



HAL
open science

Les ORPphilines : famille de molécules naturelles aux propriétés anti-cancéreuses prometteuses

Alice Wang

► **To cite this version:**

Alice Wang. Les ORPphilines : famille de molécules naturelles aux propriétés anti-cancéreuses prometteuses. Sciences pharmaceutiques. 2021. dumas-03618176

HAL Id: dumas-03618176

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03618176v1>

Submitted on 24 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THESE

Pour l'obtention du Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

**LES ORPphilines, FAMILLE DE MOLECULES NATURELLES AUX PROPRIETES
ANTI-CANCEREUSES PROMETTEUSES**

Présentée et soutenue par
Alice WANG

**Soutenu publiquement le 14 décembre 2021
devant le jury composé de**

| | | |
|-------------------------------|--|-------------------|
| Mme Valérie COLLOT | Professeur des Universités, Université de Caen | Président du jury |
| Mme Anne-Sophie VOISIN-CHIRET | Professeur des Universités, Université de Caen | Examineur |
| Mme Fanny ROUSSE | Directrice de recherche, ICSN – CNRS UPR 2301 | Examineur |

Thèse dirigée par Valérie COLLOT

LISTE DES ENSEIGNANTS-CHERCHEURS

Directeur de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques
Professeur Michel BOULOUARD

Assesseurs

Professeur Pascale SCHUMANN-BARD
Professeur Anne-Sophie VOISIN-CHIRET

Directrice administrative
Madame Sarah CHEMTOB

Directrice administrative adjointe
Madame Emmanuelle BOURDON

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

| | |
|--|---------------------------------------|
| BOULOUARD Michel | Physiologie, Pharmacologie |
| BUREAU Ronan | Biophysique, Chémoinformatique |
| COLLOT Valérie | Pharmacognosie |
| DALLEMAGNE Patrick | Chimie médicinale |
| DAUPHIN François | Physiologie, Pharmacologie |
| DELEPEE Raphaël | Chimie analytique |
| FABIS Frédéric | Chimie organique |
| FRERET Thomas | Physiologie, Pharmacologie |
| GARON David | Botanique, Mycologie, Biotechnologies |
| GIARD Jean-Christophe | Bactériologie, Virologie |
| MALZERT-FREON Aurélie | Pharmacie galénique |
| ROCHAIS Christophe | Chimie organique |
| SCHUMANN-BARD Pascale | Physiologie, Pharmacologie |
| SICHEL François | Toxicologie |
| SOPKOVA Jana | Biophysique, Drug design |
| VOISIN-CHIRET Anne-Sophie | Chimie médicinale |

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

| | |
|---|--|
| ANDRE Véronique – HDR | Biochimie, Toxicologie |
| BOUET Valentine – HDR | Physiologie, Pharmacologie |
| CAILLY Thomas – HDR | Chimie bio-inorganique, Chimie organique |
| DENOYELLE Christophe – HDR | Biologie cellulaire et moléculaire, Biochimie, Cancérologie |
| DHALLUIN Anne | Bactériologie, Virologie, Immunologie |
| ELDIN de PECOULAS Philippe – HDR | Parasitologie, Mycologie médicale |
| GROO Anne-Claire | Pharmacie galénique |
| KIEFFER Charline | Chimie médicinale |

| | |
|---|---|
| KRIEGER Sophie (Praticien hospitalier) – HDR | Biologie clinique |
| LAPORTE-WOJCIK Catherine | Chimie bio-inorganique |
| LEBAILLY Pierre – HDR | Santé publique |
| LECHEVREL Mathilde – HDR | Toxicologie |
| LEGER Marianne | Physiologie, Pharmacologie |
| LEPAILLEUR Alban – HDR | Modélisation moléculaire |
| N'DIAYE Monique | Parasitologie, Mycologie médicale, Biochimie clinique |
| PAIZANIS Eleni | Physiologie, Pharmacologie |
| PEREIRA-ROSENFELD Maria de Fatima | Chimie organique et thérapeutique |
| POTTIER Ivannah | Chimie et toxicologie analytiques |
| PREVOST Virginie – HDR | Chimie analytique, Nutrition, Education thérapeutique du patient |
| QUINTIN Jérôme | Pharmacognosie |
| RIOULT Jean-Philippe | Botanique, Mycologie, Biotechnologies |
| SINCE Marc | Chimie analytique |
| VILLEDIEU Marie – HDR..... | Biologie et thérapies innovantes des cancers |

PROFESSEUR AGREGÉ (PRAG)

| | |
|----------------------------|---------|
| PRICOT Sophie | Anglais |
|----------------------------|---------|

PERSONNEL ASSOCIÉ À TEMPS PARTIEL (PAST)

| | |
|-------------------------------------|----------------------|
| SAINT-LORANT Guillaume | Pharmacie clinique |
| SEDILLO Patrick | Pharmacie officinale |
| RICHARD Estelle | Pharmacie officinale |

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

| |
|----------------------------|
| JOURDAN Jean-Pierre |
|----------------------------|

Enseignants titulaires du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier ma directrice de thèse Valérie COLLOT, professeure de pharmacognosie à l'université de Caen, pour m'avoir encadrée et conseillée durant cette thèse. Je la remercie également pour m'avoir accueillie pour un stage volontaire que j'ai effectué à la fin de ma quatrième année de pharmacie, ce qui m'a permis d'acquérir de nouvelles compétences et de participer à la Journée doctorale de chimie durant laquelle j'ai pu assister à une conférence de madame Fanny Roussi.

Je remercie également madame Anne-Sophie VOISIN-CHIRET, professeure de chimie médicinale à l'université de Caen, pour avoir accepté d'être membre du jury mais également pour m'avoir accueillie pour mon stage d'initiation à la recherche que j'ai réalisé à la fin de ma deuxième année de pharmacie. Ce stage m'a permis de découvrir et de visualiser concrètement la recherche en chimie médicinale. Je la remercie aussi pour m'avoir aidée à prendre contact avec madame Fanny Roussi pour que je puisse réaliser mon stage de master 2 au sein de son laboratoire.

Je remercie madame Fanny ROUSSI, directrice de recherche au CNRS, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire lors de mon stage de master 2 et aussi d'avoir accepté d'être membre de mon jury. Ce stage de fin d'étude de master m'a beaucoup appris, que ce soit en synthèse chimique ou en termes de connaissances dans les substances d'origine naturelle.

Enfin, je remercie mes parents pour m'avoir soutenue et accompagnée, aussi bien moralement que financièrement, tout au long de ces études pharmaceutiques.

Sommaire

| | |
|--|----|
| Liste des sigles et abréviations..... | 1 |
| Liste des Figures..... | 5 |
| Liste des Schémas..... | 7 |
| Liste des Tableaux..... | 8 |
| Introduction générale..... | 9 |
| Chapitre 1. Anti-tumoraux d'origine naturelle..... | 11 |
| I. Anticancéreux d'origine naturelle interagissant avec la tubuline..... | 12 |
| 1. Les taxanes..... | 12 |
| 2. Alcaloïdes bis-indoliques de la Pervenche de Madagascar..... | 15 |
| 3. Les dérivés de l'halichondrine B..... | 17 |
| II. Anticancéreux d'origine naturelle interagissant avec les topo-isomérases..... | 18 |
| 1. Inhibiteurs des topo-isomérases de type I, les dérivés de la camptothécine..... | 18 |
| 2. Inhibiteurs des topo-isomérases de type II..... | 19 |
| a) Les dérivés de l'épipodophyllotoxine..... | 19 |
| b) Les hétérosides anthraquinoniques..... | 21 |
| III. Anticancéreux d'origine naturelle interagissant avec l'ADN..... | 23 |
| 1. Antibiotiques cytotoxiques et apparentés..... | 24 |
| 2. Trabectedine..... | 26 |
| IV. Autres anticancéreux d'origine naturelle..... | 28 |
| 1. Analogues nucléosidiques, anti-métabolites..... | 28 |
| 2. La midostaurine, inhibiteur de protéines kinases..... | 29 |
| 3. Les dérivés de la rapamycine, inhibiteur de mTOR..... | 30 |
| 4. Les anticorps monoclonaux conjugués..... | 31 |
| V. Conclusion..... | 35 |
| Chapitre 2. La famille des ORPphilines, famille de molécules cytotoxiques prometteuses.. | 37 |
| I. Isolement et structure des ORPphilines..... | 38 |
| 1. Céphalostatines 1 et ritterazine B..... | 38 |
| 2. Stelletines..... | 39 |
| 3. OSW-1..... | 40 |
| 4. Schweinfurthines..... | 41 |
| 5. Conclusion..... | 41 |
| II. Mécanismes d'action connus et communs des ORPphilines..... | 42 |
| 1. La cible biologique, la famille des protéines OSBP..... | 42 |
| 2. Implication des protéines OSBP dans le cancer..... | 43 |
| III. Activité anticancéreuse et études de RSA des ORPphilines..... | 45 |

| | | |
|---|--|----|
| 1. | Céphalostatine 1 et ritterazine B | 45 |
| 2. | Stelletines | 48 |
| 3. | OSW-1 | 49 |
| 4. | Schweinfurthines..... | 52 |
| IV. | Conclusion | 55 |
| Chapitre 3. Synthèse d'analogues de la famille des schweinfurthines | | 57 |
| I. | Stratégies de synthèse de la coumarine-HHX « nue » à partir du bromoresorcinol.... | 59 |
| 1. | Stratégie n°1 : synthèse du motif HHX puis formation de la coumarine..... | 59 |
| a) | Protection des groupements hydroxyles du bromoresorcinol | 59 |
| b) | Géranylation du bromoresorcinol protégé 4 | 60 |
| c) | Epoxydation du resorcinol alkylé 5 | 62 |
| d) | Cyclisation pour obtenir le motif HHX | 62 |
| e) | Conclusion | 63 |
| 2. | Stratégie n°2 : synthèse du motif de coumarine puis cyclisation | 64 |
| a) | Synthèse du motif coumarine et protection de l'hydroxyle | 64 |
| b) | Géranylation de la coumarine 16..... | 65 |
| c) | Epoxydation régiosélective..... | 68 |
| d) | Cyclisation pour former le motif HHX..... | 68 |
| e) | Conclusion | 69 |
| II. | Activité biologique de la coumarine-HHX « nue » et premier essais de fonctionnalisation | 69 |
| 1. | Activité biologique et propriétés photophysiques..... | 69 |
| 2. | Fonctionnalisation directe du motif coumarine | 70 |
| III. | Matériels et méthodes..... | 72 |
| 1. | Matériels | 72 |
| 2. | Experimental part..... | 73 |
| IV. | Conclusion et perspectives | 84 |
| Conclusion générale..... | | 87 |
| Bibliographie | | 89 |

Liste des sigles et abréviations

| | |
|-----------------------------------|--|
| ADC | Antibody-Drug Conjugate |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| Akt | Protéine kinase B |
| AMM | Autorisation de Mise sur le Marché |
| APTS | acide paratoluènesulfonique supporté |
| ATC | Anatomique, Thérapeutique et Chimique |
| ATP | Adénosine-Triphosphate |
| ATU | Autorisation Temporaire d'Utilisation |
| BCMA | B-cell maturation antigen |
| BF ₃ .OEt ₂ | diéthérate de trifluorure de bore |
| BHE | Barrière Hémato-Encéphalique |
| CuBr.DMS | complexe de sulfure de bromure-diméthyle de cuivre (I) |
| DAB III | 10-désacétylbaccatine |
| DCM | dichlorométhane |
| DM1 | Mertansine |
| DMF | N,N-diméthylformamide |
| ECG | Electrocardiogramme |
| EGFR | Epidermal Growth Factor Receptor |
| EMA | European Medicines Agency |
| eq | équivalent |
| EtOAc | acétate d'éthyle |
| FDA | Food and Drug Administration |
| FFAT | Two-phenylalanines-in-an-acidic tract |

| | |
|--------------------------------|---|
| FTL3 | récepteur Fms-like tyrosine kinase 3 |
| FRET | Fluorescence Resonance Energy Transfert |
| GI ₅₀ | concentration inhibitrice de croissance cellulaire 50 |
| HER2 | Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 |
| HHX | Hexahydroxanthène |
| HIF | hypoxia inducible factor |
| IC ₅₀ | Concentration inhibitrice 50 |
| ICSN | Institut de Chimie des Substances Naturelles |
| K ₂ CO ₃ | carbonate de potassium |
| KIT | récepteur à activité tyrosine kinase |
| LC-MS | chromatographie liquide couplé à une spectrométrie de masse |
| MAPK | protéine kinase mitogène-activée |
| mc-MMAF | mc-Monométhyl Auristatine F |
| mCPBA | acide métachloroperbenzoïque |
| Me ₂ AlCl | chlorure de diméthylaluminium |
| MeOH | méthanol |
| MgSO ₄ | sulfate de magnésium |
| MMAE | Monométhyl Auristatine E |
| MOMCl | Méthyle chlorométhyle éther |
| mTOR | mammalian Target Of Rapamycin |
| NaH | Hydruure de sodium |
| NaHCO ₃ | bicarbonate de sodium |
| n-BuLi | n-Butyllithium |

| | |
|--------------------|---|
| NCI | National Cancer Institute |
| NER | Nucleotide Excision Repair |
| NF1 | neurofibromatose de type 1 liée à l'altération du gène suppresseur de tumeur <i>NF1</i> |
| NH ₄ Cl | chlorure d'ammonium |
| ORD | OSBP-related domain |
| ORPs | OSBP-related proteins |
| OSBP | Oxysterol-binding protein |
| PDGFR | Platelet Derived Growth Factor Receptor |
| Pgp | Glycoprotéine P |
| PH | Pleckstrin Homology |
| PI3K | Phosphoinositide 3-kinase |
| PI4P | Phosphatidylinositol 4-phosphate |
| PIP | Phosphatidylinositol phosphate |
| RE | Réticulum endoplasmique |
| RMN | Résonance Magnétique Nucléaire |
| ROS | Reactive Oxygen Species |
| RSA | Relations Structure-Activité |
| RTU | Recommandation Temporaire d'Utilisation |
| SWs | Schweinfurthines |
| TGN | Trans-Golgi Network |
| THF | tétrahydrofurane |
| TLC | thin-layer chromatography (chromatographie sur couche mince) |
| TsOH | acide paratoluènesulfonique |

| | |
|-------|--|
| UV | Ultra-violet |
| VAP | Vesicle-Associated membrane Protein-Associated Protein |
| VEGFR | Vascular Endothelial Growth Factor Receptor |

Liste des Figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. Structure du paclitaxel | 13 |
| Figure 2. Structure de DAB III et du docétaxel..... | 13 |
| Figure 3. Structure du cabazitaxel | 14 |
| Figure 4. Structure de la vinblastine et de la vincristine | 15 |
| Figure 5. Structure de l'halichondrine B et de l'éribuline | 18 |
| Figure 6. Structure des dérivés de camptothécine..... | 19 |
| Figure 7. Structures des dérivés de la podophyllotoxine..... | 20 |
| Figure 8. Structures des anthracyclines cytotoxiques | 21 |
| Figure 9. Structure de la pirarubicine..... | 22 |
| Figure 10. Structure des analogues de la doxorubicine | 23 |
| Figure 11. Structure du dactinomycine | 24 |
| Figure 12. Structure de la mitomycine c | 25 |
| Figure 13. Structure de la bléomycine A ₂ et B ₂ | 26 |
| Figure 14. Structure de la cyanosafraïne et de la trabectedine | 27 |
| Figure 15. Structure des arabinosyl-nucléosides et de la cytarabine Ara-C | 28 |
| Figure 16. Structures de la staurosporine (à gauche) et de la midostaurine (à droite) | 29 |
| Figure 17. Structure des dérivés de rapamycine..... | 31 |
| Figure 18. Mécanisme d'action des ADC..... | 32 |
| Figure 19. Structure des ADC approuvés par l'EMA..... | 34 |
| Figure 20. Le ver marin <i>C. gilchristi</i> (à gauche) et le tunicier <i>R. tokioka</i> (à droite)..... | 38 |
| Figure 21. Structures de la céphalostatine 1 et de la ritterazine B | 39 |
| Figure 22. <i>Rhabdastrella globostellata</i> (à gauche) et les structures des stellettines | 40 |
| Figure 23. Fleurs et bulbes de <i>O. saundersiae</i> | 40 |
| Figure 24. Structure de l'OSW-1..... | 40 |
| Figure 25. Feuilles et fruits de <i>M. tanarius</i> | 41 |
| Figure 26. Structure des SWs..... | 41 |
| Figure 27. Fonctionnement des OSBP et ORPs..... | 43 |
| Figure 28. La voie PI3K/Akt/mTOR | 44 |
| Figure 29. Les motifs communs des céphalostatines et des rittérazines..... | 46 |
| Figure 30. RSA des céphalostatines..... | 47 |
| Figure 31. RSA des stellettines | 49 |
| Figure 32. RSA de l'OSW-1..... | 50 |
| Figure 33. Interactions entre la SW A et la protéine Osh2 selon Moosavi et al. | 53 |
| Figure 34. RSA des SWs..... | 54 |
| Figure 35. Structure de la SW G 1 et de la coumarine-HHX « nue » 2 | 58 |
| Figure 36. Intégration des signaux des méthyles H18 des isomères E et Z en RMN ¹ H | |

| | |
|---|----|
| permettant de déterminer leur proportion respective après couplage de Suzuki..... | 67 |
| Figure 37. Spectres UV et fluorescence de la coumarine-HHX 27 | 70 |
| Figure 38. Spectres UV et fluorescence de la coumarine-HHX MOM 28 | 70 |

Liste des Schémas

| | |
|---|----|
| Schéma 1. Rétrosynthèse de la coumarine "nue" selon la première stratégie | 59 |
| Schéma 2. Protection du bromoresorcinol | 59 |
| Schéma 3. Géranylation du bromoresorcinol protégé | 60 |
| Schéma 4. Epoxydation du resorcinol alkylé | 62 |
| Schéma 5. Cyclisation en cascade pour former le motif HHX | 62 |
| Schéma 6. Mécanisme de la cyclisation en cascade | 63 |
| Schéma 7. Rétrosynthèse de la coumarine « nue » : stratégie n°2..... | 64 |
| Schéma 8. Mécanisme de la condensation de Pechmann..... | 64 |
| Schéma 9. Synthèse de la coumarine et protection..... | 65 |
| Schéma 10. Essai de géranylation directe de la coumarine 16 avec la chaîne géranyle époxydée | 66 |
| Schéma 11. Synthèse de l'ester boronique de la chaîne géranyle..... | 66 |
| Schéma 12. Couplage de Suzuki | 66 |
| Schéma 13. Déprotection de la coumarine géranylée | 67 |
| Schéma 14. Epoxydation régiosélective | 68 |
| Schéma 15. Cyclisation de la coumarine..... | 69 |
| Schéma 16. Essais de fonctionnalisation des positions C₃ et C₄ par un phényle | 71 |
| Schéma 17. Synthèse de la coumarine-HHX "nue" par la stratégie n°2..... | 84 |
| Schéma 18. Les fonctionnalisations possibles de la coumarine-HHX 27 | 86 |

Liste des Tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1. Les lignées testées et sensibles aux différents ORPphilines..... | 56 |
| Tableau 2. Optimisation des paramètres d'alkylation..... | 60 |

Introduction générale

Depuis longtemps, l'utilisation de produits naturels en médecine est prometteuse pour de nombreuses applications thérapeutiques. Ainsi, la nature constitue un réservoir unique de structures diverses de molécules douées de propriétés biologiques variées. Actuellement, de nombreux médicaments sont issus de la nature et c'est notamment le cas dans le traitement des cancers.

Les cancers représentent en France la première cause de décès chez l'homme et la deuxième chez la femme et se définissent par « la multiplication anarchique de certaines cellules de l'organisme. Ces cellules prolifèrent d'abord localement, puis dans le tissu avoisinant, puis à distance où elles forment des métastases », selon Santé Publique France. D'après les chiffres de 2018, le nombre total de décès par cancer en France s'élève à 157 000 dont 57% chez l'homme(1). Afin de limiter les décès liés aux cancers, il est nécessaire de développer de nouveaux agents anticancéreux pour diversifier l'arsenal thérapeutique des agents cytotoxiques déjà existant sur le marché.

Ainsi, plusieurs familles chimiques de molécules naturelles présentant une activité cytotoxique similaire ont été identifiées. Elles semblent agir sur le cancer *via* un mécanisme d'action original, en ciblant OSBP (Oxysterol Binding Protein)(2). OSBP est une protéine responsable du transport intracellulaire du cholestérol. Elle fait partie d'une superfamille de protéines, les ORPs (OSBP-related proteins), qui ont pour point commun le fait de se lier aux stérols, mais avec des rôles cellulaires très variables. Ces molécules naturelles ciblant les ORPs sont nommées les ORPphilines. Elles regroupent cinq familles chimiques : les céphalostatines, les ritterazines, les stelletines, OSW-1 et les schweinfurthines.

Il est nécessaire d'étudier ces molécules pour comprendre le mécanisme des ORPphilines sur le cancer dans le but de développer de nouveaux agents cytotoxiques possédant des structures diverses et variées, permettant d'améliorer la prise en charge des cancers.

L'objectif de cette thèse est de faire un état de l'art sur les différents agents cytotoxiques d'origine naturelle existant sur le marché européen pour le traitement des cancers mais aussi d'étudier la famille des ORPphilines qui possède des propriétés anticancéreuses prometteuses. Cette thèse est constituée de trois chapitres dont un

premier chapitre sur les agents anticancéreux d'origine naturelle qui sont actuellement utilisés et un second chapitre qui détaille la famille des ORPphilines ainsi que leur implication dans le cancer. Enfin, un dernier chapitre présente les travaux expérimentaux personnels effectués dans le cadre d'un stage de master 2 à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN) sur la synthèse d'analogues d'une famille d'ORPphilines, les schweinfurthines, qui sont étudiées dans le laboratoire depuis plusieurs années, notamment du fait que cette famille possède une activité cytotoxique particulièrement remarquable sur les lignées du glioblastome.

CHAPITRE 1. ANTI-TUMORAUX D'ORIGINE NATURELLE

La nature constitue une source d'inspiration majeure pour le développement des agents anticancéreux. Cette recherche d'anticancéreux d'origine naturelle a débuté dans les années 60, notamment suite à la découverte des vinca-alcaloïdes et à l'isolement des podophyllotoxines cytotoxiques. C'est pourquoi, le National Cancer Institute (NCI) a alors lancé un vaste programme de criblage des extraits de plantes récoltés dans les régions tempérées pour développer de nouveaux agents anticancéreux(3).

Dans ce chapitre, nous allons aborder les différentes familles de produits naturels ou issues de l'hémisynthèse existant sur le marché européen et qui sont actuellement utilisées dans le traitement des cancers ainsi que leurs mécanismes d'action et leurs indications. Ces différentes familles thérapeutiques sont issues de la classification ATC du Vidal.

I. Anticancéreux d'origine naturelle interagissant avec la tubuline

La tubuline est une protéine qui se polymérise en microtubules. Cette polymérisation constitue un état d'équilibre entre la formation et la destruction des microtubules qui sont impliqués dans la formation du fuseau mitotique au cours des divisions cellulaires. Ainsi, en empêchant soit la polymérisation, soit la dépolymérisation, les substances naturelles vont pouvoir perturber la mitose et provoquer la mort cellulaire.

1. Les taxanes

Les taxanes sont des molécules naturelles de motif diterpène qui sont très utilisées dans le traitement des cancers. Elles ont été découvertes dans les années 1960 lors d'un criblage moléculaire d'extraits de plantes réalisé par le NCI afin de rechercher de potentielles propriétés anti-tumorales(4,5). Ainsi, l'extrait d'écorce de l'if du Pacifique *Taxus brevifolia* s'est révélé avoir une activité anti-tumorale sur certaines lignées cancéreuses et notamment sur les lignées ovariennes. Dans cet extrait, le paclitaxel (Taxol®) a été isolé et est responsable de l'activité antitumorale. Sa structure a été établie en 1971 et semble très originale et complexe avec un motif diterpène

tricyclique composé de 20 atomes de carbones (entouré en rouge, Figure 1) et de nombreux centres d'asymétrie.

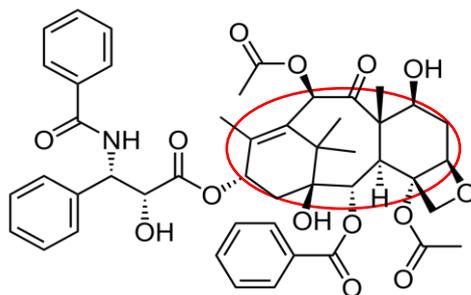


Figure 1. Structure du paclitaxel

Rapidement, le Taxol® a été approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) pour le traitement du cancer de l'ovaire réfractaire en 1992, du cancer de sein réfractaire ou résistant aux anthracyclines en 1994, du sarcome de Kaposi en 1997, et du cancer du poumon non à petites cellules en 1998(5).

Cependant, sa teneur dans l'extrait est faible, de l'ordre de 100mg/kg d'écorce, et le développement des stratégies de synthèse chimique reste compliqué au vu de la structure chimique complexe de cette molécule.

P. Pottier (ICSN, Gif-sur-Yvette) a alors eu l'idée de rechercher un précurseur du paclitaxel dans les feuilles de l'if européen *Taxus baccata* afin de réaliser une hémisynthèse. Il a mis en évidence la présence de 10-désacétyl-baccatine III (DAB III, à gauche, Figure 2) qui est un précurseur pour l'hémisynthèse du paclitaxel en quelques étapes. Chaque intermédiaire de synthèse a été évalué dans les tests de cytotoxicité et l'un des intermédiaires, le docétaxel (à droite, Figure 2) s'est révélé plus actif que le paclitaxel (Taxotere®).

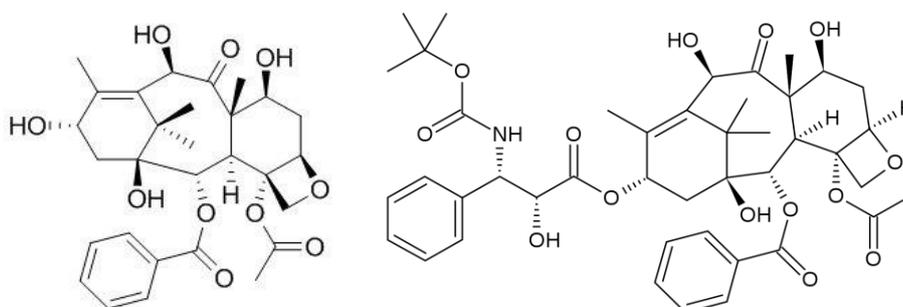


Figure 2. Structure de DAB III et du docétaxel

Le docétaxel a été approuvé par la FDA pour le traitement du cancer du sein avancé en 1996, du cancer du poumon non à petites cellules en 1999, du cancer de la prostate métastatique hormono-réfractaire en 2004, et du cancer du cou en 2006(5–7).

Cependant, des phénomènes de résistance aux taxanes de première génération, *i.e* paclitaxel et docétaxel, ont été observés, notamment lié au fait que ces deux molécules sont substrats de la glycoprotéine P (Pgp) qui est une pompe d'efflux souvent surexprimée à la surface des cellules cancéreuses, empêchant ainsi l'entrée des taxanes dans les cellules cancéreuses(8).

Ainsi, le cabazitaxel a été synthétisé sur la base du docétaxel avec la présence de deux groupements méthoxy (entourés en bleu, Figure 3), ce qui rend la molécule moins affine de la Pgp et plus efficace contre les tumeurs résistantes au docétaxel. Cette molécule de seconde génération est utilisée dans le traitement du cancer de la prostate métastatique hormono-dépendant suite à un échec thérapeutique préalable(5,9).

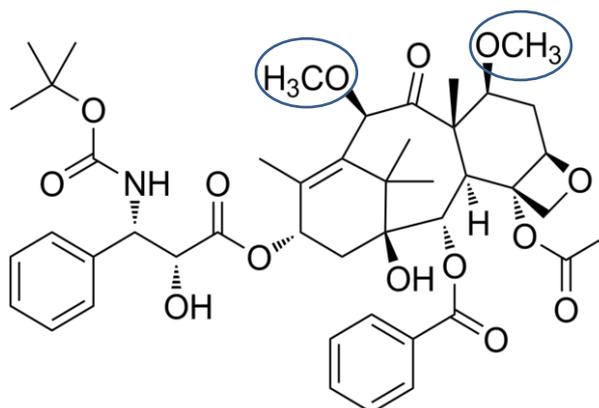


Figure 3. Structure du cabazitaxel

Dans cette idée de lutter contre les tumeurs résistantes aux taxanes, des analogues de synthèse sur la base des études de relation structure activité (RSA) du paclitaxel ont été développés. Ils présentent de fortes inhibitions de la croissance des tumeurs multi-résistantes. Ces analogues sont testés dans les études cliniques et montrent des résultats prometteurs(10,11).

Les taxanes sont des poisons du fuseau mitotique et leur mécanisme d'action passe par une stabilisation des microtubules en empêchant leur dépolymérisation, ce qui affecte la survie cellulaire.

En clinique, les taxanes sont utilisés par voie injectable en monothérapie ou en association avec d'autres agents cytotoxiques comme le cisplatine, le 5-fluoro uracile

ou la doxorubicine. L'effet indésirable le plus fréquent est la myélosuppression avec une neutropénie sévère chez 28% des patients. Une thrombopénie a été observée chez 11% des patients et des neurotoxicités ou neuropathie périphérique liée au site d'injection ont également été reportées(12).

Par la suite, de nouvelles formulations galéniques, telle que l'utilisation des nanoparticules (Abraxane®) ont été développées pour améliorer la solubilité des taxanes et diminuer les effets indésirables, notamment liés à la durée de perfusion(13,14).

2. Alcaloïdes bis-indoliques de la Pervenche de Madagascar

Les vinca-alcaloïdes, la vinblastine et la vincristine, sont les premiers anticancéreux utilisés en clinique pour le traitement des cancers dans les années 1960(15). Ils ont été isolés dans les parties aériennes de la Pervenche de Madagascar, *Catharanthus roseus*, plante utilisée traditionnellement comme antidiabétique(3). Initialement, l'extrait de plante a été testé pour son potentiel effet hypoglycémiant sur les rats ; mais il a été montré qu'il y avait une réduction du nombre de globules blancs, ce qui a entraîné une myélosuppression chez les rats traités. Par la suite, cet extrait a été testé sur les lignées cellulaires leucémiques chez la souris et s'est révélé actif. L'extrait de plante contient un mélange complexe d'alcaloïdes avec une teneur faible, de l'ordre de 1%. La vinblastine et la vincristine sont deux alcaloïdes majoritairement retrouvés dans le mélange qui possèdent un motif bis-indolique (entouré en rouge, Figure 4, (16)).

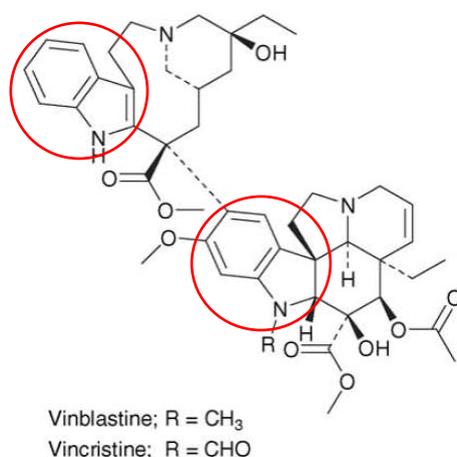


Figure 4. Structure de la vinblastine et de la vincristine

Les vinca-alcaloïdes agissent par inhibition de la polymérisation de la tubuline en microtubules, ce qui bloque la division cellulaire en métaphase. Cela conduit à un arrêt du processus de mitose et à l'apoptose dans les cellules. De plus, les mécanismes d'action semblent être différents selon la concentration. A faible concentration ($<1 \mu\text{mol}$), les vinca-alcaloïdes se lient à la tubuline et empêchent la polymérisation des tubulines en microtubules, tandis qu'à des concentrations plus élevées ($1-2 \mu\text{mol}$), ils dépolymérisent les microtubules existants et endommagent le fuseau mitotique(17,18).

La vinblastine (Velbe®) est utilisée dans le traitement des lymphomes Hodgkiniens ou non, les cancers du sein, du col de l'utérus, de l'ovaire, des testicules et le sarcome de Kaposi(3,19). Alors que la vincristine (Oncovin®) peut être utilisée seule dans la leucémie aiguë ou en association avec d'autres agents cytotoxiques dans les lymphomes Hodgkiniens ou non ou dans les cancers du sein, du col de l'utérus, du poumon à petites cellules et dans certains sarcomes(20).

Ces vinca-alcaloïdes de première génération présentent une forte toxicité neurologique qui est liée à l'action exercée sur les microtubules axonaux. Cette toxicité est d'autant plus marquée au niveau périphérique avec des paresthésies, des névralgies et des myalgies car ces molécules de grande taille passent mal la barrière hématoencéphalique (BHE). Toutefois, des cas de convulsions ont été reportés pour la vincristine. Des toxicités hématologiques telles que la leucopénie, ainsi que des toxicités digestives ont été observées pour ces molécules. De plus, la vinblastine et la vincristine sont connues pour provoquer une extravasation, ce qui entraîne une nécrose tissulaire au niveau des sites d'injection(17).

A cause de la forte toxicité des vinca-alcaloïdes de première génération, des analogues hémi-synthétiques ont été développés : la vindésine (Eldisine®), la vinorelbine (Navelbine®) et la vinflunine (Javlor®).

La vindésine est le premier dérivé hémi-synthétique des vinca-alcaloïdes obtenu suite à quelques modifications des fonctions chimiques de la vinblastine. Elle est principalement indiquée dans le traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et des lymphomes réfractaires à la chimiothérapie (autres agents cytostatiques), ainsi que dans certaines tumeurs solides (sein, œsophage, voies aérodigestives supérieures et cancer broncho-pulmonaire)(21).

La vinorelbine est un dérivé hémi-synthétique de la vinblastine découverte par l'équipe de P. Potier où le noyau catharanthine a subi une modification structurale. Elle appartient aux vinca-alcaloïdes de seconde génération et possède un large spectre d'activité antiproliférative, notamment dans le cancer du sein avancé et le cancer du poumon non à petites cellules avancé ou métastatique. Il a été montré que le phénomène de neurotoxicité est atténué avec la vinorelbine par rapport aux vinca-alcaloïdes de première génération. De plus, parmi tous les vinca-alcaloïdes, c'est la seule molécule pouvant être administrée par voie orale, ce qui permet de réduire les irritations au niveau du site d'injection(21,22).

La vinflunine est un dérivé fluoré récemment introduit sur le marché. L'introduction de deux atomes de fluor permet de limiter certaines voies de métabolisation de la molécule, ce qui permet d'augmenter la demi-vie de la molécule. Il s'agit également de la molécule la moins neurotoxique parmi les vinca-alcaloïdes. Elle est utilisée seule dans le traitement du cancer de la vessie, soit pré-métastatique ou métastatique, après échec thérapeutique par des dérivés de platine(21,23).

3. Les dérivés de l'halichondrine B

L'halichondrine B a été isolée pour la première fois en 1986 à partir de l'éponge japonaise, *Halichondria okadai* et sa structure de type macrolide polyéther a été déterminée par la cristallographie aux rayons X (Figure 5)(24). Des études ont révélé que cette molécule est capable d'inhiber la tubuline grâce à la formation d'une liaison non compétitive au niveau du site de liaison des vinca-alcaloïdes, ce qui entraîne un arrêt du cycle cellulaire en phase G2-M lié à une perturbation du fuseau mitotique(25). Cette molécule s'est révélée être la plus puissante des halichondrines contre les lignées du mélanome B-16 avec une concentration inhibitrice 50 (IC₅₀) de l'ordre du nanomolaire, ce qui a mené à des études supplémentaires. Cependant, l'approvisionnement de la molécule reste limité car sa teneur dans les éponges est faible. Il aura fallu plus d'une tonne d'éponge *Lissodendoryx sp.* (une autre éponge plus riche en halichondrines) pour isoler 310 mg d'halichondrine B(26). La synthèse totale reste compliquée et non rentable du fait de la complexité chimique de la molécule.

Ainsi, le développement d'analogues synthétiques a été envisagé. L'éribuline (Halaven®) (Figure 5, (27)), a été synthétisée sur la base d'un pharmacophore établi

et a montré une meilleure activité cytotoxique *in vitro* sur certaines lignées cellulaires par rapport à l'halichondrine B. Elle est utilisée dans le traitement du cancer du sein localement avancé ou métastatique et contre le liposarcome non résecable ayant déjà reçu une chimiothérapie comportant une anthracycline. Les effets indésirables les plus fréquents sont des effets de myélosuppression avec une neutropénie(28).

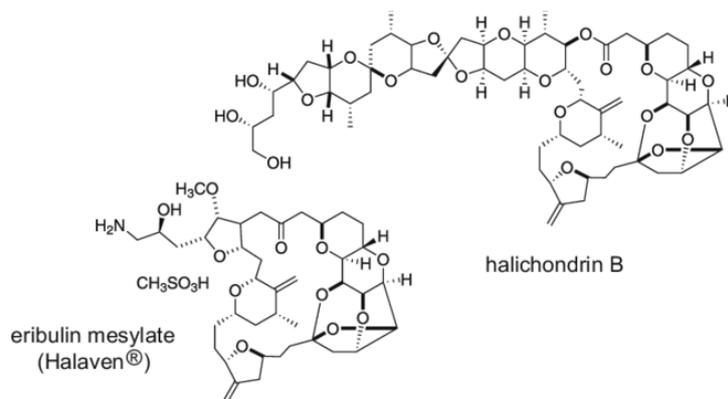


Figure 5. Structure de l'halichondrine B et de l'éribuline

II. Anticancéreux d'origine naturelle interagissant avec les topo-isomérases

Les topo-isomérases sont des enzymes nucléaires qui contrôlent la formation et la déformation de la structure super-enroulée de l'ADN au cours des processus de réplication, de transcription et de réparation. Il existe principalement deux types de topo-isomérases : les topo-isomérases I qui coupent un seul des deux brins de la double hélice de l'ADN, permettant sa despiralisation transitoire nécessaire à la réplication et à la transcription, et les topo-isomérases II qui coupent et ressoudent les deux brins de l'ADN afin de libérer la boucle de la double hélice. Ainsi, les inhibiteurs de topoisomérases stabilisent le complexe binaire entre l'enzyme et l'ADN, affectent la religation et empêchent la synthèse de l'ADN.

1. Inhibiteurs des topo-isomérases de type I, les dérivés de la camptothécine

La camptothécine (Figure 6, (3)) est un alcaloïde de structure pentacyclique isolé de l'arbre ornemental chinois *Camptotheca accuminata*. Elle a démontré une action contre les leucémies et diverses tumeurs solides dans les modèles expérimentaux. Cette molécule a été utilisée dans des essais cliniques sous forme de sel de sodium de camptothécine dans les années 1970 en raison de son insolubilité

en solution aqueuse, mais a provoqué de graves toxicités digestive, sanguine et vésicale, ce qui a entraîné l'arrêt de son développement.

Après la découverte du mécanisme d'action de la camptothécine, qui agit comme un inhibiteur de l'ADN topo-isomérase de type I, induisant des lésions simple brin de l'ADN qui bloquent la fourche de réplication de l'ADN, des dérivés hémisynthétiques davantage hydrosolubles et moins toxiques ont été développés(15,29).

Le topotécan (Hycamtin®) et l'irinotécan (Campto®) (Figure 6) ont été mis sur le marché. Le topotécan est utilisé dans le traitement du cancer de l'ovaire métastasé après échec auparavant de chimiothérapies, du cancer du poumon à petites cellules en rechute et du cancer du col de l'utérus en rechute en association avec le cisplatine. Pour l'irinotécan, il est utilisé dans le traitement du cancer colorectal. L'effet indésirable le plus fréquent de ces dérivés de camptothécine est une myélosuppression, comme d'autres agents cytotoxiques. Une diarrhée tardive, des troubles hématologiques dont une neutropénie et un syndrome cholinergique aigu ont été observés pour l'irinotécan(30–32).

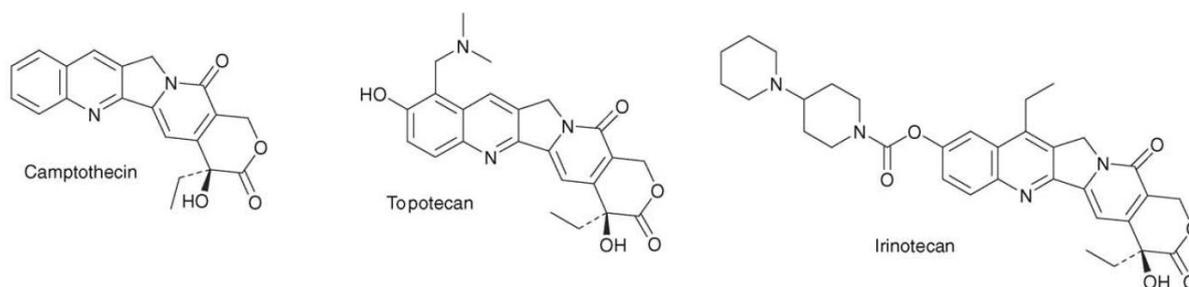


Figure 6. Structure des dérivés de camptothécine

Il existe d'autres dérivés hémisynthétiques plus hydrosolubles qui ont été développés notamment sur la base des études de RSA et qui sont en cours d'étude dans des essais précliniques et cliniques(29,33).

2. Inhibiteurs des topo-isomérases de type II

a) *Les dérivés de l'épipodophyllotoxine*

La podophyllotoxine est un lignane avec un squelette de 18 carbones isolé pour la première fois en 1880 à partir de la résine de podophylle issue du rhizome de la plante *Podophyllum peltatum*, traditionnellement utilisée pour le traitement des cancers de la peau et des verrues par les amérindiens. Cette résine a également été

utilisée comme laxatif et comme remède contre diverses pathologies comme la gonorrhée, la tuberculose, le psoriasis et la syphilis. Les premières études sur la podophyllotoxine ont montré une activité importante sur les cellules cancéreuses, notamment liée à son action antiméiotique(34).

Dans les années 1950, sa structure a été complètement élucidée (Figure 7, (35)) mais son utilisation en clinique a été limitée en raison de ses effets indésirables importants, tels que la toxicité gastro-intestinale, la neurotoxicité, l'alopecie et la myélosuppression. Actuellement, elle est utilisée dans la prise en charge de condylomes génitaux dans la spécialité Condylone®(3,36).

Par la suite, les dérivés hémi-synthétiques à partir de l'épipodophyllotoxine (un isomère de podophyllotoxine) ont été développés pour diminuer les effets indésirables. L'étoposide (Celltop®) est actuellement la seule molécule de cette classe autorisée dans le traitement de la leucémie, des lymphomes malins hodgkiniens ou non hodgkiniens, du cancer bronchopulmonaire à petites cellules ou non à petites cellules, le choriocarcinome placentaire et du cancer des testicules. Le mécanisme de cette molécule passe par une inhibition de l'activité de la topo-isomérase II, ce qui entraîne une cassure de l'ADN et un arrêt de la mitose(37), alors que la podophyllotoxine possédait également une action antiméiotique en perturbant l'assemblage des microtubules(34).

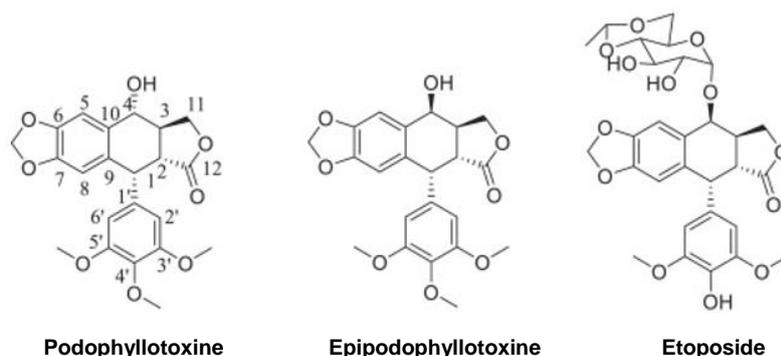


Figure 7. Structures des dérivés de la podophyllotoxine

Le développement de nouveaux analogues de la podophyllotoxine reste en cours d'étude dans les essais cliniques. De plus, à travers l'exploration des études de RSA, des analogues hybrides de la podophyllotoxine/épipodophyllotoxine avec d'autres pharmacophores anticancéreux peuvent donner de nouveaux agents anticancéreux ayant plusieurs mécanismes d'action, ce qui permettrait de traiter divers cancers et d'éviter des phénomènes de résistance médicamenteuse(35).

b) Les hétérosides anthraquinoniques

Contrairement aux autres classes pharmacologiques, les hétérosides anthraquinoniques ou anthracyclines sont issus des micro-organismes. La découverte fortuite de la doxorubicine à partir de la bactérie *Streptomyces peucetius* et de son précurseur la daunorubicine dans les années 1960 a été importante pour le traitement des cancers. Cette classe a suscité de nombreuses recherches dans les essais cliniques mais aussi dans la compréhension des mécanismes anti-tumoraux et de cardiotoxicité provoquée par les anthracyclines(38).

Les quatre anthracyclines (Figure 8, (39)) les plus utilisées sont la doxorubicine, la daunorubicine, l'épirubicine (stéréoisomère de la doxorubicine) et l'idarubicine (analogue de la daunorubicine).

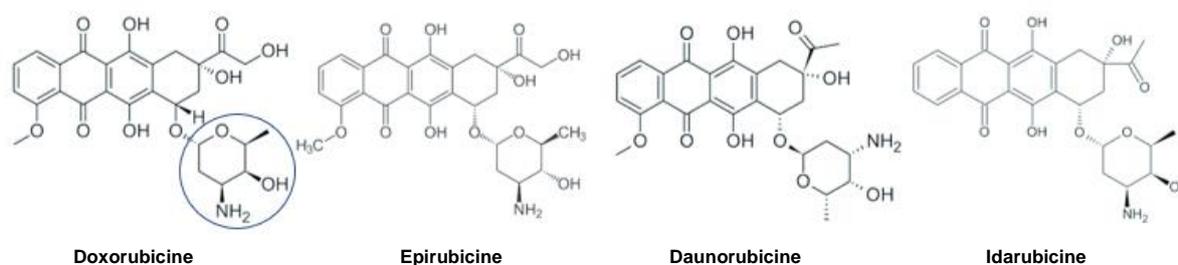


Figure 8. Structures des anthracyclines cytotoxiques

Elles agissent à la fois comme des intercalants de l'ADN, grâce à la partie anthracycline, mais aussi comme des poisons de la topo-isomérase II, par stabilisation du complexe de clivage topo-isomérase II – ADN, liée à la formation d'une liaison ionique entre le groupement $-NH_2$ de la partie osidique daunosamine (entouré en bleu, Figure 8) et le groupement phosphate de l'ADN. Cela provoque des coupures irréversibles de l'ADN et conduit à l'apoptose cellulaire. A cause du motif anthracycline qui est sensible aux oxydo-réductases cellulaires, ces molécules génèrent des radicaux libres qui peuvent interférer avec la régulation du fer cellulaire. Cela génère des espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui provoquent des alkylations sur les bases nucléiques ainsi que des dommages de l'ADN et des dysfonctionnements des mitochondries liés au stress oxydatif. Tout cela va pouvoir enclencher l'apoptose(38–40).

La daunorubicine (Cerubidine®) est utilisée dans la prise en charge de leucémies, lymphomes malins non hodgkiniens, maladies de Hodgkin et sarcomes de Kaposi associés au sida(41). La doxorubicine (Adriblastine®) est utilisée dans des indications larges telles que, cancers bronchopulmonaires, cancers de l'estomac, cancers du sein, cancers de l'ovaire, tumeurs solides de l'enfant, ainsi que dans les leucémies, sarcomes, lymphomes malin non hodgkiniens et maladie de Hodgkin(42). L'épirubicine (Farmorubicine®) possède les mêmes indications que la doxorubicine mais peut également être utilisée dans les cancers bronchopulmonaires à petites cellules et cancers otorhinolaryngologiques(43). Pour l'idarubicine (Zavedos®), elle n'est utilisée que dans les leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques(44).

Une autre anthracycline cytotoxique, la pirarubicine (Figure 9), qui est un dérivé de la doxorubicine, est utilisée exclusivement dans les cancers du sein en alternative aux autres anthracyclines(45).

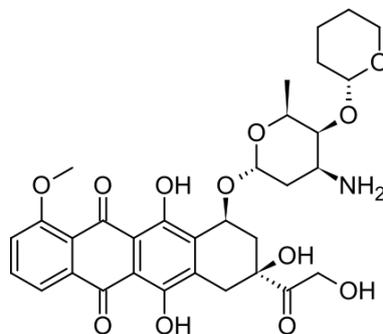


Figure 9. Structure de la pirarubicine

Ces molécules sont largement utilisées dans de nombreux cancers mais elles possèdent des effets secondaires graves, notamment une toxicité cardiaque importante pour la doxorubicine, la daunorubicine et l'épirubicine (cardiotoxicité moindre par rapport à la doxorubicine). Cela se manifeste par des troubles du rythme cardiaque, des anomalies de l'ECG et une insuffisance cardiaque. Ainsi, l'utilisation de ces anthracyclines nécessite une surveillance accrue afin de prévenir ces effets cardiaques. Elles sont donc contre-indiquées chez les patients ayant une cardiopathie avec une insuffisance myocardique. Le mécanisme de cardiotoxicité induit par les anthracyclines reste encore méconnu, mais la cause la plus probable est la génération et l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui provoque la peroxydation des lipides. Ces ROS entraînent des dommages à l'ADN dans les cardiomyocytes, qui sont particulièrement sensibles aux dommages induits par les radicaux libres car ces cellules sont déficientes en enzymes anti-oxydantes, telles que la superoxyde dismutase ou la glutathion peroxydase(40). Comme les autres agents

cytotoxiques, les anthracyclines peuvent provoquer une myélosuppression avec une neutropénie et une thrombopénie, des troubles digestifs et une alopecie.

Afin de limiter la production de radicaux libres et de diminuer les effets cardiotoxiques, des analogues synthétiques de la doxorubicine (Figure 10) ont été développés. Le premier analogue est la mitoxantrone (Novantrone®) qui agit comme un intercalant de l'ADN. Elle est indiquée dans le traitement des leucémies aiguës myéloblastiques, des lymphomes malins non hodgkiniens et des cancers de la prostate et du sein(46). Récemment, un nouvel analogue, la pixantrone (Pixuvri®), a été commercialisé. Cette molécule est indiquée, en monothérapie, dans le traitement de 3^{ème} ou 4^{ème} ligne du lymphome non hodgkinien agressif à cellules B à rechutes multiples ou réfractaires. Cette molécule n'est qu'un inhibiteur faible de la topoisomérase II et agit principalement par une alkylation directe de l'ADN, formant des adduits d'ADN stables et des cassures doubles brins. En raison de sa structure, cette molécule génère moins de radicaux libres, ce qui explique sa faible cardiotoxicité par rapport aux autres anthracyclines. Cependant, elle possède toujours une toxicité hématologique qui nécessite des surveillances comme les autres anthracyclines(47).

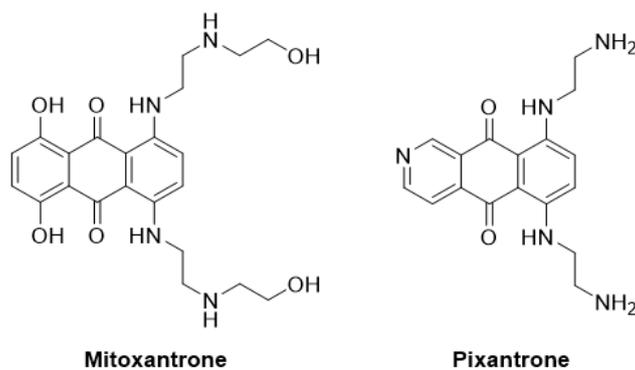


Figure 10. Structure des analogues de la doxorubicine

III. Anticancéreux d'origine naturelle interagissant avec l'ADN

Les agents cytotoxiques interagissant avec l'ADN peuvent agir selon plusieurs mécanismes d'action : les agents scindants qui forment des cassures simple brin ou double brin de l'ADN, les agents alkylants qui établissent des liaisons avec l'ADN, et les intercalants de l'ADN qui « s'intercalent » dans la double hélice de l'ADN. Tous ces agents vont pouvoir empêcher la réplication, la transcription et la traduction de l'ADN

ainsi que les processus de réparation, ce qui conduit à un arrêt du cycle cellulaire et à la mort cellulaire.

1. Antibiotiques cytotoxiques et apparentés

L'actinomycine D ou dactinomycine (Cosmegen®) est l'un des premiers antibiotiques cytotoxiques découvert dans les années 1940 à partir des bactéries du genre *Streptomyces*. Cette molécule possède une activité antibactérienne mais également une forte activité anticancéreuse, d'où son utilisation en clinique dans le traitement des cancers(48).

Sa structure est composée d'un noyau phénoxazone (entouré en rouge, Figure 11), relié à deux peptides cycliques. Elle exerce un effet cytotoxique puissant et est utilisée dans le traitement des rhabdomyosarcomes chez l'enfant, néphroblastomes ou tumeurs de Wilms, en traitement palliatif pour les sarcomes d'Ewing et les tumeurs trophoblastiques gestationnelles(49).

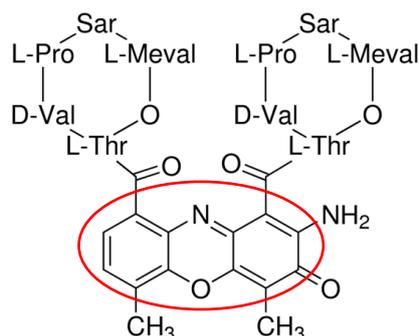


Figure 11. Structure du dactinomycine

Elle semble agir comme un alkylant de l'ADN. Son noyau phénoxazone s'intercale dans les bases de l'ADN et se lie à l'ADN en formant un complexe, ce qui provoque une inhibition des ARN polymérases et un arrêt de la transcription, empêchant ainsi la synthèse de l'ARN. Les effets indésirables sont communs aux autres agents cytotoxiques avec des troubles digestifs, une aplasie médullaire, une alopecie et des réactions d'hypersensibilité(48,49).

Il existait d'autres antibiotiques cytotoxiques issus des bactéries du genre *Streptomyces* sur le marché, mais suite à des retraits d'AMM, seulement deux molécules de cette classe sont encore utilisées. Il s'agit de la mitomycine C (Ametycine®) et de la bléomycine (Bléomycine Bellon®).

La mitomycine C est issue des cultures de fermentation de *Streptomyces caespitosus* par les chercheurs japonais dans les années 1950. Elle possède des effets antiprolifératifs et alkylant de l'ADN, notamment sur les guanines. La mitomycine seule n'est pas un alkylant de l'ADN, c'est une prodrogue qui nécessite une activation enzymatique ou chimique au niveau de son noyau quinone (entouré en rouge, Figure 12) pour le transformer en agent alkylant, soit d'un brin ou des deux brins de l'ADN(50).

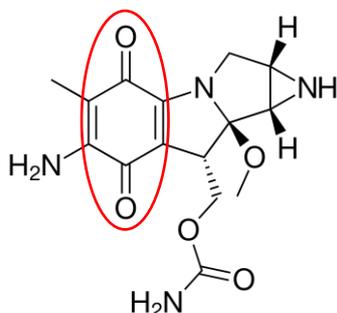


Figure 12. Structure de la mitomycine c

Elle a été utilisée dans le traitement des cancers colorectaux, de l'estomac, du pancréas, du sein et de la vessie. Cependant, depuis fin octobre 2019, la spécialité Ametycine® est en rupture de stock et l'ANSM l'a remplacée par la spécialité Mitomycine medac® et a limité ses indications. Actuellement, cette spécialité est réservée uniquement pour le traitement des cancers de la vessie chez les patients ne pouvant pas recevoir de l'épirubicine et pour le cancer localement avancé du canal anal(51).

Dans la spécialité Bléomycine Bellon®, il s'agit d'un mélange de deux glycopeptides (Figure 13, (52)), extraits des cultures de fermentation de *Streptomyces verticillus*. Cette molécule possède une partie osidique, une partie bithiazole (entourée en rouge, Figure 13) qui va pouvoir interagir avec les séquences riches en bases guanine et cytosine de l'ADN et un groupe de cinq atomes d'azote (entourés en bleu) dispersés dans une conformation pyramidale pouvant se lier à des métaux divalents comme le fer. Ainsi, l'oxygène moléculaire, lié par l'ion ferreux, peut produire des radicaux libres après oxydation de l'ion ferreux en ion ferrique. Ces radicaux libres entraînent des cassures simple brin ou double brin de l'ADN, ce qui inhibe la synthèse de l'ADN et de la division cellulaire(53).

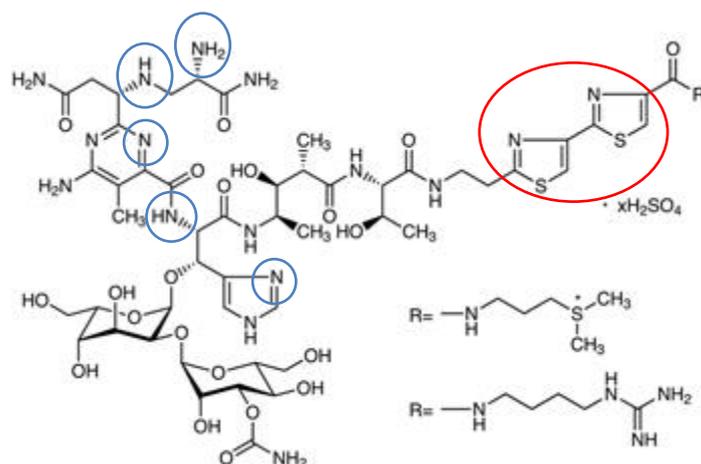


Figure 13. Structure de la bléomycine A₂ et B₂

La bléomycine est indiquée dans la prise en charge des carcinomes épidermoïdes, lymphomes hodgkiniens et non hodgkiniens et carcinomes testiculaires. Les effets indésirables sont nombreux, tels qu'une toxicité pulmonaire (fibrose), des réactions d'hypersensibilité (fièvre, frissons et éruption cutanée), l'alopecie réversible et une toxicité pour les glandes sexuelles. Les toxicités pulmonaires et cutanées peuvent être expliquées par la faible concentration d'une hydrolase qui permet de métaboliser la bléomycine pour rendre inactif son pouvoir de chélateur de fer(53,54).

2. Trabectédine

La trabectédine ou l'ecteinascidine-743 est un métabolite spécialisé isolé du tunicier *Ecteinascidia turbinat* dans la mer des Caraïbes(55). C'est un alcaloïde de type tétrahydroisoquinoléique composé de trois cycles tétrahydroisoquinolines (Figure 14, (56)). Cette molécule a été testée *in vitro* sur un panel de 60 lignées cancéreuses par le NCI et a prouvé une activité cytotoxique puissante. Par la suite, elle a été testée *in vivo* et a démontré une activité antinéoplasique à large spectre. Cet effet cytotoxique s'exerce par un nouveau mécanisme d'action, lié exclusivement à sa structure originale, ce qui rend le développement clinique de cette molécule particulièrement intéressant. Après avoir obtenu des résultats prometteurs sur le sarcome des tissus mous dans les essais cliniques de phase II, la trabectédine a été approuvée par les autorités de l'Union européenne en septembre 2007 et a été commercialisée dans la spécialité Yondelis® pour le traitement des sarcomes des tissus mous évolués, après échec de traitements à base d'anthracyclines ou d'ifosfamide. Elle peut également être

utilisée en association dans le traitement du cancer des ovaires récidivant sensible au platine(57,58).

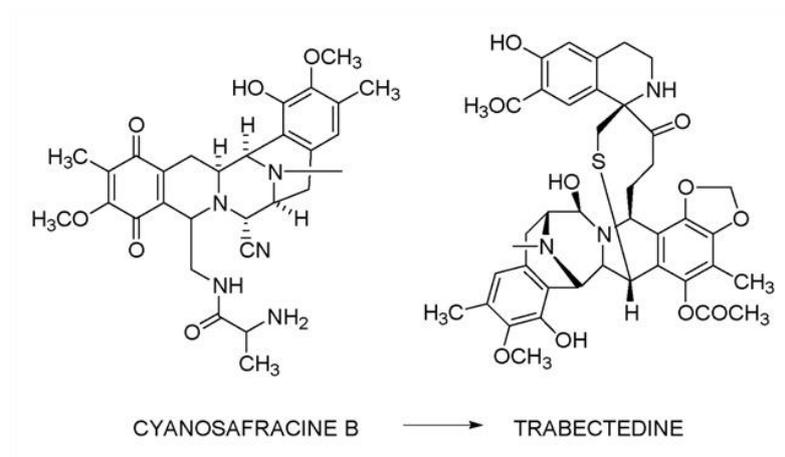


Figure 14. Structure de la cyanosafraïcine et de la trabectédine

Ainsi, lié à la hausse de demande de production du principe actif, des procédés de synthèse ont été développés et actuellement, la trabectédine peut être obtenue par hémisynthèse à partir de la cyanosafraïcine B, un métabolite obtenu lors de la fermentation de la bactérie *Pseudomonas fluorescens*(57).

Elle agit comme un alkylant de l'ADN en se liant au petit sillon de la double hélice d'ADN, entraînant une modification générale de la molécule qui s'incline vers le grand sillon pour former des adduits. Cela entraîne une altération de la fixation des facteurs de transcription et de protéines indispensables à la division cellulaire. De plus, la reconnaissance des adduits formés par le système de réparation par excision (NER) entraîne une accumulation de complexes de réparation, ce qui provoque des cassures double brin de l'ADN, l'arrêt du cycle cellulaire en phase G2-M et l'induction de l'apoptose(59).

Les effets indésirables les plus fréquents sont la neutropénie, la thrombopénie, les troubles digestifs, une augmentation des transaminases ASAT/ALAT et des réactions au site d'injection.

Récemment, des essais cliniques de phase III démontrent que la trabectédine aurait un intérêt dans les liposarcomes et les léiomyosarcomes avancés après échec d'une chimiothérapie antérieure(60). D'autres essais cliniques sont en cours pour élargir le spectre d'activité de la molécule.

IV. Autres anticancéreux d'origine naturelle

1. Analogues nucléosidiques, anti-métabolites

La découverte et le développement des analogues nucléosidiques d'origine naturelle a débuté dans les années 1950 suite à l'isolement des arabinosyl-nucléosides de type spongothymidine et spongouridine (Figure 15, (61)) à partir de l'éponge des Caraïbes *Cryptotethya crypta*(16). Le premier dérivé synthétique bio-inspiré de ces arabinosyl-nucléosides est la cytarabine qui est un analogue de la pyrimidine. Elle exerce son action cytotoxique grâce à l'incorporation de son métabolite actif, l'ARA-CTP, lors de la synthèse de l'ADN, ce qui entraîne à la fois une inhibition de l'ADN polymérase et des anomalies de la structure de l'ADN, bloquant ainsi les cellules en phase S et provoquant l'apoptose de ces cellules.

La cytarabine ou Ara-C (Aracytine®) est utilisée dans le traitement des leucémies myéloïdes aiguës, des lymphomes malins non hodgkiniens et des syndromes myéloplasiques. Elle est également utilisée associée au gemtuzumab ozogamicine (anticorps monoclonal conjugué) et à la daunorubicine (Vyxeos®) dans la prise en charge de leucémies aiguës myéloblastiques(62). Des effets indésirables tels que la myélosuppression avec une hypoplasie médullaire, une toxicité neurocérébelleuse à forte dose, des affections cardiaques (péricardites et bradycardie sinusale), des atteintes réversibles de la cornée et des conjonctivites hémorragiques, ainsi que des affections gastro-intestinales (nausées, vomissements et anorexies) et de l'alopecie ont été reportés.

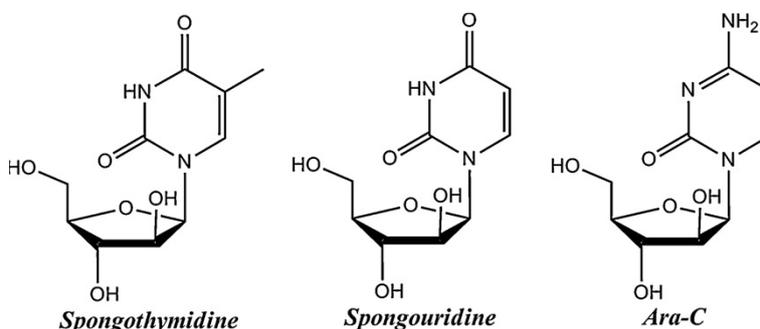


Figure 15. Structure des arabinosyl-nucléosides et de la cytarabine Ara-C

D'autres analogues nucléosidiques ont également été synthétisés comme les analogues de la purine. Ces molécules ont été principalement inspirées de la 5-

fluorouracile, un anti-métabolite de synthèse, non abordé dans le cadre de cette thèse qui concerne les anti-cancéreux d'origine naturelle.

2. La midostaurine, inhibiteur de protéines kinases

La midostaurine est un dérivé héli-synthétique de la staurosporine (Figure 16), un alcaloïde indolo-carbazole isolé pour la première fois à partir de la bactérie *Streptomyces staurosporeus* en 1977(16,63). La staurosporine a d'abord montré des propriétés antifongiques et hypotensives lors de sa découverte, mais ce n'est qu'à partir de 1986 qu'elle s'est avérée avoir de puissantes propriétés cytotoxiques, notamment en inhibant la protéine kinase C.

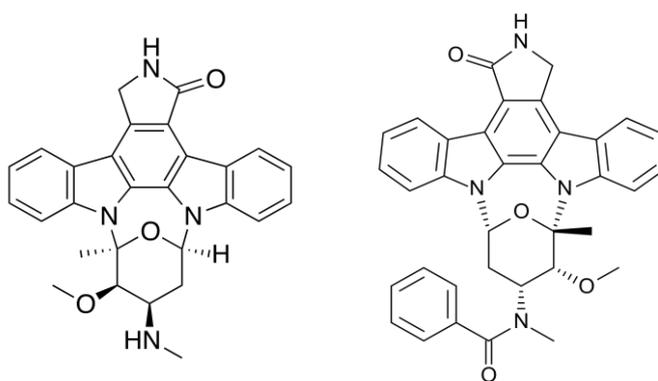


Figure 16. Structures de la staurosporine (à gauche) et de la midostaurine (à droite)

Ainsi, des dérivés synthétiques de la staurosporine ont été élaborés afin d'avoir une diversité de source d'approvisionnement. Parmi ces dérivés, la midostaurine, un inhibiteur de la protéine kinase C et des récepteurs tyrosine kinase FLT3, est utilisée chez les patients atteints de leucémies myéloïdes aiguës et de syndrome myélodysplasique où les cellules leucémiques expriment des récepteurs FLT3 mutés ou surexpriment les récepteurs FLT3 sauvages. La midostaurine semble agir sur plusieurs récepteurs de tyrosine kinase où elle inhibe la signalisation *via* le récepteur FLT3 et induit l'arrêt du cycle cellulaire. Elle inhibe également les récepteurs KIT (un type de récepteur à activité tyrosine kinase), ce qui empêche la prolifération, la survie et la libération d'histamine des mastocytes. De plus, elle inhibe les récepteurs de facteurs de croissance tels que, PDGFR (récepteur du facteur de croissance secrété par les plaquettes) et du VEGFR (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire), ce qui affecte la prolifération des cellules cancéreuses et leur survie.

La midostaurine (Rydapt®) a reçu le statut de médicament orphelin et a obtenu l'AMM en Europe en 2017 pour le traitement de mastocytose systémique agressive et de leucémie aiguë myéloïde nouvellement diagnostiquée avec mutation du gène FLT3. Les effets indésirables fréquents sont une neutropénie et des infections, un dysfonctionnement cardiaque (allongement de l'intervalle QTc sur l'ECG) et des pneumopathies(64).

3. Les dérivés de la rapamycine, inhibiteur de mTOR

La rapamycine ou sirolimus (Figure 17, (65)) est un composé macrocyclique produit par la fermentation de *Streptomyces hygroscopicus* en 1975. Elle a d'abord été utilisée comme antifongique avant d'être commercialisée dans la spécialité Rapamune® en tant qu'immunosuppresseur en 1999. De plus, elle a également démontré une activité cytotoxique, notamment en inhibant mTOR, une enzyme qui régule la prolifération, la croissance, la mobilité et la survie des cellules(16).

Cela a conduit au développement de dérivés synthétiques, dont l'évérolimus, qui a d'abord été approuvé en tant qu'immunosuppresseur en 2004 puis ensuite approuvé dans la spécialité Afinitor® comme traitement des cancers du rein avancé, du pancréas et du sein avancé avec récepteurs hormonaux positifs. L'évérolimus agit en inhibant l'activité du mTORC1, ce qui affecte la voie de signalisation et perturbe la traduction et la synthèse de protéines essentielles pour la prolifération cellulaire(16,66).

Un autre dérivé, le temsirolimus (Torisel®) (Figure 17) a été approuvé dans le traitement du cancer du rein et des lymphomes des cellules du manteau. Cette molécule agit à la fois comme un inhibiteur sélectif de mTOR mais aussi comme inhibiteur des facteurs inductibles par l'hypoxie (HIF), qui sont des facteurs de transcription régulant la capacité des tumeurs à s'adapter aux micro-environnements hypoxiques et à produire des facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire VEGF, responsables de l'angiogenèse(67).

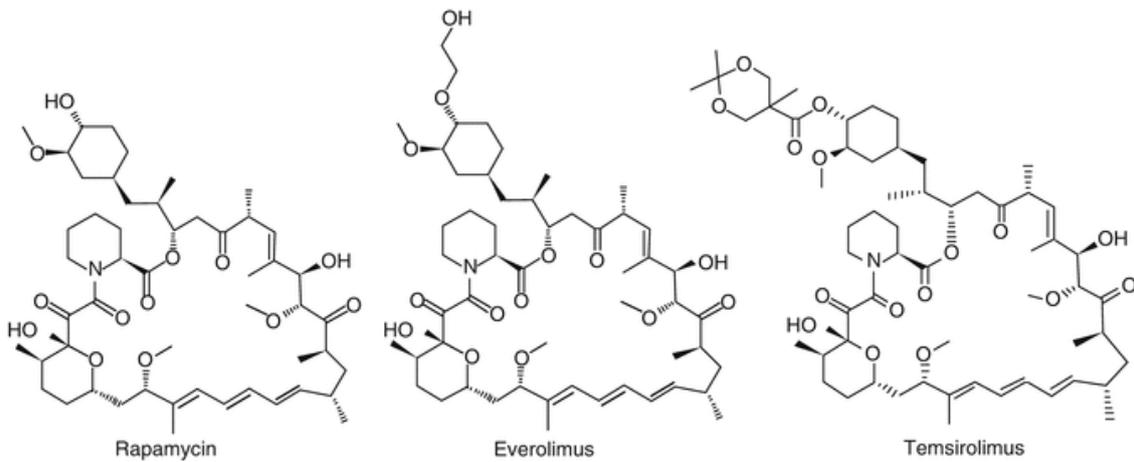


Figure 17. Structure des dérivés de rapamycine

Les effets indésirables les plus courants sont une éruption cutanée, des nausées, de la perte d'appétit, des signes d'infections (fièvres, frissons, inflammations, toux et fatigue), une anémie et une thrombopénie. Pour le temsirolimus, des réactions d'hypersensibilité liées à la perfusion ont également été observées.

4. Les anticorps monoclonaux conjugués

Les anticorps monoclonaux conjugués (ADC pour Antibody-drug conjugate) sont des anticorps monoclonaux conjugués à des agents cytotoxiques. Les anticorps utilisés sont spécifiques des protéines de surface exprimées dans les cellules cancéreuses, ce qui induit une spécificité et un ciblage vis-à-vis des cellules tumorales, contrairement aux médicaments cytotoxiques traditionnels.

Certains anticorps monoclonaux possèdent déjà une activité anti-tumorale remarquable, notamment ceux contre les récepteurs HER2, EGFR et CD20, qui sont souvent surexprimés dans certains cancers. Cependant, l'activité anti-cancéreuse de ces anticorps seuls n'est pas suffisante, d'où la nécessité de les conjuguer avec des agents cytotoxiques.

Cependant, les ADC ont une faible biodisponibilité et sont administrés par voie intraveineuse. Après s'être lié à sa cible, le complexe ADC-antigène de surface, exprimé dans les cellules cancéreuses, est internalisé par endocytose (Figure 18, (68)). Ensuite, ce complexe est transféré dans les lysosomes. Au sein de la cellule, les ADC sont clivés pour libérer l'agent cytotoxique qui va cibler, soit l'ADN pour induire des cassures, soit les microtubules pour perturber la division cellulaire afin de

déclencher le processus d'apoptose. Ainsi, le mécanisme d'action de ces ADC dépend de la nature de l'anticorps monoclonal et de l'agent cytotoxique utilisé(68–70).

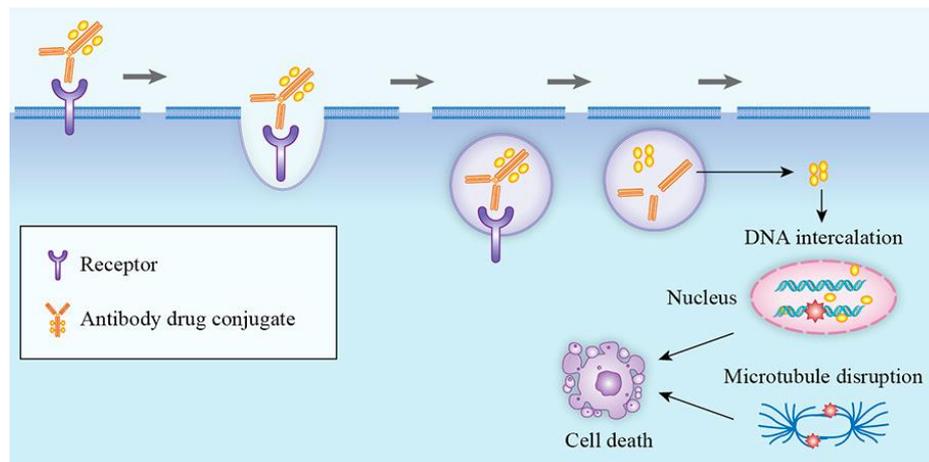


Figure 18. Mécanisme d'action des ADC

Actuellement, les anticorps monoclonaux conjugués à un agent cytotoxique d'origine naturelle ayant reçu une autorisation d'utilisation en Europe sont le brentuximab vedotine (Adcetris®), le trastuzumab emtansine (Kadcyla®), l'inotuzumab ozogamicine (Besponsa®), le gemtuzumab ozogamicine (Mylotarg®), le belantamab mafodotin (Blenrep®) et le sacituzumab govitecan (Trodelvy®) (68,71).

Le brentuximab vedotine (Figure 19, (72)) est un anticorps anti-CD30 conjugué avec un analogue synthétique de la dolastatine, le monométhyl auristatine E (MMAE) qui est un poison du fuseau mitotique. La dolastatine 10 est un oligopeptide linéaire isolé à partir d'un mollusque marin *Dolabella auricularia*. Elle possède un effet antimitotique par inhibition de la polymérisation des microtubules. En raison d'une toxicité élevée, elle n'est pas utilisée dans le traitement des cancers, mais ses analogues synthétiques sont utilisés en clinique(73). Le brentuximab vedotine exerce son action en se liant aux lymphocytes exprimant l'antigène CD30 et en perturbant le cycle cellulaire. Il est indiqué dans le traitement des lymphomes hodgkiniens et des lymphomes anaplasiques à grandes cellules systémiques chez les patients en rechutes ou réfractaires(70).

Le trastuzumab emtansine (Figure 19) est un anticorps anti-HER2 conjugué avec un analogue de la maytansine, l'emtansine DM1, qui est un inhibiteur des microtubules. La maytansine est un composé macrocyclique isolé de l'arbuste *Maytenus ovatus* et possède une activité anticancéreuse contre le carcinome pulmonaire de Lewis, les tumeurs solides du mélanocarcinome et la leucémie lymphoïde, démontrée chez les animaux. Son activité antimitotique est liée à sa

capacité à se lier au site de liaison des vinca-alcaloïdes au niveau de la tubuline, ce qui empêche leur assemblage en microtubules. Cependant, à cause de ses effets secondaires graves et de sa faible efficacité, elle n'a pas été utilisée en clinique. Toutefois, le développement d'analogues de la maytansine conjuguée à des anticorps a permis d'augmenter l'efficacité de la molécule dans le traitement des cancers(74,75). Le trastuzumab cible le récepteur HER2, qui est un récepteur de tyrosine kinase souvent surexprimé dans les cancers du sein, favorisant ainsi la croissance et la prolifération des cellules cancéreuses. Ce médicament est indiqué dans les cancers du sein HER2 positifs métastatiques ou localement avancés(76).

Le gemtuzumab (anti-CD33, protéine de surface des blastes leucémiques myéloïdes) et l'inotuzumab (anti-CD22, protéine de surface des lymphocytes) ozogamicin (Figure 19) sont des anticorps conjugués avec un dérivé semi-synthétique de la calichéamicine, qui est un métabolite produit par la fermentation de l'actinobactérie *Micromonospora echinospora*. Le mécanisme cytotoxique de la calichéamicine passe par la formation d'une liaison au petit sillon de l'ADN, entraînant des cassures irréversibles de l'ADN, ce qui conduit à l'apoptose. L'inotuzumab ozogamicine est indiqué dans le traitement de leucémie aiguë lymphoblastique CD22 positif en rechute ou réfractaire. Le gemtuzumab ozogamicine est utilisé dans le cadre d'une RTU (recommandation temporaire d'utilisation) seul ou en association dans le traitement des leucémies aiguës myéloblastiques CD33 positif en rechutes ou réfractaires(68,77,78).

Le belantamab mafodotin est un anticorps anti-BCMA (antigène de maturation des cellules B) conjugué à un dérivé de l'auristatine F (mc-MMAF), qui est dérivé de la dolastatine. Il a reçu une AMM en août 2020 dans la spécialité Blenrep® et est indiqué en monothérapie dans le traitement du myélome multiple, en rechute ou réfractaire, chez les patients adultes ayant reçu au moins 3 lignes de traitements antérieurs comprenant au moins un immunomodulateur, un inhibiteur du protéasome et un anticorps monoclonal anti-CD38, et dont la maladie a progressé lors du dernier traitement(79,80).

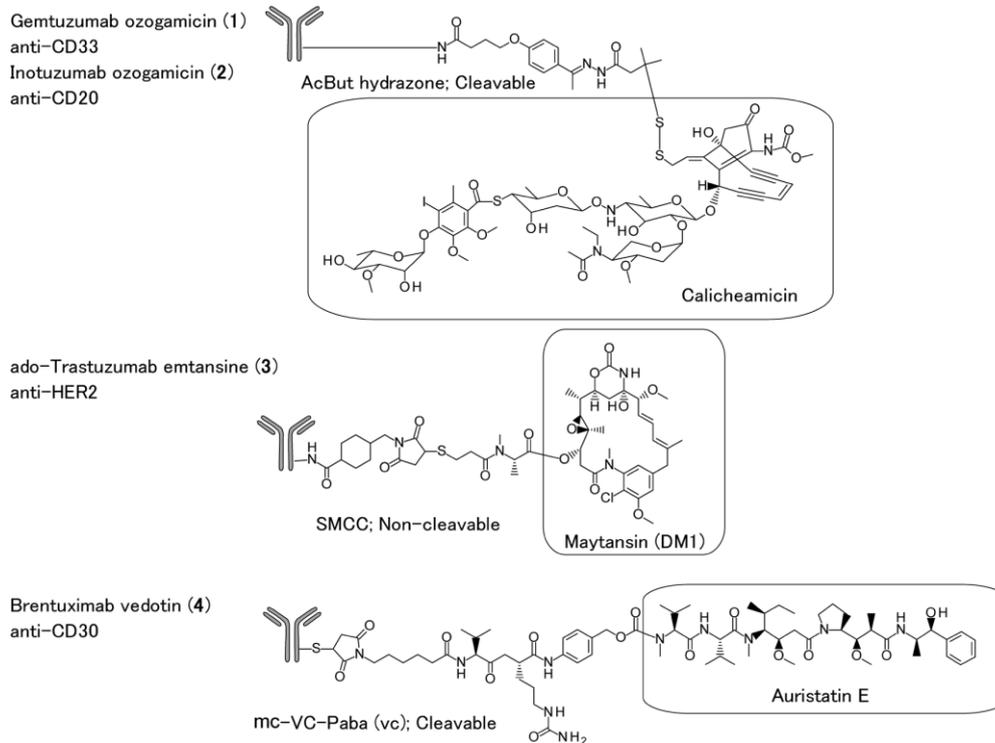


Figure 19. Structure des ADC approuvés par l'EMA

Récemment, le trastuzumab deruxtecan (Enhertu®) a obtenu une ATU nominative pour le traitement de 3^{ème} ligne après échec au trastuzumab/pertuzumab associé à un taxane puis au trastuzumab emtansine. C'est un anticorps monoclonal ciblant le récepteur HER2 conjugué à un dérivé de la camptothécine, l'exatécane. Cette ATU a pris fin en mars 2021 et actuellement, la HAS est en attente des résultats d'évaluation effectués dans les études de phase III DESTINY-BREAST 02 pour prouver son efficacité(81,82).

Le dernier ADC ayant reçu une ATU nominative le 3 juin 2021 est le sacituzumab govitecan, un anticorps monoclonal ciblant la protéine Trop-2, une glycoprotéine de surface et un transducteur de signal calcique intracellulaire exprimé sur de nombreuses tumeurs épithéliales, conjugué à SN-38 qui est un métabolite actif de l'irinotécan. Il est indiqué dans le traitement du cancer du sein métastatique triple négatif. Pour prendre en charge un plus grand nombre de patients, une ATU de cohorte sera mise en place en décembre 2021, en attente de l'AMM en Europe prévue courant 2022(68,71,83).

Ces ADC sont généralement bien tolérés, avec des effets secondaires semblables à tous les agents cytotoxiques, comme une myélosuppression avec une neutropénie, une augmentation des transaminases, des maux de tête, des nausées et de la fatigue. L'efficacité et la bonne tolérance de ces ADC conduisent à l'émergence

de nombreux essais cliniques avec des cibles et des agents cytotoxiques différents afin d'améliorer la prise en charge de tumeurs variées(68,69).

V. Conclusion

En s'inspirant de la nature, la recherche de nouveaux agents anti-cancéreux ne cesse de se développer, notamment après la découverte des vinca-alcaloïdes dans les années 60. En parallèle, le NCI a lancé un programme de recherche de nouveaux agents anticancéreux grâce à un criblage de plus de 35 000 extraits de plantes, ce qui a permis de découvrir de nouveaux composés de structure originale et doués de propriétés cytotoxiques diverses.

A travers ce chapitre, de nombreux anticancéreux d'origine naturelle ayant une autorisation d'utilisation en Europe ont été étudiés. Ces agents cytotoxiques sont très efficaces dans les cancers, malgré qu'ils induisent des effets indésirables importants liés à leur toxicité. Toutefois, grâce au développement des anticorps monoclonaux conjugués, la sélectivité vis-à-vis des cellules cancéreuses a pu être améliorée, ce qui a permis d'augmenter la tolérance de ces chimiothérapies.

Il existe d'autres familles d'agents cytotoxiques d'origine naturelles qui n'ont pas été abordées dans le cadre de ce chapitre car souvent, elles n'ont pas encore eu l'approbation et/ ou n'ont pas été extrêmement utilisées en tant qu'agent anticancéreux en France, telles que(16) :

- La combretastatine A1 diphosphate, un dérivé des combretastatines, qui sont des stilbènes isolés de l'écorce de *Combretum caffrum*. Elle agit comme un perturbateur du cytosquelette de la tubuline des cellules endothéliales et a eu une approbation par la FDA pour le traitement des leucémies aiguës myéloïdes. En 2015 elle a reçu le statut de médicament orphelin par l'EMA.
- L'homoharringtonine est un alcaloïde isolé à partir de l'extrait d'écorce de l'arbre chinois *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea*. Elle a été utilisée dans la médecine traditionnelle chinoise dans de nombreuses indications et a démontré une activité cytotoxique notamment par inhibition des tyrosines kinases. Elle a été approuvée par la FDA en 2012 dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique.

- Les épothilones sont des composés macrocycliques, isolés d'une myxobactérie *Sorangium cellulosum*. Ces molécules constituaient une nouvelle classe de stabilisant de microtubules après la découverte des taxanes. Plusieurs dérivés et analogues des épothilones sont actuellement en cours d'essais clinique(75).
- L'ingénol-3-angélate ou le mébutate d'ingénol (Picato®) est extrait de la plante australienne *Euphorbia peplus*, une plante traditionnellement utilisée pour le traitement de diverses affections cutanées. Son mécanisme d'action n'est pas encore complètement élucidé, mais il semble qu'elle agisse à la fois par induction de la mort cellulaire au niveau de la lésion cutanée et par la stimulation d'une réponse inflammatoire afin d'entraîner la mort des cellules atteintes par la kératose actinique. Elle a été approuvée en tant que gel topique pour cette indication par la FDA et l'EMA, mais son AMM a été suspendue fin janvier 2020(84).

Récemment, une nouvelle famille de molécules ayant des activités cytotoxiques remarquables a été découverte lors d'un criblage réalisé par le NCI en 2011(2). Il s'agit de la famille des ORPphilines qui est composée de molécules de structures variées et qui sera abordée dans le chapitre suivant.

CHAPITRE 2. LA FAMILLE DES ORPphilines, FAMILLE DE MOLECULES CYTOTOXIQUES PROMETTEUSES

Après avoir abordé les différentes familles de molécules naturelles cytotoxiques, nous allons voir une famille de molécules naturelles présentant une activité cytotoxique prometteuse pouvant être envisagées dans le traitement des cancers. Il s'agit de la famille des ORPphilines qui regroupe cinq familles chimiques : les céphalostatines, les ritterazines, les stellettines, OSW-1 et les schweinfurthines.

Selon une étude publiée par Burgett *et al.* en 2011, elles semblent avoir une même cible biologique qui est la protéine OSBP et provoquent l'apoptose dans plusieurs lignées de cellules cancéreuses variées. Cette découverte a permis d'investiguer sur la protéine OSBP qui n'avait jamais été envisagée auparavant comme cible dans le traitement des cancers(2).

I. Isolement et structure des ORPphilines

Les ORPphilines sont des molécules naturelles de structures variées qui présentent un fort potentiel antitumoral. Cependant, leur accès, que ce soit par extraction ou par synthèse reste difficile. Dans cette partie, l'isolement et les structures des différentes ORPphilines seront décrits.

1. Céphalostatines 1 et ritterazine B

Les céphalostatines et les ritterazines, molécules de structure très proche, ont été isolées d'organismes marins, respectivement du ver marin *Cephalodiscus gilchristi* et du tunicier *Ritterella tokioka* (Figure 20, (85,86)) (87).

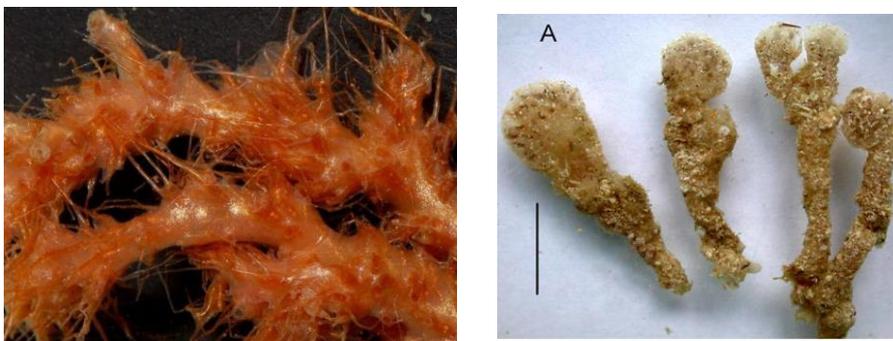


Figure 20. Le ver marin *C. gilchristi* (à gauche) et le tunicier *R. tokioka* (à droite)

La céphalostatine 1 (Figure 21) a été isolée en 1988 par le groupe de Pettit avec un très faible rendement (166 kg de biomasse pour isoler 138,8 mg de mélange

d'alcaloïdes après plusieurs séparations sur colonne de silice) grâce à une extraction bio-guidée d'extraits solubles dichlorométhane-méthanol actifs sur la lignée de leucémie lymphoïde murine P388. Sa structure a été identifiée à partir d'analyses RMN et de la diffraction aux rayons X. Ce composé est un alcaloïde dimère à 13 cycles, possédant 2 motifs stéroïdes (parties gauche et droite) qui sont reliés par une pyrazine. D'autres dérivés de la céphalostatine 1 ont également été isolés de la même manière mais leur activité cytotoxique est plus faible que la céphalostatine 1(88).

Les ritterazines ont des structures semblables aux céphalostatines et ont été isolées par le groupe de Fusetani entre les années 1994-1997. La structure des ritterazines est proche de celle des céphalostatines, où les deux motifs stéroïdes sont aussi reliés par une pyrazine. Les ritterazines sont moins cytotoxiques que les céphalostatines sur la lignée P388. Parmi toutes les ritterazines isolées par le groupe de Fusetani, la ritterazine B (Figure 21) a été la plus abondante et la plus active(88).

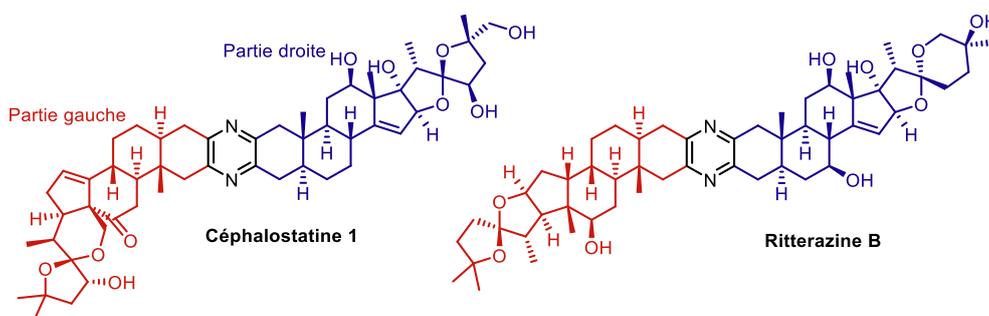


Figure 21. Structures de la céphalostatine 1 et de la ritterazine B

2. Stelletines

Les stelletines sont des triterpènes isolés d'éponges marines. Il existe plusieurs molécules qui ont été décrites et les plus étudiées sont la stelletine B et la stelletine E (Figure 22). Cette dernière a été identifiée en 1996 dans un extrait d'éponge marine *Rhabdastrella globostellata* (Figure 22, (89)) (90), mais elle n'a pu être isolée et caractérisée qu'en 2002(91) de l'éponge *Stelletta tmuis*. La stelletine B qui possède un cycle lactone terminal(92) a également été isolée de l'éponge *Jaspis stellifera*(93).

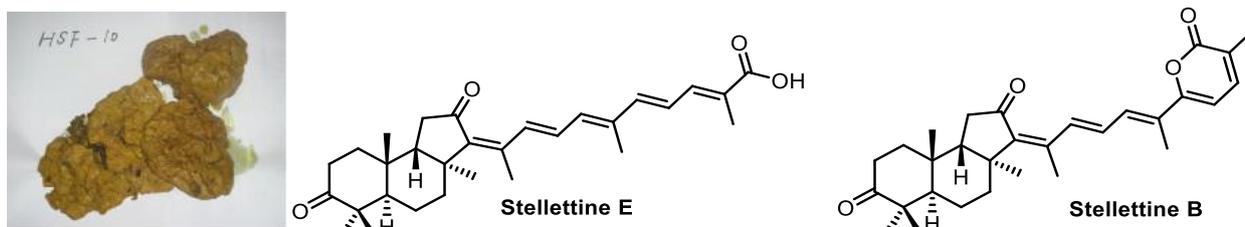


Figure 22. *Rhabdastrella globostellata* (à gauche) et les structures des stellettines

3. OSW-1

Le 3β , 16β , 17α -trihydroxycholest-5-en-22-one-16-O-[3'-O-(2-O-(4-methoxybenzoyl)- β -D-xylopyranosyl)](2-O-acetyl- α -L-arabinopyranoside) ou OSW-1 est un glycoside cholestane (ou saponine), isolé à partir du bulbe d'*Ornithogalum saundersiae* (Figure 23) en 1992. Ce genre botanique est connu depuis longtemps pour ses propriétés anticancéreuses, antimicrobiennes et anti-inflammatoires dans la médecine traditionnelle chinoise(94).



Figure 23. Fleurs et bulbes de *O. saundersiae*

L'OSW-1 présente un motif stéroïde (en rouge, Figure 24) relié à un disaccharide (en bleu) estérifié par un groupement para-méthoxybenzoïque.

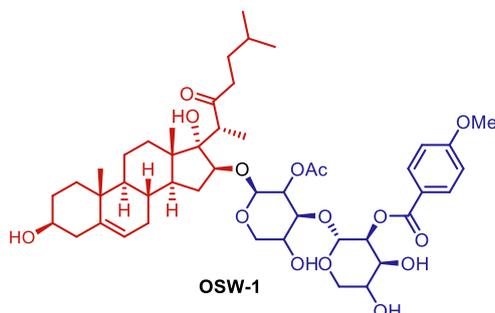


Figure 24. Structure de l'OSW-1

4. Schweinfurthines

Les schweinfurthines (SWs) sont des molécules naturelles isolées de la plante du genre *Macaranga* (Figure 25, (95)).



Figure 25. Feuilles et fruits de *M. tanarius*

Ces molécules sont constituées d'un motif stilbène prénylé et souvent d'un motif hexahydroxanthène (HHX, en rouge, Figure 26). La première molécule décrite dans cette famille est la védélianine, isolée en 1992 à l'ICSN à partir de *Macaranga vedeliana*(96). Par la suite, plusieurs dizaines d'autres molécules de la même famille ont été décrites(97) mais la SW A reste la molécule la plus étudiée de cette famille(98). De plus, il existe des SWs qui ne comportent pas le motif HHX, notamment la SW C, mais ces derniers sont moins actifs que la SW A(99).

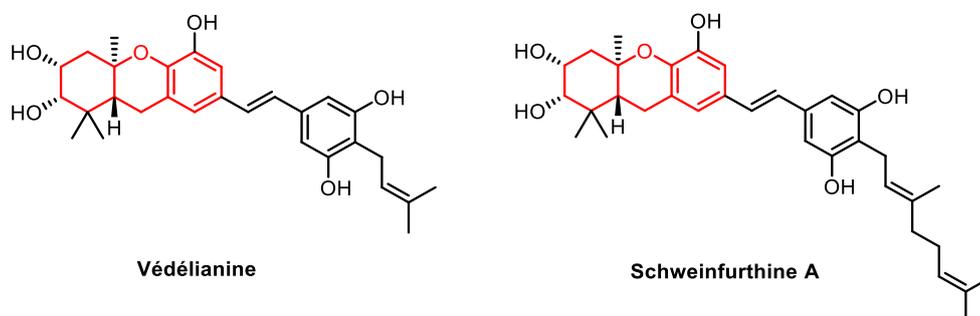


Figure 26. Structure des SWs

5. Conclusion

Les structures des ORPphilines sont assez variées mais ont toutes une ressemblance structurale avec la présence du noyau stéroïde du cholestérol notamment pour les céphalostatines, rittérazines et l'OSW-1. Cela peut donc expliquer leur interaction avec la protéine OSBP.

Actuellement, toutes les ORPphilines peuvent être obtenues par synthèse totale. Parmi toutes les ORPphilines, les stratégies de synthèse totale de l'OSW-1 ont été les

plus décrites(94). Ensuite, grâce aux travaux de l'équipe de Wiemer, les SWs et les analogues synthétiques peuvent être obtenus(100). Pour les céphalostatines, des synthèses totales ont également été décrites dans la littérature(101). Récemment, les synthèses totales des stellettines et de la ritterazine B ont été reportées, ce qui va permettre l'étude de l'interaction de ces molécules avec leur cible biologique(102,103).

II. Mécanismes d'action connus et communs des ORPphilines

1. La cible biologique, la famille des protéines OSBP

Ces cinq molécules naturelles induisent toutes une inhibition de la croissance des cellules cancéreuses avec une IC_{50} de l'ordre du nanomolaire sur certaines des 60 lignées du National Cancer Institute (NCI-60). Depuis 1999, le NCI utilise l'algorithme COMPARE NCI-DTP qui évalue la similitude de sensibilité des différentes molécules sur le panel NCI-60, exprimée par un coefficient de corrélation de Pearson (r). Les molécules qui présentent entre elles un coefficient de corrélation $r > 0,6$ ont à priori un mécanisme similaire. Grâce à cette analyse, le NCI a constaté que la céphalostatine 1, l'OSW-1, la ritterazine B, la schweinfurthine A et la stellettine E possèdent une forte corrélation d'activité, laissant suggérer qu'elles ont probablement une cible biologique commune.

Cependant, cette cible commune est restée inconnue jusqu'en 2011, quand Burgett *et al.* ont identifié la cible biologique probable de ces molécules(2). Ils ont utilisé une chromatographie d'affinité, suivie d'une électrophorèse sur gel des protéines retenues et d'une analyse par spectrométrie de masse et ont alors identifié les protéines OSBP et ORP4L, appartenant à la super famille de protéines des ORPs. Ainsi, en raison de leur affinité pour les ORPs, confirmée par une étude d'interaction directe avec OSBP et ORP4L, ces molécules cytotoxiques ont été nommées les ORPphilines.

Les ORPs sont impliquées dans la transduction du signal, le transport des lipides et leur métabolisme. Dans la revue publiée par Pietrangelo *et al.*, les mécanismes d'action des ORPs et notamment ceux d'OSBP et leur implication dans certaines pathologies sont décrits de manière précise(104).

La protéine OSBP est un récepteur soluble pour les oxystérols et se situe au niveau de l'appareil de Golgi. Elle est constituée de plusieurs domaines dont son domaine C-terminal de liaison aux lipides, l'ORD (OSBP-related domain) qui possède un motif bien conservé au cours de l'évolution. Son domaine N-terminal PH (pleckstrin homology) est capable de reconnaître les PIPs (phosphatidyl-inositol phosphates) et d'interagir avec le TGN (trans Golgi network). D'autre part, son domaine FFAT (two-phenylalanines-in-an-acidic tract) interagit avec la protéine VAP (vesicule-associated membrane protein-associated protein) du RE (réticulum endoplasmique). Grâce à ces interactions, l'OSBP assure le transfert du cholestérol de RE vers le Golgi en échange de PI4P, qui va être hydrolysé par la PI4P phosphatase Sac1 au niveau du RE (Figure 27, (104)). Elle assure aussi le métabolisme des lipides au niveau du site de contact des membranes et permet la synthèse des sphingomyélines (qui sont les constituants principaux de la gaine de myéline) par enrichissement du cholestérol dans le Golgi, ce qui amène à une cascade de recrutement de protéines dont les céramides qui sont les substrats de synthèse des sphingomyélines.

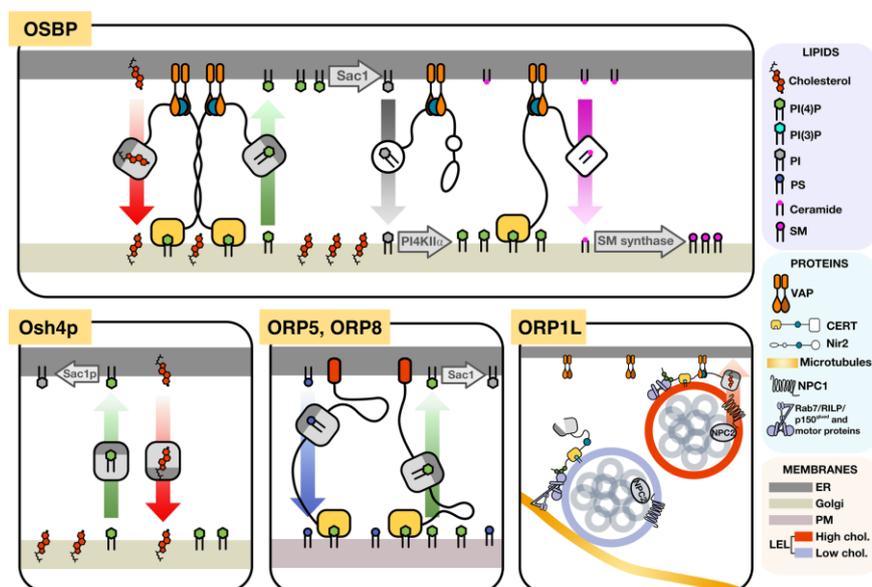


Figure 27. Fonctionnement des OSBP et ORPs

2. Implication des protéines OSBP dans le cancer

En se liant à la protéine OSBP, Burgett *et al.* ont montré que les ORPphelines perturbent le transfert de lipides entre le RE et le Golgi, et empêchent les cellules de s'enrichir en cholestérol, indispensable dans la formation des membranes cellulaires et dans la survie cellulaire. Elles provoquent également une diminution d'expression d'OSBP ainsi qu'une diminution de synthèse des sphingomyélines. De plus, ils ont

démonstré que l'effet cytotoxique des ORPphilines est lié à l'inhibition d'OSBP et d'ORP4L car ces protéines sont impliquées dans la croissance et la prolifération des cellules cancéreuses. En effet, une surexpression d'OSBP et d'ORP4L confère aux cellules cancéreuses une résistance à ces molécules et une prolifération cellulaire plus élevée.

Même si le lien entre la protéine OSBP et la cytotoxicité n'est pas encore bien connu, de nombreuses études cherchent à comprendre l'activité anticancéreuse et les mécanismes de mort cellulaire précis induits par les ORPphilines. Parmi les nombreux mécanismes étudiés, l'implication de la voie PI3K/Akt/mTOR (Figure 28, (105)) semble commune aux ORPphilines. Cette voie de signalisation est souvent surexprimée dans les cellules cancéreuses, ce qui permet une prolifération cellulaire importante.

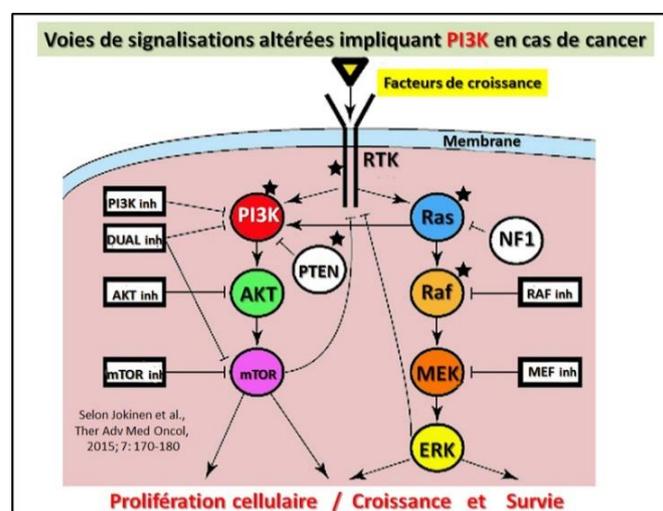


Figure 28. La voie PI3K/Akt/mTOR

En inhibant OSBP, les ORPphilines perturbent le transfert du cholestérol au sein de la cellule. Or l'apport en cholestérol est nécessaire pour le bon fonctionnement et l'activation par phosphorylation de cette voie, permettant la prolifération cellulaire(106). Les ORPphilines modifient la rigidité des membranes, dont la membrane plasmique ce qui empêcherait la formation de radeaux lipidiques dans lesquels la protéine Akt doit s'insérer pour être phosphorylée(104). Ainsi, en perturbant la phosphorylation d'Akt ou d'autres protéines en amont d'Akt, cela inhibe la phosphorylation successive des protéines de la voie PI3K/Akt/mTOR et entrave la prolifération et la croissance des cellules cancéreuses.

III. Activité anticancéreuse et études de RSA des ORPphilines

Même si la protéine OSBP est la cible biologique commune des ORPphilines, certaines études montrent qu'elle n'est pas la seule cible des ORPphilines et chaque famille de molécules possède des effets biologiques différents qui vont être détaillés dans cette partie.

1. Céphalostatine 1 et ritterazine B

Les céphalostatines et les ritterazines possèdent des structures très proches et possèdent des activités anticancéreuses prometteuses. Leur concentration d'inhibition de croissance des cellules tumorales 50 (GI_{50}) est de l'ordre de 1,2 nM pour la céphalostatine 1 et 3,2 nM pour la ritterazine B, ce qui les rend plus puissantes, *in vitro*, que le taxol (29 nM)(88). Les recherches ont été principalement concentrées sur les céphalostatines, pour lesquelles les stratégies de synthèse étaient beaucoup plus décrites. Peu d'études ont en effet été effectuées pour les ritterazines.

Plusieurs céphalostatines ont été testées sur le panel NCI-60 et ont montré une activité cytotoxique de l'ordre de picomolaire sur une grande partie des lignées et notamment sur la lignée cellulaire leucémique lymphoïde P388(88).

Le mécanisme cytotoxique exact des céphalostatines n'est pas encore connu mais des études suggèrent qu'elles induisent l'apoptose par un mécanisme atypique, notamment en passant par une modification de la porosité de la membrane mitochondriale qui entraîne la libération de protéines pro-apoptotiques, notamment le complexe Smac/DIABLO, ainsi qu'un stress du RE, provoquant l'activation de la caspase 4, ce qui enclenche l'apoptose(107–109). La libération du complexe Smac/DIABLO est essentielle dans le mécanisme d'induction de l'apoptose par la céphalostatine 1, même si la céphalostatine 1 aurait d'autres cibles en amont pour coopérer avec ce dernier, car si cette fonction est mise en silence, la céphalostatine 1 induit juste un changement de morphologie de la mitochondrie(109). Ce mécanisme atypique a été caractérisé dans les cellules leucémiques, ce qui suggère que les céphalostatines pourraient être utilisées dans les leucémies résistantes aux agents cytotoxiques actuellement sur le marché(101,108).

Parmi les ritterazines, la ritterazine B a été testée sur la lignée du cancer du poumon non à petites cellules PC14 avec une GI_{50} de 75 nM, ce qui la rend plus active que les agents anticancéreux actuellement utilisés en clinique qui possèdent une GI_{50} entre 0,24 et 5,8 μ M. Elle semble induire l'apoptose par un blocage du cycle cellulaire en phase G2/M grâce à l'inhibition de CDK4/D1, une cycline qui contrôle la progression de la phase G1 et de la transition G1/S, avant le passage de la mitose. Cela empêche la mitose des cellules et induit l'apoptose dans ces cellules indépendamment de la voie des caspases(110).

Récemment, six analogues fonctionnalisés de la céphalostatine 1 ont été testés sur trois lignées cellulaires différentes : la lignée de leucémie K-562, la lignée de cancer du sein MCF-7 et la lignée de cancer de la prostate DU145. Deux d'entre eux ont montré une GI_{50} submicromolaire. Ces analogues ont permis d'établir des études de RSA et d'évaluer l'impact des fonctionnalisations sur l'activité des molécules(111).

Parmi toutes ces molécules, cinq motifs fréquents (I-V) et trois motifs plus rares (VI-VIII, Figure 29) ont été reportés pour les parties droite et gauche de ces alcaloïdes(88).

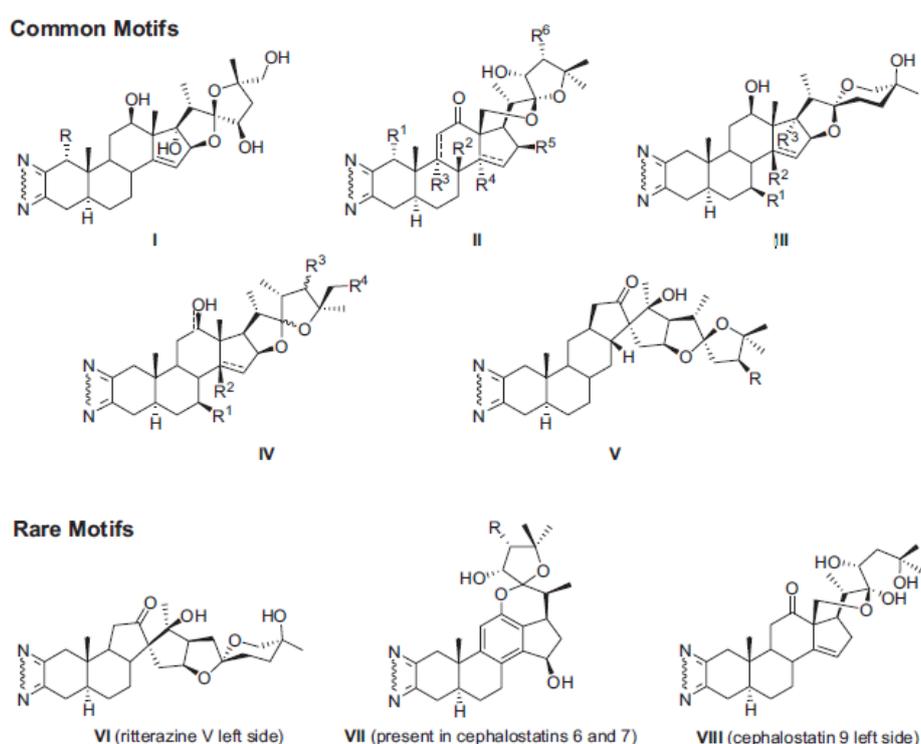


Figure 29. Les motifs communs des céphalostatines et des ritterazines

Ainsi, les premières études RSA ont été établies à partir des données d'activité biologique disponibles pour les céphalostatines et les ritterazines :

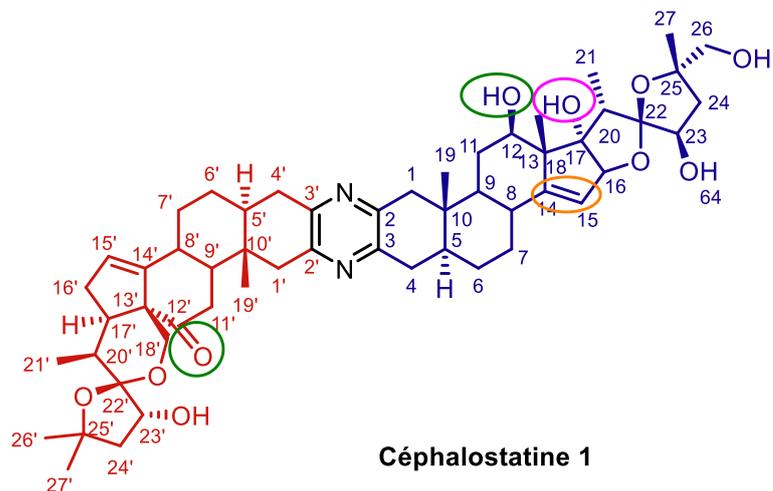


Figure 30. RSA des céphalostatines

- Les deux motifs stéroïdes asymétriques (partie gauche en rouge et partie droite en bleu, Figure 30) sont essentiels pour l'activité biologique. Si le squelette du motif stéroïde a été réarrangé (comme motif V), cela entraîne une diminution de l'activité.
- Le noyau pyrazine (en noir) permet de garder une distance de 30 Å entre les deux motifs stéroïdes.
- La double liaison C₁₄-C₁₅ (entourée en orange) semble être importante pour l'activité biologique et doit être présente au moins dans un des deux motifs stéroïdes.
- Toutes les céphalostatines et ritterazines contiennent des fonctions oxydées en position 12 et 12' (entouré en vert) et sont indispensables à l'activité biologique.
- Le 17 α -OH (entouré en rose) présent dans au moins un des deux motifs stéroïdes permet une meilleure activité.
- Une méthylation ou une hydroxylation en position pseudo-benzylique (1 ou 1') diminue l'activité.
- L'hydroxylation des positions 7' ou 9' n'a pas d'effet sur l'activité.

Ces règles vont être utiles dans la conception des analogues afin de mieux comprendre le mécanisme d'action de ces molécules.

2. Stelletines

La stelletine B a été étudiée sur 39 lignées de cellules cancéreuses et présentait une inhibition de croissance des cellules du glioblastome humain SF295 très puissante avec une GI_{50} de 0,01 μ M. De plus, cette puissante activité cytotoxique semble être ciblée sur les lignées cancéreuses. En effet, la stelletine B n'est pas active (GI_{50} supérieur à 10 M) sur les lignées cellulaires normales telles que, les cellules endothéliales humaines HMEC, les cellules tubulaires rénales humaines RPTEC, les cellules normales épithéliales bronchiques humaines NHBE et les cellules normales épithéliales prostatiques humaines PrEC(112). Cette molécule a également été testée sur les lignées présentant une mutation génétique comme dans les cellules du cancer du côlon, où la protéine p21 (qui contrôle l'arrêt du cycle cellulaire) est déficiente, avec une IC_{50} de l'ordre d'une dizaine de nM (91).

Le mécanisme d'induction de l'apoptose par la stelletine B passe par une inhibition de la phosphorylation d'Akt ou d'autres protéines en amont d'Akt(93), ce qui inhibe la phosphorylation successive des protéines de la voie PI3K/Akt/mTOR. Cela entraîne une augmentation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS pour reactive oxygen species), qui va provoquer un stress oxydatif du RE et activer les caspases, menant ainsi à la mort cellulaire par apoptose. Ce mécanisme a notamment été démontré dans les cellules humaines de cancer du poumon non à petite cellules A549(113) et de leucémie HL-60(112).

Une équipe a récemment montré que la stelletine B inhibe l'angiogenèse sur des modèles de poisson zèbre et de souris. De plus, la stelletine B réduit l'expression des facteurs pro-angiogéniques et inhibe l'actine F, ce qui permet de bloquer la mobilité cellulaire et d'exercer un effet anti-migratoire(114). Ces résultats confirment que la stelletine B possède un effet anti-angiogénique puissant, ce qui permet de l'envisager comme traitement dans les cancers particulièrement invasifs, notamment dans le cas du glioblastome.

D'autres stelletines ont montré une activité cytotoxique contre les cellules de l'adénocarcinome gastrique avec une IC_{50} de l'ordre du μ M(115). De plus, les stelletines inhibent également l'activation du facteur de transcription NF- κ B induite par le TNF- α . Ce facteur est souvent suractivé dans le cas des cancers et provoque une inflammation(116).

Peu d'études de RSA des stellettines ont été décrites en raison de la difficulté d'obtention de ces molécules et de ses analogues. Toutefois, une revue sur les éponges marines du genre *Stelletta* souligne que les cycles lactones α , β -insaturés des stellettines (en rouge, Figure 31) semblent être responsables de leur interaction avec la sous-unité catalytique IKK β , nécessaire pour la liaison de NF- κ B à l'ADN. De plus, la présence d'une cétone en position C₃ (en bleu) est nécessaire pour la production de ROS(115).

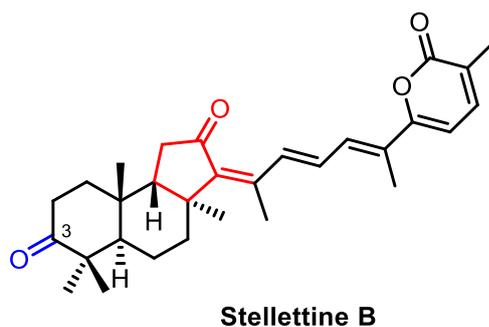


Figure 31. RSA des stellettines

3. OSW-1

L'OSW-1 est la molécule la plus étudiée parmi toutes les ORPphilines. Cette molécule a été testée sur de nombreuses lignées cancéreuses dont les lignées de leucémie HL-60 et ML-1, de leucémie lymphoïde humaine, la lignée du cancer de l'ovaire SKOV3, les lignées de tumeurs cérébrales malignes U87-MG ainsi que la lignée du cancer pancréatique AsPC-1(117). Elle a montré une activité inhibitrice de ces six lignées avec une IC₅₀ subnanomolaire, avec une activité cytotoxique *in vitro* remarquable sur les cellules de leucémie lymphoïde chronique des patients réfractaires ou résistants à la fludarabine.

Zhang *et al.* ont montré qu'OSW-1 inhibe la croissance des cellules cancéreuses du côlon *in vitro* et induit *in vivo* la réduction de tumeurs humaines de cancer du côlon greffées sur des souris(118). De plus, ils ont remarqué que l'effet cytotoxique d'OSW-1 affecte peu les cellules saines *in vivo*. Ces résultats laissent supposer qu'OSW-1 pourrait devenir un médicament dans le traitement du cancer du côlon.

Récemment, une étude a montré qu'OSW-1 possède une forte activité cytotoxique avec une IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire sur plusieurs lignées de cancer

du sein, notamment sur les cellules du cancer du sein triple négatif MDA-MB-231 et MDA-MB-453(119). L'OSW-1 a été évaluée *in vitro* et *in vivo* dans un modèle de souris greffé de cellules MDA-MB-231, où l'OSW-1 a montré une activité inhibitrice de la croissance tumorale, de l'invasion et de la migration des cellules cancéreuses.

Le mécanisme d'induction de l'apoptose par l'OSW-1 a été mis en évidence dans les cellules leucémiques et du cancer du pancréas et semble passer par une perte de potentiel transmembranaire, liée à une augmentation de la concentration de calcium cytosolique, conduisant à l'activation de la voie de l'apoptose calcium-dépendante(94,118,120). De plus, une autre étude a montré qu'OSW-1 induit également un stress de l'appareil de Golgi, ce qui déclenche l'apoptose(121).

Dans une étude récente, il a été montré que l'OSW-1 présente une activité cytotoxique dans les cellules de cancer de l'ovaire dans un modèle d'agrégation de cellules tumorales formant des sphéroïdes, modélisant les caractéristiques des sphéroïdes tumoraux retrouvés dans le cancer séreux de haut grade HGSC, qui favorisent la chimiorésistance(122). Les sphéroïdes ont été formés à partir des lignées de cellule du cancer de l'ovaire SKOV-3 et OVCAR-8. L'OSW-1 a montré une inhibition de viabilité des sphéroïdes avec une IC₅₀ de 4 nM pour SKOV-3, alors que le paclitaxel présente une IC₅₀ de 10µM. Ces résultats indiquent qu'OSW-1 est un agent cytotoxique puissant contre les sphéroïdes tumoraux et peut être envisagé comme traitement dans les cancers de l'ovaire de haut grade chimiorésistants.

Lié à ces activités cytotoxiques puissantes ciblées sur les lignées cancéreuses, des études de RSA ont été établies grâce à la synthèse d'analogues d'OSW-1 et les motifs essentiels pour l'activité cytotoxique de l'OSW-1 ont été décrits dans la revue publiée par Tang *et al.*(94) :

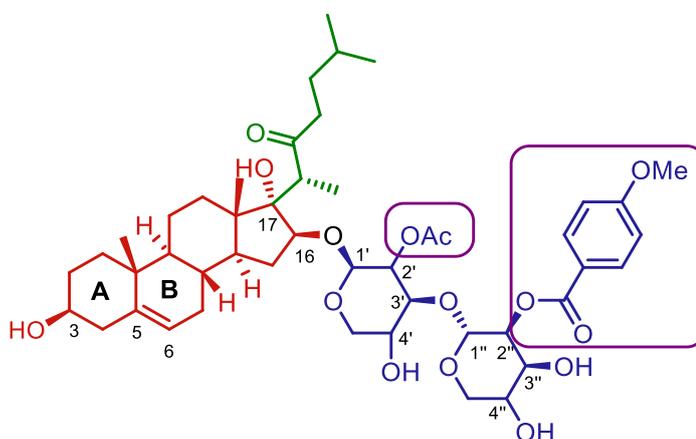


Figure 32. RSA de l'OSW-1

- La partie 16-O-disaccharide (en bleu, Figure 32) est essentielle pour l'activité anti-tumorale, notamment la perte des groupements acétyle en position 2' et 4-méthoxybenzyle en position 2'' (encadrés en violet) diminue l'activité cytotoxique. De plus, la configuration absolue du carbone 16 pour que la liaison O-glycosidique soit en position β est requise pour l'activité biologique.
- La liaison glycosidique en position 1'-3' du disaccharide est essentielle.
- Les substitutions des hydroxyles en position 4' et 4'' diminuent l'activité.
- La chaîne latérale située au niveau du carbone 17 (en vert, Figure 32) ne semble pas être essentielle et peut subir des modifications sans affecter l'activité. Cependant, cette proposition est controversée dans une autre étude où on attribue à cette chaîne latérale en position 17 la capacité de se lier aux protéines compte-tenu de son caractère hydrophobe(123).
- Les cycles A et B de la partie stéroïde (en rouge, Figure 32) peuvent subir des modifications sans trop affecter l'activité. Un analogue avec le cycle A remplacé par un cycle aromatique est aussi puissant que le cisplatine même s'il est beaucoup moins puissant que le composé naturel OSW-1.
- Les dérivés du 5,6-dihydro-OSW-1 sont aussi actifs que l'OSW-1.
- La substitution de l'hydroxyle en position 3 par un glucose n'affecte pas l'activité.

Récemment une analyse conformationnelle de l'OSW-1 a montré qu'elle possède deux conformations en solution grâce à une analyse de cristallographie aux rayons X et des études d'analyse conformationnelle(124). En effet, pour le conformère majoritaire, la partie disaccharide modifie l'orientation du groupement 4-méthoxybenzyle, indispensable pour l'activité biologique, afin d'établir une interaction avec la chaîne latérale en position 17. Ceci modifie la conformation tridimensionnelle et la polarité de l'OSW-1, tandis que pour le conformère minoritaire, le groupement 4-méthoxybenzyle est orienté vers le noyau stéroïde. Ces pistes sont particulièrement intéressantes afin d'approfondir les études de RSA de l'OSW-1 avec sa cible biologique.

4. Schweinfurthines

La famille des SWs est particulièrement remarquable pour leur activité cytotoxique, de l'ordre du nanomolaire (nM), ciblée sur certaines lignées du panel NCI-60 et notamment sur les lignées du système immunitaire, du rein, du mélanome et de la leucémie, alors qu'ils sont beaucoup moins actifs sur d'autres lignées comme celle du cancer du poumon non à petite cellule A549(99).

La SW A s'est révélée efficace dans le glioblastome multiforme où le gène *NF1* est muté (généralement appelé neurofibromatose de type 1 NF1), ce qui confère aux cellules cancéreuses une invasivité vers les zones saines(98). Elle a montré des activités inhibitrices de croissance GI_{50} des cellules du glioblastome SF-295, SF-539 et SNB-75 de l'ordre d'une dizaine de nanomolaire(100). De plus, les SWs possèdent un effet cytotoxique remarquable *in vitro* de l'ordre du nM, sur les cellules du cancer du sein triple négatif, ce qui permet de les envisager comme une nouvelle alternative de traitement pour ce type de cancer qui a peu d'alternative de traitement et une faible survie(99).

Les SWs et leurs analogues ont également été testées *in vitro* sur les cellules du mélanome métastatique murines et humaines(125). Elles ont montré une IC_{50} de l'ordre d'une dizaine de nM contre la lignée UACC-62, d'une centaine de nM contre la lignée UACC-903 et d'une dizaine de μ M contre UACC-257. Dans cette étude, l'administration concomitante d'un analogue de SW G avec un anticorps anti-PD1 (un récepteur de surface des lymphocytes T qui peut interagir avec l'antigène de surface PD-L1 des cellules tumorales afin de réprimer le système immunitaire) a permis d'améliorer l'efficacité du traitement. Ces résultats suggèrent que les SWs pourraient déclencher la mort cellulaire immunogène par la perturbation du TGN.

Dans la revue publié par Koubek *et al.*, le mécanisme de cytotoxicité des SWs a été décrit(99). Les premières études ont été effectuées grâce à l'évaluation des activités cytotoxiques des analogues fluorescents de la SW B sur les lignées cellulaires SF-295 (lignée sensible à la SW) et A549 (lignée résistante). Ces derniers ont montré que la cytotoxicité de la SW A est liée à l'induction de l'apoptose, dû au clivage de la caspase-9 et de PARP dans les cellules SF-295. De plus, les SWs induisent un changement morphologique et un réarrangement de l'actine F, impliquée dans la structuration, l'organisation et l'interaction des cellules avec leur environnement, dans les cellules SF-295 où le gène *NF1* est muté. Ce changement morphologique des

cellules peut également être lié à l'effet des SWs sur le métabolisme des lipides, notamment en perturbant le trafic intracellulaire des échanges des lipides au niveau du TGN ainsi que le métabolisme du cholestérol et en inhibant la phosphorylation de l'Akt, ce qui affecte la voie de survie cellulaire PI3K/Akt/mTOR.

La SW A a également été étudiée sur un modèle homologue de la protéine OSBP de la levure Osh2, qui possède la même fonction de transfert des stérols en échange de PI4P au niveau des membranes(126). Cela a permis de confirmer les interactions de la SW A avec les différents acides aminés de la protéine, où les fonctions hydroxyles du motif HHX forment des liaisons hydrogènes avec les résidus Ser105 et Lys201 (Figure 33). Le phénol libre du cycle aromatique D forme une liaison hydrogène avec le résidu Val113. La chaîne isoprényle est placée dans une poche hydrophobe, où elle interagit avec Leu41, Leu45, Leu58, Met56 et Phe174. Ce modèle suggère que la SW A occupe le même site de liaison que l'ergostérol dans la protéine Osh2, ce qui affecte l'échange des lipides entre les membranes.

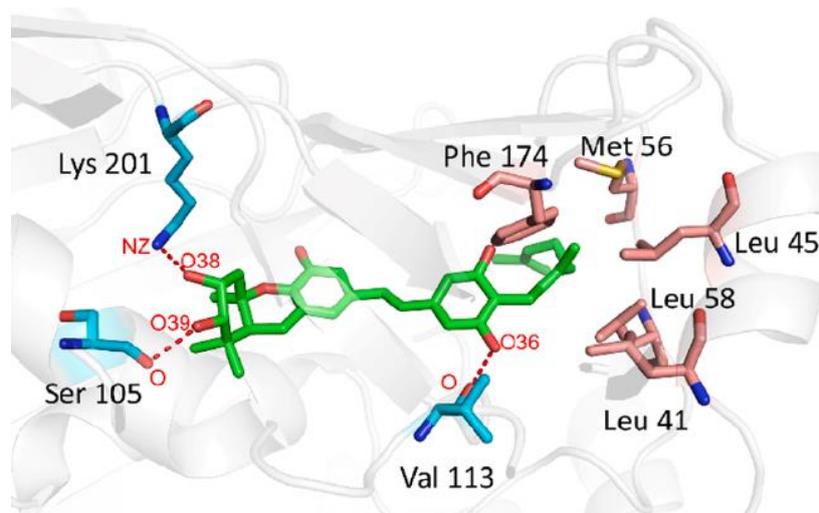


Figure 33. Interactions entre la SW A et la protéine Osh2 selon Moosavi et al.

Dans une étude récente, la SW G a été rendue fluorescente afin d'étudier son mécanisme moléculaire au sein des cellules(127). L'expression intracellulaire de la protéine OSBP semble influencer la sensibilité des cellules aux SWs. Dans les cellules du glioblastome multiforme U87, l'expression de l'OSBP est faible alors qu'elle est élevée dans les cellules A549. Ainsi, plus l'expression de l'OSBP dans les cellules est élevée, plus ces cellules sont résistantes à la SW G. L'OSBP a donc un effet protecteur contre l'activité cytotoxique de la SW G. Les auteurs ont également confirmé grâce à une analyse de FRET intermoléculaire que la SW G interagit avec le domaine ORD de

la protéine OSBP avec une forte affinité, de l'ordre du nM, en s'insérant dans sa poche de liaisons aux lipides.

Les études de RSA des SWs ont été réalisées et sont détaillées dans la revue de Koubek *et al.*(99) :

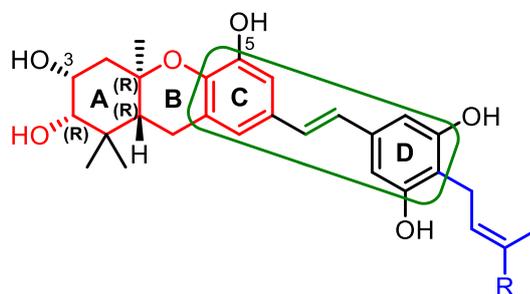


Figure 34. RSA des SWs

- En comparant l'activité des SWs naturelles A, B versus C, le motif HHX (en rouge, Figure 34) est essentiel pour l'activité cytotoxique.
- La présence ou l'absence de fonction hydroxyle en position C3 du motif HHX n'a pas d'effet sur l'activité biologique (comparaison entre SW A et SW F).
- Les SWs avec la position C5 substituée par un phénol libre sont plus actives que si elle est substituée par un méthoxy. Une diminution d'activité a été observée si cette position n'est pas substituée ou est substituée par un fluor ou un thiométhyl. En revanche, si elle est substituée par un groupement hydroxyméthyle, l'activité est moins affectée. Ces résultats suggèrent que la position C5 est impliquée dans une interaction de type liaison d'hydrogène avec la cible biologique.
- Le cycle aromatique D de la partie stilbène (encadré en vert) doit être substitué par au moins un phénol libre pour maintenir l'activité cytotoxique. S'il y a deux phénols, un des deux phénols peut être méthylé, ce qui augmente la stabilité des analogues sans affecter l'activité.
- Le substituant en para du stilbène peut être modulé selon la longueur de la chaîne, allant d'une chaîne prényle à une chaîne géranyle (en bleu). Cette position est également tolérante vis-à-vis d'autres substituants alkyles sans trop affecter l'activité.

- Les analogues où le cycle D est remplacé par un indole(128) substitué ou non par une chaîne prényle montrent des activités intéressantes, notamment liées à de meilleures propriétés de drugabilité. Des analogues avec d'autres substituants en cette position ont permis d'élaborer des SWs fluorescentes pouvant servir de sonde afin d'explorer le mécanisme et la localisation cellulaire des SWs.
- La configuration de la double liaison du stilbène a également été étudiée et la configuration *trans* (en vert) est beaucoup plus active que la configuration *cis*. Le remplacement de la double liaison par une liaison amide isostérique, afin d'augmenter la solubilité, a permis de maintenir l'activité de ces composés si le carbonyle est du côté du cycle C.
- La configuration des stéréoisomères des SWs est également importante. Il a été montré sur la SW F que l'énantiomère de configuration (*R,R,R*) est plus actif que l'énantiomère (*S,S,S*) avec une activité inhibitrice GI₅₀ 1000 fois supérieure dans les cellules SNB-75. De plus, l'activité cytotoxique de l'énantiomère (*R,R,R*) de la SW F sur le panel NCI-60 est corrélée, selon le coefficient de Pearson, avec les autres SWs, alors que ce n'est pas le cas de l'énantiomère (*S,S,S*) même s'il possède également une activité cytotoxique(129).

IV. Conclusion

Toutes les ORPphilines ont été testées sur le panel NCI-60 avec une IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire (nM) sur certaines lignées sensibles. On peut également remarquer que certaines molécules sont plus ou moins actives que d'autres sur certaines lignées. Le Tableau 1 résume l'activité anticancéreuse des ORPphilines testée sur certaines lignées cancéreuses.

Tableau 1. Les lignées testées et sensibles aux différents ORPphilines

| | Céphalostatine 1 (2,87) | Ritterazine B(2,87,110) | Stelletine E/B(2,91– 93,114) | OSW-1 (94,117,118, 122) | SW A(98,99) |
|--|------------------------------------|------------------------------------|---|--|-----------------------------|
| <i>Leucémie lymphoïde P388</i> | ++++ subpM | +++ subnM | | +++ pM | |
| <i>Leucémie HL-60</i> | | | + μM | +++ subnM | |
| <i>Cancer des poumons non à petite cellule</i> | | ++ nM | + μM | | + μM |
| <i>Cancer du côlon HCT-116</i> | | | ++ p21 ⁽⁻⁾ subμM | ++ nM | |
| <i>Glioblastome multiforme SF- 295</i> | | | + μM | +++ pM | ++ <i>NF1</i> muté nM |
| <i>Cancer du sein triple négatif</i> | | | | ++ nM | ++ nM |
| <i>Ovaires SKOV3</i> | | | | ++ nM | + μM |

Ainsi, compte-tenu de leur activité cytotoxique ciblée sur certaines lignées, les ORPphilines représentent une piste de recherche importante, à la fois en tant qu'alternative pour un traitement anticancéreux, mais aussi pour l'étude de leur mécanisme d'action impliquant leur cible biologique OSBP afin de découvrir les liens entre l'homéostasie du cholestérol et le cancer.

Pour cela, la recherche de nouvelles stratégies de synthèse efficaces pour la mise au point d'analogues des ORPphilines représente un enjeu important pour le développement de nouveaux agents cytotoxiques afin de renforcer l'arsenal thérapeutique actuel, notamment dans le cas des cancers extrêmement résistants.

CHAPITRE 3. SYNTHÈSE
D'ANALOGUES DE LA FAMILLE DES
SCHWEINFURTHINES

Parmi les différentes familles d'ORPphilines, la famille des schweinfurthines est particulièrement intéressante car les SWs possèdent une activité cytotoxique ciblée de l'ordre du nanomolaire sur le glioblastome multiforme, un des cancers du cerveau les plus agressifs avec une évolution rapide et difficile à traiter.

Toutefois, la difficulté d'obtention de ces composées, que ce soit par isolement ou par synthèse, empêche les possibilités d'étude et de développement de ces composées.

Ainsi, lors de mon stage de fin d'étude de master au sein de l'équipe Métabolites de Plantes de l'ICSN, où les SWs sont étudiés depuis plusieurs années, la synthèse totale d'un analogue rigide et simplifié des SWs **1** de type coumarine-HHX « nue » **2** (Figure 35) a été réalisée afin d'effectuer des études de RSA notamment par la fonctionnalisation des positions **R₁** et **R₂** du motif coumarine. De plus, grâce aux propriétés de fluorescence des coumarines, les techniques d'imagerie et de microscopie devraient pouvoir être utilisées, notamment pour explorer l'interaction entre la molécule et sa cible afin de mieux comprendre son mécanisme d'action.

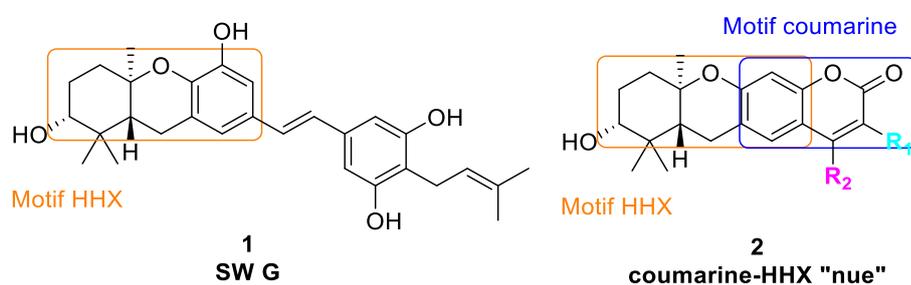


Figure 35. Structure de la SW G **1** et de la coumarine-HHX « nue » **2**

I. Stratégies de synthèse de la coumarine-HHX « nue » à partir du bromoresorcinol

1. Stratégie n°1 : synthèse du motif HHX puis formation de la coumarine

Une première stratégie de synthèse de la coumarine-HHX « nue » a été élaborée à partir d'un composé commercial, le bromoresorcinol (Schéma 1).

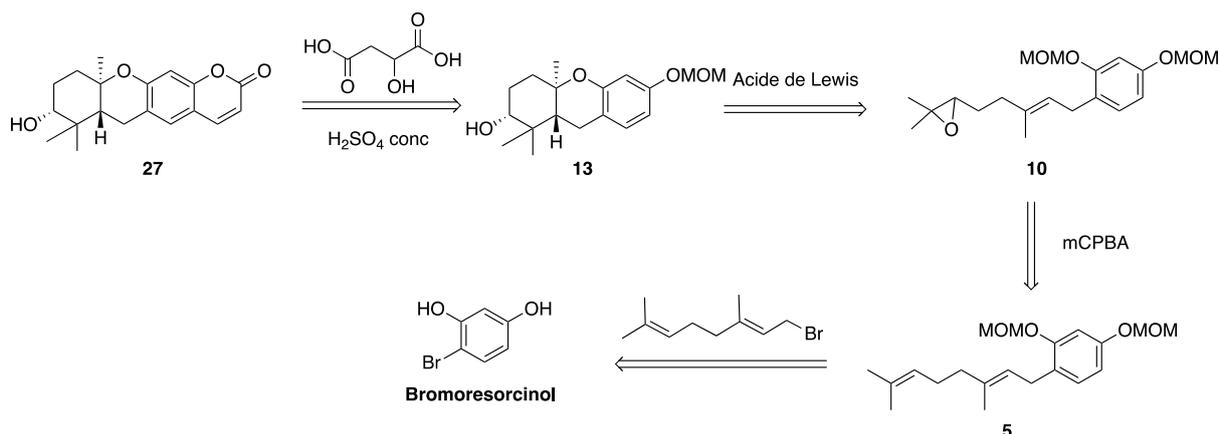


Schéma 1. Rétrosynthèse de la coumarine "nue" selon la première stratégie

Cette première stratégie de synthèse repose sur la synthèse du motif HHX puis formation du motif coumarine : elle débute par l'introduction d'une chaîne géranyle qui serait ensuite époxydée régiosélectivement au niveau de la double liaison terminale, ce qui permettrait de former le motif HHX. Le motif coumarine serait formé en dernier.

a) *Protection des groupements hydroxyles du bromoresorcinol*

Dans un premier temps, les deux fonctions phénols du bromoresorcinol **3** ont été protégées par des groupements méthoxyméthyles (MOM), ce qui permet d'éviter des réactions parasites et de favoriser la régiosélectivité de certaines réactions dans les étapes de synthèse suivantes. Cette protection a été réalisée en agitant le bromoresorcinol en présence de NaH et de MOMCl dans du DMF pendant 15 h et a permis d'obtenir le composé protégé **4** avec un rendement de 84 % (Schéma 2).

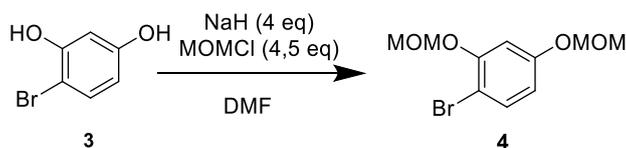


Schéma 2. Protection du bromoresorcinol

b) Géranylation du bromoresorcinol protégé **4**

L'étape d'alkylation d'un dérivé ester du MOM bromoresorcinol a été décrite dans la littérature(130) avec le bromure de géranyle en présence de *n*-BuLi et de CuBr.DMS dans du THF. Le mécanisme de la réaction passe d'abord par un échange halogène métal entre le brome du bromoresorcinol et le butyllithium pour former un organolithien intermédiaire. Ensuite, en présence de CuBr.DMS, le lithien est transformé en cuprate, ce qui permet de réaliser une substitution nucléophile sur le bromure de géranyle. Cependant, dans notre cas, cette réaction d'alkylation du composé **4** s'est révélée très complexe et a conduit à la formation de quatre produits secondaires en plus du composé **5** souhaité (Schéma 3).

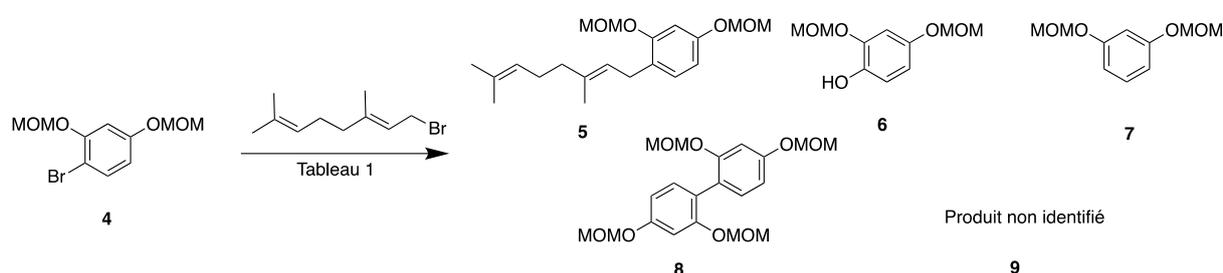


Schéma 3. Géranylation du bromoresorcinol protégé

Ainsi, pour éviter la formation des produits secondaires et améliorer le rendement du produit désiré **5**, plusieurs essais d'optimisation des paramètres de temps et températures ont été réalisés (Tableau 2).

Tableau 2. Optimisation des paramètres d'alkylation

| Entrée | <i>n</i> -BuLi 1,02 eq | CuBr. DMS 1,09 eq | Bromure de géranyle | Solvant | 5 ^a | 6 ^a | 7 ^a | 8 ^a | 9 ^a |
|----------------------|--|-------------------------|---|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1^b | 20 min, -78 °C | 20 min, -78 °C | 1,09 eq, 20 min, -78 °C puis -55 °C, 3 h puis -20 °C, 18 h | THF | / | 15 % | 26 % | 19 % | / |
| 2^b | 20 min, -78 °C | 20 min, -78 °C | 1,09 eq, ajout à -78 °C puis t.a 16 h | THF dégazé | 38 % | / | 32 % | 17 % | 12 % |
| 3 | 20 min, -78 °C | 20 min, -78 °C | 1,09 eq, ajout à -78 °C puis t.a, 16 h | THF dégazé | 65 % | / | 16 % | / | 19 % |
| 4^b | ajout à - 78 °C puis - 15 °C, 1 h 15 | 30 min, -78 °C | 1,09 eq, ajout à -78 °C puis t.a, 16 h | THF dégazé | 22 % | / | 52 % | 17 % | 9 % |
| 5 | 30 min, -78 °C | 30 min, -78 °C | 2 eq, ajout à -78 °C puis t.a, 20 h | THF dégazé | 71 % | / | 10 % | / | 19 % |

^a Estimation par rapport à la RMN ¹H brut (intégration par rapport au produit désiré **5**) ; ^b Essai réalisé à partir de 50 mg de bromoresorcinol protégé **4**.

Dans un premier temps, l'alkylation a été réalisée dans les mêmes conditions que celles de la littérature à partir de 50 mg du bromoresorcinol protégé **4** (entrée 1). Cependant, ces conditions ne permettent d'obtenir que les produits secondaires **6**, **7** et **8**. Des hypothèses sur la formation de ces produits secondaires ont été formulées :

Le composé oxydé **6** pourrait se former à cause de la présence résiduelle d'oxygène dissous dans le THF même si la réaction a été réalisée sous argon.

Le produit déhalogéné **7** est issu de l'hydrolyse du lithien et/ou du cuprate intermédiaire. Sa présence indique que la chaîne géranyle n'a pas été insérée soit car elle n'est pas assez électrophile ou parce que le temps de contact cuprate/bromure de géranyle est trop court ou parce que la température de réaction est trop basse.

La formation du dimère **8** est liée au fait que la lithiation n'était pas complète au moment de l'ajout du dérivé cuivré. Le produit de départ **4** restant a donc réagit avec le cuprate *via* un couplage d'Ullmann pour former le dimère **8**.

En se basant sur ces résultats, la réaction a ensuite été réalisée en utilisant du THF dégazé et en augmentant la température après ajout du bromure de géranyle (entrée 2). Dans ces conditions, le composé désiré a été obtenu majoritairement mais toujours accompagné des composés **7** et **8** dans les mêmes proportions que précédemment. De plus, le composé **6** a disparu au profit d'un nouveau produit secondaire non identifié **9**. Dans les mêmes conditions mais en partant de 200 mg de bromoresorcinol protégé **4**, le rendement de l'alkylation est meilleur (entrée 3) ce qui est peut-être dû à une meilleure précision des volumes de *n*-BuLi prélevés par rapport aux essais avec de faible quantité. Des variations de temps entre l'ajout de chaque réactif et de température ont été effectuées afin de limiter la formation des produits secondaires **7** et **9**, sans résultats (entrée 4).

Pour finir, la réaction a été réalisée sur 500 mg de bromoresorcinol protégé, avec 2 équivalents de bromure de géranyle et en laissant une durée plus longue entre chaque ajout de réactif (entrée 5). Ces conditions ont donné le meilleur résultat et le composé **5** est formé très majoritairement (71 % de conversion par intégration des signaux RMN ¹H du brut réactionnel). Le produit désiré **5** n'a été cependant obtenu qu'avec un rendement de 28 % après purification sur colonne de silice car sa polarité est très proche de celle des produits secondaires **7** et **9**, et ces produits sont difficilement séparables.

c) Epoxydation du resorcinol alkylé **5**

L'étape d'époxydation régiosélective a été réalisée d'après une procédure décrite dans la littérature(131) où une époxydation a été effectuée sur la chaîne géranyle avec un rendement de 45 %. Cette réaction a été réalisée avec 1,05 eq de mCPBA en solution dans du chloroforme à 0 °C. Cela a permis la formation du produit époxydé désiré **10** (56 % selon la RMN ¹H du brut) mais également du diépoxyde **11** (26 %) et du mono-époxyde régioisomère **12** (18 %) (Schéma 4).

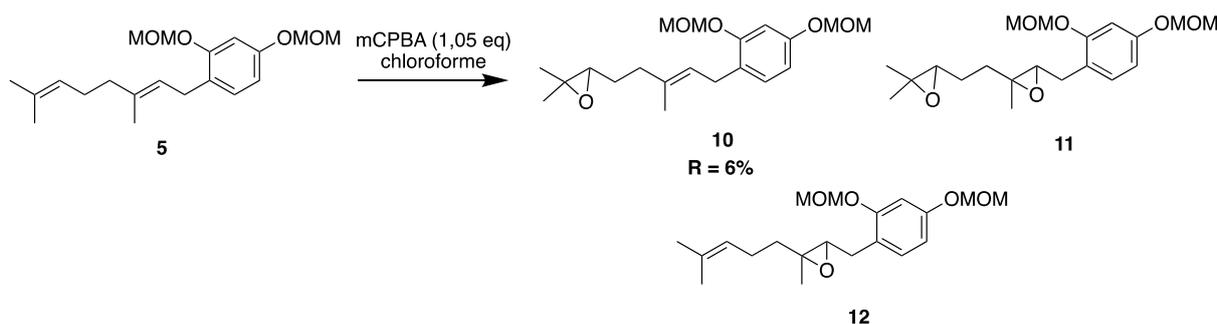


Schéma 4. Epoxydation du resorcinol alkylé

Le produit époxydé **10** et le mono-époxyde régioisomère **12** ont des polarités similaires ce qui rend leur séparation difficile : le rendement de l'époxyde **10** pur est très faible, de l'ordre de 6 %.

d) Cyclisation pour obtenir le motif HHX

La cyclisation en cascade a été réalisée à partir de 50 mg d'époxyde **10** en présence d'un acide de Lewis, le Me₂AlCl, dans du dichlorométhane à -10 °C (Schéma 5). Le brut réactionnel a commencé à se dégrader lors de la purification donc peu de produits ont été récupérés. Cependant, selon la RMN ¹H du brut réactionnel et des fractions de produits récupérés, le produit cyclisé désiré **13** (1 mg) a été formé ainsi qu'un composé **14** (1 mg) issu de l'addition du groupement MOM sur l'aromatique lors de la cyclisation.

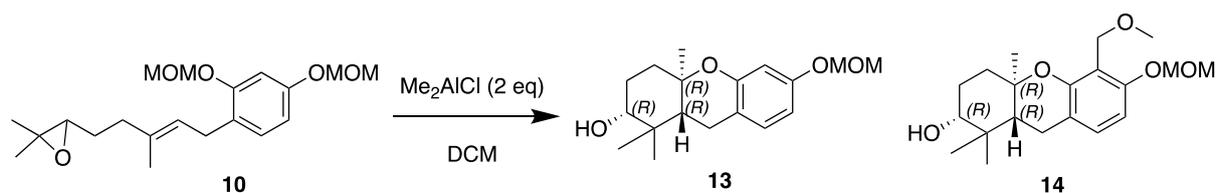


Schéma 5. Cyclisation en cascade pour former le motif HHX

Le mécanisme de cette cyclisation en cascade catalysée par un acide de Lewis a été décrit par Wiemer *et al.*(132) (Schéma 6). Tout d'abord, l'acide de Lewis se complexe avec l'oxygène de l'époxyde **10** pour former un intermédiaire **10a** qui peut s'ouvrir et générer un premier carbocation qui est piégé par l'oléfine interne de la chaîne géranyle. Le second carbocation ainsi généré est à son tour piégé par le phénol protégé pour conduire l'ion oxonium **10b** de jonction de cycle *trans*. Le carbocation issu du départ du groupement MOM peut-être éventuellement être piégé par le cycle aromatique pour conduire au composé **14**.

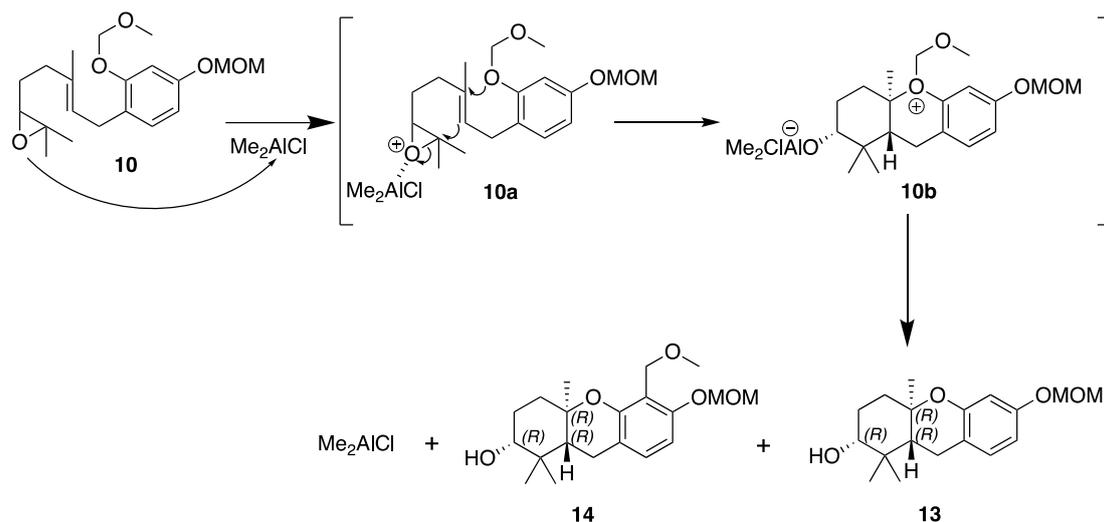


Schéma 6. Mécanisme de la cyclisation en cascade

e) Conclusion

Même si la molécule HHX cyclisée a pu être observée en RMN, mais elle s'est révélée d'être instable et se dégrade lors de l'étape de purification. Ainsi, à cause de l'instabilité des molécules finales, de la formation de nombreux produits secondaires et des problèmes de séparation des produits formés, cette voie de synthèse a été abandonnée.

2. Stratégie n°2 : synthèse du motif de coumarine puis cyclisation

Cette deuxième stratégie de synthèse repose sur la formation du motif coumarine avant de former le motif HHX dans l'espoir d'améliorer la stabilité des composés intermédiaires (Schéma 7).

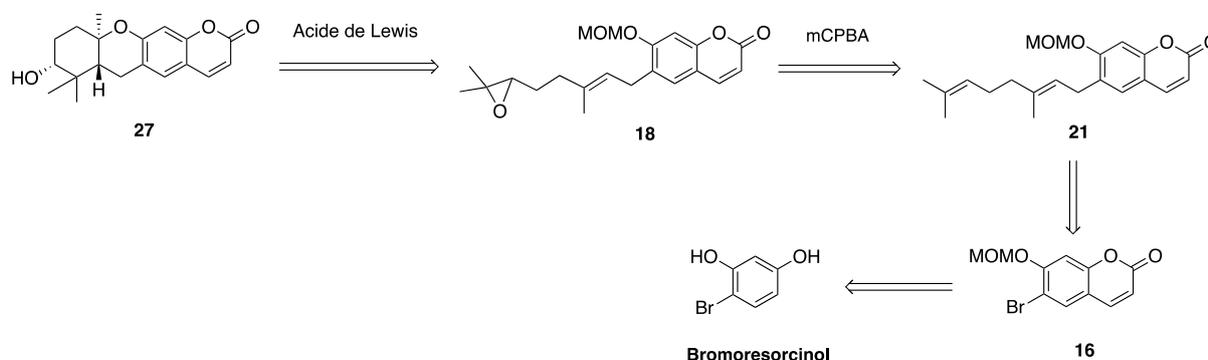


Schéma 7. Rétrosynthèse de la coumarine « nue » : stratégie n°2

a) Synthèse du motif coumarine et protection de l'hydroxyle

La synthèse du motif coumarine a été réalisée en utilisant une procédure de la littérature(133) en partant du bromoresorcinol avec de l'acide malique et de l'acide sulfurique à 115 °C. Cette réaction implique un mécanisme de condensation de Pechmann où l'acide malique forme *in situ* l'acide formylacétique en présence d'acide sulfurique à 100 °C. Cet intermédiaire réagit avec le bromoresorcinol pour conduire au motif coumarine après une étape de cyclisation et de déshydratation (Schéma 8).

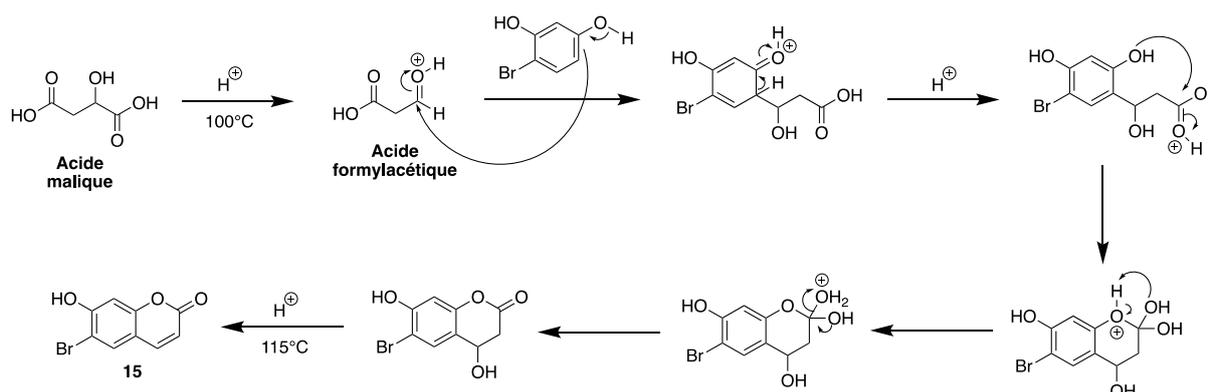


Schéma 8. Mécanisme de la condensation de Pechmann

A la fin de la réaction, le milieu réactionnel a été filtré sur Büchner et le solide rouge obtenu a été séché à 70 °C pendant 12 h. Ce solide contient, d'après l'analyse de son spectre RMN ¹H, 90 % de coumarine 15 désirée (Schéma 9). Des essais de

recristallisation ont été effectués sans succès. Ainsi, la coumarine brute a été directement engagée dans l'étape de protection.

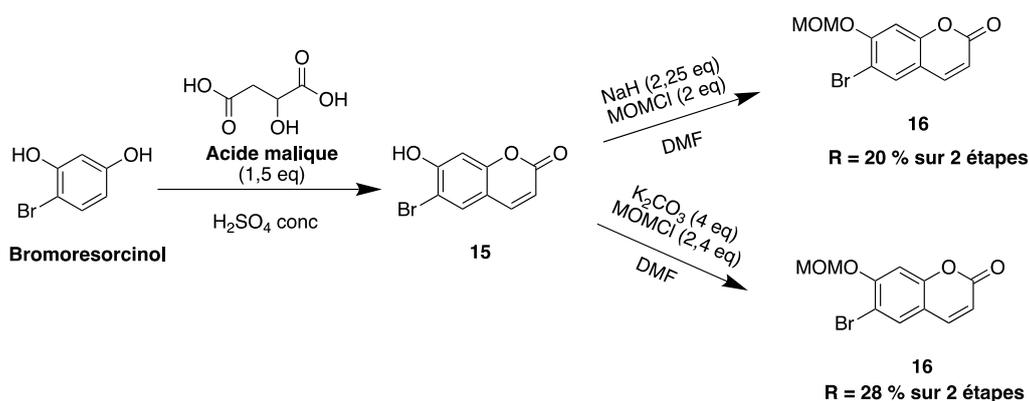


Schéma 9. Synthèse de la coumarine et protection

Dans un premier temps, l'étape de protection a été réalisée dans les mêmes conditions que pour la première voie à partir de 510 mg de la coumarine **15** en présence de NaH et de MOMCl dans du DMF. La conversion est totale, cependant après purification, la coumarine protégée **16** a été obtenue avec un rendement global de 20 % pour deux étapes. En changeant la nature de la base i.e. en utilisant 4 eq de K_2CO_3 et en purifiant le brut réactionnel par phase inverse, la coumarine protégée **16** a été obtenue avec un rendement de 28 % pour deux étapes.

Le problème majeur est dû au fait que le composé formé n'est pas stable et se dégrade lors de la purification. Par la suite, le composé **16** a été engagé directement dans l'étape suivante, sans purification.

b) Géranylation de la coumarine 16

- Géranylation par échange halogène-métal

Un essai d'alkylation direct de la coumarine **16** a été réalisé avec la chaîne géranyle époxydée **17** via un échange halogène-métal dans les mêmes conditions que précédemment. Ainsi, la chaîne géranyle époxydée a été synthétisée extemporanément selon une procédure de la littérature(131) et engagée sans purification dans la réaction d'alkylation. Cependant, le produit désiré **18** (Schéma 10) n'a pas pu être obtenu par cette stratégie. En effet, la RMN 1H et la LC-MS du brut réactionnel n'ont pas permis de détecter les signaux du produit désiré.

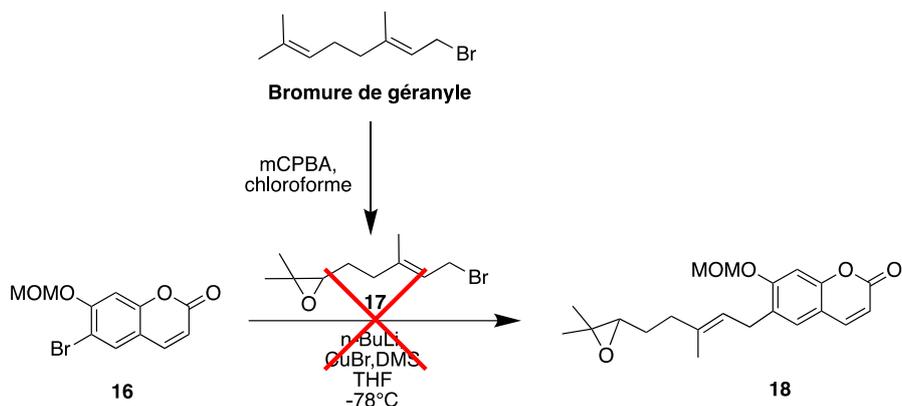


Schéma 10. Essai de géranylation directe de la coumarine **16** avec la chaîne géranyle époxydée

- **Couplage de Suzuki**

Dans un deuxième temps, nous avons envisagé d'effectuer un couplage de Suzuki avec l'ester boronique **20**. Celui-ci a été synthétisé avec un rendement de 45 % selon les conditions décrites par Dutheil *et al.*(134) à partir du géraniol et du bis (pinacolato)diboron en présence d'acide *para*-toluènesulfonique (TsOH) et du catalyseur au palladium **19** (Schéma 11).

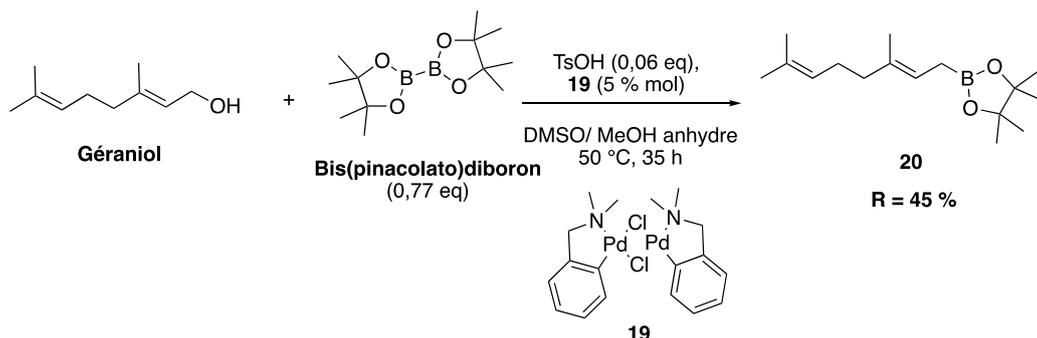


Schéma 11. Synthèse de l'ester boronique de la chaîne géranyle

Le couplage de Suzuki a été réalisé sur le composé **16** non purifié dans les conditions optimisées par l'équipe pour la synthèse du MTF5-A (Schéma 12). Trois composés ont été obtenus : le produit désiré **21** en mélange inséparable avec son isomère *Z* **22** avec un rendement de 32 % pour trois étapes et le produit déhalogéné **23** (3 % environ).

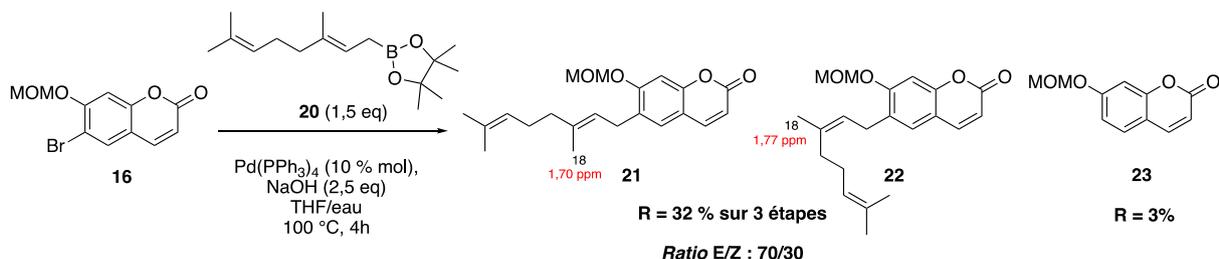


Schéma 12. Couplage de Suzuki

Lors de la réaction, on observe une isomérisation partielle de la double liaison de la chaîne géranyle insérée. Cette isomérisation Z/E lors du couplage de Suzuki a déjà été décrite dans la littérature.

L'intégration des signaux des méthyles 18 en RMN ^1H (Figure 36) a permis de déterminer que l'isomère Z est présent à hauteur d'environ 30 % (singulet à 1,77 ppm) et l'isomère désiré à 70 % (singulet à 1,70 ppm).

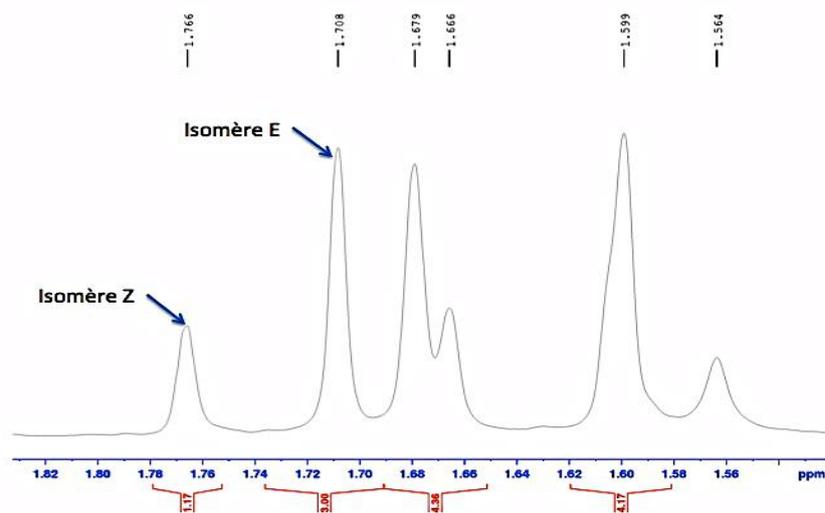


Figure 36. Intégration des signaux des méthyles H18 des isomères E et Z en RMN ^1H permettant de déterminer leur proportion respective après couplage de Suzuki

Etant donné que ces deux molécules ne sont pas séparables, la synthèse a été poursuivie sur ce mélange Z/E.

La déprotection du phénol a été réalisée en présence d'acide *para*-toluènesulfonique supporté dans de l'isopropanol. Cela a permis d'obtenir une molécule naturelle l'ostruthine **21a**(135), en mélange inséparable avec l'isomère Z **22a** avec un rendement de 57 % (Schéma 13).

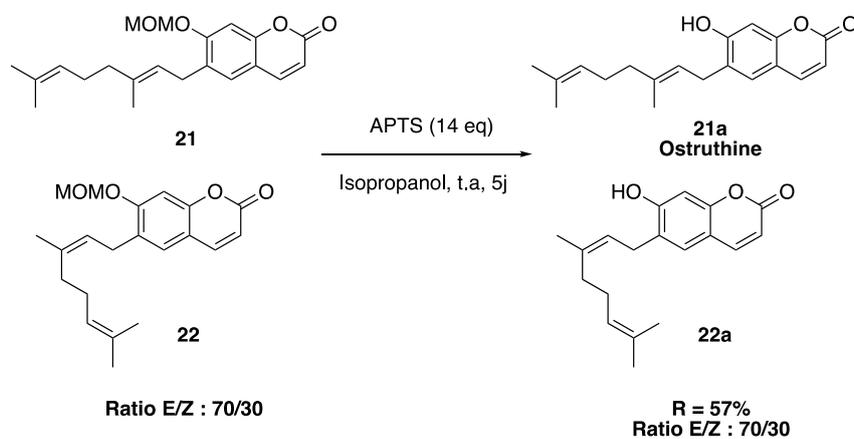


Schéma 13. Déprotection de la coumarine géranylée

Cette molécule naturelle a été isolée de plusieurs plantes. Elle possède des activités anti-inflammatoires(136) et antimicrobiennes(137), elle est inhibitrice de l'acétylcholinestérase(138) et elle est cytotoxique sur les cellules du muscle lisse vasculaire(139).

c) Epoxydation régiosélective

Une époxydation régiosélective de la chaîne géranyle a, en parallèle, été réalisée selon une procédure de la littérature(140) en ajoutant, par portion, au mélange de coumarines géranylée **21** et **22**, 1,4 eq de mCPBA sur une période de 4 h à -78 °C. Les mono-époxydes désirés **18** et **24** ont été isolés avec une pureté de 85 % avec un rendement de 53 % (soit un rendement de conversion RMN de 44 %). Ils sont en mélange inséparable avec le mono-époxyde régioisomère **25**. Le diépoxyde **26** a également été obtenu avec un rendement de 16 % (Schéma 14).

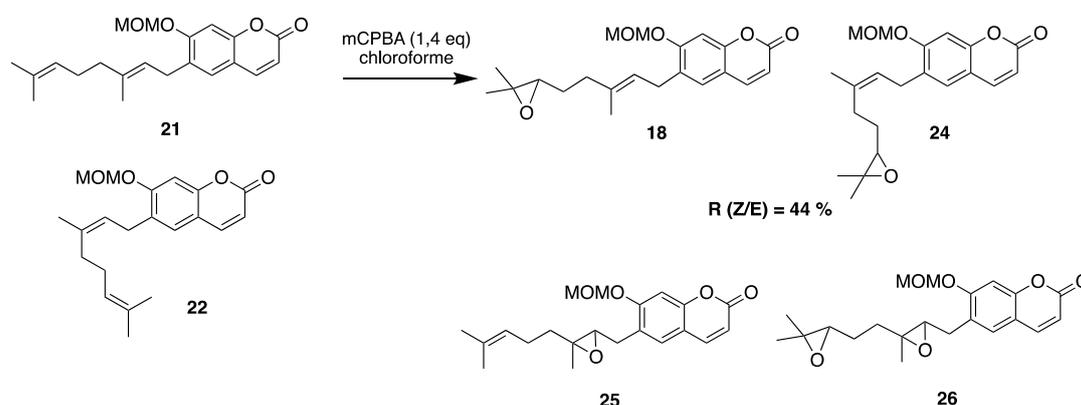


Schéma 14. Epoxydation régiosélective

d) Cyclisation pour former le motif HHX

Des essais de cyclisation préliminaires ont permis de déterminer que le BF_3OEt_2 était le meilleur acide de Lewis pour effectuer la cyclisation du motif HHX de la coumarine époxydée. Cette réaction a pu être effectuée en partant de 55 mg du mélange des composés **18** et **24** dans du dichlorométhane à -78 °C (Schéma 15). Après purification, le composé désiré **27** a été obtenu avec un rendement de 34 %. Un composé **28** issu de l'addition du groupement MOM sur l'aromatique a également été isolé avec un rendement de 46 %. Sa structure a été confirmée par l'analyse de ses spectres RMN 1D et 2D ainsi que par la LC-MS.

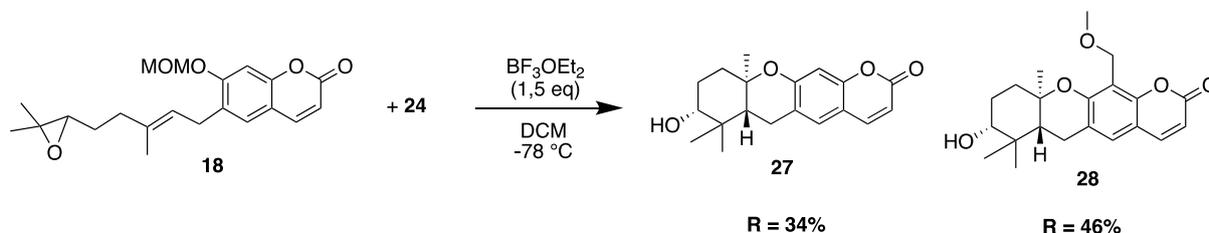


Schéma 15. Cyclisation de la coumarine

e) Conclusion

La deuxième stratégie de synthèse d'une molécule template de type coumarine à motif HHX s'est révélée plus efficace que la première car les intermédiaires sont plus stables et les rendements après purification meilleurs. Toutefois, certaines étapes nécessitent encore d'être optimisées. C'est le cas en particulier de la réaction d'époxydation.

II. Activité biologique de la coumarine-HHX « nue » et premier essais de fonctionnalisation

1. Activité biologique et propriétés photophysiques

L'activité biologique de la coumarine-HHX « nue » **27** et de la coumarine **28** a été évaluée par un test de cytotoxicité sur les lignées du glioblastome U87 (lignée sensible aux SWs de l'ordre d'une dizaine de nanomolaire) et du cancer du poumon non à petites cellules A549 (lignée résistante). Ces tests ont été réalisés sur la plateforme CIBI à l'ICSN. L'IC₅₀ a été évaluée après 72 h de traitement à l'aide du test CellTiter Glo (Promega) qui permet de mesurer par luminescence (quantification de l'ATP) le nombre de cellules vivantes. Les expériences ont été effectuées en triplicata.

Les tests de cytotoxicités ont révélé que les coumarines-HHX « nues » ne sont pas actives à 10⁻⁵ M. Ainsi des fonctionnalisations du motif coumarine vont être effectuées afin d'augmenter l'activité biologique.

Nous avons également mesuré les propriétés de fluorescence et d'absorbance en UV de ces deux molécules. En effet, on cherche à synthétiser un analogue avec un motif coumarine « nue » car les coumarines sont fluorescentes, ce qui permet de mieux les suivre dans les cellules.

Les spectres UV et de fluorescence de la coumarine-HHX **27** ont été mesurés à une concentration de 0,054 mM dans du méthanol (Figure 37). La longueur d'onde maximale d'absorption en UV a été mesurée à 320 nm et celle pour l'émission de fluorescence est à 393 nm.

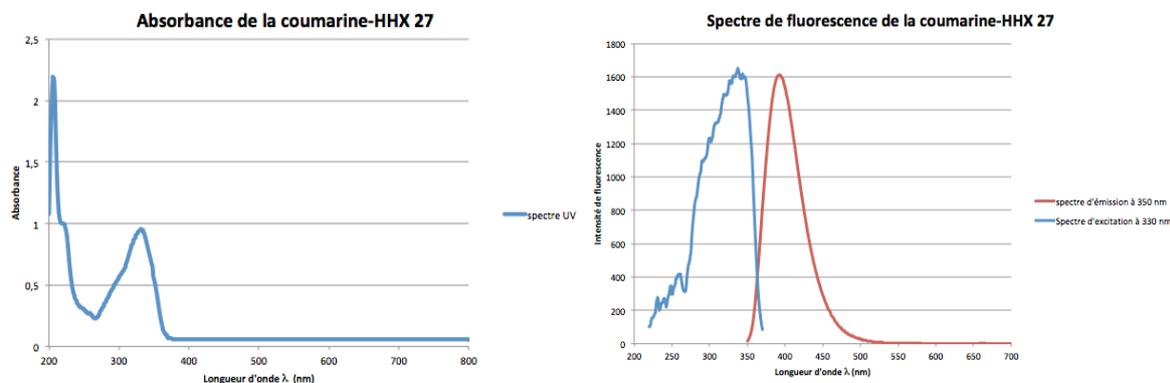


Figure 37. Spectres UV et fluorescence de la coumarine-HHX **27**

Pour la coumarine-HHX MOM **28**, les spectres ont été mesurés à une concentration de 0,06 mM et les mêmes valeurs d'absorbance et d'émission de fluorescence ont été obtenues (Figure 38).

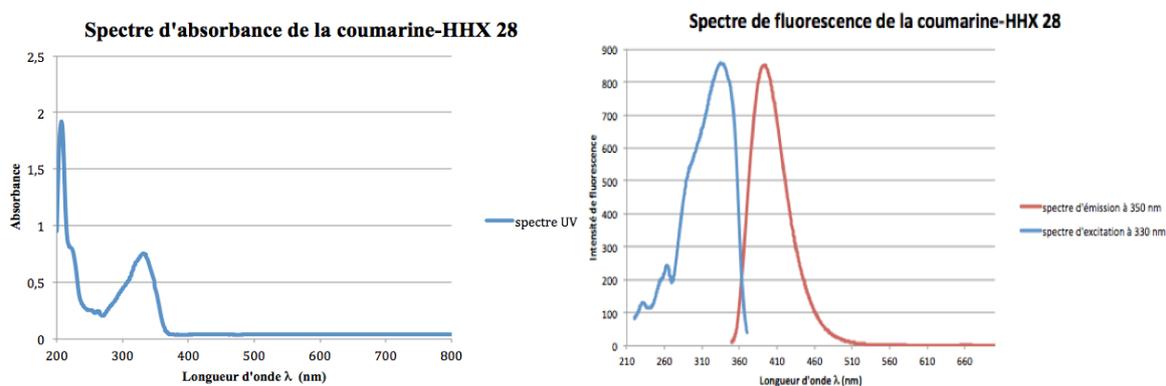


Figure 38. Spectres UV et fluorescence de la coumarine-HHX MOM **28**

La coumarine-HHX **27** possède une plus grande intensité de fluorescence par rapport à la coumarine-HHX MOM **28**. Cela signifie que le groupement MOM a potentiellement appauvri la fluorescence de la coumarine.

2. Fonctionnalisation directe du motif coumarine

Etant donné que la coumarine HHX nue **27** n'est pas active, des fonctionnalisations des positions **R₁ (C₃)** et **R₂ (C₄)** ont été réalisées dans l'espoir d'augmenter l'activité de la molécule et de moduler les propriétés de fluorescence.

Un premier essai de fonctionnalisation de la position **R₂ (C₄)** par un couplage oxydatif de Heck a été réalisé sur la molécule **28** en utilisant un procédé de la littérature(141). Cette réaction a été effectuée sur 12 mg de la coumarine **28** en présence d'acide phénylboronique, de Pd(OAc)₂ et de phénanthroline dans du DMF à 100 °C à l'air. Après 4 jours de réaction, l'analyse de la LC-MS du brut réactionnel a mis en évidence la présence majoritairement du produit de départ **28**, d'un composé ayant la masse du produit désiré ainsi que celle d'un composé oxydé. Après une purification sur une plaque préparative de silice, seuls le produit de départ **28** et la molécule oxydée **30** (2 mg) ont pu être isolés. Les analyses de la RMN ¹H, ¹³C et 2D ont permis de confirmer sa structure (Schéma 16). Il s'agit d'un composé dont la fonction alcool du motif HHX a été oxydée en cétone. De plus, des réactions d'oxydation d'alcool en cétone dans ces conditions ont déjà été décrites dans la littérature(142,143).

Ainsi un deuxième essai de fonctionnalisation de la position **R₁ (C₃)** par un couplage pallado-catalysé en utilisant un autre dérivé de palladium sur la molécule **28** a été réalisée selon un procédé de la littérature(144). Cette réaction a été effectuée sur 20 mg de la coumarine **28** en présence de l'iodobenzène, de Pd(PPh₃)₄, et de l'acétate d'argent dans du DMF à 80 °C pendant 3 jours. Ensuite, la réaction a été arrêtée et l'analyse de la RMN ¹H du brut réactionnel a montré que le produit désiré **31** n'a pas été obtenue et qu'il y a que la présence du produit de départ **28** et une trace du produit oxydé **30** (Schéma 16).

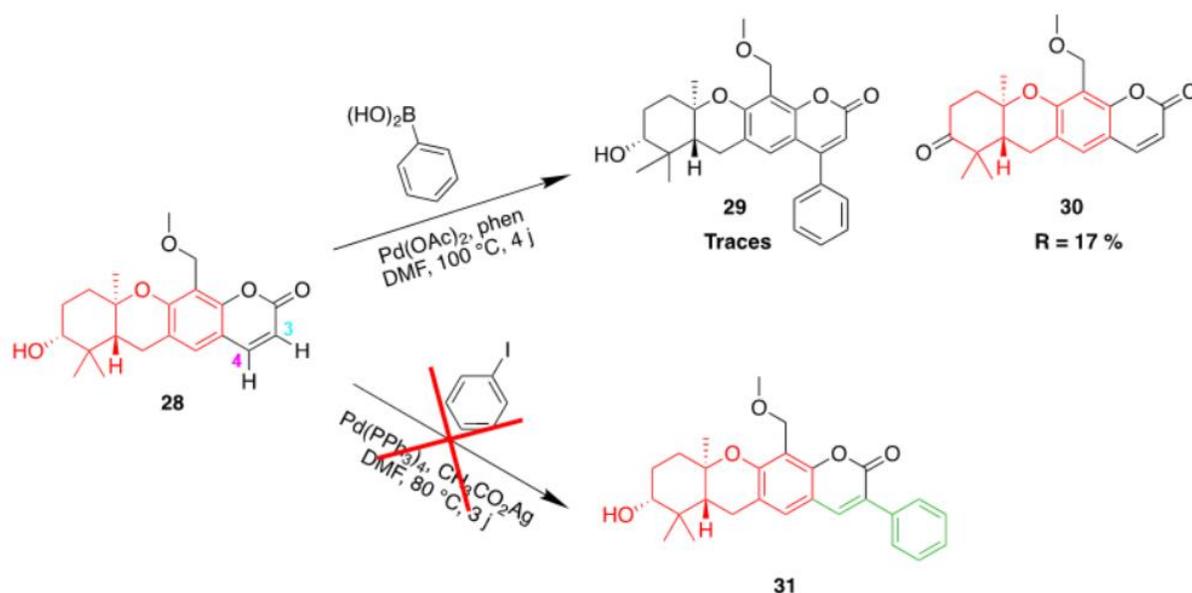


Schéma 16. Essais de fonctionnalisation des positions **C₃** et **C₄** par un phényle

Même si les molécules fonctionnalisées **29** et **31** n'ont pas pu être obtenues, ces premiers essais ont permis de savoir que la coumarine HHX est relativement stable et peut supporter des conditions de réaction assez forte sans être dégradée. D'autres conditions de fonctionnalisation de la coumarine sur ces positions restent à tester, sachant qu'un couplage oxydatif avec du Pd(OAc)₂ risque d'oxyder la fonction hydroxyle du motif HHX.

III. Matériels et méthodes

1. Matériels

Les solvants utilisés pour les réactifs et pour les analyses proviennent de Carlo Herba[®]. Les réactifs utilisés pour la synthèse ont été fournis par Sigma Aldrich[®].

Les purifications par chromatographie flash ont été réalisées sur un appareil automatisé, le Combiflash[®], muni d'un détecteur UV avec les longueurs d'ondes sélectionnées à 280 nm et 254 nm. Les phases stationnaires utilisées sont des colonnes de silice en phase normale ou en phase inverse allant de 4g à 220g. Pour des faibles quantités de produits, la purification a été réalisée sur des plaques préparatives de silice de 0,5 mm.

Le contrôle et le suivi des réactions ont été réalisés par CCM (Chromatographie sur Couche Mince) en phase normale.

Les expériences RMN ¹H et ¹³C ont été réalisées sur des spectromètres Bruker Advance DPX-300 et AMX-500. Les solvants deutérés utilisés sont le chloroforme-d₃ et l'acétone-d₆. Les spectres RMN obtenus ont été analysés avec le logiciel TopSpin[®].

Les spectres de masses ont été réalisés sur un spectromètre de masse type LCT Premier XE (Waters[®]) muni d'une source d'ionisation électrospray (ESI) et d'un analyseur de temps de vol (TOF).

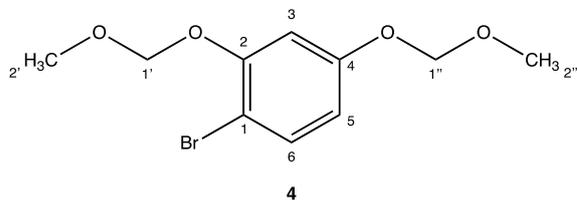
Les infrarouges ont été réalisés sur un spectromètre PerkinElmer BX FT-IR.

Les UV ont été réalisés sur un spectromètre Varian Cary 100 UV-vis.

Les fluorescences ont été réalisées sur un spectromètre F-2500 fluorescence spectrophotometer.

2. Experimental part

1-bromo-2,4-bis(methoxymethoxy)benzene (4):



Chemical formula: C₁₀H₁₃BrO₄
Molecular weight: 277.11

To a solution of dried bromoresorcinol (5.00 g, 26.45 mmol, 1 eq) in anhydrous DMF (35 mL) under argon atmosphere at 0 °C, was added NaH 60 % (4.74 g, 119.04 mmol, 4.5 eq), per portion. After 15 min, MOMCl (7.10 mL, 105.81 mmol, 4 eq) was added dropwise over 25 min and the suspension was stirred for 15 h at r.t.. Water was added and the mixture was extracted with EtOAc (3 times). The combined organic phases were washed with brine, dried over with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/EtOAc 8:2) to afford the desired protected bromoresorcinol as a colorless oil (6.20 g, 22.40 mmol, yield = 84 %).

Spectral and analytical data

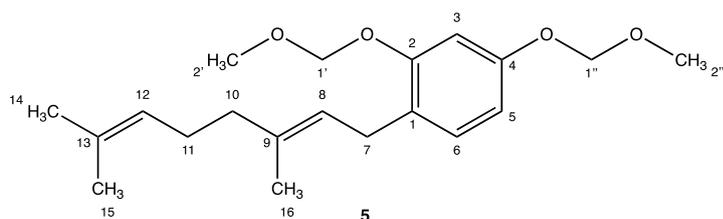
IR: $\nu = 2933, 2955, 2904, 2826, 1583, 1480, 1274, 1217, 1157, 1080, 1036, 996 \text{ cm}^{-1}$.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.41$ (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H₆), 6.86 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H, H₃), 6.63 (dd, $J = 8.8, 2.7$ Hz, 1H, H₅), 5.22 (s, 2H, H_{1'}), 5.14 (s, 2H, H_{1''}), 3.52 (s, 3H, H_{2'}), 3.47 (s, 3H, H_{2''}) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 157.8$ (C₄), 154.6 (C₂), 133.4 (C₆), 110.9 (C₅), 105.7 (C₃), 105.3 (C₁), 95.4 (C_{1'}), 94.9 (C_{1''}), 56.6 (C_{2'}), 56.3 (C_{2''}) ppm.

HRMS (ESI): m/z calculated for C₁₀H₁₄ BrO₄⁺ [M + H]⁺: 277.0070; found: 277.0070.

(E)-1-(3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl)-2,4-bis(methoxymethoxy)benzene (5):



Chemical formula: C₂₀H₃₀O₄
Molecular weight: 334.45

Under argon atmosphere, *n*-BuLi (1.50 mL, 1.84 mmol, 1.02 eq) was added dropwise to a solution of protected bromoresorcinol 4 (0.50 g, 1.80 mmol, 1 eq) in degassed THF (6.5 mL) with molecular sieve 4 Å at -78 °C. The solution was stirred for 30 min at -78 °C and then CuBr.Me₂S (0.40 g, 1.96 mmol, 1.09 eq) was added in one portion. The resulting mixture was stirred for 30 min at the same temperature, and then geranyl bromide (0.72 mL, 3.60 mmol, 2 eq) was added slowly. The solution was allowed to warm to r. t. and stirred for 20 h. After completion of the reaction (TLC monitoring), an aqueous solution of saturated NH₄Cl was added. The aqueous phase was decanted and extracted with EtOAc (3 times). The combined organic phases were washed with NH₄Cl sat. (3 times), once with brine, dried over with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/EtOAc 9:1) to afford the desired alkylated resorcinol **5** as a pale yellow oil (170 mg, 1.80 mmol, yield = 28 %).

Spectral and analytical data

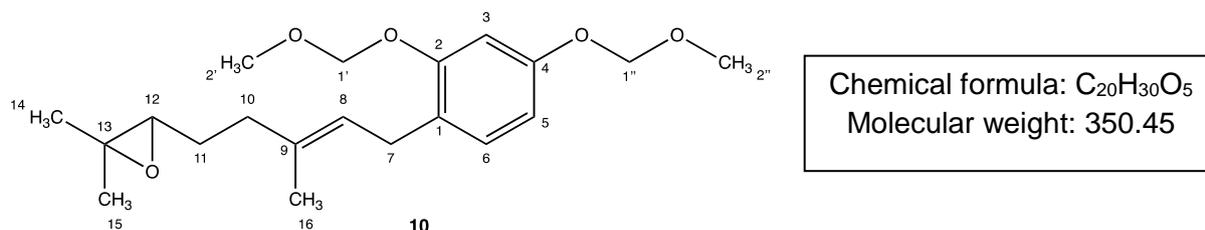
IR: $\nu = 2957, 2911, 1610, 1588, 1503, 1149, 1070, 1005 \text{ cm}^{-1}$.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.03$ (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H₆), 6.77 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H₃), 6.64 (dd, $J = 8.3, 2.3$ Hz, 1H, H₅), 5.29 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H₈), 5.17 (s, 2H, H_{1'}), 5.13 (s, 2H, H_{1''}), 5.10 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H, H₁₂), 3.48 (s, 3H, H_{2'}), 3.47 (s, 3H, H_{2''}), 3.28 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, H₇), 2.13 - 2.06 (m, 2H, H₁₁), 2.06 - 2.00 (m, 2H, H₁₀), 1.69 (s, 3H, H₁₆), 1.68 (s, 3H, H₁₄), 1.59 (s, 3H, H₁₅) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 156.5$ (C₄), 155.7 (C₂), 136.0 (C₉), 131.5 (C₁₃), 129.8 (C₆), 124.5 (C₁₂), 122.8 (C₈), 109.8 (C₁), 108.9 (C₅), 103.7 (C₃), 94.9 (C_{1'}), 94.7 (C_{1''}), 56.2 (C_{2'}), 56.1 (C_{2''}), 39.9 (C₁₀), 28.0 (C₇), 26.8 (C₁₁), 25.8 (C₁₄), 17.8 (C₁₅), 16.2 (C₁₆) ppm.

HRMS (ESI): m/z calculated for C₂₀H₃₁O₄⁺ [M + H]⁺: 335.2217; found: 335.2210.

(E)-3-(5-(2,4-bis(methoxymethoxy)phenyl)-3-methylpent-3-en-1-yl)-2,2-dimethyloxirane (10):



To a solution of alkylated resorcinol **5** (50 mg, 0.15 mmol, 1 eq) in chloroform (0.5 mL) at 0 °C under argon atmosphere, was added dropwise a solution of mCPBA (27 mg, 0.16 mmol, 1.05 eq) in chloroform (0.3 mL) over a period of 30 min. The mixture was then warmed to r.t. over 30 min and stirred during 18 h. Additional mCPBA (13 mg, 0.08 mmol, 0.5 eq) in solution in chloroform (0.2 mL) was added dropwise over 15 min. After 5 h, the mixture was quenched with an aqueous solution of NaHCO₃ and chloroform was added. After decantation, the organic phase was recovered, washed with NaHCO₃ (3 times), once with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. A purification by flash chromatography on silica gel (Heptane/EtOAc 8:2) afforded the desired epoxide **10** as a colorless oil (3 mg, 0.01 mmol, yield = 6 %) with the diepoxide **11** as a yellow oil (8.50 mg, 0.02 mmol, yield = 15 %) and the monoepoxide regioisomer **12** as a colorless oil (13 mg, 0.04 mmol, yield = 24 %).

Spectral and analytical data

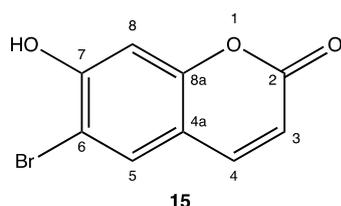
IR: $\nu = 2959, 2929, 1609, 1587, 1502, 1150, 1072, 1003 \text{ cm}^{-1}$.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.02$ (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H₆), 6.77 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H₃), 6.63 (dd, $J = 8.3, 2.4$ Hz, 1H, H₅), 5.33 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H₈), 5.17 (s, 2H, H_{1'}), 5.13 (s, 2H, H_{1''}), 3.47 (s, 3H, H_{2'}), 3.47 (s, 3H, H_{2''}), 3.29 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, H₇), 2.70 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H, H₁₂), 2.23 - 2.08 (m, 2H, H₁₀), 1.72 (s, 3H, H₁₆), 1.70 - 1.56 (m, 2H, H₁₁), 1.27 (s, 3H, H₁₄), 1.24 (s, 3H, H₁₅) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 156.6$ (C₄), 155.7 (C₂), 134.8 (C₉), 129.8 (C₆), 124.2 (C₁), 123.5 (C₈), 108.9 (C₅), 103.6 (C₃), 94.8 (C_{1'}), 94.6 (C_{1''}), 64.3 (C₁₂), 58.4 (C₁₃), 56.1 (C_{2'}), 56.0 (C_{2''}), 36.5 (C₁₀), 28.1 (C₇), 27.5 (C₁₁), 24.9 (C₁₄), 18.8 (C₁₅), 16.2 (C₁₆) ppm.

HRMS (ESI): m/z calculated for C₂₀H₃₀O₄Na⁺ [M + Na]⁺: 373.1985; found: 373.1986.

6-bromo-7-hydroxy-2*H*-chromen-2-one (**15**):



Chemical formula: C₉H₅BrO₃
Molecular weight: 241.04

A mixture of 4-bromoresorcinol (0.50 g, 2.65 mmol, 1 eq), malic acid (0.53 g, 3.97 mmol, 1.5 eq) and concentrated sulfuric acid (1 mL) was stirred at 70 °C for 1 h. The mixture was heated up to 115 °C over a period of 2 h and stirred at this temperature for 30 min until all the gas evolved. The mixture was cooled and ice was added. The remaining solid was then filtered and washed with water (5 times) to afford the crude coumarin **15** as a red solid (0.52 g, 2.14 mmol, yield = 80 %).

Spectral and analytical data

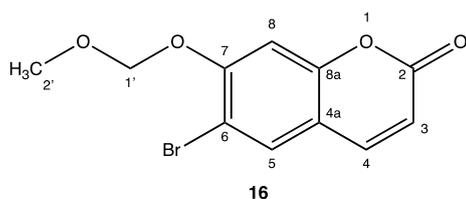
IR: $\nu = 3071, 1680, 1595, 1552, 1392, 1231, 822 \text{ cm}^{-1}$.

¹H NMR (500 MHz, Acetone-d₆): $\delta = 8.33$ (s, 1H, OH), 7.87 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, H₄), 7.86 (s, 1H, H₅), 6.91 (s, 1H, H₈), 6.24 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, H₃) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, Acetone-d₆): $\delta = 160.5$ (C₂), 157.8 (C_{8a}), 155.8 (C_{4a}), 144.8 (C₇), 143.7 (C₄), 132.9 (C₅), 114.2 (C₃), 106.5 (C₆), 104.2 (C₈) ppm.

HRMS (ESI): m/z calculated for C₉H₆BrO₃⁺ [M + H]⁺: 240.9500; found: 240.9495.

6-bromo-7-(methoxymethoxy)-2*H*-chromen-2-one (**16**):



Chemical formula: C₁₁H₉BrO₄
Molecular weight: 285.09

To a solution of crude coumarin **15** (2 g, 8.30 mmol, 1 eq) in dried DMF (15 mL) under argon atmosphere at 0 °C was added K₂CO₃ (4.59 g, 33.20 mmol, 4 eq). After 15 min, MOMCl (1.33 mL, 19.90 mmol, 2.4 eq) was added dropwise during 15 min and the mixture was stirred for 27h at r.t.. After completion of the reaction (TLC monitoring), water was added and the product was extracted with AcOEt (4 times). The combined organic phases were washed with brine, dried over with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude product was used directly without further purification. Alternatively, it was purified by flash chromatography on inverse column (water/ACN 2:8) to afford the desired protected coumarin **16** as a orange powder (0.68 g, 2.39 mmol, yield = 28 %).

Spectral and analytical data

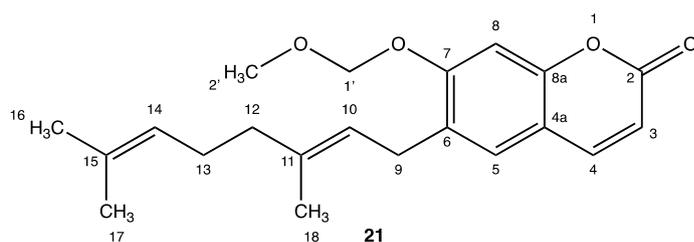
IR: $\nu = 2944, 2922, 1704, 1604, 1551, 1486, 1411, 1369, 1218, 1149, 962, 887, 824$ cm⁻¹.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.66$ (s, 1H, H₅), 7.57 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, H₄), 7.13 (s, 1H, H₈), 6.30 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, H₃), 5.31 (s, 2H, H_{1'}), 3.52 (s, 3H, H₂) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 160.5$ (C₂), 156.4 (C₇), 154.7 (C_{8a}), 142.2 (C₄), 131.5 (C₅), 115.0 (C₃), 114.4 (C_{4a}), 108.5 (C₆), 104.0 (C₈), 95.4 (C_{1'}), 56.8 (C_{2'}) ppm.

HRMS (ESI): m/z calculated for C₁₁H₁₀BrO₄⁺ [M + H]⁺: 248.9757; found: 284.9752.

(E)-6-(3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl)-7-(methoxymethoxy)-2H-chromen-2-one
(21):



Chemical formula: C₂₁H₂₆O₄
Molecular weight: 342.43

Under argon atmosphere, the crude protected coumarin **16** (0.19 g, 0.67 mmol, 1 eq), geranyl boronic ester (0.21 g, 0.80 mmol, 1.2 eq), NaOH in powder (67 mg, 1.67 mmol, 2.5 eq), Pd(PPh₃)₄ (77 mg, 0.07 mmol, 0.1 eq) suspended in THF/water 1:1 (3.6 mL) were placed in a microwave vial. The mixture was degassed with argon during 5 min and stirred for 4 h at 100 °C under microwave irradiation. After completion of the reaction (TLC monitoring), the mixture was filtered over a pad of Celite®. The filtrate was then concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/EtOAc 8:2) to afford an inseparable mixture of the desired alkylated coumarin **21** with its Z isomer **22** (ratio E/Z 3:7) as a pale yellow oil (60mg, 0.18mmol, yield = 32 % over 3 steps) and the dehalogenated coumarin **23** as a pale yellow oil (m =1mg, 0.005 μmol, yield = 3%).

Spectral and analytical data

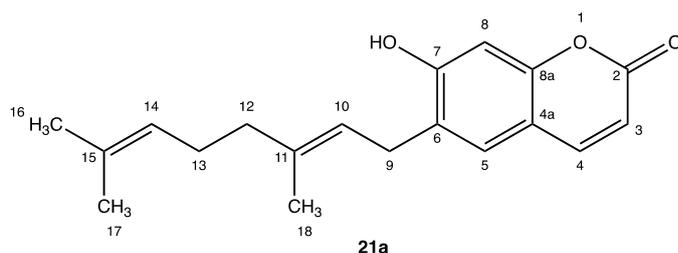
IR: ν = 2963, 2924, 2855, 1730, 1619, 1562, 1494, 1444, 1378, 1267, 1218, 1152, 1126, 1068, 978 cm⁻¹.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7.60 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H, H₄), 7.20 (s, 1H, H₅), 7.03 (s, 1H, H₈), 6.24 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H, H₃), 5.29 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, H₁₀), 5.26 (s, 2H, H₁'), 5.10 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, H₁₄), 3.48 (s, 3H, H₂'), 3.35 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, H₉), 2.17-2.03 (m, 4H, H₁₃, H₁₂), 1.70 (s, 3H, H₁₈), 1.67 (s, 3H, H₁₆), 1.59 (s, 3H, H₁₇) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 161.5 (C₂), 158.1 (C₇), 154.2 (C_{8a}), 143.5 (C₄), 137.4/137.3 (C₁₁), 131.9/131.7 (C₁₅), 128.1 (C₆), 127.8 (C₅), 124.3/124.2 (C₁₄), 122.2/121.5 (C₁₀), 113.6 (C₃), 113.0 (C_{4a}), 101.9 (C₈), 94.5 (C₁'), 56.4 (C₂'), 39.9 (C₁₂), 32.1 (C₁₃), 28.1/27.9 (C₉), 25.9 (C₁₆), 17.8 (C₁₇), 16.2 (C₁₈) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* calculated for C₂₁H₂₇O₄⁺ [M + H]⁺: 343.1904; found: 343.1909.

Ostruthin(135) (**21a**):



Chemical formula: C₁₉H₂₂O₃
Molecular weight: 298.38

To a mixture of geranylated coumarins **21** and **22** (16 mg, 0.05 mmol, 1 eq) in isopropanol (4 mL), was added supported *p*-toluenesulfonic acid (266 mg, 0.67 mmol, 14 eq) in portions. The mixture was stirred at r.t. for 5 days. After completion of the reaction (TLC monitoring), the mixture was filtrated on a pad of Celite[®], and the filtrate was concentrated under reduce pressure. The crude product was purified by preparative TLC (Heptane/EtOAc 5:5) to afford the ostruthin **21a** in inseparable mixture with its Z isomer **22a** as a pale yellow oil (8 mg, 0.03 mmol, yield = 57 %).

Spectral and analytical data

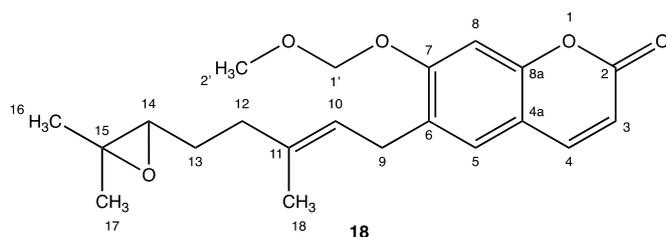
IR: $\nu = 3227, 2966, 2914, 2854, 1687, 1606, 1568, 1441, 1390, 1272, 1256, 1234, 1127, 819 \text{ cm}^{-1}$.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.63$ (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, H₄), 7.20 (s, 1H, H₅), 6.97 (s, 1H, H₈), 6.23 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, H₃), 5.32 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, H₁₀), 5.09 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H, H₁₄), 3.39 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, H₉), 2.17 - 2.07 (m, 4H, H₁₃, H₁₂), 1.75 (s, 3H, H₁₈), 1.69 (s, 3H, H₁₆), 1.60 (s, 3H, H₁₇) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 162.3$ (C₂), 158.7 (C₇), 154.5 (C_{8a}), 144.3 (C₄), 139.2 (C₁₁), 132.1 (C₁₅), 128.5 (C₅), 125.6 (C₆), 124.0 (C₁₄), 121.0 (C₁₀), 112.6 (C₃), 112.5 (C_{4a}), 103.5 (C₈), 39.9 (C₁₂), 32.2 (C₁₃), 28.7 (C₉), 25.9 (C₁₆), 17.9 (C₁₇), 16.4 (C₁₈) ppm.

HRMS (ESI): m/z calculated for C₁₉H₂₃O₃⁺ [M + H]⁺: 299.1647; found: 299.1649.

(E)-6-(5-(3,3-dimethyloxiran-2-yl)-3-methylpent-2-en-1-yl)-7-(methoxymethoxy)-2H-chromen-2-one (18):



Chemical formula: C₂₁H₂₆O₅
Molecular weight: 358.43

To a solution of alkylated coumarins **21** and **22** (67 mg, 0.20 mmol, 1 eq) in dichloromethane (2.7 mL) at -78 °C, was added per portion mCPBA (34 mg, 0.20 mmol, 1 eq) over a period of 4 h. The suspension was stirred at this temperature for 2 h, then the mixture was allowed to warm at 0 °C for 16 h and r. t. for 5 h. After an additional addition of mCPBA (13.5 mg, 0.08 mmol, 0.40 eq) at -78 °C over a period of 2 h, the mixture was stirred at 0 °C for 16 h and at r. t. for 24 h. Then, the reaction mixture was quenched with an aqueous solution of NaHCO₃. After decantation, the organic phase was recovered, washed with NaHCO₃ (3 times), once with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/EtOAc 8:2) to afford a mixture of the epoxides **18** and **24** with undesired **25** (ratio 18 + 24 / 25 = 85:15) as a colorless oil (37 mg, 0.10 mmol, yield = 53%) as well as the diepoxide **26** as a colorless oil (12 mg, 0.03 mmol, yield = 16 %) and starting alkylated coumarin (14 mg).

Spectral and analytical data

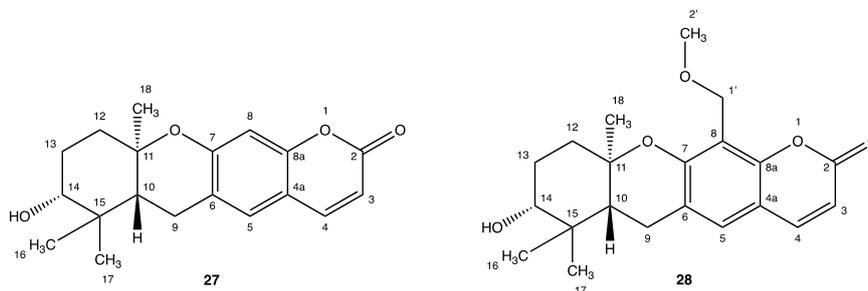
IR: ν = 2960, 2923, 2853, 1728, 1618, 1561, 1493, 1445, 1377, 1266, 1151, 1124, 1068, 974 cm⁻¹.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7.60 (d, J = 9.5 Hz, 1H, H₄), 7.22 (s, 1H, H₅), 7.03 (s, 1H, H₈), 6.24 (d, J = 9.5 Hz, 1H, H₃), 5.35 (t, J = 7.3 Hz, 1H, H₁₀), 5.25 (s, 2H, H_{1'}), 3.48 (s, 3H, H₂), 3.36 (d, J = 7.0 Hz, 2H, H₉), 2.71 (t, J = 6.2 Hz, 1H, H₁₄), 2.36-2.13 (m, 2H, H₁₂), 1.78/1.74 (s, 3H, H₁₈), 1.70-1.61 (m, 2H, H₁₃), 1.30/1.29 (s, 3H, H₁₆), 1.27/1.26 (s, 3H, H₁₇) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 161.5 (C₂), 158.07 (C₇), 154.3 (C_{8a}), 143.5 (C₄), 136.4 (C₁₁), 127.9 (C₅), 127.8 (C₆), 123.0/122.2 (C₁₀), 113.6 (C₃), 113.0 (C_{4a}), 102.0 (C₈), 94.5 (C_{1'}), 64.2/64.1 (C₁₄), 58.5/58.4 (C₁₅), 56.5 (C_{2'}), 28.8 (C₁₂), 28.1 (C₉), 27.6 (C₁₃), 25.0 (C₁₆), 23.6 (C₁₈), 18.9 (C₂₇) ppm.

HRMS (ESI): m/z calculated for C₂₁H₂₇O₅⁺ [M + H]⁺ : 359.1853; found: 359.1852.

(6a*R*,8*R*,10a*R*)-8-hydroxy-7,7,10a-trimethyl-6a,7,8,9,10,10a-hexahydro-2*H*,6*H*-pyrano[3,2-*b*]xanthen-2-one (27) and (6a*R*,8*R*,10a*R*)-8-hydroxy-12-(methoxymethyl)-7,7,10a-trimethyl-6a,7,8,9,10,10a-hexahydro-2*H*,6*H*-pyrano[3,2-*b*]xanthen-2-one (28):



Chemical formulas : C₁₉H₂₂O₄ / C₂₁H₂₆O₅
Molecular weights : 314.38 / 358.43

To a solution of the mixture of epoxides **18** and **24** (55 mg, 0.15 mmol, 1 eq) in anhydrous dichloromethane (9 mL) at -78 °C, was added dropwise BF₃OEt₂ (28 μL, 0.23 mmol, 1.5 eq) under argon atmosphere. The mixture was stirred at -78 °C for 1 h. After completion of the reaction (TLC monitoring), the reaction mixture was quenched with water (1 mL). After decantation, the aqueous phase was extracted with EtOAc (3 times) and the combined organic phase was washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/EtOAc 8:2) to afford the desired coumarin-HHX **27** as a white powder (15 mg, 0.05 mmol, yield = 34 %) and the alkylated coumarin-HHX MOM **28** as a pale yellow oil (25 mg, 0.07 mmol, yield = 46 %).

Spectral and analytical data

Compound 27:

IR: $\nu = 3510, 2980, 2934, 2864, 1694, 1621, 1560, 1493, 1387, 1145, 1125, 1072, 1032, 800 \text{ cm}^{-1}$.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.58$ (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, H₄), 7.17 (s, 1H, H₅), 6.71 (s, 1H, H₈), 6.20 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, H₃), 3.44 (dd, $J = 11.5, 4.1$ Hz, 1H, H₁₄), 2.80 - 2.68 (m, 2H, H₉), 2.07 - 1.59 (m, 5H, H₁₂, H₁₃, H₁₀), 1.24 (s, 3H, H₁₈), 1.11 (s, 3H, H₁₆), 0.89 (s, 3H, H₁₇) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 161.6 (C₂), 157.0 (C₇), 154.2 (C_{8a}), 143.4 (C₄), 128.6 (C₅), 119.6 (C₆), 113.1 (C₃), 112.5 (C_{4a}), 104.7 (C₈), 78.0 (C₁₁), 77.9 (C₁₄), 46.8 (C₁₀), 38.6 (C₁₅), 37.7 (C₁₂), 28.3 (C₁₃), 27.4 (C₁₆), 22.7 (C₉), 20.2 (C₁₈), 14.4 (C₁₇) ppm.

HRMS (ESI): m/z calculated for C₁₉H₂₃O₄⁺ [M + H]⁺ : 315.1596; found: 315.1598.

UV-Vis (MeOH): $\lambda(\epsilon)$ [nm (M⁻¹ cm⁻¹)] 332 (17 630).

Fluorescence (MeOH): λ_{\max} (EX) = 344 nm, λ_{\max} (EM) = 393 nm.

Compound 28:

IR: ν = 3454, 2937, 2872, 1705, 1611, 1570, 1474, 1362, 1221, 1127, 1091, 1075, 1034, 981, 823 cm⁻¹.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7.56 (d, J = 9.5 Hz, 1H, H₄), 7.16 (s, 1H, H₅), 6.21 (d, J = 9.5 Hz, 1H, H₃), 4.65 (q, J = 25.9, 10.3 Hz, 2H, H_{1'}), 3.46-3.42 (dd, J = 11.3, 3.5 Hz, 1H, H₁₄), 3.42 (s, 3H, H_{2'}), 2.81-2.70 (m, 2H, H₉), 2.11-1.62 (m, 5H, H₁₂, H₁₃, H₁₀), 1.23 (s, 3H, H₁₈), 1.11 (s, 3H, H₁₆), 0.88 (s, 3H, H₁₇) ppm.

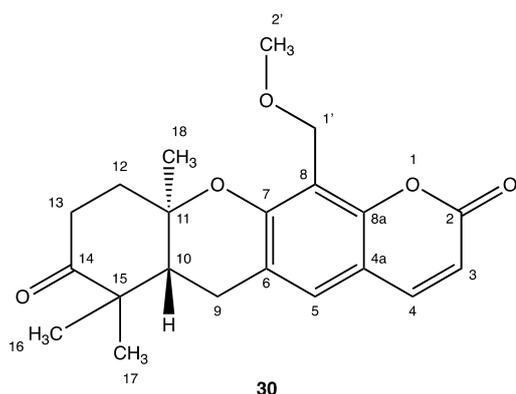
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 161.3 (C₂), 155.8 (C₇), 152.7 (C_{8a}), 143.7 (C₄), 128.6 (C₅), 119.3 (C₆), 113.5 (C₈), 113.0 (C₃), 112.2 (C_{4a}), 78.1 (C₁₁), 77.9 (C₁₄), 61.9 (C_{1'}), 58.7 (C_{2'}), 46.5 (C₁₀), 38.5 (C₁₅), 37.6 (C₁₂), 28.4 (C₁₃), 27.4 (C₁₆), 22.9 (C₉), 20.3 (C₁₈), 14.4 (C₁₇) ppm.

HRMS (ESI): m/z calculated for C₂₁H₂₇O₅⁺ [M + H]⁺ : 359.1858; found: 359.1854.

UV-Vis (MeOH): $\lambda(\epsilon)$ [nm (M⁻¹ cm⁻¹)] 332 (12 605).

Fluorescence (MeOH): λ_{\max} (EX) = 335 nm, λ_{\max} (EM) = 393 nm.

(6a*R*,10a*R*)-12-(methoxymethyl)-7,7,10a-trimethyl-6a,9,10,10a-tetrahydro-2*H*,6*H*-pyrano[3,2-*b*]xanthene-2,8(7*H*)-dione (30):



Chemical formula: C₂₁H₂₄O₅
Molecular weight: 356.41

A mixture of coumarin-HHX MOM **28** (12 mg, 0.03 mmol, 1 eq), Pd(OAc)₂ (0.74 mg, 3.30 μmol, 0.1 eq) and 1,10-phenanthroline (0.60 mg, 3.30 μmol, 0.1 eq) were suspended in dry DMF (0.10 mL) and stirred for 5 min. The reaction mixture was heated to 100 °C and phenyl boronic acid (2 mg, 0.02 mmol, 0.5 eq) in DMF (0.10 mL) was added dropwise over a period of 2 h. The mixture was stirred at this temperature for 24 h. After three additional addition of phenyl boronic acid (1 mg, 0.01 mmol, 0.25 eq) in DMF (0.05 mL) over 72 h, the reaction mixture was diluted with EtOAc (2 mL) and stirred for 5 min. Then it was filtrated on a pad of Celite®, and the filtrate was concentrated under reduce pressure. The crude product was purified by preparative TLC (Heptane/EtOAc 5:5) to afford the compound **30** (2 mg, 5.61 μmol, yield = 17 %) and starting coumarin 28 (4.5 mg).

Spectral and analytical data

IR: $\nu = 2933, 1724, 1714, 1613, 1571, 1400, 1282, 1141, 1122, 1050, 822 \text{ cm}^{-1}$.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.58$ (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, H₄), 7.20 (s, 1H, H₅), 6.24 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, H₃), 4.67 (q, $J = 22.8, 10.3$ Hz, 2H, H_{1'}), 3.43 (s, 3H, H_{2'}), 2.92 - 2.73 (m, 2H, H₉), 2.73 - 2.49 (m, 2H, H₁₃), 2.38 - 2.15 (m, 1H, H₁₂), 2.16 - 2.10 (m, 1H, H₁₀), 1.45 (s, 3H, H₁₈), 1.20 (s, 3H, H₁₆), 1.14 (s, 3H, H₁₇) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 213.0$ (C₁₄), 161.1 (C₂), 155.4 (C₇), 152.8 (C_{8a}), 143.6 (C₄), 128.6 (C₅), 118.5 (C₆), 113.8 (C₈), 113.4 (C₃), 112.5 (C_{4a}), 76.8 (C₁₁), 61.9 (C_{1'}), 58.8 (C_{2'}), 47.3 (C₁₀), 46.7 (C₁₅), 37.9 (C₁₂), 35.2 (C₁₃), 24.7 (C₁₆), 23.6 (C₉), 21.0 (C₁₇), 19.7 (C₁₈) ppm.

HRMS (ESI): m/z calculated for C₂₁H₂₅O₅⁺ [M + H]⁺: 357.1702; found: 357.1690.

IV. Conclusion et perspectives

Dans le cadre de mon stage de master, deux stratégies de synthèse totale d'un analogue rigide des SWs à motif coumarine-HHX ont été élaborées. Dans la première stratégie, où l'on forme d'abord le motif HHX puis la coumarine, les intermédiaires de synthèse se sont révélés instables et les produits ont été obtenus avec de faibles rendements et souvent en mélange avec des produits secondaires. Cette voie de synthèse a donc été abandonnée. Dans la deuxième stratégie, on a formé d'abord la coumarine puis le motif HHX. Cette stratégie est beaucoup plus efficace et reproductible que la première stratégie car les intermédiaires de synthèse sont plus stables. Cependant, la géranylation de la coumarine par un couplage de Suzuki a donné lieu à une isomérisation E/Z de la double liaison benzylique, ce qui a affecté le rendement. D'autre part, la réaction d'époxydation a conduit à la formation de mono-époxydes non séparables. Des essais d'optimisation de ces deux étapes devront être réalisés pour améliorer le rendement. Toutefois, cette stratégie de synthèse a permis d'obtenir la coumarine-HHX « nue » désirée avec un rendement correct (5 % sur 5 étapes) ainsi qu'un composé alkylé par le MOM sur l'aromatique (Schéma 17).

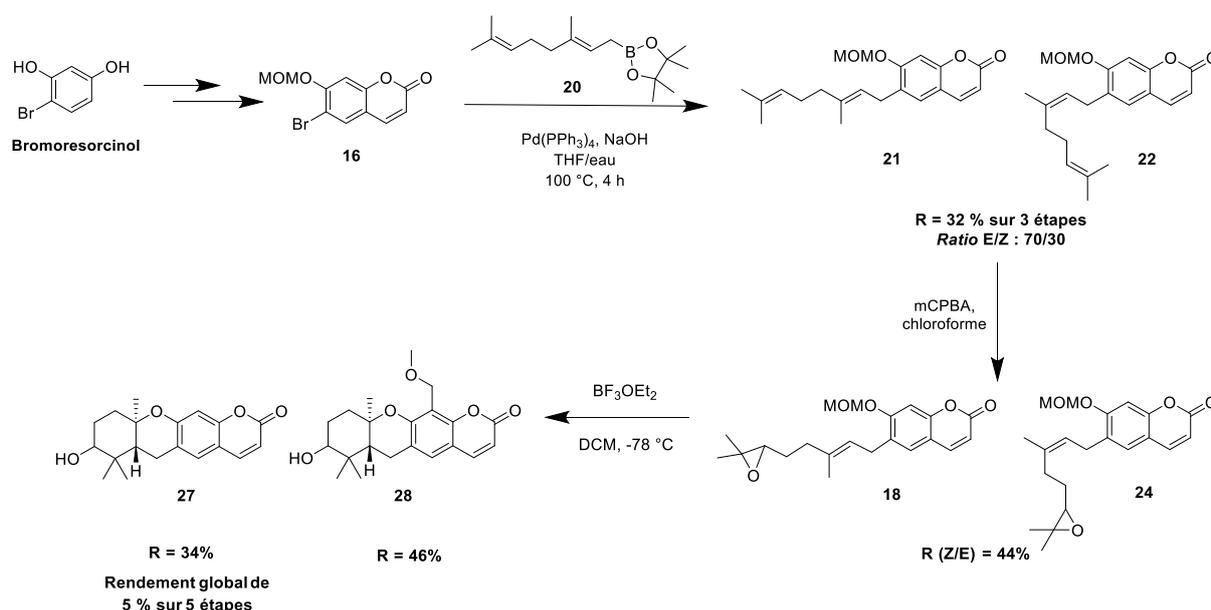


Schéma 17. Synthèse de la coumarine-HHX "nue" par la stratégie n°2

Des tests de cytotoxicité effectués sur ces deux molécules sur les lignées U87 et A549 ont révélé que les coumarines-HHX « nues » ne sont pas actives. Ainsi, en fonctionnalisant les positions **R₁ (C₃)** et **R₂ (C₄)**, on espère que ces molécules vont pouvoir gagner en activité. Ce serait notamment le cas si la position **C₃** est substituée par un phényle substitué comme la molécule **31** (Schéma 18). La synthèse d'un tel

dérivé permettrait d'une part, d'imiter la structure des SWs naturelles et d'augmenter l'activité biologique. D'autre part, l'introduction d'un groupement phényle devrait permettre d'enrichir la fluorescence de la coumarine et de déplacer sa longueur d'onde d'émission de fluorescence dans le visible, ce qui permettrait de mieux suivre le composé dans les cellules. De plus, cela permettra également de déplacer sa longueur d'onde d'excitation au-dessus de 330 nm, longueur d'onde d'excitation des SWs, afin d'éviter une irradiation toxique.

Ainsi, les premiers essais de fonctionnalisation des deux positions **C₃** et **C₄** ont été effectués selon les procédés de la littérature. Même si les composés **31** et **34** (Schéma 18) n'ont pas pu être obtenus, un produit inattendu, provenant de l'oxydation de l'alcool de la fonction HHX en cétone a pu être isolé et caractérisé. Cette molécule **30** est très intéressante au vu des études de RSA. En effet, on sait que le groupement hydroxyle du motif HHX établit des liaisons hydrogènes avec la protéine OSBP. Ainsi, la modification de cette position pourrait impacter l'interaction entre la protéine OSBP et la molécule active, ce qui affecterait l'activité biologique de la molécule. De plus, la fonction cétone permet également d'apporter de la diversité structurale notamment par différentes réactions de fonctionnalisation. Par exemple, une hydroxylamine **36** ou une imine **37**, pouvant donner une amine **38**, pourront être formées à partir d'une cétone. D'autres fonctionnalisations des positions **C₃** et **C₄** pourront être envisagées, comme la substitution par un amide ou une chaîne prényle de longueur variable, souvent retrouvée dans les SWs naturelles.

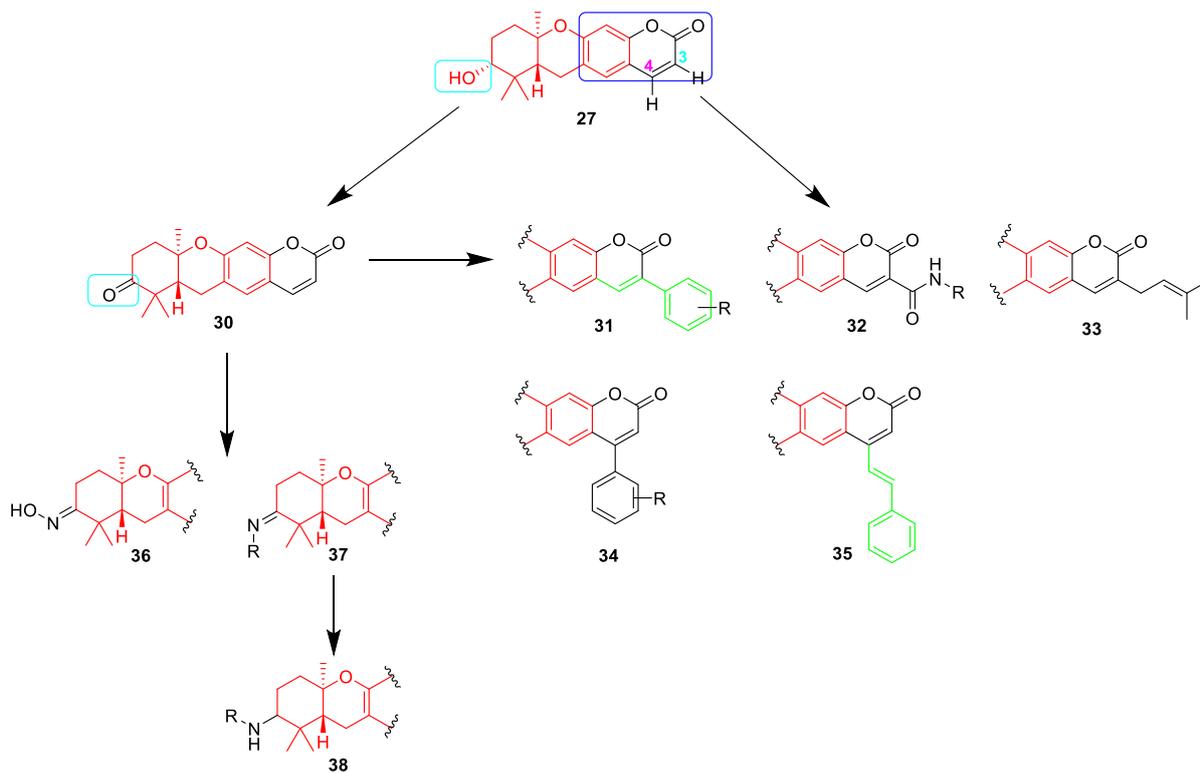


Schéma 18. Les fonctionnalisations possibles de la coumarine-HHX 27

Conclusion générale

Cette thèse est le fruit d'un travail de recherche bibliographique de composés naturels ayant des propriétés anticancéreuses et des résultats expérimentaux personnels sur la synthèse d'analogues d'une famille de molécules naturelles cytotoxiques pouvant être envisagée comme traitement dans les cancers.

Dans un premier chapitre, les agents cytotoxiques d'origine naturelle ou ayant été inspirés par des composés naturels actuellement utilisés dans l'arsenal thérapeutique pour le traitement des cancers ont été décrits. En effet, cette idée de recherche de composés actifs d'origine naturelle a débuté dans les années 60, notamment à travers le programme de criblage lancé par le NCI sur plusieurs milliers d'extraits de plantes afin de développer de nouveaux agents cytotoxiques. Au cours de ce premier chapitre, toutes les molécules décrites possèdent une approbation par les autorités européenne ou française pour le traitement des cancers. Ces molécules ont été classées principalement selon leur cible biologique telle que, la tubuline, les topo-isomérases et l'ADN. Les structures, les mécanismes d'action et les indications thérapeutiques de chaque famille d'agent cytotoxique ont été détaillés à travers les données issues de la littérature et du Vidal.

Dans un second chapitre, une famille de molécules naturelles possédant une forte activité cytotoxique a été décrite. Cette famille de molécules semble agir sur le cancer *via* un mécanisme commun en ciblant la protéine OSBP, appartenant à la superfamille de protéines, les ORPs. Ainsi, ces molécules naturelles ont été nommées les ORPphilines et sont une piste de recherche intéressante, à la fois en tant qu'alternative de traitement anticancéreux, mais aussi dans l'étude du mécanisme d'action de leur cible biologique OSBP afin de découvrir les liens entre l'homéostasie du cholestérol et le cancer.

Pour finir, dans un troisième chapitre, la synthèse de coumarine à motif HHX fonctionnalisable qui est un analogue rigide et simplifié des SWs a été réalisée au sein de l'ICSN lors de mon stage de master. Le choix d'une telle structure s'explique par le fait que les coumarines sont des produits naturels fluorescents, ce qui présente de nombreux avantages, notamment pour mettre en évidence l'interaction de la molécule avec sa cible biologique. Deux stratégies de synthèse ont donc été élaborées afin d'obtenir la coumarine-HHX « nue » qui a été évaluée dans les tests de cytotoxicité. Toutefois, la coumarine-HHX « nue » s'est révélée inactive ainsi, des

fonctionnalisations de la partie coumarine ont été réalisées dans l'espoir, à la fois d'augmenter l'activité biologique de la molécule, mais aussi de moduler ses propriétés de fluorescence. Même si les conditions réactionnelles des premiers essais de fonctionnalisations n'ont pas permis d'obtenir les analogues fonctionnalisés, elles ont permis d'observer un composé dont l'hydroxyle du motif HHX a été oxydé en cétone, ce qui a permis d'envisager de nouvelles fonctionnalisations du motif HHX. D'autres conditions de fonctionnalisations décrites dans la littérature restent à tester et à optimiser afin d'obtenir des analogues fluorescents actifs afin de mieux comprendre le mécanisme de ces molécules dans le but de développer un futur candidat médicament.

Bibliographie

1. Cancers [Internet]. [cité 9 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/cancers>
2. Burgett AWG, Poulsen TB, Wangkanont K, Anderson DR, Kikuchi C, Shimada K, et al. Natural products reveal cancer cell dependence on oxysterol-binding proteins. *Nat Chem Biol.* sept 2011;7(9):639-47.
3. Cragg GM, Newman DJ. Plants as a source of anti-cancer agents. *J Ethnopharmacol.* 22 août 2005;100(1-2):72-9.
4. Cragg GM, Newman DJ. A tale of two tumor targets: topoisomerase I and tubulin. The Wall and Wani contribution to cancer chemotherapy. *J Nat Prod.* févr 2004;67(2):232-44.
5. Ojima I, Lichtenthal B, Lee S, Wang C, Wang X. Taxane anticancer agents: a patent perspective. *Expert Opin Ther Pat.* 2016;26(1):1-20.
6. Assi T, Rassy E, Farhat F, Kattan C, Kattan J. Docetaxel Rechallenge in Patients with Metastatic Prostate Cancer: A Comprehensive Review. *Oncol Res Treat.* 2020;43(6):299-306.
7. Katsumata N. Docetaxel: an alternative taxane in ovarian cancer. *Br J Cancer.* déc 2003;89(Suppl 3):S9-15.
8. Docétaxel : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 8 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/docetaxel-7050.html>
9. Cabazitaxel : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 8 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/cabazitaxel-23388.html>
10. Ojima I, Chen J, Sun L, Borella CP, Wang T, Miller ML, et al. Design, Synthesis and Biological Evaluation of New Generation Taxoids. *J Med Chem.* 12 juin 2008;51(11):3203-21.
11. Muggia F, Kudlowitz D. Novel taxanes. *Anticancer Drugs.* mai 2014;25(5):593-8.
12. Résumé des caractéristiques du produit - PACLITAXEL KABI 6 mg/ml, solution à diluer pour perfusion - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 8 sept 2021]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=61174122&typedoc=R#RcpEffetsIndesirables>
13. Yardley DA. nab-Paclitaxel mechanisms of action and delivery. *J Control Release Off J Control Release Soc.* 28 sept 2013;170(3):365-72.
14. Yared JA, Tkaczuk KH. Update on taxane development: new analogs and new formulations. *Drug Des Devel Ther.* 11 déc 2012;6:371-84.
15. Mann J. Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future. *Nat Rev Cancer.* févr 2002;2(2):143-8.
16. Cragg GM, Pezzuto JM. Natural Products as a Vital Source for the Discovery of Cancer Chemotherapeutic and Chemopreventive Agents. *Med Princ Pract.* juill 2016;25(Suppl 2):41-59.

17. Arora RD, Menezes RG. Vinca Alkaloid Toxicity. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cité 9 sept 2021]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557842/>
18. Lichota A, Gwozdinski K. Anticancer Activity of Natural Compounds from Plant and Marine Environment. *Int J Mol Sci.* 9 nov 2018;19(11):3533.
19. Vinblastine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 9 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/vinblastine-6901.html>
20. Vincristine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 9 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/vincristine-6902.html>
21. Martino E, Casamassima G, Castiglione S, Cellupica E, Pantalone S, Papagni F, et al. Vinca alkaloids and analogues as anti-cancer agents: Looking back, peering ahead. *Bioorg Med Chem Lett.* 15 sept 2018;28(17):2816-26.
22. Vinorelbine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 9 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/vinorelbine-6904.html>
23. Vinflunine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 9 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/vinflunine-23274.html>
24. Hirata Y, Uemura D. Halichondrins - antitumor polyether macrolides from a marine sponge. *Pure Appl Chem.* 1 janv 1986;58(5):701-10.
25. McBride A, Butler SK. Eribulin mesylate: a novel halichondrin B analogue for the treatment of metastatic breast cancer. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm.* 1 mai 2012;69(9):745-55.
26. Yeung BKS. Natural product drug discovery: the successful optimization of ISP-1 and halichondrin B. *Curr Opin Chem Biol.* août 2011;15(4):523-8.
27. He F, Mai LH, Gardères J, Hussain A, Erakovic Haber V, Bourguet-Kondracki M-L. Major Antimicrobial Representatives from Marine Sponges and/or Their Associated Bacteria. *Prog Mol Subcell Biol.* 2017;55:35-89.
28. HALAVEN 0,44 mg/ml sol inj [Internet]. VIDAL. [cité 9 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/halaven-0-44-mg-ml-sol-inj-106376.html>
29. Liu Y-Q, Li W-Q, Morris-Natschke SL, Qian K, Yang L, Zhu G-X, et al. Perspectives on Biologically Active Camptothecin Derivatives. *Med Res Rev.* juill 2015;35(4):753-89.
30. Topotécane : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 10 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/topotecane-17464.html>
31. Irinotécan : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 10 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/irinotecan-12311.html>
32. Hycamtin 4 mg pdre p sol diluer p perf [Internet]. VIDAL. [cité 10 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/hycamtin-4-mg-pdre-p-sol-diluer-p-perf-8368.html>
33. Sriram D, Yogeewari P, Thirumurugan R, Bal TR. Camptothecin and its analogues: a review on their chemotherapeutic potential. *Nat Prod Res.* juin 2005;19(4):393-412.
34. Shah Z, Gohar UF, Jamshed I, Mushtaq A, Mukhtar H, Zia-UI-Haq M, et al. Podophyllotoxin: History, Recent Advances and Future Prospects. *Biomolecules.* 19 avr 2021;11(4):603.

35. Xiao J, Gao M, Sun Z, Diao Q, Wang P, Gao F. Recent advances of podophyllotoxin/epipodophyllotoxin hybrids in anticancer activity, mode of action, and structure-activity relationship: An update (2010-2020). *Eur J Med Chem.* 15 déc 2020;208:112830.
36. Podophyllotoxine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 10 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/podophyllotoxine-2831.html>
37. étoposide : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 10 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/etoposide-1433.html>
38. McGowan JV, Chung R, Maulik A, Piotrowska I, Walker JM, Yellon DM. Anthracycline Chemotherapy and Cardiotoxicity. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2017;31(1):63-75.
39. Marinello J, Delcuratolo M, Capranico G. Anthracyclines as Topoisomerase II Poisons: From Early Studies to New Perspectives. *Int J Mol Sci.* 6 nov 2018;19(11):3480.
40. Martins-Teixeira MB, Carvalho I. Antitumour Anthracyclines: Progress and Perspectives. *ChemMedChem.* 4 juin 2020;15(11):933-48.
41. Daunorubicine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/daunorubicine-3869.html>
42. Doxorubicine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/doxorubicine-6769.html>
43. épirubicine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/epirubicine-6773.html>
44. Idarubicine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/idarubicine-15586.html>
45. Pirarubicine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/pirarubicine-3888.html>
46. Mitoxantrone : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/mitoxantrone-6986.html>
47. PIXUVRI (pixantrone) : nouveau médicament cytotoxique dans le traitement de 3e ou 4e ligne du LNH agressif à cellules B [Internet]. VIDAL. [cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/16350-pixuvri-pixantrone-nouveau-medicament-cytotoxique-dans-le-traitement-de-3e-ou-4e-ligne-du-lnh-agressif-a-cellules-b.html>
48. Lai WS, Arvola RM, Goldstrohm AC, Blackshear PJ. Inhibiting transcription in cultured metazoan cells with actinomycin D to monitor mRNA turnover. *Methods San Diego Calif.* 15 févr 2019;155:77-87.
49. Dactinomycine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/dactinomycine-18658.html>
50. Carlos de Oliveira R, Wilson SE. Biological effects of mitomycin C on late corneal haze stromal fibrosis following PRK. *Exp Eye Res.* nov 2020;200:108218.

51. Actualité - Mitomycine C : le médicament importé doit être réservé aux indications jugées prioritaires - ANSM [Internet]. [cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/actualites/mitomycine-c-le-medicament-importe-doit-etre-reserve-aux-indications-jugees-prioritaires>
52. He Y, Lan Y, Liu Y, Yu H, Han Z, Li X, et al. Pingyangmycin and Bleomycin Share the Same Cytotoxicity Pathway. *Mol Basel Switz*. 30 juin 2016;21(7):E862.
53. Dorr RT. Bleomycin pharmacology: mechanism of action and resistance, and clinical pharmacokinetics. *Semin Oncol*. avr 1992;19(2 Suppl 5):3-8.
54. BLEOMYCINE BELLON [Internet]. VIDAL. [cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/gammes/bleomycine-bellon-18701.html>
55. Chuk MK, Balis FM, Fox E. Trabectedin. *The Oncologist*. 2009;14(8):794-9.
56. Monneret C. Impact actuel des produits naturels sur la découverte de nouveaux médicaments anticancéreux. *Ann Pharm Fr*. 1 juill 2010;68(4):218-32.
57. Cuevas C, Francesch A. Development of Yondelis® (trabectedin, ET-743). A semisynthetic process solves the supply problem. *Nat Prod Rep*. 25 févr 2009;26(3):322-37.
58. Trabectédine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/trabectedine-22942.html>
59. Ventriglia J, Paciolla I, Cecere SC, Pisano C, Di Napoli M, Arenare L, et al. Trabectedin in Ovarian Cancer: is it now a Standard of Care? *Clin Oncol R Coll Radiol G B*. août 2018;30(8):498-503.
60. Demetri GD, von Mehren M, Jones RL, Hensley ML, Schuetze SM, Staddon A, et al. Efficacy and Safety of Trabectedin or Dacarbazine for Metastatic Liposarcoma or Leiomyosarcoma After Failure of Conventional Chemotherapy: Results of a Phase III Randomized Multicenter Clinical Trial. *J Clin Oncol*. 10 mars 2016;34(8):786-93.
61. Pereira JRCS, Hilário FF, Lima AB, Silveira MLT, Silva LM, Alves RB, et al. Cytotoxicity evaluation of marine alkaloid analogues of viscosaline and theonelladin C. *Biomed Prev Nutr*. 1 avr 2012;2(2):145-8.
62. Cytarabine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 22 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/cytarabine-1167.html>
63. Gani OABSM, Engh RA. Protein kinase inhibition of clinically important staurosporine analogues. *Nat Prod Rep*. avr 2010;27(4):489-98.
64. RYDAPT 25 mg caps molle [Internet]. VIDAL. [cité 22 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/rydapt-25-mg-caps-molle-184767.html>
65. Dorff T, Mack PC. The Role of mTOR Inhibitors and PI3K Pathway Blockade in Renal Cell Cancer. In: Lara PN, Jonasch E, éditeurs. *Kidney Cancer: Principles and Practice* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2015 [cité 25 sept 2021]. p. 295-314. Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-3-319-17903-2_18
66. AFINITOR comprimé (évérolimus) : nouveau dosage à 2,5 mg [Internet]. VIDAL. [cité 22 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/19124-afinitor-comprime-everolimus-nouveau-dosage-a-2-5-mg.html>

67. Temsirolimus : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 22 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/temsirolimus-22939.html>
68. Hafeez U, Parakh S, Gan HK, Scott AM. Antibody-Drug Conjugates for Cancer Therapy. *Mol Basel Switz.* 16 oct 2020;25(20):E4764.
69. Thomas A, Teicher BA, Hassan R. Antibody–drug conjugates for cancer therapy. *Lancet Oncol.* juin 2016;17(6):e254-62.
70. Chau CH, Steeg PS, Figg WD. Antibody-drug conjugates for cancer. *Lancet Lond Engl.* 31 août 2019;394(10200):793-804.
71. Actualité - Traitement du cancer du sein triple négatif : autorisation en accès précoce du médicament Trodelvy (sacituzumab govitecan) - ANSM [Internet]. [cité 10 sept 2021]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/actualites/traitement-du-cancer-du-sein-triple-negatif-autorisation-en-acces-precoce-du-medicament-trodelvy-sacituzumab-govitecan>
72. Akaiwa M, Dugal-Tessier J, Mendelsohn BA. Antibody-Drug Conjugate Payloads; Study of Auristatin Derivatives. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2020;68(3):201-11.
73. von Schwarzenberg K, Vollmar AM. Targeting apoptosis pathways by natural compounds in cancer: marine compounds as lead structures and chemical tools for cancer therapy. *Cancer Lett.* 28 mai 2013;332(2):295-303.
74. Lopus M, Oroudjev E, Wilson L, Wilhelm S, Widdison W, Chari R, et al. Maytansine and Cellular Metabolites of Antibody-Maytansinoid Conjugates Strongly Suppress Microtubule Dynamics by Binding to Microtubules. *Mol Cancer Ther.* oct 2010;9(10):2689-99.
75. Huryn DM, Wipf P. Chapter 3 - Natural Product Chemistry and Cancer Drug Discovery. In: Neidle S, éditeur. *Cancer Drug Design and Discovery (Second Edition)* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2014 [cité 22 sept 2021]. p. 91-120. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123965219000036>
76. KADCYLA (trastuzumab emtansine) : nouveau médicament dans la prise en charge du cancer du sein [Internet]. VIDAL. [cité 14 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/14469-kadcyla-trastuzumab-emtansine-nouveau-medicament-dans-la-prise-en-charge-du-cancer-du-sein.html>
77. Xi Z, Goldberg IH. 7.15 - DNA-damaging Eneidyne Compounds. In: Barton SD, Nakanishi K, Meth-Cohn O, éditeurs. *Comprehensive Natural Products Chemistry* [Internet]. Oxford: Pergamon; 1999 [cité 14 sept 2021]. p. 553-92. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080912837000709>
78. ATU/RTU - MYLOTARG 5 mg, poudre pour solution à diluer pour perfusion - ANSM [Internet]. [cité 14 sept 2021]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/tableau-atu-rtu/mylotarg-5-mg-poudre-pour-solution-a-diluer-pour-perfusion>
79. BLENREP 100 mg pdre p sol diluer p perf [Internet]. VIDAL. [cité 14 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/blenrep-100-mg-pdre-p-sol-diluer-p-perf-215379.html>
80. ATU/RTU - BELANTAMAB MAFODOTIN 100 mg, poudre pour solution à diluer pour perfusion - ANSM [Internet]. [cité 14 sept 2021]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/tableau-atu-rtu/belantamab-mafodotin-100-mg-poudre-pour-solution-a-diluer-pour-perfusion>

81. ATU/RTU - TRASTUZUMAB DERUXTECAN 100 mg, poudre pour solution à diluer pour perfusion - ANSM [Internet]. [cité 10 sept 2021]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/tableau-atu-rtu/trastuzumab-deruxtecan-100-mg-poudre-pour-solution-a-diluer-pour-perfusion>
82. ENHERTU (trastuzumab déruxtécán) [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 14 sept 2021]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3272596/fr/enherthu-trastuzumab-deruxtecan
83. Starodub AN, Ocean AJ, Shah MA, Guarino MJ, Picozzi, Jr. VJ, Vahdat LT, et al. First-in-Human Trial of a Novel Anti-Trop-2 Antibody-SN-38 Conjugate, Sacituzumab Govitecan, for the Treatment of Diverse Metastatic Solid Tumors. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 sept 2015;21(17):3870-8.
84. Kératose actinique : suspension d'AMM du gel PICATO et rappel de tous les lots (EDIT du 28 janvier 2020) [Internet]. VIDAL. [cité 22 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/24192-keratose-actinique-suspension-d-amm-du-gel-picato-et-rappel-de-tous-les-lots-edit-du-28-janvier-2020.html>
85. Da Silva PPJ, Bendjeddou LZ, Meijer L. [Search for natural substances with therapeutic activity: George R. Pettit]. *Med Sci MS.* mars 2014;30(3):319-28.
86. Monniot F. Some ascidians from the southern coast of Madagascar collected during the "AtimoVatae" survey. *Zootaxa.* 17 févr 2012;3197(1):1-42.
87. Moser BR. Review of Cytotoxic Cephalostatins and Ritterazines: Isolation and Synthesis. *J Nat Prod.* mars 2008;71(3):487-91.
88. Iglesias-Arteaga MA, Morzycki JW. Cephalostatins and ritterazines. *Alkaloids Chem Biol.* 2013;72:153-279.
89. Li J, Xu B, Cui J, Deng Z, de Voogd NJ, Proksch P, et al. Globostelletins A–I, cytotoxic isomalabaricane derivatives from the marine sponge *Rhabdastrella globostellata*. *Bioorg Med Chem.* 1 juill 2010;18(13):4639-47.
90. McCormick JL, McKee TC, Cardellina JH, Leid M, Boyd MR. Cytotoxic triterpenes from a marine sponge, *Stelletta* sp. *J Nat Prod.* nov 1996;59(11):1047-50.
91. Tasdemir D, Mangalindan GC, Concepción GP, Verbitski SM, Rabindran S, Miranda M, et al. Bioactive isomalabaricane triterpenes from the marine sponge *Rhabdastrella globostellata*. *J Nat Prod.* févr 2002;65(2):210-4.
92. Li Y-X, Himaya SWA, Kim S-K. Triterpenoids of Marine Origin as Anti-Cancer Agents. *Molecules.* 4 juill 2013;18(7):7886-909.
93. Calcabrini C, Catanzaro E, Bishayee A, Turrini E, Fimognari C. Marine Sponge Natural Products with Anticancer Potential: An Updated Review. *Mar Drugs.* 13 oct 2017;15(10):310.
94. Tang Y, Li N, Duan J, Tao W. Structure, Bioactivity, and Chemical Synthesis of OSW-1 and Other Steroidal Glycosides in the Genus *Ornithogalum*. *Chem Rev.* 10 juill 2013;113(7):5480-514.
95. Péresse T, Jézéquel G, Allard P-M, Pham V-C, Huong DTM, Blanchard F, et al. Cytotoxic Prenylated Stilbenes Isolated from *Macaranga tanarius*. *J Nat Prod.* 27 oct 2017;80(10):2684-91.

96. Thoison O, Hnawia E, Guiéritte-Voegelein F, Sévenet T. Vedelianin, a hexahydroxanthene derivative isolated from *Macaranga vedeliana*. *Phytochemistry*. 1 avr 1992;31(4):1439-42.
97. Harmalkar DS, Mali JR, Sivaraman A, Choi Y, Lee K. Schweinfurthins A–Q: isolation, synthesis, and biochemical properties. *RSC Adv*. 8 juin 2018;8(38):21191-209.
98. Turbyville TJ, Gürsel DB, Tuskan RG, Walrath JC, Lipschultz CA, Lockett SJ, et al. Schweinfurthin A Selectively Inhibits Proliferation and Rho Signaling in Glioma and Neurofibromatosis type 1 Tumor Cells in an NF1-GRD Dependent Manner. *Mol Cancer Ther*. mai 2010;9(5):1234-43.
99. Koubek EJ, Weissenrieder JS, Neighbors JD, Hohl RJ. Schweinfurthins: Lipid Modulators with Promising Anticancer Activity. *Lipids*. août 2018;53(8):767-84.
100. Kuder CH, Neighbors JD, Hohl RJ, Wiemer DF. Synthesis and biological activity of a fluorescent schweinfurthin analogue. *Bioorg Med Chem*. 1 juill 2009;17(13):4718-23.
101. Lee S, LaCour TG, Fuchs PL. Chemistry of Trisdecacyclic Pyrazine Antineoplastics: The Cephalostatins and Ritterazines. *Chem Rev*. juin 2009;109(6):2275-314.
102. Nakayama Y, Maser MR, Okita T, Dubrovskiy AV, Campbell TL, Reisman SE. Total Synthesis of Ritterazine B. *J Am Chem Soc*. 24 mars 2021;143(11):4187-92.
103. Huck CJ, Boyko YD, Sarlah D. Total Synthesis of Stelletins through an Unconventional Annulation Strategy. *Acc Chem Res*. 6 avr 2021;54(7):1597-609.
104. Pietrangelo A, Ridgway ND. Bridging the molecular and biological functions of the oxysterol-binding protein family. *Cell Mol Life Sci*. sept 2018;75(17):3079-98.
105. PI3K [Internet]. *Physiologie et Médecine Expérimentale du cœur et des muscles – PHYMEDEXP*. [cité 24 juin 2020]. Disponible sur: <https://u1046.edu.umontpellier.fr/163-2/abrege-des-proteines-musculaires/pi3k/>
106. Xu J, Dang Y, Ren YR, Liu JO. Cholesterol trafficking is required for mTOR activation in endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci*. 9 mars 2010;107(10):4764-9.
107. Rudy A, López-Antón N, Dirsch VM, Vollmar AM. The cephalostatin way of apoptosis. *J Nat Prod*. mars 2008;71(3):482-6.
108. López-Antón N, Rudy A, Barth N, Schmitz LM, Pettit GR, Schulze-Osthoff K, et al. The Marine Product Cephalostatin 1 Activates an Endoplasmic Reticulum Stress-specific and Apoptosome-independent Apoptotic Signaling Pathway. *J Biol Chem*. 11 mars 2006;281(44):33078-86.
109. Dirsch VM, Xu J-P, Ichihara Y, Wanner G, Vollmar AM. Cephalostatin 1 Selectively Triggers the Release of Smac/DIABLO and Subsequent Apoptosis That Is Characterized by an Increased Density of the Mitochondrial Matrix. :9.
110. Komiya T, Fusetani N, Matsunaga S, Kubo A, Kaye FJ, Kelley MJ, et al. Ritterazine B, a new cytotoxic natural compound, induces apoptosis in cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol*. mars 2003;51(3):202-8.
111. Nawasreh MM, Alzyoud EI, Al-Mazaydeh ZA, Rammaha MS, Yasin SR, Tahtamouni LH. Biological activity and apoptotic signaling pathway of C11-functionalized cephalostatin 1 analogues. *Steroids*. juin 2020;158:108602.

112. Tang S-A, Zhou Q, Guo W-Z, Qiu Y, Wang R, Jin M, et al. In Vitro Antitumor Activity of Stelletin B, a Triterpene from Marine Sponge *Jaspis stellifera*, on Human Glioblastoma Cancer SF295 Cells. *Mar Drugs*. 15 juill 2014;12(7):4200-13.
113. Wang R, Zhang Q, Peng X, Zhou C, Zhong Y, Chen X, et al. Stelletin B Induces G1 Arrest, Apoptosis and Autophagy in Human Non-small Cell Lung Cancer A549 Cells via Blocking PI3K/Akt/mTOR Pathway. *Sci Rep [Internet]*. 31 mai 2016 [cité 5 juin 2020];6. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4886687/>
114. Cheng S-Y, Chen N-F, Lin P-Y, Su J-H, Chen B-H, Kuo H-M, et al. Anti-Invasion and Antiangiogenic Effects of Stelletin B through Inhibition of the Akt/Girdin Signaling Pathway and VEGF in Glioblastoma Cells. *Cancers*. 14 févr 2019;11(2):220.
115. Wu Q, Nay B, Yang M, Ni Y, Wang H, Yao L, et al. Marine sponges of the genus *Stelletta* as promising drug sources: chemical and biological aspects. *Acta Pharm Sin B*. 1 mars 2019;9(2):237-57.
116. Folmer F, Jaspars M, Solano G, Cristofanon S, Henry E, Tabudravu J, et al. The inhibition of TNF- α -induced NF- κ B activation by marine natural products. *Biochem Pharmacol*. 15 sept 2009;78(6):592-606.
117. Zhou Y, Garcia-Prieto C, Carney DA, Xu R, Pelicano H, Kang Y, et al. OSW-1: a Natural Compound With Potent Anticancer Activity and a Novel Mechanism of Action. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 7 déc 2005;97(23):1781-5.
118. Zhang Y, Fang F, Fan K, Zhang Y, Zhang J, Guo H, et al. Effective cytotoxic activity of OSW-1 on colon cancer by inducing apoptosis in vitro and in vivo. *Oncol Rep*. juin 2017;37(6):3509-19.
119. Ding X, Li Y, Li J, Yin Y. OSW-1 inhibits tumor growth and metastasis by NFATc2 on triple-negative breast cancer. *Cancer Med*. 8 juin 2020;9(15):5558-69.
120. Garcia-Prieto C, Riaz Ahmed KB, Chen Z, Zhou Y, Hammoudi N, Kang Y, et al. Effective Killing of Leukemia Cells by the Natural Product OSW-1 through Disruption of Cellular Calcium Homeostasis. *J Biol Chem*. 1 févr 2013;288(5):3240-50.
121. Kimura M, Sasaki K, Fukutani Y, Yoshida H, Ohsawa I, Yohda M, et al. Anticancer saponin OSW-1 is a novel class of selective Golgi stress inducer. *Bioorg Med Chem Lett*. 15 juill 2019;29(14):1732-6.
122. Bensen RC, Gunay G, Finneran MC, Jhingan I, Acar H, Burgett AWG. Small Molecule Targeting of Oxysterol-Binding Protein (OSBP)-Related Protein 4 and OSBP Inhibits Ovarian Cancer Cell Proliferation in Monolayer and Spheroid Cell Models. *ACS Pharmacol Transl Sci*. 9 avr 2021;4(2):744-56.
123. Sakurai K, Hiraizumi M, Isogai N, Komatsu R, Shibata T, Ohta Y. Synthesis of a fluorescent photoaffinity probe of OSW-1 by site-selective acylation of an inactive congener and biological evaluation. *Chem Commun Camb Engl*. 3 janv 2017;53(3):517-20.
124. Fukaya K, Urabe D, Hiraizumi M, Noguchi K, Matsumoto T, Sakurai K. Computational and Experimental Analysis on the Conformational Preferences of Anticancer Saponin OSW-1. *J Org Chem*. 17 janv 2020;85(2):339-44.
125. Kokolus KM, Haley JS, Koubek EJ, Gowda R, Dinavahi SS, Sharma A, et al. Schweinfurthin natural products induce regression of murine melanoma and pair with anti-PD-1 therapy to facilitate durable tumor immunity. *Oncoimmunology*. 11 nov 2018;8(2):e1539614.

126. Moosavi B, Gao M, Zhu X-L, Yang G-F. The anti-cancer compound Schweinfurthin A targets Osh2 and disrupts lipid metabolism in the yeast model. *Bioorganic Chem.* janv 2020;94:103471.
127. Péresse T, Kovacs D, Subra M, Bigay J, Tsai M-C, Polidori J, et al. Molecular and cellular dissection of the oxysterol-binding protein cycle through a fluorescent inhibitor. *J Biol Chem.* 27 mars 2020;295(13):4277-88.
128. Kodet JG, Beutler JA, Wiemer DF. Synthesis and Structure Activity Relationships of Schweinfurthin Indoles. *Bioorg Med Chem.* 15 avr 2014;22(8):2542-52.
129. Mente NR, Wiemer AJ, Neighbors JD, Beutler JA, Hohl RJ, Wiemer DF. Total synthesis of (R,R,R)- and (S,S,S)-schweinfurthin F: differences of bioactivity in the enantiomeric series. *Bioorg Med Chem Lett.* 15 févr 2007;17(4):911-5.
130. Stockdale DP, Beutler JA, Wiemer DF. Synthesis of amide isosteres of schweinfurthin-based stilbenes. *Bioorg Med Chem.* oct 2017;25(20):5483-9.
131. Mizar P, Arya R, Kim T, Cha S, Ryu K-S, Yeo W, et al. Total Synthesis of Xanthoangelol B and Its Various Fragments: Toward Inhibition of Virulence Factor Production of *Staphylococcus aureus*. *J Med Chem.* 13 déc 2018;61(23):10473-87.
132. Topczewski JJ, Kodet JG, Wiemer DF. Exploration of Cascade Cyclizations Terminated by Tandem Aromatic Substitution: Total Synthesis of (+)-Schweinfurthin A. *J Org Chem.* 4 févr 2011;76(3):909-19.
133. Reisch J, Herath HMTB, Kumar NS. Natural product chemistry, 139. Synthesis of the natural coumarins (E)-suberenol, cyclobisuberodiene and two other related new coumarins. *Liebigs Ann Chem.* 12 sept 1990;1990(9):931-3.
134. Dutheuil G, Selander N, Szabó K, Aggarwal V. Direct Synthesis of Functionalized Allylic Boronic Esters from Allylic Alcohols and Inexpensive Reagents and Catalysts. *Synthesis.* juill 2008;2008(14):2293-7.
135. Rashid MA, Armstrong JA, Gray AI, Waterman PG. Novel C-Geranyl 7-Hydroxycoumarins from the Aerial Parts of *Eriostemon tomentellus*. *Z Für Naturforschung B.* 1 févr 1992;47(2):284-7.
136. Lammel C, Zwirchmayr J, Seigner J, Rollinger JM, de Martin R. Peucedanum ostruthium Inhibits E-Selectin and VCAM-1 Expression in Endothelial Cells through Interference with NF- κ B Signaling. *Biomolecules.* 21 août 2020;10(9):E1215.
137. Schinkovitz A, Gibbons S, Stavri M, Cocksedge MJ, Bucar F. Ostruthin: An Antimycobacterial Coumarin from the Roots of *Peucedanum ostruthium*. *Planta Med.* avr 2003;69(04):369-71.
138. Urbain A, Marston A, Hostettmann K. Coumarins from *Peucedanum ostruthium*. as Inhibitors of Acetylcholinesterase. *Pharm Biol.* 1 janv 2005;43(8):647-50.
139. Joa H, Vogl S, Atanasov AG, Zehl M, Nakel T, Fakhrudin N, et al. Identification of Ostruthin from *Peucedanum ostruthium* Rhizomes as an Inhibitor of Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation. *J Nat Prod.* 2011;4.
140. Covarrubias-Zúñiga A, Gonzalez-Lucas A, Domínguez MM. Total synthesis of mycophenolic acid. *Tetrahedron.* mars 2003;59(11):1989-94.

141. Khoobi M, Alipour M, Zarei S, Jafarpour F, Shafiee A. A facile route to flavone and neoflavone backbones via a regioselective palladium catalyzed oxidative Heck reaction. *Chem Commun.* 2012;48(24):2985.
142. Schultz MJ, Park CC, Sigman MS. A convenient palladium-catalyzed aerobic oxidation of alcohols at room temperature. *Chem Commun.* 1 déc 2002;(24):3034-5.
143. Nishimura T, Onoue T, Ohe K, Uemura S. Palladium(II)-Catalyzed Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones by Molecular Oxygen. *J Org Chem.* 1 sept 1999;64(18):6750-5.
144. Martins S, Branco PS, de la Torre MC, Sierra MA, Pereira A. New Methodology for the Synthesis of 3-Substituted Coumarins via Palladium-Catalyzed Site-Selective Cross-Coupling Reactions. *Synlett.* déc 2010;2010(19):2918-22.



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE

U.F.R. Santé

Faculté des Sciences Pharmaceutiques

VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE LA FACULTE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

CAEN, LE

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

TITRE

LES ORPphilines, FAMILLE DE MOLECULES NATURELLES AUX PROPRIETES ANTI-CANCEREUSES PROMETTEUSES

Résumé

La nature est un réservoir unique de source d'inspiration pour le développement d'agents cytotoxiques, notamment après la découverte des vinca-alcaloïdes dans les années 60. Cette dernière a encouragé le NCI à lancer un vaste programme de criblage à partir de 35 000 plantes afin de développer de nouveaux agents cytotoxiques.

Parmi les extraits de plantes testés par le NCI, plusieurs familles de molécules présentant une activité cytotoxique similaire ont été identifiées. Ces molécules semblent avoir un mécanisme cytotoxique commun en agissant sur la protéine OSBP. L'OSBP appartient à une superfamille de protéines, les ORPs (OSBP-related proteins), qui jouent un rôle dans le transport et la régulation métabolique des stérols. Ces molécules naturelles ciblant les ORPs sont nommées les ORPphilines. Elles possèdent des activités cytotoxiques prometteuses de l'ordre du nanomolaire ciblées sur certaines lignées cancéreuses, ce qui les rend particulièrement intéressantes pour développer de nouveaux agents cytotoxiques de structures originales et différentes des anticancéreux actuellement existants sur le marché.

TITLE

ORPphilins, A FAMILY OF NATURAL MOLECULES WITH PROMISING ANTICANCER PROPERTIES

Summary

Nature is a unique reservoir of inspiration for the development of cytotoxic agents, especially after the discovery of vinca-alkaloids in the 1960s. This discovery encouraged the NCI to launch into a vast screening program from 35,000. plants in order to develop new cytotoxic agents. Among the plant extracts tested by the NCI, several families of molecules with similar cytotoxic activity have been identified. These molecules appear to have a common cytotoxic mechanism by targeting on the OSBP protein. OSBP belongs to a superfamily of proteins, ORPs (OSBP-related proteins), which play a role in the transport and metabolic regulation of sterols. These natural molecules targeting ORPs are called ORPphilins. They have promising selective cytotoxic activities on certain cancer cells, which makes them particularly interesting for developing new cytotoxic agents with original structures and different from anticancer drugs currently on the market.

Mots-clés

ORPphilines ; produits naturels ; cancer ; Oxysterol Binding Protein (OSBP) ; chimie médicinale
