

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

DÉVELOPPEMENT D'UN COLORANT SEMI-SYNTHÉTIQUE DANS LE BUT  
DE RÉVÉLER LES TATOUAGES EFFACÉS SUR LE VIVANT

MÉMOIRE  
PRÉSENTÉ  
COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE EXTENSIONNÉ DE  
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

PAR  
GABRIEL EMOND

AVRIL 2019

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL  
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.10-2015). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

## REMERCIEMENTS

Je voudrais commencer en remerciant mes directeurs de recherche, les professeurs Gervais Bérubé et Frank Crispino. Sans eux, ce projet n'aurait jamais pu être possible. Ils ont été de formidables mentors, m'encourageant lorsque nécessaire et me poussant à me dépasser dans les difficultés. J'aimerais les remercier pour leur efficacité, je n'ai jamais eu besoin d'attendre pour recevoir une réponse, ils étaient très présents pour m'aider.

Je remercie également le professeur René C. Gaudreault et Marie-France Côté pour leur aide avec les tests de toxicité.

J'aimerais ensuite remercier mes collègues et amis, Vincent, Simon, François et plusieurs autres qui égayaient mes journées d'expérimentation et me changeaient les idées en dehors du laboratoire. Leur support moral et parfois technique aura été d'une grande aide.

Un merci spécial à Éric, mon stagiaire qui m'a aidé avec plusieurs réactions au cours de la dernière année.

Ma famille mérite également des remerciements. Je sais qu'ils n'ont jamais cessé de croire en moi malgré la distance qui nous sépareit.

Finalement, ma bien-aimée Laurence. J'aimerais la remercier pour toutes les petites attentions qu'elle me porte et qui me redonnent confiance lorsque j'en ai besoin. Merci d'être à mes côtés dans les hauts comme dans les bas. Je n'y serais jamais arrivé sans toi.

## TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES .....	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES SCHÉMAS.....	ix
LISTE DES SPECTRES RMN .....	xi
LISTE DES SPECTRES DE FLUORESCENCE .....	xiii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES .....	xv
LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS .....	xvi
RÉSUMÉ .....	xviii
CHAPITRE I LES TATOUAGES .....	1
1.1 Généralités sur les tatouages .....	1
1.2 Procédés de tatouage.....	2
1.3 Complications à la suite d'un tatouage.....	6
1.4 Procédés d'effacement des tatouages.....	8
1.5 Le tatouage en tant qu'identifiant.....	9
1.6 L'identification de tatouages sur les cadavres.....	10
1.7 La détection de tatouages sur le vivant.....	11
CHAPITRE II LE COLORANT.....	13
2.1 Le curcuma.....	13
2.2 La curcumine .....	14
2.3 La solubilité de la curcumine.....	17
2.4 La fluorescence de la curcumine .....	18
2.5 La réactivité de la curcumine .....	19
2.6 Les propriétés médicales de la curcumine .....	20

CHAPITRE III SYNTHÈSE DES DÉRIVÉS DE LA CURCUMINE ET ÉVALUATION BIOLOGIQUE .....	23
3.1 La curcumine et ses sites réactionnels .....	23
3.2 Synthèse de dérivés connus .....	24
3.3 Conception de dérivés esters .....	27
3.4 Réaction de Knoevenagel .....	32
3.5 Réaction d'alkylation .....	36
3.6 Tests de prolifération cellulaire .....	37
CHAPITRE IV OPTIMISATION DES PARAMÈTRES DE RÉVÉLATION .....	44
4.1 Préparation de solutions colorantes à différentes concentrations .....	44
4.2 Fluorescence des dérivés .....	45
4.3 Détermination de la méthode d'application des solutions colorantes .....	51
4.4 Révélation du collagène .....	54
4.5 Fluorescence du collagène et de la gélatine .....	57
4.6 Fluorescence entre deux milieux avec une concentration de gélatine différente .....	61
CHAPITRE V CONCLUSION .....	65
5.1 Tests sur les humains .....	65
5.2 Conclusion du projet .....	65
5.3 Perspectives futures .....	66
CHAPITRE VI PARTIE EXPÉRIMENTALE .....	67
6.1 Remarques générales .....	67
6.2 Analyse de la curcumine (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (1) .....	68
6.3 Synthèse du produit (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (2) .....	69
6.4 Synthèse du produit (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (3) .....	70
6.5 Synthèse du produit (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (4) .....	72
6.6 Synthèse du produit (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (5) .....	73

6.7 Synthèse du produit (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>6</b> ).....	74
6.8 Synthèse du produit (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-iso-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>7</b> ).....	76
6.9 Synthèse du produit (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoiloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>8</b> ).....	77
6.10 Synthèse du produit (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>9</b> ).....	78
6.11 Synthèse du produit (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4-(4-hydroxy-benzylidène)-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>10b</b> ).....	80
6.12 Synthèse du produit (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>11</b> ) .....	81
6.13 Synthèse du produit (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>12</b> ).....	82
6.14 Test de prolifération cellulaire .....	83
6.15 Tests de solubilité des dérivés de la curcumine .....	84
6.16 Tests de fluorescence des dérivés de la curcumine.....	84
6.17 Tests d'application des solutions colorantes .....	85
6.18 Tests de fluorescence des taches de colorant sur papier-filtre.....	85
6.19 Tests de variation de fluorescence causée par un substrat gélatineux.....	86
6.20 Fluorescence de la gélatine sans solution colorante .....	86
6.21 Fluorescence entre deux milieux avec une concentration de gélatine différente .....	87
ANNEXE A SPECTRES RMN- <sup>1</sup> H ET RMN- <sup>13</sup> C.....	89
ANNEXE B SPECTRES DE FLUORESCENCE.....	113
ANNEXE C CERTIFICAT D'ÉTHIQUE ET DOCUMENTS CONNEXES .....	136
ANNEXE D PRÉSENTATIONS ET ARTICLE DE PRESSE.....	152
RÉFÉRENCES .....	157

## LISTE DES FIGURES

Figure		Page
1.1	Coupe de la peau lors d'un tatouage (HowStuffWorks, 2018) .....	5
2.1	Structure des curcuminoïdes du curcuma .....	14
2.2	Tautomérie de la curcumine.....	16
2.3	Protons labiles de la curcumine .....	17
2.4	Spectre de fluorescence normalisée d'excitation (A) et d'émission (B) de la curcumine dans des solvants de polarité différente (Patra et Barakat, 2011) .....	19
3.1	Numérotation de la curcumine <b>1</b> .....	24
3.2	Comparaison structurale entre les composés <b>2</b> et <b>3</b> .....	39
3.3	Comparaison structurale entre les composés <b>3</b> et <b>11</b> .....	40
3.4	Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en curcumine <b>1</b> .....	41
3.5	Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en composé <b>2</b> .....	41
3.6	Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en composé <b>3</b> .....	42
3.7	Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en composé <b>7</b> .....	42
3.8	Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en composé <b>11</b> .....	43
3.9	Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en composé <b>12</b> .....	43

4.1	Fluorescence des dérivés <b>2</b> , <b>5</b> , <b>6</b> , <b>7</b> , <b>8</b> et <b>9</b> mesurée à l'aide d'un spectrofluorimètre .....	49
4.2	Fluorescence des dérivés <b>3</b> , <b>4</b> , <b>11</b> et <b>12</b> mesurée à l'aide d'un spectrofluorimètre .....	50
4.3	Illumination à 440 nm avec un filtre jaune passe-haut de 495 nm de plusieurs gradients de concentration de la solution colorante <b>2</b> .....	53
4.4	Illumination en lumière blanche de patron de gélatine à l'aide d'une estampe et révélée avec une solution colorante <b>2</b> (5 ppm) .....	56
4.5	Illumination à 440 nm avec un filtre jaune passe-haut de 495 nm de patron de gélatine à l'aide d'une estampe et révélée avec une solution colorante <b>2</b> (5 ppm).....	56
4.6	Spectre d'absorption (a) et d'émission (b) du collagène (Deyl <i>et al.</i> , 1969) .....	57
4.7	Spectre d'absorption de la gélatine (Liu, W. G. <i>et al.</i> , 2000).....	59
4.8	Spectre d'émission de la gélatine (Liu, W. G. <i>et al.</i> , 2000) .....	59
4.9	Variation de fluorescence selon la concentration de gélatine .....	60
4.10	Différence entre un milieu à 0,72 % (m/v) et un dessin à 2,4 % (m/v) .....	62
4.11	Différence entre un milieu à 0,72 % (m/v) et un dessin à 7,2 % (m/v) .....	62
4.12	Différence entre un milieu à 0,72 % (m/v) et un dessin à 14,4 % (m/v) ....	63

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau		Page
3.1	Activité antiproliférative des dérivés de la curcumine sur des lignées de cellules de peau et de cellules cancéreuses .....	38
4.1	Longueurs d'onde maximales d'excitation et d'émission des dérivés de la curcumine .....	47
4.2	Résumé des longueurs d'onde d'excitation et d'émission, du décalage de Stokes et du filtre à utiliser .....	47
6.1	Préparations des solutions colorantes des dérivés de la curcumine à partir de la solution mère.....	84
6.2	Préparations des solutions de gélatine à différentes concentrations .....	87

## LISTE DES SCHÉMAS

Schéma		Page
2.1	Structure chimique des produits de dégradation de la curcumine (Esatbeyoglu <i>et al.</i> , 2012) .....	20
2.2	Possible attaque des radicaux libres, stabilisation de la curcumine par le groupement céto-énol et régénération de la curcumine par réaction avec l'acide ascorbique (Priyadarsini, 2014) .....	21
3.1	Formation de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>3</b> ) .....	25
3.2	Formation de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>4</b> ).....	26
3.3	Formation de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>5</b> ).....	28
3.4	Formation de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>6</b> ) .....	29
3.5	Formation de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-iso-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>7</b> ) .....	30
3.6	Formation de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoïloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>8</b> ) .....	31
3.7	Formation de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>9</b> ) .....	32
3.8	Réaction générale de Knoevenagel avec un diester.....	33
3.9	Mécanisme de la réaction de Knoevenagel.....	34
3.10	Condensation de Knoevenagel entre la curcumine ( <b>1</b> ) et différents benzaldéhydes .....	35

3.11	Formation de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>11</b> ).....	36
3.12	Formation de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>12</b> ) .....	37

## LISTE DES SPECTRES RMN

Spectre		Page
A.1	RMN- <sup>1</sup> H de la curcumine (1) .....	90
A.2	RMN- <sup>13</sup> C de la curcumine (1) .....	91
A.3	RMN- <sup>1</sup> H de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (2) .....	92
A.4	RMN- <sup>13</sup> C de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (2) .....	93
A.5	RMN- <sup>1</sup> H de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (3) .....	94
A.6	RMN- <sup>13</sup> C de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (3) .....	95
A.7	RMN- <sup>1</sup> H de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (4) .....	96
A.8	RMN- <sup>13</sup> C de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (4) .....	97
A.9	RMN- <sup>1</sup> H de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (5) .....	98
A.10	RMN- <sup>13</sup> C de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (5) .....	99
A.11	RMN- <sup>1</sup> H de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (6) .....	100
A.12	RMN- <sup>13</sup> C de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (6) .....	101

A.13	RMN- <sup>1</sup> H de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-iso-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>7</b> ) .....	102
A.14	RMN- <sup>13</sup> C de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-iso-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>7</b> ) .....	103
A.15	RMN- <sup>1</sup> H de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoiloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>8</b> ) .....	104
A.16	RMN- <sup>13</sup> C de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoiloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>8</b> ) .....	105
A.17	RMN- <sup>1</sup> H de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>9</b> ) .....	106
A.18	RMN- <sup>13</sup> C de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>9</b> ) .....	107
A.19	RMN- <sup>1</sup> H de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4-(4-hydroxy-benzylidène)-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>10b</b> ) .....	108
A.20	RMN- <sup>1</sup> H de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>11</b> ) .....	109
A.21	RMN- <sup>13</sup> C de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>11</b> ) .....	110
A.22	RMN- <sup>1</sup> H de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>12</b> ) .....	111
A.23	RMN- <sup>13</sup> C de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>12</b> ) .....	112

## LISTE DES SPECTRES DE FLUORESCENCE

Spectre		Page
B.1	Spectre d'excitation de la curcumine.....	114
B.2	Spectre d'émission de la curcumine.....	115
B.3	Spectre d'excitation de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>2</b> ).....	116
B.4	Spectre d'émission de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>2</b> ).....	117
B.5	Spectre d'excitation de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>3</b> ).....	118
B.6	Spectre d'émission de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>3</b> ).....	119
B.7	Spectre d'excitation de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>4</b> ).....	120
B.8	Spectre d'émission de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>4</b> ).....	121
B.9	Spectre d'excitation de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>5</b> ).....	122
B.10	Spectre d'émission de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>5</b> ).....	123
B.11	Spectre d'excitation de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>6</b> ).....	124
B.12	Spectre d'émission de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>6</b> ).....	125
B.13	Spectre d'excitation de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-iso-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>7</b> ).....	126

B.14	Spectre d'émission de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-iso-butyl-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>7</b> ) .....	127
B.15	Spectre d'excitation de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoiloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>8</b> ) .....	128
B.16	Spectre d'émission de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoiloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>8</b> ) .....	129
B.17	Spectre d'excitation de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>9</b> ) .....	130
B.18	Spectre d'émission de la (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one ( <b>9</b> ) .....	131
B.19	Spectre d'excitation de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>11</b> ) .....	132
B.20	Spectre d'émission de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>11</b> ) .....	133
B.21	Spectre d'excitation de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>12</b> ) .....	134
B.22	Spectre d'émission de la (1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione ( <b>12</b> ) .....	135

## LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

ACS	American Chemical Society
CCM	Chromatographie sur couche mince
d	Doublet (RMN)
DRO	Dérivés réactifs de l'oxygène
DU-145	Cellules du cancer de la prostate
HaCat	Kératinocytes humains
IC <sub>50</sub>	Inhibition de la croissance cellulaire de 50 %
IR	Spectroscopie infrarouge
m	Multiplet (RMN)
MCF-7	Cellules du cancer du sein humain hormono-dépendantes
MDA-MB-231	Cellules du cancer du sein humain hormono-indépendantes
q	Quadruplet (RMN)
RMN	Résonance magnétique nucléaire
s	Singulet (RMN)
SKOV3	Cellules du cancer des ovaires
SRB	Sulforhodamine B
t	Triplet (RMN)
tris	Trishydroxyméthylaminométhane

## LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

Å	Angström
a. u.	Arbitrary unit
cm	Centimètre
cm <sup>-1</sup>	Par centimètre
°C	Degré Celsius
δ	Déplacement chimique
g	Gramme
g/mol	Masse molaire
h	Heure
Hz	Hertz
J	Constante de couplage (RMN)
kcal	Kilocalorie
m/z	Masse sur charge
mg	Milligramme
MHz	Mégahertz
mL	Millilitre
mm	Millimètre
mM	Millimolaire
mmol	Millimole

mol	Mole
nm	Nanomètre
ppm	Partie par million
UIPCA	Union internationale de chimie pure et appliquée
$\mu\text{M}$	Micromolaire
m/v	Masse sur volume

## RÉSUMÉ

Les tatouages ont été et sont encore étudiés d'un point de vue sociologique, que ce soit pour affirmer son appartenance à un groupe, démontrer son histoire au travers d'images ou simplement pour la beauté des dessins. Les tatouages sont également reconnus dans le domaine de la criminalistique où ils sont utilisés pour établir l'identité d'une personne suspectée d'être l'auteur d'un méfait ou la victime d'un décès.

La technologie des lasers par impulsion offre aujourd'hui une méthode simple, ni onéreuse, ni douloureuse pour effacer des tatouages, contribuant à la perte d'un identifiant humain pouvant intéresser des actes d'enquête. Survient alors la question : comment faire pour révéler ces tatouages effacés? Si des traitements chimiques sont envisageables sur la peau de cadavre, seule la photographie infrarouge semble avoir été proposée sur le vivant. Son efficacité est toute relative, permettant au mieux de distinguer certains traitements dermatologiques sur la zone observée.

Le but de cette recherche est de développer une technique permettant de révéler les tatouages effacés. La recherche est partie du postulat que la curcumine serait un bon candidat comme colorant non toxique puisqu'elle est consommée sans restriction et qu'elle luminesce dans le visible. Le développement de dérivés susceptibles d'être absorbés différemment entre des zones traitées ou non par laser a été effectué. Des tests d'activité antiproliférative ont été réalisés pour confirmer l'absence de danger lors des tests sur le vivant.

Les analogues de la curcumine synthétisés ont démontré une bonne capacité à fluorescer ainsi qu'une toxicité similaire à la curcumine. Par la suite, un test a été développé pour visualiser l'absorption différentielle entre un substrat de haute concentration de collagène représentant une cicatrice et un support avec une faible concentration de collagène.

Les résultats obtenus, satisfaisant aux contraintes de cytotoxicité et de forte luminescence dans le visible, offrent une voie potentielle pour la révélation des tatouages effacés sur le vivant. Malgré des résultats sur papier peu prometteurs, des tests sur des volontaires pourraient être lancés avec les produits synthétisés. Ils n'ont pu être effectués dans le temps de cette recherche.

Au-delà de cette problématique d'identification, les molécules synthétisées sont aussi à fort potentiel pour révéler d'autres traces latentes (digitales et d'impression humaine ou d'objets en fonction de leur support d'apposition) par leur propriété chimique (lipophilicité) et optique.

Mots-clés : Tatouages effacés, curcumine, dérivés, activité antiproliférative, fluorescence, révélation.

## CHAPITRE I

### LES TATOUAGES

#### 1.1 Généralités sur les tatouages

Depuis la nuit des temps, les tatouages, les perçages et les peintures corporelles sont des signes distinctifs sociétaux. Les tatouages remonteraient à l'âge de pierre et sont reconnus comme une forme d'art depuis longtemps (Byard, 2011; Downing, 2004). Le plus ancien tatouage rapporté a été retrouvé sur une momie vieille de 5300 ans à Ötztal dans les Alpes italiennes (Grant *et al.*, 2015; Musgrave, 2015). Ces marques peuvent démontrer un rang social différent ou l'appartenance à un groupe particulier. Dans la société moderne, ces marqueurs sont plus destinés à l'expression de soi et la formation d'une identité propre (Koziel *et al.*, 2010; Musgrave, 2015). L'action de se faire tatouer ou percer a longtemps été associée à un acte de rébellion envers la société ou d'appartenance à un groupe distinct. Les criminels, les soldats et les esclaves étaient des groupes qui arboraient fréquemment des tatouages (Tiggemann et Hopkins, 2011).

Récemment, les tatouages et les perçages ont cessé d'être vus comme un acte de rébellion et sont plus acceptés par la société. Ce changement de perception s'est produit par une émergence de tatouage chez les célébrités comme les athlètes et les acteurs hollywoodiens. Il a encouragé une augmentation du nombre de personnes qui ont un tatouage. Selon un sondage effectué auprès de 500 répondants âgés entre 18 et 50 ans en 2004 aux États-Unis, 36 % des personnes en dessous de 40 ans ont

un tatouage (Laumann et Derick, 2006). Shinohara rapporte un sondage selon lequel 21 % des adultes aux États-Unis porteraient au moins un tatouage (Shinohara, 2016). Une étude publiée dans le journal *American Academy of Dermatology* en 2006 rapportait que 36 % des Américains entre 18 et 29 ans auraient au moins un tatouage (Jain *et al.*, 2007).

L'amélioration des techniques a également favorisé cette augmentation. Les méthodes utilisées sont plus strictes et comportent des outils qui ne s'utilisent qu'une seule fois. Le risque de transmission de maladie ou d'infection en est grandement réduit (Downing, 2004; Heywood *et al.*, 2012; Kluger, 2008).

Aussi, le potentiel d'identification que les tatouages recèlent ne peut que rester d'actualité en criminalistique (Jain *et al.*, 2007; McKechnie *et al.*, 2008; Starkie *et al.*, 2011), pour autant qu'ils ne soient pas effacés, contrainte sur laquelle se penche ce travail de recherche.

## 1.2 Procédés de tatouage

Un tatouage est créé lorsqu'une substance colorée est insérée dans la peau et qu'elle y reste prisonnière (Grant *et al.*, 2015). Au cours de l'histoire des tatouages, les procédés ont beaucoup évolué. Dans l'ère du néolithique, les substances colorées étaient principalement composées d'éléments naturels comme des fleurs ou des fruits. De plus, la méthode d'insertion était moins précise et délicate. La peau était simplement coupée à l'aide d'un objet tranchant, puis les éléments colorés étaient insérés dans la plaie. Il suffisait ensuite d'attendre que la peau guérisse pour que la couleur reste prise dans le derme. Cette méthode de tatouage n'était pas hygiénique et comportait de gros risques d'infection. Au fil des années, les techniques se sont améliorées, soit en insérant les substances colorées de manières plus contrôlées, soit en extrayant les pigments des substances végétales colorées.

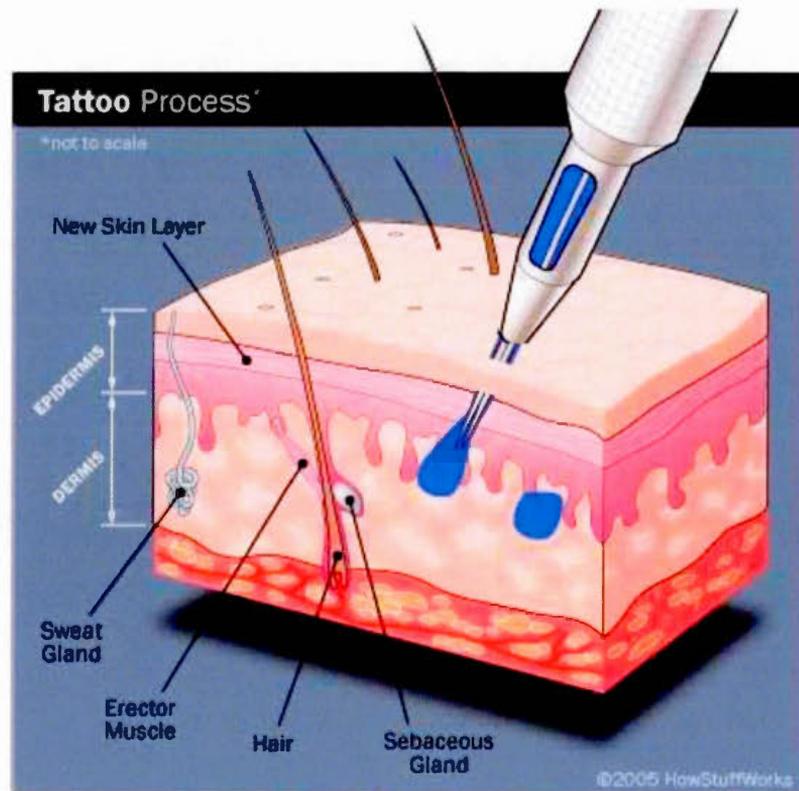
De nos jours, les pigments sont extraits de produits naturels ou synthétisés en laboratoire. Dans le passé, les composés colorants d'une encre étaient des pigments inorganiques tels que l'oxyde de titane pour une coloration blanche ou l'oxyde de chrome pour une couleur verte (Bäumler *et al.*, 2000). Récemment, ce sont plutôt les pigments organiques qui créent la couleur d'une encre. Ces pigments sont mélangés dans une substance aqueuse à d'autres réactifs comme des agents de conservation ou des dispersifs pour créer une encre à la consistance désirée (Laux *et al.*, 2015). Certains pigments utilisés dans les encres pour les tatouages sont les mêmes que ceux retrouvés dans les peintures, les laques ou les plastiques (Shinohara, 2016). Dans les encres, on retrouve également de plus en plus de composés organiques qui n'ont pas nécessairement été testés pour être insérés dans le derme. Les métaux représentent le dernier type de substances qui se retrouvent dans les encres. Certains sont ajoutés volontairement pour modifier la coloration ou ajouter des effets spéciaux à l'encre (Laux *et al.*, 2015; Musgrave, 2015). Les métaux fréquemment utilisés dans les encres sont le titane, le baryum, l'aluminium et le cuivre, mais il y a d'autres métaux lourds qui sont présents en tant que contaminants dans l'encre comme l'antimoine, l'arsenic, le cadmium, le chrome, le cobalt, le plomb et le nickel. De la même manière que les composés organiques, les métaux n'ont pas nécessairement été testés pour rester dans le derme toute une vie. Les effets d'une exposition à long terme restent inconnus. Les quantités de métaux retrouvés varient d'un élément à l'autre. Les quantités varient de 10 mg de plomb, 18 mg de nickel et 31 mg de chrome jusqu'à des concentrations de 5,9 g pour l'aluminium, 31,3 g pour le cuivre et 180,9 g pour le titane par kilogramme d'encre. Ce sont des quantités non négligeables, surtout que les trois derniers éléments nommés sont des métaux toxiques (Laux *et al.*, 2015).

Les techniques d'insertion de l'encre dans la peau se sont également améliorées. De nos jours, l'encre est insérée à l'aide d'une variante du crayon électrique créé par Thomas Edison. Ce mécanisme perce la peau avec de petites aiguilles très fines à un rythme entre 50 et 3000 rotations par minute (Shinohara, 2016). Cette méthode est moins douloureuse que les anciennes méthodes qui visaient à couper la peau de manière plutôt grossière. Les particules laissées dans le derme par les aiguilles sont

de l'échelle du micromètre, parfois même de dizaines de nanomètres. Ces aiguilles vont déposer environ 1 mg d'encre par cm<sup>2</sup> dans le derme à une profondeur variant entre 0,6 et 2,2 mm (Laux *et al.*, 2015). Cette profondeur peut être très variable lorsque le tatouage est fait par un amateur. Il a été démontré que les tatouages s'enfoncent de plus en plus dans la peau sur une période de 30 à 40 ans. Il a également été démontré que les particules d'encre quittaient le site du tatouage du fait de la division cellulaire ou de la mort des cellules (Clarkson et Birch, 2013; Laux *et al.*, 2015).

Les particules d'encre sont insérées sous la forme de petites granules fines. Celles-ci vont se disperser dans le derme supérieur et dans le foyer de l'injection (Figure 1.1) (Kilmer, 2015). Le tatouage occasionne une réaction de coagulation pour arrêter le saignement (Grant *et al.*, 2015). Le trauma occasionné par le tatouage va également provoquer une réaction de la part des kératinocytes, les cellules formant principalement l'épiderme. Celles-ci vont créer un gonflement de la peau et produire des médiateurs pro-inflammatoires, ce qui va activer des monocytes sanguins. Ces derniers sont des leucocytes présents dans le sang qui vont produire des macrophages intraépidermiques ou cellules de Langerhans (Martin et Forest, 2009). Ceux-ci vont migrer dans les tissus vers le foyer de l'injection pour y effectuer la phagocytose, emprisonnant les particules d'encres dans leur cytoplasme (Grant *et al.*, 2015; Kilmer, 2015; Martin et Forest, 2009). La phagocytose est la capacité de certaines cellules à emprisonner les éléments exogènes à l'intérieur de leur cytoplasme, créant ainsi des phagosomes, pour ensuite les digérer. Certains éléments difficilement digérables, comme les particules d'encres, restent dans le cytoplasme des cellules sans être particulièrement affectés. La peau va ensuite se réparer à l'aide du collagène produit par les fibroblastes présents dans le derme. Cette réparation va entraîner la formation de tissu cicatriciel, tissu majoritairement composé de collagène (de Permentier, 2013; Grant *et al.*, 2015). Le collagène est une protéine structurale présente dans presque tout le corps. Cette protéine peut se retrouver sous plusieurs formes selon son type et son utilité. Une vingtaine de types différents de collagène ont été identifiés dans le corps humain (Holchstein, 2014). La majorité du collagène retrouvé dans la peau est de types I et III (Fitzgerald et Steinberg, 2009). Le collagène

est souvent sous forme fibrillaire (collagène de type I, II, III, V et VI (Hulmes, 2002)), ce qui offre aux tissus une résistance mécanique à l'étirement. Tous les types de collagène sont composés d'une chaîne polypeptidique avec au moins une hélice triple dans sa structure (Hulmes, 2002). Le collagène de type I est formé de deux chaînes  $\alpha 1(I)$  et une chaîne  $\alpha 2(I)$  (Hulmes, 2002) alors que le collagène de type III est formé de trois chaînes  $\alpha 1(III)$  (Maynes, 2012). Ces chaînes sont riches en hydroxyproline et s'enroulent pour former une triple hélice linéaire (Holchstein, 2014).



**The needle deposits a drop of ink each time it pierces the skin.**

Figure 1.1 Coupe de la peau lors d'un tatouage (HowStuffWorks, 2018).

Après un mois, la couche basale, membrane séparant le derme de l'épiderme, s'est reformée complètement. Dans le derme, les phagosomes, contenant des particules d'encre, sont concentrées près de cette dernière (Kilmer, 2015).

Dans l'épiderme, il n'y a pratiquement plus d'encre puisque les kératinocytes formant le derme ont tous été remplacés par de nouvelles cellules (Martin et Forest, 2009). L'élimination des particules d'encre dans le derme progresse malgré la guérison de la peau, et ce même après 1 mois. Cependant, après 2 à 3 mois, il ne reste plus de particule d'encre à l'extérieur des cellules de fibroblastes du derme (Kilmer, 2015). Les particules qui sont visibles d'un tatouage sont donc celles présentes dans les cellules du derme. Ces cellules sont parfaitement immobilisées par des tissus de connexion comme le collagène. Cette immobilité fait en sorte que les cellules vont rester dans la peau pour une durée équivalente à la vie de l'individu, rendant les tatouages permanents (Kilmer, 2015).

### 1.3 Complications à la suite d'un tatouage

Les tatouages peuvent entraîner des complications plusieurs mois, voire années après l'opération (Laux *et al.*, 2015; Serup et Carlsen, 2014). Ces complications sont multiples en passant par des réactions allergiques ou des irritations sous-cutanées. Ces infections sont plutôt sporadiques puisque les pratiques se sont beaucoup améliorées du point de vue de l'hygiène. Une recherche aux États-Unis soutient que ces complications proviennent majoritairement des agents de conservation et des impuretés dans les encres (Laux *et al.*, 2015). Le taux de complications suite aux tatouages a été évalué à 2 %. Le nombre de complications risque d'augmenter quantitativement malgré le perfectionnement des techniques, puisque la popularité des tatouages s'accroît très rapidement (Shinohara, 2016). Certaines bactéries qui causent ces infections se retrouvent principalement sur la peau et pénètrent à l'intérieur du derme lors du tatouage. Il y a également un certain nombre de bactéries présentes dans les encres, mêmes lorsque celles-ci sont mentionnées stériles (Laux *et al.*, 2015). Il est difficile d'obtenir des statistiques exactes sur le nombre de complications puisque le temps entre le tatouage et l'apparition de symptôme peut être très variable. Il faut également noter que seuls les individus ayant des réactions sévères suite à leur tatouage vont aller voir un médecin. Une des recherches sur les

tatouages utilisait des timbres pour identifier les éléments allergènes dans les encres (Serup et Carlsen, 2014), mais leurs résultats ont démontré que les réactions allergiques n'étaient pas causées par l'encre elle-même. Les allergènes se développeraient indirectement dans la peau par interaction de l'encre avec certaines protéines (Laux *et al.*, 2015; Serup et Carlsen, 2014). Une autre source de complication est la présence de quantité suffisante de nickel et de chrome pour déclencher des réactions allergiques (Shinohara, 2016). Par exemple, environ 8 % de la population en Australie est allergique au nickel (Musgrave, 2015). Il y a également certains chromophores qui risquent de se décomposer causant ainsi des réactions allergiques, par exemple les colorants azoïques jaunes qui se décomposent à la lumière (Shinohara, 2016). Certains de ces tests ont été effectués sur des cellules cultivées, mais les risques peuvent tout aussi bien se constater *in vivo*.

Il y a beaucoup de discussions sur la toxicité des pigments compris dans les tatouages. Plusieurs chercheurs optent pour l'hypothèse que la faible solubilité des pigments les rendrait biologiquement inactifs. Cependant, ce ne sont pas tous les pigments qui ont une faible solubilité. Il peut donc exister des pigments qui seront biologiquement actifs et qui pourraient causer des problèmes de santé. De plus, les pigments sont prisonniers de la peau durant toute la vie de la personne, ce qui fait qu'il y a une exposition à très long terme. Une faible solubilité peut devenir un facteur important avec une exposition aussi longue (Laux *et al.*, 2015).

Ces complications peuvent justifier un effacement du tatouage, pour en annuler ces conséquences non désirées. L'augmentation des personnes qui se font tatouer entraîne une hausse attendue du nombre de complications, donc une augmentation possible des tatouages effacés. Cette constatation renforce l'intérêt de ce projet de révélation des tatouages effacés.

#### 1.4 Procédés d'effacement des tatouages

Un sondage a permis d'évaluer que 50 % des personnes tatouées ont des regrets à propos de leur décision (Laux *et al.*, 2015). Que ce soit parce qu'on quitte un groupe, que les sentiments attachés aux tatouages ne soient plus d'actualité, que le travail est tout simplement loupé ou bien juste pour faire de la place pour de nouveaux tatouages.

Les procédés d'effacement ont évolué de la même manière que les procédés de tatouage. Dans le passé, la peau était brûlée ou coupée pour effacer le tatouage. Par la suite, la peau était frottée avec une solution saline dans le but de l'user (Kilmer, 2015). L'usure de la peau permettait de faire pâlir le tatouage. Plus tard, les premiers lasers firent leur apparition. Ces lasers utilisés aux fins d'effacement de tatouage servaient à faire une abrasion de la peau de la même manière que la solution saline. Cette méthode n'était pas sans douleur et nécessitait plusieurs séances avec un grand temps d'attente entre celles-ci. Le tatouage ne disparaissait pas complètement avec ces méthodes.

De nos jours, les lasers à abrasion ont majoritairement été remplacés par un type de laser appelé « quality-switched » ou « Q-switched » (Shinohara, 2016). Ce mécanisme concentre l'énergie du laser sous forme de pulsions de l'ordre de la nanoseconde, lui permettant ainsi d'atteindre un niveau de puissance plus élevé que s'il était continu sans endommager les tissus environnants. Une partie de l'énergie absorbée par les particules d'encre sera convertie en chaleur par effet photothermique. L'expansion du pigment par la chaleur va lui permettre de se libérer des cellules du derme et les macrophages pourront à nouveau tenter d'éliminer la particule par phagocytose (Barua, 2015; Bäumlner *et al.*, 2000; Clarkson et Birch, 2013; Musgrave, 2015).

Chaque séance d'effacement permet de faire pâlir le tatouage. Un tatouage demande plusieurs séances pour un effacement acceptable. Les lasers « Q-switched »

permettent de faire plusieurs passages de laser par traitement comparativement au laser à ablation, réduisant ainsi le nombre de séances requises pour effacer un tatouage entre 6 et 12. Cependant, un tatouage n'est jamais entièrement effacé. Il reste toujours quelques particules dans le derme (Musgrave, 2015) ainsi qu'une concentration plus élevée de collagène, créée par le tatouage et son effacement (de Permentier, 2013; Grant *et al.*, 2015).

### 1.5 Le tatouage en tant qu'identifiant

Les tatouages sont de plus en plus utilisés dans l'identification de personne puisque leur popularité ne cesse de grandir (Starkie *et al.*, 2011). Ils sont considérés comme des identifiants fiables de par leur permanence et leur difficulté à être enlevés (McKechnie *et al.*, 2008). Les tatouages sont une caractéristique biométrique secondaire en opposition aux caractéristiques biométriques dites fortes comme l'ADN ou les empreintes digitales (Jain *et al.*, 2007; Lee, J. *et al.*, 2012; Starkie *et al.*, 2011). Ils sont utiles dans le cas de brûlure sévère, car les aiguilles vont porter l'encre assez profondément dans la peau et les particules d'encres sont prisonnières des cellules de la peau. La plupart des brûlures ne réussissent pas à détruire complètement les tatouages (Miranda, 2012). Les tatouages sont également utiles dans le cas de démembrement. Les tatouages présents sur le membre peuvent servir à identifier son propriétaire (Clarkson et Birch, 2013). Les tatouages permettent d'identifier une personne, que ce soit dans le cadre d'une enquête policière ou d'une catastrophe naturelle comme le tsunami en Indonésie en 2004 (Jain *et al.*, 2007; Miranda, 2012). De plus, les tatouages peuvent apporter plus d'informations que la simple identification (Lee, J. *et al.*, 2012). Ils peuvent démontrer l'appartenance à un gang de rue, les croyances religieuses ou parfois le nombre d'années passées en prison (Jain *et al.*, 2007; McKechnie *et al.*, 2008; Starkie *et al.*, 2011). L'utilisation grandissante des tatouages dans les enquêtes policières a justifié l'élaboration de base de données pour conserver les tatouages dans certains pays. Les tatouages sont photographiés et insérés dans les bases de données avec des mots-clés servant à retrouver l'image

plus facilement (Lee, J. *et al.*, 2012). Le problème survient lorsque les tatouages ne sont plus visibles. C'est de l'information qui est manquante et qui pourrait ralentir l'enquête. Heureusement, il existe des moyens pour révéler les tatouages qui ne sont plus visibles à l'œil nu.

### 1.6 L'identification de tatouages sur les cadavres

L'identification d'une victime est un impératif administratif. La reconnaissance par des membres de la famille ou des amis est une méthode efficace à cette fin. De plus, l'identification de signes distinctifs sur le corps, même lorsque le visage de la personne n'est plus reconnaissable et ne peut donc être présenté à ses proches potentiels, peut corroborer l'identification du cadavre (De Donno *et al.*, 2008; Miranda, 2012). Cette identification préliminaire permet à minima d'orienter les investigations vers des personnes suspectées décédées. Cette tâche peut être encore plus difficile lorsque le corps a eu le temps de se décomposer ou a été ravagé par les flammes. Les tatouages ne sont plus visibles à l'œil nu, il faut donc un procédé rapide et peu coûteux pour pouvoir les identifier et les enregistrer.

Une méthode possible lorsque l'on suspecte la présence d'un tatouage est l'application d'une solution de peroxyde d'hydrogène 3 % directement sur la peau (Miranda, 2012; Starkie *et al.*, 2011). Cependant, c'est une méthode destructive qui doit être appliquée avec précaution pour ne pas détruire définitivement le tatouage. Elle est également restreinte au niveau du nombre de répétitions possible pour avoir un meilleur résultat et n'offre qu'une petite fenêtre de temps pour enregistrer ce résultat (Starkie *et al.*, 2011). Si cette méthode ne fonctionne pas, la photographie ordinaire n'est pas utile pour conserver une mémoire des signes distinctifs. Il est possible d'utiliser la photographie infrarouge pour percevoir les traces restantes sur le cadavre, même putréfié ou ensanglanté. Indolore et sans danger sur le vivant, cette technique est présentée au paragraphe suivant.

## 1.7 La détection de tatouages sur le vivant

Les méthodes de révélations de tatouages sur les cadavres fonctionnent bien, mais ne sont pas toutes applicables sur une personne vivante. L'application de substances corrosives ou irritantes dans le but d'amincir l'épaisseur de la peau comme le peroxyde d'hydrogène n'est pas possible. D'autres méthodes existent. Quelques articles proposent la photographie infrarouge pour la détection des tatouages sur le vivant, principalement pour des tatouages qui ont été recouverts par un autre tatouage (Bryson *et al.*, 2013; Clarkson et Birch, 2013; De Donno *et al.*, 2008; Duncan et Klinge, 2011; McKechnie *et al.*, 2008), mais également pour des tatouages effacés (McKechnie *et al.*, 2008). Du fait de leurs longueurs d'onde plus longues, les radiations infrarouges pénètrent plus profondément dans la peau que la lumière visible (Miranda, 2012). Il peut être possible de révéler un tatouage avec la photographie infrarouge grâce à cette capacité de pénétration malgré la présence de facteurs masquant celui-ci comme la putréfaction, la peau brûlée ou le sang (De Donno *et al.*, 2008; Duncan et Klinge, 2011; Starkie *et al.*, 2011). Deux manières de procéder ont été brièvement décrites par Starkie (Starkie *et al.*, 2011) pour photographier des tatouages dissimulés. La première consiste à illuminer le sujet avec une lumière blanche et installer un filtre sur la caméra pour qu'elle ne capte que les ondes infrarouges. La seconde méthode consiste à illuminer le sujet avec une lumière infrarouge et prendre une photographie avec la caméra dotée d'un filtre infrarouge (Starkie *et al.*, 2011).

La révélation se base sur l'hypothèse que les particules d'encres absorbent en plus grande quantité les radiations infrarouges créant une tonalité plus foncée alors que la peau réfléchit les radiations et crée une tonalité plus claire (McKechnie *et al.*, 2008). La méthode de révélation de tatouages effacés existante actuellement se base sur les particules d'encres encore présentes dans le derme. Dans le but d'élaborer une méthode complémentaire à celle-ci, une autre approche a été utilisée. Lorsqu'un tatouage est créé, la peau réagit à l'intrusion d'éléments exogènes et aux microcoupures qu'elle reçoit. Elle va se cicatriser suite au tatouage et

cette cicatrice aura une composition légèrement différente que la peau saine (van Zuijlen *et al.*, 2003). Il serait donc intéressant de jouer sur la différence de composition entre une peau cicatrisée et une peau saine, caractérisée par la différence de concentration localisée en collagène. Parmi les pistes de discrimination de ces deux types de peau, le projet s'est orienté vers l'élaboration d'une méthode à partir de colorant pouvant pénétrer différemment la peau cicatrisée ou non.

## CHAPITRE II

### LE COLORANT

#### 2.1 Le curcuma

Pour effectuer une révélation sur une personne vivante, il faut un colorant qui ne soit pas dangereux pour la peau et l'organisme. Les colorants que l'on retrouve dans les aliments que nous consommons devraient avoir un niveau de toxicité suffisamment faible pour ce projet. De plus, sa coloration doit être assez importante pour effectuer une révélation. Il doit être facile à manipuler pour une révélation ce qui veut dire qu'il doit se solubiliser aisément dans des solvants peu ou pas toxique pour la peau. C'est dans cet axe de pensée que l'idée d'utiliser le curcuma est née. Notons que plusieurs recherches en oncologie portent sur son utilisation dans le traitement de cancer (Esatbeyoglu *et al.*, 2012; Ichikawa *et al.*, 2007; Liu, B. *et al.*, 2013; Priyadarsini, 2014; Teiten *et al.*, 2014). Le prochain chapitre vise à démontrer pourquoi son utilisation a été choisie.

Le curcuma est connu depuis fort longtemps. Marco Polo le mentionnait lors de ses voyages en Inde et en Chine dans les années 1280 (Esatbeyoglu *et al.*, 2012). Le curcuma est connu aussi bien en tant qu'épice, que remède et que teinture. Le nom Curcuma est un dérivé du mot arabe Kourkoum qui était le nom original du safran (Esatbeyoglu *et al.*, 2012). En raison de sa couleur dorée, le curcuma est connu en tant que safran indien.

Le curcuma fait partie de la famille des rhizomes et des monocotylédones. Cette plante ne fait pas de fruits. De nos jours, il existe plus de 120 espèces de curcuma. Les plus connues sont le *Curcuma longa* (aussi connu sous le nom de *Curcuma domestica*), le *Curcuma aromatica* et le *Curcuma xanthorrhiza*. Le curcuma requiert un environnement chaud et humide pour pousser, c'est pourquoi on le retrouve majoritairement dans les pays du sud-est de l'Asie comme l'Inde et la Chine. L'Inde est le pays qui produit, consomme et exporte le plus de curcuma (Esatbeyoglu *et al.*, 2012; Priyadarsini, 2014).

## 2.2 La curcumine

Le curcuma, selon où il est cultivé, contient entre 2 et 9 % de curcuminoïdes (Priyadarsini, 2014). Le terme curcuminoïde fait référence à un groupe de molécules composé de la curcumine (**1**), de la déméthoxycurcumine (**1a**), de la bis-déméthoxycurcumine (**1b**) et de la (R) curcumine cyclique (**1c**) (Figure 2.1).

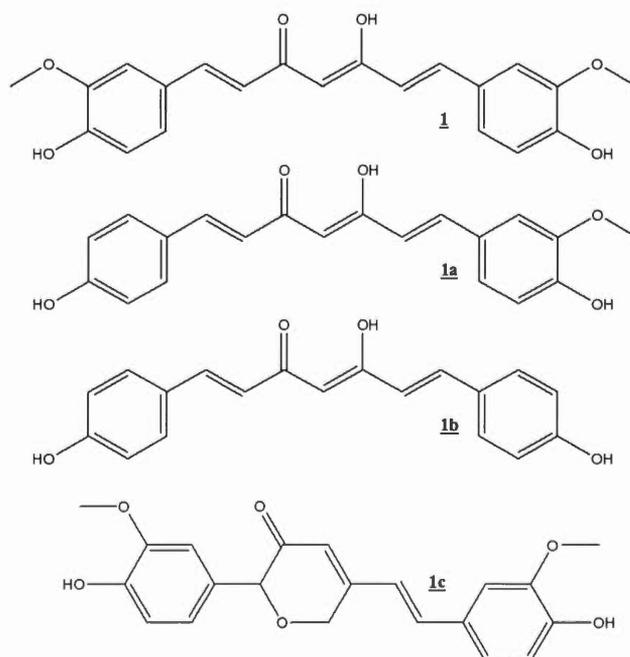


Figure 2.1 Structure des curcuminoïdes du curcuma.

Le curcuma tient sa couleur dorée des curcuminoïdes qui le constituent, principalement de la curcumine (Benassi *et al.*, 2008). C'est justement cette caractéristique qui nous a amenés à travailler avec la curcumine. La curcumine est le principal curcuminoïde du curcuma et est extraite à partir du rhizome séché de la plante *Curcuma longa* par extraction de solvant et cristallisation (Priyadarsini, 2014; Teiten *et al.*, 2014). Elle a été extraite pour la première fois du curcuma en 1815. Les techniques ne cessent de s'améliorer même après 200 ans d'extraction de la curcumine. Un siècle après sa première extraction, la curcumine a été synthétisée par Lampe en 1918 (Priyadarsini, 2014).

Le nom UICPA de la curcumine est (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,6-heptadièn-3,5-dione (**1**) sous sa forme dicétone et (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one sous sa forme énol (Figure 2.2). Sa formule moléculaire est C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub> et elle possède une masse moléculaire de 368,39 g/mol (Priyadarsini, 2014). Son point de fusion est situé entre 170 et 175°C. La curcumine est constituée de deux groupements phénoliques et une chaîne de sept carbones portant deux cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées. La structure de la curcumine, composée d'un carbonyle conjugué à un alcène, donne à la curcumine sa couleur jaune (Esatbeyoglu *et al.*, 2012).

La curcumine existe majoritairement dans un système de partage d'hydrogène pour former un équilibre céto-énol que l'on appelle tautomérie (Figure 2.2). Cette tautomérie est grandement affectée par la polarité et le pH du solvant. Dans les solvants non polaires et modérément polaires, la forme énol est plus stabilisée de 5 à 8 kcal/mol dépendamment de la nature du solvant (Priyadarsini, 2014). Cette forme conjuguée permet au nuage électronique  $\pi$  de couvrir toute la molécule.

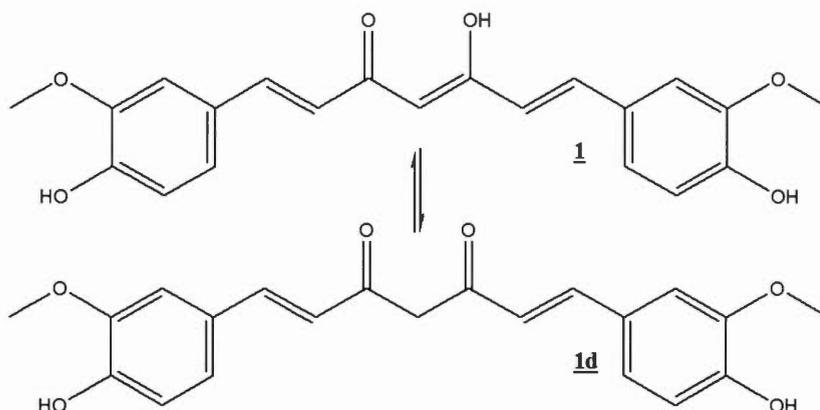


Figure 2.2 Tautomérie de la curcumine.

Dans un milieu acide ou neutre (pH 3 à 7), la curcumine préfère le tautomère dicétone et elle agit en tant que donneur de proton. Dans les milieux avec un pH supérieur à 8, la curcumine prend la forme d'énolate et est plutôt un donneur d'électron (Lee, W.-H. *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 1997). La curcumine est un acide faible de Brønsted avec ses trois protons labiles. Elle possède donc trois pKa, soit 7,8; 8,5 et 9,0 (Figure 2.3) (Patra et Barakat, 2011; Rachmawati *et al.*, 2013). Elle est également un accepteur de Michael. Le groupement composé de deux cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées peut participer à des réactions d'additions nucléophiles en tant qu'accepteur qui réagit avec des ions -OH, -SH ou -SeH (Priyadarsini, 2014). Ces réactions d'additions peuvent être inversées dans des conditions basiques. Le pH est donc très important pour ces réactions.

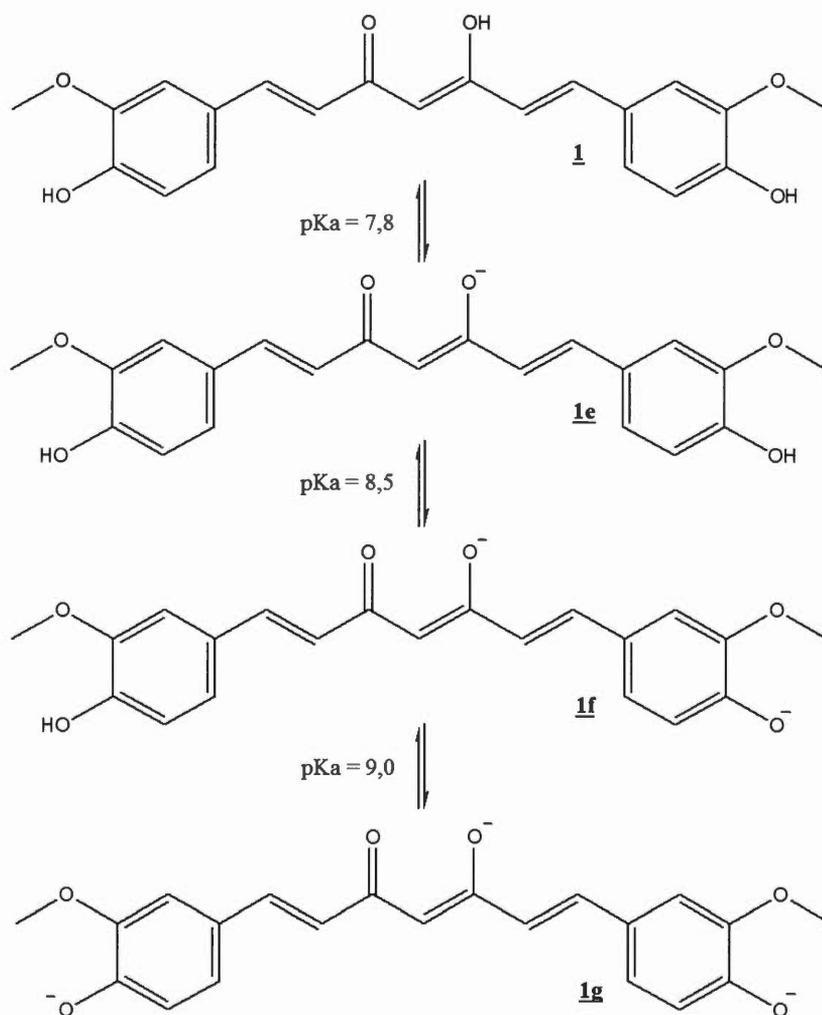


Figure 2.3 Protons labiles de la curcumine.

Ceux-ci peuvent être utilisés comme indicateur de pH. En effet, dans une solution de pH plus petit que 1, la curcumine a une couleur rouge. Dans un pH entre 1 et 7, la solution est jaune clair. À un pH supérieur à 7, la solution redevient rouge.

### 2.3 La solubilité de la curcumine

La curcumine est hydrophobe et possède un logP d'environ 3,0 (Priyadarsini, 2014). Elle est soluble dans la plupart des solvants polaires comme le méthanol, l'éthanol,

le dichlorométhane, etc. Elle est peu soluble dans l'eau ou l'éther diéthylique. Les solutions utilisées pour appliquer les colorants devront être fabriquées à base d'un autre solvant que l'eau et qui n'est pas dangereux pour la peau. Néanmoins, comme nous le verrons ultérieurement, un mélange adéquat d'un solvant inoffensif et d'eau peut aussi être envisagé.

#### 2.4 La fluorescence de la curcumine

La curcumine possède une autre caractéristique qui la rend potentiellement utile pour la révélation de tatouages effacés et c'est sa capacité à fluorescer. Elle présente une fluorescence verte lorsqu'elle est solubilisée dans l'éthanol. Le spectre d'absorption de la curcumine possède deux fortes bandes, soit une dans le visible centrée entre 410 et 430 nm et une dans la région de l'ultraviolet à 265 nm (Priyadarsini, 2014). L'absorption de la curcumine varie en fonction du solvant, principalement de la polarité de ce solvant. La fluorescence de la curcumine va se déplacer vers les longueurs d'onde plus grande lorsque la polarité du solvant augmente (Patra et Barakat, 2011).

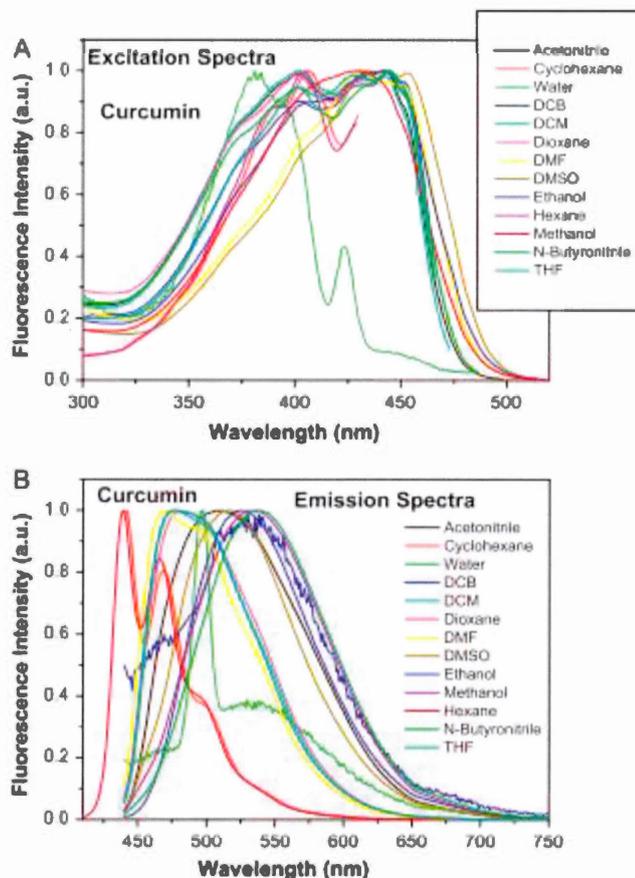


Figure 2.4 Spectre de fluorescence normalisée d'excitation (A) et d'émission (B) de la curcumine dans des solvants de polarité différente (Patra et Barakat, 2011).

## 2.5 La réactivité de la curcumine

Dans un milieu alcalin, la curcumine possède une réactivité plus élevée et est plus soluble dans les solvants aqueux. Il faut, cependant, faire attention, car elle se dégrade plus rapidement dans des solutions basiques (Esatbeyoglu *et al.*, 2012; Priyadarsini, 2014; Rachmawati *et al.*, 2013). Elle est également sensible à la lumière (Esatbeyoglu *et al.*, 2012; Priyadarsini, 2014; Rachmawati *et al.*, 2013). Sa dégradation se produit sur les deux cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées. Les produits de

dégradation sont l'acide férulique **1h**, le féruloylméthane **1i**, la vanilline **1j** et le (2Z,5E)-2-hydroxy-6-(4-hydroxy-3-méthoxy-phényl)-4-oxo-hexa-2,5-diène **1k** (Schéma 2.1).

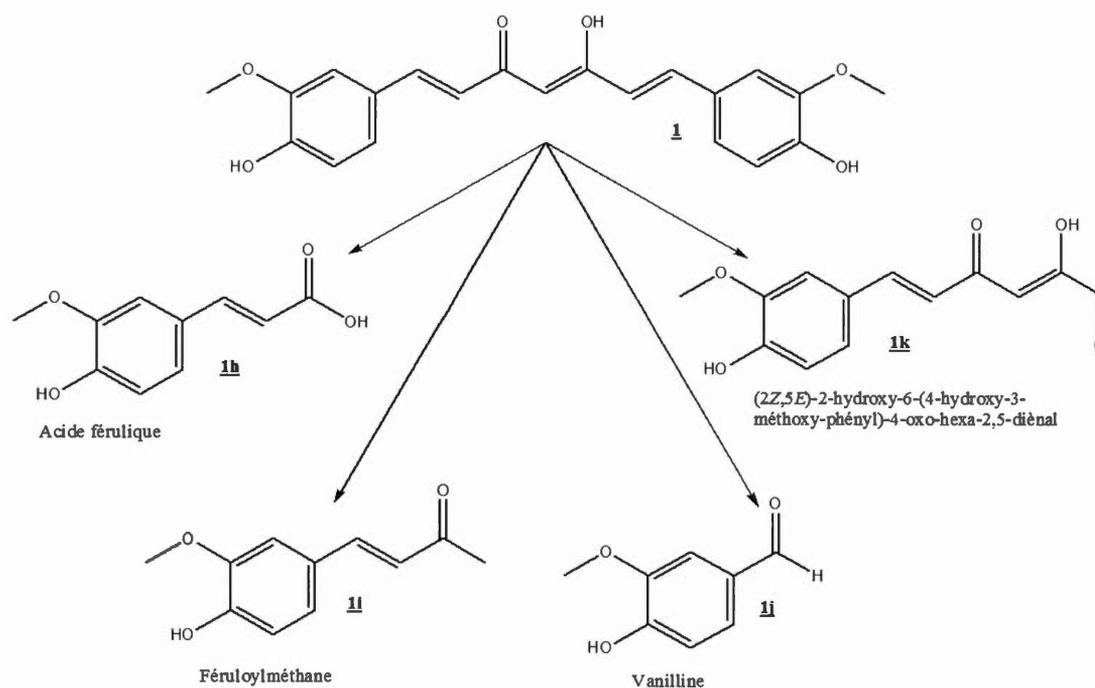


Schéma 2.1 Structure chimique des produits de dégradation de la curcumine (Esatbeyoglu *et al.*, 2012).

La réaction de dégradation n'est pas bien comprise, mais l'hypothèse est qu'elle se produit par hydrolyse des deux cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées. La curcumine se dégrade plus rapidement lorsqu'elle est exposée à la lumière du soleil. Les produits de photodégradation sont principalement la vanilline et l'acide férulique.

## 2.6 Les propriétés médicales de la curcumine

La curcumine réagit facilement avec la plupart des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) ce qui lui donne des propriétés antioxydantes dans les cellules ordinaires. Les DRO comprennent des radicaux libres, des ions oxygénés et des peroxydes (Priyadarsini, 2014). Des études expliquent que les propriétés antioxydantes de la curcumine

seraient dues au transfert intermoléculaire de l'atome d'hydrogène du groupement céto-énol (Schéma 2.2) (Benassi *et al.*, 2008). La curcumine peut retrouver ses hydrogènes en réagissant avec l'acide ascorbique ou avec un donneur d'hydrogène.

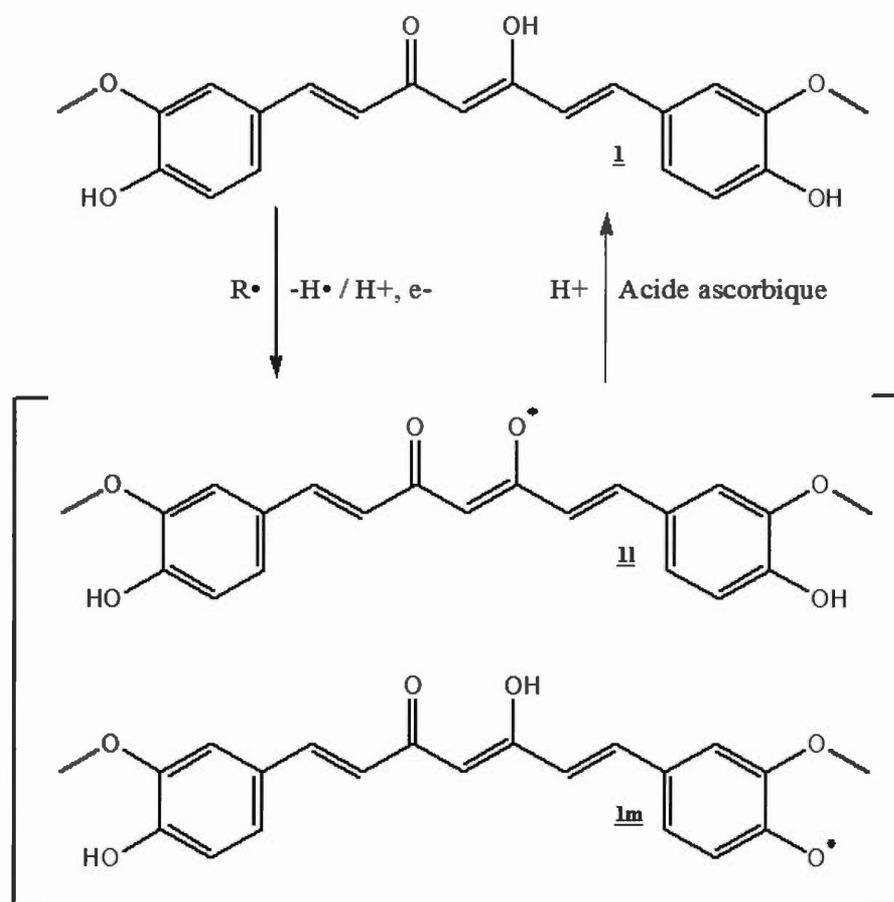


Schéma 2.2 Possible attaque des radicaux libres, stabilisation de la curcumine par le groupement céto-énol et régénération de la curcumine par réaction avec l'acide ascorbique (Priyadarsini, 2014).

Des études pharmacologiques ont démontré que la curcumine a une activité anticancéreuse, antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne et hépatoprotective (Benassi *et al.*, 2008; Rachmawati *et al.*, 2013; Teiten *et al.*, 2014). Elle augmenterait également la vitesse de guérison des blessures (Panchatcharam *et al.*, 2006). Des recherches ont montré que ce n'est pas dangereux d'en ingérer de grandes

quantités. Cependant, la curcumine n'est pas approuvée comme agent thérapeutique parce qu'elle a une biodisponibilité très faible. La biodisponibilité est une propriété pharmacocinétique qui mesure la fraction de la dose qui se rend au système sanguin sans subir de modification. Celle de la curcumine prise oralement a été évaluée à 1 % chez le rat (Cheng *et al.*, 2001). Un essai clinique a également tenté de mesurer la quantité de curcumine présente dans le sang après une administration orale. Les résultats, de l'ordre du micromolaire, n'ont pas été concluants malgré une dose de curcumine quotidienne de 8 grammes par jour (Cheng *et al.*, 2001). Ces résultats démontrent que la curcumine n'est pas toxique pour l'organisme lorsqu'elle est ingérée. Le fait qu'elle soit inoffensive dans les organes internes (tractus digestif, estomac, foie, etc.) en fait un candidat de choix comme réactif potentiellement inoffensif pour la peau. Cependant, il n'y a pas de test qui démontre les effets de la curcumine lorsqu'elle est appliquée sur la peau comme ce qui est prévu dans ce projet. De plus, ce sont les dérivés qui seront appliqués et leur toxicité reste à évaluer. Ils devront passer des tests pour démontrer qu'ils ne seront pas toxiques pour la peau.

## CHAPITRE III

### SYNTHÈSE DES DÉRIVÉS DE LA CURCUMINE ET ÉVALUATION BIOLOGIQUE

#### 3.1 La curcumine et ses sites réactionnels

La curcumine en elle-même est déjà un bon colorant avec une fluorescence plus qu'acceptable. De plus, elle est lipophile et peu toxique puisque l'on consomme déjà du curcuma dans de nombreux mets. Elle possède plusieurs sites réactionnels qui pourraient être utilisés pour créer des analogues aux propriétés physico-chimiques différentes de la curcumine. Ainsi, en fabriquant des composés plus lipophiles, l'absorption éventuelle par la peau pourrait être augmentée. De même, on pourrait s'attendre à quelques différences intéressantes sur leurs propriétés de luminescence (intensité, décalage de Stokes). Il y a également la cytotoxicité qui va varier selon les sites réactionnels des analogues de la curcumine utilisés. D'autre part, le coût et le temps de préparation des nouveaux composés sont des facteurs importants qui devront être minimaux. Toutefois, la solubilité de nouveaux composés pourrait être un problème lors de la préparation de solution. Il faudra s'assurer d'utiliser des solvants efficaces, mais non toxiques lors de la préparation des solutions. La figure 3.1 montre la numérotation des carbones de la curcumine. Cette numérotation sera utilisée lors de l'interprétation des spectres de résonance magnétique nucléaire des composés fabriqués (Chapitre VI).

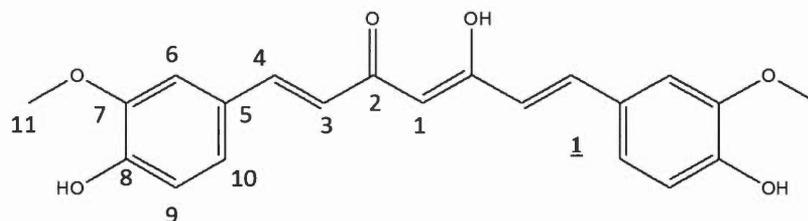


Figure 3.1 Numérotation de la curcumine 1.

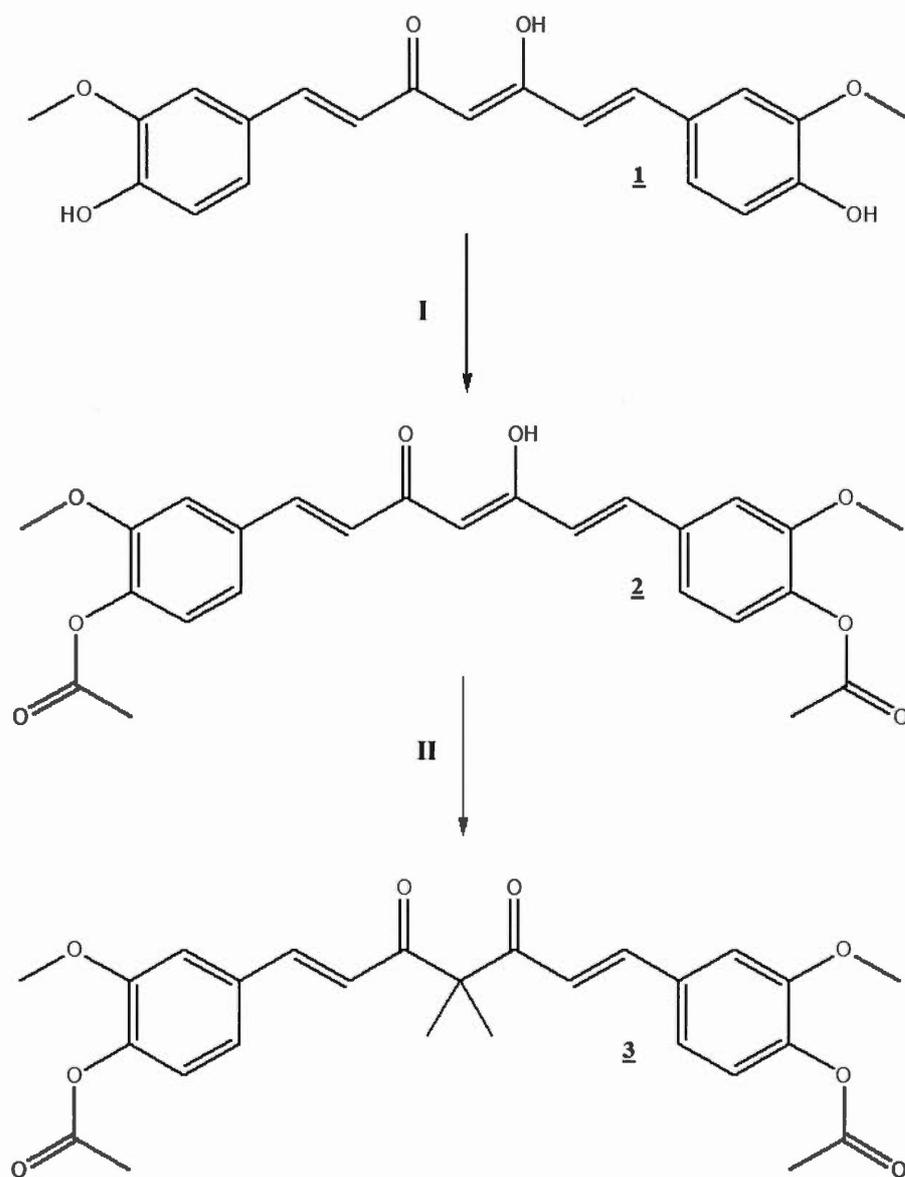
Les trois premières réactions (Schémas 3.1 et 3.2) ont permis de se familiariser avec la chimie de la curcumine. Les protocoles proviennent d'un article paru en 2013 (Liu, B. *et al.*, 2013).

### 3.2 Synthèse de dérivés connus

La première réaction est une réaction d'estérification des deux groupements phénols de la curcumine (Schéma 3.1) (Liu, B. *et al.*, 2013; Wan *et al.*, 2010). Cette réaction sert autant à former un nouveau produit qu'à protéger les groupements phénols de la curcumine pour ensuite ajouter un groupement sur le carbone 1. La réaction se produit en milieu basique avec de la pyridine. Un mécanisme possible est l'attaque nucléophile de la pyridine sur l'anhydride acétique pour former un cation 1-acétylpyridinium. Ce dernier pourra être attaqué par l'un des groupements phénols de la curcumine pour former les esters désirés. Le rendement moyen de cette réaction est de 76 % sans être optimisé.

Une fois que les phénols sont transformés en ester, il est possible de faire réagir le groupement 1,3-dicétone en diminuant le risque d'obtenir des produits secondaires. Le but de cette synthèse est de couper la conjugaison de la molécule, ce qui devrait avoir un effet sur la fluorescence. Peut-être que les longueurs d'onde d'excitation et d'émission vont se déplacer ou que le déplacement de Stokes sera plus grand. Ces effets aideraient à la visualisation et la sécurité de la révélation. La réaction se fait en milieu basique, ce qui va favoriser la formation de l'énolate intermédiaire.

L'iodométhane va réagir deux fois avec la curcumine pour ajouter deux méthyles sur le carbone 1. Le rendement de la réaction de dialkylation pour obtenir le composé **3** est de 83 % (Schéma 3.1).

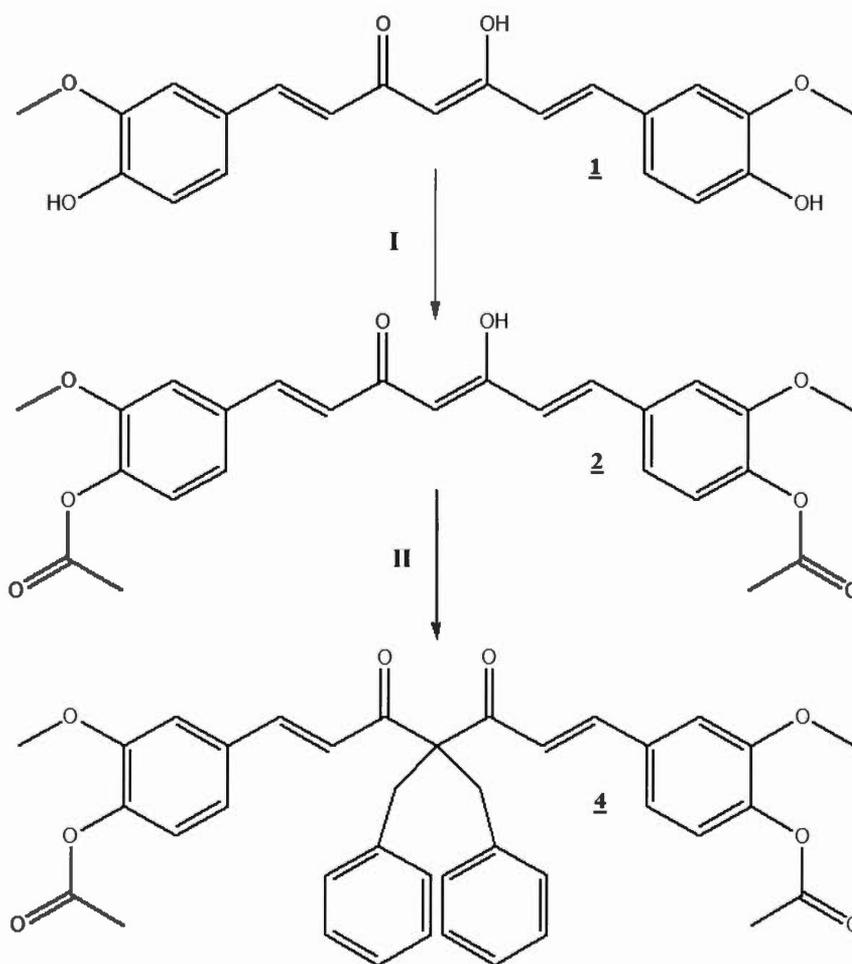


(I) Anhydride acétique, pyridine,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , reflux, 2 h, 76 %

(II)  $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , acétone, reflux, 22 h, 83 %

Schéma 3.1 Formation de la (1E,6E)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**3**).

Le dérivé diacétylé **2** peut également servir à ajouter des groupements benzyliques sur le carbone 1. L'objectif est encore de couper la conjugaison de la curcumine, mais avec un groupement plus gros, ce qui devrait affecter également l'absorption dans la peau. De la même manière que précédemment, la réaction se produit en milieu basique. Le bromure de benzyle va réagir pour former le produit (1E,6E)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**4**). Le rendement moyen de la réaction est de 61 % (Schéma 3.2).



(I) Anhydride acétique, pyridine,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , reflux, 2 h, 76 %

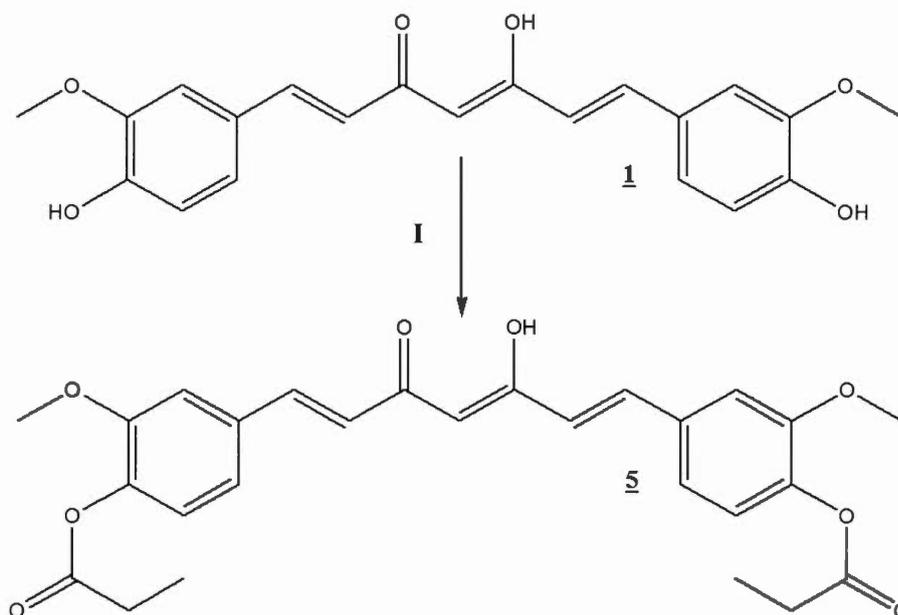
(II)  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{Br}$ ,  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , acétone, reflux, 23 h, 61 %

Schéma 3.2 Formation de la (1E,6E)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**4**).

### 3.3 Conception de dérivés esters

Les trois premières réactions ont permis de se familiariser avec le comportement chimique de la curcumine et la purification de ce genre de composé. Suite à ces expériences, il a été pensé de modifier la longueur de la chaîne alkyle de l'ester. L'allongement de la chaîne alkyle de l'ester va tendre la molécule à imiter l'aspect hydrophobe des cires, composés naturels qui sont hydrophobes (Vollhardt et Schore, 2009). La plus grande hydrophobicité de la molécule devrait lui permettre de mieux pénétrer la peau puisque celle-ci offre une bonne protection à l'eau, mais ne protège pas beaucoup contre l'absorption des composés organiques ou des solvants organiques (Centre\_canadien\_d'hygiène\_et\_de\_sécurité\_au\_travail, 2017). De plus, le changement des groupements phénols en groupements esters aide à la stabilité de la molécule (Liu, B. *et al.*, 2013; Wan *et al.*, 2010).

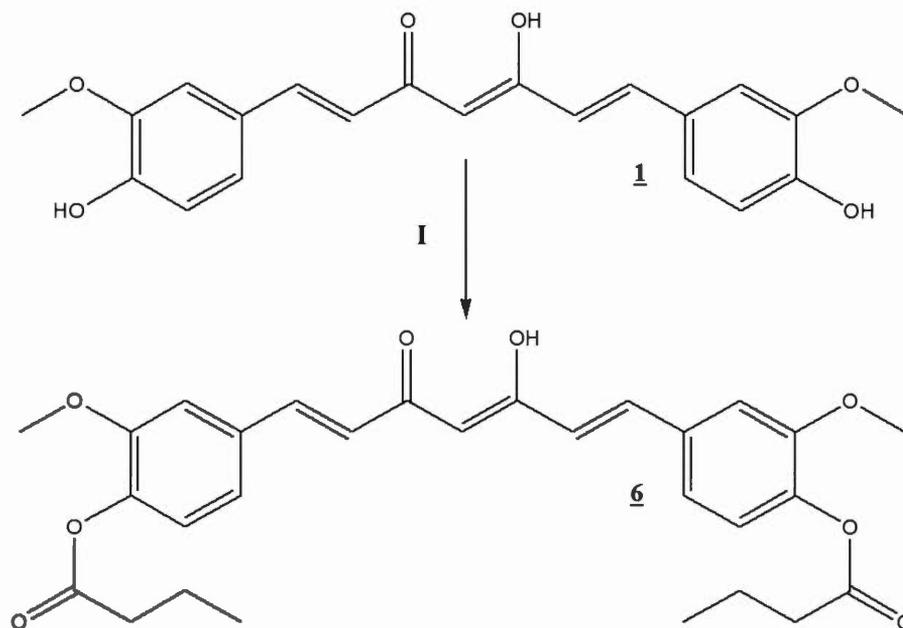
Dans le but d'évaluer correctement l'effet d'allonger la chaîne sur l'ester formé, des anhydrides de longueurs variables ont été utilisés. L'anhydride acétique a déjà été utilisé lors des premières réactions, la prochaine réaction s'est donc faite avec l'anhydride propanoïque (Schéma 3.3). La différence entre la curcumine acétylée **2** et la curcumine propanoylée **5** sera attribuée entièrement au carbone supplémentaire de cette dernière. Il sera alors plus simple d'évaluer l'influence d'une chaîne alkyle plus longue sur les esters formés. Le rendement de la réaction est de 47 %.



(I) Anhydride propanoïque, pyridine,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , reflux, 2 h, 47 %

Schéma 3.3 Formation de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**5**).

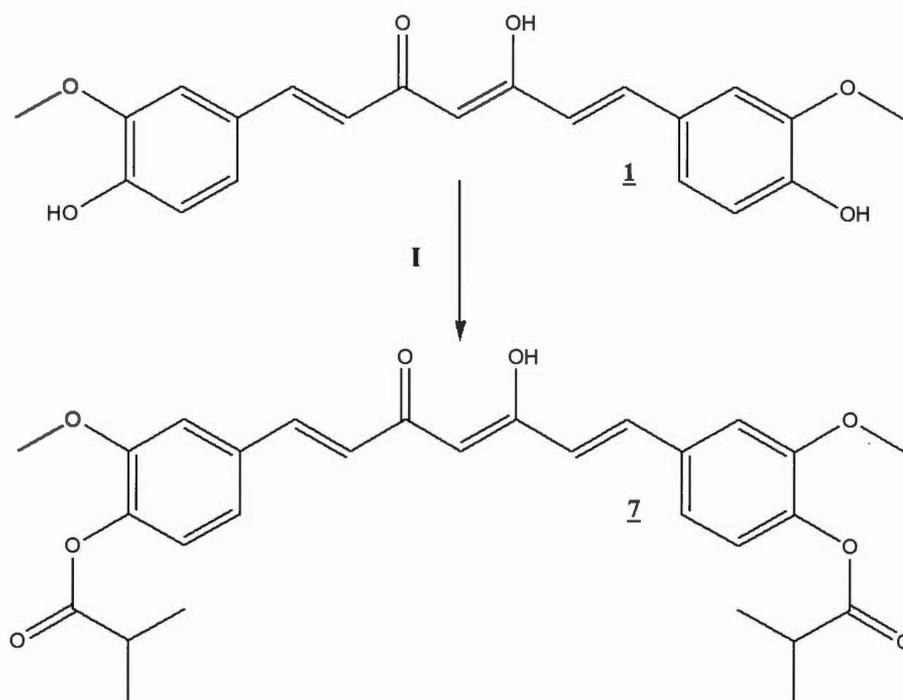
Pour approfondir d'avantage l'effet d'ajouter un carbone à la chaîne alkyle du groupement ester, un autre dérivé a été fait avec l'anhydride butanoïque. Ce nouveau dérivé va permettre de confirmer si l'ajout de carbone à la chaîne alkyle a un effet sur les propriétés physico-chimiques de la molécule. Le composé **6** a été obtenu avec un rendement de 46 % (Schéma 3.4).



(I) Anhydride butanoïque, pyridine,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , reflux, 2 h, 46 %

Schéma 3.4 Formation de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (6).

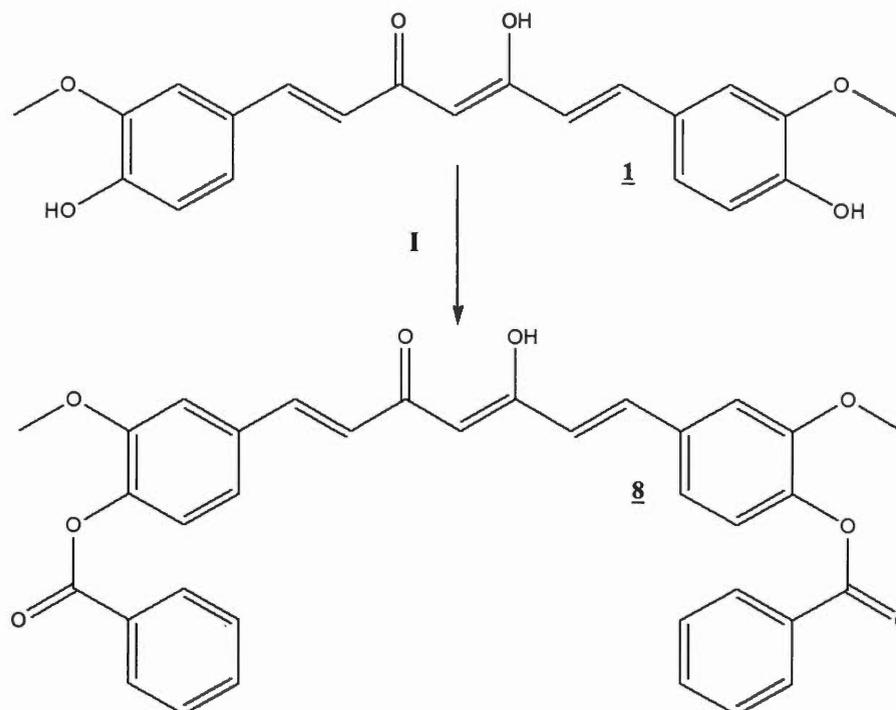
Par la suite, l'effet d'une chaîne alkyle ramifiée a été brièvement étudié. Cette fois-ci, la réaction s'est faite avec l'anhydride isobutanoïque. La curcumine isobutanoïque 7 pourra être comparée avec la curcumine butanoïque 6 puisque leur nombre de carbones est le même. Le composé 7 est obtenu avec un rendement de 46 % (Schéma 3.5).



(I) Anhydride isobutanoïque, pyridine,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , reflux, 2 h, 46 %

Schéma 3.5 Formation de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-iso-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**7**).

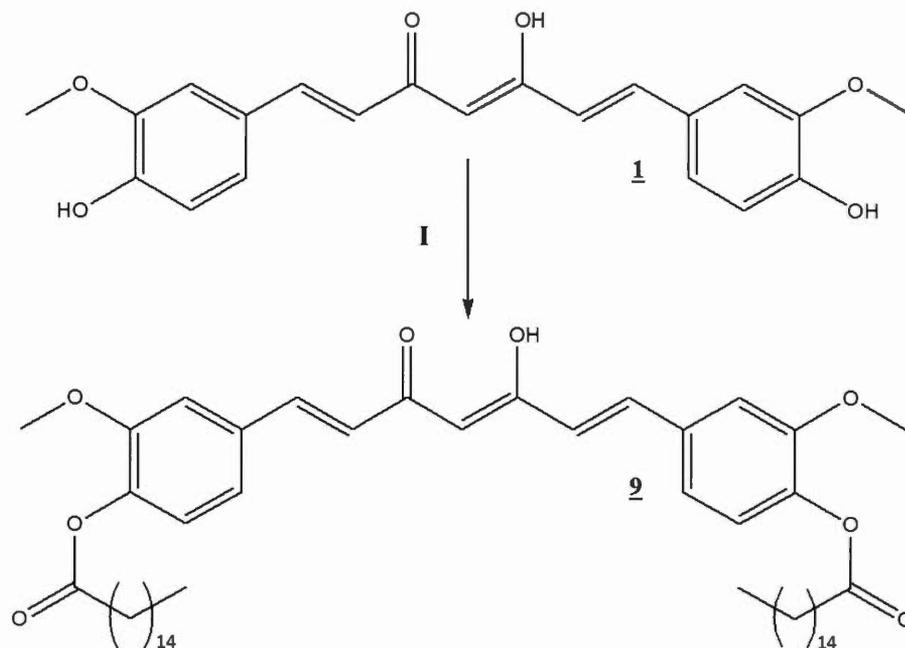
Par la suite, le changement d'un ester alkyle à un ester aromatique a été testé. La réaction entre l'anhydride benzoïque et la curcumine va transformer les phénols en des groupements benzoates. Les groupements aromatiques auront une influence différente des groupements alkyles précédemment ajoutés sur la curcumine. De plus, la polarité de la molécule sera changée, ce qui devrait modifier la solubilité du colorant dans différents solvants et par le fait même, son éventuelle absorption dans la peau. Le rendement de la réaction de formation du diester **8** est de 66 % (Schéma 3.6).



(I) Anhydride benzoïque, pyridine,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , reflux, 3 h, 66 %

Schéma 3.6 Formation de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoïloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**8**).

La réaction suivante avait pour but de synthétiser un dérivé qui aurait une très grande hydrophobicité. Une plus grande hydrophobicité devrait améliorer l'absorption dans la peau puisque celle-ci est également hydrophobe. Le chlorure d'hexadécanoyle a été utilisé pour former le diester désiré **9** (Schéma 3.7). La réaction donne un produit avec un noyau aromatique rigide et deux longues chaînes alkyles mobiles. Cette dualité de cœur aromatique et de chaînes alkyles va modifier grandement la solubilité de la molécule dans différents solvants. Les longues chaînes alkyles rendent la molécule très hydrophobe. Son absorption par la peau devrait donc en être affectée, puisque la molécule a presque doublé de grosseur.



(I) Chlorure d'hexadécanoyle, pyridine,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , reflux, 5 h, 90 %

Schéma 3.7 Formation de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrien-3-one (**9**).

#### 3.4 Réaction de Knoevenagel

Dans le but d'obtenir des molécules substantiellement différentes, une nouvelle série de molécules a été envisagée. Au lieu de modifier le groupement phénol de la curcumine, l'ajout d'un groupement sur le carbone 1 situé entre les cétones pourrait modifier complètement la polarité de la molécule. La curcumine est une molécule symétrique plutôt rigide et plane à cause de la conjugaison recouvrant toute la molécule. Le groupement ajouté sur le carbone 1 va modifier la symétrie de la molécule, créant un changement important au niveau structural. Il brisera également la conjugaison de la molécule, ce qui aura un effet sur la fluorescence qui pourra être étudié à l'aide d'un spectrofluorimètre.

La réaction choisie pour ajouter un groupement sur le carbone 1 est la réaction de Knoevenagel (Schéma 3.8). C'est une réaction où un aldéhyde va se condenser avec un groupement 1,3-dicarbonylé pour produire un alcène conjugué.

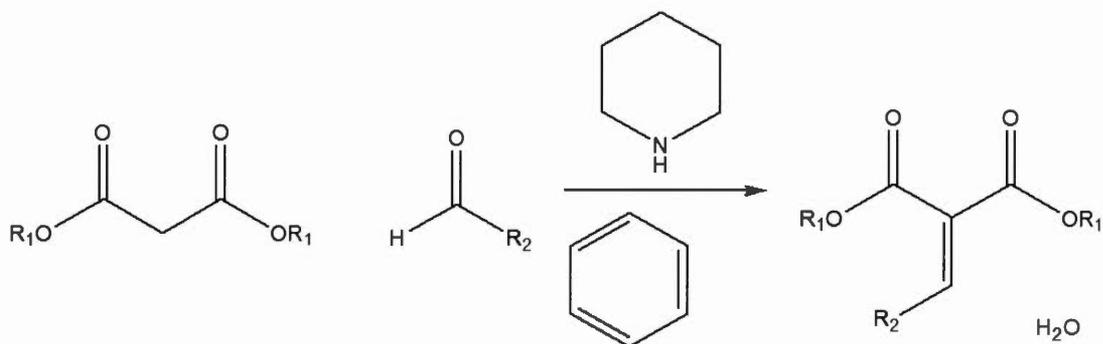


Schéma 3.8 Réaction générale de Knoevenagel avec un diester.

La réaction se produit en milieu basique dans le benzène selon la littérature (Organic\_Chemistry\_Portal). Puisque le benzène possède plusieurs caractéristiques toxiques (CNESST, 2016), il a été remplacé par du toluène. La pipéridine va arracher un proton du carbone 1, formant l'énolate. Ce dernier va alors s'attaquer à l'aldéhyde placé dans le milieu réactionnel. L'oxygène qui appartenait au groupement aldéhyde va récupérer un proton de la pipéridine protonée. Une molécule de pipéridine va ensuite arracher le proton restant du carbone 1, ce qui va former une double liaison entre le carbone 1 et le carbone de l'aldéhyde. Globalement, il y a perte d'eau au cours de cette réaction pour mener à un système  $\alpha,\beta$ -insaturé. La condensation de Knoevenagel permettrait théoriquement l'ajout du benzaldéhyde et d'aldéhydes aromatiques substitués en C-1 de la curcumine (Schéma 3.9).

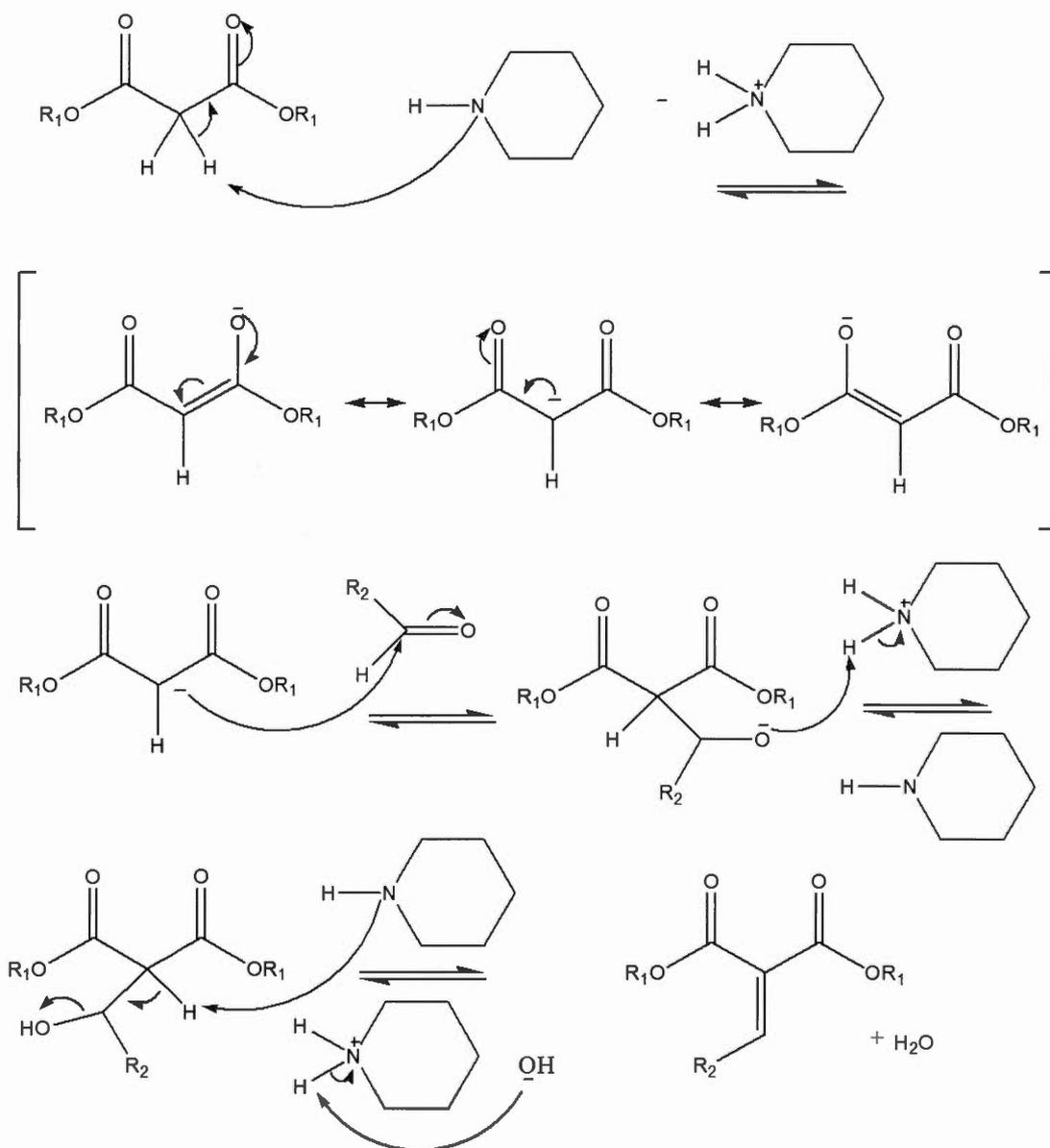
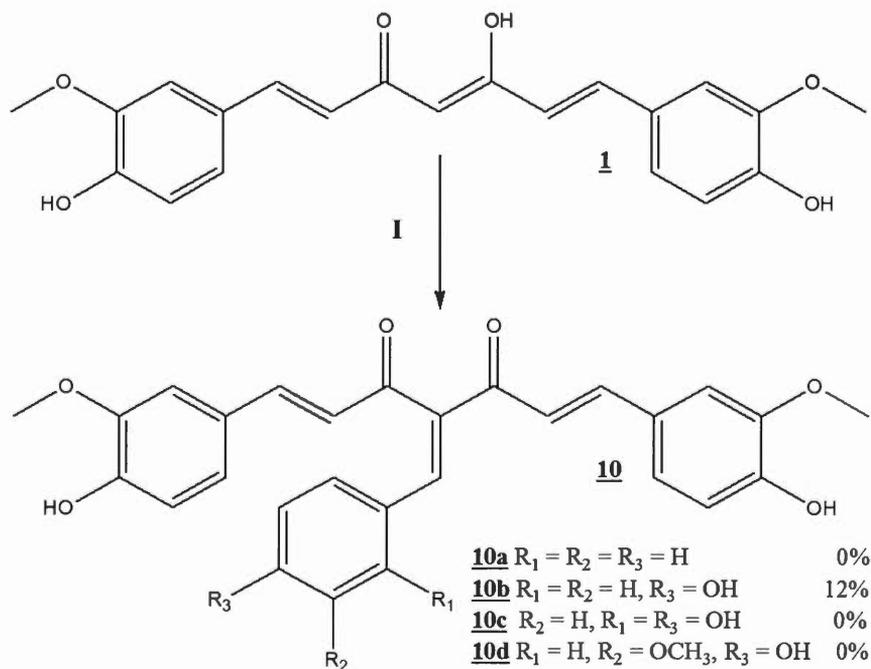


Schéma 3.9 Mécanisme de la réaction de Knoevenagel.

La réaction a d'abord été tentée avec le benzaldéhyde ajoutant ainsi un groupement phényle lié par une liaison double sur le carbone 1. La réaction de condensation de Knoevenagel est délicate. Le temps de réaction est long et les produits étaient difficiles à purifier par chromatographie sur colonne. Lors de la purification, nous récupérons

en moyenne 30 % de la curcumine de départ et les autres produits isolés ne correspondaient généralement pas à celui désiré.

La réaction a été testée plusieurs fois avec différents aldéhydes aromatiques tels que le benzaldéhyde (**10a**), le 4-hydroxybenzaldéhyde (**10b**), le 2,4-dihydroxybenzaldéhyde (**10c**) et la vanilline (**10d**) (schéma 3.10). Dans presque tous les cas, la réaction semble progresser, puisqu'il y a une moins grande quantité de curcumine à la fin de la réaction, mais le produit semble se dégrader peu à peu sur la colonne. Peut-être que le produit se dégrade à cause d'une réaction avec la lumière lors de sa purification. La seule réaction où une petite partie du produit a pu être récupérée est celle avec le 4-hydroxybenzaldéhyde pour donner **10b**. La masse recueillie correspondait à 12 % de la masse attendue et a été confirmée seulement par RMN-<sup>1</sup>H parce que le produit s'est dégradé par la suite.



(I) Benzaldéhyde approprié, pipéridine, toluène, reflux, 46 h, (0-12 %)

Schéma 3.10 Condensation de Knoevenagel entre la curcumine (**1**) et différents benzaldéhydes.

Avec ces maigres résultats, les molécules dérivant de la condensation de Knoevenagel ont été jugées trop difficiles à synthétiser et à purifier pour le besoin du projet. Le but ultime est de confectionner des molécules simples à élaborer pour diminuer au maximum les coûts éventuels de production. Ainsi, étant peu onéreuse, la méthode de détection que nous tentons de développer serait envisageable par les corps policiers lors d'une enquête criminelle. La difficulté des réactions de Knoevenagel va à l'encontre de ce but.

### 3.5 Réaction d'alkylation

Deux composés supplémentaires ont été fabriqués par alkylation exhaustive de la curcumine en milieu basique. Le but est de bloquer les sites réactionnels de la curcumine pour les rendre davantage lipophiles. La fluorescence sera également modifiée par coupure de la conjugaison. Cette réaction a été effectuée en présence d'iodométhane pour conduire au produit **11**, et avec l'iodopropane pour donner le composé **12**. Ces produits ont été obtenus avec un rendement respectif de 83 % et de 37 % (Schémas 3.11 et 3.12).

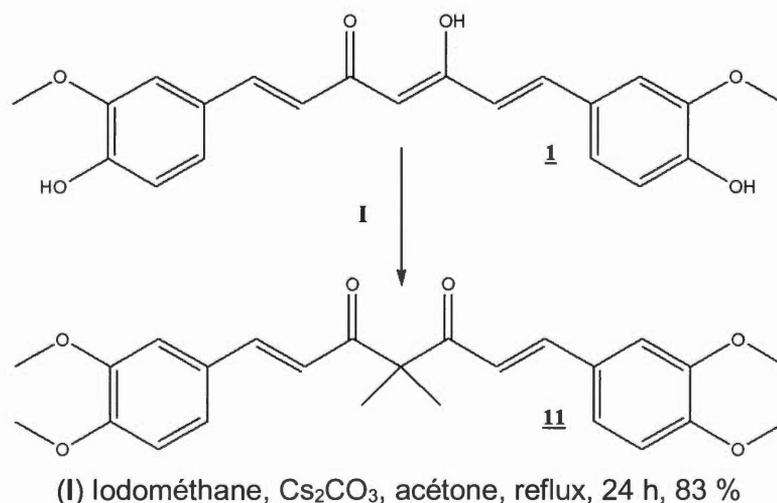


Schéma 3.11 Formation de la (1E,6E)-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**11**).

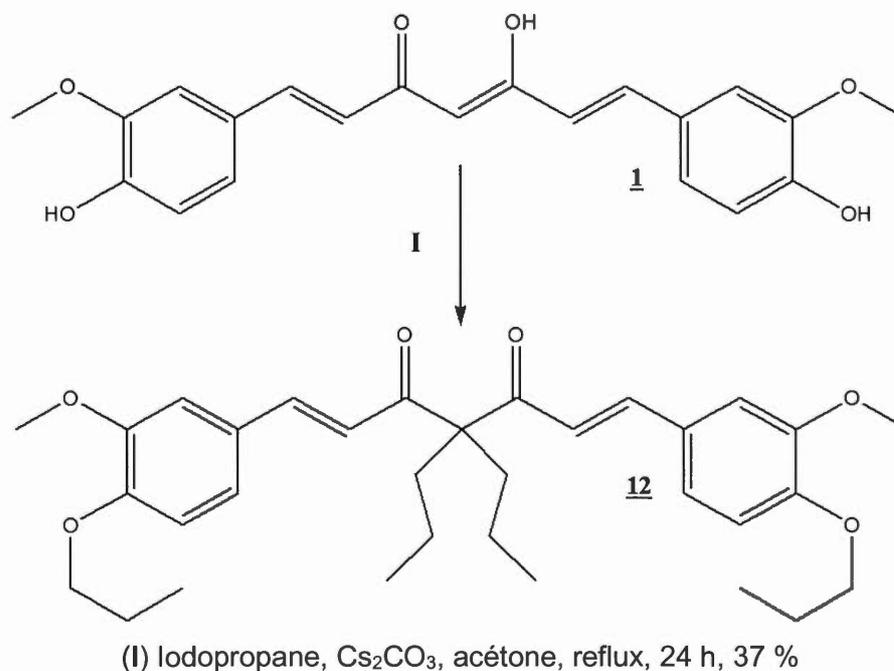


Schéma 3.12 Formation de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**12**).

### 3.6 Tests de prolifération cellulaire

À l'exception des molécules issues de la condensation de Knoevenagel, tous les produits désirés ont été synthétisés. Une fois cette étape passée, il faut déterminer une concentration qui n'occasionnera pas de réaction secondaire inopportune. Cela permettra d'éliminer les composés qui ne satisfont pas le critère d'innocuité. Une des premières approches en ce sens est l'utilisation de l'essai d'« activité antiproliférative ».

Cet essai consiste à incuber des cellules cancéreuses en présence des molécules à tester dans des plaques à microtitrage de 96 puits pendant 72 heures. Les concentrations varient de  $5,0 \times 10^{-5}$  M à  $7,8 \times 10^{-7}$  M. La quantité de cellules est déterminée en utilisant un colorant nommé sulforhodamine B (SRB) (Fortin *et al.*, 2017). Les tests ont été effectués en utilisant des kératinocytes humains

(HaCat) ainsi que différentes cellules cancéreuses, comme celles du cancer de la prostate (DU-145), du cancer des ovaires (SKOV3), des cellules du cancer du sein humain hormono-dépendantes (MCF-7) et hormono-indépendantes (MDA-MB-231).

La propriété anticancérigène a été évaluée pour mieux caractériser les dérivés de la curcumine. Le but était de comparer l'effet anticancérigène connu de la curcumine face à ces molécules nouvellement synthétisées.

Des courbes de croissance des cellules ont pu être tracées grâce à la coloration à la SRB. Ces courbes ont servi à évaluer la concentration de molécules nécessaire pour inhiber la croissance cellulaire de 50 % (IC<sub>50</sub>). La curcumine a servi de référence pour apprécier les valeurs d'IC<sub>50</sub> des molécules. La valeur d'IC<sub>50</sub> (Tableau 3.1) de tous les produits testés a été évaluée selon les mêmes conditions expérimentales.

Tableau 3.1

Activité antiproliférative des dérivés de la curcumine sur des lignées de cellules de peau et de cellules cancéreuses

Lignées cellulaires					
Produits	HaCat* IC <sub>50</sub> (µM)	DU-145* IC <sub>50</sub> (µM)	MCF-7* IC <sub>50</sub> (µM)	MDA-MB-231* IC <sub>50</sub> (µM)	SKOV3* IC <sub>50</sub> (µM)
<b>Curcumine</b>	5,8	10,5	6,2	10,5	10,1
<b><u>2</u></b>	4,9	8,7	3,3	9,6	10,7
<b><u>3</u></b>	18,6	2,3	1,6	2,2	3,3
<b><u>4</u></b>	7,4	7,7	4,5	8,1	7,7
<b><u>5</u></b>	8,7	9,8	6,7	15,2	20,1
<b><u>6</u></b>	7,7	20,0	4,8	13,7	17,3
<b><u>7</u></b>	11,8	24,4	7,2	20,2	20,8
<b><u>11</u></b>	0,9	2,0	0,8	1,7	3,6
<b><u>12</u></b>	> 100	92,0	49,0	> 100	> 100

\*IC<sub>50</sub> (concentration nécessaire pour inhiber de 50 % la croissance des cellules), en µM obtenu par coloration à la SRB. Ces valeurs de IC<sub>50</sub> sont tirées des figures 3.4 à 3.9.

La curcumine montre une activité inhibitrice variant de 5,8 à 10,5  $\mu\text{M}$  sur les cellules testées. Les dérivés **2**, **4**, **5** et **6** possèdent une toxicité comparable à la curcumine pour les différentes lignées cellulaires. Les  $\text{IC}_{50}$  pour ces composés varient entre 3,3 et 20,1  $\mu\text{M}$ .

Le produit **3** possède une activité antiproliférative approximativement 3 fois plus petite que celle de la curcumine pour les cellules de la peau (HaCat). Cependant, son activité inhibitrice face aux lignées de cellules cancéreuses est plus élevée que la curcumine avec des  $\text{IC}_{50}$  variant de 1,6 à 2,3  $\mu\text{M}$ . Cette propriété anticancérigène ainsi que la faible toxicité pour les cellules de la peau peut être attribuées aux deux groupements méthyles ajoutés sur le carbone 1 puisqu'ils sont la seule différence entre les composés **2** et **3** (Figure 3.2).

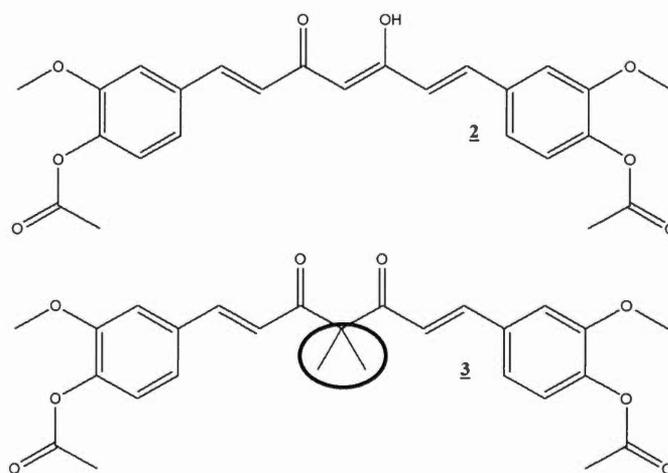


Figure 3.2 Comparaison structurale entre les composés **2** et **3**.

Le composé **7** quant à lui possède une toxicité deux fois moins grande que la curcumine pour les cellules de la peau (HaCat;  $\text{IC}_{50} = 11,8 \mu\text{M}$ ), du cancer de la prostate (DU-145;  $\text{IC}_{50} = 24,4 \mu\text{M}$ ), du cancer du sein non hormonal (MDA-MB-231;  $\text{IC}_{50} = 20,2 \mu\text{M}$ ) ainsi que pour le cancer des ovaires (SKOV3;  $\text{IC}_{50} = 20,8 \mu\text{M}$ ). Ces résultats en font un bon candidat pour la suite du projet puisqu'il y a moins de risque pour la santé des personnes volontaires pour notre étude de détection des tatouages effacés.

Les composés **8** et **9** n'ont pas été testés parce qu'ils étaient insolubles à  $5,0 \times 10^{-5}$  M. Leur toxicité étant inconnue, ces produits ne pourront pas être utilisés lors des tests chez les humains.

Le composé **11** quant à lui est en moyenne 6 fois plus toxique que la curcumine. Les  $IC_{50}$  du composé **11** varient de 0,8 à 3,6  $\mu$ M. L'activité antiproliférative face aux cellules cancéreuses est encore attribuée aux groupements méthyles sur le carbone 1 de la molécule puisque les valeurs d' $IC_{50}$  sont pratiquement les mêmes que pour le composé **3**. Pour ce qui est de la toxicité du produit avec les cellules de la peau, elle doit être attribuée à la présence d'un plus grand nombre de groupements méthoxy rendant possiblement la molécule plus biodisponible. En effet, c'est la seule différence entre les molécules **3** et **11** (Figure 3.3).

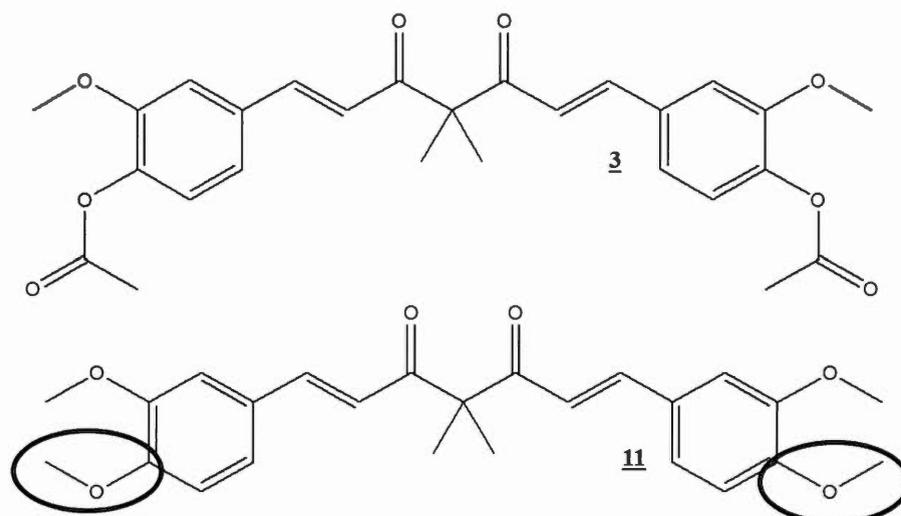


Figure 3.3 Comparaison structurale entre les composés **3** et **11**.

Le composé **12** possède une toxicité plutôt faible comparée à la curcumine. Cette dernière montre des  $IC_{50}$  variant de 49 à plus de 100  $\mu$ M. Que ce soit pour les cellules cancéreuses ou pour les cellules de la peau, la molécule n'est pas toxique.

En conclusion, les tests de prolifération cellulaires montrent que les molécules **3**, **7** et **12** sont les meilleurs candidats en termes de toxicité parmi tous les dérivés de curcumine synthétisés. Ces analogues seront donc mis de l'avant lors des tests de préparation de solution et de fluorescence nécessaires pour les essais sur les humains.

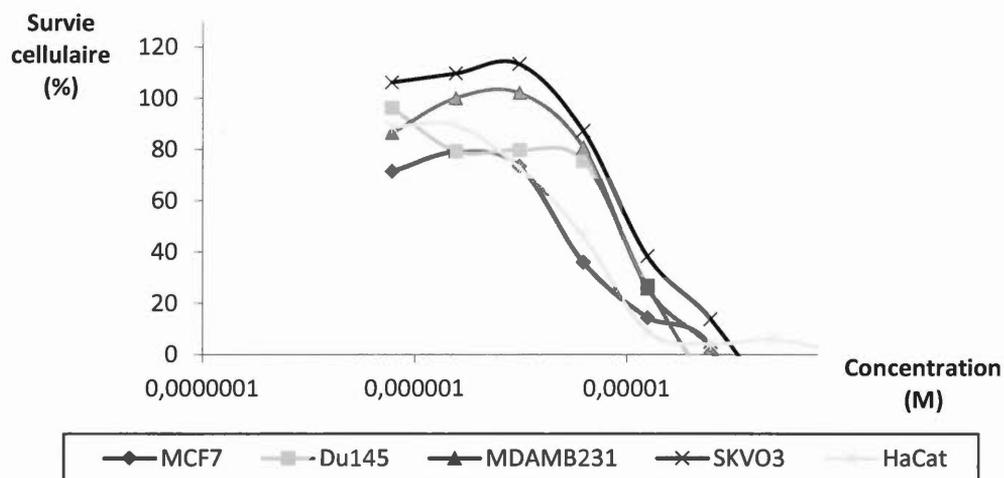


Figure 3.4 Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en curcumine **1**.

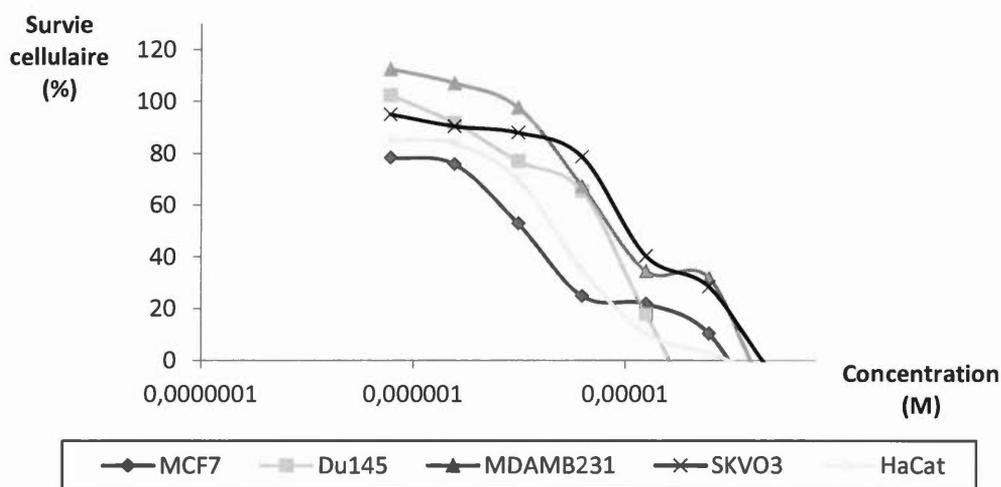


Figure 3.5 Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en composé **2**.

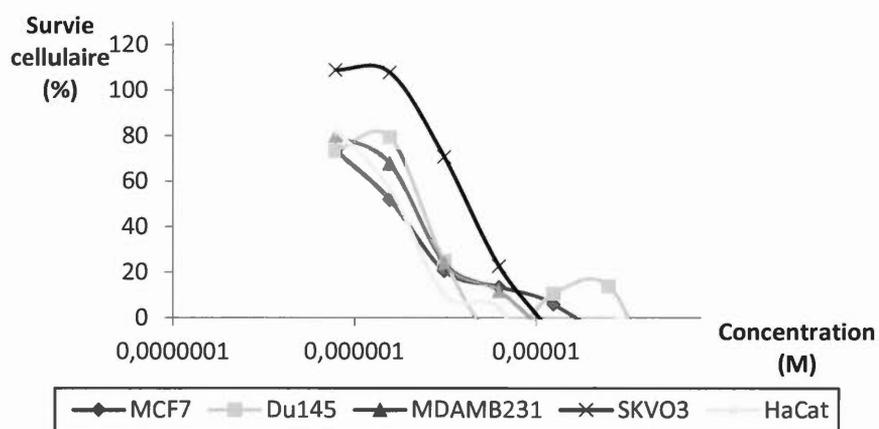


Figure 3.6 Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en composé 3.

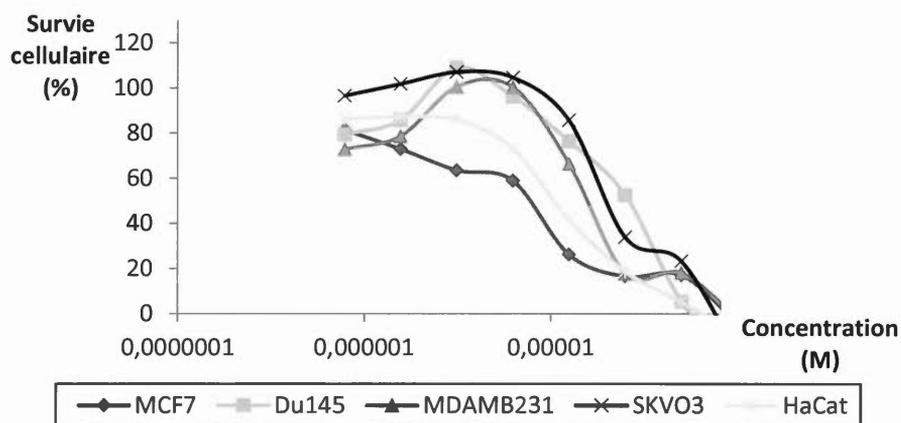


Figure 3.7 Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en composé 7.

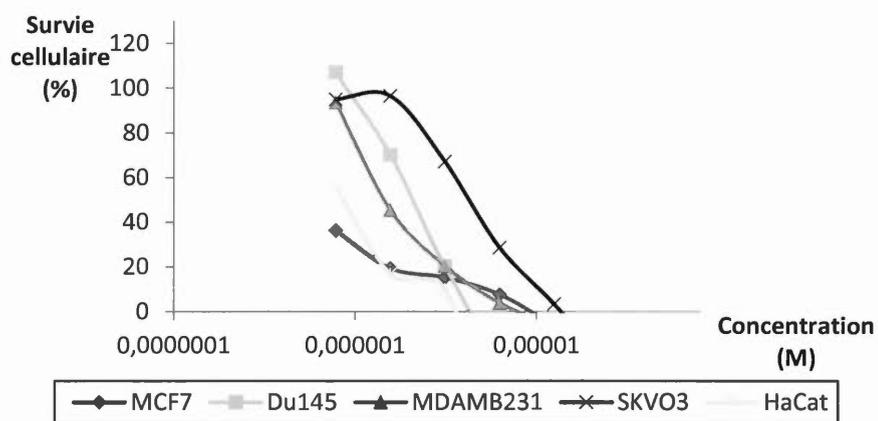


Figure 3.8 Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en composé 11.

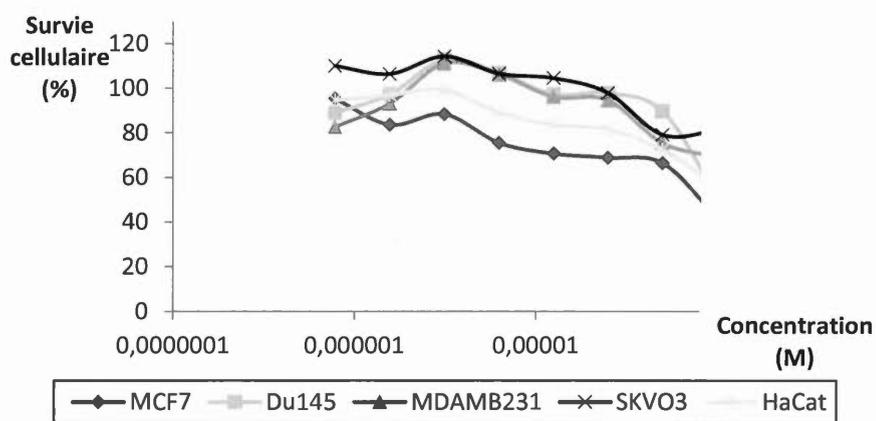


Figure 3.9 Croissance de cinq lignées cellulaires en fonction de la concentration en composé 12.

## CHAPITRE IV

### OPTIMISATION DES PARAMÈTRES DE RÉVÉLATION

#### 4.1 Préparation de solutions colorantes à différentes concentrations

Les produits obtenus à partir de la curcumine sont tous solides à la température de la pièce. Pour pouvoir faire les tests de fluorescence ainsi qu'éventuellement les tests sur la peau, il faut les solubiliser. Le solvant choisi est l'isopropanol, communément connu sous le terme d'alcool à friction lorsqu'il est en solution avec de l'eau. Le choix a été basé sur sa polarité suffisante pour solubiliser les colorants, son utilisation déjà connue pour l'emploi sur la peau et le fait qu'on peut en trouver facilement dans n'importe quelle pharmacie. Pour ce projet, de l'alcool à friction de marque Alcovap™ a été acheté en pharmacie. Le choix de l'alcool à friction acheté pourrait avoir une influence sur la solubilité des dérivés dans la solution. Il est préférable d'utiliser un alcool à friction composé seulement de 70 % d'isopropanol et 30 % d'eau sans autres additifs (tels éthanol, camphre, etc.). La fluorescence d'une solution à base de 70 % d'isopropanol et 30 % d'eau se trouve dans l'ultraviolet (Han *et al.*, 2011). Puisque les solutions ont pour but d'être utilisées sur le vivant, cette longueur d'onde ne sera pas utilisée. La fluorescence des produits ne devrait donc pas être affectée par celle de la solution.

Dans l'objectif d'obtenir une solution qui soit suffisamment colorée et qui se solubilise complètement dans l'alcool à friction, différentes concentrations de colorant ont été testées. Ce procédé visait également à obtenir la concentration minimale requise

pour son utilisation éventuelle sur le vivant. Dans un souci de rigueur, les molécules éliminées seront également caractérisées. Des solutions de concentrations variées (5, 10, 25, 50 et 100 ppm) ont été préparées. Seul le produit 9 à une concentration de 100 ppm a eu un peu plus de difficulté à se solubiliser. En effet, il a fallu chauffer légèrement la solution pour que le composé se dissolve entièrement. En refroidissant, une suspension apparaît. Il faut donc que la solution colorante soit utilisée peu de temps après avoir été préparée, alors qu'elle est un peu plus chaude que la température de la pièce. Autrement, la concentration va être plus petite que désiré. Il faut se rappeler que le produit 9 a été disqualifié des candidats potentiels parce que les tests d'activité proliférative n'ont pas pu être effectués avec cette molécule. Ainsi, la difficulté de solubilisation affectera seulement les tests de fluorescence servant à caractériser ce produit.

Pour ce qui est de la coloration, un test sur une feuille de papier a été fait. Pour tous les dérivés de la curcumine, la coloration est très faible. Il faut une solution de 50 ou 100 ppm pour qu'une coloration soit légèrement visible à l'œil nu.

#### 4.2 Fluorescence des dérivés

Au début du projet, la révélation devait se baser sur la coloration de la peau apportée par le colorant. Après avoir fait quelques tests de concentration, il était évident que la coloration ne serait pas assez marquée pour la révélation des tatouages effacés à l'œil nu. Heureusement, les dérivés de la curcumine possèdent tous une certaine capacité à fluorescer. Le projet a donc capitalisé sur la fluorescence des dérivés de la curcumine.

Pour utiliser la fluorescence des dérivés, il faut initialement déterminer la longueur d'onde maximale d'excitation et d'émission de chaque colorant. Une méthode très simple utilisant un spectrofluorimètre a servi à établir ces valeurs. Des solutions de 100 ppm dans l'isopropanol ont été préparées avec chaque dérivé, puis leur

fluorescence a été testée à l'aide de l'appareil. Pour la curcumine, une solution de 0,2 ppm dans l'isopropanol a été préparée, puis la fluorescence de la solution a été évaluée à l'aide du spectrofluorimètre. Il faut d'abord déterminer les maxima d'excitation et d'émission pour chaque solution. Une longueur d'onde d'émission est fixée lors du balayage des longueurs d'onde d'excitation entre 200 et 450 nm. De même, une longueur d'onde d'excitation est fixée, lors du balayage des longueurs d'onde d'émission entre 400 et 600 nm. Une première longueur d'onde d'excitation est choisie, et on identifie alors le maximum en émission. Ce dernier est à son tour fixé et on enregistre le maximum en excitation. La répétition de la procédure permet de se rapprocher des maxima en excitation et en émission, jusqu'à stabilisation des longueurs d'onde recherchées.

La longueur d'onde d'excitation de la curcumine est de 423 nm et sa longueur d'onde d'émission est de 511 nm. Le déplacement de Stokes est donc de 88 nm. La longueur d'onde d'excitation maximale moyenne des dérivés **2** et **5** à **9** est de 441 nm alors que pour les composés **3**, **11** et **12**, elle est de 411 nm. Le produit **4** possède une longueur d'onde d'excitation maximale de 392 nm. Les molécules **3**, **4**, **11** et **12** possèdent toutes des groupements attachés au carbone 1. Ces liaisons supplémentaires empêchent le déplacement des électrons ce qui pourrait expliquer la différence entre leur longueur d'onde d'excitation et celle des autres dérivés. De plus, les groupements ajoutés sur le carbone 1 du produit **4** possèdent une aromaticité. Celle-ci pourrait jouer sur l'énergie nécessaire à la fluorescence de la molécule, expliquant la longueur d'onde d'excitation plus basse de ce produit. La longueur d'onde d'émission maximale moyenne de tous les produits est de 477 nm. Le déplacement de Stokes des dérivés de la curcumine varie entre 36 et 85 nm selon le produit. Cela veut dire qu'ils seront éclairés par une lumière violette et qu'ils émettront une lumière entre le bleu et le vert. Il sera alors possible d'utiliser un filtre passe-haut d'environ 480 nm pour détecter seulement la lumière émise par les dérivés. Les valeurs exactes sont résumées dans les tableaux 4.1 et 4.2.

Tableau 4.1

Longueurs d'onde maximales d'excitation et d'émission  
des dérivés de la curcumine

Produits	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>11</u>	<u>12</u>
	Excitation										
Longueur d'onde d'émission fixe (nm)	510	475	475	480	475	470	475	475	475	475	480
Longueur d'onde du maximum d'excitation (nm)	423	442	413	392	445	447	436	443	433	411	411
	Émission										
Longueur d'onde d'excitation fixe (nm)	420	440	415	390	445	450	435	440	435	410	410
Longueur d'onde du maximum d'émission (nm)	511	474	475	482	474	476	474	477	478	481	483

Tableau 4.2

Résumé des longueurs d'onde d'excitation et d'émission,  
du décalage de Stokes et du filtre à utiliser

Produits	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>11</u>	<u>12</u>
Longueur d'onde d'émission retenue (nm)	510	475	475	480	475	475	475	475	480	480	485
Longueur d'onde d'excitation retenue (nm)	420	440	415	390	445	445	435	445	430	410	410
Décalage de Stokes (nm)	90	35	60	90	30	30	40	30	50	70	75
Longueur d'onde du filtre à utiliser (nm)	475 <sup>1</sup>										

<sup>1</sup> Cette valeur sera affinée plus loin.

Une fois les maxima d'excitation et d'émission mesurés, il est possible d'évaluer l'intensité relative de la fluorescence de chaque produit. Il sera alors possible de comparer la fluorescence des produits pour évaluer les meilleurs candidats pour les tests sur les humains. Le but est de trouver un produit avec une très grande intensité de fluorescence, ce qui permettra d'utiliser une concentration plus faible pour un résultat équivalent.

Lorsqu'on évalue l'intensité relative de la fluorescence avec un spectrofluorimètre, il y a certains paramètres à prendre en compte, soit la longueur d'onde d'excitation et d'émission, les ouvertures d'excitation et d'émission de l'appareil, la concentration des solutions et le solvant. L'intensité relative est mesurée en unité arbitraire (a. u.) qui est spécifique à l'appareil. Puisque les expérimentations ont toutes été faites sur le même appareil, les intensités pourront être comparées entre elles à l'aide de ces unités arbitraires. Les longueurs d'onde d'excitation et d'émission ont été déterminées précédemment (Tableau 4.2). Les valeurs ont été arrondies au facteur de 5 le plus proche pour simplifier la démarche. Certains résultats d'intensité seront donc légèrement plus petits que le vrai maximum. Ces diminutions pourraient donner l'impression que l'intensité d'émission est plus élevée que celle d'excitation (Figures 4.1 et 4.2). Cependant, il faut se rappeler que l'émission et l'excitation sont mesurées lors de tests différents et que l'intensité d'excitation est toujours plus élevée que celle d'émission. Ces arrondissements ne nuisent pas aux tests de fluorescence puisqu'ils visent à déterminer les filtres appropriés à la détection des colorants.

Le paramètre des ouvertures d'excitation et d'émission est important. Ces ouvertures contrôlent la quantité de lumière pouvant pénétrer pour exciter la solution et celle pouvant sortir et être détectée par l'appareil. Pour les produits **2**, **5**, **6**, **7**, **8** et **9**, les ouvertures d'excitation et d'émission étaient fixées à 5 mm. Pour les composés **3**, **4**, **11** et **12**, les ouvertures d'excitation et d'émission étaient de 10 mm. Le changement de 5 à 10 mm était nécessaire pour que l'intensité de fluorescence des produits **3**, **4**, **11** et **12** soit mesurable. Ces derniers sont naturellement moins fluorescents étant donné que nous avons brisé le système conjugué. Cependant, la comparaison

des produits **2**, **5**, **6**, **7**, **8** et **9** avec les produits **3**, **4**, **11** et **12** doit être faite de manière relative. Puisqu'il est nécessaire d'augmenter les ouvertures d'émission et d'excitation des produits **3**, **4**, **11** et **12**, ceux-ci doivent logiquement posséder une capacité à fluorescer plus petite que les produits nécessitant seulement des ouvertures de 5 mm. Pour ce qui est de la curcumine, elle doit être comparée de manière très relative. Le changement des ouvertures n'étant pas suffisant à lui seul, la concentration de la solution a également été diminuée pour pouvoir évaluer l'intensité de la fluorescence. Une solution de 0,2 ppm a été utilisée comparativement à une solution de 100 ppm pour les dérivés. De plus, les ouvertures d'excitation et d'émission étaient fixées à 5 mm. La curcumine possède donc une fluorescence plus grande que ses dérivés. Les intensités relatives ont été rapportées dans les figures 4.1 et 4.2.

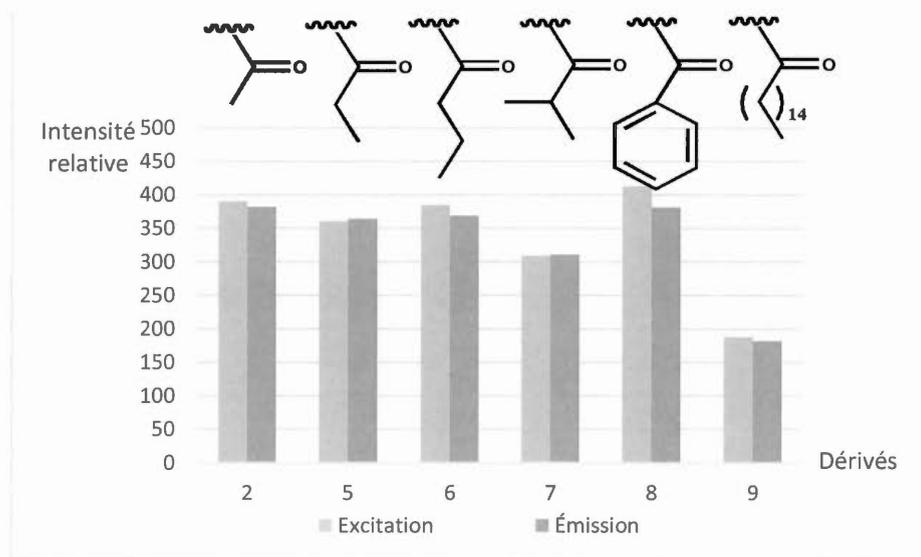


Figure 4.1 Fluorescence des dérivés **2**, **5**, **6**, **7**, **8** et **9** mesurée à l'aide d'un spectrofluorimètre.

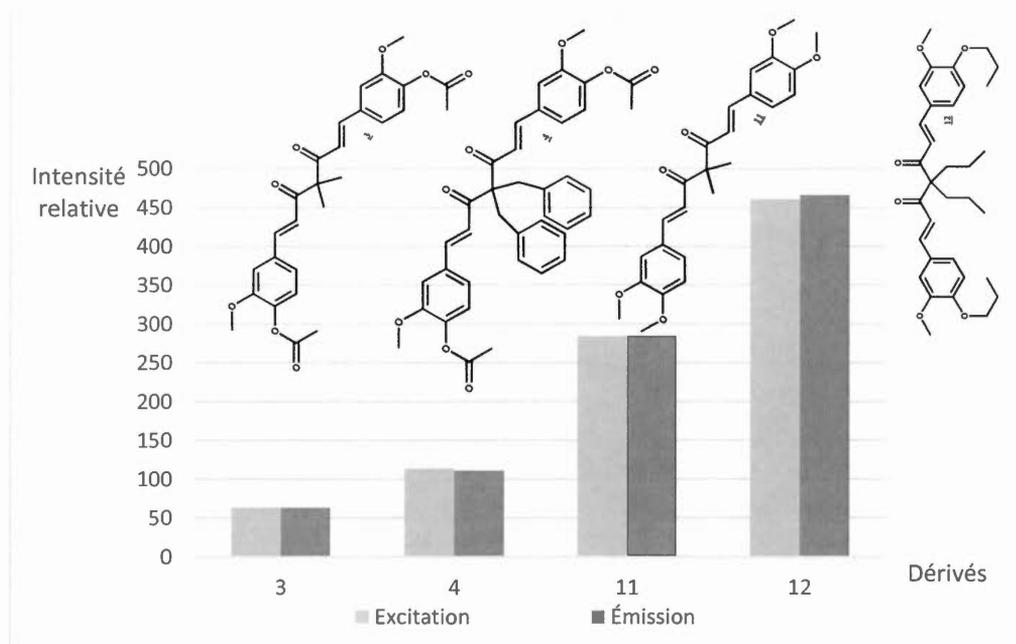


Figure 4.2 Fluorescence des dérivés **3**, **4**, **11** et **12** mesurée à l'aide d'un spectrofluorimètre.

La concentration des solutions, mentionnée plus haut, était de 100 ppm pour toutes les solutions. Cela permet de comparer leurs intensités de fluorescence entre elles. Différentes concentrations ont été testées, soit 5, 10, 50 et 100 ppm. Ce sont les solutions à 100 ppm qui ont permis d'obtenir une intensité suffisante pour tous les produits.

Le choix de solvant s'est fait plutôt aisément. Il fallait un solvant qui ne soit pas dangereux pour la peau, qui n'absorbe pas trop la fluorescence des produits et qui solubilise les colorants. L'isopropanol a été choisi selon ces critères. La fluorescence mesurée d'une solution peut être influencée par le choix de solvant. Plus un solvant est polaire, plus il aura un effet ipsochromique sur la fluorescence, ce qui veut dire que la longueur d'onde d'émission sera plus petite. À l'inverse, s'il n'est pas polaire, il aura un effet bathochromique sur la fluorescence, ce qui veut dire que la longueur d'onde d'émission sera plus grande (Rouessac et Rouessac, 2009). Dans le cas de ce projet, l'isopropanol devrait avoir un léger effet ipsochromique, ce qui veut dire que

lors de la révélation sur la peau, lorsque le solvant se sera évaporé, la longueur d'onde d'émission devrait être légèrement plus élevée que lors du test avec le spectrofluorimètre.

#### 4.3 Détermination de la méthode d'application des solutions colorantes

Une fois les paramètres optimaux de détection connus, il reste à proposer une méthode d'application des colorants sur une zone à traiter. Un papier filtre de type No.1 de 18,5 cm de diamètre a été retenu pour sa porosité permettant d'absorber les solutions colorantes et une inactivité sous lumière fluorescente pour ne pas créer d'interférence avec la méthode de révélation des colorants. Contrairement à la majorité des papiers blancs, ce papier ne contient pas d'agents azurants qui pourraient émettre dans le visible pour des longueurs d'onde d'excitation proche de celles des colorants.

L'étape suivante a été de déterminer la méthode d'application de la solution colorante. Trois outils d'applications ont été testés, soit une éponge, un petit rouleau de peinture et un tampon d'encre à base d'alcool. Les résultats de chacun sont assez variables.

Le rouleau de peinture offre la capacité d'appliquer la solution colorante sur une grande surface. Malheureusement, il est difficile de contrôler la quantité de colorant absorbé. La mousse qui compose le rouleau absorbe beaucoup de la solution colorante et ne s'égoutte pas facilement. Elle s'étire légèrement lorsqu'elle est trempée dans la solution d'isopropanol, ce qui l'empêche de rouler. La capacité de recouvrir de grande surface rapidement du rouleau est rendue inefficace par ce gonflement. Le rouleau n'est donc pas un applicateur approprié.

Pour ce qui est de l'éponge, elle permet d'appliquer la solution colorante de manière précise. Cependant, elle ne semble pas apprécier le contact de l'isopropanol. Elle gonfle au contact de la solution, ce qui laisse penser qu'elle se déforme et

qu'elle n'appliquera pas de manière totalement uniforme le produit colorant. De plus, il est difficile de la réutiliser puisqu'elle conserve une grande partie du colorant. Les concentrations subséquentes sont donc variables. Elle tache également le testeur puisqu'il n'y a pas de poignée comme le rouleau ou le tampon à encre. L'éponge a donc été disqualifiée.

Pour le tampon d'encre à base d'alcool, il offre une application uniforme et répétitive. Il faut cependant faire attention puisqu'il absorbe facilement la solution colorante. Il faut le laisser égoutter avant l'application. En le laissant égoutter, le surplus sort du tampon et l'application devient uniforme et sans bavure. De plus, les tampons se vendent en paquet séparé à un faible coût, il n'y a donc pas de risque qu'il y ait du colorant resté pris dans le tampon. Les concentrations subséquentes seront toujours bonnes puisqu'il suffit d'utiliser un autre tampon. Les tampons sont faits pour absorber de l'encre à base d'alcool, il n'y a donc pas de réaction avec la solution colorante. Le tampon d'encre à alcool est l'applicateur choisi pour le reste du projet.

La révélation par fluorescence a ensuite été optimisée. Le produit **2** a été utilisé puisqu'il est relativement simple et peu coûteux à synthétiser. Une source lumineuse médico-légale PAGLAB MSA-810™ est utilisée pour illuminer les colorants. La longueur d'onde d'excitation utilisée est de 440 nm et des lunettes jaunes (filtre passe-haut à 495 nm) sont portées pour pouvoir voir la fluorescence du produit. Bien que le maximum d'émission mesurée avec le spectrofluorimètre était de 485 nm, l'isopropanol de la solution va s'évaporer laissant le produit seul. L'effet ipsochromique de l'isopropanol va donc diminuer, augmentant légèrement le maxima d'émission, d'où l'utilisation d'un filtre passe-haut à 495 nm.

Des solutions de 5, 10 et 50 ppm ont été préparées à partir d'une solution mère de 100 ppm. Chaque solution a été appliquée sur un papier-filtre avec un tampon différent pour éviter une variation de concentration due au colorant restant dans le tampon. Chaque concentration a été appliquée avec 3 déplétions pour vérifier la quantité de solution absorbée par l'applicateur et l'uniformité de chaque déplétion (Figure 4.3).

Parmi les concentrations testées, celle de 50 ppm s'est révélée trop concentrée pour une révélation efficace sur le papier filtre. La fluorescence sous une lumière de 440 nm est très puissante, ce qui risque de nuire à la visualisation des variations dues à un changement d'absorption. Pour les deux concentrations restantes, il n'y a pratiquement pas de différence. C'est donc la concentration à 5 ppm qui sera utilisée puisqu'elle utilise moins de produits, ce qui sera pratique et moins dispendieux lors d'éventuels tests sur les humains.

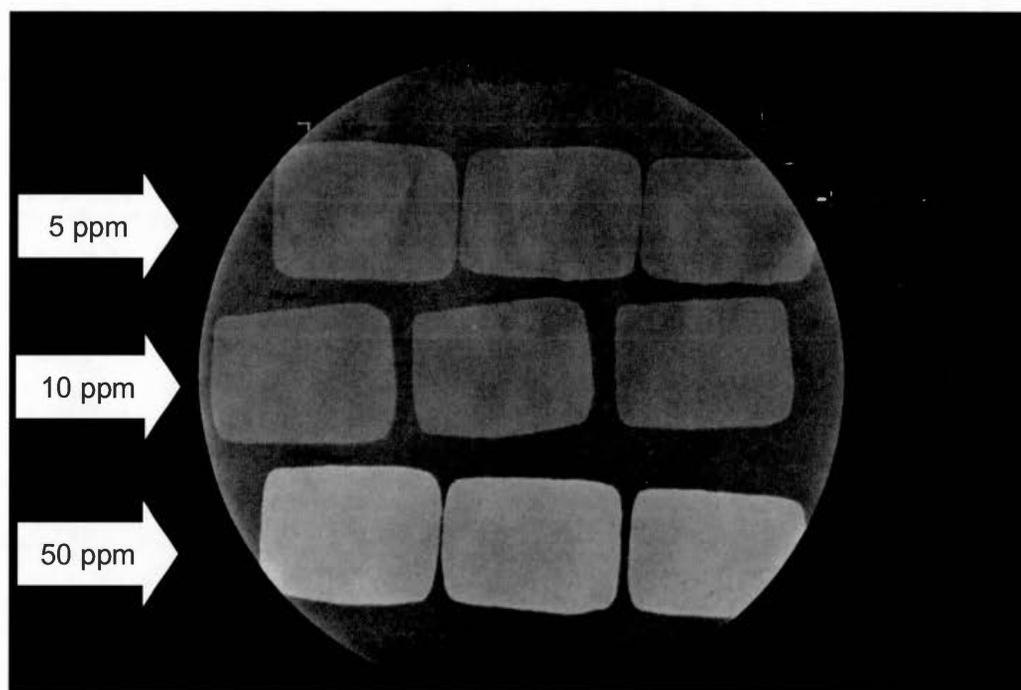


Figure 4.3 Illumination à 440 nm avec un filtre jaune passe-haut de 495 nm de plusieurs gradients de concentration de la solution colorante 2.

En résumé, l'utilisation d'un papier filtre a permis d'optimiser l'application et la détection des solutions colorantes. Il a démontré que la coloration jaune des dérivés de la curcumine n'était pas suffisante à elle seule pour une révélation. Heureusement, les produits dérivés de la curcumine fluorescent. Cette fluorescence a été évaluée à l'aide d'un spectrofluorimètre dans le but de déterminer les maxima d'excitation et d'émission de chaque colorant. Par la suite, l'application des produits a été optimisée selon la concentration, l'applicateur et la révélation sous la bonne longueur d'onde.

#### 4.4 Révélation du collagène

Une fois les paramètres de révélation et d'apposition optimisés pour les produits de la curcumine, il faut passer au test avec du collagène. Pour rappel, lorsque la peau se répare, elle va créer du collagène, un tissu de connexion (de Permentier, 2013). La concentration de collagène dans la cicatrice sera donc plus élevée que dans la peau saine. Ce test sera effectué en appliquant du collagène sur le papier filtre de manière à représenter un dessin, simulant ainsi un tatouage. Afin d'évaluer le potentiel de luminescence différentielle entre une zone de haute concentration de collagène c.-à-d. une cicatrice et une zone de plus faible concentration comme la peau, le choix s'est porté sur l'utilisation d'un papier filtre sur lequel ont été apposés des patrons de collagène. Puisque le collagène est présent dans la peau à une hauteur de 1,5 % dans la peau saine (Rodnan *et al.*, 1979) et qu'il y a plus de collagène dans une cicatrice, il suffit d'évaluer à partir de quelle différence de concentration il est possible de détecter la peau cicatrisée.

Malheureusement, il existe plusieurs types de collagène et ils coûtent tous très chers pour de petites quantités. Puisque ce collagène servirait à évaluer le contraste de fluorescence entre deux milieux de concentration différente, il pourrait être remplacé par un produit très similaire et moins coûteux. Dans ce schéma de pensée, de la gélatine achetée dans n'importe quelle épicerie pourrait être utilisée. La gélatine est un dérivé partiellement hydrolysé du collagène (Totre *et al.*, 2011). La structure chimique de la gélatine est très semblable à celle du collagène (Totre *et al.*, 2011) et elle possède des affinités hydrophiles comme le collagène (Leikin *et al.*, 1995).

La gélatine de marque Knox® a été utilisée pour ce projet. La préparation de la solution de gélatine s'est déroulée comme indiqué sur l'emballage, soit en mélangeant le contenu d'un sachet (7,2 g de gélatine) avec 50 mL d'eau à la température de la pièce, puis en versant 50 mL d'eau chaude avant d'agiter. La solution a été utilisée sans être mélangée à d'autre chose comme spécifiée dans la recette. Il est conseillé d'utiliser la solution de gélatine dans les 15 minutes suivant sa préparation, au risque

qu'elle se gélifie et que son application en soit affectée. Cette préparation donne une solution de gélatine d'une concentration de 7,2 % (m/v). Dans le but de simuler les formes complexes d'une cicatrice causée par un tatouage effacé, la solution a été appliquée à l'aide d'une estampe sur le papier filtre. L'estampe a été achetée dans un magasin d'artisanat, elle n'a donc rien de spécial. Le but était d'avoir des dessins uniformes en tout temps qui possédaient de petites sections et certaines plus grosses. Le dessin représente le mot « *merci* » entouré de végétation.

L'estampe est d'abord trempée dans la solution de gélatine, puis étanchée légèrement sur un papier-filtre pour enlever le surplus de gélatine. Ensuite, l'estampe est appuyée pendant une seconde sur un papier-filtre vierge désigné pour le test. Le papier filtre est ensuite accroché sur une corde pour qu'il n'y ait pas de contact avec le substrat gélatineux pendant 10 minutes. Une fois le substrat de gélatine séché, la révélation à l'aide d'une solution colorante de 5 ppm est effectuée. Le papier est ensuite apporté dans la chambre noire pour une prise de photographies. La première photographie est réalisée avec un éclairage de lumière blanche (Figure 4.4), puis la seconde photographie est prise sous une longueur d'onde de 440 nm avec un filtre jaune passe-haut de 495 nm sur l'objectif (Figure 4.5).

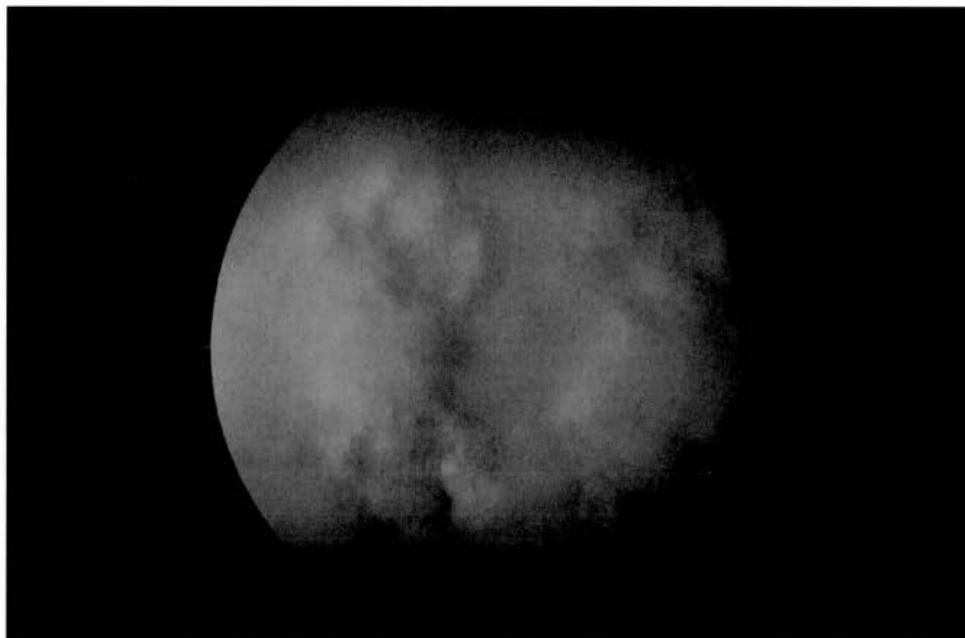


Figure 4.4 Illumination en lumière blanche de patron de gélatine à l'aide d'une estampe et révélée avec une solution colorante 2 (5 ppm).

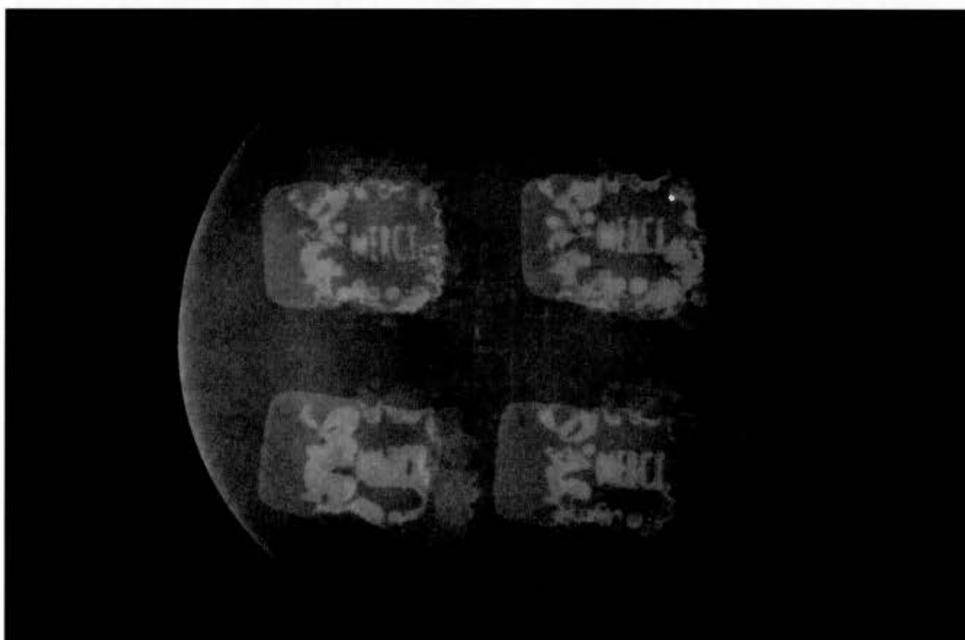


Figure 4.5 Illumination à 440 nm avec un filtre jaune passe-haut de 495 nm de patron de gélatine à l'aide d'une estampe et révélée avec une solution colorante 2 (5 ppm).

Les patrons de gélatine sont légèrement visibles en lumière blanche, mais seul le dessin général est perceptible. Les détails ne sont pas visibles avec un éclairage ordinaire. Lorsque le papier est observé sous une lumière de 440 nm et qu'un filtre est porté sur les yeux, il est possible de voir les patrons avec plus de détail. Il est possible de voir que la fluorescence est plus intense aux croisements de la solution colorante et de la gélatine, ce qui établit le potentiel de révélation des dérivés de la curcumine. Ce test visait à déterminer la facilité de visualisation de la fluorescence du produit **2** en solution ainsi que la qualité d'impression laissée par l'estampe et la solution gélatineuse.

#### 4.5 Fluorescence du collagène et de la gélatine

Suite à ce test, la fluorescence du collagène et celle de la gélatine ont été étudiées d'un peu plus près. Pour ce qui est du collagène, il possède deux pics d'absorption, soit à 275 nm et à 345 nm (Figure 4.6) (Deyl *et al.*, 1969). Son spectre d'émission comprend deux pics situés à 315 nm et 440 nm (Figure 4.6) (Deyl *et al.*, 1969).

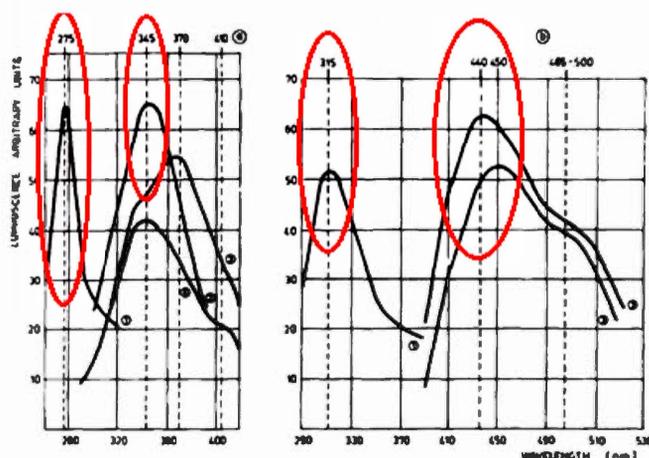


Fig. 1. Fluorescence action (a) and emission (b) spectra of acid soluble collagen (0.06% solution of ASC preparation in 0.05% acetic acid). (1) Tyrosine fluorescence. (2) Near UV fluorescence. (3) The same preparation alkalized to pH 12. (4) Action spectra at the absorbency wave-length 485 nm.

Figure 4.6 Spectre d'absorption (a) et d'émission (b) du collagène (Deyl *et al.*, 1969).

Le couple de fluorescence 275/315 nm serait dû à des résidus de tyrosine présente dans le collagène alors que le couple 345/440 nm serait attribué à la molécule de collagène (Deyl *et al.*, 1969). La différence entre la longueur d'onde d'excitation des dérivés de la curcumine et celle du collagène, soit 65 nm, est assez grande pour dire que le collagène ne devrait pas être un problème. Cependant, il faut s'assurer que la lumière servant à exciter les colorants possède une fenêtre d'illumination suffisamment petite. Si cette fenêtre est trop grande, la courbe d'illumination de la lumière risque de croiser la courbe d'excitation du collagène, permettant à ce dernier de fluorescer.

Pour ce qui est de la gélatine, son pic d'absorption se trouve à 280 nm (Figure 4.7). Cette valeur est basse comparée à l'excitation des dérivés de la curcumine qui se trouve entre 390 et 440 nm. Encore une fois, si la fenêtre d'illumination est suffisamment petite, la gélatine ne devrait pas fluorescer. Malgré le fait que la longueur d'onde d'absorption de la gélatine est éloignée de celle des produits, il y a tout de même une luminescence de la gélatine visible sur la photographie puisque les parties non révélées de l'étampe sont visibles (Figure 4.5). Il se pourrait alors que la source de lumière ait une fenêtre d'illumination plus grande que désiré, mais aucun test pour prouver cela n'a été effectué. L'observation du spectre d'émission de la gélatine révèle deux pics, soit un à 305 nm et l'autre assez large à 415 nm (Figure 4.8) (Liu, W. G. *et al.*, 2000).

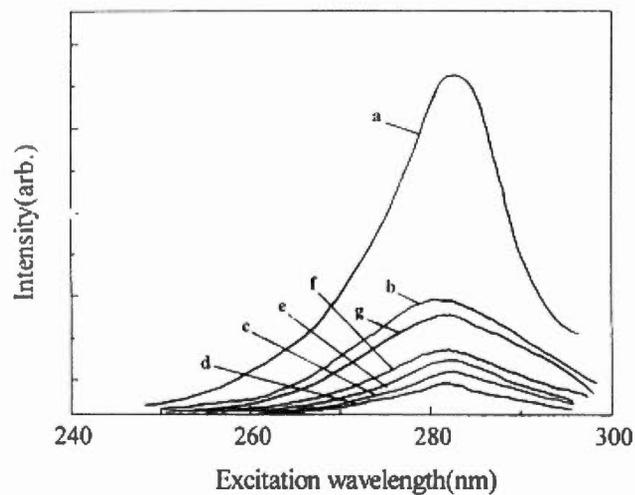


Fig. 2. The excitation spectra measured at various acetone contents. (a) 0%; (b) 10%; (c) 30%; (d) 50%; (e) 60%; (f) 70%; (g) 85%.

Figure 4.7 Spectre d'absorption de la gélatine (Liu, W. G. *et al.*, 2000).

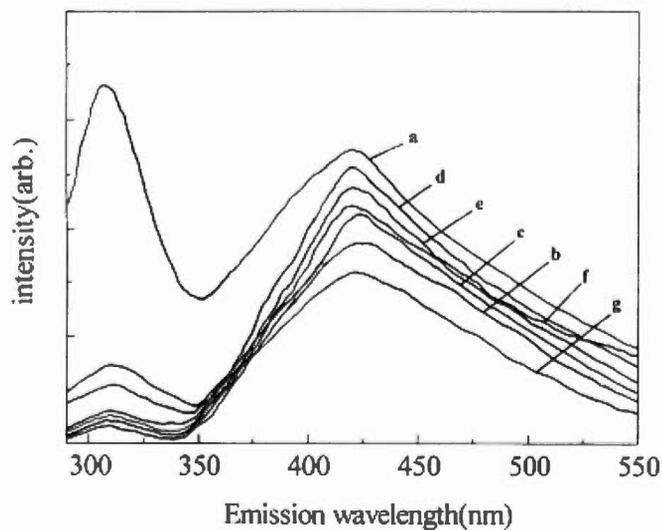


Fig. 3. The fluorescence emission spectra measured at various acetone contents. (a) 0%; (b) 10%; (c) 30%; (d) 50%; (e) 60%; (f) 70%; (g) 85%.

Figure 4.8 Spectre d'émission de la gélatine (Liu, W. G. *et al.*, 2000).

Il est possible de voir que l'émission de la gélatine s'étend sur plusieurs longueurs d'onde. Cela expliquerait qu'elle soit visible malgré le filtre passe-haut de 495 nm utilisé pour prendre les photographies. Pour mieux visualiser la fluorescence de la gélatine et son effet sur les tests précédents, un contrôle a été effectué (Figure 4.9).

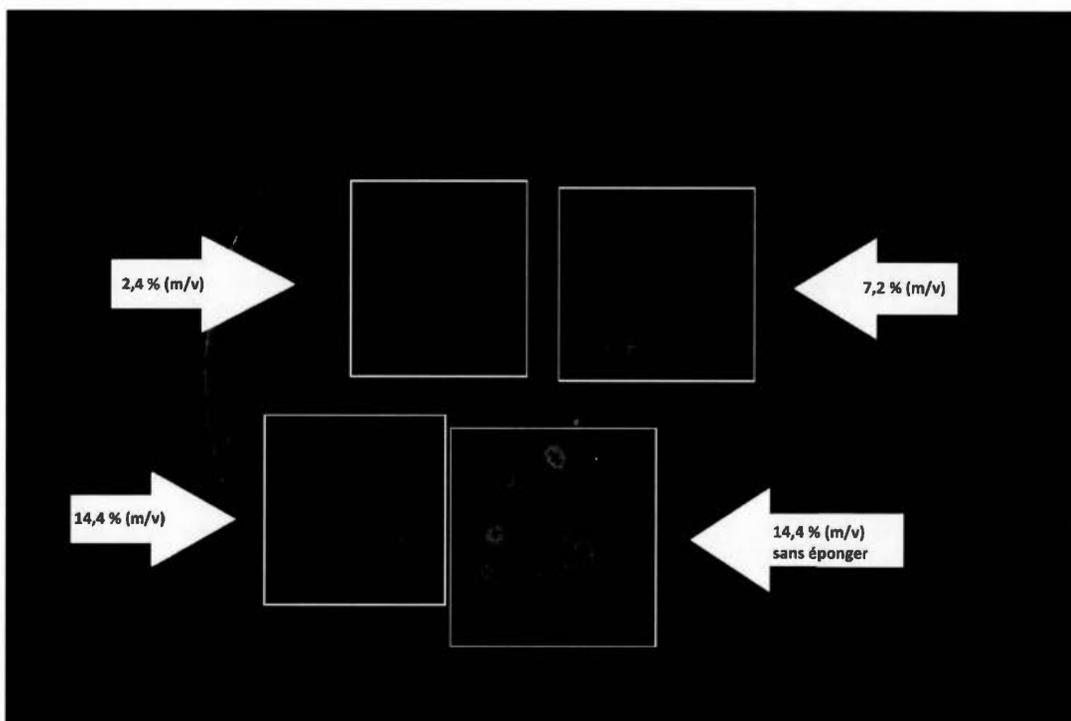


Figure 4.9 Variation de fluorescence selon la concentration de gélatine.

Il est possible de voir que la gélatine fluoresce sans l'aide des dérivés de la curcumine. La figure 4.9 montre quatre dessins de gélatine avec des concentrations variant de 2,4 % (m/v) à 14,4 % (m/v). Ces concentrations sont équivalentes à 1/3 d'un sachet de gélatine (2,4 % m/v), à un sachet (7,2 % m/v) et à deux sachets de gélatine (14,4 % m/v) dans la même quantité d'eau. La fluorescence est plus intense lorsque la concentration de gélatine est élevée. Le quatrième dessin (en bas au centre de la figure 4.9) a été fait sans éponger l'estampe avant de l'appliquer. Une grande quantité de gélatine est donc présente. La solution de gélatine utilisée pour l'obtenir est celle de 14,4 % (m/v). Ce test montre que la quantité de gélatine appliquée est significative.

Pour s'assurer que la lumière d'excitation ne soit pas absorbée par la gélatine, il faudrait mettre un filtre à bande passante entre 400 et 440 nm devant la lumière d'excitation. Ainsi, les dérivés de la curcumine seraient excités, mais pas la gélatine. Ce raisonnement s'applique également pour le collagène puisque son pic d'absorption se trouve à 345 nm. Malheureusement, un tel filtre n'était pas disponible lors de l'exécution des expérimentations de ce mémoire.

#### 4.6 Fluorescence entre deux milieux avec des concentrations de gélatine différentes

Malgré le fait qu'un filtre bande passante ne soit pas à disposition, il est possible de continuer un peu les expérimentations si une faible quantité de gélatine est appliquée sur le papier-filtre.

Dans le but de mieux représenter la peau et sa variation de collagène entre la peau saine et la peau cicatrisée, le papier filtre a été trempé dans une solution de gélatine de 0,72 % (m/v). Cette concentration est dix fois moins forte que la solution de gélatine utilisée précédemment, ce qui devrait être un rapport minimal acceptable entre le collagène naturel de la peau et celui d'une cicatrisation. Il a ensuite été séché et un dessin de concentration plus élevé a été appliqué. Les concentrations de gélatine sont de 2,4 % (m/v) (Figure 4.10), 7,2 % (m/v) (Figure 4.11) et 14,4 % (m/v) (Figure 4.12). Ces concentrations donnent respectivement un rapport différentiel de 3, 10 et 20 entre la gélatine de bruit de fond et celle à détecter. Ainsi, il sera aisé de voir quelle concentration est nécessaire pour voir une différence dans la fluorescence et donc d'imaginer une limite de détection approximative pour la détection de tatouages effacés. La solution de révélation a été faite à partir du produit **2** à une concentration de 5 ppm.



Figure 4.10 Différence entre un milieu à 0,72 % (m/v) et un dessin à 2,4 % (m/v).

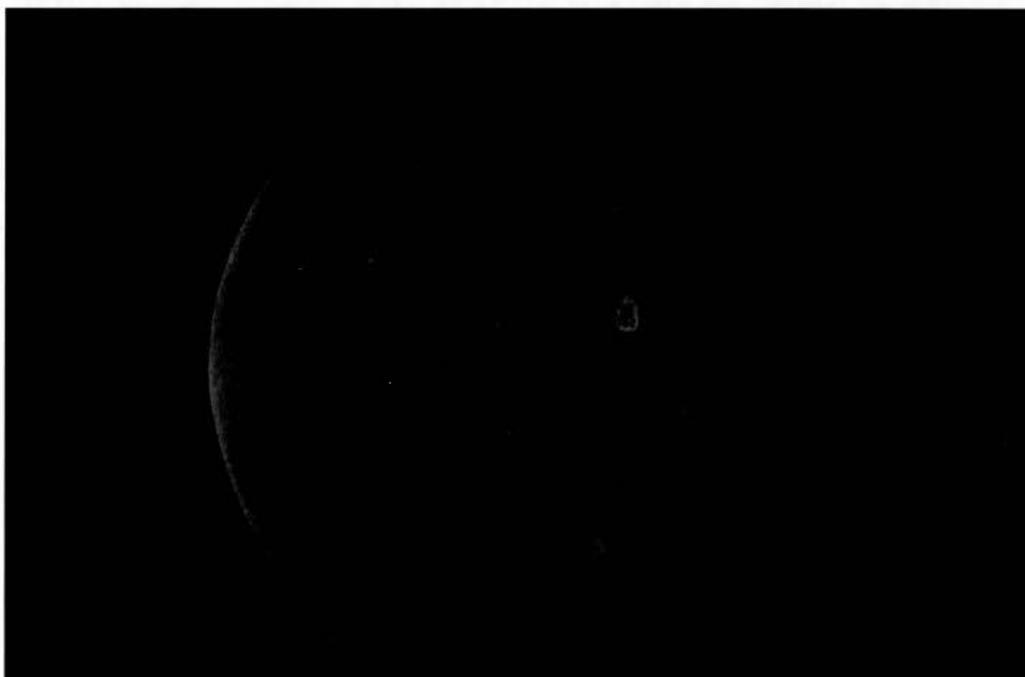


Figure 4.11 Différence entre un milieu à 0,72 % (m/v) et un dessin à 7,2 % (m/v).

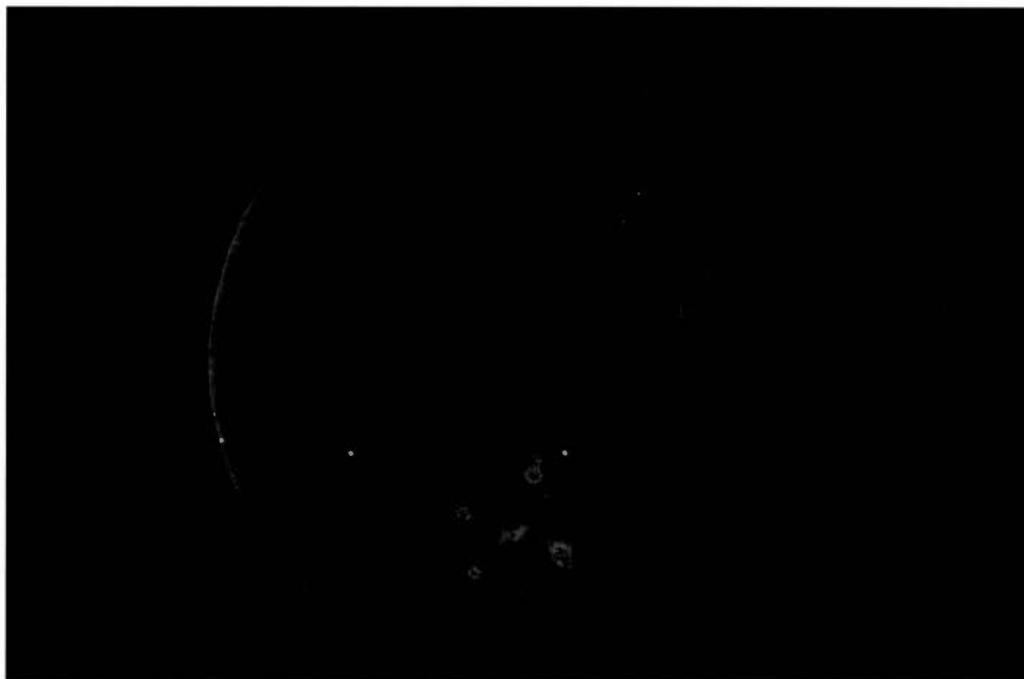


Figure 4.12 Différence entre un milieu à 0,72 % (m/v) et un dessin à 14,4 % (m/v).

Pour ce qui est du test avec une concentration de 2,4 % (m/v), il a une très faible différence de fluorescence entre le dessin de gélatine à 2,4 % (m/v) et le reste à 0,72 % (m/v). Cette différence est difficile à voir, mais elle est présente. Cependant, le colorant ne semble pas avoir plus d'affinité pour la section plus concentrée.

Pour le test à 7,2 % (m/v), le dessin est plus visible lorsqu'il n'y a pas de colorant. Le colorant semble avoir uniformisé la fluorescence des deux milieux. Néanmoins, il y a bien une différence dans l'intensité de fluorescence entre le milieu de forte concentration et celui de plus faible concentration.

Finalement pour le test à 14,4 % (m/v), la différence entre les deux milieux est visible facilement. Malgré cela, l'utilité de la solution colorante laisse à désirer puisque la séparation est plus nette entre le dessin et le fond aux endroits qui n'ont pas été révélés par le dérivé de curcumine.

En conclusion, l'affinité entre la gélatine de haute concentration et les dérivés de la curcumine améliore légèrement la révélation du patron de gélatine. La capacité des produits issus de la curcumine est donc intéressante pour ce projet, mais l'utilisation de ces colorants demande plus d'optimisation.

## CHAPITRE V

### CONCLUSION

#### 5.1 Tests sur les humains

Une fois l'optimisation de la méthode de révélation effectuée, les tests sur les humains pouvaient être envisagés. Dans ce but, une demande de certificat d'éthique a été remplie (Annexe C). Les tests sur les humains sont un point culminant pour la révélation de tatouage effacé, permettant de confirmer si la méthode de révélation à l'aide d'un colorant fluorescent dérivé de la curcumine pourrait fonctionner ou non. Pour ces tests, des personnes volontaires qui possèdent au moins un tatouage effacé sont nécessaires. Ce type de personne volontaire ne se trouve pas facilement. C'est malheureusement ce qui s'est produit dans le cadre de ce projet. Aucun volontaire n'a pu être trouvé selon la méthode de recherche dictée dans le certificat d'éthique dans le temps imparti pour ce travail.

#### 5.2 Conclusion du projet

Le projet visait à synthétiser un colorant inoffensif pour le vivant qui pourrait être utilisé pour révéler les tatouages effacés. Le curcuma a été étudié puisque c'est un colorant naturel consommé comme épice partout dans le monde, donc ne présentant pas de risque pour la santé. Il possédait donc les caractéristiques nécessaires à une utilisation sur le vivant. En partant de la curcumine, molécule principale du curcuma,

plusieurs dérivés ont été synthétisés. Par la suite, des tests d'activité antiproliférative, de fluorescence et d'application ont été effectués pour évaluer le colorant avec le plus grand potentiel. Les molécules **3**, **7** et **12** sont les plus prometteuses étant les moins toxiques. D'autre part, le produit **7** montre une fluorescence plus forte que les deux autres. Les tests de révélation à l'aide de gélatine; comme substitut peu onéreux du collagène, protéine cicatricielle majeure, ont démontré qu'il reste beaucoup de travail pour envisager la révélation optique différentielle de collagène sur des tatouages effacés. Des tests de révélation sur un tatouage effacé, après quelques travaux d'optimisation de la méthode, pourraient déterminer définitivement le vrai potentiel de révélation de ces produits. Le projet a permis d'obtenir une meilleure compréhension de la chimie de la curcumine et de ses dérivés ainsi qu'une panoplie de colorants pouvant possiblement servir à d'autres fins que la révélation de tatouages effacés.

### 5.3 Perspectives d'autres projets

Plusieurs projets futurs pourraient découler de ce projet. D'abord, la curcumine offre plusieurs sites réactionnels qui n'ont pas encore été utilisés, soit les liaisons doubles adjacentes aux cétones (des systèmes  $\alpha,\beta$ -insaturé) qui sont des accepteurs de Michael (Priyadarsini, 2014). Il y a également d'autres réactions possibles avec des halogénoalcanes différents sur les sites réactionnels déjà utilisés dans ce projet (phénol et 1,3-dicétone). Il y a donc une panoplie d'autres dérivés pouvant être synthétisés. De plus, les colorants initialement envisagés pour la révélation de tatouages effacés pourraient servir à d'autres types de révélations puisqu'ils sont peu onéreux et simples à synthétiser. Des projets futurs pourraient tester l'utilité de ces colorants à d'autres fins comme la révélation de traces digitales latentes.

## CHAPITRE VI

### PARTIE EXPÉRIMENTALE

#### 6.1 Remarques générales

Toutes les réactions ont été effectuées dans des solvants achetés chez Fisher ou Aldrich™ et ils étaient certifiés ACS (« American Chemical Society »). La majorité des solvants sont purifiés par des méthodes standards (Perrin et Armarego, 1988) et quelques-uns sont utilisés tels quels. La caractérisation des produits a été faite à l'aide de quatre types d'analyse : spectre infrarouge, spectre de résonance magnétique nucléaire (RMN), spectre de masse et point de fusion.

Les spectres infrarouges (IR) ont été enregistrés par un spectrophotomètre IR-TR Thermo Scientific Nicolet iS10™. Le produit ne nécessite pas de préparation préliminaire pour cet appareil.

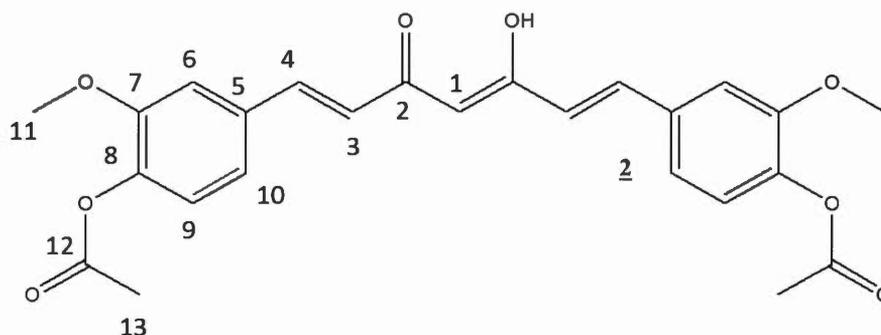
Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN-<sup>1</sup>H) et du carbone (RMN-<sup>13</sup>C) ont été obtenus à l'aide d'un appareil RMN 200 MHz de Varian™. Le chloroforme deutéré (CDCl<sub>3</sub>) a été utilisé comme seul solvant. La solution de CDCl<sub>3</sub> est composée de 0,2 % de CHCl<sub>3</sub> servant de référence interne pour évaluer les déplacements chimiques  $\delta$ , exprimés en partie par million (ppm). La multiplicité des spectres RMN-<sup>1</sup>H a été décrite par les abréviations suivantes : s (singulet), d (doublet), q (quadruplet), m (multiplet), #m (plusieurs multiplets) et massif.



RMN-<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 7,59 (2H, d, J=15,6 Hz, 4-CH), 7,21-6,78 (6H, m, 6-CH, 9-CH et 10-CH), 6,47 (2H, d, J=16 Hz, 3-CH), 5,83 (1H, s, 1-CH), 5,75 (1H, s, OH, vérifié par D<sub>2</sub>O), 3,94 (6H, s, 11-CH<sub>3</sub>)

RMN-<sup>13</sup>C (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 183,3 (C-2), 147,8 (C-7), 146,7 (C-8), 140,5 (C-4), 127,7 (C-5), 123,3 (C-9), 122,9 (C-3), 121,8 (C-10), 114,8 (C-6), 101,2 (C-1), 55,9 (C-11)

### 6.3 Synthèse du produit (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**2**)



La curcumine **1** (508 mg, 1,38 mmol) et l'anhydride acétique (0,38 mL, 3,7 mmol) sont dissous dans le dichlorométhane (6 mL) suivis par la pyridine (0,35 mL, 4,4 mmol). La solution est portée à reflux jusqu'à disparition du substrat de départ (soit environ deux heures). Le produit est agité encore 30 minutes le temps qu'il retourne à la température de la pièce. Les solvants sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif et d'une pompe à vide. Le produit est ensuite dilué dans le méthanol et filtré sur un verre fritté fin dans le but d'enlever les impuretés. Le solide est laissé dans un dessiccateur pendant 24 heures pour s'assurer qu'il ne reste pas d'eau. Cette réaction donne une masse de 472 mg pour un rendement de 76,4 %. Ce produit n'a pas nécessité de purification par chromatographie éclair puisque la CCM montrait une seule tache. Le produit a été caractérisé par RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, point de fusion,

spectre infrarouge et spectre de masse. Nous observons par spectroscopie RMN que la molécule est sous forme d'énol lorsque le système 1,3-dicarbonylé est intact.

PF: 154-157°C, littérature: 155-157°C (Liu, B. *et al.*, 2013)

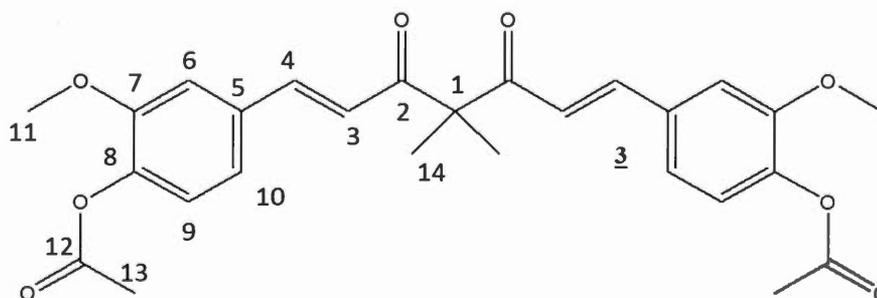
IR (ATR,  $\nu_{\max}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1751 (C=O, acétate), 1366 (C-O, acétate), disparition du pic à 3510 (C-OH, phénol)

RMN- $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 7,62 (2H, d,  $J=16$  Hz, 4-CH), 7,20-7,01 (6H, m, 6-CH, 9-CH et 10-CH), 6,56 (2H, d,  $J=15,7$  Hz, 3-CH), 5,85 (1H, s, 1-CH), 3,88 (6H, s, 11- $\text{CH}_3$ ), 2,33 (6H, s, 13- $\text{CH}_3$ )

RMN- $^{13}\text{C}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 183,1 (C-2), 168,8 (C-12), 151,4 (C-7), 141,3 (C-8), 139,9 (C-4), 133,9 (C-5), 124,3 (C-3), 123,3 (C-9), 121,1 (C-10), 111,4 (C-6), 101,8 (C-1), 55,9 (C-11), 20,7 (C-13)

SMHR (M + H) $^+$ : Calculée pour  $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{O}_8$  = 453,1544; trouvée = 453,1540

#### 6.4 Synthèse du produit (1E,6E)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**3**)



Le réactif **2** (136 mg, 0,30 mmol) et le carbonate de césium (256 mg, 0,79 mmol) sont dissous dans l'acétone (1 mL) suivis par l'iodométhane (0,1 mL, 0,7 mmol).

La solution est portée à reflux jusqu'à disparition du substrat de départ (soit 22 heures). Le produit est agité encore 30 minutes le temps qu'il retourne à la température de la pièce. La solution est filtrée sur un verre fritté, puis les solvants sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif et d'une pompe à vide. Le produit a été purifié par chromatographie éclair (hexane/acétone; 8/2). Cette réaction donne une masse de 105 mg pour un rendement de 82,6 %. Le produit **3** a été caractérisé par RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, point de fusion, spectre infrarouge et spectre de masse.

PF: 165-169°C, littérature: 160-163°C (Liu, B. *et al.*, 2013)

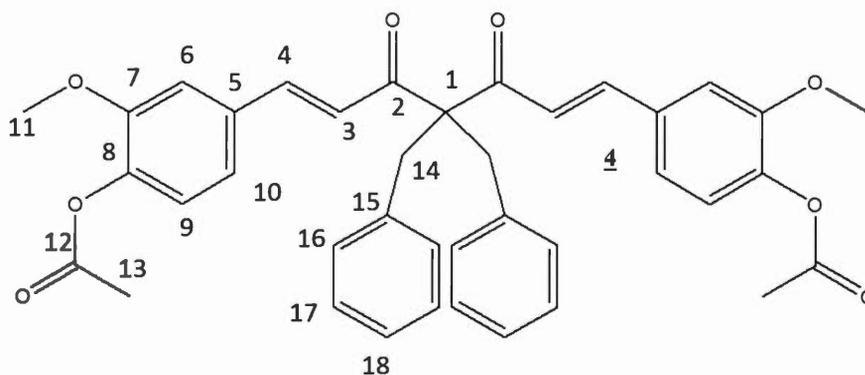
IR (ATR,  $\nu_{\max}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1753 (C=O, ester)

RMN-<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 7,66 (2H, d, J=15,7 Hz, 4-CH), 7,18-6,98 (6H, m, 6-CH, 9-CH et 10-CH), 6,69 (2H, d, J=15,6 Hz, 3-CH), 3,82 (6H, s, 11-CH<sub>3</sub>), 2,28 (6H, s, 13-CH<sub>3</sub>), 2.14 (acétone résiduelle), 1,46 (6H, s, 14-CH<sub>3</sub>)

RMN-<sup>13</sup>C (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 197,9 (C-2), 168,6 (C-12), 151,4 (C-7), 143,8 (C-8), 141,9 (C-4), 133,1 (C-5), 123,3 (C-9), 121,9 (C-10), 121,5 (C-3), 111,8 (C-6), 60,9 (C-1), 56,0 (C-11), 21,0 (C-14), 20,6 (C-13)

SMHR (M + H)<sup>+</sup>: Calculée pour C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>O<sub>8</sub> = 481,1857; trouvée = 481,1873

6.5 Synthèse du produit (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**4**)



Le réactif **2** (158 mg, 0,35 mmol) et le carbonate de césium (271 mg, 0,83 mmol) sont dissous dans l'acétone (2 mL) suivis par le bromobenzyle (0,1 mL, 0,6 mmol). La solution est portée à reflux jusqu'à disparition du substrat de départ (soit 23 heures). Le produit est agité encore 30 minutes le temps qu'il retourne à la température de la pièce. La solution est filtrée sur un verre fritté, puis les solvants sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif et d'une pompe à vide. Le produit a été purifié par chromatographie éclair (hexane/acétone; 8/2). Cette réaction donne une masse de 38 mg pour un rendement de 61 %. Le produit a été caractérisé par RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, point de fusion, spectre infrarouge et spectre de masse.

PF: 171-173°C, littérature: 178-179°C (Liu, B. *et al.*, 2013)

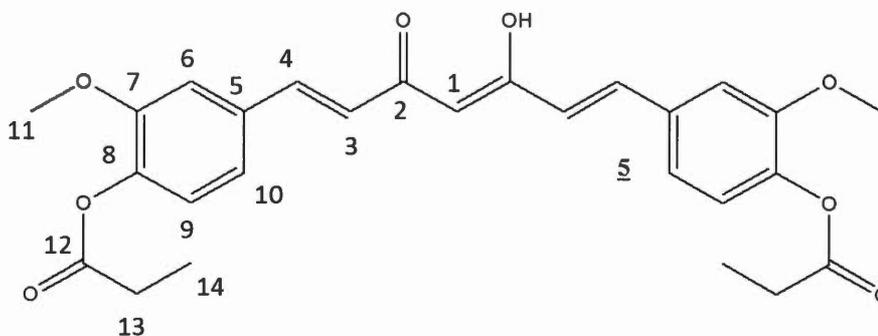
IR (ATR,  $\nu_{\max}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1759 (C=O, ester)

RMN-<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 7,67 (2H, d, J=15,2 Hz, 4-CH), 7,29-6,81 (16H, m, 6-CH, 9-CH, 10-CH, 16-CH, 17-CH et 18-CH), 6,52 (2H, d, J=15,6Hz, 3-CH), 3,81 (6H, s, 11-CH<sub>3</sub>), 3,38 (4H, s, 14-CH<sub>2</sub>), 2,29 (6H, s, 13-CH<sub>3</sub>), 2.16 (acétone résiduelle)

RMN-<sup>13</sup>C (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 196,7 (C-2), 168,7 (C-12), 151,4 (C-7), 143,1 (C-8), 141,9 (C-4), 136,3 (C-15), 133,1 (C-5), 130,5 (C-16), 128,2 (C-17), 126,8 (C-18), 123,3 (C-9 et C-10), 122,0 (C-3), 111,8 (C-6), 70,3 (C-1), 56,0 (C-11), 38,0 (C-14), 20,6 (C-13)

SMHR (M + H)<sup>+</sup>: Calculée pour C<sub>39</sub>H<sub>37</sub>O<sub>8</sub> = 633,2483; trouvée = 633,2482

### 6.6 Synthèse du produit (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**5**)



La curcumine **1** (253 mg, 0,69 mmol) et l'anhydride propanoïque (0,30 mL, 2,3 mmol) ont été dissous dans le dichlorométhane (3 mL). La pyridine (0,20 mL, 2,5 mmol) a été ajoutée au mélange et celui-ci a été mis à reflux jusqu'à disparition du substrat de départ (environ deux heures). Le produit est resté sous agitation à la température de la pièce 30 minutes. Les solvants ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif et d'une pompe à vide. Le solide a ensuite été dilué dans le méthanol et filtré sur un filtre fritté fin. Le solide a été mis dans un dessiccateur 24 heures pour s'assurer qu'il ne restait plus d'eau. Une masse de 153 mg a été obtenue pour un rendement de 46,8 %. Ce produit n'a pas nécessité de purification par chromatographie éclair puisque la CCM montrait une seule tache. Le produit a été caractérisé par RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, point de fusion, spectre infrarouge et spectre de masse.

PF: 123-125°C

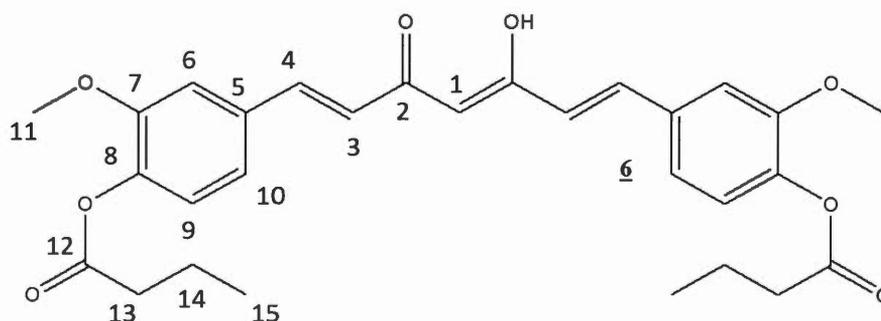
IR (ATR,  $\nu_{\max}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1752 (C=O, ester), 1353 (C-O, ester), disparition du pic à 3510 (O-H, phénol)

RMN- $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 7,62 (2H, d,  $J=15,7$  Hz, 4-CH), 7,23-6,98 (6H, m, 6-CH, 9-CH et 10-CH), 6,56 (2H, d,  $J=15,6$  Hz, 3-CH), 5,85 (1H, s, 1-CH), 3,88 (6H, s, 11- $\text{CH}_3$ ), 2,63 (4H, q,  $J=7,4$  Hz, 13- $\text{CH}_2$ ), 1,28 (6H, t,  $J=7,4$  Hz, 14- $\text{CH}_3$ )

RMN- $^{13}\text{C}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 183,1 (C-2), 172,3 (C-12), 151,4 (C-7), 141,4 (C-8), 139,9 (C-4), 133,8 (C-5), 124,2 (C-3), 123,3 (C-9), 121,1 (C-10), 111,4 (C-6), 101,8 (C-1), 55,9 (C-11), 27,4 (C-13), 9,1 (C-14)

SMHR (M + H) $^+$ : Calculée pour  $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{O}_8$  = 481,1857; trouvée = 481,1877

### 6.7 Synthèse du produit (1E,4Z,6E)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**6**)



La curcumine **1** (255 mg, 0,69 mmol) et l'anhydride butanoïque (0,35 mL, 2,2 mmol) sont dissous dans le dichlorométhane (4 mL) suivis par la pyridine (0,18 mL, 2,3 mmol). La solution est portée à reflux jusqu'à disparition du substrat de départ (soit environ deux heures). Le produit est agité encore 30 minutes le temps qu'il

retourne à la température de la pièce. Les solvants sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif et d'une pompe à vide. Le produit est ensuite dilué dans le méthanol et filtré sur un filtre fin. Les impuretés se retrouvent dans le filtrat de méthanol alors que le produit reste sur le filtre sous forme solide. Celui-ci est laissé dans un dessiccateur pendant 24 heures pour s'assurer qu'il ne reste pas d'eau. Cette réaction donne une masse de 158 mg pour un rendement de 45,8 %. Ce produit n'a pas nécessité de purification par chromatographie éclair puisque la CCM montrait une seule tache. Le produit a été caractérisé par RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, point de fusion, spectre infrarouge et spectre de masse.

PF: 126-127°C

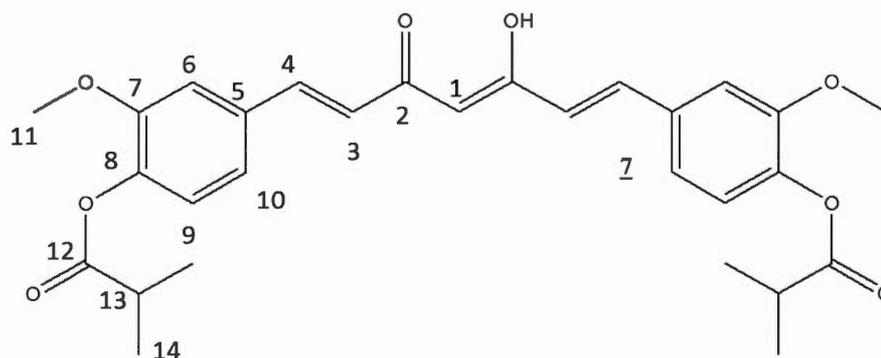
IR (ATR,  $\nu_{\max}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1752 (C=O, ester), 1323 (C-O, ester), disparition du pic à 3510 (C-OH, phénol)

RMN-<sup>1</sup>H (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 7,62 (2H, d,  $J=16,1$  Hz, 4-CH), 7,20-7,02 (6H, m, 6-CH, 9-CH et 10-CH), 6,56 (2H, d,  $J=16,1$  Hz, 3-CH), 5,85 (1H, s, 1-CH), 3,87 (6H, s, 11- $\text{CH}_3$ ), 2,58 (4H, q,  $J=7,4$  Hz, 13- $\text{CH}_2$ ), 1,81 (4H, t,  $J=7,0$  Hz, 14- $\text{CH}_2$ ), 1,06 (6H, t,  $J=7,0$  Hz, 14- $\text{CH}_3$ )

RMN-<sup>13</sup>C (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 183,1 (C-2), 171,5 (C-12), 151,4 (C-7), 141,4 (C-8), 140,0 (C-4), 133,8 (C-5), 124,2 (C-3), 123,3 (C-9), 121,1 (C-10), 111,4 (C-6), 101,8 (C-1), 55,9 (C-11), 35,9 (C-13), 18,5 (C-14), 13,6 (C-15)

SMHR (M + H)<sup>+</sup>: Calculée pour  $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{O}_8$  = 509,2170; trouvée = 509,2157

6.8 Synthèse du produit (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-iso-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**7**)



La curcumine **1** (252 mg, 0,68 mmol) et l'anhydride isobutanoïque (0,34 mL, 2,2 mmol) sont dissous dans le dichlorométhane (4 mL) suivis par la pyridine (0,17 mL, 2,2 mmol). La solution est portée à reflux jusqu'à disparition du substrat de départ (soit environ deux heures). Le produit est agité encore 30 minutes le temps qu'il retourne à la température de la pièce. Les solvants sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif et d'une pompe à vide. Le produit est ensuite dilué dans le méthanol et filtré sur un filtre fritté fin dans le but d'enlever les impuretés. Le solide est laissé dans un dessiccateur pendant 24 heures pour s'assurer qu'il ne reste pas d'eau. Cette réaction donne une masse de 232 mg pour un rendement de 67,2 %. Ce produit n'a pas nécessité de purification par chromatographie éclair puisque la CCM montrait une seule tache. Le produit a été caractérisé par RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, point de fusion, spectre infrarouge et spectre de masse.

PF: 132-134°C

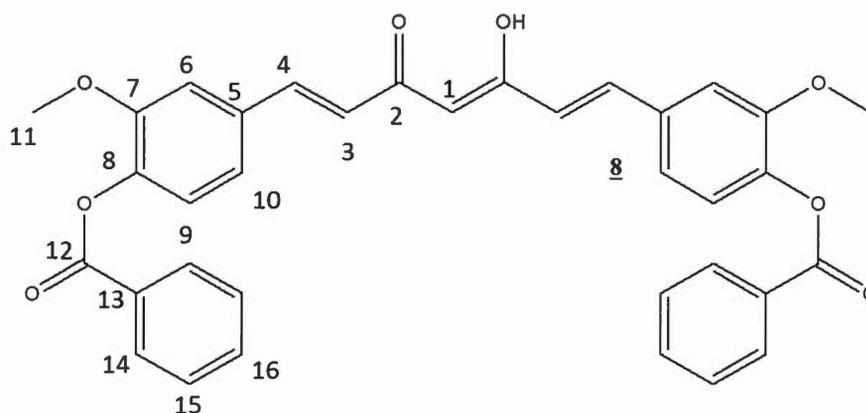
IR (ATR,  $\nu_{\max}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1752 (C=O, ester), 1350 (C-O, ester), disparition du pic à 3510 (C-OH, phénol)

RMN-<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 7,62 (2H, d, J=16,1 Hz, 4-CH), 7,22-7,00 (6H, m, 6-CH, 9-CH et 10-CH), 6,56 (2H, d, J=15,7 Hz, 3-CH), 5,85 (1H, s, 1-CH), 3.86 (6H, s, 11-CH<sub>3</sub>), 2,85 (2H, septuplet, 13-CH), 1.33 (12H, d, J=7,1 Hz, 14-CH<sub>3</sub>)

RMN-<sup>13</sup>C (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 183,1 (C-2), 175,0 (C-12), 151,5 (C-7), 141,6 (C-4), 140,0 (C-8), 133,8 (C-5), 124,1 (C-3), 123,2 (C-9), 121,1 (C-10), 111,5 (C-6), 101,8 (C-1), 55,9 (C-11), 34,0 (C-13), 19,0 (C-14)

SMHR (M + H)<sup>+</sup>: Calculée pour C<sub>29</sub>H<sub>33</sub>O<sub>8</sub> = 509,2170; trouvée = 509,2197

### 6.9 Synthèse du produit (1E,4Z,6E)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoïloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**8**)



La curcumine **1** (512 mg, 1,39 mmol) et l'anhydride benzoïque (1,00 g, 4,5 mmol) sont dissous dans le dichlorométhane (7 mL) suivis par la pyridine (0,35 mL, 4,4 mmol). La solution est portée à reflux jusqu'à disparition du substrat de départ (soit environ deux heures). Le produit est agité encore 30 minutes le temps qu'il retourne à la température de la pièce. Les solvants sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif et d'une pompe à vide. Le produit est ensuite dilué dans le méthanol et filtré sur un filtre fritté fin dans le but d'enlever les impuretés. Le solide est laissé dans un dessiccateur pendant 24 heures pour s'assurer qu'il ne reste pas d'eau. Cette réaction

donne une masse de 513 mg pour un rendement de 65,6 %. Ce produit n'a pas nécessité de purification par chromatographie éclair puisque la CCM montrait une seule tache. Le produit a été caractérisé par RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, point de fusion, spectre infrarouge et spectre de masse.

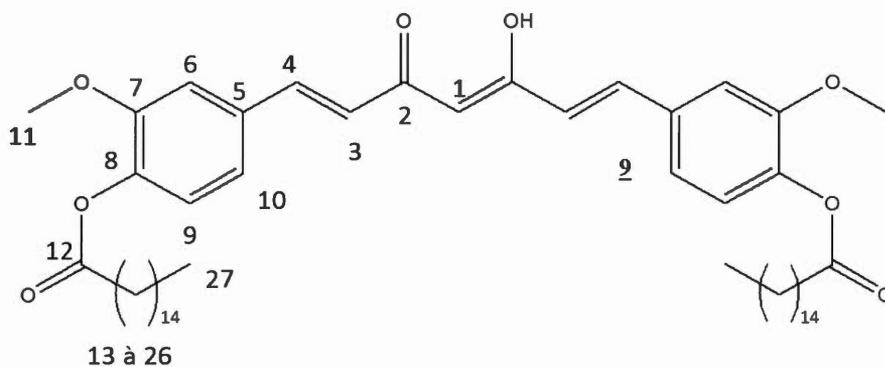
PF: 150-153°C

IR (ATR,  $\nu_{\max}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1731 (C=O, ester), disparition du pic à 3510 (C-OH, phénol)

RMN-<sup>1</sup>H (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 8,22 (4H, d,  $J=8,6$  Hz, 14-CH), 7,74-7,46 (8H, m, 4-CH, 15-CH et 16-CH), 7,29-6,85 (6H, m, 6-CH, 9-CH et 10-CH), 6,60 (2H, d,  $J=15,6$  Hz, 3-CH), 5,89 (1H, s, 1-CH), 3,87 (6H, s, 11-CH<sub>3</sub>)

RMN-<sup>13</sup>C (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 183,1 (C-2), 171,7 (C-12), 164,6 (C-13), 151,7 (C-7), 141,6 (C-4), 140,1 (C-8), 133,8 (C-15), 130,3 (C-16), 129,3 (C-5), 128,5 (C-14), 124,3 (C-3), 123,4 (C-9), 121,2 (C-10), 111,6 (C-6), 102,1 (C-1), 55,9 (C-11)

6.10 Synthèse du produit (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**9**)



La curcumine **1** (250 mg, 0,68 mmol) et le chlorure d'hexadécanoyle (620 mg, 2,3 mmol) sont dissous dans le dichlorométhane (3 mL) suivi par la pyridine (0,164 mL, 2,1 mmol). La solution est portée à reflux jusqu'à disparition du substrat de départ (soit environ trois heures). Le produit est agité encore 30 minutes le temps qu'il retourne à la température de la pièce. Les solvants sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif et d'une pompe à vide. Le produit est ensuite dilué dans le méthanol et filtré sur verre fritté fin dans le but d'enlever les impuretés. Le solide est laissé dans un dessiccateur pendant 24 heures pour s'assurer qu'il ne reste pas d'eau. Le produit a été purifié par chromatographie éclair (hexane/acétone; 8/2). Cette réaction donne une masse de 0,574 g pour un rendement de 90 %. Le produit a été caractérisé par RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, point de fusion, spectre infrarouge et spectre de masse.

PF: 76-80°C

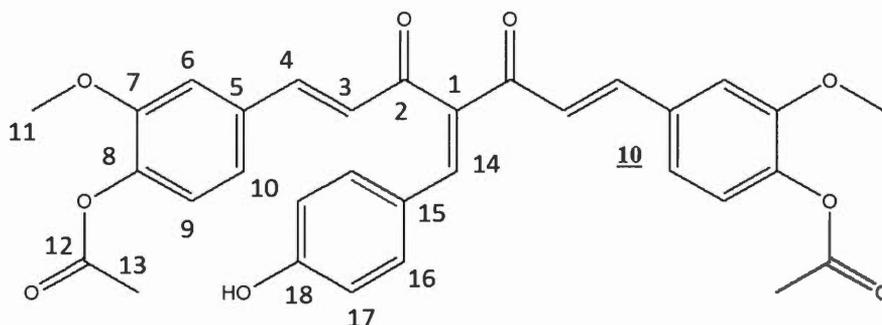
IR (ATR,  $\nu_{\max}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1763 (C=O, ester), disparition du pic à 3510 (C-OH, phénol)

RMN-<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 7,63 (2H, d, J=15,7 Hz, 4-CH), 7,20-7,01 (6H, m, 6-CH, 9-CH et 10-CH), 6,56 (2H, d, J=16,1 Hz, 3-CH), 5,85 (1H, s, 1-CH), 3,87 (6H, s, 11-CH<sub>3</sub>), 2,58 (4H, t, J=7,5 Hz, 13-CH<sub>2</sub>), 1,83-1,68 (4H, m, 14-CH<sub>2</sub>), 1,26 (48H, sl, 15-CH<sub>2</sub> à 26-CH<sub>2</sub>), 0,88 (6H, t, J=6,6 Hz, 27-CH<sub>3</sub>)

RMN-<sup>13</sup>C (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 183,1 (C-2), 171,7 (C-12), 151,5 (C-7), 141,5 (C-8), 140,0 (C-4), 133,8 (C-5), 124,2 (C-3), 123,3 (C-9), 121,1 (C-10), 111,4 (C-6), 55,9 (C-11), 34,0 (C-13), 31,9 (C-25), 29,7 (C-15-24), 24,9 (C-14), 22,7 (C-26), 14,1 (C-27)

SMHR (M + H)<sup>+</sup>: Calculée pour C<sub>53</sub>H<sub>81</sub>O<sub>8</sub> = 845,5926; trouvée = 845,5994

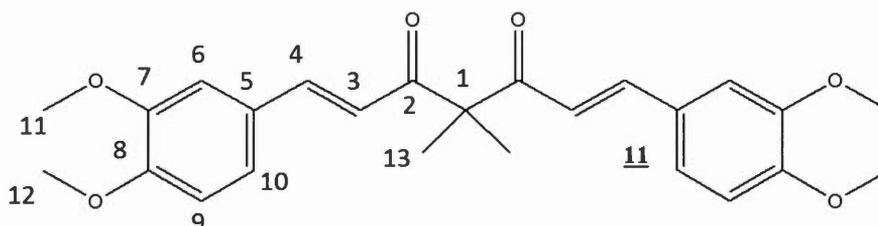
6.11 Synthèse du produit (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4-(4-hydroxy-benzylidène)-1,6-heptadièn-3,5-dione (**10b**)



Le réactif **2** (252 mg, 0,55 mmol) est solubilisé dans le toluène (25 mL). La pipéridine (0,007 mL, 0,07 mmol) et le 4-hydroxybenzaldéhyde (139 mg, 1,14 mmol) sont ensuite ajoutés à la solution. Celle-ci est portée à reflux dans un montage Dean-Stark jusqu'à disparition du substrat de départ (soit 46 heures). Le produit est agité encore 30 minutes le temps qu'il retourne à la température de la pièce. Le produit est extrait avec un mélange d'éther/dichlorométhane et de l'eau. Un peu de HCl 1 % est ajouté pour aider l'extraction. La phase organique est récupérée. Elle est ensuite séchée à l'aide du  $\text{MgSO}_4$ , filtrée sur un verre fritté puis évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif et d'une pompe à vide. Cette réaction donne une masse solide de 36 mg pour un rendement de 12 %. Ce rendement est plus grand que sa valeur réelle puisqu'il restait de l'acétone dans le produit. Le produit a été caractérisé par RMN- $^1\text{H}$  seulement parce qu'il se dégrade.

RMN- $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 7,82 (1H, s, 14-CH), 7,68 (2H, d,  $J=15,7$  Hz, 4-CH), 7,62-7,26 (4H, m, 9-CH, 16-CH), 7,22-6,62 (8H, m, 6-CH, 10-CH, 17-CH, 3-CH), 3,8 (6H, s, 11- $\text{CH}_3$ ), 2,31 (6H, s, 13- $\text{CH}_3$ ), 2,14 (acétone résiduelle)

6.12 Synthèse du produit (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**11**)



La curcumine **1** (103 mg, 0,28 mmol) et le carbonate de césium (231 mg, 0,71 mmol) sont dissous dans l'acétone (1 mL) suivis par l'iodométhane (0,1 mL, 0,7 mmol). La solution est portée à reflux jusqu'à disparition du substrat de départ (soit 24 heures). Le produit est agité encore 30 minutes le temps qu'il retourne à la température de la pièce. La solution est filtrée sur un verre fritté, puis les solvants sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif et d'une pompe à vide. Le produit a été purifié par chromatographie éclair (hexane/acétone; 9/1). Cette réaction donne une masse de 95 mg pour un rendement de 83 %. Le produit a été caractérisé par RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, point de fusion, spectre infrarouge et spectre de masse.

PF: 105-109°C

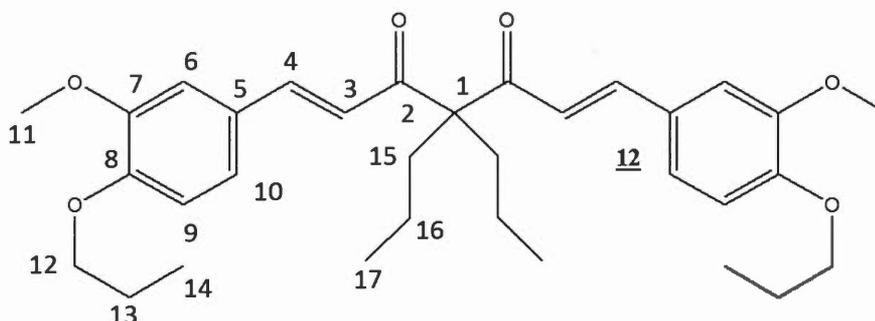
IR (ATR,  $\nu_{\max}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1254 (C-O, éther), disparition du pic à 3510 (C-OH, phénol)

RMN-<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 7,67 (2H, d, J=15,7 Hz, 4-CH), 7,08 (2H, d, J=7,9 Hz, 10-CH), 6,99 (2H, s, 6-CH), 6,81 (2H, d, J=8,2 Hz, 9-CH), 6,63 (2H, d, J=15,2 Hz, 3-CH), 3,87 (12H, s, 11-CH<sub>3</sub> et 12-CH<sub>3</sub>), 1,46 (6H, s, 13-CH<sub>3</sub>)

RMN-<sup>13</sup>C (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 198,1 (C-2), 151,7 (C-7), 149,2 (C-8), 144,3 (C-4), 127,2 (C-5), 123,6 (C-9), 119,4 (C-3), 111,0 (C-10), 110,0 (C-6), 60,8 (C-1), 56,0 (C-11 et C-12), 21,2 (C-13)

SMHR (M + H)<sup>+</sup>: Calculée pour C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>O<sub>6</sub> = 425,1959; trouvée = 425,1979

6.13 Synthèse du produit (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**12**)



La curcumine **1** (209 mg, 0,57 mmol) et le carbonate de césium (440 mg, 1,4 mmol) sont dissous dans l'acétone (5 mL) suivis par l'iodopropane (0,25 mL, 1,5 mmol). La solution est portée à reflux jusqu'à disparition du substrat de départ (soit 20 heures). Le produit est agité encore 30 minutes le temps qu'il refroidisse à la température de la pièce. La solution est filtrée sur un verre fritté, puis les solvants sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif et d'une pompe à vide. Le produit a été purifié par chromatographie éclair (hexane/acétone; 9,5/0,5). Cette réaction donne une masse de 89 mg pour un rendement de 37 %. Le produit a été caractérisé par RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, point de fusion, spectre infrarouge et spectre de masse.

PF: 120-125°C

IR (ATR,  $\nu_{\max}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1255 (C-O, éther), disparition du pic à 3510 (C-OH, phénol)

RMN-<sup>1</sup>H (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 7,67 (2H, d,  $J=15,7$  Hz, 4-CH), 7,08 (2H, d,  $J=7,9$  Hz, 10-CH), 6,99 (2H, s, 6-CH), 6,81 (2H, d,  $J=8,2$  Hz, 9-CH), 6,63 (2H, d,  $J=15,2$  Hz, 3-CH), 3,98 (4H, t,  $J=6,7$  Hz, 12- $\text{CH}_2$ ), 3,87 (6H, s, 11- $\text{CH}_3$ ), 2,08-1,91 (4H, m, 15- $\text{CH}_2$ ), 1,89-1,76 (4H, sextuplet,  $J=7,0$  Hz, 13-CH), 1,20-0,75 (16H, m, 14- $\text{CH}_3$ , 16- $\text{CH}_2$  et 17- $\text{CH}_3$ )

RMN-<sup>13</sup>C (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 197,9 (C-2), 151,3 (C-7), 149,5 (C-8), 143,0 (C-4), 127,0 (C-5), 123,6 (C-9), 119,6 (C-3), 112,3 (C-10), 110,7 (C-6), 70,4 (C-12), 68,4 (C-1), 56,2 (C-11), 31,9 (C-15), 22,3 (C-13), 16,8 (C-16), 14,7 (C-17), 10,4 (C-14)

SMHR (M + H)<sup>+</sup>: Calculée pour C<sub>33</sub>H<sub>45</sub>O<sub>6</sub> = 537,3211; trouvée = 537,3196

#### 6.14 Test de prolifération cellulaire

Les cellules de la peau (HaCat) sont placées dans des plaques à microtitration de 96 puits. Les molécules à tester (les dérivées de la curcumine) sont placées dans ces mêmes puits à différentes concentrations soit 5,00 x 10<sup>-5</sup> M, 2,50 x 10<sup>-5</sup> M, 1,25 x 10<sup>-5</sup> M, 6,25 x 10<sup>-6</sup> M, 3,13 x 10<sup>-6</sup> M, 1,56 x 10<sup>-6</sup> M et 7,81 x 10<sup>-7</sup> M. Les plaques sont incubées pendant 72 heures. Ensuite, les protéines des cellules présentes dans les puits des plaques à microtitration sont fixées par l'ajout d'une solution aqueuse d'acide trichloroacétique (10 % v/v) pendant 30 minutes à 4°C. Une solution de SRB à 0,1 % m/v dans de l'acide acétique aqueux 1 % est alors ajoutée à chacun des puits. Les plaques sont incubées à la température de la pièce pendant 15 minutes. Le SRB non lié aux cellules est éliminé par 5 lavages des puits avec une solution d'acide acétique à 1 %. La SRB fixée aux cellules est alors solubilisée par l'addition d'une solution de tris basique (10 mM). Finalement, l'absorbance de la solution est mesurée avec un lecteur ELISA à 570 nm (Perron, 2001) et les données sont analysées sous forme de graphiques.

Le processus est répété pour les cellules cancéreuses soit celles du cancer de la prostate (DU-145), du cancer des ovaires (SKOV3), des cellules du cancer du sein humain hormono-dépendantes (MCF-7) et hormono-indépendantes (MDA-MB-231).

### 6.15 Tests de solubilité des dérivés de la curcumine

Chaque dérivé de la curcumine ( $10,0 \pm 0,1$  mg) a été solubilisé dans 100 mL d'alcool à friction (70 % isopropanol et 30 % eau). Cette solution de 100 ppm a servi de solution mère pour obtenir les solutions de 50, 25, 10 et 5 ppm. Pour le produit **9**, la solution mère a été chauffée légèrement avec un « heat gun » pour mieux solubiliser le produit.

Tableau 6.1

Préparations des solutions colorantes des dérivés de la curcumine à partir de la solution mère

<b>Solution mère (mL)</b>	<b>Alcool à friction (mL)</b>	<b>Concentration finale (ppm)</b>
<b>10</b>	10	50
<b>5</b>	15	25
<b>2</b>	18	10
<b>1</b>	19	5

### 6.16 Tests de fluorescence des dérivés de la curcumine

Chaque dérivé de la curcumine (paragraphe 6.15) a été solubilisé dans 100 mL d'alcool à friction pour obtenir des solutions de 100 ppm. Les solutions ont été testées dans un spectrofluorimètre préalablement calibré avec de l'alcool à friction sans additif. Les fenêtres d'ouverture d'excitation et d'émission étaient fixées à 10 mm. Ces fenêtres ont dû être ajustées à 5 mm pour certains dérivés. Un premier balayage était fait entre 200 et 450 nm en excitation avec une lecture d'émission à 400 nm. Puis, un balayage était fait entre 400 et 600 nm en émission avec une lecture d'excitation au maxima de la lecture précédente. Ces deux étapes ont été répétées jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de changements dans les valeurs des maxima.

Une dernière lecture en excitation et en émission a été faite pour chaque dérivé de la curcumine avec ses valeurs de maxima pour évaluer l'intensité de fluorescence des produits.

#### 6.17 Tests d'application des solutions colorantes

Préparer une solution colorante de 100 ppm d'alcool à friction avec le produit **2** (paragraphe 6.15) pour tester les différentes méthodes d'application. Verser un peu de solution dans un bécher assez large pour y tremper l'éponge, le rouleau en mousse ou bien le tampon d'encre à base d'alcool. Dans tous les cas, laisser égoutter l'applicateur pour enlever le surplus de liquide. Par la suite, l'applicateur est appuyé sur un papier filtre de type No.1 de 18,5 cm de diamètre pendant quelques secondes, puis à un autre endroit pour faire une première déplétion. Continuer jusqu'à 9 déplétions pour un total de 10 taches colorées sur le papier-filtre.

#### 6.18 Tests de fluorescence des taches de colorant sur papier-filtre

Préparer une solution colorante de 100 ppm d'alcool à friction avec le produit **2** (paragraphe 6.15). À partir de la solution de 100 ppm, préparer des solutions de 5, 10 et 50 ppm (Tableau 6.1). Tremper le tampon d'encre à base d'alcool dans la solution de 5 ppm, puis effectuer trois déplétions sur un papier filtre de type No.1 de 18,5 cm de diamètre. Changer le tampon, puis recommencer avec la solution de 10 ppm. Faire 3 déplétions sur le même papier filtre que celles de 5 ppm de façon à pouvoir les comparer. Recommencer à nouveau avec la solution de 50 ppm sur le même papier filtre que celles de 5 et 10 ppm de façon à pouvoir les comparer. Laisser sécher. Dans la chambre noire, mettre les lunettes de protection jaune (filtre passe-haut de 495 nm). Éclairer le papier filtre à l'aide d'une lampe judiciaire à une longueur d'onde de 440 nm. Prendre une photographie du papier filtre avec un filtre passe-haut de 495 nm. La photographie est prise avec une focale de F/20, une sensibilité ISO de 200 ainsi qu'un temps d'exposition de 2,5 secondes.

### 6.19 Tests de variation de fluorescence causée par un substrat gélatineux

Solubiliser 7,2 g de gélatine dans 50 mL d'eau distillée. Ajouter 50 mL d'eau distillée bouillante et agiter. Tremper légèrement une estampe dans la solution, puis éponger rapidement sur un papier filtre pour enlever le surplus de gélatine. Appuyer ensuite pendant quelques secondes sur le papier filtre pour former le dessin. Appuyer à un autre endroit sur le papier filtre pour faire une déplétion. Répéter pour avoir trois dessins. Accrocher le papier filtre sur une corde pour empêcher tout contact avec la gélatine avant qu'elle ne sèche. Laisser sécher 10 minutes. Pendant le séchage, préparer une solution de 5 ppm de colorant à base du produit 2 (Tableau 6.1). Tremper le tampon d'encre à base d'alcool dans la solution de 5 ppm, puis appliquer légèrement sur les dessins de gélatine. Laisser sécher.

Dans la chambre noire, éclairer le papier filtre à l'aide d'une lampe judiciaire d'une lumière blanche. Prendre une photographie avec une focale de F/20, une sensibilité ISO de 200 ainsi qu'un temps d'exposition de 1/500 de seconde. Mettre les lunettes de protection jaune (filtre passe-haut de 495 nm). Éclairer le papier filtre à l'aide d'une lampe judiciaire à une longueur d'onde de 400 nm. Prendre une photographie du papier filtre avec un filtre passe-haut de 495 nm. La photographie est prise avec une focale de F/20, une sensibilité ISO de 200 ainsi qu'un temps d'exposition de 2,5 secondes. Dans les deux cas, la lumière était positionnée avec un angle d'environ 60 degrés par rapport à la surface de travail.

### 6.20 Fluorescence de la gélatine sans solution colorante

Préparer trois solutions de gélatine à différentes concentrations, soit 2,4 % (m/v), 7,2 % (m/v) et 14,4 % (m/v). Pour chaque solution, solubiliser la gélatine dans l'eau distillée. Ajouter l'eau distillée bouillante et agiter. Tremper légèrement une estampe dans la solution, puis éponger rapidement sur un papier filtre pour enlever le surplus

de gélatine. Appuyer ensuite pendant quelques secondes sur le papier filtre pour former le dessin. Nettoyer l'estampe pour la prochaine application.

Tableau 6.2

Préparations des solutions de gélatine à différentes concentrations

Gélatine (g)	Eau distillée (mL)	Eau distillée bouillante (mL)	Concentration finale (% m/v)
2,4	50	50	2,4
7,2	50	50	7,2
7,2	25	25	14,4

Accrocher le papier filtre sur une corde pour empêcher tout contact avec la gélatine avant qu'elle ne sèche. Laisser sécher 10 minutes. Dans la chambre noire, mettre les lunettes de protection jaune (filtre passe-haut de 495 nm). Éclairer le papier filtre à l'aide d'une lampe judiciaire à une longueur d'onde de 400 nm. Prendre une photographie du papier filtre avec un filtre passe-haut de 495 nm. La photographie est prise avec une focale de F/20, une sensibilité ISO de 200 ainsi qu'un temps d'exposition de 2,5 secondes.

#### 6.21 Fluorescence entre deux milieux avec des concentrations de gélatine différentes

Solubiliser 720 mg de gélatine dans 50 mL d'eau distillée, puis ajouter 50 mL d'eau distillée bouillante. Agiter pour obtenir une solution uniforme, puis tremper trois papiers-filtres un à la fois dans la solution. Laisser sécher les papiers-filtres pendant 1 heure.

Préparer des solutions de gélatine de 2,4 % (m/v), 7,2 % (m/v) et 14,4 % m/v (Tableau 6.2). Tremper légèrement une estampe dans la solution de 2,4 % (m/v), puis étancher rapidement sur un papier filtre pour enlever le surplus de gélatine. Appuyer ensuite pendant quelques secondes sur le papier filtre précédemment imbibé de

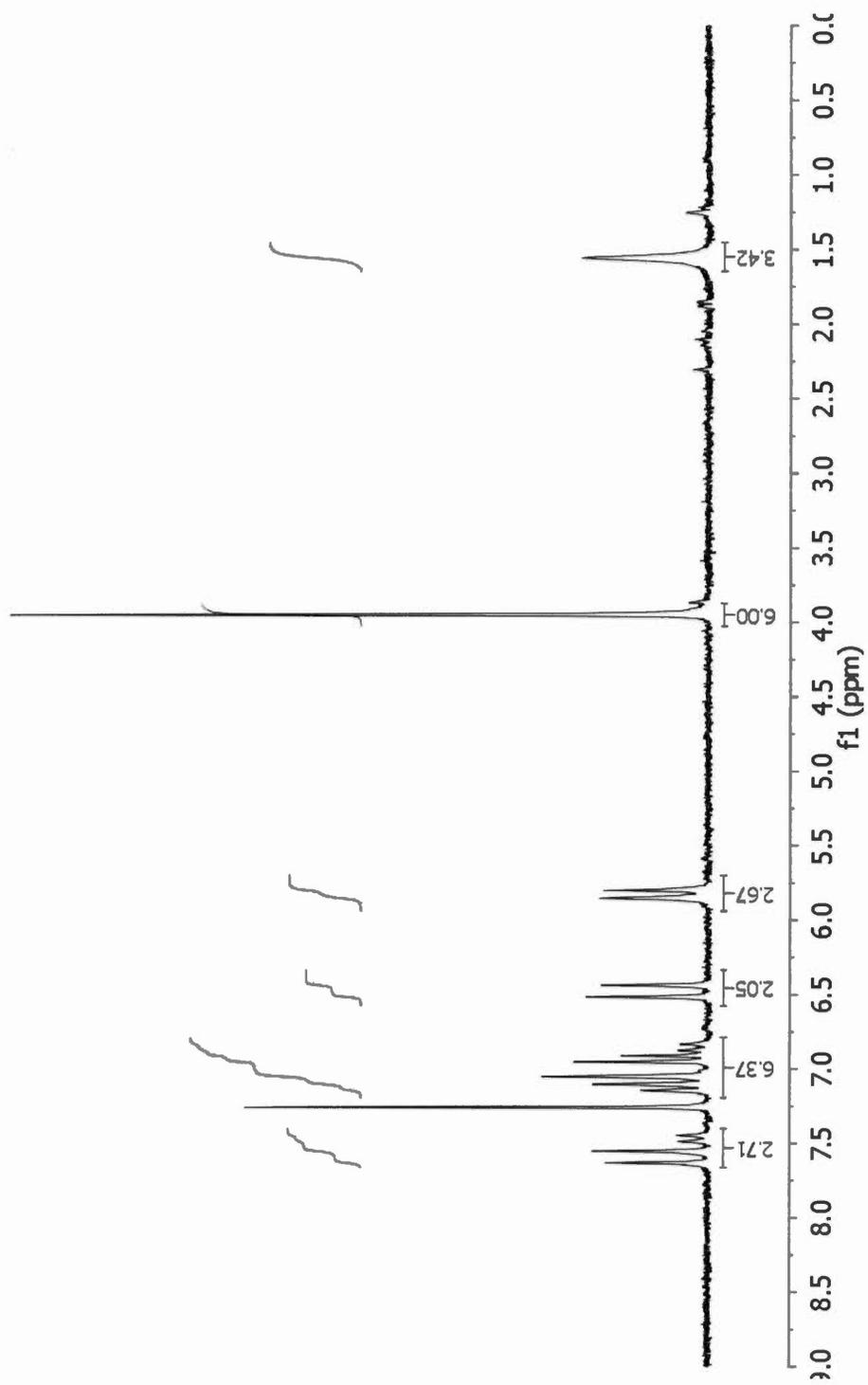
gélatine à 0,72 % (m/v) pour former le dessin. Appuyer à un autre endroit sur le papier filtre pour faire une déplétion. Répéter pour avoir trois dessins. Accrocher le papier filtre sur une corde pour empêcher tout contact avec la gélatine avant qu'elle ne sèche. Laisser sécher 10 minutes. Pendant le séchage, préparer une solution de 5 ppm de colorant à base du produit 2 (Tableau 6.1). Tremper le tampon d'encre à base d'alcool dans la solution de 5 ppm, puis appliquer légèrement sur les dessins de gélatine. Laisser sécher. Répéter pour chaque solution de gélatine.

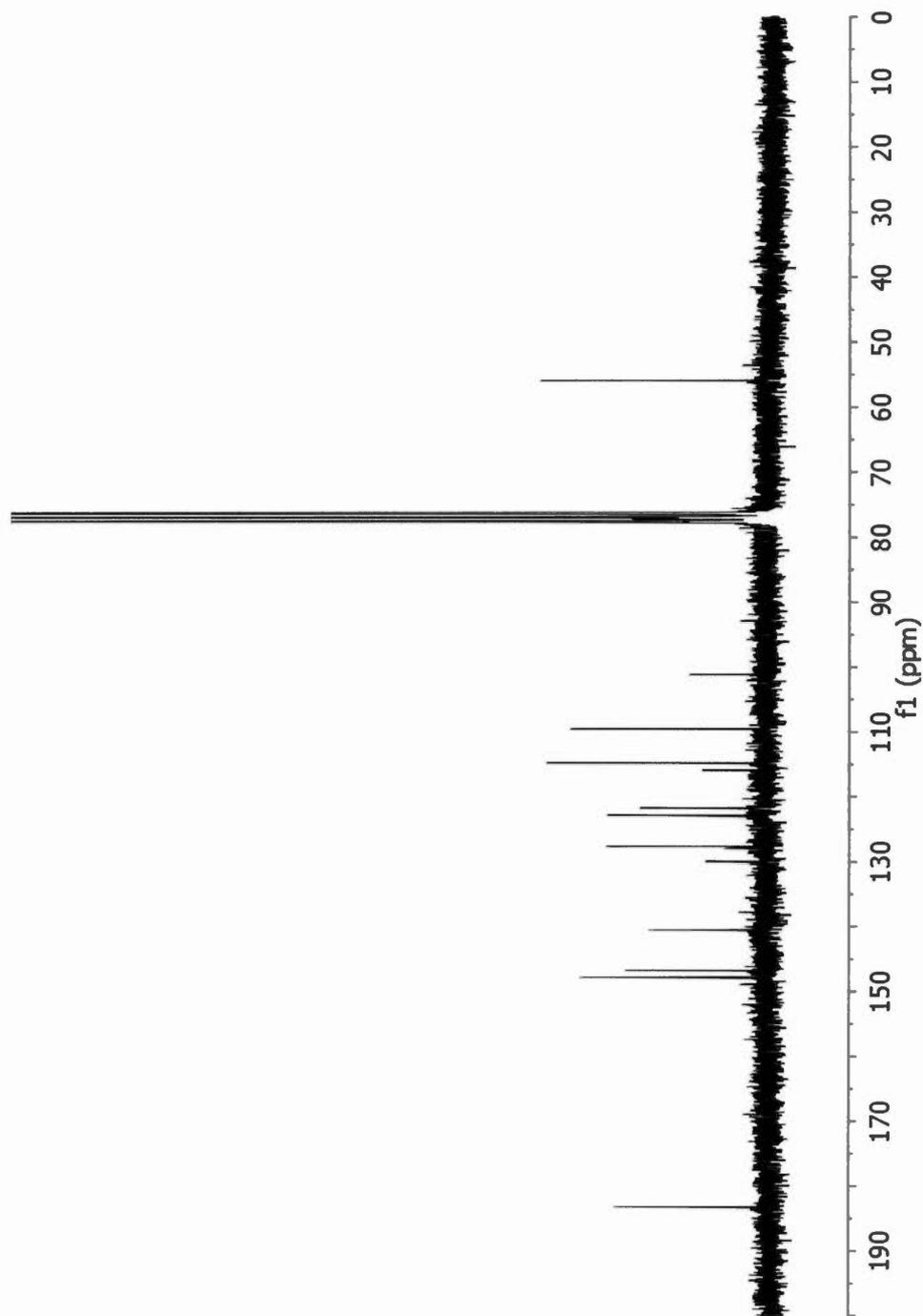
Dans la chambre noire, mettre les lunettes de protection jaune (filtre passe-haut de 495 nm). Éclairer le papier filtre à l'aide d'une lampe judiciaire à une longueur d'onde de 400 nm. Prendre une photographie du papier filtre avec un filtre passe-haut de 495 nm. La photographie est prise avec une focale de F/20, une sensibilité ISO de 200 ainsi qu'un temps d'exposition de 2,5 secondes. Répéter pour chaque papier filtre.

## ANNEXE A

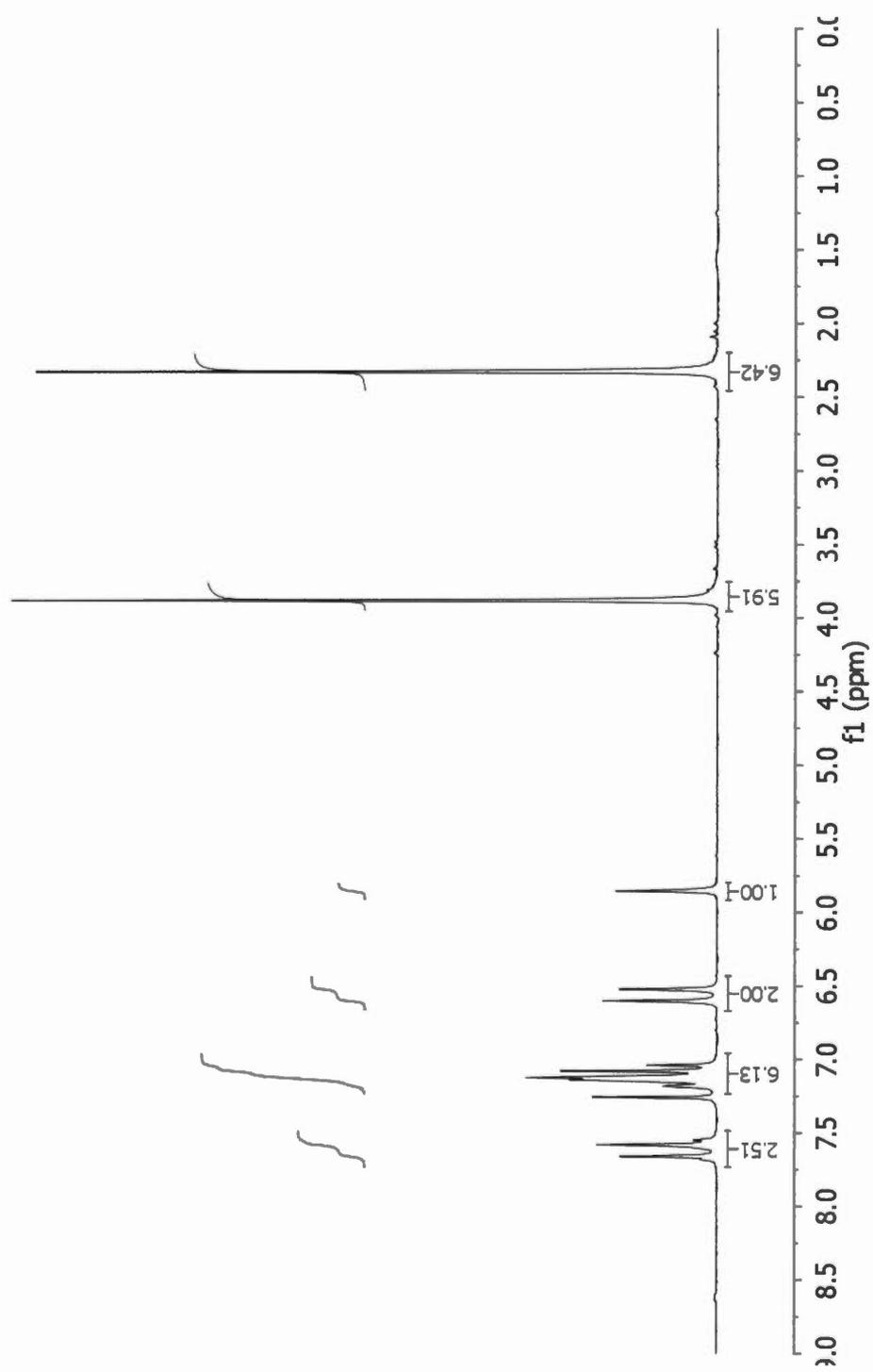
### SPECTRES RMN-<sup>1</sup>H ET RMN-<sup>13</sup>C

Les spectres RMN-<sup>1</sup>H et RMN-<sup>13</sup>C sont présentés selon l'ordre de leur parution dans le texte. Tous les spectres des produits analysés ont été enregistrés dans le chloroforme deutéré.

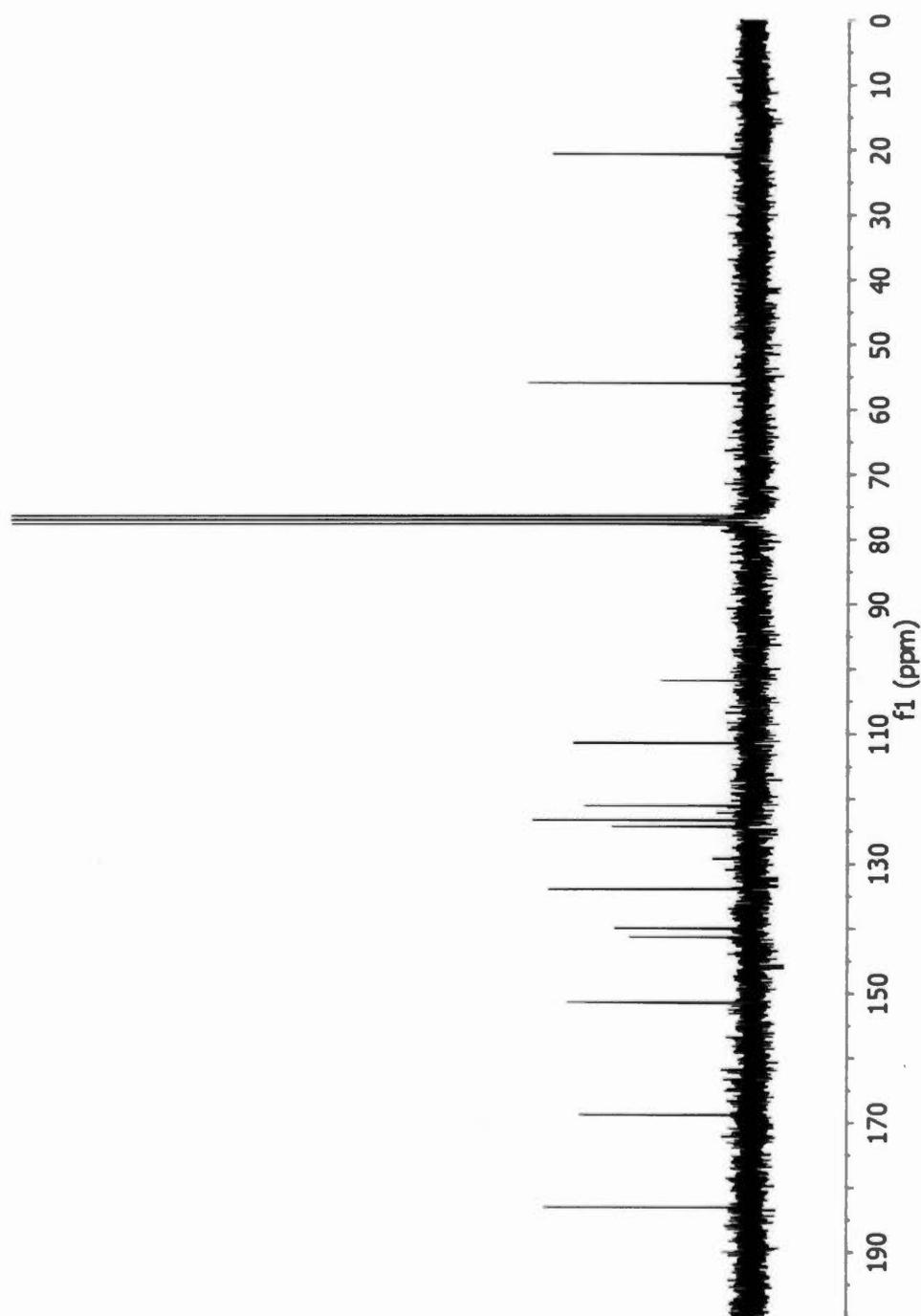
Spectre A.1 RMN-<sup>1</sup>H de la curcumine (1)

Spectre A.2 RMN-<sup>13</sup>C de la curcumine (1)

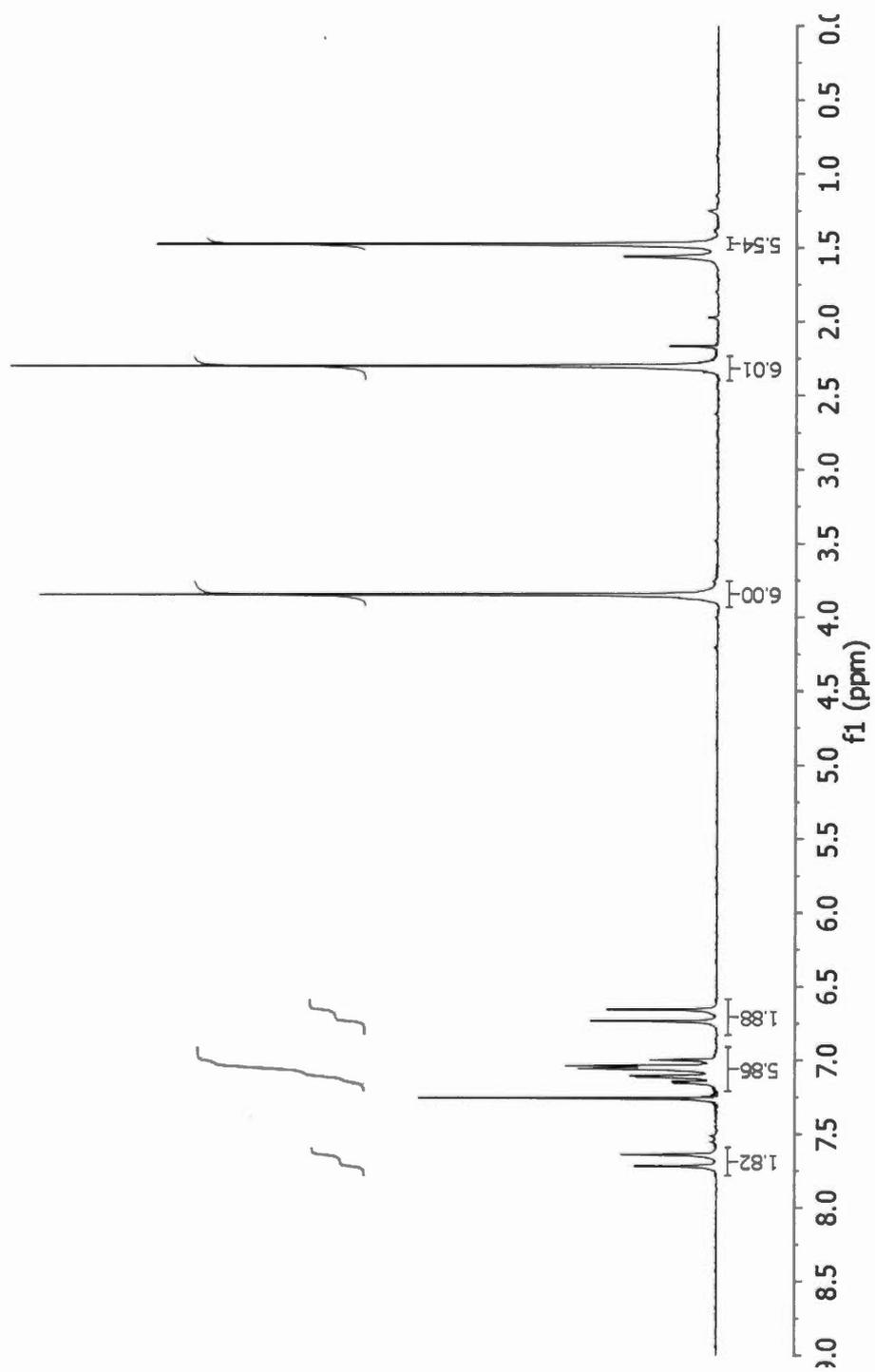
Spectre A.3 RMN-<sup>1</sup>H de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**2**)



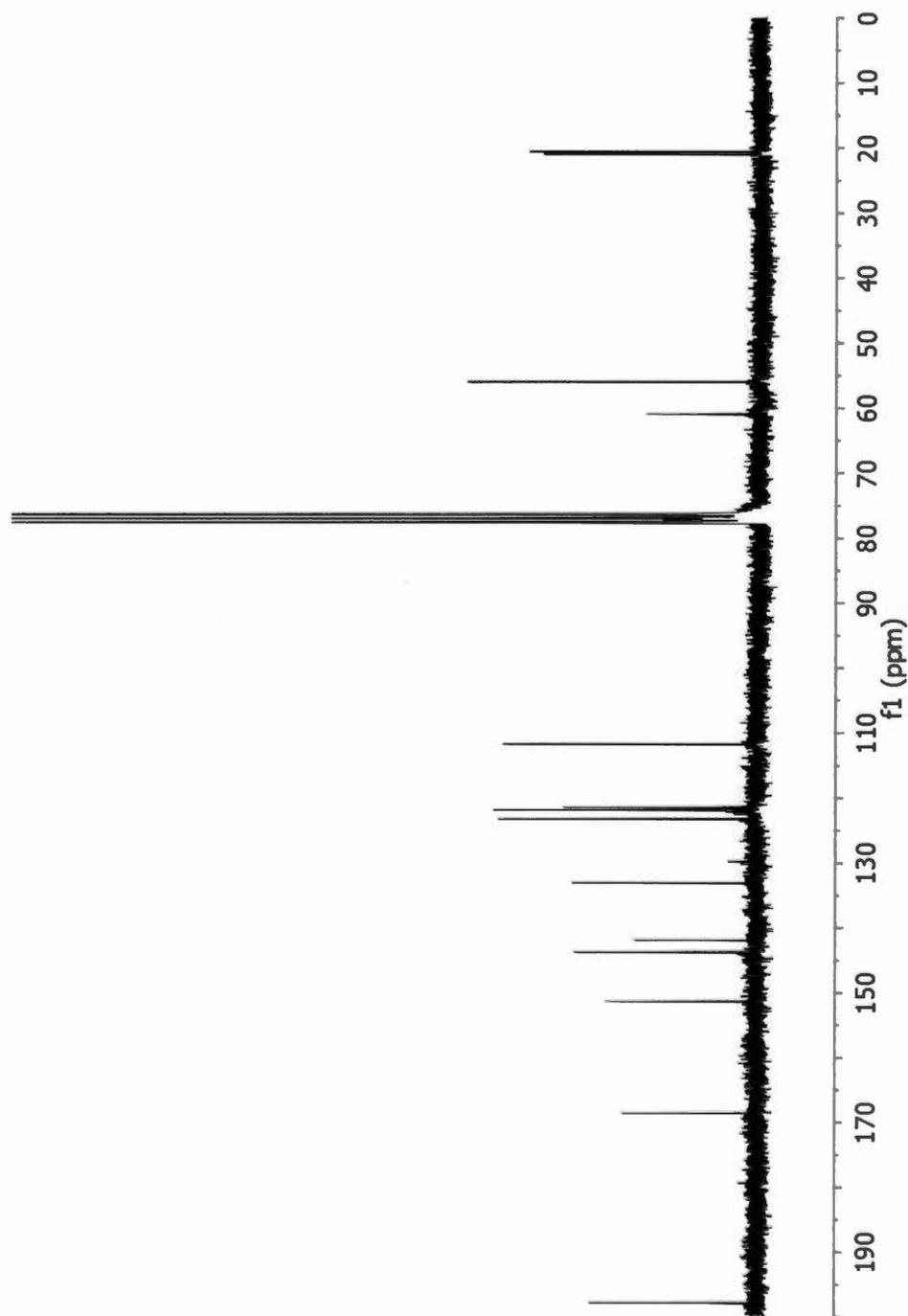
Spectre A.4 RMN-<sup>13</sup>C de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**2**)



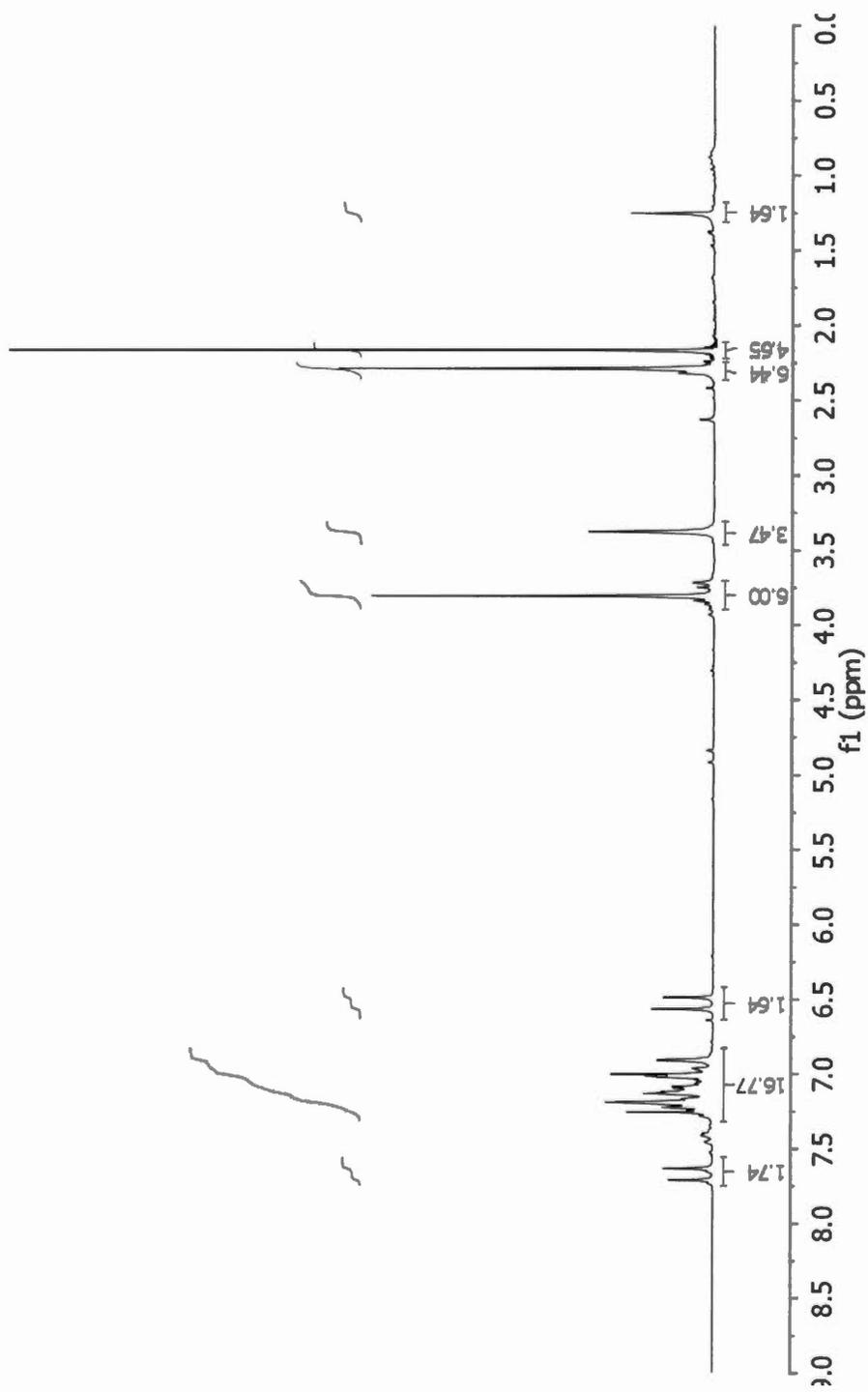
Spectre A.5 RMN-<sup>1</sup>H de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**3**)



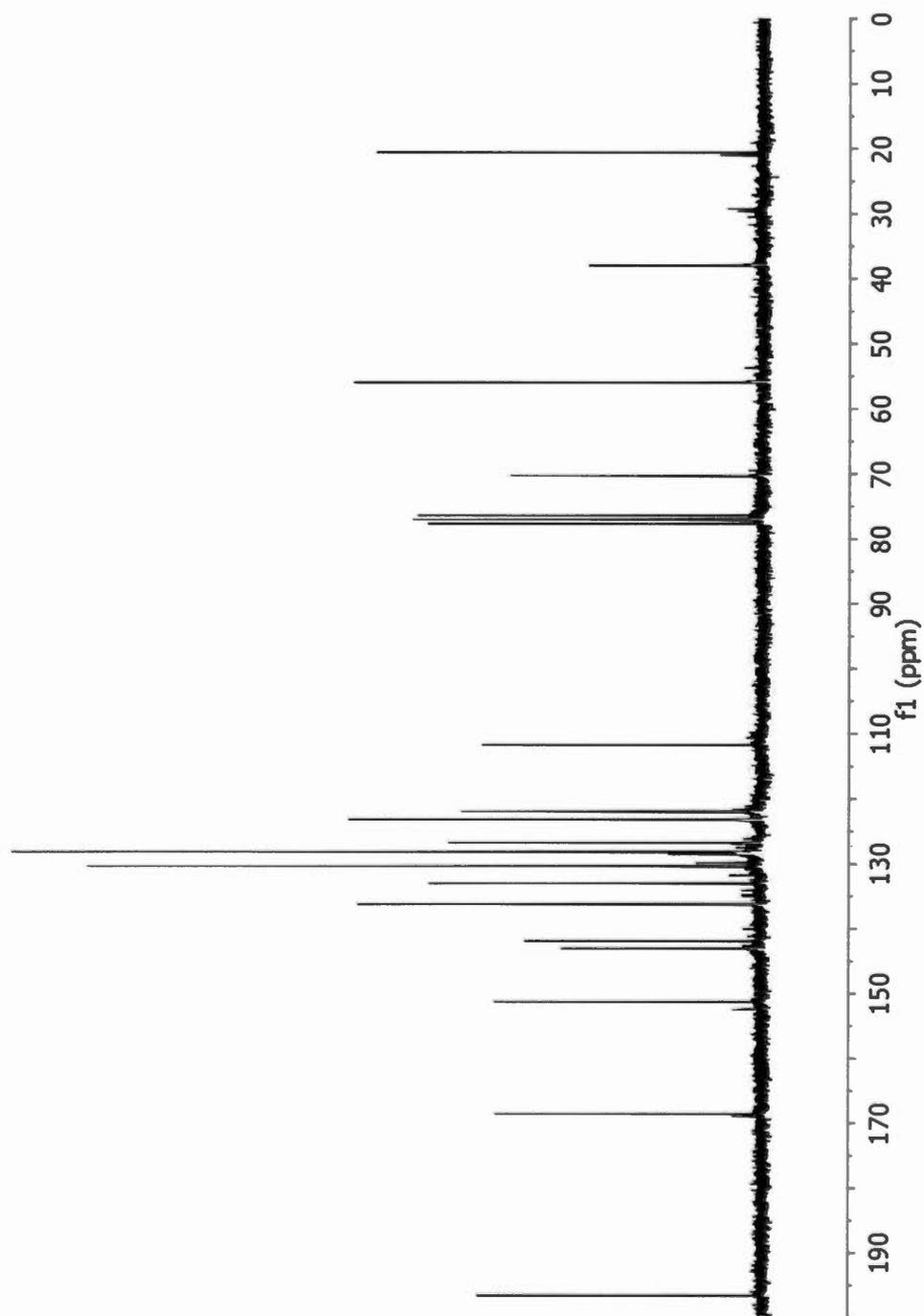
Spectre A.6 RMN- $^{13}\text{C}$  de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**3**)



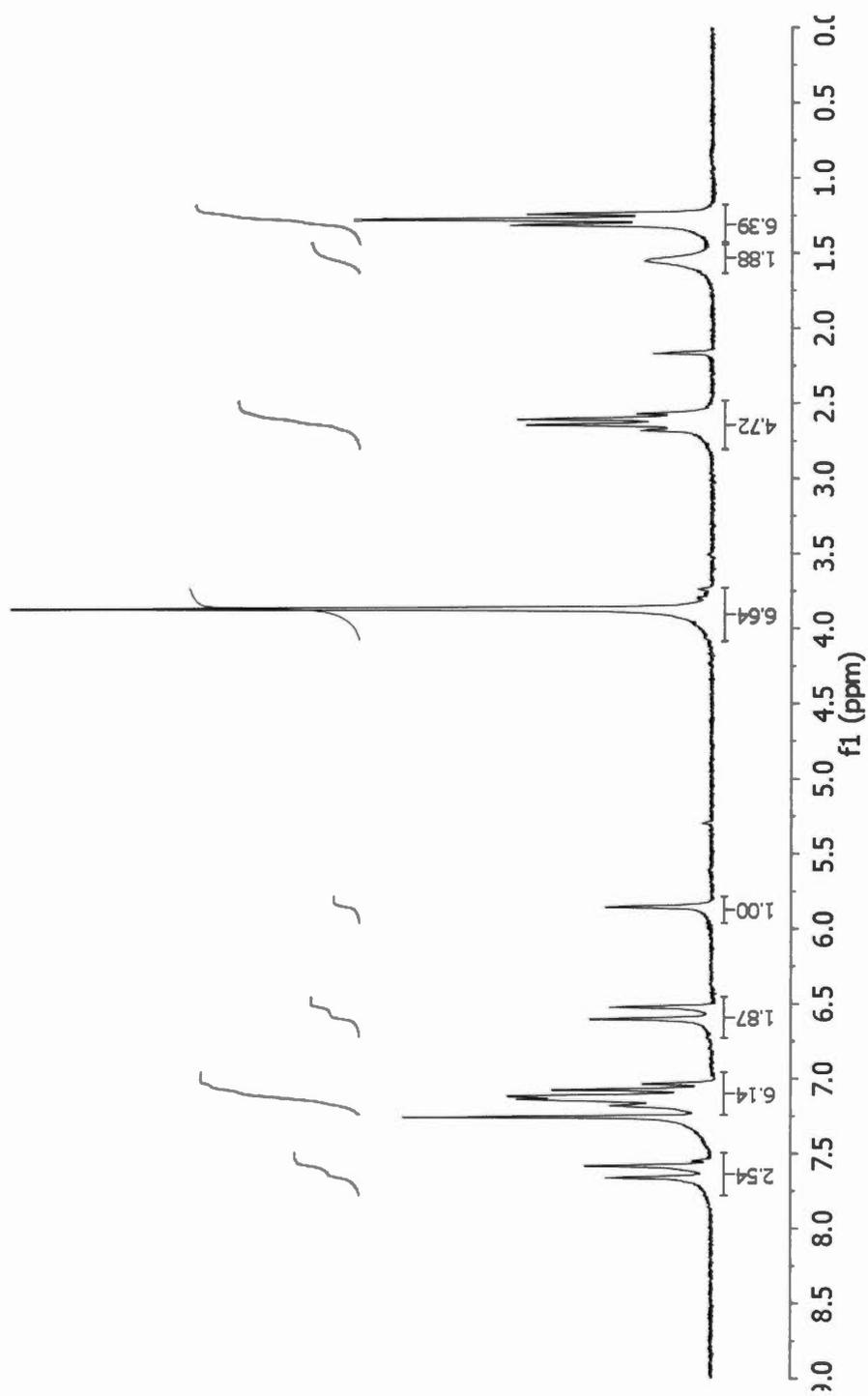
Spectre A.7 RMN-<sup>1</sup>H de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**4**)



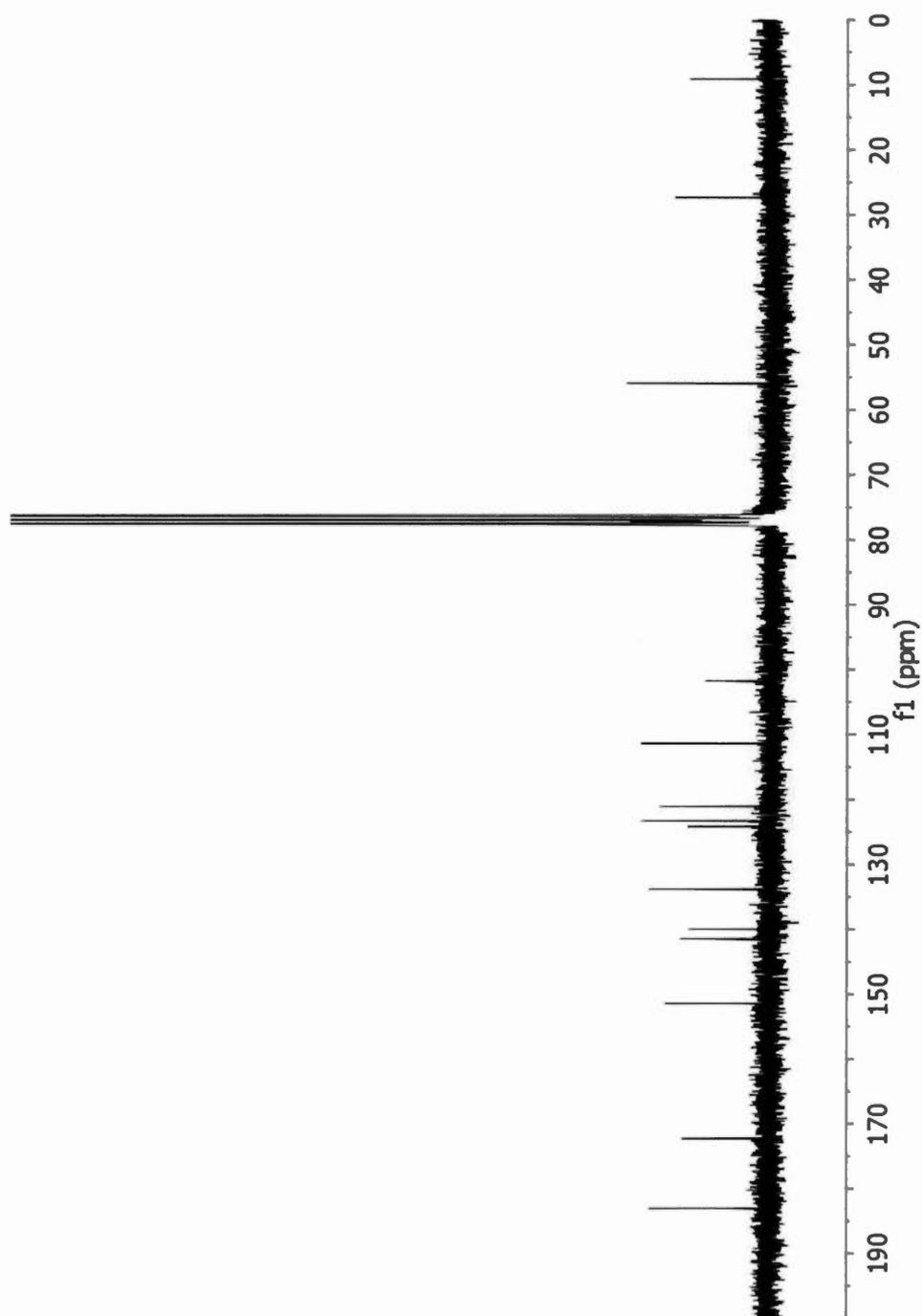
Spectre A.8 RMN- $^{13}\text{C}$  de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**4**)



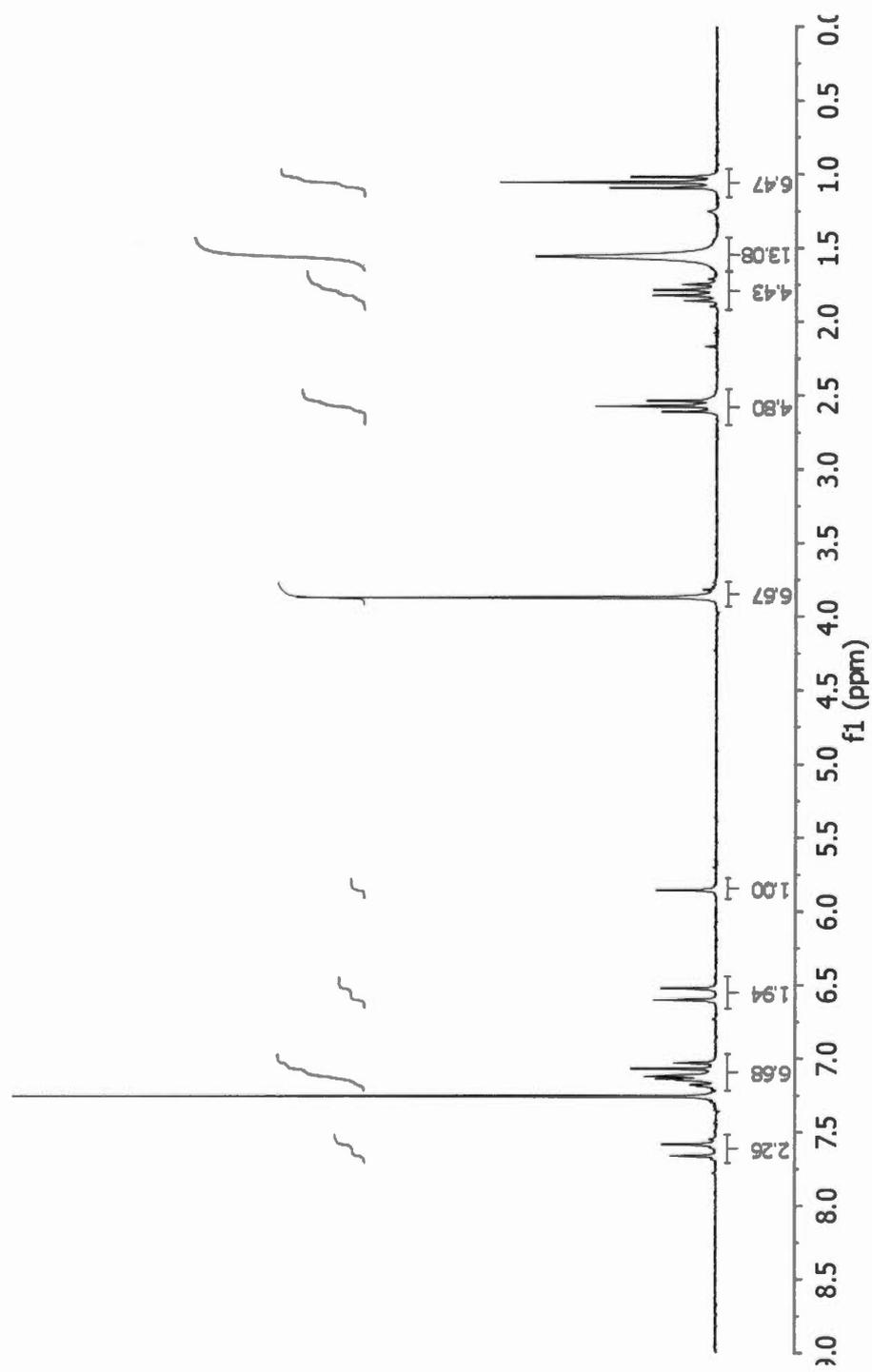
Spectre A.9 RMN-<sup>1</sup>H de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**5**)



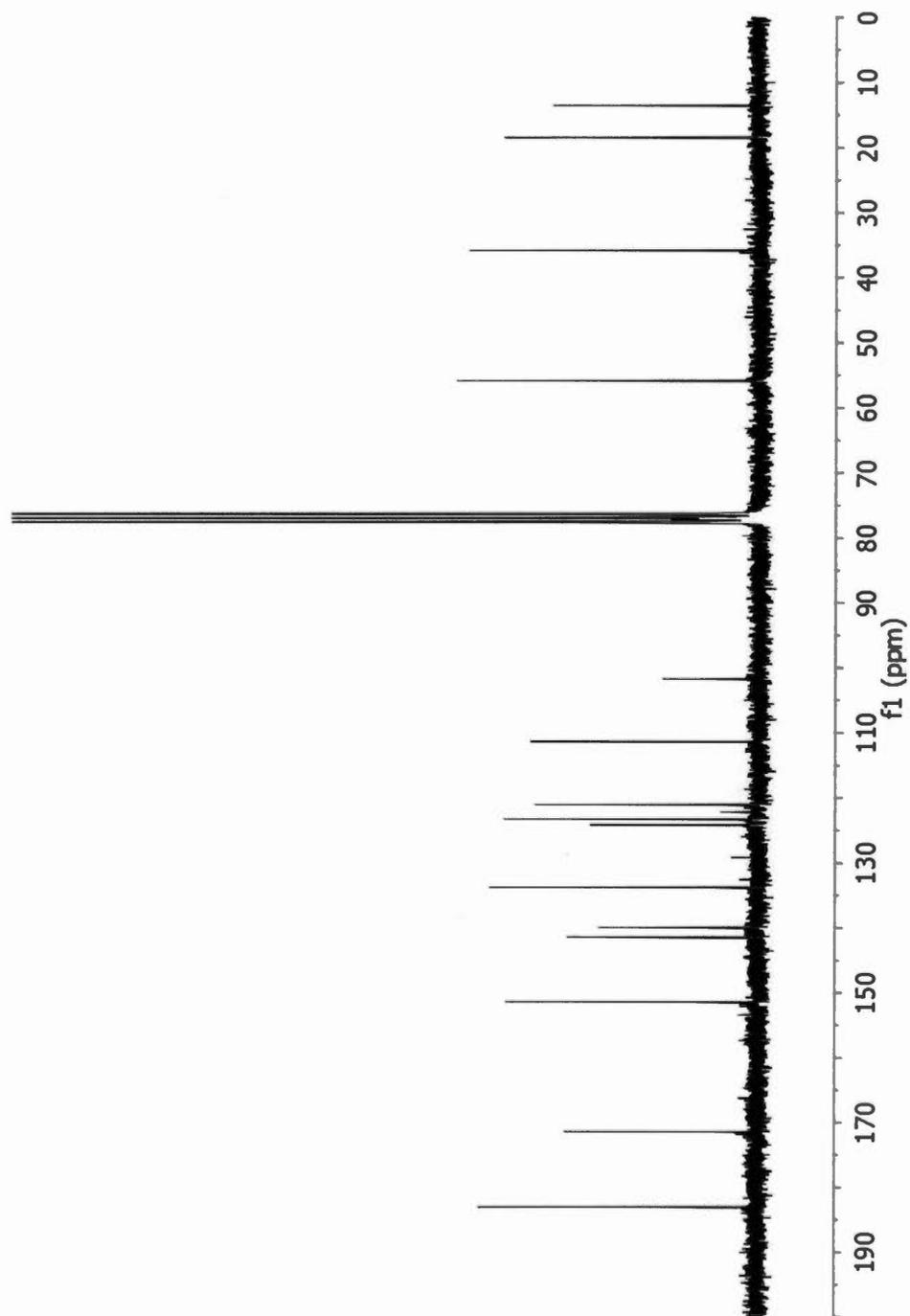
Spectre A.10 RMN- $^{13}\text{C}$  de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**5**)



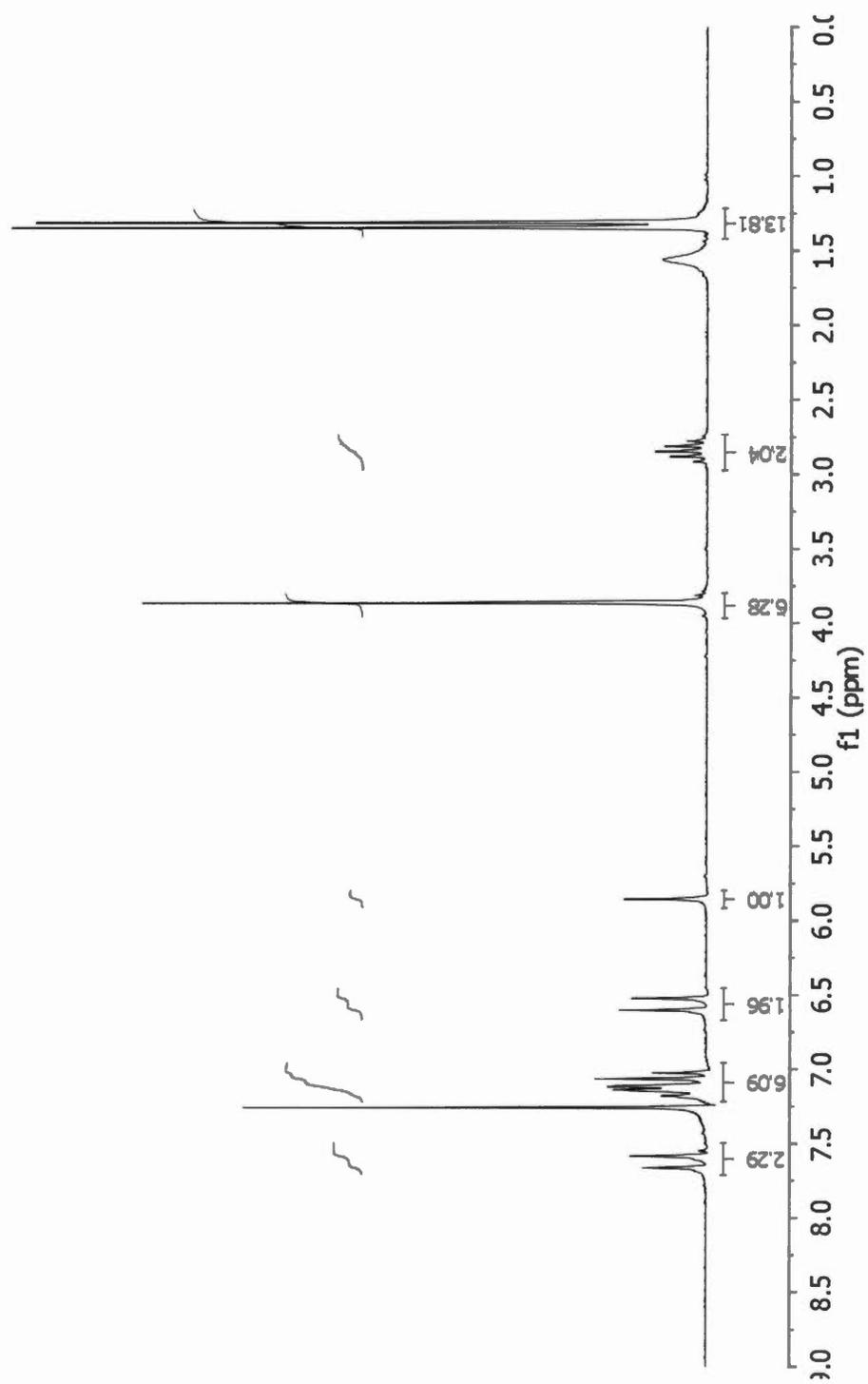
Spectre A.11 RMN-<sup>1</sup>H de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**6**)



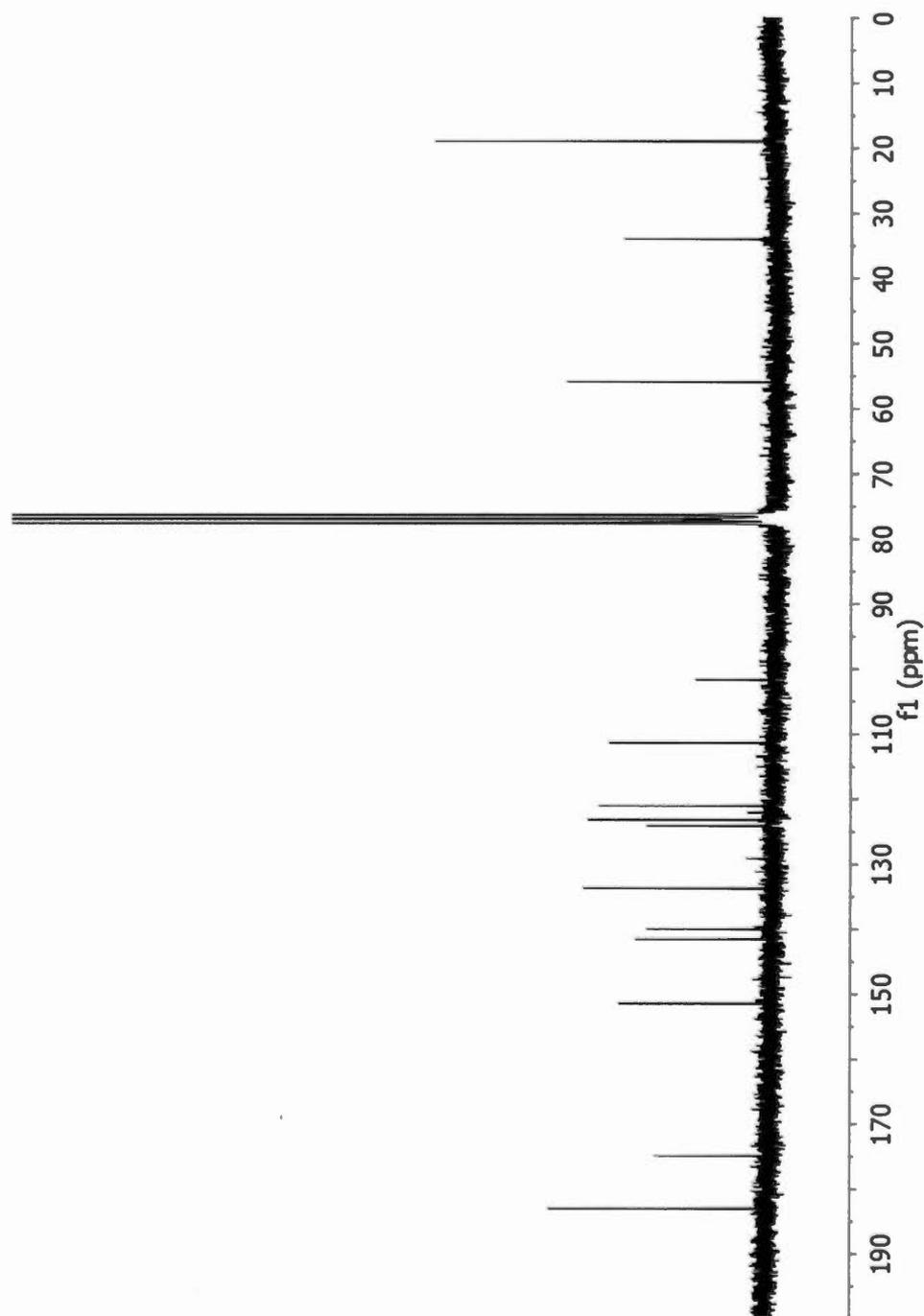
Spectre A.12 RMN- $^{13}\text{C}$  de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyroxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**6**)



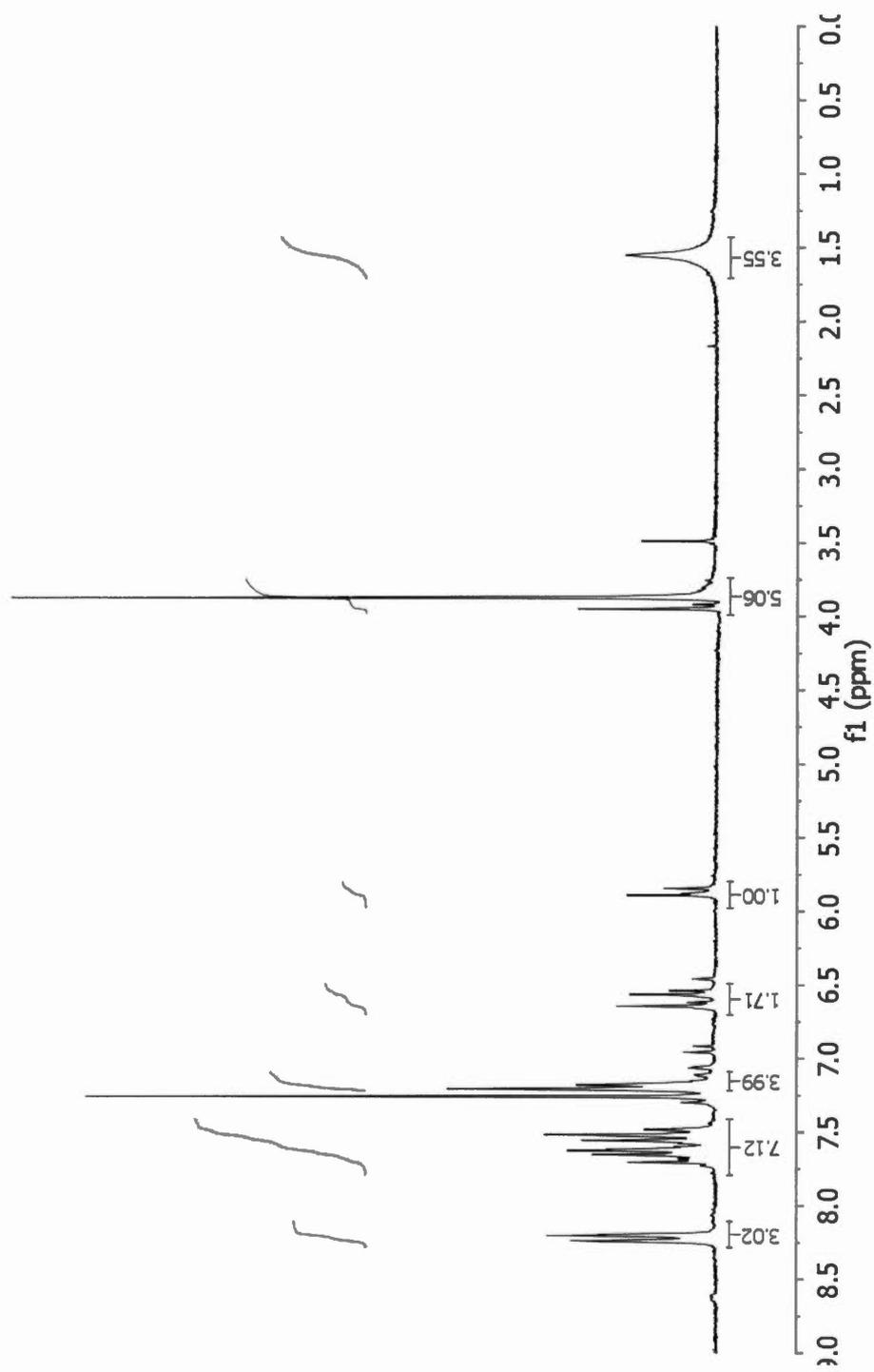
Spectre A.13 RMN-<sup>1</sup>H de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-iso-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**7**)



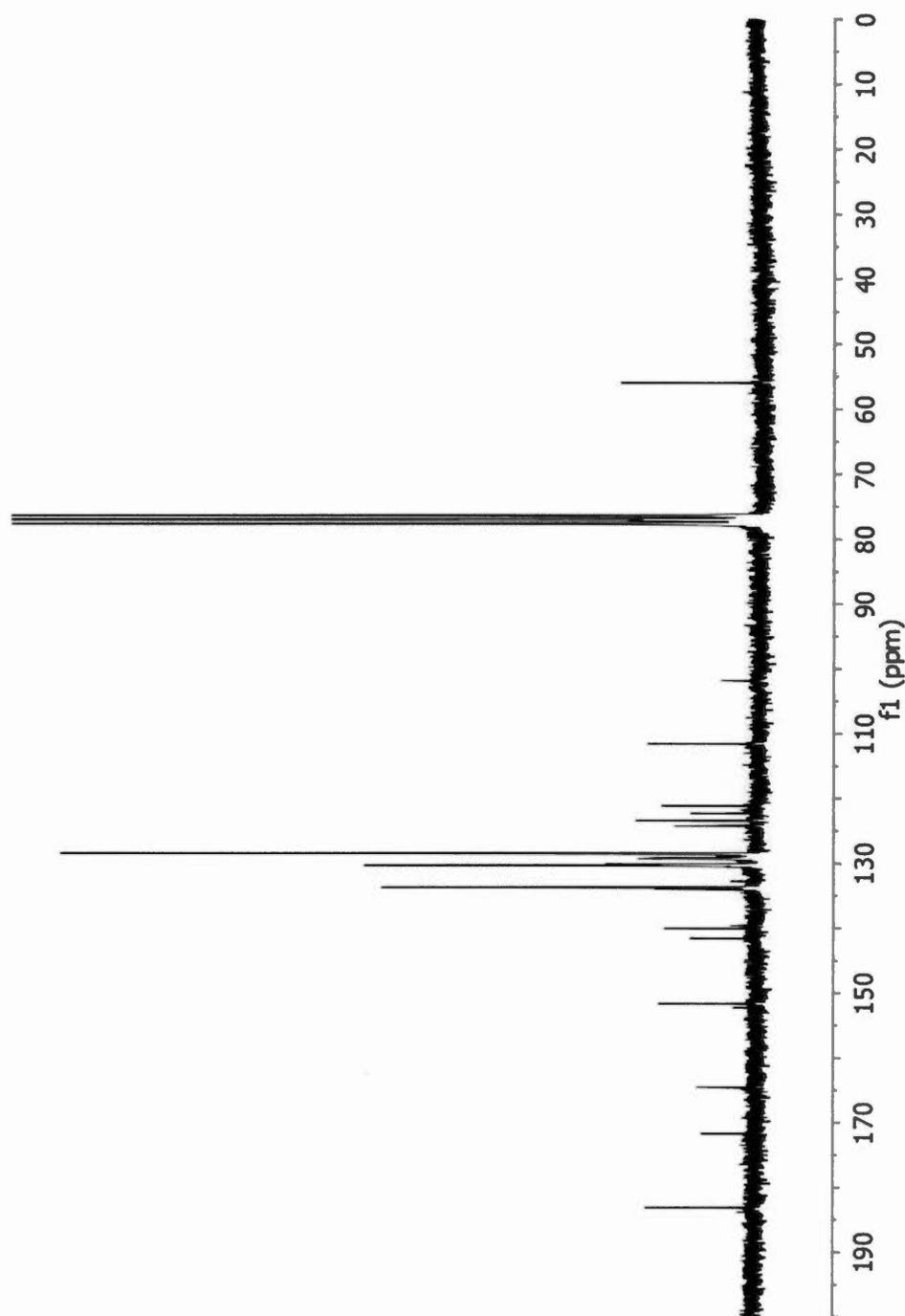
Spectre A.14 RMN- $^{13}\text{C}$  de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-iso-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (*Z*)



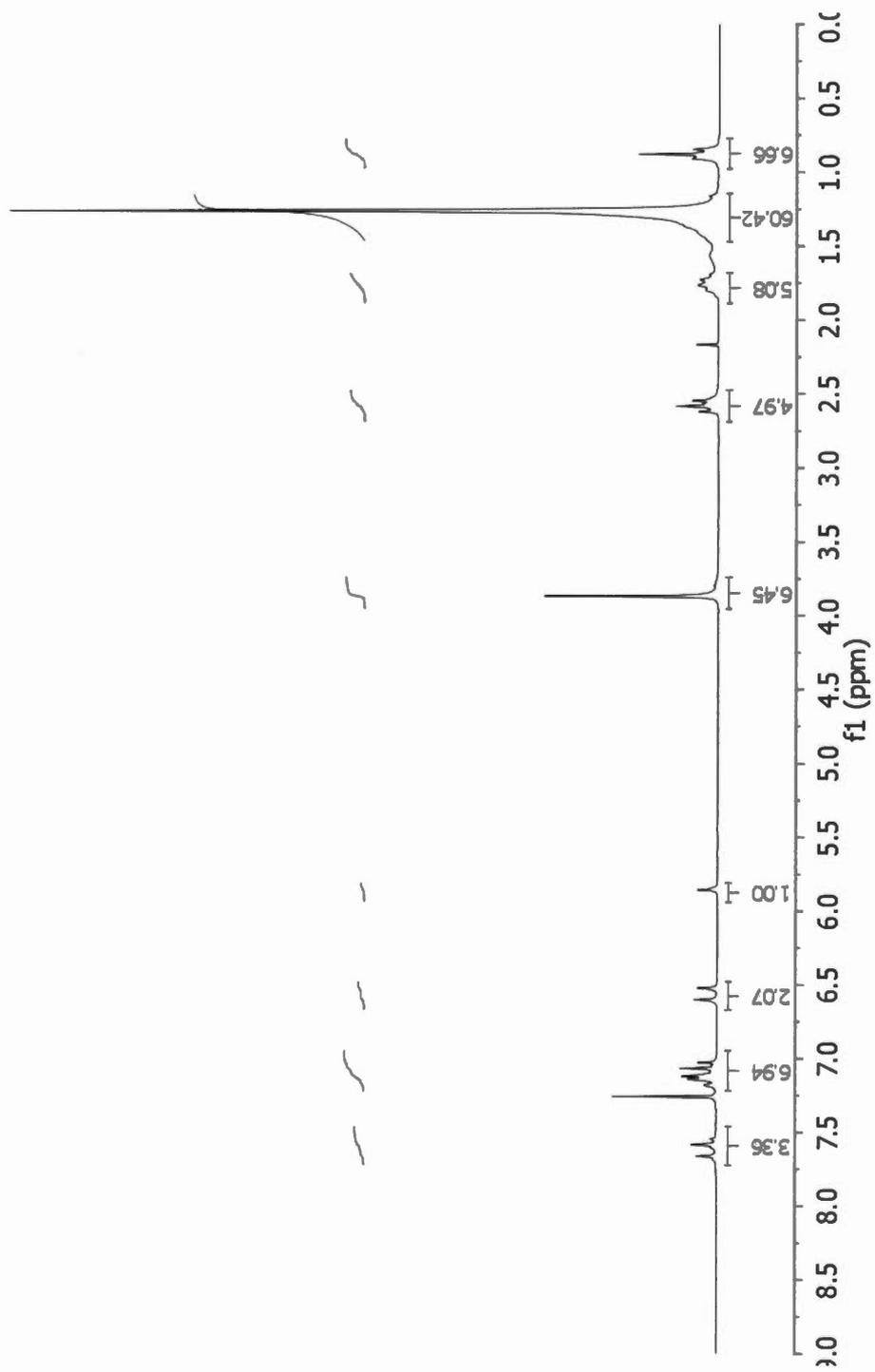
Spectre A.15 RMN-<sup>1</sup>H de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoiloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**8**)



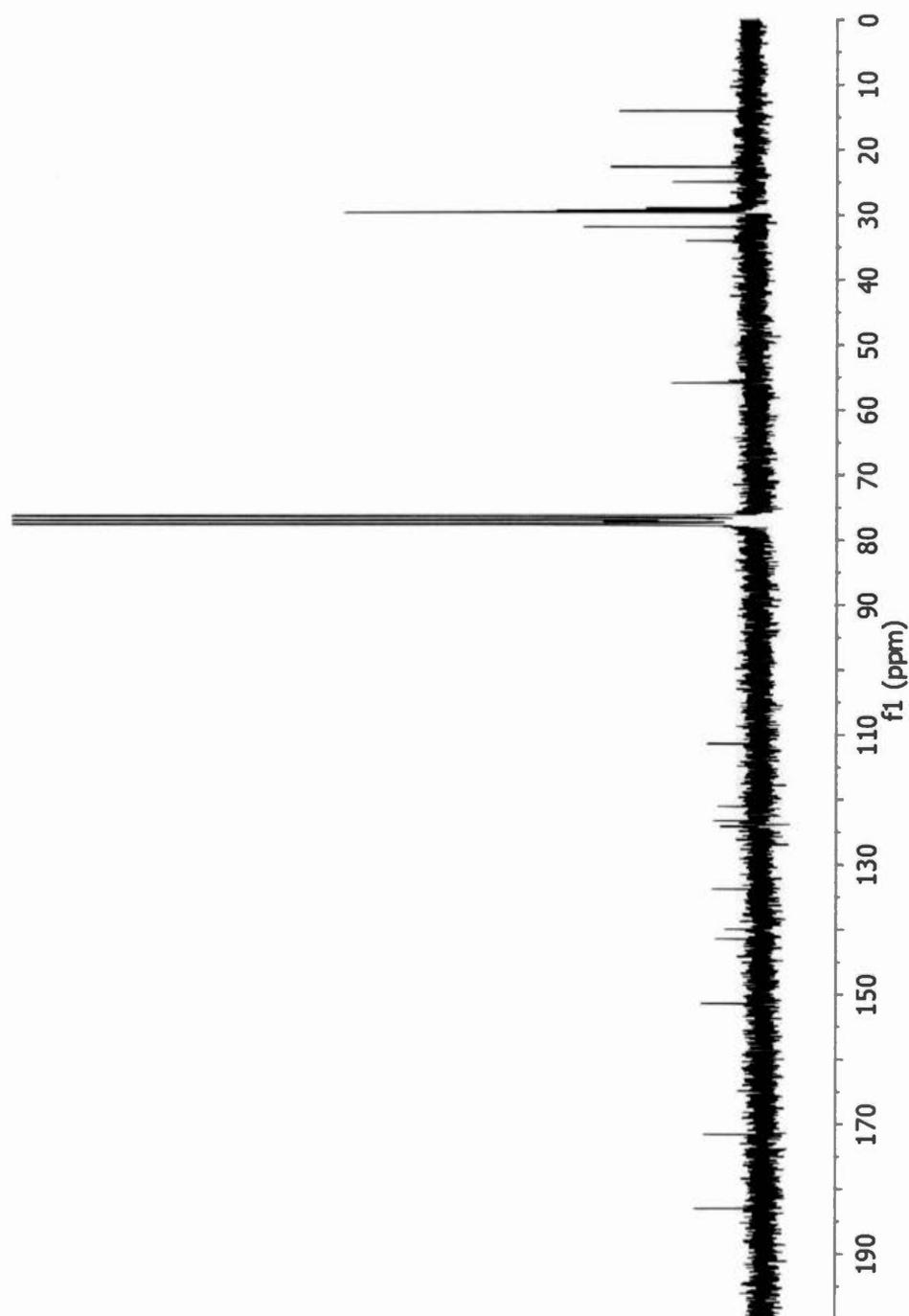
Spectre A.16 RMN- $^{13}\text{C}$  de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoïloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**8**)



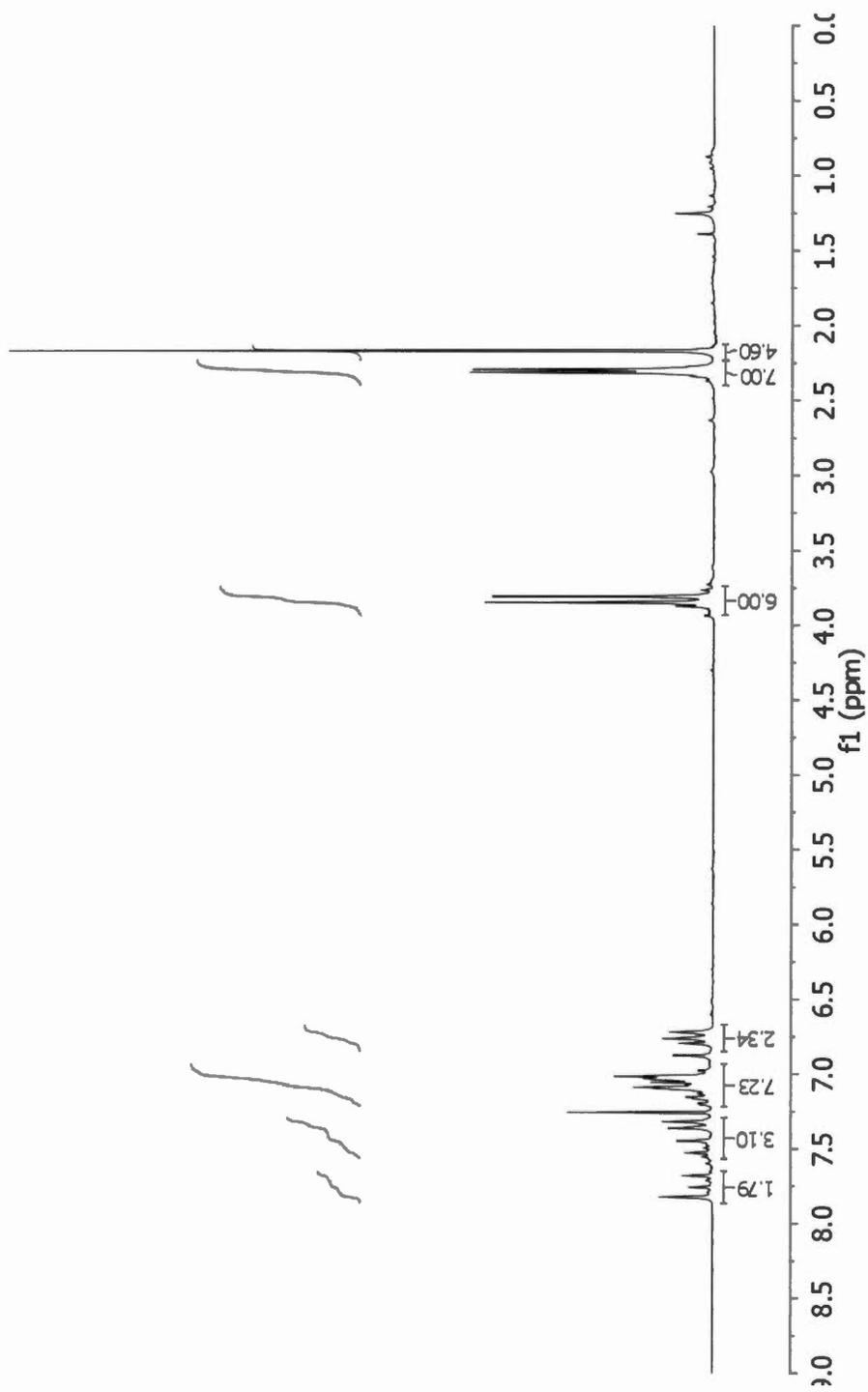
Spectre A.17 RMN-<sup>1</sup>H de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**9**)



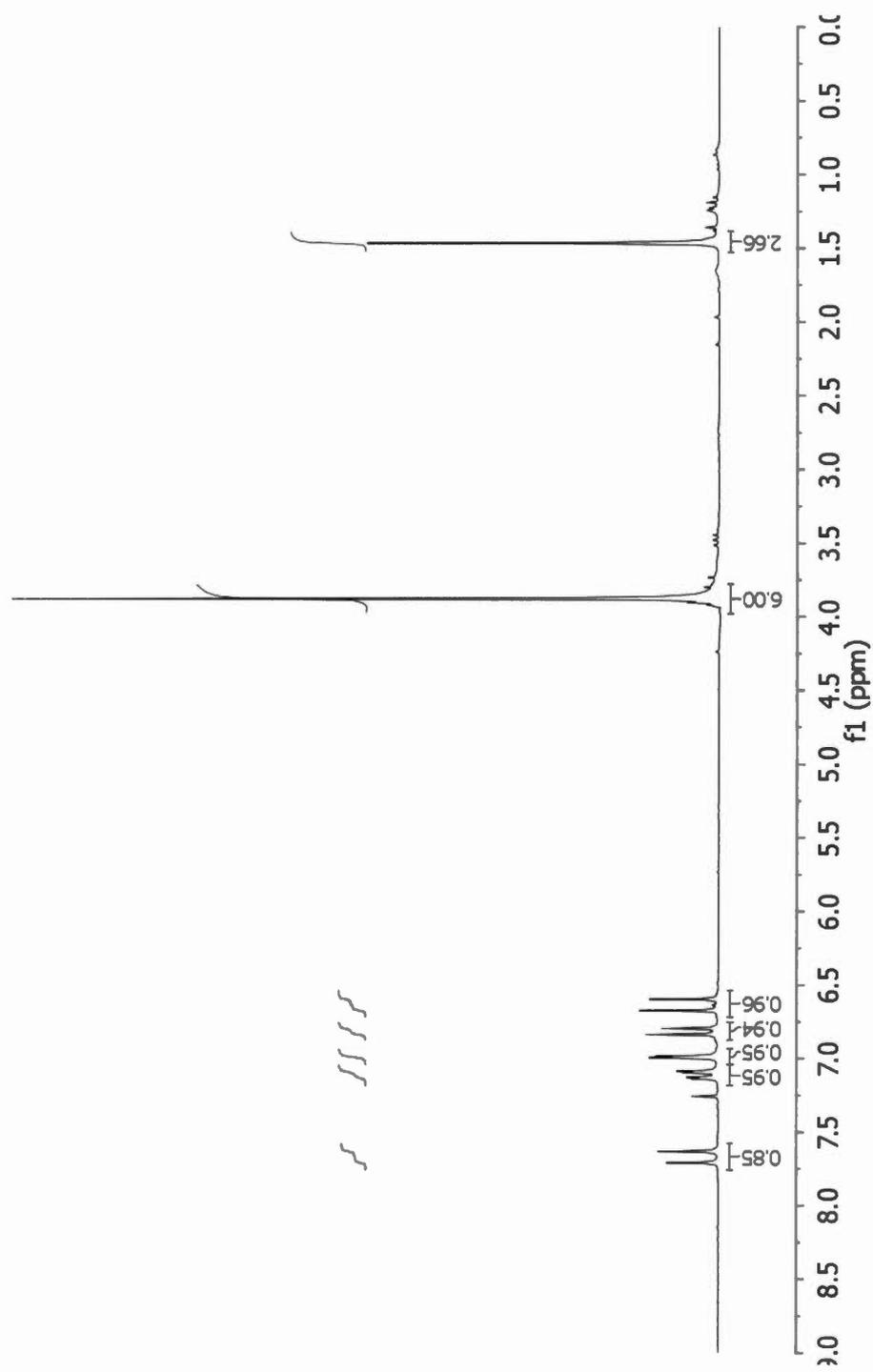
Spectre A.18 RMN- $^{13}\text{C}$  de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**9**)



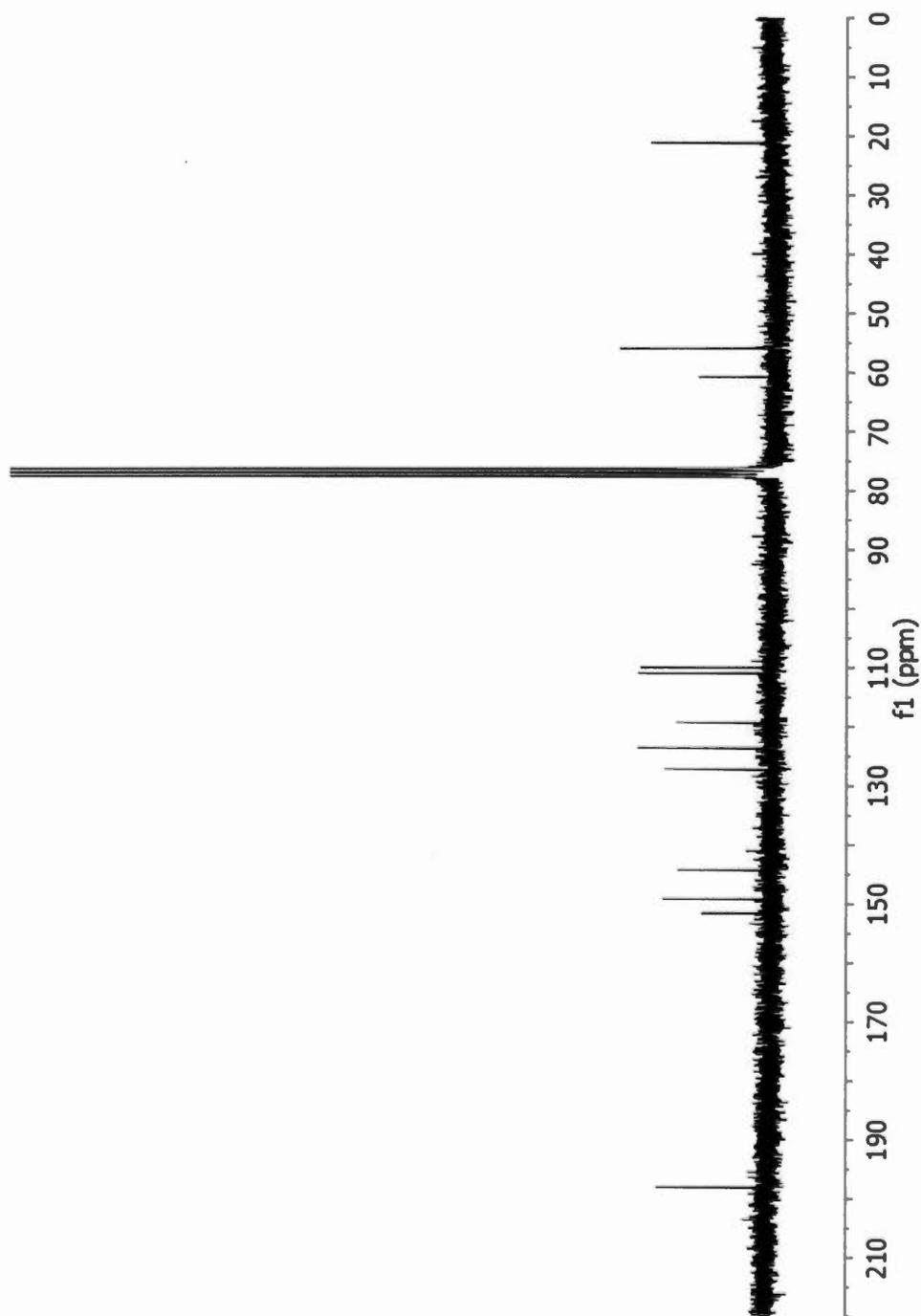
Spectre A.19 RMN- $^1\text{H}$  de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4-(4-hydroxy-benzylidène)-1,6-heptadièn-3,5-dione (**10b**)



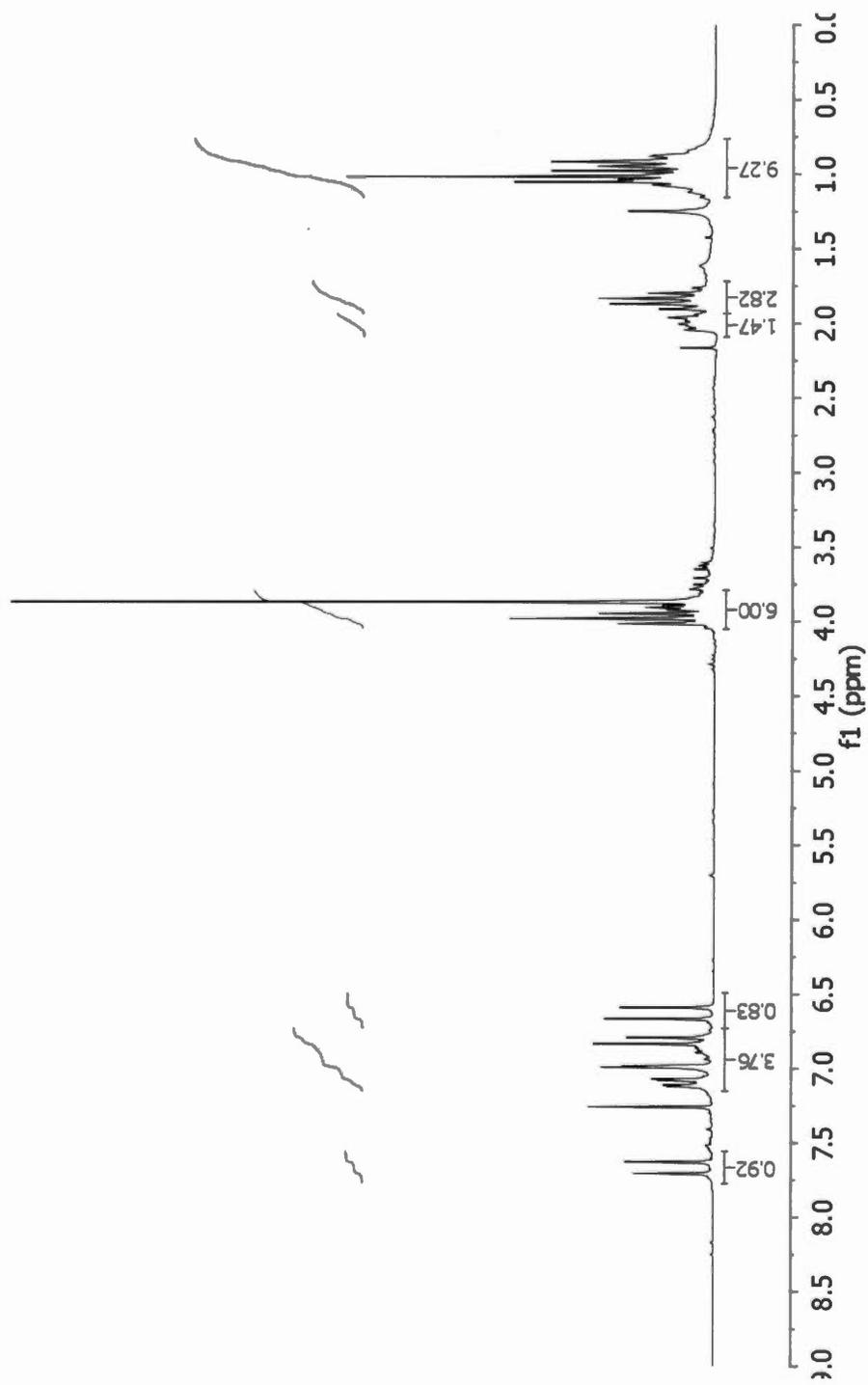
Spectre A.20 RMN-<sup>1</sup>H de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**11**)



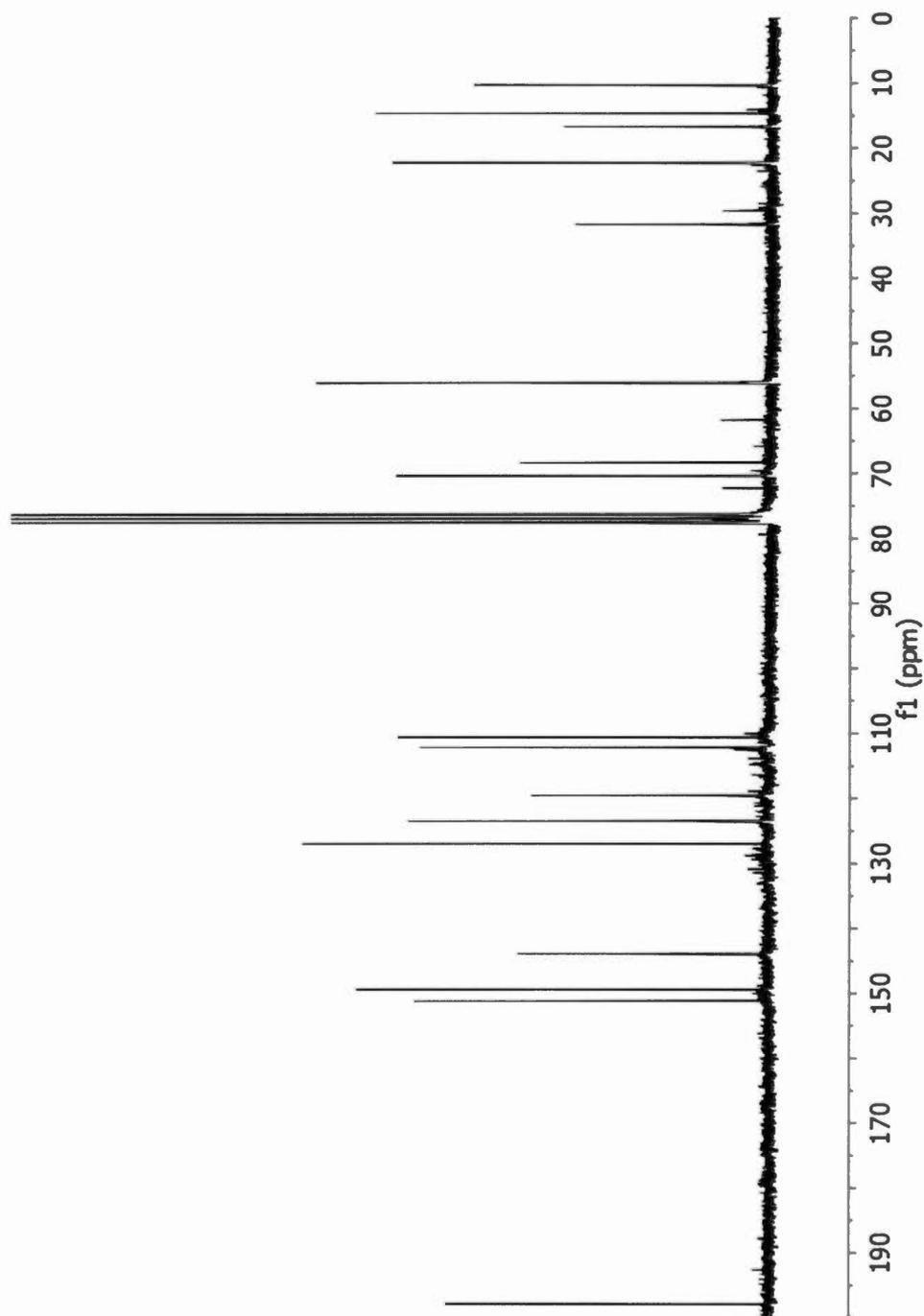
Spectre A.21 RMN- $^{13}\text{C}$  de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**11**)



Spectre A.22 RMN- $^1\text{H}$  de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**12**)



Spectre A.23 RMN- $^{13}\text{C}$  de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**12**)

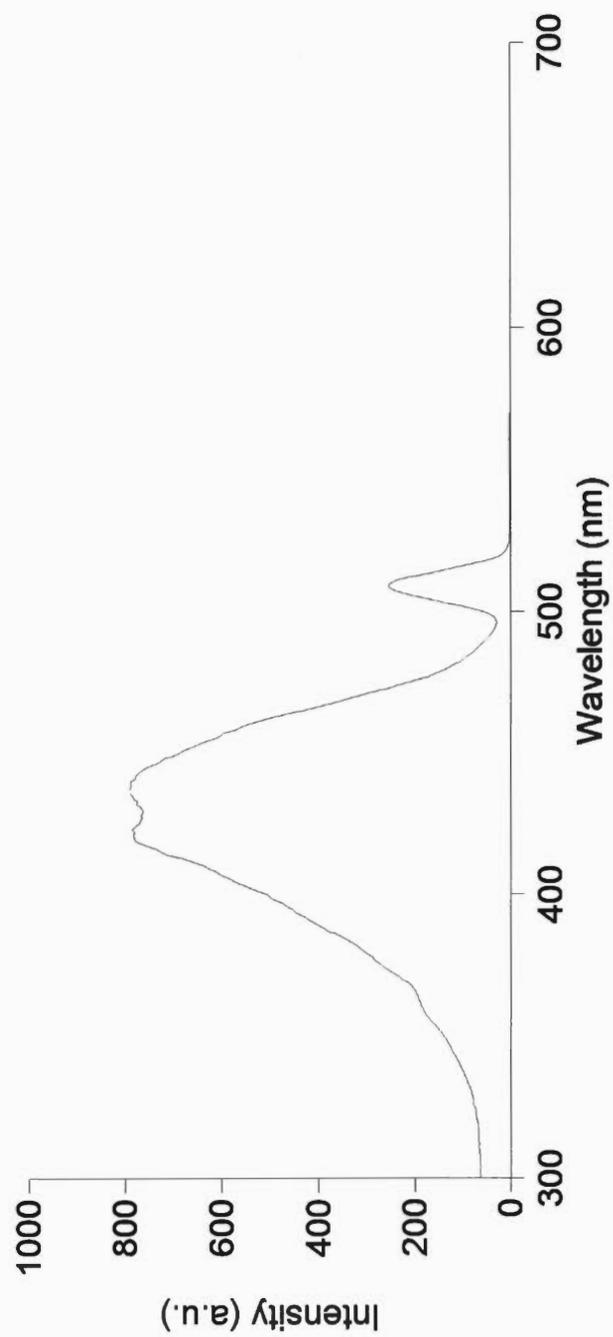


## ANNEXE B

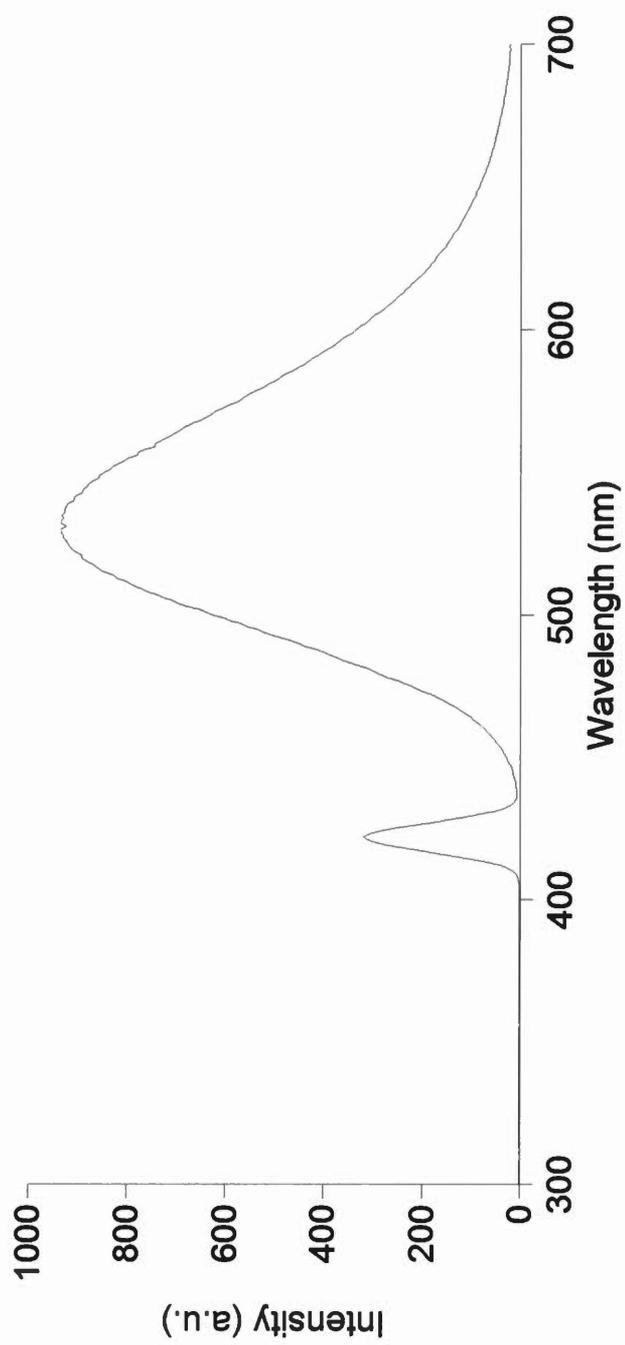
### SPECTRES DE FLUORESCENCE

Les spectres de fluorescence sont présentés selon l'ordre de leur parution dans le texte. Tous les spectres des dérivés de la curcumine analysés ont été enregistrés à l'aide de solution de 70 % d'isopropanol et 30 % d'eau à une concentration de 100 ppm. La curcumine a été analysée à l'aide d'une solution de 70 % d'isopropanol et 30 % d'eau à une concentration de 0,2 ppm.

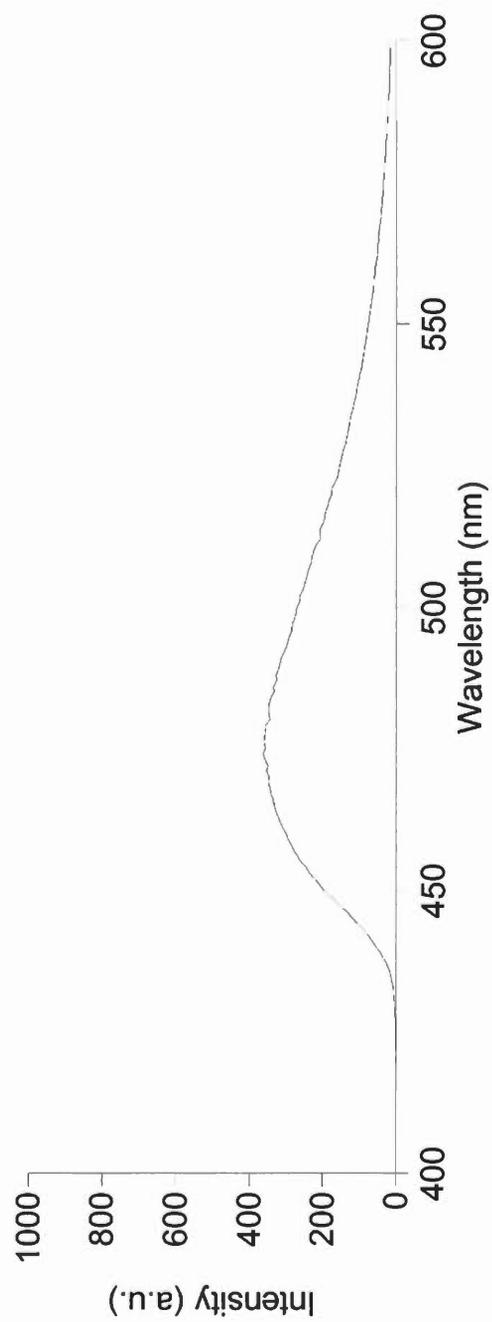
Spectre B.1 Spectre d'excitation de la curcumine



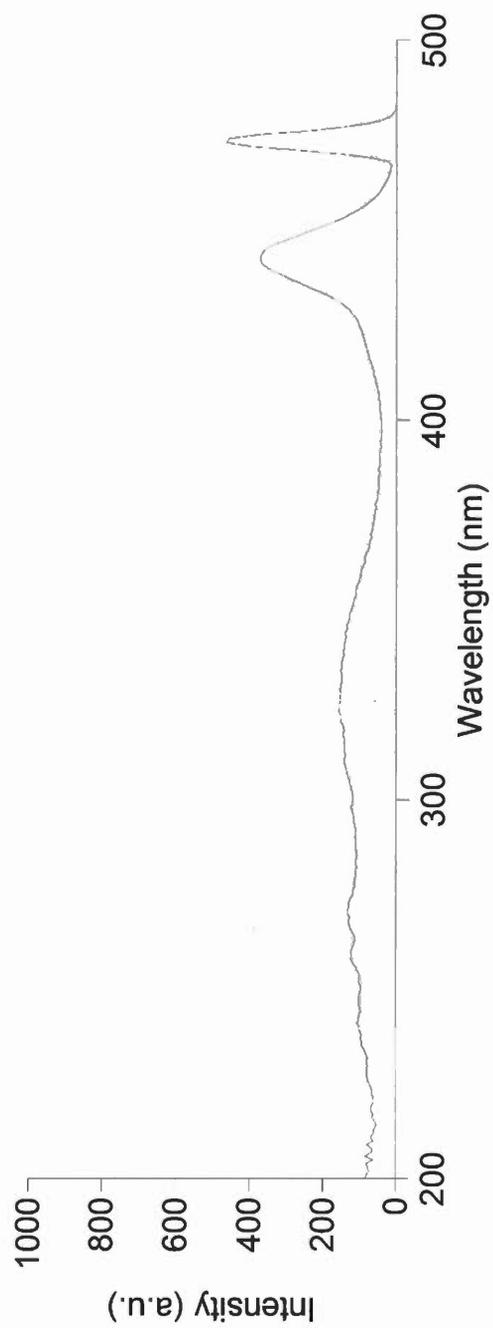
Spectre B.2 Spectre d'émission de la curcumine



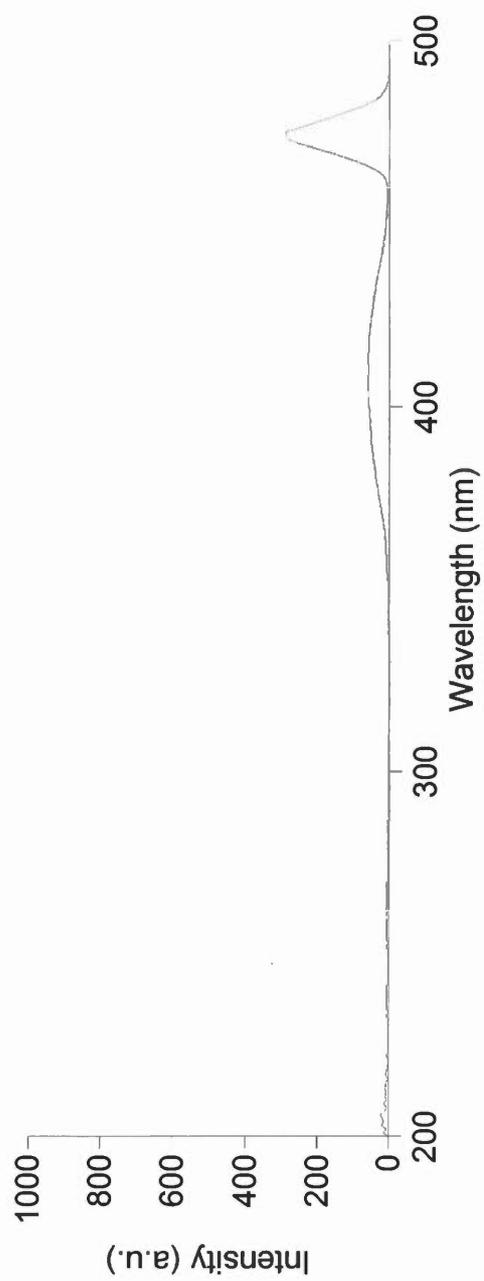
Spectre B.3 Spectre d'excitation de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**2**)



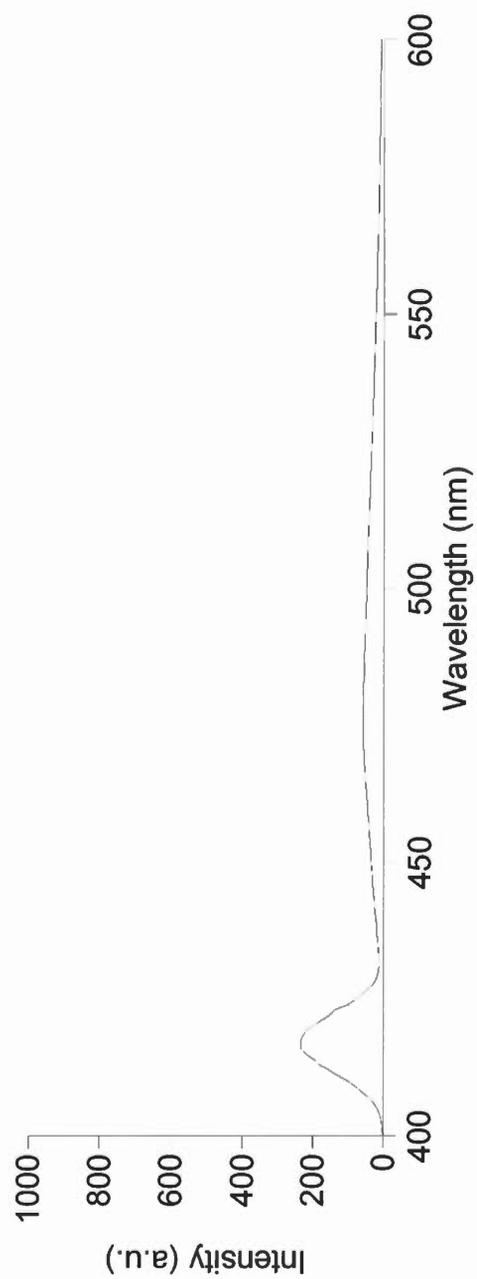
Spectre B.4 Spectre d'émission de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**2**)



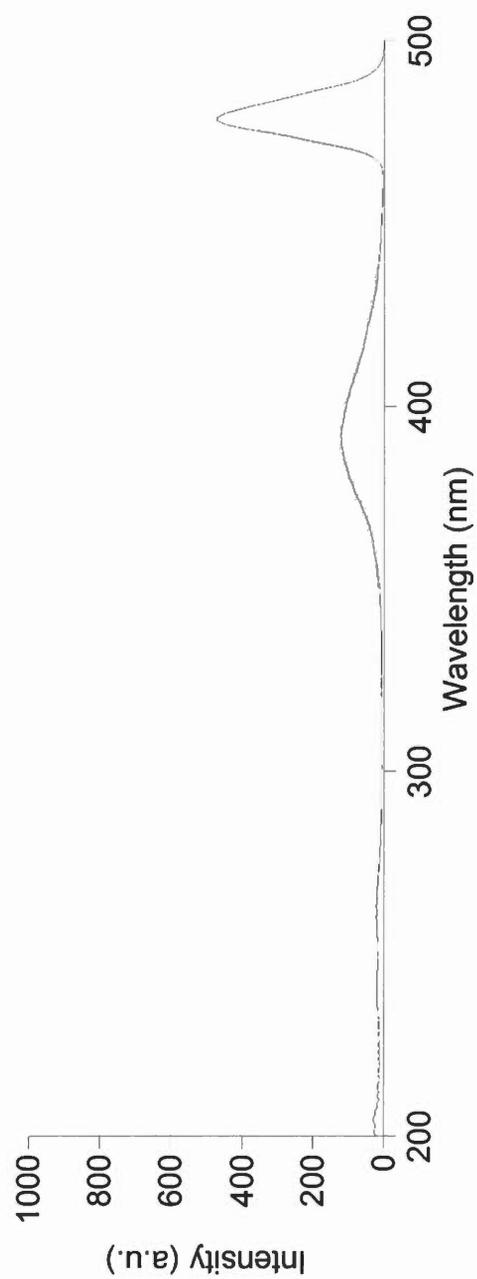
Spectre B.5 Spectre d'excitation de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**3**)



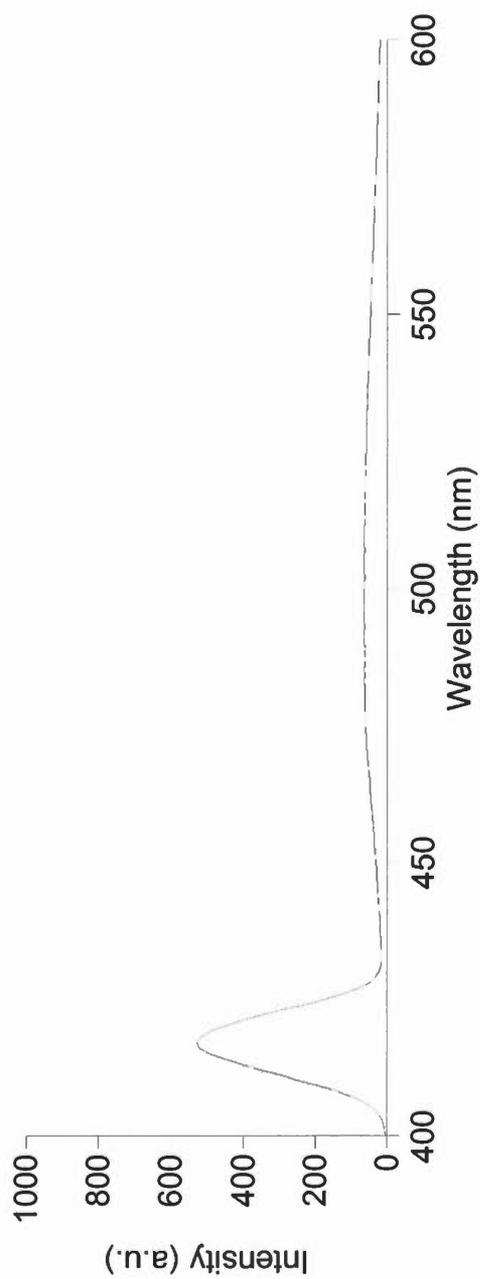
Spectre B.6 Spectre d'émission de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**3**)



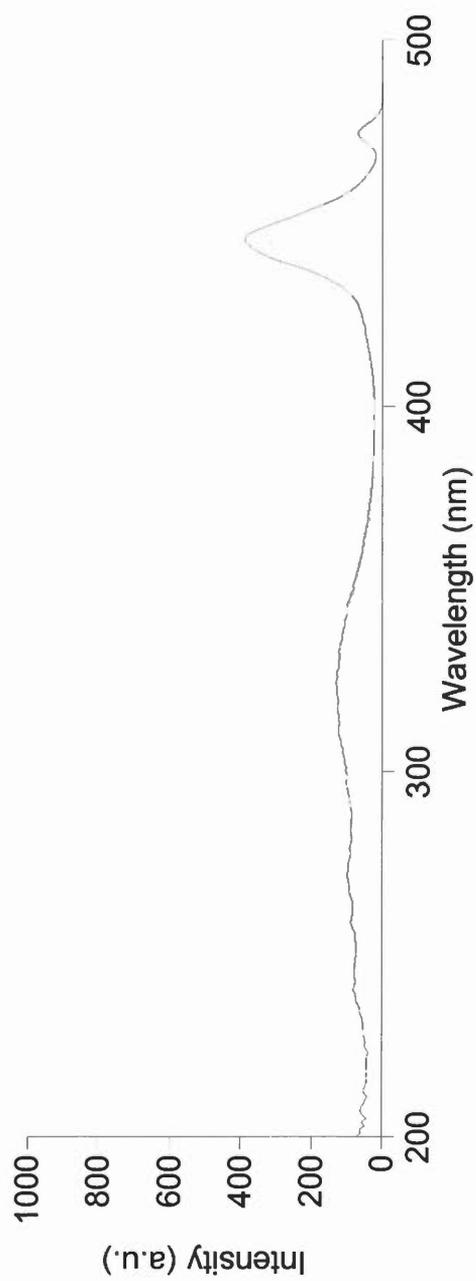
Spectre B.7 Spectre d'excitation de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**4**)



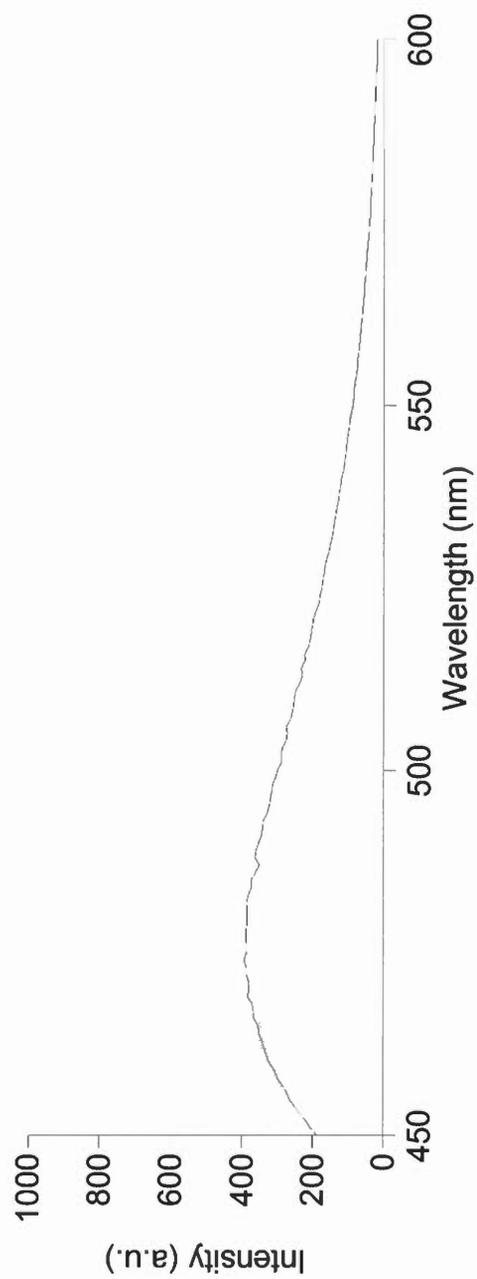
Spectre B.8 Spectre d'émission de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(4-acétoxy-3-méthoxyphényl)-4,4-dibenzyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**4**)



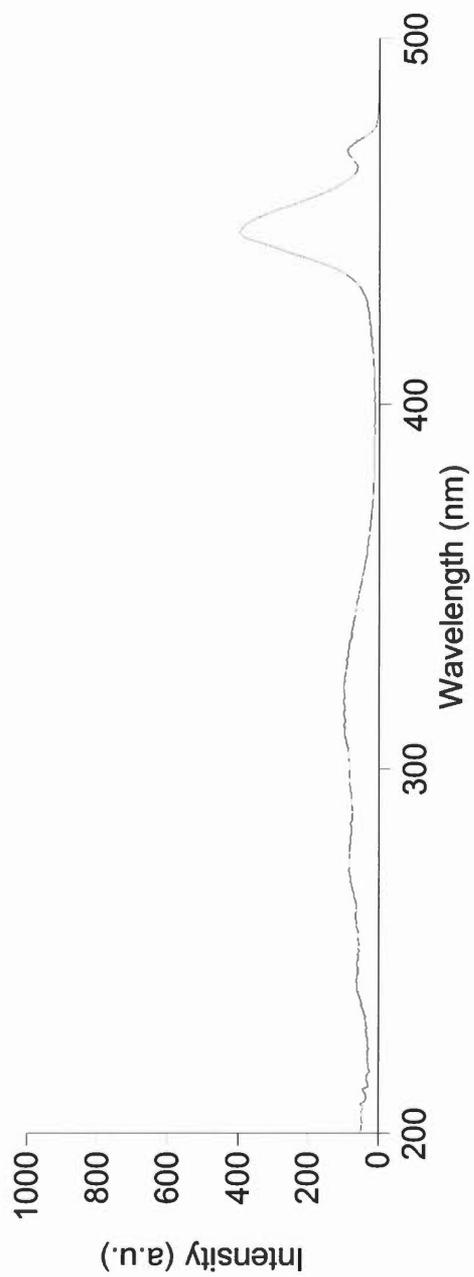
Spectre B.9 Spectre d'excitation de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**5**)



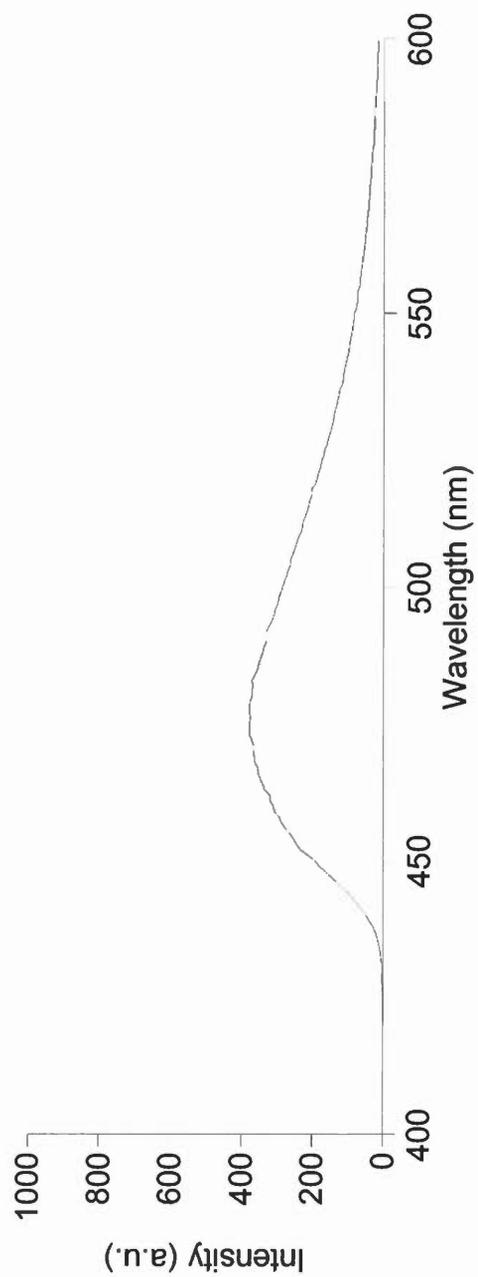
Spectre B.10 Spectre d'émission de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propionyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**5**)



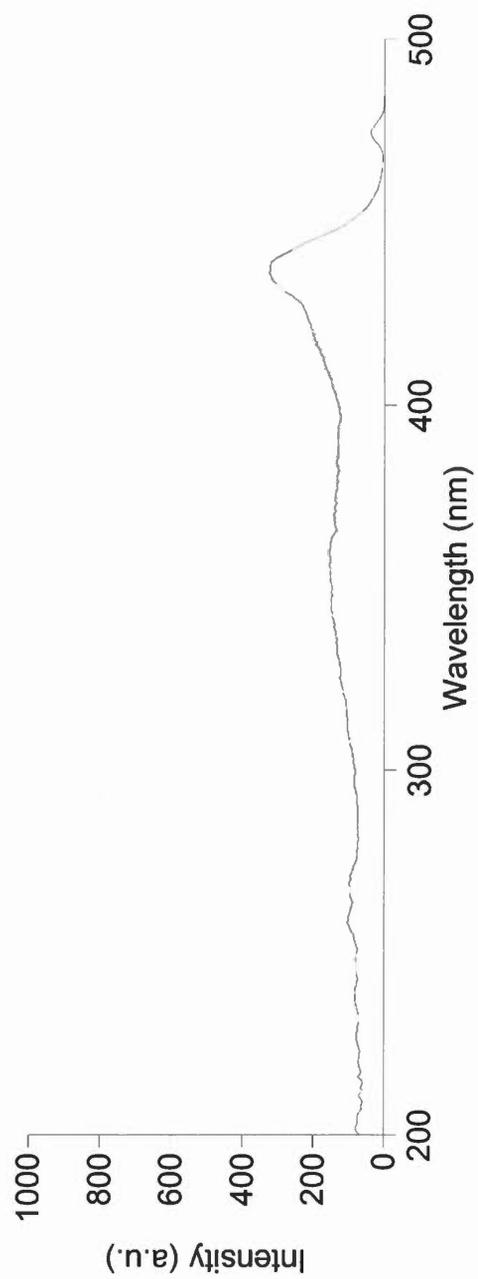
Spectre B.11 Spectre d'excitation de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyriloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (6)



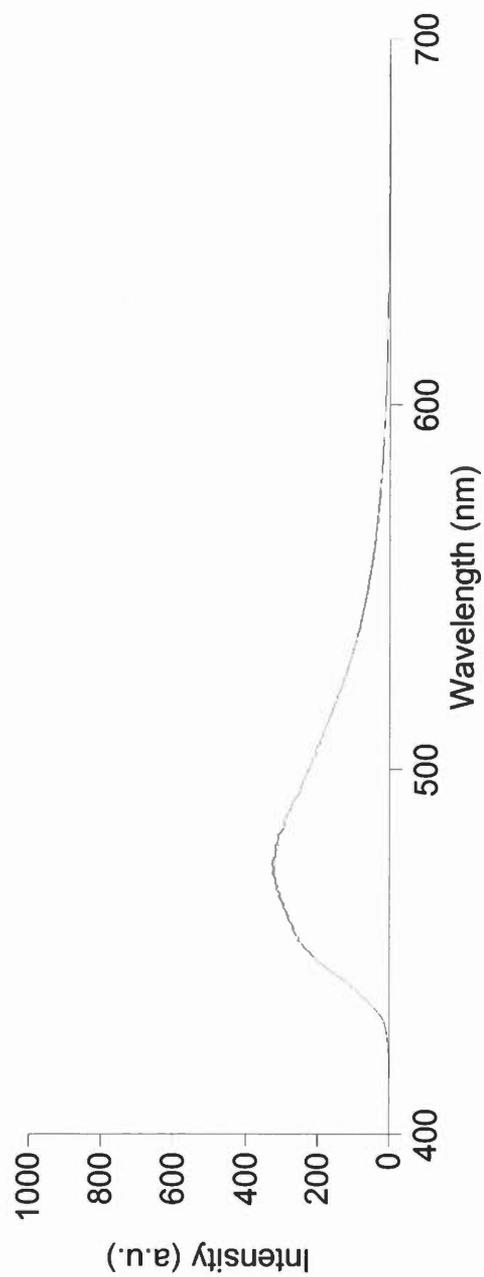
Spectre B.12 Spectre d'émission de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-butyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**6**)



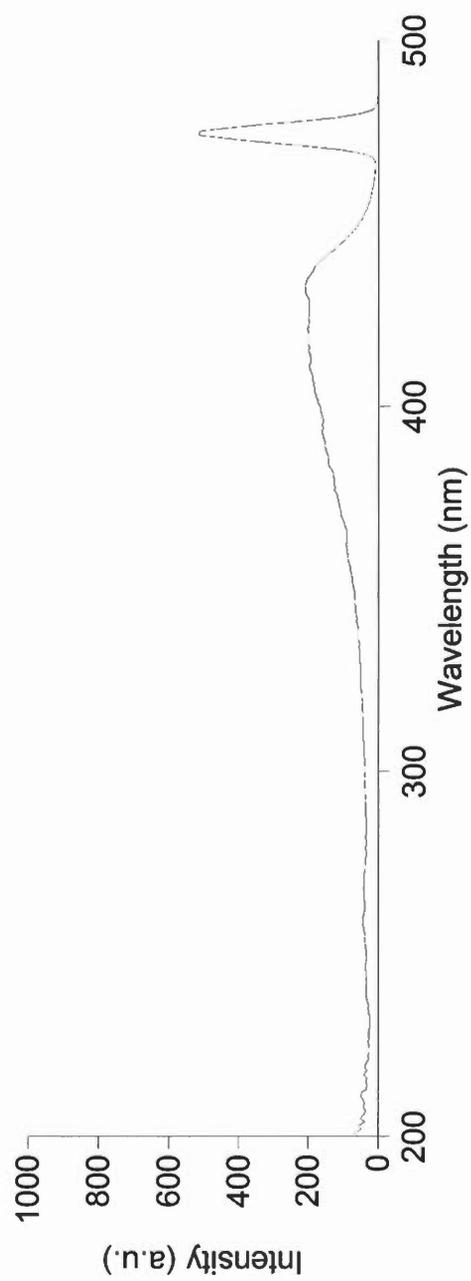
Spectre B.13 Spectre d'excitation de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-isobutyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**Z**)



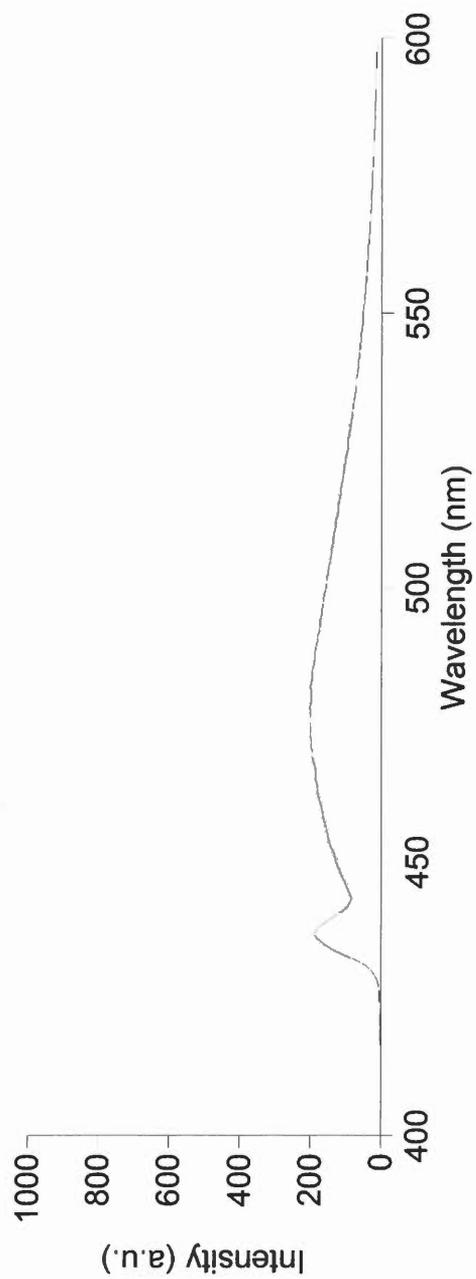
Spectre B.14 Spectre d'émission de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-isobutyryloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**7**)



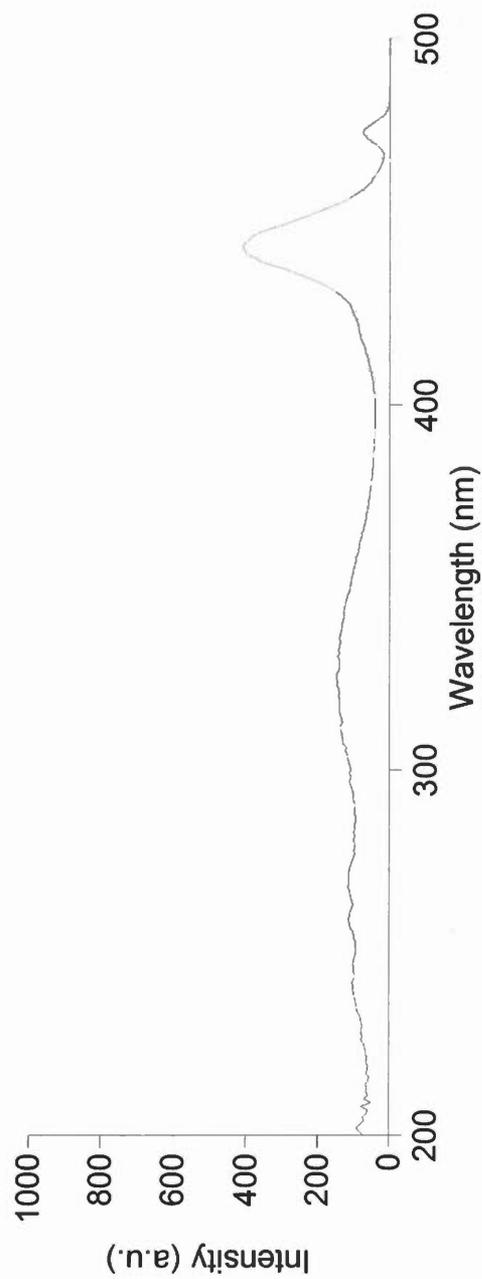
Spectre B.15 Spectre d'excitation de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoiloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**8**)



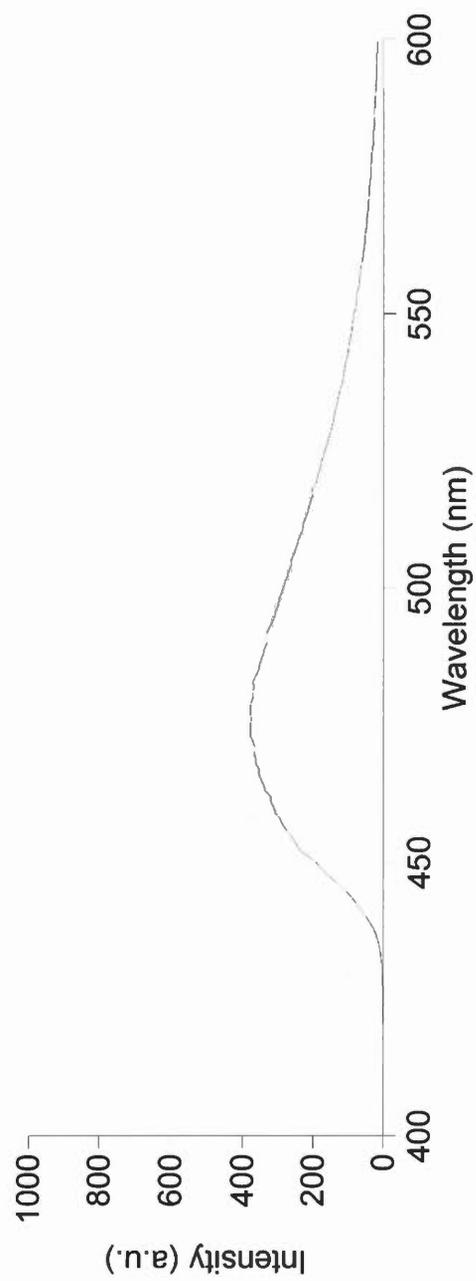
Spectre B.16 Spectre d'émission de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(4-benzoiloxy-3-méthoxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**8**)



Spectre B.17 Spectre d'excitation de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**9**)



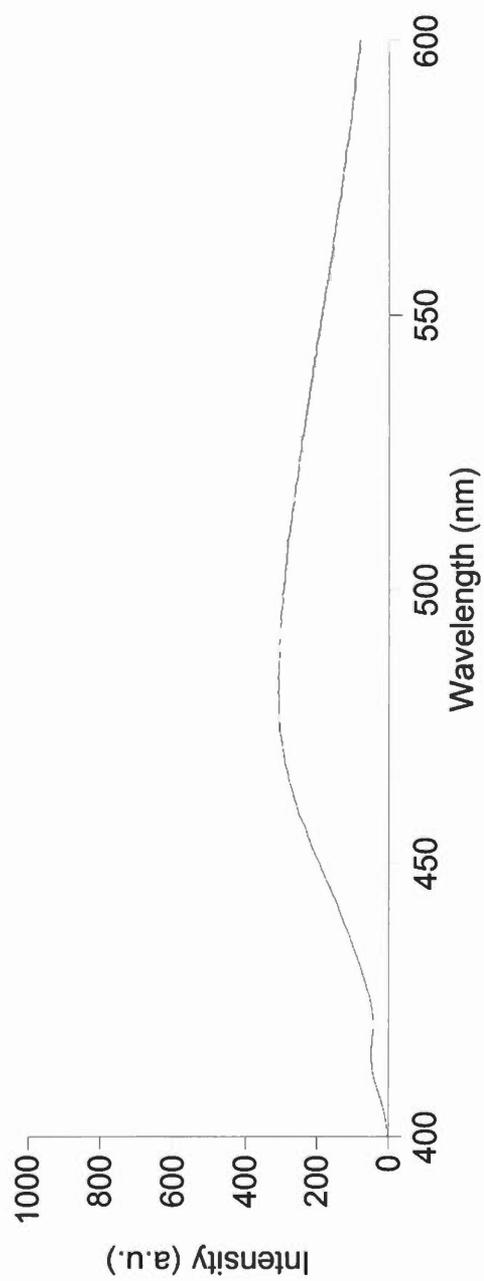
Spectre B.18 Spectre d'émission de la (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hydroxy-1,7-bis-(3-méthoxy-4-palmitoyloxyphényl)-1,4,6-heptatrièn-3-one (**9**)



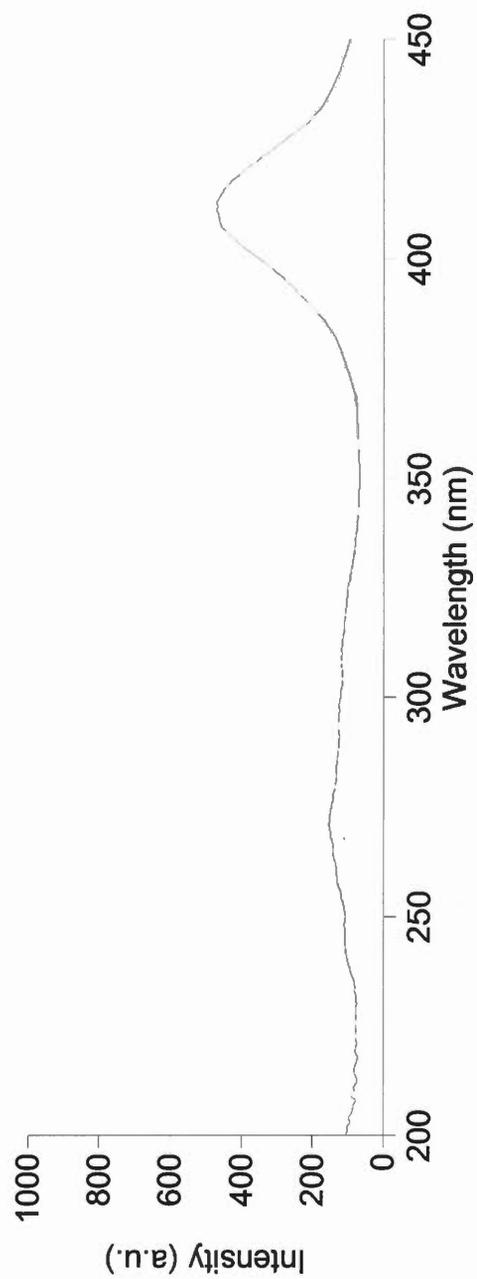
Spectre B.19 Spectre d'excitation de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**11**)



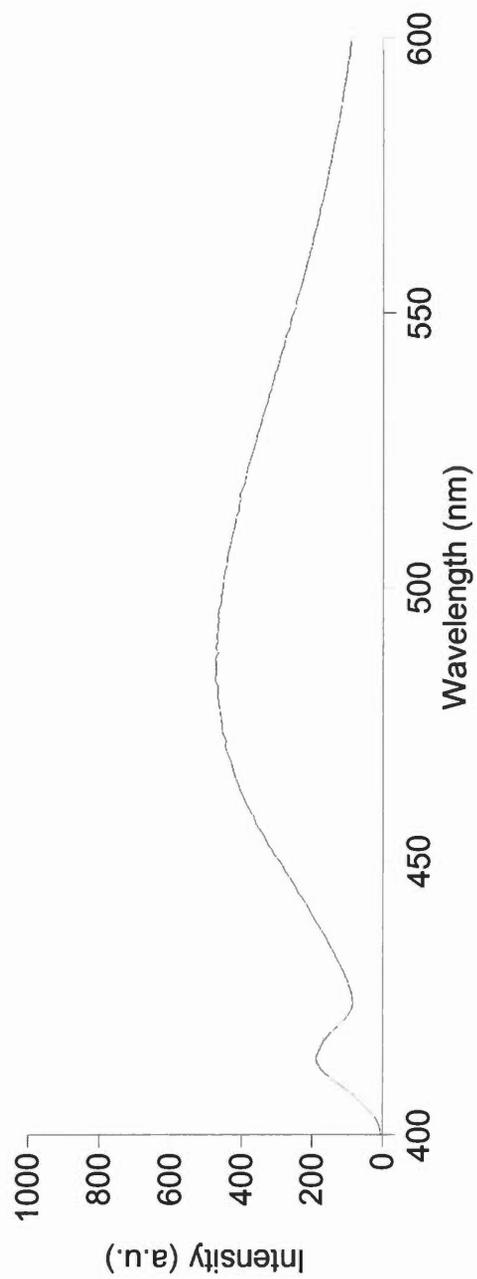
Spectre B.20 Spectre d'émission de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(3,4-diméthoxyphényl)-4,4-diméthyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**11**)



Spectre B.21 Spectre d'excitation de la (1E,6E)-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**12**)



Spectre B.22 Spectre d'émission de la (1*E*,6*E*)-1,7-bis-(3-méthoxy-4-propyloxyphényl)-4,4-dipropyl-1,6-heptadièn-3,5-dione (**12**)



ANNEXE C

CERTIFICAT D'ÉTHIQUE ET DOCUMENTS CONNEXES

## Demande de certificat d'éthique

**Demande de certification éthique – étudiant**  
**Par Gabriel Emond**  
**Le 13 décembre 2017**

Courriel : [Gabriel.Emond@uqtr.ca](mailto:Gabriel.Emond@uqtr.ca)

Fonction :

Secteur :

**Identification**

Le texte présenté doit être rédigé le plus clairement et le plus précisément possible. Il doit être écrit de façon à être bien compris par des personnes qui ne sont pas nécessairement familières avec le vocabulaire spécialisé propre à toutes les disciplines de recherche. Pour les rubriques spécifiant un nombre maximum de lignes, le texte excédentaire ne sera pas considéré.

- Avant de transmettre votre demande, il vous est possible de l'enregistrer en format pdf dans le menu imprimer et d'en conserver copie sous cette forme.
- Il est de la responsabilité du chercheur de conserver copie de tous les éléments concernant ses certificats éthiques et leurs suivis.

**1. Identification**

**1.1 Identification du responsable du projet**

Nom du responsable de la recherche :  
 Programme d'étude :

Gabriel Emond  
 Maîtrise de chimie

Courriel : [Gabriel.Emond@uqtr.ca](mailto:Gabriel.Emond@uqtr.ca) Téléphone : 514-718-1845

Nom du directeur de recherche :  
 Département :

Frank Crispino et Gervais Bérubé  
 Chimie, biochimie et physique

Courriel du directeur de recherche :

[Frank.Crispino@uqtr.ca](mailto:Frank.Crispino@uqtr.ca)

**1.2 Déclaration de conflit d'intérêt s'il y a lieu**

**Titre du projet :**

Révélation de tatouages effacés à l'aide de colorant semi-synthétique

Le projet est-il financé ?  Non

**Si oui**, par qui ?

Date prévue du début du recrutement :

2017-08-01

Date prévue de la fin de la recherche :

2017-11-30

**1.4 Équipe de recherche**

Identifiez chacune des personnes qui auront à intervenir lors de votre recherche en précisant le statut de chacune (étudiant, technicien, professionnel, chercheur) et le rôle qu'elle jouera (recrutement des participants, explication de la recherche, cueillette de données, etc.) :

Nom	Statut	Rôle	Formulaire signé*
Gabriel Emond	Étudiant	Explication de la recherche Cueillette des données Analyse des résultats	oui
Frank Crispino	Directeur de recherche	Supervision	oui
Gervais Bérubé	Directeur de recherche	Supervision	oui

\*Toute personne qui collabore à la recherche et qui, dans le cadre de cette collaboration, a accès aux données nominales doit, comme le chercheur principal, s'engager à respecter les règles éthiques en matière de confidentialité. Il est de la responsabilité du chercheur principal de faire signer les engagements à la confidentialité et de les conserver avec les formulaires de consentement.

**1.5 Partenaires**

S'agit-il d'un projet multicentrique ?  Non

**Si oui**, indiquez quelles institutions et quels chercheurs sont impliqués :

\*Joindre les certificats d'éthique des institutions dans la section « Documents à joindre ».

Est-ce que d'autres institutions, organismes, établissements ou unités administratives de l'UQTR sont impliqués ou collaborent à la recherche ?

Non

**Si oui**, indiquer leur nom ainsi que le nom de la personne de référence :

\*Joindre les lettres d'autorisation dans la section « Documents à joindre ».

Le projet nécessite-t-il des autorisations d'accès particulières ?  Non

**Si oui**, indiquez le nom de la personne autorisée à les donner et son titre :

## Projet

### 2. Projet

#### 2.1 Résumé

Donnez un aperçu global de vos objectifs de recherche, de votre méthodologie et de la population visée :

L'objectif de la recherche est de synthétiser un colorant semi-synthétique à partir de la curcumine dans le but d'élaborer une méthode de détection des tatouages effacés sur le vivant. Dix dérivés de la curcumine ont été synthétisés par l'équipe de recherche. La toxicité de ces dérivés a été évaluée par des tests de prolifération cellulaire sur des cellules de la peau in vivo. Ces tests ont démontré une toxicité plus faible que la curcumine, non toxique pour le vivant, qui est déjà utilisée dans des remèdes et des recettes alimentaires. Seulement trois de ces dix dérivés seront testés sur des humains, soit les trois ayant la toxicité la plus faible et la meilleure fluorescence. Alors que les conditions optimales d'application sont en cours de définition, des tests sur une personne ayant au moins un tatouage effacé sont désormais à envisager pour valider deux ans de recherche et déterminer le colorant ayant la meilleure efficacité.

#### 2.2 Problématique et/ ou cadre théorique (maximum 20 lignes)

Dans un contexte d'enquête policière ou de découverte de personnes, un tatouage est un identifiant permettant d'associer une identité et un individu [7, 8, 10, 26]. Lorsqu'une personne fait effacer son tatouage, cet identifiant est perdu et cela peut entraver l'enquête policière et porter atteinte aux droits des victimes lors d'une disparition. Si la photographie infrarouge est préconisée pour révéler les vestiges d'un tel tatouage, le peu de contraste de cette méthode relativise son intérêt opérationnel. Le présent projet consiste à élaborer une méthode complémentaire à la photographie infrarouge. Cette méthode se base sur une absorption différentielle de la substance colorée entre la peau saine et la peau cicatrisée. Lorsqu'une personne se fait tatouer ou se fait effacer son tatouage, la procédure va laisser une cicatrice. La peau cicatrisée est formée d'une grande quantité de collagène ce qui devrait causer la différence d'absorption. La peau va donc fluorescer intensément alors que la zone tatouée va fluorescer à un niveau moins élevé.

#### 2.3 Objectifs, hypothèses ou questions de recherche (maximum 20 lignes)

L'hypothèse sur laquelle se base cette recherche est que la peau cicatrisée, qui contient beaucoup plus de collagène, n'absorbera pas le produit colorant avec la même intensité que la peau saine. Il sera donc possible de voir un contraste entre la zone tatouée et le reste de la peau. Cette hypothèse sera confirmée avec les tests sur des personnes ayant au moins un tatouage effacé. De plus, les tests serviront à évaluer l'absorption des produits colorants dans la peau, déterminant non seulement l'efficacité de la méthode, mais encore le meilleur candidat pour un résultat optimal. Une sélection de trois produits parmi les dix synthétisés a été faite pour les tests sur les humains prenant en compte les tests de toxicité et de fluorescence.

#### 2.4 Pertinence du projet et/ou retombées anticipées (maximum 15 lignes)

La méthode développée permettra d'obtenir des informations supplémentaires dans le cadre des enquêtes policières comportant des tatouages effacés sur les personnes suspectées.

## Aspects méthodologiques

### 3. Aspects méthodologiques

#### 3.1 Devis de recherche (ex. rétrospective, projet pilote, étude avec groupe contrôle, cohorte, etc.) :

Le certificat d'éthique demandé permettra de conclure une recherche en maîtrise de chimie, dont le travail a d'ores et déjà été soutenu sur le plan théorique, illustrant la riche étude bibliographique et empirique effectuée. L'objectif ici, n'est pas tant l'obtention d'un échantillon représentatif de tatouages effacés que l'accès anonyme à des personnes qui en seraient dotées pour confronter le concept développé à la réalité opérationnelle. Une demi-douzaine de volontaires seraient suffisants. Ils seront approchés par affichage à l'UQTR et affichage dans des lieux susceptibles d'être fréquentés par des personnes ayant un tatouage effacé (salon de tatouage, centre dermatologique, etc.).

#### 3.2 Déroulement des activités impliquant les participants (ex. formation de deux semaines avec pré-test et post-test, une séance d'une heure et demie, etc.) :

Dès l'identification d'un volontaire, un questionnaire d'éligibilité lui sera envoyé. Une fois le questionnaire retourné par courriel, un formulaire d'information et de consentement ainsi qu'un questionnaire d'information lui seront envoyés. Le formulaire d'information et de consentement

contient les modalités de sa participation anonyme, incluant son droit de se retirer à tout moment. Ce document précisera la méthode de révélation utilisée, insistant sur son caractère indolore, non intrusif et sécuritaire pour la santé du volontaire. Une date de rencontre pour l'expérimentation sera fixée entre le participant et le chercheur. Le chercheur restera disponible pour répondre aux questions du volontaire entre son identification et le rendez-vous expérimental.

La séance expérimentale se déroulera à l'UQTR, au 3115b CIPP. Pour le stationnement, le chercheur déboursera le montant nécessaire pour une heure de stationnement à l'université. Les dates de révélation de tatouages sur volontaires seront communiquées au professeur Crispino, en vue de rechercher des étudiants de premier cycle du programme de chimie, profil criminalistique pour assister le chercheur responsable de l'expérimentation. En cas d'impossibilité de trouver des étudiants pour la date indiquée, le chercheur s'engage à appeler à la collaboration d'étudiants de deuxième cycle de son entourage. Sinon, l'un des cadres de cette recherche l'assistera.

Après avoir rappelé au volontaire les usages de la curcumine (produit alimentaire, donc sans dommage pour le corps humain et les résultats des tests in vitro de toxicité effectués par le professeur R. C-Gaudreault et son laboratoire), une gaze imbibée d'une solution de dérivés de la curcumine employés pour la révélation des tatouages effacés, de concentration des principes actifs 10 fois supérieure à celle utilisée sur la zone inspectée ultérieurement, sera frottée sur le dos d'une main du volontaire, ou toute autre partie non intime à sa convenance. Durant 5 minutes, le/la volontaire fera part d'éventuels inconforts sensoriels, tandis que la zone sera observée sous éclairage naturel pour détecter toute réaction cutanée. Passé ce délai, la zone sera nettoyée à l'eau et au savon, avant de passer à la phase de révélation des tatouages effacés, si aucune réaction négative n'a été observée dans la phase précédente et si la personne maintient son volontariat de participer à l'étude.

Une prise de photographies de la zone du tatouage effacé servira de référence. Une application des trois solutions de colorants sera effectuée (les solutions seront faites à partir d'alcool à friction achetée en pharmacie et auront une concentration à l'échelle du ppm, donc très faible). Les solutions ont été choisies parmi toutes celles synthétisées pour leur faible toxicité et leur grande fluorescence permettant d'utiliser des solutions à des concentrations très faibles. Après une prise de photographies à la lumière visible, des photographies à l'aide d'une lampe judiciaire permettront d'illuminer le colorant avec la bonne longueur d'onde pour qu'il y ait fluorescence. Les longueurs d'onde d'excitation se trouvent dans la lumière visible (entre 390 et 450 nm) ce qui n'est pas dangereux pour la peau. Les seules personnes présentes lors de cette rencontre seront le participant, le chercheur et un étudiant de premier cycle inscrit au programme de chimie profil criminalistique (ou un étudiant de deuxième cycle si aucun étudiant de premier cycle n'est disponible). Dans le cas où le tatouage du participant est situé dans une zone plus intime, le participant sera invité à amener un costume de bain permettant de voir le tatouage. Il pourra se changer derrière un rideau installé dans la salle ou aller aux toilettes situées dans un corridor adjacent. Quoiqu'il en soit, les photographies vont cibler seulement la zone du tatouage et ne permettront pas d'identifier le participant.

### 3.3 Outils de recherche

Sélectionnez tous les types d'outils qui seront utilisés dans le cadre de votre projet :

Test/Mesure

Pour chacun des types d'outils que vous aurez sélectionnés, donner une description détaillée incluant :

- une justification de son utilisation;
- une indication de la validité (si possible);
- la fréquence d'administration;
- le lieu de passation;
- le temps requis pour la passation.

Une source lumineuse médico-légale PAGLAB MSA-B10

La source lumineuse permettra d'illuminer la solution sur la peau des candidats avec la bonne longueur d'onde pour générer la fluorescence du produit coloré. Elle sera utilisée le temps de prendre les photographies. La source possède une puissance de 120 W. Les longueurs d'onde utilisées seront de 415 et 440 nm. Les sources lumineuses appartiennent au département de Chimie, Biochimie et Physique, et sont gérées par les professeurs et techniciens du profil criminalistique du baccalauréat en chimie, dont le professeur Frank Crispino, codirecteur de ce mémoire. Elles sont entreposées dans la chambre noire, local 3115b du CIPP.

Un appareil photographique Nikon DX3200

L'appareil photographique permettra d'enregistrer les résultats qui pourront être évalués plus tard. Selon la position du tatouage, entre 3 et 5 photographies seront prises. Chaque photographie devrait prendre environ 1 minute. Les appareils photographiques appartiennent au département de Chimie, Biochimie et Physique, et sont gérés par les professeurs et techniciens du profil criminalistique du baccalauréat en chimie, dont le professeur Frank Crispino, codirecteur de ce mémoire. Ils sont entreposés dans une armoire barrée du local 3132 CIPP. L'appareil photographique sera utilisé avec un filtre jaune qui permettra d'obtenir un meilleur contraste sur la photographie.

### 3.4 Plan d'analyse des données

Donnez une description sommaire des paramètres d'analyse et des méthodes statistiques qui seront utilisées :

L'analyse des résultats se fera de manière qualitative dans le but de déterminer s'il y a vraiment un contraste entre la peau cicatrisée et saine.

Participants

#### 4. Les participants

##### 4.1 Nombre de participants requis et justification de la taille de l'échantillon :

Une demi-douzaine de volontaires serait suffisante, car le but n'est pas d'obtenir un échantillon représentatif de tatouages effacés, mais bien de tester la méthode développée à la réalité opérationnelle.

##### 4.2 Critères de sélection – inclusion :

Le participant possède au moins un tatouage qui a été effacé. Il est âgé d'au moins 18 ans. Le nombre d'années entre l'effacement du tatouage et sa révélation ne doit pas dépasser 50 ans.

##### 4.3 Critères de sélection – exclusion :

Le participant ne possède pas de tatouage effacé ou présente des blessures récentes à l'endroit du tatouage effacé. Le participant a des problèmes de peau sur la zone du tatouage effacé. Le tatouage effacé est situé sur le visage de la personne (afin d'éviter, même par inadvertance, toute exposition des yeux à une lumière forte).

##### 4.4 Modalités de recrutement

Indiquez la stratégie que vous utiliserez pour obtenir les coordonnées des participants et pour entrer en contact avec eux :

Un premier contact sera effectué dans des établissements susceptibles d'avoir des clients avec des tatouages effacés comme des salons de tatouages ou des centres de soins dermatologiques. Le chercheur ira en personne rencontrer les propriétaires des lieux et discutera du projet avec eux. Si les propriétaires sont d'accord, un dépliant leur sera laissé pour qu'il puisse le transmettre aux personnes intéressées. Le dépliant contiendra un bref résumé du projet ainsi que l'adresse courriel de l'étudiant responsable du projet. Les personnes désirant participer pourront communiquer avec l'étudiant par courriel et poser leur question. De plus, des dépliants seront affichés sur des babillards de l'université et des courriels seront envoyés à la communauté UQTRienne présente pendant la période de recherche.

Si justifié, indiquer où et par qui seront effectués les tests ou examens requis pour déterminer l'éligibilité des sujets :

Un questionnaire d'éligibilité sera envoyé par courriel aux participants suite à leur intérêt pour le projet. Les résultats seront compliés par l'étudiant responsable du projet. Un courriel leur sera ensuite envoyé pour les informer s'ils sont éligibles ou non (Voir le document Courriel d'éligibilité).

Indiquez la stratégie que vous utiliserez pour sélectionner des participants et/ou pour former des groupes (contrôle/expérimental) :

Aucun groupe ne sera formé puisque ce test sert à confirmer l'hypothèse qu'il y aura une différence de contraste entre la peau cicatrisée et la peau saine.

##### 4.5 Présentation du projet

Précisez quand, où et comment se fera la présentation de la recherche aux participants :

Lorsque les personnes intéressées communiqueront avec l'étudiant en charge, un questionnaire d'éligibilité leur sera envoyé. Lorsqu'ils auront envoyé leur réponse à l'étudiant et que celui-ci aura déterminé qu'ils sont éligibles, l'étudiant leur enverra une lettre d'information et de consentement ainsi qu'un questionnaire d'information sur leurs tatouages effacés. Une rencontre avec l'étudiant sera également organisée à l'université. Lors de cette rencontre, l'étudiant expliquera plus en détail le projet et répondra aux questions des participants. Si les personnes intéressées ne sont pas éligibles, un courriel leur sera envoyé pour les avertir qu'ils ne pourront pas participer à la recherche (Voir le document Courriel d'éligibilité).

##### 4.6 Divulgence partielle

Des informations concernant l'objet de la recherche doivent-elles être cachées aux participants ?  Non

Si oui, justifiez

##### 4.7 Populations vulnérables

La recherche inclut-elle :

- Des mineurs?  Non
- Des majeurs reconnus mentalement incapables à donner un consentement libre et éclairé ?  Non
- Des personnes en établissement carcéral ?  Non
- Des autochtones ?  Non

Autres?

Si oui, précisez les moyens que vous comptez utiliser pour assurer leur protection :

##### 4.8 Liens de dépendance

La recherche inclut-elle des personnes ayant une relation :

- Client-professionnel avec vous ou un membre de votre équipe ?  Non
- Étudiant-professeur avec vous ou un membre de votre équipe ?  Non
- Employés-employeur avec vous ou un membre de votre équipe ?  Non
- Affective avec vous ou un membre de votre équipe ?  Non
- Autre ?  Non

**Si oui**, précisez quel est ce lien, les implications pour la recherche et les moyens que vous comptez utiliser pour préserver le consentement libre de ces personnes :

#### 4.9 Implication de la communauté d'appartenance

La recherche implique-t-elle l'accord de la communauté à laquelle appartiennent les participants ?  Non

**Si oui**, indiquez les moyens que vous comptez utiliser pour obtenir cet accord :

#### 4.10 Compensation – Incitatif – Rémunération

Le projet prévoit-il une compensation, une rémunération ou un incitatif à participer pour les participants ?  Non

Si oui, indiquez ce qu'il en est et indiquez quand et comment sera remis cette compensation, cette rémunération ou cet incitatif à participer :

#### 4.11 Risques et Inconvénients

Le projet de recherche implique-t-il des inconvénients (ex. déplacement, anxiété, fatigue, inconfort) ou des risques pour certains participants (physiques, psychologiques, familiaux, professionnels, sociaux, économiques, politiques, autres) ?  Oui

**Si oui**, précisez la nature de ces risques ou de ces inconvénients :

Plusieurs études ont démontré que la curcumine n'était pas toxique pour l'humain lorsqu'ingérée, a fortiori donc sur la peau. Cependant, une réaction allergène cutanée pourrait être envisagée, du fait que c'est la première fois qu'un projet de recherche appliquera de la curcumine directement sur la peau. Les effets sont donc inconnus. L'utilisation de lumière peut endommager les yeux s'ils ne sont pas protégés. Le déplacement et le temps nécessaire pour la rencontre sont également des inconvénients.

Indiquez les stratégies utilisées pour prévenir les risques et diminuer les inconvénients :

Dans le but de diminuer les risques le plus possible, des tests de proliférations cellulaires sur des cellules de peau in vivo ont été effectués. Ces tests démontrent que les dérivées de la curcumine sont moins toxiques que cette dernière. Trois des dix dérivés synthétisés ont été choisis, car ils possèdent la plus faible toxicité. Les faibles concentrations des solutions (échelle du ppm) et le fait que la curcumine soit présente dans le curcuma (épice que l'on utilise fréquemment en cuisine) dans des concentrations plus élevées que dans nos solutions, nous laissent penser qu'il n'y aura pas de réaction indésirable. Cependant, il ne saurait être exclu un risque d'irritation de la peau ou une réaction allergique. Si de tels phénomènes se produisent, le participant sera invité à nettoyer à grande eau la zone du tatouage pour enlever la solution colorante. De plus, une trousse de premiers secours sera mise à la disposition du chercheur, pour réagir à toute réaction allergique ou irritation. Si ces précautions ne suffisent pas, le participant sera amené à l'hôpital par le chercheur. Des lunettes de protection seront fournies au participant pour se protéger les yeux de la lumière utilisée.

Indiquez les personnes (ou organismes)-ressources qui pourront venir en aide aux participants si besoin est :

#### 4.12 Avantages

Précisez la nature des avantages que peuvent retirer les participants de leur participation à la recherche :

Les participants seront fiers d'avoir contribué à l'avancement du projet de recherche et de la science en général.

#### 4.13 Informations sur les résultats de la recherche

Les résultats de la recherche seront-ils communiqués aux participants ?  Oui

**Si oui**, précisez les moyens que vous comptez utiliser pour les informer :

Un courriel avisera les volontaires du dépôt du mémoire de maîtrise sur le site COGNITIO de l'UQTR, pour qu'ils puissent le récupérer.

#### 4.14 Documentation de consentement

Obtiendrez-vous un consentement écrit des participants de la recherche ?  Oui

**Si oui**, indiquez comment sera obtenu le consentement écrit :

Lorsque le candidat contactera l'étudiant responsable, celui-ci lui fera parvenir par courriel la lettre d'information et de consentement. Le candidat devra lire la lettre d'information et remplir la feuille de consentement à la fin de ce document. Cette dernière devra être amenée le jour de l'expérimentation qui sera espacé d'au moins 24 heures par rapport au courriel, temps minimal de réflexion accordée au volontaire.

**Si non**, justifiez l'impossibilité de l'obtenir et précisez les moyens qui seront utilisés pour vous assurer de la liberté des participants de participer à la recherche :

#### Confidentialité

### 5. Confidentialité

#### 5.1 Protection des données à caractère personnel

##### Précisez

- sous quel type de support les données seront conservées
- le lieu de conservation
- les personnes qui y auront accès
- la durée prévue de conservation
- les modalités de destruction :

1) Aucune donnée identificatoire ne sera récoltée. La participation des individus est complètement anonyme. 2) Les données descriptives des tatouages effacés (zone, taille, emplacement, motif, date de tatouage, date d'effacement) et les images seront conservées sur une clé USB (sécurisée à l'aide d'un mot de passe) à la disposition de l'étudiant durant le temps de sa recherche, puis sécurisée dans le coffre-fort du professeur Crispino (3154 CIPP) ensuite pendant 5 ans (voir point 5.2). A l'issue, elles seront détruites sous la responsabilité du professeur mentionné. Les seules personnes qui auront accès aux données seront les deux directeurs de maîtrise et le chercheur. En cas d'exploitation pour publications scientifiques, aucune autre indication que la zone, la taille, l'emplacement, le motif, la date de tatouage et la date d'effacement n'illustreront les images réalisées et exploitées, interdisant toute identification de la personne volontaire.

Indiquez quelles sont les mesures envisagées pour assurer la protection des données à caractère personnel :

Les photographies seront enregistrées dans des répertoires définis sous la forme d'une date et d'une heure (AAMMJ. HHMM) des photographies, suivie d'un bref descriptif du tatouage. Elles ne disposeront d'aucun autre moyen d'identification de la personne à leur origine.

#### 5.2 Utilisation ultérieure

Est-ce que les données pourraient être utilisées dans une recherche ultérieure ?  Oui

**Si oui**, précisez sous quelle forme elles pourraient être accessibles et les moyens utilisés pour informer les participants de cette éventualité :

La clé USB sera laissée au directeur de maîtrise qui pourra la remettre à un étudiant désirant poursuivre le projet dans les années suivantes. Les participants seront mis au courant de la possibilité que le projet se continue et que leurs images puissent servir ultérieurement.

#### 5.3 Moyens de diffusion des résultats

Indiquez les moyens de diffusion prévus (articles, thèses, communication dans des congrès, communication des résultats aux participants) :

Communication dans des congrès, publication d'un article et/ou mémoire de fin de maîtrise.

#### Références

##### Références bibliographiques

Indiquez les références bibliographiques en lien avec votre projet de recherche (jusqu'à un maximum de 10 références) :

1. Starkie A, Birch W, Ferlini R, Thompson TJU. Investigation into the Merits of Infrared Imaging in the Investigation of Tattoos Postmortem. Journal of Forensic Sciences. 2011;56(6):1569-73.
2. Jain AK, Lee J-E, Jin R. Tattoo-ID: Automatic tattoo image retrieval for suspect and victim identification. 2007, p. 256-65.
3. Lee J, r J, Jain A, Tong W. Image Retrieval in Forensics: Tattoo Image Database Application. IEEE MultiMedia. 2012;19(1):40-9.
4. Miranda MD. The chemical analysis of modern tattoo inks [Ph.D.]. Ann Arbor: City University of New York; 2012.

#### Documents à joindre

## Formulaire d'information et de consentement



## FORMULAIRE D'INFORMATION ET DE CONSENTEMENT

<b>Titre du projet de recherche :</b>	Révélation de tatouages effacés à l'aide de colorant semi-synthétique
<b>Chercheur responsable du projet de recherche :</b>	Gabriel Emond, Département de chimie, biochimie et physique, Maitrise en chimie, UQTR
<b>Membres de l'équipe de recherche :</b>	Gervais Bérubé, Département de chimie, biochimie et physique, Directeur de recherche, UQTR Frank Crispino, Département de chimie, biochimie et physique, Directeur de recherche, UQTR

**Préambule**

Votre participation à la recherche, qui vise à mieux comprendre la détection de tatouage effacé sur le vivant, serait grandement appréciée. Cependant, avant d'accepter de participer à ce projet et de signer ce formulaire d'information et de consentement, veuillez prendre le temps de le lire. Il vous aidera à comprendre ce qu'implique votre éventuelle participation à la recherche de sorte que vous puissiez prendre une décision éclairée à ce sujet.

Ce formulaire peut contenir des mots que vous ne comprenez pas. Nous vous invitons à poser toutes les questions que vous jugerez utiles au chercheur responsable de ce projet de recherche ou à un membre de son équipe de recherche. Sentez-vous libre de leur demander de vous expliquer tout mot ou renseignement qui ne serait pas clair. Prenez tout le temps dont vous avez besoin pour lire et comprendre ce formulaire avant de prendre votre décision.

**Objectifs et résumé du projet de recherche**

L'objectif de ce projet de recherche est de révéler des tatouages effacés à l'aide de colorants semi-synthétiques. Les colorants ont été synthétisés à partir de la curcumine qui est la molécule principale du curcuma. Ces derniers possèdent la capacité de fluorescer. Des tests *in vitro* ont démontré une faible toxicité et donc un faible risque. Une application de ces colorants sur la zone du tatouage effacé devrait permettre de voir une partie du tatouage malgré son effacement. Le principe est que la cicatrice laissée par le tatouage et son effacement vont causer une différence d'absorption du colorant. Cette différence sera utilisée pour obtenir de l'information sur le tatouage.



#### **Nature et durée de votre participation**

Votre participation à ce projet de recherche consiste à répondre au questionnaire d'information qui porte surtout sur vos tatouages effacés, par exemple : l'endroit et l'année où ils ont été faits, effacés, etc. Par la suite, une date sera fixée pour une rencontre d'une durée d'une heure durant laquelle vous devrez vous présenter à l'Université du Québec à Trois-Rivières. Cette rencontre pourra se faire à tout moment de la journée soit entre 8h00 et 18h00 tous les jours de la semaine. Un maillot de bain pourrait être nécessaire pour laisser voir le tatouage. Des salles de bains permettront de se changer au besoin. Au cours de cette rencontre, un test de réaction à la curcumine sera effectué. Si ce test ne démontre pas de réaction de la peau et que vous désirez continuer, des photographies de la zone des tatouages effacés seront prises en tant que références. Ensuite, des solutions colorantes à base d'alcool à friction (isopropanol, eau et dérivé de la curcumine) seront appliquées sur la zone de votre(vos) tatouage(s) effacé(s) et des photographies seront prises à la lumière blanche puis en fluorescence. Les photographies seront prises par l'étudiant en charge du projet avec l'aide d'un(e) étudiant de premier cycle inscrit au programme de chimie profil criminalistique.

#### **Risques et inconvénients**

Puisqu'il n'y a pas de précédent à appliquer de la curcumine directement sur la peau, il y a un risque de réaction tel qu'une irritation sur la zone d'application ou une réaction allergique. Un test sera effectué sur le dessus de votre main (ou toute autre zone de votre choix). Après 5 minutes, vous pourrez laver la zone avec de l'eau et du savon. Si une démangeaison ou une irritation survenait, un lavabo sera mis à disposition pour rincer à grande eau la zone colorée. Si les effets persistent, l'étudiant aura à sa disposition une trousse de premier soin pour nettoyer complètement la zone et prendre toute mesure complémentaire dictée par le souci de santé du volontaire. Des lunettes de protection seront fournies pour protéger le(a) participant(e) lors de l'illumination de la zone d'intérêt. Le temps nécessaire pour l'ensemble de l'expérience est d'une heure.

#### **Avantages ou bénéfices**

La contribution à l'avancement des connaissances au sujet de la détection de tatouage effacé sur le vivant est le seul bénéfice prévu à votre participation.

#### **Compensation ou incitatif**

Les frais de stationnement pour une durée d'une heure seront remboursés sous présentation du billet de l'horodateur des stationnements de l'université.

#### **Confidentialité**

Les données recueillies par cette étude sont entièrement anonymes et ne pourront en aucun cas mener à votre identification. Les photographies vont cibler la zone de tatouage et ne permettront pas de vous identifier. Votre anonymat sera assuré par l'absence d'identifiant réel dans le nom de fichier des photographies. Les données acquises seront exploitées seulement dans le cadre de ce mémoire, d'articles scientifiques ou de communications lors de congrès. Les photographies utilisées ne permettront pas d'identifier les participants.

Les données recueillies seront conservées dans une clé USB sécurisée par un mot de passe. Les seules personnes qui y auront accès seront le chercheur (Gabriel Emond) ainsi que ses directeurs de recherche (Gervais Bérubé et Frank Crispino). Toutes ces personnes ont signé un engagement à la confidentialité. Les données seront détruites dans un délai de cinq ans.



Acceptez-vous que vos données de recherche soient utilisées pour réaliser d'autres projets de recherche portant sur les tatouages effacés? Ces projets de recherche seront évalués et approuvés par le Comité d'éthique de la recherche de l'UQTR avant leur réalisation. Vos données de recherche seront conservées de façon sécuritaire dans un coffre-fort dans le bureau du professeur Crispino auquel seul ce dernier aura accès. Vos données de recherche seront conservées aussi longtemps qu'elles peuvent avoir une utilité pour l'avancement des connaissances scientifiques. Lorsqu'elles n'auront plus d'utilité, ces données de recherche seront détruites.

Je consens à ce que mes données de recherche soient utilisées à ces conditions :  Oui  Non

#### **Participation volontaire**

Votre participation à cette étude se fait sur une base volontaire. Vous êtes entièrement libre de participer ou non, sans préjudice et sans avoir à fournir d'explications.

#### **Responsable de la recherche**

Pour obtenir de plus amples renseignements ou pour toute question concernant ce projet de recherche, vous pouvez communiquer avec Gabriel Emond à l'adresse suivante : [Gabriel.Emond@uqtr.ca](mailto:Gabriel.Emond@uqtr.ca)

#### **Organisme ressource**

En cas de problème suite à votre participation, certains organismes pourraient vous aider.

Centre antipoison du Québec	1-800-463-5060
Centre hospitalier régional de Trois-Rivières	819-697-3333

#### **Surveillance des aspects éthique de la recherche**

Cette recherche est approuvée par le comité d'éthique de la recherche avec des êtres humains de l'Université du Québec à Trois-Rivières et un certificat portant le numéro CER-17-236-07.14 a été émis le 19 juillet 2017.

Pour toute question ou plainte d'ordre éthique concernant cette recherche, vous devez communiquer avec la secrétaire du comité d'éthique de la recherche de l'Université du Québec à Trois-Rivières, par téléphone (819) 376-5011, poste 2129 ou par courrier électronique [CEREH@uqtr.ca](mailto:CEREH@uqtr.ca).



## CONSENTEMENT

### Engagement de la chercheuse ou du chercheur

Moi, Gabriel Emond, m'engage à procéder à cette étude conformément à toutes les normes éthiques qui s'appliquent aux projets comportant la participation de sujets humains.

### Consentement du participant

Je, [nom du participant], confirme avoir lu et compris la lettre d'information au sujet du projet Révélation de tatouages effacés à l'aide de colorant semi-synthétique. J'ai bien saisi les conditions, les risques et les bienfaits éventuels de ma participation. On a répondu à toutes mes questions à mon entière satisfaction. J'ai disposé de suffisamment de temps pour réfléchir à ma décision de participer ou non à cette recherche. Je comprends que ma participation est entièrement volontaire et que je peux décider de me retirer en tout temps, sans aucun préjudice.

### J'accepte donc librement de participer à ce projet de recherche

Participant:	Chercheur :
Signature :	Signature :
Nom :	Nom :
Date :	Date :

## Questionnaire d'information

**QUESTIONNAIRE D'INFORMATION**

<b>Titre du projet de recherche :</b>	Révélation de tatouages effacés à l'aide de colorant semi-synthétique
<b>Chercheur responsable du projet de recherche :</b>	Gabriel Emond, Département de chimie, biochimie et physique, Maitrise en chimie, UQTR
<b>Membres de l'équipe de recherche :</b>	Gervais Bérubé, Département de chimie, biochimie et physique, Directeur de recherche, UQTR Frank Crispino, Département de chimie, biochimie et physique, Directeur de recherche, UQTR



**Questionnaire**

En quelle année votre(vos) tatouage(s) a/ont-il(s) été fait(s)?

Où avez-vous fait faire votre/vos tatouage(s)?

En quelle année avez-vous fait effacer ce(s) tatouage(s)?

Où avez-vous fait effacer votre/vos tatouage(s)?

Quel était la méthode d'effacement?

## Formulaire d'éligibilité

**FORMULAIRE D'ÉLIGIBILITÉ****Titre du projet de recherche :**

Révélation de tatouages effacés à l'aide de colorant semi-synthétique

**Chercheur responsable du projet de recherche :**Gabriel Emond, Département de chimie, biochimie et physique,  
Maitrise en chimie, UQTR**Membres de l'équipe de recherche :**Gervais Bérubé, Département de chimie, biochimie et physique,  
Directeur de recherche, UQTRFrank Crispino, Département de chimie, biochimie et physique,  
Directeur de recherche, UQTR



**Questionnaire**

Quel âge avez-vous?

Quel(s) tatouage(s) effacé(s) acceptez-vous de porter à notre connaissance?

Où est/sont-il(s) situé(s)?

Avez-vous un tatouage qui recouvre un tatouage effacé ? Lequel ?

Avez-vous une plaie sur la zone de votre/vos tatouage(s) effacé(s)?

Avez-vous des problèmes de peau sur la zone de votre/vos tatouage(s) effacé(s)?

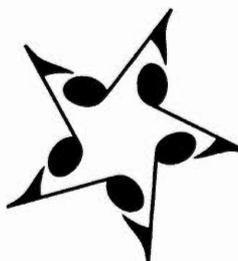
Êtes-vous allergiques au curcuma ou à l'alcool à friction?

Affiche de recherche de participant



## Participants recherchés

Projet de recherche:  
Révélation de tatouages  
effacés à l'aide de colorants  
semi-synthétiques  
(Produits à partir de produits  
naturels inoffensifs pour la santé)



Le projet de recherche consiste à tenter de révéler des tatouages effacés. La révélation se fait à l'aide de dérivés de la curcumine, molécule principale du curcuma.

Si vous désirez obtenir plus d'information sur ce projet de recherche ou participer à celui-ci, écrivez-nous à l'adresse suivante :

[Gabriel.Emond@uqtr.ca](mailto:Gabriel.Emond@uqtr.ca)



## ANNEXE D

### PRÉSENTATIONS ET ARTICLE DE PRESSE

Affiches scientifiques

[https://oraprdnt.uqtr.quebec.ca/pls/public/gscw031?owa\\_no\\_site=4215&owa\\_no\\_fiche=16&owa\\_bottin=](https://oraprdnt.uqtr.quebec.ca/pls/public/gscw031?owa_no_site=4215&owa_no_fiche=16&owa_bottin=)

Article de presse

[https://oraprdnt.uqtr.quebec.ca/pls/public/gscw031?owa\\_no\\_site=4215&owa\\_no\\_fiche=9&owa\\_bottin=](https://oraprdnt.uqtr.quebec.ca/pls/public/gscw031?owa_no_site=4215&owa_no_fiche=9&owa_bottin=)





IAFS 2017

## Towards the Development of Semi-Synthetic Staining for the Detection of Erased Tattoo on the Living

UQTR


 Université du Québec  
à Trois-Rivières

 Gabriel Emond<sup>1</sup>, Marie-France Côté<sup>3</sup>, René C.-Gaudreault<sup>3</sup>, Gervais Bérubé<sup>1</sup>, Frank Crispino<sup>2</sup>
<sup>1</sup>Département de Chimie, Biochimie et Physique, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, QC/Canada,

<sup>2</sup>Laboratoire de recherche en criminalistique et Centre international de criminologie comparée, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, QC/Canada,

<sup>3</sup>CRCHUQ Hôpital Saint-François d'Assise, Québec, QC/Canada


### Introduction

Voluntary distinctive marks such as tattoos make it possible to affirm a person's affiliation to a group, to indelibly wear one's story or to transform all or part of one's body into an artwork.

Tattoos can help establish the identity of a victim of a crime, disaster or of an offender. Thus, the removal of tattoos can pose problems for identification.

While histological restoration techniques are possible on a corpse, the challenge remains to develop a safe and painless method to be used on a living person.

### Objective

The goal of this project is to develop a new method to reveal erased tattoo on the living.

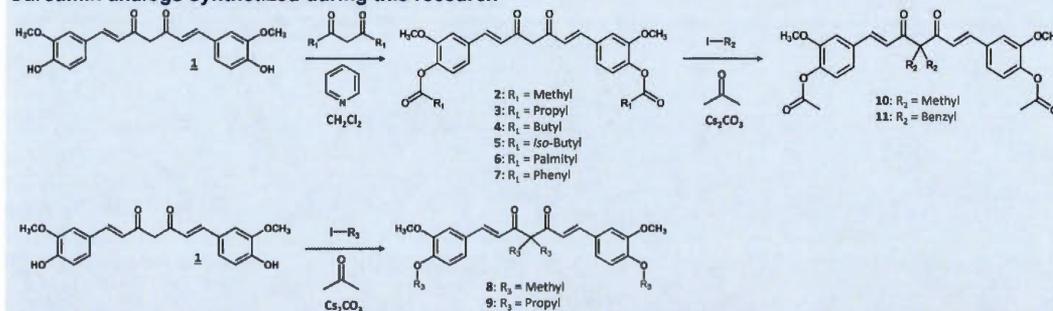
Dietary natural stains were thought as a good starting point to develop a safe and painless method to increase undiscernible potential contrast on a living person between healthy untouched cells and phagocytosed ones having previously being used to form a tattoo. Most of these products are safe and highly luminescent. The hypothesis is that the invisible scar created by a laser to erase a tattoo will absorb the staining differently than the healthy skin, creating a contrast between each other.

### Curcumin

Curcumin is a natural product isolated from the plant *Curcuma longa*, which is still in use today by the Indian and the Chinese people as a natural medicine [3,4].

Research revealed several interesting properties of curcumin such as anti-inflammatory and anti-carcinogenic activities [3,4,5]. Curcumin also possesses fluorescent activity which will be useful for the revelation of erased tattoo [4]. Curcumin was selected as a molecular template to design the semi-synthetic analogs shown in this poster.

### Curcumin analogs synthesized during this research



### Public health antiproliferative assays

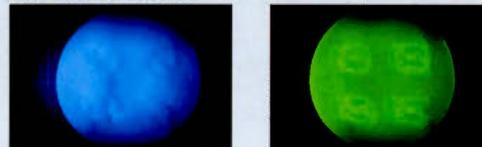
Molecules	Substituents	HaCat	DU-145	MCF-7	MDA-MB-231	SKOV3
1	$R_1$ H, $R_2$ H	5.8	10.5	6.2	10.5	10.1
2	Acetyl, H	4.9	8.7	3.3	9.6	10.7
3	Propionyl, H	8.7	9.8	6.7	15.2	20.1
4	Butyryl, H	7.7	20.0	4.8	13.7	17.3
5	Iso-Butyryl, H	11.8	24.4	7.2	20.2	20.8
6	$CH_3$ , $CH_3$	0.9	2.0	0.8	1.7	3.6
9	$CH_3CH_2CH_2$ , $CH_3CH_2CH_2$	> 100	92.0	49	> 100	> 100
10	Acetyl, $CH_3$	18.6	2.3	1.6	2.2	3.3
11	Acetyl, Benzyle	7.4	7.7	4.5	8.1	7.7

Molecules 8 and 7 were not tested because they were insoluble at 40  $\mu$ M.

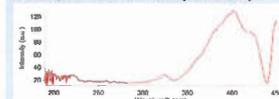
### Conclusion

- Esters derivatives (2-5) showed lower toxicity than that of curcumin. So, it will be possible to use them as tests on living persons.
- Molecule 9 have the lowest toxicity of all the curcumin analogs. We believe, it is the best candidate to be tested on the living.
- Derivate 10 have a smaller toxicity on skin cells but presents higher toxicity on cancer cells. Its potential as an anticancer agent will be investigated in a later study.
- Tests to develop gelatine marks deposited on paper support the concept to create contrast between different lipid substrates.
- Tests are underway on skin, both on undiscernible scars and laser-erased tattoos.

### Fluorescence studies

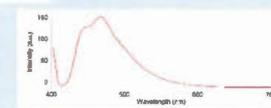


Test with a rubber stamp for the application of gelatine. The staining solution is prepared with rubbing alcohol and molecule 2 at a concentration of 5 ppm. (Illumination at 440 nm and the pictures taken with a yellow filter)



Fluorescent absorption of product 2 at a concentration of 2 ppm (Up)

Fluorescent emission of product 2 at a concentration of 2 ppm (Right)



### References

1. De Barros, A., D. Carlucci, and F. Iriarte. The use of infrared rays for identification purposes. *Journal of Forensic Identification*, 2008, 58(2): p. 163-202.
2. Makkechria, M. L., G. Porier, and N. Langlois. The detection of latent residue tattoo ink pigments in skin using invisible radiation photography. *Australian Journal of Forensic Sciences*, 2008, 40(1): p. 65-72.
3. Ekanayegge, T., et al. Curcumin—from molecule to biological function. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, 51(22): p. 5308-5332.
4. Tian, M. H., M. Diabito, and M. Diederich. Hybrid curcumin compounds: a new strategy for cancer treatment. *Molecules*, 2014, 19(12): p. 20039-45.
5. Liu, B., et al. Synthesis and Antiproliferative Effect of Novel Curcumin Analogues. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2013, 61(7): p. 757-763.

## ACFAS 2016

9/5/2018

Mains d'infirmière, plus de morts ? - La Presse+



### CET ÉCRAN A ÉTÉ PARTAGÉ À PARTIR DE LA PRESSE+

Édition du 9 mai 2016,  
section ACTUALITÉS, écran 9



CONGRÈS DE L'ACFAS

### DU CURCUMA CONTRE LES CRIMINELS TATOUÉS ?

C'est l'histoire d'un chercheur qui se tache un jour les mains par accident en cuisinant avec du curcuma. Aujourd'hui, ses collègues et lui croient pouvoir tirer profit de l'incident... pour déjouer les criminels tatoués. Explications.

PHILIPPE MERCURE  
LA PRESSE

#### L'incident

L'histoire ne dit pas de quelle recette il s'agit. Mais un beau jour, Gervais Bérubé, professeur de chimie organique à l'Université du Québec à Trois-Rivières (UQTR), se tache les mains avec du curcuma en jouant les marmitons. Il regarde ses doigts jaunes. Puis il a soudain une idée.

#### La problématique

À l'UQTR, un des collègues de Gervais Bérubé est Frank Crispino, expert en criminalistique qui travaille à élaborer le premier programme d'études complet au Québec en sciences médico-légales - l'application de méthodes scientifiques au domaine criminel. Parmi les questions qui tracassent le professeur Crispino, il y a celle des tatouages effacés. Imaginez que vous êtes un policier. Vous recherchez un homme connu pour avoir un tatouage à un bras. Vous avez le suspect idéal sous la main... mais il n'arbore pas le tatouage en question. Erreur sur la personne ? Ou l'homme a-t-il simplement fait effacer son tatouage au laser pour brouiller les pistes ?

#### Le besoin

Dans le cas d'une personne morte, on peut fouiller l'épiderme profond pour détecter les traces d'encre laissées par un tatouage effacé. « Mais sur une personne vivante, c'est un peu difficile de dire : on va vous retirer l'épiderme et vous le remettre plus tard ! », lance Frank Crispino. D'où le besoin d'une méthode inoffensive pour reconstituer des tatouages sur des personnes vivantes.

#### L'hypothèse

En se tachant avec le curcuma, Gervais Bérubé réalise qu'il s'agit d'une substance très colorée, peu chère et parfaitement sécuritaire. Autre avantage : le pigment principal du curcuma, la curcumine, est fluorescent. Si on l'éclaire avec des rayons UV, il réémet de la lumière, ce qui permet d'augmenter les contrastes. « On croit que l'absorption de la curcumine pourrait être différente sur la peau saine et sur la peau lésée résultant d'un tatouage », explique Gabriel Emond, étudiant en chimie à l'UQTR, qui travaille sur le projet. L'idée serait donc de badigeonner la zone où on soupçonne qu'un tatouage a été effacé avec une préparation à base de curcumine, puis de l'examiner à la lumière UV pour y déceler les traces du tatouage. Le projet est encore embryonnaire. Pour l'instant, les scientifiques en sont à peaufiner leurs recettes en laboratoire. Mais dès l'été prochain, Gabriel Emond écumerait les centres d'effacement de tatouages afin de trouver des sujets pour tester la méthode.

## RÉFÉRENCES

- Barua, S. (2015). Laser-tissue interaction in tattoo removal by Q-switched lasers.(JCAS Symposium)(Report). *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 8(1), 5.
- Bäumler, W., Eibler, E.T., Hohenleutner, U., Sens, B., Sauer, J. et Landthaler, M. (2000). Q-switch laser and tattoo pigments: First results of the chemical and photophysical analysis of 41 compounds. *Lasers in Surgery and Medicine*, 26(1), 13-21.
- Benassi, R., Ferrari, E., Lazzari, S., Spagnolo, F. et Saladini, M. (2008). Theoretical study on Curcumin: A comparison of calculated spectroscopic properties with NMR, UV-vis and IR experimental data. *Journal of Molecular Structure*, 892(1-3), 168-176.
- Bryson, D., Wright, J. et Barker, K. (2013). The identification of tattoo designs under cover-up tattoos using digital infrared photography. *Journal of Visual Communication in Medicine*, 36(3-4), 104-110.
- Byard, R.W. (2011). Ned Kelly tattoos – Origins and forensic implications. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 18(6), 276-279.
- Centre\_canadien\_d'hygiène\_et\_de\_sécurité\_au\_travail. (2017, 03-02-2017) *Comment les produits chimiques des lieux de travail pénètrent dans l'organisme.*
- Cheng, A.-L., Hsu, C.-H., Lin, J.-K. et Hsu, M.-M. (2001). Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer research*, 21, 2895-2900.
- Clarkson, H. et Birch, W. (2013). Tattoos and human identification: Investigation into the use of X-ray and infrared radiation in the visualization of tattoos. *Journal of Forensic Sciences*, 58(5), 1264-1272.

- CNESST. (2016) *Benzène*. Récupéré le 28 novembre 2017 de [http://www.csst.qc.ca/prevention/reptox/Pages/fiche-complete.aspx?no\\_produit=2543](http://www.csst.qc.ca/prevention/reptox/Pages/fiche-complete.aspx?no_produit=2543)
- De Donno, A., Carlucci, D. et Introna, F. (2008). The use of infrared rays for identification purposes. *Journal of Forensic Identification*, 58(2), 193-202.
- de Permentier, P. (2013). An anatomical evaluation of skin scar tissue. *Journal of the Australian Traditional-Medicine Society*, 19(4), 236-238.
- Deyl, Z., Praus, R., Šulcová, H. et Goldman, J. (1969). Fluorescence of collagen-properties of tyrosine residues and another fluorescent element in calf skin collagen. *FEBS letters*, 5(3), 187-191.
- Downing, E. (2004). *Living with skin: An analysis of tattoo removal*. (M.A.). University of North Texas, Ann Arbor. 3.
- Duncan, C.D. et Klinge, C. (2011). Using reflected infrared photography to enhance the visibility of tattoos. *Journal of Forensic Identification*, 61(5), 495-519.
- Esatbeyoglu, T., Huebbe, P., Ernst, I., Chin, D., Wagner, A.E. et Rimbach, G. (2012). Curcumin—from molecule to biological function. *Angewandte Chemie International Edition*, 51(22), 5308-5332.
- Fitzgerald, R.H. et Steinberg, J.S. (2009). Collagen in wound healing: are we onto something new or just repeating the past? *Foot Ankle Online J*, 2(3).
- Fortin, S., Charest-Morin, X., Turcotte, V., Lauvaux, C., Lacroix, J., Côté, M.-F., Gobeil, S. et C.-Gaudreault, R. (2017). Activation of phenyl 4-(2-oxo-3-alkylimidazolidin-1-yl)benzenesulfonates prodrugs by CYP1A1 as new antimitotics targeting breast cancer cells. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60(12), 4963-4982.
- Grant, C.A., Twigg, P.C., Baker, R. et Tobin, D.J. (2015). Tattoo ink nanoparticles in skin tissue and fibroblasts. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 6, 1183-1191.
- Han, C.-q., Duan, P.-t., Liu, Y., Wu, B., Luo, X.-s., & Ni, X.-w. (2011). *Study on Fluorescence Spectroscopy Characteristics of Isopropanol-Water Solution*. Photonics and Optoelectronics (SOPO), 2011 Symposium on.

- Heywood, W., Patrick, K., Smith, A.M.A., Simpson, J.M., Pitts, M.K., Richters, J. et Shelley, J.M. (2012). Who gets tattoos? Demographic and behavioral correlates of ever being tattooed in a representative sample of men and women. *Annals of epidemiology*, 22(1), 51.
- Holchstein, A. (2014). Collagen: Its role in wound healing. *Wound Manage*, 4(1), 104-109.
- HowStuffWorks. (2018) *How stuff work*. Récupéré le 7 juillet 2018 de <https://www.howstuffworks.com/>
- Hulmes, D.J.S. (2002). Building Collagen Molecules, Fibrils, and Suprafibrillar Structures. *Journal of Structural Biology*, 137(1), 2-10.
- Ichikawa, H., Seeram, N., Sundaram, C., Seok Ahn, K., Sethi, G., Shishodia, S., Bhatt, I., Aggarwal, B. et Sandur, S. (2007). Curcumin – Biological and medicinal properties. Dans *Turmeric* (p. 297-368): CRC Press.
- Jain, A.K., Lee, J.-E. et Jin, R. (2007). *Tattoo-ID: Automatic tattoo image retrieval for suspect and victim identification* (Vol. 4810, pp. 256-265).
- Kilmer, S.L. (2015) *Tattoo lasers: overview, histology, tattoo removal techniques*.
- Kluger, N. (2008). *Pratiques du tatouage et du piercing en France* (Vol. 37, pp. 1109-1111).
- Koziel, S., Kretschmer, W. et Pawlowski, B. (2010). Tattoo and piercing as signals of biological quality. *Evolution and Human Behavior*, 31(3), 187-192.
- Laumann, A.E. et Derick, A.J. (2006). Tattoos and body piercings in the United States: A national data set. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 55(3), 413-421.
- Laux, P., Tralau, T., Tentschert, J., Blume, A., Dahouk, S.A., Bäumler, W., Bernstein, E., Bocca, B., Alimonti, A., Colebrook, H., de Cuyper, C., Dähne, L., Hauri, U., Howard, P.C., Janssen, P., Katz, L., Klitzman, B., Kluger, N., Krutak, L., Platzek, T., Scott-Lang, V., Serup, J., Teubner, W., Schreiber, I., Wilkniß, E. et Luch, A. (2015). A medical-toxicological view of tattooing. *The Lancet*.
- Lee, J., r, j., Jain, A. et Tong, W. (2012). Image retrieval in forensics: tattoo image database application. *IEEE MultiMedia*, 19(1), 40-49.

- Lee, W.-H., Loo, C.-Y., Bebawy, M., Luk, F., Mason, R.S. et Rohanizadeh, R. (2013). Curcumin and its derivatives: their application in neuropharmacology and neuroscience in the 21st century. *Current neuropharmacology*, 11(4), 338-378.
- Leikin, S., Rau, D. et Parsegian, V. (1995). Temperature-favoured assembly of collagen is driven by hydrophilic not hydrophobic interactions. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2(3), 205-210.
- Liu, B., Xia, M., Ji, X., Xu, L. et Dong, J. (2013). Synthesis and antiproliferative effect of novel curcumin analogues. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 61(7), 757-763.
- Liu, W.G., De Yao, K., Wang, G.C. et Li, H.X. (2000). Intrinsic fluorescence investigation on the change in conformation of cross-linked gelatin gel during volume phase transition. *Polymer*, 41(20), 7589-7592.
- Martin, L. et Forest, M. (2009). *Éléments d'anatomie et de physiologie*. Canada : Éditions du renouveau pédagogique Inc.
- Maynes, R. (2012). *Structure and function of collagen types*: Elsevier.
- McKechnie, M.L., Porter, G. et Langlois, N. (2008). The detection of latent residue tattoo ink pigments in skin using invisible radiation photography. *Australian Journal of Forensic Sciences*, 40(1), 65-72.
- Miranda, M.D. (2012). *The chemical analysis of modern tattoo inks*. (Ph.D.). City University of New York, Ann Arbor.
- Musgrave, I. (2015). Tattoo inks: Poison pigments? *Australasian Science*, 36(5), 14.
- Organic\_Chemistry\_Portal. *Knoevenagel condensation doebner modification*. Récupéré le 28 septembre 2017 de <http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/knoevenagel-condensation.shtm>
- Panchatcharam, M., Miriyala, S., Gayathri, V.S. et Suguna, L. (2006). Curcumin improves wound healing by modulating collagen and decreasing reactive oxygen species. *Molecular and cellular biochemistry*, 290(1-2), 87-96.
- Patra, D. et Barakat, C. (2011). Synchronous fluorescence spectroscopic study of solvatochromic curcumin dye. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79(5), 1034-1041.

- Perron, V. (2001). *Nouveaux dérivés de l'estradiol liés à un complexe de platine (II) pour le traitement du cancer du sein*. Université du Québec à Trois-Rivières.
- Priyadarsini, K.I. (2014). The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules*, 19(12), 20091-20112.
- Rachmawati, H., Shaal, L.A., Müller, R.H. et Keck, C.M. (2013). Development of curcumin nanocrystal: Physical aspects. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102(1), 204-214.
- Rodnan, G.P., Lipinski, E. et Luksick, J. (1979). Skin thickness and collagen content in progressive systemic sclerosis and localized scleroderma. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 22(2), 130-140.
- Rouessac, F. et Rouessac, A. (2009). *Analyse chimique : méthodes et techniques instrumentales : cours et exercices corrigés*. (7e éd. éd.). Paris : Dunod.
- Serup, J. et Carlsen, K.H. (2014). Patch test study of 90 patients with tattoo reactions: Negative outcome of allergy patch test to baseline batteries and culprit inks suggests allergen(s) are generated in the skin through haptization. *Contact Dermatitis*, 71(5), 255-263.
- Shinohara, M.M. (2016). Complications of decorative tattoo. *Clinics in Dermatology*, 34(2), 287-292.
- Starkie, A., Birch, W., Ferllini, R. et Thompson, T.J.U. (2011). Investigation into the merits of infrared imaging in the investigation of tattoos postmortem. *Journal of Forensic Sciences*, 56(6), 1569-1573.
- Teiten, M.H., Dicato, M. et Diederich, M. (2014). Hybrid curcumin compounds: a new strategy for cancer treatment. *Molecules*, 19(12), 20839-20863.
- Tiggemann, M. et Hopkins, L.A. (2011). Tattoos and piercings: Bodily expressions of uniqueness? *Body Image*, 8(3), 245-250.
- Totre, J., Ickowicz, D. et Domb, A.J. (2011). Properties and hemostatic application of gelatin. Dans *Biodegradable polymers in clinical use and clinical development* (p. 91-109): John Wiley & Sons, Inc.

- van Zuijlen, P.P.M., Ruurda, J.J.B., van Veen, H.A., van Marle, J., van Trier, A.J.M., Groenevelt, F., Kreis, R.W. et Middelkoop, E. (2003). Collagen morphology in human skin and scar tissue: no adaptations in response to mechanical loading at joints. *Burns*, 29(5), 423-431.
- Vollhardt, K. et Schore, N. (2009). *Traité de chimie organique, traduction de la 5e édition américaine (traduction de P. Depovere). De Boeck Université, Paris, Bruxelles.*
- Wan, S.B., Yang, H., Zhou, Z., Cui, Q.C., Chen, D., Kanwar, J., Mohammad, I., Dou, O.P. et Chan, T.H. (2010). Evaluation of curcumin acetates and amino acid conjugates as proteasome inhibitors. *International journal of molecular medicine*, 26(4), 447-455.
- Wang, Y.-J., Pan, M.-H., Cheng, A.-L., Lin, L.-I., Ho, Y.-S., Hsieh, C.-Y. et Lin, J.-K. (1997). Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 15(12), 1867-1876.