



UNIVERSITE DE LIMOGES

ECOLE DOCTORALE Science – Technologie – Santé

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles

Thèse N° 44-2006

Thèse

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline - Spécialité : Chimie Appliquée - Chimie des Substances Naturelles

Présentée et soutenue par

Guillaume GARCIA

le 19 Septembre 2006

**Nouveaux macrocycles tétrapyrroliques et dérivés
vectorisables en photothérapie –
Porphyrines et chlorines polyaminées et trimères**

Thèse dirigée par M. Pierre KRAUSZ, Professeur

JURY :

Rapporteurs :

M. Bruno ANDRIOLETTI

Chargé de recherche au CNRS – H.D.R.
Université Paris VI

M. Mir Wais HOSSEINI

Professeur
Université Strasbourg 1 – Louis Pasteur

Examineurs :

M. Pierre KRAUSZ

Professeur
Université de Limoges

M. Franck STURTZ

Professeur
Université de Limoges

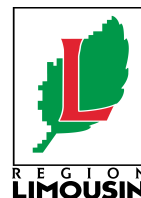
Invité :

M. Michel GUILLOTON

Professeur Honoraire
Université de Limoges

M. Vincent SOL

Maître de Conférences
Université de Limoges





UNIVERSITE DE LIMOGES

ECOLE DOCTORALE Science – Technologie – Santé

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles

Thèse N° 44-2006

Thèse

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline - Spécialité : Chimie Appliquée - Chimie des Substances Naturelles

Présentée et soutenue par

Guillaume GARCIA

le 19 Septembre 2006

**Nouveaux macrocycles tétrapyrroliques et dérivés
vectorisables en photothérapie –
Porphyrines et chlorines polyaminées et trimères**

Thèse dirigée par M. Pierre KRAUSZ, Professeur

JURY :

Rapporteurs :

M. Bruno ANDRIOLETTI

Chargé de recherche au CNRS – H.D.R.
Université Paris VI

M. Mir Wais HOSSEINI

Professeur
Université Strasbourg 1 – Louis Pasteur

Examineurs :

M. Pierre KRAUSZ

Professeur
Université de Limoges

M. Franck STURTZ

Professeur
Université de Limoges

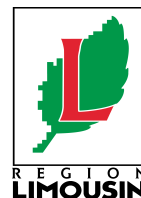
Invité :

M. Michel GUILLOTON

Professeur Honoraire
Université de Limoges

M. Vincent SOL

Maître de Conférences
Université de Limoges



REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance au Professeur Pierre KRAUSZ pour m'avoir accueilli au sein du Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et de m'avoir permis de préparer mon doctorat dans les meilleures conditions. Je tiens à vous remercier tout particulièrement, Professeur KRAUSZ, pour vos critiques envers ce travail mais aussi pour votre soutien et pour m'avoir permis de présenter mes travaux lors de différents congrès.

Je tiens également à remercier chaleureusement le Docteur Vincent SOL pour avoir dirigé ce travail. Vos compétences scientifiques et votre rigueur m'ont permis de mener à bien cette thèse. Mais je voudrais surtout vous remercier, Vincent, pour votre gentillesse et votre disponibilité. Mon amitié vous est toute offerte.

Je suis très honoré de la présence au titre de rapporteur du Professeur Mir Wais HOSSEINI, Professeur (Université de Strasbourg) et du Docteur Bruno ANDRIOLETTI, chargé de recherche CNRS (Université Paris VI). Je les remercie d'avoir accepté de juger ce travail. J'exprime également mes remerciements au Professeur Franck STURTZ (Université de Limoges) pour l'honneur qu'il m'a fait d'examiner ce travail.

Je tiens à exprimer tous mes sincères remerciements au Professeur Michel GUILLOTON pour ses conseils, ses encouragements et son aide précieuse. Je lui suis reconnaissant d'avoir bien voulu accepter de participer à ce jury.

Je remercie sincèrement le Professeur Rachida BENCHADDOU-ZERROUKI et le Docteur Robert GRANET pour leur aide et les nombreuses discussions qui ont enrichi ce travail.

Je tiens également à remercier le Docteur Caroline LEMORVAN pour avoir effectué les tests photochimiques, le Docteur Jean Claude BLAIS et le Docteur Sandra SALVES (Université Paris VI) pour avoir réalisé les spectres de masse MALDI ainsi que Yves CHAMPAVIER qui est en charge du service commun de RMN.

J'adresse tous mes remerciements à l'ensemble du personnel du laboratoire (professeurs, techniciens, étudiants) qui par leur aide ou simplement leur amitié ont contribué à la réalisation de ce travail.

Je remercie également le Conseil Régional qui m'a accordé un financement sous la forme d'une bourse du Fond Social Européen.

Je tiens, enfin, à remercier du fond du cœur ma famille et spécialement mes parents dont l'affection et le soutien constant qu'ils m'ont portés ont été déterminants dans la réussite de mon parcours universitaire. J'adresse aussi mes remerciements à mes amis pour leur présence et leur fidélité.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Remerciements.....	5
REMERCIEMENTS	7
Sommaire	9
SOMMAIRE	11
Liste des abréviations.....	- 2 -
Liste des abréviations	- 4 -
Introduction générale.....	- 6 -
Introduction générale.....	- 8 -
Chapitre I :.....	- 10 -
Les porphyrines et les chlorines Structure, propriétés et applications... -	10 -
Etat de la question.....	- 10 -
Chapitre I.....	- 12 -
Les porphyrines et les chlorines – Structures, Propriétés et Applications	- 12 -
Etat de la question	- 12 -
1- Structures	- 12 -
2- Caractérisations	- 16 -
2-1- Spectroscopie UV-visible	- 16 -
2-2- Spectroscopie de masse MALDI	- 19 -
2-3- Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	- 21 -
2-3-1- Spectroscopie RMN du proton.....	- 21 -
2-3-2- Spectroscopie RMN du carbone.....	- 23 -
2-4- Spectroscopie Infra-Rouge	- 24 -
3- Synthèses et préparations	- 24 -
3-1- Synthèse de meso-porphyrines	- 25 -
3-2- Synthèse de porphyrines β -substituées.....	- 28 -
3-2-1- A partir d'unité monopyrrolique.....	- 28 -
3-2-2- A partir d'unités di et tripyrroliques	- 30 -
3-3- Synthèse de chlorines	- 31 -
4- Domaines d'applications des porphyrines	- 33 -
5- Application : La photothérapie dynamique.....	- 36 -
5-1- Principe	- 36 -
5-2- Historique	- 36 -
5-3- Mécanisme et processus photochimique	- 38 -
5-4- Les différents photosensibilisateurs utilisés en PDT	- 41 -
5-5- Autres applications thérapeutiques	- 48 -
6- Les polyamines	- 52 -
6-1- Généralités	- 52 -
6-2- Synthèse des polyamines	- 53 -
6-3- Métabolisme et fonctions biologiques des polyamines	- 57 -
6-3-1- Métabolisme	- 57 -
6-3-2- Application thérapeutique	- 58 -

6-3-3- Diagnostic anticancéreux	- 61 -
7- But du travail.....	- 62 -
Chapitre II :	- 66 -
Synthèse de porphyrines et chlorines tétrapolyaminées.....	- 66 -
Chapitre II	- 68 -
Synthèse de porphyrines et chlorines tétrapolyaminées.....	- 68 -
1- Introduction.....	- 68 -
2- Stratégie de synthèse.....	- 70 -
3- Synthèse des précurseurs polyaminés	- 72 -
3-1- Généralités	- 72 -
3-2- Synthèse de la spermidineBoc ₂ et de la spermineBoc ₃ 1a,b	- 72 -
3-3- Fixation du N-(4-bromobutyl)phtalimide	- 73 -
3-4- Déprotection du groupement phtalimide	- 74 -
4- Elaboration des porphyrines tétrapolyaminées	- 76 -
5- Synthèse des chlorines tétrapolyaminées.....	- 78 -
6- Déprotection des porphyrines et des chlorines tétrapolyaminées	- 81 -
7- Caractérisations.....	- 82 -
7-1- Spectroscopie UV-visible	- 82 -
7-2- Spectrométrie de masse MALDI	- 84 -
7-3- RMN du proton.....	- 86 -
Chapitre III :	- 94 -
Synthèse de porphyrines et chlorines dipolyaminées.....	- 94 -
Chapitre III	- 96 -
Synthèse de porphyrines et chlorines dipolyaminées.....	- 96 -
1- Introduction.....	- 96 -
2- Stratégie de synthèse.....	- 97 -
3- Synthèse de la bis(carboxyphényl)-bis(mésityl)porphyrine	- 99 -
3-1- Préparation du dipyrrométhane	- 101 -
3-2- Formation de la porphyrine	- 102 -
4- Synthèse des porphyrines polyaminées	- 103 -
5- Formation des chlorines polyaminées.....	- 104 -
6- Déprotection des <i>trans</i> -porphyrines et des <i>trans</i> -chlorines polyaminées	- 105 -
7- Caractérisations.....	- 106 -
7-1- Spectroscopie UV-visible	- 106 -
7-2- Spectrométrie de masse MALDI	- 108 -
7-3- RMN du proton.....	- 109 -
Chapitre IV :	- 118 -
Synthèse de trimères de porphyrine et de chlorine.....	- 118 -
Chapitre IV	- 120 -
Synthèse de trimères de porphyrine et de chlorine	- 120 -
1- Introduction.....	- 120 -
2- Stratégie de synthèse.....	- 121 -
3- Synthèse de la mono <i>para</i> -hydroxyphényltritolylporphyrine.....	- 122 -
4- Synthèse de la mono <i>para</i> -(3-iodopropoxyphényl)tritolylporphyrine.....	- 123 -
5- Synthèse de la bis(hydroxyphényl)-bis(mésityl)porphyrine	- 124 -
6- Synthèse de la bis(hydroxyphényl)-bis(mésityl)chlorine	- 126 -
7- Synthèse des trimères.....	- 127 -

8- Caractérisations	- 128 -
8-1- Spectroscopie UV-visible	- 129 -
8-2- Spectrométrie de masse MALDI	- 130 -
8-3- RMN du proton.....	- 132 -
8-3-1- Etude des spectres des monomères	- 132 -
8-3-2- Etude des spectres des trimère	- 134 -
Chapitre V :	- 140 -
Quelques données pharmacologiques.....	- 140 -
Chapitre V	- 142 -
Quelques données pharmacologiques	- 142 -
1- Introduction.....	- 142 -
2- Coefficient de partage	- 142 -
3- Production d'oxygène singulet	- 143 -
4- Interaction avec l'ADN.....	- 144 -
5- Photoclivage de l'ADN.....	- 147 -
Conclusion générale et perspectives	- 151 -
Conclusion générale et perspectives	- 153 -
Chapitre VI :	- 155 -
Partie expérimentale	- 155 -
Chapitre VI.....	- 157 -
Partie Expérimentale	- 157 -
1- Réactifs et solvants	- 157 -
2- Mesures physiques	- 159 -
3- Chromatographie.....	- 160 -
5- Appareillage pour la production d'oxygène singulet.....	- 161 -
6- Interactions avec l'ADN	- 161 -
7- Photoclivage de l'ADN.....	- 162 -
8- Synthèses.....	- 163 -
Liste des composés synthétisés	- 197 -
au cours de ce travail	- 197 -
Liste des composés synthétisés au cours de ce travail	- 199 -

LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique
ALA : acide-5-aminolévulinique
AMM : autorisation de mise sur le marché
ARN : acide ribonucléique
ARNt : acide ribonucléique de transport
Boc : *tert*-butyloxycarbonyle
Boc-ON : 2-(*tert*-butyloxycarbonyloxyimino)-2-phénylacétonitrile
BOP : l'hexafluorophosphate de benzotriazoloyloxy-tri-(diméthylamino)phosphonium
BPD-MA : dérivé monoacide de la benzoporphyrine
CCM : chromatographie sur couche mince
CIS : conversion intersystème
COSY : spectroscopie 2D corrélation proton-proton
DCC : dicyclohexylcarbodiimide
Dde : *N*-1-(4,4-diméthyl-2,6-dioxocyclohexylidène)éthyl
DFMO : α -difluorométhylornithine
DHE : dihématoporphyrine éther ou ester
DMF : diméthylformamide
DMLA : dégénérescence maculaire liée à l'âge
ESI : ionisation par electrospray
H₂TTC : tétratolylchlorine
H₂TTP : tétratolylporphyrine
HCCA : acide α -cyano-4-hydroxycinnamique
HOBt : 1-hydroxybenzotriazole
HRMS : spectrométrie de masse haute résolution
Hp : hématoporphyrine
HpD : hématoporphyrine dérivé
IR : infra-rouge
LDL : lipoprotéine de faible densité
MALDI : Désorption-ionisation laser assistées par matrice
m-THPBC : *meta*-hydroxyphénylbactériochlorine
m-THPC : *meta*-hydroxyphénylchlorine

m-THPP : *meta*-hydroxyphénylporphyrine

Mes : mésityle

MGBG : méthylglyoxal-bis(guanyl)hydrazone

Npe6 : *N*-aspartylchlorine e6

PACT : photochimiothérapie antimicrobienne

PDT : photothérapie dynamique

PyBOP : hexafluorophosphate de benzotriazoloxo-tri(pyrrolidino)phosphonium

R_f : rapport frontal

RMN : résonance magnétique nucléaire

SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise

T_f : température de fusion

TFA : acide trifluoroacétique

THF : tétrahydrofurane

TMPyP : tétra(méthylpyridinium)porphyrine

TMS : tétraméthylsilane

TOF : temps de vol

UV : ultra-violet

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les porphyrines et les chlorines sont des structures hétérocycliques aromatiques très largement représentées dans les milieux vivants. Elles participent, particulièrement sous forme métallée, à de nombreux processus biologiques d'oxydoréduction. Ainsi, l'hémoglobine ou la myoglobine, grâce à une porphyrine de fer, le noyau hème, assurent respectivement le transport et le stockage du dioxygène. De telles structures sont également impliquées dans l'oxydation de substrats par les cytochromes (notamment le cytochrome P450). Les chlorines, quant à elles, participent à la photosynthèse chez les plantes et les bactéries photosynthétiques. L'intérêt porté à la conception et au développement de nouvelles stratégies de synthèse des porphyrines et des chlorines n'a cessé de croître ces dernières années en raison de leur vaste domaine d'applications. Par exemple, l'élaboration de modèles d'hémoprotéines, mimant l'aptitude des enzymes pour la reconnaissance ou la catalyse, permet de comprendre leur fonctionnement dans les systèmes naturels. En outre, certaines porphyrines d'origine synthétique ou naturelle se révèlent être particulièrement efficaces en tant que catalyseurs régiosélectifs, ou mêmes stéréosélectifs, d'époxydation et d'hydroxylation, en tant qu'agents de photodécomposition de l'eau ou encore en tant que matériaux pour l'optoélectronique. La photothérapie dynamique (PDT) ou photochimiothérapie, technique en plein développement appliquée au traitement des cancers, est un autre domaine d'application de ces structures hétérocycliques. Elle a été développée dans les années 1970, et de nos jours cette technique est utilisée dans de nombreuses pathologies, comme la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) et les myopies pathologiques. Des traitements fondés sur ce principe sont aussi destinés à lutter contre les maladies cardio-vasculaires, le SIDA, les rejets de greffes ou les leucémies. Parmi les porphyrines et les chlorines les plus couramment utilisées pour le traitement du cancer, deux grandes catégories de produits sont rencontrées. La première génération de ces molécules regroupe des dérivés de l'hémoglobine que l'on trouve sous deux formes : le dérivé de l'hématoporphyrine (HpD) et le porfimer sodique connu sous le nom de Photofrin II[®] qui est un mélange complexe de porphyrines naturelles. Ce dernier a été commercialisé dans un premier temps aux Etats-Unis, puis il reçut l'autorisation de la mise sur le marché (AMM) en France en 1996. Depuis, des photosensibilisateurs de deuxième génération ont été développés et la photothérapie dynamique connaît un essor remarquable que se soit pour les applications oncologiques ou non oncologiques. La *meta*-tétrahydroxyphénylchlorine (*m*-THPC ou

Foscan[®]) est utilisée pour traiter les cancers de l'œsophage, du poumon et du larynx. Le dérivé monoacide de la benzoporphyrine (BPD-MA) plus connu sous le nom de vertéporfine (Visudyne[®]), agréé en avril 2000, est utilisé pour le traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), la cause la plus fréquente de cécité dans les pays industrialisés en raison du vieillissement de la population. Devant le nombre restreint de photosensibilisateurs efficaces à structure bien définie présents sur le marché, la recherche de nouvelles molécules capables d'atteindre spécifiquement les cellules cancéreuses est un problème d'actualité. Cette recherche tend à s'orienter vers la synthèse de molécules hybrides composées d'un macrocycle porphyrine ou chlorine associé à des agents de transport ou de reconnaissance comme, par exemple, les polyamines (spermidine et spermine).

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'un programme de synthèse entrepris au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles (LCSN). Nous avons ainsi réalisé la synthèse et la caractérisation de porphyrines et de chlorines portant deux ou quatre motifs spermidine ou spermine. Une étude préliminaire d'interaction et de photoclivage de l'ADN a également été réalisée pour certains photosensibilisateurs afin d'évaluer leur activité photocytotoxique. Enfin comme le Photofrin II[®], qui est l'un des photosensibilisateurs les plus largement utilisés en photothérapie dynamique des cancers, est un mélange composé d'oligomères comprenant deux à six unités porphyriniques, nous nous sommes intéressé à la synthèse de deux trimères dont les unités porphyrines ou chlorines sont reliées entre elles par des liaisons éther.

CHAPITRE I :

LES PORPHYRINES ET LES CHLORINES STRUCTURE, PROPRIETES ET APPLICATIONS ETAT DE LA QUESTION

Chapitre I

Les porphyrines et les chlorines – Structures, Propriétés et Applications

Etat de la question

1- Structures

Les porphyrines sont des macrocycles aromatiques à 18 électrons π conjugués, constitués de quatre unités pyrroliques liées entre elles par des ponts méthines. La réduction d'une double liaison pyrrolique conduit alors à la formation de chlorines possédant ainsi trois noyaux pyrroliques et une unité pyrrolidine. Cette réduction n'altère pas la forte conjugaison de la molécule qui détermine une forte coloration et une bonne stabilité de ces composés. En outre, ces structures hétérocycliques se comportent comme des diacides ou des dibases, selon le pH, et elles peuvent être métallées par presque tous les métaux de la classification périodique. Dans le premier cas, la molécule est dite "base libre", dans le second cas, elle est dite "métallée". Lorsque deux doubles liaisons sont réduites, on parle alors de bactérochlorines ou d'isobactérochlorines (Figure I-1).

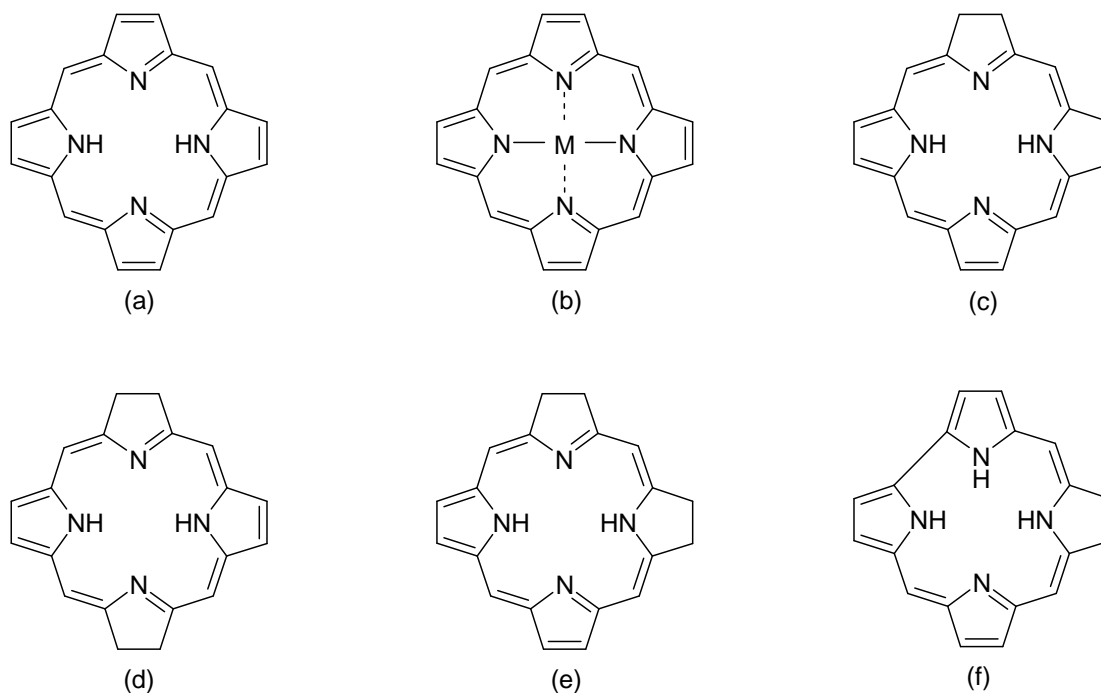


Figure I-1 ; Les différentes classes de macrocycles. (a) porphyrine base libre ; (b) porphyrine métallée ;

(c) chlorine ; (d) bactériochlorine ; (e) isobactériochlorine ; (f) corrole.

Dans les années 30, le chimiste allemand Hans Fischer¹ propose pour la première fois un système de nomenclature encore utilisé de nos jours pour désigner les porphyrines substituées sur les positions β -pyrroliques. Ainsi, les atomes de carbone des positions méthine, aussi appelés " meso " sont notés α , β , γ et δ et les carbones β -pyrroliques sont numérotés 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8. La complexité des porphyrines synthétisées augmentant, une numérotation systématique du macrocycle a été adoptée en 1987 afin de simplifier la nomenclature de ces molécules.² Les carbones meso portent alors les numéros 5, 10, 15, 20, les positions α et β des cycles pyrroliques sont notées respectivement 1, 4, 6, 9, 11, 14, 16, 19 et 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17, 18 et enfin les numéros 21, 22, 23, 24 ont été attribués aux quatre atomes d'azote (Figure I-2).

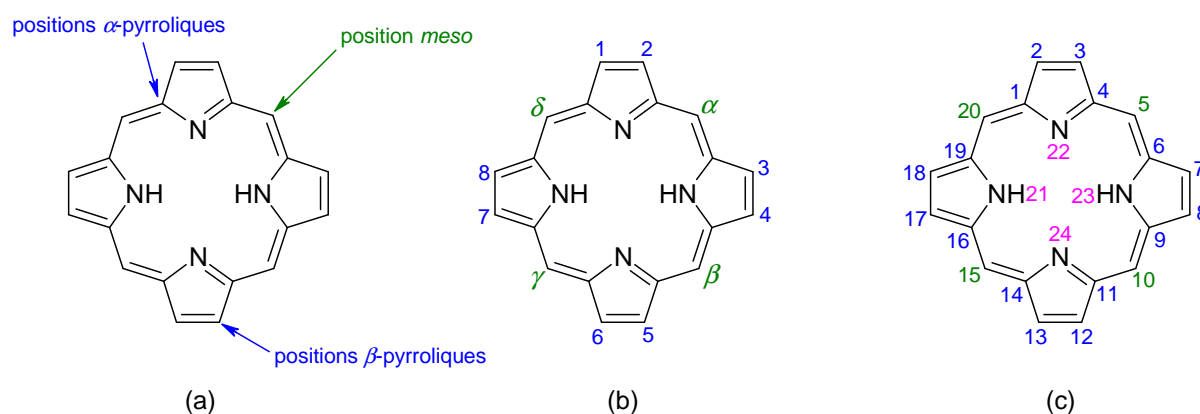


Figure I-2 : (a) appellation générale ; (b) nomenclature de Fischer ; (c) nomenclature systématique.

Le macrocycle porphyrinique, structure de géométrie normalement plane, est relativement flexible et peut adopter dans certains cas des conformations non planes. De telles distorsions peuvent être engendrées par la protonation des deux atomes d'azote non protonés, la présence de groupements volumineux en position *meso*, la substitution des positions β -pyrroliques ou

¹ H. Fischer, H. Orth ; *Die Chemie des Pyrrols*, vol. I-III, 1934-1940.

² H. B. F. Dixon, A. Cornish-Bowden, C. Liebecq, K. L. Loening, G. P. Moss, J. Reedijk, S. F. Velick, P. Venetianer, J. F. G. Vliegthart ; *Pure Appl. Chem.*, **1987**, 59, 779-832.

encore par la métallation.³ Ainsi, la présence d'un petit ion métallique tel que le Ni(II) engendre la distorsion du cycle (Figure I-3).

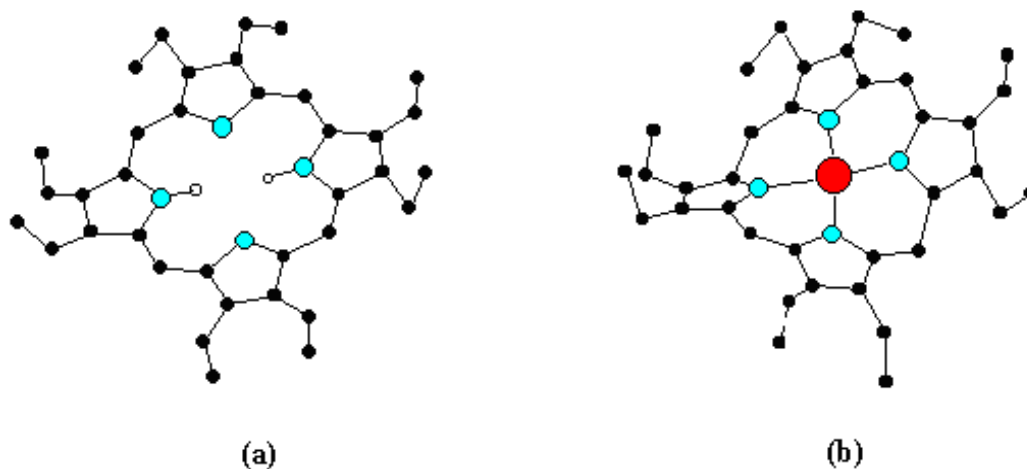


Figure I-3 : (a) octaéthylporphyrine base libre plane ; (b) octaéthylporphyrine de Nickel non plane (Ruffled).⁴

Ces macrocycles sont très largement représentés dans les milieux vivants. Ils sont métallés et généralement associés à des protéines. Ces molécules, sous cette forme, participent à des processus naturels d'oxydoréduction. La figure I-4 présente quelques exemples choisis parmi les plus représentatifs.

³ W. Jentzen, M. C. Simpson, J. D. Hobbs, X. Song, T. Ema, N. Y. Nelson, C. J. Medforth, K. M. Smith, M. Veyrat, M. Mazzanti, R. Ramasseul, J.-C. Marchon, T. Takeuchi, W. A. Goddard, J. A. Shelmutt ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 11085-11097.

⁴ E.F. Meyer ; *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.*, **1972**, B28, 2162-2167.

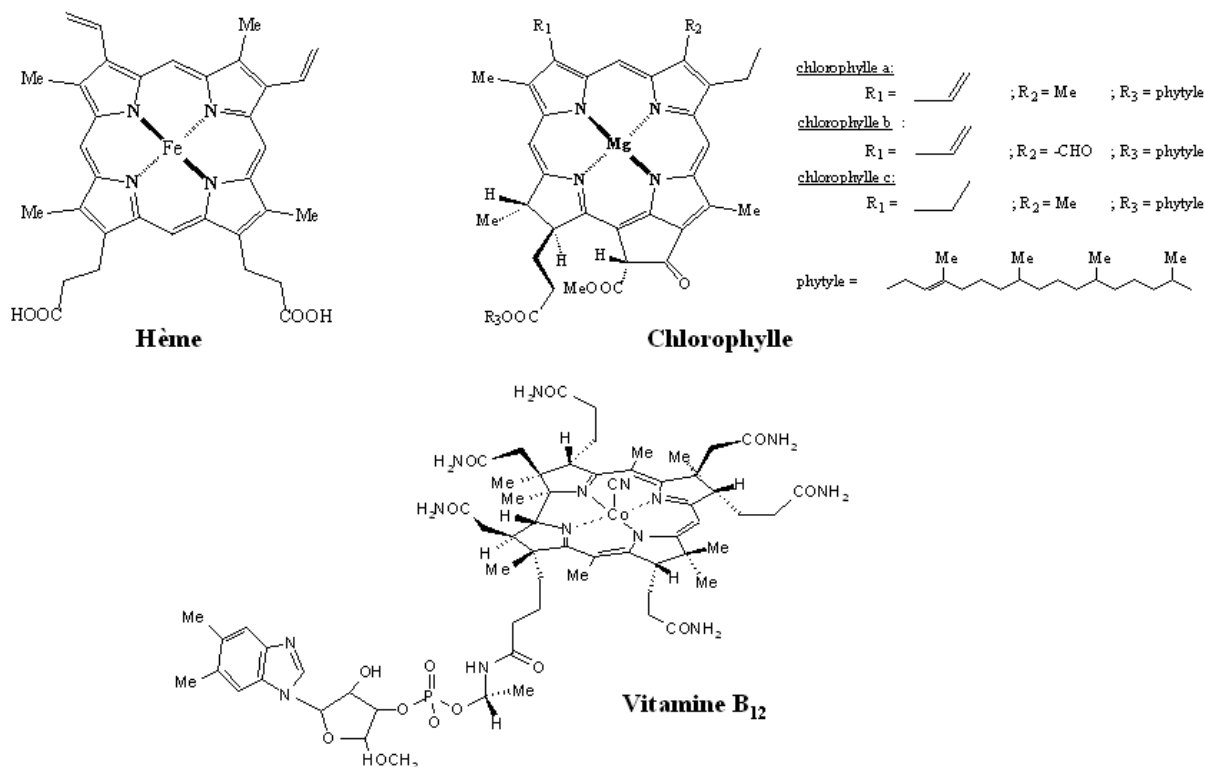


Figure I-4 : Exemples de macrocycles tétrapyrroliques naturels.

Le transport des gaz respiratoires (O_2 , CO_2) est assuré par l'hémoglobine, protéine dont le groupe prosthétique est une porphyrine, la protoporphyrine IX métallée par du fer au degré d'oxydation +II (l'hème).⁵ La myoglobine quant à elle, protéine de structure très proche de celle de l'hémoglobine, possédant également l'hème comme groupe prosthétique, participe au stockage de l'oxygène dans les tissus musculaires ainsi qu'à sa diffusion vers les mitochondries. Comme nous l'avons indiqué précédemment, ces composés naturels sont impliqués dans des processus d'oxydoréduction thermique ou photochimique des milieux biologiques. Les cytochromes constituent une autre classe de métalloprotéines construites autour d'un noyau héminique. L'environnement protéique de ces molécules permet à l'atome de fer central de passer réversiblement du degré d'oxydation III au degré d'oxydation II. De ce fait, les cytochromes de la chaîne respiratoire, comme le cytochrome c par exemple, jouent le rôle de transporteurs d'électrons lors du processus de respiration cellulaire. Le cytochrome P450 quant à lui métabolise des composés xénobiotiques en catalysant leur oxydation ou leur

⁵ M. Perutz ; *Pour la science*, **1979**, 16, 71-85.

réduction.⁶ On peut également citer comme exemple de macrocycles tétrapyrroliques naturels la vitamine B12 dont la structure est celle d'une corrine métallée par un atome de cobalt pouvant se trouver à divers degrés d'oxydoréduction. La vitamine B12 est le cofacteur de réactions de transméthylation et de réactions d'isomérisation. Associée à l'acide folique, elle intervient dans la transformation de l'homocystéine en méthionine par la méthionine synthase. En outre, elle est impliquée dans la formation des globules rouges. Une carence en vitamine B₁₂ se traduit par une anémie, une accumulation d'homocystéine dans le sang responsable de problèmes cérébrovasculaires ainsi que par une raréfaction de la méthionine impliquée dans la production de myéline ce qui altère les transmissions nerveuses. On rencontre également dans le monde végétal des chlorines telles que les chlorophylles. Ces molécules, métallées par du magnésium, portent comme substituant notable un alcool à longue chaîne, et, par absorption de photons et transfert d'énergie, sont à l'origine de la photosynthèse.

2- Caractérisations

Les porphyrines et les chlorines sont des molécules complexes, il existe cependant des méthodes spectroscopiques qui permettent de les caractériser.

2-1- Spectroscopie UV-visible

Comme nous l'avons vu précédemment, les porphyrines possèdent un système d'électrons π fortement conjugué. Ces molécules absorbent donc dans le domaine du visible et présentent des spectres d'absorption très caractéristiques qui sont fonction de la structure et de la présence ou non d'un métal (Figure I-5). Ils se composent d'une bande intense ($\epsilon > 10^5 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) entre 390 et 430 nm (proche UV) appelée bande de Soret ou bande B et de quatre bandes de moindre intensité aux plus grandes longueurs d'ondes (entre 500 et 680 nm) nommées bandes Q.

⁶ L. R. Milgrom ; *The Colors of Life: an Introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related Compounds*, Oxford Univ Press, UK, **1997**, 249-260.

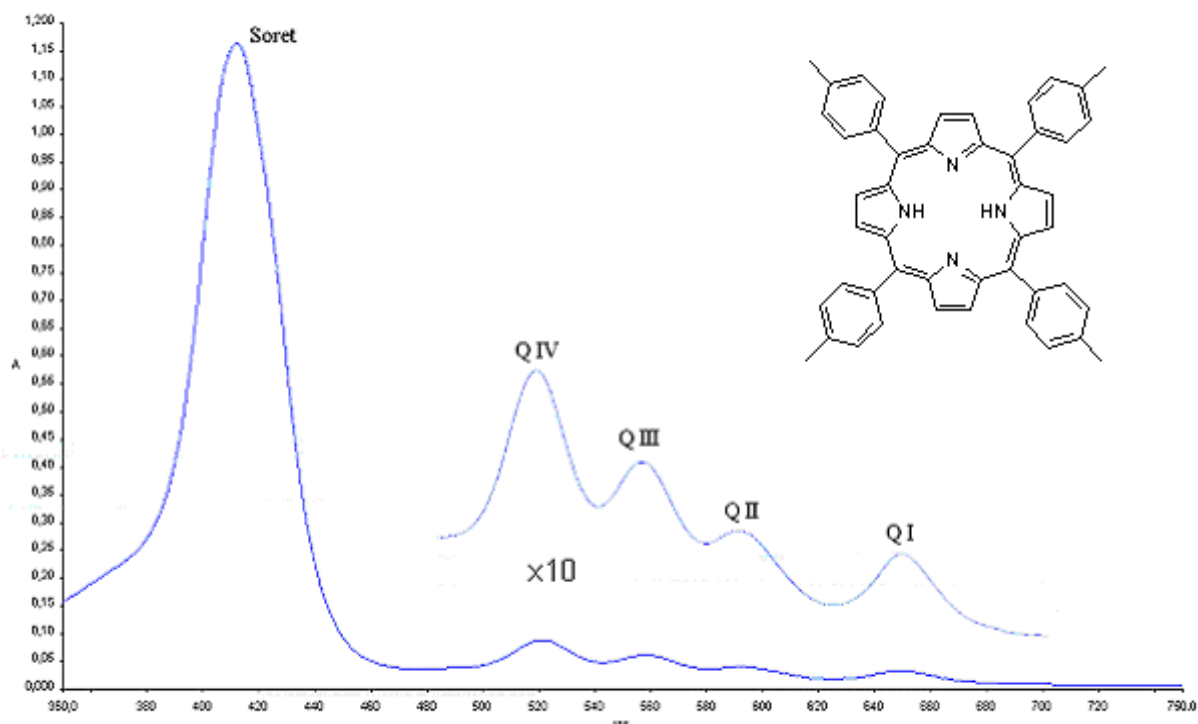


Figure I-5 : Spectre UV-visible caractéristique d'une porphyrine base libre : la H₂TTP (dans CHCl₃).

La région du spectre située dans le domaine du visible, généralement sensible aux variations de structure, renseigne sur la substitution du macrocycle. En effet, les quatre bandes Q, numérotées de I à IV en partant des énergies les plus basses, voient leurs intensités relatives varier notablement en fonction de la nature et de la position des substituants.¹ On distingue ainsi essentiellement quatre types de spectres, appelés : *etio*, *rhodo*, *oxorhodo* et *phyllo* (Figure I-6).²

On rencontre principalement le type *etio* dans le cas de porphyrines β -substituées par au moins 6 groupements, ou dans le cas de la plupart des *meso*-arylporphyrines. Si ces dernières portent un substituant saturé (par exemple une chaîne alkyle) à la place de l'aryle, elles auront généralement un spectre de type *phyllo*. La présence de groupements riches en électrons π en position β -pyrrolique génère un profil de spectre de type *rhodo*, alors que la présence de deux de ces mêmes groupements en position β -pyrrolique sur deux pyrroles opposés conduit plutôt à un spectre de type *oxorhodo*.

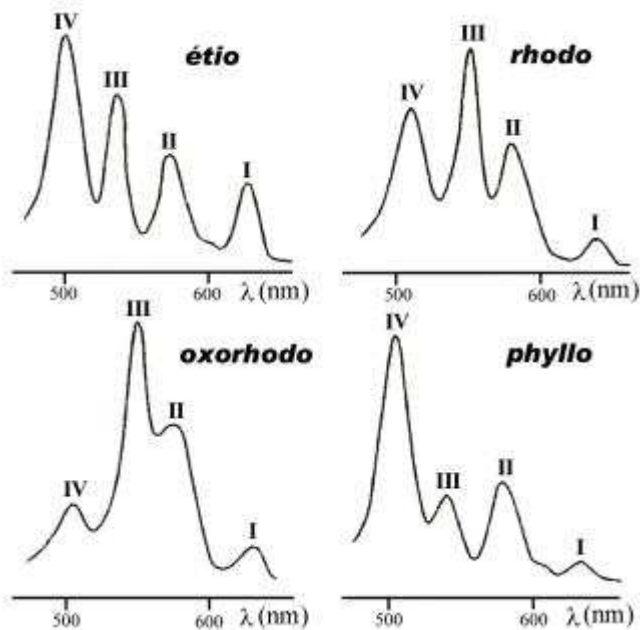


Figure I-6 : Profil des bandes Q pour les quatre principaux types de spectres d'absorption de porphyrines bases libres.

Dans le cas des porphyrines métallées ou protonées, on observe toujours la présence de la bande de Soret, mais le nombre de bandes Q est réduit à deux ou trois en fonction de la nature du métal et de son degré d'oxydation. Ces dernières sont nommées α et β en partant des grandes longueurs d'onde (Figure I-7). Dans ce cas, la substitution du macrocycle a très peu d'influence sur les intensités relatives des bandes α et β . En revanche, la nature de l'ion métallique fixé, engendre d'importantes modifications du rapport des intensités de ces deux bandes. En effet, un rapport $\alpha/\beta > 1$ indique généralement la présence d'un métal impliqué dans le complexe plan, stable avec la porphyrine (c'est le cas par exemple du Ni(II) ou encore du Zn(II)). Par contre, lorsque le métal peut être facilement remplacé par deux protons, on observe un rapport $\alpha/\beta < 1$ (par exemple avec du Cd(II)).

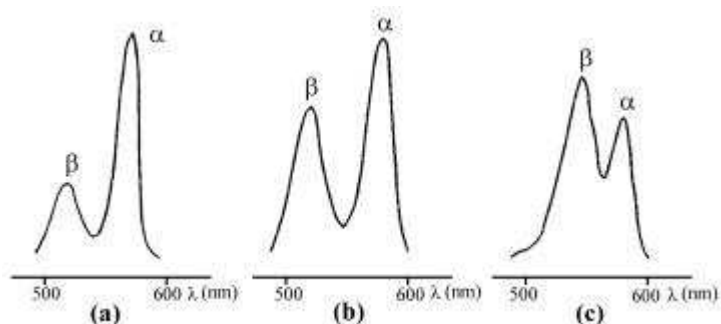


Figure I-7 : Bandes Q de spectre d'absorption d'octaéthylporphyrines métallées par : (a) Ni(II) ; (b) Zn(II) ; (c) Cd(II).

Le spectre d'absorption des chlorines, quant à lui, montre des bandes d'absorption différentes de celles des porphyrines. La bande QI est beaucoup plus intense chez la chlorine et la couleur change passant du pourpre au vert pour les composés non métallés (Figure I-8). L'intensité de la bande QI est encore plus importante dans le cas des bactériochlorines.

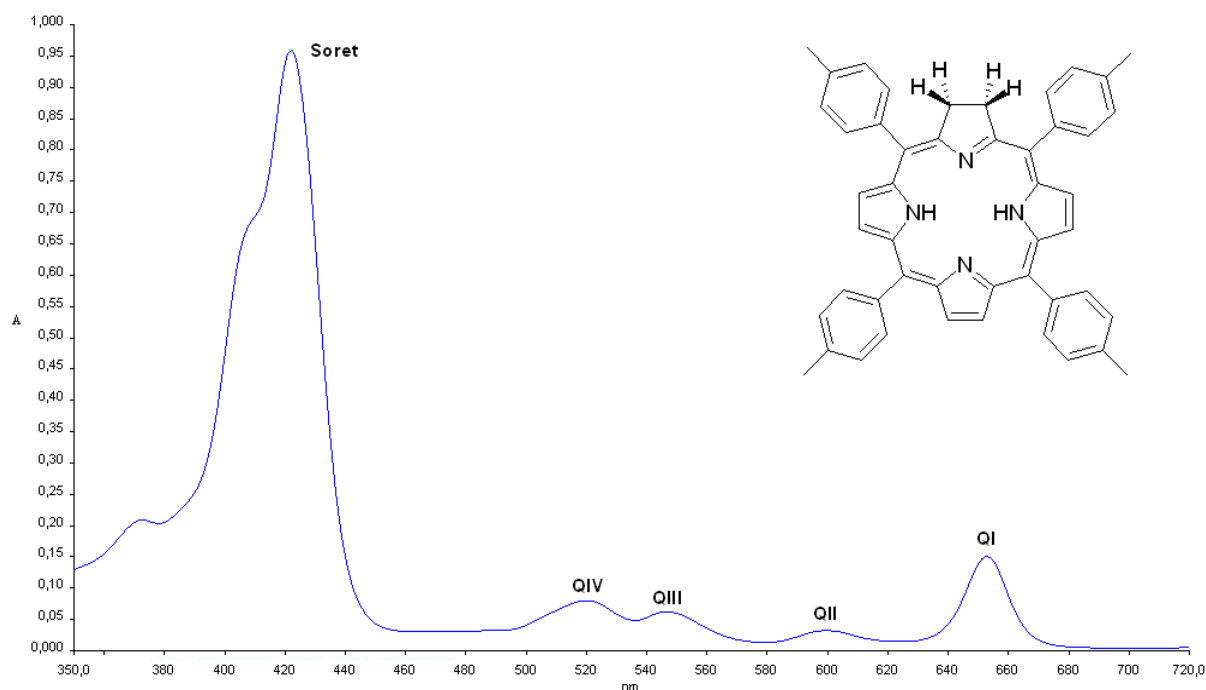


Figure I-8 : Spectre UV-visible caractéristique d'une chlorine : la H₂TTC (dans CHCl₃).

2-2- Spectroscopie de masse MALDI

Les porphyrines étant très faiblement volatiles, les techniques classiques d'ionisation ne sont généralement pas adaptées. Il est nécessaire d'utiliser les méthodes de désorptions directes comme le MALDI (Figure I-9).

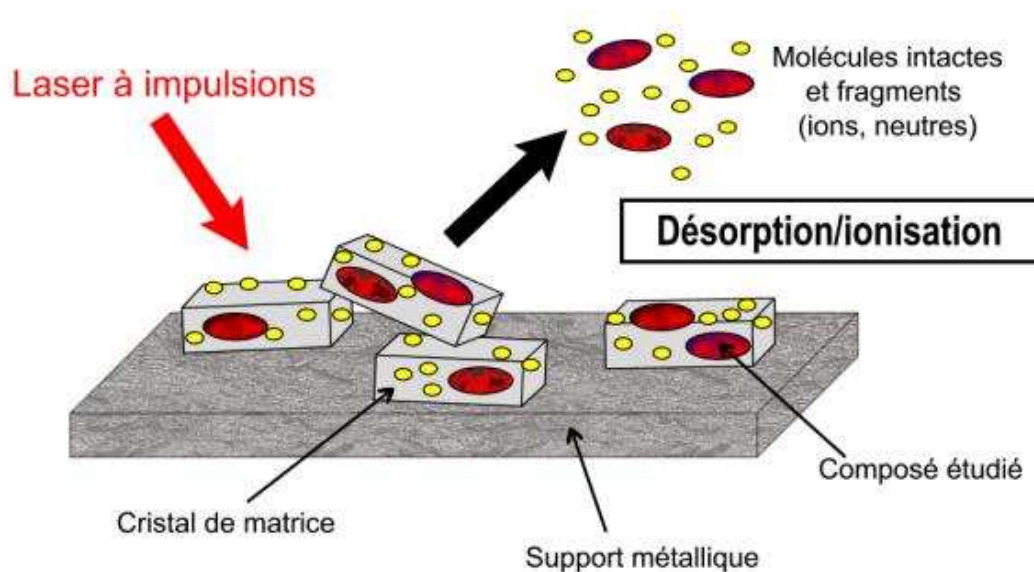


Figure I-9 : Principe de la technique MALDI.⁷

La technique MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization : désorption-ionisation laser assistées par matrice) permet le passage en phase gazeuse de molécules ionisées intactes à hauts poids moléculaires. Le produit à analyser, mélangé à un excès de molécules d'un composé servant de matrice, est adsorbé sur un support métallique. Le dépôt est ensuite irradié par des impulsions lasers courtes (quelques nanosecondes) dont la longueur d'onde correspond à une bande d'absorption de la matrice. L'énergie délivrée par le laser est absorbée de manière sélective par la matrice conduisant à un phénomène de désorption et d'ionisation. Une faible partie de l'énergie absorbée est transmise sous forme d'énergie cinétique et d'énergie interne à la substance analysée ce qui provoque l'éjection d'espèces moléculaires essentiellement intactes. Les ions produits sont généralement $[M+H]^+$, $[M-H]^+$ ou peuvent être issus de processus de cationisation $[M+Li]^+$, $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$. La nature de la matrice est importante. Elle doit être soluble dans les mêmes solvants que la substance étudiée de façon à obtenir un dépôt homogène. En outre, elle doit présenter une forte absorption à la longueur d'onde du laser. Même si l'acide α -cyano-4-hydroxycinnamique (HCCA) est une matrice couramment employée pour l'étude des porphyrines, il existe cependant une gamme assez étendue de composés pouvant être utilisée comme matrice en fonction des caractéristiques des porphyrines étudiées.⁸ Le mode ESI est, lui aussi, utilisé pour

⁷ F. Rusconi, J. M. Schmitter ; *Analysis Magazine*, **1998**, 26, 13-17.

⁸ M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr, F. Hillenkamp ; *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **1987**, 78, 53-68.

de telles structures et permet d'obtenir l'ion moléculaire. L'ionisation par électrospray consiste à introduire une solution d'échantillon dans un capillaire soumis à un haut potentiel électrique. Les ions formés sous pression atmosphérique sont alors canalisés dans un ensemble d'échantillonneurs vers l'analyseur où règne un vide poussé.

2-3- Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Depuis les premiers travaux réalisés par Becker et coll.⁹ en 1959, l'étude de la RMN des porphyrines a fait l'objet d'un grand nombre de publications. Comme tous les composés aromatiques, les porphyrines possèdent un courant de cycle important affectant ainsi l'ensemble des protons du macrocycle.

2-3-1- Spectroscopie RMN du proton

La résonance magnétique nucléaire du proton appliquée aux macrocycles porphyriniques fournit des spectres très caractéristiques. En effet, le courant de cycle généré par le champ magnétique (imposé par l'appareil) induit un important cône d'anisotropie magnétique dont l'axe est perpendiculaire au plan du macrocycle (Figure I-10). Ainsi, les protons à l'intérieur de ce cône sont blindés alors que les protons situés à l'extérieur, dans le plan de la molécule, sont fortement déblindés. Le spectre RMN est alors étendu sur une large zone de plus de 15 ppm.¹⁰

⁹ E. D. Becker, R. B. Bradley ; *J. Chem. Phys.*, **1959**, 31, 1413-1414.

¹⁰ J. M. Craig ; *The Porphyrins Handbook*, vol. 5, Ed. K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard, **1999**.

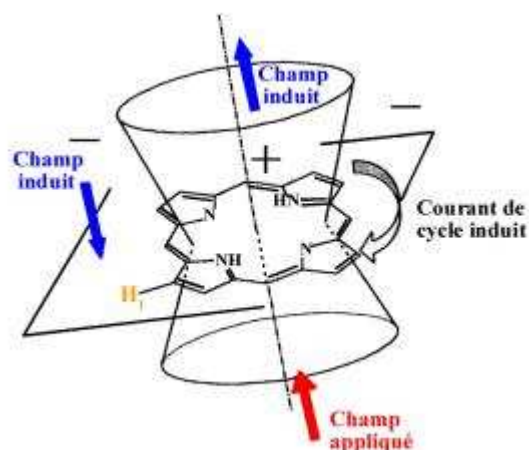


Figure I-10 : Cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine.

Le spectre RMN ^1H de la porphine (porphyrine sans aucun substituant), est constitué de 3 singulets à -3,76, 9,74 et 10,50 ppm. Ces signaux sont attribués respectivement aux protons liés aux atomes d'azote, aux protons des positions β -pyrroliques et aux protons méthine (position *meso*). Puisque ces derniers sont liés à des carbones essentiellement déficients en électrons, ils sont plus déblindés que les protons β -pyrroliques. De plus l'unicité des signaux des protons β -pyrroliques s'explique par la tautomérie des protons NH internes (Figure I-11).

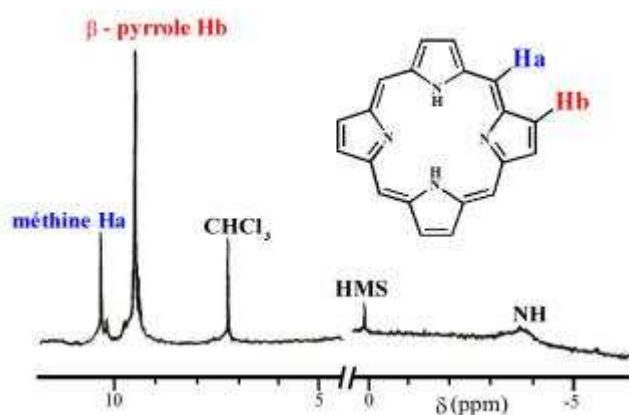


Figure I-11 : Spectre RMN ^1H de la porphine dans CDCl_3 .

Dans le cas de porphyrines *meso*-substituées, les substituants affectent davantage les déplacements chimiques des protons du macrocycle que dans le cas de porphyrines β -substituées. Il y a un blindage des protons périphériques et un déblindage des protons

internes dûs à une diminution du courant de cycle. L'introduction d'un métal modifie également sensiblement le spectre. On observe ainsi des variations de déplacements chimiques des protons périphériques (β -pyrroliques ou *meso*) selon la nature, le degré d'oxydation du métal.

Dans le cas des chlorines, on observe une modification de l'allure du spectre. En effet, l'absence d'une double liaison conduit à l'apparition de signaux plus blindés ($\delta < 5$ ppm) correspondant aux protons du noyau pyrrolidine.

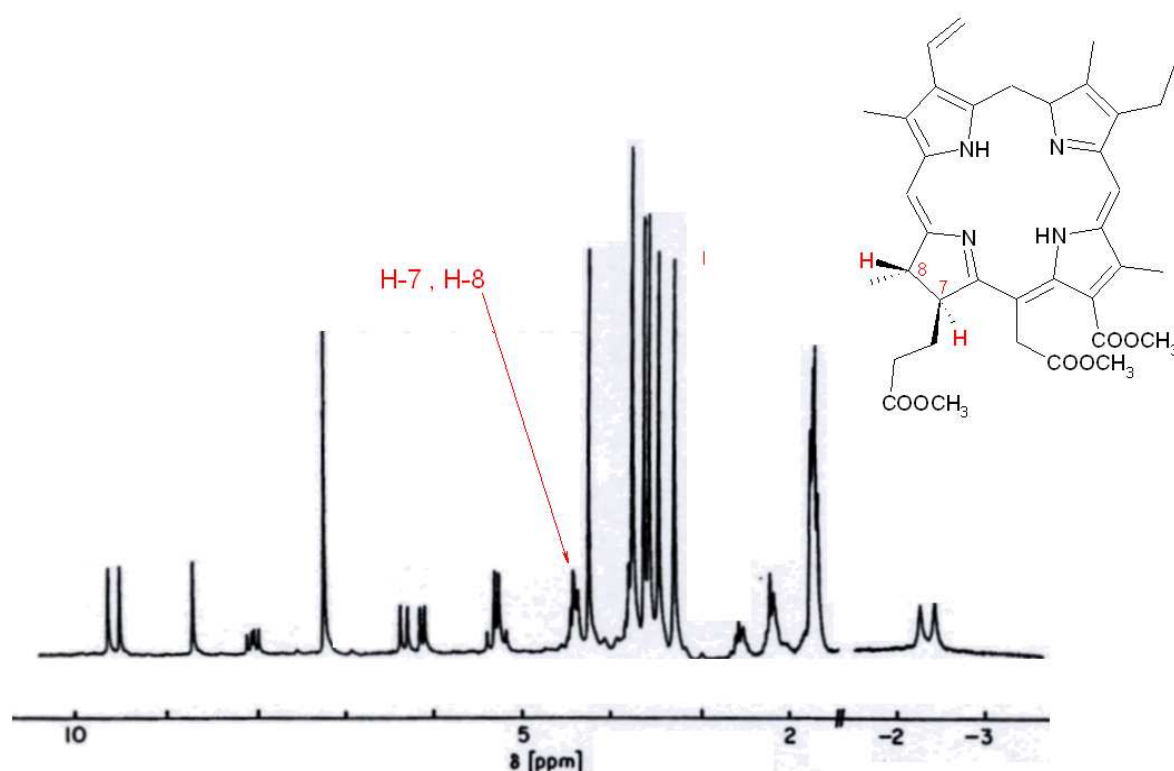


Figure I-12 : Spectre RMN ^1H de la chlorine e6 triméthylester dans CDCl_3 .¹¹

Nous représentons ici sur la figure I-12 le spectre de la chlorine e6 triméthylester où apparaissent les protons du noyau pyrrolidine à 4,38 ppm et 4,40 ppm.¹¹

2-3-2- Spectroscopie RMN du carbone

Le spectre RMN ^{13}C du macrocycle porphyrinique se compose essentiellement de trois

¹¹ H. Scheer, J. J. Katz ; *Porphyrins and metalloporphyrins*, Ed K. M. Smith, Elsevier, New York, 1975, 399-439.

zones :

- Les carbones *meso* qui résonnent entre 95 et 120 ppm,
- Les carbones β -pyrroliques qui résonnent vers 130 ppm,
- Les carbones α -pyrroliques qui résonnent vers 145 ppm.

Le signal correspondant aux carbones α -pyrroliques est généralement élargi et assez mal défini. Ceci est la conséquence directe de la tautomérie des protons NH internes. Ce phénomène peut également affecter dans certains cas la forme des signaux des carbones β -pyrroliques. Un abaissement de température (-60°C) permet de ralentir la tautomérie et à cette température on observe pour les carbones α -pyrroliques deux pics correspondant chacun à quatre carbones.¹² Notons par ailleurs qu'en RMN ^{13}C , la résonance des noyaux est relativement peu sensible aux courants de cycle.

2-4- Spectroscopie Infra-Rouge

La spectroscopie Infra-Rouge est très peu utilisée pour la caractérisation des macrocycles porphyriniques. Cependant, quelques bandes de vibration sont caractéristiques et notamment celles des liaisons N-H pyrrole à $3310\text{-}3326\text{ cm}^{-1}$, des liaisons C-H à $3075\text{-}3150\text{ cm}^{-1}$ ou encore celles des liaisons C-N à $2208\text{-}2212\text{ cm}^{-1}$.

3- Synthèses et préparations

Au cours des 60 dernières années, l'intérêt pour les macrocycles tétrapyrroliques ne cessant d'augmenter, de nombreuses stratégies de synthèse ont été élaborées. Ainsi, deux grands types de porphyrines ont été développés :

- des porphyrines substituées sur les positions β -pyrroliques, pour leurs structures semblables aux porphyrines naturelles,
- des porphyrines substituées sur les positions *meso*.

¹² R. J. Abraham, G. E. Hawkes, M. F. Hudson, K. M. Smith ; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1975**, 3, 204-211.

Par contre les études sur la formation des chlorines sont plus récentes malgré l'intérêt de ces composés pour la photochimie (absorption plus importante vers le rouge) et comme substance modèle pour les processus biologiques.

Dans ce qui suit, nous nous proposons de faire un tour d'horizon des grandes méthodes de synthèse des macrocycles tétrapyrroliques avec une référence particulière à l'élaboration de *meso*-porphyrines et de chlorines.

3-1- Synthèse de *meso*-porphyrines

En 1935, Rothemund¹³ décrit pour la première fois la synthèse d'une porphyrine symétrique substituée en position *meso*. En faisant réagir, sous atmosphère d'azote, l'éthanal et le pyrrole dans le méthanol à diverses températures il a obtenu, avec de très faibles rendements, la *meso*-tétraméthylporphyrine. Dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant différents aldéhydes, il a synthétisé diverses porphyrines portant comme substituants des groupes propyle, butyle, phényle ou encore 4-méthoxyphényle. En 1941, Rothemund¹⁴ améliore très sensiblement ces rendements en faisant réagir dans une ampoule scellée du pyrrole et du benzaldéhyde en milieu pyridinique à 220°C. Il a obtenu la *meso*-tétraphénylporphyrine avec un rendement de l'ordre de 5% (Figure I-13).

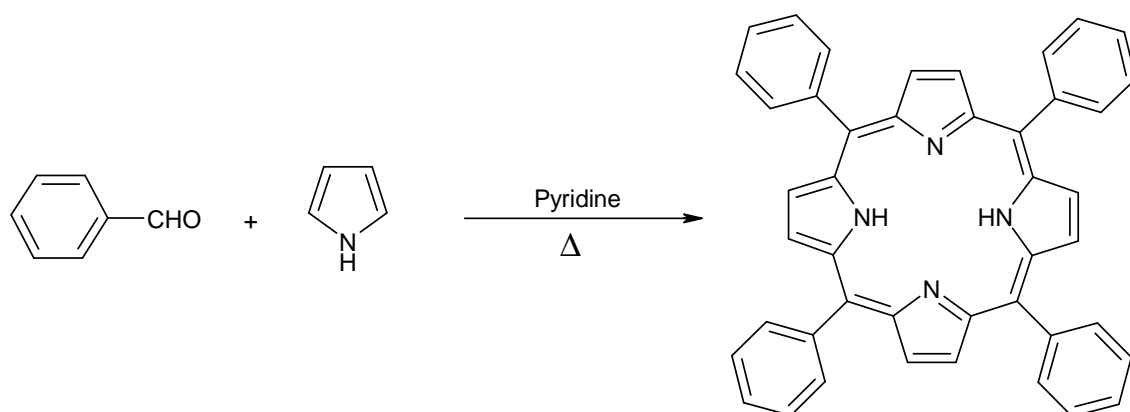


Figure I-13 : Méthode de Rothemund appliquée à la synthèse de la *meso*-tétraphénylporphyrine.¹⁴

¹³ P. J. Rothemund ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, 61, 2912-2915.

¹⁴ P. J. Rothemund, A. R. Menotti ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1941**, 63, 267-270.

Calvin et *coll.*¹⁵ ont montré qu'il est possible dans les mêmes conditions de doubler le rendement en ajoutant au milieu réactionnel de l'acétate de zinc. De cette façon, ils ont synthétisé la *meso*-tétraphénylporphyrine métallée avec un rendement de 11%. Ces travaux sont les premiers d'une importante série de publications traitant des effets de la présence de métaux sur ce type de réactions.

En 1967, Adler et Longo¹⁶ ont amélioré significativement la synthèse de porphyrines par condensation d'aldéhydes et de pyrrole. En condensant le benzaldéhyde et le pyrrole dans l'acide propionique à reflux dans un réacteur ouvert à l'air libre, ils ont formé la *meso*-tétraphénylporphyrine avec un rendement supérieur à 20%. La méthode de Adler-Longo, par ses conditions de réactions plus douces, a permis d'accéder à un éventail beaucoup plus large de *meso*-porphyrines symétriques.

En 1975, Little¹⁷ a adapté cette méthode à la synthèse de *meso*-arylporphyrines non symétriques. Cette méthode dite des "aldéhydes mixtes" consiste à condenser, dans l'acide propionique à reflux, du pyrrole et deux aldéhydes différents (Figure I-14). La stœchiométrie des aldéhydes initiaux permet d'accéder à des porphyrines mono, di ou trisubstituées.

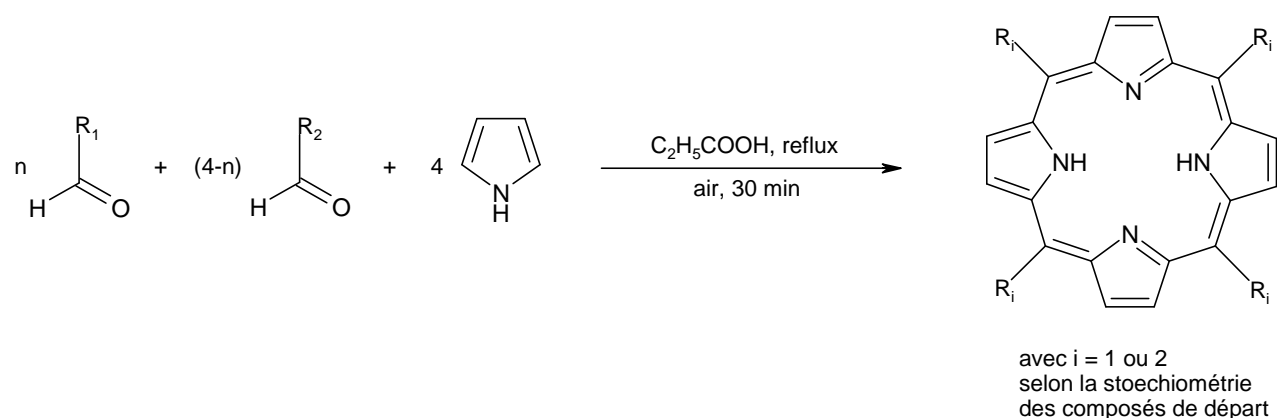


Figure I-14 : Méthode des aldéhydes mixtes.¹⁷

¹⁵ R. H. Ball, G. D. Dorrough, M. Calvin ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1946**, 68, 2278-2281.

¹⁶ A. D. Adler, F. R. Longo, J. D. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour, L. Korsakoff ; *J. Org. Chem.*, **1967**, 32, 476.

¹⁷ R. G. Little, J. A. Anton, P. A. Loach, J. A. Ibers ; *J. Heterocycl. Chem.*, **1975**, 12, 343-349.

En 1985, Gonsalves¹⁸ a montré qu'un mélange de pyrrole et d'alkylaldéhyde en présence d'acide trifluoroacétique en quantité catalytique conduisait à un porphyrinogène pouvant être oxydé en *meso*-tétraalkylporphyrine avec un bon rendement. En appliquant cette méthode, Lindsey¹⁹ a synthétisé un grand nombre de *meso*-tétraarylporphyrines. Ainsi, en utilisant du dichlorométhane, sous courant d'argon et en présence d'acide de Lewis en quantité catalytique, il a obtenu, après oxydation par une quinone, la tétraphénylporphyrine avec un rendement de 46% (Figure I-15).

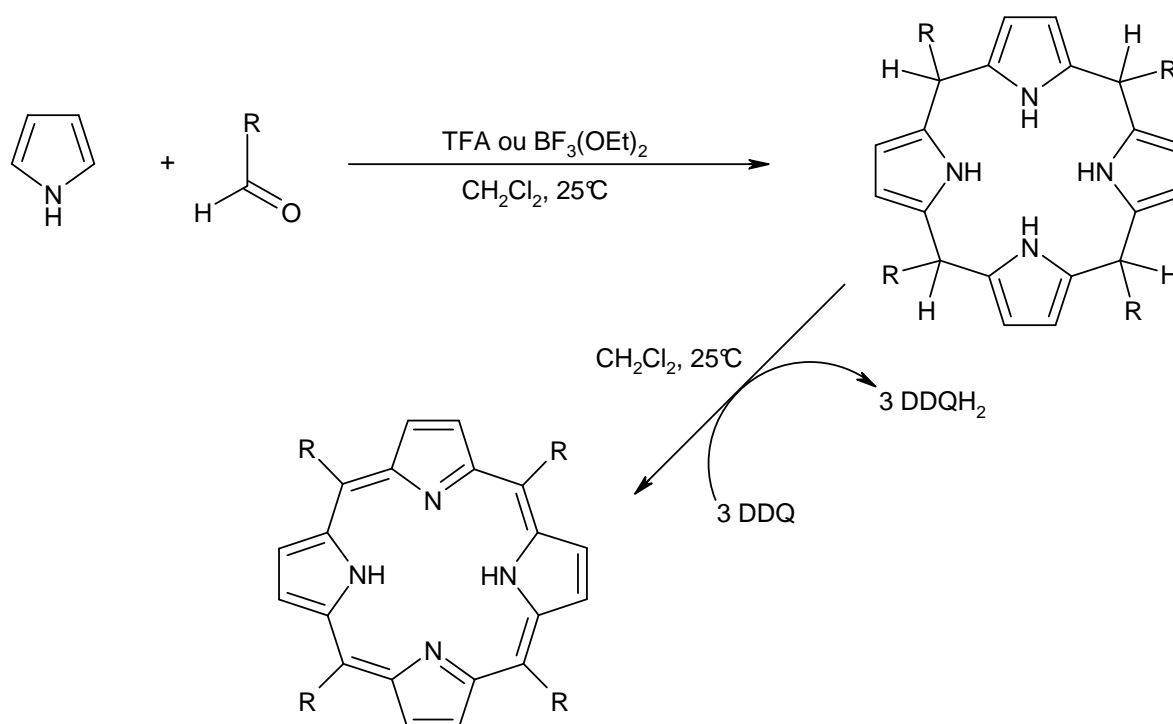


Figure I-15 : Méthode de Lindsey.¹⁹

Depuis 1986, un très grand nombre de porphyrines symétriques a pu être synthétisé suivant ce protocole, les conditions douces de la méthode de Lindsey autorisant aussi l'emploi d'aldéhydes thermiquement peu stables. Les rendements optimaux ont été obtenus pour des concentrations en réactif de 10⁻² mol.L⁻¹, c'est à dire en milieu dilué et en utilisant comme catalyseur le TFA ou le BF₃-éthérate.

¹⁸ A. M. A. R. Gonsalves, M. M. Pereira ; *J. Heterocycl. Chem.*, **1985**, 22, 931-933.

¹⁹ J. S. Lindsey, H. C. Hsu, I. C. Schreiman ; *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 4969-4970.

Une autre approche permettant de former des macrocycles tétrapyrroliques consiste à utiliser comme précurseur des dipyrrométhanés. Dans les années 60, Woodward et MacDonald²⁰ ont synthétisé des porphyrines β -substituées par réaction d'un dipyrrométhane non substitué sur les positions 5 et 5' avec un 5,5'-bisformyldipyrrométhane. La méthode de MacDonald, connue sous le nom de méthode " 2+2 ", conduit dans un premier temps à la formation d'un porphyrinogène qui est, dans un second temps, oxydé par une quinone. Cette stratégie a par la suite été très largement étudiée et appliquée à la synthèse de *meso*-porphyrines et plus particulièrement à la synthèse de *trans meso*-porphyrines (Figure I-16).

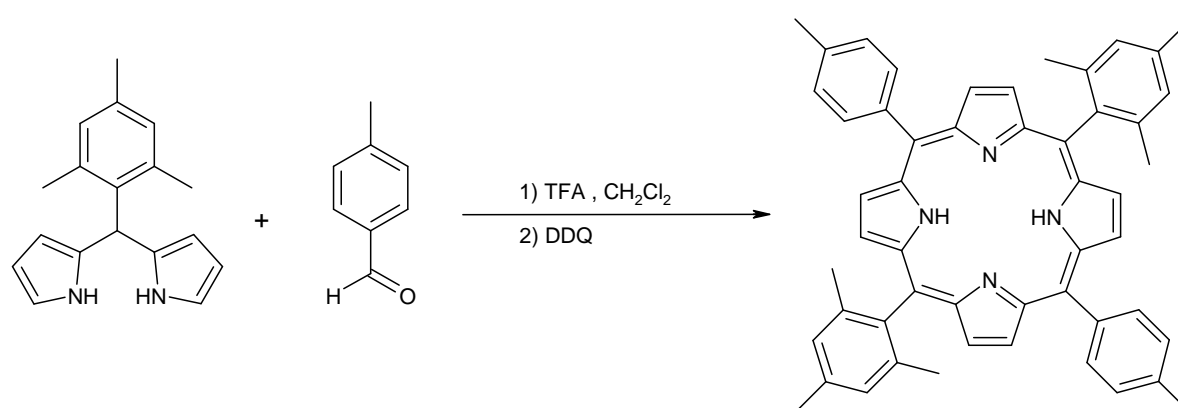


Figure I-16 : Adaptation de la méthode MacDonald " 2+2 " à la synthèse de *trans meso*-porphyrines.

3-2- Synthèse de porphyrines β -substituées

3-2-1- A partir d'unité monopyrrolique

L'une des principales stratégies de synthèse utilisant des unités monopyrroliques est la tétramérisation de pyrroles non substitués en positions α en présence de composés assurant la formation des ponts méthine. Ainsi, Treibs et Haberle²¹ ont obtenu l'octaméthylporphyrine par

²⁰ a) R. B. Woodward ; *Angew. Chem.*, **1960**, 72, 651-662. b) R. B. Woodward ; *Pure Appl. Chem.*, **1961**, 2, 383-404. c) G.P. Arsenault, E. Bullock, S.F. MacDonald ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 4384-4389.

²¹ A. Treibs, N. Haberle ; *Liebigs Ann. Chem.*, **1968**, 718, 183-207.

réaction de 3,4-diméthylpyrrole avec le formaldéhyde dans l'acide acétique en présence de pyridine avec un rendement de 77% (Figure I-17).

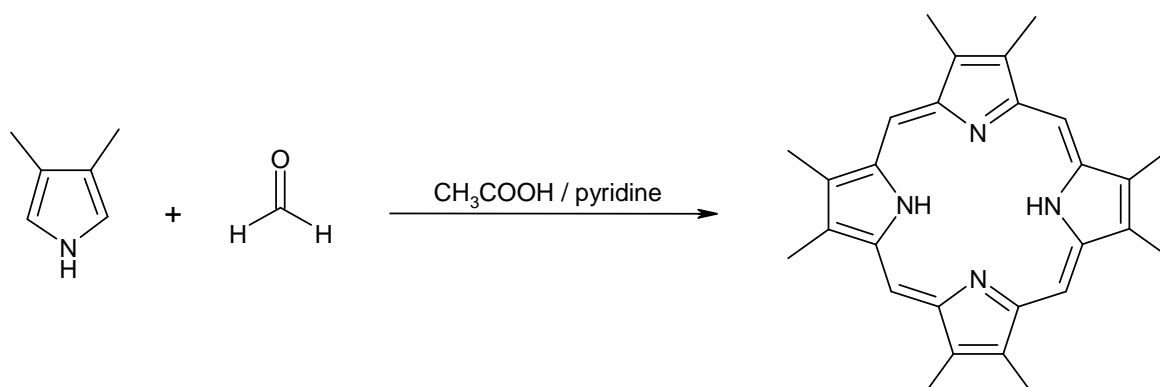
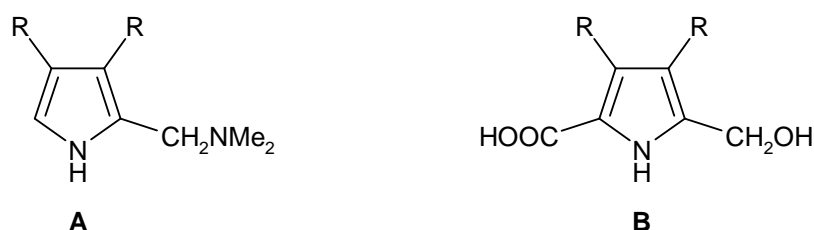


Figure I-17 : Synthèse de l'octaméthylporphyrine.²¹

Une autre approche importante passe par la condensation de pyrroles substitués en position 2 et/ou 5.



Siedel et Winkler²² ont synthétisé de cette façon plusieurs porphyrines β -substituées en chauffant, à sec ou en solution, des pyrroles semblables au composé **B**. Par ailleurs, la condensation de pyrrole de type **A** suivie d'une oxydation par l'air permet d'obtenir des porphyrines symétriques avec de bons rendements. Ce type de réaction ne donne des résultats satisfaisants que si les deux positions β -pyrroliques sont substituées.

En 1996, Smith²³ a présenté une nouvelle méthode permettant d'obtenir, à partir d'unités monopyrroliques, des octaalkylporphyrines symétriques isomériquement pures portant deux

²² W. Siedel, F. Winkler ; *Liebigs Ann. Chem.*, **1943**, 54, 162-201.

²³ L. T. Nguyen, M. O. Senge, K. M. Smith ; *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 998-1003.

types de substituants différents (Figure I-18).

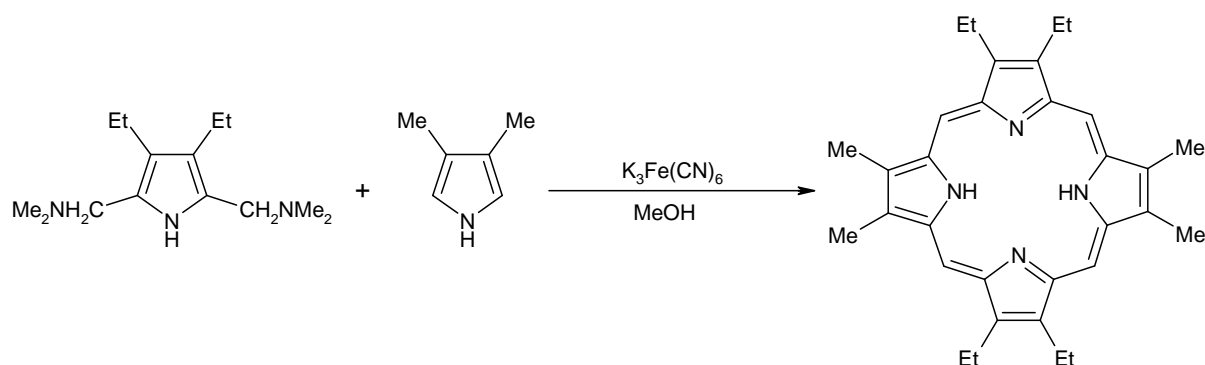
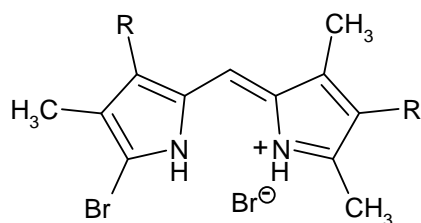


Figure I-18 : Synthèse de la tétraéthyl-tétraméthylporphyrine.²³

Il a ainsi obtenu un rendement de 19% en effectuant la réaction en présence de K₃Fe(CN)₆ dans le but d'éviter la redistribution des sous-unités pyrroliques qui en milieu acide conduit à un mélange complexe de porphyrines.

3-2-2- A partir d'unités di et tripyrroliques

Cette voie utilisant des intermédiaires de type dipyrrométhane ou dipyrrométhène n'est adaptée qu'à la synthèse de porphyrines centrosymétriques ou ayant une symétrie dans l'une ou l'autre moitié de la molécule. Ainsi l'équipe de Fischer²⁴ a synthétisé, dans les années 1920-1930, de nombreuses porphyrines β -substituées à partir de dipyrrométhènes dans des solvants organiques acides à des températures supérieures à 200°C (Figure I-19).



²⁴ H. Fischer, H. Friedrich, W. Lamatsch, K. Morgenroth ; *Techn. Hochschule, Munchen. Ann.*, **1928**, 466, 147-178.

Figure I-19 : Dipyrrométhènes utilisés par Fischer.²⁴

En 1960, Woodward et MacDonald ont utilisé comme précurseurs des unités dipyrrométhane. La méthode "2+2", que nous avons décrite précédemment pour la synthèse de *meso*-porphyrines, est souvent préférée à celle de Fischer pour ses conditions réactionnelles plus douces.

Ces dernières années, une nouvelle approche nommée "3+1" est apparue. Celle-ci consiste à condenser un tripyrrane sur un diformyl-pyrrole. Par cette méthode, il est possible de former des porphyrines β -substituées mono-fonctionnalisées ou di-fonctionnalisées sur le même pyrrole avec des rendements de l'ordre de 35% (Figure I-20).²⁵

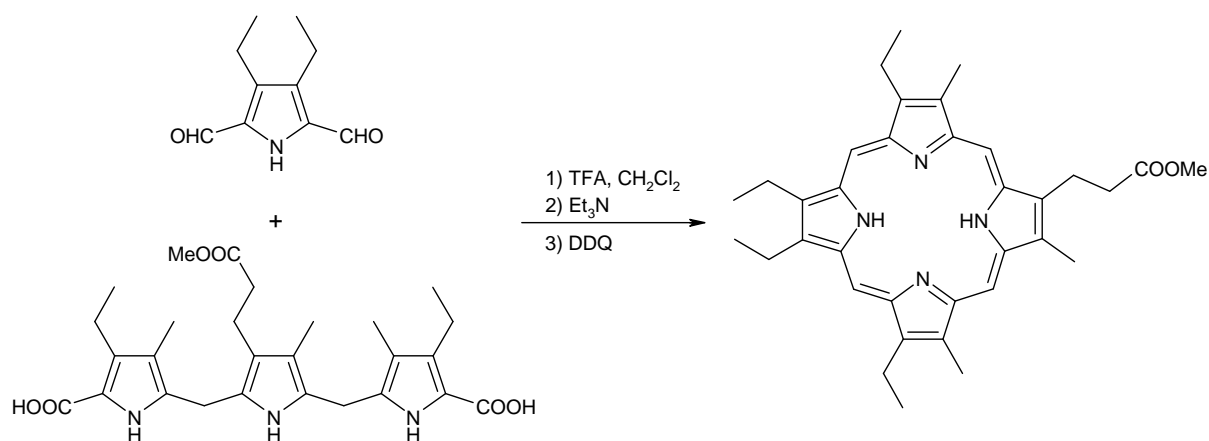


Figure I-20 : Exemple de synthèse par la méthode "3+1".²⁵

3-3- Synthèse de chlorines

Rappelons qu'une chlorine dérive structuralement d'une porphyrine par la réduction d'une double liaison en position β pyrrolique. Dans les années 40, Fischer²⁶ a décrit l'oxydation des octa-alkylporphyrines par le tétraoxyde d'osmium afin d'obtenir la dihydrochlorine correspondante. Cette méthode a permise à Brückner et Dolphin²⁷ de synthétiser la *meso*-2,3-

²⁵ J. L. Sessler, J. W. Genge, A. Urbach, P. Sansom ; *Synlett*, **1996**, 2, 187-188.

²⁶ H. Fisher, H. Pfeiffer ; *Liebigs Ann. Chem.*, **1944**, 556, 131-153.

²⁷ C. Brückner, D. Dolphin ; *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 3925-3928.

dihydroxytétraphénylchlorine (Figure I-21).

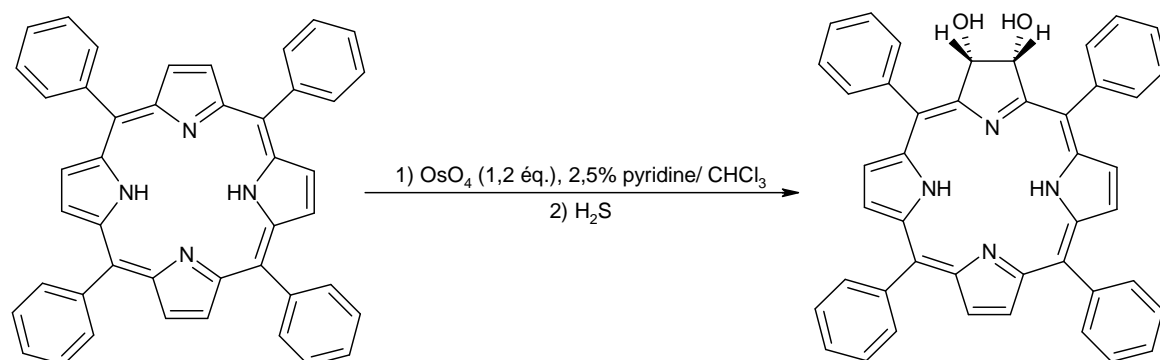


Figure I-21 : Synthèse de la meso-2,3-dihydroxytétraphénylchlorine.²⁷

Une autre voie de synthèse des chlorines a été réalisée par Whitlock et *coll.*²⁸ avec la méthode de réduction des porphyrines par les diimides. Ils ont ainsi réduit l'octaéthylporphyrine en octaéthylchlorine, avec le *para*-toluènesulfonylhydrazide. Ce procédé a permis à Bonnett et *coll.*²⁹ de synthétiser la *meta*-tétrahydroxyphénylchlorine (Figure I-22).

²⁸ H. W. Whitlock, R. Hanauer, M. Y. Oester, B. K. Bower ; *J. Org. Chem.*, **1968**, 33, 2169-2171.

²⁹ R. Bonnet, M. J. Dimsdale, G. F. Stephenson ; *J. Chem. Soc.*, **1969**, 564-570.

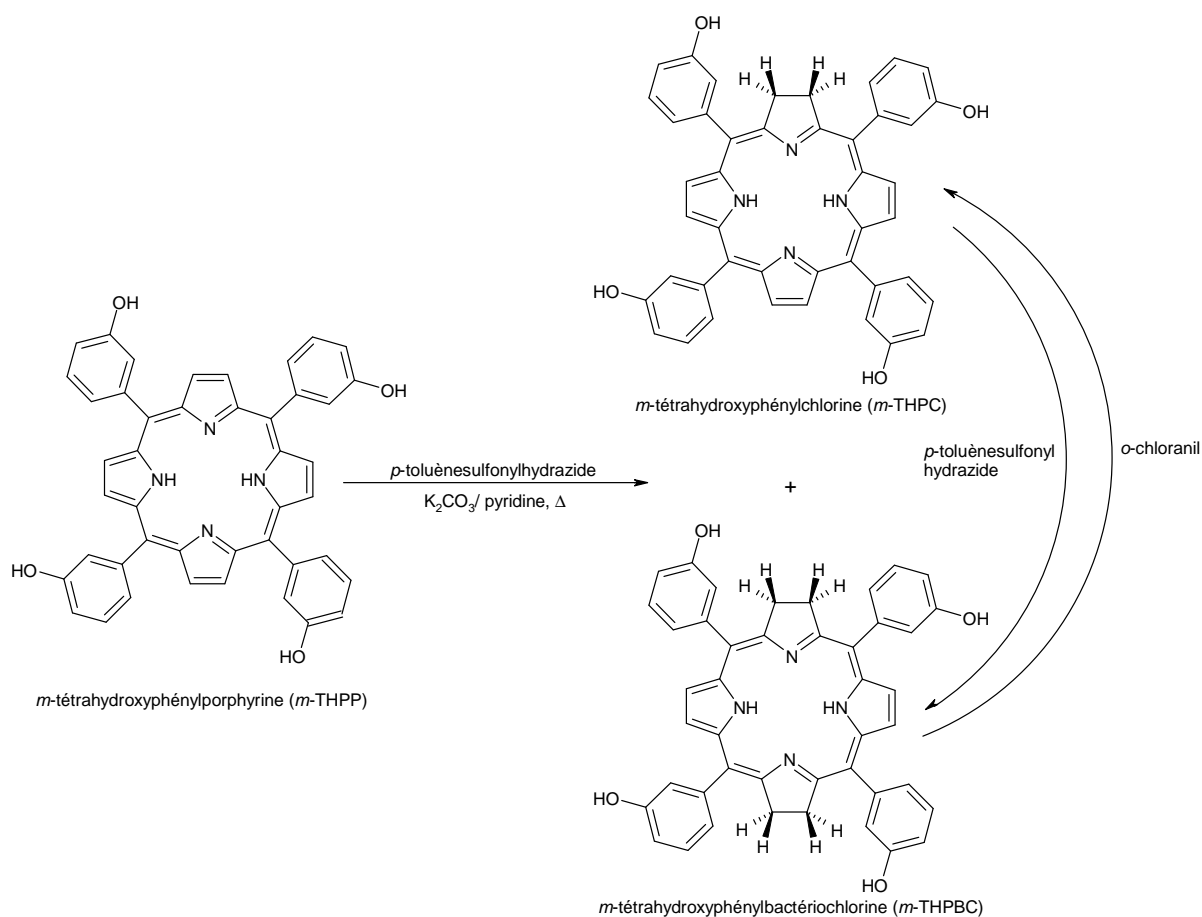


Figure I-22 : Synthèse de la meta-tétrahydroxyphénylchlorine (m-THPC).²⁹

4- Domaines d'applications des porphyrines

Comme nous l'avons décrit précédemment, les porphyrines naturelles, sous forme métallées et parfois bases libres, sont impliquées dans les chaînes d'oxydoréduction thermiques ou photochimiques des milieux biologiques. Les complexes métalloporphyrines sont notamment utilisés en catalyse d'oxygénation. Les premiers résultats ont été obtenus par Groves et *coll.*³⁰ qui ont réalisé l'époxydation d'oléfines ainsi que l'hydroxylation d'alcane. Dans ces réactions, l'iodosylbenzène est utilisé comme donneur d'oxygène et la $Fe(TTP)Cl$ comme catalyseur (Figure I-22).

³⁰ J. T. Groves, T. E. Nemo, R. S. Myers ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 1032-1033.

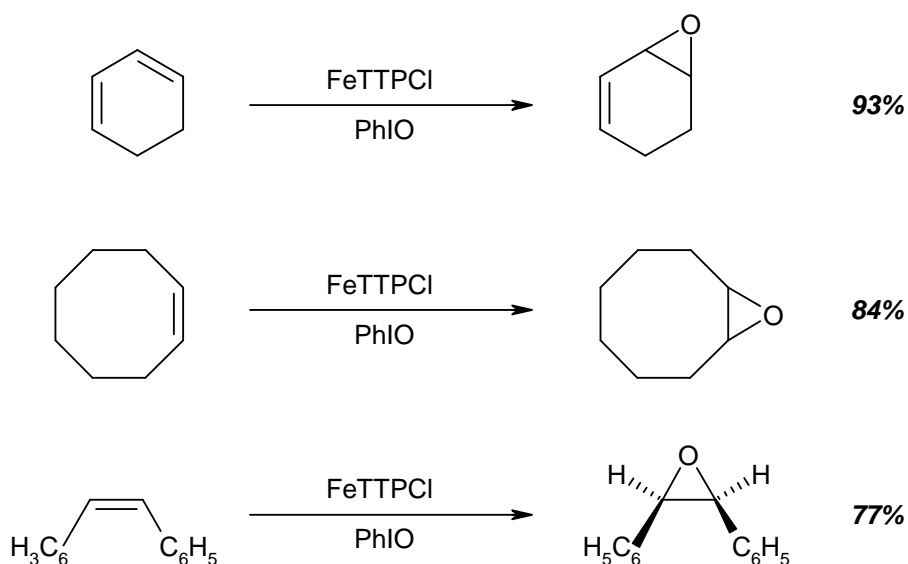
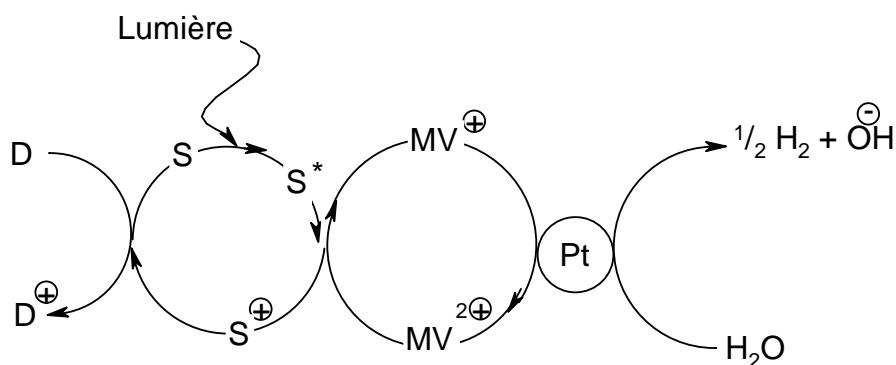


Figure I-23 : Quelques exemples de réaction d'époxydation.³⁰

Les porphyrines de fer ou de manganèse catalysent le transfert d'un atome d'oxygène d'un donneur à un substrat par formation transitoire d'un dérivé oxo-métallique. L'iodosylbenzène est le donneur d'oxygène le plus couramment utilisé mais il peut être remplacé par l'hypochlorite de sodium, par l'oxygène en présence d'une source d'électrons ou encore par un peroxyde.

Un autre processus utilisant les macrocycles porphyriniques est la transformation photochimique de l'eau en hydrogène. Ce processus a fait l'objet de nombreux travaux en raison de son impact potentiel dans le domaine des énergies renouvelables.³¹ Il consiste à exciter sous l'action de la lumière visible un photosensibilisateur (S) qui va transférer un de ces électrons à une substance relais (le méthylviologène) et décomposer l'eau catalytiquement pour obtenir le dihydrogène. A l'autre extrémité de la chaîne se trouve un donneur (D) qui va restituer un électron au photosensibilisateur. Le donneur sera alors oxydé et détruit (Figure I-24).

³¹ J. M. Lehn, M. Kirch, J.-P. Sauvage, R. Ziessel ; *La Recherche*, **1980**, 11, 205.

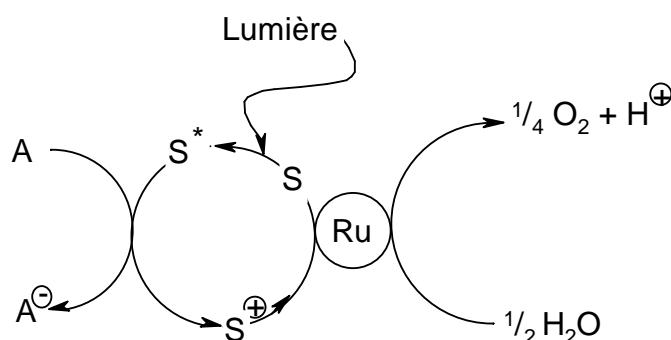


D : donneur d'électron
 D⁺ : donneur d'électron oxydé
 S* : photosensibilisateur excité par la lumière

S⁺ : photosensibilisateur oxydé
 MV : méthylviologène
 Pt : catalyseur

Figure I-24 : Transformation photochimique de l'eau en hydrogène.³¹

Un système similaire a été envisagé pour produire de l'oxygène à partir de l'eau.³² Dans ce cas, l'eau sera photochimiquement oxydée. Tout d'abord, le photosensibilisateur (S) excité s'oxyde en donnant un électron à un accepteur A (cobalt). Il va ensuite prendre un électron au catalyseur (dioxyde de Ruthénium) et ce dernier, devenant déficient en électron, va oxyder l'eau et entraîner la formation d'oxygène (Figure I-25). Un tel système constitue en théorie une source inépuisable d'énergie mais il demeure en pratique limité en raison de la dégradation du photosensibilisateur et de la consommation du donneur.



A : accepteur d'électron
 A⁺ : accepteur réduit

S : photosensibilisateur
 S* : photosensibilisateur excité par la lumière
 S⁺ : photosensibilisateur oxydé

³² L. R. Milgrom ; *The Colors of Life: an Introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related Compounds*, Oxford Univ Press, UK, 1997, 151.

5- Application : La photothérapie dynamique

5-1- Principe

La photothérapie est une nouvelle technique de traitement du cancer qui fait appel à un agent photosensible localisé au niveau du tissu tumoral. L'activation par la lumière rend alors celui-ci cytotoxique. La première étape consiste à introduire, généralement par voie intraveineuse, l'agent photosensible. La tumeur qui a concentré cet agent est alors exposée à une lumière de longueur d'onde capable d'induire un mécanisme photochimique et dont les agents intermédiaires sont des espèces actives d'oxygène. L'interaction de ces espèces avec le milieu intracellulaire endommage les membranes et divers organites conduisant à la mort cellulaire (Figure I-26).

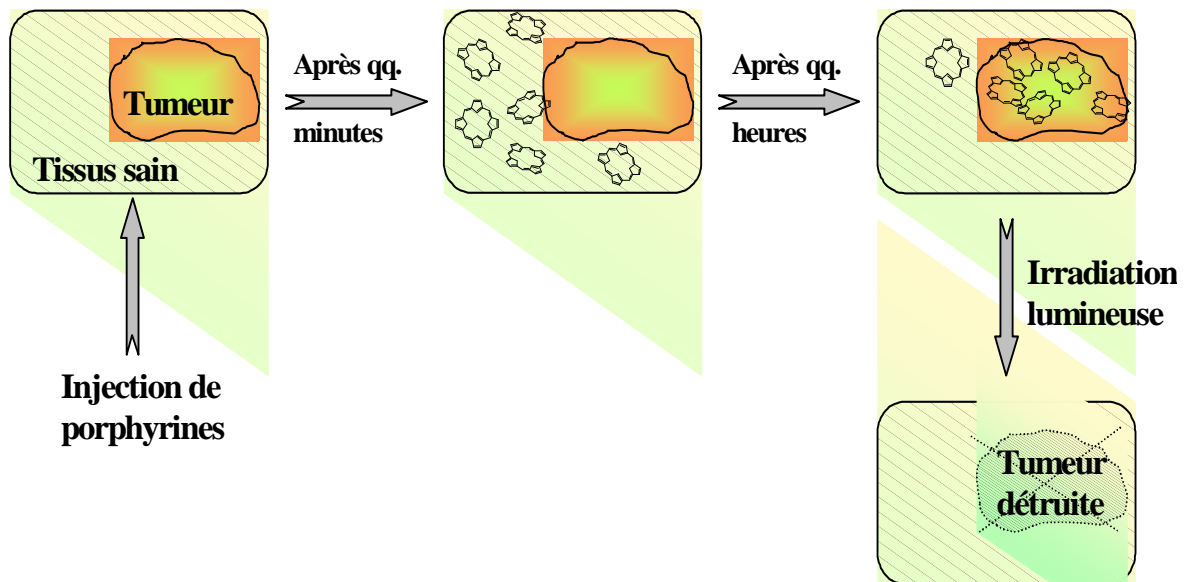


Figure I-26 : Représentation schématique du principe de la PDT.

5-2- Historique

L'héliothérapie est connue depuis de nombreux siècles, Herodote (5 siècles avant J.-C.) nota les effets bénéfiques du soleil sur la croissance osseuse, tandis qu'Hippocrate (460-376 avant J.-C.) mentionna son utilisation dans le traitement de plusieurs maladies humaines. Le terme photothérapie est dû au scientifique islandais Finsen (1860-1904) qui s'est consacré à l'étude des effets thérapeutiques des divers rayons du spectre solaire notamment pour traiter et guérir le « Lupus vulgaris », maladie de la peau très courante dans les pays nordiques.³³ En 1903, Jesionek et von Tappeiner³⁴ ont posé les bases de la photothérapie antitumorale grâce à l'utilisation combinée de la lumière et de l'éosine appliquées localement aux tumeurs cancéreuses. En 1908, Haussmann³⁵ a montré la photosensibilité de souris exposées à la lumière, après une injection d'hématoporphyrine. Cette sensibilité s'est avérée être fonction de la quantité de sensibilisateur et de lumière. Cinq ans plus tard, Meyer-Betz³⁶ a ressenti une forte photosensibilité après s'être préalablement injecté 200 mg d'hématoporphyrine. Celle-ci s'est traduite par un œdème et une hyperpigmentation qui dura deux mois. Une observation importante a été faite à Lyon par Policard³⁷ en 1924 qui a constaté la fluorescence de porphyrines naturelles dans certaines tumeurs, faisant ainsi, pour la première fois, la relation entre cancer et porphyrines. Les travaux de Figge³⁸ ont été les premiers à montrer le potentiel des porphyrines et notamment de l'hématoporphyrine dans le traitement de certains cancers. Néanmoins Lipson a noté que le manque de spécificité de ce photosensibilisateur pour les tissus cancéreux peut engendrer de graves lésions des tissus sains lors du traitement photodynamique. Lipson³⁹ a introduit alors un dérivé de l'hématoporphyrine (HpD) et a démontré la localisation, avec un degré élevé, des porphyrines dans les tissus cancéreux permettant la visualisation des zones tumorales par irradiation dans l'ultraviolet (fluorescence rouge des porphyrines). Pendant une dizaine d'années, ce composé a été utilisé comme agent diagnostique de certains cancers. Ce n'est qu'en 1974 que le dérivé d'hématoporphyrine a connu un développement rapide comme agent thérapeutique grâce aux travaux de Dougherty⁴⁰, qui montrent l'efficacité de la photothérapie dynamique des cancers sur des

³³N. F. Finsen ; *Phototherapy*. London: Arnold, **1901**.

³⁴A. Jesionek, H. von Tappeiner ; *Munch. Med. Wochenschr.*, **1903**, 41, 2042-2051.

³⁵W. Haussmann ; *Biochem. Z.*, **1910**, 30, 276-316.

³⁶F. Meyer-Betz ; *Dtsch. Arch. Klin. Med.*, **1913**, 112, 476-503.

³⁷A. Policard, A. Leulier ; *C. R. Acad. Sci. Soc. Biol.*, **1924**, 91, 1423-1424.

³⁸F. H. J. Figge, G. S. Weiland, L. O. J. Manganiello ; *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **1948**, 68, 640-641.

³⁹R. L. Lipson, E. J. Baldes ; *Arch. Dermatol.*, **1960**, 82, 508-516.

⁴⁰T. J. Dougherty ; *J. Natl. Cancer Inst.*, **1974**, 52, 1133-1136.

modèles animaux puis sur des humains. Parallèlement à ces recherches, Weishaupt⁴¹ a montré que l'absorption d'énergie lumineuse par la HpD induit la formation d'oxygène singulet, agent responsable de la destruction des tissus. En 1984, Dougherty⁴² a obtenu, par purification de la HpD, un mélange composé essentiellement d'oligomères reliés par des ponts éther et/ou ester. Cette fraction active est commercialisée sous le nom de Photofrin[®] et est utilisée cliniquement de nos jours. En raison d'une efficacité pratique restreinte et du fait que son application entraîne, à long terme, une photosensibilisation cutanée, d'autres photosensibilisateurs sont développés, parmi lesquels le Foscan[®] ou *m*-THPC et l'acide 5-aminolévulinique (5-ALA). Le 5-ALA, précurseur naturel des porphyrines, est utilisé à la fois pour le diagnostic et le traitement des tumeurs cutanées. Son absorption préférentielle par les cellules tumorales entraîne une accumulation de protoporphyrine IX dans ces dernières, qui montrent une intense fluorescence rouge lorsqu'elles sont irradiées par la lumière ultraviolette ($\lambda \sim 400$ nm). L'accumulation de protoporphyrine IX est suffisante pour rendre ces cellules photosensibles et permettre leur élimination à la suite d'une illumination prolongée par la lumière visible.^{43, 44}

Depuis la fin des années 70, certains cancers sont traités par la photothérapie dynamique, notamment ceux de la peau, du poumon, de l'œsophage, de la vessie ou encore de l'estomac. Associée à une bonne sélectivité des chromophores et un traitement lumineux localisé, cette thérapie s'avère peu traumatisante et peu agressive pour le patient. Les recherches actuelles s'orientent donc vers le développement de nouveaux photosensibilisateurs plus sélectifs et possédant une absorption plus importante aux fortes longueurs d'onde.

5-3- Mécanisme et processus photochimique

La majorité des photosensibilisateurs présente une absorption optimale dans l'ultraviolet, le violet ou le bleu spectral, cependant l'irradiation lumineuse en PDT s'effectue habituellement en lumière rouge car elle permet une pénétration de plus d'un millimètre au niveau tissulaire. Le spectre d'absorption de l'hème présente un pic intense autour de 420 nm et en raison de la

⁴¹ K. R. Weishaupt, C. J. Gomer, T. J. Dougherty ; *Cancer Res.*, **1976**, 36, 2326-2329.

⁴² T. J. Dougherty; W. R. Potter, K. R. Weishaupt ; *Prog. Clin. Biol. Res.*, **1984**, 170, 301-314.

⁴³ D. Zaak, M. Kriegmair, H. Stepp, H. Stepp, R. Baumgartner, R. Oberneder, P. Schneede, S. Corvin, D. Frimberger, R. Knuchel ; *Urology*, **2001**, 57, 690-694.

⁴⁴ H. Messmann, E. Endlicher, C. M. Gelbmann, J. Schölmerich ; *Digest. Liver Dis.*, **2002**, 34, 754-761.

présence de vaisseaux de petites et/ou de larges dimensions localisés au niveau des tissus, les plus courtes longueurs d'onde sont sujettes à de fortes variations d'intensité lumineuse. En PDT, des cellules tumorales peuvent être alors soustraites à l'action de la lumière au voisinage d'un vaisseau et survivre à l'irradiation. Cependant certaines restrictions à l'usage de la lumière rouge existent. En effet, en raison de la dispersion lumineuse et de l'absorption minimale du sang (et des tissus), les longues longueurs d'onde (> 800 nm), ne pénètrent que quelques millimètres dans les tissus. Le rayon d'action de la PDT est habituellement inférieur à 1 cm cependant pour des tumeurs plus épaisses de multiples séances d'irradiation sont nécessaires en pratique, en insérant, par exemple, plusieurs fibres optiques à l'intérieur du volume tumoral.

A la suite de l'absorption d'un photon, le photosensibilisateur se retrouve excité. Il existe alors plusieurs possibilités de retour à son état fondamental. L'une d'elle est la fluorescence. Cependant pour être un photosensibilisateur potentiel, une molécule doit pouvoir stocker l'énergie plus longtemps (micro ou milliseconde). Cette situation est possible lorsque l'électron excité change d'état de spin, donnant lieu à une situation transitoire dénommée conversion intersystème. Le photosensibilisateur excité se retrouve ainsi à l'état triplet. Il peut alors retourner à l'état fondamental (phénomène de phosphorescence) ou transférer son énergie aux molécules environnantes et notamment à l'oxygène. Le photosensibilisateur, à l'état fondamental, est alors ainsi de nouveau disponible pour l'absorption d'un autre photon. Par conséquent, celui-ci agit comme un catalyseur qui transfère l'énergie lumineuse aux molécules de dioxygène générant ainsi des espèces très réactives et nocives pour les structures intracellulaires telles que les lipides membranaires ou les enzymes.⁴⁵ Ces espèces peuvent même altérer ou détruire le photosensibilisateur, induisant ainsi la formation de photoproduits et la perte progressive de la photosensibilisation et de la fluorescence (photo-blanchiment) survenant en cours d'irradiation.

Sous l'effet du transfert d'énergie, les molécules de dioxygène environnantes peuvent réagir soit par réaction de transfert d'électron par l'intermédiaire d'un substrat (mécanisme de type I) soit par réaction de transfert d'énergie (mécanisme de type II). Dans la réaction de type I des radicaux libres sont formés conduisant à la production de radicaux hautement réactifs ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot}) et à la production de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).⁴⁶ Toutefois, la majorité des

⁴⁵ N. Kaul, H. J. Forman ; *Toxicology of Human Environment*, **2000**, 311-335.

⁴⁶ C. S. Foote ; *Photochem. Photobiol.*, **1991**, 54, 659.

photosensibilisateurs utilisés en PDT agissent principalement via le mécanisme de type II au cours duquel l'oxygène singlet ($^1\text{O}_2$) est produit (Figure I-27).

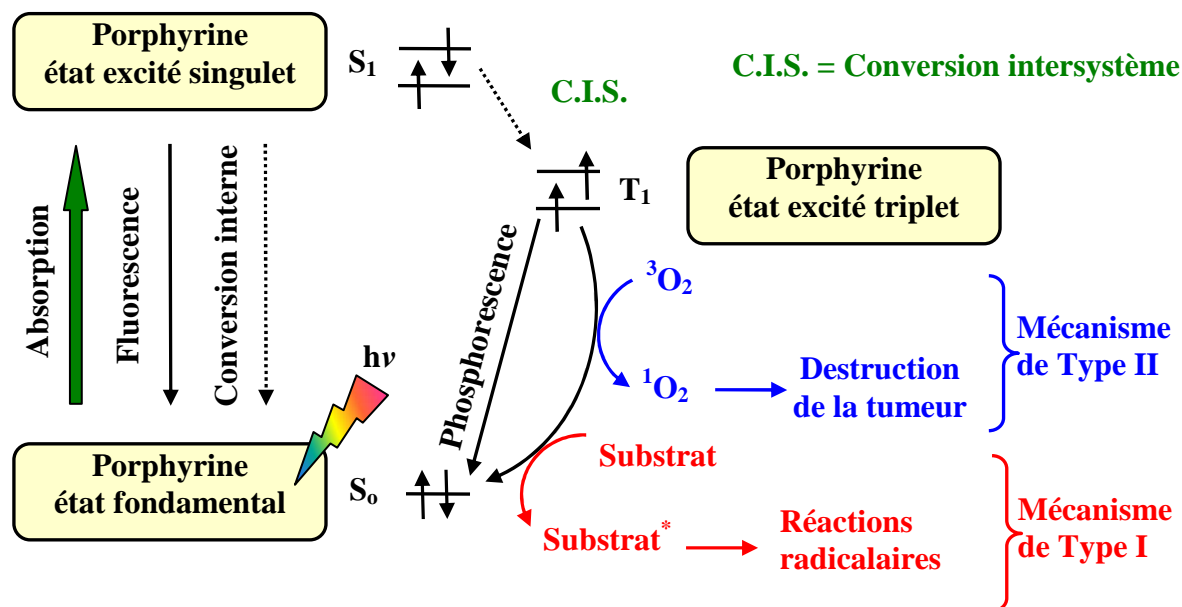


Figure I-27 : Mécanisme photochimique de la PDT.

L'oxygène singulet peut réagir avec pratiquement toutes les biomolécules présentant des liaisons π telles que les phospholipides, le cholestérol, les acides aminés (principalement tryptophane, histidine, méthionine) ainsi que certaines bases nucléiques (guanine).⁴⁷ Cependant son temps de vie étant très court (de l'ordre de la nanoseconde), son rayon d'action se limite à son site de formation.⁴⁸ Les organites cellulaires atteints dépendent alors du site d'accumulation du photosensibilisateur utilisé. La nature de celui-ci joue donc un rôle important dans les sites d'attaque de l'oxygène singulet.⁴⁹ L'ensemble de ces processus va provoquer l'inactivation d'un grand nombre de constituants cellulaires importants, d'un point de vue structural mais aussi métabolique, ce qui va entraîner la mort de la cellule.

⁴⁷ E. D. Sternberg, D. Dolphin, C. Brückner ; *Tetrahedron*, **1998**, 54, 4151-4202.

⁴⁸ J. Moan ; *Photochem. Photobiol.*, **1990**, 6, 343-347.

⁴⁹ W. Henderson, T. J. Dougherty ; *Photochem. Photobiol.*, **1992**, 55, 145-147.

5-4- Les différents photosensibilisateurs utilisés en PDT

La recherche et le développement de nouveaux photosensibilisateurs sont un problème complexe car ils doivent répondre à des critères bien définis :

- être non-toxique en absence de lumière.
- être de composition parfaitement définie.
- avoir une grande sélectivité vis à vis des cellules tumorales.
- posséder une absorption optimale entre 650 et 800 nm pour une plus grande pénétration de la lumière dans les tissus.
- avoir un rendement quantique en oxygène singulet élevé.
- être amphiphile pour s'incorporer au mieux dans les organites cellulaires.
- avoir une durée de vie plasmatique suffisamment longue.

Les photosensibilisateurs de première génération regroupent l'hématoporphyrine associé à ses dérivés et notamment le Photofrin[®]. L'hématoporphyrine est isolée à partir de l'hémoglobine traitée en milieu acide. C'est un produit aisément obtenu mais il ne présente pas de réelle sélectivité vis à vis des cellules cancéreuses. (Figure I-28)

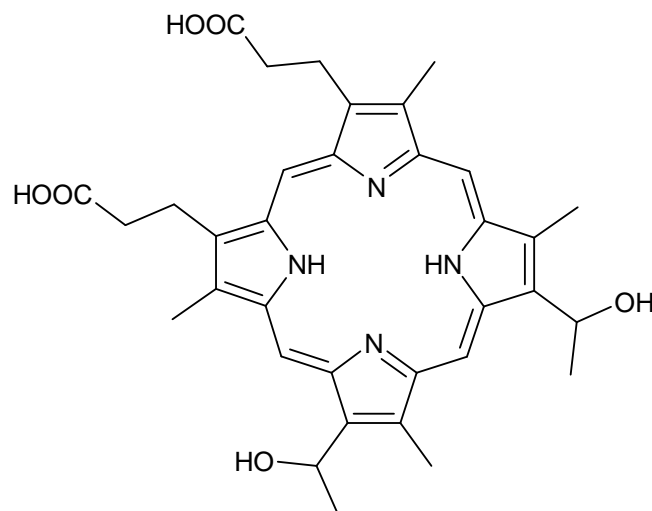
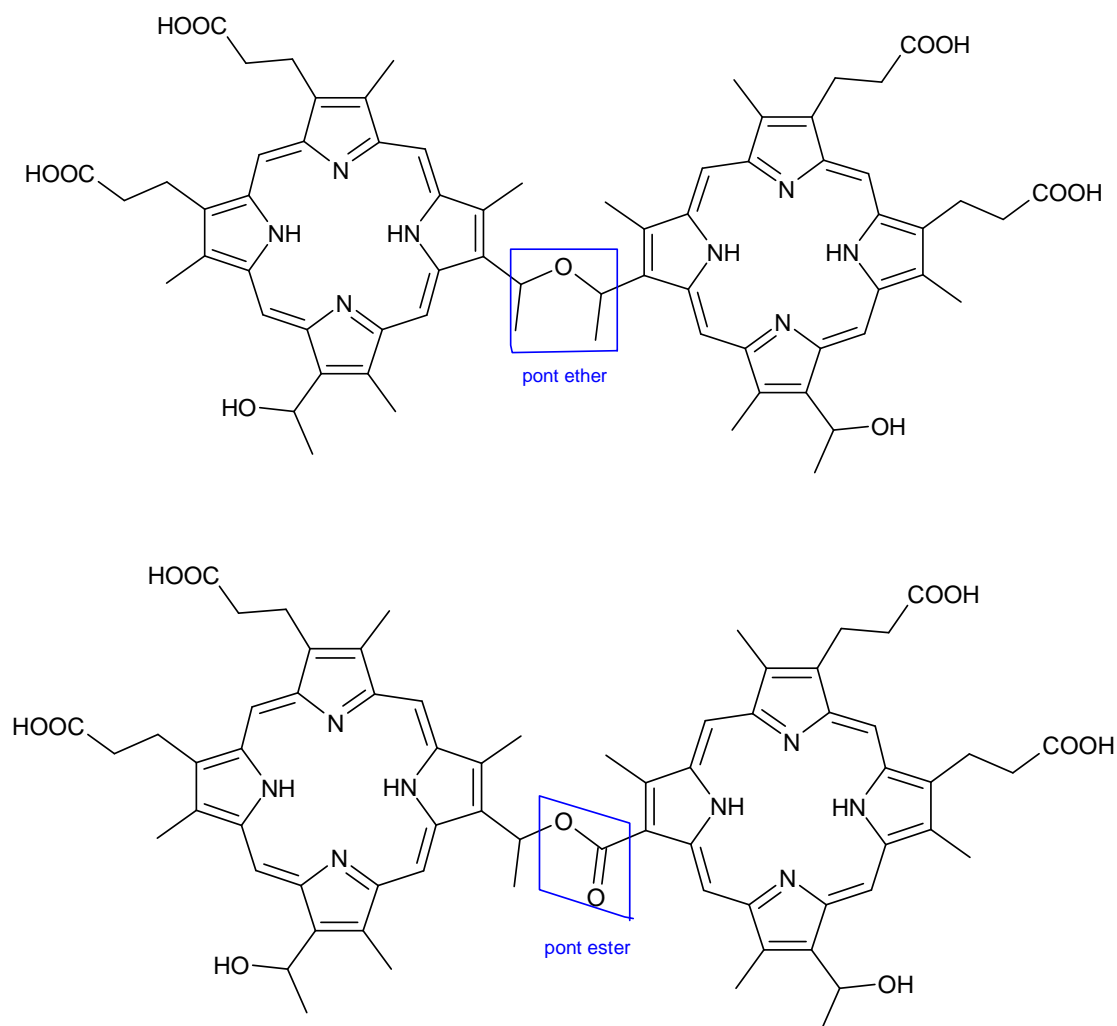


Figure I-28 : Structure de l'hématoporphyrine.

Le dérivé d'hématoporphyrine (HpD) est obtenu par traitement acide (acide acétique et acide sulfurique) de l'hématoporphyrine puis saponification des produits acétylés. Une étude par chromatographie liquide haute performance (HPLC) montre que ce mélange contient de l'hématoporphyrine (20%), de l'hydroxyéthylvinyldeuteroporphyrine (20-30%), de la protoporphyrine (3-5%) ainsi que des oligomères de porphyrines (2 à 6 unités) reliées entre elles par des ponts éther, esters et/ou carbone-carbone. Les monomères semblent avoir une activité anti-tumorale réduite. Dougherty et *coll.*⁵⁰ parviennent alors à obtenir, par purification partielle du dérivé de l'hématoporphyrine, un mélange, appelé Photofrin[®], composé essentiellement de dimères (DHE) (Figure I-29) et d'oligomères dont les unités sont reliées par un pont éther ou ester.



⁵⁰ T. J. Dougherty; W. R. Potter, K. R. Weishaupt ; *Progress in Clinical and Biological Research*, **1984**, 170, 301-314.

Figure I-29 : Structures des fractions actives du Photofrin®.

Ce composé est utilisé dans le traitement de tumeurs présentes au niveau des bronches et de l'œsophage. Cependant il existe un délai assez long entre l'injection des photosensibilisateurs de première génération et le traitement lumineux. De plus cette pharmacocinétique est couplée avec une biodégradation relativement lente du photosensibilisateur. Le traitement avec ces molécules reste contraignant puisque le patient doit éviter une exposition à la lumière durant quatre à huit semaines.⁵¹

Devant le peu de sélectivité de ces composés vis-à-vis des cellules cancéreuses et une application restreinte aux tumeurs superficielles, de nombreux travaux se sont orientés vers des photosensibilisateurs plus spécifiques et capables d'absorber des lumières de longueurs d'ondes plus élevées afin d'obtenir un traitement lumineux efficace pour des tumeurs plus profondes. Les recherches se sont tournées vers des photosensibilisateurs de structure bien définie. Ces photosensibilisateurs, dits de seconde génération, possèdent l'avantage d'être éliminés rapidement par l'organisme, évitant ainsi une photosensibilité prolongée du patient. Ils comprennent plusieurs classes de molécules telles que les chlorines (*Foscan*®, Npe6), les purpurines (Purlytin®), les texaphyrines (Xcytrin®, Lutrin®) ou encore des précurseurs de porphyrines (5-ALA).

La tétra-(*meta*-hydroxy)phénylchlorine (*m*-THPC), commercialisée en 2002 sous le nom de Foscan® (Figure I-30), possède un coefficient d'absorption très élevé dans le rouge ($\epsilon = 29600 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ dans le méthanol)⁵² et la durée de vie, relativement longue de l'état excité, lui confère un rendement quantique important en oxygène singulet. Seulement, la *m*-THPC reste peu sélective vis-à-vis des tumeurs. Une illumination très précise de la cible à traiter doit être alors de rigueur pour épargner au maximum les tissus voisins et ce composé s'est avéré être un bon candidat pour le traitement des cancers de la prostate ou du pancréas.^{53, 54}

⁵¹ M. M. Ressler, R. K. Pandey ; *CHEMTECH*, **1998**, 28, 39-45.

⁵² R. Bonnett, B. D. Djelal, A. Nguyen ; *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2001**, 5, 652-661.

⁵³ T. R. Nathan, D. E. Whitelaw, S. C. Chang, W. R. Lees, P. M. Ripley, H. Payne, M. C. Parkinson, M. Emberton, A. R. Gilliams, A. R. Mundy, S. G. Bown ; *J. Urol.*, **2002**, 168, 1427-1432.

⁵⁴ S. G. Bown, A. Z. Rogowska, D. E. Whitelaw, W. R. Lees, L. B. Lovat, P. Ripley, L. Jones, P. Wyld, A. Gilliams, A. W. R. Hatfield ; *Gut*, **2002**, 50, 549-557.

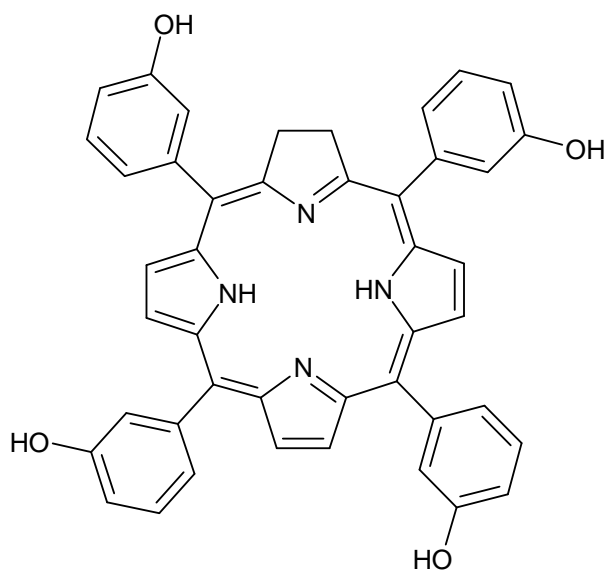


Figure I-30 : Structure du Foscan®.

Des dérivés de la chlorophylle sont également étudiés pour leurs applications en PDT et notamment la chlorine e6 (Figure I-31). Outre une absorption intéressante vers 660 nm, cette molécule présente une pharmacocinétique et une biodégradation rapide, l'irradiation devant intervenir peu de temps après l'injection.⁵⁵ Associée à l'acide L-aspartique, la chlorine e6 devient alors un photosensibilisateur sélectif puisque des travaux, effectués sur des souris, mettent en évidence une fluorescence tumorale cinq fois supérieure à celle des autres tissus, 72 heures après l'injection du composé.⁵⁶ La mono-L-aspartyl chlorine e6 est testée (phase I et II) pour le traitement de tumeurs cutanées.⁵⁷

⁵⁵ G. A. Kostenich, I. N. Zhuravkin, E. A. Zhavrid ; *Photochem. Photobiol.*, **1994**, 22, 211-217.

⁵⁶ K. Aizawa, T. Okunaka, T. Othani, H. Kawabe, Y. Yasunaka, S. O'Hata, N. Ohtomo, K. Nishimiya, C. Konaka, H. Kato, Y. Hayata, T. Saito ; *Photochem. Photobiol.*, **1987**, 46, 789-793.

⁵⁷ T. J. Dougherty ; *Photochem. Photobiol.*, **1993**, 58, 895-900.

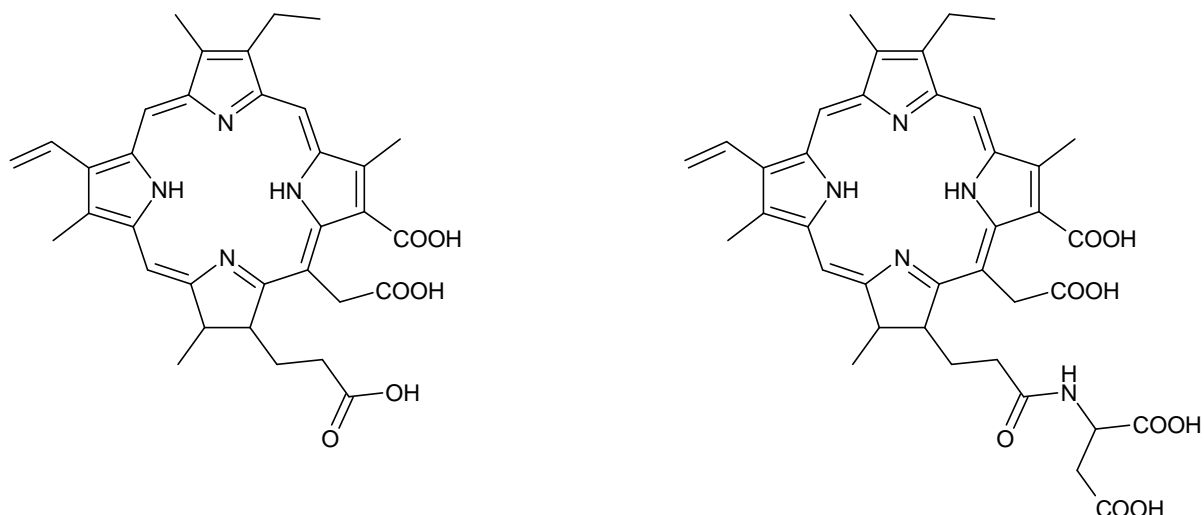


Figure I-31 : Structures de la chlorine e6 et de la mono-L-aspartylchlorine e6.

Les purpurines sont des molécules de la famille des chlorines qui possèdent un cycle accolé au squelette porphyrinique de base. La stabilité recherchée pour les chlorines de synthèse est ainsi obtenue et l'exocycle confère à cette molécule une absorption vers 660 nm. L'éthylétiopurpurine d'étain est un dérivé commercialisé sous le nom de Purlytin® (Figure I-32). Il est étudié pour le cancer de la prostate⁵⁸ et est utilisé pour la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA). Cependant la faible stabilité de cette molécule dans l'eau pose un problème pour le traitement in vivo. Les recherches s'orientent vers une dilution de ces composés avec des agents émulsifiants composés d'acide gras (Cremophor®).⁵⁹

⁵⁸ S. H. Selman, D. Albrecht, R. W. Keck, P. Brennan, S. Kond ; *J. Urology*, **2001**, 165, 1795-1801.

⁵⁹ M. Kreimer-Birnbaum ; *Seminars in Hematology*, **1989**, 26, 157-173.

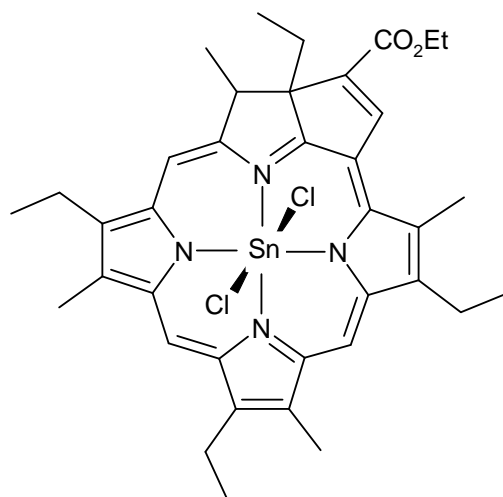


Figure I-32 : Structure de la Purlytin[®].

Contrairement aux porphyrines, les texaphyrines ne sont pas des composés tétrapyrroliques mais tripyrroliques. En effet elles ne possèdent pas quatre mais cinq azotes internes. Ces molécules peuvent se complexer avec une large série de métaux et notamment avec ceux de la série des lanthanides. L'insertion du métal est généralement accompagnée de la liaison de ligands riches en oxygène.⁶⁰ Plusieurs molécules de ce type sont actuellement commercialisées sous les noms de Xcytrin[®], dérivé de Gadolinium(III) utilisé contre des tumeurs métastatiques du cerveau ou Lutrin[®], dérivé de lutetium(III) préconisé pour le traitement de cancers récurrents du sein (Figure I-33). Ces métallotexaphyrines présentent une très bonne sélectivité pour les cellules tumorales ainsi qu'une forte bande d'absorption entre 730 et 770 nm permettant une bonne pénétration lumineuse à travers les tissus. De plus l'état triplet relativement long de ces composés amène une production efficace en oxygène singulet.⁶¹ L'irradiation peut être effectuée trois heures après l'injection de ces molécules et leur élimination rapide par l'organisme assure une photosensibilité réduite du patient.

⁶⁰ J. L. Sessler, R. A. Miller ; *Biochem. Pharm.*, **2000**, 59, 733-739.

⁶¹ A. Harriman, B. G. Maiya, T. Murai, G. Hemmi, J. L. Sessler, T. E. Thomas ; *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1989**, 5, 314-316.

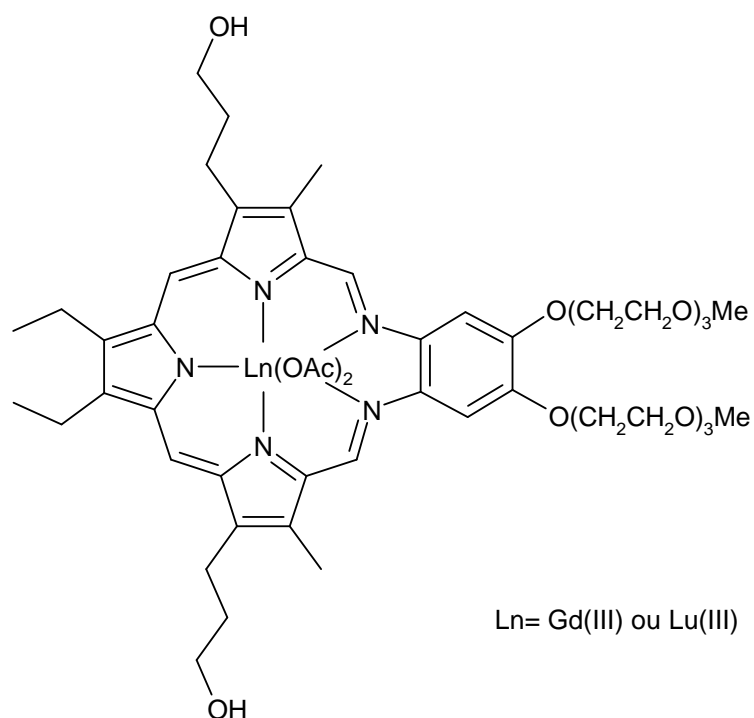


Figure I-33 : Structures du Xcytrin® et du Lutrin®.

Une autre approche utilisée en photothérapie dynamique est la synthèse de porphyrines endogènes. Ainsi l'acide 5-aminolévulinique (5-ALA) est un précurseur de la biosynthèse de l'hème et par conséquent de la protoporphyrine IX, agent photosensibilisateur (Figure I-34). La conversion relativement lente de la protoporphyrine IX en hème, ainsi qu'un apport exogène de 5-ALA, permet d'obtenir des concentrations élevées en protoporphyrine IX dans les cellules. Il est possible alors d'irradier la tumeur afin de déclencher le processus photochimique de la PDT.⁶² De plus ces porphyrines se dégradent rapidement avec l'oxygène singulet qu'elles produisent (photoblanchiment), réduisant les phénomènes de photosensibilité du patient. L'acide 5-aminolévulinique s'avère très efficace dans le traitement des cancers cutanés.⁶³ L'activation lumineuse s'effectue trois à six heures après l'application locale de cet aminoacide.

⁶² C. J. Kelty, N. J. Brown, M. W. R. Reed, R. Ackroyd ; *Photochem. Photobiol.*, **2002**, 1, 158-168.

⁶³ R. R. Allison, G. H. Downie, R. Cuenca, X.-H. Hu, C. J. H. Childs, C. H. Sibata ; *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2004**, 1, 27-42.

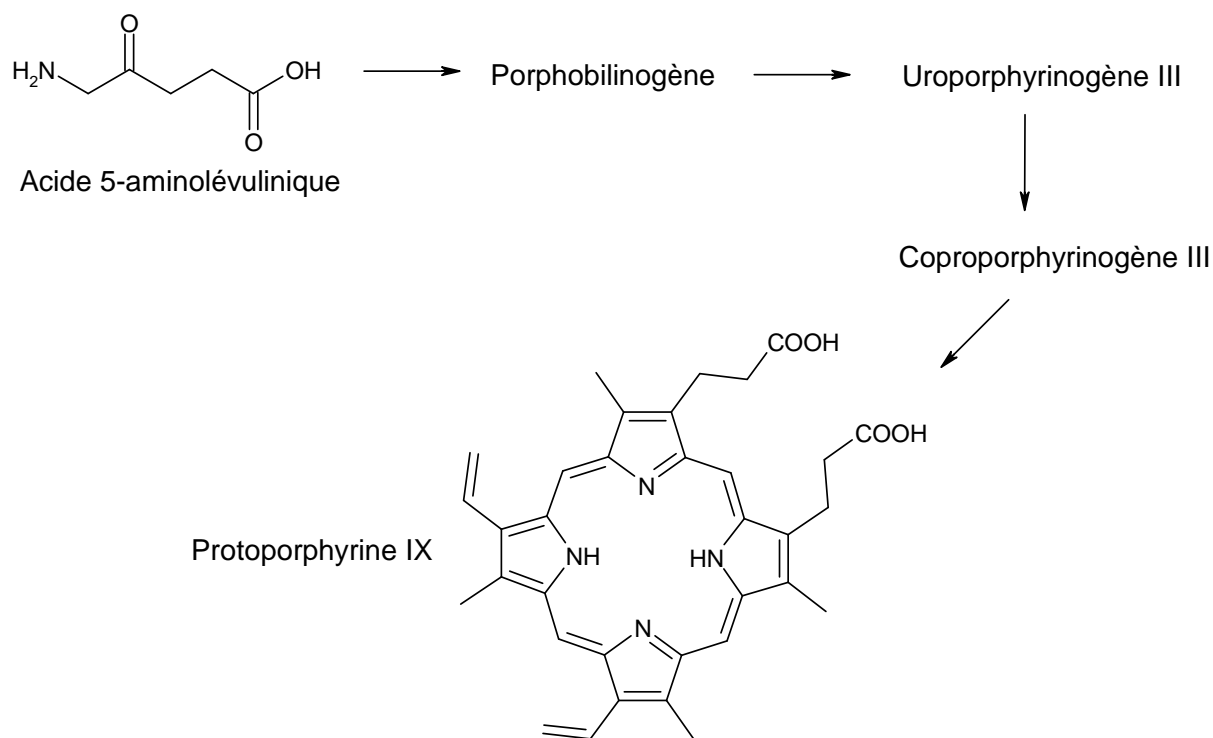


Figure I-34 : Schéma de la protoporphyrine IX à partir de l'acide 5-aminolévulinique.

5-5- Autres applications thérapeutiques

Les photosensibilisateurs et la photothérapie dynamique trouvent des applications dans d'autres domaines que les traitements anticancéreux. L'exemple le plus marquant est l'utilisation d'un dérivé de benzoporphyrine dans un traitement de la cécité. La vertéporfine est commercialisé dans une formulation liposomiale sous le nom de Visudyne[®] (Figure I-35).

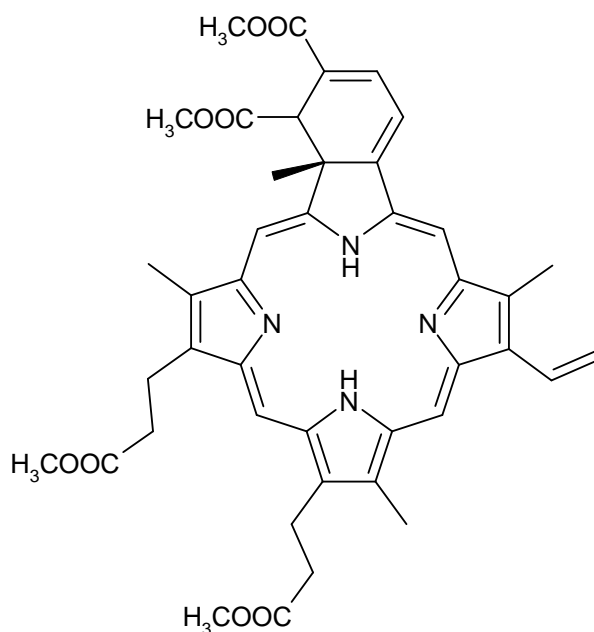


Figure I-35 : Structure de la vertéporfine.

Cette molécule est indiquée dans les cas de dégénération maculaire liée à l'âge (DMLA) chez les patients présentant une néovascularisation choroïdienne causant une perte de vision centrale. La DMLA touche essentiellement les personnes de plus de 50 ans.⁶⁴ La sélectivité de cette molécule s'effectue essentiellement par le biais des lipoprotéines de faible densité (LDL) dont les récepteurs sont surexprimés au niveau de la néovascularisation choroïdienne. La vertéporfine forme des complexes avec les LDL et ceux-ci sont acheminés vers les néo-vaisseaux. La formulation liposomiale permet d'augmenter la solubilité et la sélectivité vis-à-vis des protéines sanguines. La molécule est irradiée à la longueur d'onde de 689 nm par une lumière laser, 15 à 30 minutes après l'injection.⁶⁵ L'oxygène actif (oxygène singulet) cause alors des dommages aux néo-vaisseaux aboutissant à la vasoconstriction et l'occlusion de ceux-ci.

Une autre utilisation des photosensibilisateurs est la photochimiothérapie antimicrobienne (PACT).⁶⁶ Le processus photochimique générant l'oxygène singulet endommage l'ADN et les sites membranaires bactériens. Cependant en raison de la nature de la bactérie, certains

⁶⁴ G. Soubrane, N. M. Bressler ; *Br. J. Ophthalmol.*, **2001**, 85, 483-495.

⁶⁵ K. J. Messmer, S. R. Abel ; *Ann. Pharmacother.*, **2001**, 35, 1593-1598.

⁶⁶ V. Sol, P. Branland, V. Chaleix, R. Granet, M. Guilloton, F. Lamarche, B. Verneuil, P. Krausz ; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, 4207-4211.

photosensibilisateurs semblent inadéquats. En effet, pour les Gram ⁻, les photosensibilisateurs anioniques sont inefficaces. Les photosensibilisateurs cationiques, quant à eux, montrent une activité antibactérienne vis-à-vis des types Gram ⁻ et les Gram ⁺.⁶⁷ De plus, la photochimiothérapie peut être un traitement alternatif aux maladies où les bactéries présentent des résistances multiples aux drogues. Ainsi l'hématoporphyrine et la tétra(*N*-méthylpyridyl)porphyrine (Figure I-36) photoinactive, respectivement, *Staphylococcus aureus*, (bactérie Gram ⁺) et *Acinetobacter baumannii* (bactérie Gram ⁻), responsables de très nombreuses infections nosocomiales.^{68, 69}

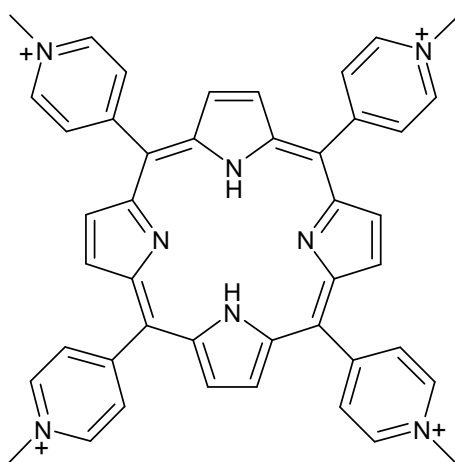


Figure I-36 : Structure de la tétra(*N*-méthylpyridyl)porphyrine (TMPyP).

Mais les macrocycles n'ont pas besoin d'être systématiquement activés par la lumière pour posséder une application thérapeutique. Ainsi, certaines porphyrines sulfonées possèdent des propriétés antivirales, notamment contre le VIH (virus d'immunodéficience humaine). Elles interfèrent dans la liaison virus - récepteurs cellulaires, inhibant ainsi la réplication du virus.⁷⁰ D'autres porphyrines, métallées et chargées, peuvent se fixer à l'ADN et couper celui-ci. Le rôle de catalyseur d'oxydation du macrocycle métallé est alors utilisé, en présence d'un

⁶⁷ K. O'Riordan, O. E. Akilov, T. Hasan ; *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2005**, 2, 247-262.

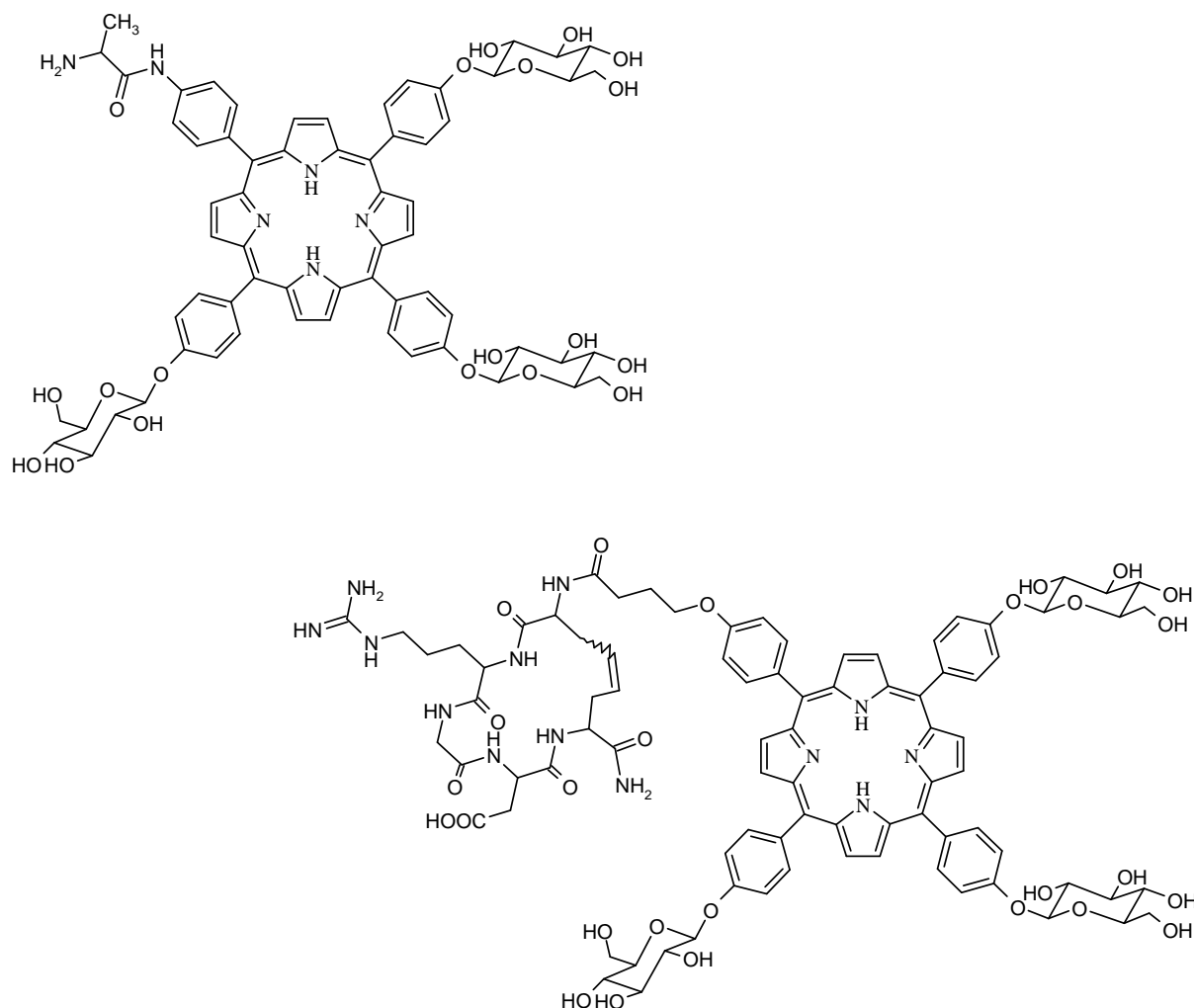
⁶⁸ G. Bertoloni, F. M. Lauro, G. Cortella, M. Merchat ; *Biochem. Biophys. Acta*, **2000**, 1475, 169-174.

⁶⁹ Y. Nitzan, H. Ashkenazi ; *Curr. Microbiol.*, **2001**, 42, 408-414.

⁷⁰ D. W. Dixon, A. F. Gill, L. Giribabu, A. N. Vzorov, A. B. Alam, R. W. Compas ; *J. Inorg. Biochem.*, **2005**, 99, 813-821.

donneur d'oxygène, pour endommager les bases nucléiques.⁷¹

Cependant les applications thérapeutiques et notamment la photothérapie ne sont des processus efficaces que si les photosensibilisateurs sont vectorisés vers les cellules cibles. Ainsi la fixation sur le macrocycle de substituants capables d'être reconnu par les récepteurs membranaires se révèle très importante. Au laboratoire, nous avons développé la synthèse de porphyrines glycosylées qui sont reconnues par les lectines, récepteurs membranaires surexprimés par les cellules cancéreuses.⁷² Le peptide RGD est également un autre substituant greffé sur le macrocycle qui cible spécifiquement les intégrines $\alpha_v\beta_3$ des néo-vaisseaux formés à la périphérie des tumeurs (Figure I-37).⁷³



⁷¹ B. Mestre, A. Jakobs, G. Pratviel, B. Meunier ; *Biochemistry*, **1996**, 35, 9140-9149.

⁷² V. Sol, J. C. Blais, V. Carre, R. Granet, M. Guilloton, M. Spiro, P. Krausz ; *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 4431-4444.

⁷³ V. Chaleix, V. Sol, M. Guilloton, R. Granet, P. Krausz ; *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 5295-5299.

6- Les polyamines

Notre finalité étant de fixer des polyamines sur des chlorines, nous proposons de faire un état des lieux tant sur le plan chimique que sur le plan biologique.

6-1- Généralités

Les polyamines linéaires, telles que la putrescine, la spermidine et la spermine sont des molécules présentes dans toutes les cellules vivantes, qu'elles soient procaryotes comme les bactéries ou eucaryotes comme les champignons, les cellules végétales et animales. Elles possèdent une chaîne carbonée aliphatique comportant au moins deux fonctions amines et sont essentielles pour la croissance et le fonctionnement des cellules vivantes.⁷⁴

La spermidine et la spermine ont été découvertes, en 1678, par van Leeuwenhoek qui les a extraites du liquide séminal humain. Il fallut cependant attendre 1924 pour que leurs structures chimiques soient clairement établies (Figure I-38).⁷⁵

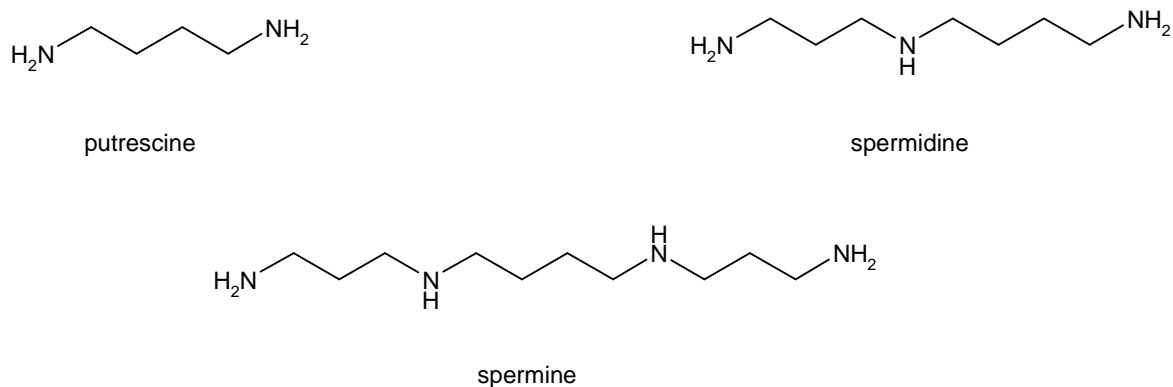


Figure I-38 : Structures de polyamines naturelles.

Longtemps considéré comme des composés terminaux de la dégradation tissulaire, d'où certains noms peu engageants tels que la cadavérine ou putrescine, les polyamines

⁷⁴ A. E. Pegg ; *Cancer Res.*, **1988**, 48, 759-774.

⁷⁵ H. M. Wallace, A. V. Fraser, A. Hughes ; *Biochem. J.*, **2003**, 376, 1-14.

interviennent surtout au cours des étapes de prolifération et de différenciation cellulaires.⁷⁶

Dans l'organisme, à pH physiologique, les polyamines se protonnent et possèdent ainsi des caractéristiques semblables aux cations inorganiques tels que Ca^{2+} et Mg^{2+} . Cependant, contrairement à ces ions, les charges positives sont distribuées le long de la chaîne aliphatique leur permettant d'interagir spécifiquement avec les composés biologiques chargés négativement. Ainsi les polyamines sont susceptibles de condenser l'ADN. En effet l'agrégation ou la condensation du matériel génétique est important dans la transmission et la protection de l'information génétique.⁷⁷ L'ARN est également un site de fixation des polyamines. Celles-ci stabilisent, par exemple, les acides ribonucléiques de transfert (ARNt), qui interviennent lors de la traduction du génome.⁷⁸

D'autres macromolécules comme les protéines sont aussi la cible d'interaction avec les polyamines. L'albumine du sérum voit sa conformation altérée⁷⁹ tandis que l'activité de certaines kinases est modifiée.⁸⁰ Elles ont aussi de multiples effets sur les récepteurs membranaires tels que les récepteurs au *N*-méthyl-D-aspartate.⁸¹ Les polyamines créent également des interactions électrostatiques avec les composés anioniques et les phospholipides chargés négativement des membranes.⁸²

6-2- Synthèse des polyamines

Devant l'intérêt que suscitent les polyamines, de nombreuses études se sont orientées vers la synthèse de ces molécules et de leurs dérivés afin d'étudier leurs activités biologiques.

Ainsi la synthèse de la spermidine et de ses analogues a été réalisée par Bergeron et coll.⁸³ à partir de la benzylamine (Figure I-39).

⁷⁶ U. Bachrach ; *Amino Acids*, **2004**, 26, 307-309.

⁷⁷ H. Deng, V. A. Bloomfield ; *Biophys. J.*, **1999**, 77, 1556-1561.

⁷⁸ C. O. Fernandez, G. Buldain, K. Samejima ; *Biochim. Biophys. Acta*, **2000**, 1476, 324-330.

⁷⁹ A. Ahmed Ouameur, E. Mangier, S. Diamantoglou, R. Rouillon, R. Carpentier, H. A. Tajmir-Riahi ; *Biopolymers*, **2004**, 73, 503-509.

⁸⁰ H. M. Zhang, J. N. Rao, X. Guo, L. Liu, T. Zou, D. J. Turner, J.-Y. Wang ; *J. Biol. Chem.*, **2004**, 279, 22539-22547.

⁸¹ T. A. Sharma, I. J. Reynolds ; *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1999**, 289, 1041-1047.

⁸² F. Schuber ; *Biochem. J.*, **1989**, 260, 1-10.

⁸³ R. J. Bergeron, P. S. Burton, K. A. McGovern, S. J. Kline ; *Synthesis*, **1981**, 732-733.

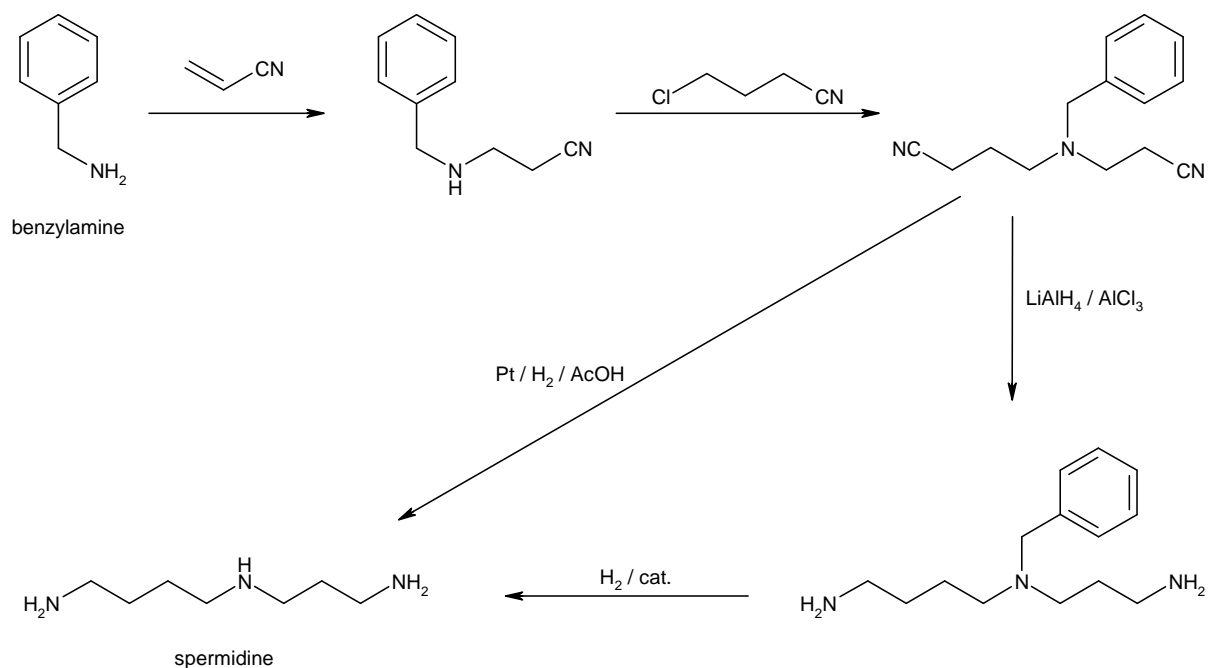


Figure I-39 : Synthèse de la spermidine par Bergeron et coll.⁸³

La synthèse des dérivés polyaminés requiert une attention particulière en ce qui concerne la réactivité des différents azotes. Dans le cas de la spermidine, les deux azotes primaires ne sont théoriquement pas identiques et sont, bien sûr, différents de l'azote secondaire. De nombreux travaux ont ainsi été menés pour fonctionnaliser et protéger les fonctions amines présentes sur les polyamines (Figure I-40).⁸⁴

⁸⁴ R. J. Bergeron, Y. Feng, W. R. Weimar, J. S. McManis, H. Dimova, C. Porter, B. Raisler, O. Phanstiel ; *J. Med. Chem.*, **1997**, 40, 1475-1494.

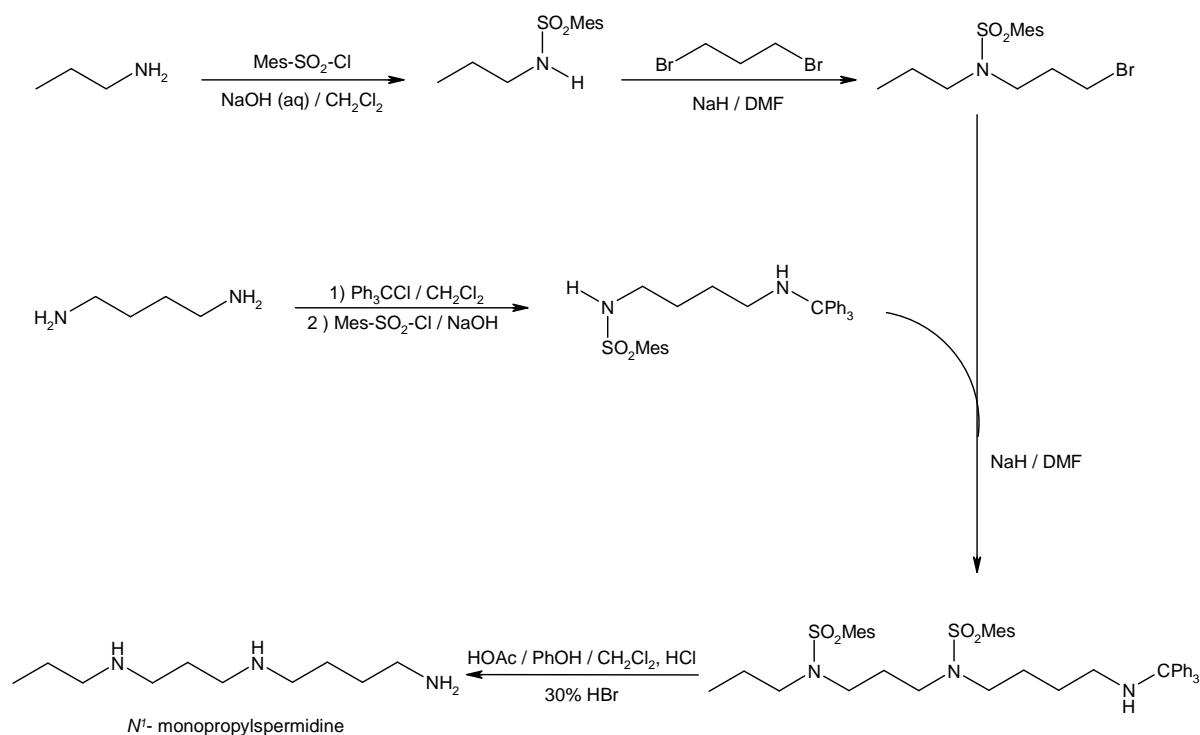


Figure I-40 : Synthèse de polyamine *N*-alkylée.⁸⁴

Les groupements protecteurs couramment utilisés sont le *tert*-butyloxycarbone (Boc) (sous forme de 2-(*tert*-butyloxycarboxyloxyimine)-2-phénylacétonitrile (Boc-ON), Boc_2O ou BocN_3)⁸⁵ ainsi que le trifluoroacétate.⁸⁶ Les fonctions amides formées peuvent être, par la suite, clivées par traitement acide (Boc) ou basique (trifluoroacétate). Par contre, certains groupements sont utilisés pour leur stabilité dans ces conditions acides ou basiques. Le Dde (*N*-1-(4,4-diméthyl-2,6-dioxocyclohexylidène)éthyl) est généralement employé en synthèse sur phase solide. Il se fixe sélectivement sur les fonctions amine primaire et peut-être déprotégé dans des conditions douces telles que l'hydrazine 2% dans le DMF.⁸⁷

Une réaction intéressante d'alkylation des amines primaires terminales a été décrite par van Arman.⁸⁸ Cette réaction de bis-benzilylation ne nécessite pas de protection préalable et ne génère pas de produits secondaires (Figure I-41).

⁸⁵ J. B. Hansen, M. C. Nielsen, U. Ehrbar, O. Buchardt ; *Synthesis*, **1982**, 404-405.

⁸⁶ M. C. O'Sullivan, D. M. Dalrymple ; *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 3451-3452.

⁸⁷ B. Kellam, B. W. Bycroft, S. R. Chhabra, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 4849-4852.

⁸⁸ J. A. Scalfani, M. T. Maranto, T. M. Sisk, S. A. Van Arman ; *J. Org. Chem.*, **1996**, 61,3221-3222.

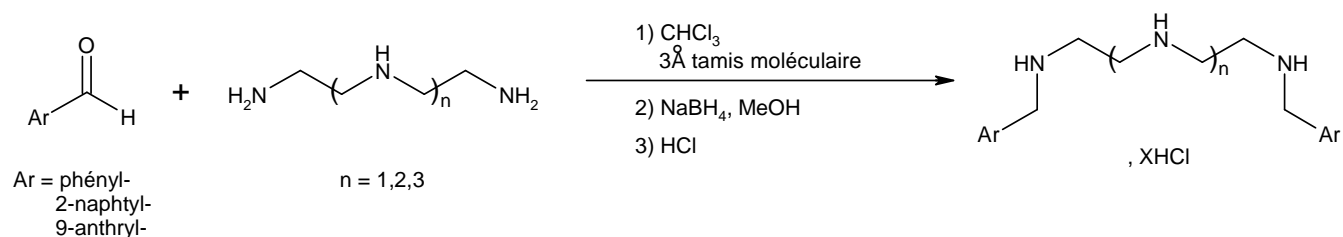
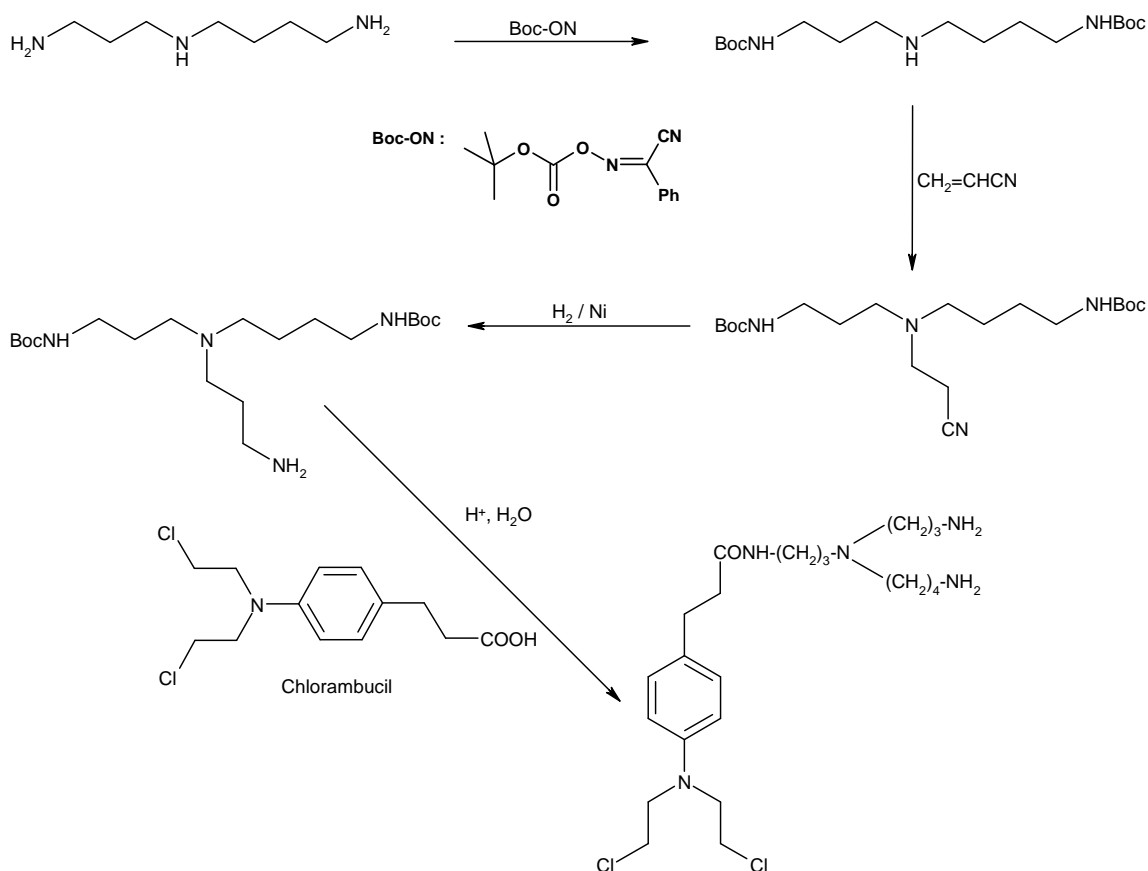


Figure I-41 : Alkylation des amines primaires par la méthode de van Arman.⁸⁸

Généralement la fonctionnalisation de l'azote secondaire est obtenue par une protection/déprotection des amines primaires. Ainsi l'addition de type Michaël des polyamines sur l'acrylonitrile, suivie généralement d'une hydrogénation catalytique du groupement nitrile en présence de Ni, PtO₂ ou LiAlH₄ a été utilisée par Cullis et *coll.*⁸⁹ afin d'obtenir un dérivé de la spermidine comme intermédiaire clé dans la synthèse d'analogue du chlorambucil (Figure I-42).



⁸⁹ G. M. Cohen, P. M. Cullis, J. A. Hartley, A. Mather, M. C. R. Simons, R. T. Wheelhouse ; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 298-300.

Figure I-42 : Synthèse d'analogue du chlorambucil par addition de type Michaël.⁸⁹

Par ailleurs Edward et coll.⁹⁰ ont mis en évidence l'importance de centres chiraux potentiels présents sur les polyamines. Pour cela ils ont synthétisé, par la réaction de Mitsunobu, une tétraamine optiquement active qui s'est révélée particulièrement intéressante pour son potentiel antitumoral (Figure I-43).

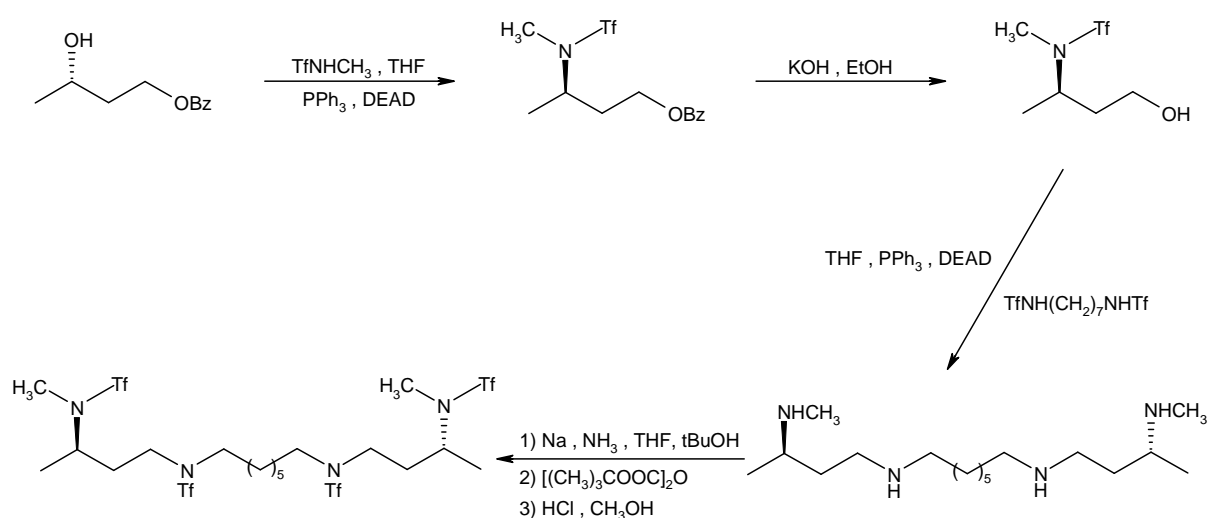


Figure I-43 : Synthèse de tétraamine optiquement active par la réaction de Mitsunobu.⁹⁰

6-3- Métabolisme et fonctions biologiques des polyamines

6-3-1- Métabolisme

La présence des polyamines au sein de l'organisme est essentiellement dûe au métabolisme intracellulaire, à la dégradation bactérienne présente au niveau de la flore intestinale⁹¹ et à un apport exogène (alimentation).⁹² Deux acides aminés sont à l'origine des polyamines : la méthionine et l'ornithine, ce dernier étant issu du cycle de l'urée (Figure I-44). Le cycle des

⁹⁰ M. L. Edwards, D. M. Stemerick, J. R. McCarthy ; *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 3417-3420.

⁹¹ S. Sarhan, B. Knodgen, N. Seiler ; *Anticancer Res.*, **1989**, 9, 215-223.

⁹² S. Bardocz, G. Grant, D. S. Brown, A. Ralph, A. Pusztai ; *J. Nutr. Biochem.*, **1993**, 4, 66-71.

polyamines est également en équilibre avec les autres cycles biochimiques. Ce métabolisme ainsi que la rétroconversion oxydative permet de réguler la concentration des différentes polyamines suivant les besoins de la cellule.

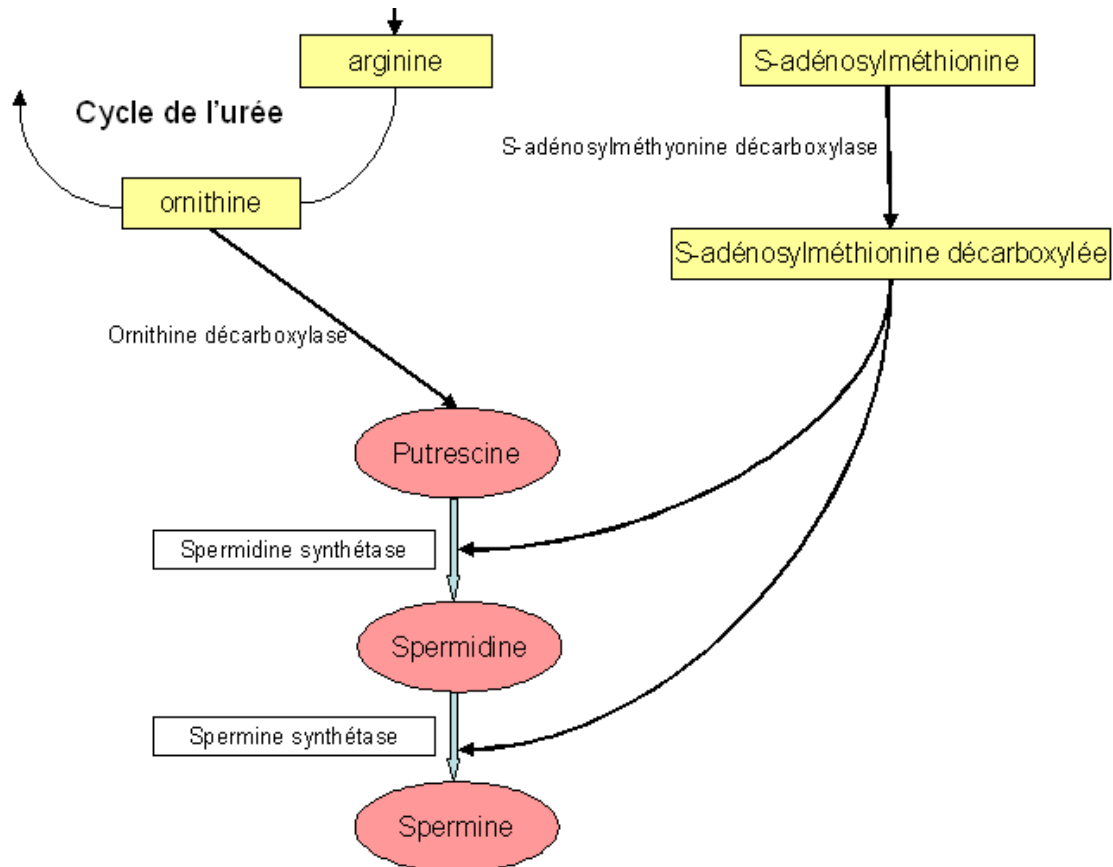


Figure I-44 : Cycle des polyamines.⁹³

6-3-2- Application thérapeutique

L'étude du métabolisme des polyamines met en évidence des cibles prometteuses pour des approches thérapeutiques en cancérologie. En effet, les polyamines sont indispensables à la division cellulaire et leur métabolisme est amplifié dans les cellules tumorales. Ainsi le gène codant l'ornithine décarboxylase est surexprimé dans ces cellules et les enzymes impliquées dans la dégradation des polyamines sont inhibées.⁹⁴ En conséquence, les cellules cancéreuses

⁹³ V. Catros-Quemener, L. Chamailard, F. Bouet ; *médecine/sciences*, **1999**, 15, 1078-1085.

⁹⁴ M. Auvinen, A. Paasinen-Sohns, A. Kangas, L. Kangas, O. Saksela, L. C. Andersson, E. Holttä ; *Cancer Res.*, **1997**, 57, 3016-3025.

disposent d'une concentration en polyamine plus importante que les cellules saines.

Une approche thérapeutique consiste à endiguer la production endogène des polyamines en inhibant les enzymes responsables de la synthèse. Le MGBG (méthylglyoxal-bis(guanyl)hydrazone), par exemple, permet d'inhiber l'adénosylméthionine décarboxylase et de bloquer, de ce fait, une partie de la biosynthèse. Cependant cette molécule induit des effets secondaires indésirables. De plus les cellules cancéreuses s'adaptent aux effets de l'inhibiteur et amplifient l'activité de l'ornithine décarboxylase ; ainsi elles maintiennent un taux en putrescine suffisant pour proliférer. Le DFMO (α -difluorométhylornithine), quant à lui, inactive spécifiquement l'ornithine décarboxylase, stoppant ainsi la production intracellulaire de putrescine, véritable facteur de croissance. Cette approche semble plus adaptée mais, là aussi, les cellules tumorales s'adaptent. Elles puisent alors les polyamines circulant dans le sang, garantissant ainsi un stock suffisant pour la croissance et le fonctionnement cellulaire. De plus les enzymes responsables de la rétroconversion oxydatives permettent d'ajuster les différentes concentrations nécessaires à la prolifération (Figure I-45).

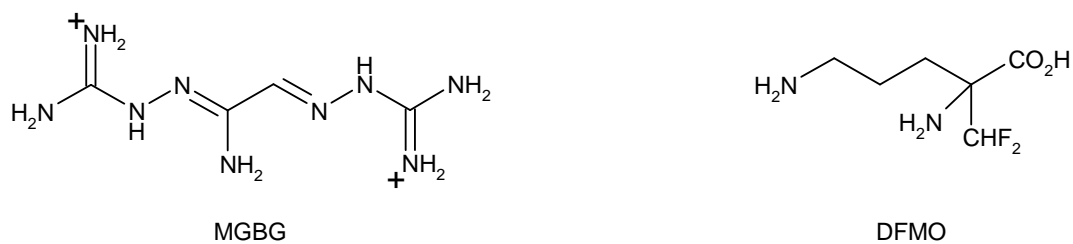


Figure I-45 : Structures d'inhibiteurs du cycle des polyamines.

La thérapie antitumorale semble donc s'orienter vers une combinaison de mesures propres à réduire les différentes sources endogènes et exogènes de polyamines :

destruction partielle de la flore microbienne intestinale par des antibiotiques, le tractus gastro-intestinal étant une source prépondérante des polyamines exogènes.

réduction des apports extérieurs par une alimentation carencée en polyamines.

inhibition de la synthèse intracellulaire.

inhibition des enzymes de rétroconversion.

Cette combinaison permet de réduire la prolifération cellulaire cancéreuse mais, en aucun cas, elle ne réduit la masse tumorale. Cependant ce ralentissement de croissance de la tumeur permet de stimuler les défenses immunitaires⁹⁵ et de réduire la dissémination métastatique.⁹⁶ De plus, cette carence en polyamines, associée à la présence de molécules anticancéreuses, permet d'amplifier l'efficacité de celles-ci et constitue une approche thérapeutique intéressante.⁹⁷ En effet les cellules tumorales possèdent un système de transport des polyamines exogènes caractérisé à la fois par une haute affinité et une faible spécificité. Ainsi de nombreux travaux se sont attachés à fixer des polyamines sur des molécules actives afin d'en améliorer la sélectivité. Les polyamines conjuguées sont reconnues par le système de transport au même titre que les polyamines naturelles. Ainsi, une fois internalisées, les molécules jouent leur rôle anticancéreux. Phanstiel et *coll.*⁹⁸ ont synthétisé plusieurs séries d'acridines et d'anthracènes conjugués à des polyamines. Ces molécules inhibent l'activité des topoisomérases conduisant ainsi à la mort cellulaire. Cohen et *coll.*⁹⁹, quant à eux, ont utilisé les propriétés intercalantes du chlorambucil et la présence des polyamines pour cibler l'ADN (Figure I-46).

⁹⁵ L. Chamaillard, V. Quemener, R. Havouis, J. P. Moulinoux ; *Anticancer Res.*, **1993**, 13, 1027-1033.

⁹⁶ N. Seiler, S. Sarhan, C. Grauffel, R. Jones, B. Knodgen, J. P. Moulinoux ; *Cancer Res.*, **1990**, 50, 5077-5083.

⁹⁷ V. Quemener, J. P. Moulinoux, R. Havouis, N. Seiler ; *Anticancer Res.*, **1992**, 12, 1447-1453.

⁹⁸ O. Phanstiel IV, H. L. Price, L. Wang, J. Juusola, M. Kline, S. M. Shah ; *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 5590-5599.

⁹⁹ J. L. Holley, A. Mather, R. T. Wheelhouse, P. M. Cullis, J. A. Hartley, J. P. Bingham, G. M. Cohen ; *Cancer Res.*, **1992**, 52, 4190-4195.

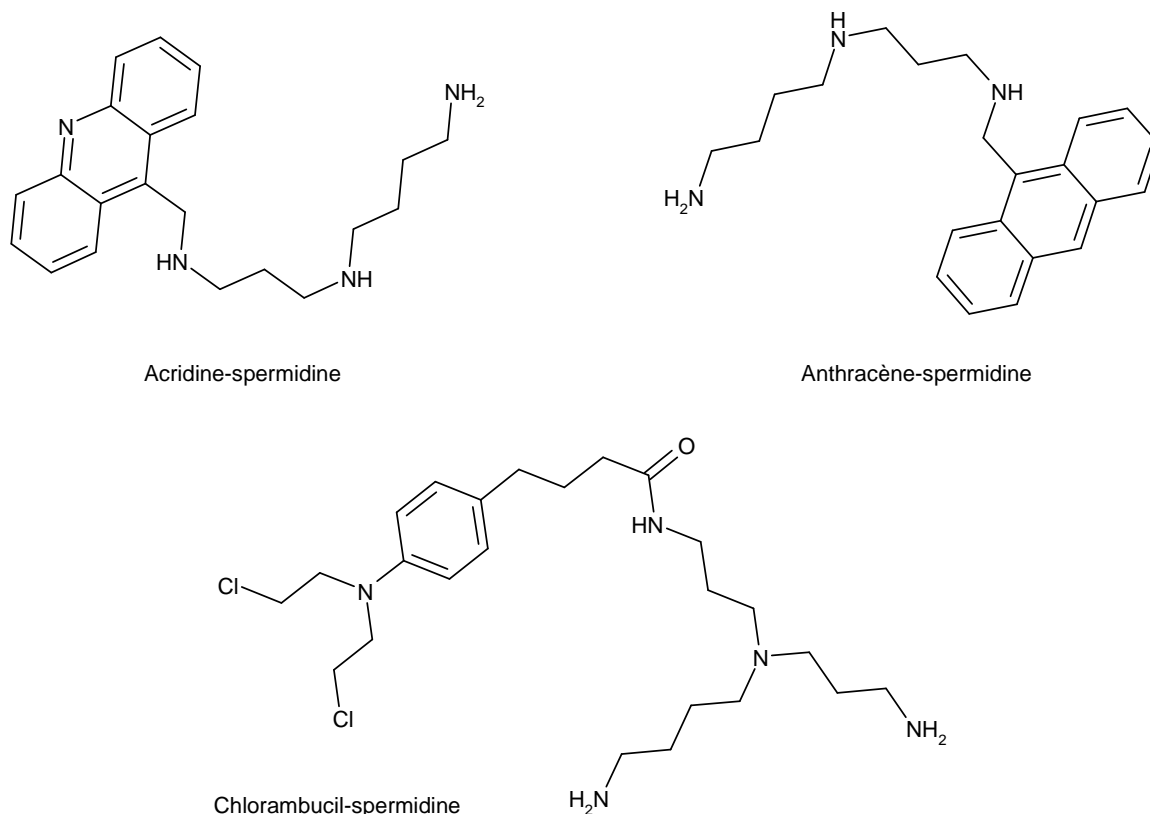


Figure I-46 : Exemples de structures actives conjuguées à des polyamines.

6-3-3- Diagnostic anticancéreux

Les polyamines peuvent aussi jouer un rôle diagnostique de certains cancers.¹⁰⁰ La production des polyamines varie suivant les différents stades du cycle cellulaire. De plus certains médicaments antitumoraux sont spécifiques de certaines de ces phases. L'idée consiste à doser la quantité de polyamines présente dans le sang au niveau des hématies afin de suivre la croissance tumorale et de rythmer en conséquence l'administration des médicaments.¹⁰¹ Il est également possible de voir alors, par le dosage des polyamines, la réponse tumorale à l'administration médicamenteuse.

¹⁰⁰ C. Bergeron, J. Y. Bansard, P. Le Moine, F. Bouet, J. E. Goasguen, J. P. Moulinoux, E. Le Gall, V. Castro-Quemener ; *Leukemia*, **1997**, 11, 31-36.

¹⁰¹ V. Quemener, R. Havouis, N. A. Khan, C. Martin, F. Bouet, J. P. Moulinoux ; *Anticancer Res.*, **1995**, 15, 2517-2522.

7- But du travail

Compte tenu du rôle important des polyamines pour le ciblage des cellules cancéreuses, nous avons pensé que la fixation de telles structures sur des photosensibilisateurs devrait assurer la reconnaissance des tumeurs cancéreuses, réduisant ainsi les problèmes liés au manque relatif de sélectivité qui caractérise la plupart des porphyrines actuellement développées.

Sur la base de tous ces résultats, nous avons développé, au Laboratoire, la synthèse de porphyrines et des chlorines portant deux ou quatre motifs polyaminés (Figure I-47).

Afin d'optimiser le ciblage des cellules cancéreuses, via le système de transport des polyamines ou l'interaction avec l'ADN, plusieurs caractéristiques semblent nécessaires dont une distance appropriée entre les deux fonctions amine primaire pour permettre la fixation d'une chaîne flexible de quatre carbones sur les polyamines, ceci afin de favoriser le transport de ces molécules ainsi qu'un minimum de trois charges positives afin d'assurer l'affinité avec l'ADN.¹⁰²

Avec la spermidine et la spermine, la fixation d'un bras espaceur en position N^4 permet de renforcer le caractère basique de l'azote central et, de ce fait, d'améliorer son incorporation cellulaire.¹⁰³ De plus, la chaîne aliphatique renforce le caractère amphiphile des complexes synthétisés et permet d'éloigner le macrocycle du vecteur afin de faciliter le contact avec les récepteurs cellulaires.

Du fait de la présence d'une bande d'absorption plus intense vers 650 nm, la formation de chlorines de synthèse permet l'utilisation de ces complexes photosensibilisateurs-polyamines dans le traitement de cancers plus profonds.

Comme nous l'avons évoqué précédemment, le dérivé de l'hématoporphyrine (HpD) appelé Photofrin[®] a été l'un des premiers photosensibilisateurs utilisés en photothérapie dynamique. De nombreux travaux se sont intéressés à la composition de ce mélange, notamment par la synthèse de dimères porphyriniques.¹⁰⁴ Cependant devant le peu d'études relatant la synthèse d'oligomères, nous nous sommes intéressés à la formation de deux trimères composés de trois

¹⁰² C. W. Porter, J. Miller, R. J. Bergeron ; *Cancer Res.*, **1984**, 44, 126-128.

¹⁰³ J. L. Holley, A. Mather, R. T. Wheelhouse, P. M. Cullis, J. A. Hartley, J. P. Bingham, G. M. Cohen ; *Cancer Res.*, **1992**, 52, 4190-4195.

¹⁰⁴ M. A. F. Faustino, M. G. P. M. S. Neves, M. G. H. Vicente, J. A. S. Cavaleiro, M. Neumann, H.-D. Brauer, G. Jori ; *Photochem. Photobiol.*, **1997**, 66, 405-412.

unités porphyriniques ou deux unités porphyrines et une unité chlorine (Figure I-48).

Enfin, nous avons mentionné précédemment que l'ADN est une cible cellulaire des polyamines. Des tests ont donc été ainsi réalisés sur les porphyrines et les chlorines polyaminées. Nous avons, tout d'abord, essayé de montrer, par spectroscopie UV-visible, l'interaction des composés synthétisés avec l'ADN. Puis le potentiel photocytotoxique des molécules a été mis en évidence par des expériences de photoclivage de l'ADN en présence d'une source lumineuse.

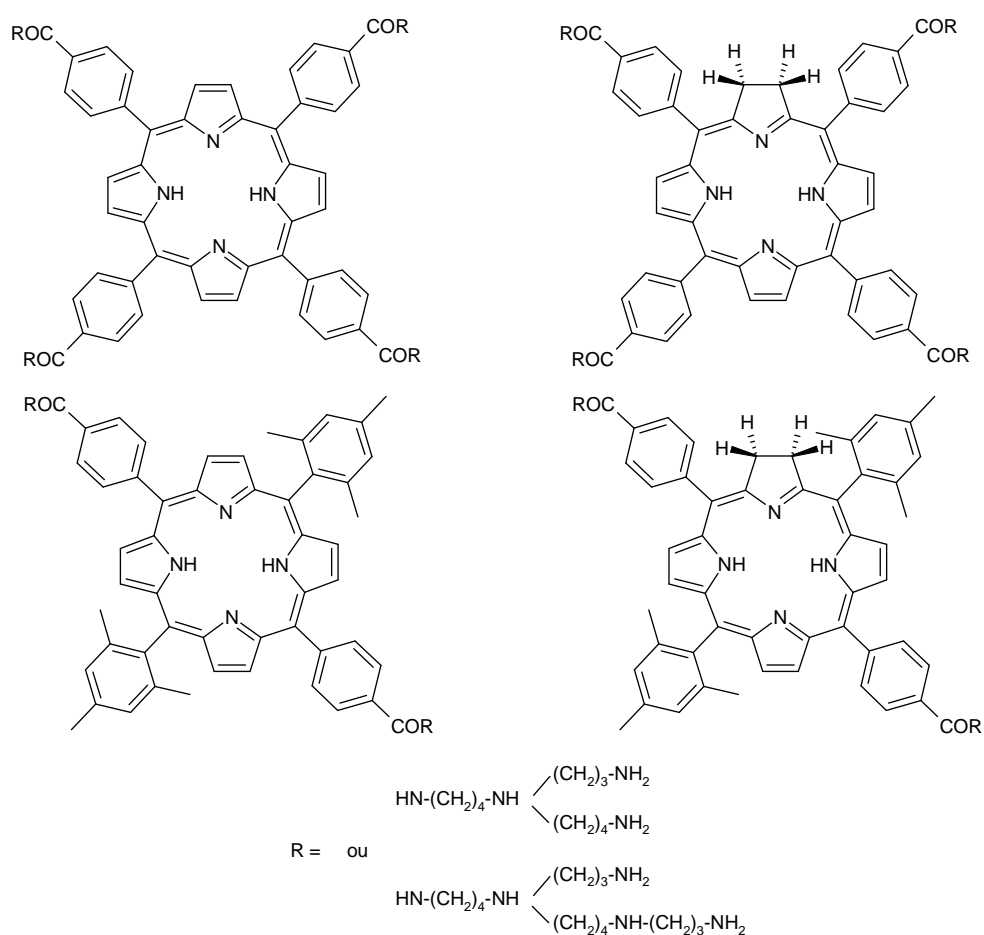


Figure I-47 : Structures de composés finals synthétisés au cours de ce travail.

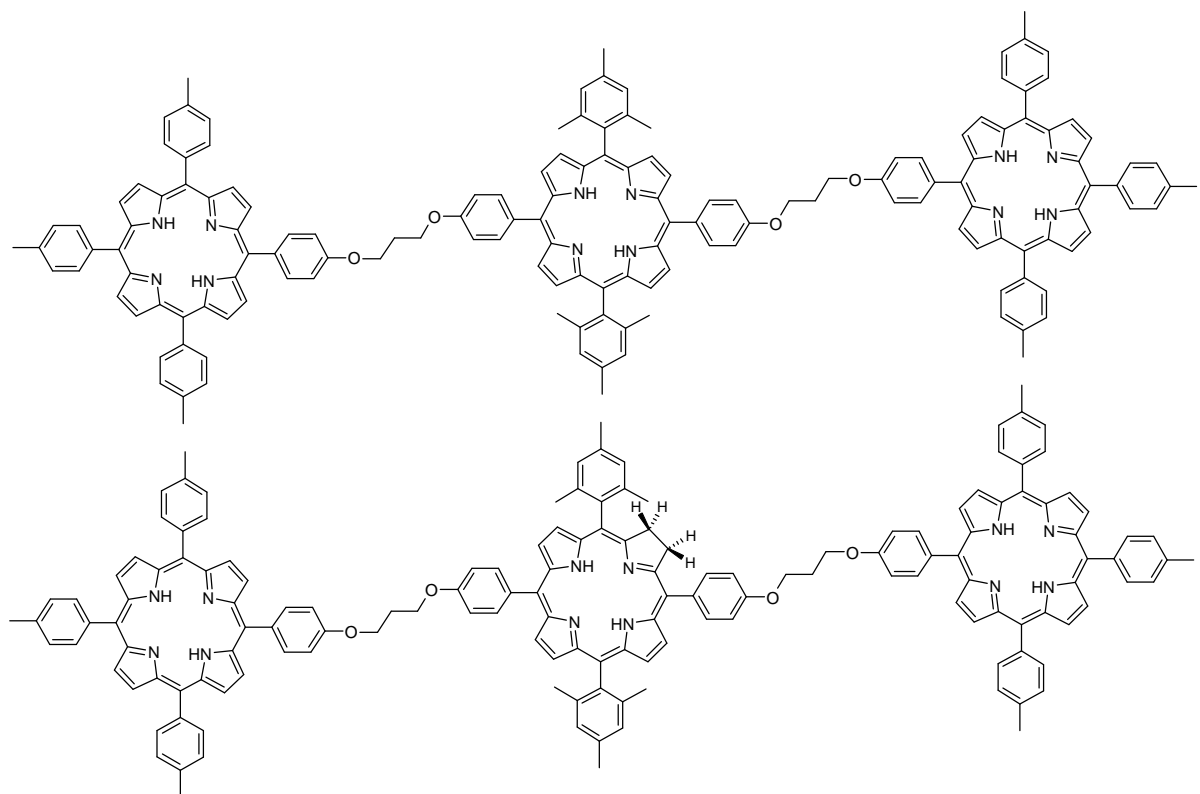


Figure I-48 : Structures de composés finals synthétisés au cours de ce travail.

CHAPITRE II :

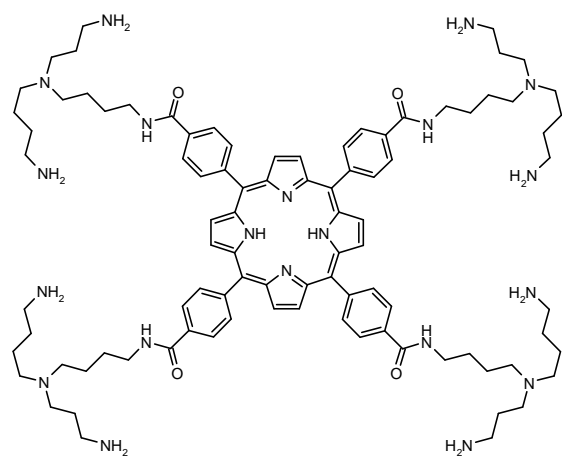
SYNTHESE DE PORPHYRINES ET CHLORINES TETRAPOLYAMINEES

Chapitre II

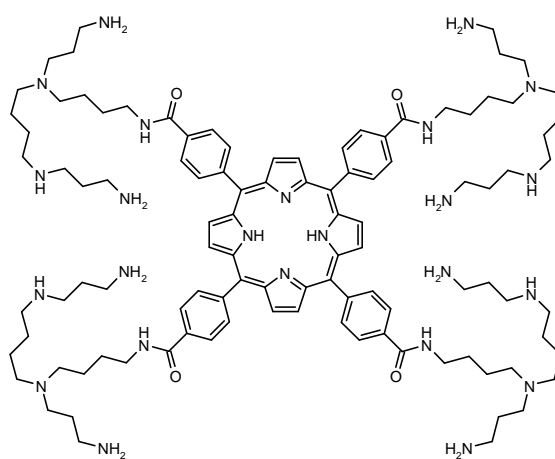
Synthèse de porphyrines et chlorines tétrapolyaminées

1- Introduction

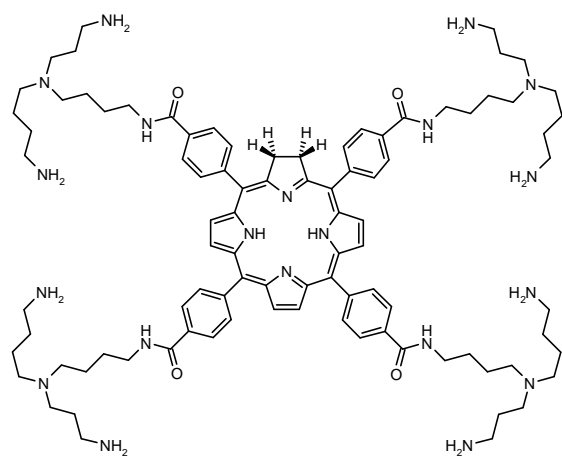
Nous avons réalisé, dans un premier temps, la synthèse de porphyrines et de chlorines portant quatre motifs spermidine ou spermine, les deux éléments étant séparés par un bras espaceur (Figure II-1). Dans ce but, nous avons tout d'abord synthétisé des précurseurs de ces deux polyamines portant chacun une chaîne alkylée. Après fixation de ces précurseurs sur les tétracarboxyphénylporphyrines et formation des chlorines correspondantes, les quatre photosensibilisateurs attendus ont été obtenus.



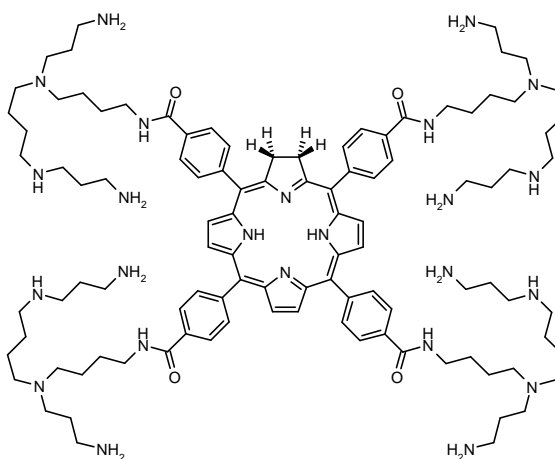
12a



12b



14a



14b

Figure II-1 : Porphyrines et chlorines tétrapolyaminées synthétisées.

2- Stratégie de synthèse

Les étapes de synthèse sont représentées sur le schéma rétrosynthétique de la figure II-2. Les synthons clefs sont des carboxyphénylporphyrines formées par condensation du pyrrole sur le carboxybenzaldéhyde ainsi que les précurseurs polyaminés. Après fixation d'une chaîne alkyle sur la spermidine et la spermine, les précurseurs polyaminés sont couplés aux porphyrines. Les molécules obtenues sont alors réduites en chlorines. Les composés finaux **12a,b** et **14a,b** sont isolés après déprotection des fonctions amine primaire des polyamines.

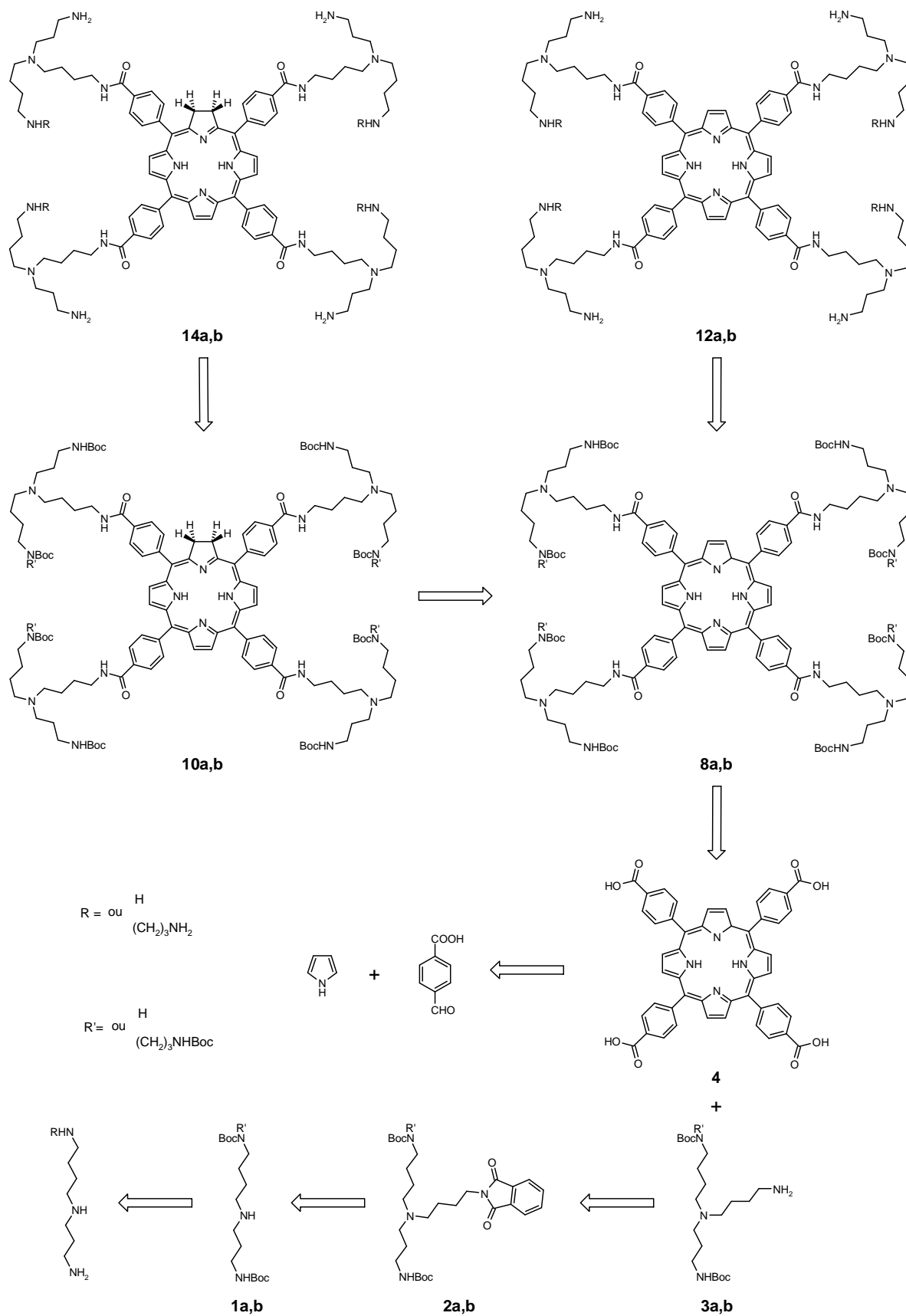


Figure II-2 : Schéma rétrosynthétique.

3- Synthèse des précurseurs polyaminés

3-1- Généralités

La synthèse des précurseurs polyaminés **3a,b** se déroule en trois étapes à partir de la spermidine et de la spermine (Figure II-3).

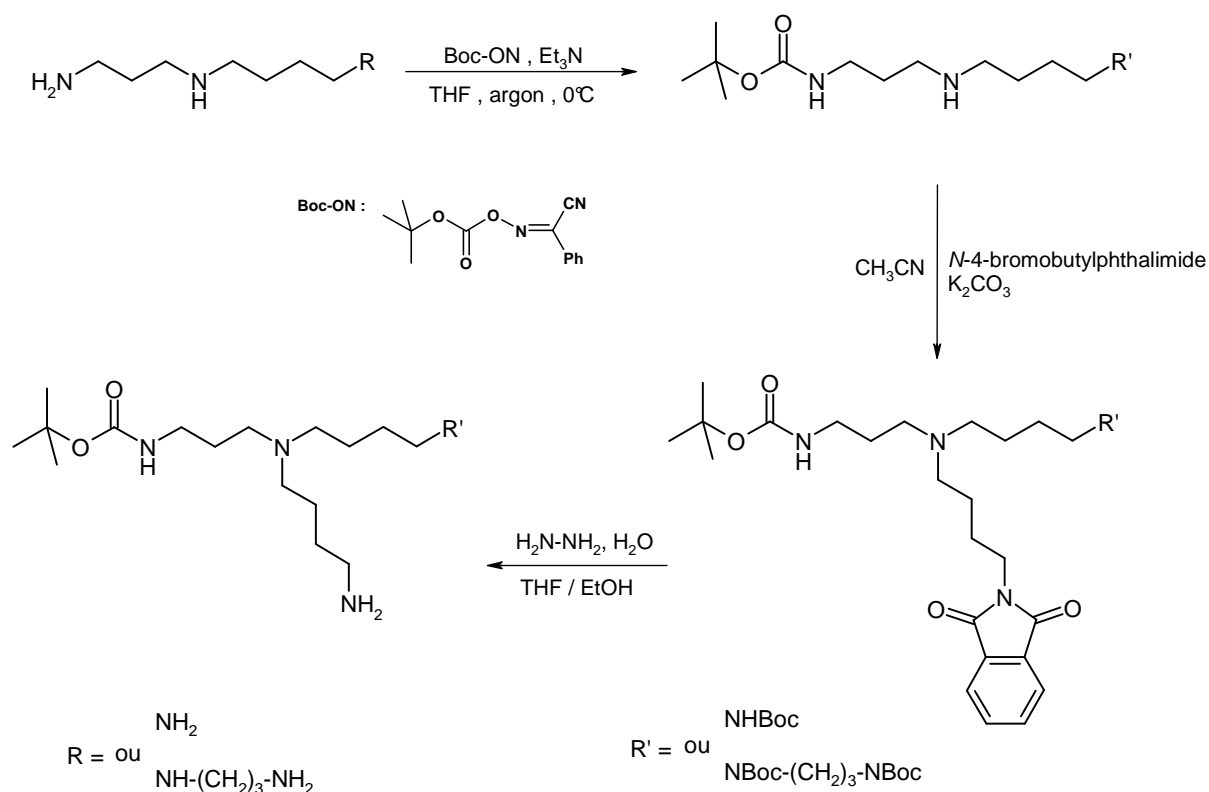


Figure II-3 : Schéma général de la synthèse du précurseur polyaminé.

3-2- Synthèse de la spermidineBoc₂ et de la spermineBoc₃ **1a,b**

Pour réaliser la protection des polyamines par le groupement tert-butyloxycarbonyle (Boc)⁸², nous avons utilisé le 2-(tert-butyloxycarbonyloxyimine)-2-phénylacétonitrile (Boc-ON). Celui-ci possède la particularité d'être facilement éliminé en milieu acide.¹⁰⁵ La suite des synthèses se déroulant en milieu basique ou neutre, ce groupement restera présent jusqu'à la

¹⁰⁵ I. Levchine, P. Kajan, M. Borloo, W. Bollaert, A. Haemers ; *Synthesis*, **1994**, 1, 37-39.

dernière étape.

Le Boc-ON est introduit dans des conditions stœchiométriques afin de protéger préférentiellement les fonctions amine primaire pour la spermidine et les deux fonctions amine primaire et une amine secondaire pour la spermine (Figure II-4). De plus la réactivité des fonctions amine primaire, plus importante que celle des fonctions amine secondaire, permet de limiter la formation de composés non souhaités. Les réactions se déroulent dans le THF anhydre à 0°C pendant 18 heures. La spermidineBoc₂ **1a** et la spermineBoc₃ **1b** sont obtenues, après purification, avec des rendements respectifs de 67% et 62%. Les données physiques de ces produits sont conformes à celles de la littérature.¹⁰⁶

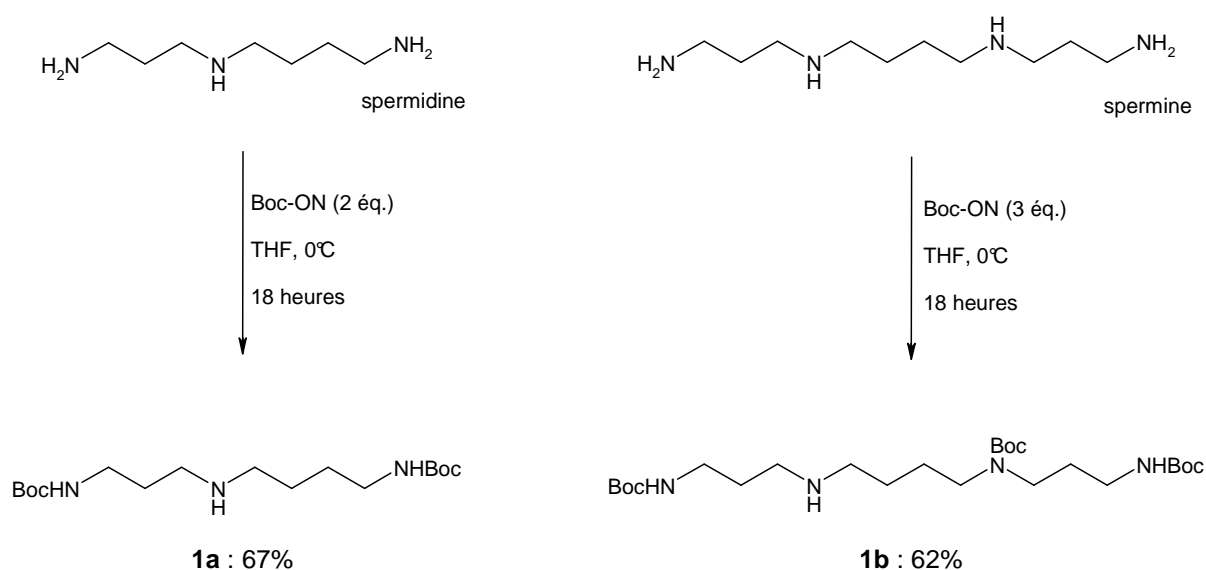


Figure II-4 : Protection des polyamines par le Boc-ON.

3-3- Fixation du *N*-(4-bromobutyl)phtalimide

L'alkylation de la spermidineBoc₂ et de la spermineBoc₃ est réalisée par le *N*-(4-bromobutyl)phtalimide par une substitution nucléophile. Cette réaction s'effectue dans l'acétonitrile anhydre en présence de K₂CO₃.¹⁰⁷ Cette base faible permet de neutraliser l'acide bromhydrique formé en fin de réaction. Après purification, les composés **2a** et **2b** sont

¹⁰⁶ V. Sol, F. Lamarche, M. Enache, G. Garcia, M. Guilloton, R. Granet, P. Krausz ; *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 1364-1377.

¹⁰⁷ P. P. Kung, R. Bharadwaj, A. S. Fraser, D. R. Cook, A. M. Kawasaki, P. D. Cook ; *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 1846-1852.

obtenus avec des rendements respectifs de 90% et 91% (Figure II-5).

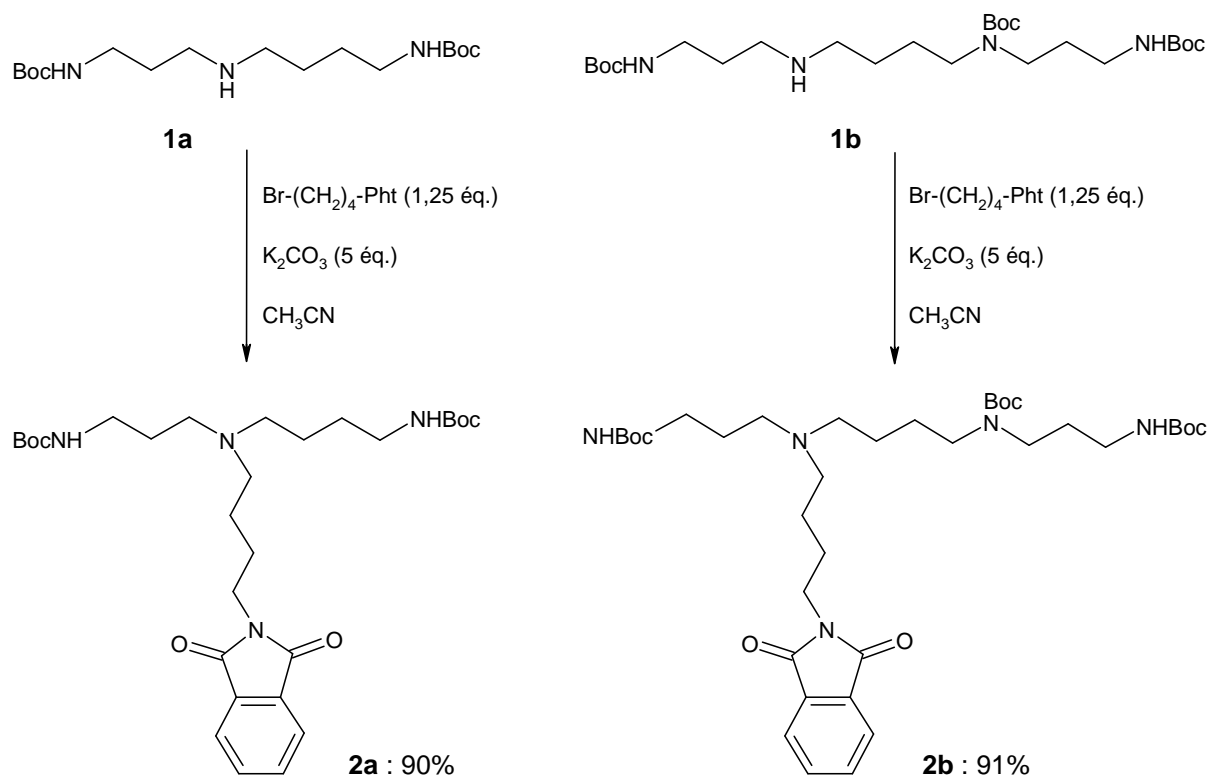


Figure II-5 : Fixation d'un bras à quatre carbonnes sur les polyamines.

L'analyse spectroscopique IR, RMN du proton, du carbone 13 ainsi que la spectrométrie de masse haute résolution a permis de confirmer la structure des produits formés.

3-4- Déprotection du groupement phtalimide

La déprotection du benzène 1,2-dicarbodiimide *N*-alkylé (phtalimide *N*-alkylé) est très souvent réalisée par l'hydrazine.¹⁰⁸ Cette molécule agit selon un mécanisme en deux étapes. Une molécule d'hydrazine réagit, tout d'abord, sur un des carbonyles du phtalimide puis il se produit une élimination intramoléculaire. Les produits résultant de cette réaction sont le phtalhydrazide et l'amine primaire alkylée. La figure II-6 présente le mécanisme de déprotection du groupement phtalimide par l'hydrazine monohydrate.

¹⁰⁸ R. Sundaramoorthi, C. Marazano, J. L. Fourrey, B. C. Das ; *Tetrahedron Lett.*, **1984**, 25, 3191-3194.

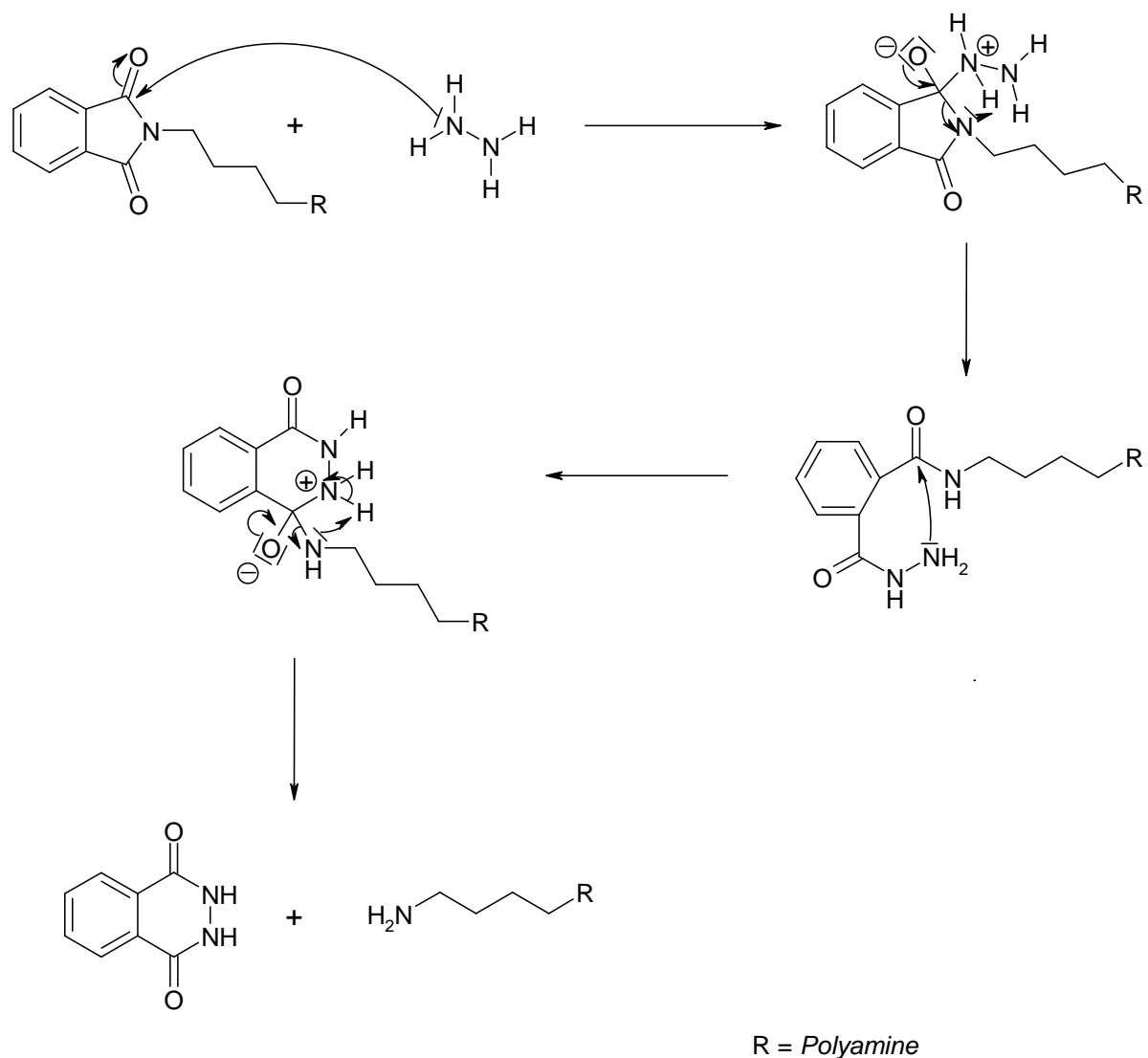


Figure II-6 : Mécanisme de déprotection du groupement phtalimide.

Ici, la réaction d'hydrazinolyse est réalisée en additionnant un large excès d'hydrazine monohydrate (Figure II-7). Après purification, les composés souhaités sont isolés avec des rendements respectifs de 83% et 82%.

La structure des produits a été confirmée par spectroscopie IR, RMN du proton, RMN du carbone 13 et spectrométrie de masse haute résolution.

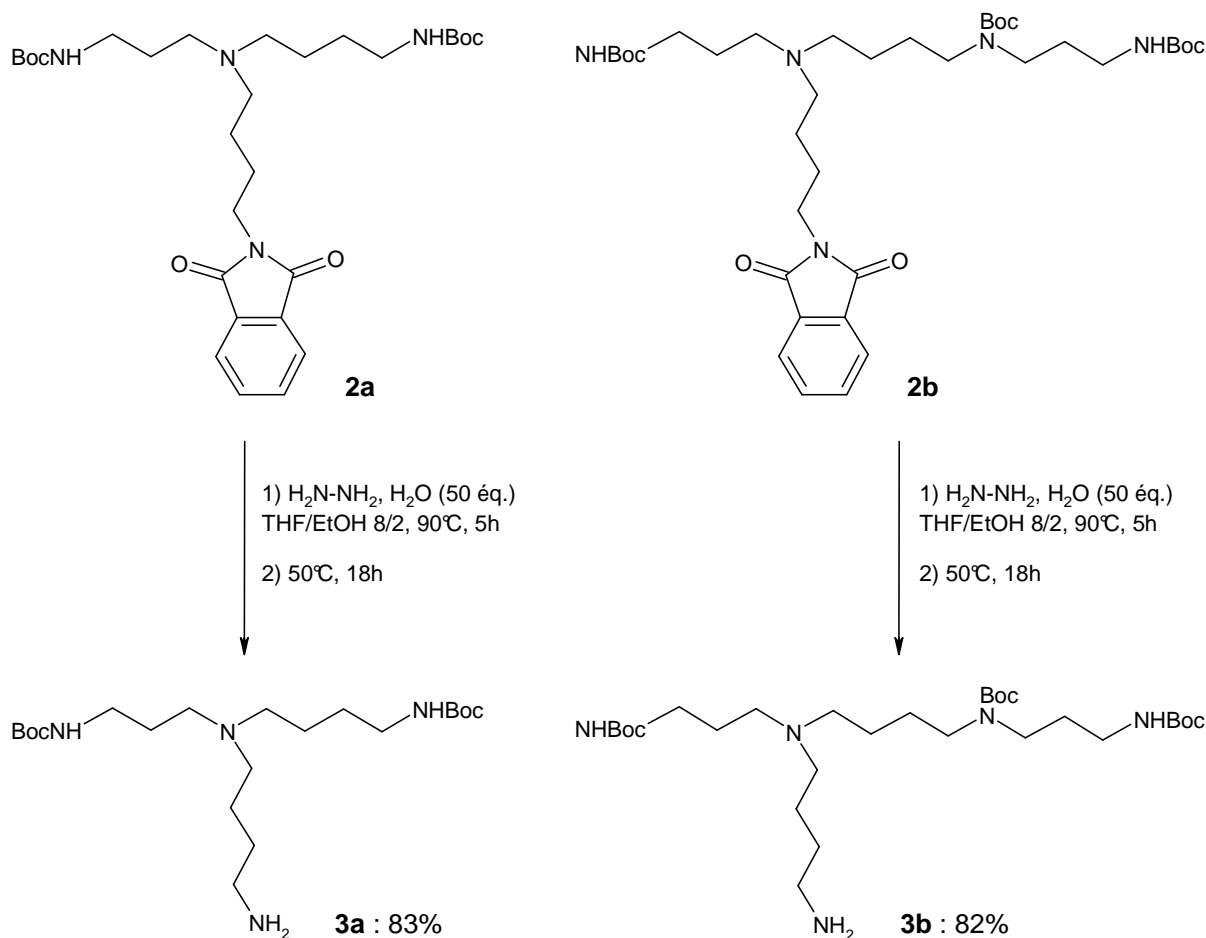


Figure II-7 : Synthèse des précurseurs polyaminés terminaux.

4- Elaboration des porphyrines tétrapolyaminées

La fixation de quatre unités polyaminées (spermidine ou spermine) à été réalisée sur la tétra(carboxyphényl)porphyrine commerciale 4 en s'appuyant sur des réactifs utilisés en synthèse peptidique. L'activation des fonctions acides carboxyliques de la porphyrine est réalisée en présence du dicyclohexylcarbodiimide (DCC). Le composé activé, mis en présence du 1-hydroxybenzotriazole (HOBt), permet de substituer l'anhydride formé par un excellent groupe partant (Figure II-8). Dans la littérature ce même ester peut être également obtenu par l'action de l'hexafluorophosphate de benzotriazoloyloxy-tri-(diméthylamino)phosphonium, BOP ou bien encore par le PyBOP® (l'hexafluorophosphate de benzotriazoloyloxy-tri(pyrrolidino)phosphonium) avec des rendements similaires.^{109,110}

¹⁰⁹ B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin, C. Selve ; *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 14, 1219-1222.

¹¹⁰ J. Coste, D. Le-Nguyen, B. Castro ; *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 205-208.

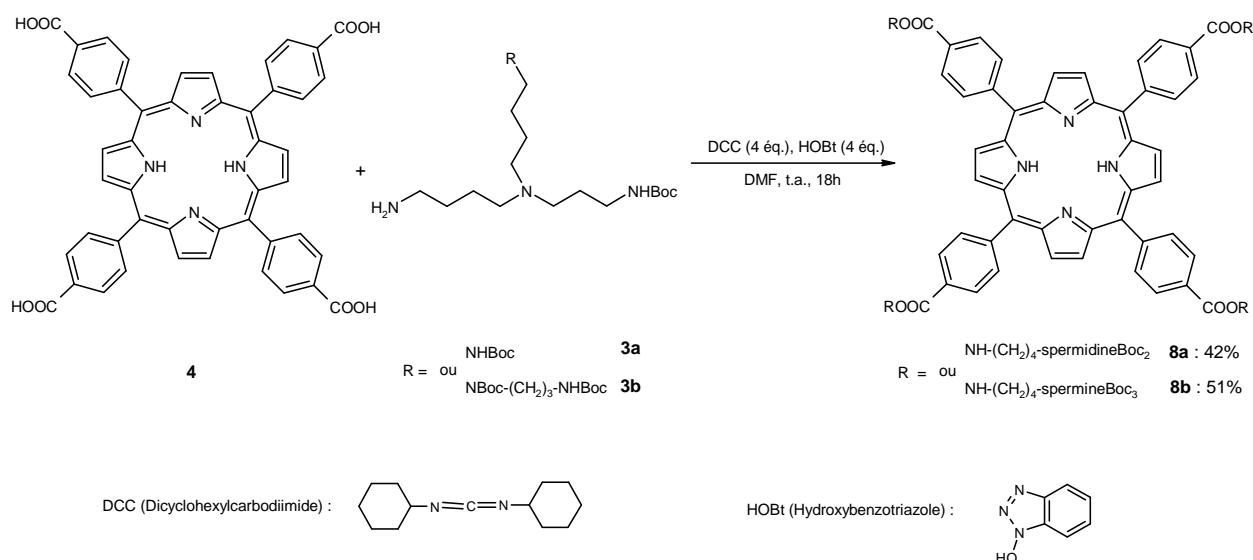


Figure II-8 : Fixation des précurseurs polyaminés sur la porphyrine.

La méthode consiste à faire réagir, dans le DMF à température ambiante, la porphyrine en présence de 4,4 équivalents de DCC et 4,4 équivalents de HOBT. Nous rajoutons ensuite 4,4 équivalents de précurseurs polyaminés. Il en résulte alors la substitution du groupe partant par le nucléophile **3a** ou **3b** grâce à une séquence d'addition-élimination.

Les meilleurs résultats ont été obtenus au bout de 18 heures de réaction. Après filtration du dérivé de l'urée formé à partir du DCC et purification, les porphyrines tétraspermidine et tétraspermine **8a** et **8b** sont obtenues avec des rendements respectifs de 42% et 51%. Ces rendements sont conformes à ceux obtenus préalablement dans notre laboratoire pour des composés similaires.

La figure II-9 présente le mécanisme classique de l'activation par le système DCC/ HOBT. L'addition de l'acide carboxylique sur la double liaison C=N du DCC conduit à la formation d'une O-acylisourée **A**. Cette dernière réagit ensuite rapidement avec le HOBT (très bon nucléophile) afin de former un ester très réactif **B** qui sera capable de réagir avec la fonction amine primaire du précurseur polyaminé.

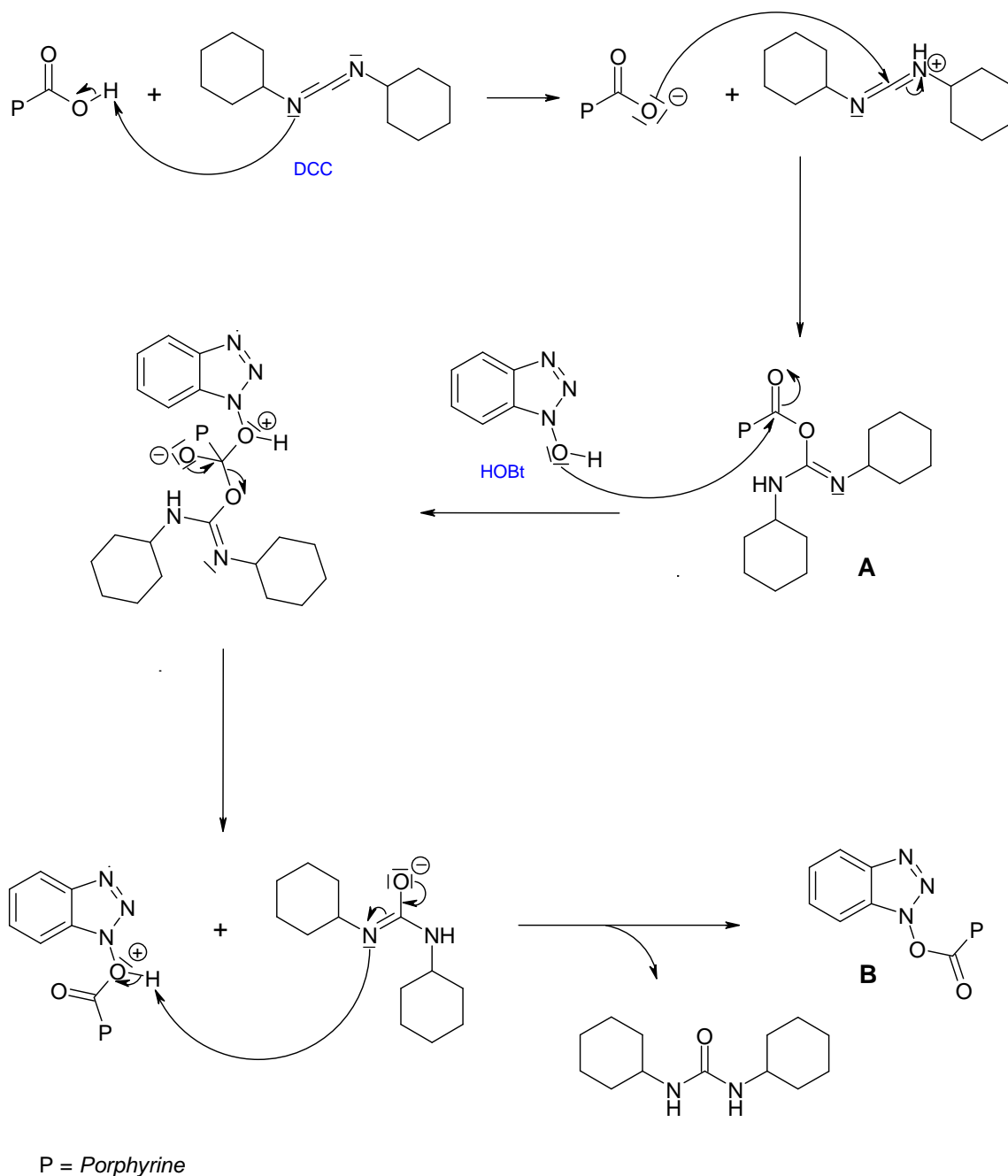


Figure II-9 : Mécanisme d'activation par le système DCC/ HOBt.

5- Synthèse des chlorines tétrapolyaminées

L'utilisation de l'hydrazine comme agent d'hydrogénation d'une liaison carbone-carbone insaturée a été décrite, la première fois, par Hanus et Vorisek.¹¹¹ Leurs travaux portaient sur la réduction de l'acide oléique en acide stéarique. En 1941, Fischer est parvenu à réduire

¹¹¹ J. Hanus, J. Vorisek ; *Coll. Czech. Chem. Comm.*, **1929**, 1, 223-227.

sélectivement des groupements vinyle, présents sur des porphyrines et des chlorines, en groupements éthyle grâce à l'hydrazine.¹¹² Différents travaux ont ainsi été réalisés en utilisant ce réactif comme agent d'hydrogénation et notamment la réduction d'oléfines acycliques en présence d'oxygène.¹¹³ Ce n'est qu'en 1961 que la nature et le mécanisme de cette réduction particulière ont été découverts par Corey et *coll.*¹¹⁴ qui ont montré l'existence d'un intermédiaire réactif entre l'hydrazine et le produit final de son oxydation : le diimide. Lors du passage d'une décharge électrique à travers un courant d'hydrazine ou de vapeurs d'acide hydrazoïque, Foner et Hudson¹¹⁵ sont parvenus à analyser, par spectrométrie de masse, le diimide sous forme gazeuse. Le mécanisme, quant à lui, de l'hydrogénation d'une double liaison par le diimide est défini par Corey¹¹⁶ comme une cycloaddition *syn*. Il en résulte un mécanisme concerté orchestré par les deux hydrogènes en position *cis* du diimide (Figure II-10).

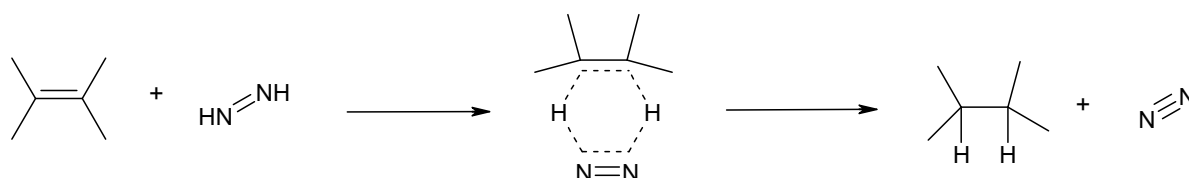


Figure II-10 : Mécanisme de réduction par le diimide.¹¹⁴

La réduction d'une double liaison, appliquée aux porphyrines, a permis à Whitlock¹¹⁷ de synthétiser des chlorines et des bactérochlorines à partir de la tétraphénylporphyrine et de l'octaéthylporphyrine. Il a utilisé, pour cela, un précurseur de diimide : le *para*-toluènesulfonylhydrazide. Il est généralement connu que la décomposition thermique d'arènesulfonylhydrazide produit le réactif azoté (diimide) responsable de l'hydrogénation. (Figure II-11).

¹¹² H. Fischer, H. Gibian ; *Liebig Ann.*, **1941**, 548, 183-184.

¹¹³ F. Aylward, M. Sawistowska ; *Chem & Ind.*, **1961**, 402, 433-434.

¹¹⁴ E. J. Corey, W. L. Mock, D. J. Pasto ; *Tetrahedron Lett.*, **1961**, 11, 347-352.

¹¹⁵ S. N. Foner, R. L. Hudson ; *J. Chem. Phys.*, **1958**, 28, 719-720.

¹¹⁶ E. J. Corey, D. J. Pasto, W. L. Mock ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, 83, 2957-2958.

¹¹⁷ H. W. Whitlock Jr., R. Hanauer, M. Y. Oester, B. K. Bower ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91, 7485-7489.

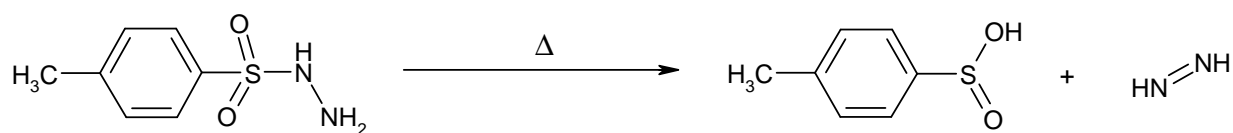


Figure II-11 : Décomposition thermique d'arènesulfonylhydrazide.

Pour la réduction des porphyrines **8a,b**, la réaction d'hydrogénation est réalisée dans la pyridine, sous atmosphère inerte et à 104°C en présence de carbonate de potassium (Figure II-12). Cette base faible est employée pour neutraliser l'acide sulfinique formé lors de la décomposition thermique de l'agent réducteur. Le *para*-toluènesulfonylhydrazide est utilisé en excès afin d'effectuer une réduction poussée du macrocycle jusqu'à l'obtention de la bactériochlorine. Le mélange est ensuite oxydé par l'*ortho*-chloranil jusqu'à formation complète de chlore dans le milieu. Au cours de la réaction nous observons la disparition du pic caractéristique de la bactériochlorine (743 nm) et l'apparition du pic de la chlorine (652 nm).

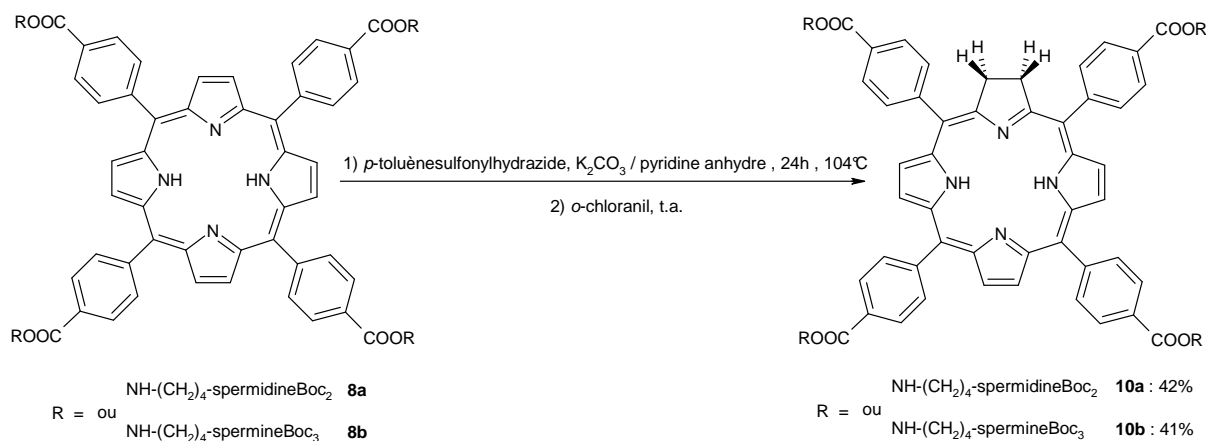


Figure II-12 : Formation des chlorines **10a** et **10b**.

Après 24 heures de réaction puis purification, les deux chlorines tétrapolyaminées **10a** et **10b** sont obtenues avec des rendements respectifs de 42% et 41%.

6- Déprotection des porphyrines et des chlorines tétrapolyaminées

La dernière étape consiste à éliminer le groupement protecteur Boc afin de libérer les fonctions amines primaires. La liaison amide présente entre l'azote de la polyamine et la fonction carbonyle du Boc est très sensible à l'hydrolyse acide par le TFA. Les produits protégés sont placés, à température ambiante, dans un mélange dichlorométhane/ acide trifluoroacétique 8/2 (Figure II-13). Quelque soit le macrocycle et la polyamine fixée, une hydrolyse acide de 2 heures est suffisante pour assurer une déprotection complète du groupement Boc.

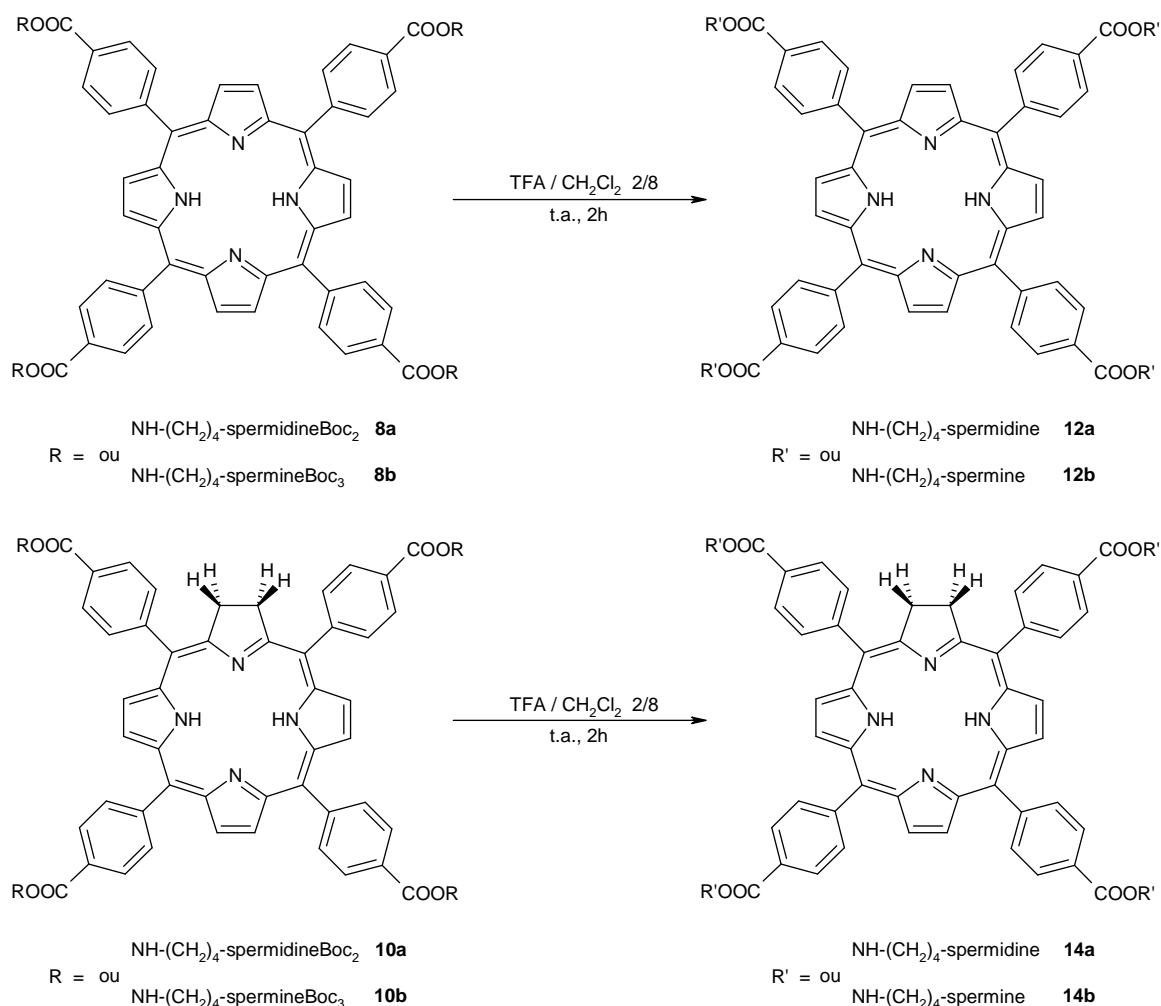


Figure II-13: Déprotection des fonctions amines.

Après évaporation de l'acide trifluoroacétique et neutralisation par résine basique, les composés déprotégés sont obtenus avec des rendements quasi quantitatifs. Ces composés sont solubles dans l'eau.

7- Caractérisations

L'ensemble des porphyrines et chlorines synthétisées a été caractérisé par spectroscopie UV-visible et spectroscopie de masse. Une étude par spectroscopie RMN du proton de tous les macrocycles a également été réalisée.

7-1- Spectroscopie UV-visible

Le spectre du composé **4** est mesuré dans le DMF et ceux des composés tétrapolyaminés protégés sont réalisés dans le dichlorométhane. Les spectres des produits déprotégés, quant à eux, ont été déterminés dans le méthanol et dans l'eau.

Les spectres des porphyrines bases libres sont de type *etio* et présentent une forte bande de Soret vers 420 nm, et quatre autres bandes d'intensité plus faible vers 516, 551, 590 et 646 nm, notées respectivement QIV, QIII, QII, QI. Nous donnons à titre d'exemple le spectre de la porphyrine tétraspermidine déprotégée **12a** (Figure II-14).

Les spectres des chlorines tétrapolyaminées sont comparables aux spectres attendus pour de telles structures et présentent, par rapport aux porphyrines, une bande QI beaucoup plus intense et déplacée vers le rouge (652 nm) (Tableau II-1).

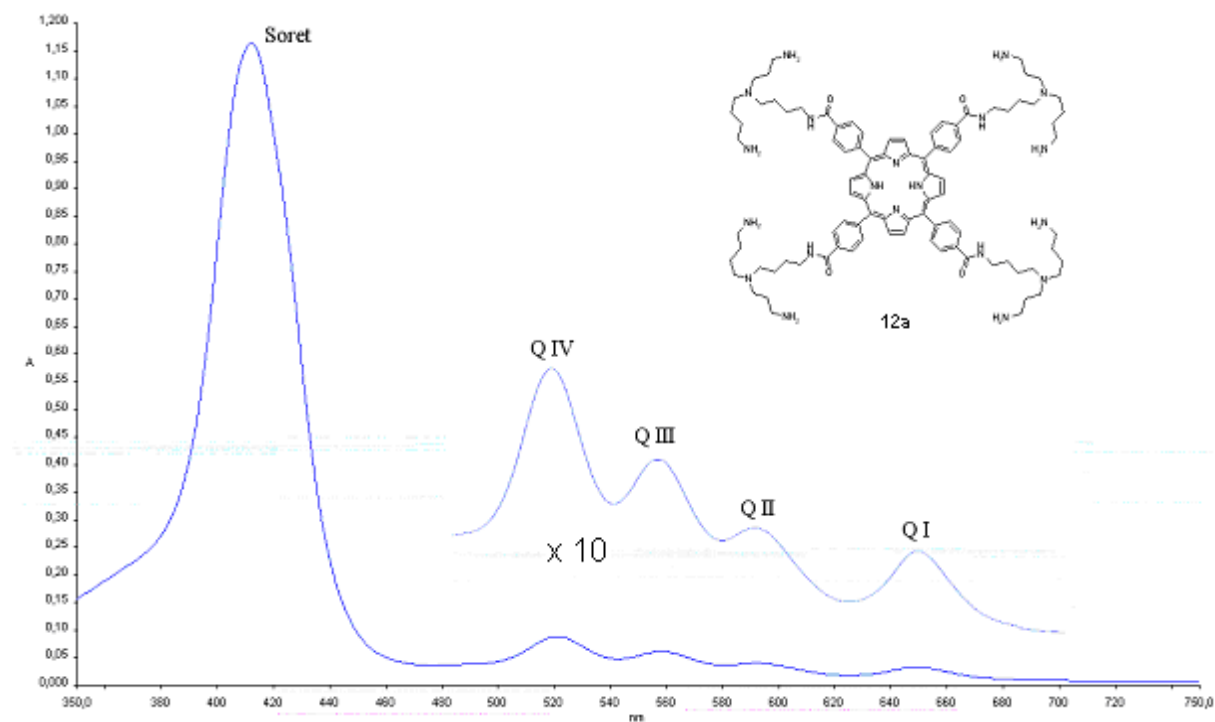


Figure II-14 : Spectre UV-visible du composé **12a** dans le méthanol.

Tableau II-1 : Bandes caractéristiques des spectres UV-visible des composés **4** - **8a,b** - **10a,b** - **12a,b** et **14a,b**. λ_{max} (nm) [coefficient d'absorption ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$)], à 20°C, (a : dans le DMF, b : dans le dichlorométhane, c : dans le méthanol, d : dans l'eau).

Composés	Bande de Soret	Q IV	Q III	Q II	Q I
4^a	422 (334,4)	513 (19,3)	546 (9,8)	588 (7,6)	644 (6,1)
8a^b	419 (307,1)	515 (13,5)	550 (6,4)	590 (4,0)	646 (3,0)
8b^b	419 (266,8)	516 (14,1)	551 (6,9)	591 (4,4)	646 (3,6)
10a^b	421 (149,7)	519 (11,2)	546 (9,3)	599 (5,2)	652 (20,2)
10b^b	420 (194,7)	518 (10,3)	548 (7,6)	597 (4,0)	652 (16,0)
12a^c	416 (230,6)	513 (8,7)	549 (7,2)	593 (3,6)	645 (1,8)
12a^d	412 (142,4)	519 (7,3)	556 (4,3)	585 (2,7)	646 (1,7)
12b^c	415 (204,7)	513 (8,6)	547 (4,7)	588 (2,7)	645 (1,5)
12b^d	414 (182,7)	517 (7,3)	554 (3,8)	582 (2,6)	636 (1,5)
14a^c	417 (75,6)	517 (6,0)	544 (4,4)	598 (2,3)	652 (11,6)
14a^d	416 (115,3)	520 (6,7)	548 (5,3)	594 (3,5)	646 (11,1)
14b^c	418 (121,0)	518 (10,2)	544 (7,4)	598 (4,1)	652 (21,7)
14b^d	416 (102,8)	522 (7,1)	549 (5,6)	596 (3,5)	648 (11,3)

Les spectres des produits déprotégés, mesurés dans l'eau, ne présentent pas de dédoublement et de déplacement de la bande de Soret, caractéristiques des phénomènes d'aggrégation. Ces résultats sont toutefois contraires à ceux observés au laboratoire pour des porphyrines glycosylées pour lesquelles on observe des phénomènes d'autoassociation de type « face to face ».¹¹⁸

De plus, nous notons que le coefficient d'extinction molaire de la bande de Soret d'une porphyrine est plus important que celui de la chlorine. A titre d'exemple, nous donnons les

¹¹⁸ V. Chaleix, V. Sol, Y.-M. Huang, M. Guilloton, R. Granet, J. C. Blais, P. Krausz ; *Eur. J. Org. Chem.*, **2003**, 8, 1486-1493.

spectres comparatifs des porphyrines et chlorines tétraspermidine protégées **8a** et **10a** (Figure II-15).

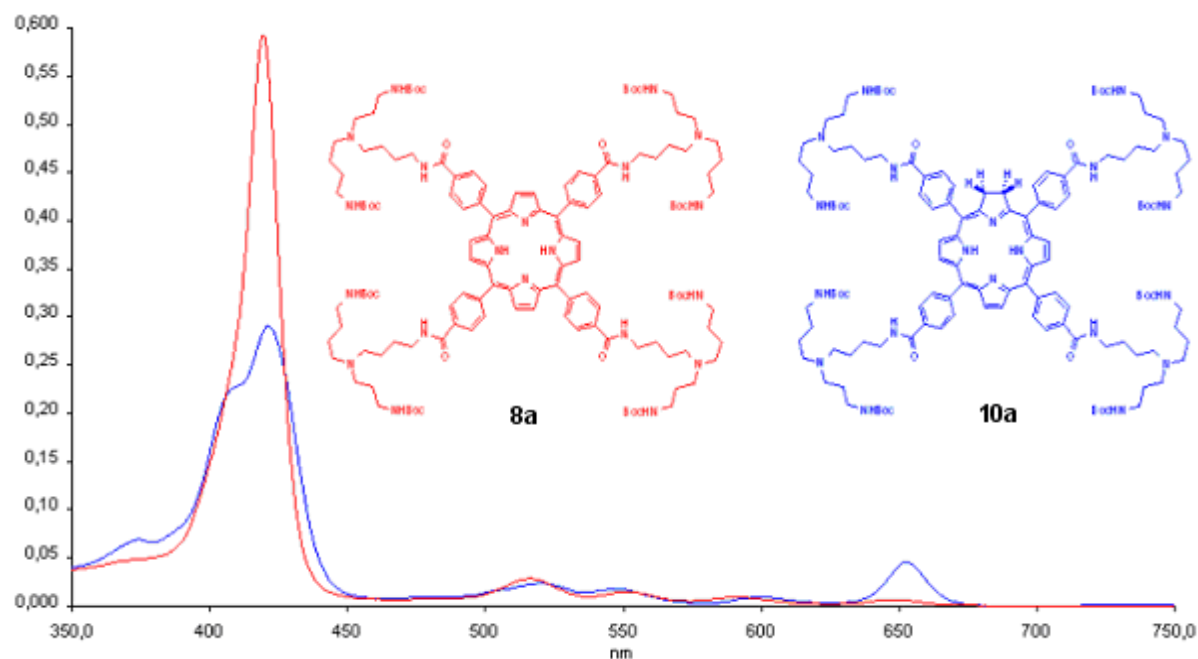


Figure II-15 : Spectres UV-visible comparatifs des composés **8a** et **10a** réalisés dans le dichlorométhane, ($c = 1,9 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$).

7-2- Spectrométrie de masse MALDI

L'analyse structurale des porphyrines a été poursuivie par l'étude de leur spectre de masse. Comme mentionné précédemment, ces composés, non volatils, ne se prêtent pas aux techniques classiques d'ionisation chimique. Pour cette raison, nous nous sommes tournés vers une technique de désorption-ionisation laser assistée par une matrice (méthode MALDI). Cette méthode permet l'observation de l'ion quasi-moléculaire généralement sans fragmentation. Les résultats obtenus pour les macrocycles **8a,b** – **10a,b** – **12a,b** -**14a,b** sont présentés dans le tableau II-2. Tous les spectres présentent le pic quasi-moléculaire $[M+H]^+$. En outre, nous constatons également la présence de pics métastables correspondants au départ de groupements protecteurs Boc (*tert*-butyloxycarbonyle).

Tableau II-2 : Spectrométrie de masse MALDI des composés **8a,b** – **10a,b** – **12a,b** et **14a,b**.

Composés	Masse molaire calculée (g.mol ⁻¹)	Masse de l'ion observé (uma)
8a	2385,18	2385,57
8b	3014,08	3014,92
10a	2387,18	2386,65
10b	3016,08	3014,92
12a	1584,23	1584,08
12b	1812,68	1812,28
14a	1586,23	1586,05
14b	1814,68	1814,06

A titre d'exemple, nous donnons, sur la figure, le spectre du composé **8b** (Figure II-16).

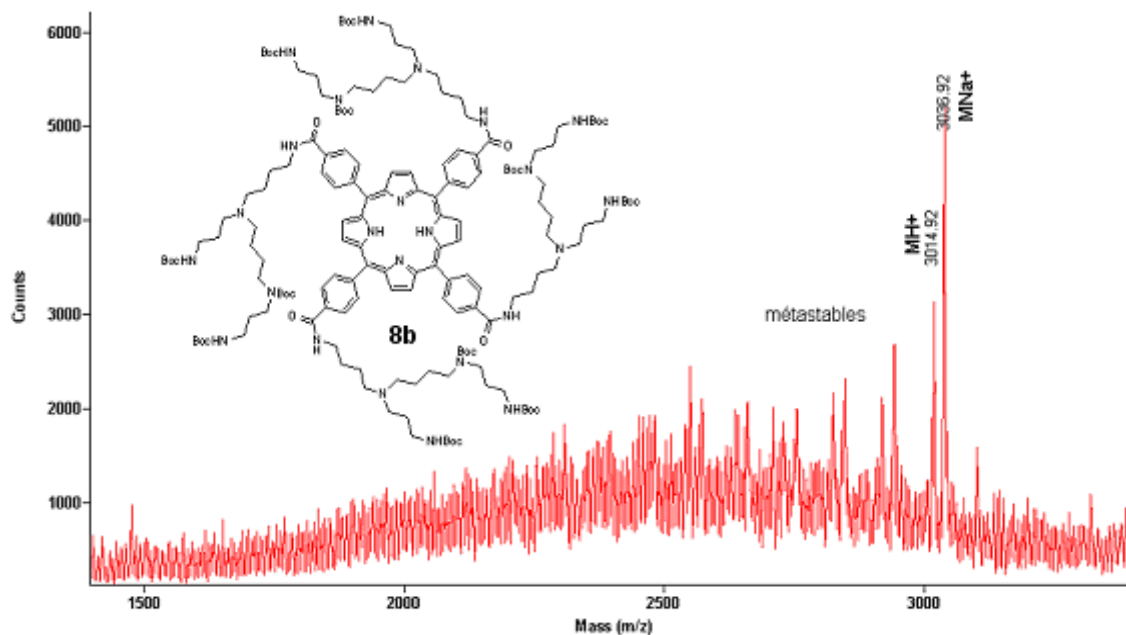


Figure II-16: Spectre de masse MALDI du composé **8b**.

7-3- RMN du proton

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton des porphyrines tétrapolyaminées **8a,b** ont été enregistrés à la fréquence de 400 MHz dans le chloroforme deutéré. Les spectres des produits déprotégés correspondants **12a,b** ont, quant à eux, été réalisés dans le méthanol deutéré.

D'une manière générale, le spectre RMN ^1H de tels produits se compose de cinq groupes de signaux (Figure II-17) :

- les protons β -pyrroliques vers 8,80 ppm.
- les protons portés par les phényles entre 8,10 et 8,40 ppm.
- les protons de la chaîne carbonée du bras et des polyamines entre 1,10 et 3,80 ppm.
- les protons NH pyrroliques vers -2,80 ppm.
- les protons du *tert*-butyloxycarbonyle (Boc) vers 1,40 ppm.

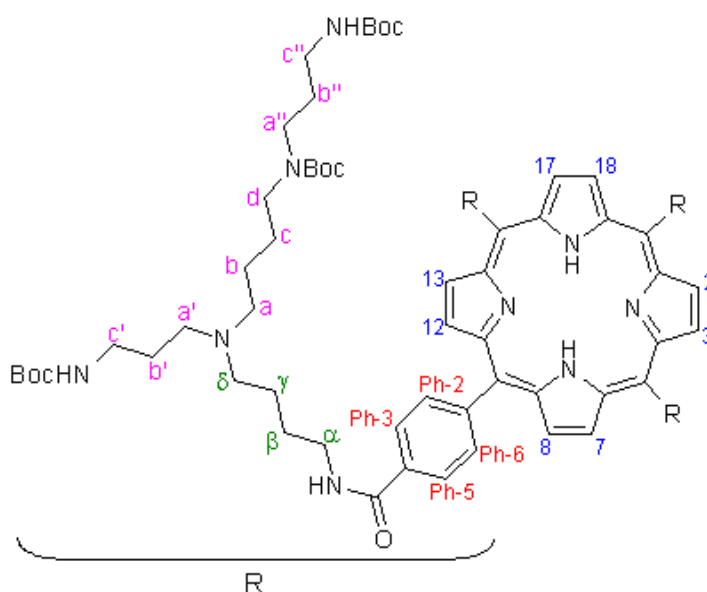


Figure II-17 : Groupe des principaux signaux du spectre RMN ^1H (composé **8b**).

Quant aux produits déprotégés, nous observons la disparition des signaux des protons méthyliques du groupement protecteur (Boc) et des protons des NH internes qui sont échangés avec le solvant. L'attribution de l'ensemble des signaux a été effectuée à partir des intégrations et des spectres de corrélation 2D proton-proton (COSY). Les résultats obtenus

pour les composés **8a,b** et **12a,b** sont regroupés dans le tableau II-3.

Tableau II-3 : RMN ¹H des porphyrines **8a,b** et **12 a,b**.

δ, figure, (*J* en Hz), solvant : a : dans le CDCl₃, b : dans le CD₃OD.

H	8a^a	8b^a	12a^b	12b^b
<u>Pyrrole</u>				
H_β	8,81 s	8,78 s _{él}	8,84 s _{él}	8,82 s _{él}
NH	-2,81 s	-2,83 s	-	-
<u>Phényle</u>				
H_{3,5}	8,25 d (7,1)	8,22 s _{él}	8,33 d (8,3)	8,29 d (8,0)
H_{2,6}	8,21 s _{él}	8,22 s _{él}	8,30 d (8,3)	8,29 d (8,0)
<u>Bras espaceur</u>				
α	3,64 m	3,72 m	3,11 t (7,2)	3,67 t _{él} (6,3)
β	1,81 m	1,86 m	1,15-1,40 m	2,02 m
γ	1,67 t _{él} (6,3)	1,86 m	1,15-1,40 m	2,02 m
δ	2,45 t _{él} (6,2)	2,83 m	2,95 m	3,23 m
NH	7,01 s _{él}	5,33 s _{él}	-	-
<u>Polyamine</u>				
a	2,50 t _{él} (6,2)	2,83 m	2,95 m	3,23 m
b	1,53 s _{él}	1,63 m	1,15-1,40 m	1,91 m
c	1,53 s _{él}	1,63 m	1,15-1,40 m	1,91 m
d	3,24 m	3,08-3,24 m	3,04 t _{él} (6,4)	3,23 m
a'	2,50 t _{él} (6,2)	2,83 m	2,95 m	3,23 m
b'	1,67 t _{él} (6,3)	1,63 m	1,15-1,40 m	1,91 m
c'	3,16 m	3,08-3,24 m	3,04 t _{él} (6,4)	2,13-2,27 m
a''	-	3,08-3,24 m	-	3,23 m
b''	-	1,63 m	-	1,91 m
c''	-	3,08-3,24 m	-	2,13-2,27 m
NH	4,88 s _{él} – 5,35 s _{él}	4,82 s _{él}	-	-
<u>Boc</u>				
CH₃	1,43 s	1,44 s	-	-

Nous avons choisi, à titre d'exemple, de présenter l'étude détaillée du spectre RMN

composé **8a** (FigureII-18).

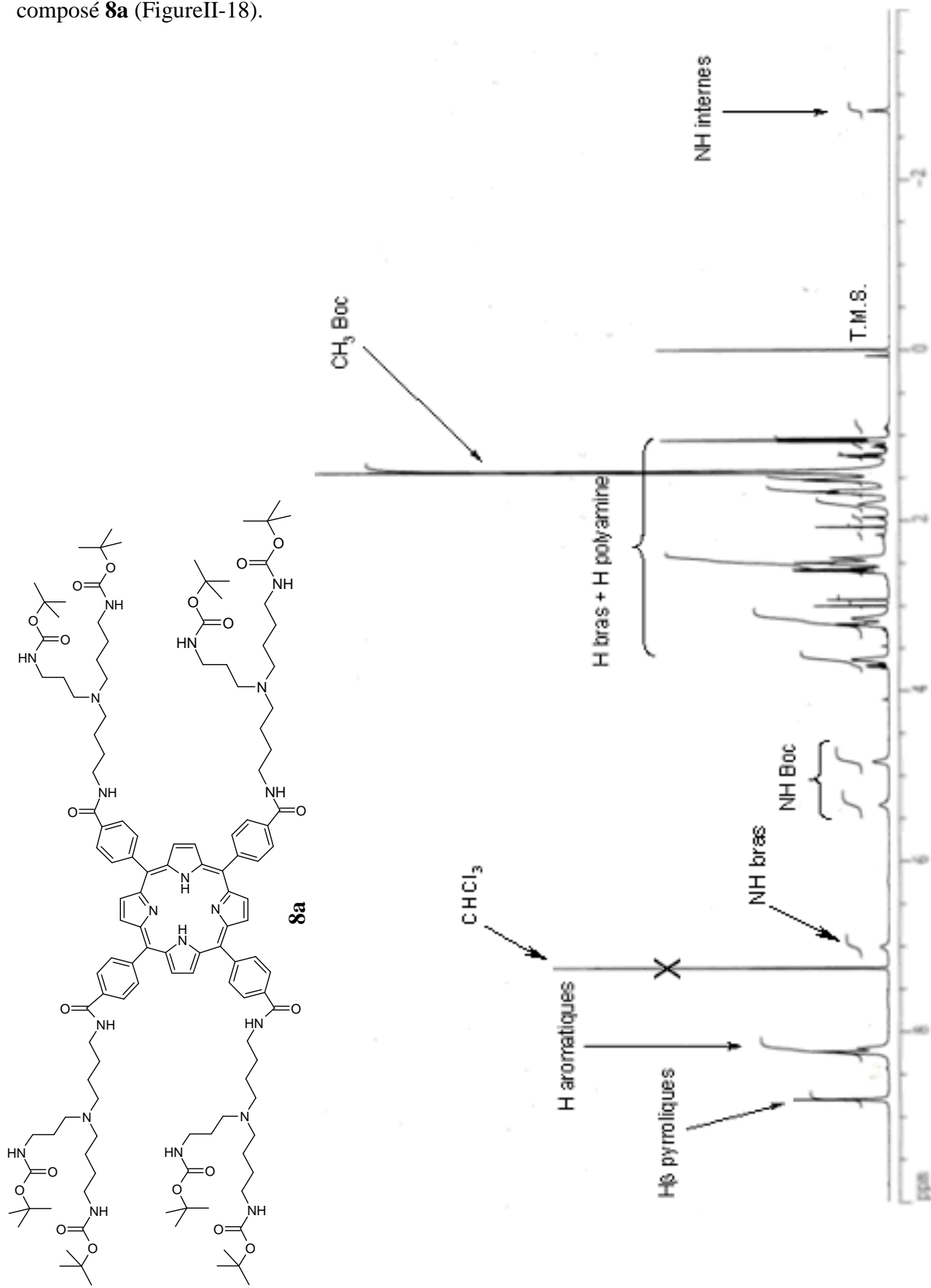


Figure II-18 : Spectre RMN ^1H du composé **8a**.

Nous observons que les protons β -pyrroliques résonnent sous la forme d'un singulet à 8,81 ppm, ce qui est en accord avec la symétrie D_4 de la molécule. Les protons, portés par les phényles, résonnent sous la forme d'un doublet à 8,25 ppm ($J= 7,1$ Hz) et d'un singulet élargi à 8,21 ppm. Les protons des azotes de la fonction amide résonnent, quant à eux, à 4,88 ppm, 5,35 ppm et 7,01 ppm sous la forme d'un singulet élargi. Les protons H- α , H- β , H- γ et H- δ du bras espaceur se situent respectivement à 3,64 ppm (multiplet), 1,81 ppm (multiplet), 1,67 ppm (triplet élargi, $J= 6,3$ Hz) et 2,45 ppm (triplet élargi, $J= 6,2$ Hz). Nous observons que les protons, portés par les carbones liés aux azotes, se trouvent déblindés par rapport aux protons intermédiaires du bras. Ceci est dû à l'effet inductif attracteur de l'atome d'azote. Concernant la polyamine, les protons, H-a et H-a', proches de l'azote tertiaire, se retrouvent déblindés vers 2,50 ppm (triplet élargi, $J= 6,2$ Hz). Les protons intermédiaires H-b, H-c et H-b' résonnent ensemble vers 1,63 ppm sous la forme d'un multiplet. Enfin les protons H-c' et H-d, voisins du groupement NH-Boc, se situent respectivement à 3,16 ppm et 3,24 ppm et apparaissent sous la forme d'un multiplet. Ce déblindage est dû à l'effet inductif attracteur de la liaison amide. Nous observons les protons méthyliques du Boc vers 1,43 ppm. Enfin, les protons des NH pyrroliques internes, se situant dans le cône d'anisotropie de la porphyrine, sont fortement blindés à -2,81 ppm.

Les spectres de résonance magnétique des chlorines **10a,b** présentent les mêmes grandes catégories de signaux que les porphyrines précédentes. En effet nous retrouvons les protons β -pyrroliques, phényliques, les protons du bras carboné et des polyamines ainsi que ceux des groupements protecteurs. Ces protons présentent tous sensiblement les mêmes déplacements chimiques que ceux des porphyrines. Cependant, il est intéressant de noter l'apparition d'un signal vers 4,1 ppm, intégrant pour quatre protons et correspondant aux CH_2 du cycle pyrrolidine. De plus nous observons le déblindage du signal des protons des NH internes.

Les spectres des produits déprotégés **14a,b** sont conformes à ceux attendus (Tableau II-4).

Tableau II-4 : RMN ¹H des chlorines **10a,b** et **14 a,b**.

δ, figure, (*J* en Hz), solvant : a : dans le CDCl₃, b : dans le CD₃OD.

H	10a^a	10b^a	14a^b	14b^b
<u>Pyrrole</u>				
H_β	8,49 s _{él}	8,80 s _{él}	8,59s _{él}	8,54 s _{él}
CH₂_β	4,08 m	4,12 t (7,2)	4,16 s _{él}	4,06 s _{él}
NH	-1,50 s _{él}	-1,48 s _{él}	-	-
<u>Phényle</u>				
H_{3,5}	8,34 s _{él}	8,25 s _{él}	8,34 s _{él}	8,11-8,29 m
H_{2,6}	8,09 s _{él}	8,25 s _{él}	8,31 s _{él}	8,11-8,29 m
<u>Bras espaceur</u>				
α	3,60 m	3,68 m	3,21 t (7,3)	3,52 m
β	1,79 m	1,73 m	1,11-1,44 m	1,53-1,73 m
γ	1,79 m	1,73 m	1,11-1,44 m	1,53-1,73 m
δ	2,58 m	2,62 m	2,91-2,99 m	2,48-2,78 m
NH	5,38 s _{él}	5,32 s _{él}	-	-
<u>Polyamine</u>				
a	2,58 m	2,62 m	2,91-2,99 m	2,48-2,78 m
b	1,53-1,61 m	1,53 m	1,11-1,44 m	1,53-1,73 m
c	1,53-1,61 m	1,53 m	1,11-1,44 m	1,53-1,73 m
d	3,05-3,21 m	3,01-3,29 m	3,05 t _{él} (6,7)	2,48-2,78 m
a'	2,58 m	2,62 m	2,91-2,99 m	2,48-2,78 m
b'	1,53-1,61 m	1,53 m	1,11-1,44 m	1,53-1,73 m
c'	3,05-3,21 m	3,01-3,29 m	3,05 t _{él} (6,7)	2,22-2,37 m
a''	-	3,01-3,29 m	-	2,48-2,78 m
b''	-	1,53 m	-	1,53-1,73 m
c''	-	3,01-3,29 m	-	2,22-2,37 m
NH	4,94 s _{él}	4,81 s _{él}	-	-
<u>Boc</u>				
CH₃	1,41 s	1,43 s	-	-

Afin d'illustrer les changements de signaux entre la porphyrine et la chlorine, nous avons choisi de présenter l'étude détaillée du spectre RMN composé **10a** (Figure II-19).

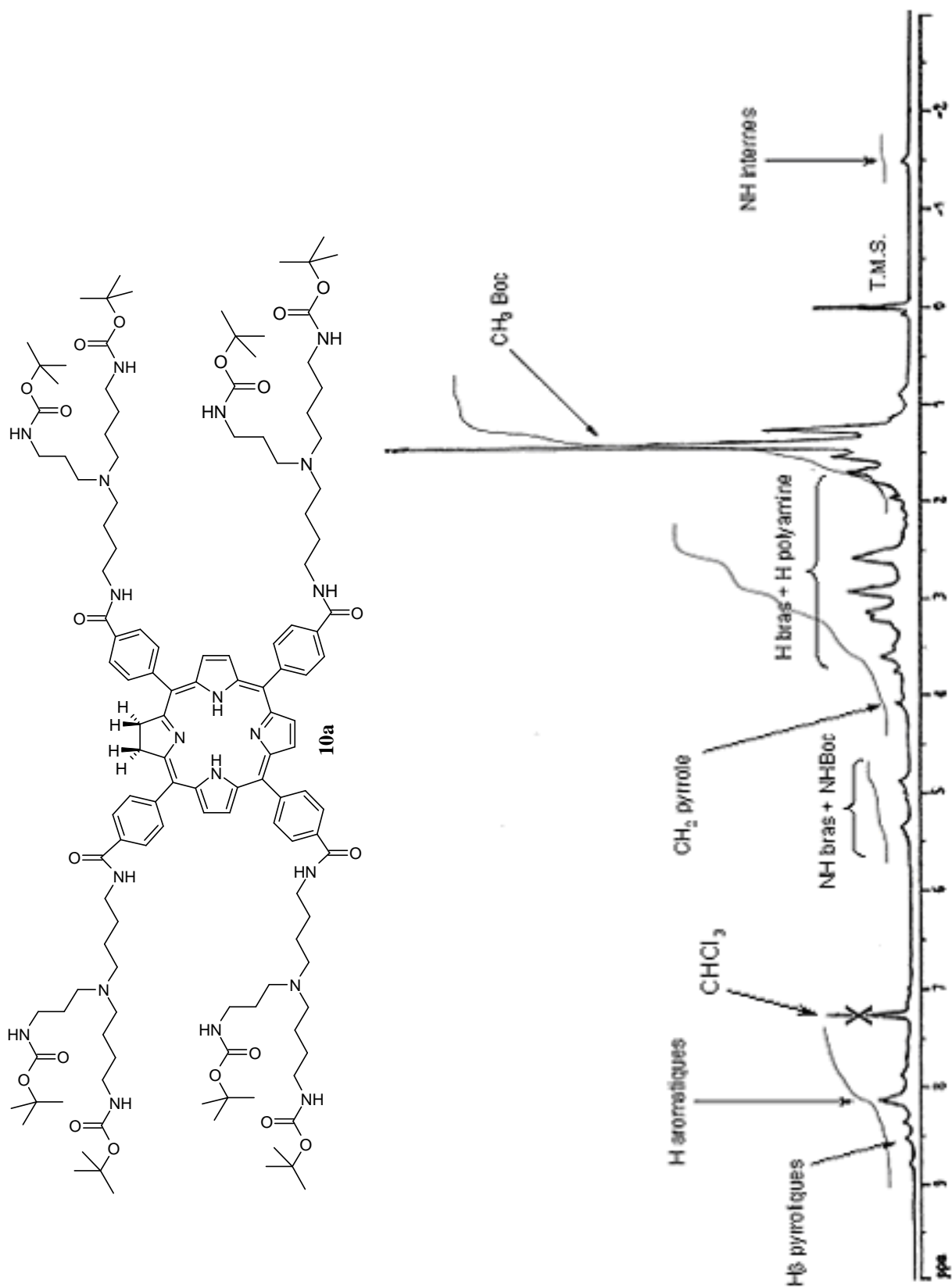


Figure II-19 : Spectre RMN ^1H du composé **10a**.

Nous observons la résonance des protons β -pyrroliques sous la forme d'un singulet élargi vers 8,81 ppm. L'intégration du signal, comptant six protons, est en accord avec la réduction d'une double liaison pyrrolique lors de la synthèse de la chlorine. Le nouveau signal, intégrant pour les quatre protons, apparaît ici sous la forme d'un multiplet à 4,08 ppm. Les protons portés par le phényle résonnent vers 8,34 ppm et 8,09 ppm sous la forme d'un singulet élargi. Les protons du bras et des polyamines apparaissent entre 1,50 et 3,70 ppm, ceux portés par les carbones proches des azotes étant plus déblindés que les protons des carbones intermédiaires. Le proton porté par l'azote du bras apparaît sous la forme d'un singulet vers 5,38 ppm. Les autres protons des azotes, liés au Boc, résonnent, quant à eux, vers 4,94 ppm sous la forme d'un singulet élargi. Les protons méthyliques du Boc apparaissent vers 1,41 ppm sous la forme d'un singulet. Nous constatons, par contre, la présence du signal des protons NH pyrroliques sous la forme d'un singulet élargi vers -1,50 ppm.

CHAPITRE III :

SYNTHESE DE PORPHYRINES ET CHLORINES DIPOLYAMINEES

Chapitre III

Synthèse de porphyrines et chlorines dipolyaminées

1- Introduction

Une analyse des résultats antérieurs obtenus en particulier dans notre laboratoire a clairement montré que l'activité photodynamique d'un macrocycle était liée à la présence d'un substituant de vectorisation. Une étude plus approfondie « *in vitro* » a fait apparaître que le nombre de tels substituants et leur position sur la porphyrine ou la chlorine avaient une influence significative sur la photoinhibition des tumeurs, probablement en raison de la modification du moment amphiphile.¹¹⁹ Dans ce cadre, nous nous sommes proposés de synthétiser les composés **13a,b** et **15a,b** disubstitués en positions 5,15 par la spermidine et la spermine (Figure III-1).

¹¹⁹ G. Garcia, V. Sol, F. Lamarche, R. Granet, M. Guilloton, Y. Champavier, P. Krausz ; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 3188-3192.

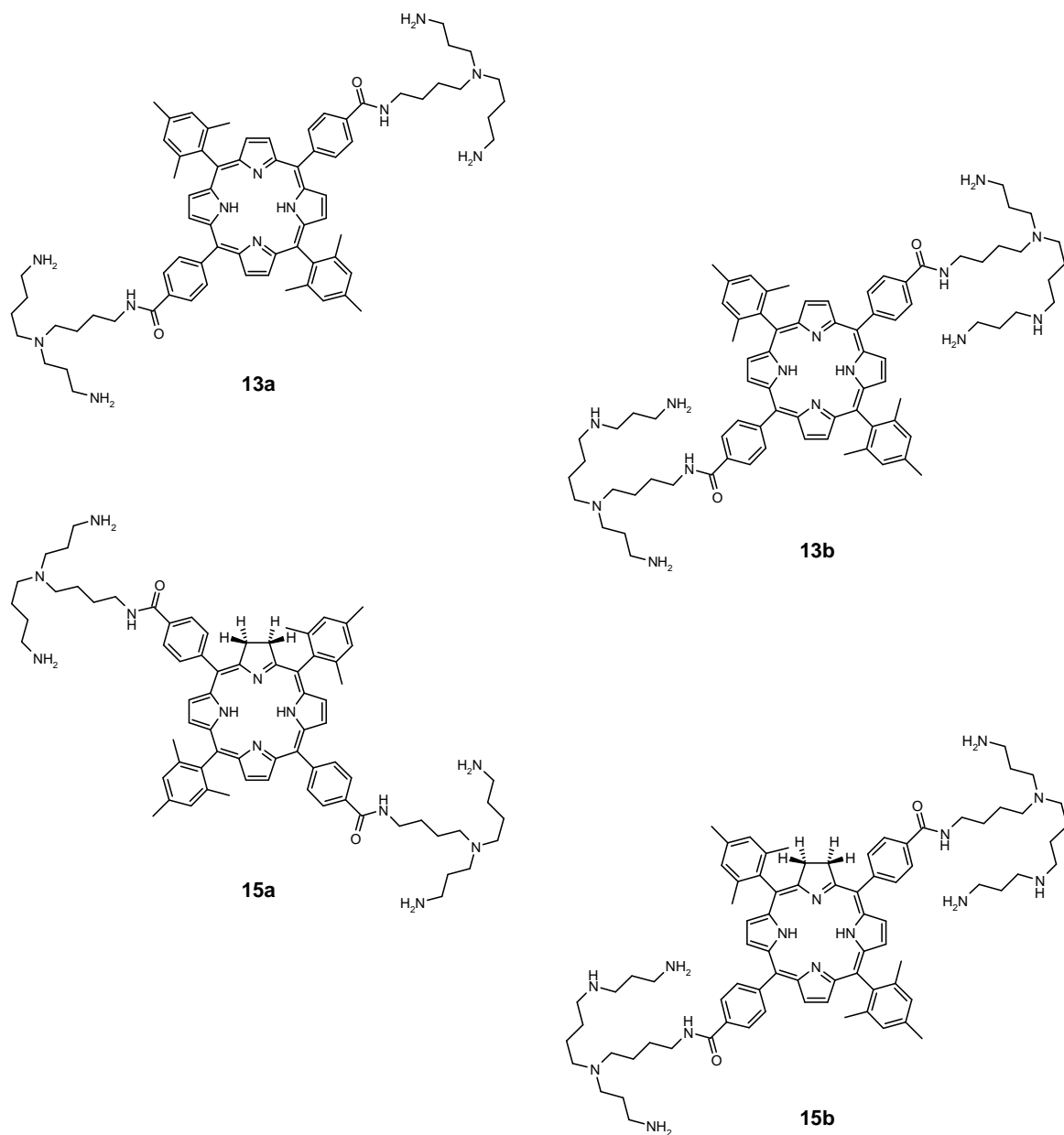


Figure III-1 : Structure des *trans*-porphyrines et *trans*-chlorines polyaminées synthétisées.

2- Stratégie de synthèse

La stratégie de synthèse adoptée est présentée sur la figure III-2. La formation de la porphyrine par la méthode des dipyrrométhanés constitue l'étape importante de cette synthèse. Comme précédemment, les composés finaux sont isolés après fixation des précurseurs polyaminés, formation des chlorines et déprotection des fonctions amines terminales.

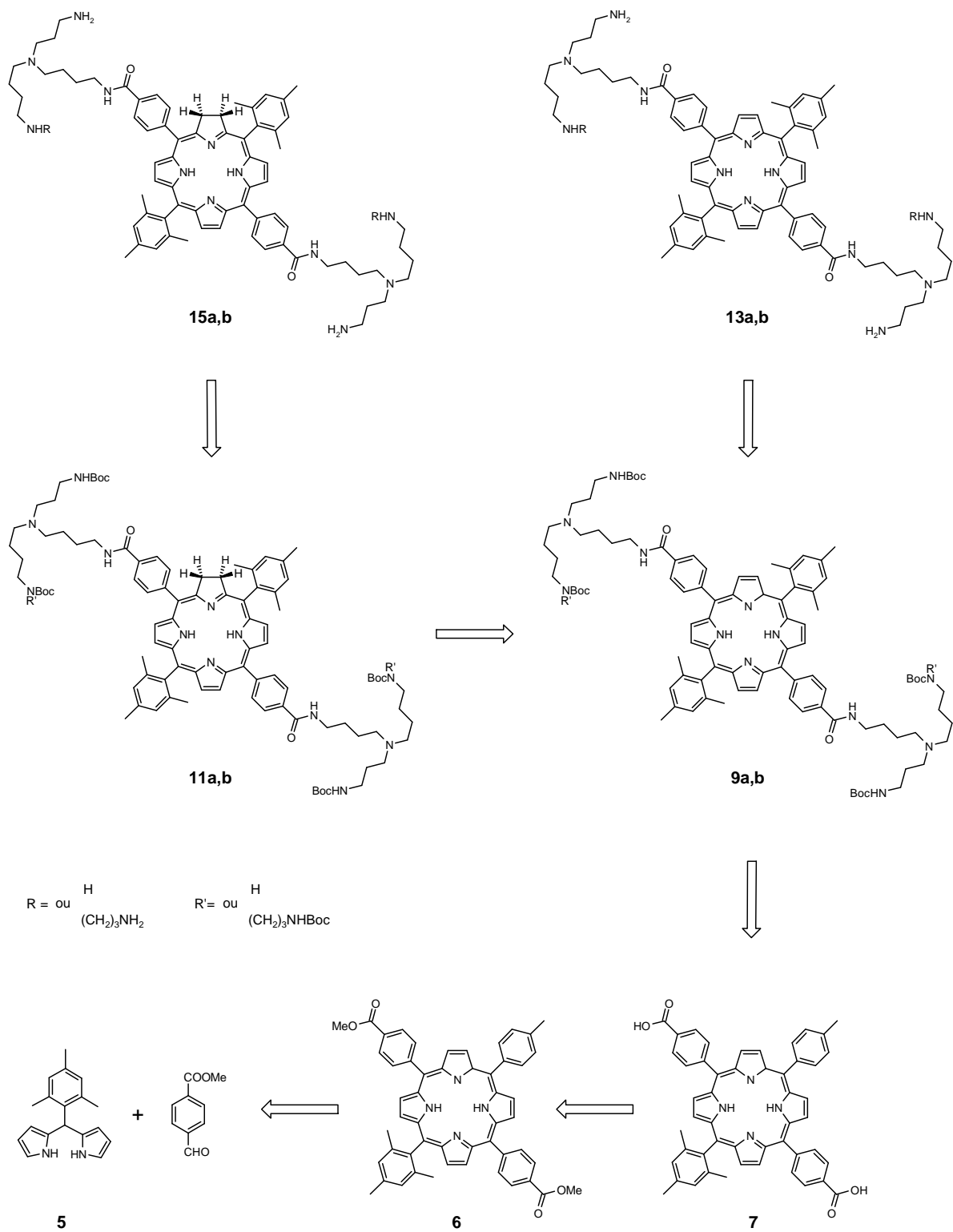


Figure III-2 : Schéma rétrosynthétique.

3- Synthèse de la bis(carboxyphényl)-bis(mésityl)porphyrine

La condensation du pyrrole sur deux aldéhydes A et B mène théoriquement à la formation de six produits différents, illustrés sur la figure III-3. Nous obtenons les porphyrines *meso*-tétrasubstituées par un même groupement (A ou B), les porphyrines possédant un groupement A et trois groupements B ou inversement et des porphyrines *meso*-substituées par deux groupements A et deux groupements B, positionnés ou non du même côté du cycle, nommées respectivement *cis* ou *trans*-porphyrine.

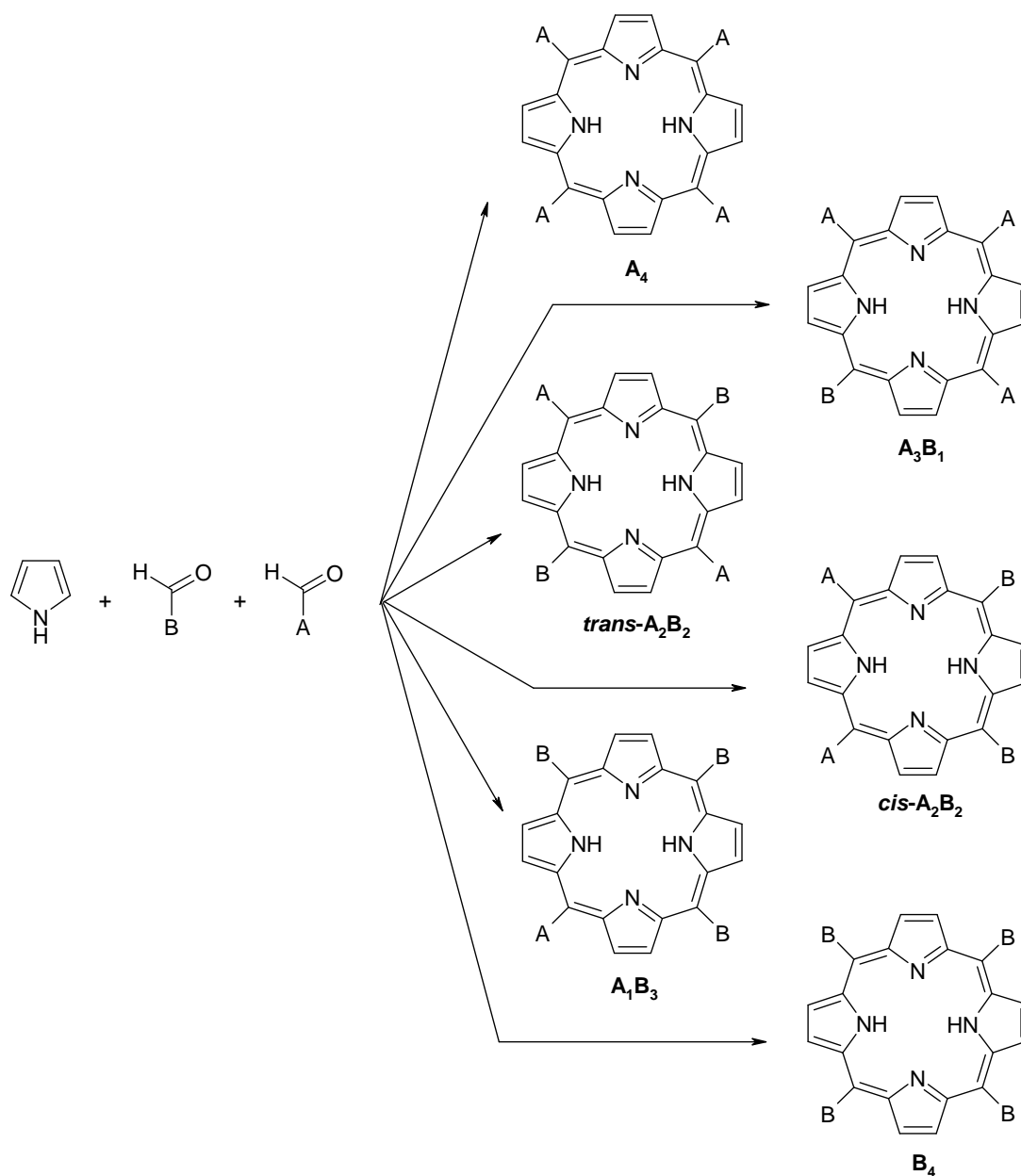


Figure III-3 : Condensation du pyrrole sur deux aldéhydes différents.

Lindsey a réalisé une étude très détaillée de la réaction de Mac Donald “2+2” qui conduit généralement à la formation d’un mélange isomérique *cis/trans*.¹²⁰ Ce mélange est dû à l’acidolyse d’intermédiaire réactionnel, puis à la recombinaison des unités libérées. Ce processus d’échange, appelé scrambling, est fréquemment observé lors de la condensation de polypyrranes. (Figure III-4).¹²¹

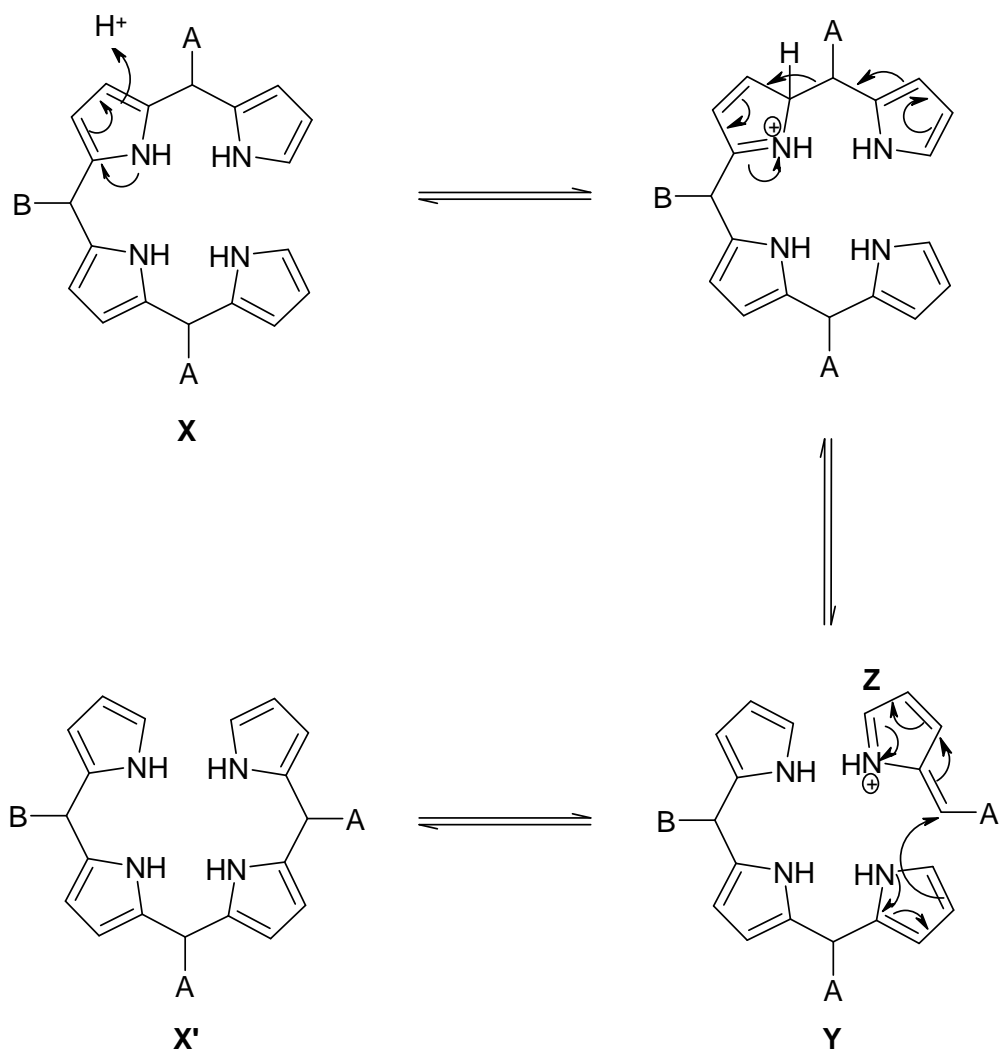


Figure III-4 : Processus de réarrangement par catalyse acide.

¹²⁰ B. J. Littler, Y. Ciringh, J. S. Lindsey ; *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 2864-2872.

¹²¹ K. M. Smith ; *Porphyrins and Metalloporphyrins*, Ed. Elsevier, **1975**, 29-58.

Afin d'éviter ce phénomène de scrambling et ainsi obtenir uniquement l'isomère *trans*, Lindsey¹¹⁷ a montré que l'utilisation de dipyrrométhane stériquement encombrés comme le mésityldipyrrométhane conduisait à la formation de la *trans*-5,15-bis(mésityl)-10,20-bis(4-méthylphényl)porphyrine avec un rendement de 48%, sans observer la formation de l'isomère *cis*.

3-1- Préparation du dipyrrométhane

Les méthodes généralement employées pour la préparation des dipyrrométhane consistent, par exemple, à faire réagir un aldéhyde aliphatique sur le pyrrole par l'intermédiaire d'un organo-magnésien.¹²² Une autre méthode d'obtention de dipyrrométhane a été développée par Vigmond et coll.¹²³, qui réalisent la condensation directe du pyrrole sur différents aldéhydes dans un mélange THF/ acide acétique. Finalement Lindsey¹²⁴ parvient à synthétiser « one flask » plusieurs *meso*-dipyrrométhane, l'aldéhyde réagissant avec un excès de pyrrole sous catalyse acide (TFA ou BF₃OEt₂) à température ambiante. Dans le but de synthétiser la 5,15-bis(carboxyphényl)-10,20-bis(mésityl)porphyrine **7** nous nous sommes orientés vers la formation du *meso*-mésityldipyrrométhane **5** en utilisant cette dernière méthode (Figure III-5).

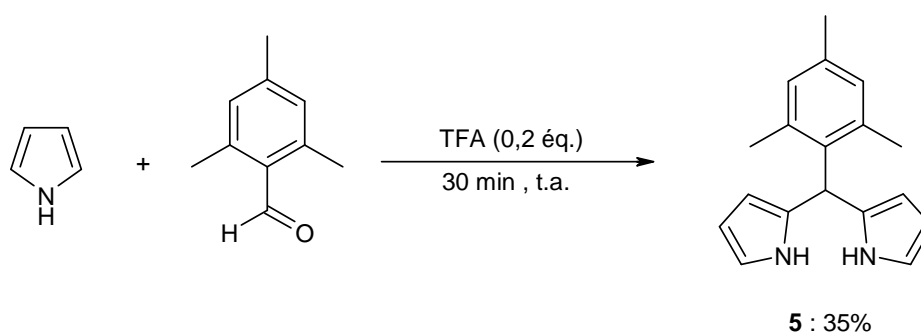


Figure III-5 : Synthèse du *meso*-mésityldipyrrométhane.

Cette synthèse consiste à faire réagir, sous atmosphère inerte, le pyrrole en excès fraîchement

¹²² G. Casiraghi, M. Cornia, G. Rassu, C. Del Sante, P. Spanu ; *Tetrahedron*, **1992**, 48, 5619-5628.

¹²³ S. J. Vigmond, M. C. Chang, K. M. R. Kallury, M. Thompson ; *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 2455-2458.

¹²⁴ C. H. Lee, J. S. Lindsey ; *Tetrahedron*, **1994**, 50, 11427-11440.

distillé avec le *meso*-mésitaldéhyde. Le pyrrole est présent en excès, jouant ainsi à la fois le rôle de réactif et celui de solvant. L'acide trifluoroacétique est ensuite ajouté en quantités catalytiques et, après disparition totale de l'aldéhyde de départ, le produit est isolé avec 35% de rendement. La stabilité du produit ainsi que les recristallisations successives ne nous ont pas permis d'obtenir un meilleur rendement, conformément aux résultats présentés dans la littérature.

3-2- Formation de la porphyrine

Nous avons ensuite condensé, dans le dichlorométhane et à température ambiante, un mélange équimolaire de *meso*-mésityldipyrrométhane et de 4-formylméthylbenzoate en présence d'acide trifluoroacétique. Après oxydation par une quinone du porphyrinogène préalablement formé, puis purification, le composé est obtenu avec 30% de rendement. Nous avons choisi d'utiliser le 4-formylméthylbenzoate pour former la *trans*-porphyrine **6** afin de faciliter les étapes de purification.

Afin de libérer les fonctions acides carboxyliques, la réaction de saponification est réalisée dans le DMF en présence d'une solution éthanolique de potasse. Après neutralisation par une résine acide, la *trans*-porphyrine **7**, nouvellement formée, précipite sous forme de cristaux violets. Après filtration le composé est obtenu avec un rendement de 94% (Figure III-6).

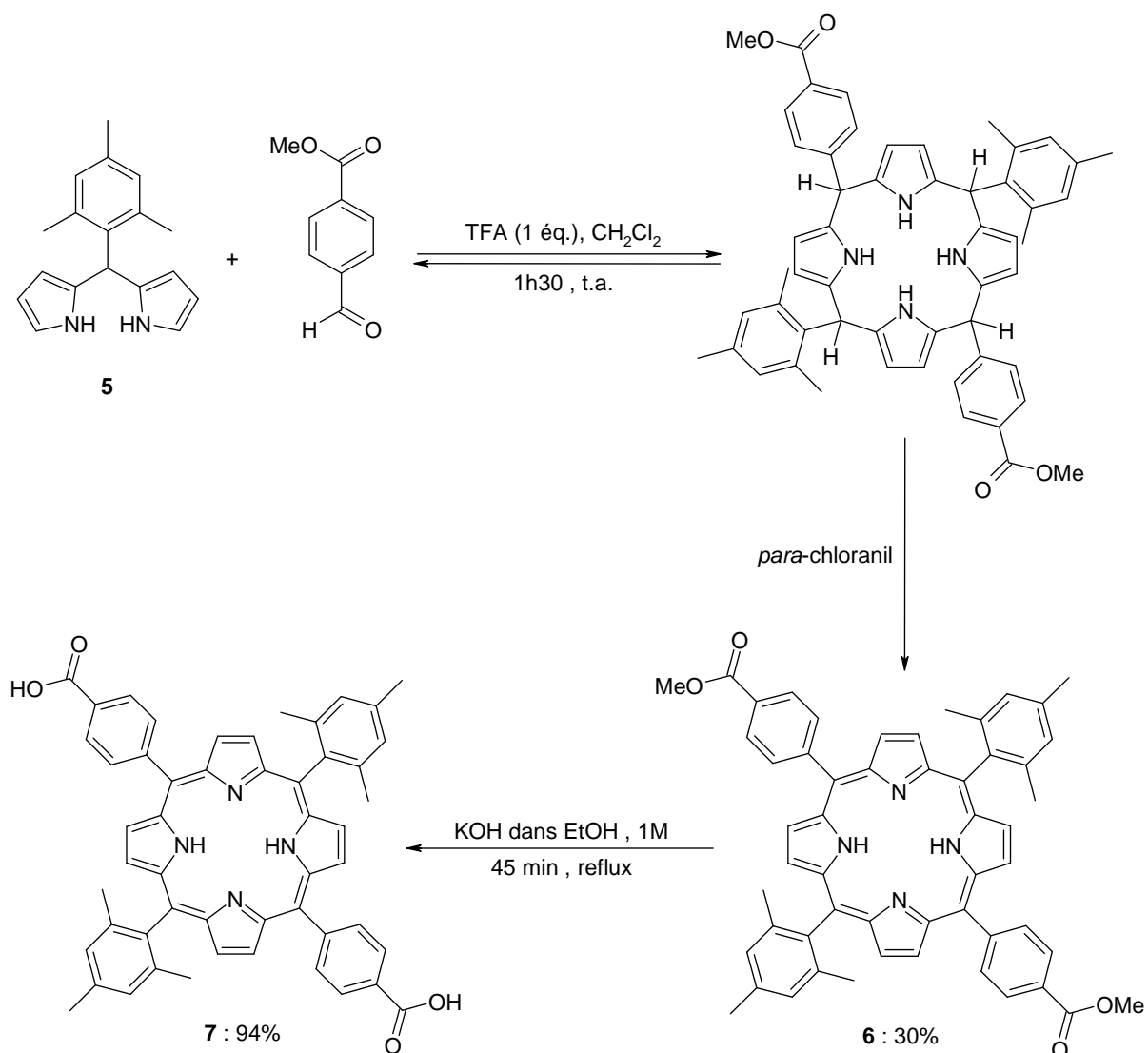


Figure III-6 : Synthèse de la *trans*-porphyrine **7**.

4- Synthèse des porphyrines polyaminées

Comme pour les produits tétrasubstitués (chapitre II), le système dicyclohexylcarbodiimide/ 1-hydroxybenzotriazole est utilisé pour fixer les deux précurseurs polyaminés sur la *trans*-porphyrine. La réaction consiste à faire réagir sur la porphyrine, 10 équivalents de DCC et de HOBt en présence de 5 équivalents de précurseurs polyaminés. Après 18 heures de réaction dans le DMF, les composés **9a** et **9b** sont isolés avec des rendements respectifs de 73% et 68% (Figure III-7). Ces rendements sont supérieurs à ceux obtenus pour les composés tétrapolyaminés. Ceci peut s'expliquer par un excès plus important de DCC, HOBt et de précurseurs polyaminés.

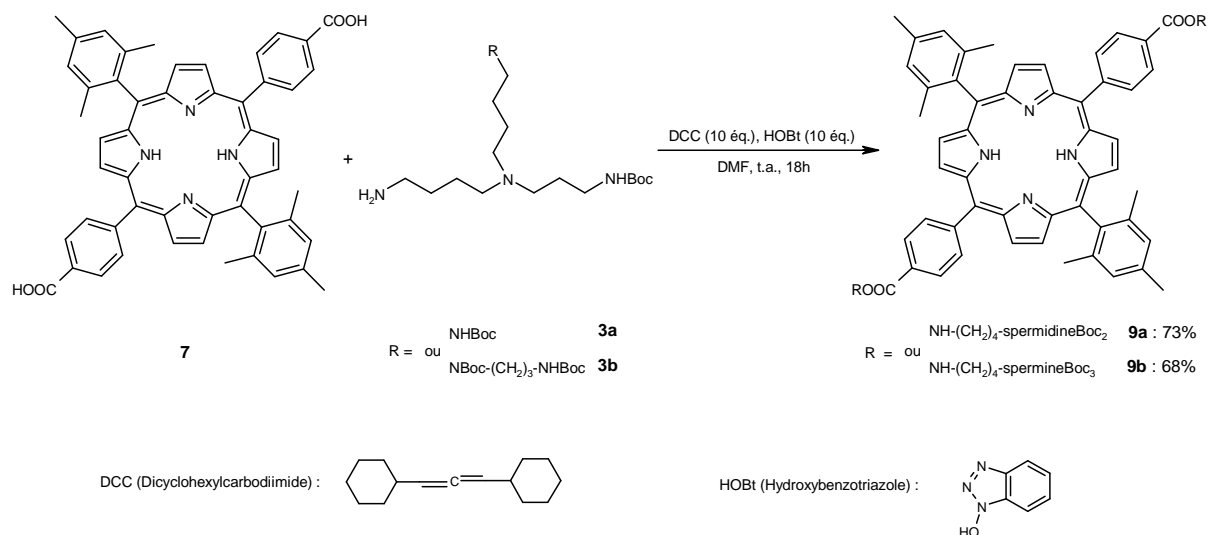


Figure III-7 : Fixation des pr\u00e9curseurs polyamin\u00e9s sur la porphyrine **7**.

5- Formation des chlorines polyamin\u00e9es

Cette synth\u00e8se est r\u00e9alis\u00e9e en pr\u00e9sence d'ar\u00e8nesulfonylhydrazide, comme d\u00e9crit au chapitre II. La pr\u00e9sence du diimide, obtenu par d\u00e9composition thermique du *para*-tolu\u00e8nesulfonylhydrazide, est responsable de la r\u00e9duction d'une double liaison pyrrolique. La r\u00e9action, suivie par spectroscopie UV-visible, se d\u00e9roule dans la pyridine anhydre en pr\u00e9sence de carbonate de sodium. Apr\u00e8s oxydation par l'*ortho*-chloranil, les *trans*-chlorines polyamin\u00e9es **11a** et **11b** sont obtenues avec, respectivement, 73% et 77% de rendement (Figure III-8).

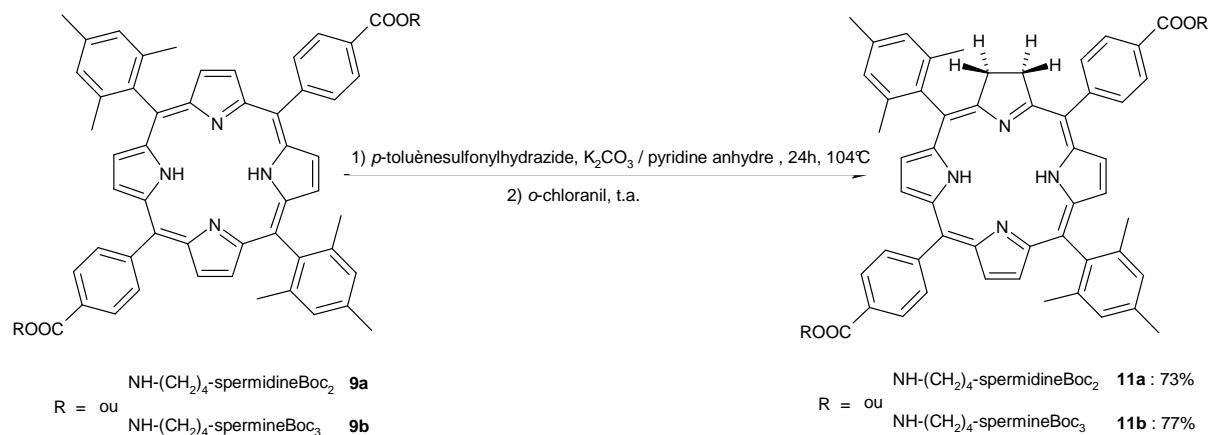


Figure III-8 : Formation des chlorines **11a** et **11b**.

6- Déprotection des *trans*-porphyrines et des *trans*-chlorines polyaminées

Comme pour les porphyrines et les chlorines tétrapolyaminées, les composés **9a,b** et **11a,b** sont placés dans un mélange dichlorométhane/ acide trifluoroacétique 8/2 pendant 2 heures à température ambiante. La déprotection des fonctions amines conduit à l'obtention des produits **13a,b** et **15a,b** avec des rendements quasi quantitatifs. Les nouveaux composés sont solubles dans le méthanol ainsi que dans l'eau (Figure III-9).

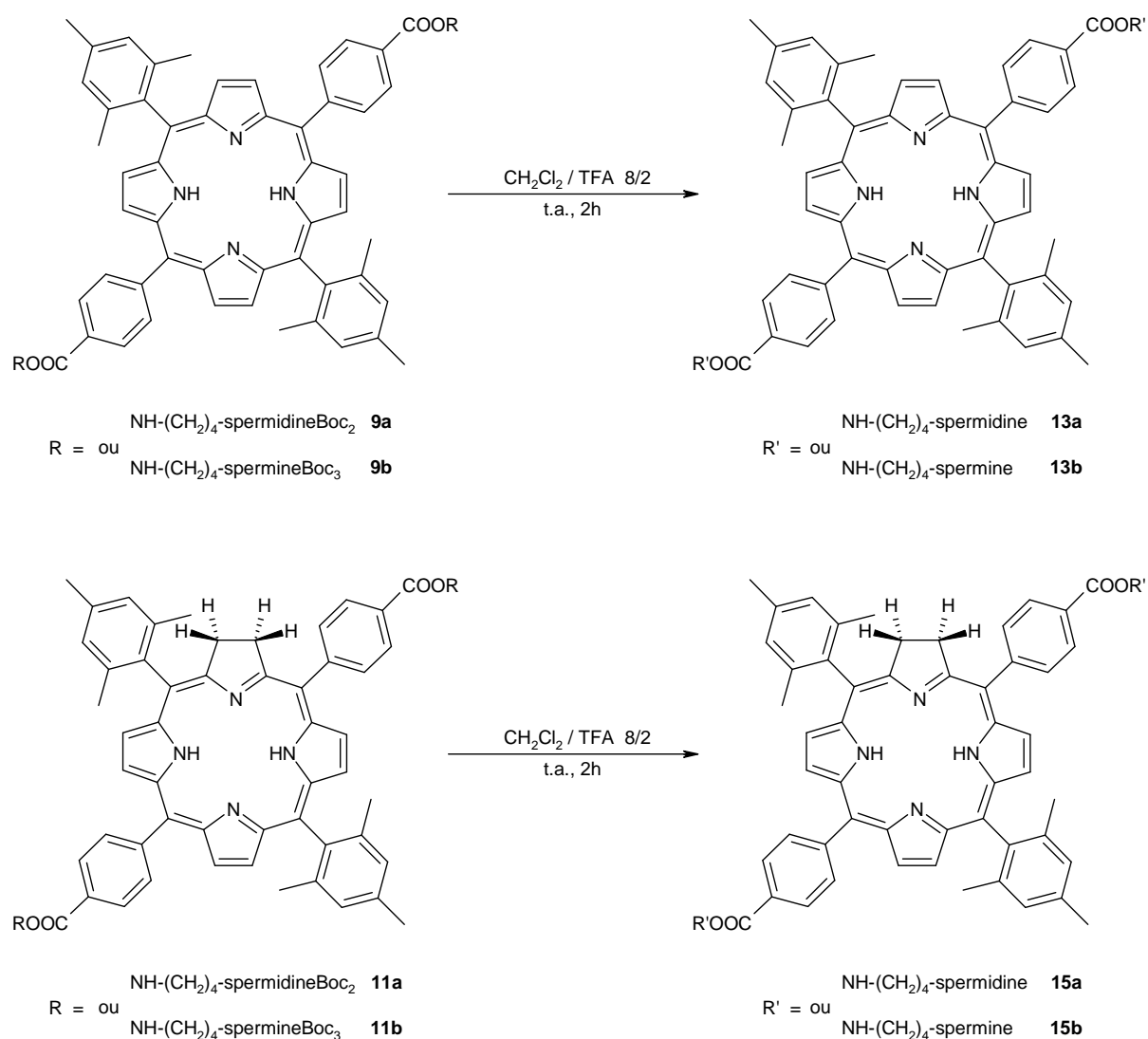


Figure III-9 : Déprotection des fonctions amine.

7- Caractérisations

7-1- Spectroscopie UV-visible

Les spectres des composés protégés **9a,b** et **11a,b**, ainsi que celui de la *trans*-porphyrine **6**, ont été réalisés dans le dichlorométhane. Pour les produits déprotégés **13a,b**, et **15a,b**, les mesures ont été effectuées dans le méthanol et dans l'eau. Le spectre de la *trans*-porphyrine dicarboxylique **7** a été réalisé uniquement dans le méthanol. Les résultats sont reportés dans le tableau III-1.

Tableau III-1 : Bandes caractéristiques des spectres UV-visible des composés **6 - 7 - 9a,b - 11a,b - 13a,b** et **15a,b**. λ_{\max} (nm) [coefficient d'absorption ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$)], à 20°C, (a : dans le dichlorométhane, b : dans le méthanol, c : dans l'eau).

Composés	Bande de Soret	Q IV	Q III	Q II	Q I
6^a	419 (392,4)	515 (18,3)	549 (7,5)	591 (5,4)	648 (4,7)
7^b	414 (144,8)	512 (6,0)	546 (2,7)	589 (1,7)	645 (1,3)
9a^a	419 (306,3)	515 (13,5)	549 (5,4)	591 (4,1)	646 (2,7)
9b^a	419 (338,2)	515 (14,8)	549 (6,1)	590 (4,4)	646 (3,0)
11a^a	420 (92,4)	520 (11,6)	546 (9,7)	598 (5,4)	654 (18,8)
11b^a	420 (116,0)	519 (7,7)	546 (5,3)	598 (2,8)	652 (15,4)
13a^b	415 (330,5)	513 (15,1)	546 (6,1)	589 (4,3)	645 (2,7)
13a^c	414 (285,0)	517 (11,9)	533 (5,2)	581 (4,2)	635 (2,6)
13b^b	415 (318,8)	513 (12,7)	545 (5,6)	589 (3,7)	646 (2,3)
13b^c	414 (390,9)	517 (14,5)	552 (6,5)	581 (5,4)	634 (3,2)
15a^b	416 (110,7)	518 (9,3)	543 (6,6)	597 (3,7)	651 (19,9)
15a^c	415 (88,0)	521 (6,9)	548 (4,9)	596 (2,7)	650 (11,1)
15b^b	416 (134,7)	516 (10,0)	544 (6,8)	596 (3,9)	651 (19,3)
15b^c	415 (111,9)	520 (7,8)	548 (5,4)	595 (3,1)	649 (10,7)

Comme pour les porphyrines tétrapolyaminées, les spectres des composés **9a,b** et **13a,b** correspondent aux spectres généralement attendus pour les porphyrines bases libres et sont de type *etio*. Ils présentent une forte bande d'absorption (bande de Soret) et quatre autres bandes Q d'intensité plus faible. Les *trans*-chlorines **11a,b** et **15a,b**, quant à elles, possèdent un spectre caractéristique de ces structures, à savoir une bande de Soret moins intense que celle des porphyrines correspondantes, ainsi que quatre bandes Q avec une intensité de la bande QI plus importante. Nous remarquons que tous les produits déprotégés possèdent une bande d'absorption maximale (bande de Soret) plus large déplacée vers le bleu et présentant un épaulement par rapport aux spectres des produits protégés. Ces caractéristiques spectrales sont accentuées en milieu aqueux et témoignent d'un phénomène d'agrégation (stacking) de type H ou « face to face ».¹²⁵

Nous donnons ici à titre d'exemple, sur la figure III-10, le spectre de la *trans*-chlorine spermidine déprotégée **15a**.

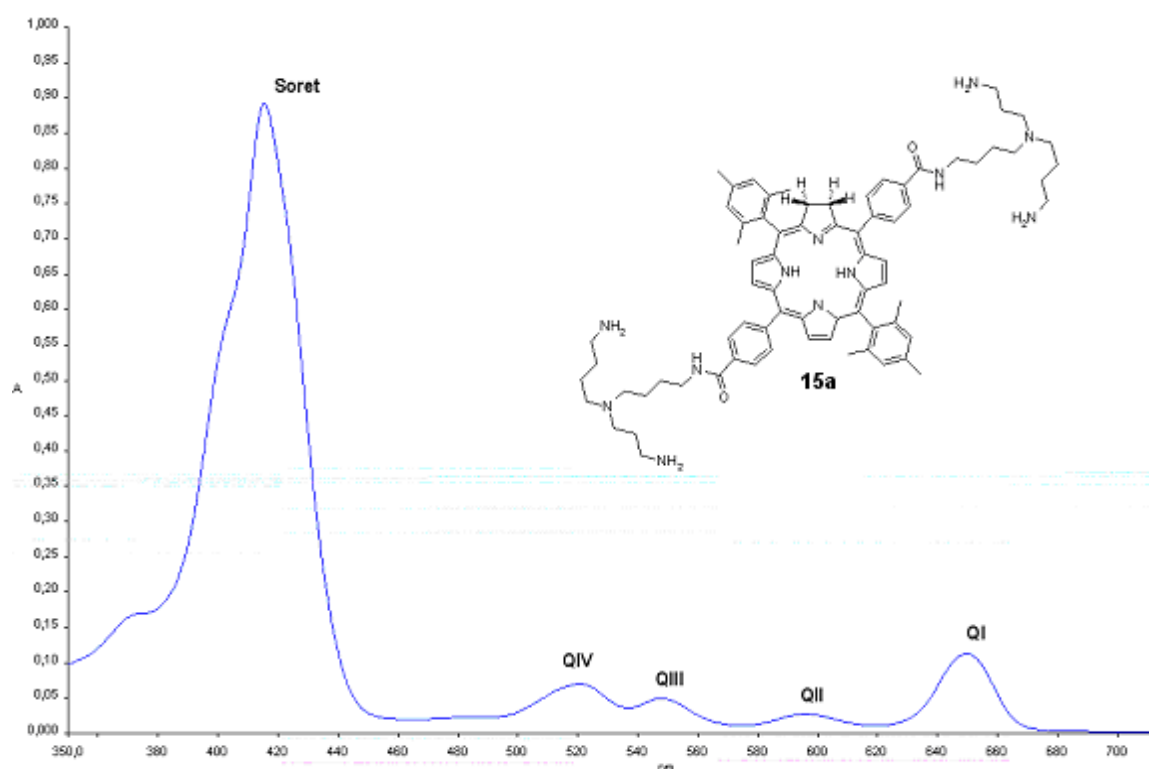


Figure III-10 : Spectre UV-visible du composé **15a** dans le méthanol.

¹²⁵ T. Sugimoto, K. Sada, Y. Tateishi, T. Suzuki, Y. Sei, K. Yamaguchi, S. Shinkai ; *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 5347-5350.

7-2- Spectrométrie de masse MALDI

Comme pour les porphyrines et les chlorines tétrapolyaminées (chapitre II), nous avons confirmé la masse molaire des produits **9a,b** - **11a,b** – **13a,b** et **15a,b** par spectrométrie de masse MALDI. Les résultats sont présentés dans le tableau III-2. Les spectres fournissent le pic quasi-moléculaire $[M+H]^+$ attendu. Pour les spectres des produits protégés, nous observons des pics métastables dûs à la perte d'un ou plusieurs groupements *tert*-butyloxycarbonyle.

Tableau III-2 : Spectrométrie de masse MALDI des composés **9a,b** – **11a,b** – **13a,b** et **15a,b**.

Composé	Masse molaire calculée (g.mol ⁻¹)	Masse de l'ion observé (uma)
9a	1584,13	1583,86
9b	1898,56	1898,16
11a	1586,13	1585,88
11b	1900,56	1900,12
13a	1183,65	1183,85
13b	1297,85	1297,93
15a	1185,65	1185,70
15b	1299,85	1299,71

A titre d'exemple, nous donnons le spectre de la trans-chlorine spermine protégée 11b (Figure III-11).

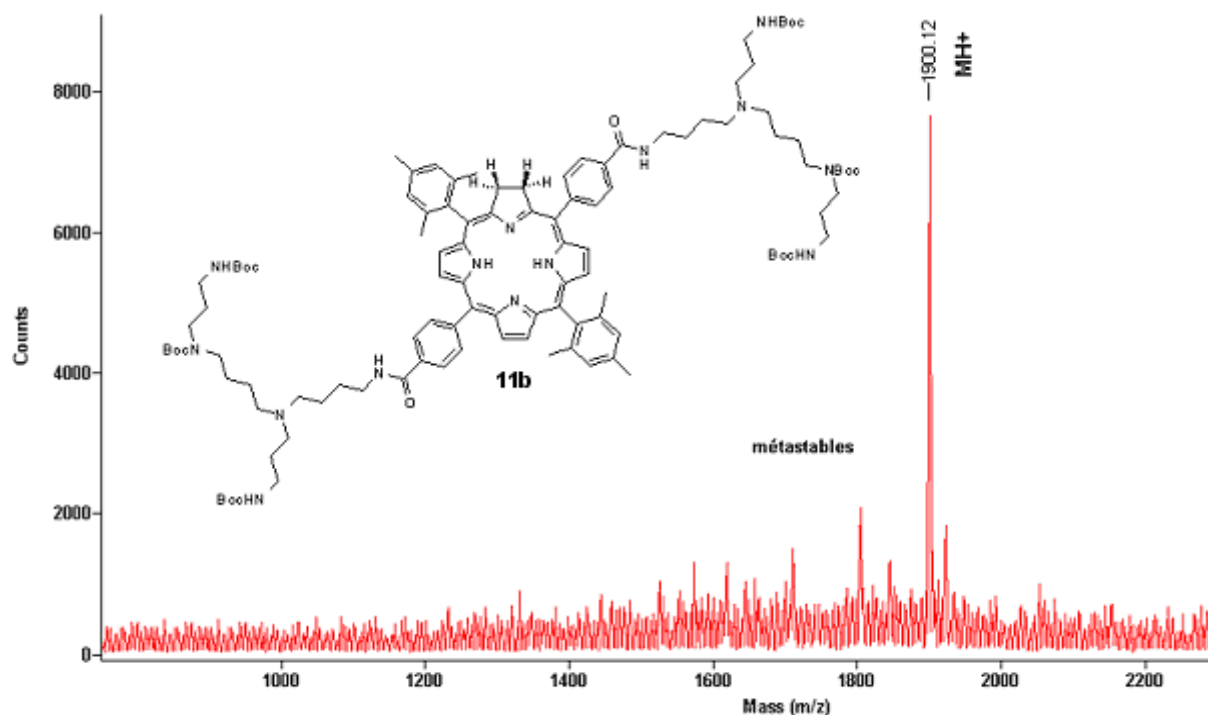


Figure III-11: Spectre de masse MALDI du composé **11b**.

7-3- RMN du proton

Les *trans*-porphyrines et *trans*-chlorines polyaminées ont été analysées par spectroscopie RMN du proton. L'attribution des signaux a été effectuée sur la base des courbes d'intégration et en s'appuyant sur les spectres de corrélation proton-proton. Les spectres des produits protégés **9a,b** et **11a,b** ont été déterminés dans le chloroforme deutéré, tandis que les produits déprotégés **13a,b** et **15a,b** ont été solubilisés dans le méthanol deutéré. Nous avons regroupé, dans le tableau III-3, l'attribution des signaux des macrocycles porphyriniques **9a,b** et **13a,b**. Les principaux groupes de signaux sont présents, à savoir, les protons β -pyrroliques, les protons phényliques, les protons du mésityle ainsi que ceux de la chaîne carbonée du bras et des polyamines (Figure III-12).

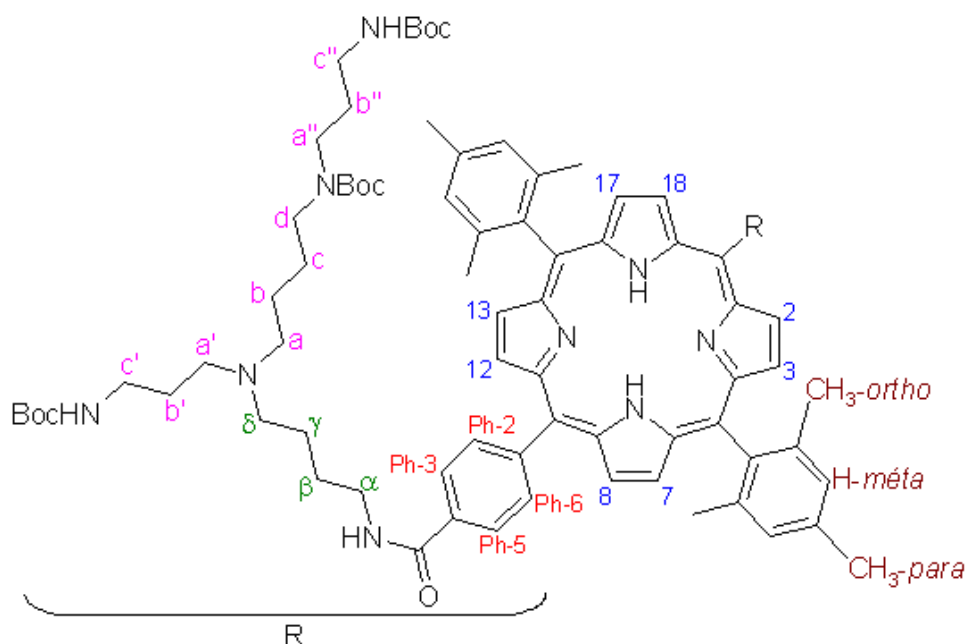


Figure III-12 : Groupe des principaux signaux du spectre RMN ^1H (composé **9b**).

Comme indiqué dans le tableau suivant, les protons β -pyrroliques des produits protégés **9a,b** résonnent sous la forme de deux doublets en raison de la différence des substituants en position *meso* des porphyrines.

Enfin, l'obtention des composés finaux **13a** et **13b** est confirmée par l'absence du signal caractéristique des protons du *tert*-butyloxycarbonyle (Boc) vers 1,40 ppm. Nous remarquons également la disparition du signal correspondant aux protons des NH pyrroliques vers -2,60 ppm (échange avec le solvant).

La figure III-13 présente, à titre d'exemple, le spectre du composé **13a**.

Tableau III-3 : RMN ¹H des porphyrines **9a,b** et **13 a,b**.
 δ, figure, (*J* en Hz), solvant : a : dans le CDCl₃, b : dans le CD₃OD.

H	9a ^a	9b ^a	13a ^b	13b ^b
<u>Pyrrole</u>				
H _β	8,73 d (4,7)- 8,69 d (4,7)	8,74 d (4,7)- 8,70 d (4,6)	8,78 s _{él} -8,67 s _{él}	8,77 s _{él} -8,66 s _{él}
NH	-2,65 s	-2,64 s	-	-
<u>Phényle</u>				
H _{3,5}	8,27 s _{él}	8,28 d (7,5)	8,27 d (7,9)	8,26 s _{él}
H _{2,6}	8,27 s _{él}	8,22 s _{él}	8,20 d (7,2)	8,22 s _{él}
<u>Mésityle</u>				
H- <i>meta</i>	7,28 s	7,28 s	7,25 s	7,23 s
CH ₃ - <i>para</i>	2,63 s	2,63 s	2,57 s	2,55 s
CH ₃ - <i>ortho</i>	1,83 s	1,83 s	1,75 s	1,74 s
<u>Bras espaceur</u>				
α	3,68 m	3,64 m	3,60 m	3,58 m
β	1,55-1,94 m	1,63-1,70 m	1,49-1,71 m	1,25-1,55 m
γ	1,55-1,94 m	1,63-1,70 m	1,49-1,71 m	1,25-1,55 m
δ	3,16-3,22 m	2,58 m	2,51-2,77 m	2,29-2,91 m
NH	6,06 m	5,29 s	-	-
<u>Polyamine</u>				
a	3,16-3,22 m	2,58 m	2,51-2,77 m	2,29-2,91 m
b	1,55-1,94 m	1,52 m	1,49-1,71 m	1,25-1,55 m
c	1,55-1,94 m	1,52 m	1,49-1,71 m	1,25-1,55 m
d	3,48 m	3,22-3,28 m	2,51-2,77 m	2,29-2,91 m
a'	3,16-3,22 m	2,58 m	2,51-2,77 m	2,29-2,91 m
b'	1,55-1,94 m	1,63-1,70 m	1,49-1,71 m	1,25-1,55 m
c'	3,38 m	3,22-3,28 m	2,51-2,77 m	2,29-2,91 m
a''	-	3,22-3,28 m	-	2,29-2,91 m
b''	-	1,63-1,70 m	-	1,25-1,55 m
c''	-	3,22-3,28 m	-	2,29-2,91 m
NH	4,87 s _{él} - 4,26 s _{él}	5,29 s	-	-
<u>Boc</u>				
CH ₃	1,42 s	1,44 s	-	-

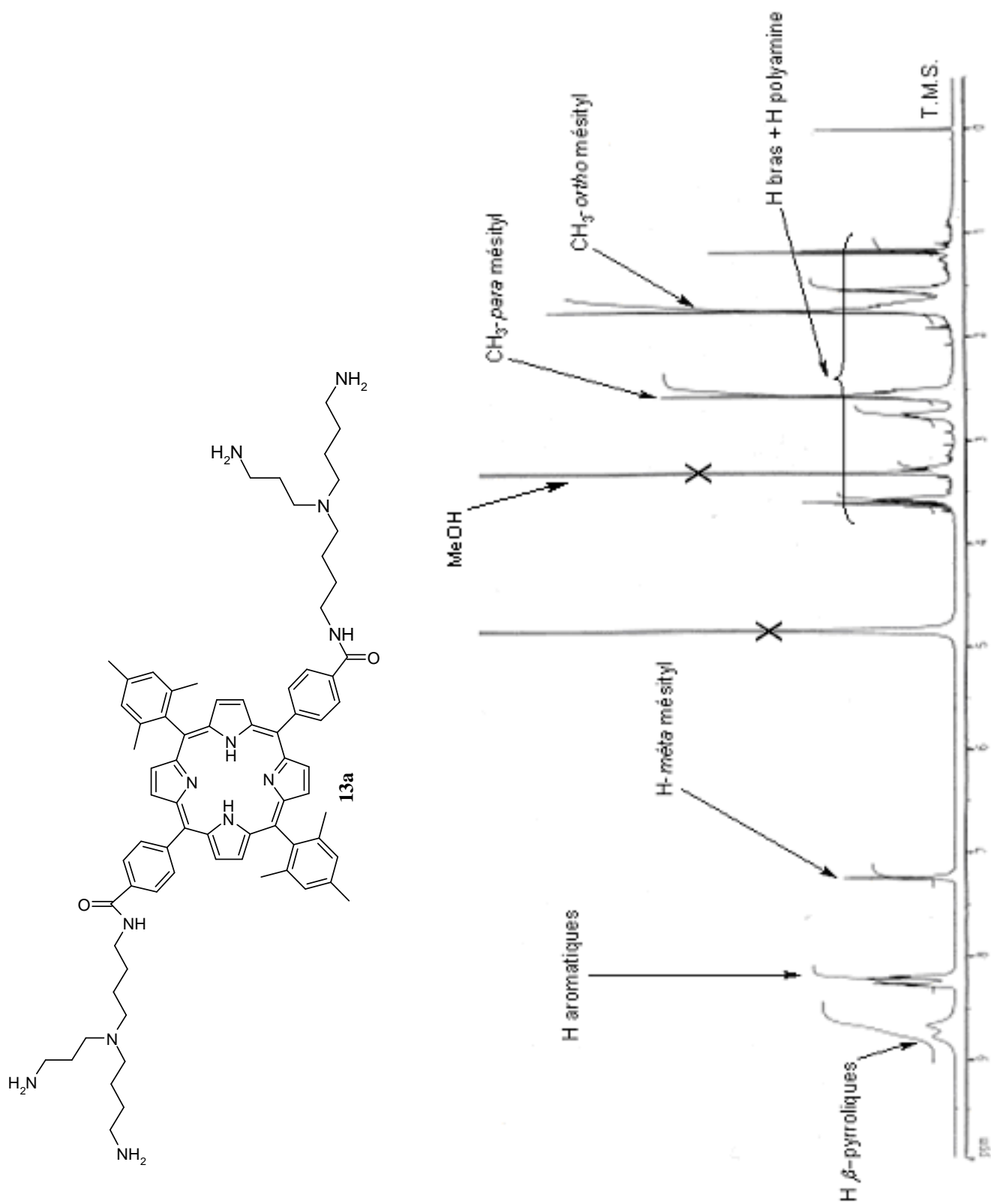


Figure III-13 : Spectre RMN ^1H du composé **13a**.

Nous observons que les protons β -pyrroliques résonnent sous la forme de deux singulets élargis distincts à 8,78 ppm et 8,67 ppm. Les protons des phényles apparaissent sous la forme de deux doublets. Ceux portés par le méthyle en position *para* du mésityle résonnent vers 2,55 ppm sous la forme d'un singulet tandis que les méthyles en *ortho*, plus blindés, résonnent à 1,74 ppm sous la forme d'un singulet. Cette différence de déplacement chimique peut s'expliquer par la présence des protons des méthyles, en position *ortho*, au voisinage du cône de blindage du macrocycle. Les protons du bras espaceur ainsi que ceux présents sur la polyamine résonnent entre 1,50 ppm et 3,70 ppm.

Les spectres de résonance magnétique des chlorines **11a,b** et **15a,b** présentent les mêmes grandes catégories de signaux que les porphyrines précédentes :

- les protons β -pyrroliques.
- les protons des phényles et des mésityles.
- les protons présents sur le bras espaceur.
- les protons de la polyamine.
- les protons des NH internes.

Nous observons, de plus, l'apparition du signal des protons présents sur le cycle pyrrolidine caractéristique des chlorines (Tableau III-4). Cependant, le dédoublement des signaux semble indiquer une perte de symétrie des molécules. Celle-ci se traduit par une modification des figures et des déplacements chimiques des protons β -pyrroliques et des protons présents sur le mésityle.

A titre d'exemple nous donnons le spectre de la *trans*-chlorine spermidine protégée **11a** (Figure III-14)

Tableau III-4 : RMN ¹H des chlorines **11a,b** et **15 a,b**.δ, figure, (*J* en Hz), solvant : a : dans le CDCl₃, b : dans le CD₃OD.

H	11a^a	11b^a	15a^b	15b^b
<u>Pyrrole</u>				
H_β	8,50 d (4,7)-8,43 d (4,7)-8,32 d (4,4)- 8,29 d (4,4)-8,10 m	8,50 d _{él} (3,1)-8,42 d (4,1)-8,32 d _{él} (3,9)-8,29 d (4,10)-8,09 d _{él} (4,5)	8,56 d _{él} (5,6)-8,42 d (4,5)-8,31 d (4,4) 8,23 d (4,3) 8,12 d (4,3)	8,56 d _{él} (6,8)- 8,42 d (4,8)-8,31 d (4,5) 8,23 d (4,3) 8,12 d (4,8)
CH₂_β	3,92 m-4,12 m	3,92 m-4,11 m	3,94 m-4,18 m	3,95 m-4,19 m
NH	-1,40 s	-1,35 ; -1,40 s	-	-
<u>Phényle</u>				
H_{3,5}	7,94-8,17 m	7,95-8,18 m	8,00-8,18 m	7,97-8,18 m
H_{2,6}	7,94-8,17 m	7,95-8,18 m	8,00-8,18 m	7,97-8,18 m
<u>Mésityle</u>				
H-meta	7,21 s-7,23 s	7,21 s-7,23 s	7,23 s _{él}	7,23 s _{él}
CH₃-para	2,54 s-2,57 s	2,54 s-2,58 s	2,51 s-2,56 s	2,51 s-2,55 s
CH₃-ortho	1,85 s-1,86 s	1,85 s-1,86 s	1,81 s-1,83 s	1,82 s-1,84 s
<u>Bras espaceur</u>				
α	3,63 m	3,63 m	3,57 m	3,60 m
β	1,83-1,86 m	1,53-1,74 m	1,67-1,76 m	1,27-1,40 m
γ	1,83-1,86 m	1,53-1,74 m	1,67-1,76 m	1,27-1,40 m
δ	3,09-3,20 m	2,79-3,30 m	2,57-2,67 m	2,60-2,91 m
NH	5,44 m	4,70-5,44 m	-	-
<u>Polyamine</u>				
a	3,09-3,20 m	2,79-3,30 m	2,57-2,67 m	2,60-2,91 m
b	1,83-1,86 m	1,53-1,74 m	1,67-1,76 m	1,27-1,40 m
c	1,83-1,86 m	1,53-1,74 m	1,67-1,76 m	1,27-1,40 m
d	3,23-3,31 m	2,79-3,30 m	2,57-2,67 m	2,60-2,91 m
a'	3,09-3,20 m	2,79-3,30 m	2,57-2,67 m	2,60-2,91 m
b'	1,83-1,86 m	1,53-1,74 m	1,67-1,76 m	1,27-1,40 m
c'	3,23-3,31 m	2,79-3,30 m	2,57-2,67 m	2,60-2,91 m
a''	-	2,79-3,30 m	-	2,60-2,91 m
b''	-	1,53-1,74 m	-	1,27-1,40 m
c''	-	2,79-3,30 m	-	2,60-2,91 m
NH	4,87 s _{él} -5,30 s _{él}	4,70-5,44 m	-	-
<u>Boc</u>				

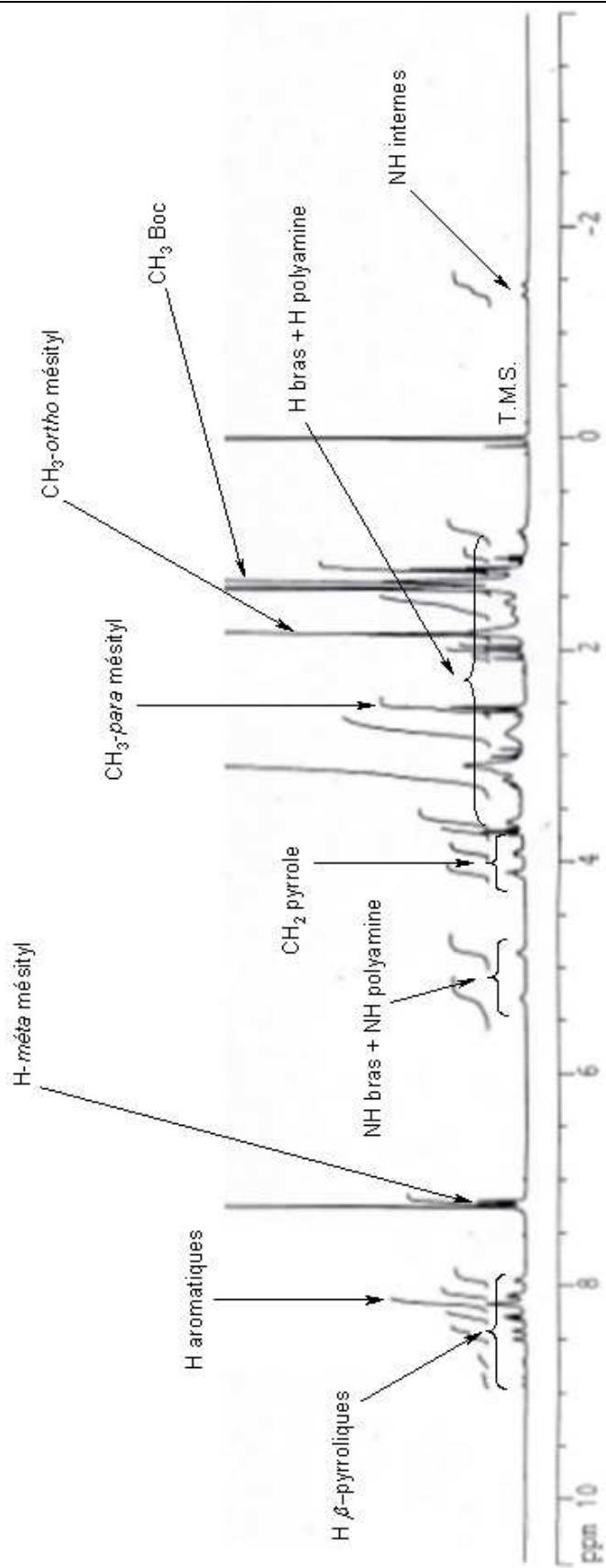
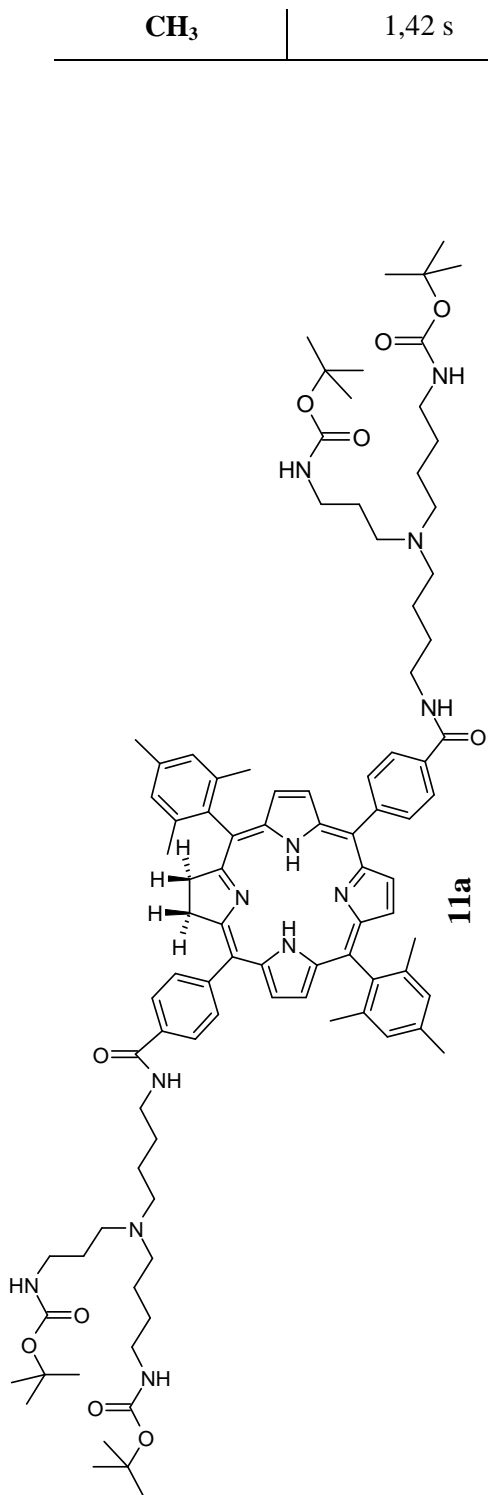


Figure III-14 : Spectre RMN ¹H du composé **11a**.

Nous observons cinq signaux (4 doublets et 1 multiplet), entre 8,50 ppm et 8,10 ppm, correspondants aux protons β -pyrroliques. Les protons de la liaison réduite résonnent, quant à eux, sous la forme de signaux distincts à 3,92 ppm et 4,12 ppm. Ce dédoublement de figure apparaît également pour les protons portés par le groupement mésityle (7,21 ppm et 7,23 ppm), sous la forme de deux singulets. Les signaux des protons portés par les méthyles en *para* et *ortho* du mésityle sont eux aussi dédoublés et résonnent respectivement vers 2,55 ppm et 1,85 ppm. L'intégration de ces signaux est en accord avec la structure de la molécule. Enfin les protons portés par les azotes du bras et de la polyamine résonnent aux alentours de 5,00 ppm et ceux portés par les carbones du bras et de la polyamine se situent entre 1,50 et 3,70 ppm.

Les spectres des chlorines déprotégées **15a,b** présentent également les mêmes caractéristiques (dédoublément des signaux).

CHAPITRE IV :

SYNTHESE DE TRIMERES DE PORPHYRINE ET DE CHLORINE

Chapitre IV

Synthèse de trimères de porphyrine et de chlorine

1- Introduction

Le Photofrin[®] est le photosensibilisateur le plus largement utilisé en photothérapie dynamique des cancers. Cependant cet anticancéreux est un mélange composé essentiellement de dimères d'hématoporphyrines mais aussi d'oligomères comprenant trois à six unités porphyriniques.¹²⁶ De nombreuses études se sont orientées vers la synthèse de dimères macrocycliques et il semblerait que la nature de la liaison entre les porphyrines joue un rôle particulier dans l'activité antitumorale. Ainsi Pandey et *coll.*¹²⁷ ont montré que les dimères possédant une liaison éther ou carbone-carbone étaient plus efficace, vis-à-vis des cellules cancéreuses, que ceux reliés par une liaison ester ou amide. Cependant peu de travaux se sont intéressés à la synthèse de trimères. Enfin, nous avons vu précédemment l'intérêt d'utiliser, en PDT, des chlorines pour le traitement de cancers plus profonds. Ainsi, en tenant compte de tous ces résultats, nous nous sommes proposés de synthétiser un trimère comprenant trois unités porphyrines **20** et un trimère comportant deux motifs porphyriniques encadrant une chlorine **21**. Toutes ces unités sont reliées entre elles par des liaisons éthers (Figure IV-1).

¹²⁶ R. K. Pandey, K. M. Smith, T. J. Dougherty ; *J. Med. Chem.*, **1990**, 30, 2032-2038.

¹²⁷ R. K. Pandey, G. Zheng, D. A. Lee, T. J. Dougherty, K. M. Smith ; *J. Mol. Recognit.*, **1996**, 9, 118-122.

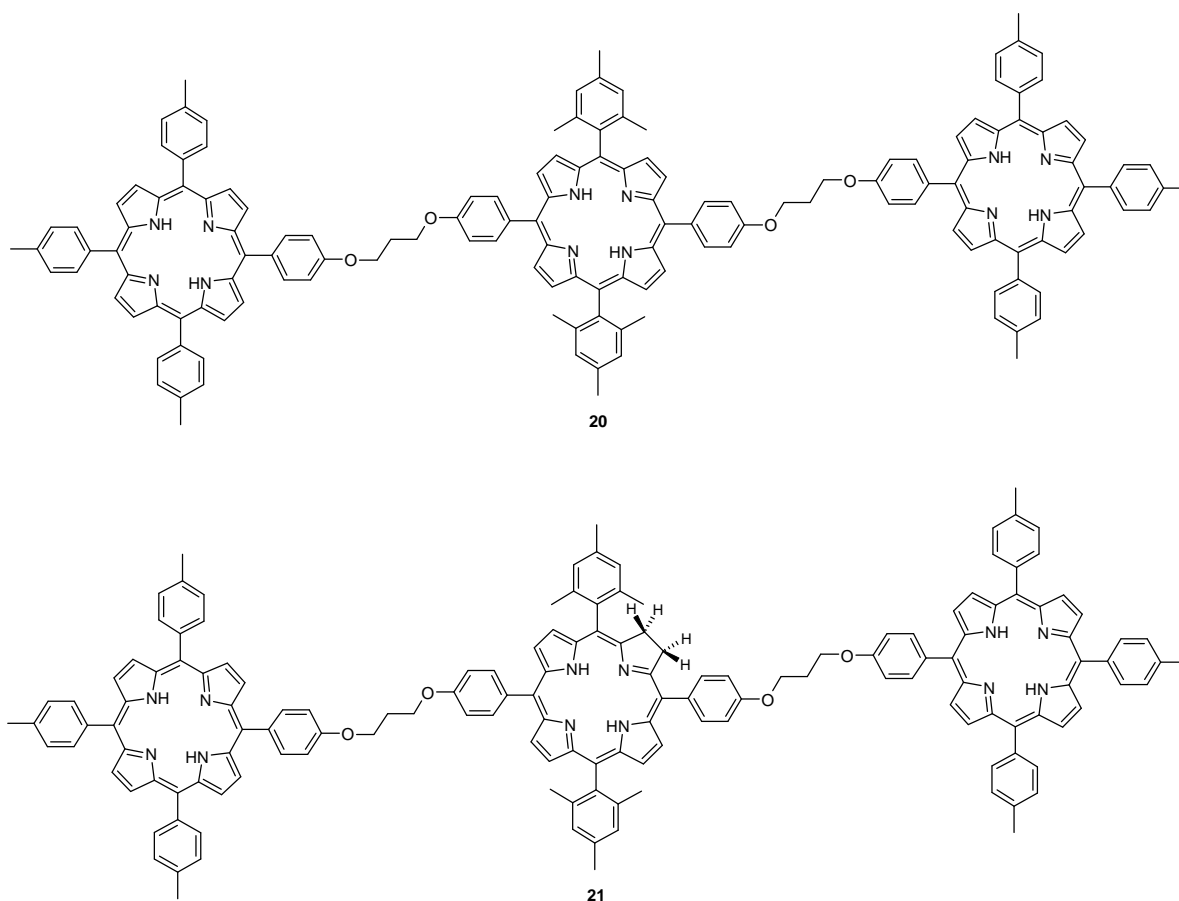


Figure IV-1 : Structures des trimères synthétisés **20** et **21**.

2- Stratégie de synthèse

Les étapes de synthèse de ces trimères sont représentées sur le schéma rétrosynthétique de la figure IV-2. La stratégie de synthèse que nous avons appliquée consiste à former, dans un premier temps, une tritolyl-mono(hydroxyphényl)porphyrine portant une chaîne alkyle puis de condenser, dans un second temps, ce précurseur avec une *trans*-porphyrine ou une *trans*-chlorine dihydroxylée afin d'obtenir les composés souhaités.

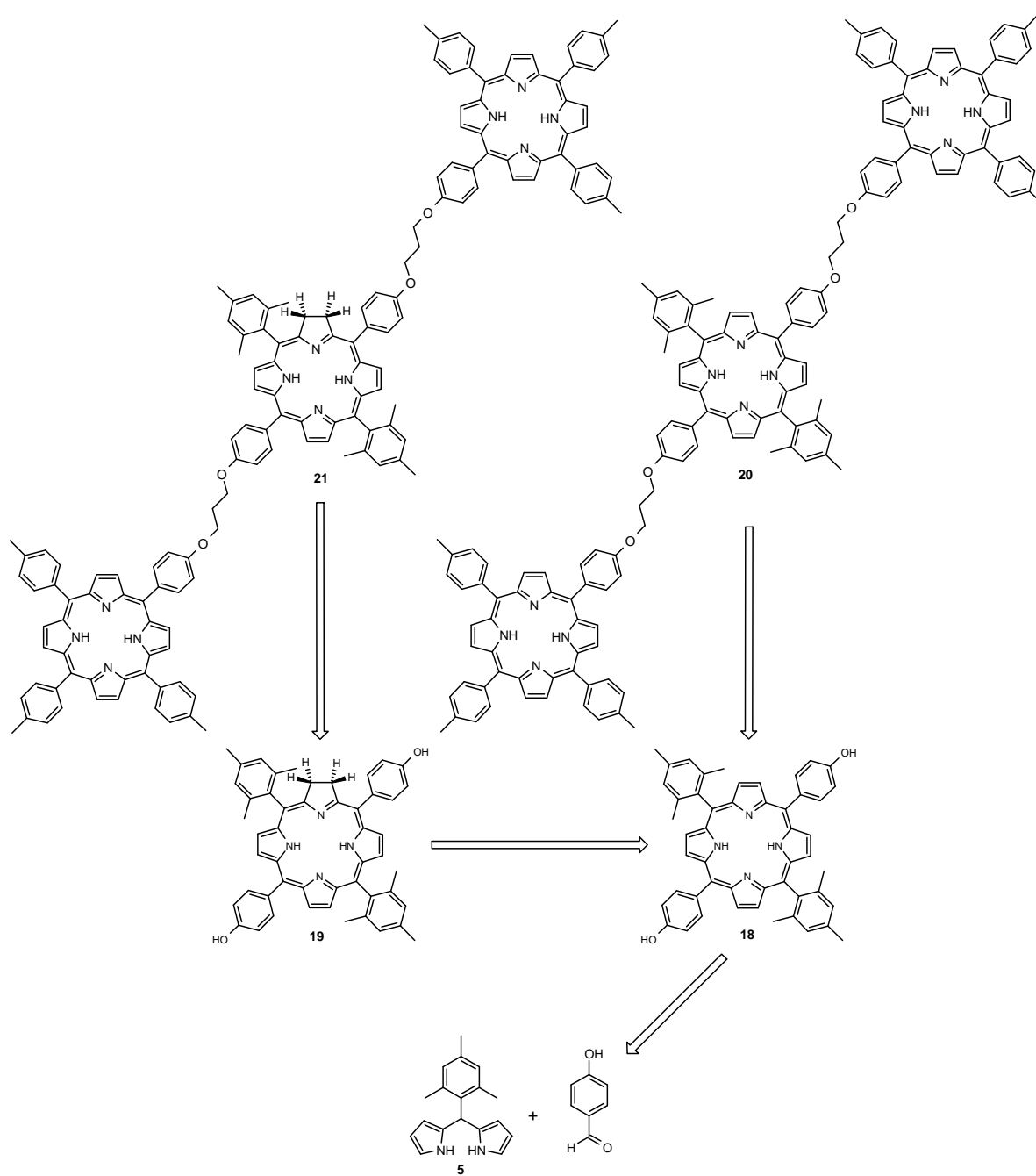


Figure IV-2 : Schéma rétrosynthétique.

3- Synthèse de la mono *para*-hydroxyphényltritolylporphyrine

Afin d'obtenir cette molécule, nous avons utilisé la méthode dite des aldéhydes mixtes, présentée au chapitre I. Cette synthèse est bien adaptée à la formation de la mono-hydroxyphényltritolylporphyrine car elle est relativement simple à mettre en œuvre et ces composés cristallisent aisément (Figure IV-3).¹²⁸

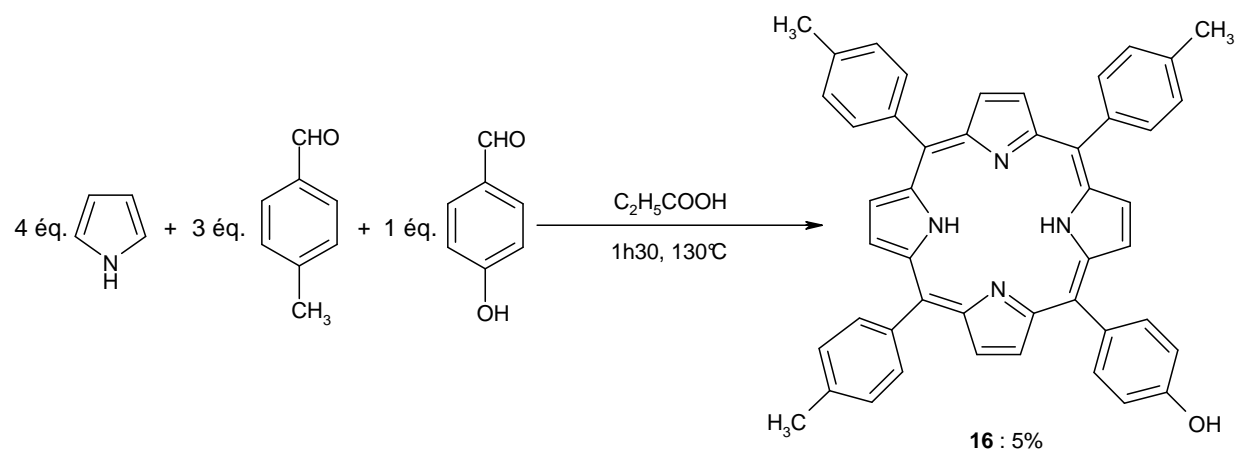


Figure IV-3 : Synthèse de la mono *para*-hydroxyphényltritolylporphyrine **16**.

On obtient alors après purification par chromatographie sur colonne, le composé **16** avec un rendement de 5%. Celui-ci, bien que faible, est conforme à ce type de réaction et résulte en partie de la polymérisation concomitante du pyrrole.

4- Synthèse de la mono *para*-(3-iodopropoxyphényl)tritolylporphyrine

Afin d'achever la synthèse du précurseur porphyrinique **17**, nous avons fixé une chaîne comprenant trois carbones sur la fonction hydroxyle de la mono-hydroxyphényltritolylporphyrine. Le composé **16** a été alkylé suivant la méthode de Williamson (Figure IV-4).

¹²⁸ G. Etemad-Moghadam, L. Ding, F. Tadj, B. Meunier ; *Tetrahedron*, **1989**, 45, 2641-2648.

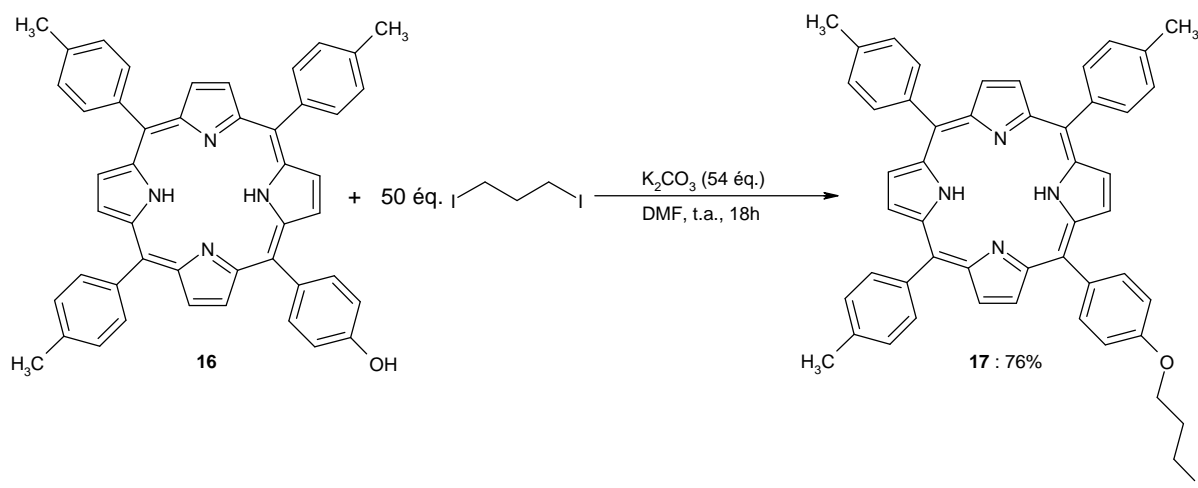


Figure IV-4 : Fixation de la chaîne carbonée par la méthode de Williamson.

Pour cela, on fait réagir le 1,3-diiodopropane sur le groupement hydroxyle du composé **16**. Cette substitution nucléophile s'effectue dans le diméthylformamide rigoureusement anhydre en présence d'un large excès de carbonate de potassium. Le composé est purifié, après un traitement classique, par chromatographie préparative sur plaques de silice. Le rendement optimum (76%) est obtenu après 18 heures de réaction à température ambiante. Une élévation de la température entraîne une augmentation de la vitesse de réaction mais également une dégradation partielle du produit formé.

5- Synthèse de la bis(hydroxyphényl)-bis(mésityl)porphyrine

Pour réaliser la synthèse de cette trans-porphyrine, nous avons choisi la méthode de Lindsey. Comme décrit précédemment dans le chapitre III, cette synthèse fait appel à la formation d'un meso-mésityldipyrrométhane, intermédiaire encombré limitant la formation de l'isomère cis (Figure IV-5).

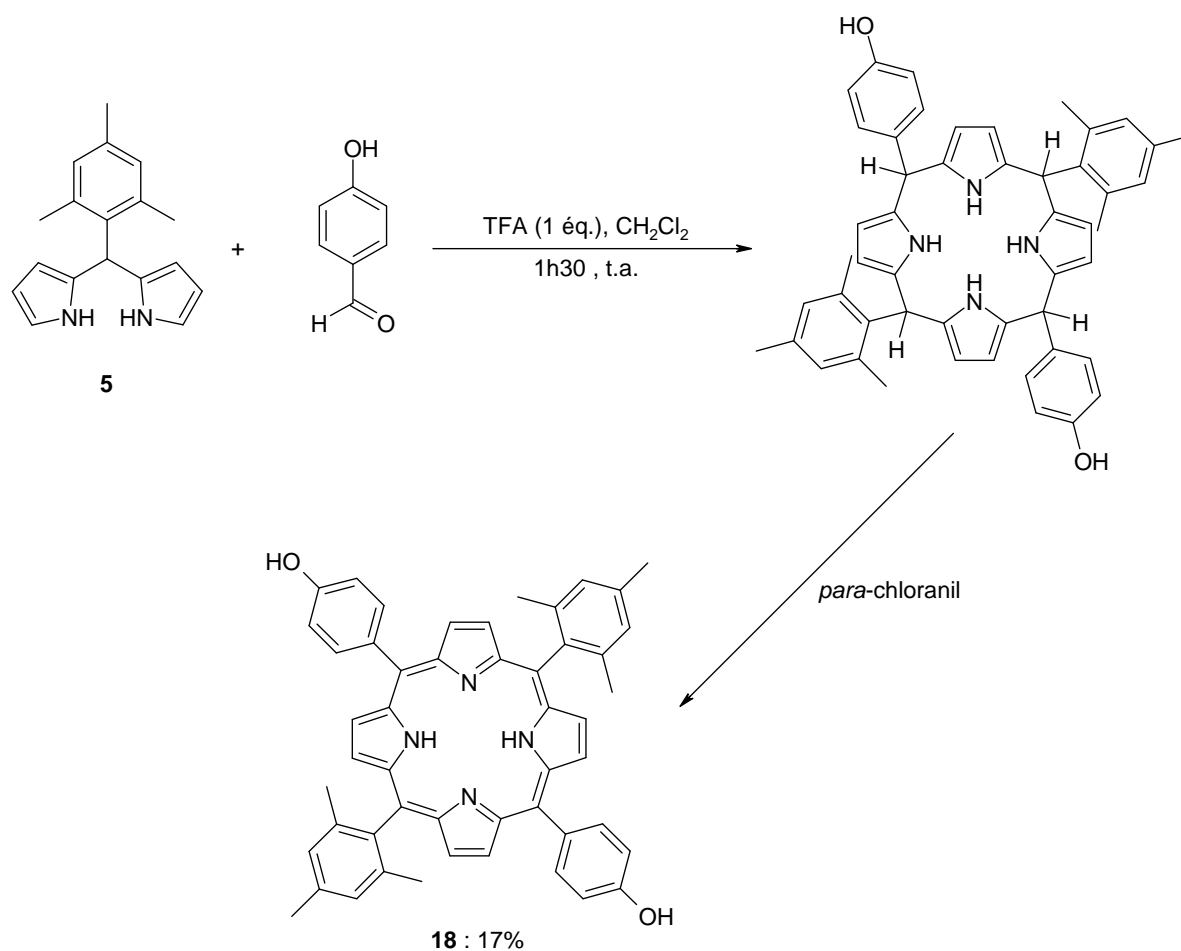


Figure IV-5 : Synth\u00e8se de la *trans*-porphyrine **18** par la m\u00e9thode de Lindsey.

La condensation d'un m\u00e9lange \u00e9quimolaire de *meso*-m\u00e9sityldipyrrom\u00e9thane et de 4-hydroxybenzald\u00e9hyde en pr\u00e9sence d'acide trifluoroac\u00e9tique, dans le dichlorom\u00e9thane et \u00e0 temp\u00e9rature ambiante, conduit \u00e0 la formation d'un porphyrinog\u00e8ne. Celui-ci est alors oxyd\u00e9 par le *para*-chloranil pour former, apr\u00e8s purification, la *trans*-porphyrine **18** avec un rendement de 17%. Ce rendement est plus faible que ceux g\u00e9n\u00e9ralement obtenus pour ce type de r\u00e9action. Cette diff\u00e9rence peut s'expliquer par la formation d'une porphyrine poss\u00e9dant deux fonctions hydroxyles qui est purifi\u00e9e avec difficult\u00e9.

6- Synthèse de la bis(hydroxyphényl)-bis(mésityl)chlorine

Cette synthèse est réalisée en présence de diimide, obtenu par décomposition thermique du *para*-toluènesulfonylhydrazide (chapitre II-5). La réaction, suivie par spectroscopie UV-visible, se déroule dans la pyridine anhydre en présence de carbonate de sodium. Après oxydation par l'*ortho*-chloranil, puis purification, la *trans*-chlorine **19** est obtenue avec 58% de rendement (Figure IV-6).

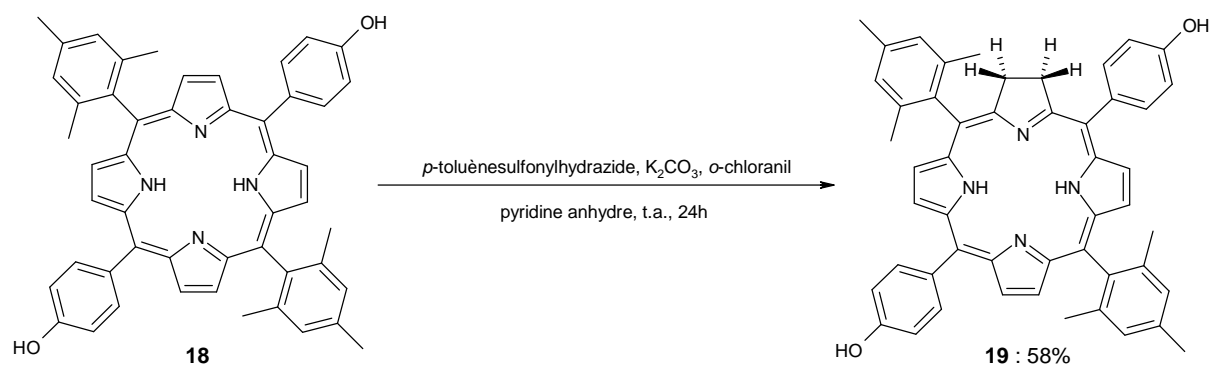


Figure IV-6 : Formation de la *trans*-chlorine **19**.

7- Synthèse des trimères

La condensation du précurseur porphyrinique **17** sur la porphyrine **18** ou sur la chlorine **19** est réalisée selon la méthode de Williamson décrite précédemment (Figure IV-7 et IV-8).

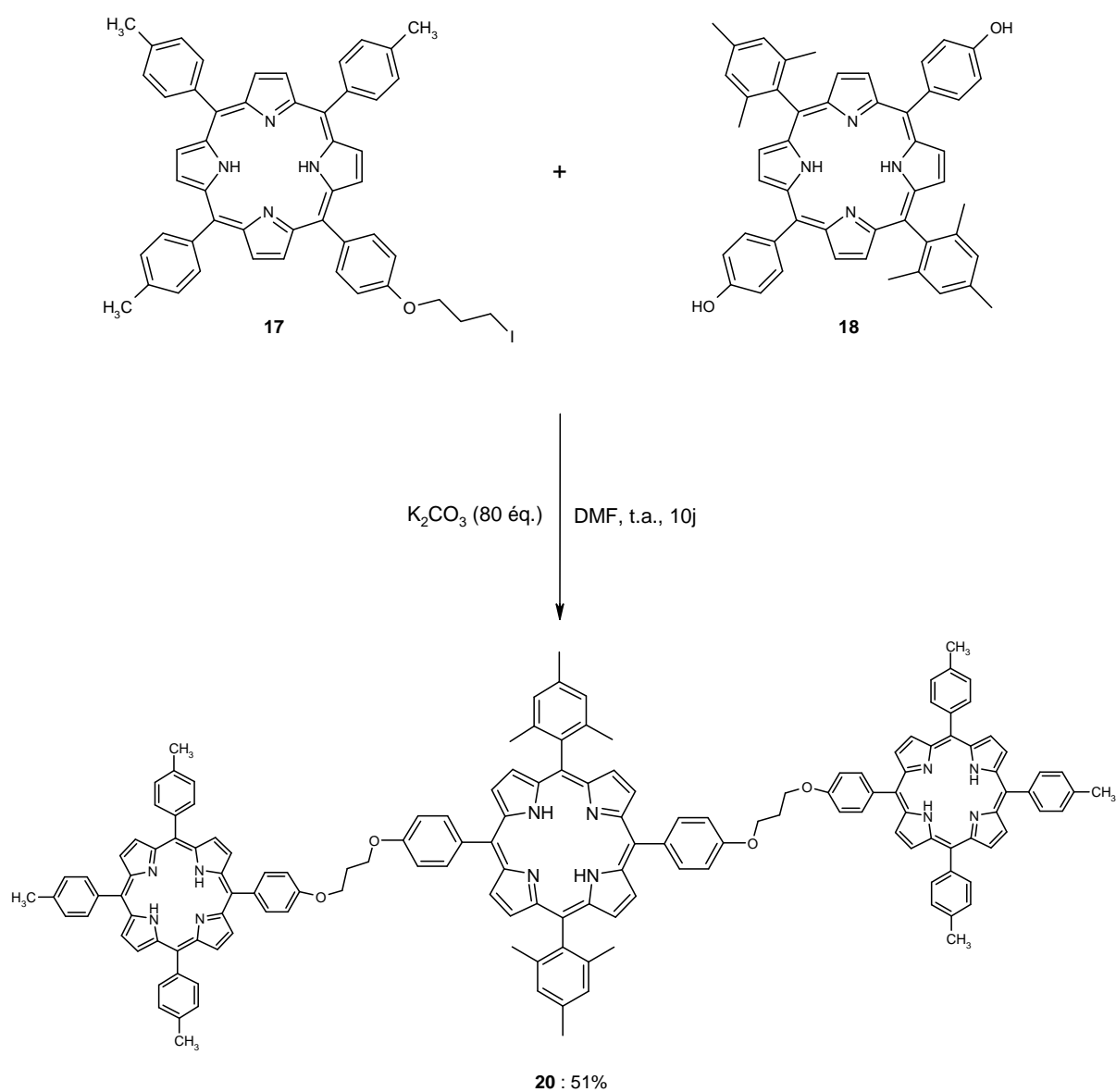


Figure IV-7 : Synthèse du trimère **20**.

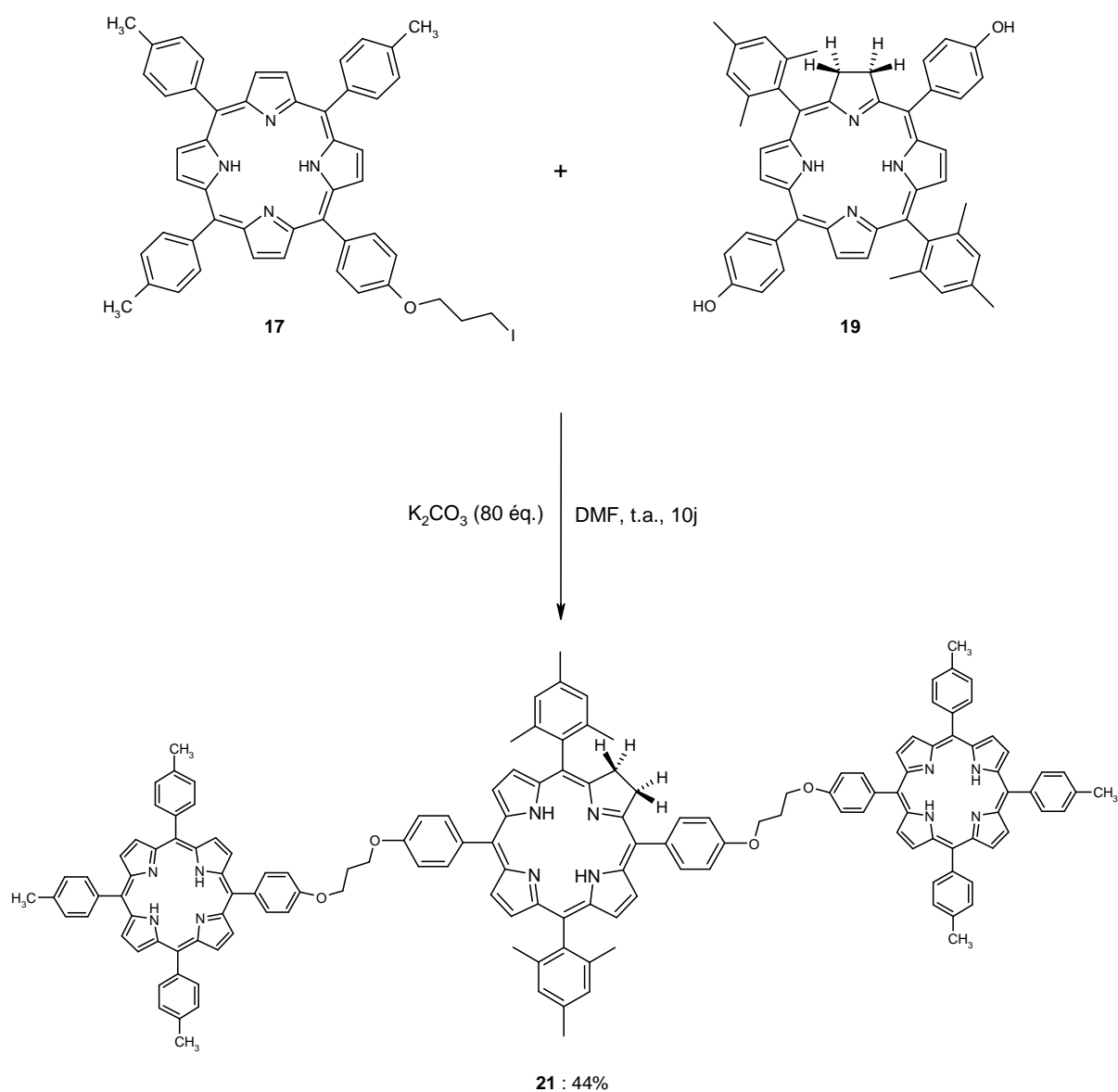


Figure IV-8 : Synthèse du trimère **21**.

La réaction consiste à faire réagir la porphyrine **18** et la chlorine **19** avec un excès du précurseur iodé **17** en présence de carbonate de potassium dans le diméthylformamide anhydre. Après dix jours de réaction et purification, les trimères **20** et **21** sont isolés, avec des rendements respectifs de 51% et 44%. Des bases plus fortes (NaOH, KOH) n'ont donné aucune conversion.

8- Caractérisations

8-1- Spectroscopie UV-visible

Les spectres des composés **16** et **17**, ainsi que ceux des trimères **20** et **21**, ont été réalisés dans le dichlorométhane. En ce qui concerne la *trans*-porphyrine **18** et la *trans*-chlorine **19**, les mesures ont été effectuées dans le méthanol (Tableau IV-1).

Tableau IV-1 : Bandes caractéristiques des spectres UV-visible des composés **16** - **17** - **18** - **19** - **20** et **21**.

λ_{\max} (nm) [coefficient d'absorption ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$)], à 20°C, (a : dans le dichlorométhane, b : dans le méthanol).

Composés	Bande de Soret	Q IV	Q III	Q II	Q I
16 ^a	418 (363,0)	516 (13,5)	552 (7,4)	592 (4,0)	648 (4,3)
17 ^a	420 (477,1)	516 (14,5)	552 (11,5)	592 (4,9)	648 (3,8)
18 ^b	418 (308,0)	515 (14,1)	552 (10,0)	595 (6,2)	650 (6,1)
19 ^b	420 (173, 7)	520 (12,7)	547 (9,6)	598 (5,1)	651 (26,2)
20 ^a	420 (705,8)	517 (19,7)	552 (17,7)	592 (7,4)	647 (4,9)
21 ^a	421 (698,9)	518 (19,1)	551 (16,5)	594 (7,2)	651 (23,2)

Les spectres obtenus (**16-18**) correspondent à ceux généralement observés pour les porphyrines de type base libre et présentent une forte bande d'absorption vers 420 nm (Bande de Soret) et sont de type *etio*. Cependant, le composé **16**, présente une légère modification dans l'intensité relative des bandes I et II, conduisant à un spectre atypique avec une bande QI d'intensité supérieure à QII.

D'après la littérature, nous observons, dans le cas d'hétérodimères porphyrine-chlorine, une

superposition des spectres de chaque monomère.¹²⁹ Ainsi dans notre cas, on s'attendrait à obtenir un coefficient molaire pour le trimère égal à la somme des coefficients molaires de chaque monomère, or ce n'est pas le cas. Ceci pourrait s'expliquer par une interaction entre les macrocycles qui diminue l'intensité des bandes d'absorption.

Nous donnons à titre d'exemple, sur la figure IV-8, le spectre du trimère **21**.

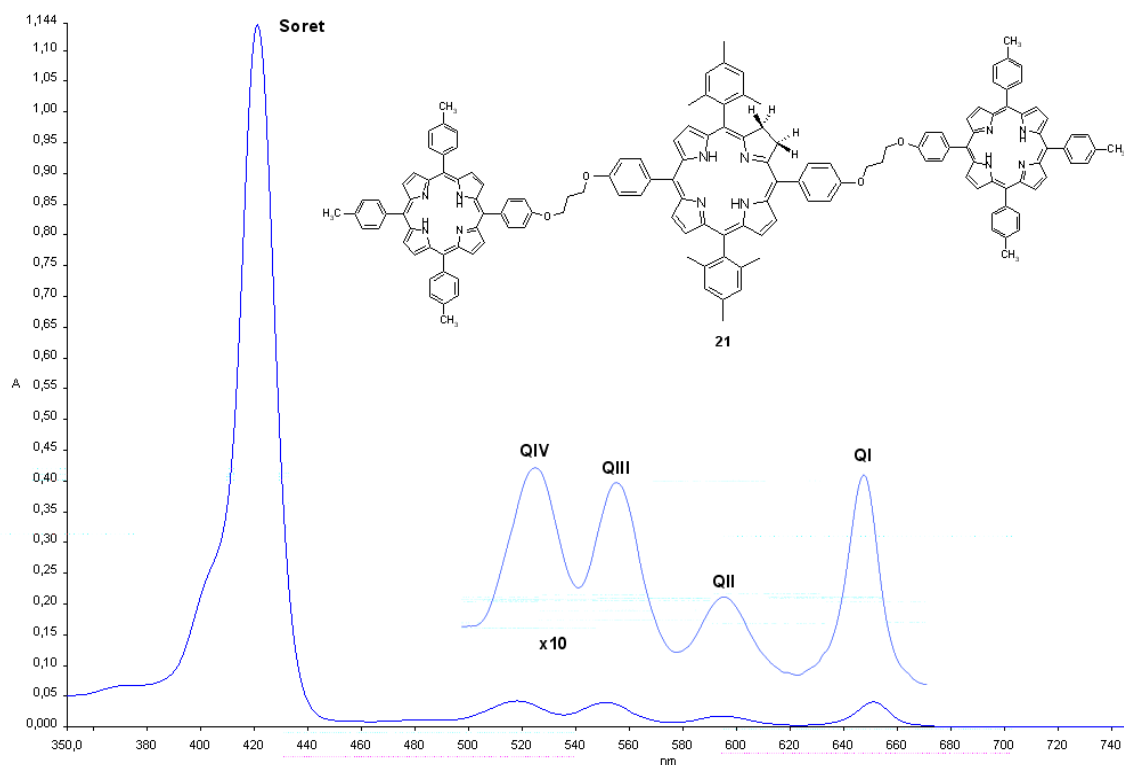


Figure IV-8 : Spectre UV-visible du composé **21** dans le dichlorométhane.

8-2- Spectrométrie de masse MALDI

Les porphyrines 16, 17 et 18 ainsi que la chlorine 19 et les trimères 20 et 21 ont été caractérisés par spectrométrie de masse MALDI et tous les spectres présentent le pic quasi-moléculaire $[M+H]^+$. L'ensemble des résultats est reporté dans le tableau IV-2.

¹²⁹ E. I. Zenkevich, V. N. Knyukshto, A. M. Shulga, V. A. Kuzmitsky, V. I. Gael, E. G. Levinson, A. F. Mironov ; *J. Lumin.*, **1997**, 75, 229-244.

Tableau IV-2 : Spectrométrie de masse MALDI des composés **16** – **17** – **18** – **19** – **20** et **21**.

Composés	Masse molaire calculée (g.mol ⁻¹)	Masse de l'ion observé (uma)
16	672,84	673,60
17	840,70	841,80
18	730,90	731,29
19	732,93	733,21
20	2156,72	2156,05
21	2158,74	2158,09

A titre d'exemple, nous donnons le spectre du trimère **20** (Figure IV-9).

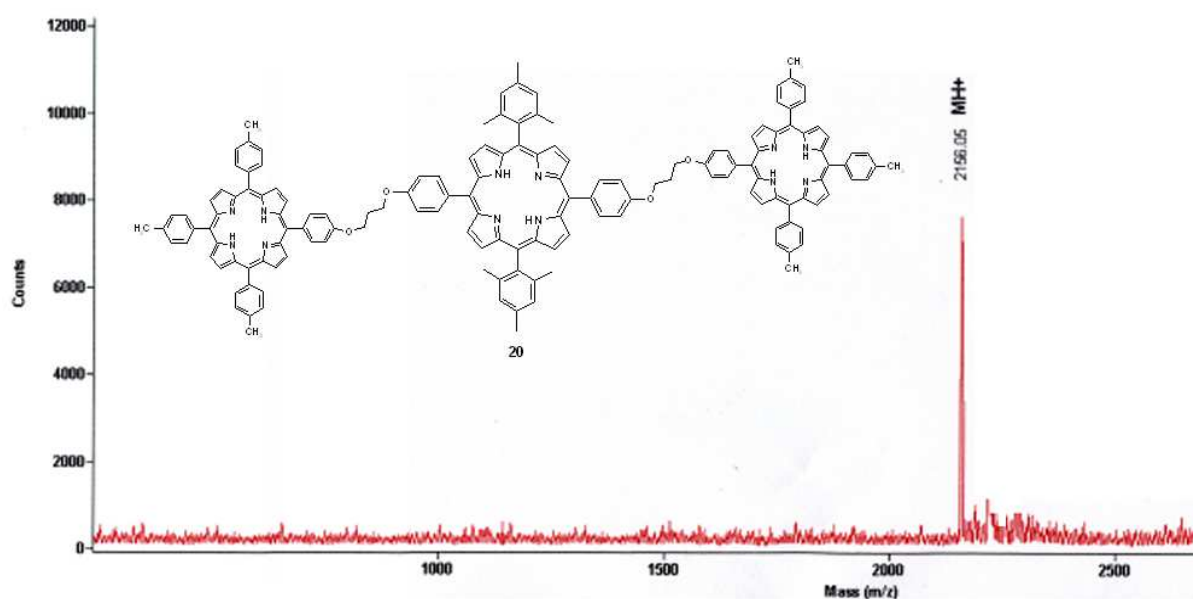


Figure IV-9: Spectre de masse MALDI du composé **20**.

8-3- RMN du proton

L'attribution des signaux a été effectuée sur la base des courbes d'intégration. Les spectres des produits **16** et **17** ainsi que les trimères **20** et **21** ont été mesurés dans le chloroforme deutéré, tandis que la *trans*-porphyrine **18** et la *trans*-chlorine **19** ont été solubilisés dans le méthanol deutéré.

8-3-1- Etude des spectres des monomères

Le tableau VI-3 présentent les attributions des différents signaux des monomères **16**, **17**, **18**, et **19**. Les groupes de signaux sont représentés dans la figure IV-10.

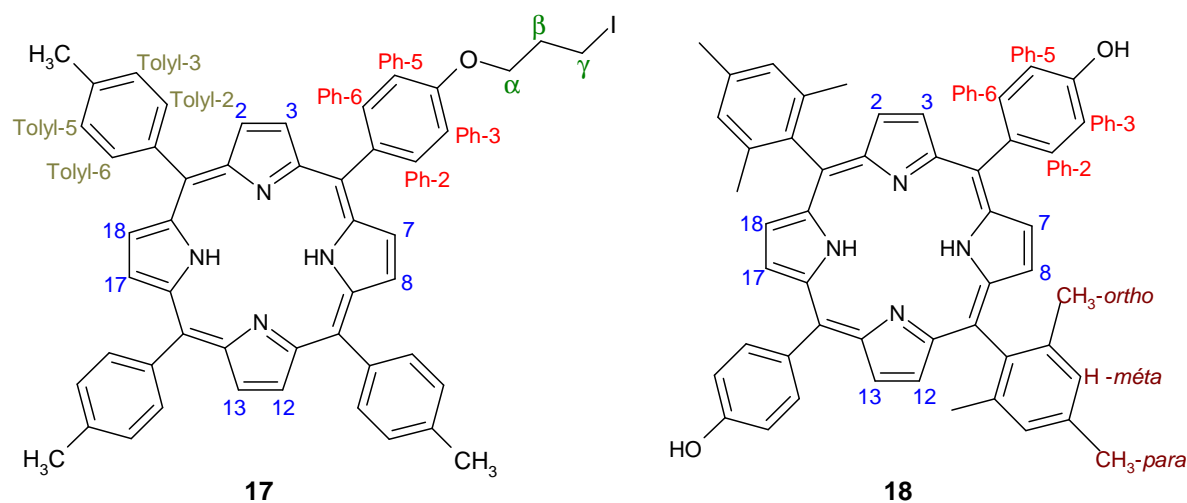


Figure IV-10 : Groupe des principaux signaux du spectre RMN ¹H (composés **17** et **18**).

Tableau IV-3 : RMN ¹H des composés **16** – **17** - **18** et **19**.δ, figure, (*J* en Hz), solvant : a : dans le CDCl₃, b : dans le CD₃OD.

H	16 ^a	17 ^a	18 ^b	19 ^b
<u>Pyrrole</u>				
H _β	8,93 d (4,4)- 8,84 s	8,84 s _{él}	8,86 s _{él} - 8,68 s _{él}	8,62 d (4,8)-8,41 d(4,4)- 8,38 d (4,9)-8,22 d (4,9)- 8,20 d (4,5)-8,06 d (4,8)
CH ₂ β	-	-	-	4,20 m-3,90 m
NH	-2,76 s _{él}	-2,75 s _{él}	-	-
<u>Phényle</u>				
H _{2,6}	8,03 d (8,2)	8,09 d _{él} (8,5)	7,78 s	7,89 d (8,3)-7,68 d (8,2)
H _{3,5}	7,15 d (8,2)	7,23 d _{él} (8,5)	7,76 s	7,12 d (8,3)-7,10 (8,3)
<u>Tolyle</u>				
H _{2,6}	8,08 d (7,7)	8,08 d _{él} (7,5)	-	-
H _{3,5}	7,53 d (7,7)	7,53 d _{él} (7,5)	-	-
CH ₃	2,69 s	2,69 s	-	-
<u>Mésityle</u>				
H- <i>meta</i>	-		7,30 s	7,30 s _{él}
CH ₃ - <i>para</i>	-		2,63 s	2,55s-2,50s
CH ₃ - <i>ortho</i>	-		1,84 s	1,83s _{él} -1,82s _{él}
<u>O-bras espaceur</u>				
α	-	4,27 t _{él} (6,1)	-	-
β	-	2,43 quint _{él} (6,1)	-	-
γ	-	3,51 t _{él} (6,1)	-	-

Nous retrouvons, pour les porphyrines **16**, **17** et **18**, les signaux caractéristiques des composés tétrapyrroliques *meso*-substitués. La *trans*-chlorine **19** présente, elle aussi, des signaux en accord avec sa structure, avec notamment l'apparition des signaux des protons du cycle pyrrolidine. Cependant nous remarquons, comme précédemment dans le chapitre III, une perte de symétrie de la molécule se traduisant par un dédoublement des signaux des protons β -pyrroliques ainsi que ceux du phényle et du mésityle.

8-3-2- Etude des spectres des trimères

Les trimères **20** et **21** ont ensuite été caractérisés par RMN ^1H et les résultats sont reportés dans le tableau IV-4. Les différents groupes de signaux sont représentés dans la figure IV-11.

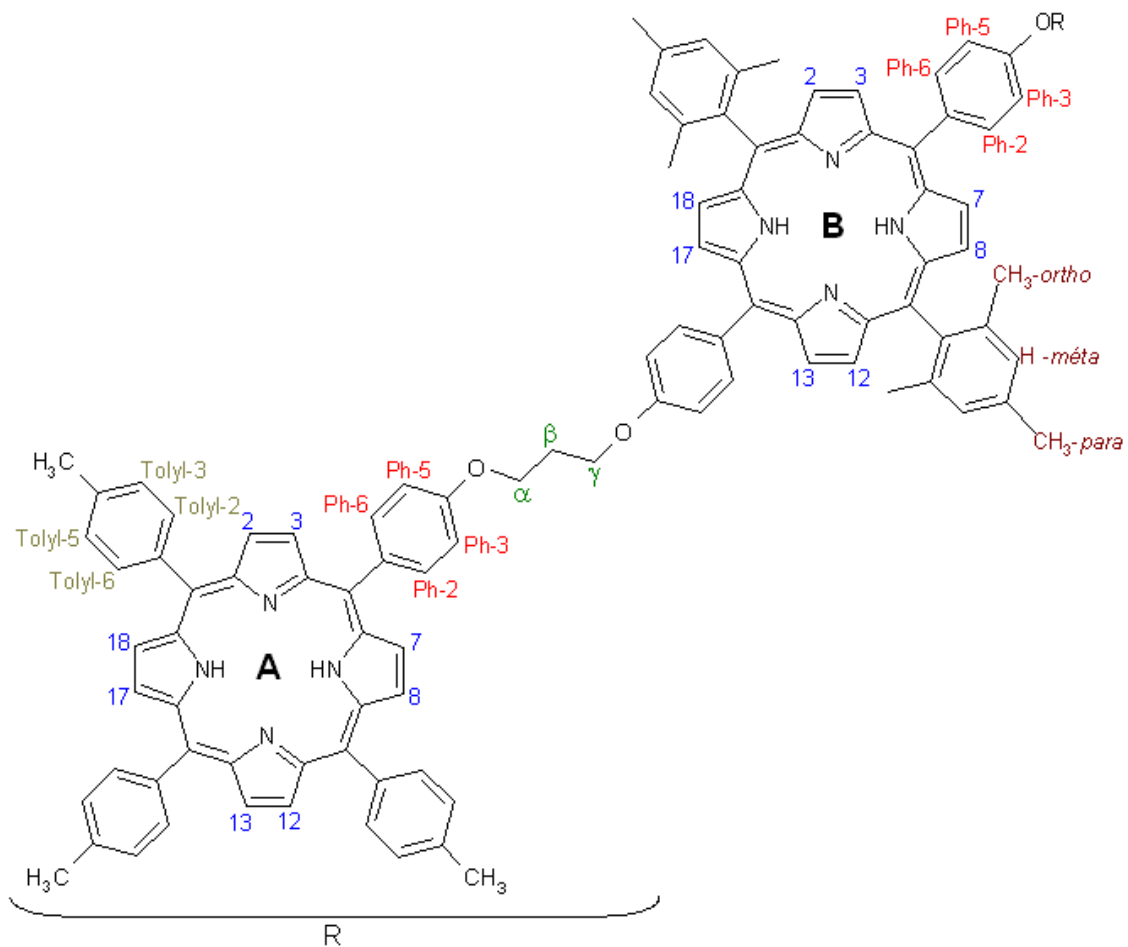


Figure IV-11 : Groupe des principaux signaux du spectre RMN ^1H (composé **20**).

Tableau IV-4 : RMN ^1H des trimères **20** et **21**.

δ , figure, (J en Hz), solvant : CDCl_3 .

H	20	21
<u>Macrocycles A</u>		
<u>Pyrrole</u>		
H_β	9,01 d (4,7)-8,97 d (4,8)-8,96 s- 8,90 d(4,8)-8,85 s	9,01 m-8,96 s-8,90 s_{el} -8,89 s_{el} -8,85 s
NH	-2,57 s	-2,58 s
<u>Phényle</u>		
$\text{H}_{2,6}$	8,18 m	8,15-8,22 m
$\text{H}_{3,5}$	7,40 d_{el} (8,36)	7,31-7,40 m
<u>Tolyle</u>		
$\text{H}_{2,6}$	8,10 m	8,08-8,11 m

H_{3,5}	7,53 m	7,51-7,56 m
CH₃	2,70 s	2,70 s
<u>Macrocycle B</u>		
<u>Pyrrole</u>		
H_β	8,87 d (4,5)-8,69d (4,6)	8,87 s _{él} -8,69 d (8,7)-8,63 d (8,6)-8,46 d (4,5)-8,43 d (4,8)
CH_{2 β}	-	4,19-4,23 m-3,90-3,94 m
NH	-2,75 s	-1,28 s- -1,41 s
<u>Phényle</u>		
H_{2,6}	8,18 m	8,15-8,22 m
H_{3,5}	7,40 d _{él} (8,36)	7,31-7,40 m
<u>Mésityle</u>		
H-meta	7,25 s	7,21 s-7,20 s
CH_{3-para}	2,61 s	2,57 s-2,53 s
CH_{3-ortho}	1,84 s	1,86 s-1,83 s
<u>O-bras espaceur</u>		
α	4,64 t _{él} (5,7)	4,55-4,64 m
β	2,69 m	2,61-2,66 m
γ	4,64 t _{él} (5,7)	4,55-4,64 m

Les signaux caractéristiques des monomères précédents apparaissent au niveau des spectres des trimères **20** et **21**. La perte de symétrie de la molécule **21**, due à la présence de la chlorure centrale, a rendu l'interprétation du spectre plus difficile. Cependant l'intégration de certains signaux caractéristiques a permis de confirmer la structure des trimères.

Nous donnons, à titre d'exemple, le spectre du trimère **20** (Figure IV-12).

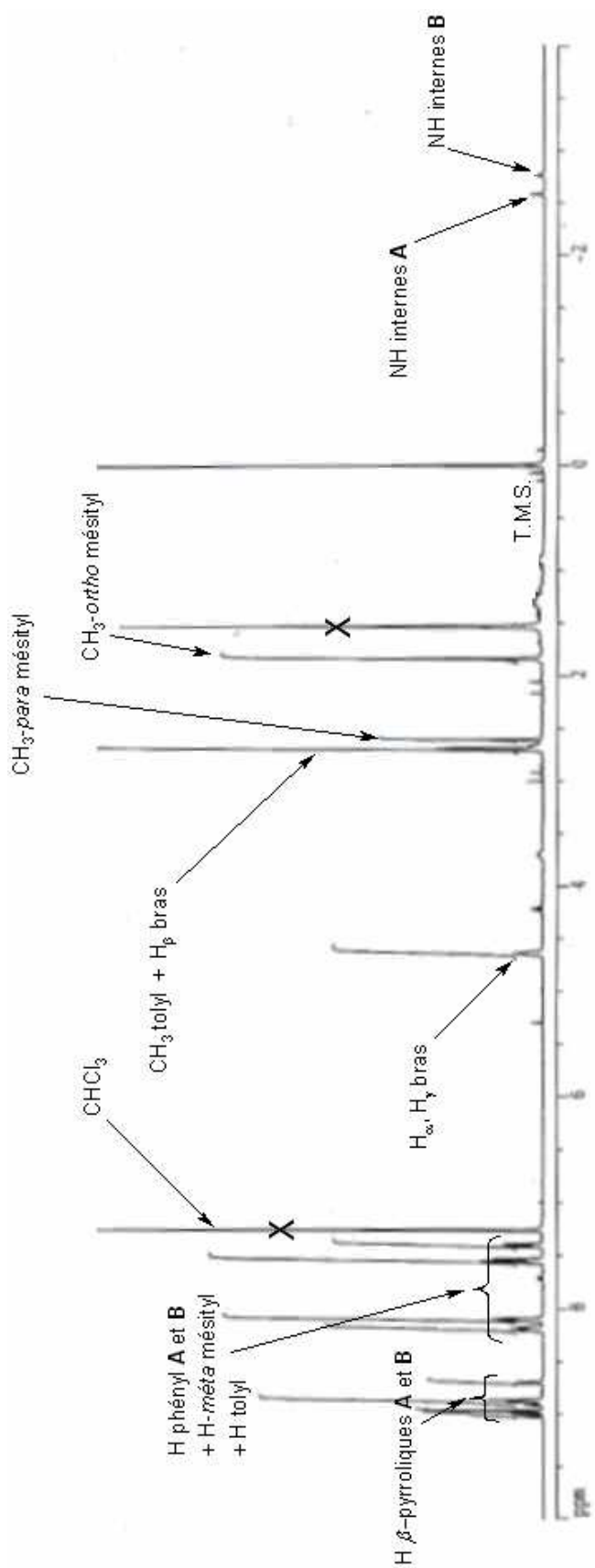
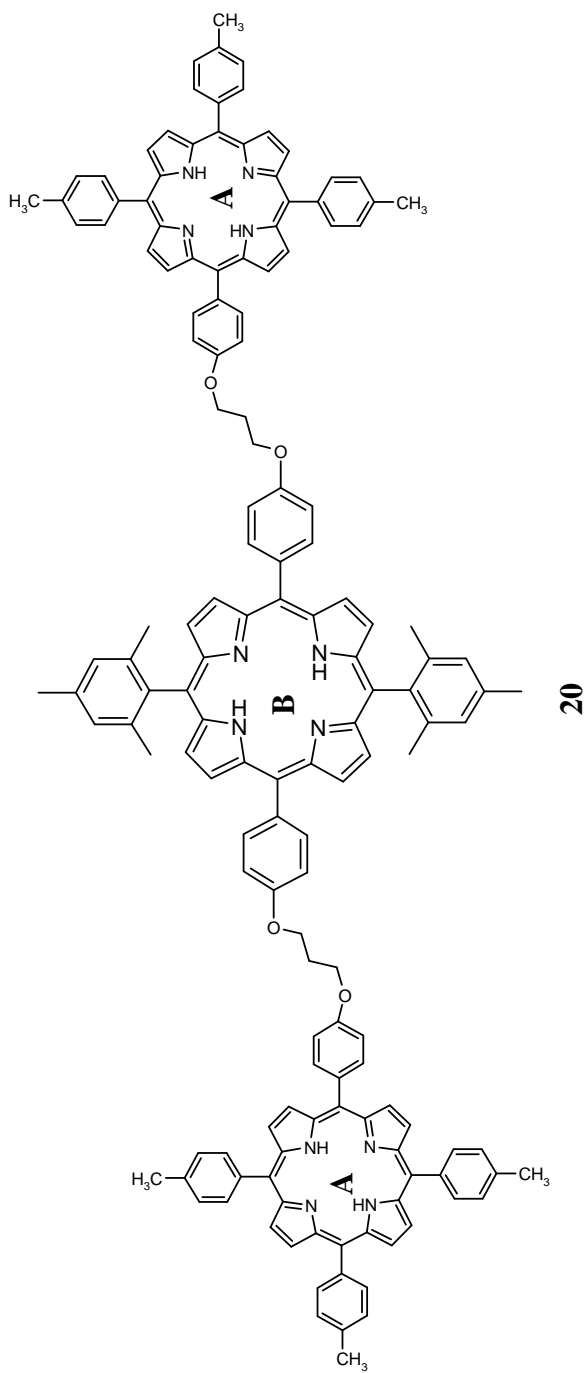


Figure IV-12 : Spectre RMN ^1H du trimère 20.

L'étude des spectres des momomères constituant le trimère **20** a facilité l'attribution des différents signaux de ce spectre. Nous retrouvons les protons β -pyrroliques qui résonnent sous la forme de doublets distincts entre 8,7 ppm et 9,0 ppm. Les protons phényliques de chaque macrocycle ainsi que les protons des toyles et ceux du mésityle résonnent entre 7,2 ppm et 8,2 ppm. Les protons α et γ du bras apparaissent ensemble à 4,64 ppm sous forme de triplet élargi. Ils sont couplés aux protons β intermédiaires du bras qui résonnent à 2,69 ppm sous forme de multiplet. Enfin les protons portés par les méthyles du groupement mésityle apparaissent sous forme de singulet à 2,61 ppm pour ceux en position *para* et 1,83 ppm pour ceux en position *ortho*. Les NH internes apparaissent sous la forme de deux singulets à -2,57 et -2,75 ppm intégrant respectivement pour 4H et 2H.

Le déplacement chimique des NH internes de chaque macrocycle a été confirmé par l'attribution des signaux du composé **21** (Figure IV-13). De plus nous remarquons pour ce trimère l'apparition des signaux caractéristiques de la présence d'une chlorine aux alentours de 4,00 ppm.

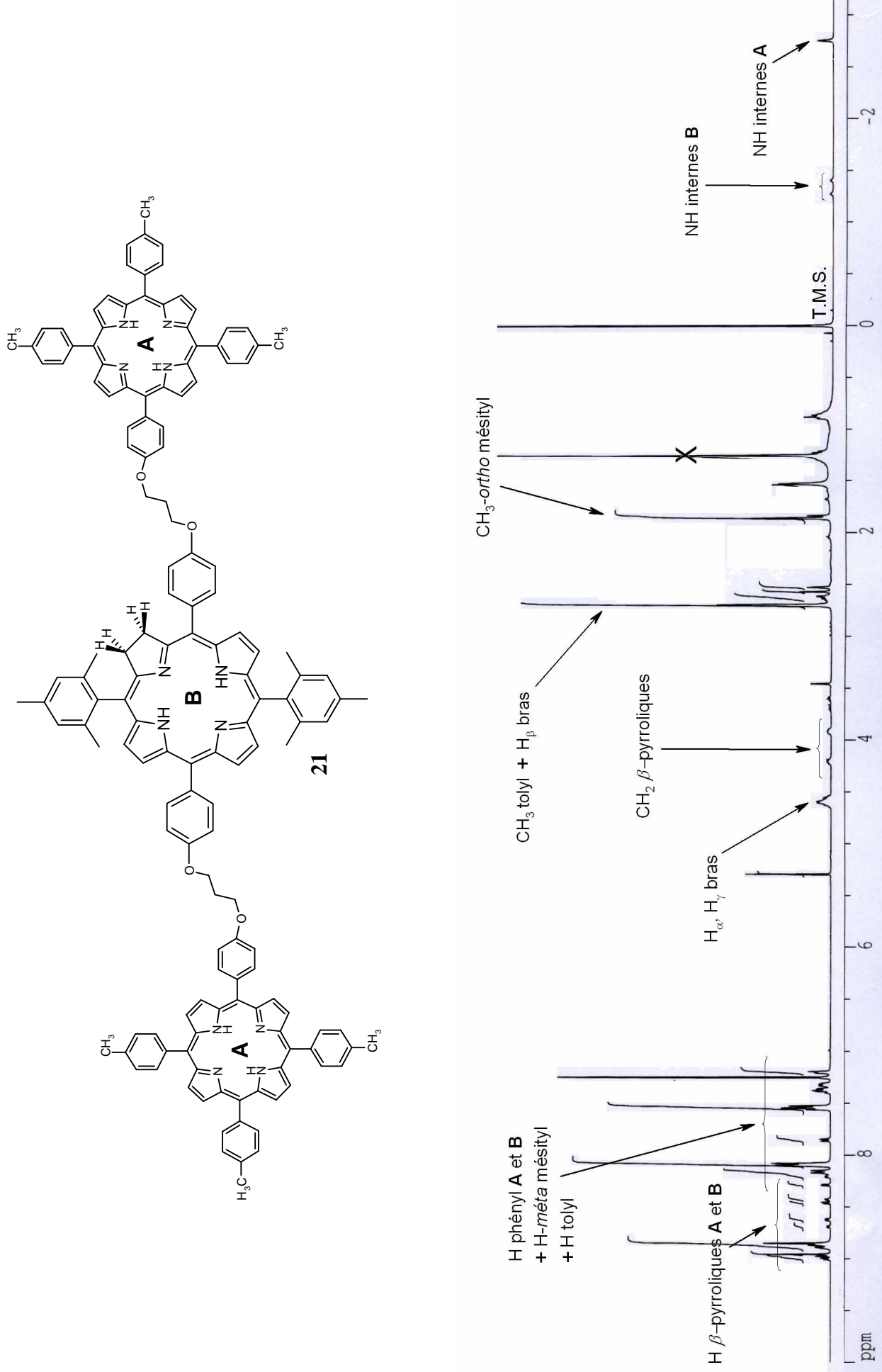


Figure IV-13 : Spectre RMN ^1H du trimère **21**.

CHAPITRE V :

QUELQUES DONNEES PHARMACOLOGIQUES

Chapitre V

Quelques données pharmacologiques

1- Introduction

Une étude physico-chimique a été réalisée sur les composés tétrapolyaminés **12a,b** et **14a,b** ainsi que sur les *trans*-porphyrines et *trans*-chlorines polyaminées **13a,b** et **15a,b**. Nous avons tout d'abord déterminé la valeur du coefficient de partage de chaque composé déprotégé entre le 1-octanol et une phase aqueuse. En effet en chimie thérapeutique, l'amphiphilie d'un composé est très souvent corrélée à son activité biologique.¹³⁰ Ensuite nous avons évalué l'aptitude de ces composés à produire de l'oxygène singulet, cette espèce étant l'agent toxique principal en PDT. Par la suite, une étude spectroscopique UV-visible sur l'interaction entre l'ADN et les macrocycles polyaminés a été réalisée. Sur ces bases, nous avons étudié le photoclivage d'un ADN plasmidial à l'aide de ces composés.

2- Coefficient de partage

L'un des critères recherchés lors de la synthèse de nouveaux photosensibilisateurs est le caractère amphiphile de la molécule. Ce caractère important peut être déterminé par le calcul du logarithme du coefficient de partage ($\log P$). Si le produit s'avère trop hydrophile ($\log P < 0$), il ne pourra pas passer les barrières cellulaires. Par contre, s'il reste trop hydrophobe ($\log P > 0$), le composé ne sera soluble que dans les solvants organiques et donc inapplicable au milieu biologique.

Ainsi, le macrocycle étant hydrophobe, le nombre et la position des différents substituants fixés jouent un rôle primordial dans le caractère amphiphile des photosensibilisateurs potentiels.

Les valeurs du logarithme du coefficient de partage ont été déterminées pour les composés tétrapolyaminés **12a,b** et **14a,b**. Nous trouvons respectivement -2,02 et -2,83 pour les porphyrines et -1,87 et -1,98 pour les chlorines correspondantes. Il est intéressant de noter que

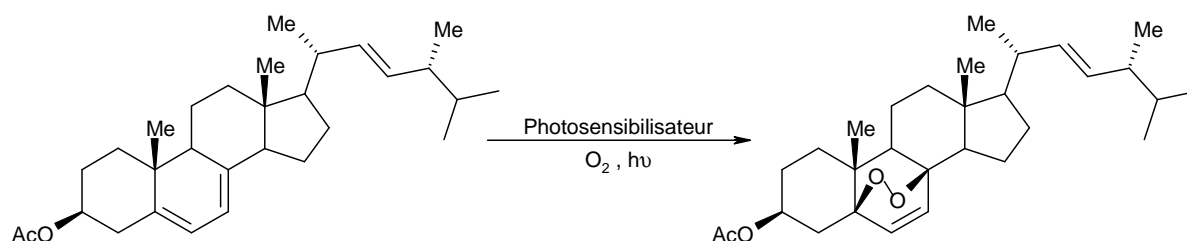
¹³⁰ G. Zheng, W. R. Potter, S. H. Camacho, J. R. Missert, G. Wang, D. A. Bellnier, B. W. Henderson, M. A. J. Rodgers, T. J. Dougherty, R. K. Pandey ; *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 1540-1559.

les macrocycles tétrasperminés **12b** et **14b** sont plus hydrophiles que leurs homologues tétraspermidinés **12a** et **14a**. Ceci s'explique par la présence de quatre fonctions amines supplémentaires, se traduisant par quatre charges positives en milieu aqueux. De plus, nous remarquons que les chlorines, de par la réduction d'une double liaison pyrrolique, se révèlent plus hydrophobes que les porphyrines correspondantes.

La synthèse des *trans*-porphyrines et *trans*-chlorines polyaminées a permis l'obtention de composés nettement plus amphiphiles. En effet, les log P des produits déprotégés **13a,b** et **15a,b** sont respectivement de 0,11 et 0,07 pour les porphyrines et de 0,53 et 0,38 pour les chlorines correspondantes. Nous notons, comme précédemment, que les chlorines sont plus hydrophobes que les porphyrines. De plus les macrocycles portant des groupements sperminés sont plus hydrophiles que leurs homologues spermidinés, probablement en raison de leur plus grand nombre de charges positives.

3- Production d'oxygène singulet

Nous avons évalué l'aptitude des composés **12a,b**, **13a,b**, **14a,b** et **15a,b** à produire de l'oxygène singulet selon le protocole décrit dans la partie expérimentale. Ce test consiste à contrôler par chromatographie sur couche mince la formation d'endoperoxyde d'acétate d'ergostérol, à partir d'acétate d'ergostérol en présence de macrocycle polyaminé, sous bullage d'air et sous irradiation lumineuse (Figure V-1).¹³¹ Les résultats obtenus sont comparés à ceux de l'hématoporphyrine (Hp) qui est un indicateur d'oxygène singulet connu. Ce test nous a permis de mettre en évidence qualitativement, pour tous les composés, la production d'oxygène singulet. Ces molécules sont donc de bons candidats pour la PDT.



¹³¹ G. Ohloff ; *Pure Appl. Chem.*, **1975**, 43, 481-502.

Figure V-1 : Formation de l'endoperoxyde d'acétate d'ergosterol.

4- Interaction avec l'ADN

L'interaction de macrocycles cationiques sous forme base libre ou métallés avec l'ADN présente un intérêt croissant depuis plusieurs années en raison de la possibilité de photoclivage du matériel génétique d'une cellule ou d'une bactérie par l'action du photosensibilisateur. Ainsi certaines porphyrines, telles que la tétra(méthylpyridinium) porphyrine (TMPyP), sont capables de s'intercaler entre les bases d'ADN, inhibant la réplication du matériel génétique. Différents modes d'interaction sont proposés qu'il est possible de mettre en évidence par spectroscopie UV-visible. L'intercalation se caractérise, au niveau de la bande de Soret, par un déplacement vers le rouge >15 nm (effet bathochrome) et une baisse de l'intensité $>35\%$ (effet hypochrome). Les interactions externes simple ou par « self-stacking » des macrocycles à la surface de l'ADN sont décelées par un déplacement vers le rouge et une baisse d'intensité de la bande de Soret plus faibles que lors de l'intercalation. Par rapport à l'interaction simple, l'interaction par « self-stacking » des macrocycles à l'extérieur du brin d'ADN se traduit par dédoublement de la bande de Soret. Dans ce cas les noyaux macrocycliques s'empilent perpendiculairement à l'axe de l'hélice (Figure V-2).¹³²

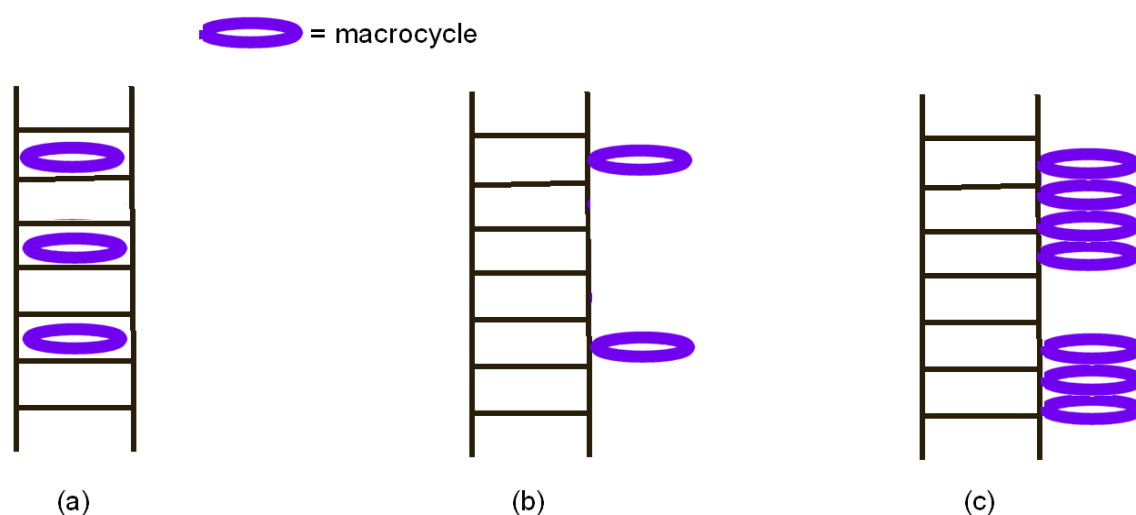


Figure V-2 : Dessin schématique des différents modes d'interaction. (a) intercalation ; (b)

¹³² R. J. Fiel ; *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **1989**, 6, 1259-1275.

interaction externe simple ; (c) interaction externe par « self-stacking ».¹³³

Dans ce travail préliminaire, nous avons suivi, par spectroscopie UV-visible, l'allure des spectres des composés **12a,b**, **13a,b**, **14a,b** et **15a,b** après additions successives d'une solution d'ADN de thymus de veau. Nous proposons ici un modèle simplifié des équilibres de complexation.



Compte tenu de la complexité des structures étudiées et de l'allure des spectres suivants, des phénomènes de dimérisation ne sont pas à exclure.

A titre d'exemple, nous donnons l'allure du spectre UV-visible du composé **12a** en présence de différentes concentrations d'ADN (Figure V-3).

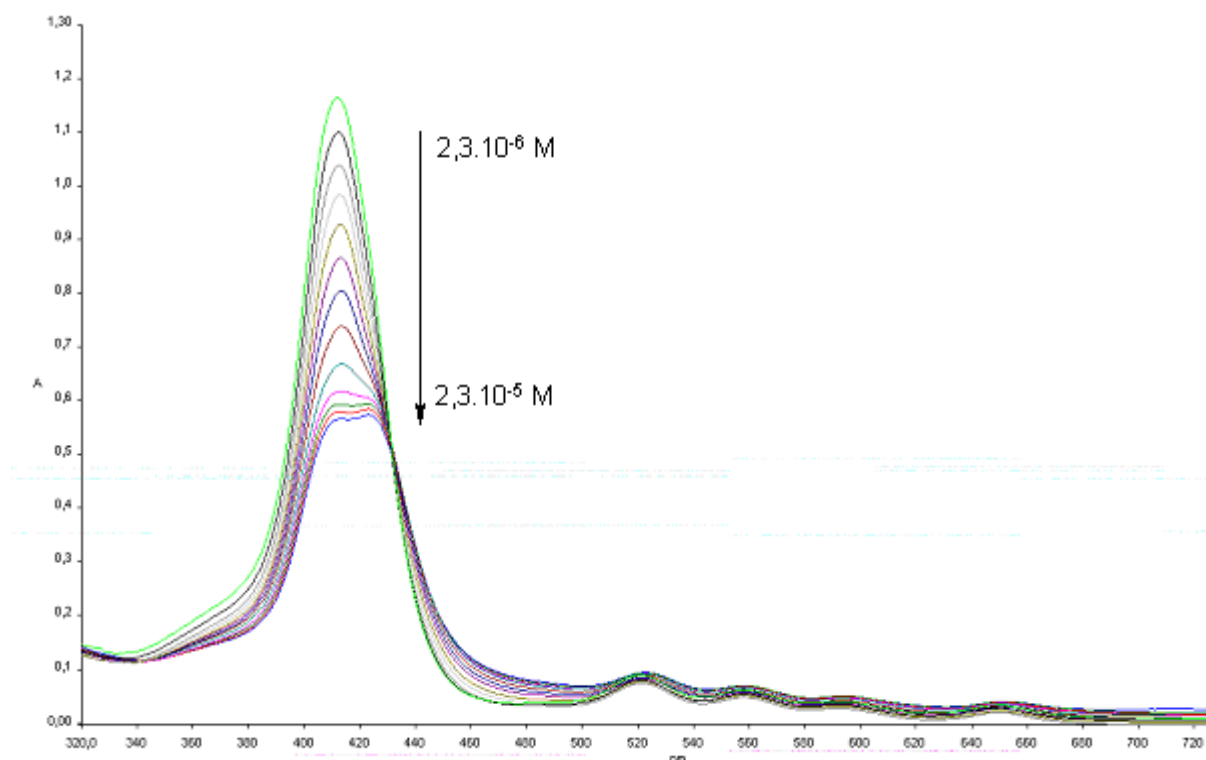


Figure V-3 : Changement du spectre d'absorption UV-visible du composé **12a** ($8,5 \cdot 10^{-6}$ M) après ajouts successifs de la solution d'ADN (de $2,3 \cdot 10^{-6}$ M à $2,3 \cdot 10^{-5}$ M). (spectres réalisés dans solution saline de tampon phosphate pH 7,4).

¹³³ T. Uno, K. Hamasaki, M. Tanigawa, S. Shimabayashi ; *Inorg. Chem.*, **1997**, 36, 1676-1683.

Nous constatons, pour ce composé, une diminution de l'intensité de la bande de Soret ainsi qu'un léger déplacement vers les plus grandes longueurs d'onde faisant apparaître un point isobestique suggérant la formation d'un complexe ADN-macrocycle.¹³⁴ De plus nous avons également réalisé une première approche mathématique (méthode de Chipman¹³⁵) afin de déterminer la stœchiométrie de la réaction ainsi que la constante d'association. Ces résultats ont montré que la stœchiométrie de la réaction était voisine de 2 et traduisait un phénomène de coopérativité, la fixation d'une première molécule sur le récepteur favorisant la fixation d'une seconde. Nous avons également déterminé la constante d'association caractéristique de la fixation de la première molécule d'ADN sur la porphyrine ($K_{f1} = 1,9 \cdot 10^5$). Enfin le dédoublement de cette bande suggère une interaction par « self-stacking » du composé **12a** avec le matériel génétique. Nous observons les mêmes caractéristiques spectrales avec les composés tétrapolyaminés **12b**, **13a** et **13b**.

L'interprétation des spectres des composés *trans* **14a,b** et **15a,b**, après ajouts de la solution d'ADN, se révèle plus délicate. Il semblerait que ces composés créent des interactions plus faibles avec le matériel génétique (déplacement de la bande de Soret peu important et faible hypochromicité) ($K_{f1} = 3,5 \cdot 10^4$) (Figure V-4).

¹³⁴ B. Chen, S. Wu, A. Li, F. Liang, X. Zhou, X. Cao, Z. He ; *Tetrahedron*, **2006**, 62, 5487-5497.

¹³⁵ D. M. Chipman, V. Grisaro, N. Sharon ; *J. Biol. Chem.*, **1967**, 242, 4388-4394.

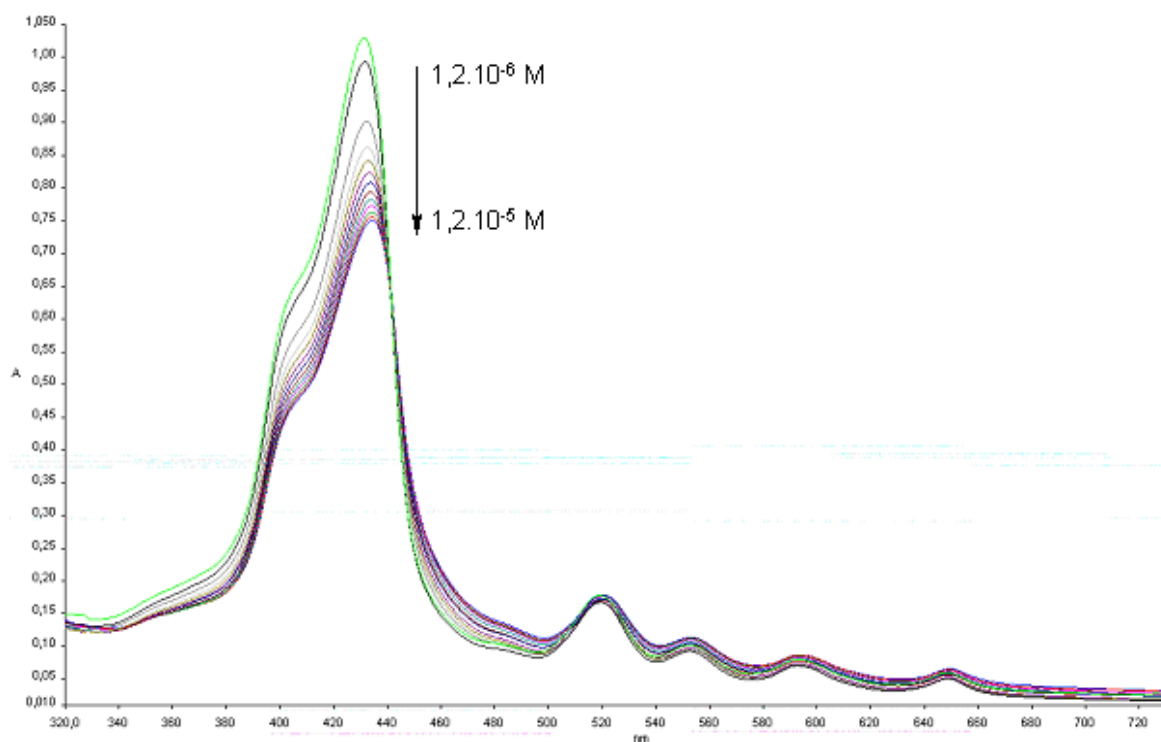


Figure V-4 : Changement du spectre d'absorption UV-visible du composé **14a** ($3,9 \cdot 10^{-6}$ M) après ajouts successifs de la solution d'ADN (de $1,2 \cdot 10^{-6}$ M à $1,2 \cdot 10^{-5}$ M). (spectres réalisés dans solution saline de tampon phosphate pH 7,4).

5- Photoclivage de l'ADN

Les composés chimiques se liant aux acides nucléiques et pouvant les cliver sont des réactifs à fort potentiel pour accéder à des informations sur la structure du patrimoine génétique.

Une revue détaillée de la littérature a montré que de tels composés peuvent être utilisés dans le traitement de cancers, de maladie génétiques ou d'infections virales. Ainsi des photosensibilisateurs cationiques tels que la TMPyP et ses analogues sont connus pour leur fixation sur l'ADN et le clivage de ce dernier après irradiation lumineuse.¹³⁶ De plus des drogues telles que la bléomycine, capable de se lier aux acides nucléiques et de les cliver, peuvent empêcher la prolifération cellulaire tumorale en bloquant la transmission de l'information génétique.¹³⁷

Nous avons donc réalisé le photoclivage du plasmide pBR322 par les porphyrines tétrapolyaminées **12a,b** et les *trans*-porphyrines polyaminées **14a,b**. Comme le montre le schéma de la figure V-5, l'électrophorèse en gel d'agarose permet de séparer les différentes

¹³⁶ M. Pitié, B. Meunier ; *J. Biol. Inorg. Chem.*, **1996**, 1, 239-246.

¹³⁷ C. A. Claussen, E. C. Long ; *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2797-2816.

formes d'ADN. En absence de photosensibilisateur, le plasmide est présent sous deux formes, la forme surenroulée (S) (fortement majoritaire et migrant le plus loin) et la forme relâchée (R) (en faible proportion et migrant le moins loin). La forme linéaire (L) du plasmide, obtenue après digestion par la DNase de restriction *EcoRI*, migre à une distance intermédiaire (Figure V-5).

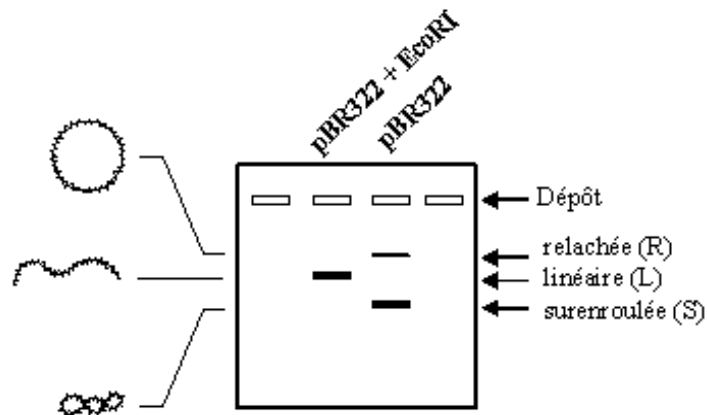


Figure V-5 : Visualisation des différentes formes plasmidiales séparées par électrophorèse. L'activité des photosensibilisateurs en présence de lumière se traduit par une disparition progressive de la forme surenroulée du plasmide au profit de la forme relâchée ; la forme linéaire apparaît finalement à la suite d'une irradiation prolongée. Les différentes formes de l'ADN ont été visualisées, après migration sur gel d'agarose, grâce à un marqueur fluorescent le SYBR Safe.

Nous donnons les résultats de l'activité des porphyrines tétrapolyaminées **12a** et **12b** (Figure V-6).

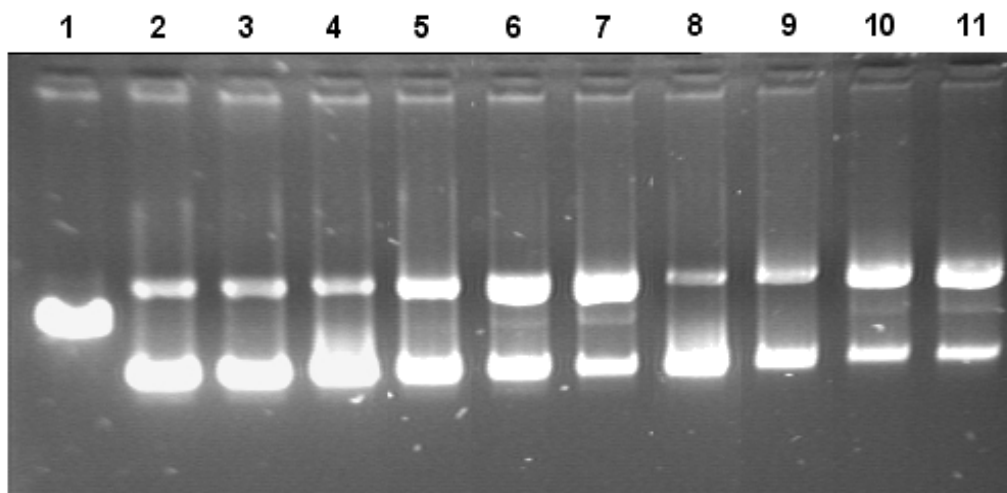


Figure V-6 : Résultats d'activité des composés **12a** et **12b**.

Piste 1 : digestion du plasmide par EcoRI (forme linéaire)

Piste 2 : plasmide seul (formes surenroulée et relâchée)

Piste 3 : plasmide + hv 120 min

Piste 4 : plasmide + **12a**

Piste 5 : plasmide + **12a** + hv 15 min

Piste 6 : plasmide + **12a** + hv 60 min

Piste 7 : plasmide + **12a** + hv 90 min

Piste 8 : plasmide + **12b**

Piste 9 : plasmide + **12b** + hv 15 min

Piste 10 : plasmide + **12b** + hv 60 min

Piste 11 : plasmide + **12b** + hv 90 min

Nous observons, tout d'abord, que le plasmide ne se dégrade pas en présence de lumière seule (piste 3) ainsi qu'en présence des photosensibilisateurs non irradiés (pistes 4 et 8). Après 15 minutes d'irradiation, la forme surenroulée du plasmide diminue au profit de la fraction relâchée (pistes 5 et 9). Ce phénomène, conséquence de l'apparition d'une coupure sur l'un des brins d'ADN, s'accroît encore après 60 et 90 minutes d'irradiation. La forme relâchée devient majoritaire et nous commençons à voir apparaître la forme linéaire du plasmide, résultat d'une coupure sur chacun des deux brins d'ADN.

Enfin, la même expérience réalisée sur les *trans*-porphyrines polyaminées **14a,b** ne montre pas d'activité. Ce résultat négatif pourrait être justifié par la plus faible affinité de ces

composés pour l'ADN (paragraphe V-4).

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Ce travail a permis d'accéder pour la première fois à des structures porphyriniques polyaminées ainsi qu'à des trimères mixtes porphyrine-chlorine. Outre l'intérêt que présentent ces structures pour la reconnaissance des cellules tumorales, elles possèdent un caractère amphiphile particulièrement intéressant pour permettre la pénétration à travers les membranes.

De premiers tests ont été entrepris sur les porphyrines tétrapolyaminées et *trans*-polyaminées en présence d'ADN. Nous avons ainsi pu mettre en évidence l'interaction de ces composés nouvellement formés avec le matériel génétique ainsi que le photoclivage de l'ADN par l'oxygène singulet produit après irradiation des macrocycles. Par ces résultats, nous pensons avoir montré la faisabilité d'utiliser ces structures complexes en tant que photosensibilisateurs pour la PDT.

Nous envisageons par la suite d'effectuer des tests similaires sur les chlorines polyaminées en présence de lumière rouge. De plus nous réaliserons des essais d'activité biologique, *in vitro*, de ces porphyrines et chlorines polyaminées sur des lignées cellulaires cancéreuses (MCF-7 et HaCat) afin d'évaluer leur potentiel photocytotoxique et d'essayer de mettre en évidence les phénomènes de mort cellulaire dus au traitement photodynamique. Enfin la synthèse de nouveaux trimères ainsi que leur fonctionnalisation sont également envisagées.

CHAPITRE VI :

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre VI

Partie Expérimentale

1- Réactifs et solvants

L'origine des réactifs et des solvants utilisés au cours de ce travail et leur traitement éventuel sont présentés dans le tableau VI-1. Toutes les puretés ont été testées avec les procédures classiques (point de fusion, traces d'eau mesurées par IR, etc).

Tableau IV-1 : Réactifs et solvants

Réactifs et solvants	Origines
Acétate d'éthyle 99%	SDS
Acétone	Elvetec
Acétonitrile 99,7%	SDS
Acide acétique 99,8%	Fisher
Acide chlorhydrique 35%	Fisher
Acide propanoïque 99%	Acros
Acide trifluoroacétique 99%	Acros
ADN de thymus de veau, ADN plasmidial (≤ 2000 pdb)	Invitrogen
Boc-ON 99%	Aldrich
Carbonate de potassium (séché 24h à l'étuve à 100°C)	Aldrich
Chloroforme 99,9%	SDS
4-carboxybenzaldéhyde 97%	Acros
Dichlorométhane 99,8%	SDS
Dicyclohexylcarbodiimide 99%	Acros
1,3-diiodopropane 99%	Aldrich
Diméthylformamide 99,5%	SDS
Ethanol absolu	Elvetec
Ether de pétrole 40-65°C	SDS

Hydrazine monohydrate 98%	Aldrich
Hydrogénocarbonate de sodium 99%	Prolabo
Hydrogénosulfite de sodium	Aldrich
4-hydroxybenzaldéhyde 99%	Acros
1-hydroxybenzotriazole (H ₂ O<5%)	Acros
Hydroxyde de potassium	Acros
Hydroxyde de sodium	Acros
Méthanol	Fisher
Mésitylbenzaldéhyde 98%	Acros
N-4-bromobutylphthalimide 98%	Acros
Octan-1-ol 99%	Aldrich
<i>Ortho</i> -chloranil 97%	Acros
<i>Para</i> -chloranil 99%	Acros
<i>Para</i> -tolualdéhyde 97 % (distillé sous vide sur CaH ₂)	Aldrich
<i>Para</i> -toluènesulfonylhydrazide 97%	Acros
Pyridine 99,8%	Aldrich
Pyrrole 98% (distillé sous vide sur CaH ₂)	Aldrich
Résine acide Amberlite IRN-77	Prolabo
Résine basique Dowex 1x8-50	Acros
Spermidine 99%	Aldrich
Spermine 99%	Fluka
Tétrahydrofurane 99,9%	Acros
Tétra(carboxyphényl)porphyrine	Frontier Scientific
Toluène 99,3%	SDS
Triéthylamine 99,5%	SDS

2- Mesures physiques

- *Ultraviolet-visible (UV)* : Les spectres ont été réalisés sur un spectrophotomètre UV-visible Perkin Elmer Lambda 25. Tous les spectres sont effectués dans des cellules de quartz de 1 cm de trajet optique à une concentration voisine de 10^{-5} - 10^{-6} M dans le dichlorométhane pour les produits protégés et dans le méthanol et l'eau pour les produits déprotégés. Les longueurs d'onde correspondantes aux absorbances maximales sont exprimées en nm et les coefficients d'absorption molaire ϵ , en $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$.

- *Infra-rouge (IR)* : Les spectres IR sont réalisés sur un appareil Perkin Elmer FT-IR spectrometer-SPECTRUM 1000 sur des échantillons conditionnés en pastilles de KBr. Les nombres d'onde sont exprimés en cm^{-1} .

- *Les températures de fusion (F°)* : Les températures de fusion sont mesurées en tubes capillaires sur un appareil Electrothermal IA9100.

- *R.M.N* : Les spectres R.M.N ont été enregistrés sur un appareil Brücker DPX avec une fréquence de 400,13 MHz pour le proton et de 100,62 MHz pour le carbone 13 au service commun de l'Université de Limoges. Les déplacements (δ) sont exprimés en ppm en prenant le tétraméthylsilane comme références interne, les constantes de couplage sont mesurées en Hz. Les abréviations retenues sont : s (singulet), d (doublet), dd (double doublet), ddd (double double doublet), t (triplet), q (quadruplet), quint (quintuplet), m (multiplet). Les figures élargies comportent un él en indice.

- *Spectrométrie de masse MALDI* : Les spectres de masse MALDI ont été effectués au Laboratoire de Chimie Structurale Organique et Biologique de l'Université de Paris VI par le Dr. Jean Claude Blais et le Dr. Sandra Salves par désorption laser avec un spectromètre à temps de vol Voyager Elite.

- *Spectrométrie de masse Haute Résolution* : Les spectres de masse Haute Résolution ont été réalisés sur un appareil ZABSpec. TOF de Micromass possédant une géométrie EBE TOF au Centre Régional de Mesures Physiques de l'Ouest (CRMPO) de l'Université de Rennes.

3- Chromatographie

- Chromatographie analytique sur couche mince :

L'évolution des réactions ainsi que la pureté des produits sont contrôlés par CCM (silice déposée sur plaques d'aluminium alufolien : gel de silice 60 F₂₅₄ Merck de 0.2 mm d'épaisseur). Les produits déprotégés sont, quant à eux, déposés sur plaques d'aluminium phase inverse RP-18 F_{254s} Merck.

La révélation des plaques est assurée :

- soit par observation directe pour les composés colorés ;
- soit par UV pour les composés conjugués ;
- soit par vaporisation d'une solution de ninhydrine suivie d'un chauffage à 100°C pour les produits polyaminés ;
- soit par vaporisation d'une solution de fluorescéine dans le méthanol/ eau (1/1), puis d'une solution aqueuse d'eau oxygénée à 30% dans l'acide acétique suivie d'un chauffage à 100°C pour les produits bromés ;
- soit en combinant ces techniques.

- Chromatographie préparative

Chromatographie sur colonne

Les différentes chromatographies ont été effectuées à partir de colonnes sèches. Nous avons utilisé des colonnes de silice (gel de silice MCL-CHROM, granulométrie : 15-40 µm Merck) de 4 cm de diamètre et de 20 à 30 cm de hauteur.

Chromatographie sur couche mince préparative

Les chromatographies sur couche mince préparatives sont réalisées sur des plaques préparées au laboratoire à l'aide de 80 g de silice (Kieselgel 60PF₂₅₄ Merck) et de 220 mL d'eau que l'on dépose sur six plaques de verre (20 x 20 cm) puis celles-ci sont séchées à l'air libre pendant 15 heures et finalement activées à 110°C pendant deux heures.

4- Coefficient de partage

Les coefficients de partition des produits déprotégés (**12a,b - 13a,b - 14a,b et 15a,b**) sont déterminés à 25°C dans un mélange 1-octanol/ eau. $3 \cdot 10^{-4}$ mol de chaque produit sont solubilisés dans un milieu composé à volume égal d'eau (3 mL) et de 1-octanol (3 mL). Le milieu est agité vigoureusement puis centrifugé. 100 μ L de chaque phase, organique et aqueuse, sont prélevés et dilués séparément dans 2 mL de méthanol. La concentration finale de chaque phase est déterminée par absorption UV-visible.

5- Appareillage pour la production d'oxygène singulet

Le système est constitué d'un bain thermostaté à 20°C dans lequel est inséré un tube à hémolyse contenant l'échantillon étudié à une concentration d'environ 10^{-5} M. L'ensemble est maintenu sous bullage d'air comprimé et sous un éclairage fourni par deux lampes de 100 W. Les résultats des tests de production d'oxygène singulet réalisés sur les composés polyaminés synthétisés sont qualitativement comparés par chromatographie sur couche mince à ceux obtenus pour l'hématoporphyrine qui est un producteur reconnu d'oxygène singulet. Au cours de ces essais, l'acétate d'ergostérol est utilisé comme accepteur d'oxygène singulet afin de former l'endoperoxyde d'acétate d'ergostérol. L'analyse des produits formés met en évidence, après quinze minutes d'irradiation, la présence de l'endoperoxyde et donc la formation d'oxygène singulet pour tous les macrocycles testés.

6- Interactions avec l'ADN

La préparation des solutions des composés **12a,b - 13a,b - 14a,b et 15a,b** ainsi que la solution d'ADN (ADN plasmidial de thymus de veau, Invitrogen) est réalisée à l'aide d'une solution saline de tampon phosphate pH 7,4 (Sigma). La concentration des solutions de chaque composé est environ de $2 \cdot 10^{-5}$ M tandis que la concentration de la solution mère d'ADN est ajustée à $1,2 \cdot 10^{-4}$ M (sur la base de la masse moyenne d'une paire de nucléotides complémentaires, soit 660 Da). La formation de complexes macrocycle-ADN est observée par spectroscopie UV-visible après additions successives de la solution d'ADN (le rapport [ADN]/[macrocycle] varie de 0,2 à 3,6).

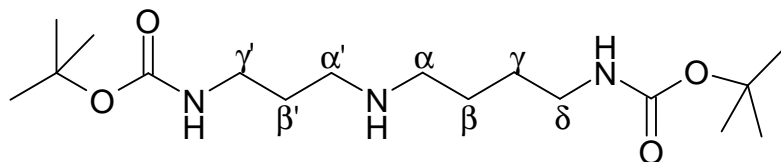
7- Photoclivage de l'ADN

Le photoclivage du plasmide pBR322 surenroulé (Biolabs) est réalisé par les porphyrines tétrapolyaminées **12a,b** et les *trans*-porphyrines **14a,b** (10^{-5} M) en présence de tampon TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA) à pH 8,0. Les solutions de porphyrines sont additionnées à l'ADN plasmidial dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL. Ceux-ci- sont ensuite placés à 4 cm de la lampe (18 W) et éclairé (fluence = $2,6 \text{ mW/cm}^2$) à différents temps (15 min, 60 min et 90 min) à température ambiante. Après exposition des différents mélanges à la lumière, chaque solution est déposée dans un gel d'agarose 0,7% et mise à migrer pendant 30 min à 100V. Les gels sont enfin révélés au SYBRSafe (Invitrogen) et visualisés sur table UV.

Une référence de la forme linéaire a été réalisée par digestion du plasmide par l'endonucléase de restriction *EcoRI* (Invitrogen).

8- Synthèses

*N*¹,*N*⁸-bis-*tert*-butoxycarbonylspermidine (1a)



Dans un bicol de 100 mL placé dans un bain de glace, sous atmosphère d'argon et sous agitation, 2 mL de spermidine (12,7 mmol, 1 éq) sont placés dans 30 mL de THF anhydre en présence de 5,33 mL de Et₃N (38,1 mmol, 3 éq). On introduit ensuite, goutte à goutte, 6,27 g de Boc-ON (25,5 mmol, 2 éq), en solution dans 20 mL de THF anhydre, au mélange et la réaction est suivie par CCM (AcOEt/ acétone/ eau/ CH₃COOH : 5/3/1/1). Après 18 heures de réaction, le THF est évaporé. Le produit est solubilisé dans 80 mL de dichlorométhane et la phase organique est traitée avec 100 mL d'une solution de soude à 1% puis lavée à l'eau (3x150 mL), séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange d'éluant EtOH+ 0,5% NH₄OH.

Le composé **1a** est obtenu sous forme de cristaux avec un rendement de 67% (2,93 g).

R_f = 0,56 (AcOEt/ acétone/ eau/ CH₃COOH : 5/3/1/1).

T_f = 80°C (litt. T_f = 79-80°C).¹³⁸

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$ (KBr) : 3373 (NH_{secondaire}), 2977 (N-H_{amide}), 2929 (C_{sp3}-H), 1685 (CO), 1165 (CN).

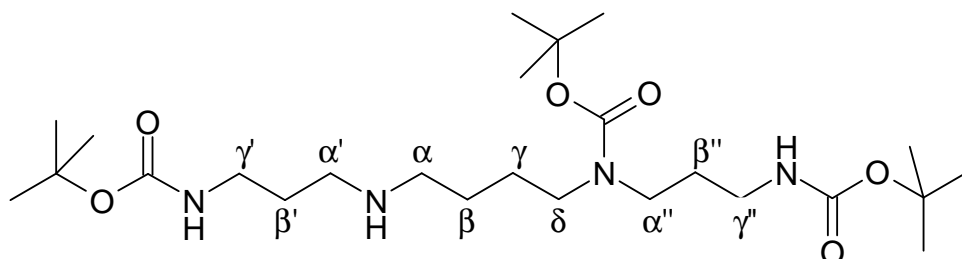
RMN ¹H (400,13 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, 1,44 (s, 18H, CH₃ Boc), 1,50 (quint., *J*=6,5 Hz, 2H, **H β**), 1,52 (quint., *J*=6,5 Hz, 2H, **H γ**), 1,65 (quint., *J*=6,6 Hz, 2H, **H β'**), 2,60 (t, *J*=6,6 Hz, 2H, **H α**), 2,65 (t, *J*=6,6 Hz, 2H, **H α'**), 3,12 (quad., *J*=5,9 Hz, 2H, **H δ**), 3,19 (quad., *J*=6,0 Hz, 2H, **H γ'**), 4,90 (s, 1H, NH_{Boc}), 5,26 (s, 1H, NH_{Boc}).

RMN ¹³C (100,62 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, 156,1 (CO), 156,05 (CO), 78,9 (C(CH₃)₃),

¹³⁸ S. Nagarajan, B. Ganem ; *J. Org. Chem.*, **1985**, 50, 5735-5737.

49,4 (CH₂α), 47,7 (CH₂α'), 40,4 (CH₂δ), 39,2 (CH₂γ'), 29,9 (CH₂β'), 28,4 (C(CH₃)₃), 27,8 (CH₂β), 27,4 (CH₂γ).

N¹,N⁸,N¹²-tris-tert-butoxycarbonylspermine (1b)



Ce composé est synthétisé selon la méthode décrite pour le produit **1a**. Dans un bicol de 250 mL, en partant de 3 g de spermine (14,8 mmol, 1 éq) dans 50 mL de THF anhydre en présence de 8,30 mL de Et₃N (59,3 mmol, 4 éq) et de 10,95 g de Boc-ON en solution dans 40 mL de THF anhydre (44,5 mmol, 3 éq), on obtient, après 18 heures de réaction, le composé **1b** sous forme d'huile avec un rendement de 62% (4,64 g).

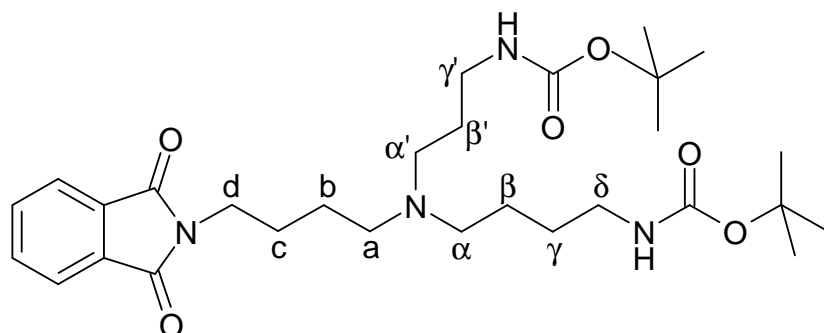
R_f = 0,58 (AcOEt/ acétone/ eau/ CH₃COOH : 5/3/1/1).

IR ν(cm⁻¹) (KBr) : 3348 (NH_{secondaire}), 2976 (NH_{amide}), 2932 (C_{sp3}-H), 1693 (CO), 1520 (CO), 1172 (CN).

RMN ¹H (400,13 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, 1,44 (s, 27H, CH₃ Boc), 1,46 (m, 2H, H_β ou H_γ) 1,55 (m, 2H, H_β ou H_γ) 1,65 (m, 4H, H_{β'} et H_{β''}), 2,60 (t, J=6,9 Hz, 2H, H_α), 2,66 (t, J=6,8 Hz, 2H, H_{α'}), 3,10 (m, 2H, H_{γ'}), 3,14 (m, 2H, H_δ), 3,20 (m, 2H, H_{γ''}), 3,24 (m, 2H, H_{α''}), 5,11 (s, 1H, NHBoc), 5,31 (s, 1H, NHBoc).

RMN ¹³C (100,62 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, 156,1 (CO), 155,98 (CO), 155,4 (CO), 79,7 (C(CH₃)₃), 79,4 (C(CH₃)₃), 78,9 (C(CH₃)₃), 49,6 (CH₂α), 47,7 (CH₂α'), 46,80 (CH₂δ), 43,9 (CH₂α''), 39,2 (CH₂γ'), 37,4 (CH₂γ'), 29,9 (CH₂β' ou CH₂β''), 29,2 (CH₂β' ou CH₂β''), 28,4 (C(CH₃)₃), 27,8 (CH₂β ou CH₂γ), 26,4 (CH₂β ou CH₂γ).

***N*⁴-(4-phthalimidobutyl)-*N*¹,*N*⁸-bis-*tert*-butoxycarbonylspermidine (2a)**



A température ambiante et sous agitation, dans un ballon de 50 mL surmonté d'un réfrigérant, 1,1 g de **1a** (3,2 mmol, 1 équ) est dissous dans 24 mL de CH₃CN en présence de 1,14 g *N*-(4-bromobutyl) phthalimide (4,0 mmol, 1,25 équ) et de 2,24 g de K₂CO₃ (16,1 mmol, 5 équ). Le mélange est porté à reflux (86°C) et la réaction est suivie par CCM (CHCl₃/ MeOH : 94/6). Après 18 heures de réaction, l'acétonitrile est évaporé puis le produit est solubilisé dans 60 mL de CH₂Cl₂. La phase organique est lavée avec 100 mL d'une solution saturée de NaHCO₃ puis à l'eau (2x100 mL), séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne (CH₂Cl₂/ MeOH : 98/2). On isole le produit **2a** sous forme d'huile avec un rendement 90% (1,59 g).

R_f = 0,46 (CHCl₃/ MeOH : 94/6).

IR ν (cm⁻¹) (KBr) : 3354 (NH_{secondaire}), 2975 (NH_{amide}), 2932 (C_{sp3}-H), 1772 (CO), 1713 (CO), 1170 (CN).

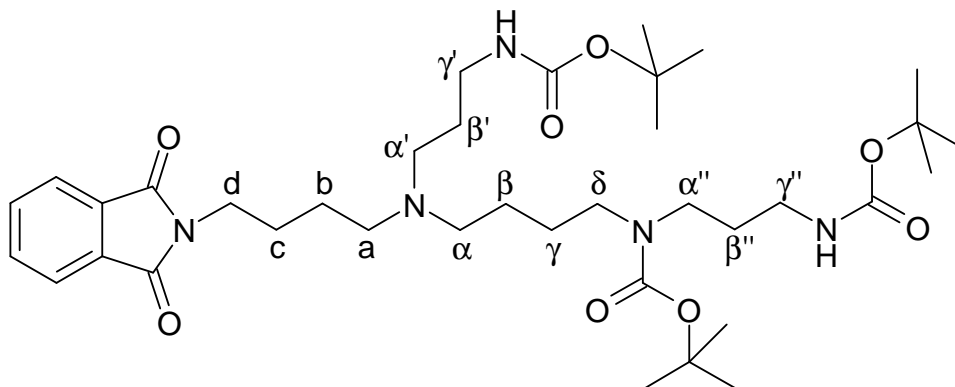
RMN ¹H (400,13 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, 1,44 (s, 18H, CH₃ Boc), 1,48 (m, 6H, **H β** , **H γ** et **H β'**), 1,63 (quint., *J*=7,2 Hz, 2H, **H b**), 1,71 (quint., *J*=7,2 Hz, 2H, **H c**), 2,44 (m, 6H, **H α** , **H α'** et **H a**), 3,14 (m, 4H, **H γ'** et **H δ**), 3,70 (t, *J*=7,2 Hz, 2H, **H d**), 4,91 (s, 1H, NH_{Boc}), 5,34 (s, 1H, NH_{Boc}), 7,71 (dd, *J*=3,1 et *J*=5,1, 2H, **H $_{2,4}$** Ar), 7,84 (dd, *J*=3,1 et *J*=5,1, 2H, **H $_{3,5}$** Ar).

RMN ¹³C (100,62 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, 168,4 (CO), 156,0 (CO), 133,4 (CH₃-5 Ar), 132,1 (C₁-6 Ar), 123,7 (CH₂-4 Ar), 79,4 (C(CH₃)₃), 78,7 (C(CH₃)₃), 53,6-53,2-52,2 (CH₂ α , CH₂ α' et CH₂ a), 40,5 (CH₂ δ), 39,8 (CH₂ γ'), 37,8 (CH₂ d), 29,7 (CH₂ β'), 28,4 (C(C(CH₃)₃)), 26,9 (CH₂ b), 26,4 (CH₂ c), 24,4 (CH₂ β), 23,9 (CH₂ γ).

SM Haute Résolution: Calculée pour C₂₉H₄₇N₄O₆ : m/z 547,3496.

Trouvée : m/z 547,3496 [M+H]⁺.

N⁴-(4-phthalimidobutyl)-N¹,N⁸,N¹²-tris-tert-butoxycarbonylspermine (2b)



Les mêmes méthodes de synthèse et de purification que pour le produit **2a** sont utilisées pour cette réaction. Le composé **2b** est obtenu finalement sous forme d'huile avec 91% de rendement (1,40 g).

R_f = 0,48 (CHCl₃/ MeOH : 93/7).

IR ν(cm⁻¹) (KBr) : 3356 (NH_{secondaire}), 2974 (NH_{amide}), 2935 (C_{sp3}-H), 1771 (CO), 1711 (CO), 1171 (CN).

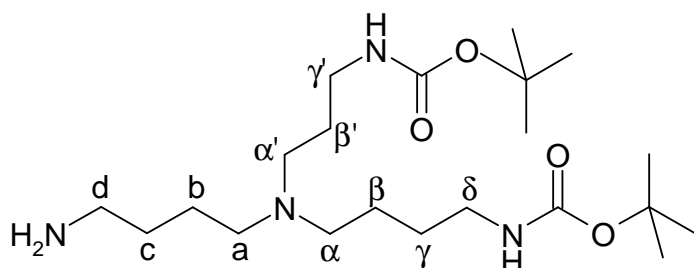
RMN ¹H (400,13 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, 1,44 (s, 27H, CH₃ Boc), 1,48 (m, 6H, **Hβ**, **Hγ** et **Hβ'**), 1,59 (m, 2H, **Hβ''**), 1,68 (m, 4H, **Hb** et **Hc**), 2,39 (m, 6H, **Ha**, **Ha'** et **Ha**), 3,10 (m, 2H, **Hδ**), 3,12 (m, 2H, **Hγ'**), 3,15 (m, 2H, **Hγ''**), 3,24 (m, 2H, **Ha''**), 3,70 (t, J=7,2 Hz, 2H, **Hd**), 4,91 (s, 1H, NH_{Boc}), 5,40 (s, 1H, NH_{Boc}), 7,71 (dd, J=3,1 et J=5,4, 2H, **H_{2,4}** Ar), 7,84 (dd, J=3,1 et J=5,4, 2H, **H_{3,5}** Ar).

RMN ¹³C (100,62 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, 168,4 (CO), 156,0 (CO), 133,9 (CH₃₋₅ Ar), 132,1 (C₁₋₆ Ar), 123,2 (CH₂₋₄ Ar), 79,4 (C(CH₃)₃), 78,7 (C(CH₃)₃), 77,2 (C(CH₃)₃), 53,7-53,3-52,5 (CH_{2α}, CH_{2α'} et CH_{2a}), 46,9 (CH_{2δ}), 43,9 (CH_{2α''}), 43,1 (CH_{2γ''}), 39,8 (CH_{2γ'}), 37,8 (CH_{2d}), 28,4 (C(CH₃)₃), 28,3-28,2 (CH_{2b} et CH_{2c}), 27,0-26,4-25,9-24,3 (CH_{2β}, CH_{2β'}, CH_{2β''} et CH_{2γ}).

SM Haute Résolution: Calculée pour C₃₇H₆₂N₅O₈ : m/z 704,4598.

Trouvée : m/z 704,4592 $[M+H]^+$.

***N*⁴-(4-aminobutyl)-*N*¹,*N*⁸-bis-*tert*-butoxycarbonylspermidine (3a)**



Dans un ballon de 100 mL, surmonté d'un réfrigérant et d'une garde à CaCl_2 , 3,87 g de **2a** (7,1 mmol, 1 éq) sont dissous dans 40 mL d'une solution THF/ EtOH (8/2) en présence de 17,2 mL d'hydrazine monohydrate (0,35 mol, 50 éq). La réaction est laissée 5 heures à 90°C puis 18 heures à 50°C et est suivie par CCM (MeOH + 5% NH_4OH). Après 24 heures de réaction, le solvant est évaporé et le produit est solubilisé dans 100 mL de dichlorométhane. La phase organique est traitée avec 150 mL d'une solution de NaOH à 2%, lavée à l'eau (3x100 mL), séchée sur sulfate de magnésium.

Après évaporation, le produit **3a** est obtenu sous forme d'huile avec un rendement de 83% (2,46 g).

$R_f = 0,42$ (MeOH + 5% NH_4OH).

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$ (KBr) : 3347 (NH), 2974 (NH_{amide}), 2933 ($\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$), 1693 (CO), 1173 (CN).

RMN ^1H (400,13 MHz, CDCl_3 , 25°C) δ en ppm, 1,44 (s, 18H, CH_3 Boc), 1,47 (m, 8H, **H β** , **H γ** , **Hb** et **Hc**), 1,60 (quint., $J=6,5$ Hz 2H, **H β'**), 2,38 (m, 4H, **H α** et **H α'**), 2,44 (t, $J=6,5$ Hz, 2H, **H α'**) 2,70 (t, $J=6,4$ Hz, 2H, **Hd**), 3,12 (m, 2H, **H δ**), 3,16 (m, 2H, **H γ'**), 4,87 (s, 1H, **NHBoc**), 5,53 (s, 1H, **NHBoc**).

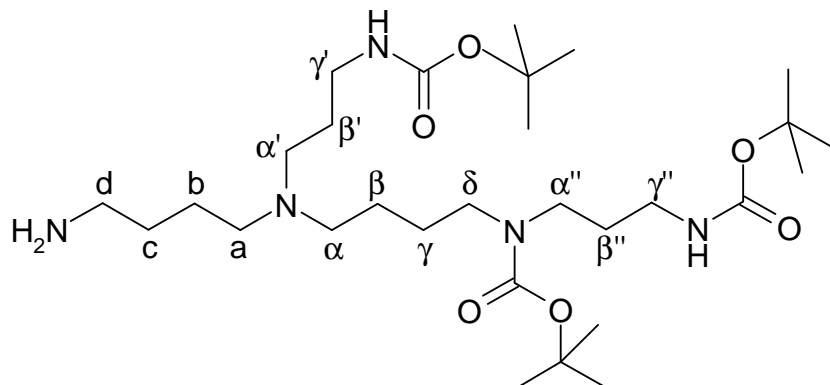
RMN ^{13}C (100,62 MHz, CDCl_3 , 25°C) δ en ppm, 156,0 (CO), 79,4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 78,7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 53,8-53,6-52,0 ($\text{CH}_2\alpha$, $\text{CH}_2\alpha'$ et $\text{CH}_2\alpha$), 42,1 ($\text{CH}_2\delta$), 40,4 ($\text{CH}_2\gamma'$), 40,4 ($\text{CH}_2\delta$), 29,6 ($\text{CH}_2\beta'$), 28,4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 27,9 ($\text{CH}_2\beta$), 26,7 ($\text{CH}_2\gamma$), 24,4 ($\text{CH}_2\beta$), 24,3 ($\text{CH}_2\gamma$).

SM Haute Résolution:

Calculée pour $\text{C}_{21}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_4$: m/z 417,3441.

Trouvée : m/z 417,3440 [M+H]⁺.

*N*⁴-(4-aminobutyl)-*N*¹,*N*⁸,*N*¹²-tris-*tert*-butoxycarbonylspermine (3b)



On utilise les mêmes conditions opératoires que pour le produit **3a**. En partant de 3,5 g de **2b**, on isole le produit **3b** sous forme d'huile avec un rendement de 82% (2,3g).

R_f = 0,42 (MeOH + 5% NH₄OH).

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$ (KBr) : 3353 (NH), 2974 (NH_{amide}), 2932 (C_{sp3}-H), 1693 (CO), 1172 (CN).

RMN ¹H (400,13 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, 1,39 (m, 4H, **H β** et **H γ**), 1,44 (s, 27H, **CH₃** Boc), 1,50 (m, 4H, **H b** et **H c**), 1,60 (quint., *J*=6,4 Hz, 2H, **H β'**), 1,65 (m, 2H, **H β''**), 2,38 (m, 4H, **H α** et **H a**), 2,44 (m, 2H, **H α'**), 2,70 (t, *J*=6,4 Hz, 2H, **H d**), 3,10 (m, 2H, **H δ**), 3,14 (m, 2H, **H γ'**), 3,16 (m, 2H, **H γ''**), 3,24 (m, 2H, **H α''**), 4,83 (s, 1H, **NHBoc**), 5,32 (s, 1H, **NHBoc**).

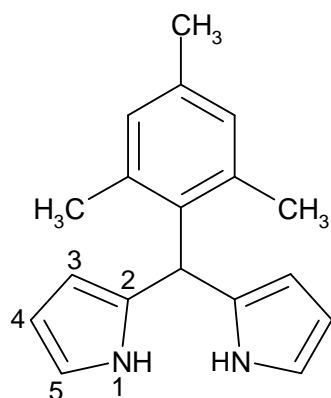
RMN ¹³C (100,62 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, 156,0 (CO), 79,4 (C(CH₃)₃), 78,7 (C(CH₃)₃), 77,3 (C(CH₃)₃), 53,9-53,7 (CH_{2 α} , CH_{2 a}) 52,7 (CH_{2 α'}), 46,9 (CH_{2 γ'}), 43,6 (CH_{2 α''}), 42,1 (CH_{2 d}), 40,0 (CH_{2 γ''}), 37,4 (CH_{2 δ}), 31,6-29,7-26,9-24,5-24,3 (CH_{2 β} , CH_{2 β'} , CH_{2 β''} , CH_{2 γ} , CH_{2 b} et CH_{2 c}), 28,4 (C(C)₃).

SM Haute Résolution:

Calculée pour C₂₉H₆₀N₅O₆ : m/z 574,4544.

Trouvée : m/z 574,4544 [M+H]⁺.

meso-(mésityl)dipyrrométhane (5)



Dans un ballon de 100 mL, 2 mL de 2,4,6 triméthylbenzaldéhyde (13,6 mmol, 1 éq) sont mélangé à 40 mL de pyrrole fraîchement distillé (0,57 mol, 42 éq). A cette solution, dégazée par barbotage d'argon durant 10 minutes, on ajoute 200 μ L de TFA (2,7 mmol, 0,2 éq). Le mélange est agité 30 minutes à température ambiante jusqu'à disparition totale de l'aldéhyde. Il est ensuite dilué dans 100 mL de dichlorométhane, neutralisé par une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 0,1 M, rincé à l'eau distillée (2x150 mL), séché sur sulfate de magnésium, filtré puis évaporé. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne (toluène/ triéthylamine 99/1). Après évaporation du solvant, on récupère un solide que l'on recristallise dans le cyclohexane.

Le composé **5** est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 35% (1,26 g).

$R_f = 0,39$ (cyclohexane/ AcOEt : 8/2 + 1% Et₃N).

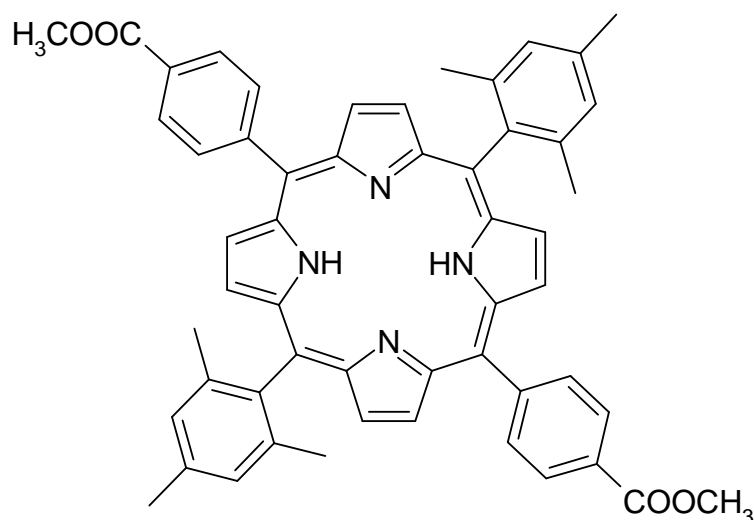
$T_f = 168^\circ\text{C}$ (litt. $T_f = 166-167^\circ\text{C}$).¹³⁹

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$ (KBr) : 3320 (N-H), 3100, 3070, 2850 (C-H).

RMN ¹H (400,13 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, 2,05 (s, 6H, CH₃), 2,27 (s, 3H, CH₃), 5,92 (s, 1H, H-*meso*), 6,00 (m, 2H, H-3), 6,17 (q, $J=2,9$ Hz, 2H, H-4), 6,65 (d, $J=1,4$ Hz, 2H, H-5), 6,86 (s, 2H, ArH), 7,92 (s_{él}, 2H, NH).

¹³⁹ C.-H. Lee, J. S. Lindsey ; *Tetrahedron*, **1994**, 50, 11427-11440.

5,15-bis(4-méthylesterphényl) 10,20-bis(mésityl) porphyrine (6)



Dans un bicol de 100 mL, 82 mg de 4-formylméthylbenzoate (0,5 mmol, 1 éq) sont dissous dans 48 mL de dichlorométhane en présence de 132 mg de *meso*-mésityldipyrrométhane (0,5 mmol, 1 éq). 66 μ L de TFA (0,9 mmol, 1,8 éq) en solution dans 2 mL de dichlorométhane sont ajoutés, goutte à goutte, au mélange réactionnel. Celui-ci est alors placé sous agitation et à température ambiante. Après 30 minutes de réaction, 123 mg de *para*-chloranil (0,5 mmol, 1 éq) sont ajoutés et le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 1 heure. Celui-ci est ensuite passé sur fritté de silice et lavé avec du dichlorométhane. Le mélange obtenu est ensuite purifié par chromatographie sur plaques préparatives (CH₂Cl₂/ EtOH : 98/2).

Le composé **6** est obtenu sous l'aspect d'un solide violet avec 30% de rendement (61 mg).¹⁴⁰

R_f = 0,54 (CH₂Cl₂).

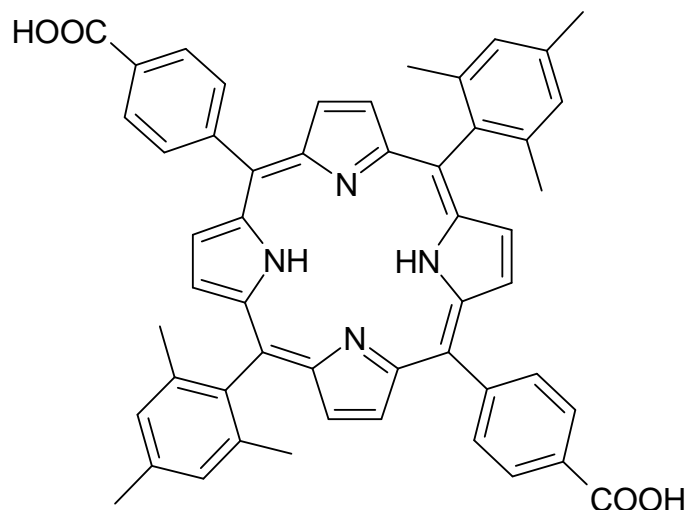
RMN ¹H (400,13 MHz, CDCl₃, 25°C) δ en ppm, -2,63 (s, 2H, **NH** pyrrole), 1,83 (s, 12H, **CH**_{3-*o*} mésityl), 2,62 (s, 6H, **CH**_{3-*p*} mésityl), 4,10 (s, 6H, **COOCH**₃), 7,29 (s, 4H, **H**-*m* mésityl), 8,31 (d, *J*=8,2 Hz, 4H, **H**_{2,6} phényl), 8,42 (d, *J*=8,2 Hz, 4H, **H**_{3,5} phényl), 8,71 (d, *J*=4,7 Hz, 4H, **H** _{β} pyrrole), 8,74 (d, *J*=4,7 Hz, 4H, **H** _{β} pyrrole).

SM (MALDI) : *m/z* 815,25 [M+H]⁺.

¹⁴⁰ C. M. Carcel, J. K. Laha, R. S. Loewe, P. Thamyongkit, K.-H. Schweikart, V. Misra, D. F. Bocian, J. S. Lindsey ; *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 6739-6750.

UV-visible: (Tableau III-1).

5,15-bis (4-méthylesterphényl) 10,20-bis (mésityl) porphyrine (7)



Dans un ballon de 25 mL, surmonté d'un réfrigérant, 110 mg de **6** (0,14 mmol, 1 éq) sont dissous dans 8 mL de DMF en présence de 5 mL d'une solution éthanolique de potasse à 1 M. Le mélange est alors placé sous agitation, à reflux de l'éthanol, pendant 45 minutes. Après évaporation, le produit est solubilisé dans le méthanol et neutralisé par une résine acide. Le produit précipite sous forme de cristaux violets et est recueilli sur papier filtre. Le produit **7** est isolé sous l'aspect d'un solide violet avec un rendement de 94% (100 mg).

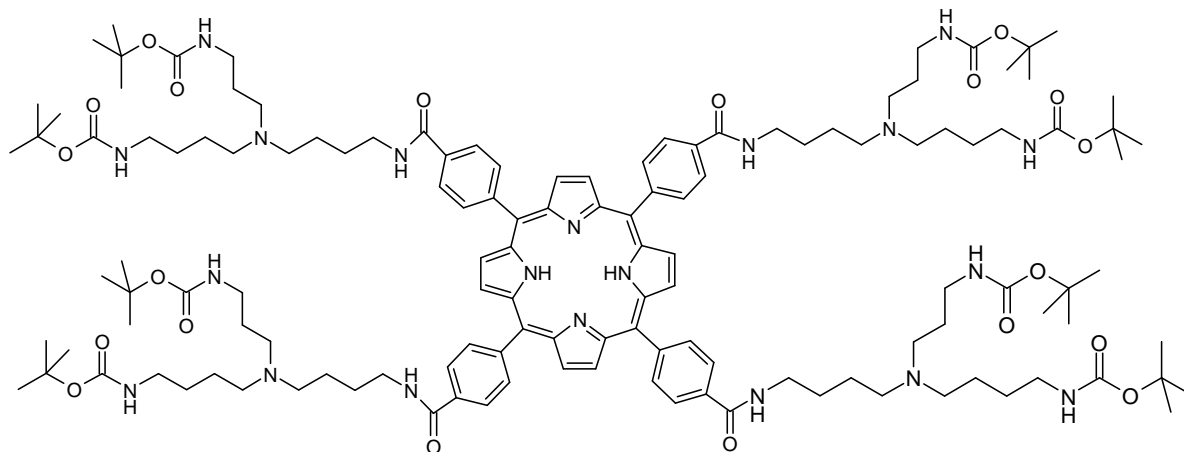
$R_f = 0,48$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH} : 94/6 + 1\% \text{CH}_3\text{COOH}$).

RMN ^1H (400,13 MHz, CD_3OD , 25°C) δ en ppm, 1,82 (s, 12H, CH_3 -*o* mésityl), 2,61 (s, 6H, CH_3 -*p* mésityl), 7,31 (s, 4H, H -*m* mésityl), 8,21 (d, $J=8,1$ Hz, 4H, $\text{H}_{2,6}$ phényl), 8,37 (d, $J=8,1$ Hz, 4H, $\text{H}_{3,5}$ phényl), 8,68 (s_{el} , 4H, H_β pyrrole), 8,77 (s_{el} , 4H, H_α pyrrole).

SM (MALDI) : m/z 787,36 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

UV-visible: (Tableau III-1).

5,10,15,20-tétrakis (*N*¹,*N*⁸-bis-*tert*-butoxycarbonylspermidine (*N*⁴-(4-aminobutyl) 4-amidophényl) porphyrine (8a)



Dans un bicol de 100 mL, sous argon et à température ambiante, 523 mg de **4** (0,7.mmol, 1 éq) sont dissous dans 30 mL de DMF anhydre en présence 0,6 g de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (2,9 mmol, 4,4 éq) et de 393 mg de 1-hydroxybenzotriazole (2,9 mmol, 4,4 éq). Après 10 minutes de réaction, on introduit 1,21 g de **3a** (2,9 mmol, 4,4 éq) en solution dans 15 mL de DMF anhydre et la réaction est suivie par CCM (CHCl₃/ EtOH : 7/3 + 2% Et₃N). Après 18 heures de réaction, le DMF est évaporé sous pression réduite et le produit est solubilisé dans 80 mL de chloroforme. La phase organique est lavée à l'eau (2x100 mL), séchée sur sulfate de magnésium et filtrée. Après évaporation, la dicyclohexylurée formée lors de la réaction est précipitée par addition d'acétate d'éthyle puis filtrée. Le mélange obtenu est ensuite purifié par chromatographie sur plaques préparatives (CHCl₃/ EtOH : 7/3 + 2% Et₃N).

Le composé **8a** est obtenu avec 42% de rendement (667 mg).

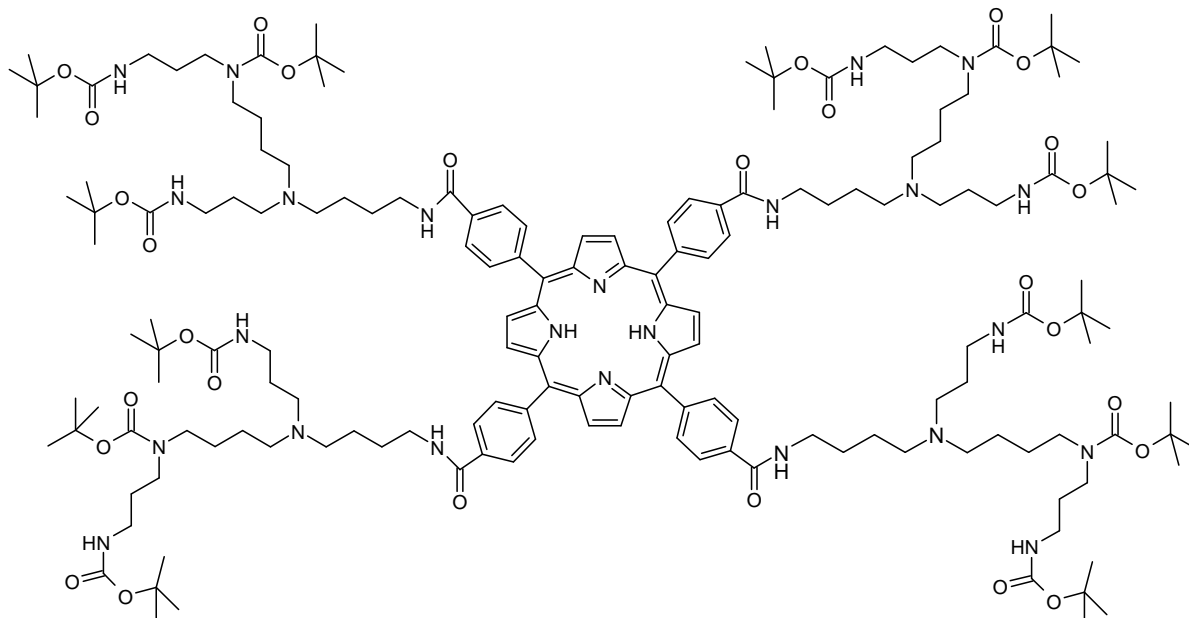
R_f = 0,42 (CHCl₃/ EtOH : 7/3 + 2% Et₃N).

RMN ¹H : (Tableau II-3).

SM (MALDI) : (Tableau II-2).

UV-visible: (Tableau II-1).

5,10,15,20-tétrakis (N^1, N^8, N^{12} -tris-*tert*-butoxycarbonylspermine (N^4 -(4-aminobutyl) 4-amidophényl) porphyrine (8b)



La réaction de 523 mg de **4** (0,7 mmol, 1 éq) en présence de 0,6 g de N,N' -dicyclohexylcarbodiimide (2,9 mmol, 4,4 éq), de 393 mg de 1-hydroxybenzotriazole (2,9 mmol, 4,4 éq) et de 1,67 g de **3b** (2,9 mmol, 4,4 éq), dans les mêmes conditions décrites précédemment pour le composé **8a**, fournit, après purification, le composé **8b** avec 51% de rendement (1,02 g).

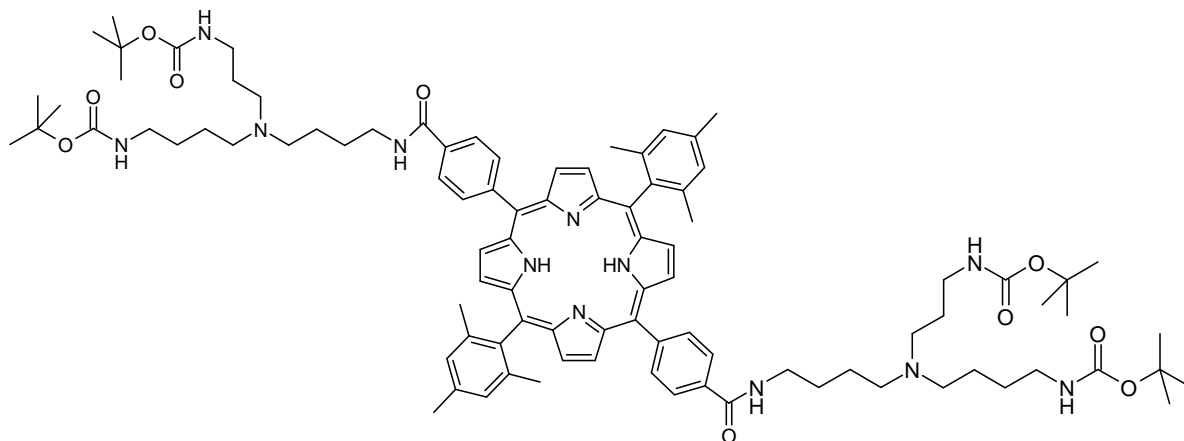
$R_f = 0,62$ ($\text{CHCl}_3/\text{EtOH} : 7/3 + 2\% \text{Et}_3\text{N}$).

RMN ^1H : (Tableau II-3).

SM (MALDI) : (Tableau II-2).

UV-visible: (Tableau II-1).

5,15-bis (N¹,N⁸-bis-tert-butoxycarbonylspermidine (N⁴-(4-aminobutyl) 4-amidophényl))
10,20-bis (mésityl) porphyrine (9a)



On utilise les mêmes voies de synthèse et de purification que pour le composé **8a**. 113 mg de produit **7** ($1,4 \cdot 10^{-4}$ mol, 1 éq) sont mis à réagir avec 296 mg de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (1,4 mmol, 10 éq), 194 mg de 1-hydroxybenzotriazole (1,4 mmol, 10 éq) et 299 mg de **3a** (7,2 mmol, 5 éq) dans 30 mL de DMF anhydre. On isole le produit **9a** avec un rendement de 73% (166 mg).

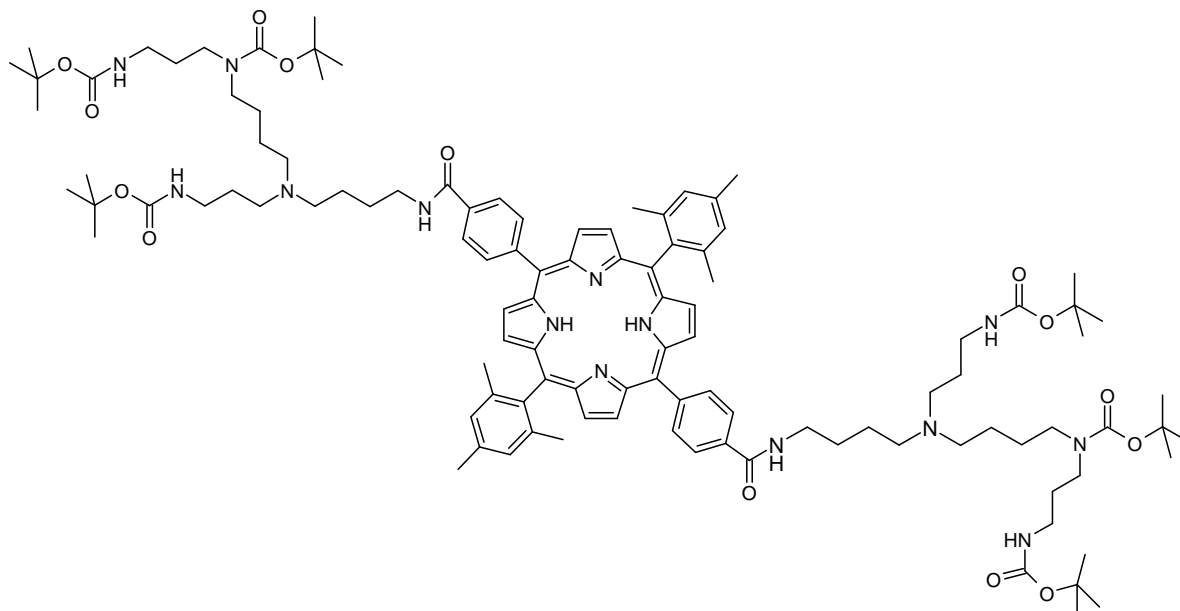
$R_f = 0,48$ ($\text{CHCl}_3/\text{EtOH} : 7/3 + 1,5\% \text{Et}_3\text{N}$).

RMN ¹H : (Tableau III-3).

SM (MALDI) : (Tableau III-2).

UV-visible: (Tableau III-1).

5,15,-bis (N¹,N⁸,N¹²-tris-*tert*-butoxycarbonylspermine (N⁴-(4-aminobutyl) 4-amidophényl) 10,20-bis (mésityl) porphyrine (9b)



La réaction de 100 mg de produit **7** ($1,3 \cdot 10^{-4}$ mol, 1 éq), dissous dans 27 mL de DMF anhydre, en présence de 262 mg de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (1,3 mmol, 10 éq), 172 mg de 1-hydroxybenzotriazole (1,3 mmol, 10 éq) et 365 mg de **3b** ($6,3 \cdot 10^{-4}$ mol, 5 éq) dans les conditions décrites précédemment, mène après traitement et purification, au composé **9b** avec 68% de rendement (163 mg).

$R_f = 0,56$ ($\text{CHCl}_3/\text{EtOH} : 7/3 + 1,5\% \text{Et}_3\text{N}$).

RMN ¹H : (Tableau III-3).

SM (MALDI) : (Tableau III-2).

UV-visible: (Tableau III-1).

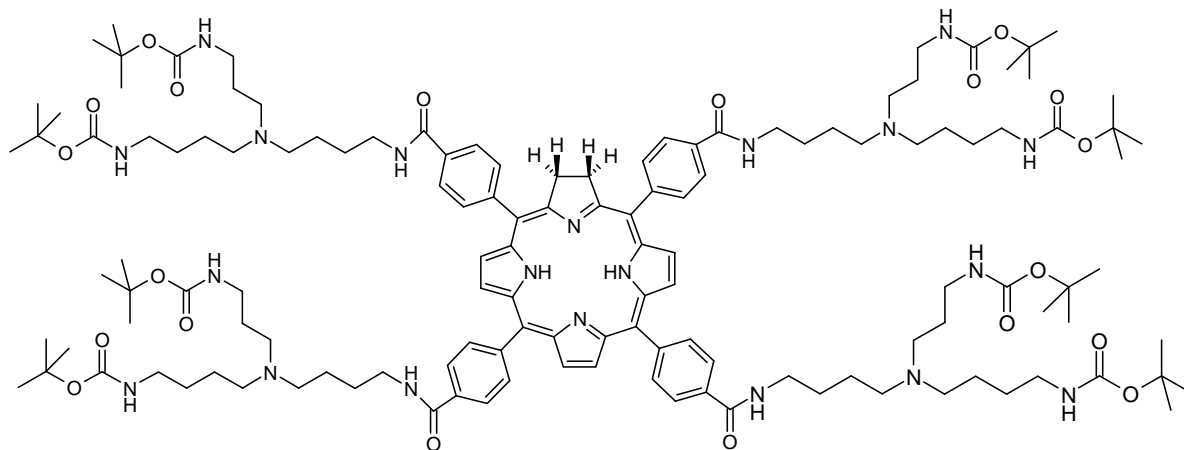
Procédure générale de réduction d'une double liaison pyrrolique des composés 8a,b et 9a,b : Formation d'une chlorine.

Dans un bicol de 50 mL, à 102 mg de porphyrine, placés dans 10 mL de pyridine anhydre, on ajoute 59 mg de carbonate de potassium. Le milieu réactionnel est agité sous argon et porté à 104°C. 20 mg de *para*-toluènesulfonylhydrazide, en solution dans 1 mL de pyridine anhydre, sont ensuite ajoutés goutte à goutte au mélange. Cette dernière opération est répétée toutes les deux heures pendant 8 heures.

Après 24 heures de réaction, le milieu est évaporé et le produit de réaction est solubilisé dans 39 mL d'une solution CHCl₃/ eau : 2/1. Le mélange est porté à 80°C pendant 1 heure. Le milieu réactionnel est ensuite traité avec une solution d'acide chlorhydrique à 2 M, puis avec 40 mL d'une solution saturée de NaHCO₃ et enfin avec 100 mL d'eau.

Après séchage sur sulfate de magnésium, on contrôle la présence de bactérochlorine dans le milieu par spectrophotométrie UV-visible. Le mélange est ensuite oxydé par ajout, goutte à goutte, de 15,8 mg d'*ortho*-chloranil en solution dans CHCl₃. Après disparition du pic caractéristique de la bactérochlorine à 743 nm, le milieu réactionnel est traité avec 30 mL d'une solution de bisulfite de sodium à 5%, puis lavé avec 2x100 mL d'eau et séché sur sulfate de magnésium. Après évaporation, le produit est purifié sur plaques préparatives (CHCl₃/ EtOH : 5/5 + 2% Et₃N).

5,10,15,20-tétrakis (N¹,N⁸-bis-tert-butoxycarbonylspermidine (N⁴-(4-aminobutyl) 4-amidophényl)) chlorine (10a)



En suivant les conditions décrites précédemment, le produit **10a** est obtenu avec 42% de rendement (43 mg).

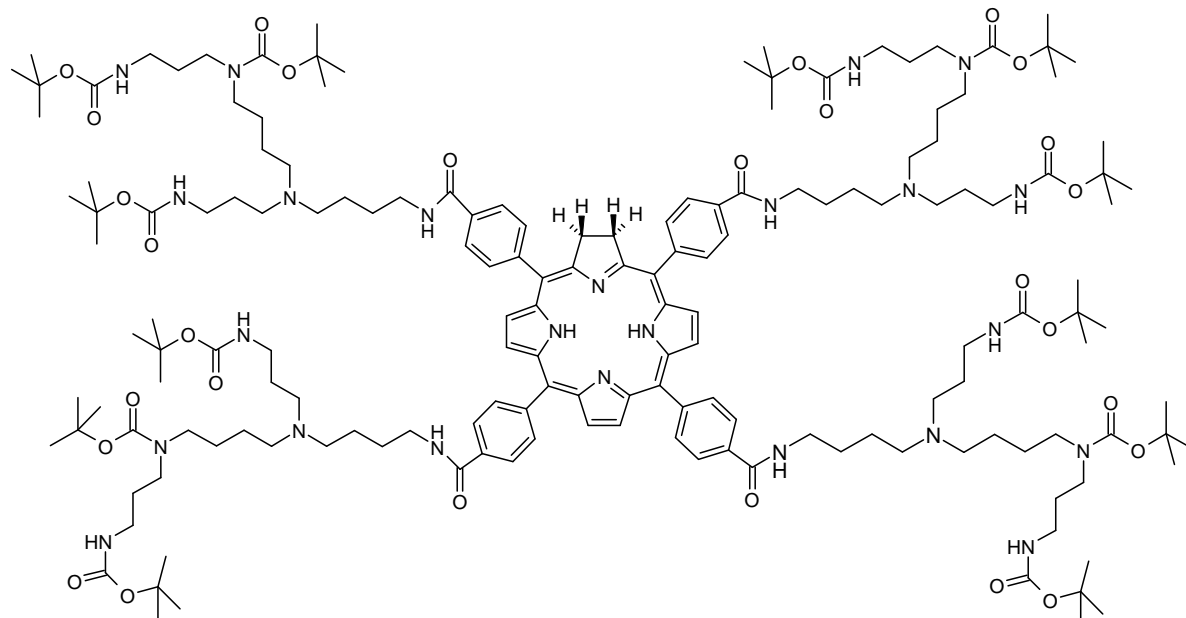
R_f = 0,45 (CHCl₃/ EtOH : 7/3 + 2% Et₃N).

RMN ¹H : (Tableau II-4).

SM (MALDI) : (Tableau II-2).

UV-visible: (Tableau II-1).

5,10,15,20-tétrakis (N^1, N^8, N^{12} -tris-*tert*-butoxycarbonylspermine (N^4 -(4-aminobutyl) 4-amidophényl)) chlorine (10b)



On utilise les mêmes conditions opératoires que pour le produit **10a**. En partant de 102 mg de **8b**, on isole le composé **10b** avec un rendement de 41% (42 mg).

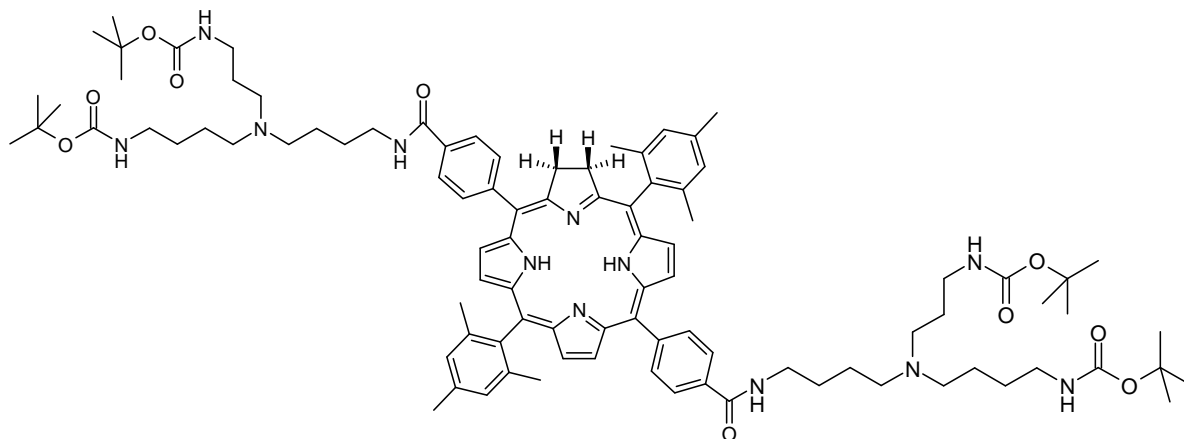
$R_f = 0,62$ ($\text{CHCl}_3/\text{EtOH} : 7/3 + 2\% \text{Et}_3\text{N}$).

RMN ^1H : (Tableau II-4).

SM (MALDI) : (Tableau II-2).

UV-visible: (Tableau II-1).

5,15-bis (N^1, N^8 -bis-*tert*-butoxycarbonylspermidine (N^4 -(4-aminobutyl) 4-amidophényl))
10,20-bis (mésityl) chlorine (11a)



La réaction de 133 mg de 9a ($0,8 \cdot 10^{-4}$ mol, 1 éq), dissous dans 20 mL de pyridine anhydre, en présence de 116 mg de carbonate de potassium (0,8 mmol, 10 éq) et 39 mg de *para*-toluènesulfonylhydrazide (0,2 mmol, 2,5 éq), dans les conditions opératoires décrites précédemment, mène, après traitement et purification, au produit 11a avec un rendement de 73% (97 mg).

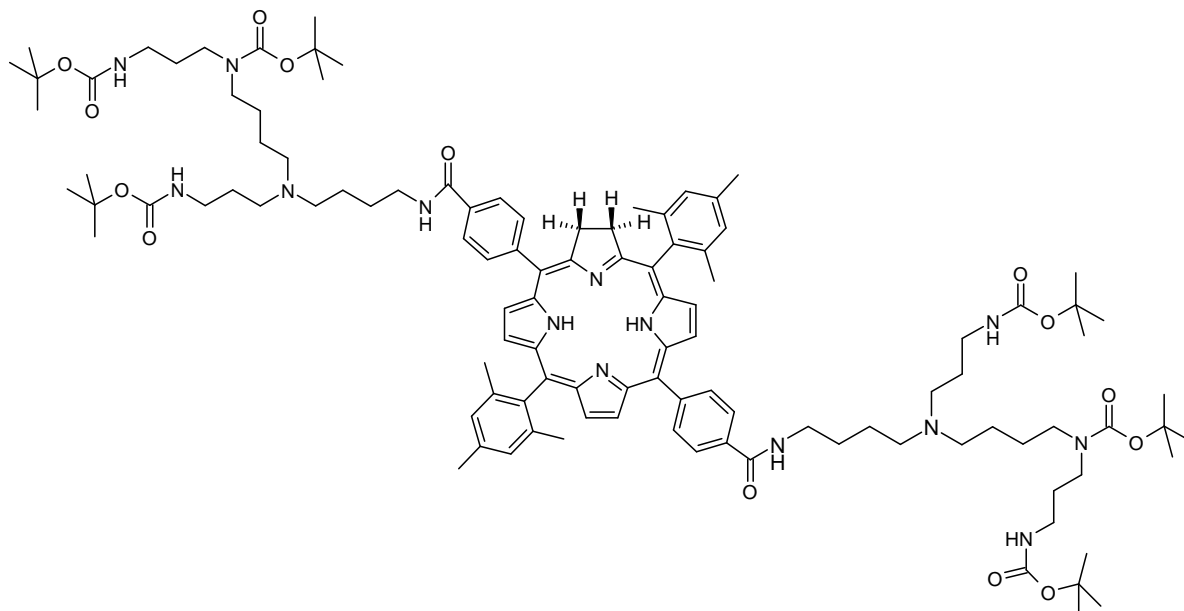
$R_f = 0,48$ ($\text{CHCl}_3/\text{EtOH} : 7/3 + 1,5\% \text{Et}_3\text{N}$).

RMN ¹H : (Tableau III-4).

SM (MALDI) : (Tableau III-2).

UV-visible: (Tableau III-1).

5,15-bis (N^1, N^8, N^{12} -tris-*tert*-butoxycarbonylspermine (N^4 -(4-aminobutyl) 4-amidophényl))
10,20-bis (mésityl) chlorine (11b)



Ce composé a été synthétisé selon la méthode générale de réduction d'une double liaison pyrrolique. En partant de 100 mg de 9b ($0,5 \cdot 10^{-4}$ mol, 1 éq), 73 mg de carbonate de potassium (0,5 mmol, 10 éq) et 25 mg de *para*-toluènesulfonylhydrazide (0,13 mmol, 2,5 éq), le composé 11b est isolé avec 77% de rendement (77 mg).

$R_f = 0,56$ ($\text{CHCl}_3/\text{EtOH} : 7/3 + 1,5\% \text{Et}_3\text{N}$).

RMN ^1H : (Tableau III-4).

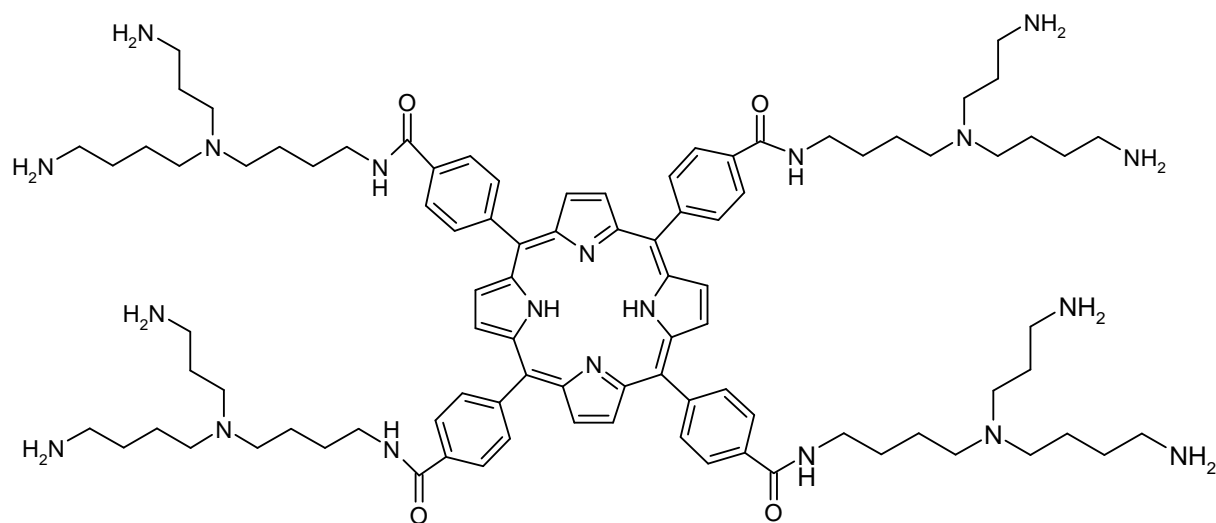
SM (MALDI) : (Tableau III-2).

UV-visible: (Tableau III-1).

Procédure générale de déprotection des composés 8a,b - 9a,b - 10a,b et 11a,b

Dans un ballon de 25 mL, à 30 mg de composé protégé, on ajoute 6 mL d'une solution de CH_2Cl_2 / TFA 8/2. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante sous atmosphère d'argon pendant 4 heures. Après évaporation, le produit est mis en solution dans un mélange MeOH/ CH_2Cl_2 7/3 et on neutralise le milieu avec une résine basique.

5,10,15,20-tétrakis (spermidine (N^4 -(4-aminobutyl) 4-amidophényl)) porphyrine (12a)



Après filtration sur fritté, on obtient le produit 12a, avec un rendement quasi quantitatif (20 mg).

$R_f = 0,80$ (acétonitrile/ eau : 7/3 + 1% TFA) (phase inverse).

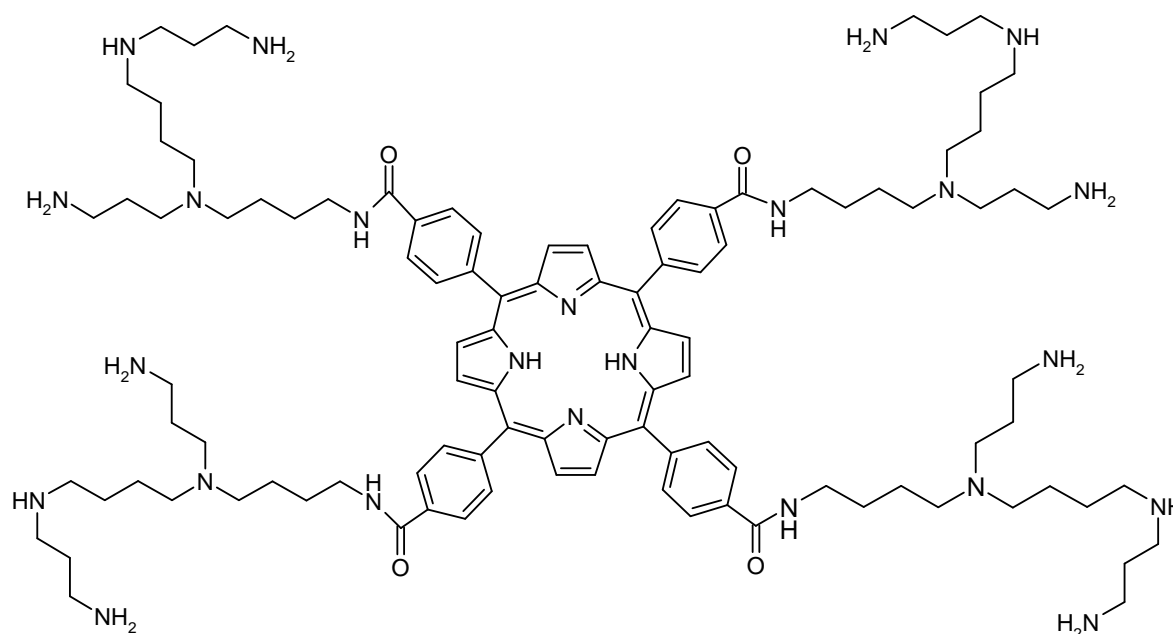
RMN ^1H : (Tableau II-3).

SM (MALDI) : (Tableau II-2).

UV-visible: (Tableau II-1).

Log P = -2,02.

5,10,15,20-tétrakis (spermine (*N*⁴-(4-aminobutyl) 4-amidophényl)) porphyrine (12b)



En suivant les conditions décrites précédemment, le produit 12b attendu est isolé avec un rendement de 81% (16 mg).

$R_f = 0,71$ (acétonitrile/ eau : 7/3 + 1% TFA) (phase inverse).

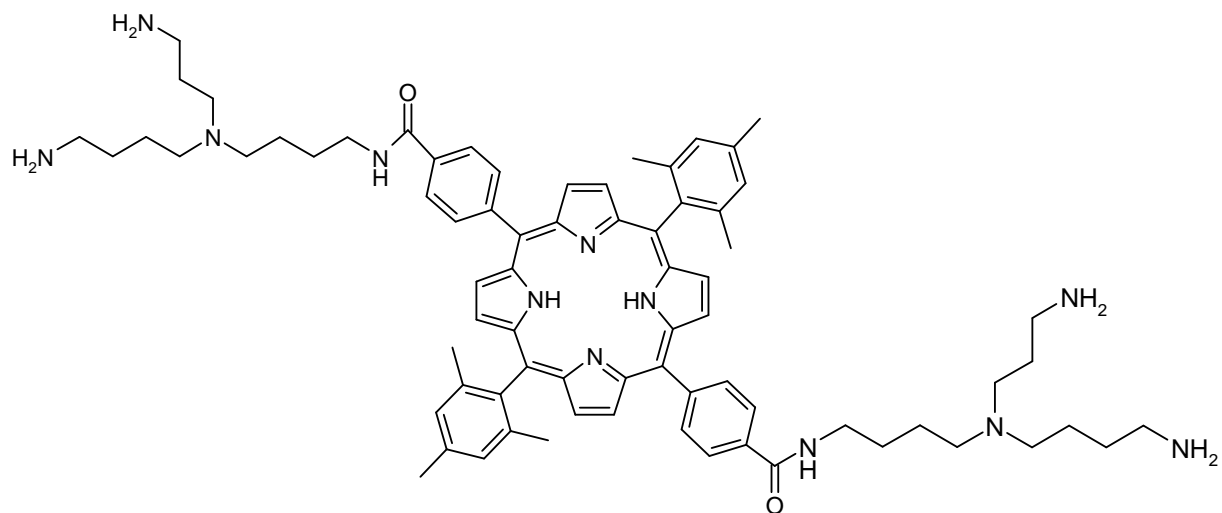
RMN ¹H : (Tableau II-3).

SM (MALDI) : (Tableau II-2).

UV-visible: (Tableau II-1).

Log P = -2,83.

5,15-bis (spermidine (N^4 -(4-aminobutyl) 4-amidophényl)) 10,20-bis (mésityl) porphyrine (13a)



En suivant le protocole précédemment décrit, le composé 13a est obtenu avec 82% de rendement (10 mg).

$R_f = 0,64$ (acétonitrile/ eau : 7/3 + 1% TFA) (phase inverse).

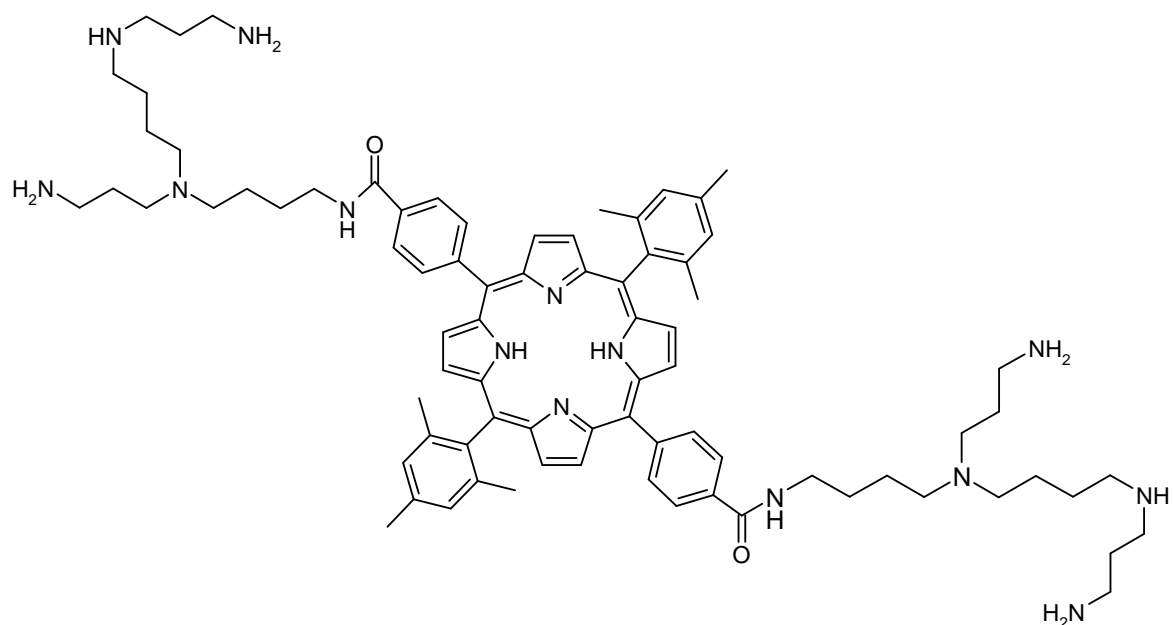
RMN ^1H : (Tableau III-3).

SM (MALDI) : (Tableau III-2).

UV-visible: (Tableau III-1).

Log P = 0,11.

5,15-bis (spermine (N^4 -(4-aminobutyl) 4-amidophényl)) 10,20-bis (mésityl) porphyrine (13b)



En suivant les mêmes conditions opératoires de déprotection des amines, on obtient le produit 13b avec un rendement 75% (15 mg).

$R_f = 0,71$ (acétonitrile/ eau : 7/3 + 1% TFA) (phase inverse).

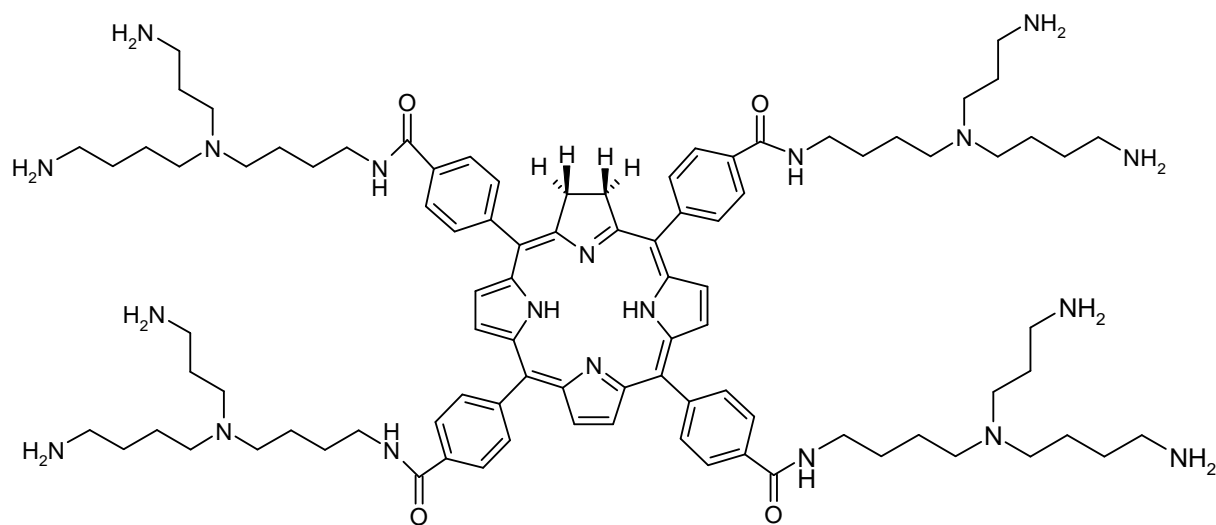
RMN 1H : (Tableau III-3).

SM (MALDI) : (Tableau III-2).

UV-visible: (Tableau III-1).

Log P = 0,07.

5,10,15,20-tétrakis (spermidine (*N*⁴-(4-aminobutyl) 4-amidophényl)) chlorure (14a)



Après filtration sur fritté, le produit 14a est obtenu avec 96% de rendement (19 mg).

$R_f = 0,70$ (acétonitrile/ eau : 7/3 + 1% TFA) (phase inverse).

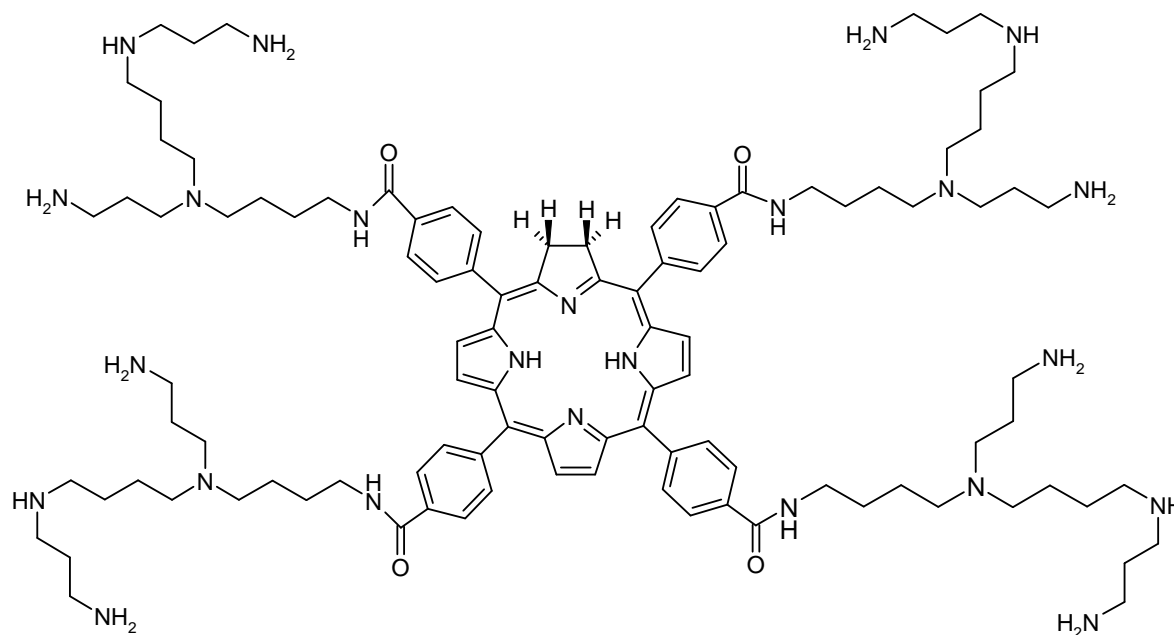
RMN ¹H : (Tableau II-4).

SM (MALDI) : (Tableau II-2).

UV-visible: (Tableau II-1).

Log P = -1,87.

5,10,15,20-tétrakis (spermine (*N*⁴-(4-aminobutyl) 4-amidophényl)) chlorine (14b)



En suivant les conditions décrites précédemment, le composé 14b est isolé avec un rendement quasi quantitatif (18 mg).

$R_f = 0,70$ (acétonitrile/ eau : 7/3 + 1% TFA) (phase inverse).

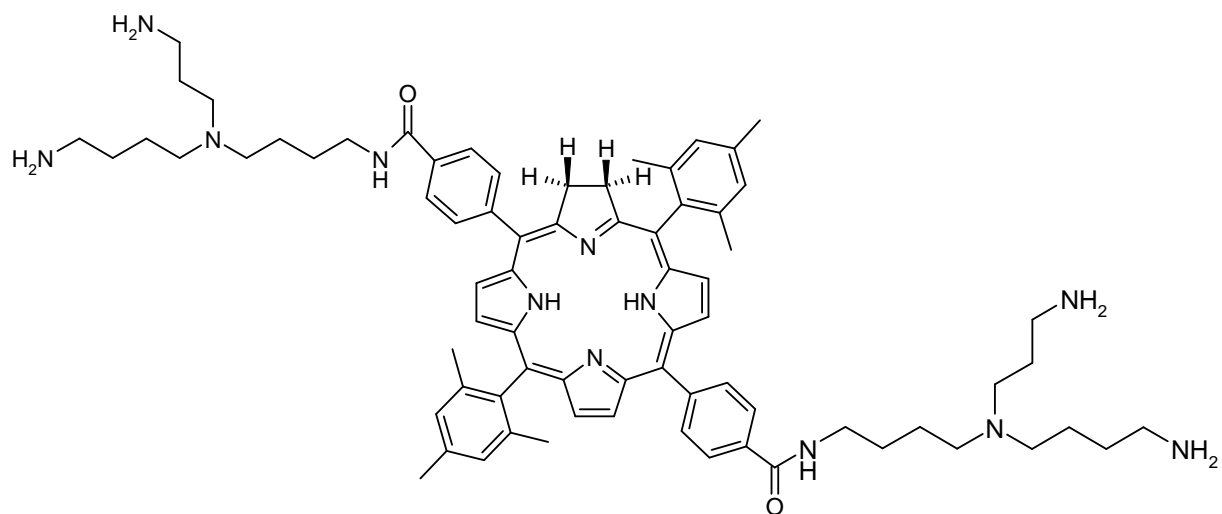
RMN ¹H : (Tableau II-4).

SM (MALDI) : (Tableau II-2).

UV-visible: (Tableau II-1).

Log P = -1,98.

5,15-bis (spermidine (*N*⁴-(4-aminobutyl) 4-amidophényl)) 10,20-bis (mésityl) chlorine (15a)



Après filtration sur fritté, on isolele produit 15a avec un rendement de 84% (18 mg).

$R_f = 0,64$ (acétonitrile/ eau : 7/3 + 1% TFA) (phase inverse).

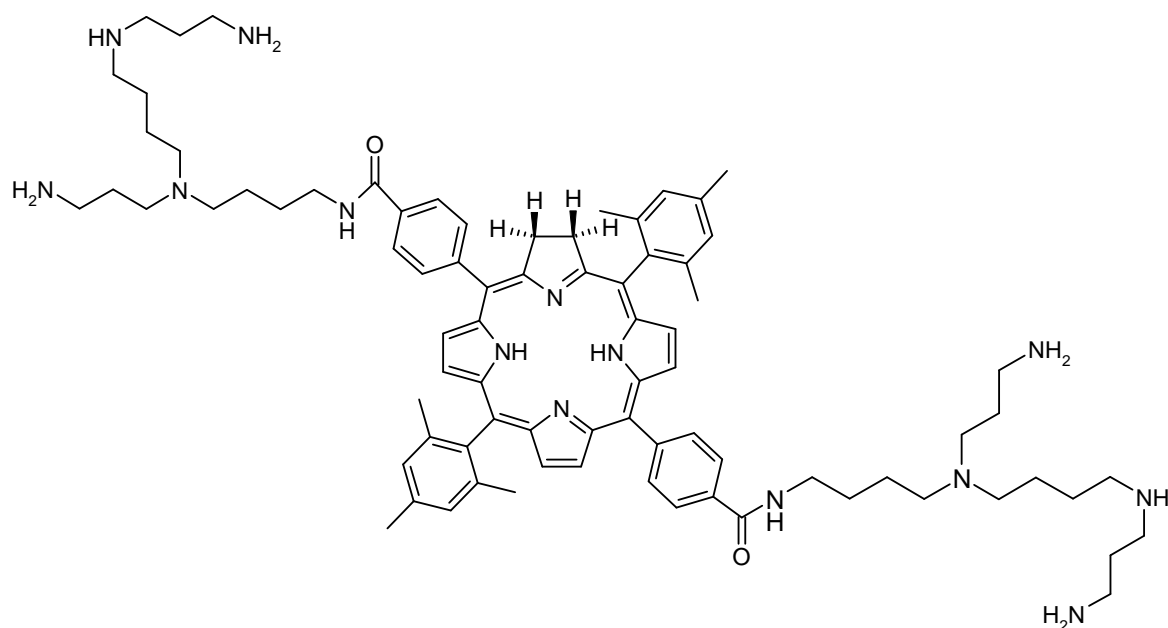
RMN ^1H : (Tableau III-4).

SM (MALDI) : (Tableau III-2).

UV-visible: (Tableau III-1).

Log P = 0,53.

5,15-bis (spermine (N^4 -(4-aminobutyl) 4-amidophényl)) 10,20-bis (mésityl) porphyrine (15b)



En suivant les mêmes conditions opératoires, le composé 15b attendu est obtenu avec un rendement de 94% (20 mg).

$R_f = 0,67$ (acétonitrile/ eau : 7/3 + 1% TFA) (phase inverse).

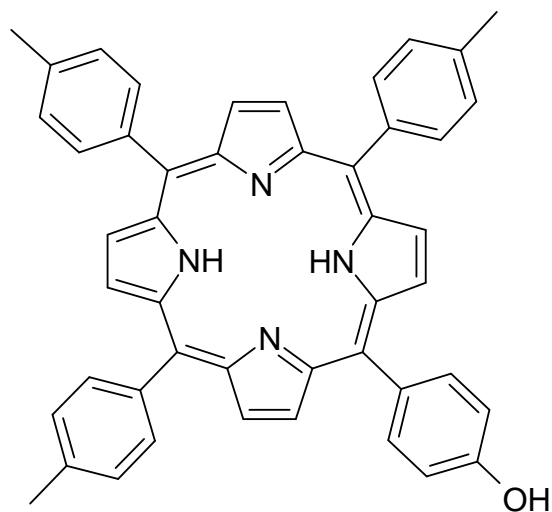
RMN ^1H : (Tableau III-4).

SM (MALDI) : (Tableau III-2).

UV-visible: (Tableau III-1).

Log P = 0,38.

5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tritolylporphyrine (16)



Dans un bicol de 500 mL muni d'un réfrigérant et surmonté d'une garde à CaCl_2 , on dissout 2,8 g de 4-hydroxybenzaldéhyde (22,6 mmol, 1 éq.) et 8 mL de *para*-tolualdéhyde (68,0 mmol, 3 éq.) dans 250 mL d'acide propanoïque que l'on porte à reflux pendant 45 minutes. 6,3 mL de pyrrole (90,6 mmol, 4 éq) fraîchement distillé sont ensuite ajoutés, goutte à goutte, et l'ensemble est porté à 130°C durant 90 minutes à l'abri de la lumière. La réaction est arrêtée et le mélange est laissé 18 heures environ à 4°C . Les porphyrines cristallisées sont filtrées sur büchner et rincées abondamment à l'éthanol absolu. Les cristaux récupérés sont chromatographiés sur colonne (20 cm x 3 cm, éluant: CHCl_3 / éther de pétrole : 8/2). On obtient ainsi la porphyrine 16 sous forme de cristaux violets avec un rendement de 5% (913 mg).

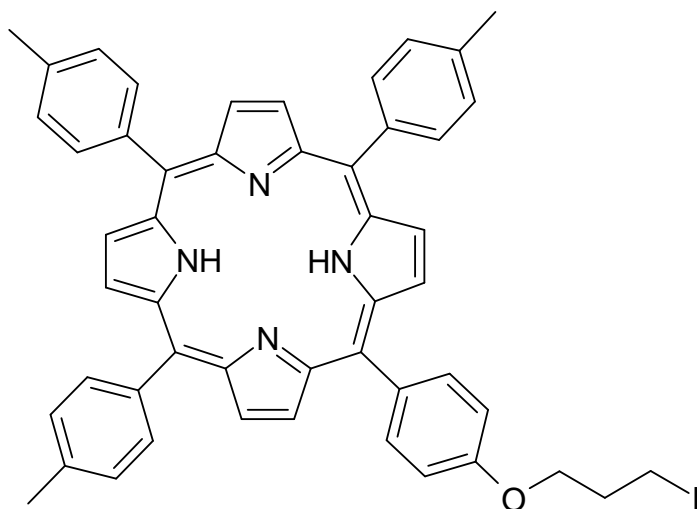
$R_f = 0,51$ (toluène/ acétone : 93/7).

RMN ^1H : (Tableau IV-3).

SM (MALDI) : (Tableau IV-2).

UV-visible: (Tableau IV-1).

5-(4-(3-iodopropoxyphényl))-10,15,20-tritolylporphyrine (17)



Dans un bicol de 50 mL muni d'un réfrigérant et surmonté d'une garde à CaCl_2 , 170 mg de 16 (25,3 mmol, 1 éq.) dans 21 mL de DMF anhydre en présence de 1,45 mL de 1,3-diiodopropane (12,7 mmol, 50 éq.) et de 1,9 g de carbonate de potassium (13,6 mmol, 54 éq.). L'ensemble est placé sous agitation et à température ambiante. Après 18 heures de réaction, le DMF est évaporé sous pression réduite. Le produit obtenu est dissous dans du dichlorométhane et la phase organique est lavée à l'eau distillée (2 x 150 mL), séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée. Le mélange est purifié par chromatographie sur plaques préparatives (CH_2Cl_2 / éther de pétrole : 1/1). Le produit 17 est isolé sous forme de cristaux avec 76% de rendement (161 mg).

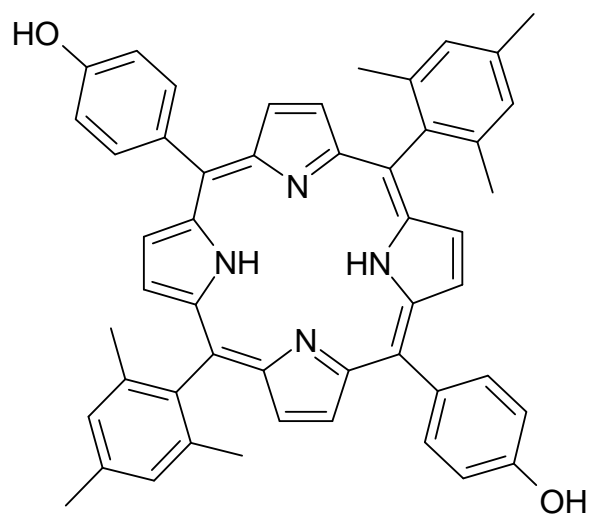
$R_f = 0,67$ (CH_2Cl_2 / éther de pétrole : 1/1).

RMN ^1H : (Tableau IV-3).

SM (MALDI) : (Tableau IV-2).

UV-visible: (Tableau IV-1).

5,15-bis (4-hydroxyphényl) 10,20-bis (mésityl) porphyrine (18)



Dans un bicol de 100 mL, 61 mg de 4-hydroxybenzaldéhyde (0,5 mmol, 1 éq) sont dissous dans 48 mL de dichlorométhane en présence de 132 mg de *meso*-(mésityl)dipyrrométhane (0,5 mmol, 1 éq). 66 μ L de TFA (0,9 mmol, 1,8 éq), en solution dans 2 mL de dichlorométhane sont ajoutés, goutte à goutte, au mélange réactionnel. Celui-ci est alors placé sous agitation et à température ambiante. Après 45 minutes de réaction, 123 mg de *para*-chloranil (0,5 mmol, 1 éq) sont ajoutés et le mélange réactionnel est laissé pendant 90 minutes. Celui-ci est ensuite passé sur fritté de silice et lavé avec du dichlorométhane. Le mélange obtenu est ensuite purifié par chromatographie sur plaques préparatives ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH} : 96/4$).

Le composé 18 est ainsi obtenu avec 17% de rendement (31 mg).

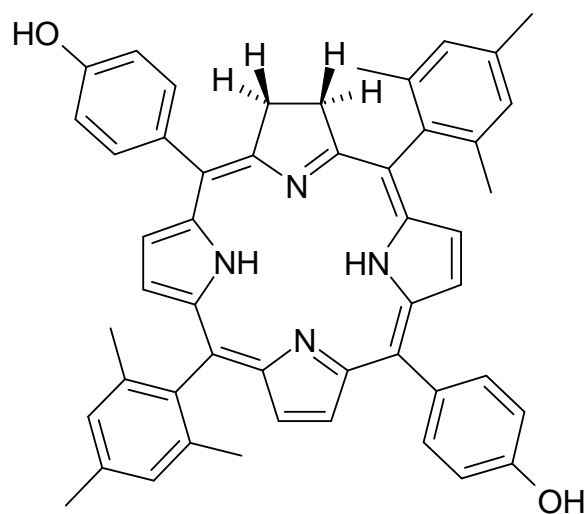
$R_f = 0,52$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH} : 96/4$).

RMN ^1H : (Tableau IV-3).

SM (MALDI) : (Tableau IV-2).

UV-visible: (Tableau IV-1).

5,15-bis (4-hydroxyphényl) 10,20-bis (mésityl) chlorine (19)



Dans un bicol de 50 mL, la réaction de 60 mg de 18 ($0,8 \cdot 10^{-4}$ mol, 1 éq), dissous dans 20 mL de pyridine anhydre, en présence de 113 mg de carbonate de potassium (0,8 mmol, 10 éq) et 38 mg de *para*-toluènesulfonylhydrazide (0,2 mmol, 2,5 éq), dans les conditions opératoires décrites précédemment dans la procédure générale de réduction d'une double liaison pyrrolique, mène, après traitement et purification sur plaques préparatives ($\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$: 96/4), au produit 19 avec un rendement de 58% (43 mg).

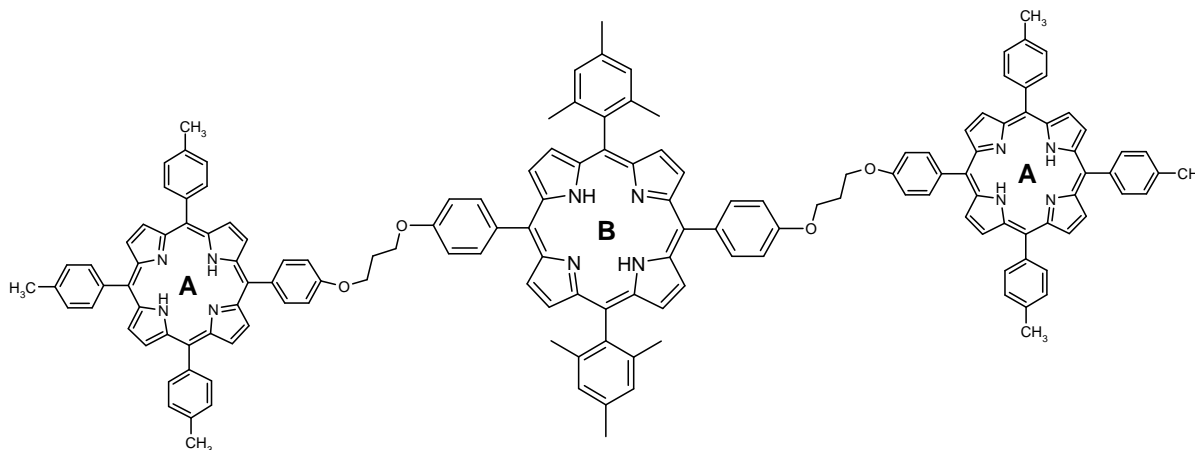
$R_f = 0,52$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$: 96/4).

RMN ^1H : (Tableau IV-3).

SM (MALDI) : (Tableau IV-2).

UV-visible: (Tableau IV-1).

5,15 bis (phényl(5-(4-propyloxyphényl) 10,15,20-tritolylporphyrinyl)) 10,20 bis (mésityl) porphyrine (20)



Dans un ballon de 10 mL, surmonté d'une garde à CaCl_2 , 8 mg de 18 ($1,1 \cdot 10^{-5}$ mol, 1 éq.) sont dissous dans 5 mL de DMF anhydre en présence de 40 mg de 17 ($4,7 \cdot 10^{-5}$ mol, 4,4 éq.) et de 120 mg de carbonate de potassium ($8,7 \cdot 10^{-4}$ mol, 80 éq.), le tout placé sous agitation et à température ambiante à l'abri de la lumière. Après 10 jours de réaction, le DMF est évaporé sous pression réduite et le produit est solubilisé dans le CHCl_3 . La phase organique est lavée à l'eau (2x50 mL), séchée sur sulfate de magnésium, filtrée. Le mélange obtenu est ensuite purifié par chromatographie sur plaques préparatives (CH_2Cl_2 / éther de pétrole : 6/4).

Le composé 20 est obtenu avec 51% de rendement (12 mg).

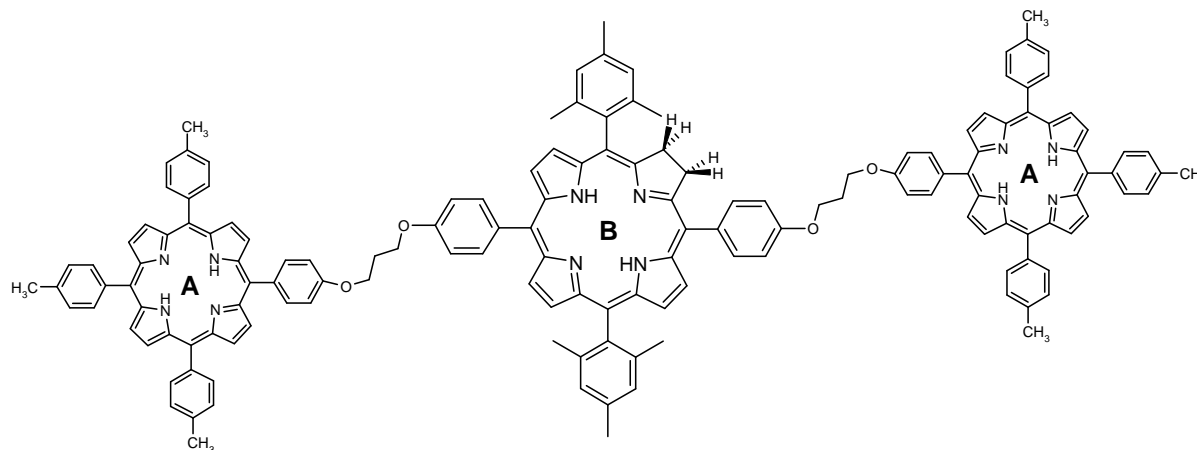
$R_f = 0,58$ (CH_2Cl_2 / éther de pétrole : 6/4).

RMN ^1H : (Tableau IV-4).

SM (MALDI) : (Tableau IV-2).

UV-visible: (Tableau IV-1).

5,15 bis (phényl(5-(4-propyloxyphényl) 10,15,20-tritolylporphinyll) 10,20 bis (mésityl) chlorine (21)



On utilise les mêmes méthodes de synthèse et de purification que pour le composé 20. En partant de 7 mg de 19 de départ ($9,6 \cdot 10^{-6}$ mol, 1 éq.) et 35 mg de 17 ($0,4 \cdot 10^{-4}$ mol, 4,4 éq.), on isole le produit 21, après purification, avec un rendement de 44% (9 mg).

$R_f = 0,57$ (CH_2Cl_2 / éther de pétrole : 6/4).

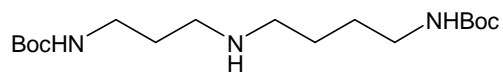
RMN ^1H : (Tableau IV-4).

SM (MALDI) : (Tableau IV-2).

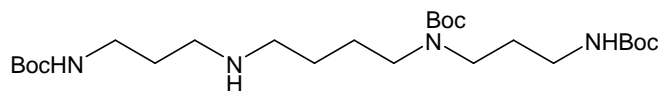
UV-visible: (Tableau IV-1).

**LISTE DES COMPOSES
SYNTHETISES
AU COURS DE CE TRAVAIL**

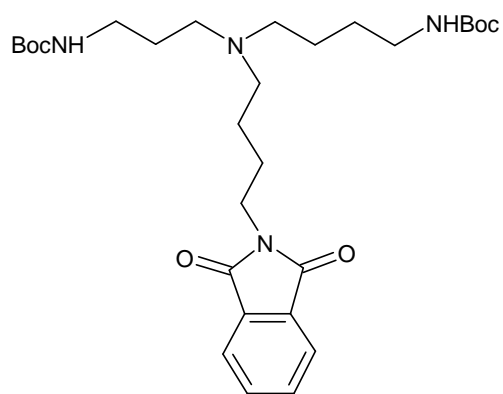
Liste des composés synthétisés au cours de ce travail



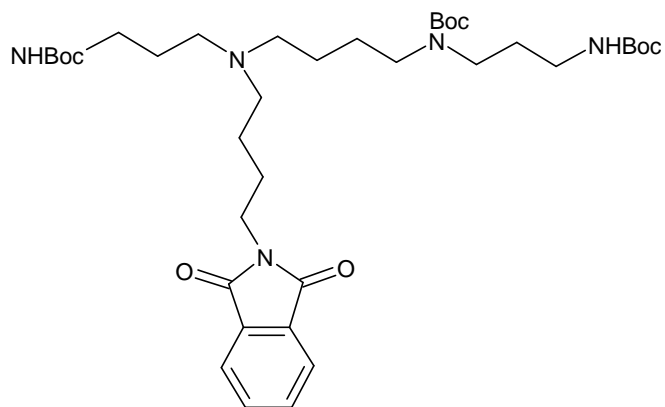
1a



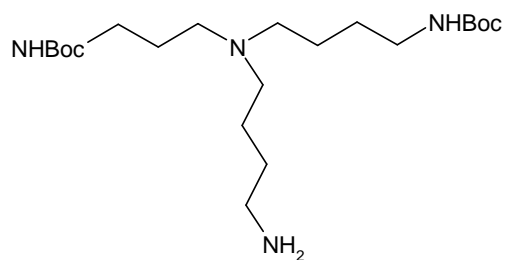
1b



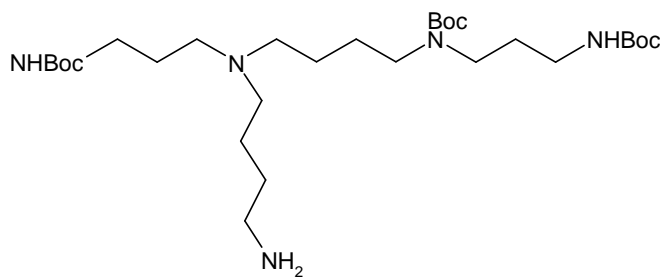
2a



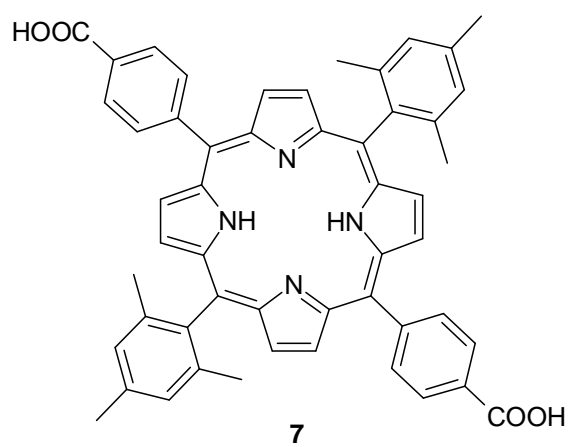
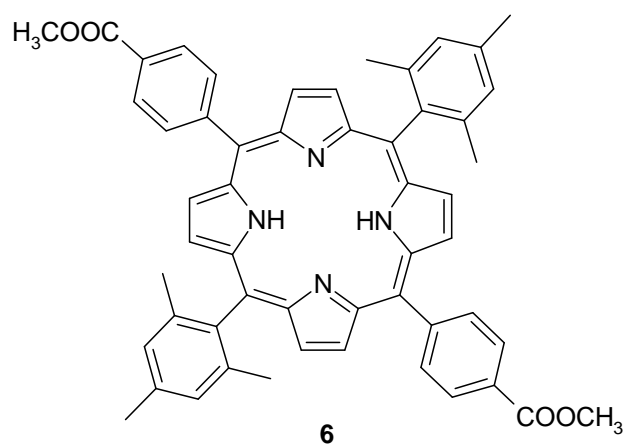
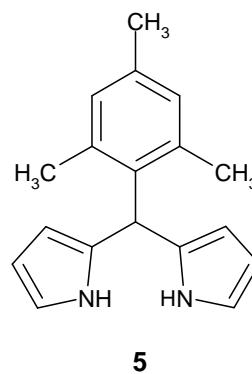
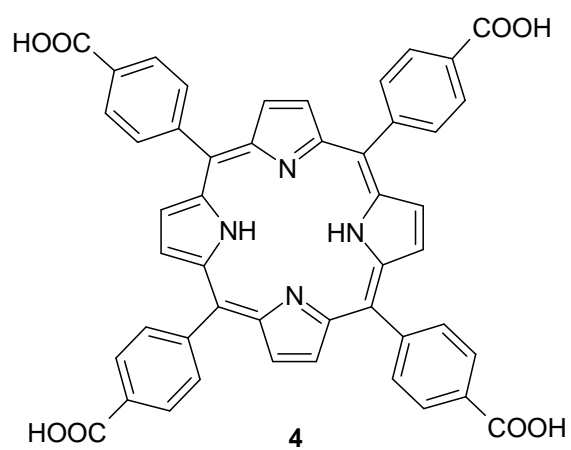
2b

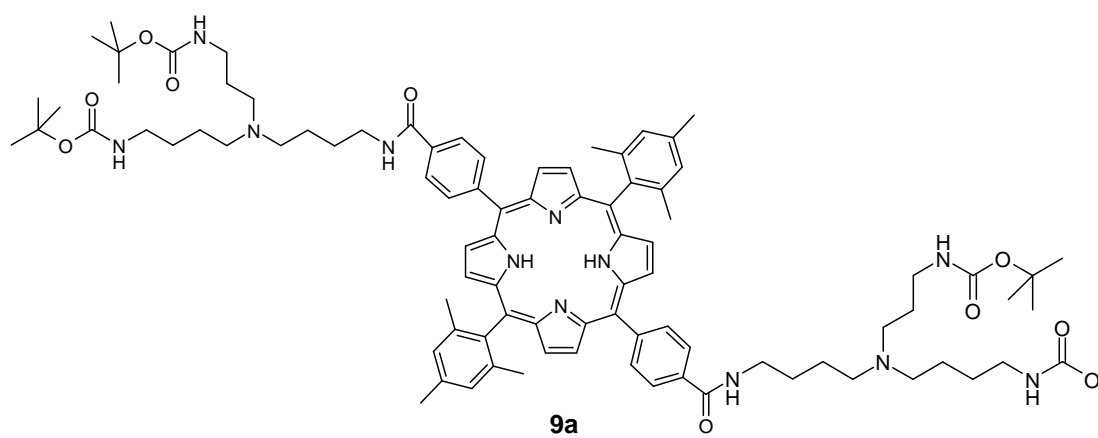
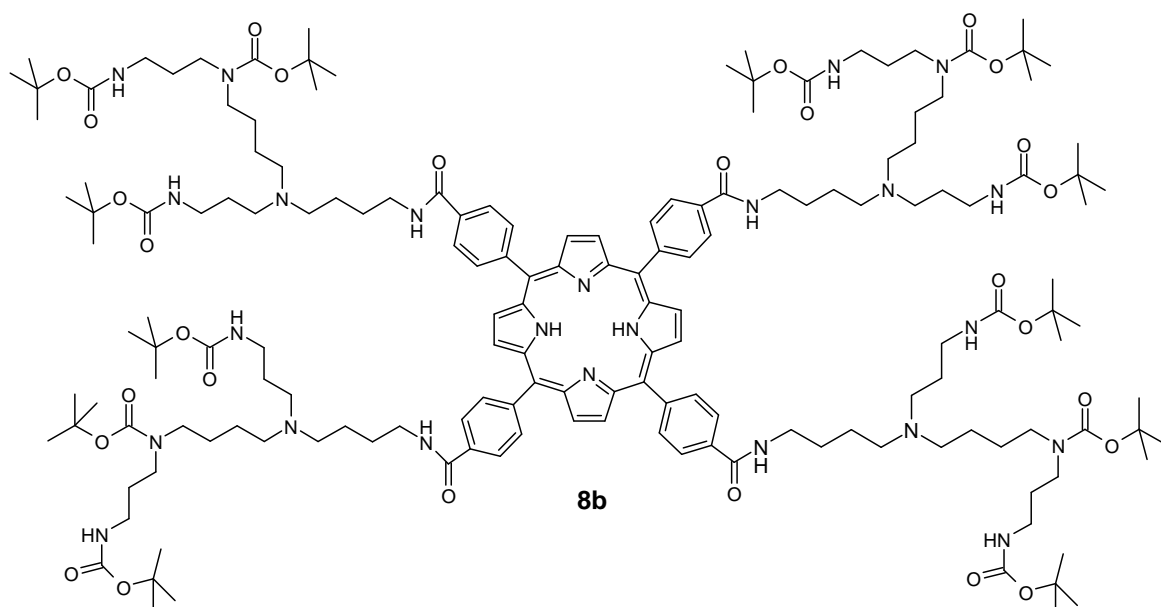
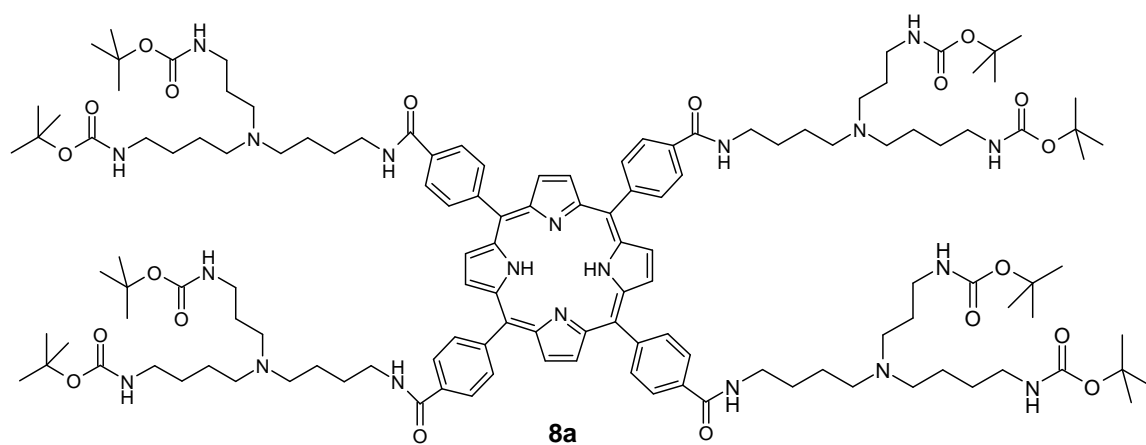


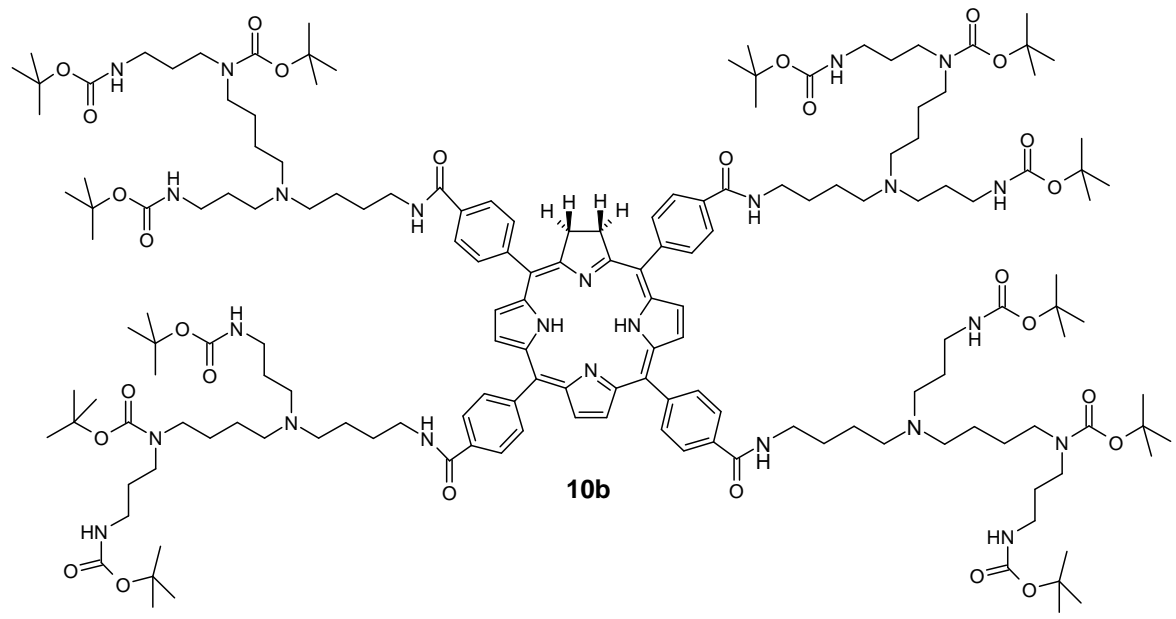
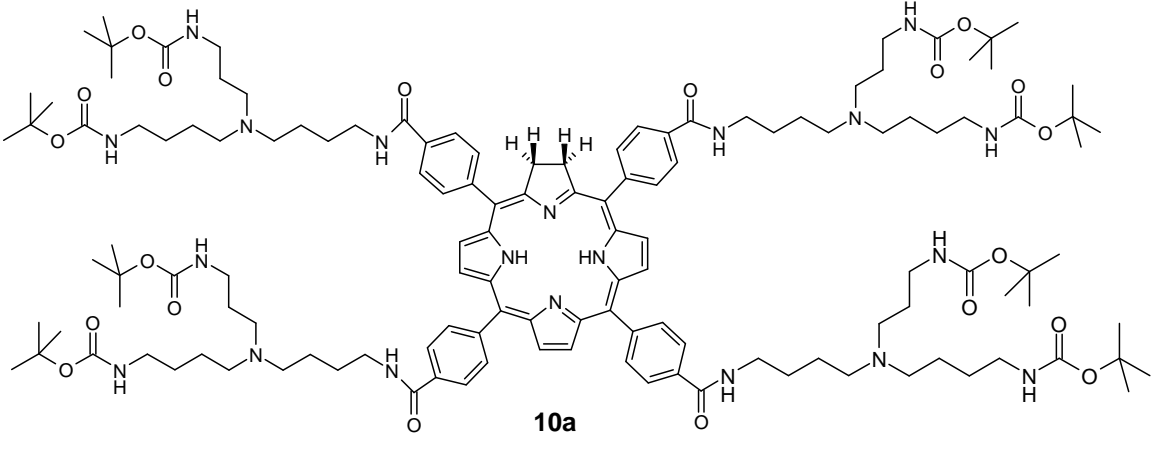
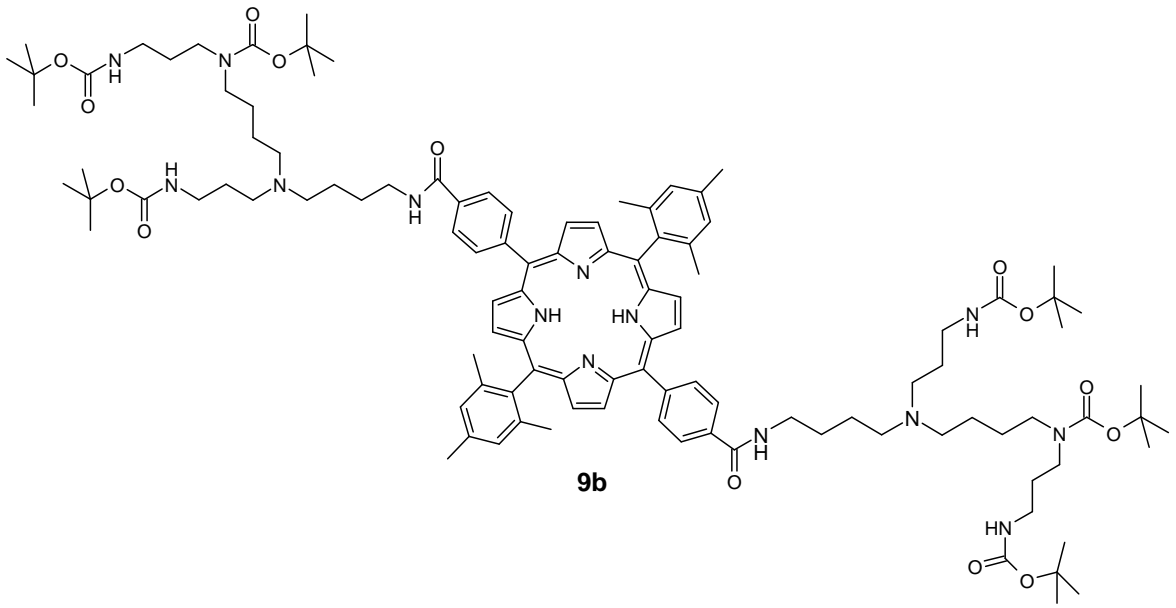
3a

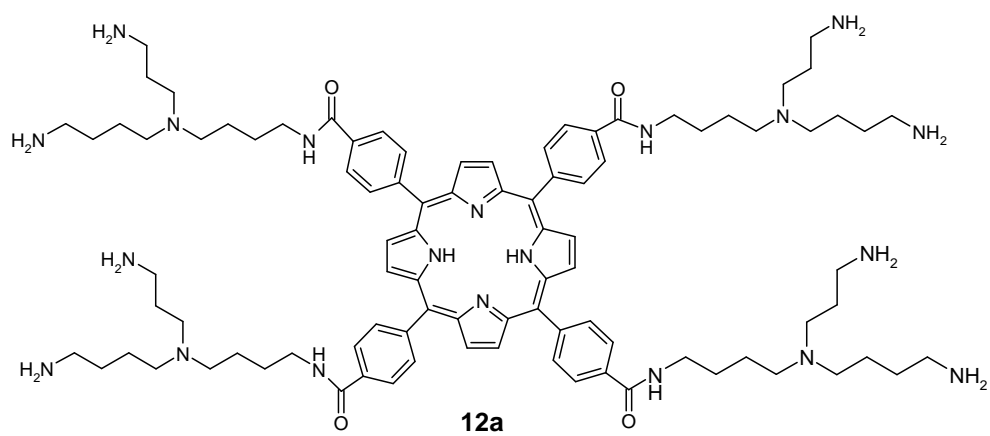
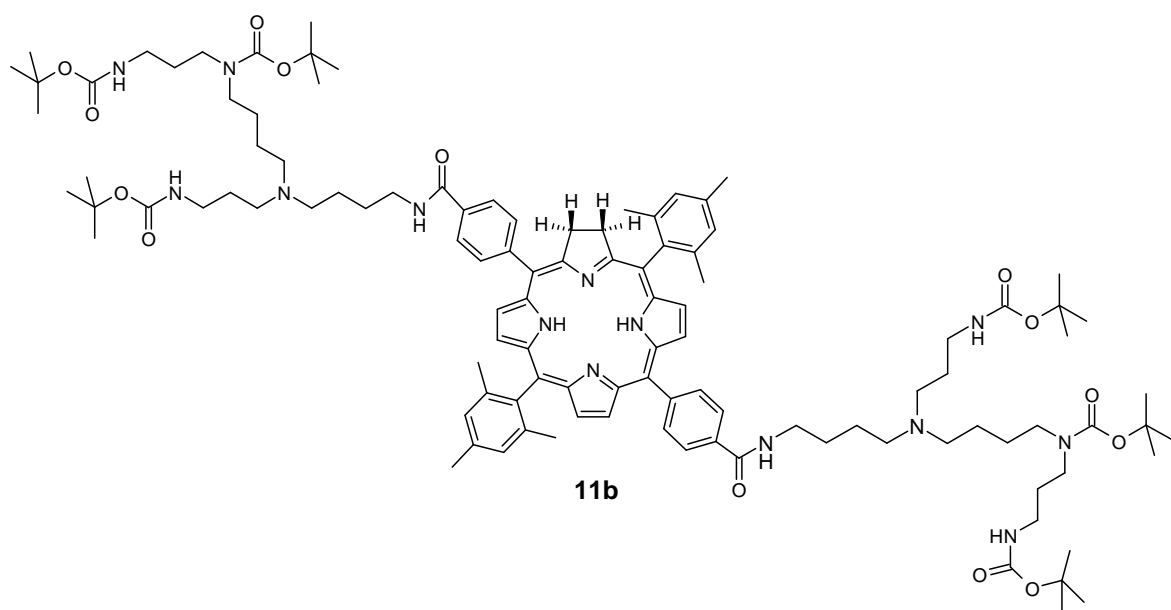
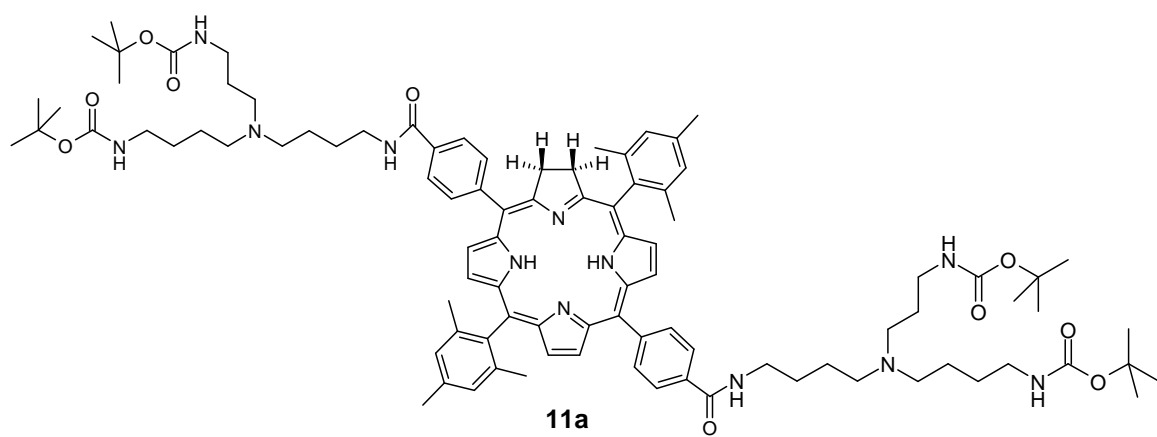


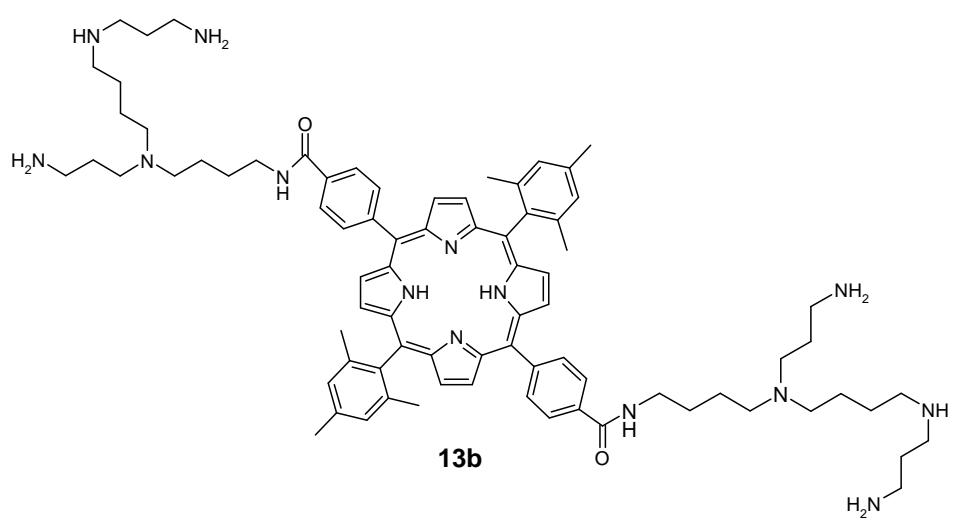
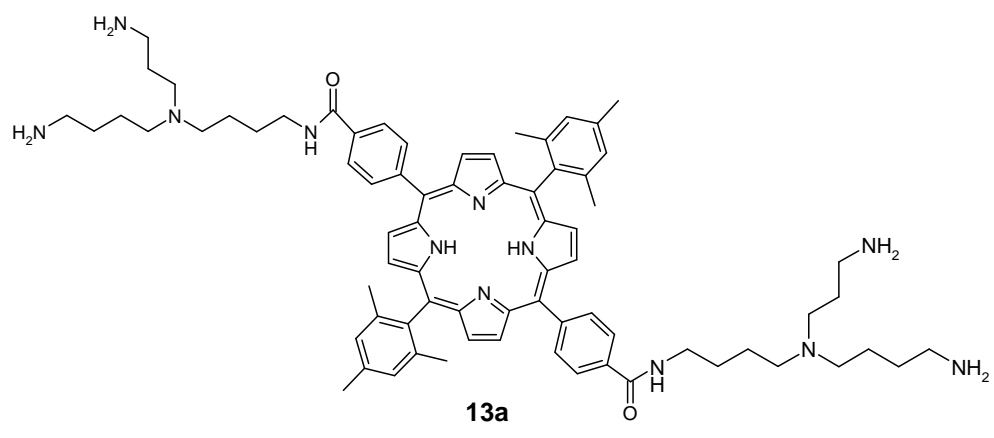
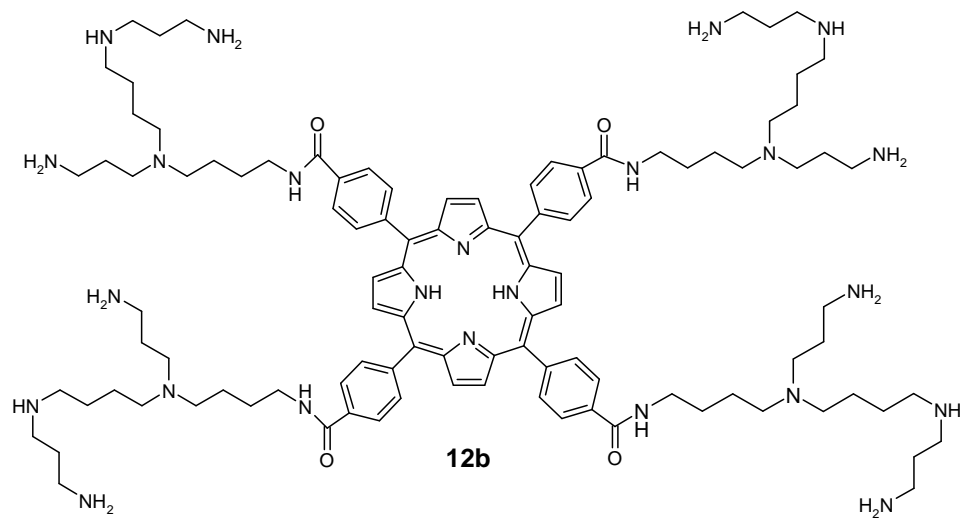
3b

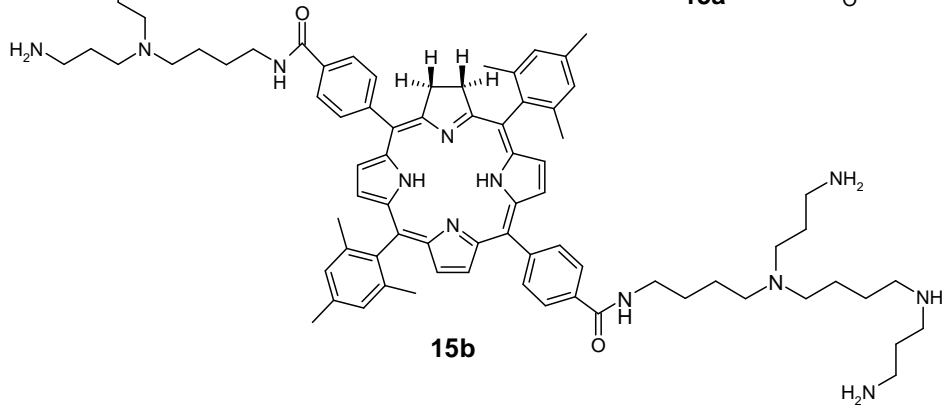
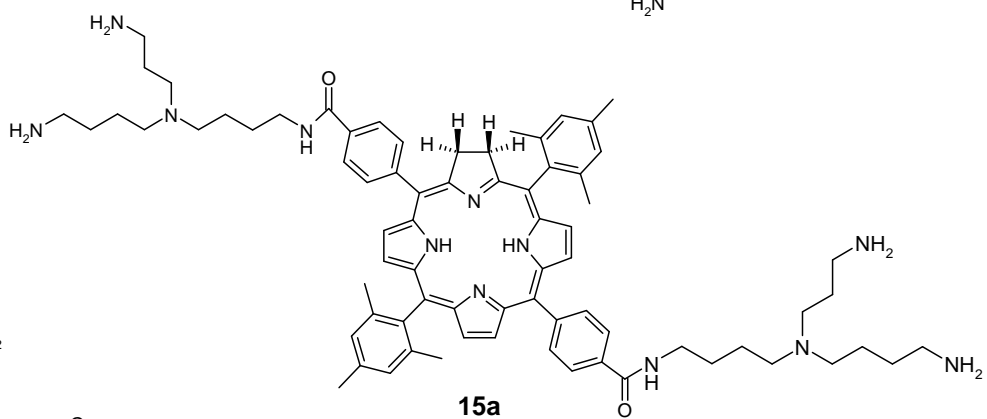
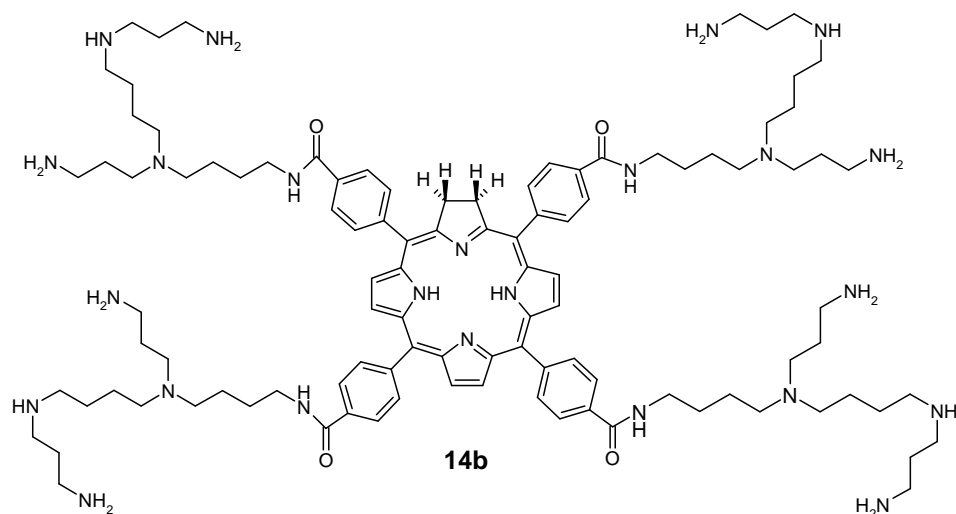
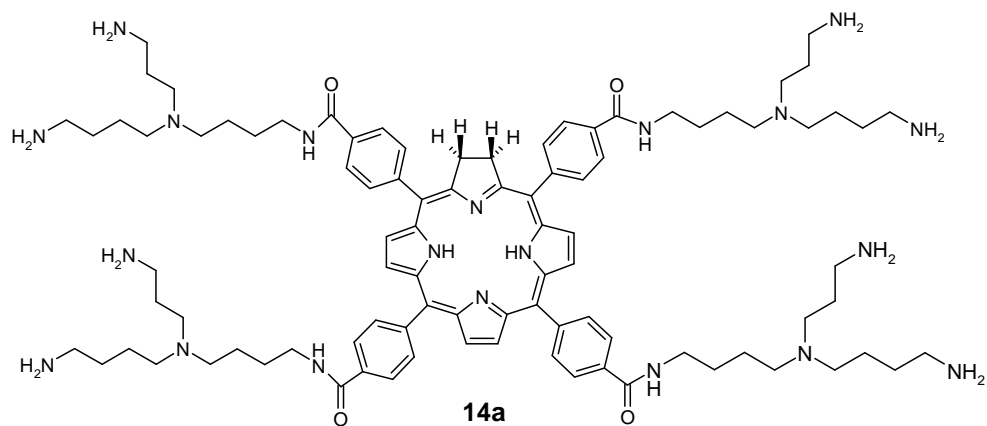


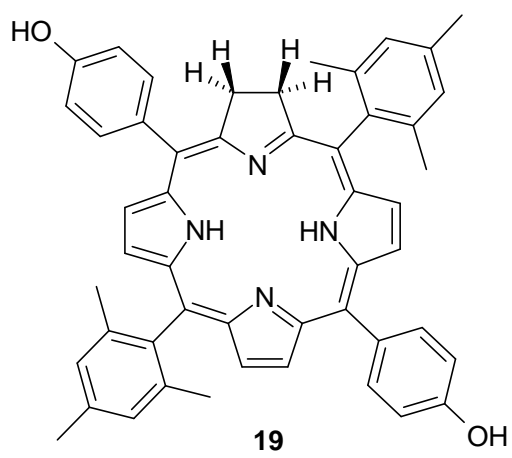
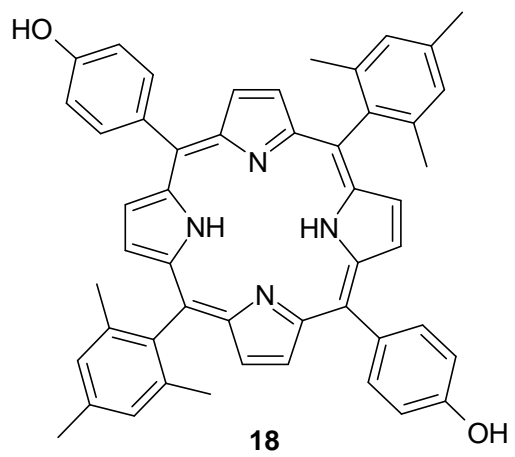
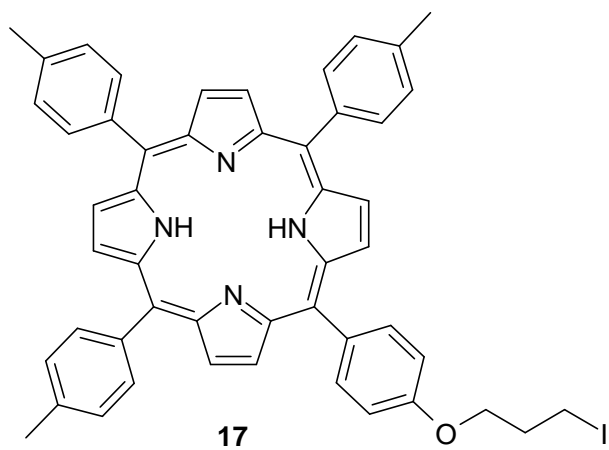
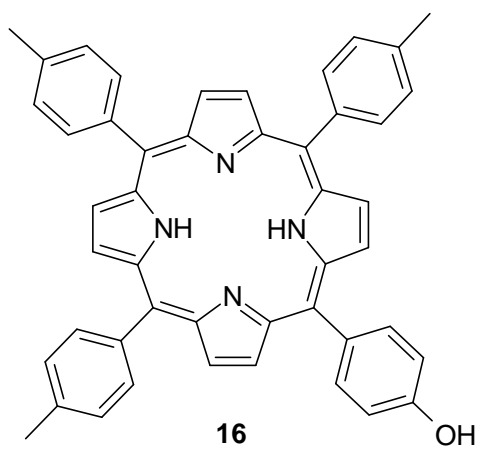












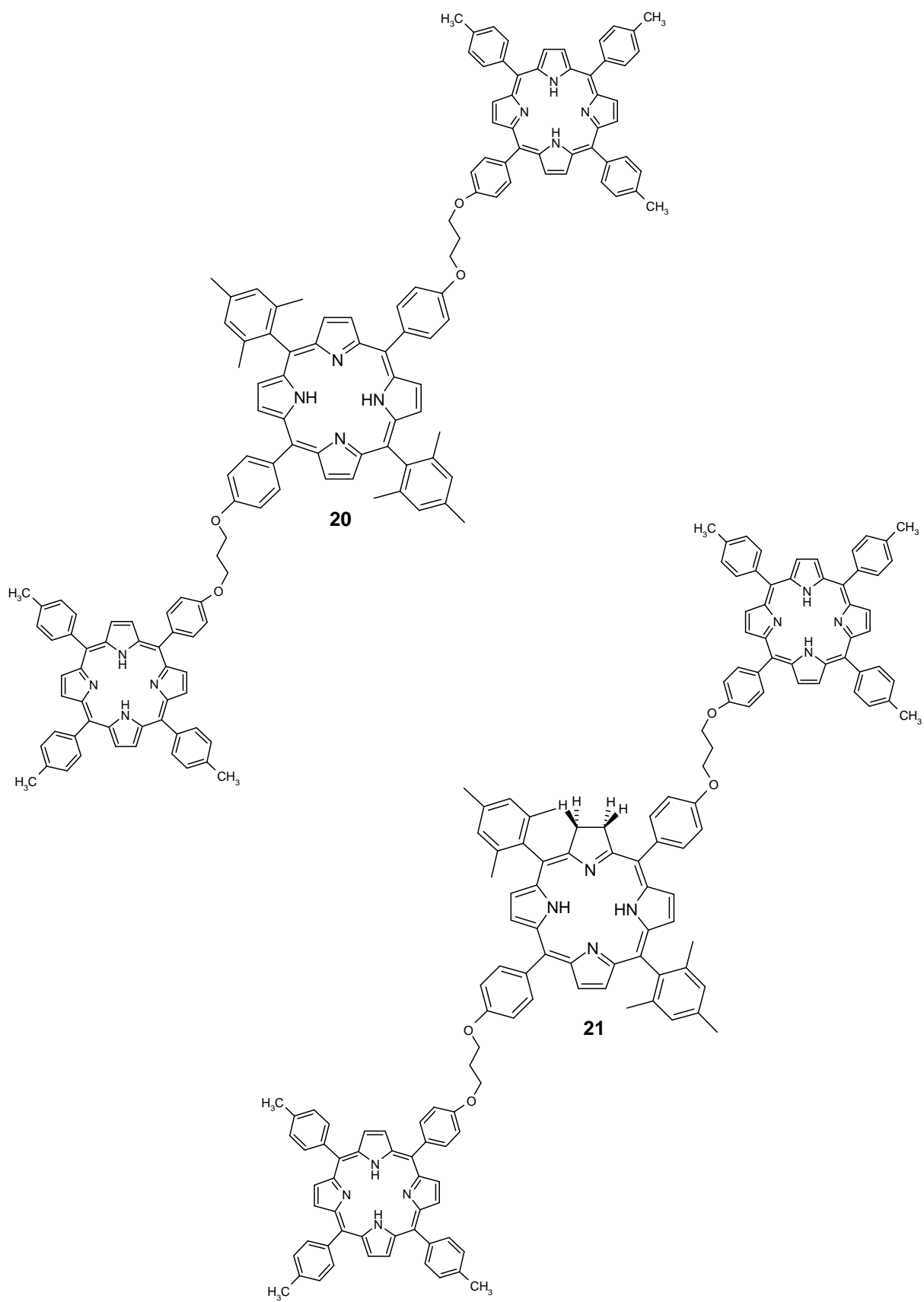


Figure I-1 ; Les différentes classes de macrocycles. (a) porphyrine base libre ; (b) porphyrine métallée ;	- 12 -
(c) chlorine ; (d) bactériochlorine ; (e) isobactériochlorine ; (f) corrole.	- 13 -
Figure I-2 : (a) appellation générale ; (b) nomenclature de Fischer ; (c) nomenclature systématique.	- 13 -
Figure I-3 : (a) octaéthylporphyrine base libre plane ; (b) octaéthylporphyrine de Nickel non plane (Ruffled).	- 14 -
Figure I-4 : Exemples de macrocycles tétrapyrroliques naturels.	- 15 -
Figure I-5 : Spectre UV-visible caractéristique d'une porphyrine base libre : la H ₂ TTP (dans CHCl ₃).	- 17 -
Figure I-6 : Profil des bandes Q pour les quatre principaux types de spectres d'absorption de porphyrines bases libres.	- 18 -
Figure I-7 : Bandes Q de spectre d'absorption d'octaéthylporphyrines métallées par : (a) Ni(II) ; (b) Zn(II) ; (c) Cd(II).	- 19 -
Figure I-8 : Spectre UV-visible caractéristique d'une chlorine : la H ₂ TTC (dans CHCl ₃).	- 19 -
Figure I-9 : Principe de la technique MALDI.	- 20 -
Figure I-10 : Cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine.	- 22 -
Figure I-11 : Spectre RMN ¹ H de la porphine dans CDCl ₃ .	- 22 -
Figure I-12 : Spectre RMN ¹ H de la chlorine e6 triméthylester dans CDCl ₃ .	- 23 -
Figure I-13 : Méthode de Rothmund appliquée à la synthèse de la meso-tétraphénylporphyrine.	- 25 -
Figure I-14 : Méthode des aldéhydes mixtes.	- 26 -
Figure I-15 : Méthode de Lindsey.	- 27 -
Figure I-16 : Adaptation de la méthode MacDonald " 2+2 " à la synthèse de trans meso-porphyrines.	- 28 -
Figure I-17 : Synthèse de l'octaméthylporphyrine.	- 29 -
Figure I-18 : Synthèse de la tétraéthyl-tétraméthylporphyrine.	- 30 -
Figure I-19 : Dipyrrométhènes utilisés par Fischer.	- 31 -
Figure I-20 : Exemple de synthèse par la méthode " 3+1 ".	- 31 -
Figure I-21 : Synthèse de la meso-2,3-dihydroxytétraphénylchlorine.	- 32 -
Figure I-22 : Synthèse de la meta-tétrahydroxyphénylchlorine (m-THPC).	- 33 -
Figure I-24 : Transformation photochimique de l'eau en hydrogène.	- 35 -
Figure I-25 : Transformation photochimique de l'eau en oxygène.	- 36 -
Figure I-26 : Représentation schématique du principe de la PDT.	- 36 -
Figure I-27 : Mécanisme photochimique de la PDT.	- 40 -
Figure I-28 : Structure de l'hématoporphyrine.	- 41 -
Figure I-29 : Structures des fractions actives du Photofrin.	- 43 -
Figure I-30 : Structure du Foscan.	- 44 -
Figure I-31 : Structures de la chlorine e6 et de la mono-L-aspartylchlorine e6.	- 45 -
Figure I-32 : Structure de la Purlytin.	- 46 -
Figure I-33 : Structures du Xcytrin® et du Lutrin®.	- 47 -
Figure I-34 : Schéma de la protoporphyrine IX à partir de l'acide 5-aminolévulinique.	- 48 -
Figure I-35 : Structure de la vertéporfine.	- 49 -
Figure I-36 : Structure de la tétra(N-méthylpyridyl)porphyrine (TMPyP).	- 50 -
Figure I-37 : Structures de porphyrines vectorisées.	- 52 -
Figure I-38 : Structures de polyamines naturelles.	- 52 -
Figure I-39 : Synthèse de la spermidine par Bergeron et coll. ⁸³	- 54 -
Figure I-40 : Synthèse de polyamine N-alkylée. ⁸⁴	- 55 -
Figure I-41 : Alkylation des amines primaires par la méthode de van Arman. ⁸⁸	- 56 -
Figure I-42 : Synthèse d'analogue du chlorambucil par addition de type Michaël.	- 57 -

Figure I-43 : Synthèse de tétraamine optiquement active par la réaction de Mitsunobu.....	57 -
Figure I-44 : Cycle des polyamines.....	58 -
Figure I-45 : Structures d'inhibiteurs du cycle des polyamines.....	59 -
Figure I-46 : Exemples de structures actives conjuguées à des polyamines.....	61 -
Figure I-47 : Structures de composés finals synthétisés au cours de ce travail.....	63 -
Figure I-48 : Structures de composés finals synthétisés au cours de ce travail.....	64 -
Figure II-1 : Porphyrines et chlorines tétrapolyaminées synthétisées.....	69 -
Figure II-2 : Schéma rétrosynthétique.....	71 -
Figure II-3 : Schéma général de la synthèse du précurseur polyaminé.....	72 -
Figure II-4 : Protection des polyamines par le Boc-ON.....	73 -
Figure II-5 : Fixation d'un bras à quatre carbones sur les polyamines.....	74 -
Figure II-6 : Mécanisme de déprotection du groupement phtalimide.....	75 -
Figure II-7 : Synthèse des précurseurs polyaminés terminaux.....	76 -
Figure II-8 : Fixation des précurseurs polyaminés sur la porphyrine.....	77 -
Figure II-9 : Mécanisme d'activation par le système DCC/ HOBt.....	78 -
Figure II-10 : Mécanisme de réduction par le diimide. ¹¹⁴	79 -
Figure II-11 : Décomposition thermique d'arènesulfonylhydrazide.....	80 -
Figure II-12 : Formation des chlorines 10a et 10b	80 -
Figure II-13 : Déprotection des fonctions amines.....	81 -
Figure II-14 : Spectre UV-visible du composé 12a dans le méthanol.....	82 -
Figure II-15 : Spectres UV-visible comparatifs des composés 8a et 10a réalisés dans le dichlorométhane,.....	84 -
(c = 1,9.10 ⁻⁶ mol.L ⁻¹)......	84 -
Figure II-16: Spectre de masse MALDI du composé 8b	85 -
Figure II-17 : Groupe des principaux signaux du spectre RMN ¹ H (composé 8b).....	86 -
Figure II-18 : Spectre RMN ¹ H du composé 8a	89 -
Figure II-19 : Spectre RMN ¹ H du composé 10a	91 -
Figure III-1 : <i>Structure des trans</i> -porphyrines et <i>trans</i> -chlorines polyaminées synthétisées.....	97 -
-	
Figure III-2 : Schéma rétrosynthétique.....	98 -
Figure III-3 : Condensation du pyrrole sur deux aldéhydes différents.....	99 -
Figure III-4 : Processus de réarrangement par catalyse acide.....	100 -
Figure III-5 : Synthèse du <i>meso</i> -mésityldipyrométhane.....	101 -
Figure III-6 : Synthèse de la <i>trans</i> -porphyrine 7	103 -
Figure III-7 : Fixation des précurseurs polyaminés sur la porphyrine 7	104 -
Figure III-8 : Formation des chlorines 11a et 11b	104 -
Figure III-9 : Déprotection des fonctions amine.....	105 -
Figure III-10 : Spectre UV-visible du composé 15a dans le méthanol.....	107 -
Figure III-11: Spectre de masse MALDI du composé 11b	109 -
Figure III-12 : Groupe des principaux signaux du spectre RMN ¹ H (composé 9b).....	110 -
Figure III-13 : Spectre RMN ¹ H du composé 13a	112 -
Figure III-14 : Spectre RMN ¹ H du composé 11a	115 -
Figure IV-1 : Structures des trimères synthétisés 20 et 21	121 -
Figure IV-2 : Schéma rétrosynthétique.....	122 -
Figure IV-3 : Synthèse de la mono <i>para</i> -hydroxyphényltritolyldiporphyrine 16	123 -
Figure IV-4 : Fixation de la chaîne carbonée par la méthode de Williamson.....	124 -
Figure IV-5 : Synthèse de la <i>trans</i> -porphyrine 18 par la méthode de Lindsey.....	125 -
Figure IV-6 : Formation de la <i>trans</i> -chlorine 19	126 -
Figure IV-7 : Synthèse du trimère 20	127 -
Figure IV-8 : Synthèse du trimère 21	128 -

Figure IV-8 : Spectre UV-visible du composé 21 dans le dichlorométhane.....	- 130 -
Figure IV-9: Spectre de masse MALDI du composé 20	- 131 -
Figure IV-10 : Groupe des principaux signaux du spectre RMN ¹ H (composés 17 et 18)..	- 132 -
-	
Figure IV-11 : Groupe des principaux signaux du spectre RMN ¹ H (composé 20).	- 135 -
Figure IV-12 : Spectre RMN ¹ H du trimère 20	- 137 -
Figure IV-13 : Spectre RMN ¹ H du trimère 21	- 139 -
Figure V-1 : Formation de l'endoperoxyde d'acétate d'ergosterol.....	- 144 -
Figure V-2 : Dessin schématique des différents modes d'interaction. (a) intercalation ; (b) interaction externe simple ; (c) interaction externe par « self-stacking ».....	- 144 -
Figure V-3 : Changement du spectre d'absorption UV-visible du composé 12a ($8,5 \cdot 10^{-6}$ M) après ajouts successifs de la solution d'ADN (de $2,3 \cdot 10^{-6}$ M à $2,3 \cdot 10^{-5}$ M).....	- 145 -
(spectres réalisés dans solution saline de tampon phosphate pH 7,4).....	- 145 -
Figure V-4 : Changement du spectre d'absorption UV-visible du composé 14a ($3,9 \cdot 10^{-6}$ M) après ajouts successifs de la solution d'ADN (de $1,2 \cdot 10^{-6}$ M à $1,2 \cdot 10^{-5}$ M).....	- 147 -
(spectres réalisés dans solution saline de tampon phosphate pH 7,4).....	- 147 -
Figure V-5 : Visualisation des différentes formes plasmidiales séparées par électrophorèse.....	- 148 -
Figure V-6 : Résultats d'activité des composés 12a et 12b	- 149 -

Résumé

La synthèse de nouveaux photosensibilisateurs capables de reconnaître spécifiquement les cellules tumorales constitue un axe de recherche important dans le cadre de la photothérapie dynamique des cancers. En outre, compte tenu du rôle important des polyamines pour le ciblage des cellules cancéreuses, nous avons pensé que la fixation de telles structures sur des photosensibilisateurs devrait assurer la reconnaissance des tumeurs. Nous avons donc mis au point, au cours de ce travail, la synthèse de nouvelles porphyrines et chlorines portant deux ou quatre motifs polyaminés. Du fait de la présence d'une bande d'absorption plus intense vers les fortes longueurs d'onde, la synthèse de chlorines doit permettre l'utilisation de ces molécules dans le traitement photodynamique de cancers plus profonds. Ainsi dans un premier temps nous avons synthétisé la tétracarboxyphénylporphyrine ainsi que la *trans*-bis(mésityl)-bis(carboxyphényl)porphyrine portant chacune des unités spermidine ou spermine. Nous avons ensuite formé les chlorines correspondantes par réduction d'une double liaison d'un noyau pyrrolique. Enfin nous avons réalisé la synthèse de trimères composés de trois unités porphyriniques ou deux unités porphyrine et une unité chlorine. Tous ces composés ont été caractérisés par spectroscopie UV-visible, spectrométrie de masse MALDI et RMN du proton. De plus, pour toutes ces molécules, nous avons mis en évidence la production d'oxygène singulet après irradiation lumineuse. Une première étude physico-chimique a été entreprise sur les porphyrines afin d'évaluer l'interaction avec l'ADN ainsi que son photoclivage par l'oxygène singulet. Les résultats obtenus indiquent que ces nouvelles molécules semblent prometteuses pour la photothérapie dynamique.

Mots clés : chlorines, porphyrines, polyamines, photothérapie, cancer, ADN, photoclivage.

Abstract

The synthesis of new photosensitizers able to be recognized and internalized by tumor cells is one of the main goals of photodynamic therapy of cancers. Owing to the important role of polyamines in cancer cell targeting, we resolved to design porphyrins and chlorins bearing two or four polyamine motifs; in addition, the strong absorption band that chlorins display in the red part of their visible spectra would allow these molecules to help the treatment of

thicker or more profound tumors. We first synthesized tetra-carboxyphenylporphyrin and *trans*-bis(mesityl)-bis(carboxyphenyl)porphyrin each one bearing spermidine or spermine units. Then we performed the synthesis of the corresponding chlorins by reduction of one pyrrolic double bond. We finally synthesized trimers composed of three porphyrin or two porphyrin and one chlorin units. All of these compounds were characterized by UV-visible spectroscopy, MALDI mass spectrometry and ¹H NMR and have been shown to generate singlet oxygen upon irradiation with visible light. A preliminary physico-chemical study has been undertaken in order to appreciate the complexation of these molecules with DNA and the ensuing visible light-induced photocleavage; results obtained indicate that these molecules could be promising for their use in photodynamic therapy.

Keywords : chlorins, porphyrins, polyamines, phototherapy, cancer, DNA, photocleavage.