmol, 1.2 equiv.) in toluene was stirred at 110°C for 5 hours. The solution was filtered, then dried to vacuum pump to obtain the product as a white powder.

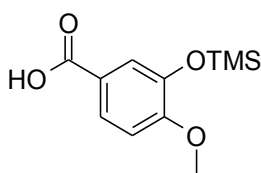


|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | White powder   |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                              | 178.23 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | 91%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                 | 0.81 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>mp</b> (toluene)                                  | 234-235°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 2.06 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 2.07 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 5.21 (d, 2H, CH <sub>2</sub> ), 6.59 (s, 2H, 2ArH), 7.64-7.78 (m, 15H, 15ArH) |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>104</sup>

### *4-Methoxy-3-[(trimethylsilyl)oxy]benzaldehyde (57)*

4-Methoxy-3-hydroxybenzaldehyde **74** (0.6 g, 3.8 mmol, 1 equiv.) and saccharine (10% mol.) were dissolved in THF under nitrogen. Under stirring, HMDS (0.5 mL, 2.4 mmol, 0.6 equiv.) was added then the mixture was refluxed for 2 hours. The product was used without purification in the next step.



|                          |   |
|--------------------------|---|
| <b>Molecular formula</b> | C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub> Si |
| <b>Molecular weight</b>  | 224.33 g.mol <sup>-1</sup>                        |
| <b>Yield</b>             | Considered quantitative                           |

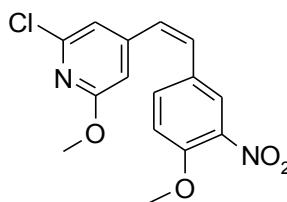
The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>105</sup>

## Experimental part

### 2-Chloro-6-methoxy-4-[(Z)-2-(4-methoxy-3-nitrophenyl)ethenyl]pyridine (64)

**Warning: the whole experiment must be conducted in the dark.**

A mixture of [(2-chloro-6-methoxypyridin-4-yl)methyl]triphenylphosphonium bromide **66** (27.5 g, 55 mmol, 1 equiv.), 3-nitro-4-methoxybenzaldehyde **65** (10.0 g, 55 mmol, 1 equiv.) and triethylamine (37.3 mL, 276 mmol, 5 equiv) in THF (200 mL) was refluxed for 24 hours. After cooling to rt, the THF was removed in vacuo. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 6/4 to give the pure *Z*-product as a yellow solid (13.1 g, 74%).



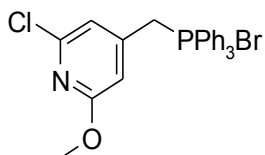
|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | Yellow solid   |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                              | 320.73 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | 74%  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 3.91 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.96 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 6.47 (d, 1H, <i>J</i> = 12.4 Hz, CH); 6.48 (s, 1H, ArH); 6.66 (d, <i>J</i> = 12.4 Hz, CH); 6.73 (s, 1H, ArH); 6.96 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 1H, ArH); 7.35 (dd, <i>J</i> = 8.9, 2.6 Hz, 1H, ArH); 7.73 (d, <i>J</i> = 2.9 Hz, 1H, ArH) |



## Experimental part

### *[(2-Chloro-6-methoxy-pyridin-4-yl)methyl]triphenylphosphonium bromide (66)*

A mixture of 4-(bromomethyl)-2-chloro-6-methoxy-pyridine **67** (5.5 g, 23.0 mmol, 1 equiv.) and triphenylphosphine (7.4 g, 28.0 mmol, 1.2 equiv.) in toluene was refluxed for 5 hours. The phosphonium salt precipitates and was filtered, then was washed with toluene. The pure phosphonium was obtained as a white powder (11.1 g, 95%)

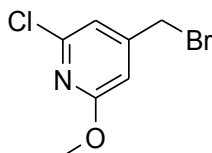


|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | Beige powder  |
| <b>Molecular formula</b>                               | C <sub>25</sub> H <sub>22</sub> BrClNOP   |
| <b>Molecular weight</b>                                | 498.79 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>   | 95%   |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                   | 237-238°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) | δ (ppm) 3.76 (s, 1H, OCH <sub>3</sub> ); 5.83 (s, 1H, CH <sub>2</sub> ); 5.87 (s, 1H, CH <sub>2</sub> ); 6.61 (d, <i>J</i> = 2.4 Hz, 1H, ArH); 6.62 (d, <i>J</i> = 2.4 Hz, 1H, ArH); 7.61-7.91 (m, 15H, ArH). |

## Experimental part

### 4-(Bromomethyl)-2-chloro-6-methoxypyridine (67)

A solution of (2-chloro-6-methoxypyridin-4-yl)methanol **68** (15.1 g, 87 mmol, 1 equiv.) in dichloromethane (80 mL) was cooled to 0°C. Phosphorus tribromide (12.4 mL, 131 mmol, 1.5 equiv.) was added dropwise and the mixture was stirred at rt for 3 hours. The solution was quenched on a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> and extracted with dichloromethane, then dried on MgSO<sub>4</sub>. The volatiles were removed in vacuo and the pure product was obtained as a white powder (14.9 g, 72%).



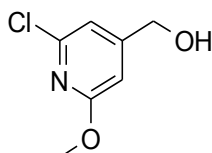
|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | Beige powder  |
| <b>Molecular formula</b>                               | C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> BrClNO  |
| <b>Molecular weight</b>                                | 236.50 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>   | 72%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                   | 0.63 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 7/3)   |
| <b>mp</b> (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )           | 94-96°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) | δ (ppm) 3.94 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 4.29 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 6.65 (s, 1H, ArH); 6.93 (s, 1H, ArH) |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>84</sup>

## Experimental part

### *(2-Chloro-6-methoxypyridin-4-yl)methanol (68)*

A solution of methyl 2-chloro-6-methoxypyridine-4-carboxylate **69** (20.0 g, 0.1 mol, 1 equiv.) in dichloromethane/methanol 5/1 (125 mL) was cooled to 0°C. Sodium borohydride (7.8 g, 0.2 mol, 2 equiv.) was added, then the mixture was stirred at rt for 15 hours. The mixture was quenched on a saturated solution of ammonium chloride and extracted with dichloromethane, then dried on MgSO<sub>4</sub>. The solvents were removed in vacuo and the pure product was obtained as a white solid (10.7 g, 62%).



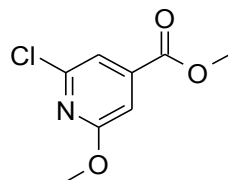
|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | White solid   |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> ClNO <sub>2</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                              | 173.60 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>   | 62%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                 | 0.52 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 3.94 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 4.66 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 6.65 (s, 1H, ArH); 6.90 (s, 1H, ArH) |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>84</sup>

## Experimental part

### *Methyl 2-chloro-6-methoxypyridine-4-carboxylate (69)*

The methyl 2,6-dichloropyridine-4-carboxylate **70** (1.03 g, 5.0 mmol, 1 equiv.) was dissolved in MeOH (5 mL). A solution of sodium methoxide 30% w/w in MeOH (4.0 mL, 25.0 mmol, 5 equiv.) was added dropwise and the mixture was stirred at rt for 48 hours. The precipitate was filtered and washed with MeOH. The pure ester was obtained as a white solid (1.02 g, quantitative yield).



|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | White solid  |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> ClNO <sub>3</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                              | 201.60 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | quantitative yield   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                 | 0.83 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 3.94 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.97 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 7.22 (s, 1H, ArH); 7.43 (s, 1H, ArH) |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>83</sup>

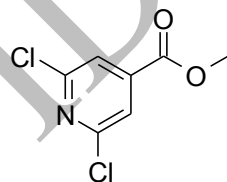
## Experimental part

### *Methyl 2,6-dichloropyridine-4-carboxylate (70)*

**From citrazinic acid<sup>80</sup> (72):** Citrazinic acid (10.0 g, 65 mmol, 1 equiv.) and tetramethylammonium chloride (7.8 g, 71 mmol, 1.1 equiv.) were dissolved in POCl<sub>3</sub> (9 mL, 80 mmol, 1.2 equiv.) at 0°C under high stirring speed. When the release of HCl has decreased, another volume of POCl<sub>3</sub> (9 mL, 80 mmol, 1.2 equiv.) was added and the mixture was refluxed for 15 hours. The mixture was then cooled to 0°C and quenched with 200 mL of MeOH. Solid NaHCO<sub>3</sub> was added and the solution was diluted with H<sub>2</sub>O (250 mL) until complete neutralization. The solution was extracted with EtOAc. The combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated. The crude product was filtered on a plug of silica with *n*-heptane/EtOAc 9/1. The pure product was obtained as a white solid (2.23 g, 17%).

**From 2,6-dichloropyridine-4-carbonyl chloride (71):** 2,6-Dichloropyridine-4-carbonyl chloride (30.0 g, 0.14 mol) was dissolved into MeOH (100 mL) at 0°C. The mixture was stirred at rt for 20 min. The ester precipitates as a white solid and was filtered (27.5 g, 94%).

**From 2,6-dichloropyridine-4-carboxylic acid<sup>82</sup> (73):** A mixture of 2,6-dichloropyridine-4-carboxylic acid (10.0 g, 52.0 mmol, 1 equiv.) and sulfuric acid (0.72 mL, 13.5 mmol, 0.25 equiv.) into MeOH (80 mL) was stirring at reflux for 15 hours. After cooling to rt, the methanol was removed in vacuo and the pure product was obtained as a brown solid (11.7 g, quantitative yield).



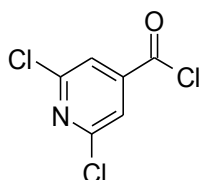
|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | White solid   |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub> |
| <b>Molecular weight</b>                              | 203.02 g.mol <sup>-1</sup>                                    |
| <b>Yield</b>   | 94-100%   |
| <b>mp (MeOH)</b>                                     | 81-82°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 3.98 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 7.81 (d, 2H, ArH)    |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>80</sup>

## Experimental part

### *2,6-Dichloropyridine-4-carbonyl chloride (71)*

A mixture of citrazinic acid **72** (100 g, 0.64 mol, 1 equiv.) and tetramethylammonium chloride (70.6 g, 0.64 mol, 1 equiv.) was dissolved in POCl<sub>3</sub> (90 mL, 0.81 mol, 1.5 equiv.) at 0°C under high stirring speed. When the release of HCl has decreased, another volume of POCl<sub>3</sub> (90 mL, 0.81 mol, 1.5 equiv.) was added and the mixture was refluxed for 15 hours. Some POCl<sub>3</sub> was removed in vacuo and the pure chloride was obtained by vacuum distillation (75°C under 0.1 mbar) as a clear oil (55.42 g, 41%).

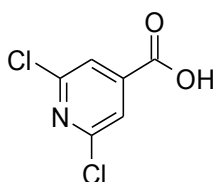


|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | Clear oil  |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>6</sub> H <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub> NO |
| <b>Molecular weight</b>                              | 210.45 g.mol <sup>-1</sup>                       |
| <b>Yield</b>   | 41%  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 7.87 (d, ArH)                            |

## Experimental part

### 2,6-Dichloropyridine-4-carboxylic acid (73)

A mixture of citrazinic acid **72** (152 g, 0.98 mol, 1 equiv.) and tetramethylammonium chloride (107.7 g, 1.02 mol, 1.04 equiv.) was dissolved in POCl<sub>3</sub> (136.5 mL, 1.45 mol, 1.5 equiv.) at 0°C under high stirring speed. When the release of HCl has decreased, another volume of POCl<sub>3</sub> (136.5 mL, 1.45 mol, 1.5 equiv.) was added and the mixture was refluxed for 15 hours. After cooling to rt, the mixture was poured into ice (2 kg) and stirring for 2 hours. A solid precipitates which is filtered then dissolved into EtOAc. The insoluble was filtered and the filtrate was evaporated. The pure acid was obtained as a beige solid (141.94 g, 75.4%)



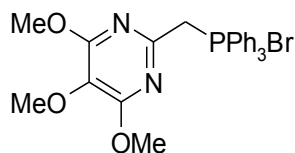
|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | Beige solid   |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>6</sub> H <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub> |
| <b>Molecular weight</b>                              | 191.99 g.mol <sup>-1</sup>                                    |
| <b>Yield</b>   | 75.4%   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 7.87 (d, 2H, ArH), 9.34 (bs, 1H, OH)                  |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>81</sup>

## Experimental part

### *Triphenyl-[(4,5,6,-trimethoxypyrimidin-2-yl)methyl]phosphonium bromide (75)*

A mixture of 2-(bromomethyl)-4,5,6-trimethoxypyrimidine **76** (0.81 g, 3.1 mmol, 1 equiv.) and triphenylphosphine (0.98 g, 3.7 mmol, 1.2 equiv.) in toluene was stirred at reflux for 15 hours. After cooling to rt, the precipitate was filtered and washed with toluene to give the pure product as a white powder (quantitative yield).



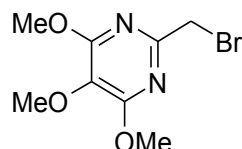
|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | White powder   |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>26</sub> H <sub>26</sub> BrN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> P  |
| <b>Molecular weight</b>                              | 525.39 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | Quantitative yield   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 3.65 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ); 3.75 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 5.46 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 7.64 - 7.93 (m, 15H, 15ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz)</b> | δ 54.3 (3CH <sub>3</sub> ); 60.3 (CH <sub>2</sub> ); 117.2 (C); 119.0 (C); 129.0 - 135.2 (Ar); 150.7 (C); 150.9 (C); 161.9 (C).        |



## Experimental part

### 2-(Bromomethyl)-4,5,6-trimethoxypyrimidine (76)

4,5,6-Trimethoxy-2-methylpyrimidine **77** (1 g, 5.4 mmol, 1 equiv) and *N*-bromosuccinimide (1.74 g, 9.7 mmol, 1.8 equiv) were dissolved in 5 mL of benzene. AIBN (0.089 g, 0.54 mmol, 0.1 equiv) was partly added then the mixture is stirred at reflux for 30 min. Solid succinimide was filtered and the filtrate was evaporated under vacuum. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to give the pure product as a beige bright solid (0.63 g, 44%).

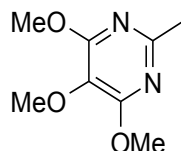


|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Beige bright solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> BrN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 263.09 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 44%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.43 (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )  |
| <b>mp (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)</b>              | 72-74°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.84 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 4.01 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ); 4.38 (s, 2H, CH <sub>2</sub> )      |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 33.1 (CH <sub>2</sub> ); 53.8 (2CH <sub>3</sub> ); 59.9 (CH <sub>3</sub> ); 125.2 (C); 156,5 (2C); 161.8 (C) |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                           | 742, 1180, 1366, 1443, 1487, 1569  |

## Experimental part

### 4,5,6-Trimethoxy-2-methylpyrimidine (77)

A solution of sodium methanolate 30% in MeOH (118 mL, 0.63 mol, 6 equiv.) was slowly poured on a mixture of 4,6-dichloro-5-methoxy-2-methylpyrimidine **78** (20.3 g, 0.10 mol, 1 equiv.) in MeOH (300 mL) cooled to 0°C. The mixture was stirred at reflux for 15 hours, then was filtered and the solvent removed in vacuo. The crude product was redissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and washed with water. The organic layer was dried on MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under vacuum. The pure product was obtained as a pale yellow solid (14.4 g, 75%).



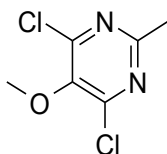
|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | Pale yellow solid  |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                              | 184.20 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | 75%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                 | 0.56 (EtOAc)   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 2.47 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 3.80 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.98 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> )     |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz)</b> | δ 25.3 (CH <sub>3</sub> ), 54.0 (CH <sub>3</sub> ), 60.4 (CH <sub>3</sub> ), 124.5 (C), 159.9 (C), 162.0 (C) |

## Experimental part

### 4,6-Dichloro-5-methoxy-2-methylpyrimidine (78)

Because of the strong odor of the final product, all glassware should be treated with bleach after use.

6-Hydroxy-5-methoxy-2-methylpyrimidin-4(5H)-one **79** (19.25 g, 123 mmol) was dissolved in POCl<sub>3</sub> (100 mL) at 0°C. The mixture is then refluxed for 15 hours. POCl<sub>3</sub> was removed in vacuo and the crude product was quenched on a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub>. Then, the solution was extracted with CHCl<sub>3</sub> and dried on MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed and the pure product was obtained as green needles (20.3 g, 85%).

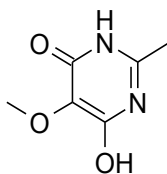


|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | Green needles  |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O         |
| <b>Molecular weight</b>                              | 193.03 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | 85%  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 2.67 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 3.96 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ) |

## Experimental part

### 6-Hydroxy-5-methoxy-2-methylpyrimidin-4(5H)-one (79)

A mixture of acetamidine **80** (20 g, 0.22 mol, 1 equiv.) in MeOH was cooled to 0°C. A solution of sodium methanolate 30% in MeOH (123 mL, 0.66 mol, 3 equiv.) then dimethyl methoxymalonate **81** (30 mL, 0.22 mol, 1 equiv.) were poured slowly on the mixture. The solution was stirred at rt for 24 hours then quenched with concentrated HCl until pH 5-7. The solvent was removed in vacuo. The crude product was extracted with MeOH with a Soxhlet extractor for 24 hours, then MeOH was removed under vacuum. The pure product was obtained as a white powder (24.5 g, 74%).

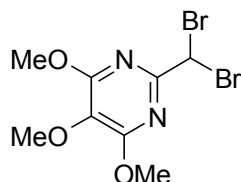


|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | White powder  |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                                       |
| <b>Molecular weight</b>                              | 156.14 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>   | 74%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                 | 0.61 (EtOAc/MeOH 5/5)   |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                 | > 250°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 2.19 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 3.58 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 11.7 (bs, 2H, NH and OH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (DMSO, 50 MHz)</b>             | δ 19.9 (CH <sub>3</sub> ); 58.6 (CH <sub>3</sub> ); 123.4 (C); 153.3 (C); 159.6 (C)               |

## Experimental part

### *2-(Dibromomethyl)-4,5,6-trimethoxypyrimidine (83)*

4,5,6-Trimethoxy-2-methylpyrimidine **77** (2 g, 10 mmol, 1 equiv.) and *N*-bromosuccinimide (11.5 g, 60 mmol, 6 equiv.) were dissolved in 30 mL of benzene. AIBN (0.4 g, 2 mmol, 0.2 equiv.) was partly added then the mixture is stirred at reflux for 4 hours. Solid succinimide was filtered and the filtrate was evaporated under vacuum. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/*n*-heptane 5/5. The pure product was isolated as a pale solid (0.99 g, 27%).



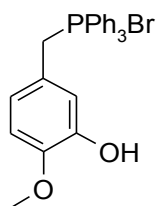
|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Beige bright solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                     |
| <b>Molecular weight</b>                               | 341.99 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 27%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.65 (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.89 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 4.04 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ); 6.47 (s, 1H, CH)      |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 40.2 (CH); 54.1 (2CH <sub>3</sub> ); 60.0 (CH <sub>3</sub> ); 125.6 (C); 156,0 (2C); 161.6 (C) |

## Experimental part

### *3-Hydroxy-4-methoxybenzyltriphenylphosphonium bromide*<sup>93</sup> (**85**)

A solution of phosphorus tribromide (8.5 mL, 90 mmol, 2.2 equiv.) in a mixture of THF-toluene (1:2, 330 mL) was added to a cooled solution of 3-hydroxy-4-methoxybenzyl alcohol **87** (6.1 g, 40 mmol, 1 equiv.) in THF-toluene (1:2, 75 mL). The solution was stirred at rt for 2 hours, poured onto ice water, and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with water then by brine and dried on MgSO<sub>4</sub>. The solvents were evaporated to give the crude bromide derivative **88**.

A mixture of the crude bromide **88** and triphenylphosphine (15.7 g, 60 mmol, 1.5 equiv.) was stirred for 15 min at rt and heated at reflux for 2 hours. On cooling to room temperature, a viscous oil separated (8.4 g, 45 %).



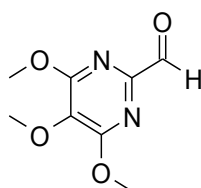
|                          |  |
|--------------------------|--|
| <b>Aspect</b>            | Yellow oil   |
| <b>Molecular formula</b> | C <sub>26</sub> H <sub>24</sub> BrO <sub>2</sub> P |
| <b>Molecular weight</b>  | 479.36 g.mol <sup>-1</sup>                         |
| <b>Yield</b>             | 45%  |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>93</sup>

## Experimental part

### 4,5,6-trimethoxypyrimidine-2-carbaldehyde (86)

2-(Dibromomethyl)-4,5,6-trimethoxypyrimidine **83** (0.70 g, 2 mmol, 1 equiv.) was dissolved in 30 mL of ethanol. A solution of silver nitrate (0.83 g, 4.5 mmol, 2.2 equiv.) in 10 mL of water were added to the mixture, then refluxed for 1 hour. The solution was cooled below 20°C then 10 mL of chlorhydric acid was added to neutralize it. The precipitated was filtered, and the solvent was removed in vacuo. The crude product was dissolved in a saturated solution of sodium bicarbonate, then extracted by ethyl acetate, and washed by water and brine. The organic layer was dried on MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under vacuum. The pure product was obtained as a white powder (0.12 g, 30%).

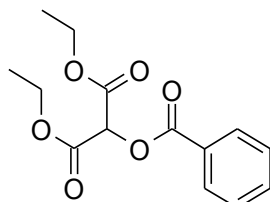


|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | White solid  |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>                                 |
| <b>Molecular weight</b>                              | 198.17 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | 30%  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 3.96 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 4.12 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ); 9.84 (s, 1H, CHO) |

## Experimental part

### *Diethyl(benzoyloxy)propanedioate (96)*

A mixture of diethyl bromopropanedioate **92** (107 mL, 0.63 mol, 1 equiv.) and benzoic acid **95** (115 g, 0.94 mol, 1.5 equiv.) in Et<sub>3</sub>N (515 mL, 3.76 mol, 6 equiv.) was refluxed for 16 hours. The precipitate was filtered then the filtrate was extracted with Et<sub>2</sub>O and washed with water. The organic layers were dried on MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed in vacuo. The crude product was recrystallized from Et<sub>2</sub>O to give the pure product as colorless crystals (79 g, 72%).



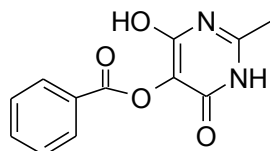
|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Colorless crystals   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 280.28 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 72%  |
| <b>mp (Et<sub>2</sub>O)</b>                           | 59-60°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 1.33 (t, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 4.33 (m, 4H, CH <sub>2</sub> ), 5.76 (s, 1H, CH), 7.47 (t, 2H, 2ArH), 7.61 (t, 1H, ArH), 8.13 (d, 2H, 2ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 14.0 (CH <sub>3</sub> ), 62.6 (CH <sub>2</sub> ), 72.1 (CH), 128.5 (CH + C), 130.2 (CH), 133.8 (CH), 164.5 (2C), 165.1 (C)                         |



## Experimental part

### *4-Hydroxy-2-methyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl benzoate (99)*

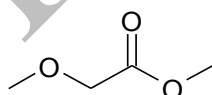
A mixture of acetamidine **80** (0.34 g, 3 mmol, 1 equiv.) in MeOH was cooled to 0°C. A solution of sodium methanolate 30% in MeOH (2 mL, 10 mmol, 3 equiv.) then diethyl(benzoyloxy)propanedioate **96** (1 g, 3 mmol, 1 equiv.) were poured slowly on the mixture. The mixture changes from yellow to black, then, after stirring for a night at rt, to yellow. The solution was quenched with HCl 10% and NaOH 5%. The solvent was removed in vacuo. The crude product was recrystallized with MeOH (0.30 g, 35%).



|                          |   |
|--------------------------|---|
| <b>Aspect</b>            | White solid   |
| <b>Molecular formula</b> | C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> |
| <b>Molecular weight</b>  | 246,22 g.mol <sup>-1</sup>                                    |
| <b>Yield</b>             | 35%   |

### *Methyl methoxyacetate (101)*

A mixture of methoxyacetic acid **100** (50 g, 0.55 mol, 1 equiv) and *para*-toluenesulfonic acid (10.5 g, 55 mmol, 0.1 equiv) in 400 mL of MeOH/CHCl<sub>3</sub> 3/1 was refluxed with a Soxhlet extractor for 15 hours. The solution was concentrated in vacuo to give the pure product as a brown oil (41.5 g, 72%).



|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | Brown oil  |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                              | 104.11 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | 72%  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 3.45 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.77 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.05 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ) |

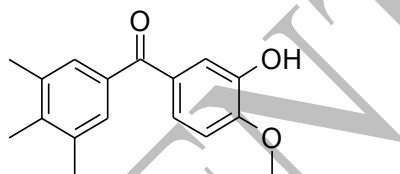
## Experimental part

### *(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)(3,4,5-trimethylphenyl)methanone (103)*

#### General procedure for the deprotection of the phenols

A mixture of chloroacetic ester (1 equiv.) and sodium acetate trihydrate (AcONa·3H<sub>2</sub>O) (3 to 5 equiv.) in methanol was stirred at reflux for 1 to 3 hours. After cooling to rt, the solvent was evaporated in vacuo. The crude product was dissolved in water. A solid precipitates which was filtered, washed with water and recrystallized in ethanol.

The general procedure for the deprotection of the phenols was followed using 2-methoxy-5-(3,4,5-trimethylbenzoyl)phenyl chloroacetate **132** (2.1 g, 6.0 mmol) and AcONa·3H<sub>2</sub>O (3.7 g, 27.2 mmol) in MeOH was refluxed for 2 h. The solvent was removed in vacuo and the crude solid was dissolved in a solution of water. The pure product precipitates in water as a white powder (1.6 g, 95%).



|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | White solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 270.33 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 95%   |
| <b>mp (water)</b>                                     | 133-135°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 2.24 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.33 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.97 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.69 (s, 2H, ArOH), 6.91 (d, 1H, ArH), 7.38 (d, J = 8.7, 1.9 Hz, 1H, ArH), 7.39 (dd, 1H, ArH), 7.41 (s, 2H, ArH), 7.43 (d, J = 1.9 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 15.7 (CH <sub>3</sub> ), 20.6 (2CH <sub>3</sub> ), 56.1 (CH <sub>3</sub> ), 109.7 (CH), 116.3 (CH), 123.7 (CH), 129.1 (2CH), 131.4 (C), 135.1 (C), 136.3 (2C), 140.0 (C), 145.2 (C), 150.1 (C), 195.8 (C)   |
| <b>IR v cm<sup>-1</sup></b>                           | 3365, 1640, 1269  |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 75.53; H, 6.71<br>Found (%): C, 75.71 ; H, 7.04  |

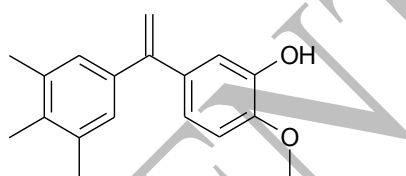
### *2-Methoxy-5-[1-(3,4,5-trimethylphenyl)vinyl]phenol (104)*

#### General procedure for Wittig reaction

## Experimental part

A mixture of potassium *tert*-butoxide (5 equiv.) and methyltriphenylphosphonium bromide (2 equiv.) in tetrahydrofuran or toluene was stirred at rt or 80°C for 1 hour. The benzophenone (1 equiv.) dissolved in tetrahydrofuran or toluene was added and the mixture was stirred at rt or 80°C for 15 hours. The solution was poured into water, then extracted with dichloromethane and dried on MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed in vacuo. The crude product was purified by column chromatography on silica gel to give a 1-phenylvinylbenzene or a 1,2-diphenylethanone.

The general procedure for Wittig reaction was followed, using (3-hydroxy-4-methoxyphenyl)(3,4,5-trimethylphenyl)methanone **103** (0.5 g, 1.8 mmol), *tert*-butoxide (1.0 g, 9.2 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (1.3 g, 3.7 mmol) in toluene at 80°C for 18 hours. The products were separated by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 8/2. The pure product was obtained as white crystals (0.4 g, 81%).

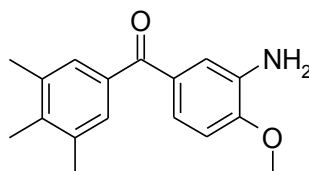


|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White crystals   |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 268.36 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 81%  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                    | 96.6-99.8°C °C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 2.18 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.27 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.90 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.29 (d, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.32 (d, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 6.83 (m, 2H, ArH), 6.96 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H, ArH), 6.98 (s, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 15.2 (CH <sub>3</sub> ), 20.6 (2CH <sub>3</sub> ), 55.9 (CH <sub>3</sub> ), 110.1 (CH), 112.4 (CH <sub>2</sub> ), 114.5 (CH), 120.1 (CH), 127.5 (2CH), 134.6 (C), 135.3 (C), 136.0 (C), 138.5 (C), 145.1 (C), 146.2 (C), 149.5 (C)   |
| <b>IR v cm<sup>-1</sup></b>                             | 3538, 1579, 1264   |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%): C, 80.56; H, 7.51<br>Found (%): C, 80.16; H, 7.72  |

## Experimental part

### *(3-Amino-4-methoxyphenyl)(3,4,5-trimethylphenyl)methanone (105)*

*N*-[2-methoxy-5-(3,4,5-trimethylbenzoyl)phenyl]acetamide **133** (1.0 g, 3.2 mmol) was dissolved in 50 mL of MeOH. An aqueous solution of HCl 10% (45 mL) was added and the mixture was refluxed for 16 hours. After cooling to rt, the solvent was removed in vacuo. The crude product was dissolved into dichloromethane and washed with water. The organic layer was dried on MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed in vacuo. The pure product precipitates in Et<sub>2</sub>O as a white powder (0.4 g, 46%).

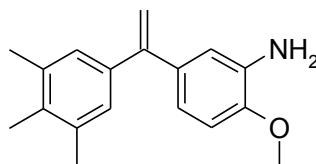


|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | White powder  |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>2</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                              | 269.35 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>   | 46%   |
| <b>mp (Et<sub>2</sub>O)</b>                          | 148-149°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 2.21 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.30 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.90 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 7.04 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H, ArH), 7.18 (dd, <i>J</i> = 8.6, 2.4 Hz, 1H, ArH), 7.31 (s, 2H, ArH), 7.32 (d, <i>J</i> = 2.4 Hz, 1H, ArH) |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                          | 1786, 1626, 1281  |
| <b>Elemental analysis</b>                            | Calculated (%): C, 75.81; H, 7.11; N, 5.20<br>Found (%): C, 75.56; H, 7.48; N, 4.97   |

## Experimental part

### *2-methoxy-5-[1-(3,4,5-trimethylphenyl)vinyl]aniline (106)*

The general procedure for Wittig reaction was followed using (3-amino-4-methoxyphenyl)(3,4,5-trimethylphenyl)methanone **105** (0.3 g, 9.3 mmol), potassium *tert*-butoxide (0.5 g, 4.6 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (0.7 g, 1.9 mmol) in toluene at 80°C. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 8/2 to give the pure product as a red powder (0.04 g, 15%).

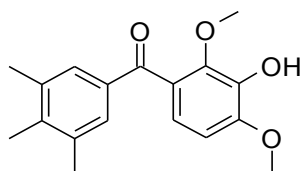


|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | Red powder   |
| <b>Molecular formula</b>                               | C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO   |
| <b>Molecular weight</b>                                | 267.37 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | 15%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                   | 0.70 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                   | 62-70°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) | δ (ppm) 2.19 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.27 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.87 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.27 (d, J=1.5 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 6.71 (d, J=1.2 Hz, 1H, ArH), 6.74 (d, J=1 Hz, 1H, ArH), 6.99 (s, 2H, 2ArH), 7.71 (s, 2H, NH <sub>2</sub> ) |

## Experimental part

### *(3-Hydroxy-2,4-dimethoxyphenyl)(3,4,5-trimethylphenyl)methanone (107)*

The general procedure for the deprotection of the phenols was followed using 2,6-dimethoxy-3-(3,4,5-trimethylbenzoyl)phenyl chloroacetate **134** (2.6 g, 6.9 mmol) and AcONa·3H<sub>2</sub>O (4.3 g, 31.3 mmol) in MeOH was refluxed for 2 h. The solvent was removed in vacuo and the crude solid was dissolved in water. The pure product precipitates as a white powder (1.9 g, 93%).

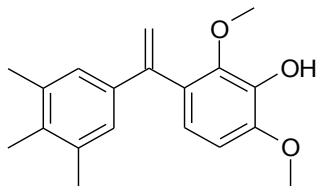


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | White solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 300.36 g·mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 93%   |
| <b>mp (water)</b>                                     | 164-165°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 2.23 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.31 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.76 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.96 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.71 (s, 1H, ArOH), 6.77 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.28 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.46 (s, 2H, ArH). |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 15.9 (CH <sub>3</sub> ), 20.6 (2CH <sub>3</sub> ), 56.3 (CH <sub>3</sub> ), 61.8 (CH <sub>3</sub> ), 105.8 (CH), 120.9 (C), 126.2 (CH), 129.2 (2CH), 135.1 (C), 136.5 (2C), 138.3 (C), 141.2 (C), 145.9 (C), 149.7 (C), 195.6 (C)                           |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                           | 3379, 1785, 1284, 1135, 750   |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 71.98; H, 6.71<br>Found (%): C, 72.08; H, 6.83   |

## Experimental part

### 2,6-Dimethoxy-3-[1-(3,4,5-trimethylphenyl)vinyl]phenol (108)

The general procedure for Wittig reaction was followed, using (3-hydroxy-2,4-dimethoxyphenyl)(3,4,5-trimethylphenyl)methanone **107** (0.5 g, 1.7 mmol), *tert*-butoxide (0.9 g, 8.3 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (1.2 g, 3.3 mmol) in toluene at 70°C for 18 hours. The products were separated by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 8/2. The pure product was obtained as a yellow oil (0.45 g, 90%).

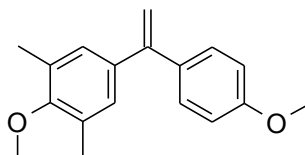


|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | Yellow oil   |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                              | 298.39 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | 90%  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 2.15 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.24 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.63 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.92 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.27 (d, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.62 (d, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 6.83 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H, ArH), 6.96 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H, ArH), 6.95 (s, 2H, ArH) |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                          | 3495, 1285, 1211   |

## Experimental part

### *2-Methoxy-5-[1-(4-methoxyphenyl)vinyl]-1,3-dimethylbenzene (110)*

The general procedure for Wittig reaction was followed using (4-methoxy-3,5-dimethylphenyl)(4-methoxyphenyl)methanone **109** (1 g, 3.7 mmol), potassium *tert*-butoxide (2.1 g, 18.4 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (2.6 g, 7.4 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 8/2 to give the pure product as a yellow oil (0.97 g, 99%).



|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Yellow oil   |
| <b>Molecular formula</b>  | C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>   | 268.36 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 99%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>  | 0.79 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>                        | δ (ppm) 2.27 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.74 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.83 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.28 (d, <i>J</i> = 1,2 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.30 (d, <i>J</i> = 1,2 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 6.86 (d, <i>J</i> = 8,7 Hz, 2H, ArH), 6,98 (s, 2H, ArH), 7.27 (d, <i>J</i> = 8,7 Hz, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b>                       | δ 16.1 (CH <sub>3</sub> ), 30.9 (CH <sub>3</sub> ), 55.3 (CH <sub>3</sub> ), 59.7 (CH <sub>3</sub> ), 112.2 (CH <sub>2</sub> ), 113.5 (2CH), 128.5 (C), 128.7 (C), 129.4 (CH), 130.4 (CH), 133.7 (2CH), 134.2 (C), 137.2 (C), 149.2 (C), 156.7 (C), 159.3 (C)  |
| <b>Elemental analysis</b>   | Calculated (%): C, 79.23; H, 7.57  |
| (for C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub> + 1/4 H <sub>2</sub> O) | Found (%): C, 79.18; H, 7.83   |

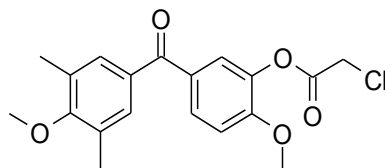


## Experimental part

### *2-Methoxy-5-(4-methoxy-3,5-dimethylbenzoyl)phenyl chloroacetate (139) and (3-hydroxy-4-methoxyphenyl)(4-methoxy-3,5-dimethylphenyl)methanone (111)*

The general procedure was followed using 20.00 g of Eaton's reagent, 5 g (27.7 mmol) of 4-methoxy-3,5-dimethylbenzoic acid **137** and 8.35 g (41.6 mmol) of 2-methoxyphenyl chloroacetate **129**. The mixture was heated at 60°C for 20 hours. The crude product was purified by column chromatography on silica (eluent *n*-heptane/EtOAc 7/3) to give the two products **111** and **139**.

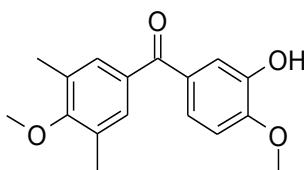
#### **2-Methoxy-5-(4-methoxy-3,5-dimethylbenzoyl)phenyl chloroacetate (139)**



|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White solid  |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> O <sub>5</sub> Cl  |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 362.81 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 11%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.52 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 7/3)  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                    | 97.8 °C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>    | δ (ppm) 2.33 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.78 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.92 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.35 (s, 2H, COCH <sub>2</sub> Cl), 7.04 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 1H, ArH), 7.45 (s, 2H, ArH), 7.60 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H, ArH), 7.75 (dd, <i>J</i> = 8.7, 2.1 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) :</b> | δ 16.1 (2CH <sub>3</sub> ), 40.5 (CH <sub>2</sub> ), 56.1 (CH <sub>3</sub> ), 59.6 (CH <sub>3</sub> ), 111.4 (CH), 111.6 (CH), 124.3 (2CH), 124.4 (2C), 133.0 (CH), 133.2 (C), 138.8 (C), 139.5 (C), 154.2 (C), 160.5 (C), 165.2 (C), 193.8 (C)  |

## Experimental part

### (3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)(4-methoxy-3,5-dimethylphenyl)methanone (111)

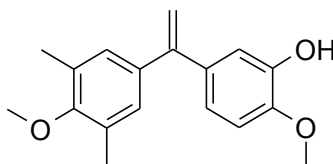


|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White solid  |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 286.33 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 61%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.36 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 6/4)  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                  | 125.7 °C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 2.33 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.78 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.98 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.67 (s, 1H, ArOH), 6.92 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.38 (dd, <i>J</i> = 8.3, 2.1 Hz, 1H, ArH), 7.41 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H, ArH), 7.45 (s, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 16.2 (2CH <sub>3</sub> ), 56.1 (CH <sub>3</sub> ), 59.7 (CH <sub>3</sub> ), 109.7 (CH), 116.3 (CH), 123.6 (CH), 130.8 (C), 131.2 (2C), 131.4 (2CH), 139.7 (C), 145.2 (C), 150.1 (C), 160.6 (C), 195.2 (C)  |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 71.31 ; H, 6.34<br>Found (%): C, 71,61 ; H, 5.93  |

## Experimental part

### 2-Methoxy-5-[1-(4-methoxy-3,5-dimethylphenyl)vinyl]phenol (112)

The general procedure for Wittig reaction was followed using (3-hydroxy-4-methoxyphenyl)(4-methoxy-3,5-dimethylphenyl)methanone **111** (1.0 g, 3.5 mmol), potassium *tert*-butoxide (2.0 g, 17.5 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (2.5 g, 7.0 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 8/2 to give the pure product as a white powder (0.69 g, 70%).

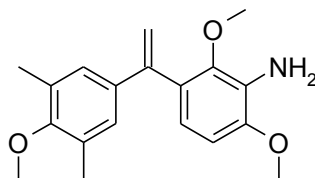


|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White powder   |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 284.36 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 70%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.66 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 6/4)  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                    | 118-119°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 2.27 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.74 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.91 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.28 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.32 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.59 (s, 1H, ArOH), 6.80-6.86 (m, 2H, ArH), 6.95 (d, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H, ArH), 6.98 (s, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 16.1 (CH <sub>3</sub> ), 30.9 (CH <sub>3</sub> ), 56.0 (CH <sub>3</sub> ), 59.7 (CH <sub>3</sub> ), 110.1 (CH <sub>2</sub> ), 112.6 (CH), 114.6 (CH), 120.1 (CH), 128.8 (2CH), 130.3 (2C), 135.3 (C), 137.1 (C), 145.1 (C), 146.3 (C), 149.2 (C), 156.7 (C)  |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%) : C, 75.97; H, 7.68<br>Found (%) : C, 75.81; H, 7.48  |

## Experimental part

### 2,6-dimethoxy-3-[1-(4-methoxy-3,5-dimethylphenyl)vinyl]aniline (114)

The general procedure for Wittig reaction was followed, using (3-amino-2,4-dimethoxyphenyl)(4-methoxy-3,5-dimethylphenyl)methanone **113** (0.25 g, 0.8 mmol), potassium tert-butoxide (0.44 g, 3.9 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (0.56 g, 1.6 mmol) in toluene at 80°C. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with n-heptane/EtOAc 8/2. The pure Wittig product was obtained as a red oil (46 mg, 19%).

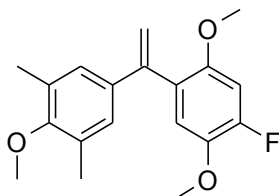


|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | Red oil   |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                              | 313.40 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>   | 19%   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 2.24 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ); 3.57 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.71 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.88 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 5.26 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ); 5.53 (d, <i>J</i> = 1.7 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ); 6.58 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, ArH); 6.61 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, ArH); 6.97 (d, 2H, ArH) |
| <b>Elemental analysis</b>                            | Calculated (%): C, 72.82; H, 7.40; N, 4.47<br>Found (%): C, 73.19; H, 7.29; N, 4.00   |

## Experimental part

### *5-[1-(4-fluoro-2,5-dimethoxyphenyl)vinyl]-2-methoxy-1,3-dimethylbenzene (116)*

The general procedure for Wittig reaction was followed, using (4-fluoro-2,5-dimethoxyphenyl)(4-methoxy-3,5-dimethylphenyl)methanone **115** (0.25 g, 0.8 mmol), potassium *tert*-butoxide (0.44 g, 3.9 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (0.56 g, 1.6 mmol) in toluene at 80°C. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 9/1. The pure Wittig product was obtained as a brown oil (0.14 g, 58%).

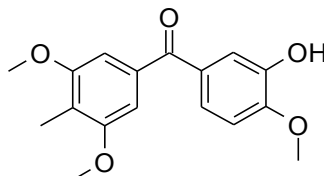


|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | Brown oil                                       |
| <b>Molecular formula</b>   | C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> FO <sub>3</sub> |
| <b>Molecular weight</b>  | 316.38 g.mol <sup>-1</sup>                      |
| <b>Yield</b>   | 19%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>   | 0.60 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 8/2)             |
| <b>Elemental analysis</b>  | Calculated (%): C, 71.32; H, 6.74               |
| for C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> FO <sub>3</sub> , 1/5 H <sub>2</sub> O | Found (%): C, 71.77; H, 7.14                    |

## Experimental part

### *(3,5-Dimethoxy-4-methylphenyl)(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)methanone (117)*

The general procedure for the deprotection of the phenols was followed using 5-(3,5-dimethoxy-4-methylbenzoyl)-2-methoxyphenyl chloroacetate **142** (1.4 g, 3.6 mmol) and AcONa·3H<sub>2</sub>O (2.2 g, 16.1 mmol) in MeOH was refluxed for 2 h. The solvent was removed in vacuo and the crude solid was dissolved in water. The pure product precipitates as a white powder (1.0 g, 95%).

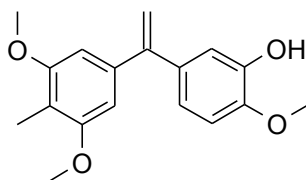


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | White crystals  |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 302.33 g·mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 95%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.43 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>mp</b> (water)                                       | 145-146°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 2.16 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.84 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ), 3.98 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.73 (s, 1H, ArH), 5.71 (s, 1H, ArOH), 6.91 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H, ArH), 6.95 (s, 2H, ArH), 7.40 (dd, <i>J</i> = 8.1, 1.8 Hz, 1H, ArH), 7.46 (d, <i>J</i> = 1.8 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ (ppm) 8.6 (CH <sub>3</sub> ), 55.9 (2CH <sub>3</sub> ), 56.1 (CH <sub>3</sub> ), 105.4 (2CH), 109.6 (CH), 116.3 (CH), 119.5 (C), 123.7 (CH), 131.3 (C), 136.3 (C), 145.3 (C), 150.1 (C), 157.9 (2C), 195.4 (C)  |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                             | 3254, 1734, 1274, 1179, 1136  |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%): C, 67.54; H, 6.00<br>Found (%): C, 67.27; H, 5.96   |

## Experimental part

### *(3,5-Dimethoxy-4-methylphenyl)(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)methanone (118)*

The general procedure for Wittig reaction was followed, using (3,5-dimethoxy-4-methylphenyl)(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)methanone **117** (0.5 g, 1.6 mmol), *tert*-butoxide (0.9 g, 8.2 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (1.2 g, 3.3 mmol) in toluene at 80°C for 18 hours. The products were separated by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 8/2. The pure product was obtained as a white solid (0.46 g, 92%).

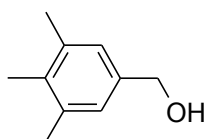


|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White solid  |
| <b>Molecular formula</b>  | C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>   | 300.36 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 92%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>  | 0.67 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                                      | 100-101°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)                    | δ (ppm) 2.11 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.77 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.91 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.33 (d, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.38 (d, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.55 (s, 1H, OH), 6.51 (s, 2H, 2ArH), 6.80 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H, ArH), 6.85 (dd, <i>J</i> = 8.3, 2.1 Hz, 1H, ArH), 6.99 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz)                   | δ 8.1 (CH <sub>3</sub> ), 55.8 (2CH <sub>3</sub> ), 55.9 (CH <sub>3</sub> ), 104.1 (2CH), 110.0 (CH), 112.6 (CH <sub>2</sub> ), 114.0 (C), 114.4 (C), 120.1 (C), 134.9 (C), 140.1 (C), 145.2 (C), 145.2 (C), 146.3 (C), 149.9 (C), 157.9 (C), 177.1 (C)  |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>   | 3404, 1575, 1230, 1135, 1015   |
| <b>Elemental analysis</b>   | Calculated (%): C, 70.57; H, 6.80  |
| for C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub> , 1/3 H <sub>2</sub> O | Found (%): C, 70.71; H, 6.76   |

## Experimental part

### *(3,4,5-trimethylphenyl)methanol (122)*

Methyl 3,4,5-trimethylbenzoate **126** (1.0 g, 5.7 mmol, 1 equiv.) was cooled at 0°C under nitrogen in dry diethyl ether, and lithium aluminium hydride (0.2 g, 5.7 mmol, 2 equiv.) was added gradually to the solution. The mixture was stirred at 0°C for 10 minutes. Then, the temperature of the mixture was increased to rt, and the mixture was stirred for 15 hours. The excess of lithium aluminium hydride was neutralized, filtered on celite and washed with dry diethyl ether. The mixture was decanted and extracted with dry diethyl ether and the organic phase was dried on magnesium sulfate, filtered and evaporated to give the reduced product as a white powder (0.82 g, 96%).



|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | White powder  |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 150.22 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 96%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.59 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>mp (Et<sub>2</sub>O)</b>                           | 67.2-70.2°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 2.04 (s, 1H, OH), 2.17 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.29 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 4.59 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 7.01 (s, 2H, 2ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 15.2 (CH <sub>3</sub> ), 20.6 (2CH <sub>3</sub> ), 126.5 (2CH), 134.6 (C), 136.7 (C), 137.7 (C)   |

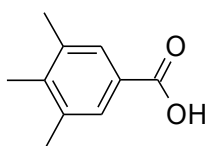
The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>103</sup>



## Experimental part

### 3,4,5-trimethylbenzoic acid (123)

First, 3,4,5-trimethylacetophenone **124** (5.0 g, 30.8 mmol, 1 equiv.) was dissolved in 180 mL of dioxane. A solution of NaOH solid (22.4 g, 561.2 mmol, 18 equiv.) in 140 mL of water was cooling to 0°C and bromine (22.3 g, 139.6 mmol, 4.5 equiv.) was added dropwise with vigorous stirring to form NaOBr reagent (the solution become bright yellow). NaOBr reagent was added dropwise on the 3,4,5-trimethylacetophenone solution in 20 minutes. NaOBr excess was quenched on a saturated solution of NaHSO<sub>3</sub>. Dioxane was removed by vacuo and the aqueous layer was extracted with dichloromethane. The aqueous layer was acidified to pH 1-2 with concentrated HCl. The pure acid (1.4 g, 65%) precipitates and was possibly recrystallized from EtOH.



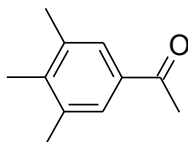
|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>                            | White powder (precipitation) or colorless needles (recrystallization)   |
| <b>Molecular formula</b>                 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                  | 164,21 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>                             | 76%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                     | 0.51 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>mp (Et<sub>2</sub>O)</b>              | 214-219 °C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (DMSO, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 2.16 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.27 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 7.56 (s, 2H, 2ArH), 12.6 (s, 1H, OH) |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature<sup>99</sup>.

## Experimental part

### *3,4,5-Trimethylacetophenone (124)*

A mixture of 2,4,6-trimethylacetophenone **125** (75 g, 0.46 mol) and aluminum chloride (123.3 g, 0.92 mol) was stirred at 170°C for 2 hours. After cooling to rt, the mixture was dissolved into dichloromethane and washed with water. The organic layer was dried on MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed in vacuo. The product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 9/1 to give the pure product as a black oil.



|                          |                                   |
|--------------------------|-----------------------------------|
| <b>Aspect</b>            | Black oil                         |
| <b>Molecular formula</b> | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O |
| <b>Molecular weight</b>  | 162.21 g.mol <sup>-1</sup>        |
| <b>Yield</b>             | 64%                               |

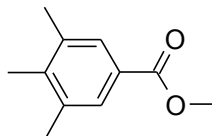
The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>100</sup>

CONFIDENTIAL

## Experimental part

### *Methyl 3,4,5-trimethylbenzoate (126)*

A mixture of 3,4,5-trimethylbenzoic acid **123** (1.5 g, 9.1 mmol) and sulfuric acid in methanol was stirred at 70°C. The solvent was evaporated and the crude product was dried in vacuo to give the pure product as a yellow powder (1.82 g, quantitative).

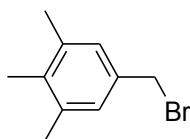


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | Yellowish powder  |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 178.23 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | Quantitative  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.73 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>mp (MeOH)</b>                                      | 36-37°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 2.21 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.31 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.88 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 7.67 (s, 2H, 2ArH)             |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 15.76 (CH <sub>3</sub> ), 20.5 (2CH <sub>3</sub> ), 51.8 (CH <sub>3</sub> ), 126.9 (C), 128.6 (2CH), 136.6 (2C), 140.8 (C), 167.5 (C) |

## Experimental part

### *5-(bromomethyl)-1,2,3-trimethylbenzene (127)*

(3,4,5-trimethylphenyl)methanol **126** (0.7 g, 4.7 mmol, 1 equiv.) in dry dichloromethane was stirred at 0°C. Phosphorus tribromide (0.7 mL, 7.0 mmol, 1.5 equiv.) was added gradually and the mixture was stirred at rt for 3 hours. Then the excess of phosphorus tribromide was neutralized with a saturated solution of sodium bicarbonate. The solution was extracted 3 times with dichloromethane and the organic phase was dried on magnesium sulfate then filtered to give the pure product as a white powder (0.96 g, 97%).



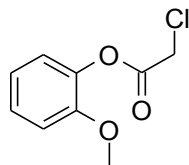
|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | White powder  |
| <b>Molecular formula</b>                               | C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> Br  |
| <b>Molecular weight</b>                                | 213.12 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>   | 97%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                   | 0.89 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>mp</b> (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )           | 52-53°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) | δ (ppm) 2.16 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.27 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 4.44 (s, 2H, 2ArH), 7.04 (s, 2H, 2ArH) |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>104</sup>

## Experimental part

### 2-Methoxyphenyl chloroacetate (128)

A mixture of guaiacol (41.4 g, 0.3 mol) and chloroacetyl chloride (56.5 g, 0.5 mmol) was stirred at 135°C for 5h30. After cooling to rt, the mixture was quenched on saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> and the organic layer was extracted with dichloromethane then dried on MgSO<sub>4</sub>. The pure product was obtained after removal of the solvent in vacuo, as a white powder (55.1 g, 82%).



|                          |  |
|--------------------------|--|
| <b>Aspect</b>            | White solid                                    |
| <b>Molecular formula</b> | C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> ClO <sub>3</sub> |
| <b>Molecular weight</b>  | 200,62 g.mol <sup>-1</sup>                     |
| <b>Yield</b>             | 82%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>     | 0.77 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 4/6)            |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature<sup>135</sup>.

---

<sup>135</sup> Sartori, G. *et al. J. Org. Chem.*, **1990**, *55*, 4371-4377.

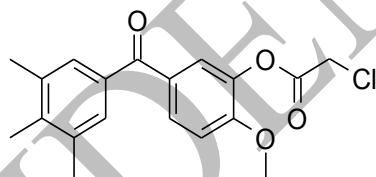
## Experimental part

### *2-Methoxy-5-(3,4,5-trimethylbenzoyl)phenyl chloroacetate (132)*

#### General procedure for Friedel-Crafts reaction using Eaton's reagent

Eaton's reagent was firstly prepared ( $P_2O_5/CH_3SO_3H$  mixture 1/10 w/w) (4-5 equiv. w/w), at  $60^\circ C$ . The aromatic derivative (1 equiv.), and the benzoic acid (1.1 equiv.) were added and the mixture was heated at  $60-80^\circ C$  for 2 to 20 hours. After cooling to rt, the solution was poured into water. A black solid precipitated and was then solubilized in dichloromethane. The excess of methanesulfonic acid was quenched with a saturated solution of sodium bicarbonate, then extracted with dichloromethane and dried ( $MgSO_4$ ). Volatiles were removed in vacuo. The crude product was obtained and was purified by column chromatography on silica gel or by recrystallization if necessary.

The general procedure for Friedel-Crafts reaction using Eaton's reagent was followed, using 2-methoxyphenyl chloroacetate **129** (1.9 g, 9.8 mmol), 3,4,5-trimethylbenzoic acid **123** (1.8 g, 11.2 mmol) and Eaton's reagent (0.8 g of  $P_2O_5$  in 5.7 mL of  $CH_3SO_3H$ ) at  $60^\circ C$  for 3 hours. The product was obtained as a white powder (2.8 g, 84%) by recrystallization from  $Et_2O$ .



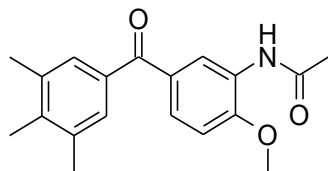
## Experimental part

|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | White solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> ClO <sub>4</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 346.81 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 84%   |
| <b>mp (Et<sub>2</sub>O)</b>                           | 149-150°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 2.25 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.34 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.92 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.35 (s, 2H, COCH <sub>2</sub> Cl), 7.03 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.41 (s, 2H, ArH), 7.61 (d, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H, ArH), 7.75 (dd, <i>J</i> = 8.5, 1.9 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 15.8 (CH <sub>3</sub> ), 20.6 (2CH <sub>3</sub> ), 40.5 (CH <sub>2</sub> ), 56.2 (CH <sub>3</sub> ), 111.5 (CH), 124.6 (CH), 129.0 (2CH), 130.4 (CH), 134.7 (C), 136.5 (2C), 138.8 (C), 140.3 (C), 154.3 (C), 165.2 (C), 194.6 (C)  |
| <b>IR v cm<sup>-1</sup></b>                           | 1785, 1650, 1134, 822   |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 65.80; H, 5.52<br>Found (%): C, 68.27; H, 5.67   |

## Experimental part

### *N*-[2-methoxy-5-(3,4,5-trimethylbenzoyl)phenyl]acetamide (**133**)

The general procedure for Friedel-Crafts reaction with Eaton's reagent was followed, using 2-methoxyacetamide **130** (1.3 g, 7.9 mmol), 3,4,5-trimethylbenzoic acid **123** (1.5 g, 9.1 mmol) and Eaton's reagent (0.7 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in 4.6 mL of CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) at 80°C for 90 hours. The product was obtained as a white powder (1.9 g, 78%) by recrystallization from Et<sub>2</sub>O.



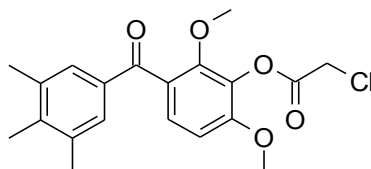
|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White solid  |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 311.38 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 78%  |
| <b>mp</b> (Et <sub>2</sub> O)                           | 173-174 °C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 2.20 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.23 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.33 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.97 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 6.95 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.45 (s, 2H, ArH), 7.60 (dd, <i>J</i> = 8.4, 1.9 Hz, 1H, ArH), 7.70 (bs, 1H, NH), 8.76 (d, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 15.8 (CH <sub>3</sub> ), 20.6 (2CH <sub>3</sub> ), 24.8 (CH <sub>3</sub> ), 56.0 (CH <sub>3</sub> ), 109.3 (CH), 122.4 (CH), 126.5 (CH), 127.0 (C), 129.2 (2CH), 131.0 (C), 134.9 (C), 136.3 (2C), 140.1 (C), 151.0 (C), 168.2 (C), 195.7 (C)  |
| <b>IR v cm<sup>-1</sup></b>                             | 3369, 1675, 1648, 1259   |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%): C, 73.29; H, 6.80<br>Found (%): C, 73.08; H, 6.85  |



## Experimental part

### *2,6-Dimethoxy-3-(3,4,5-trimethylbenzoyl)phenyl chloroacetate (134).*

The general procedure for Friedel-Crafts reaction using Eaton's reagent was followed, using 2,6-dimethoxyphenyl chloroacetate **131** (3.1 g, 13.4 mmol), 3,4,5-trimethylbenzoic acid **123** (2.5 g, 15.4 mmol) and Eaton's reagent (1.2 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in 7.8 mL of CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) at 60°C for 2 hours. The product was obtained as a white powder (2.8 g, 62%) by recrystallization from Et<sub>2</sub>O.

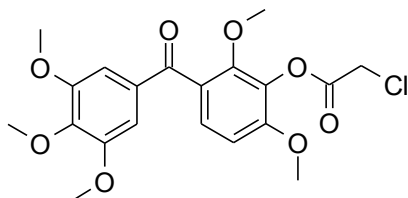


|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White solid  |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> ClO <sub>5</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 376.84 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 62%  |
| <b>mp (Et<sub>2</sub>O)</b>                           | 106-108°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 2.23 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.31 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 3.68 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.89 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.38 (s, 2H, OCOCH <sub>2</sub> Cl), 6.77 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 1H, ArH), 7.28 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 1H, ArH), 7.46 (s, 2H, ArH). |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 15.9 (CH <sub>3</sub> ), 20.6 (2CH <sub>3</sub> ), 40.5 (CH <sub>2</sub> ), 56.3 (CH <sub>3</sub> ), 62.5 (CH <sub>3</sub> ), 106.6 (CH), 126.2 (CH), 128.3 (C), 123.1 (2CH), 132.3 (C), 134.7 (C), 136.6 (2C), 141.5 (C), 151.8 (C), 154.1 (C), 165.1 (C), 194.8 (C)        |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                           | 1788, 1651, 1126, 1094   |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 63.75; H, 5.62<br>Found (%): C, 63.71; H, 5.64  |

## Experimental part

### *2,6-Dimethoxy-3-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)phenyl chloroacetate*<sup>37</sup> (**135**)

The general procedure of Friedel-Crafts was followed using 3,4,5-trimethoxybenzoic acid **128** (2.5 g, 11.8 mmol), 2,6-dimethoxyphenyl chloroacetate **131** (1.8 g, 7.8 mmol) and Eaton's reagent (1.1 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in 7.6 mL of CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H). The mixture was heated at 60°C for 5 h. The final brown oil was purified on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 6/4 to give pure chloroacetate **135** as an off-white solid (2.70 g, 80%).

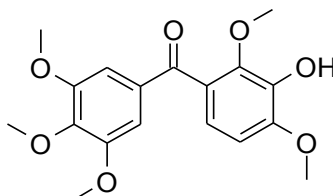


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | White solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> O <sub>8</sub> Cl   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 424.84 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 80%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.15 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 6/4)   |
| <b>mp (EtOH)</b>                                      | 118-120°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.68 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.86 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ), 3.91 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.93 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.38 (s, 2H, OCOCH <sub>2</sub> Cl), 6.81 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H, ArH), 7.10 (s, 2H, ArH), 7.33 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 40.4 (CH <sub>2</sub> ), 56.2 (2CH <sub>3</sub> ), 56.3 (CH <sub>3</sub> ), 60.9 (CH <sub>3</sub> ), 62.6 (CH <sub>3</sub> ), 106.9 (CH), 107.4 (2CH), 125.7 (C), 128.3 (CH), 132.3 (C), 132.5 (C), 142.6 (C), 151.8 (C), 152.9 (2C), 154.3 (C), 165.0 (C), 193.5 (C)         |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                           | 522, 758, 814, 1093, 1120, 1293, 1290, 1414, 1489, 1667, 1754, 1781   |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 56.54; H, 4.98<br>Found (%): C, 56.37; H, 4.81   |

## Experimental part

### *(3-Hydroxy-2,4-dimethoxyphenyl)(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone*<sup>37</sup> (*M<sub>p</sub>*6)

The general procedure was followed using 2,6-dimethoxy-3-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)phenyl chloroacetate **135** (6.6 g, 16 mmol) and sodium acetate (9.5 g, 70 mmol) in MeOH (100 mL). The reaction mixture was refluxed for 2 h. After cooling to rt, the solvent was removed under reduced pressure. The solid was filtered and recrystallized from EtOH to give the product as white needles (3.0 g, 50%).

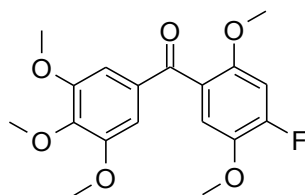


|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White needles  |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 348.36 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 50%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.30 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>mp (EtOH)</b>                                      | 156-157°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.81 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.86 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ), 3.93 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.97 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.74 (s, 1H, ArOH), 6.71 (d, J = 8.5 Hz, 1H, ArH), 6.93 (d, J = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.10 (s, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 56.2 (2CH <sub>3</sub> ), 56.3 (CH <sub>3</sub> ), 60.9 (CH <sub>3</sub> ), 61.9 (CH <sub>3</sub> ), 105.7 (CH), 107.6 (2CH), 120.9 (C), 125.7 (C), 133.1 (C), 138.4 (C), 142.5 (C), 145.9 (C), 149.8 (C), 152.8 (2C), 194.2 (C)               |
| <b>IR v cm<sup>-1</sup></b>                           | 611, 1004, 1091, 1131, 1283, 1332, 1409, 1456, 1577, 1607, 1654, 3325  |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 62.06; H, 5.79<br>Found (%): C, 62.00; H, 5.88  |

## Experimental part

### *(4-Fluoro-2,5-dimethoxyphenyl)(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone (136)*

The general procedure of Friedel-Crafts was followed using 2-fluoro-1,4-dimethoxybenzene **141** (1.0 g, 6.4 mmol), 3,4,5-trimethoxybenzoic acid **128** (2.0 g, 9.6 mmol) and Eaton's reagent (0.8 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in 5.4 mL of CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) at 60°C for 2 h. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 7/3 to give the pure product as a white solid (1.1 g, 51%).



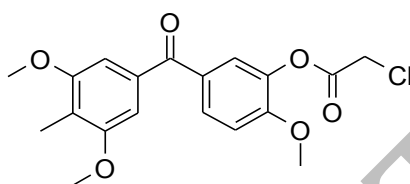
|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | White solid   |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> FO <sub>6</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 350.35 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 51%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.75 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 7/3)   |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                    | 110-112°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 3.70 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.85 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ), 3.87 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.94 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 6.81 (d, <i>J</i> = 12.0 Hz, 1H, ArH), 7.03 (d, <i>J</i> = 9.8 Hz, 1H, ArH), 7.07 (s, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 56.3 (2CH <sub>3</sub> ), 56.5 (CH <sub>3</sub> ), 57.1 (CH <sub>3</sub> ), 60.9 (CH <sub>3</sub> ), 101.6 (CH), 107.4 (2CH), 115.3 (CH), 123.9 (C), 132.8 (C), 141.4 (C), 142.7 (C), 151.9 (C), 152.9 (2C), 155.5 (C), 193.9 (C)         |
| <b>RMN <sup>19</sup>F</b> (CDCl <sub>3</sub> , 376 MHz) | δ (ppm) -127.2 (dd, <i>J</i> = 12.2, 9.5 Hz, 1F, ArF)   |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                             | 2944, 1638, 1213, 1126  |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%): C, 61.71; H, 5.47<br>Found (%): C, 61.31; H, 5.21   |

## Experimental part

### *5-(3,5-Dimethoxy-4-methylbenzoyl)-2-methoxyphenyl chloroacetate (142) and 3-hydroxy-3,5,7,10,12-pentamethoxy-6,11-dimethylbenzo[*a*]aceanthrylen-2-yl chloroacetate (144)*

The general procedure for Friedel-Crafts reaction using Eaton's reagent was followed, using 2-methoxyphenyl chloroacetate **129** (3.6 g, 17.7 mmol), 3,5-dimethoxy-4-methylbenzoic acid **143** (3.8 g, 19.5 mmol) and Eaton's reagent (1.8 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in 12.2 mL of CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) at 60°C for 4 hours. The products **142** and **144** were separated by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 85/15.

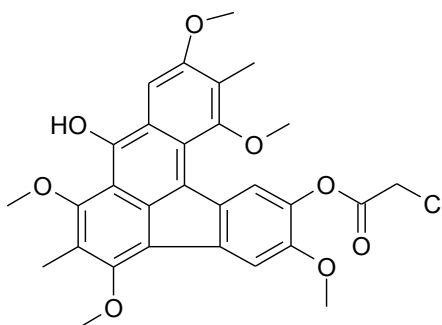
#### **5-(3,5-Dimethoxy-4-methylbenzoyl)-2-methoxyphenyl chloroacetate (142)**



|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | White crystals  |
| <b>Molecular formula</b>                               | C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> ClO <sub>6</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                                | 378.81 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>   | 28%   |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                   | 125-126°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) | δ (ppm) 2.17 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.85 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ), 3.94 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.36 (s, 2H, OCOCH <sub>2</sub> Cl), 6.95 (s, 2H, ArH), 7.06 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H, ArH), 7.63 (s, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H, ArH), 7.81 (dd, <i>J</i> = 8.6, 2.1 Hz, 1H, ArH) |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                            | 1788, 1268, 1234, 1135, 760   |
| <b>Elemental analysis</b>                              | Calculated (%): C, 60.24; H, 5.06<br>Found (%): C, 60.38; H, 5.40   |

## Experimental part

### 3-hydroxy-3,5,7,10,12-pentamethoxy-6,11-dimethylbenzo[a]aceanthrylen-2-yl chloroacetate (144)

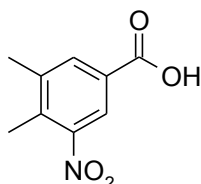


|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | Red crystals  |
| <b>Molecular formula</b>                               | C <sub>29</sub> H <sub>27</sub> ClO <sub>8</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                                | 538.99 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                   | 174-176°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) | δ (ppm) 2.45 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.53 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.68 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.00 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.03 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.09 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.10 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.46 (s, 2H, OCOCH <sub>2</sub> Cl), 7.54 (s, 1H, ArH), 7.85 (s, 1H, ArH), 8.50 (s, 1H, ArH), 9.77 (s, 1H, ArOH) |
| <b>IR v cm<sup>-1</sup></b>                            | 3343, 1780, 1237, 1210, 1175, 1141, 1120  |
| <b>Elemental analysis</b>                              | Calculated (%): C, 64.63; H, 5.05<br>Found (%): C, 64.41; H, 4.79   |

## Experimental part

### *4,5-Dimethyl-3-nitrobenzoic acid (151)*

A solution of potassium nitrate (3.4 g, 33,3 mmol, 1 equiv.) into sulfuric acid (20 mL) was added to a mixture of 3,4-dimethylbenzoic acid **152** (5.0 g, 33,3 mmol, 1 equiv.) in sulfuric acid (30 mL) at 5°C. The mixture was stirred between 5°C and rt for 3 hours, then was poured on iced water. A mixture of three *nitro*-substituted acids precipitates which was redissolved into hot basic water until pH 11. The solution was acidified to pH 5 where the pure acid precipitates as a white solid (0.65 g, 10%).



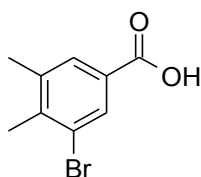
|                          |   |
|--------------------------|---|
| <b>Aspect</b>            | White solid                                   |
| <b>Molecular formula</b> | C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub> |
| <b>Molecular weight</b>  | 195.18 g.mol <sup>-1</sup>                    |
| <b>Yield</b>             | 10%   |
| <b>mp (water)</b>        | 165-172°C                                     |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature<sup>106</sup>.

## Experimental part

### *3-Bromo-4,5-dimethylbenzoïque acid*<sup>107</sup> (156)

A mixture of 3,4-dimethylbenzoic acid **152** (10.0 g, 66.6 mmol, 1 equiv.) into acetic acid (300 mL) was cooled to 0°C. Nitric acid (47 mL), water (33 mL) and bromine (3,8 mL, 73,2 mmol, 1,1 equiv.) were added successively under stirring. A solution of silver nitrate (14.7 g) into water (70 mL) was added dropwise to the mixture. After 1 h, the solution was quenched by addition of 1.5 L of water and 1 L of ethyl acetate. The organic layer was washed by water and brine, and then dried on MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed under vacuum. The crude product was crystallized in EtOH then the crystals were filtered and washed by *n*-heptane. The pure product was obtained as white crystals (3.2 g, 37%).



|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White crystals   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> BrO <sub>2</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 229.07 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 37%  |
| <b>mp (Et<sub>2</sub>O)</b>                           | 152-153°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 2.37 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 7.73 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.90 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H, ArH), 13.2 (s, 1H, OH)    |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ (ppm) 19.9 (CH <sub>3</sub> ), 21.2 (CH <sub>3</sub> ), 125.0 (Cq), 130.1 (CH), 130.7 (C), 130.9 (CH), 139.4 (C), 141.3 (C), 166.5 (C) |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                           | 1787, 759  |

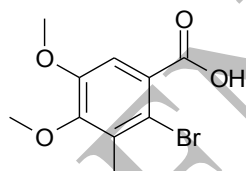


## Experimental part

### *2-Bromo-4,5-dimethoxy-3-methylbenzoic acid (165) and 3,4-dimethoxy-5-methylbenzoic acid (160)*

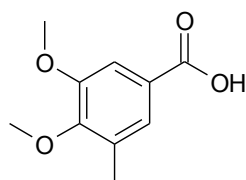
1-(3,4-dimethoxy-5-methylphenyl)ethanone **161** (5.0 g, 25.7 mmol, 1 equiv.) was dissolved in 180 mL of dioxane. A solution of solid NaOH (18.8 g, 460.0 mmol, 18 equiv.) in 140 mL of water was cooling to 0°C and bromine (18.5 g, 115.8 mmol, 4.5 equiv.) was added dropwise under vigorous stirring to form NaOBr reagent. The solution became bright yellow. NaOBr reagent was added dropwise to the 1-(3,4-dimethoxy-5-methylphenyl)ethanone solution in 20 minutes. The mixture was stirred at 70°C for 48h. NaOBr excess was quenched with a saturated solution of NaHSO<sub>3</sub>. Dioxane was removed in vacuo and the aqueous layer was extracted with dichloromethane. The aqueous layer was acidified to pH 1-2 with concentrated HCl. Both acids precipitate and were separated by column chromatography on silica gel with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH gradient from 1/0 to 85/15.

#### **2-bromo-4,5-dimethoxy-3-methylbenzoic acid (165)**



|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | White crystals   |
| <b>Molecular formula</b>                               | C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> BrO <sub>4</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                                | 275.10 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | 2%   |
| <b>mp</b> (Et <sub>2</sub> O)                          | 72.7-94.2 °C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) | δ (ppm) 2.41 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.88 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.90 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 7.38 (s, 1H, ArH), 10.35 (s, 1H, OH) |

#### **3,4-dimethoxy-5-methylbenzoic acid (160)**



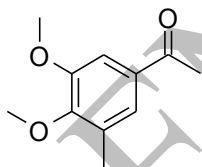
|                          |  |
|--------------------------|--|
| <b>Aspect</b>            | White powder                                   |
| <b>Molecular formula</b> | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> |
| <b>Molecular weight</b>  | 196.2 g.mol <sup>-1</sup>                      |
| <b>Yield</b>             | 3.4% (RMN)                                     |

## Experimental part

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm) 2.31 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.88 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.91 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 7.50 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, ArH), 7.60 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, ArH)

### *1-(3,4-Dimethoxy-5-methylphenyl)ethanone (161)*

1,2-dimethoxy-3-methylbenzene **163** (15 g, 98.6 mmol, 1 equiv.) and acetyl chloride **162** (7 mL, 98.6 mmol, 1 equiv.) were dissolved in 190 mL of nitrobenzene. Aluminum chloride (13.2 g, 98.6 mmol, 1 equiv) was added portion-wise to this solution. The reaction mixture was stirred at rt for 45 min, then dissolved in  $\text{Et}_2\text{O}$  and poured into a solution of HCl 10%. After two extractions with  $\text{Et}_2\text{O}$ , the organic phases were washed up with a diluted solution of NaOH, then dried on  $\text{MgSO}_4$ . The  $\text{Et}_2\text{O}$  was removed *in vacuo*; the nitrobenzene and the remaining starting material were distilled under reduced pressure. The products were separated by automatic flash chromatography with *n*-heptane/ $\text{EtOAc}$  to give the pure product as a white solid (5 g, 28%).



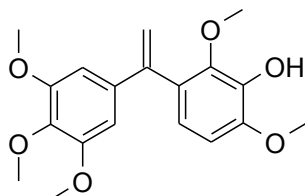
|   |  |
|---|--|
| Aspect  | White solid  |
| Molecular formula                             | $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_3$   |
| Molecular weight                              | $194.23 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$   |
| Yield   | 28%  |
| RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) | $\delta$ (ppm) 2.20 (s, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.45 (s, 3H, $\text{CH}_3$ ), 3.80 (s, 3H, $\text{OCH}_3$ ), 3.85 (s, 3H, $\text{OCH}_3$ ), 7.30 (s, 2H, ArH) |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature<sup>109</sup>.

## Experimental part

### 2,6-Dimethoxy-3-[1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)vinyl]phenol (168)

The general procedure for Wittig reaction was followed using (3-hydroxy-2,4-dimethoxyphenyl)(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone **Mp6** (1.0 g, 2.6 mmol), potassium *tert*-butoxide (1.5 g, 13.0 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (1.9 g, 5.2 mmol) in toluene at 80°C. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 5/5. The pure Wittig product was obtained as a beige solid (0.4 g, 41%).

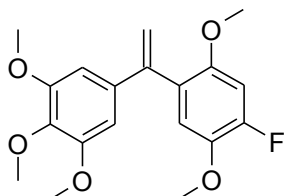


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | Beige solid   |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 346.38 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 41%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.34 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 6/4)   |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                    | 82-83°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 3.62 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.80 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ), 3.85 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.86 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.98 (s, 1H, OH), 5.28 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.68 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 6.51 (s, 2H, ArH), 6.72 (d, <i>J</i> = 12.8 Hz, 1H, ArH), 6.87 (d, <i>J</i> = 9.4 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 54.1 (C), 56.1 (2CH <sub>3</sub> ), 56.5 (CH <sub>3</sub> ), 57.2 (CH <sub>3</sub> ), 60.9 (CH <sub>3</sub> ), 101.3 (CH), 101.5 (C), 103.8 (2CH), 115.4 (CH <sub>2</sub> ), 117.1 (CH), 136.5 (C), 137.8 (C), 141.1 (C), 145.9 (C), 151.1 (C), 152.9 (2C).   |
| <b>IR v cm<sup>-1</sup></b>                             | 3503, 2934, 2832, 1576, 1494, 1444, 1082, 895   |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%): C, 65.88; H, 6.40<br>Found (%): C, 65.55; H, 6.76   |

## Experimental part

### 5-[1-(4-Fluoro-2,5-dimethoxyphenyl)ethenyl]-1,2,3-trimethoxybenzene (169)

The general procedure for Wittig reaction was followed using (4-fluoro-2,5-dimethoxyphenyl)(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone **136** (0.5 g, 1.4 mmol), potassium *tert*-butoxide (0.8 g, 7.1 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (1.0 g, 2.8 mmol) in toluene at 80°C. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 5/5 to give the pure Wittig by-product as a white solid (0.2 g, 44%).



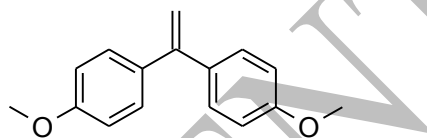
|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White solid  |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> FO <sub>5</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 348.37 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 44%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.54 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 6/4)  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                    | 78-79°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 3.64 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.80 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ), 3.85 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.93 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.32 (d, <i>J</i> = 1.8 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.59 (d, <i>J</i> = 1.8 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 6.54 (s, 2H, ArH), 6.66 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H, ArH), 6.74 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 55.9 (2CH <sub>3</sub> ), 56.2 (CH <sub>3</sub> ), 60.5 (CH <sub>3</sub> ), 60.9 (CH <sub>3</sub> ), 104.2 (2CH), 106.2 (CH), 115.1 (CH <sub>2</sub> ), 121.1 (CH), 128.1 (C), 137.8 (C), 138.4 (C), 145.0 (C), 146.5 (C), 147.5 (C), 152.8 (C), 154.8 (C)   |
| <b>RMN <sup>19</sup>F</b> (CDCl <sub>3</sub> , 376 MHz) | δ (ppm) -132.71 (dd, <i>J</i> = 11.2, 9.5 Hz, 1F, ArF)   |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                             | 2927, 1574, 1124   |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%): C, 65.51; H, 6.08<br>Found (%): C, 65.06; H, 6.51  |

## Experimental part

### *1-Methoxy-4-[1-(4-methoxyphenyl)vinyl]benzene (171)*

**From bis(4-methoxyphenyl)methanone (170) directly:** The general procedure for Wittig reaction was followed using commercially available bis(4-methoxyphenyl)methanone **170** (0.5 g, 2.1 mmol), potassium *tert*-butoxide (1.2 g, 10.3 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (1.5 g, 4.1 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 85/15. The pure Wittig product was obtained as a white solid (0.4 g, 73%).

**Via bis(4-methoxyphenyl)methanethione (172):** The general procedure for Wittig reaction was followed using bis(4-methoxyphenyl)methanethione **172** (0.5 g, 1.9 mmol), potassium *tert*-butoxide (1.1 g, 9.7 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (1.4 g, 3.9 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 85/15. The pure Wittig product was obtained as a white solid (0.36 g, 80%).



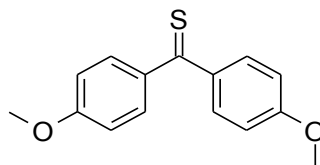
|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White solid  |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 240.30 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 73-80%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.74 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                    | 140-141°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 3.83 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ), 5.29 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 6.86 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 4H, ArH), 7.28 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 4H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 55.3 (2CH <sub>3</sub> ), 111.7 (CH <sub>2</sub> ), 113.5 (4CH), 129.4 (4CH), 134.3 (2C), 149.0 (C), 159.3 (2C)                                    |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%): C, 79.97; H, 6.71<br>Found (%): C, 79.80; H, 6.82  |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>114</sup>

## Experimental part

### *Bis(4-methoxyphenyl)methanethione (172)*

A mixture of bis(4-methoxyphenyl)methanone **170** (2 g, 8.3 mmol, 1 equiv.), phosphorus pentasulfide (1.47 g, 6.6 mmol, 0.8 equiv.) and hexamethyldisiloxane (3.53 mL, 16.5 mmol, 2 equiv.) in 80 mL of toluene was stirred at reflux for 15 hours. After cooling at rt, the solvent was removed in vacuo. The crude reaction mixture was dissolved in dichloromethane, washed in water and dried on MgSO<sub>4</sub>. Volatiles were removed in vacuo and the crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 7/3 to give the pure thione as a dark blue solid (1.9 g, 89 %).



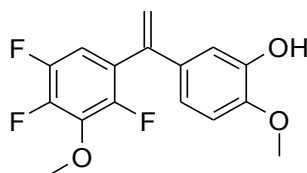
|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | Dark blue solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> SO <sub>2</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 258.34 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 89%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.79 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane /EtOAc)                 | 116-117°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.88 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ), 6.88 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 4H, ArH),<br>7.73 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 4H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 55.5 (2CH <sub>3</sub> ), 113.2 (4CH), 132.2 (4CH), 133.5 (C), 140.8<br>(2C), 163.2 (2C), 233.4 (C)                   |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>113</sup>

## Experimental part

### *2-Methoxy-5-[1-(2,4,5-trifluoro-3-methoxyphenyl)vinyl]phenol (177)*

The general procedure for Wittig reaction was followed using (3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)(2,4,5-trifluoro-3-methoxyphenyl)methanone **176** (0.3 g, 0.96 mmol), potassium *tert*-butoxide (0.54 g, 4.8 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (0.7 g, 1.9 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 9/1 to give the pure product as a brown oil (0.1 g, 34%).

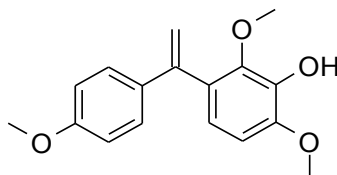


|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Brown oil  |
| <b>Molecular formula</b>  | C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> F <sub>3</sub> O <sub>3</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>   | 310.28 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 34%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>  | 0.65 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.90 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.02 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.30 (s, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.58 (s, 1H, ArOH), 5.68 (s, 1H, CH <sub>2</sub> ), 6.73-6.81 (m, 3H, ArH), 6.90 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b>   | δ 56.0 (CH <sub>3</sub> ), 62.1 (CH <sub>3</sub> ), 110.3 (2CH), 113.0 (CH), 116.6 (CH <sub>2</sub> ), 118.8 (CH), 133.3 (C), 134.4 (C), 138.7 (C), 141.9 (C), 142.1 (C), 143.0 (C), 145.5 (C), 146.6 (C), 150.1 (C)       |
| <b>RMN <sup>19</sup>F (CDCl<sub>3</sub>, 376 MHz)</b>   | δ (ppm) -152.26 (m, 1F, ArF), -141.67 (ddd, <i>J</i> = 23.2, 11.6, 2.7 Hz, 1F, ArF), -133.63 (q, 1F, ArF)  |
| <b>Elemental analysis</b> (for C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> F <sub>3</sub> O <sub>3</sub> + 1/4 <i>n</i> -C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> ) | Calculated (%): C, 63.58; H, 5.11<br>Found (%): C, 63.31 ; H, 5.30   |

## Experimental part

### 2,6-Dimethoxy-3-[1-(4-methoxyphenyl)vinyl]phenol (179)

The general procedure for Wittig reaction was followed using (3-hydroxy-2,4-dimethoxyphenyl)(4-methoxyphenyl)methanone **178** (0.4 g, 1.2 mmol), potassium *tert*-butoxide (0.7 g, 6.3 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (0.9 g, 2.5 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 8/2. The pure Wittig product was obtained as a beige solid (0.05 g, 14%).



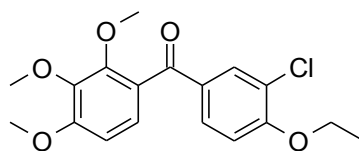
|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | Beige solid   |
| <b>Molecular formula</b>   | C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>  | 286.33 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>   | 14%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>   | 0.58 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)   | 112-113°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)                       | δ (ppm) 3.61 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.80 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.92 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.22 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.57 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.63 (s, 1H, ArOH), 6.66 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, ArH), 6.74 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, ArH), 6.83 (dd, <i>J</i> = 9.0, 2.3 Hz, 2H, ArH), 7.26 (dd, <i>J</i> = 9.0, 2.3 Hz, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz)                      | δ 55.3 (CH <sub>3</sub> ), 56.2 (CH <sub>3</sub> ), 60.5 (CH <sub>3</sub> ), 106.4 (CH), 113.5 (2CH), 121.1 (CH <sub>2</sub> ), 127.9 (2CH), 128.4 (C), 133.9 (C), 138.4 (C), 145.0 (C), 146.0 (C), 147.4 (C), 159.8 (C)  |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>  | 3409, 2921, 2849, 1605, 1492, 1454, 1244, 1088, 827   |
| <b>Elemental analysis</b> for C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> | Calculated (%): C, 72.63; H, 7.36   |
| + 1/3 <i>n</i> -C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>                               | Found (%): C, 72.95; H, 7.58  |



## Experimental part

### *(3-chloro-4-ethoxyphenyl)(2,3,4-trimethoxyphenyl)methanone (184)*

The general procedure for Friedel-Crafts reaction using Eaton's reagent was followed using 1,2,3-trimethoxybenzene **182** (0.3 g, 1.7 mmol), 3-chloro-4-ethoxybenzoic acid **183** (0.5 g, 2.5 mmol) and Eaton's reagent (0.23 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in 1.5 mL of CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) at 50°C for 3 hours. The product was obtained as a white powder (0.51 g, 87%).

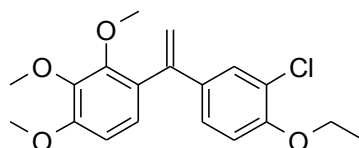


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | White powder  |
| <b>Molecular formula</b>  | C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> ClO <sub>5</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>   | 350.80 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 87%   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>                        | δ (ppm) 1.52 (t, 3H, CH <sub>3</sub> ); 3.77 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.90 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.93 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 4.18 (q, 2H, CH <sub>2</sub> ); 6.73 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH); 6.92 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH); 7.09 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH); 7.70 (dd, <i>J</i> = 8.8, 2.2 Hz, ArH); 7.85 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b>                       | δ 14.5 (CH <sub>3</sub> ); 56.1 (CH <sub>3</sub> ); 61.0 (CH <sub>3</sub> ); 61.8 (CH <sub>3</sub> ); 64.9 (CH <sub>2</sub> ); 106.8 (CH); 111.8 (CH); 122.6 (C); 124.7 (C); 126.2 (C); 130.3 (CH); 131.4 (CH); 132.1 (CH); 132.4 (C); 142.0 (C); 156.0 (C); 158.1 (C); 193.1 (C)   |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>   | 2975, 2938, 1651, 1590, 1496, 1463, 1271, 1098, 753   |
| <b>Elemental analysis</b>   | Calculated (%): C, 60.09; H, 4.46   |
| for C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> ClO <sub>5</sub> , 1/2 H <sub>2</sub> O | Found (%): C, 59.67; H, 5.59  |

## Experimental part

### *1-[1-(3-chloro-4-ethoxyphenyl)vinyl]-2,3,4-trimethoxybenzene (185)*

The general procedure for Wittig reaction was followed, using (3-chloro-4-ethoxyphenyl)(2,3,4-trimethoxyphenyl)methanone **184** (0.25 g, 0.7 mmol), potassium *tert*-butoxide (0.4 g, 3.5 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (0.51 g, 1.4 mmol) in toluene at 80°C. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 8/2. The pure Wittig product was obtained as a beige oil (0.4 g, 41%).

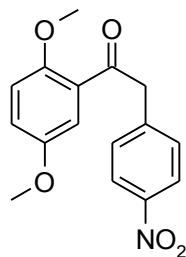


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | Beige oil   |
| <b>Molecular formula</b>  | C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> ClO <sub>4</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>   | 348.83 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 73%   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>                | δ (ppm) 1.46 (t, 3H, CH <sub>3</sub> ); 3.56 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.85 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.89 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 4.08 (q, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5.21 (d, <i>J</i> = 1.7 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ); 5.53 (d, <i>J</i> = 1.7 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ); 6.67 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH); 6.83 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH); 6.93 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH); 7.12 (dd, <i>J</i> = 8.8, 2.6 Hz, ArH); 7.32 (d, <i>J</i> = 2.6 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b>               | δ 14.7 (CH <sub>3</sub> ); 56.0 (CH <sub>3</sub> ); 60.7 (CH <sub>3</sub> ); 60.8 (CH <sub>3</sub> ); 64.7 (CH <sub>2</sub> ); 106.9 (CH); 112.7 (CH); 114.6 (CH <sub>2</sub> ); 122.4 (C); 125.1 (CH); 125.9 (CH); 128.3 (CH); 128.6 (C); 135.3 (C); 142.3 (C); 145.4 (C); 151.5 (C); 153.7 (2C)   |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>   | 1651, 1590, 1496, 1463, 1271, 1098  |
| <b>Elemental analysis</b>   | Calculated (%): C, 62.21; H, 6.32   |
| C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> ClO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O | Found (%): C, 62.56; H, 6.03  |

## Experimental part

### *1-(2,5-Dimethoxyphenyl)-2-(4-nitrophenyl)ethanone (188)*

The general procedure for Wittig reaction was followed using (2,5-dimethoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone **186** (1.0 g, 3.5 mmol), potassium *tert*-butoxide (1.9 g, 17.4 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (2.5 g, 7.0 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The crude product was purified by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 95/5 to give the pure insertion product as a white solid (0.15 g, 15%).



|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White solid  |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 301.30 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 15%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.59 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                  | 95-98°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.78 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.90 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.42 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 7.28 (d, <i>J</i> = 3.2 Hz, 1H, ArH), 7.40 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H, ArH), 8.18 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 49.8 (CH <sub>2</sub> ), 55.8 (CH <sub>3</sub> ), 56.0 (CH <sub>3</sub> ), 113.1 (CH), 114.2 (CH), 121.0 (CH), 123.5 (2CH), 127.4 (C), 130.6 (2CH), 143.0 (C), 146.9 (C), 153.2 (C), 153.6 (C), 197.6 (C).               |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 63.78; H, 5.02; N, 4.65<br>Found (%): C, 63.59; H, 5.02; N, 4.62  |

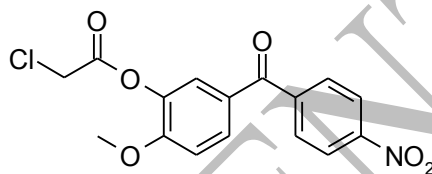
## Experimental part

### 2-Methoxy-5-(4-nitrobenzoyl)phenyl chloroacetate (194)

#### General procedure for Friedel-Crafts reaction using aluminum chloride

A mixture of aromatic derivative (1 equiv.), benzoic acid chloride (1 equiv.) and aluminum chloride (3 to 5 equiv.) in dichloromethane was stirred at rt for 15 hours. The solution was poured into iced water, extracted with dichloromethane and dried over MgSO<sub>4</sub>. Volatiles were removed in vacuo to give the crude product which is recrystallized from pure ethanol or Et<sub>2</sub>O or purified by column chromatography on silica gel.

The general procedure of Friedel-Crafts was followed using 2-methoxyphenyl chloroacetate **128** (5.4 g, 27 mmol), 4-nitrobenzoic acid chloride **192** (5.0 g, 27 mmol) and aluminum chloride (12.5 g, 94 mmol). The final residue was recrystallized from EtOH to give pure product (6.0 g, 64%) as a yellow solid.



|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> ClNO <sub>6</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 349.73 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 64%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.60 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>mp (EtOH)</b>                                      | 132-133°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.94 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.35 (s, 2H, OCOCH <sub>2</sub> Cl), 7.08 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.61 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.75 (dd, <i>J</i> = 8.8, 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.89 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH), 8.35 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 40.4 (CH <sub>2</sub> ), 56.3 (CH <sub>3</sub> ), 111.9 (CH), 123.6 (2CH), 124.6 (CH), 130.3 (2CH), 130.6 (CH), 139.2 (C), 143.0 (C), 149.7 (C), 155.4 (C), 165.2 (C), 192.4 (C)   |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                           | 2958, 1778, 1654, 1596, 1347, 1099, 729  |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 54.95; H, 3.46; N, 4.01<br>Found (%): C, 54.74; H, 3.39; N, 3.90  |

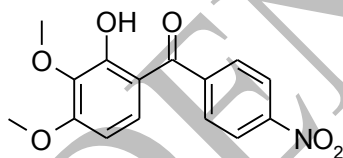
## Experimental part

### *(2-Hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone (195)*

#### General procedure for Friedel-Crafts reaction using boron trifluoride

A mixture of aromatic derivative (1 equiv.), benzoic acid chloride (1 equiv.), boron trifluoride etherate (6 equiv.) and trifluoroacetic anhydride (6 equiv.) in 1,2-dichloroethane was refluxed for 15 hours. The solution was poured into water, extracted with dichloromethane and dried over MgSO<sub>4</sub>. Volatiles were removed in vacuo to give the crude product which is recrystallized from pure ethanol or Et<sub>2</sub>O.

The general procedure of Friedel-Crafts in presence of boron trifluoride was followed using 1,2,3-trimethoxybenzene **182** (5.0 g, 30 mmol), 4-nitrobenzoic acid **192** (5.0 g, 30 mmol), boron trifluoride etherate (22.2 mL, 180 mmol) and trifluoroacetic anhydride (25.5 mL, 180 mmol) in 1,2-dichloroethane at reflux for 18 hours. The crude product was recrystallized from Et<sub>2</sub>O to give the pure product as a yellow solid (2.1 g, 24%).

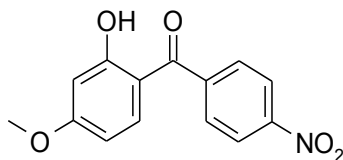


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid  |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>6</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 303.27 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 24%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.57 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>mp (Et<sub>2</sub>O)</b>                           | 146-147°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.95 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.96 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 6.49 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.20 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.80 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, ArH), 8.36 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 2H, ArH), 12.11 (s, 1H, OH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 56.3 (CH <sub>3</sub> ), 60.8 (CH <sub>3</sub> ), 103.3 (CH), 114.2 (C), 123.6 (2CH), 129.7 (2CH), 129.7 (CH), 136.9 (C), 143.5 (C), 149.4 (C), 158.0 (C), 159.4 (C), 198.2 (C)   |
| <b>IR v cm<sup>-1</sup></b>                           | 2942, 2702, 1626, 1517, 1448, 1345, 1291, 1101, 782   |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 59.41; H, 4.32; N, 4.62<br>Found (%): C, 59.22; H, 4.16; N, 4.49   |

## Experimental part

### *(2-Hydroxy-4-methoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone (196)*

The general procedure of Friedel-Crafts was followed using 1,3-dimethoxybenzene **190** (5.0 g, 36 mmol), 4-nitrobenzoic acid chloride **192** (6.7 g, 36 mmol) and aluminum chloride (16.9 g, 126 mmol). The pure product was obtained by recrystallization from EtOH and obtained as a yellow solid (2.8 g, 28%).

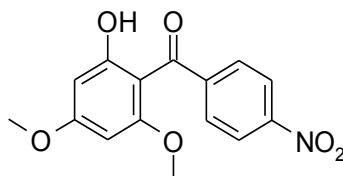


|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid   |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>5</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 273.25 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 28%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.72 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                    | 144-147°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 3.89 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 6.44 (dd, <i>J</i> = 9.0, 2.3 Hz, 1H, ArH), 6.54 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H, ArH), 7.34 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 1H, ArH), 7.78 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 2H, ArH), 8.36 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 2H, ArH), 12.41 (s, 1H, ArOH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 55.8 (CH <sub>3</sub> ), 101.3 (CH), 108.2 (CH), 112.7 (C), 123.7 (2CH), 129.6 (2CH), 134.7 (CH), 143.7 (C), 149.3 (C), 166.7 (C), 167.0 (C), 197.6 (C)  |
| <b>IR v cm<sup>-1</sup></b>                             | 1741, 1592, 1518, 1340, 1206, 703  |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%): C, 61.54; H, 4.06; N, 5.13<br>Found (%): C, 61.65; H, 3.92; N, 5.67  |

## Experimental part

### *(2-Hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone (197)*

The general procedure of Friedel-Crafts was followed using 1,3,5-trimethoxybenzene **191** (1.0 g, 6 mmol), 4-nitrobenzoic acid chloride **192** (1.1 g, 6 mmol) and aluminum chloride (3.6 g, 26 mmol). The crude product was recrystallized from EtOH to give the pure product as a yellow solid (0.5 g, 28%).



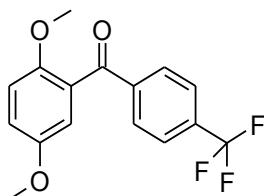
|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>6</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 303.27 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 28%  |
| <b>mp (EtOH)</b>                                      | 172-174°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | 3.43 (s, 1H, OCH <sub>3</sub> ), 3.87 (s, 1H, OCH <sub>3</sub> ), 5.91 (d, <i>J</i> = 2.4 Hz, 1H, ArH), 6.18(d, <i>J</i> = 2.4 Hz, 1H, ArH); 7.61 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH), 8.25 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH); 12.43 (s, 1H, OH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 55.1 (CH <sub>3</sub> ), 55.8 (CH <sub>3</sub> ), 91.4 (CH), 93.8 (CH), 105.1 (C), 122.9 (2CH), 128.0 (2CH), 147.9 (C), 161.9 (C), 166.9 (2C), 167.5 (C), 196.9 (C)  |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>124</sup>

## Experimental part

### *(2,5-Dimethoxyphenyl)[4-(trifluoromethyl)phenyl]methanone (198)*

The general procedure of Friedel-Crafts was followed using 1,4-dimethoxybenzene **189** (1.32 g, 9.5 mmol), 4-(trifluoromethyl)benzoic acid **193** (2.00 g, 10.0 mmol) and Eaton's reagent (0.7 g of phosphorous pentoxide in 4.9 mL of methanesulfonic acid) at 50°C for 15 h. The pure product was obtained without further purification as a brown solid (2.91 g, 98%).



|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Brown solid  |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> F <sub>3</sub> O <sub>3</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 310.28 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 98%  |
| <b>mp (EtOH)</b>                                      | 118-120°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.64 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.80 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 6.94 (d, <i>J</i> = 9.3 Hz, 1H, ArH), 6.97 (d, <i>J</i> = 3.2 Hz, 1H, ArH), 7.06 (dd, <i>J</i> = 9.3, 3.2 Hz, 1H, ArH), 7.69 (d, <i>J</i> = 9.1 Hz, 2H, ArH), 7.90 (d, <i>J</i> = 9.1 Hz, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 55.8 (CH <sub>3</sub> ), 56.1 (CH <sub>3</sub> ), 113.0 (CH), 114.6 (CH), 118.3 (CH), 125.2 (2CH), 128.4 (C), 129.8 (2CH), 130.6 (C), 140.7 (C), 151.9 (2C), 153.6 (C), 195.1 (C)  |
| <b>RMN <sup>19</sup>F (CDCl<sub>3</sub>, 376 MHz)</b> | δ (ppm) -63.0 (s, 3F, CF <sub>3</sub> )  |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                           | 2943, 1674, 1492, 1322, 1126   |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 61.94; H, 4.22<br>Found (%): C, 61.76; H, 4.33  |

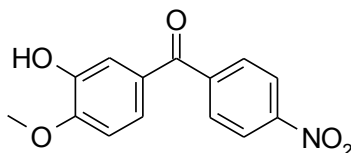
The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>125</sup>



## Experimental part

### *(3-Hydroxy-4-methoxyphényl)(4-nitrophenyl)methanone (199)*

The general procedure was followed using 2-methoxy-5-(4-nitrobenzoyl)phenyl chloroacetate **194** (3.0 g, 8.5 mmol) and AcONa·3H<sub>2</sub>O (3.5 g, 25.5 mmol) in MeOH was refluxed for 1 h. The solvent was removed in vacuo and the crude solid was dissolved in a solution of water/dichloromethane. A 10% HCl aqueous solution was added until precipitation of the pure product (2.2 g, 94%) as a yellow solid.



|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid   |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>5</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 273.25 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 94%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.46 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>mp</b> (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )            | 183-184°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 4.00 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.94 (bs, 1H, OH), 6.94 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.37 (dd, <i>J</i> = 8.0, 2.4 Hz, 1H, ArH), 7.42 (d, <i>J</i> = 2.4 Hz, 1H, ArH), 7.88 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 2H, ArH), 8.32 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 55.3 (CH <sub>3</sub> ), 56.2 (CH <sub>3</sub> ), 109.9 (CH), 116.0 (CH), 123.4 (2CH), 124.2 (CH), 129.7 (C), 130.3 (2CH), 143.6 (C), 145.6 (C), 145.0 (C), 149.5 (C), 151.1 (C), 193.5 (C)  |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                             | 3476, 3106, 2956, 2852, 1640, 1596, 1510, 1272, 1021, 711  |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%): C, 61.54; H, 4.06; N, 5.13<br>Found (%): C, 61.40; H, 3.89; N, 4.97  |

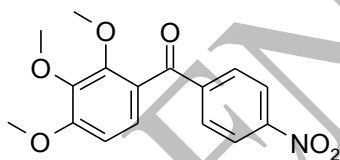
## Experimental part

### *(4-Nitrophenyl)(2,3,4-trimethoxyphenyl)methanone (200)*

#### General procedure for methylation of phenols

A mixture of phenol (1 equiv.), dimethyl sulfate (1.5 equiv.) and potassium carbonate (2.5 equiv.) in acetone was refluxed for 18 hours. After cooling to rt, the excessive dimethyl sulfate was quenched by triethylamine, then the solution was poured into water, extracted with dichloromethane and dried (MgSO<sub>4</sub>). The solvent was removed in vacuo to give the crude product which is recrystallized when necessary.

The general procedure for the methylation of phenols was followed using (2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone **195** (1.5 g, 5.0 mmol), dimethyl sulfate (0.72 mL, 7.5 mmol) and potassium carbonate (1.6 g, 12 mmol). The product was obtained without purification as a yellow solid (1.5 g, 97%).

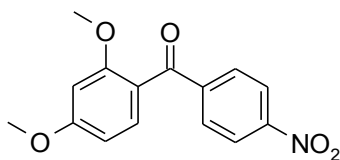


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid  |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>6</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 317.30 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 93%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.65 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>mp</b> (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )            | 94-96°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 3.68 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.88 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.95 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 6.77 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.26 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.89 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH), 8.29 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 56.2 (CH <sub>3</sub> ), 61.0 (CH <sub>3</sub> ), 61.6 (CH <sub>3</sub> ), 107.1 (CH), 123.3 (2CH), 124.9 (C), 125.8 (CH), 130.0 (2CH), 141.9 (C), 144.0(C), 149.7 (C), 153.0 (C), 157.4 (C), 193.7 (C)   |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                             | 2945, 1650, 1589, 1352, 1098  |
| <b>Elemental analysis</b>                               | Calculated (%): C, 58.79; H, 4.93; N, 4.03<br>Found (%): C, 58.67; H, 5.13; N, 3.76   |

## Experimental part

### *(2,4-Dimethoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone (201)*

The general procedure for the methylation of phenols was followed using (2-hydroxy-4-methoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone **196** (2.0 g, 7.3 mmol), dimethyl sulfate (1.0 mL, 10.9 mmol) and potassium carbonate (2.5 g, 18.3 mmol). The pure product was obtained without purification as a yellow solid (2.1 g, 99%).



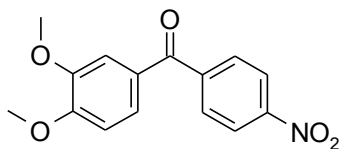
|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid   |
| <b>Molecular formula</b>                                | C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>5</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                                 | 287.27 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 99%  |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                    | 0.49 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)  |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)                    | 118-119°C  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)  | δ (ppm) 3.65 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.90 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 6.50 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H, ArH), 6.61 (dd, <i>J</i> = 8.6, 2.1 Hz, 1H, ArH), 7.55 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H, ArH), 7.86 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH), 8.26 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) | δ 55.4 (CH <sub>3</sub> ), 55.6 (CH <sub>3</sub> ), 98.6 (CH), 105.3 (CH), 120.1 (C), 123.2 (2CH), 129.9 (2CH), 133.0 (CH), 144.6 (C), 149.6 (C), 160.0 (C), 164.6 (C), 193.6 (C)  |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>120,121</sup>

## Experimental part

### *(3,4-Dimethoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone (202)*

The general procedure for the methylation of phenols was followed using (3-hydroxy-4-methoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone **199** (1.5 g, 5.5 mmol), dimethyl sulfate (1.6 mL, 16.5 mmol) and potassium carbonate (0.4 g, 2.7 mmol). The crude solid was recrystallized from EtOH to give the pure product as a yellow solid (1.2 g, 74%).



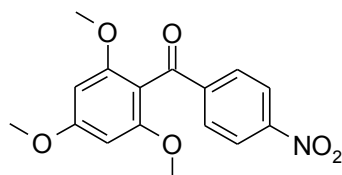
|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>5</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 287.27 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 99%  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.96 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.98 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 6.90 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.29 (dd, <i>J</i> = 7.7, 1.6 Hz, 1H, ArH), 7.51 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz, 1H, ArH), 7.89 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH), 8.34 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 56.1 (CH <sub>3</sub> ), 56.2 (CH <sub>3</sub> ), 109.9 (CH), 111.7 (CH), 116.6 (C), 123.4 (2CH), 125.8 (CH), 129.0 (C), 130.3 (2CH), 143.8 (C), 149.4 (C), 149.5 (C), 153.9 (C), 193.5 (C)  |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 62.72; H, 4.56; N, 4.88<br>Found (%): C, 62.49; H, 4.37; N, 4.78  |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>122</sup>

## Experimental part

### *(4-Nitrophenyl)(2,4,6-trimethoxyphenyl)methanone (203)*

The general procedure for the methylation of phenols was followed using (2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone **197** (0.5 g, 1.6 mmol), dimethyl sulfate (0.2 mL, 2.4 mmol) and potassium carbonate (0.6 g, 4 mmol). The pure product was obtained as a yellow solid (0.5 g, 93%).



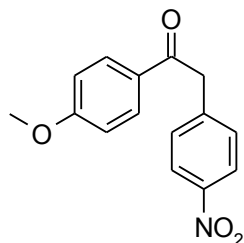
|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>6</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 317.30 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 93%  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.69 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ), 3.88 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 6.17 (d, 2H, ArH), 7.95 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH), 8.25 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 55.5 (CH <sub>3</sub> ), 55.8 (2CH <sub>3</sub> ), 90.7 (CH), 109.6 (C), 123.5 (CH), 130.1 (CH), 143.2 (2C), 149.4 (C), 159.2 (2C), 163.2 (C), 192.9 (C)               |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 60.57; H, 4.77; N, 4.41<br>Found (%): C, 60.27; H, 4.91; N, 4.40  |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>124</sup>

## Experimental part

### *1-(4-Methoxyphenyl)-2-(4-nitrophenyl)ethanone (206)*

The general procedure for Wittig reaction was followed using commercially available (4-methoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone **205** (2.0 g, 7.8 mmol), potassium *tert*-butoxide (5.5 g, 15.5 mmol), and methyltriphenylphosphonium bromide (4.4 g, 38.8 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc gradient to give the pure insertion product as an orange solid (0.25 g, 12%).



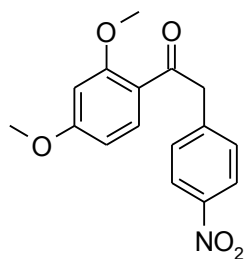
|                          |   |
|--------------------------|---|
| <b>Aspect</b>            | Orange solid                                    |
| <b>Molecular formula</b> | C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>4</sub> |
| <b>Molecular weight</b>  | 271.28 g.mol <sup>-1</sup>                      |
| <b>Yield</b>             | 12%   |

The physico-chemicals properties are in accordance with the literature.<sup>120,121</sup>

## Experimental part

### *1-(2,4-Dimethoxyphenyl)-2-(4-nitrophenyl)ethanone (207)*

The general procedure for Wittig reaction was followed using (2,4-dimethoxyphenyl)-(4-nitrophenyl)methanone **201** (1.5 g, 5.2 mmol), potassium *tert*-butoxide (2.9 g, 26.0 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (3.7 g, 10.4 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc gradient to give the pure insertion product as an orange solid (0.5 g, 32%).



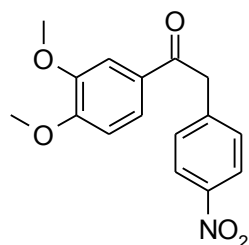
|  |  |
|--|--|
| <b>Aspect</b>  | Orange solid   |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                              | 301.30 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>   | 32%  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 3.78 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.90 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.42 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 7.28 (d, <i>J</i> = 3.2 Hz, 1H, ArH), 7.40 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H, ArH), 8.18 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H, ArH) |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>120,121</sup>

## Experimental part

### *1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-(4-nitrophenyl)ethanone (208)*

The general procedure for Wittig reaction was followed using (3,4-dimethoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanone **202** (1.0 g, 3.5 mmol), potassium *tert*-butoxide (1.9 g, 17.4 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (2.5 g, 7.0 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel *n*-heptane/EtOAc gradient to give the pure insertion product as an orange solid (0.5 g, 51%).



|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Orange solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 301.30 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 51%  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.93 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.96 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.36 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 6.91 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.43 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH), 7.55 (d, <i>J</i> = 2.4 Hz, 1H, ArH), 7.65 (dd, <i>J</i> = 8.8, 2.4 Hz, 1H, ArH), 8.20 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 44.5 (CH <sub>2</sub> ), 56.0 (CH <sub>3</sub> ), 56.1 (CH <sub>3</sub> ), 110.1 (CH), 110.4 (CH), 123.3 (CH), 123.7 (2CH), 129.4 (C), 130.5 (2CH), 142.5 (2C), 149.3 (C), 153.8 (C), 194.5 (C)  |

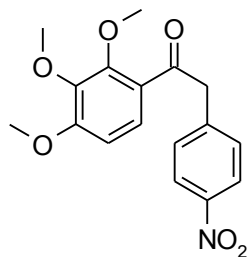
The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>123</sup>



## Experimental part

### 2-(4-Nitrophenyl)-1-(2,3,4-trimethoxyphenyl)ethanone (209)

The general procedure for Wittig reaction was followed using (4-nitrophenyl)(2,3,4-trimethoxyphenyl)methanone **200** (1.0 g, 3.2 mmol), potassium *tert*-butoxide (1.8 g, 16.0 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (2.3 g, 6.3 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc gradient to give the pure insertion product as an orange solid (0.3 g, 32%).

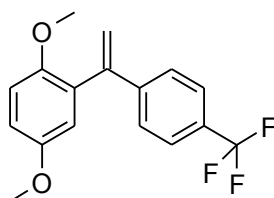


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | Orange solid  |
| <b>Molecular formula</b>  | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>   | 301.30 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 51%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>  | 0.55 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane/EtOAc)  | 88-89°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.88 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.92 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.99 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.39 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 6.72 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.41 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, ArH), 7.51 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH), 8.18 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b>   | δ 49.0 (CH <sub>2</sub> ), 56.1 (CH <sub>3</sub> ), 60.9 (CH <sub>3</sub> ), 61.5 (CH <sub>3</sub> ), 107.3 (CH), 123.5 (2CH), 124.9 (C), 126.0 (CH), 130.6 (2CH), 141.9 (C), 143.0 (C), 146.9 (C), 154.0 (C), 157.9 (C), 196.4 (C)   |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>   | 2937, 1659, 1583, 1518, 1461, 1291, 1093  |
| <b>Elemental analysis</b>   | Calculated (%): C, 62.28; H, 5.49; N, 4.10  |
| for C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>6</sub> , 1/10 <i>n</i> -C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> | Found (%): C, 62.26; H, 5.47; N, 4.10   |

## Experimental part

### *1,4-Dimethoxy-2-(1-[4-(trifluoromethyl)phenyl]vinyl)benzene (210)*

The general procedure for Wittig reaction was followed using (2,5-dimethoxyphenyl)[4-(trifluoromethyl)phenyl]methanone **198** (2.0 g, 6.5 mmol), potassium *tert*-butoxide (3.6 g, 32.5 mmol) and methyltriphenylphosphonium bromide (4.6 g, 13.0 mmol) in tetrahydrofuran at rt. The product was obtained without purification as a yellow oil (0.9 g, 44%).

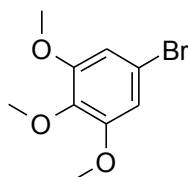


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | Yellow oil  |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> F <sub>3</sub> O <sub>2</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 308.30 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 44%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                  | 0.74 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 5/5)   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.56 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.79 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.43 (d, <i>J</i> = 1.1 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.75 (d, <i>J</i> = 1.1 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> ), 6.84 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 1H, ArH), 6.85 (dd, <i>J</i> = 2.8, 1H, ArH), 6.88 (d, <i>J</i> = 8.9, 2.8 Hz, 1H, ArH), 7.39 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.52 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 55.2 (CH <sub>3</sub> ), 55.7 (CH <sub>3</sub> ), 112.1 (CH), 113.2 (CH), 116.6 (CH <sub>2</sub> ), 116.8 (CH), 124.4 (2C), 126.05 (2CH), 127.9 (CH), 130.6 (C), 133.3 (C), 143.9 (CH), 145.4 (C), 150.6 (C), 153.1 (C)   |
| <b>RMN <sup>19</sup>F (CDCl<sub>3</sub>, 376 MHz)</b> | δ (ppm) -62.4 (s, 3F, CF <sub>3</sub> )   |
| <b>IR ν cm<sup>-1</sup></b>                           | 2950, 1615, 1114  |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 66.23; H, 4.90<br>Found (%): C, 66.62; H, 4.83   |

## Experimental part

### *5-bromo-1,2,3-trimethoxybenzene (216)*

A mixture of 4-bromo-2,6-dimethoxyphenol (17.6 g, 75 mmol, 1 equiv.), NaOH (7.5 g, 188 mmol, 2.5 equiv.) in water was cooled at 10°C. Dimethylsulfate (10.7 mL, 112 mmol, 1.5 equiv.) was added then the mixture was stirred at reflux for 3 hours. The precipitate was filtered and dissolved into Et<sub>2</sub>O. The organic layer was washed with 5% solution of NaOH, water, then brine and dried on MgSO<sub>4</sub>. The solvent were removed in vacuo and the pure product was obtained as a white solid (11.6 g, 62%).

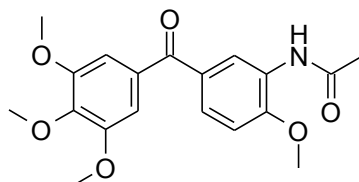


|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | White solid   |
| <b>Molecular formula</b>                               | C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> BrO <sub>3</sub>             |
| <b>Molecular weight</b>                                | 247.09 g.mol <sup>-1</sup>                                  |
| <b>Yield</b>   | 62%   |
| <b>R<sub>f</sub></b>                                   | 0.72 ( <i>n</i> -heptane/EtOAc 6/4)                         |
| <b>mp</b> ( <i>n</i> -heptane)                         | 76-77°C   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) | δ (ppm) 3.84 (s, 9H, 3OCH <sub>3</sub> ), 6.75 (s, 2H, ArH) |

## Experimental part

### *N*-[2-methoxy-5-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)phenyl]acetamide (224)

The general procedure of Friedel-Crafts using Eaton's reagent was followed using trimethoxybenzoic acid **128** (2.57 g, 12 mmol), *N*-(2-methoxyphenyl)acetamide **129** (1 g, 6 mmol) and Eaton's reagent (1,2 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in 7,9 mL of CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) at 40°C for 48 hours. The products were separated by column chromatography on silica gel with *n*-heptane/acetone 9/1 to 8/2. The pure product was obtained as a white powder (0.32 g, 15%).

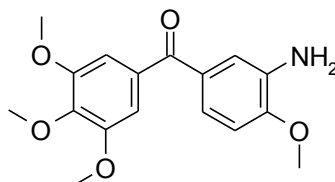


|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | White powder  |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>6</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 359.38 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 15%   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 2.21 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 3.90 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ); 3.94 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.98 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 6.99 (d, J = 8.9 Hz, 1H, ArH); 7.13 (s, 2H, ArH); 7.67 (dd, J = 8.8, 2.2 Hz, 1H, ArH); 8.78 (d, J = 1.8, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 24.8 (CH <sub>3</sub> ); 56.0 (CH <sub>3</sub> ); 56.3 (CH <sub>3</sub> ); 60.9 (CH <sub>3</sub> ); 107.8 (2CH); 109.8 (CH); 122.8 (CH); 126.8 (CH); 126.8 (C); 130.5 (C); 132.8 (C); 141.8 (C); 145.5 (C); 152.9 (2C); 168.2 (C); 194.3 (C)                |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 63.50; H, 5.89; N, 3.90<br>Found (%): C, 63.29; H, 5.86; N, 3.79   |

## Experimental part

### *(3-amino-4-methoxyphenyl)(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone (225)*

*N*-[2-methoxy-5-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)phenyl]acetamide **224** (0.2 g, 0.55 mmol) was dissolved in 10 mL of MeOH. A solution of chlorhydric acid 10% was added and the mixture was refluxed for 24h. The solution was quenched on a solution of ammonium chloride, then extracted on CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and dried on MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed in vacuo. The product was obtained without further purification as a black powder (0.15 g, 85%).



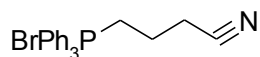
|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | Black powder  |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>5</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                              | 317.34 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>   | 85%   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 3.87 (s, 6H, 2OCH <sub>3</sub> ); 3.91 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.96 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 6.91 (d, J = 8.4 Hz, 1H, ArH); 7.02 (s, 2H, ArH); 7.46 (dd, J = 8.4, 2.2 Hz, 1H, ArH); 7.59 (d, J = 2.2, 1H, ArH) |
| <b>IR v cm<sup>-1</sup></b>                          | 3427, 1698, 1582, 1117  |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature.<sup>133</sup>

## Experimental part

### *(3-cyanopropyl)(triphenyl)phosphonium bromide (227)*

10 mL of 4-bromobutanenitrile **226** (0.1 mol, 1 equiv.) and 26.3 g of triphenylphosphine (0.1 mol, 1 equiv.) were dissolved into 200 mL of toluene. The mixture was refluxed for 48 hours. The precipitate formed was filtered and washed by diethyl ether. The pure product was isolated as a white solid (22.9 g, 56%).

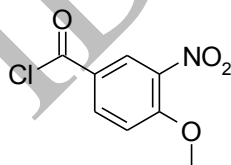


|  |   |
|--|---|
| <b>Aspect</b>  | White solid   |
| <b>Molecular formula</b>                             | C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> BrNP  |
| <b>Molecular weight</b>                              | 410.30 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>   | 56%   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b> | δ (ppm) 1.98 – 2.10 (m, 2H, CH <sub>2</sub> ); 3.12 (t, 2H, CH <sub>2</sub> ); 4.13 – 4.22 (m, 2H, CH <sub>2</sub> ); 7.7 – 7.9 (m, 15H, ArH) |

The other physico-chemical properties are in accordance with the literature<sup>134</sup>.

### *4-methoxy-3-nitrobenzoyl chloride<sup>136</sup> (233)*

A mixture of 4-methoxy-3-nitrobenzoic acid **234** (5 g, 2.5 mmol, 1 equiv.) in thionyl chloride (7.3 mL, 10 mmol, 4 equiv.) was refluxed for 15 hours. After cooling to rt, the thionyl chloride was removed in vacuo. The pure product was obtained as a yellow oil (quantitative yield).



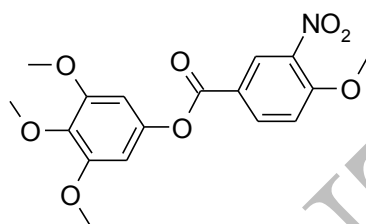
|                          |   |
|--------------------------|---|
| <b>Aspect</b>            | White solid                                     |
| <b>Molecular formula</b> | C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> ClNO <sub>4</sub> |
| <b>Molecular weight</b>  | 215.59 g.mol <sup>-1</sup>                      |
| <b>Yield</b>             | Quantitative yield                              |

<sup>136</sup> Wu, D.-Y. *et al. J. Org. Chem.*, **1952**, *17*; 1216-1227.

## Experimental part

### *3,4,5-trimethoxyphenyl-4-methoxy-3-nitrobenzoate (235)*

A mixture of 5-bromo-1,2,3-trimethoxybenzene **216** (6.9 g, 28 mmol, 1.1 equiv.) in anhydrous THF was cooled at -80°C. A solution of *n*BuLi 2.5M in hexane (11.2 mL, 1.1 equiv) was added and the mixture was stirred at -80°C for 1 hour. 4-Methoxy-3-nitrobenzoyl chloride **233** (5.5 g, 25 mmol, 1 equiv.) in solution in anhydrous THF was added dropwise to the mixture then the solution was stirred from -80°C to rt for 15 hours. The mixture was quenched on a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> then extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and dried on MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed in vacuo and the crude product was purified on column chromatography on silica gel with *n*-heptane/EtOAc 8/2. The pure benzoate was obtained in few amounts as a white powder.

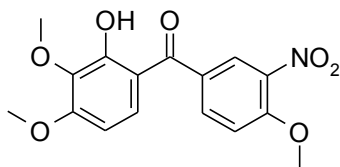


|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | White powder   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>8</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 363.33 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | Traces   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.86 (s, 9H, 3OCH <sub>3</sub> ), 4.07 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 6.46 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 7.21 (d, 1H, ArH), 8.35 (dd, 1H, ArH), 8.66 (1H, ArH)   |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 56.2 (2CH <sub>3</sub> ), 56.9 (OCH <sub>3</sub> ), 60.9 (OCH <sub>3</sub> ), 99.1 (2CH), 105.4 (C), 105.5 (C), 113.4 (CH), 121.8 (C), 127.8 (CH), 135.9 (CH), 136.1 (C), 146.6 (C), 153.6 (C), 156.6 (C), 163.2 (C) |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 56.20; H, 4.72; N, 3.86<br>Found (%): C, 56.21; H, 4.82; N, 3.84  |

## Experimental part

### *(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)(4-methoxy-3-nitrophenyl)methanone (236)*

The general procedure of Friedel-Crafts in presence of boron trifluoride was followed using 1,2,3-trimethoxybenzene **182** (1.7 g, 10 mmol), 3-methoxy-4-nitrobenzoic acid **234** (2.0 g, 10 mmol), boron trifluoride etherate (7.5 mL, 60 mmol) and trifluoroacetic anhydride (8.6 mL, 60 mmol) in 1,2-dichloroethane at reflux for 18 hours. The crude product was recrystallized in Et<sub>2</sub>O to give the pure product as a yellow solid (2.6 g, 75%).



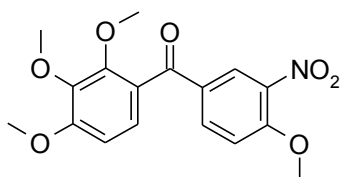
|   |  |
|---|--|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid   |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>7</sub>  |
| <b>Molecular weight</b>                               | 333.30 g.mol <sup>-1</sup>   |
| <b>Yield</b>  | 75%  |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.94 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.96 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 4.07 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 6.52 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H, ArH); 7.22 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H, ArH); 7.32 (d, <i>J</i> = 8.8, 1H, ArH); 7.92 (dd, <i>J</i> = 8.8, 2.2 Hz, 1H, ArH); 8.19 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H, ArH); 12.0 (s, 1H, OH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 56.2 (CH <sub>3</sub> ); 56.9 (CH <sub>3</sub> ); 60.8 (CH <sub>3</sub> ); 103.2 (CH); 113.4 (CH); 114.7 (C); 127.1 (CH); 129.3 (CH); 130.2 (2C); 135.0 (CH); 136.9 (C); 155.4 (C); 157.7 (C); 158.9 (C); 196.6 (C)  |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 57.66; H, 4.54; N, 4.20<br>Found (%): C, 57.42; H, 4.66; N, 4.14  |



## Experimental part

### *(2,3,4-trimethoxyphenyl)(4-methoxy-3-nitrophenyl)methanone (241)*

The general procedure for the methylation of phenols was followed using (2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)(4-methoxy-3-nitrophenyl)methanone **236** (5.6 g, 17 mmol), dimethyl sulfate (2.4 mL, 25 mmol) and potassium carbonate (5.5 g, 42 mmol). The product was obtained without purification as a white solid (4.5 g, 76%).



|   |   |
|---|---|
| <b>Aspect</b>   | Yellow solid  |
| <b>Molecular formula</b>                              | C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>7</sub>   |
| <b>Molecular weight</b>                               | 347.33 g.mol <sup>-1</sup>  |
| <b>Yield</b>  | 76%   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)</b>  | δ (ppm) 3.76 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.90 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 3.94 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 4.04 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ); 6.75 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H, ArH); 7.15 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H, ArH); 7.16 (d, <i>J</i> = 8.6, 1H, ArH); 8.06 (dd, <i>J</i> = 8.6, 2.2 Hz, 1H, ArH); 8.25 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H, ArH) |
| <b>RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)</b> | δ 56.2 (CH <sub>3</sub> ); 56.9 (CH <sub>3</sub> ); 61.1 (CH <sub>3</sub> ); 61.8 (CH <sub>3</sub> ); 107.2 (CH); 112.9 (CH); 125.1 (CH); 125.2 (C); 127.7 (CH); 130.8 (C); 135.3 (CH); 139.1 (C); 142.1 (C); 152.5 (C); 155.9 (C); 156.7 (C); 192.1 (C)  |
| <b>Elemental analysis</b>                             | Calculated (%): C, 58.79; H, 4.93; N, 4.03<br>Found (%): C, 58.67; H, 5.13; N, 3.76   |

## Experimental part

### Tests biologiques

#### Tests de cytotoxicités NCI

Des tests d'évaluation biologique ont été menés par le *National Cancer Institute* (NCI) aux Etats-Unis. Ces tests consistent en un screening biologique des composés sur un panel de 60 souches tumorales différentes tirées de plusieurs types de cancer : leucémie, cancer des poumons, cancer du côlon, cancer sur système nerveux central, mélanome, cancer ovarien, cancer rénal, cancer de la prostate et enfin cancer du sein.

Les composés sont d'abord soumis en ligne sur le site internet du NCI et font l'objet d'une première évaluation du BEC (Biological Committee Evaluation). Les composés originaux sont sélectionnés et un numéro NCI leur est attribué sur le site puis ils sont mis en attente de réception.

Une fois les produits réceptionnés au NCI, ceux-ci font l'objet d'une première évaluation biologique sur le panel des 60 cellules souches : la prolifération cellulaire est mesurée pour une concentration de  $10^{-5}$  M de produit. Si la molécule possède une activité faible ou nulle vis-à-vis de la prolifération cellulaire, les tests sont stoppés à ce stade. Si, par contre, la molécule possède une forte activité inhibitrice à cette concentration, elle est évaluée au stade supérieur. Cette nouvelle étape consiste à mesurer l'inhibition, cette fois à 5 concentrations différentes :  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  et  $10^{-8}$  M. Les résultats obtenus permettent d'accéder au profil d'activité de la molécule.

Si la molécule présente encore une forte inhibition de la prolifération cellulaire à la concentration de  $10^{-8}$  M, elle est à nouveau évaluée par le BEC afin d'envisager qu'elle soit conduite en essais précliniques. Si le BEC confirme son intérêt pour des essais précliniques, le produit est d'abord testé sur des souris saines afin de déterminer sa DMT (dose maximale tolérée).

Durant 14 jours, on observe la perte de poids engendrée par l'injection de solution à 400, 200 et 100 mg/kg sur trois souris. Si une souris perd plus de 20 % de son poids initial ou si une toxicité est observée, elle est sacrifiée. Si les trois souris sont sacrifiées, le même processus est renouvelé avec des concentrations de 50, 25 et 12.5 mg/kg et répété jusqu'à déterminer la dose maximale tolérée et les doses à injecter sur des souris qui ont développé des tumeurs. L'étape suivante consiste à répéter ce test sur ces souris infectées avec les doses préconisées ci-avant.

## Experimental part

### Tests d'inhibition de la polymérisation de la tubuline

Les tests d'inhibition de la polymérisation de la tubuline ont été réalisés à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles, à Gif-sur-Yvette, sous la direction du Dr. Joëlle Dubois.

De la tubuline de cerveau de mouton est purifiée selon la méthode de Shelanski<sup>137</sup>, par deux cycles d'assemblage avec un tampon contenant 0.1 M de MES, 0.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 mM de EGTA, et 1 mM de GTP, pH 6.6 (la concentration de la tubuline est d'environ 2-3 mg/mL). L'assemblage de la tubuline est contrôlée par fluorescence, selon une procédure publiée<sup>138</sup> utilisant le DAPI comme molécule fluorescente. Les essais ont été réalisés sur des plaques 96 puits, préparés avec deux robots pipeteurs-dilueurs (Biomek NKMC et Biomek 3000 de marque Beckman Coulter). La lecture des plaques est réalisée à 37°C sur un fluorimètre Wallac Victor de marque Perkin-Elmer. La valeur de l'IC<sub>50</sub> de chaque composé est déterminée par la concentration à laquelle le taux d'assemblage maximum de la tubuline est diminué de 50 %, comparé au taux d'assemblage en l'absence du composé. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> pour tous les composés sont comparées aux IC<sub>50</sub> de la phenstatine et de la désoxypodophyllotoxine et mesurée le même jour dans les mêmes conditions.

### Evaluation de la cytotoxicité des composés par le test résazurine

L'évaluation de la cytotoxicité de certains composés a été réalisée à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles, à Gif-sur-Yvette, sous la direction des Dr. Joanna Bakala et Dr. Jérôme Bignon.

L'inhibition de la prolifération cellulaire *in vitro* des composés a été mesurée en utilisant le test résazurine. Les lignées cellulaires cancéreuses proviennent de l'*American Type Culture Collection* (Rockville, MD, USA) et ont été cultivées selon les recommandations du fournisseur. Les cellules U87 ont été cultivées dans du milieu de culture « Dulbecco minimal essential médium » (DMEM) contenant 4,5 g/L de glucose et supplémenté avec 10 % de sérum de veau fœtal et 1 % de glutamine. Les cellules HCT116 et K562 ont été cultivées dans du milieu RPMI 1640 contenant 10 % de sérum de veau fœtal et 1 % de glutamine. Toutes les lignées cellulaires ont été maintenues en culture à 37°C dans une atmosphère humide contenant 5 % de CO<sub>2</sub>. La viabilité cellulaire a été évaluée en utilisant le réactif « CellTiter-Blue TM » (Promega, WI, USA)

---

<sup>137</sup> Shelanski, M. L. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1973**, 70, 765-768.

<sup>138</sup> Barron, D. M. *et al. Anal. Biochem.*, **2003**, 315, 49-56.

## Experimental part

en respectant les instructions du fabricant. Les cellules ont étéensemencées dans des plaques de culture de 96 puits à raison de 5000 cellules par puits dans 50  $\mu$ L de milieu de culture. Après 24 heures de culture, les composés, dissous dans du DMSO, ont été ajoutés individuellement dans chacun des puits à raison de 50  $\mu$ L par puits. Tous les composés ont été testés en triplicat pour chaque concentration définie et chaque expérience a été répétée 3 fois. Après 72 heures d'incubation, 20  $\mu$ L de résazurine ont été ajoutés dans chaque puits. Après 2 heures d'incubation, la fluorescence émise a été mesurée à 590 nm, après excitation à 560 nm, à l'aide d'un lecteur de fluorescence de type Victor (Perkin-Elmer, USA). La concentration de chacun des composés qui induit la mort de 50% des cellules ( $IC_{50}$ ) a été déterminée après 72 heures d'incubation.

### Etude du cycle cellulaire

L'étude du cycle cellulaire vis-à-vis des composés a été réalisée à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles, à Gif-sur-Yvette, sous la direction des Dr. Joanna Bakala et Dr. Jérôme Bignon.

Les cellules HCT116 sontensemencées dans des plaques de culture 6 puits à raison de 300 000 cellules par puits dans leurs milieux respectifs décrits ci-dessus. Après 24 heures de culture, les composés ont été ajoutés dans chacun des puits à différentes concentrations. Après 24 heures d'incubation, les cellules sont collectées individuellement dans des tubes de 15 mL puis centrifugées. Les cellules sont ensuite lavées 2 fois dans du PBS froid puis remises en suspension dans 1 ml de PBS, fixées en ajoutant 2 mL d'éthanol absolu froid et placées à 4°C pendant 1 h. Après centrifugation, les cellules sont lavées 2 fois dans du PBS puis le culot cellulaire est repris dans 100  $\mu$ L de Triton X100 à 1 %. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante, 50  $\mu$ L de RNase A préalablement bouillie (1 mg/mL) et 500  $\mu$ L d'iodure de propidium (50  $\mu$ g/mL) sont ajoutés dans chaque tube et incubés dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes.

La distribution du nombre de cellules dans chacune des phases du cycle cellulaire est ensuite déterminée par cytométrie en flux à l'aide d'un cytomètre de type FC500 (Beckman-Coulter, France).

### Etude de l'apoptose

L'étude de l'apoptose vis-à-vis des composés a été réalisée à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles, à Gif-sur-Yvette, sous la direction des Dr. Joanna Bakala et Dr. Jérôme Bignon.

## Experimental part

Afin de déterminer si les composés entraînent une mort cellulaire par apoptose, l'activité enzymatique intracellulaire des caspases 3 et 7 a été évaluée dans les cultures des cellules K562, HCT116 et MDA-MB-231 exposées pendant 24 heures à l'action des composés.

L'apoptose est mesurée en utilisant le kit « Apo-one homogeneous caspase-3/7 assay » (Promega Co, WI, USA) en suivant les recommandations du fabricant. Les cellules sontensemencées dans des plaques de culture de 96 puits à raison de 50 000 cellules par puits dans 100 µL de milieu de culture. Après 24 h d'incubation, le milieu est remplacé par 100 µL de milieu de culture contenant différentes concentrations des composés ou 0,1% de DMSO (contrôle négatif).

Après 24 heures de traitement, on ajoute dans chaque puits 100 µL de réactif contenant le substrat des caspases et le tampon de la réaction. Après 1 heure d'incubation, la fluorescence émise par les cellules est mesurée à 527 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque de type Victor (Perkin-Elmer, USA).

### Evaluation *in vitro* de l'activité anti-vasculaire

L'évaluation de l'activité antivasculaire de certains composés a été réalisée à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles, à Gif-sur-Yvette, sous la direction des Dr. Joanna Bakala et Dr. Jérôme Bignon.

#### *Etude de la cytotoxicité sur les cellules endothéliales humaines HUVEC*

La cytotoxicité des composés vis-à-vis des cellules endothéliales humaines HUVEC a été évaluée. Les cellules endothéliales humaines HUVEC proviennent de Lonza et ont été cultivées dans le milieu spécifique du fournisseur. Les cellules ont été maintenues en culture à 37°C dans une atmosphère humide contenant 5 % de CO<sub>2</sub>.

La viabilité cellulaire a été évaluée en utilisant le réactif « CellTiter-Blue TM » (Promega, WI, USA) en respectant les instructions du fabricant. Les cellules ont étéensemencées dans des plaques de culture de 96 puits à raison de 3000 cellules par puits dans 50 µL de milieu de culture. Après 24 heures de culture, les composés selon l'invention dissous dans du DMSO ont été ajoutés individuellement dans chacun des puits à raison de 50 µL par puits. Tous les composés ont été testés en triplicat pour chaque concentration définie et chaque expérience a été répétée 3 fois. Après 72 heures d'incubation, 20 µL de résazurine ont été ajoutés dans chaque puits. Après 2 heures d'incubation, la fluorescence émise a été mesurée à 590 nm après excitation à 560 nm à l'aide d'un lecteur de fluorescence de type Victor (Perkin-Elmer, USA).

La concentration de chacun des composés qui induit la mort de 50 % des cellules endothéliales HUVEC (IC<sub>50</sub>) a été déterminée après 72 heures d'incubation.

## Experimental part

### *Etude sur la formation de tubes vasculaires sur Matrigel™*

Une étude a été effectuée sur le Matrigel™ (une préparation de membrane basale contenant des facteurs de croissance et permettant l'organisation des cellules endothéliales en tubes vasculaires) afin de déterminer la capacité des composés à perturber des structures vasculaires déjà formées. Le composé évalué a été ajouté à une concentration de 0,1 µM dans le Matrigel™ portant des capillaires bien formés pendant 18 heures. La destruction du réseau vasculaire sur le Matrigel™ est observée au microscope.

### Modélisation moléculaire

The crystallographic structure of a heterodimer of  $\alpha$  and  $\beta$ -tubuline was taken from the 1sa0<sup>139</sup> entry of the RCSB Protein Data Bank (<http://www.pdb.org>)<sup>140</sup> and the binding site was thought to be that of the co-crystallised thiocolchicine. Flexible docking of the compounds into their putative binding site was performed using GOLD 5.1 software.<sup>141</sup> The most stable docking models were selected according to the best scored conformation predicted by the GoldScore<sup>141</sup> and X-Score scoring functions<sup>142</sup> and a visual assessment of the consistency of the docking solutions, expressed as the closeness of the thirty generated conformations.

---

<sup>139</sup> Ravelli, R. B. *et al. Nature*, **2004**, 428, 198-202.

<sup>140</sup> Berman, H. M. *et al. Nucleic Acids Res.*, **2000**, 28, 235-242.

<sup>141</sup> Jones, G. *et al. J. Mol. Biol.* **1997**, 267, 717-748.

<sup>142</sup> Wang, R. *et al. J. Comput. Aided Mol. Des.*, **2002**, 1, 11-26.

## **Bibliographie**

---

CONFIDENTIEL

CONFIDENTIEL



## Bibliographie

### Bibliographie

- <sup>1</sup> Bray, F.; Ren, J. S.; Masuyer, E.; Ferlay J. Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. *International Journal of Cancer*, **2013**, *132*, 1133-1145.
- <sup>2</sup> Jemal, A.; Bray, F.; Center, M. M.; Ferlay, J.; Ward, E.; Forman, D. Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **2011**, *61*, 69-90.
- <sup>3</sup> Projection de l'incidence et de la mortalité par cancer en France en 2011. Rapport technique. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2011. 78 p.
- <sup>4</sup> Hanahan, D.; Weinberg, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell*, **2000**, *100*, 57-70.
- <sup>5</sup> Informations tirés du site du NCI, à l'url :  
<http://www.cancer.gov/cancertopics/wyntk/cancer/page3> (Consulté le 09 octobre 2012).
- <sup>6</sup> Image disponible sur le site du CNRS à l'url :  
[http://www2.cnrs.fr/sites/journal/image/infog\\_cancer\\_4\\_grand.jpg](http://www2.cnrs.fr/sites/journal/image/infog_cancer_4_grand.jpg) (Consulté le 08 octobre 2012).
- <sup>7</sup> *Situation de la chimiothérapie des cancers en 2011*. Collection Rapports & synthèses, ouvrage collectif édité par l'INCa, Boulogne-Billancourt, juin 2012.
- <sup>8</sup> McKeage M. J.; Baguley, B. C. Disrupting established tumor blood vessels. *Cancer*, **2010**, *116*, 1859-1871.
- <sup>9</sup> *Antiangiogenic Cancer Therapy*; Davis, D. W.; Herbst, R. S.; Abbruzzese, J. L., Eds; CRC Press Taylor & Francis Group, 2008.
- <sup>10</sup> Denekamp, J. Endothelial cell proliferation as a novel approach to targeting tumor therapy. *British Journal of Cancer*, **1982**, *45*, 138-139.
- <sup>11</sup> Mason, R. P.; Zhao D.; Liu L.; Trawick M. L.; Pinney K. G. A Perspective on Vascular Disrupting Agents that Interact with Tubulin: Preclinical Tumor Imaging and Biological Assessment. *Integrative Biology*, **2011**, *3*, 375-387.
- <sup>12</sup> Akhmanova, A.; Steinmetz, M. O. Tracking the ends: a dynamic protein network controls the fate of microtubule tips. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **2008**, *9*, 309-322.

## Bibliographie

- <sup>13</sup> Brown, I.; Sangrithi-Wallace, J. N.; Scofield, A. C. Antimicrotubules Agents in *Anticancer Therapeutics*; Missailidis, S., Ed., John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2008, pp. 79-89.
- <sup>14</sup> Calligaris, D.; Verdier-Pinard, P.; Devred, F.; Villard, C.; Braguer, D.; Lafitte D. Microtubule targeting agents: from biophysics to proteomics. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **2010**, *67*, 1089-1104.
- <sup>15</sup> Pettit, G. R.; Toki, B.; Herald, D. L.; Verdier-Pinard, P.; Boyd, M. R.; Hamel, E.; Pettit, R. K. Antineoplastic agents. 379. Synthesis of phenstatin phosphate. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1998**, *41*, 1688-1695.
- <sup>16</sup> Aprile, S.; Del Grosso, E.; Tron, G. C.; Grosa, G. In vitro metabolism study of combretastatin A-4 in rat and human liver microsomes. *Drug Metabolism and Disposition*, **2007**, *35*, 2252-2261.
- <sup>17</sup> Salmon, H. W.; Siemann, D. W. Effect of the second-generation vascular disrupting agent OXi4503 on tumor vascularity. *Clinical Cancer Research*, **2006**, *12*, 4090-4094.
- <sup>18</sup> Dark, G. G.; Hill, S. A.; Prise, V. E.; Tozer, G.M.; Pettit, G.R.; Chaplin, D.J. Combretastatin A-4, an agent that displays potent and selective toxicity toward tumor vasculature. *Cancer Research*, **1997**, *57*, 1827-1834.
- <sup>19</sup> Patterson, D. M.; Rustin, G. J. S. Serradell, N.; Rosa, E.; Bolos, J. Combretastatin A-4 phosphate. *Drugs of the Future*, **2007**, *32*, 1025-1032.
- <sup>20</sup> Hinnen, P.; Eskens, F. Vascular disrupting agents in clinical development *British Journal of Cancer*, **2007**, *96*, 1159-1165.
- <sup>21</sup> Spear, M. A.; LoRusso, P.; Mita, A.; Mita, M. Vascular Disrupting Agents (VDA) in Oncology: Advancing Towards New Therapeutic Paradigms in the Clinic. *Current Drug Targets*, **2011**, *12*, 2009-2015.
- <sup>22</sup> Petrillo, M. Borriello, M. Fuoco, G.; Legge, F.; Iannone, V.; Ferrandina, G. Novel VEGF-independent Strategies Targeting Tumor Vasculature: Clinical Aspects. *Current Pharmaceutical Design*, **2012**, *18*, 2702-2712.
- <sup>23</sup> Pettit, G.R.; Lippert, J. W. Antineoplastic agents 429. Syntheses of the combretastatin A-1 and combretastatin B-1 prodrugs. *Anti-Cancer Drug Design*, **2000**, *15*, 203-216.

## Bibliographie

- <sup>24</sup> Patterson, D. M.; Zweifel, M.; Middleton, M. R.; Price, P. M.; Folkes, L. K.; Stratford, M. R.; Ross, P.; Halford, S.; Peters, J.; Balkissoon, J.; Chaplin, D. J.; Padhani, A. R.; Rustin, G. J. Phase I clinical and pharmacokinetic evaluation of the vascular-disrupting agent OXi4503 in patients with advanced solid tumors. *Clinical Cancer Research*, **2012**, *18*, 1415-1425.
- <sup>25</sup> Lu, Y.; Chen, J.; Xiao, M.; Li, W.; Miller, D. D. An Overview of Tubulin Inhibitors That Interact with the Colchicine Binding Site. *Pharmaceutical Research*, **2012**, *29*, 2943-2971.
- <sup>26</sup> Ohsumi, K.; Nakagawa, R.; Fukuda, Y.; Hatanaka, T.; Morinaga, Y.; Morinaga, Y.; Nihei, Y.; Ohishi, K.; Suga, Y.; Akiyama, Y.; Tsuji, T. Novel combretastatin analogues effective against murine solid tumors: design and structure-activity relationships. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1998**, *41*, 3022-3032.
- <sup>27</sup> Hori, K.; Saito, S.; Kubota, K. A novel combretastatin A-4 derivative, AC7700, strongly stanches tumour blood flow and inhibits growth of tumours developing in various tissues and organs. *British Journal of Cancer*, **2002**, *86*, 1604-1614.
- <sup>28</sup> Soria, J.-C. Angiogenèse tumorale : anti-angiogéniques, vasculotoxiques, ou les deux ? *VEGF Actus*, **2012**, *26*, 15-16.
- <sup>29</sup> Kim, T. J.; Ravoori, M.; Landen, C. N.; Kamat, A. A.; Han, L. Y.; Lu, C.; Lin, Y. G.; Merritt, W. M.; Jennings, N.; Spannuth, W. A.; Langley, R.; Gershenson, D. M.; Coleman, R. L.; Kundra, V.; Sood, A. K. Antitumor and antivascular effects of AVE8062 in ovarian carcinoma. *Cancer Research*, **2007**, *67*, 9337-9345.
- <sup>30</sup> Lippert, J. W. Vascular disrupting agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2007**, *15*, 605-615.
- <sup>31</sup> Hasani, A.; Leighl, N. Classification and toxicities of vascular disrupting agents. *Clinical Lung Cancer*, **2011**, *12*, 18-25.
- <sup>32</sup> Kingston, D. G. Tubulin-interactive natural products as anticancer agents. *Journal of Natural Products*, **2009**, *72*, 507-515.
- <sup>33</sup> Site d'Angiogene Pharmaceuticals : [www.angiogene.co.uk](http://www.angiogene.co.uk), sous les onglets Pipeline et Licensing (Consulté le 17 juillet 2012).

## Bibliographie

- <sup>34</sup> Pettit, G. R.; Toki, B.; Herald, D. L.; Verdier-Pinard, P.; Boyd, M. R.; Hamel, E.; Pettit, R. K. Antineoplastic agents. 379. Synthesis of phenstatin phosphate. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1998**, *41*, 1688-1695.
- <sup>35</sup> Pettit, G. R.; Grealish, M. P.; Herald, D. L.; Boyd, M. R.; Hamel, E.; Pettit, R. K. Antineoplastic agents. 443. Synthesis of the cancer cell growth inhibitor hydroxyphenstatin and its sodium diphosphate prodrug. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2000**, *43*, 2731-2737.
- <sup>36</sup> Le Broc-Ryckewaert, D.; Pommery, N.; Pommery, J.; Ghinet, A.; Farce, A.; Wiart, J.-F.; Gautret, P.; Rigo, B.; Hénichart, J.-P. In vitro metabolism of phenstatin: potential pharmacological consequences. *Drug Metabolism Letters*, **2011**, *5*, 209-215.
- <sup>37</sup> Ghinet, A.; Rigo, B.; Hénichart, J.-P.; Le Broc-Ryckewaert, D.; Pommery, J.; Pommery, N.; Thuru, X.; Quesnel, B.; Gautret, P. Synthesis and biological evaluation of phenstatin metabolites. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2011**, *19*, 6042-6054.
- <sup>38</sup> Barbosa, E. G.; Bega, L. A. S.; Beatriz, A.; Sarkar, T.; Hamel, E.; Do Amaral, M. S.; De Lima, D. P. A diaryl sulfide, sulfoxide, and sulfone bearing structural similarities to combretastatin A-4. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2009**, *44*, 2685-2688.
- <sup>39</sup> Kremmidiotis, G.; Leske, A. F.; Lavranos, T. C.; Beaumont, D.; Gasic, J.; Hall, A.; O'Callaghan, M.; Matthews, C. A.; Flynn, B. BNC105: a novel tubulin polymerization inhibitor that selectively disrupts tumor vasculature and displays single-agent antitumor efficacy. *Molecular Cancer Therapeutics*, **2010**, *9*, 1562-1573.
- <sup>40</sup> Flynn, B. L.; Gill, G. S.; Grobelny, D. W.; Chaplin, J. H.; Paul, D.; Leske, A. F.; Lavranos, T. C.; Chalmers, D. K.; Charman, S. A.; Kostewicz, E.; Shackleford, D. M.; Morizzi, J.; Hamel, E.; Jung, M. K.; Kremmidiotis, G. Discovery of 7-hydroxy-6-methoxy-2-methyl-3-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)benzo[b]furan (BNC105), a tubulin polymerization inhibitor with potent antiproliferative and tumor vascular disrupting properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2011**, *54*, 6014-6027.
- <sup>41</sup> Rischin, D.; Bibby, D. C.; Chong, G.; Kremmidiotis, G.; Leske, A. F.; Matthews, C. A.; Wong, S. S.; Rosen, M. A.; Desai, J. Clinical, pharmacodynamic, and pharmacokinetic evaluation of BNC105P: a phase I trial of a novel vascular disrupting agent and inhibitor of cancer cell proliferation. *Clinical Cancer Research*, **2011**, *17*, 5152-5160.

## Bibliographie

<sup>42</sup> Lavranos, T. C.; Leske, A. F.; Inglis, D. J.; Brown, C. K.; Bibby, D. C.; Kremmidiotis, G. Anti-cancer activity of the tumor-selective, hypoxia-inducing, agent BNC105 in platinum resistant ovarian cancer. *AACR Annual Meeting 2012*, poster disponible en ligne à l'adresse :

<http://www.bionomics.com.au/siteFiles/files/AACR%202012%20Kremmidiotis%202774.pdf>

(Consulté le 09 avril 2012).

<sup>43</sup> Messaoudi S.; Tréguier, B.; Hamze, A.; Provot, O.; Peyrat, J. F.; De Losada, J. R.; Liu, J. M.; Bignon, J.; Wdzieczak-Bakala, J.; Thoret, S.; Dubois, J.; Brion, J. D.; Alami, M. Isocombretastatins a versus combretastatins a: the forgotten isoCA-4 isomer as a highly promising cytotoxic and antitubulin agent. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2009**, *52*, 4538-4542.

<sup>44</sup> Nguyen, T. L.; McGrath, C.; Hermone, A. R.; Burnett, J. C.; Zaharevitz, D. W.; Day, B. W.; Wipf, P.; Hamel, E.; Gussio, R. A common pharmacophore for a diverse set of colchicine site inhibitors using a structure-based approach. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2005**, *48*, 6107-6116.

<sup>45</sup> Soussi, M. A.; Aprile, S.; Messaoudi, S.; Provot, O.; Del Grosso, E.; Bignon, J.; Dubois, J.; Brion, J. D.; Grosa, G.; Alami, M. The metabolic fate of isocombretastatin A-4 in human liver microsomes: identification, synthesis and biological evaluation of metabolites. *ChemMedChem*, **2011**, *6*, 1781-1788.

<sup>46</sup> Lee, J.; Kim, S. J.; Choi, H.; Kim, Y. H.; Lim, I. T.; Yang, H. M.; Lee, C. S.; Kang, H. R.; Ahn, S. K.; Moon, S. K.; Kim, D. H.; Lee, S.; Choi, N. S.; Lee, K. J. Identification of CKD-516: A Potent Tubulin Polymerization Inhibitor with Marked Antitumor Activity against Murine and Human Solid Tumors. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2010**, *53*, 6337-6354.

<sup>47</sup> Kemnitzer, W.; Kasibhatla, S.; Jiang, S.; Zhang, H.; Zhao, J.; Jia, S.; Xu, L.; Crogan-Grundy, C.; Denis, R.; Barriault, N.; Vaillancourt, L.; Charron, S.; Dodd, J.; Attardo, G.; Labrecque, D.; Lamothe, S.; Gourdeau, H.; Tseng, B.; Drewe, J.; Cai, S. X. Discovery of 4-aryl-4H-chromenes as a new series of apoptosis inducers using a cell- and caspase-based high-throughput screening assay. 2. Structure-activity relationships of the 7- and 5-, 6-, 8-positions. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2005**, *15*, 4745-4751.

<sup>48</sup> Site d'EpiCept :

[http://www.epicept.com/Products\\_& Pipeline/Product\\_Pipeline/Cancer/EPC2407](http://www.epicept.com/Products_& Pipeline/Product_Pipeline/Cancer/EPC2407), (Consulté le 17 juillet 2012).

## Bibliographie

- <sup>49</sup> Medicinova Inc.; Walter, L. K.; Takashi, K. *WO2006076376*, **2006**.
- <sup>50</sup> Shi, W.; Siemann, D. W. Preclinical studies of the novel vascular disrupting agent MN-029. *Anticancer Research*, **2005**, *25*, 3899-3904.
- <sup>51</sup> Yoshino, H.; Ueda, N.; Niijima, J.; Sugumi, H.; Kotake, Y.; Koyanagi, N.; Yoshimatsu, K.; Asada, M.; Watanabe, T.; Nagasu, T. Novel sulfonamides as potential, systemically active antitumor agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1992**, *35*, 2496-2497.
- <sup>52</sup> Dorleans, A.; Giganta, B.; Ravellib, R. B. G. *et al.* Variations in the colchicine-binding domain provide insight into the structural switch of tubulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2009**, *106*, 13775-13779.
- <sup>53</sup> Yoshimatsu, K.; Yamaguchi, A.; Yoshino, H.; Koyanagi, N.; Kitoh, K. Mechanism of Action of E7010, an Orally Active Sulfonamide Antitumor Agent: Inhibition of Mitosis by Binding to the Colchicine Site of Tubulin. *Cancer Research*, **1997**, *57*, 3208-3213.
- <sup>54</sup> Segreti, J. A.; Polakowski, J. S.; Koch, K. A.; Marsh, K. C.; Bauch, J. L.; Rosenberg, S. H.; Sham, H. L.; Cox, B. F.; Reinhart, G. A. Tumor selective antivascular effects of the novel antimitotic compound ABT-751: an in vivo rat regional hemodynamic study. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **2004**, *54*, 273-281.
- <sup>55</sup> Sirisoma, N.; Pervin, A.; Zhang, H.; Jiang, S.; Willardsen, J. A.; Anderson, M. B.; Mather, G.; Pleiman, C. M.; Kasibhatla, S.; Tseng, B.; Drewe, J.; Cai, S. X. Discovery of *N*-(4-methoxyphenyl)-*N*,2-dimethylquinazolin-4-amine, a potent apoptosis inducer and efficacious anticancer agent with high blood brain barrier penetration. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2009**, *52*, 2341-2351.
- <sup>56</sup> Kasibhatla, S.; Baichwal, V.; Cai, S. X.; Roth, B.; Skvortsova, I.; Skvortsov, S.; Lukas, P.; English, N. M.; Sirisoma, N.; Drewe, J.; Pervin, A.; Tseng, B.; Carlson, R. O.; Pleiman, C. M. MPC-6827: a small-molecule inhibitor of microtubule formation that is not a substrate for multidrug resistance pumps. *Cancer Res.*, **2007**, *67*, 5865-5871.
- <sup>57</sup> Pleiman, C. M.; Baichwal, V.; Bhoite, L.; Valppu, L.; De Mie, L.; Taylor, J.; Carlson, R. O. Vascular Disruption Effects of MPC-6827. *AACR Annual Meeting 2007*, poster disponible en ligne à l'adresse :  
<http://www.myriad.com/downloads/AACR-2007-MPC-6827.pdf> (Consulté le 09 avril 2012).

## Bibliographie

- <sup>58</sup> Tsimberidou, A.-M.; Akerley, W.; Schabel, M. C.; Hong, D. S.; Uehara, C.; Chhabra, A.; Warren, T.; Mather, G. G.; Evans, B. A.; Woodland, D. P.; Swabb, E. A.; Kurzrock, R. Phase I clinical trial of MPC-6827 (Azixa), a microtubule destabilizing agent, in patients with advanced cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, **2010**, *9*, 3410-3419.
- <sup>59</sup> Uppuluri, S.; Knipling, L.; Sacknett, D. L.; Wolff, J. Localization of the colchicine-binding site of tubulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **1993**, *90*, 11598-11602.
- <sup>60</sup> Bai, R.; Covell, D. G.; Pei, X.-F.; Ewell, J. B.; Nguyen, N. Y.; Brossi, A.; Hamel, E. Mapping the binding site of colchicinoids on  $\beta$ -tubulin. *Journal of Biological Chemistry*, **2000**, *275*, 40443-40452.
- <sup>61</sup> Ravelli, R. B.; Gigant, B.; Curmi, P. A.; Jourdain, I.; Lachkar, S.; Sobel, A.; Knossow, M. Insight into tubulin regulation from a complex with colchicine and a stathmin-like domain. *Nature*, **2004**, *428*, 198-202.
- <sup>62</sup> Rasolofonjatovo, E.; Provot, O.; Hamze, A.; Rodrigo, J.; Bignon, J.; Wdzieczak-Bakala, J.; Desravines, D.; Dubois, J.; Brion, J. D.; Alami, M. Conformationally restricted naphthalene derivatives type isocombretastatin A-4 and isoerianin analogues: synthesis, cytotoxicity and antitubulin activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, *52*, 22-32.
- <sup>63</sup> Cushman, M.; Nagarathnam, D.; Gopal, D.; Chakraborti, A. K.; Lin, C. M.; Hamel, E. Synthesis and evaluation of stilbene and dihydrostilbene derivatives as potential anticancer agents that inhibit tubulin polymerization. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1991**, *34*, 2579-2588.
- <sup>64</sup> Cushman, M.; Nagarathnam, D.; Gopal, D.; He, H. M.; Lin, C. M.; Hamel, E. Synthesis and evaluation of analogues of (Z)-1-(4-methoxyphenyl)-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethene as potential cytotoxic and antimetabolic agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, *35*, 2293-2306.
- <sup>65</sup> Gaukroger, K.; Hadfield, J. A.; Lawrence, N. J.; Nolan, S.; McGown, A. T. Structural requirements for the interaction of combretastatins with tubulin: how important is the trimethoxy unit? *Organic and Biomolecular Chemistry*, **2003**, *1*, 3033-3037.
- <sup>66</sup> Tron, G. C.; Pirali, T.; Sorba, G.; Pagliai, F.; Busacca, S.; Genazzani, A. A. Medicinal chemistry of combretastatin A4: present and future directions. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2006**, *49*, 3033-3044.

## Bibliographie

- <sup>67</sup> Maya, A. B. S.; Pérez-Melero, C.; Mateo, C.; Alonso, D.; Fernández, J. L.; Gajate, C.; Mollinedo, F.; Peláez, R.; Caballero, E.; Medarde, M. Further Naphthylcombretastatins. An Investigation on the Role of the Naphthalene Moiety. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2005**, *48*, 556-568.
- <sup>68</sup> Barreiro, E. J.; Kümmerle, A. E.; Fraga, C. A. M. The methylation effect in medicinal chemistry. *Chemical Reviews*, **2011**, *111*, 5215-5246.
- <sup>69</sup> Pettit, G. R.; Minardi, M. D.; Rosenberg, H. J. Hamel E, Bibby, M; C.; Martin, S. W.; Jung, M. K.; Pettit, R. K.; Cuthbertson, T. J.; Chapuis, J. C. Antineoplastic agents. 509: synthesis of fluorcombstatin phosphate and related 3-halostilbenes (1). *Journal of Natural Products*, **2005**, *68*, 1450-1458.
- <sup>70</sup> Beale, T. M.; Myers, R. M.; Shearman, J. W.; Charnock-Jones, D. S.; Breton, J. D.; Gergely, F. V.; Ley S. V. Antivascular and anticancer activity of dihalogenated A-ring analogues of combretastatin A-4. *Medicinal Chemistry Communications*, **2010**, *1*, 202-208.
- <sup>71</sup> Pettit, G. R.; Rosenberg, H. J.; Dixon, R.; Knight, J. C.; Hamel, E.; Chapuis, J.-C.; Pettit, R. K.; Hogan, F.; Sumner, B.; Ain, K. B.; Trickey-Platt, B. Antineoplastic Agents. 548. Synthesis of Iodo- and Diiodocombstatin Phosphate Prodrugs. *Journal of Natural Products*, **2012**, *75*, 395-393.
- <sup>72</sup> Shan, Y.; Zhang, J.; Liu, Z. Wang, M.; Dong, Y. Developments of Combretastatin A-4 Derivatives as Anticancer Agents. *Current Medicinal Chemistry*, **2011**, *18*, 523-538.
- <sup>73</sup> Marrelli, M.; Conforti, F.; Statti, G. A.; Cachet, X.; Michel, S.; Tillequin, F.; Menichini, F. Biological Potential and Structure-Activity Relationships of Most Recently Developed Vascular Disrupting Agents: An Overview of New Derivatives of Natural Combretastatin A-4 *Current Medicinal Chemistry*, **2011**, *18*, 3035-3081.
- <sup>74</sup> St. Jean, D. J.; Fotsch, C. Mitigating Heterocycle Metabolism in Drug Discovery. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, *55*, 6002-6020.
- <sup>75</sup> Oudir, S. *Thèse de doctorat* « Conception et synthèse de (poly)azacombrétastatines à potentialité antivasculaire et/ou cytotoxique », Université de Lille 2, **2009**.
- <sup>76</sup> Ghinet, A. *Thèse de doctorat* « Conception, synthèse et évaluation pharmacologique d'inhibiteurs mixtes de la farnésyltransférase et de la polymérisation de la tubuline », Université de Lille 2, **2010**.



## Bibliographie

- <sup>77</sup> Pinney, K. G.; Mocharla, V. P.; Chen, Z. *et al.* *US2004/0043969*, **2004**.
- <sup>78</sup> Sriram, M.; Hall, J. J.; Grohmann, N. C.; Strecker, T. E.; Wootton, T.; Franken, A.; Trawick, M. L.; Pinney, K. G. Design, synthesis and biological evaluation of dihydronaphthalene and benzosuberene analogs of the combretastatins as inhibitors of tubulin polymerization in cancer chemotherapy. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2008**, 16, 8161-8171.
- <sup>79</sup> Tanpure, R. P.; George, C. S.; Sriram, M.; Strecker, T. E.; Tidmore, J. K.; Hamel, E.; Charlton-Sevcik, A. K.; Chaplin, D. J.; Trawick, M. L., Pinney, G. P. An amino-benzosuberene analogue that inhibits tubulin assembly and demonstrates remarkable cytotoxicity. *Medicinal Chemistry Communications*, 3, **2012**, 720-724.
- <sup>80</sup> Mello, J. V.; Finney, N. S. Convenient Synthesis and Transformation of 2,6-Dichloro-4-iodopyridine. *Organic Letters*, **2001**, 3, 4263-4265.
- <sup>81</sup> Henegar, K. E.; Ashford, S. W.; Baughman, T. A.; Sih, J. C.; Gu, R.-L. Practical Asymmetric Synthesis of (*S*)-4-Ethyl-7,8-dihydro-4-hydroxy-1*H*-pyrano[3,4-*f*]indolizine-3,6,10(4*H*)-trione, a Key Intermediate for the Synthesis of Irinotecan and Other Camptothecin Analogs. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6588-6597.
- <sup>82</sup> Elhaik, J.; Pask, C. M.; Kilner, C. A.; Halcrow, M. A. Synthesis of 2,6-di(pyrazol-1-yl)-4-bromomethylpyridine, and its conversion to other 2,6-di(pyrazol-1-yl)pyridines substituted at the pyridine ring. *Tetrahedron*, **2007**, 63, 291-298.
- <sup>83</sup> Isler, O.; Gutmann, H.; Straub, O.; Fust, B.; Bohni, E.; Studer, A. Chemotherapie der experimentellen Tuberkulose II. Kernsubstituierte Isonicotinsäurehydrazide *Helvetica Chimica Acta*, **1955**, 38, 1033-1046.
- <sup>84</sup> Wild, N.; Groth, U. Asymmetric Synthesis of (*S*)-(-)-Acromelobic Acid. *European Journal of Organic Chemistry*, **2003**, 22, 4445-4449.
- <sup>85</sup> Boisse, T. *Thèse de doctorat* « Conception, synthèse de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I dérivés de la Luotonine », Université de Lille 2, **2007**.
- <sup>86</sup> Hamze, A.; Giraud, A.; Messaoudi, S.; Provot, O.; Peyrat, J.-F.; Bignon, J.; Liu, J.-M.; Wdzieczak-Bakala, J.; Thoret, S.; Dubois, J.; Brion, J.-D., Alami, M. Synthesis, Biological Evaluation of 1,1-Diarylethylenes as a Novel Class of Antimitotic Agents. *ChemMedChem*, **2009**, 4, 1912-1924.

## Bibliographie

- <sup>87</sup> Pettit, R. K.; Pettit, G. R.; Hamel, E.; Hogan, F.; Moser, B. R.; Wolf, S.; Pon, S.; Chapuis, J.-C.; Schmidt, J. M. *E*-Combretastatin and *E*-resveratrol structural modifications: Antimicrobial and cancer cell growth inhibitory  $\beta$ -*E*-nitrostyrenes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2009**, *17*, 6606-6612.
- <sup>88</sup> Alloatti, D. ; Giannini, G.; Cabri, W.; Lustrati, I.; Marzi, M.; Ciacci, A.; Gallo, G.; Tinti, M. O.; Marcellini, M.; Riccioni, T.; Guglielmi, M. B.; Carminati, P.; Pisano, C. Synthesis and biological activity of fluorinated combretastatin analogues. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2008**, *51*, 2708-2721.
- <sup>89</sup> Bellina, F.; Cauteruccio, S.; Monti, S. Rossi, R. Novel imidazole-based combretastatin A-4 analogues: Evaluation of their in vitro antitumor activity and molecular modeling study of their binding to the colchicine site of tubulin. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2006**, *16*, 5757-5762.
- <sup>90</sup> Chang, J.-Y.; Yang, M.-F.; Chang, C.-Y.; Chen, C.-M.; Kuo, C.-C.; Liou, J.-P. 2-Amino and 2'-Aminocombretastatin Derivatives as Potent Antimitotic Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2006**, *49*, 6412-6415.
- <sup>91</sup> Sharma, V. M.; Seshu, A.; Krishna V. C.; Prasanna, P.; Chandra Sekhar, V.; Venkateswarlu, A.; Rajagopal, S.; Ajaykumar, R.; Deevi, D. S.; Rao Mamidi, N. V. S.; Rajagopalan, R. Novel 6,7-diphenyl-2,3,8,8a-tetrahydro-1H-indolizin-5-one analogues as cytotoxic agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2003**, *13*, 1679-1682.
- <sup>92</sup> Hill, R. A.; Macaulay, G. S.; MacLachlan, W. S. Synthesis of 2,3,5-trihydroxyphenylprop-1-ene and its 4-chloro, 6-chloro-, and 4,6-dichloro-derivatives. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*, **1987**, *1*, 2209-2215.
- <sup>93</sup> Pettit, G. R.; Singh, S. B. Isolation, structure, and synthesis of combretastatin A-2, A-3, and B-2. *Canadian Journal of Chemistry*, **1987**, *65*, 2390-2396.
- <sup>94</sup> Baum, J. S.; Shook, D. A.; Daries, H. M. L.; Smith, H. D. Diazotransfer Reactions with *p*-Acetamidobenzenesulfonyl Azide; *Synthetic Communications*, **1987**, *17*, 1709-1716.
- <sup>95</sup> Shevchenko, V. V.; Zhegalova, N. G.; Borzenko, A. O.; Nikolaev, V. A. On the Most Powerful Chemical Traps for Bis(methoxycarbonyl)carbene (=2-Methoxy-1-(methoxycarbonyl)-2-oxoethylidene). *Helvetica Chimica Acta*, **2008**, *91*, 501-509.

## Bibliographie

- <sup>96</sup> Wang, C.; Li, J.; Ye, X. New method for the preparation of alkoxy malonic esters. *Chemical Research in Chinese Universities*, **1988**, *9*, 1299-1301.
- <sup>97</sup> Vorbrüggen, H. *Silicon-mediated Transformations of Functional Groups*, John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2006, p. 50.
- <sup>98</sup> Tseng, C.-C.; Wu, Y.-L.; Chuang, C.-P. Cerium salts in the oxidative free radical reactions between 2-amino-1,4-naphthoquinones and  $\beta$ -dicarbonyl compounds. *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 7625-7633.
- <sup>99</sup> Baddeley, G. 59. The isomerisation of some aromatic ketones with aluminium chloride. *Journal of the Chemical Society*, **1944**, 232-236.
- <sup>100</sup> Gaspar, P. P.; Hsu, J.-P.; Chari, S. The phenylcarbene rearrangement revisited. *Tetrahedron*, **1985**, *41*, 1479-1507.
- <sup>101</sup> Baciocchi, E.; Dalla Cort, A.; Ebersson, L.; Mandolini, L.; Rol, C. Substituent effects on intramolecular selectivity and free energy relationships in anodic and metal ion oxidations of 5-X-1,2,3-trimethylbenzenes. *Journal of Organic Chemistry*, **1986**, *51*, 4544-4548.
- <sup>102</sup> Zanka, A.; Ohmori, H.; Okamoto, T. Highly efficient conversion of benzoates to alcohols with sodium borohydride in DME-MeOH. *Synlett*, **1999**, *10*, 1636-1638.
- <sup>103</sup> Wigal, C. T.; McKinley, J. D.; Coyle, J.; Porter, D. J.; Lehman, D. E. Acid-Catalyzed Dehydration of Substituted Dienediols. *Journal of Organic Chemistry*, **1995**, *60*, 8421-8423.
- <sup>104</sup> Badjic, J. D.; Kostic, N. M. Unexpected Interactions between Sol-Gel Silica Glass and Guest Molecules. Extraction of Aromatic Hydrocarbons into Polar Silica from Hydrophobic Solvents. *Journal of Physical Chemistry B*, **2000**, *104*, 11081-11087.
- <sup>105</sup> Reimann, E. Natürliche Stilbene, II. Synthese von Polyhydroxystilbenen. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, **1971**, *750*, 109-127.
- <sup>106</sup> Courtin, A.; von Tobel, H.-R. Zur Synthese sulfonierter Derivate von 2,3-Dimethylanilin und 3,4-Dimethylanilin. *Helvetica Chimica Acta*, **1980**, *63*, 385-394.
- <sup>107</sup> Okada, S.; Kayakiri, N.; Sawaday, Y.; Tanaka, H.; Hashimoto, M. *WO93/03012*, **1993**.

## Bibliographie

- <sup>108</sup> Capdevielle, P.; Maumy, M. Esters are effective co-catalysts in copper-catalyzed methanolysis of aryl bromides. *Tetrahedron Letters*, **1993**, *34*, 1007-1010
- <sup>109</sup> Edwards, J. D.; McGuire S. E.; Hignite, C. Friedel-Crafts Acylation. Positional Selectivity and Reactivity of Acylating Agents. *Journal of Organic Chemistry*, **1964**, *29*, 3028-3032.
- <sup>110</sup> Borchardt, R. T.; Bhatia, P. Catechol O-methyltransferase. 12. Affinity labeling the active site with the oxidation products of 5,6-dihydroxyindole. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1982**, *25*, 263-271.
- <sup>111</sup> Erker, G.; Hock, R.; Wilker, S.; Hillenbrand, N.; Laurent, C.; Puke, C.; Würthwein, E.-U.; Aust, N. C.; Fröhlich, R. New Aspects of the Thio-Wittig-Reaction. *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements*, **1999**, *153*, 79-97.
- <sup>112</sup> Curphey, T. J. Thionation with the Reagent Combination of Phosphorus Pentasulfide and Hexamethyldisiloxane. *Journal of Organic Chemistry*, **2002**, *67*, 6461-6473.
- <sup>113</sup> Pathak U.; Pandey Kumar L.; Tank R. Expeditious Microwave-Assisted Thionation with the System PSCl<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O/Et<sub>3</sub>N under Solvent-Free Condition. *Journal of Organic Chemistry*, **2008**, *73*, 2890-2893.
- <sup>114</sup> Futamura, S. Chemical Behavior of Aromatic Radical Cations under Superoxide-Free Electron Transfer Photooxygenation Conditions. *Bulletin of Chemical Society of Japan*, **1992**, *65*, 1779-1783; *Chemical Abstracts*, **1992**, *117*, 211805.
- <sup>115</sup> Schönberg, A.; Mustafa, A. Reactions of non-enolizable ketones in sunlight. *Chemical Reviews*, **1947**, *40*, 181-200.
- <sup>116</sup> Messaoudi, S.; Hamze, A.; Provot, O. Tréguier, B.; Rodrigo De Losada, J.; Bignon, J.; Liu, J. M.; Wdzieczak-Bakala, J.; Thoret, S.; Dubois, J.; Brion, J. D.; Alami, M. Discovery of isoerianin analogues as promising anticancer agents. *ChemMedChem*, **2011**, *6*, 488-497.
- <sup>117</sup> Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Boyd, M. R.; Hamel, E.; Pettit, R. K.; Schmidt, J. M.; Hogan, F. Antineoplastic agents. 291. Isolation and synthesis of combretastatins A-4, A-5, and A-6. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1995**, *38*, 1666-1672.
- <sup>118</sup> Romagnoli, R.; Baraldi, P. G.; Salvador M. K.; Preti, D.; Aghazadeh Tabrizi, M.; Brancale, A.; Fu, X. H.; Li, J.; Zhang, S. Z.; Hamel, E.; Bortolozzi, R.; Basso, G.; Viola, G. Synthesis and

## Bibliographie

evaluation of 1,5-disubstituted tetrazoles as rigid analogues of combretastatin A-4 with potent antiproliferative and antitumor activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, *55*, 475-488.

<sup>119</sup> Waterlot, C.; Hasiak, B.; Couturier, D.; Rigo, B. On the synthesis of dimethoxybenzyl cinnamates, monomers for electron transfer polymers. *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 4889-4901.

<sup>120</sup> Hajipour, A. R.; Zarei, A.; Khazdooz, L.; Ruoho, A. E. Simple and Efficient Procedure for the Friedel-Crafts Acylation of Aromatic Compounds with Carboxylic Acids in the Presence of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Under Heterogeneous Conditions *Synthetic Communications*, **2009**, *39*, 2702-2722.

<sup>121</sup> Zarei, A.; Hajipour, A. R.; Khazdooz, L. Friedel-Crafts acylation of aromatic compounds with carboxylic acids in the presence of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/SiO<sub>2</sub> under heterogeneous conditions *Tetrahedron Letters*, **2008**, *49*, 6715-6719.

<sup>122</sup> Hemakumar, K. H.; Sathisha, A. D.; Basavaraju, Y. B. Synthesis and Characterization of New Diketone Analogues of Podophyllotoxin. *E-Journal of Chemistry*, **2008**, *5*, 114-119.

<sup>123</sup> Moreno, I.; Tellitu, I.; Dominguez, E; SanMartin R. A Simple Route to New Phenanthro- and Phenanthroid-Fused Thiazoles by a PIFA-Mediated (Hetero)biaryl Coupling Reaction *European Journal of Organic Chemistry*, **2002**, *13*, 2126-2135.

<sup>124</sup> Qiu, G.; Li, Z.; Li, J.; Qiu, Y.; Hu, H. Synthesis of substituted *o*-hydroxybenzophenones. *Hecheng Huaxue* **1997**, *5*, 54-56; *Chemical Abstracts*, **1997**, *127*, 680777.

<sup>125</sup> Neumann, H.; Brennfürer, A.; Beller, M. A General Synthesis of Diarylketones by Means of a Three-Component Cross-Coupling of Aryl and Heteroaryl Bromides, Carbon Monoxide, and Boronic acids. *Chemistry a European Journal*, **2008**, *14*, 3645-3652.

<sup>126</sup> Chittimalla, S. K.; Chang, T.-C.; Liu, T.-C.; Hsieh, H.-P.; Liao, C.-C. Reactions of 2-hydroxybenzophenones with Corey-Chaykovsky reagent. *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 2586-2595.

<sup>127</sup> Iwasaki, G.; Saeki, S.; Hamana, M. A novel nucleophilic substitution of the formyl group in *p*-nitrobenzaldehyde with some carbanions. *Chemistry Letters*, **1986**, *15*, 173-176.

<sup>128</sup> Hodgson, D. M.; Glen, R.; Grant, G. H.; Redgrave, A. J. Catalytic Enantioselective [3 + 2]-Cycloadditions of Diazoketone-Derived Aryl-Substituted Carbonyl Ylides. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 581-586.

## Bibliographie

- <sup>129</sup> Chen, Z.; O'Donnell, C. J.; Maderna, A. Synthesis of 3-methoxy-9-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-6,7-dihydro-5H-benzo[7]annulen-4-ol, a potent antineoplastic benzosuberene derivative for anti-cancer chemotherapy. *Tetrahedron Letters*, **2012**, *53*, 64-66.
- <sup>130</sup> Sugasawa, T.; Adachi, M.; Sasakura, K.; Kitagawa, A. Aminohaloborane in organic synthesis. 2. Simple synthesis of indoles and 1-acyl-3-indolinones using specific ortho .alpha.-chloroacetylation of anilines. *Journal of Organic Chemistry*, **1979**, *44*, 578-586.
- <sup>131</sup> Jin, G. H.; Ha, S. K.; Park, H. M. Kang, B.; Kim, S. Y.; Kim, H.-D.; Ryu, J.-H.; Jeon, R. Synthesis of azaisoflavones and their inhibitory activities of NO production in activated microglia. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2008**, *18*, 4092-4094.
- <sup>132</sup> Raboisson, P.; Lin, T.-I; de Kock, H.; Vendeville, S. Van de Vreken, W.; McGowan, D.; Tahri, A.; Hu, L.; Lenz, O.; Delouvroy, F.; Surleraux, D.; Wigerinck, P.; Nilsson, M.; Rosenquist, Å.; Samuelsson, B.; Simmen, K. Discovery of novel potent and selective dipeptide hepatitis C virus NS3/4A serine protease inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2008**, *18*, 5095-5100.
- <sup>133</sup> Liou, J.-P.; Chang, J.-Y.; Chang, C.-W. Chang, C.-Y.; Mahindroo, N.; Kuo, F.-M.; Hsieh, H.-P. Synthesis and Structure-Activity Relationships of 3-Aminobenzophenones as Antimitotic Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2004**, *47*, 2897-2905.
- <sup>134</sup> Bressy, C.; Bruyère, D.; Bouyssi, D.; Balme, G. Sequential Michael addition/biscyclization reactions leading to the formation of highly substituted polycyclic substrates: some preliminary studies. *Archive for Organic Chemistry*, **2002**, *V*, 127-138.
- <sup>135</sup> Sartori, G.; Casnati, G.; Bigi, F. Ortho-coordinated acylation of phenol systems. *Journal of Organic Chemistry*, **1990**, *55*, 4371-4377.
- <sup>136</sup> Wu, D.-Y.; Herbst, R. M. Substituted Phenyltetrazoles. Alkoxy-nitrophenyl-Tetrazoles and Alkoxyaminophenyltetrazoles. *Journal of Organic Chemistry*, **1952**, *17*; 1216-1227.
- <sup>137</sup> Shelanski, M. L.; Gaskin, F.; Cantor, C. R. Microtubule Assembly in the Absence of Added Nucleotides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **1973**, *70*, 765-768.
- <sup>138</sup> Barron, D. M.; Chatterjee, S. K.; Ravindra, R., Roof, R.; Baloglu, E.; Kingston, D. G.; Bane, S. A fluorescence-based high-throughput assay for antimicrotubule drugs. *Analytical Biochemistry*, **2003**, *315*, 49-56.

## Bibliographie

- <sup>139</sup> Ravelli, R. B.; Gigant, B.; Curmi, P. A.; Jourdain, I.; Lachkar, S.; Sobel, A.; Knossow, M. Insight into tubulin regulation from a complex with colchicine and a stathmin-like domain. *Nature*, **2004**, *428*, 198-202.
- <sup>140</sup> Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov I. N.; Bourne P. E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, **2000**, *28*, 235-242.
- <sup>141</sup> Jones, G.; Willett, P.; Glen, R. C.; Leach A. R.; Taylor R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *Journal of Molecular Biology* **1997**, *267*, 717-748.
- <sup>142</sup> Wang, R.; Lai, L.; Wang, S. Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction. *Journal of Computer Aided Molecular Design*, **2002**, *1*, 11-26.

CONFIDENTIAL

CONFIDENTIEL



CONFIDENTIEL

## Nouveaux dérivés de la combretastatine A-4 à visée antivasculaire

Depuis peu, la stratégie antivasculaire de type VDA, consistant en la détérioration spécifique des vaisseaux alimentant les tumeurs, est développée comme nouvel outil de lutte contre le cancer. Cette activité a été observée avec plusieurs composés, notamment des dérivés de la combretastatine A-4 dont certains sont en développement clinique. Le problème principal rencontré avec ces produits est généralement leur cardiotoxicité et/ou leur neurotoxicité.

En vue de diminuer les nombreux effets secondaires de cette nouvelle famille thérapeutique, de nombreux analogues structuraux de la CA-4 ont été synthétisés gardant toujours le cycle 3,4,5-triméthoxyphényle inchangé.

L'objectif de ce travail a consisté à concevoir, synthétiser et évaluer biologiquement des analogues de la combretastatine A-4 dans lesquels le cycle 3,4,5-triméthoxyphényle était substitué par des hétérocycles ou les groupements méthoxy remplacés par des groupes plus stables métaboliquement. Deux nouvelles classes de dérivés de la combretastatine ont ainsi été développées avec de remarquables activités antitubuline et cytotoxiques *in vitro*. L'un des composés est en cours d'essais précliniques sur des souris xénotransplantées au *National Cancer Institute*.

## New derivatives of combretastatin A-4 exhibiting antivasular activities

Recently, the antivasular strategy, using VDAs, and consisting in the specific disruption of the tumoral vascular network, is developed as a new weapon against cancer. This activity was observed with numerous compounds of the combretastatin A-4 family, which are in clinical development. But the main problem of these products is their cardiotoxicity and/or neurotoxicity.

In order to decrease the side effects of this new therapeutic family, various structural analogs of CA-4 were synthesized, but always with the 3,4,5-trimethoxyphenyl ring unchanged.

The aim of this work was to design, synthesize and evaluate analogs of the combretastatin A-4 in which the 3,4,5-trimethoxyphenyl ring was replaced a heterocycle or the methoxy groups replaced by more metabolically stable groups. Two new classes of combretastatin derivatives were thus developed with remarkably *in vitro* cytotoxic and antitubulin activities. Moreover, one of our compounds is currently in preclinical testing on xenograft mice at *National Cancer Institute*.