

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

SYNTHÈSE AMÉLIORÉE DE MOLÉCULES HYBRIDES ESTRADIOL-Pt(II) POUR
LE TRAITEMENT DES CANCERS FÉMININS HORMONO-DÉPENDANTS.
ÉTUDE DE L'INFLUENCE DE LA LONGUEUR DE LA CHAÎNE ALKYLE SUR
L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE.

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

PAR
CAROLINE DESCÔTEAUX

AOÛT 2006

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.01-2006). 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.»

Ce mémoire fut réalisé à l'Université du Québec à Trois-Rivières dans le cadre du programme de maîtrise en chimie de l'Université du Québec à Montréal extensionné à l'Université du Québec à Trois-Rivières.

Remerciements

Je dois la réalisation de ce travail avant tout à mon directeur de recherche, Dr. Gervais Bérubé, professeur à l'Université du Québec à Trois-Rivières, qui m'a acceptée comme étudiante de maîtrise et qui m'a guidée tout au long de mon cheminement académique. Merci pour son support et ses nombreux conseils. Merci d'avoir cru en moi.

Merci également à mon co-directeur, Dr. Éric Asselin, pour m'avoir permis de mieux comprendre le côté biologique de mon projet. Merci pour son encadrement et son dynamisme toujours apprécié. Je remercie les membres de son équipe qui ont participé aux analyses biologiques de mes molécules, principalement Geoffroy Bélanger, Sophie Parent, Céline Van Themsche et Valérie Leblanc.

Je remercie également Jocelyn Bouchard, un technicien hors-pair, toujours prêt à aider et qui a toujours su trouver réponses à mes questions.

Je tiens à remercier le FRSQ (Fonds de la recherche sur la santé au Québec) ainsi que la compagnie Antirouille Métropolitain pour m'avoir accordé des bourses d'études.

Merci spécialement à David Joly pour ses nombreux conseils en informatique.

Pour terminer, ma maîtrise n'aurait pas été la même sans l'aide de mes nombreux amis et amies, et principalement, mes parents, Pauline et Gilbert, et mes sœurs, Mélissa et Sophie, qui m'ont toujours encouragé dans tout ce que j'entreprends. Encore une fois, merci.

Avant-propos

Les victimes du cancer sont nombreuses, trop nombreuses. Fort heureusement aujourd'hui, oui il est possible de vaincre cette maladie en ayant recours, entre autre, à certains médicaments. Toutefois, ce qui est souffrant pour les malades est non la maladie en tant que telle mais plutôt les effets secondaires liés à la chimiothérapie. En effet, les anticancéreux actuellement sur le marché sont fort puissants et surtout, non sélectifs, d'où l'apparition de la perte des cheveux, des nausées, de la fatigue, et d'une multitude d'autres facteurs affectant le mode de vie des malades. Mais le choix entre se laisser emporter par une tragique maladie et l'espoir de s'en sortir amène bien des malades à devoir supporter les effets de la chimiothérapie. Le travail décrit dans ce mémoire vise à améliorer la qualité de vie des patients, à savoir par la découverte d'un médicament innovateur spécifique aux organes touchés par le cancer pour éliminer ou diminuer considérablement les effets secondaires liés à la chimiothérapie. Les cancers concernés dans ce mémoire sont les cancers féminins majoritairement hormono-dépendants, soit les cancers du sein, de l'utérus et des ovaires.

Table des matières

| | |
|--|-------------|
| LISTE DES FIGURES | VI |
| LISTE DES TABLEAUX ET GRAPHIQUES..... | VIII |
| LISTE DES SPECTRES | X |
| LISTE DE ABRÉVIATIONS | XI |
| RÉSUMÉ..... | XIII |
| 1. INTRODUCTION..... | 1 |
| 1.1 LE CANCER : DÉFINITION | 1 |
| 1.1.1 <i>Cancer du sein</i> | 2 |
| 1.2 LA CHIMIOTHÉRAPIE | 3 |
| 1.3 LE CISPLATINE (1)..... | 5 |
| 1.3.1 <i>Mode d'action du cisplatine (1)</i> | 6 |
| 1.3.2 <i>Effets secondaires</i> | 9 |
| 1.4 TRANSPORT DU CISPLATINE (1)..... | 10 |
| 1.4.1 <i>Le ciblage thérapeutique</i> | 11 |
| 1.5 PROPRIÉTÉS STRUCTURALES | 13 |
| 1.5.1 <i>Le platine : métal de choix en chimiothérapie</i> | 13 |
| 1.5.2 <i>Le ligand sortant</i> | 15 |
| 1.5.3 <i>Le ligand liant</i> | 17 |
| 1.5.4 <i>L'effet chélatant</i> | 18 |
| 1.5.5 <i>Sa géométrie</i> | 19 |
| 1.6 RÉACTIONS DE SUBSTITUTION ET EFFET <i>TRANS</i> | 20 |
| 1.7 RÉSISTANCE CELLULAIRE..... | 22 |
| 1.8 L'ESTRADIOL (4) ET SES RÉCEPTEURS | 24 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 1.9 | STÉRÉOCHIMIE | 28 |
| 2. | OBJECTIFS DU PROJET | 30 |
| 2.1 | SYNTHÈSE DE COMPOSÉS ANTICANCÉREUX | 30 |
| 2.2 | ANALYSE BIOLOGIQUE | 33 |
| 3. | DESCRIPTION DU PROJET DE RECHERCHE | 37 |
| 3.1 | RÉSULTATS | 37 |
| 3.1.1 | <i>Préparation de la chaîne alkyle</i> | <i>37</i> |
| 3.1.2 | <i>Protection et activation du stéroïde</i> | <i>39</i> |
| 3.1.3 | <i>Alkylation en position 16 du stéroïde</i> | <i>40</i> |
| 3.1.4 | <i>Décarboalkoxylation et deux déprotections en une seule étape</i> | <i>41</i> |
| 3.1.5 | <i>Réduction de la fonction carbonyle en position 17 des stéroïdes</i> | <i>42</i> |
| | <i>26a-d</i> | <i>42</i> |
| 3.1.6 | <i>Bromation de la chaîne alkyle des molécules 28a-d</i> | <i>43</i> |
| 3.1.6 | <i>Ajout du 2-(2'-aminoéthyl)pyridine</i> | <i>44</i> |
| 3.1.7 | <i>Complexation avec le K_2PtCl_4</i> | <i>44</i> |
| 3.2 | ANALYSE BIOLOGIQUE | 46 |
| 3.2.1 | <i>Affinité sur le récepteur des estrogènes (α et β)</i> | <i>46</i> |
| 3.2.2 | <i>Tests biologiques in vitro</i> | <i>50</i> |
| 3.2.3 | <i>Tests biologiques in vivo</i> | <i>50</i> |
| 3.2.4 | <i>Effets secondaires</i> | <i>54</i> |
| 4. | CONCLUSION | 58 |
| 5. | MÉTHODOLOGIE | 61 |
| 5.1 | NOTIFICATIONS | 61 |
| | APPENDICE | 102 |
| | RÉFÉRENCES | 123 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| FIGURE 1.1. COUPE TRANSVERSALE DU SEIN (TIRÉE DE MANDEVILLE, 1988)..... | 3 |
| FIGURE 1.2. CISPLATINE (1) LIÉ À UN RÉSIDU GUANINE (TIRÉE DE PERRON, 2001). | 4 |
| FIGURE 1.3. ATTAQUE DES AGENTS ALKYLANTS BIFONCTIONNELS (CISPLATINE (1)). | 6 |
| FIGURE 1.4. MODE D'ACTION DU CISPLATINE (1) | 8 |
| FIGURE 1.5. DÉFORMATION DES CHAÎNES D'ADN CAUSÉE PAR L'ACTION DU CISPLATINE (1) (TIRÉE DE REEDIJK, 2003). | 9 |
| FIGURE 1.6. HORMONE SEXUELLE FÉMININE (4) ET DÉRIVÉS ANTICANCÉREUX EN POSITION 16 ÉTUDIÉS DANS NOTRE LABORATOIRE. | 12 |
| FIGURE 1.7. STRUCTURE DES LIGANDS CHLORE (7), OXALATE (8), MALONATE (9) ET CYCLOBUTANE-1,1-DICARBOXYLATE (10). | 17 |
| FIGURE 1.8. FORMATION D'UN SYSTÈME CHÉLATANT À PARTIR DU 2-(2'- AMINOÉTHYL)PYRIDINE..... | 19 |
| FIGURE 1.9. STRUCTURES DU <i>CIS</i> -DDP (1) ET DU <i>TRANS</i> -DDP (12). | 19 |
| FIGURE 1.10. APPARIEMENT DES BASES SELON WATSON ET CRICK (TIRÉE DE WWW.SIUMED.EDU)..... | 20 |
| FIGURE 1.11. CISPLATINE (1) RÉAGISSANT SELON UNE RÉACTION DE SUBSTITUTION S_N2 | 21 |
| FIGURE 1.12. STRUCTURES DU GLUTATHION (14) ET DE LA MÉTALLOTHIONINE (15) (TIRÉE DE WWW.CULTURESCIENCES.CHIMIE.ENS.FR). | 22 |
| FIGURE 1.13. MÉCANISMES DE RÉSISTANCE AU CISPLATINE (1) (ADAPTÉE DE MOLENAAR ET AL, 2000). | 23 |
| FIGURE 1.14. SIMILITUDES ENTRE LES RÉCEPTEURS ESTROGÉNIQUES α ET β (ADAPTÉE DE RUFF ET AL, 2000). | 26 |
| FIGURE 1.15. FIXATION DE L'ESTRADIOL (4) SUR LE SITE ACTIF DE SON RÉCEPTEUR (TIRÉE DE RUFF ET AL, 2000). | 27 |

| | |
|--|----|
| FIGURE 1.16. DIMÈRE DU RÉCEPTEUR DES ESTROGÈNES (TIRÉE DE RUFF ET AL, 2000). | 28 |
| FIGURE 2.1. COMPLEXE DE PLATINE (II) DÉRIVÉ DU TAMOXIFÈNE (16) ET COMPLEXE DE PLATINE (II) STÉROÏDIEN (6B). | 31 |
| FIGURE 2.2. MOLÉCULES HYBRIDES ESTRADIOL-Pt(II) (17A-D) SYNTHÉTISÉES DANS LE CADRE DE CE PROJET DE MAÎTRISE. | 33 |
| FIGURE 3.1. PRÉPARATION DE LA CHAÎNE ALKYLE..... | 38 |
| FIGURE 3.2. PROTECTION ET ACTIVATION DU STÉROÏDE..... | 39 |
| FIGURE 3.3. ALKYLATION DU STÉROÏDE EN POSITION 16..... | 41 |
| FIGURE 3.4. DÉCARBOALKOXYLATION ET DÉPROTECTIONS DU STÉROÏDE..... | 42 |
| FIGURE 3.5. RÉDUCTION DE LA FONCTION CARBONYLE EN POSITION 3 DU STÉROÏDE. ... | 43 |
| FIGURE 3.6. BROMATION EN BOUT DE CHAÎNE DU DÉRIVÉ STÉROÏDE. | 43 |
| FIGURE 3.7. AMINATION DU DÉRIVÉ STÉROÏDE | 44 |
| FIGURE 3.8. COMPLEXATION DU DÉRIVÉ STÉROÏDE | 45 |

Liste des tableaux et graphiques

| | |
|--|----|
| TABLEAU 1.1. VITESSE RELATIVE DE RÉACTION S_N2 D'HALOGÉNURES D'ALKYLES AVEC L'HYDROXYDE DE SODIUM (TIRÉ DE BRUCE, 1998). | 16 |
| TABLEAU 3.1 : DÉPLACEMENTS CHIMIQUES DES ATOMES DE CARBONE C17 ET C18 POUR LES ISOMÈRES 16α ET 16β | 46 |
| TABLEAU 3.2 : TEST D'AFFINITÉ DES COMPOSÉS 17A-C POUR LES RÉCEPTEURS $RE\alpha$ ET $RE\beta$ | 49 |
| TABLEAU 3.3: ESSAIS DE CYTOTOXICITÉ DES COMPOSÉS 17A-D SUR LES CELLULES HORMONO-DÉPENDANTES (MCF-7) ET HORMONO-INDÉPENDANTES (MDA-MB-231). | 50 |
| GRAPHIQUE 3.1. AFFINITÉ DES COMPOSÉS 17A-C POUR LE RÉCEPTEUR $RE\alpha$ | 48 |
| GRAPHIQUE 3.2. AFFINITÉ DES COMPOSÉS 17A-C POUR LE RÉCEPTEUR $RE\beta$ | 48 |
| GRAPHIQUE 3.3. VOLUME D'UNE TUMEUR HORMONO-INDÉPENDANTE MDA-MB-468 CHEZ LA SOURIS XÉNOGREFFÉE TRAITÉE AVEC LES COMPOSÉS 1 ET 17C. | 51 |
| GRAPHIQUE 3.4. VOLUME D'UNE TUMEUR HORMONO-DÉPENDANTE MCF-7 CHEZ LA SOURIS XÉNOGREFFÉE TRAITÉE AVEC LES COMPOSÉS 1 ET 17C. | 52 |
| GRAPHIQUE 3.5. VOLUME D'UNE TUMEUR MAMMAIRE DE RATE TRAITÉE AVEC LE CISPLATINE (1). | 53 |
| GRAPHIQUE 3.6. VOLUME D'UNE TUMEUR MAMMAIRE DE RATE TRAITÉE AVEC LE COMPOSÉ 17B..... | 54 |
| GRAPHIQUE 3.7. POIDS DES SOURIS PORTEUSES D'UNE TUMEUR HORMONO-DÉPENDANTE MCF-7 SUITE AUX TRAITEMENTS AVEC LES COMPOSÉS 1 ET 17C. .. | 55 |

| | |
|--|----|
| GRAPHIQUE 3.8. POIDS DES SOURIS PORTEUSES D'UNE TUMEUR HORMONO- INDÉPENDANTE MDA-MB-468 SUITE AUX TRAITEMENTS AVEC LES COMPOSÉS 1 ET 17C. | 55 |
| GRAPHIQUE 3.9. POIDS DES RATES TRAITÉES AVEC LE CISPLATINE (1)..... | 56 |
| GRAPHIQUE 3.10. POIDS DES RATES TRAITÉES AVEC LA MOLÉCULE HYBRIDE 17B. | 57 |

Liste des spectres

| | |
|--|-----|
| RMN- ¹ H CHAÎNE PROTÉGÉE, (6 CARBONES) | 103 |
| RMN- ¹³ C CHAÎNE PROTÉGÉE, (6 CARBONES).. | 104 |
| RMN- ¹ H CHAÎNE IODÉE, (6 CARBONES).. | 105 |
| RMN- ¹³ C CHAÎNE IODÉE, (6 CARBONES).. | 106 |
| RMN- ¹ H ESTRONE PROTÉGÉE..... | 107 |
| RMN- ¹³ C ESTRONE PROTÉGÉE..... | 108 |
| RMN- ¹ H ESTRONE ACTIVÉE..... | 109 |
| RMN- ¹³ C ESTRONE ACTIVÉE..... | 110 |
| RMN- ¹ H ESTRONE ALKYLÉE, (6 CARBONES)..... | 111 |
| RMN- ¹³ C ESTRONE ALKYLÉE, (6 CARBONES)..... | 112 |
| RMN- ¹ H ESTRONE DÉCARBOALKOXYLÉE, (6 CARBONES)..... | 113 |
| RMN- ¹³ C ESTRONE DÉCARBOALKOXYLÉE, (6 CARBONES)..... | 114 |
| RMN- ¹ H ESTRONE RÉDUITE, (6 CARBONES)..... | 115 |
| RMN- ¹³ C ESTRONE RÉDUITE, (6 CARBONES)..... | 116 |
| RMN- ¹ H ESTRONE BROMÉE, (6 CARBONES)..... | 117 |
| RMN- ¹³ C ESTRONE BROMÉE, (6 CARBONES)..... | 118 |
| RMN- ¹ H ESTRONE AMINÉE, (6 CARBONES)..... | 119 |
| RMN- ¹³ C ESTRONE AMINÉE, (6 CARBONES)..... | 120 |
| RMN- ¹ H E ₂ -PT(II), (6 CARBONES)..... | 121 |
| RMN- ¹³ C E ₂ -PT(II), (6 CARBONES)..... | 122 |

Liste de abréviations

| | |
|------------------|---|
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| aq. | Aqueux |
| CCM | Chromatographie sur couche mince |
| <i>cis</i> -DDP | Cisplatine |
| d | Doublet |
| dd | Doublet de doublet |
| DEPT | «Distortionless enhancement by polarization transfert» |
| dl | Doublet large |
| DMF | <i>N,N</i> -diméthylformamide |
| g | Grammes |
| h | Heures |
| hRE | Récepteur estrogénique humain |
| HSP | Protéine de choc thermique |
| IC ₅₀ | Concentration inhibitrice à 50% |
| IR | Spectroscopie infrarouge |
| m | Multiplet |
| #m | Plusieurs multiplets |
| mg | Milligramme |
| mL | Millilitre |
| mM | Millimolaire |
| mmol | Millimole |
| MNU | <i>N</i> -Méthyl- <i>N</i> -Nitrosourée |
| MRP | «Multidrug resistance protein», (protéine de résistance multiple aux médicaments) |
| MTT | Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazoline |
| PPTs | <i>Para</i> -toluènesulfonate de pyridinium |
| RE | Récepteur estrogénique |
| RMN | Résonance magnétique nucléaire |
| s | Singulet |

| | |
|------------|---|
| SHBG | Globuline de liaison des hormones sexuelles |
| sl | Singulet large |
| SM | Spectrométrie de masse |
| td | Triplet de doublets |
| THF | Tétrahydrofuranne |
| THP | Tétrahydropyranne |
| tt | Triplet de triplets |
| v_{\max} | Élongation maximale |
| v/v | Rapport volume/volume |

Résumé

Le cisplatine est un agent anticancéreux actuellement utilisé en clinique. Ce composé, administré par voie intraveineuse, s'attaque aux cellules à prolifération rapide dont les cellules cancéreuses, mais il agit aussi sur certains organes sains. L'utilisation de ce médicament occasionne plusieurs effets secondaires ce qui affecte grandement la condition physique des patients. Le ciblage thérapeutique constituerait une solution à ce problème majeur dans le domaine du cancer. Une molécule résultant de la combinaison du cisplatine et de l'hormone sexuelle féminine, l'estradiol, fut synthétisée il y a quelques années dans le laboratoire du Dr. Bérubé à l'Université du Québec à Trois-Rivières. Cette dernière fut testée *in vitro* et *in vivo*, et les résultats se sont révélés très prometteurs. L'objectif de ce présent travail consiste à améliorer la synthèse de ce type de molécule ainsi que changer la structure de celle-ci, soit en variant la longueur de la chaîne alkyle séparant le dérivé cisplatine du stéroïde.

1. Introduction

Le cancer est une maladie en continuelle progression, qui entraîne des millions d'hommes et de femmes dans une lutte qui leur paraît souvent interminable. Dans le monde entier, le cancer prend de l'ampleur avec les années. Au Canada, le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez la femme est le cancer du sein avec 21600 nouvelles victimes pour l'année 2005, nombre estimé par Statistiques Canada (Statistiques canadiennes sur le cancer, 2005). On a aussi révélé un nombre de décès s'élevant à 5300 pour cette même année. Les cancers de l'utérus et des ovaires affectent eux aussi la population féminine canadienne de manière importante. En 1995 au Canada, on comptait 17700 nouveaux cas de cancer du sein et 5400 décès. En une décennie, le nombre de diagnostics a connu un accroissement considérable tandis que le nombre de décès ne semble pas avoir diminué en dépit de tous les efforts de dépistage entrepris. Pour contrer cela, plusieurs recherches portent sur la mise au point d'un médicament innovateur pouvant mettre un terme à la progression de divers cancers.

1.1 Le cancer : définition

La cellule cancéreuse, contrairement à la cellule normale, est caractérisée par l'absence d'une grande partie de l'équipement biochimique qui lui permettrait de devenir une cellule différenciée ; elle se divise donc continuellement, bien qu'inefficacement. De plus, elle cesse d'être sensible aux substances régulatrices de la croissance produites par les autres cellules de l'organisme. Le cancer devient ainsi un déséquilibre de régulation des gènes aboutissant à un désordre de croissance, au cours duquel les cellules, devenues anormales, prolifèrent d'une façon irrégulière, voire même anarchique (Poisson, 1997). Elles se reproduisent sans aucun contrôle, envahissant les tissus normaux et provoquant des métastases.

De nombreuses études portent sur la synthèse de nouveaux médicaments pouvant limiter ou enrayer la maladie. Cependant, nombreuses sont les hypothèses concernant le mécanisme d'action exact des médicaments utilisés pour vaincre le cancer du sein. Le phénomène est assez complexe car pour chaque organe, il existe plusieurs types de cancers organisés en sous-groupes en fonction des étiologies et des origines de la maladie. Cette grande variabilité ou hétérogénéité des cancers s'applique particulièrement au cancer du sein (Poisson, 1997).

1.1.1 Cancer du sein

Le cancer du sein prend naissance dans le tissu mammaire sous forme de tumeur solide. Il peut affecter autant la femme que l'homme, bien que dans 99% des cas, se manifeste chez la femme (Fabian et Warren, 1993). Dans la majorité (90%) des cancers du sein, le dérèglement se produit au niveau des canaux galactophores ou dans les lobules (Fig. 1.1). Les tumeurs sont qualifiées de tumeurs intracanaliculaires ou tumeurs lobulaires. À chaque cycle menstruel interviennent des changements considérables dans le sein sous l'influence d'hormones. Conséquemment, les cellules des canaux galactophores sont fréquemment et constamment remplacées. Le mécanisme de remplacement des cellules «usées» par des cellules «neuves» se fait à l'aide de la division cellulaire ou mitose. C'est à partir de ce mécanisme que peuvent naître des cellules cancéreuses si un dérèglement au niveau des oncogènes ou des gènes régulateurs se produit à un moment quelconque; les nouvelles cellules deviennent anarchiques et n'obéissent plus aux directives normales qui contrôlent la multiplication cellulaire (Poisson, 1997).

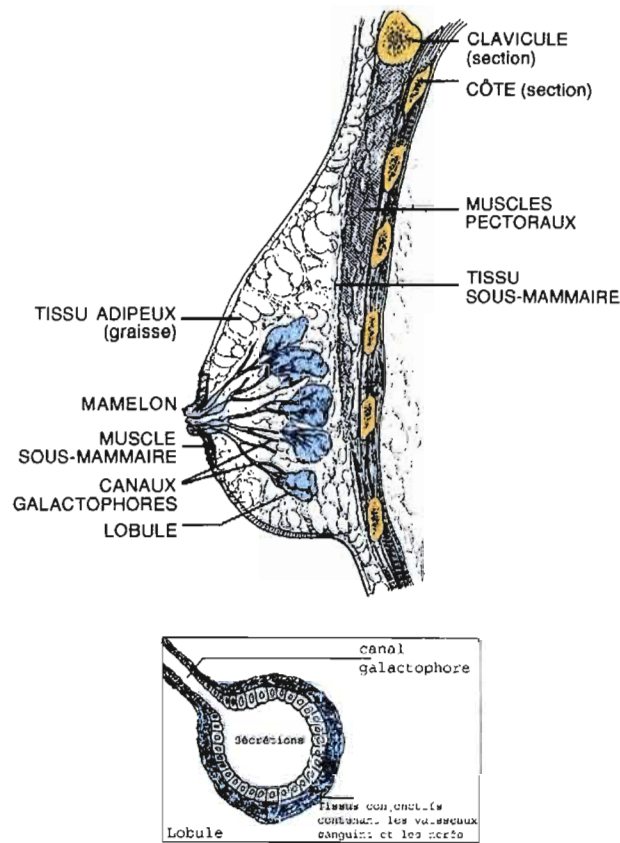


Figure 1.1. Coupe transversale du sein (Tirée de Mandeville, 1988).

1.2 La chimiothérapie

La chimiothérapie anticancéreuse a pour but d'inhiber la croissance tumorale à l'aide de médicaments capables d'interférer dans le processus de synthèse protéique ou de bloquer la division cellulaire (Chauvergne et Hoerni, 1992). Les médicaments administrés dans le cadre d'une chimiothérapie sont appelés cytostatiques. Ces composés interviennent principalement dans la division des cellules cancéreuses caractérisées par une prolifération rapide. Parmi les agents cytostatiques, les plus fréquemment utilisés pour le traitement du cancer du sein

sont le cyclophosphamide (Cytosan), le méthotrexate, la dexaméthosone (Prednisone), le 5-fluorouracile (Fluorouracil), la vinblastine, la vincristine et la doxorubicine (Fabian et Warren, 1993).

Les agents alkylants constituent une autre classe de composés anticancéreux particulièrement efficaces. Les acides nucléiques sont la cible sélective de ce groupe de substances ayant une modalité d'action commune sur les doubles chaînes d'ADN. Ces composés possèdent un ou plusieurs groupements électrophiles qui se lient, de manière covalente, aux régions riches en électrons des bases puriques et pyrimidiques de l'ADN. Lors de la division cellulaire, le dédoublement des deux brins d'ADN devient alors difficile, et surtout, la transcription et/ou la réplication est arrêtée au niveau de la modification effectuée par l'agent alkylant, aboutissant à "l'avortement" de la division cellulaire (Poisson, 1997). On distingue des agents alkylants monofonctionnels, c'est-à-dire ne formant qu'un seul lien chimique avec l'ADN, et les agents bifonctionnels qui créent de véritables ponts intrabrins et interbrins entre différents secteurs de l'ADN. Parmi les composés bifonctionnels, le cisplatine (Fig. 1.2, 1) forme un produit de double addition en réagissant principalement avec les bases guanines (l'azote 7) de l'ADN. Il est connu que les sites guanidiques ont une forte affinité pour les composés du platine et que la liaison intrabrin impliquant deux guanines adjacentes est favorisée (Reedjik, 2003).

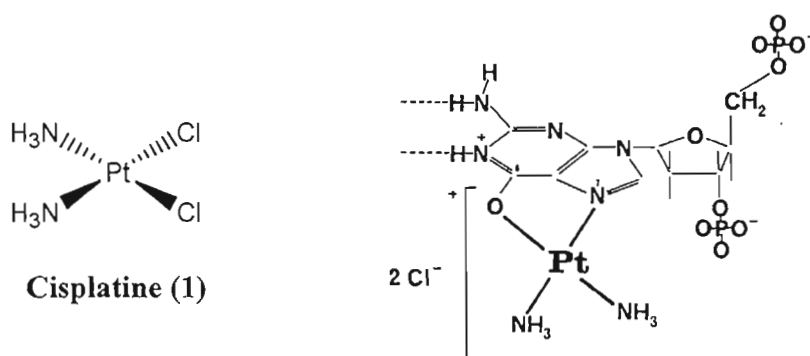


Figure 1.2. Cisplatine (1) lié à un résidu guanine (Tirée de Perron, 2001).

1.3 Le cisplatine (1)

Les propriétés anticancéreuses du cisplatine (1) ont été découvertes en 1964 quand Rosenberg et son équipe étudiaient l'effet du champ électrique sur la croissance bactérienne (Rosenberg et al, 1965). Le cisplatine (1) est un composé alkylant bifonctionnel aujourd'hui fréquemment employé comme traitement anticancéreux. Il s'agit d'un des trois agents chimiothérapeutiques les plus utilisés de nos jours. Aux États-Unis, le cisplatine (1) rapporte près de 500 millions de dollars par année en profits (Wong et Giandomenico, 1999). Ce médicament est principalement efficace pour traiter les tumeurs solides testiculaires, ovariennes, les carcinomes du nez, des bronches, de la vessie et du cerveau (Kartalou et Essigmann, 2001). Bien que le cisplatine (1) n'ait pas démontré de résultats intéressants avec les cellules cancéreuses du sein, ce médicament demeure quand même un composé ayant retenu l'attention pour la synthèse de nouveaux agents anticancéreux pour traiter les tumeurs mammaires. Son activité anticancéreuse fort puissante pour le traitement de nombreux autres cancers et son interaction connue avec les bases azotées de l'ADN ont provoqué un intérêt particulier pour l'utilisation de cette petite molécule, facilement maniable.

Il est connu que la cible principale du cisplatine (1) est l'ADN (Fig. 1.3) (Jamieson and Lippard, 1999). Seulement la mort des cellules pourrait ne pas être simplement due à la présence de lésions sur l'ADN mais elle pourrait aussi être causée par une interférence avec un processus vital comme la réplication ou la ségrégation chromosomique. Les liaisons cisplatine-ADN provoqueraient des lésions cytotoxiques induisant la mort cellulaire suite à une interaction avec la réplication ou la mitose. Au cours d'une étude sur des cellules mortes causées par la présence de cisplatine (1), il est apparu que cette drogue est capable d'induire la réponse apoptotique des cellules eucaryotes (Barry et al., 1990). Ceci s'explique par la présence de l'ADN chromosomique fragmenté et de la perte d'intégrité de la

membrane cellulaire. De plus, la probabilité d'un tel effet létal sous des conditions données pourrait dépendre du nombre et de la durée des liaisons dans le génome.

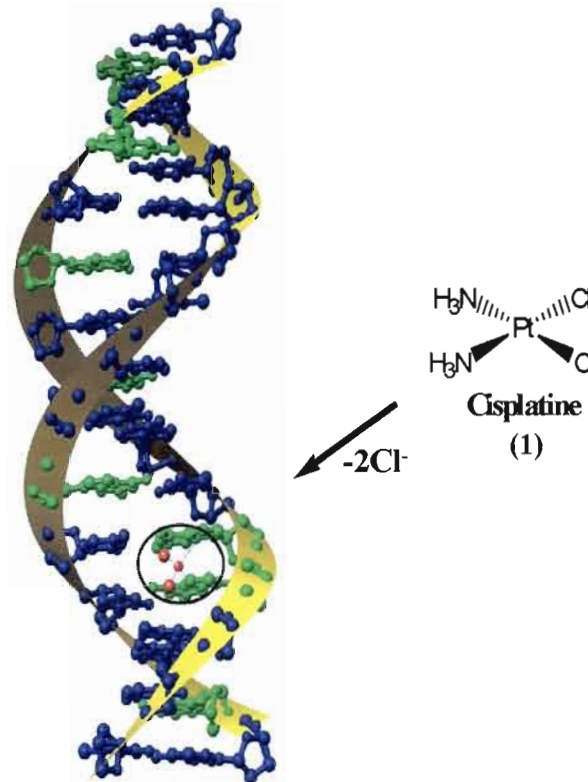


Figure 1.3. Attaque des agents alkylants bifonctionnels (cisplatine (1)).

1.3.1 Mode d'action du cisplatine (1)

Le mode d'action exact du cisplatine (1) soulève encore de nombreux questionnements. Le cisplatine (1) est administré aux patients par voie intraveineuse (Fabian et Warren, 1993). La concentration physiologique en ions chlorures dans le sang ainsi que dans les liquides extracellulaires est de 100 mM (Jamieson et Lippard, 1999). La molécule peut ainsi atteindre la surface des cellules sous sa forme neutre, inactive. Dans la cellule, la concentration en ions chlorures

est considérablement plus faible (100 mM sang vs 4 mM cytoplasme), ce qui permet aux ligands chloro, très labiles, d'être rapidement remplacés par des ligands aquo (**1** → **2** → **3**, voir Fig. 1.4). Ce phénomène est appelé hydrolyse. La forme hydrolysée (**3**) du complexe rend les protons de la molécule d'eau acides lorsque le platine est lié à l'oxygène. Ces ligands aquo sont beaucoup plus réactifs que les ligands chloro et sont rapidement remplacés par des nucléophiles biologiques (ADN ou autres molécules intracellulaires). Il a été prouvé que les complexes de platine peuvent, dans un premier temps, se lier à des groupements thiols (gluthatione) et thioéthers (méthionéine) et ensuite migrer aux sites N7 guanine de l'ADN, ce qui contredit la théorie HSAB («Hard and Soft Acids and Basis») qui dit que la liaison Pt-S est plus forte que la liaison Pt-N (Reedijk, 1999). Toutefois, les bases azotées de l'ADN sont très riches en électrons ce qui favorise cette interaction. En effet, l'action anticancéreuse du cisplatine (**1**) tient du fait que le platine se lie plus fortement aux nucléotides riches en électrons qu'aux ligands chloro. Les liaisons nouvellement formées se font principalement sur des bases guanines adjacentes, plus précisément sur l'azote en position 7 (Jamieson and Lippard, 1999). En ce qui a trait à la pénétration du composé dans la cellule, ce phénomène reste obscur. Certaines évidences montrent la présence de résidus phosphatidylsérine dans la membrane, pouvant jouer un rôle dans le transport membranaire du cisplatine (**1**) (Reedijk, 2003). D'autres études rapportent l'implication d'un agent transporteur de cuivre, Ctr1, dans le passage transmembranaire du cisplatine (**1**) (Reedijk, 2003). Seulement, malgré les hypothèses sur le sujet, le transport passif du composé à travers la membrane reste le processus le plus probable. Un mécanisme plausible, montré à la Fig. 1.4, propose que le cisplatine (**1**) soit entraîné dans la cellule par simple gradient de concentration (Kartalou et Essigmann, 2001).

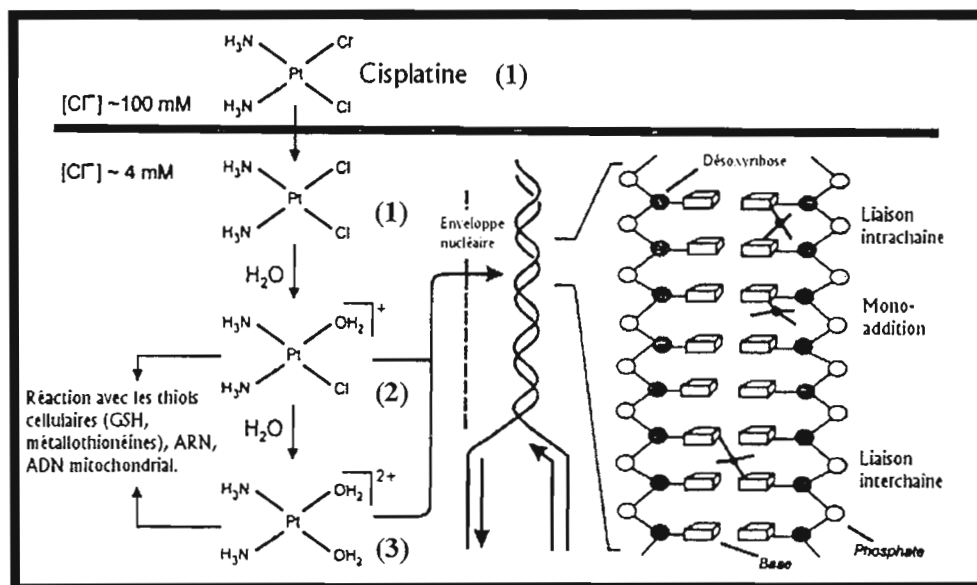


Figure 1.4. Mode d'action du cisplatine (1)
(Tirée de Kartalou et Essigmann, 2001).

En se fixant sur l'ADN, le cisplatine (1) forme des adduits intrabrins (majoritairement) et interbrins qui seraient responsables des perturbations entraînées dans la réplication de l'ADN et dans sa transcription (Coste et al, 1999). Ces adduits entraîneraient aussi des mutations au sein des cellules (Huang et al, 1995). La formation de tels adduits cause de grandes distorsions de la double hélice d'ADN comme cela a pu être montré dans des structures cristallographiques ou RMN d'adduits intrabrins et interbrins (Takahara et al, 1995) (Fig. 1.4). Le *cis*-DDP (cisplatine, 1) impose une courbure et un déroulement de l'ADN ce qui perturbe l'arrangement des bases. Ces modifications de la structure de la double hélice d'ADN sont fonction de l'adduit formé et peuvent entraîner différents types de perturbations au sein de la machinerie cellulaire (Yang et Wang, 1996).

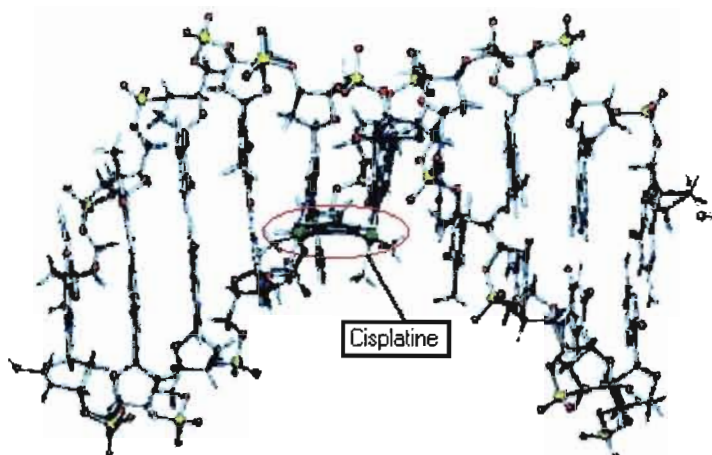


Figure 1.5. Déformation des chaînes d'ADN causée par l'action du cisplatine (1) (Tirée de Reedijk, 2003).

Une étude utilisant le marquage du platine a démontré que ce dernier ne restait lié à l'ADN que pour un court laps de temps, soit une durée de moins de dix heures (Reedijk, 2003). La labilité cinétique ainsi que l'instabilité thermodynamique, principalement dues au volume des composés du platine, occasionnent une perte des interactions Pt-ADN et le platine est excrété via les organelles de l'appareil de Golgi. Malgré cela, la présence d'adduits platine-ADN a quand même été détectée chez des patients longtemps après le traitement.

1.3.2 Effets secondaires

Comme la majorité des médicaments utilisés en chimiothérapie, le cisplatine (1) engendre de nombreux effets secondaires difficilement supportables chez bien des patients. Cet inconvénient majeur limite la dose administrée aux malades à 100 milligrammes par jour pendant cinq jours consécutifs (Reedijk, 2003). Cette toxicité systémique découle principalement de la faible sélectivité de l'agent cytotoxique. Ce dernier sélectionne les cellules cibles jusqu'à un certain point. En effet, il a la capacité d'atteindre les cellules qui se divisent rapidement et parmi elles, figurent les cellules cancéreuses. Même si les cellules cancéreuses sont les premières

concernées, d'autres le sont aussi malheureusement : les cellules hématopoïétiques de la moelle osseuse, les cellules des racines des cheveux, les cellules des muqueuses gastrique et intestinale et les cellules de la muqueuse buccale (Poisson, 1997). C'est ce qui explique les nombreux effets secondaires résultant de l'utilisation du cisplatine (**1**) soit les problèmes gastro-intestinaux, les vomissements, la perte des cheveux, le système immunitaire affaibli, etc.. Bref la maladie en tant que telle est souvent silencieuse mais ce sont les effets secondaires du traitement qui sont difficiles à supporter pour les malades. Le développement de nouveaux dérivés du cisplatine (**1**), à la fois moins toxiques et plus sélectifs, suscite un intérêt particulier en recherche.

1.4 Transport du cisplatine (**1**)

Le cisplatine (**1**) est un composé hydrosoluble (2,53 mg/g) (The Merck Index, Eleventh Edition, 1989). Malgré sa solubilité dans le sang, à dose maximale, l'effet cytotoxique n'est pas toujours obtenu et cela représente un inconvénient important quant à l'utilisation du cisplatine (**1**) tel quel. De plus, parce que le cisplatine (**1**) n'est pas liposoluble, il traverse difficilement la membrane cellulaire. À fortes doses, le cisplatine (**1**) précipite dans le sang et cela occasionne une diminution de la biodisponibilité du principe actif ainsi qu'une hausse des effets secondaires toxiques indésirables.

Dans le but d'éviter l'accumulation de platine dans le sang, des complexes de nature lipophile sont synthétisés afin de favoriser la pénétration cellulaire (Wong et Giandomenico, 1999). L'estradiol (p. 12, Fig. 1.6, **4**) est un dérivé du cholestérol et constitue donc un composé très lipophile. Le fait de complexer ce stéroïde au cisplatine (**1**) permettrait à celui-ci de mieux traverser la membrane cellulaire. Par contre, l'estradiol (**4**) est insoluble dans l'eau (The Merck Index, Eleventh Edition, 1989). Dans le sang, l'hormone sexuelle féminine est associée à une protéine

appelée globuline de liaison qui permet son transport en milieu hydrophile (Lemieux, 2005).

1.4.1 Le ciblage thérapeutique

Les nombreux effets secondaires associés au cisplatine (**1**) ont suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs. Le fait de développer un nouveau médicament efficace pour tuer les cellules cancéreuses sans causer de toxicité systémique pourrait être intéressant. La distribution sélective du principe actif constitue une approche unique pouvant éliminer les effets secondaires associés à la chimiothérapie, en particulier les traitements des composés du platine (Zutphen et Reedijk, 2005). Pour qu'une tumeur soit sensible à un médicament cytotoxique particulier, il faut que celle-ci présente certaines caractéristiques biochimiques qui diffèrent, même légèrement, de celles des cellules normales et qui amène une augmentation de la sensibilité au médicament (Kohn, 1989). Il faut donc apporter une certaine spécificité à l'agent chimiothérapeutique et permettre l'atteinte de l'ADN des tumeurs cancéreuses. La plupart des complexes de platine synthétisés pour être dirigés vers une cible quelconque sont constitués d'un ligand vecteur, lié à la partie platine, qui elle est cytotoxique (Zutphen et Reedijk, 2005). Il est donc possible de conférer au vecteur liant des propriétés directrices qui pourraient en faire un excellent outil dans le domaine du ciblage thérapeutique. En chimiothérapie, le ciblage devient l'élément clé. Le ciblage thérapeutique consiste à viser un seul type de cellules ou un seul tissu, sans affecter l'ensemble du corps. Les cancers féminins (sein, utérus, ovaires), qui sont dans la majorité des cas hormono-dépendants, se distinguent de par la surexpression des récepteurs estrogéniques aux niveaux de leurs cellules (Fabian et Warren, 1993). L'estradiol (**4**), l'hormone sexuelle féminine, a une forte affinité pour ces récepteurs et il serait éventuellement possible de l'utiliser pour viser spécifiquement les cellules cancéreuses au niveau de ces organes et livrer la partie toxique au bon endroit, diminuant ainsi les effets secondaires. La synthèse de différents dérivés platine estrogéniques a déjà été effectuée (Perron et al, 2005). Le

dérivé du cisplatine (**1**) a été fixé au stéroïde par l'entremise d'une chaîne alkyle. Cette chaîne alkyle a l'avantage d'être peu dégradée par les enzymes. Le dérivé aura donc un long temps de vie dans l'organisme, lui permettant ainsi de se rendre dans le noyau de la cellule et de se fixer à l'ADN et produire son effet toxique avant d'être détruit par les enzymes. Différents composés hybrides estradiol-Pt(II) porteurs d'une chaîne alkyle aux positions 2, 3, 16 et 17 du noyau stéroïde ont été synthétisés (Zutphen et Reedijk, 2005). Il est connu que les fonctions alcool du 17β -estradiol (**4**) interagissent fortement avec le récepteur et jouent un rôle important dans la liaison de l'hormone sur ce dernier (Ruff et al, 2000). De ce fait, l'addition de la chaîne alkyle doit être effectuée de façon à ne pas nuire à la reconnaissance du ligand par le récepteur. Parce que l'addition du groupe platine en position 16 (Fig. 1.6, **4**) n'empêche pas l'alcool en position 17 de bien se lier au récepteur, cette position pourrait s'avérer être particulièrement intéressante pour la synthèse d'un nouveau composé anticancéreux (Perron et al, 2005). Ainsi, deux types de composés estradiol-Pt(II) (**5a-b**, **6a-b**) ont été synthétisés avec la partie cytotoxique en position 16α et 16β (Fig. 1.5). La molécule **6b** avec la configuration 16β a donné des activités cytotoxiques fort intéressantes *in vitro*.

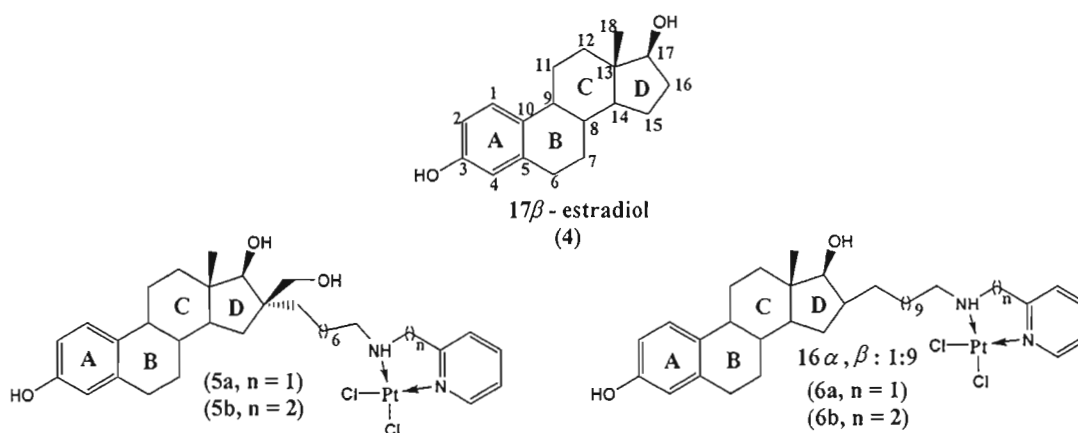


Figure 1.6. Hormone sexuelle féminine (4) et dérivés anticancéreux en position 16 étudiés dans notre laboratoire.

Point intéressant, la longueur de la chaîne alkyle séparant le stéroïde du complexe de platine joue un rôle important dans l'activité biologique (Jackson et al, 2001). Des résultats optimaux ont été obtenus avec des chaînes constituées de six atomes de carbone ou plus. Plus spécifiquement, il a été noté que la chaîne alkyle portant la portion cytotoxique devait comporter onze ou douze atomes de carbone pour permettre une activité biologique optimale (Perron et al, 2005).

1.5 Propriétés structurales

Depuis l'utilisation du cisplatine (**1**) en chimiothérapie, l'apparition des effets secondaires toxiques liés à ce médicament a conduit au développement de nombreux dérivés anticancéreux. La majorité de ces composés du platine sont construits à partir d'un vecteur auquel est liée la portion platine (Jackson et al, 2001). La structure générale des composés est restée la même, conférant aux différents dérivés les mêmes propriétés chimiques et biologiques.

1.5.1 Le platine : métal de choix en chimiothérapie

Le platine est un métal noble du tableau périodique, appartenant au bloc p, avec des états d'oxydation variant entre 0 et +6. La majorité de ses composés ont une coordination de 4 et exhibent une géométrie carrée plane (Atkins et Jones, 1998). La forme +2 du platine possède une bonne stabilité rédox et une faible réactivité, ce qui en fait un excellent candidat pour la synthèse de nombreux substrats. La configuration électronique du platine(II) est la suivante : $[\text{Xe}]4f^{14}5d^8$ (Sigel, 1980). Cet élément nécessite deux électrons supplémentaires pour compléter sa couche électronique et ainsi former des complexes métalliques divalents. Selon la théorie du champ de valence, le cisplatine (**1**), noté *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$, est un complexe neutre avec une conformation caractéristique plan carré formé de quatre orbitales hybrides équivalentes dsp^2 dirigées vers chacun des

sommets (Huheey et al, 1996). En ce qui a trait aux métaux de transition, les facteurs électroniques produisent une stabilisation exceptionnelle de la géométrie plan carré, spécifiquement pour les ions d^8 et spécialement pour les éléments de la deuxième et de la troisième rangée du tableau périodique, dont fait partie le platine.

Les métaux transition sont reconnus pour affecter le processus cellulaire de manière importante. L'activité anticancéreuse puissante de certains complexes de platine a soulevé de nombreuses questions au sujet des autres métaux de transition, à savoir s'ils pouvaient démontrer les mêmes propriétés. Diverses études ont été menées et différents métaux de transition ont été comparés.

Bien que le rayon du platine(II) sous sa forme plan carré soit exactement la même que celle de l'ion palladium(II) de configuration d^8 , le palladium(II) ne possède pas d'activité anticancéreuse efficace (Sigel, 1980). Ce fait est expliqué par la trop forte réactivité du palladium(II) : $\sim 10^5$ fois plus élevée que pour les composés de Pt(II) comparables (Connors et Roberts, 1973). La différence majeure entre ces deux éléments est l'existence des électrons 4f pour le platine. En raison de l'effet écran causé par ces électrons, les ions divalents Pd^{2+} ($[Kr]4d^8$) et Pt^{2+} ($[Xe]4f^{14}5d^8$) ont le même rayon. Les orbitales 5d du platine sont plus diffuses que les orbitales 4d du palladium, ce qui empêche la coordination axiale et retarde la vitesse de substitutions. Les complexes de platine(II) sont donc plus inertes que les complexes de palladium(II) (Sigel, 1980).

Certains papiers traitent aussi des propriétés biologiques des complexes de rhodium(III). En comparant avec les composés du platine(II), il s'est avéré que ces complexes n'étaient pas anticancéreux. Le même phénomène fut observé avec les complexes d'iridium (Connors et Roberts, 1973). Ces composés sont plutôt inertes dans le corps et sont souvent excrétés avant même d'être métabolisés. Des composés similaires au cisplatine (**1**) constitués d'autres éléments du groupe 10 du tableau périodique (Ni, Pd) n'ont pas donné l'activité escomptée (Reedijk, 2003). Le facteur clé expliquant pourquoi le Pt(II) est plus actif repose sur la cinétique

d'échange des ligands, laquelle est pour le platine de l'ordre de quelques heures, prévenant ainsi les réactions d'équilibre. De nombreux autres métaux de transition (Co(III), Cr(III), Cu(II), Ru(III) et autres) ont été étudiés et ont permis de conclure que le platine(II) est un métal de choix exhibant d'excellentes propriétés anticancéreuses (Sigel, 1980).

En solution, le platine existe sous deux formes : Pt(II) et Pt(IV). Chacune de ces espèces possède un mode de transport membranaire différent (Connors et Roberts, 1973). Étant donné la facilité des complexes de Pt(IV) à traverser la membrane cellulaire, plusieurs chercheurs se sont penchés sur la conception de complexes de platine(IV). Cependant, il est proposé que les complexes de Pt(IV) (moins actifs) sont réduits en complexes de Pt(II) suite à des interactions avec des agents extracellulaires et intracellulaires, et ce avant la réaction avec les bases azotées de l'ADN (Wong et Giandomenico, 1999). Afin d'éviter une transformation partielle d'un complexe Pt(IV) en Pt(II), Il devient donc préférable d'avoir recours au Pt(II), dès le départ, car ce dernier demeure inchangé tout au long de son parcours systémique.

1.5.2 Le ligand sortant

Dans le sang, le métal est lié à des ligands anioniques, maintenant le complexe sous sa forme inactive. Les propriétés antitumorales sont généralement associées à la labilité des liens Pt-X où X est le groupe sortant (Pasini et Zunino, 1987). Les complexes portant des groupements hautement labiles sont très toxiques et ne peuvent être utilisés comme agents anticancéreux du fait que ces composés peuvent réagir rapidement avec tout autre nucléophile du corps. Inversement, des ligands trop fortement liés au métal donnent des complexes inertes, sans activité anticancéreuse. Des ligands tels ClO_4^- , NO_3^- et H_2O donnent des composés trop réactifs alors que des ligands tels SCN^- et NO_2^- rendent le composé inactif (Sigel, 1980).

Diverses études ont démontré que les meilleurs groupes sortants sont des ligands monodentates avec une labilité intermédiaire comme les anions Cl^- (Sigel, 1980). De plus, les ions chlorures ont l'avantage d'être compatibles avec les fluides du corps humain. La réactivité du chlore fut comparée à celle de l'iode avec un test de cytotoxicité sur des cellules cancéreuses de l'utérus Hela (Julliard et al, 1982). L'étude a révélé que le chlore, moins bon groupe sortant que l'iode, formait des complexes plus stables et était plus efficace vis-à-vis des cellules cancéreuses. En comparant la vitesse de réaction des différents halogènes lors d'une réaction de type $\text{S}_{\text{N}}2$ (Tableau 1.1), il est possible de conclure que le brome est aussi beaucoup plus réactif que le chlore.

Tableau 1.1. Vitesse relative de réaction $\text{S}_{\text{N}}2$ d'halogénures d'alkyles avec l'hydroxyde de sodium (Tiré de Bruice, 1998).

| $\text{HO}^- + \text{RCH}_2\text{X}$ | \longrightarrow | $\text{RCH}_2\text{OH} + \text{X}^-$ |
|--------------------------------------|-------------------|--------------------------------------|
| Groupe sortant (X) | | Vitesses relatives de réaction |
| I^- | | 30,000 |
| Br^- | | 10,000 |
| Cl^- | | 200 |
| F^- | | 1 |

Une étude récente a porté sur la réactivité du chlore dans des complexes de platine (Zhu et al, 2005). L'objet de cette étude était de vérifier l'influence du groupe sortant lors d'un traitement sur les cellules cancéreuses du poumon (A549) et du colon (HCT-116). Les ligands étudiés étaient le chlore (**7**), l'oxalate (**8**), le malonate (**9**) et le cyclobutane-1,1-dicarboxylate (**10**) (voir, Fig. 1.7). Les composés chlorés (**7**) se sont avérés être les plus efficaces. Les conclusions tirées de ces différentes études permettent de confirmer que le chlore est un excellent groupe sortant et confère aux anticancéreux une activité optimale.

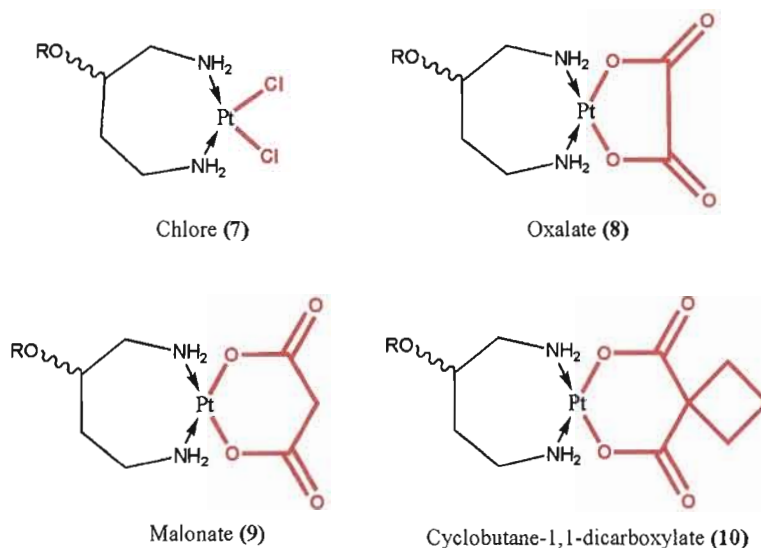


Figure 1.7. Structure des ligands chlore (7), oxalate (8), malonate (9) et cyclobutane-1,1-dicarboxylate (10).

1.5.3 Le ligand liant

Bien qu'il soit prévu que les ligands amine aient un effet plutôt marginal sur l'activité cytotoxique (*in vitro*) des complexes (sauf ceux causant de l'encombrement stérique), ils se sont quand même avérés jouer un rôle vital dans l'activité antitumorale, i.e. *in vivo* (Connors et Roberts, 1973). Ces groupements sont fortement liés au platine et agissent comme agents liants. Parce qu'ils sont difficilement remplacés, ils accompagnent l'atome de platine jusqu'aux macromolécules à l'intérieur de la cellule (Pasini et Zunino, 1987). Il est donc envisageable d'avoir recours à cette portion de la molécule pour effectuer du ciblage moléculaire.

Le groupement N-H de l'amine est crucial pour l'activité des composés du platine (Reedijk, 2003). L'absence de ce proton réduit généralement l'activité des complexes anticancéreux. L'interaction ionique/dipolaire avec les acides nucléiques,

reconnue comme étant importante dans la discrimination entre les bases adénines et guanines, est basée sur une liaison hydrogène. Ces protons étant impliqués dans les ponts hydrogène avec les groupes polaires de l'ADN, il est important de les conserver, pour maintenir ainsi l'interaction complexe-ADN. L'ammoniac et les amines primaires contribuent à former des complexes plus actifs alors que les amines tertiaires forment des complexes inactifs (Pasini et Zunino, 1987). Le choix de l'agent liant est aussi basé sur la polarité de celui-ci. Il est à noter que les ligands avec des substituants polaires rendent le complexe généralement moins actif. Un autre point à considérer est que les amines hétérocycliques et alicycliques augmentent considérablement l'indice thérapeutique (moins de toxicité systémique) contrairement aux amines alkyles (Connors et Roberts, 1973). Le 2-(2'-aminoéthyl)pyridine (voir Fig. 1.8, p.19) a été utilisé pour la synthèse de quelques composés anticancéreux et les résultats furent prometteurs. Le 2-(aminométhyl)pyridine a aussi été utilisé comme ligand et les conclusions à tirer de cette étude ont été que le 2-(2'-aminoéthyl)pyridine donne de meilleurs résultats produisant des hybrides E_2 -Pt(II) plus actifs (Séné et al, 1998).

1.5.4 L'effet chélatant

Un complexe qui contient un agent chélatant est généralement plus stable qu'un complexe similaire dépourvu de cycles chélatants, et ce plus spécialement dans le cas des cycles à cinq et six membres (Sigel, 1980). La plupart des complexes de platine reportés sont constitués de tels cycles (Zhu et al, 2005). Ces composés peuvent être synthétisés à partir d'un agent chélatant bidentate (2-(2'-aminoéthyl)pyridine), utilisé comme ligand transporteur, et de l'atome de platine (voir Fig. 1.7, **11**). La stabilité augmentée par les systèmes chélatants est qualifiée d'effet chélate, un phénomène entropique et enthalpique (Huheey, 1996).

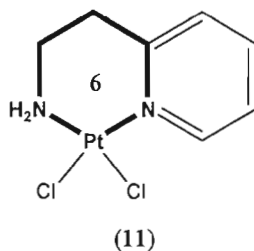


Figure 1.8. Formation d'un système chélatant à partir du 2-(2'-aminoéthyl)pyridine.

1.5.5 Sa géométrie

La disposition *cis* des ligands chlore est indispensable à l'action cytotoxique du cisplatine (**1**) (Reedijk, 1999). Non seulement elle assure une certaine planéarité à la molécule mais elle interfère aussi dans l'appariement des bases de l'ADN. L'isomère *cis* du cisplatine (**1**) (*cis*-DDP) est le seul isomère actif à de faibles concentrations. L'isomère *trans* (**12**) est quant à lui inactif (Pasini et Zunino, 1987). Suite à l'action du *trans*-DDP (**12**), les bases azotées s'approchent du platine par deux directions opposées, ce qui augmente la flexibilité de l'ADN (Kartalou et Essigmann, 2001).

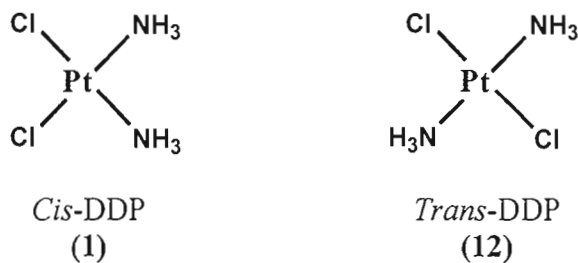


Figure 1.9. Structures du *cis*-DDP (1) et du *trans*-DDP (12).

Par contre, l'isomère *cis* forme majoritairement des liaisons de type intrachaine impliquant deux guanines adjacentes (voir Fig. 1.2, p.4). L'appariement de Watson-Crick (Fig. 1.10), qui décrit l'association spécifique des bases purines et pyrimidines

de l'ADN, est alors interrompu (Garrett et Grisham, 2000). En temps normal, les bases complémentaires des deux brins de l'ADN sont fortement liées par des liaisons hydrogène. La rupture de ces liaisons, causée par l'interaction du platine, entraîne éventuellement la mort cellulaire (Reedijk, 2003).

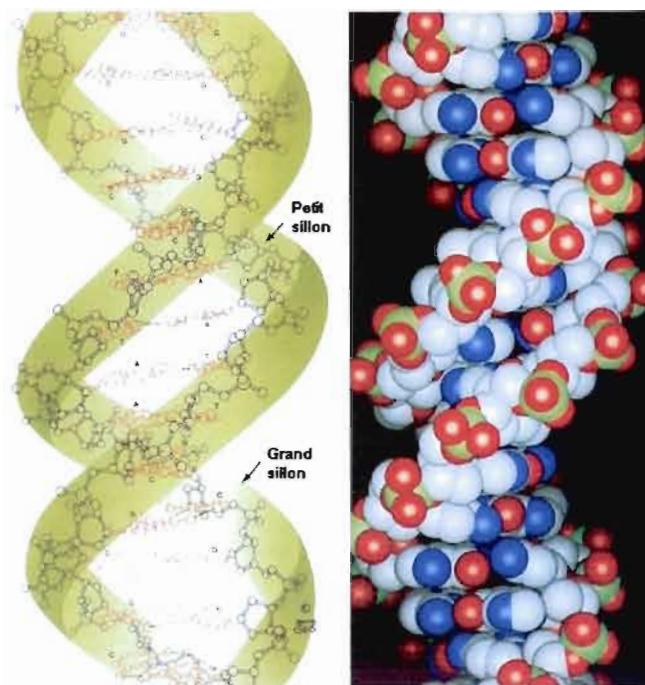


Figure 1.10. Appariement des bases selon Watson et Crick (Tirée de www.siumed.edu)

1.6 Réactions de substitution et effet *trans*

La structure plane du cisplatine (**1**) est utile lors de sa liaison à l'ADN car elle permet une meilleure accessibilité des bases azotées sur le métal favorisant ainsi la substitution nucléophile (Connors and Roberts, 1973). Cette structure favorise l'attaque axiale du ligand. Ainsi, les bases azotées de l'ADN s'approchent du complexe par la face la moins encombrée, soit perpendiculairement au plan constitué des liaisons platine-ligands. Les complexes tétravalents plan carré,

comme dans l'exemple du cisplatine **(1)**, réagissent principalement selon un mécanisme de substitution S_N2 (Cotton et Wilkinson, 1972). Le même comportement réactionnel fut observé avec d'autres complexes de platine(II). Une réaction de substitution nucléophile bimoléculaire (S_N2) se produit via un intermédiaire réactionnel pentavalent **(13)** (Fig. 1.11). Le complexe de départ possède une orbitale vacante permettant la formation d'un cinquième lien Pt-ligand. Cette réaction est aussi qualifiée de stéréospécifique.

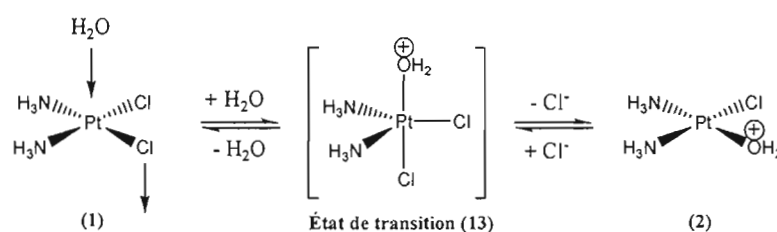


Figure 1.11. Cisplatine (1) réagissant selon une réaction de substitution S_N2

Expérimentalement, il n'existe aucun ligand qui soit totalement inerte à une éventuelle substitution (Pasini et Zunino, 1987). C'est la nature des ligands qui détermine l'ordre et la vitesse de substitution des substituants et qui contrôle l'efficacité antitumorale du complexe (Sigel, 1980). La labilité (facilité de départ) d'un groupe sortant particulier dépend de la nature du ligand opposé. Ce phénomène est appelé *trans*-labilisation. Par exemple, dans le cas du cisplatine **(1)**, le NH_3 étant en position *trans* par rapport au Cl^- , il facilite l'éjection du chlorure lors de l'hydrolyse du composé. L'effet *trans* est défini comme la labilisation d'un ligand en position *trans* par rapport à d'autres ligands. Lors de la conception de nouveaux complexes de platine, la force de l'effet *trans* doit être prise en considération afin de s'assurer de bien former le complexe *cis*-Pt désiré. Ainsi, le complexe final fut synthétisé avec comme groupe sortant, X, un anion présentant un faible effet *trans* pour éviter l'éjection de l'amine.

1.7 Résistance cellulaire

La résistance cellulaire à un médicament est un obstacle majeur en chimiothérapie. Elle se définit comme une recrudescence de la croissance tumorale suite à l'insensibilisation à une drogue médicamenteuse. Des études ont révélé que le transport du platine sous sa forme Pt(II) contribuait à augmenter la désintoxication cytoplasmique via la concentration élevée de glutathion **(14)** ou de métallothionine **(15)** (protéine riche en cystéines) (Fig. 1.12) (Wong et Giandomenico, 1999).

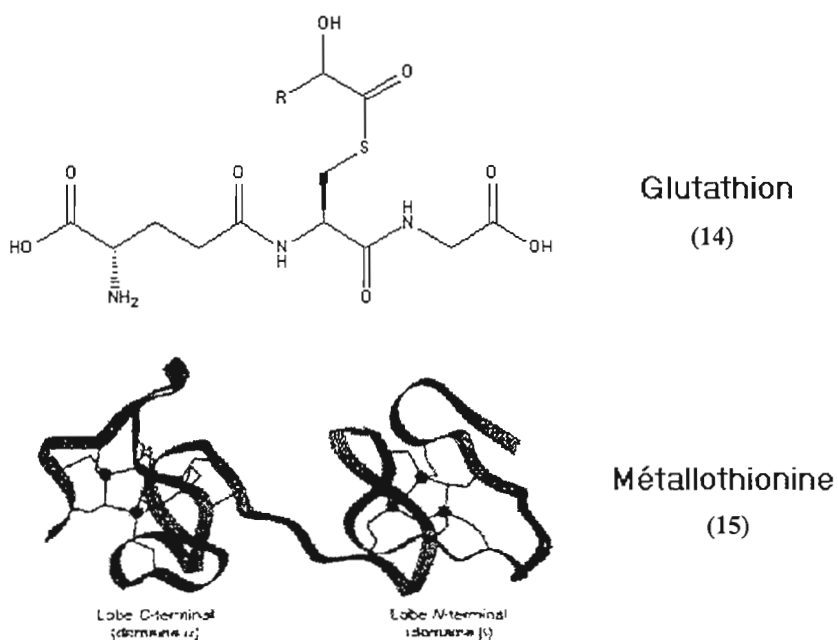


Figure 1.12. Structures du glutathion (14) et de la métallothionine (15) (Tirée de www.culturesciences.chimie.ens.fr).

Parce que le platine, métal avide d'électrons, cherche à se lier aux atomes riches en électrons, les possibilités qu'il interagisse avec les composés sulfurés présents en abondance dans le corps sont plutôt fortes (Reedijk, 2003). Une fois

dans le milieu intracellulaire, le platine peut aussi réagir avec des atomes de soufre, pour ensuite se fixer aux atomes d'azote de l'ADN ou encore, il peut être excrété de la cellule (voir Fig. 1.13, p. 23). Le glutathion **(14)**, tout comme d'autres thiols impliqués dans la résistance cellulaire, contribue à rendre le médicament impuissant. Le glutathion **(14)** est un tripeptide formé d'acide glutamique, de cystéine et de glycine, qui, lorsque combiné à la vitamine E et au sélénium, forme des peroxydases qui protègent les cellules par leur effet antioxydant (W. Christopher, 2006). Le glutathion **(14)** est impliqué dans le mécanisme de résistance en réduisant la quantité de médicament en circulation dans le corps, soit en faisant intervenir la protéine MRP (multidrug resistance protein) (Wong et Giandomenico, 1999). Suite à cette association, les espèces actives deviennent inactives et les modes de réparation de l'ADN sont initiés. Cette protection immunitaire vient donc contrecarrer l'effet cytotoxique des médicaments anticancéreux.

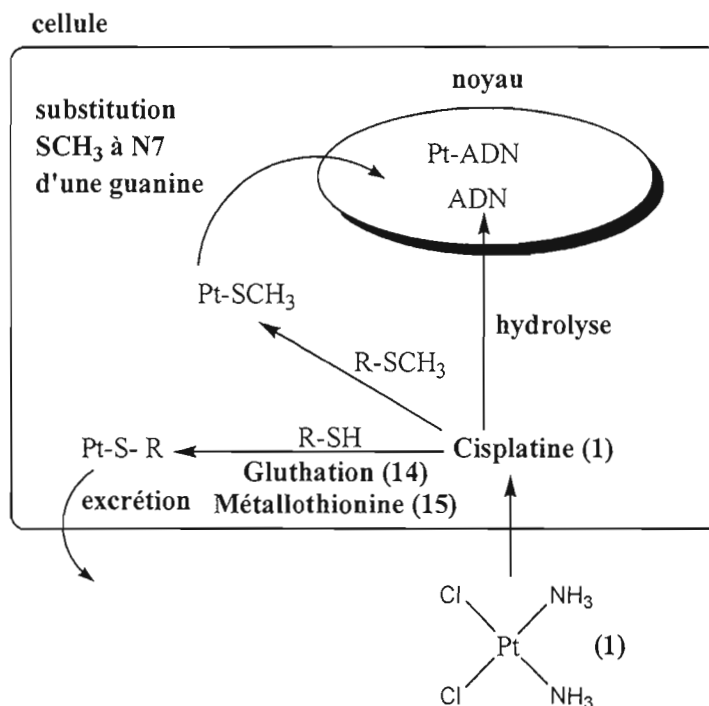


Figure 1.13. Mécanismes de résistance au cisplatine (1) (Adaptée de Molenaar et al, 2000).

L'utilisation de groupements volumineux à proximité du métal pourrait protéger ce dernier des éventuelles réactions secondaires de détoxification (Wong et Giandomenico, 1999). Évidemment, bien que les interactions Pt-soufre sont cinétiquement favorisées (soufre meilleur nucléophile que l'azote en milieu aqueux), la liaison Pt-N7 (guanine) est thermodynamiquement favorable (Reedijk, 1999). Néanmoins, étant donné l'abondance des biomolécules contenant du soufre dans le cytosol et le noyau, il est préférable de prévenir en protégeant le platine avec des groupements encombrants (Conrad et al, 2004). L'utilisation d'un ligand telle la pyridine permettrait de protéger en quelque sorte le métal. De plus, les substituants chlore, avec leur grande densité électronique, contribuent eux aussi à créer une barrière protectrice (Wong et Giandomenico, 1999).

1.8 L'estradiol (4) et ses récepteurs

Le cancer du sein est principalement hormono-dépendant, c'est-à-dire que son développement est stimulé par des hormones. Il existe une relation très étroite entre le niveau d'hormones stéroïdiennes et la prolifération de l'unité fondamentale du sein : le lobule et le canal terminal (Mandeville, 1988). Parmi les hormones stéroïdiennes, figurent les estrogènes, hormones sexuelles féminines. Les estrogènes constituent une famille de composés dans lesquels figure le 17β -estradiol (**4**), considéré comme un estrogène fort. Dans le corps humain, les cellules portent des récepteurs. Les récepteurs estrogéniques sont des membres de la super famille des récepteurs nucléaires stéroïdiens (Ruff et al, 2000). Le 17β -estradiol (**4**) a une affinité élevée pour son récepteur et forme avec lui une association prolongée permettant l'initiation de la stimulation génique au niveau nucléaire (Horwitz et al, 1978). Les hormones et les récepteurs adoptent des conformations les rendant compatibles et s'associent pour engendrer une réponse qui leur est propre. Des études ont montré que les récepteurs stéroïdiens seraient situés au niveau du noyau. Cependant, certains chercheurs spéculent qu'ils

pourraient être dissimulés dans le cytoplasme de la cellule. Cela n'affecte en rien l'action du ligand sur le récepteur.

Comme il a été mentionné précédemment, le récepteur des estrogènes est une cible biologique qui a attiré beaucoup l'attention à travers les années. Il est utilisé pour diriger la portion cytotoxique dans le noyau de la cellule, ainsi, un anticancéreux ayant une affinité pour ce récepteur pourrait s'accumuler au niveau du noyau des cellules cancéreuses. Il est exprimé dans plusieurs types de cancer : sein (60-70%), utérus (70-73%) et ovaires (61%) (Gagnon et al, 2004). En 1996, il fut révélé qu'il existe deux types de récepteurs estrogéniques, avec des conformations différentes : les récepteurs alpha ($RE\alpha$) et bêta ($RE\beta$) (Kuiper et al, 1996) (Fig. 1.14). Le $RE\alpha$ a été détecté principalement dans l'ovaire, l'utérus, l'hypophyse, les testicules, l'épididyme, le rein et la glande mammaire et dans plusieurs régions du cerveau. Le $RE\beta$, quant à lui, se retrouve principalement dans la prostate, le poumon, la rate et, tout comme l' $RE\alpha$, dans l'ovaire, l'utérus et plusieurs régions du cerveau (Laflamme et al, 1998). Les récepteurs nucléaires sont constitués de six régions (A-F) avec chacune différentes séquences de bases azotées (Ruff et al, 2000). Les deux récepteurs sont très similaires (47% d'identité) et les mêmes domaines sont présents sur les deux récepteurs, qui contiennent 595 acides aminés (a.a.) pour le $RE\alpha$ humain ($hRE\alpha$) et 530 a.a. pour le $hRE\beta$ (Lemieux, 2005).

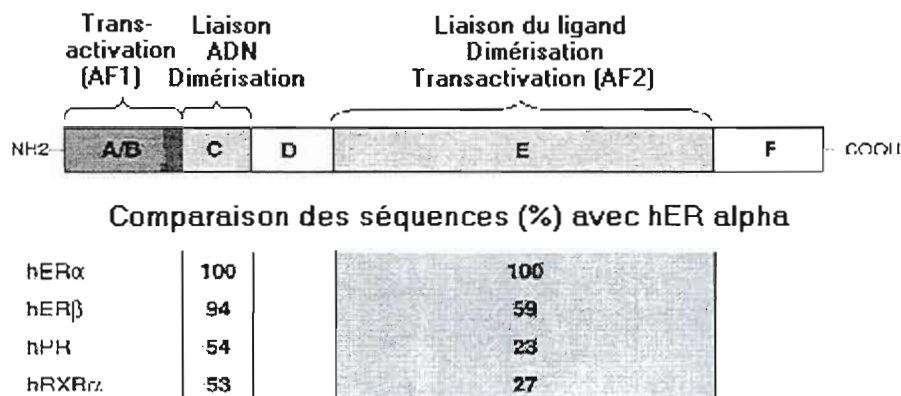


Figure 1.14. Similitudes entre les récepteurs estrogéniques α et β (Adaptée de Ruff et al, 2000).

De plus, une très bonne homologie des domaines est conservée entre les espèces. Les hRE comportent un domaine A/B qui contient la fonction hormono-indépendante d'activation de transcription 1 (AF-1) (Ruff et al, 2000). Le domaine de liaison à l'ADN (domaine C) contient deux doigts de zinc impliqués dans la liaison à l'ADN et dans la dimérisation des récepteurs. Il y a 94% d'homologie d'identité entre le domaine C d'RE α et d'RE β , suggérant que les deux récepteurs se lient aux mêmes éléments de réponses des œstrogènes (ERE) (Lemieux, 2005). Le domaine D est relié à la translocation nucléaire et le domaine E/F, ou domaine de liaison des ligands, contient la fonction hormono-dépendante d'activation de transcription 2 (AF-2). Comparativement au domaine de liaison de l'ADN, l'homologie d'identité du domaine de liaison des ligands est de seulement 59%, ce qui n'empêche cependant pas d'avoir une capacité de liaison des ligands sensiblement semblable pour les deux formes de récepteurs.

Des expériences diverses ont démontré une liaison spécifique de l'estradiol (**4**) avec les deux récepteurs, α et β (Ruff et al, 2000). Dans les deux cas, il y avait stimulation de la transcription d'un gène entraînant une réponse estrogénique. Notons que le 17 β -estradiol (**4**) se lie cinq fois plus fortement au récepteur α . En ce

qui a trait aux ligands synthétiques ou à certains autres ligand naturels, il existe des différences d'affinités / activités pour les récepteurs $RE\alpha$ versus $RE\beta$.

Pour les deux types de récepteur, $RE\alpha$ et $RE\beta$, le ligand se loge dans une cavité le protégeant du milieu extérieur. Cet espace est un environnement hautement hydrophobe constitué de vingt-deux acides aminés (Ruff et al, 2000). Aux extrémités de la cavité, se situe des régions polaires impliquées dans l'ancrage des fonctions alcools du stéroïde (positions 3 et 17, voir Fig. 1.6, p. 12). L'hydroxyle phénolique appartenant à l'anneau A du stéroïde est lié au résidu Glu353 de l'histone 3 ainsi qu'au résidu Arg394 de l'histone 5 (Fig. 1.15). Le groupe hydroxyle appartenant au noyau D (voir, Fig. 1.6, p. 12) du stéroïde est retenu par le résidu His524 de l'histone 11. Toutes ces liaisons participant à la liaison de l'hormone sur le récepteur sont principalement des liaisons hydrogène (Ruff et al, 2000). Des liaisons de Van der Waals sont aussi impliquées dans l'interaction ligand-récepteur.

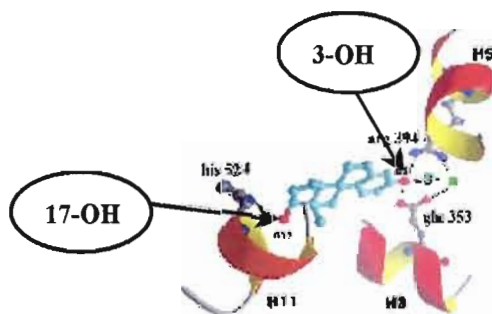


Figure 1.15. Fixation de l'estradiol (4) sur le site actif de son récepteur (Tirée de Ruff et al, 2000).

En l'absence de son ligand, le récepteur des estrogènes est lié entre autre à la protéine de choc thermique (HSP90) (Lemieux, 2005). L'estrogène, en circulation dans le sang, est lié fortement à la globuline de liaison des hormones sexuelles (SHBG). Ce complexe diffuse librement à travers la membrane cytoplasmique et nucléaire. Lorsqu'un ligand, telle une hormone stéroïdienne, atteint son récepteur, l'HSP se dissocie du récepteur et il se produit une dimérisation de ce dernier (Fig.

1.16). En fait, dans le cas des récepteurs des estrogènes, pour que les cellules reçoivent un signal, l'interprètent et puissent donner lieu à une réaction quelconque, il doit y avoir dimérisation. En solution, les domaines de liaisons à l'ADN sont de simples monomères, alors qu'une fois en interaction avec leurs éléments de réponses, ils forment des dimères (Ruff et al, 2000). Suite à ce phénomène, l'ADN agit comme un effecteur allostérique. Le complexe peut se lier aux éléments de réponse des estrogènes présents principalement dans la région promotrice d'un gène. Cette liaison en présence de coactivateurs permet l'activation de la transcription de gènes facilitant l'assemblage de la machinerie de transcription. L'interaction du dimère estrogénique avec l'ADN altère certains gènes et il s'ensuit une activation de la synthèse des protéines.

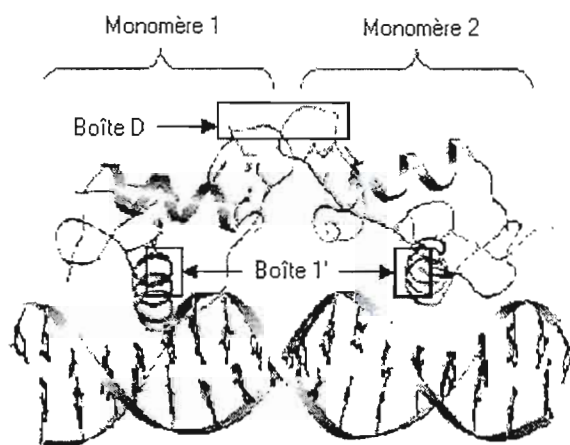


Figure 1.16. Dimère du récepteur des estrogènes (Tirée de Ruff et al, 2000).

1.9 Stéréochimie

Lorsqu'un ligand se fixe sur un récepteur qui lui est spécifique, le complexe formé adopte une conformation unique qui influencera les différentes réactions biochimiques. Des différences subtiles de conformation du complexe ligand-

récepteur résultant d'un léger changement du ligand pourrait altérer la nature des interactions transcriptionnelles dans la cellule (Seonghon et al, 2004). C'est ce qui explique l'importance d'avoir un médicament optiquement pur. La configuration stéréochimique devient un facteur critique du médicament à synthétiser et nécessite une constance. La chiralité d'un médicament peut influencer grandement son action et ainsi il est préférable d'isoler un seul isomère. L'isomère β du composé **6b** fut obtenu en majorité lors de la synthèse de dérivés estrogéniques à base de platine (voir Fig. 1.6, p.12) et il s'est avéré avoir une forte affinité pour le récepteur estrogénique α (Perron et al, 2004). La synthèse de cet isomère pourrait représenter un intérêt particulier en recherche médicamenteuse.

Comme nous l'avons vu, les composés à base de platine possèdent des propriétés physico-chimiques uniques et des activités biologiques intéressantes. Nous constatons aussi que le ciblage thérapeutique pourrait diminuer drastiquement les effets secondaires toxiques associés à la chimiothérapie. Dans le chapitre suivant, nous verrons comment il est possible de combiner une hormone à un dérivé platine pour cibler les cellules cancéreuses hormono-dépendantes des cancers féminins.

2. Objectifs du projet

2.1 Synthèse de composés anticancéreux

Dans le laboratoire du Dr Gervais Bérubé, à l'Université du Québec à Trois-Rivières, depuis quelques années déjà, la synthèse de différents composés anticancéreux à base de platine a été effectuée dans le but de traiter les cancers féminins du sein, de l'utérus et des ovaires. Le présent projet traite du ciblage thérapeutique du cisplatine (**1**), en utilisant l'estradiol, l'hormone sexuelle féminine, comme intermédiaire de transport. Le récepteur des estrogènes constituant une caractéristique biochimique cellulaire importante au niveau des organes féminins (seins, utérus et ovaires), il sert de cible pour l'action du médicament. Bien entendu, d'autres cellules du corps humain peuvent posséder le récepteur des estrogènes, cependant, c'est au niveau des seins, de l'utérus et des ovaires qu'on les retrouve en plus grande proportion (Jackson et al, 2001). En collaboration avec le Dr Éric Asselin, il a été possible d'étudier l'effet biologique des complexes synthétisés et d'optimiser la conception de ces molécules pour être en mesure de préparer le composé le plus actif.

Les travaux d'Alexandre Séné ont porté sur la synthèse de molécules platinées, dérivées du tamoxifène (**16**) (voir Fig. 2.1) (Séné et al, 1998). Les résultats de ses recherches ont permis de conclure que le cisplatine (**1**) est un agent chimiothérapeutique de choix pour la synthèse de molécules hybrides anticancéreuses. De plus, l'utilisation du 2-(2'-aminoéthyl)pyridine en tant qu'agent chélatant a donné d'excellents résultats de cytotoxicité. Dans le but d'amener la partie toxique aux organes féminins spécifiquement, les travaux de Valérie Perron ont porté sur la synthèse de composés stéroïdiens dérivés du cisplatine (**1**) (Fig. 2.1) où était effectué l'ajout d'une chaîne de type alkyle en position 16 de l'estradiol (Perron et al, 2005). Encore une fois, le 2-(2'-aminoéthyl)pyridine a donné les résultats les plus prometteurs en ce qui a trait au choix de l'amine. Le produit le plus

actif de cette série porte la désignation de VP-128 (**6b**). La chaîne porteuse du dérivé platine contient onze atomes de carbones. La synthèse de ce produit fut effectuée en neuf étapes avec 10% de rendement global et le résultat est un mélange de deux épimères, alpha et bêta (1 : 9).

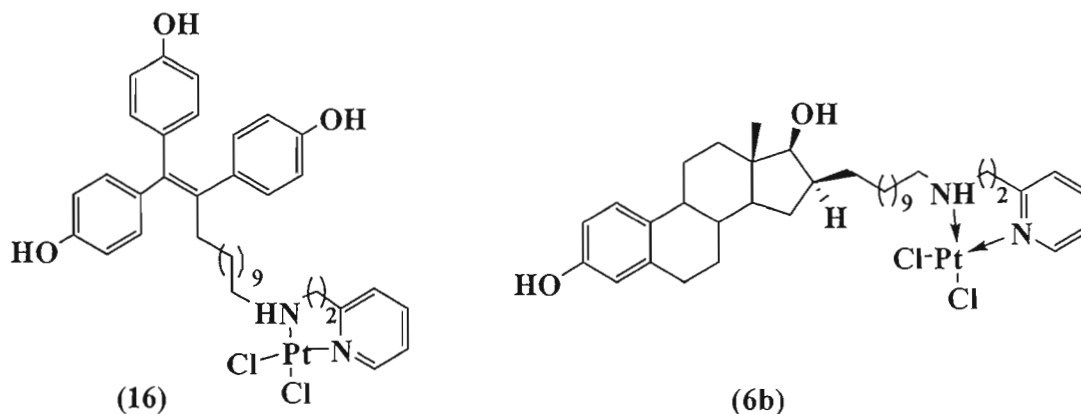


Figure 2.1. Complexe de platine (II) dérivé du tamoxifène (16) et Complexe de platine (II) stéroïdien (6b).

Les travaux dont il sera question dans ce mémoire portent sur la synthèse améliorée de VP-128 (**6b**). Un des objectifs principaux est de raffiner la synthèse pour enrichir le mélange en un isomère, soit le bêta. L'isomère bêta est obtenu en plus grande proportion lors de la synthèse (9 :1) et pourrait éventuellement être facilement isolable. Comme il fut mentionné précédemment, il est important d'obtenir un seul stéréoisomère afin d'avoir un médicament optiquement pur. De plus, il fut démontré que la longueur de la chaîne porteuse de la partie toxique pouvait influencer l'activité biologique d'un composé (Jackson et al, 2001). Il a été décidé de faire varier la longueur de la chaîne alkyle de six à quatorze atomes de carbone, soit les molécules avec des chaînes de six (**17a**), huit (**17b**), onze (**17c**) et quatorze (**17d**) atomes de carbones (Fig. 2.2). Compte tenu du fait qu'il fut mentionné dans la littérature que l'activité biologique optimale correspondait à une longueur de onze ou douze atomes de carbone, il fallait vérifier si cela était valable dans le cas d'un tel dérivé stéroïdien (Perron et al, 2005). Nos principales

hypothèses étaient qu'avec une chaîne trop courte, la partie toxique risquait de ne pas se dégager suffisamment du site ligand-récepteur et ainsi, ne pas pouvoir agir au niveau de l'ADN. De plus, la proximité du dérivé toxique vis-à-vis du stéroïde pourrait causer de l'encombrement stérique au niveau de l'alcool en position 17 de l'estradiol et ainsi nuire à la liaison du ligand sur le récepteur. La seconde hypothèse était qu'une chaîne trop longue pouvait réduire la biodisponibilité du principe actif dans le sang. En augmentant la portion organique d'un composé, celui-ci devient de moins en moins soluble dans le sang, ce qui rend difficile sa distribution dans le corps humain.

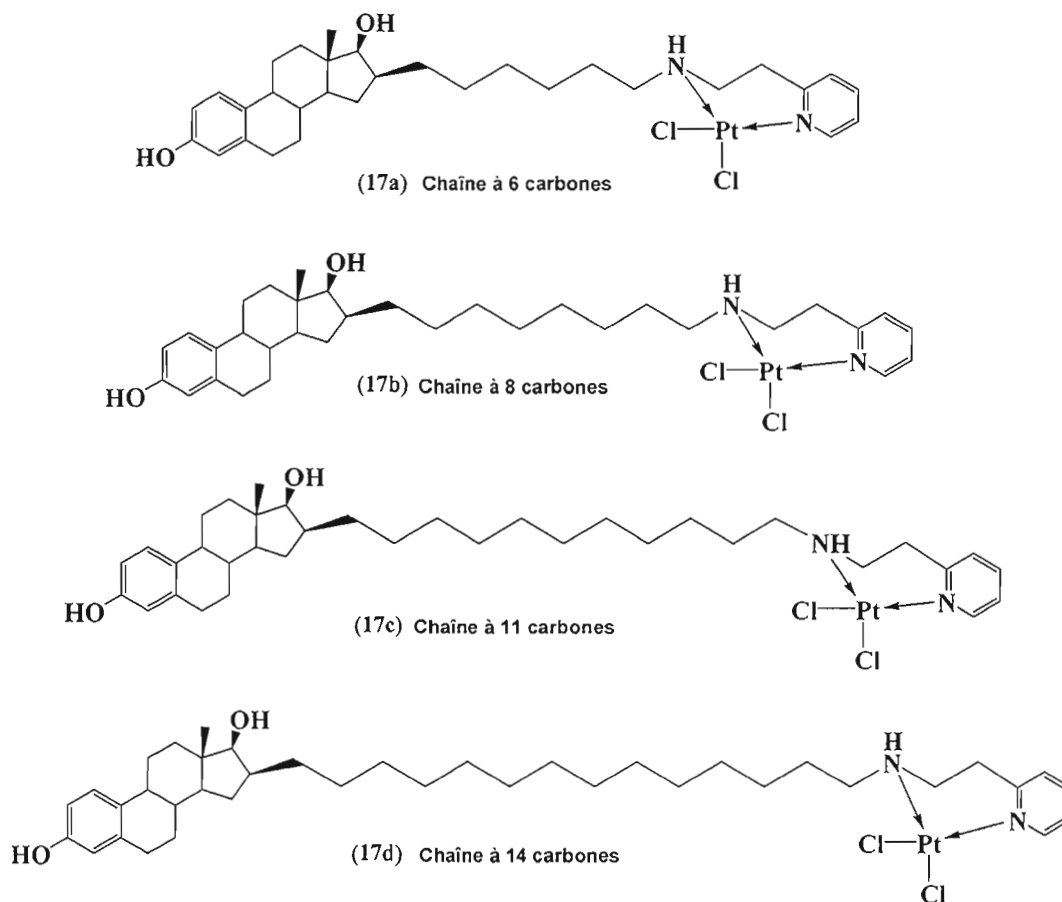


Figure 2.2. Molécules hybrides estradiol-Pt(II) (17a-d) synthétisées dans le cadre de ce projet de maîtrise.

Note : Dans le but de faciliter la compréhension du présent travail, la molécule **6b**, appartenant à la même famille que les molécules **17 (a-d)**, portera maintenant la désignation **17c**. Les composés **6b** et **17c** sont identiques, à la différence qu'ils ont été synthétisés différemment.

2.2 Analyse biologique

Le but du projet était de traiter trois types de cancer hormono-dépendants : sein, utérus et ovaires. Les tests biologiques ont été effectués sur les cellules cancéreuses du sein. Les lignées cellulaires du cancer du sein constituent un

système modèle idéal pour étudier les mécanismes d'action des hormones stéroïdiennes (Horwitz et al, 1978).

Les tests *in vitro* ont été réalisés sur les cellules en culture. Des essais de prolifération cellulaire au MTT (bleu de formazan) ont été effectués à 37°C, 5% de CO₂, à des temps d'incubation de 24, 48 et 72 heures. Le changement de couleur de l'indicateur MTT (jaune au bleu) est révélateur de la proportion de cellules encore vivantes, ce qui permet d'avoir un aperçu de l'action cytotoxique des complexes de platine. Les principales lignées choisies pour effectuer les essais biologiques *in vitro* sont MCF-7 et MDA-MB-231. En raison du types de récepteurs qu'elles contiennent ou ne contiennent pas, il est proposé que certaines lignées pourraient s'avérer plus utiles que d'autres pour répondre à des questions spécifiques concernant le rôle des hormones stéroïdiennes dans le cancer du sein. Les cellules MCF-7 et MDA-MB-231 ont été choisies parmi une sélection de cellules cancéreuses du sein en raison de leur concentration élevée en récepteur des estrogènes. La lignée MCF-7 est riche en récepteur estrogénique α alors que la lignée MDA-MB-231 abonde en récepteur β . Ces cellules proviennent tous deux d'une effusion pleurale d'une patiente atteinte d'un cancer du sein. Une fois les résultats obtenus avec les cellules cancéreuses du sein, il sera possible de pousser les recherches davantage en effectuant les tests biologiques sur les cellules ovariennes et utérines.

L'affinité des molécules hybrides **17a**, **17b** et **17c** fut aussi étudiée. L'étude de l'affinité pour le récepteur estrogénique alpha et bêta est basée sur l'expression de l'enzyme β -galactosidase, constituée de deux fragments : accepteur d'enzyme (AE) et donneur d'enzyme (DE). Plus le fragment DE se dissocie de l'estradiol (**4**), plus l'affinité du ligand pour le récepteur est augmentée. La concentration effective à 50% (EC₅₀) constitue un indice de l'affinité des ligands pour un récepteur. Plus le EC₅₀ est faible, meilleure est l'affinité.

L'analyse *in vivo* fut aussi réalisée avec des souris nu/nu (démunies de thymus, donc de lymphocytes T, mécanisme de défense de l'organisme), auxquelles

on a inoculé un cancer du sein, soit sous forme de xénogreffe à partir de cellules cancéreuses humaines. Les souris devenaient porteuses d'une tumeur hormono-dépendante, MCF-7, ou hormono-indépendante, MDA-MB-468. Il était possible de voir la tumeur sur le flanc de la souris. Une fois la tumeur devenue suffisamment volumineuse, l'agent anticancéreux était injecté aux souris de manière intrapéritonéale. Le complexe estradiol-Pt(II) porteur d'une chaîne alkyle de onze carbones (**17c**, Fig. 2.2, p.33) fut utilisé pour l'analyse avec les souris. Il était ensuite possible de mesurer le diamètre de la tumeur (à l'aide d'un calibrer) et d'en déterminer le volume. Les différents résultats seront présentés dans la section suivante.

Une autre molécule synthétisée dans le cadre de ce projet fut testée *in vivo* sur des rates. Il s'agit du complexe porteur d'une chaîne de huit atomes de carbone (**17b**, Fig. 2.2, p.33). À partir du vingt-et-unième jour de vie, les rates développent des glandes mammaires. L'administration intrapéritonéale de *N*-méthyl-*N*-nitrosourée (MNU) occasionne des tumeurs cancéreuses au niveau de ces glandes. Le composé anticancéreux est ensuite injecté par voie intraveineuse à des temps différents. Un suivi de l'évolution des tumeurs permet de mesurer l'efficacité du médicament à l'étude.

Le modèle de la rate est celui qui ressemble le plus au modèle humain au point de vue physiologique. La tumeur est située au niveau de la glande mammaire qui est partie intégrante du mammifère. Il ne s'agit pas d'une tumeur sous-cutanée comme avec la souris. Cependant, les cellules cancéreuses sont des cellules de rate et non des cellules humaines, d'où l'utilité de se référer au modèle des souris pour avoir une meilleure idée de l'expérience. Avec les rates, les composés sont injectés de manière intraveineuse au niveau de la queue de l'animal.

Dans cette étude préliminaire, il a été décidé d'évaluer les meilleures molécules pour vérifier la faisabilité, dans notre laboratoire, des deux modèles animaux qui étaient connus dans la littérature pour ce genre d'anticancéreux. En

raison de la disponibilité restreinte des composés (**17b** et **17c**), chacun d'eux furent testés selon une seule technique. Ultérieurement, ces deux molécules (**17b** et **17c**) seront testées sur les deux modèles *in vivo*.

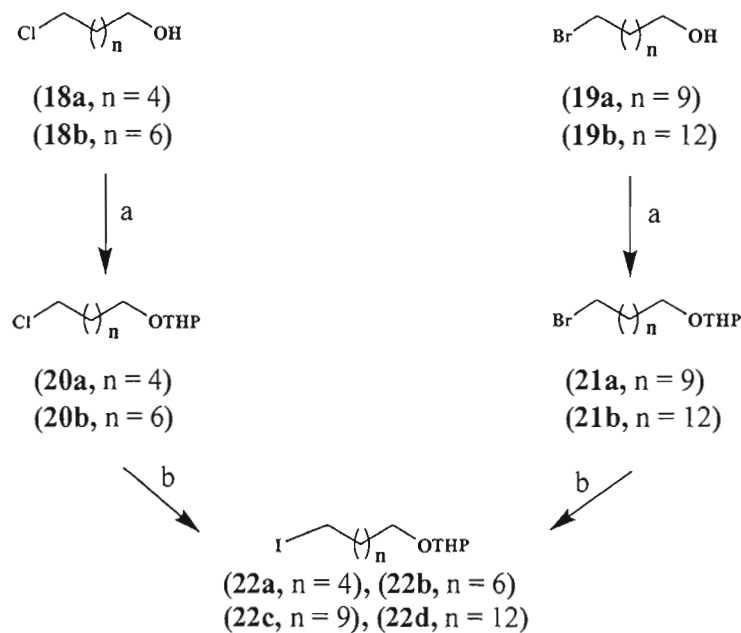
Bref, le but du projet est de préparer des complexes de platine liés à l'estradiol (**4**) afin de vérifier leur affinité respective avec le récepteur estrogénique ainsi que leur activité *in vitro* et *in vivo* sur différents modèles. Dans le chapitre suivant, nous verrons les détails de la fabrication et de l'évaluation biologique de ces nouveaux composés anticancéreux.

3. Description du projet de recherche

3.1 Résultats

3.1.1 Préparation de la chaîne alkyle

Quatre longueurs de chaîne alkyle ont été préparées (voir Fig. 3.1) et ajoutées en position 16 du stéroïde pour des raisons décrites à la section 1.4.1. Des chaînes chloro-alcool (**18**) et bromo-alcool (**19**) ont été protégées avec du 3,4-dihydro-2*H*-pyranne, un éther cyclique monoinsaturé fréquemment utilisé pour la protection des alcools (Warren, 1982). L'acétal ainsi formé est stable en milieu basique contrairement à l'alcool qui pourrait facilement perdre son proton dans les mêmes conditions et donner suite à diverses réactions secondaires. Le tétrahydropyranne ainsi créé pourra être facilement enlevé ultérieurement sous conditions acides.



Réactifs : a) DHP, PPTs, CH_2Cl_2 , 23°C , 18 h, 94-100%.

b) NaI , acétone anhydre, 23°C , obscurité, 3 jours, 73-98%.

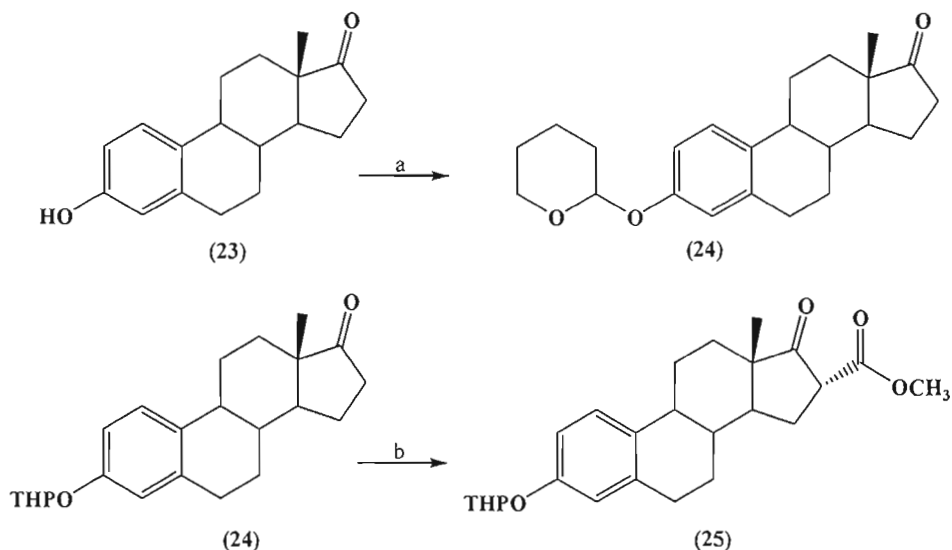
Figure 3.1. Préparation de la chaîne alkyle.

Les chaînes halogénées protégées (**20a-b** et **21a-b**) sont ensuite transformées en iodure suite à une réaction avec l'iodure de sodium (NaI). La raison pour laquelle le chlore et le brome sont ainsi remplacés par l'iode est une question de réactivité en tant que groupe sortant. Théoriquement, l'iode est 150 fois plus labile que le chlore et 3 fois plus labile que le brome (Bruice, 1998). Ainsi, l'ajout de la chaîne sur le stéroïde devrait être beaucoup plus aisée avec l'iodure.

Expérimentalement, l'addition d'une chaîne iodée sur le stéroïde s'est avérée une réaction facile avec 92% (**26b**) de rendement comparativement au chlore et au brome (27% et moins de 5% de rendement, respectivement).

3.1.2 Protection et activation du stéroïde

L'ajout des différentes chaînes alkyles (**22a-d**) en position 16 du stéroïde est effectué en présence d'une base. Afin d'éviter les réactions secondaires au niveau de l'alcool en position 3 du stéroïde, impliqué dans l'interaction avec le récepteur, il devient nécessaire de protéger l'estrone (**23**) à ce niveau. L'estrone (**23**) est protégée avec le même groupement protecteur que pour la chaîne, soit le 3,4-dihydro-2*H*-pyranne. Le fait d'avoir recours à la même fonction protectrice permet de procéder à deux déprotections simultanées lors d'une étape ultérieure, et ainsi, sauver une étape dans la synthèse. Cette réaction de protection est effectuée en présence d'un catalyseur acide, le *p*-toluènesulfonate de pyridinium (PPTs) et du 3,4-dihydro-2*H*-pyranne dans le dichlorométhane (Descôteaux et al, 2003). Le produit protégé (**24**) est obtenu avec 100% de rendement.



Réactifs: a) DHP, CH₂Cl₂, 23°C, 20 h, 100%.
 b) Carbonate de diméthyle, KH, THF sec, reflux sous N₂, 3 h, 90%.

Figure 3.2. Protection et activation du stéroïde.

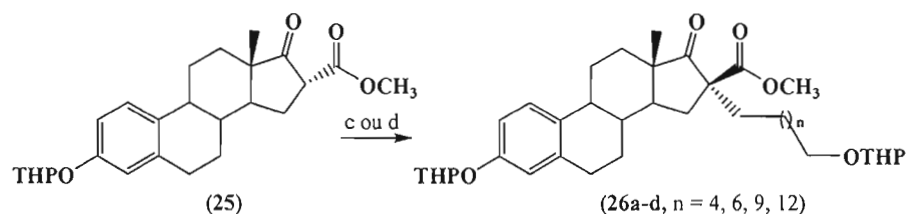
L'addition de la chaîne en position 16 du stéroïde est effectuée en passant par la synthèse acétoacétique d'un β -cétoester. L'utilisation d'un groupement activateur (CO_2CH_3) en α de la cétone de l'estrone (**23**) permet de rendre le proton en position 16 très labile et ainsi diriger l'alkylation à cette position (Tremblay et al., 1995). L'activation est effectuée avec le carbonate de diméthyle en milieu totalement anhydre, avec un chauffage à reflux dans le tétrahydrofurane (Ruest et al., 1976). Une base forte, l'hydrure de potassium (KH), est utilisée pour arracher le proton sur l'estrone protégée (**24**), en alpha de la cétone, et ainsi former l'énolate. Ce dernier réagit avec le carbonate de diméthyle pour donner lieu à l'estrone activée (**25**). Le rendement de cette réaction d'activation est de 90%.

Note : Les différents produits sont souvent constitués d'un mélange de deux diastéréoisomères en position 16 du stéroïde. Dans la présente section, l'isomère majoritaire est illustré. Les proportions des isomères sont indiquées avec la description du spectre RMN- ^1H dans la partie expérimentale.

3.1.3. Alkylation en position 16 du stéroïde

En présence d'un acétoacétate de méthyle, il est possible, à l'aide d'une base, d'arracher le proton hautement labile entre les deux fonctions carbonyles et de créer ainsi un site d'addition idéal pour un halogénure d'alkyle quelconque. Deux méthodes d'alkylation ont été pratiquées pour la synthèse de ces molécules anticancéreuses : la catalyse par transfert de phase en présence de NaOH et à l'aide du carbonate de césium, une base faible. La catalyse par transfert de phase est effectuée en faisant réagir l'estrone activée (**25**) avec une chaîne iodée (**22a-d**), en présence d'un catalyseur, le chlorure de triéthylbenzylammonium (Descôteaux et al, 2003). Le tout est agité vigoureusement à reflux dans du dichlorométhane et une solution d'hydroxyde de sodium 10% p/v. Parallèlement, cette même réaction fut réalisée en présence de carbonate de césium dans du tétrahydrofurane sec à reflux avec un courant d'azote. Les deux méthodes d'alkylation ont donné les

estrones alkylées (**26a-d**) convoitées avec des rendements variant de 41% à 92% pour la catalyse par transfert de phase et 78% (**26b**) avec le carbonate de césium. Dans les deux cas, un diastéréoisomère majoritaire fut obtenu, soit celui avec la chaîne alkyle en α du stéroïde. Ce résultat est à la lumière de nos attentes car l'encombrement stérique engendré par la fonction méthyle en position 18 force la chaîne à s'ajouter par la face la moins encombrée du stéroïde, soit en alpha.



Réactifs: c) Chaîne 22a, 22b, 22c ou 22d, chlorure de triéthylbenzylammonium, CH_2Cl_2 , NaOH 10% aq., reflux, obscurité, 3 h, 41-92 %.
d) Chaîne 22b, Cs_2CO_3 , THF anhydre, reflux, obscurité, 25 h, 78% (**26b**).

Figure 3.3. Alkylation du stéroïde en position 16.

La catalyse par transfert de phase étant une méthode relativement douce, la formation de produits secondaires devient peu probable, ce qui expliquerait le rendement plus élevé.

3.1.4. Décarboalkoxylation et deux déprotections en une seule étape

L'utilisation des groupements protecteurs tétrahydropyrane pour les deux fonctions alcool des molécules **26a-d** devient, à cette étape de la synthèse, très avantageuse. La réaction de décarboalkoxylation ainsi que les deux déprotections sont réalisées simultanément, avec d'excellents rendements globaux variant de 51% à 71% pour ces trois transformations. Pour ce faire, du chlorure de lithium (LiCl) est ajouté à une des molécules alkylées (**26a-d**) dans du diméthylformamide (DMF) en présence de traces d'eau (Perron et al, 2005). Au cours de cette étape, le LiCl

réagit avec le β -cétoester (Brückner, 1999). Il se forme alors, par une attaque S_N2 de l'ion chlorure sur le groupe CH_3 , un ion β -cétocarboxylate qui, à température élevée, se fragmente immédiatement en énolate de la cétone avec libération de CO_2 . Il y a ensuite retour des électrons pour former la cétone, puis la double liaison du cycle attaque l'hydrogène de l'eau. Ce proton se retrouve majoritairement à la position 16α du stéroïde. Ces conditions expérimentales servent également à déprotéger l'éther tétrahydropyrannylée en alcool (Maiti et al., 1996).

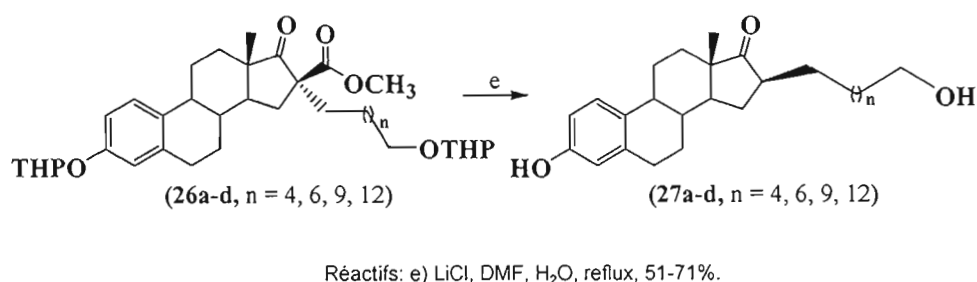


Figure 3.4. Décarboalkoxylation et déprotections du stéroïde.

3.1.5. Réduction de la fonction carbonyle en position 17 des stéroïdes 26a-d

L'étape réactionnelle suivante est la réduction de la cétone en position 17 du stéroïde (voir Fig. 1.6, p.12). Cette réaction est simple et donne un produit réduit suffisamment pur pour être utilisé à l'état brut pour une réaction ultérieure. Le diol-cétone est dissout dans un mélange d'éther, de dichlorométhane et de tétrahydrofurane. À basse température, le borohydrure de lithium, un agent réducteur, est ajouté à la solution (Perron et al, 2005). La réaction est efficace avec un rendement brut variant de 96 à 100%.

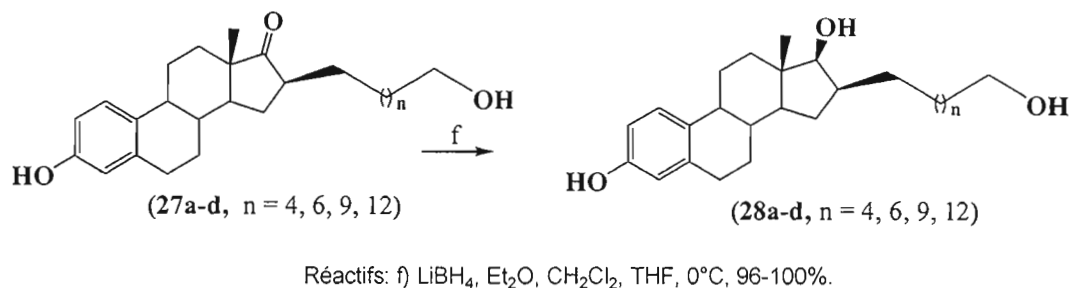


Figure 3.5. Réduction de la fonction carbonyle en position 3 du stéroïde.

3.1.6. Bromation de la chaîne alkyle des molécules 28a-d

Pour permettre l'addition éventuelle d'un amine primaire en bout de chaîne, l'halogénéation de l'alcool devient nécessaire. La conversion d'un alcool en bromure est réalisée avec le tétrabromure de carbone (Perron et al, 2005). Cette réaction est effectuée en présence de triphénylphosphine (PPh_3) et de tétrabromure de carbone (CBr_4) dans du dichlorométhane. Il s'agit d'une réaction délicate avec un rendement variant de 34% à 62%. L'alcool en position 17, plus encombré, ne réagit pas aussi rapidement que l'alcool primaire en bout de chaîne.

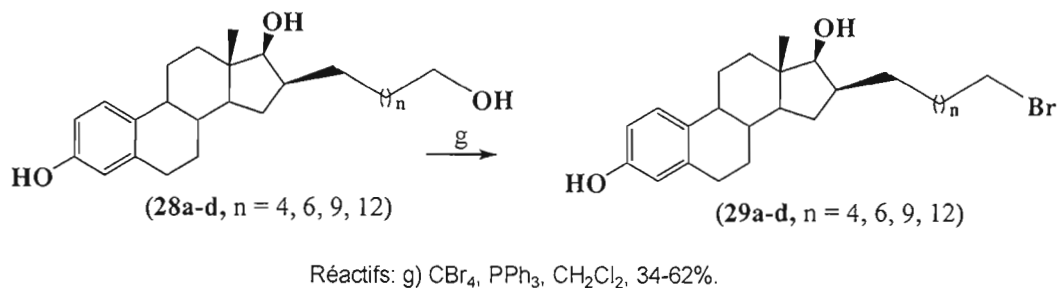
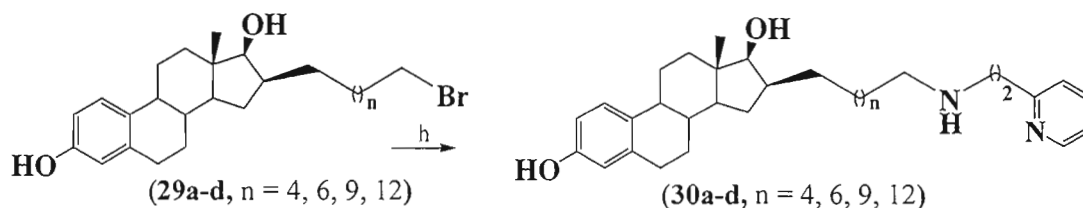


Figure 3.6. Bromation en bout de chaîne du dérivé stéroïde.

3.1.6. Ajout du 2-(2'-aminoéthyl)pyridine

L'amine est ajouté en bout de chaîne par un déplacement de l'halogénure, une réaction nucléophile de type S_N2 . L'amination permet l'addition du 2-(2'-aminoéthyl)pyridine qui sert d'agent chélatant au complexe de platine. La réaction est effectuée dans du méthanol anhydre, sous atmosphère inerte (Descôteaux et al, 2003). L'amine est ajoutée, en excès (pour éviter la polyalkylation), à un des stéroïdes bromés (**29a-d**) et le tout est porté à reflux. Le produit est isolé avec un rendement brut variant de 94 à 100%.



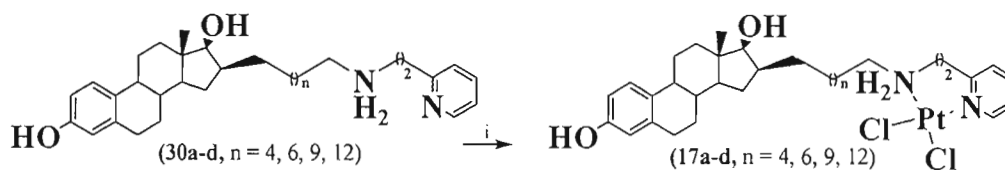
Réactifs: h) Pyridine-2-CH₂CH₂NH₂, MeOH, reflux sous N₂, 3 jours, 94-100%.

Figure 3.7. Amination du dérivé stéroïde

3.1.7. Complexation avec le K₂PtCl₄

La complexation est la dernière étape de la synthèse. Il s'agit d'une réaction au cours de laquelle les atomes d'azote de la pyridine partageront leurs paires d'électrons libres avec les orbitales vides du platine. Il se formera ainsi une liaison de coordination. Cette réaction est effectuée en présence de tétrachloroplatinate de potassium dans un mélange de diméthylformamide (DMF) et d'eau (Perron et al, 2005). Le tout est agité à l'obscurité à température ambiante pour une durée de cinq à six jours. La formation des complexes de platine (**17a-d**) est caractérisée par un changement de pH (9 à 4) important résultant du partage de la paire d'électrons des atomes d'azote. À l'état brut le complexe est plutôt résineux et il est difficile de le

récupérer complètement du mélange réactionnel. Le produit pur est quand même obtenu avec un rendement global (amination-complexation) variant de 39 à 58%.



Réactifs: i) K_2PtCl_4 , DMF:H₂O (4:1), 23°C, obscurité, 3 jours, 39-58%.

Figure 3.8. Complexation du dérivé stéroïde

Le produit final est obtenu sous la forme d'un mélange de deux isomères : 16α et 16β . Il est impossible d'isoler un seul de ces isomères, par contre la caractérisation par RMN-¹H et RMN-¹³C permet de déterminer les proportions des différents isomères présents dans le mélange. Une étude menée dans le laboratoire du Dr. Donald Poirier du CHUL à Québec porte sur la caractérisation des isomères 16α et 16β de molécules estrogéniques porteuses d'une chaîne allyle en position 16 du stéroïde, similaires à celles synthétisées dans notre laboratoire (Dionne et al, 1997). Le Tableau 3.1 montre les signaux du RMN-¹³C caractéristiques aux isomères 16α et 16β . Plus précisément, les carbones aux positions 17 et 18 apparaissent à 87,11 ppm (C17) et à 12,20 ppm (C18) lorsque la chaîne est en position 16α . Ces mêmes signaux apparaissent aux positions 81,91 ppm (C17) et 12,93 ppm (C18) lorsque la chaîne est localisée en 16β . Les déplacements chimiques sont très distincts et caractéristiques selon l'orientation de la chaîne sur le carbone 16. Ainsi, en comparant les signaux des composés fabriqués avec les molécules de référence du Dr. Poirier, il est possible d'identifier chacun des isomères et de les quantifier d'après l'intensité des signaux.

Tableau 3.1 : Déplacements chimiques des atomes de carbone C17 et C18 pour les isomères 16 α et 16 β .

| | C17 | C18 |
|-----------------------|------------|------------|
| Chaîne en 16 α | 87,11 ppm | 12,20 ppm |
| Chaîne en 16 β | 81,91 ppm | 12,93 ppm |

Il est aussi possible de constater, par analogie avec les spectres C¹³, que les protons du méthyle en position 18 apparaissent sous forme d'un singulet à 0,80 ppm sur le spectre RMN-¹H alors que pour l'isomère 16 β , ce même signal apparaît à 0,77 ppm. L'analyse des différents complexes de platine(II) (**17a-d**) permet de constater que l'isomère 16 β est le composé majoritaire pour les quatre longueurs de chaîne.

3.2 Analyse biologique

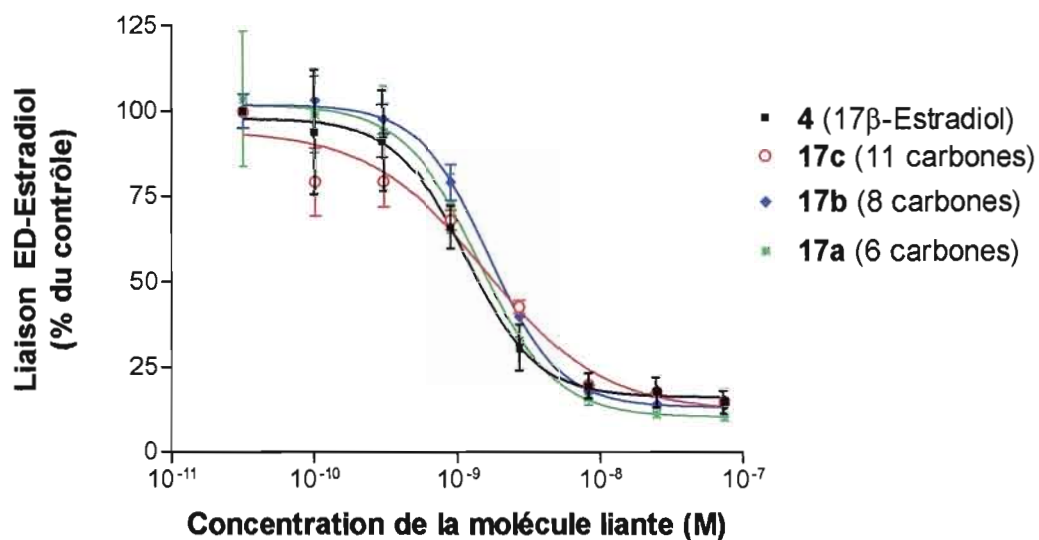
3.2.1 Affinité sur le récepteur des estrogènes (α et β)

La structure, la densité électronique de même que l'énergie des différentes molécules bioactives influencent beaucoup l'interaction de ces dernières avec leur récepteur spécifique. Dans le cadre du présent travail, il était intéressant d'étudier l'affinité des molécules synthétisées avec les récepteurs estrogéniques alpha et bêta. La longueur de la chaîne alkyle liant le ligand à la partie toxique est un facteur pouvant avoir un effet important vis-à-vis de la liaison sur le récepteur.

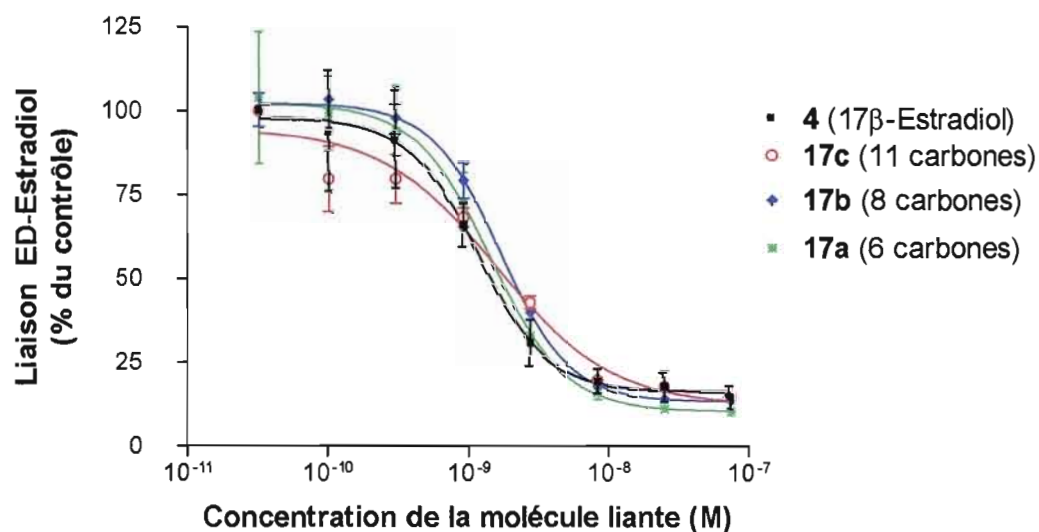
Une étude de compétition des différentes molécules synthétisées pour les récepteurs estrogéniques alpha et bêta a été réalisée à l'aide d'un ensemble d'analyse vendu par la compagnie «HitHunterTM». À partir de recombinant humain purifié fourni par la compagnie «Calbiochem», des tests de complémentarité et de fragmentation d'enzyme (EFC) ont été effectués avec les deux types de récepteurs à estrogène.

La technique EFC «HitHunter» est une méthode fiable et simple utilisée pour la détection des compétiteurs de l'estrogène. Le 17β -estradiol (**4**), le ligand naturel du récepteur estrogénique, est utilisé comme référence. La méthode d'analyse EFC est basée sur l'association de deux fragments de l'enzyme β -galactosidase : ED (donneur d'enzyme) et EA (accepteur d'enzyme). Le fragment ED est initialement lié à l'estradiol (**4**), qui a une forte affinité pour le récepteur ($RE\alpha$ ou $RE\beta$). En présence de compétiteurs pour le récepteur estrogénique, le complexe ED-estradiol ne se lie plus au récepteur (RE) et se lie plutôt au fragment EA. La liaison ED-EA émet un signal lumineux qui est mesuré par fluorescence avec le fluorimètre FLUOStar OPTIMA. La longueur d'onde d'excitation du complexe est de 530 nm et la luminosité est mesurée à 620 nm. Ainsi, plus l'affinité d'une molécule quelconque est forte pour le récepteur estrogénique à l'étude (α ou β), plus le signal est intense.

Le 17β -estradiol (**4**) ainsi que trois des quatre complexes estradiol-Pt (**17a**, **17b**, **17c**) ont été analysés par la méthode EFC de la compagnie «HitHunter». L'affinité des différentes molécules a été étudiée pour les deux récepteurs estrogéniques, alpha et bêta. Les graphiques 3.1 et 3.2 représentent la liaison du complexe ED-estradiol avec le récepteur (% de la fluorescence par rapport au contrôle) en fonction de la concentration des différents compétiteurs (**4**, **17c**, **17d** et **17e**). Plus la molécule a une forte affinité pour le récepteur estrogénique, plus le complexe ED-estrogène se dissocie de ce dernier.



Graphique 3.1. Affinité des composés 17a-c pour le récepteur $RE\alpha$.



Graphique 3.2. Affinité des composés 17a-c pour le récepteur $RE\beta$.

On peut observer sur les graphiques 3.1 et 3.2 que les courbes d'affinité des composés 17a-c se superposent à celle du 17 β -estradiol (4). L'interprétation des

graphiques permet de conclure que les molécules hybrides E₂-Pt(II) (**17a-c**) ont une affinité très similaire à celle de l'hormone naturelle, contrairement au cisplatine (**1**), le composé actuellement utilisé en chimiothérapie, qui lui ne présente pas d'affinité pour ces récepteurs (Perron et al, 2005). Ces molécules pourraient ainsi être livrées au niveau des organes porteurs des récepteurs estrogéniques ce qui provoquerait une importante diminution des effets secondaires toxiques.

Il est aussi possible d'interpréter ces résultats en comparant la concentration effective à 50% (EC₅₀). Cette valeur correspond à la concentration du ligand compétiteur nécessaire pour briser 50% des liaisons ED-estrogène-récepteur. Plus la concentration effective à 50% est faible, meilleure est l'affinité du ligand en question.

En général, les molécules **17a-c** ont une affinité importante (1,49 - 2,75*10⁻⁹ M, voir Tableau 3.2) pour les récepteurs estrogéniques, pratiquement la même que pour l'estradiol (**4**). Dans le cas de la molécule hybride avec la chaîne à huit atomes de carbone (**17b**), l'affinité semble meilleure pour le récepteur RE α contrairement aux molécules avec les chaînes à six (**17a**) et onze (**17c**) carbones, qui ont une affinité supérieure pour le récepteur RE β . Ces résultats sont très comparables et ne laissent pas la possibilité de conclure avec certitude qu'une molécule a une affinité spécifique pour un des deux types de récepteurs. L'important est que le fait de lier un dérivé toxique sur une chaîne en position 16 du stéroïde n'affecte pas de manière significative l'affinité sur le récepteur.

Tableau 3.2 : Test d'affinité des composés 17a-c pour les récepteurs RE α et RE β .

| | Concentration effectrice à 50% (EC ₅₀), M | |
|---|---|------------------------|
| | RE α | RE β |
| 4 (17β-estradiol) | 4,03*10 ⁻¹⁰ | 9,31*10 ⁻¹⁰ |
| 17a (6 carbones) | 2,32*10 ⁻⁹ | 1,83*10 ⁻⁹ |
| 17b (8 carbones) | 1,52*10 ⁻⁹ | 1,65*10 ⁻⁹ |
| 17c (11 carbones) | 2,75*10 ⁻⁹ | 1,49*10 ⁻⁹ |

3.2.2 Tests biologiques *in vitro*

Les tests de cytotoxicité au MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazoline) ont été réalisés avec les quatre molécules synthétisées (**17a**, **17b**, **17c** et **17d**). Les analyses *in vitro* ont été effectuées sur les cellules cancéreuses du sein hormono-dépendantes (RE⁺) MCF-7 et hormono-indépendantes (RE⁻) MDA-MB-231. Globalement, la majorité de ces molécules a une activité grandement supérieure au cisplatine (**1**) sur les deux types de cellules. La longueur de la chaîne ne semble pas influencer énormément l'activité biologique. On observe des IC₅₀ variant entre 1,07 et 2,35 µM pour les composés **17a-c**, ce qui représente des activités de 7 à 13 fois supérieures au cisplatine (**1**) (Tableau 3.3). La molécule porteuse d'une chaîne à quatorze atomes de carbone (**17d**) fait exception avec des IC₅₀ de 1,48 et 4,53 µM. Dans ce cas-ci, la baisse d'activité pourrait être causée par une solubilité moindre du composé en raison de la longueur de la chaîne alkyle.

Tableau 3.3: Essais de cytotoxicité des composés 17a-d sur les cellules hormono-dépendantes (MCF-7) et hormono-indépendantes (MDA-MB-231).

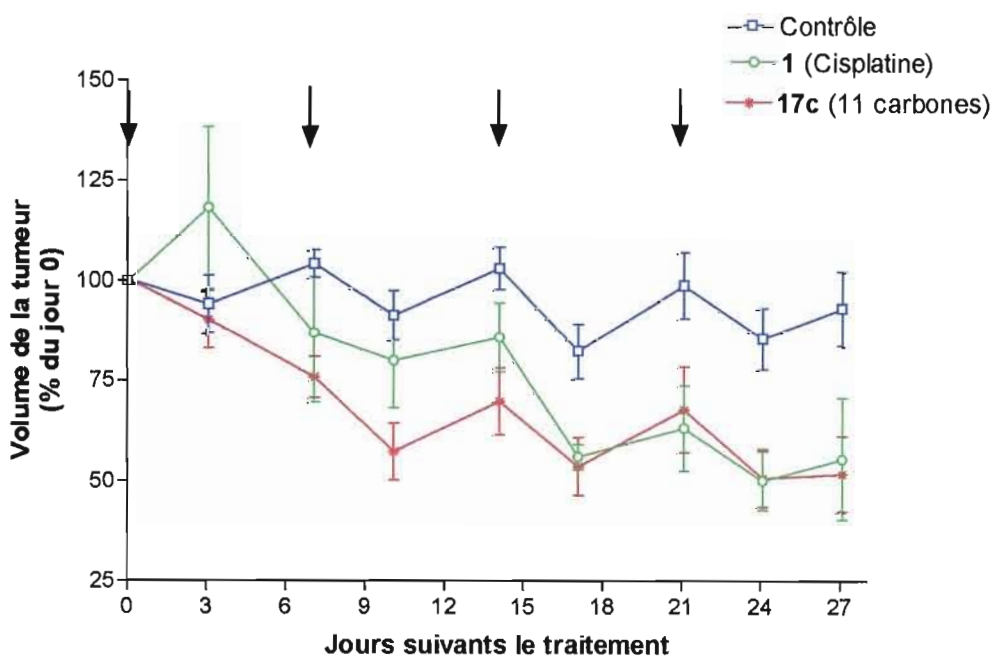
| | | Concentration inhibitrice sur les cellule cancéreuses du sein. | | | | |
|---------------------|----|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Lignées cellulaires | RE | 1 | 17a | 17b | 17c | 17d |
| | | Cisplatine | 6 carbones | 8 carbones | 11 carbones | 14 carbones |
| | | IC ₅₀ (µM) | IC ₅₀ (µM) | IC ₅₀ (µM) | IC ₅₀ (µM) | IC ₅₀ (µM) |
| MDA-MB-231 | - | 13,70 ± 1,33 | 1,22 ± 0,19 | 1,15 ± 0,22 | 1,07 ± 0,09 | 1,48 ± 0,37 |
| MCF-7 | + | 15,59 ± 2,15 | 2,35 ± 0,18 | 1,81 ± 0,25 | 2,02 ± 0,19 | 4,53 ± 0,69 |

3.2.3 Tests biologiques *in vivo*

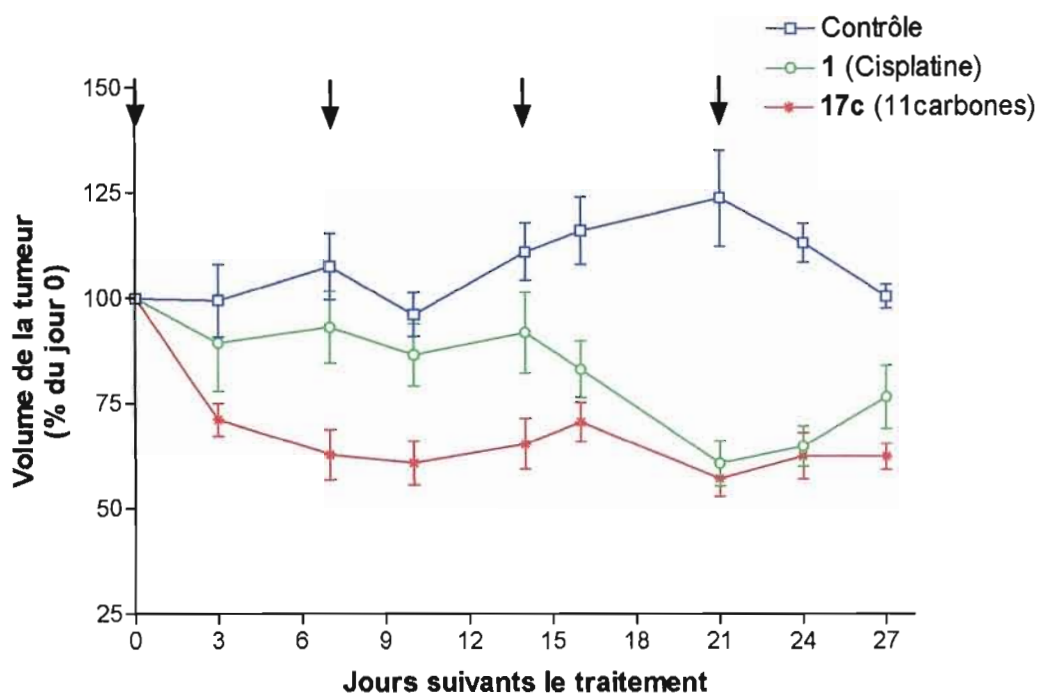
Les essais *in vivo* ont été réalisés avec deux des quatre molécules synthétisées, soit avec les composés **17b** et **17c**. Ces deux molécules donnaient

des résultats prometteurs *in vitro* ce qui laissait prévaloir l'utilité de procéder à l'analyse *in vivo*. Deux modèles animaux ont été utilisés : la souris et la rate. À ce jour, en raison de la quantité limitée des composés (**17b** et **17c**) et du désir d'évaluer les deux modèles animaux, la molécule **17b** fut analysée avec le modèle de la rate et la molécule **17c** avec celui de la souris. Ultérieurement, les deux composés seront testés à l'aide des deux techniques dans le but de tirer de meilleures conclusions.

Les deux techniques, décrites dans la section précédente, permettent d'observer l'évolution de la tumeur à l'œil nu et de mesurer, à l'aide d'un calibre, la grosseur de cette dernière dans le temps, ce qui permet d'évaluer l'efficacité du médicament utilisé. Sur les graphiques du volume et de la masse des tumeurs en fonction de nombre de jours suivant le premier traitement, les flèches indiquent les moments où les composés ont été injectés.



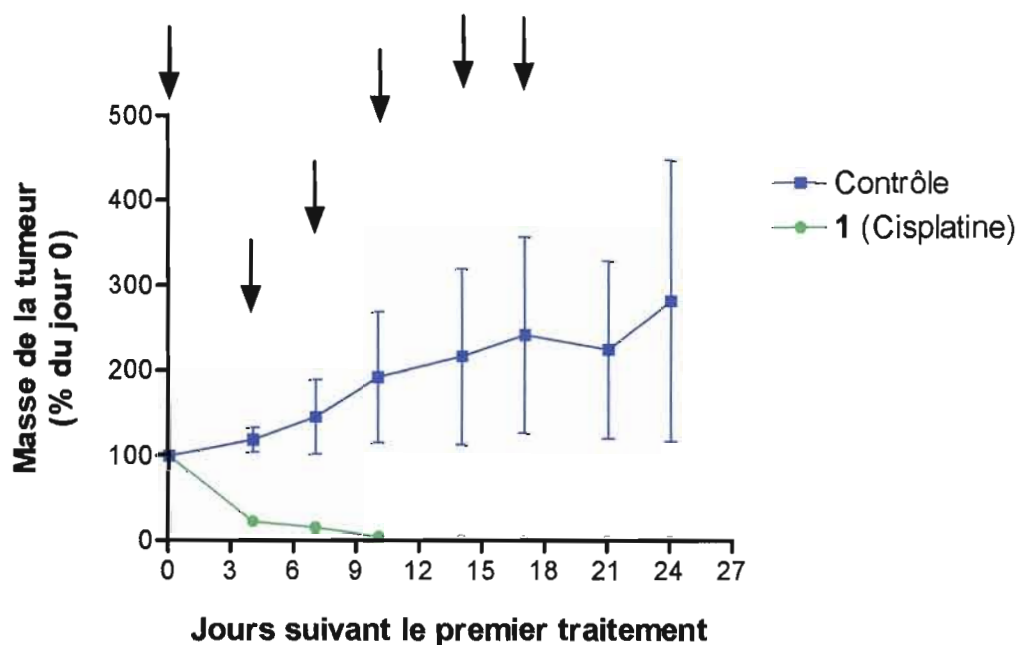
Graphique 3.3. Volume d'une tumeur hormono-indépendante MDA-MB-468 chez la souris xéno greffée traitée avec les composés 1 et 17c.



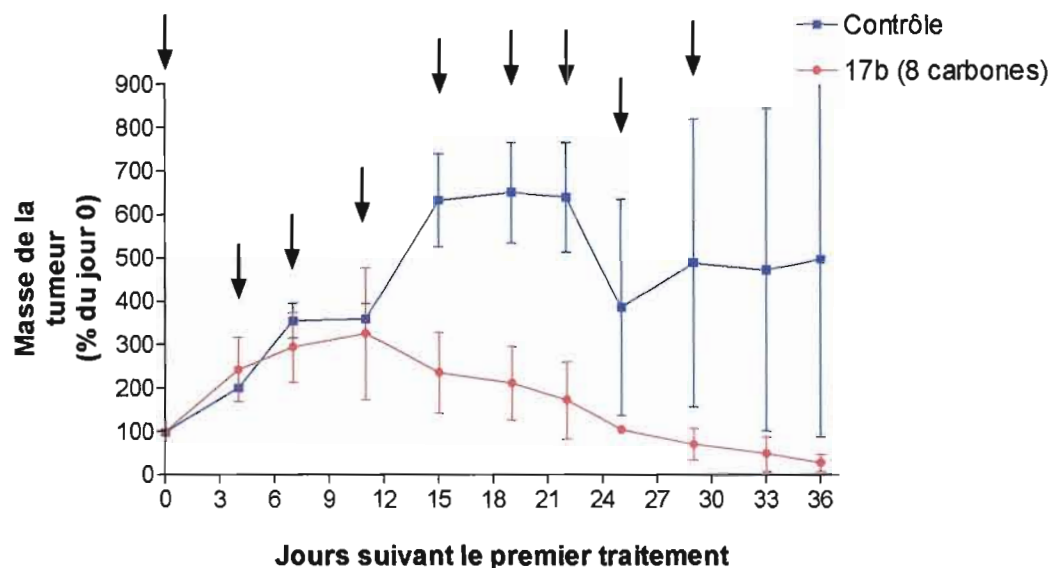
Graphique 3.4. Volume d'une tumeur hormono-dépendante MCF-7 chez la souris xéno-greffée traitée avec les composés 1 et 17c.

L'analyse des résultats obtenus avec les souris xéno-greffées (Graphiques 3.3 et 3.4) permet de conclure que dans le cas de ce modèle, la molécule hybride **17c** contribue à faire diminuer la tumeur de près de la moitié de son volume initial. Le nouveau composé est très efficace, voire même plus efficace que le cisplatine (**1**), le médicament actuellement utilisé sur le marché, si l'on fait référence à la rapidité d'action de ce nouveau médicament. Il faut noter que le dérivé hybride **17c** est injecté à une dose 2,7 fois inférieure à celle du cisplatine (**1**). Après 3 jours seulement, on observe une action initiale plus prononcée de l'hybride sur la tumeur hormono-dépendante (~30% de réduction sur RE⁺ par rapport à ~10% de réduction sur RE⁻). Contrairement au comportement normal d'une tumeur cancéreuse, le volume des tumeurs non traitées semblent se stabiliser. La raison est que cette dernière avait atteint un seuil maximal de croissance au moment des premiers traitements.

L'administration de MNU chez les rates engendre la formation d'un type de tumeur unique qualifié de carcinome mammaire. Pour une même concentration de principe actif, le cisplatine (1) a provoqué la disparition complète de la tumeur après seulement quinze jours alors que le complexe 17b étudié a nécessité tout près de trente-six jours pour un résultat similaire (Graphiques 3.5 et 3.6). Il est quand même important de noter que dans les deux cas, les tumeurs ont pratiquement toutes disparues, ce qui fait foi de l'efficacité des deux agents anticancéreux. Certes, la rapidité d'action du cisplatine (1) est non négligeable, seulement, les effets secondaires découlant de l'utilisation de ce médicament permettront de tirer de meilleures conclusions.



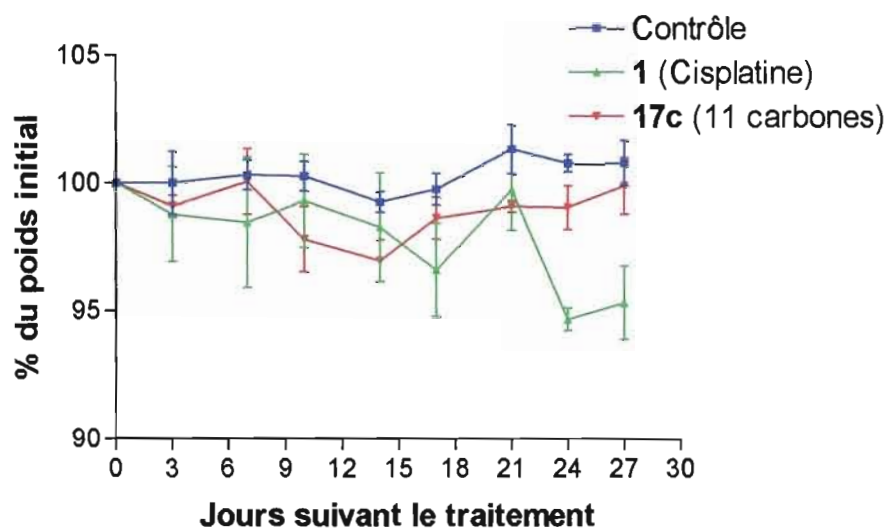
Graphique 3.5. Volume d'une tumeur mammaire de rate traitée avec le cisplatine (1).



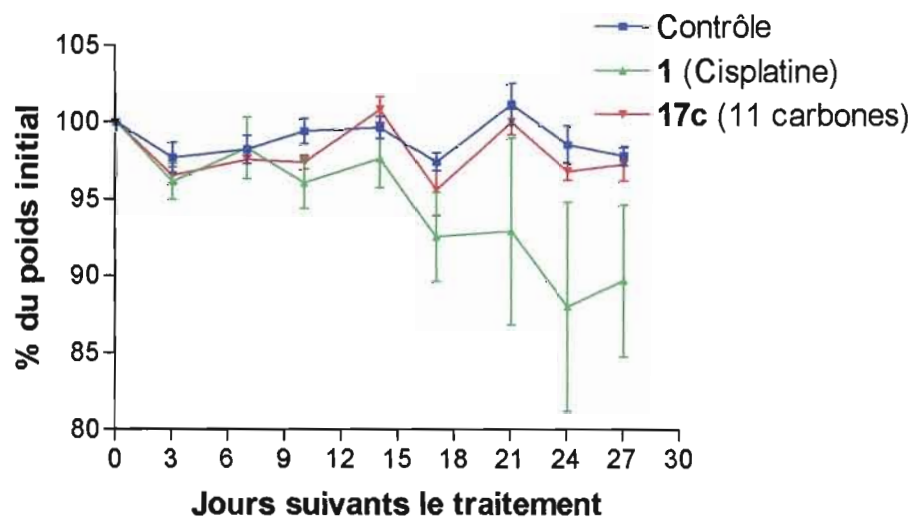
Graphique 3.6. Volume d'une tumeur mammaire de rate traitée avec le composé 17b.

3.2.4 Effets secondaires.

Le cisplatine (**1**) est un composé anticancéreux occasionnant plusieurs effets secondaires toxiques indésirables chez les patients humains. Chez la souris et la rate, l'administration de ce composé cause aussi plusieurs effets secondaires visibles, notamment une déshydratation et une perte de poids importante. Les graphiques 3.7 et 3.8 présentent la masse de souris traitées avec le cisplatine (**1**) comparativement à celles traitées avec la molécule hybride **17c**. Le pourcentage du poids initial des souris (en ordonnée) est représenté en fonction du nombre de jours suivants le traitement (en abscisse) pour des tumeurs de type hormono-dépendantes MCF-7 (graphique 3.7) et hormono-indépendantes MDA-MB-468 (graphique 3.8).

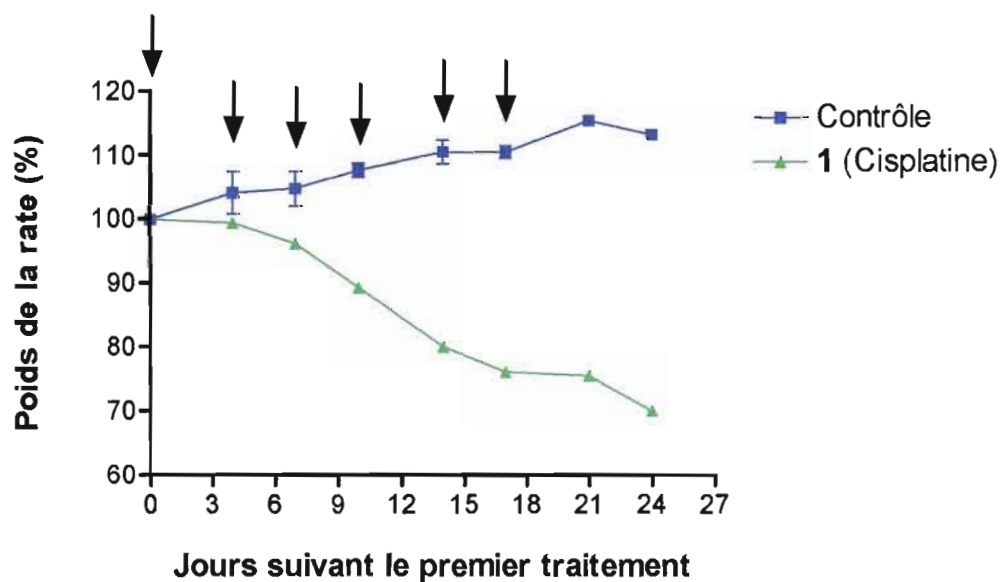


Graphique 3.7. Poids des souris porteuses d'une tumeur hormono-dépendante MCF-7 suite aux traitements avec les composés 1 et 17c.

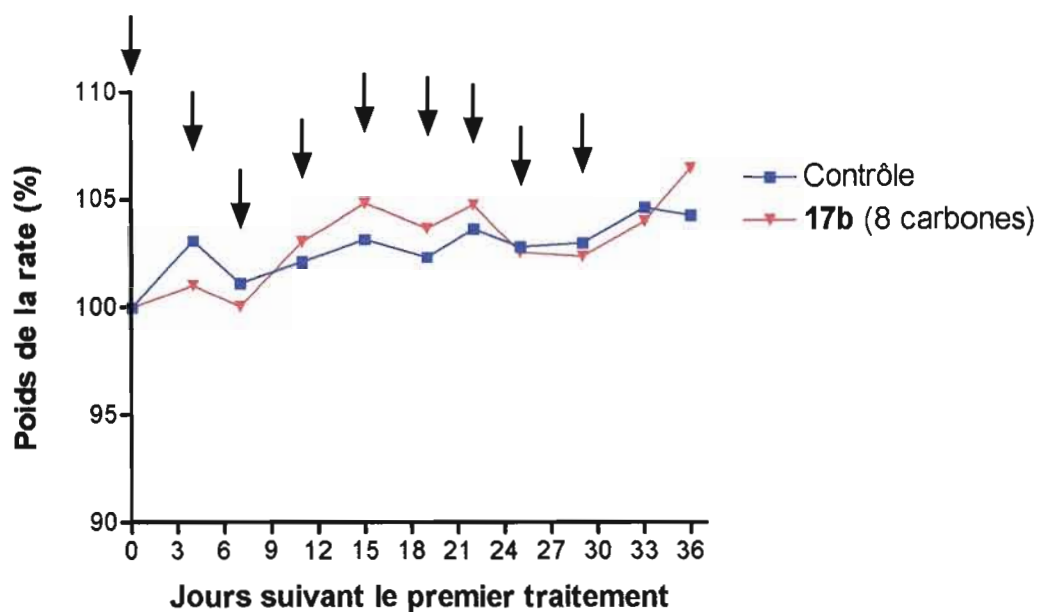


Graphique 3.8. Poids des souris porteuses d'une tumeur hormono-indépendante MDA-MB-468 suite aux traitements avec les composés 1 et 17c.

Malgré le fait que la perte de poids est plus importante chez les souris porteuses d'une tumeur de type hormono-indépendante (10%) comparativement aux souris porteuses d'une tumeur hormono-dépendante (5%), il est intéressant de noter que ce phénomène n'est pas observé suite à l'administration du nouveau médicament. La même étude fut menée sur des rates. Les graphiques 3.9 et 3.10 montrent la variation de poids chez les rates en fonction du nombre de jours suivant le premier traitement avec le cisplatine (1) (graphique 3.9) et avec le médicament à l'étude (17b) (3.10).



Graphique 3.9. Poids des rates traitées avec le cisplatine (1).



Graphique 3.10. Poids des rates traitées avec la molécule hybride 17b.

Dans le cas des deux modèles, avec les rates comme avec les souris, pour les tumeurs hormono-dépendantes et hormono-indépendantes, l'administration de cisplatine (1) occasionne une perte de poids (5 à 30%) chez l'animal. Ce dernier voit son état de santé se dégrader : déshydratation, perte de pilosité, faiblesse et autre. Sur chacun des graphiques, il est possible de noter que contrairement au cisplatine (1), la prise des médicaments nouvellement synthétisés dans le cadre de ce projet n'occasionne pas d'effets secondaires apparents chez les mammifères. Bien certainement, une analyse plus poussée permettra, dans un proche avenir, d'étudier la distribution du composé dans l'ensemble du corps ainsi que les effets secondaires non visibles pouvant s'y rattacher.

4. Conclusion

Dans le cadre de ce projet de maîtrise, quatre molécules anticancéreuses (**17a-d**) ont été synthétisées. En position 16 de l'estradiol, des chaînes alkyles de six (**17a**), huit (**17b**), onze (**17c**) et quatorze (**17d**) atomes de carbone séparaient un dérivé du cisplatine. Ces quatre composés ont été fabriqués d'après la synthèse améliorée d'une molécule hybride estradiol-Pt(II) porteuse d'une chaîne de onze atomes de carbones (VP-128, **6b**, **17c**). Cette molécule, auparavant synthétisée en neuf étapes avec un rendement de 10% fut maintenant synthétisée en huit étapes avec tout près de 15% de rendement global. Le choix judicieux du groupement protecteur tétrahydropyrannyle (en début de synthèse) a permis une déprotection simultanée, lors de la décarboalkoxylation, comparativement au groupement benzyle qui lui résistait aux conditions réactionnelles. Ainsi, une étape subséquente de déprotection a été évitée avec la nouvelle séquence de synthèse. Le complexe VP-128 (**6b**, **17c**) se traduisait en un mélange de deux stéréoisomères, 16α et 16β . L'amélioration de la synthèse a permis d'enrichir le mélange en isomère 16β lors de la séquence optimisée.

La molécule porteuse d'une chaîne hexyle (**17a**) fut synthétisée avec un rendement global de 6%, celle porteuse d'une chaîne octyle (**17b**), 12%, la chaîne undécyle (**17c**), 15% et la chaîne tétradécyle (**17d**), 5%. Pour trois de ces quatre composés (**17a**, **17b** et **17c**), l'affinité pour les récepteurs α et β fut étudiée. Globalement, les molécules hybrides estradiol-Pt(II) (**17a-c**) ont une excellente affinité pour les récepteurs estrogéniques, pratiquement au même niveau que l'hormone sexuelle féminine elle-même, ce qui n'est pas le cas pour le cisplatine (**1**), le médicament actuellement utilisé en clinique. Les effets secondaires importants liés à l'utilisation du cisplatine (**1**) sont principalement causés par cette non spécificité de l'agent chimiothérapeutique. Ainsi, les complexes estradiol-Pt(II) auraient l'avantage de cibler des cellules cancéreuses porteuses de récepteurs

estrogéniques et par le fait même, d'enrayer ou de diminuer considérablement les effets secondaires de la chimiothérapie.

Les quatre molécules synthétisées dans le cadre de cette maîtrise (**17a-d**) ont été testées *in vitro* sur des cellules cancéreuses du sein, hormono-dépendantes (RE⁺) MCF-7 et hormono-indépendantes (RE⁻), MDA-MB-231. Les tests de cytotoxicité au MTT ont permis de constater que l'ensemble de ces molécules a une activité grandement supérieure à celle du cisplatine (**1**), soit des activités de sept à treize fois celle de ce dernier. En ce qui concerne la longueur de la chaîne carbonée séparant l'hormone du dérivé cytotoxique, elle ne semble pas influencer énormément l'activité biologique. Les molécules porteuses des chaînes octanyle (**17b**) et undécanyle (**17c**) présentent une légère avance au point de vue efficacité cytotoxique, seulement, des essais supplémentaires permettront certainement de tirer de meilleures conclusions.

Des analyses biologiques *in vivo* ont aussi été réalisées sur deux modèles animal : la souris et la rate. La molécule hybride **17c** fut testée sur des souris nu/nu auxquelles des tumeurs hormono-dépendantes MCF-7 et hormono-indépendantes MDA-MB-468 ont été xénogreffées. Suite à cette étude, il est possible de conclure que l'hybride **17c** est très efficace sur chacune des tumeurs, autant sinon plus efficace que le cisplatine (**1**) et ce à une dose 2,7 fois moindre. La rapidité d'action avec laquelle le composé fait diminuer le volume des tumeurs est remarquable ; en une semaine, les tumeurs perdent plus de 40% de leur volume initial. Avec les rates, la molécule testée fut le complexe **17b**. Encore une fois, le composé à l'étude avait un effet marquant sur le volume des tumeurs.

Le poids des mammifères fut aussi étudié en fonction du nombre de jours suivant le premier traitement. Dans tous les cas, il est possible de conclure que l'administration du cisplatine (**1**) engendre une importante perte de poids, ce qui n'est pas observé chez les animaux ayant reçu les molécules hybrides (**17b** et **17c**). Les effets secondaires observables sont aussi beaucoup moins intenses et l'état de

santé global des souris et des rates traitées avec le nouvel agent anticancéreux ne semble pas affecté.

En conclusion, les nouvelles molécules synthétisées (**17a-d**) dans le cadre de ce projet de maîtrise sont très prometteuses. Dans un proche avenir, il serait sans aucun doute intéressant d'effectuer des essais supplémentaires en ce qui a trait aux tests *in vitro* plus spécifiquement, mais peut-être aussi de tester les molécules porteuses des chaînes à six (**17a**) et quatorze (**17d**) carbones *in vivo*. De plus, il est prévu de procéder à de l'imagerie moléculaire avec des molécules hybrides marquées, et ce dans le but d'étudier la distribution de ces dernières dans le corps.

5. Méthodologie

5.1 Notifications

L'ensemble des réactions a été effectué dans des solvants fournis par la compagnie Fisher et étaient certifiés ACS («American Chemical Society»). Ces derniers étaient soit utilisés tel quel ou purifiés par des méthodes standards (Perrin et Armarego, 1988) avant leur utilisation. Certaines réactions étaient réalisées en milieu anhydre. Un courant d'azote préalablement séché sur drierite était utilisé dans ces cas.

La méthode de chromatographie sur couches minces (CCM) permettait de suivre la progression des réactions. Les produits à l'état brut étaient déposés sur des plaques en polyester enduites d'une couche de gel de silice de 0,25 mm d'épaisseur (Sigma T 6145, 60 Å). L'élution avec un mélange de solvants hexanes : acétone permettait de faire migrer le produit, dépendamment de sa polarité. Celui-ci était ensuite identifié soit par exposition à une radiation UV, soit par introduction des plaques dans de la vapeur d'iode.

Le parachèvement comportait souvent un lavage à l'eau. Les extractions étaient effectuées à l'aide d'ampoules à décantation. La phase organique était récupérée et séchée avec un agent séchant tel le sulfate de magnésium. Une filtration à l'aide d'un filtre poreux permettait d'enlever le sel et de récupérer le produit dissout dans le solvant, lequel était évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis sous pression réduite. Les solides étaient séchés dans un dessiccateur.

La plupart des produits devaient être purifiés avant leur utilisation pour une réaction subséquente. Cette purification était effectuée par chromatographie éclair conformément à la technique de Still et al. (1978). La phase stationnaire est constituée de gel de silice de maille 40-63 μm fourni par la compagnie Silicycle.

L'éluant est un mélange d'hexanes et d'acétone, préalablement purifiés par distillation. Dans la majorité des cas, le produit brut était dissout et déposé sur la colonne avec un minimum de dichlorométhane. Le produit pouvait aussi être adsorbé sur la silice à l'aide d'acétone, d'acétate d'éthyle, de méthanol ou de tétrahydrofurane.

La caractérisation des produits comportait trois principales techniques d'analyse. La spectrométrie infrarouge permet d'identifier les groupements fonctionnels d'une molécule en question. Les spectres Infrarouges (IR) ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre Impact 420 de Nicolet. Pour l'analyse, les composés étaient déposés entre deux pastilles de NaCl. Les solides étaient préalablement dissouts dans un minimum de chloroforme anhydre pour former un mince film de produit. Quant aux complexes de platine, ils étaient analysés sous forme de pastille de bromure de potassium (KBr) (ratio approximatif, 97 KBr : 3 produit).

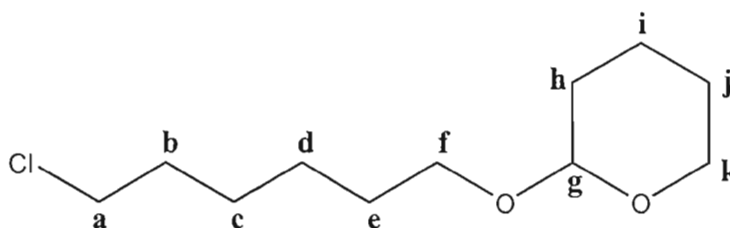
Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN- ^1H) et du carbone (RMN- ^{13}C) ont été obtenus à l'aide d'un appareil NMR 200 MHz de Varian, en utilisant comme solvant, le chloroforme deutéré (CDCl_3) pour les composés peu polaires et l'acétone hexadeutérée pour les produits polaires. Le CDCl_3 est constitué de 0,2% de CHCl_3 servant de référence interne pour évaluer les déplacements chimiques δ , exprimés en partie par million (ppm). Dans l'autre cas, l'acétone- d_6 utilisée renferme 0,5% d'acétone pour référence interne. La technique de DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfert) a été employée à quelques reprises, afin de clarifier l'identification de certains carbones.

La spectrométrie de masse est une méthode permettant d'identifier un composé selon sa masse. Les spectres de masses (basse et haute résolution) ont été enregistrés sur un spectromètre VG Micromass 7070 HS (Université de Sherbrooke) à bombardement électronique de 70 eV. Certains composés ont nécessité l'ionisation chimique avec NH_3 pour effectuer l'analyse spectrométrique.

La technique utilisée à l'Université de Sherbrooke ne permettait pas l'analyse des complexes de platine.

4.2 Synthèse des complexes de platine avec des chaînes alkyles de 6, 8, 11 et 14 atomes de carbone.

Formation du 1-tétrahydropyrannyloxy-6-chlorohexane (20a) :



Dans l'ordre, le 6-chloro-1-hexanol (**18a**) (3,50 mL, 30,8 mmol), le dichlorométhane (40 mL), le 3,4-dihydro-2*H*-pyranne (2,81 mL, 30,8 mmol) et le *p*-toluènesulfonate de pyridinium (PPTs, 100 mg, 0,400 mmol) sont mélangés à température ambiante (23°C) pour une durée de 18 heures. Le parachèvement est effectué en neutralisant le milieu avec une petite quantité de bicarbonate de sodium solide 97%. Du sulfate de magnésium est ajouté au mélange et le tout est agité fortement. La phase organique est ensuite filtrée et évaporée. Le résultat est une huile jaune visqueuse obtenue avec un rendement brut de 94% (6,38 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 1137 (C-O-C, ν asymétrique) et 1020 (C-O-C, ν symétrique).

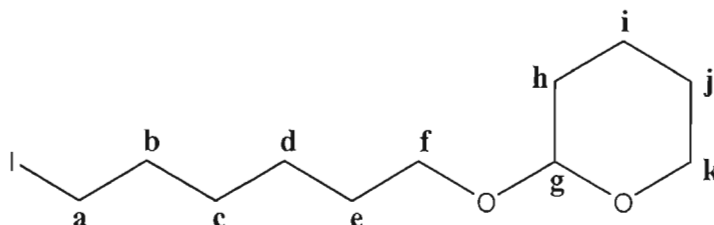
RMN-¹H (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 4,54 (1H, t apparent, $J = 2,3$ Hz, **g**), 3,78-3,27 (4H, 4m, **f** et **k**), 3,58 (2H, t, $J = 3,3$ Hz, **a**), 1,78 (2H, m, **b**), 1,54 (2H, m, **e**), 1,45 (10H, #m, **c**, **d**, **i**, **j** et **k**).

RMN-¹³C (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 98,8 (**g**), 67,4 (**k**), 61,9 (**f**), 45,5 (**a**), 33,2, 31,3, 30,2, 27,2, 26,2 (2 C), 20,0.

SM (m/e), C₁₁H₂₁ClO₂ : 219 (M - H)⁺ et 119 (M⁺ - C₅H₉O₂).

Masse exacte : calculée pour C₁₁H₂₁ClO₂ - H = 219,1152 ; trouvée = 219,1148.

Formation du 1-tétrahydropyranyloxy-6-iodohexane (22a) :



De l'acétone anhydre (70 mL) et de l'iodure de sodium (6,41 g, 42,8 mmol) sont ajoutés à la chaîne bromée et protégée (**20a**). Le tout est agité à reflux sous atmosphère d'azote, à l'abri de toute source de lumière, et ce dans le but de prévenir la formation de radicaux iodés. Après trois jours, l'acétone est évaporée et le produit est dilué dans l'éther. La phase organique est lavée avec une portion de thiosulfate de sodium 5% et cinq portions d'eau, après quoi elle est séchée, filtrée et évaporée. Le produit brut est isolé sous forme de solide jaune avec un rendement de 73% (6,47 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 1132 (C-O-C, ν asymétrique) et 1035 (C-O-C, ν symétrique).

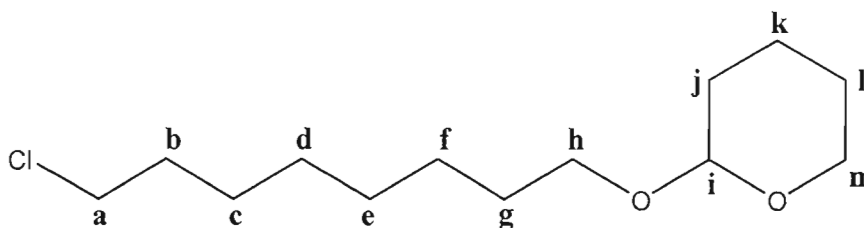
RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 4,56 (1H, t apparent, $J = 2,7$ Hz, **g**), 3,85-3,35 (4H, #m, **f** et **h**), 3,29 (2H, t, $J = 6,8$ Hz, **a**), 1,84 (4H, 2 m, **b** et **e**), 1,69-1,43 (10H, #m, **c**, **d**, **i**, **j** et **k**).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 98,4 (**g**), 67,0 (**k**), 61,5 (**f**), 33,7, 30,8, 30,3, 25,7, 25,4, 19,5, 7,3 (**a**), (1 signal masqué par l'acétone- d_6).

SM (m/e), $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{IO}_2$: 311 ($\text{M} - \text{H}$) $^+$ et 211 ($\text{M}^+ - \text{C}_5\text{H}_9\text{O}_2$).

Masse exacte : calculée pour $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{IO}_2 - \text{H} = 311,0508$; trouvée = 311,0510.

Formation du 1-tétrahydropyrannyloxy-8-chlorooctane (20b) :



Dans l'ordre, le 8-chloro-1-octanol (**18b**) (4,50 mL, 26,7 mmol), le dichlorométhane (50 mL), le 3,4-dihydro-2*H*-pyranne (2,43 mL, 26,7 mmol) et le *p*-toluènesulfonate de pyridinium (PPTs, 100 mg, 0,400 mmol) sont mélangés à température ambiante (23°C) pour une durée de 18 heures. Le parachèvement est effectué en neutralisant le milieu avec une petite quantité de bicarbonate de sodium solide 97%. Du sulfate de magnésium est ajouté au mélange et le tout est agité fortement. La phase organique est ensuite filtrée et évaporée. Le résultat est une huile jaune visqueuse obtenue avec un rendement brut de 98% (6,69 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 1143 (C-O-C, ν asymétrique) et 1025 (C-O-C, ν symétrique).

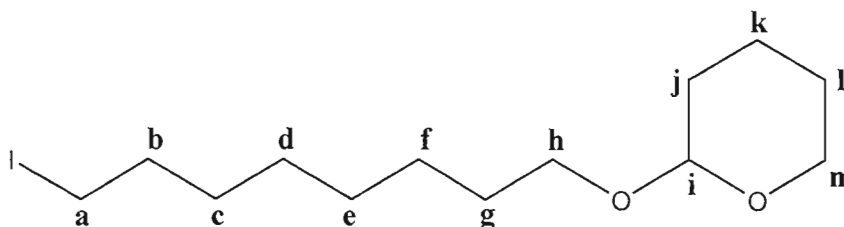
RMN-¹H (CDCl₃, δ ppm) : 4,46 (1H, t, J = 3,5 Hz, i), 3,79-3,21 (4H, 4m, h et m), 3,41 (2H, t, J = 6,6 Hz, a), 1,74-1,23 (18H, #m, b, c, d, e, f, g, j, k et l).

RMN-¹³C (CDCl₃, δ ppm) : 98,9 (i), 67,6 (m), 62,3 (h), 45,1 (a), 32,8, 30,9, 29,8, 29,4, 29,0, 26,9, 26,3, 25,7, 19,8.

SM (m/e), C₁₃H₂₅ClO₂ : 247 (M - H)⁺ et 147 (M⁺ - C₅H₉O₂).

Masse exacte : calculée pour C₁₃H₂₅ClO₂ - H = 247,1465 ; trouvée = 247,1470.

Formation du 1-tétrahydropyrannyloxy-8-iodooctane (22b) :



De l'acétone anhydre (70 mL) et de l'iodure de sodium (5,43 g, 36,2 mmol) sont ajoutés à la chaîne bromée et protégée (**20b**). Le tout est agité à reflux sous atmosphère d'azote, à l'abri de toute source de lumière, et ce dans le but de prévenir la formation de radicaux iodés. Après trois jours, l'acétone est évaporée et le produit est dilué dans l'éther. La phase organique est lavée avec une portion de thiosulfate de sodium 5% et cinq portions d'eau, après quoi elle est séchée, filtrée et évaporée. Le produit brut est isolé sous forme de solide jaune avec un rendement de 95% (4,95 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 1143 (C-O-C, ν asymétrique) et 1025 (C-O-C, ν symétrique).

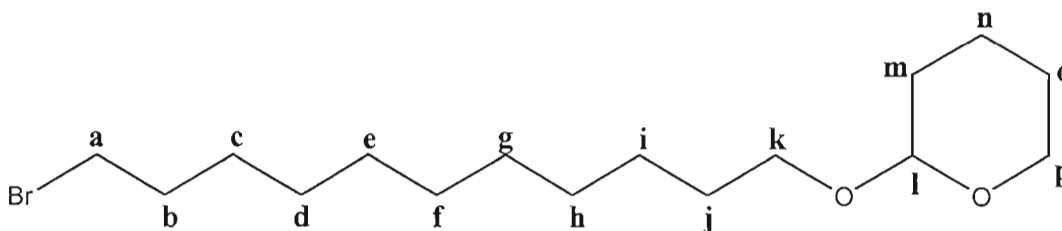
RMN- ^1H (CDCl_3 , δ ppm) : 4,46 (1H, t apparent, $J = 3,9$ Hz, i), 3,76-3,21 (4H, 4m, h et m), 3,08 (2H, t, $J = 7,0$ Hz, a), 1,75-1,24 (10H, #m, b, c, d, e, f, g, j, k et l).

RMN- ^{13}C (CDCl_3 , δ ppm) : 98,9 (i), 67,6 (m), 62,4 (h), 33,7, 30,9, 30,6, 29,9, 29,4, 28,6, 26,3, 25,7, 19,8, 7,3 (a).

SM (m/e), $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{IO}_2$: 339 ($\text{M} - \text{H}$)⁺ et 239 ($\text{M}^+ - \text{C}_5\text{H}_9\text{O}_2$).

Masse exacte : calculée pour $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{IO}_2 - \text{H} = 339,0821$; trouvée = 339,0816.

Formation du 1-tétrahydropyrannyloxy-11-bromoundécane (**21a**) :



Dans l'ordre, le 11-bromo-1-undécanol (**19a**) (20,1 g, 79,6 mmol), le dichlorométhane (150 mL), le 3,4-dihydro-2*H*-pyranne (7,26 mL, 79,6 mmol) et le *p*-toluènesulfonate de pyridinium (PPTs, 1,0 g, 4,0 mmol) sont mélangés à température ambiante (23°C) pour une durée de 18 heures. Le parachèvement est effectué en neutralisant le milieu avec une petite quantité de bicarbonate de sodium

solide 97%. Du sulfate de magnésium est ajouté au mélange et le tout est agité fortement. La phase organique est ensuite filtrée et évaporée. Le résultat est une huile jaune visqueuse obtenue avec un rendement brut de 100% (26,7 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}): 1143 (C-O-C, ν asymétrique) et 1040 (C-O-C, ν symétrique).

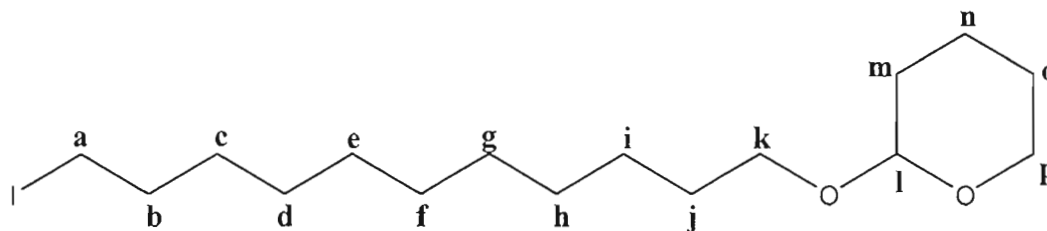
RMN- ^1H (CDCl_3 , δ ppm): 4,52 (1H, t, $J = 3,3$ Hz, l), 3,81-3,26 (4H, 4m, k et p), 3,34 (2H, t, $J = 6,8$ Hz, a), 1,86-1,23 (24H, #m, b, c, d, e, f, g, h, i, j, m, n et o).

RMN- ^{13}C (CDCl_3 , δ ppm): 99,0 (l), 67,8 (p), 62,4 (k), 35,7 (a), 33,0, 31,0, 29,4, 29,71, 29,65, 29,60, 26,3, 28,9, 28,4, 26,4, 25,7, 19,9.

SM (m/e), $\text{C}_{16}\text{H}_{31}\text{BrO}_2$: 335 ($M + H$)⁺, 333 ($M - H$)⁺ et 233 ($M^+ - \text{C}_5\text{H}_9\text{O}_2$).

Masse exacte : calculée pour $\text{C}_{16}\text{H}_{31}\text{BrO}_2 - \text{H} = 333,1429$; trouvée = 333,1432.

Formation du 1-tétrahydropyrannyloxy-11-iodoundécane (22c):



De l'acétone anhydre (140 mL) et de l'iodure de sodium (17,67 g, 117,9 mmol) sont ajoutés à la chaîne bromée et protégée (**21a**). Le tout est agité à reflux sous atmosphère d'azote, à l'abri de toute source de lumière, et ce dans le but de prévenir la formation de radicaux iodés. Après trois jours, l'acétone est évaporée et le produit est dilué dans l'éther. La phase organique est lavée avec une portion de thiosulfate de sodium 5% et cinq portions d'eau, après quoi elle est séchée, filtrée et évaporée. Le produit brut est isolé sous forme de solide jaune avec un rendement de 97% (29,2 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}): 1127 (C-O-C, ν asymétrique) et 1040 (C-O-C, ν symétrique).

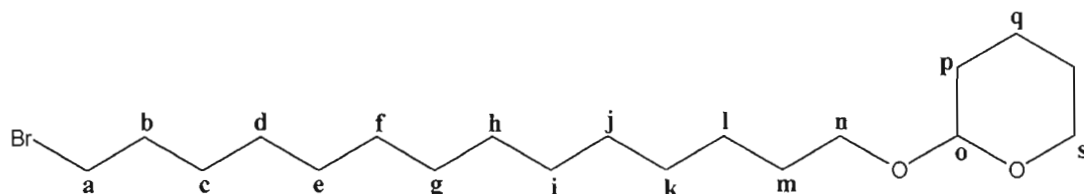
RMN-¹H (CDCl₃, δ ppm) : 4,47 (1H, t, J = 3,3 Hz, l), 3,75-3,20 (4H, 4m, k et p), 3,07 (2H, t, J = 7,0 Hz, a), 1,75-1,18 (24H, #m, b, c, d, e, f, g, h, i, j, m, n et o).

RMN-¹³C (CDCl₃, δ ppm) : 98,8 (l), 67,7 (p), 62,3 (k), 33,7, 30,9, 30,7, 29,9, 29,71, 29,66, 29,64, 29,58, 28,7, 26,4, 25,7, 19,8, 7,3 (a).

SM (m/e), C₁₆H₃₁O₂ : 382 (M⁺), 381 (M - H)⁺ et 183 (M⁺ - C₁₂H₂₃O₂).

Masse exacte : calculée pour C₁₆H₃₁O₂ - H = 381,1290 ; trouvée = 381,1296.

Formation du 1-tétrahydropyrannyloxy-14-bromotétradécane (21b):



Dans l'ordre, le 14-bromo-1-tétradécanol (**19b**) (4,92 g, 79,6 mmol), le dichlorométhane (150 mL), le 3,4-dihydro-2H-pyranne (7,26 mL, 16,8 mmol) et le *p*-toluènesulfonate de pyridinium (PPTs, 300 mg, 1,20 mmol) sont mélangés à température ambiante (23°C) pour une durée de 18 heures. Le parachèvement est effectué en neutralisant le milieu avec une petite quantité de bicarbonate de sodium solide 97%. Du sulfate de magnésium est ajouté au mélange et le tout est agité fortement. La phase organique est ensuite filtrée et évaporée. Le résultat est une huile jaune visqueuse obtenue avec un rendement brut de 99% (6,29 g).

IR (NaCl, ν_{max}, cm⁻¹) : 1148 (C-O-C, ν asymétrique) et 1040 (C-O-C, ν symétrique).

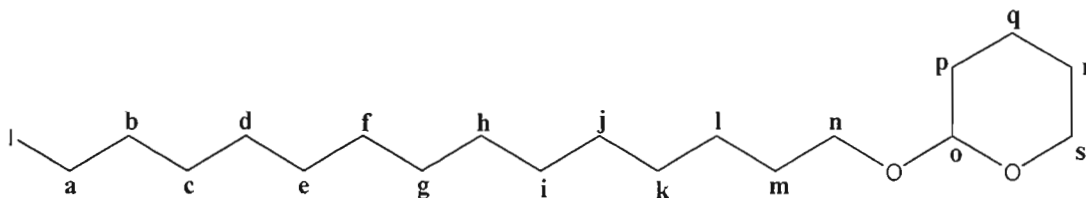
RMN-¹H (CDCl₃, δ ppm) : 4,53 (1H, t, J = 3,3 Hz, o), 3,82-3,27 (4H, 4m, n et s), 3,35 (2H, t, J = 6,8 Hz, a), 1,87-1,22 (24H, #m, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, p, q et r).

RMN-¹³C (CDCl₃, δ ppm) : 99,0 (o), 67,8 (s), 62,4 (n), 34,1 (a), 33,0, 31,0, 29,96, 29,80, 29,73, 29,69, 29,64, 28,97, 28,38, 26,4, 25,7, 19,9, (3 signaux masqués par le CDCl₃).

SM (m/e), C₁₉H₃₇BrO₂ : 377 (M + H)⁺, 375 (M - H)⁺, 305 (M⁺ - C₄H₈O) et 303 (M⁺ - C₄H₈O) et 275 (M⁺ - C₅H₉O₂).

Masse exacte : calculée pour $C_{19}H_{37}BrO_2 - H = 375,1898$; trouvée = 375,1901.

Formation du 1-tétrahydropyrannyloxy-14-iodotétradécane (22d):



De l'acétone anhydre (30 mL) et de l'iodure de sodium (3,43 g, 22,9 mmol) sont ajoutés à la chaîne bromée et protégée (**21b**). Le tout est agité à reflux sous atmosphère d'azote, à l'abri de toute source de lumière, et ce dans le but de prévenir la formation de radicaux iodés. Après trois jours, l'acétone est évaporée et le produit est dilué dans l'éther. La phase organique est lavée avec une portion de thiosulfate de sodium 5% et cinq portions d'eau, après quoi elle est séchée, filtrée et évaporée. Le produit brut est isolé sous forme de solide jaune avec un rendement de 98% (6,35 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 1137 (C-O-C, ν asymétrique) et 1030 (C-O-C, ν symétrique).

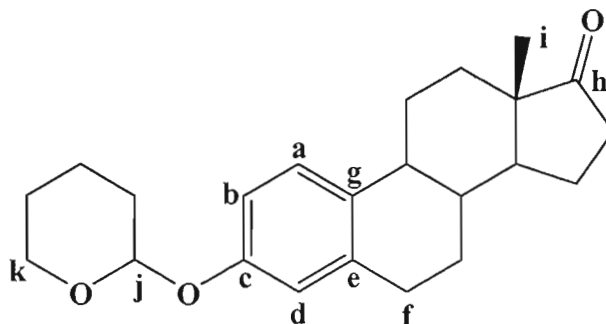
RMN- 1H ($CDCl_3$, δ ppm) : 4,52 (1H, t, J = 3,5 Hz, **o**), 3,69-3,29 (4H, 4m, **n** et **s**), 3,12 (2H, t, J = 7,0 Hz, **a**), 1,80-1,21 (24H, #m, **b**, **c**, **d**, **e**, **f**, **g**, **h**, **i**, **j**, **k**, **l**, **m**, **p**, **q** et **r**).

RMN- ^{13}C ($CDCl_3$, δ ppm) : 98,9 (**o**), 67,8 (**s**), 62,4 (**n**), 33,8, 31,0, 30,7, 29,95, 29,81, 29,76, 29,70, 29,63, 28,76, 26,45, 25,7, 19,9, 7,4 (**a**), (3 signaux masqués par le $CDCl_3$).

SM (m/e), $C_{19}H_{37}IO_2$: 424 (M^+), 423 ($M - H$) $^+$, 296 ($M - HI$) $^+$.

Masse exacte : calculée pour $C_{19}H_{37}IO_2 - H = 423,1760$; trouvée = 423,1757.

Formation du 3-tétrahydropyrannyloxy-1,3,5(10)-estratrièn-17-one (24):



L'estrone (**23**) (10,12 g, 37,43 mmol) est d'abord dissous dans le dichlorométhane (100 mL), le *p*-toluènesulfonate de pyridinium (PPTs, 1,0 g, 4,0 mmol) et le 3,4-dihydro-2*H*-pyranne (8,54 mL, 93,6 mmol) sont ensuite ajoutés. Le tout est agité à température ambiante (23°C) pour une durée de 20 heures. Le parachèvement est effectué en ajoutant une petite quantité de bicarbonate de sodium solide 97% pour neutraliser le milieu réactionnel. Un agent séchant, le sulfate de magnésium, est ajouté au mélange et le tout est agité fortement. La phase organique est ensuite filtrée et évaporée. Le solide brut est placé pour une durée minimale d'une heure sous vide pour enlever l'excès de 3,4-dihydro-2*H*-pyranne. Le composé résultant est un solide beige, isolé à l'état brut avec un rendement de 100% (13,23 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}): 1744 (C=O), 1613 (C=C), 1247 et 1043 (C-O).

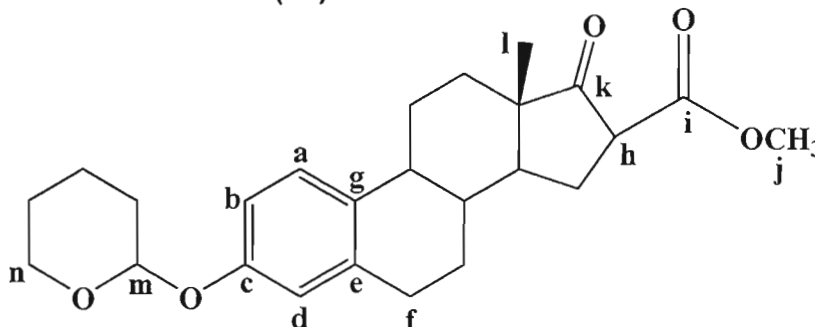
RMN-¹H (CDCl₃, δ ppm): 7,19 (1H, d, J = 8,6 Hz, **a**), 6,85 (1H, dd, J = 2,3 Hz et J = 8,6 Hz, **b**), 6,81 (1H, d apparent, J = 2,7 Hz, **d**), 5,39 (1H, t, J = 2,9 Hz, **j**), 3,98-3,55 (2H, 2m, **k équatorial**, **k axial**), 2,90 (2H, m, **f**), 2,57-1,37 (19H, # m, 3x CH et 8 x CH₂), 0,90 (3H, s, **i**).

RMN-¹³C (CDCl₃, δ ppm): 220,9 (**h**), 155,3 (**c**), 137,8 (**e**), 133,2 (**g**), 126,4 (**a**), 116,8 (**d**), 114,4 (**b**), 96,6 (**j**), 62,2 (**k**), 50,7, 48,2, 44,3, 38,6, 36,1, 31,8, 30,7, 29,8, 26,8, 26,1, 25,5, 21,8, 19,0, 14,1 (**i**).

SM (m/e), C₂₃H₃₀O₃: 354 (M⁺), 271 (M⁺ - C₅H₇O).

Masse exacte : calculée pour C₂₃H₃₀O₃ = 354,2195 ; trouvée = 354,2200.

Formation du 3-tétrahydropyranyloxy-16 α,β -(méthoxycarbonyl)-1,3,5(10)-estratrièn-17-one (25):



Dans un ballon réactionnel à deux cols, l'hydrure de potassium (KH, 30% dans l'huile, 15,06 g, 112,7 mmol) est pesé. Sous atmosphère d'azote, 30 mL de tétrahydrofurane sont ajoutés et le tout est agité à température ambiante. Le diméthylcarbonate (7,91 mL, 93,9 mmol) est ajouté à la solution de KH anhydre. Dans un second ballon, l'estrone protégée (**24**) (13,3 g, 37,6 mmol) est dissout dans 70 mL de THF, sous atmosphère d'azote. La solution d'estrone est ensuite ajoutée au mélange réactionnel. Le tout est porté à reflux avec un courant d'azote pour une durée de 2,5 heures. Le parachèvement est effectué après refroidissement du mélange. Dans l'ordre sont ajoutés, tert-butanol (10 mL), méthanol (20 mL) et de l'eau, en agitant une quinzaine de minutes entre chaque addition. Le tout fut dilué avec de l'acétate d'éthyle et lavé avec deux portions d'une solution de chlorure d'ammonium saturée (NH₄Cl_{sat.}) et quatre portions d'eau. La phase organique fut séchée, filtrée et évaporée. Le solide à l'état brut fut préalablement trituré avec de l'hexanes et ensuite purifié par chromatographie éclair avec un solvant hexanes : acétone (92 : 8). Un solide blanc fut obtenu avec 90% de rendement (15,7 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm⁻¹) : 1763 (C=O, ester), 1740 (C=O, cétone), 1605 (C=C), 1232 (C-O), 1155 (C-O-C, ν asymétrique) et 1035 (C-O-C, ν symétrique).

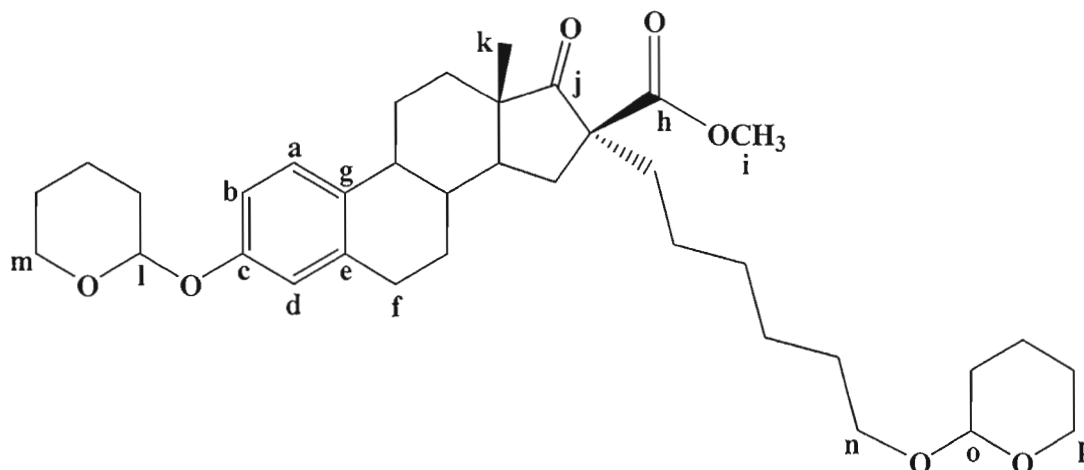
RMN-¹H (CDCl₃, δ ppm) : 7,18 (1H, d, J = 8,6 Hz, **a**), 6,85 (1H, dd, J = 2,7 Hz et J = 8,6 Hz, **b**), 6,81 (1H, d apparent, J = 2,3 Hz, **d**), 5,39 (1H, t, J = 2,9 Hz, **m**), 3,96-3,54 (2H, 2m, **n équatorial**, **n, axial**), 3,76 (3H, s, **j**), 3,20 (1H, t, J = 9,2 Hz, **h**), 2,88 (2H, m, **f**), 2,42-1,39 (17H, # m, 3x CH et 7 x CH₂), 0,98 et 0,95 (3H, 2s, **l**, 16 α,β (2,5 : 1)).

RMN-¹³C (CDCl₃, δ ppm) : 212,4 (k), 170,1 (i), 155,3 (c), 137,8 (e), 132,9 (g), 126,5 (a), 116,7 (d), 114,3 (b), 96,5 (m), 62,2 (n), 54,3, 52,8 (j), 49,2, 48,1, 44,3, 38,1, 32,2, 30,6, 29,8, 26,6, 25,5, 19,0, 14,6 (l). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère majoritaire, 16 α -CO₂CH₃, ceux distincts de l'isomère 16 β , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₂₃H₃₂O₅ : 413 (M + H)⁺, 381 (M - CH₃O), 328 (M - C₅H₉O).

Masse exacte : calculée pour C₂₅H₃₂O₅ + H = 413,2328 ; trouvée = 413,2319.

Formation du 3-tétrahydropyrannyloxy-16 β -(méthoxycarbonyl)-16 α -(6'-tétrahydropyrannyloxyhexyl)-1,3,5(10)-estratrièn-17-one (26a):



Dans l'ordre, l'estrone activée (**25**) (0,500 g, 1,22 mmol), le dichlorométhane (8 mL), le chlorure de triéthylbenzylammonium (100 mg), le 1-tétrahydropyranyloxy-6-iodohexane (1,53 g, 4,89 mmol) et une solution d'hydroxyde de sodium 10% p/v (5 mL) sont ajoutés au ballon réactionnel. Le mélange est porté à reflux et agité vigoureusement pour une période de 24 heures. Le parachèvement est effectué dans l'éther par deux lavages avec une solution saturée de chlorure d'ammonium et quatre lavages à l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée. La purification est réalisée par chromatographie éclair avec un mélange de solvants hexanes : acétone (92 : 8). Le produit pur est isolé sous forme d'une huile jaune avec un rendement de 77%, ce qui correspond à une masse de 0,75 g.

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 1757 (C=O, ester), 1731 (C=O, cétone), 1609 et 1573 (C=C), 1050 (C-O).

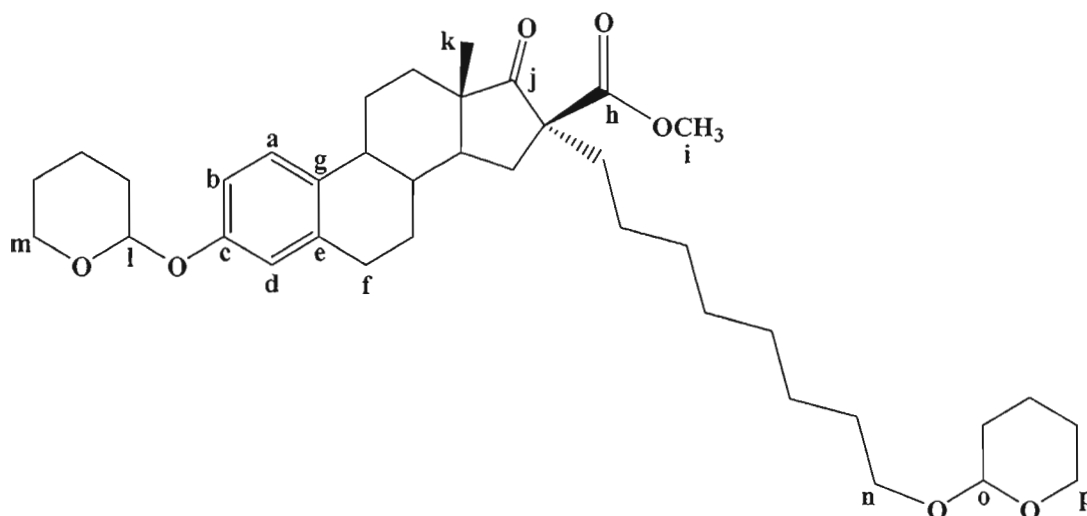
RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 7,16 (1H, d, J = 8,6 Hz, **a**), 6,80 (1H, d, J = 8,6 Hz, **b**), 6,75 (1H, m, **d**), 5,37 (1H, m, **l**), 4,55 (1H, m, **o**), 3,84-3,27 (6H, 6m, **m**, **n** et **p**), 3,68 (3H, s, **i**), 2,82 (2H, m, **f**), 2,38-1,12 (33H, #m, 3 x CH, 15 x CH₂), 0,98 et 0,93 (3H, 2s, **k**, 16 α,β (12 : 1)).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 213,0 (**j**), 171,7 (**h**), 155,4 (**c**), 137,6 (**e**), 133,0 (**g**), 126,3 (**a**), 116,8 (**d**), 114,2 (**b**), 98,4 (**o**), 96,2 (**l**), 67,1 (**p**), 61,6 (**n**), 61,5 (**m**), 60,2, 52,0 (**i**), 49,4, 46,1, 44,2, 38,1, 35,3, 32,4, 30,88, 30,73, 30,56, 29,83, 26,6, 26,2, 25,9, 25,8, 25,4 19,6, 15,6, 13,8 (**k**) (3 signaux masqués par l'acétone- d_6). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère majoritaire, avec la chaîne en 16 α , ceux distincts de l'isomère avec la chaîne en 16 β , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₃₆H₅₂O₇ : 596 (M⁺), 529 (M⁺ - C₄H₃O), 513 (M⁺ - C₅H₇O).

Masse exacte : calculée pour C₃₆H₅₂O₇ = 596,3713 ; trouvée = 596,3704.

Formation du 3-tétrahydropyrannyloxy-16 β -(méthoxycarbonyl)-16 α -(8'-tétrahydropyrannyloxyoctyl)-1,3,5(10)-estratrièn-17-one (26b):



Dans l'ordre, l'estrone activée (**25**) (1,31 g, 3,17 mmol), le dichlorométhane (15 mL), le chlorure de triéthylbenzylammonium (300 mg), le 1-tétrahydropyrannyloxy-8-

iodooctane (4,31 g, 12,7 mmol) et une solution d'hydroxyde de sodium 10% p/v (9 mL) sont ajoutés au ballon réactionnel. Le mélange est porté à reflux et agité vigoureusement pour une période de 15 heures. Le parachèvement est effectué dans l'éther par deux lavages avec une solution saturée de chlorure d'ammonium et quatre lavages à l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée. La purification est réalisée par chromatographie éclair avec un mélange de solvants hexanes : acétone (96 : 4). Le produit pur est isolé sous forme d'une huile jaune avec un rendement de 92%, ce qui correspond à une masse de 1,82 g.

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 1762 (C=O, ester), 1726 (C=O, cétone), 1614 et 1573 (C=C), 1250 et 1040 (C-O).

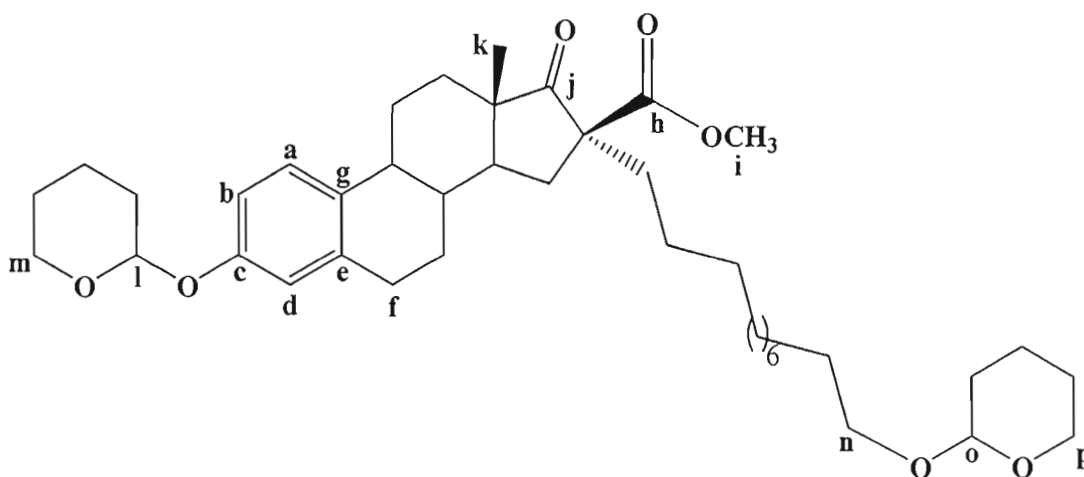
RMN- ^1H (CDCl_3 , δ ppm) : 7,18 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, **a**), 6,85 (1H, dd, $J = 2,3$ Hz et $J = 8,6$ Hz, **b**), 6,81 (1H, d apparent, $J = 2,3$ Hz, **d**), 5,39 (1H, t, $J = 3,1$ Hz, **l**), 4,57 (1H, t, $J = 3,1$ Hz, **o**), 3,92-3,35 (6H, 6m, **m**, **n** et **p**), 3,72 (3H, s, **i**), 2,89 (2H, m, **f**), 2,38-1,13 (37H, #m, 3 x CH, 17 x CH₂), 0,92 et 0,88 (3H, 2s, **k**, 16 α,β (7 : 1)).

RMN- ^{13}C (CDCl_3 , δ ppm) : 214,3 (**j**), 172,1 (**h**), 155,3 (**c**), 137,8 (**e**), 133,0 (**g**), 126,4 (**a**), 116,8 (**d**), 114,3 (**b**), 99,1 (**o**), 96,5 (**l**), 67,9 (**p**), 62,5 (**n**), 62,2 (**m**), 60,4, 52,8 (**i**), 49,7, 46,2, 44,3, 38,1, 35,8, 32,3, 30,99, 30,72, 30,62, 29,93, 29,77, 29,61, 29,51, 26,8, 26,4, 25,9, 25,7, 25,6, 25,5, 19,6, 18,9, 15,5, 14,3 (**k**). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère majoritaire, avec la chaîne en 16 α , ceux distincts de l'isomère avec la chaîne en 16 β , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), $\text{C}_{38}\text{H}_{56}\text{O}_7$: 624 (M^+), 594 ($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{O}$), 542 ($\text{M}^+ - \text{C}_5\text{H}_6\text{O}$).

Masse exacte : calculée pour $\text{C}_{38}\text{H}_{56}\text{O}_7 = 624,4026$; trouvée = 624,4014.

Formation du 3-tétrahydropyrannyloxy-16 β -(méthoxycarbonyl)-16 α -(11'-tétrahydropyrannyloxyundécyl)-1,3,5(10)-estratrièn-17-one (26c):



Dans l'ordre, l'estrone activée (**25**) (7,30 g, 17,7 mmol), le dichlorométhane (90 mL), le chlorure de triéthylbenzylammonium (1,30 g), le 1-tétrahydropyrannyloxy-11-iodoundécane (20,31 g, 53,10 mmol) et une solution d'hydroxyde de sodium 10% p/v (50 mL) sont ajoutés au ballon réactionnel. Le mélange est porté à reflux et agité vigoureusement pour une période de 23 heures. Le parachèvement est effectué dans l'éther par deux lavages avec une solution saturée de chlorure d'ammonium et quatre lavages à l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée. La purification est réalisée par chromatographie éclair avec un mélange de solvants hexanes : acétone (96 : 4). Le produit pur est isolé sous forme d'une huile jaune avec un rendement de 92%, ce qui correspond à une masse de 10,9 g.

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 1759 (C=O, ester), 1721 (C=O, cétone), 1617 (C=C), 1231 (C-O).

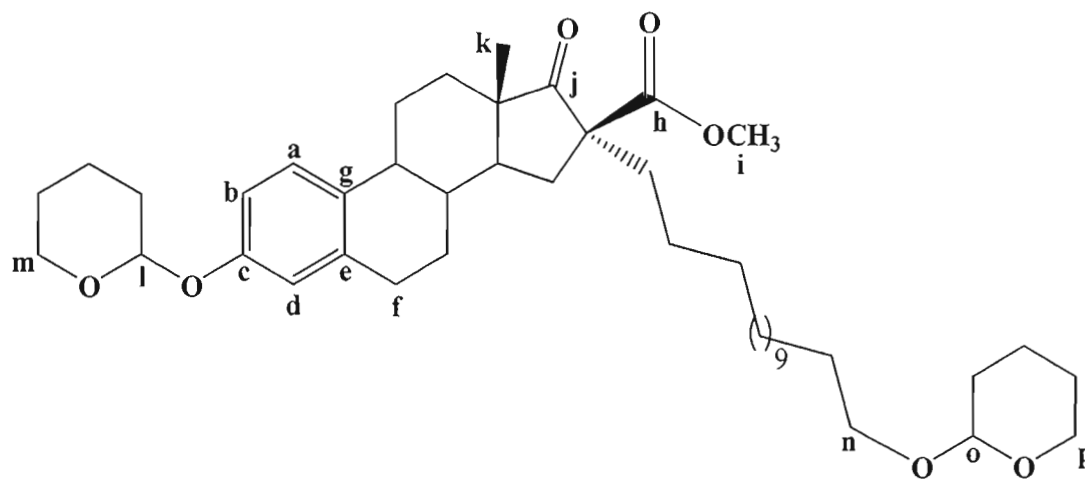
RMN- ^1H (CDCl_3 , δ ppm) : 7,16 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, **a**), 6,84 (1H, dd, $J = 2,3$ Hz et $J = 10,9$ Hz, **b**), 6,79 (1H, s, **d**), 5,37 (1H, t, $J = 3,1$ Hz, **l**), 4,56 (1H, t, $J = 3,1$ Hz, **o**), 3,90-3,34 (6H, 6m, **m**, **n** et **p**) 3,71 (3H, s, **i**), 2,87 (2H, m, **f**), 2,37-1,25 (43H, #m, 3 x CH, 20 x CH₂), 0,90 et 0,87 (3H, 2s, **k**, 16 α,β (3,5 : 1)).

RMN-¹³C (CDCl₃, δ ppm) : 214,3 (j), 172,1 (h), 155,3 (c), 137,8 (e), 133,0 (g), 126,4 (a), 116,8 (d), 114,3 (b), 99,0 (o), 96,5 (l), 67,9 (p), 62,5 (n), 62,1 (m), 60,4, 52,8 (i), 49,7, 46,2, 44,3, 38,1, 35,8, 32,3, 31,8, 31,0, 30,72, 30,62, 29,97(2 C), 29,75 (3 C), 29,57, 26,75, 26,46, 25,91, 25,72, 25,65, 25,49, 22,9, 19,9, 19,0, 14,34 (k). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère majoritaire, avec la chaîne en 16 α , ceux distincts de l'isomère avec la chaîne en 16 β , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₄₁H₆₂O₇ : 666 (M⁺), 635 (M⁺ - CH₃O), 582 (M⁺ - C₅H₈O), 498 (M⁺ - 2C₅H₈O).

Masse exacte : calculée pour C₄₁H₆₂O₇ = 666,4496 ; trouvée = 666,4488.

Formation du 3-tétrahydropyrannyloxy-16 β -(méthoxycarbonyl)-16 α -(14'-tétrahydropyrannyloxytétradécyl)-1,3,5(10)-estratrièn-17-one (26d):



Dans l'ordre, l'estrone activée (**25**) (2,00 g, 4,80 mmol), le dichlorométhane (25 mL), le chlorure de triéthylbenzylammonium (400 mg), le 1-tétrahydropyrannyloxy-14-iodotétradécane (6,17 g, 14,5 mmol) et une solution d'hydroxyde de sodium 10% p/v (15 mL) sont ajoutés au ballon réactionnel. Le mélange est porté à reflux et agité vigoureusement pour une période de 23 heures. Le parachèvement est effectué dans l'éther par deux lavages avec une solution saturée de chlorure d'ammonium et quatre lavages à l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée. La

purification est réalisée par chromatographie éclair avec un mélange de solvants hexanes : acétone (96 : 4). Le produit pur est isolé sous forme d'une huile jaune avec un rendement de 41%, ce qui correspond à une masse de 1,41 g.

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 1757 (C=O, ester), 1726 (C=O, cétone), 1619 (C=C), 1224 et 1030 (C-O).

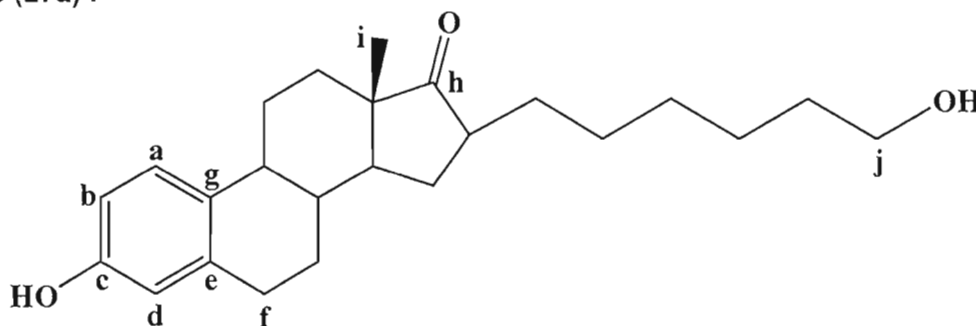
RMN- ^1H (CDCl_3 , δ ppm) : 7,18 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, **a**), 6,84 (1H, dd, $J = 2,7$ Hz et $J = 8,6$ Hz, **b**), 6,81 (1H, s, **d**), 5,39 (1H, t, $J = 3,1$ Hz, **l**), 4,57 (1H, t, $J = 3,1$ Hz, **o**), 3,91-3,31 (6H, 6m, **m**, **n** et **p**), 3,72 (3H, s, **i**), 2,88 (2H, m, **f**), 2,38-1,15 (49H, #m, 3 x CH₂, 23 x CH₂), 0,91 et 0,88 (3H, 2s, **k**, 16 α,β (4 : 1)).

RMN- ^{13}C (CDCl_3 , δ ppm) : 214,7 (**j**), 172,2 (**h**), 155,3 (**c**), 137,8 (**e**), 133,0 (**g**), 126,4 (**a**), 116,7 (**d**), 114,3 (**b**), 99,1 (**o**), 96,5 (**l**), 67,9 (**p**), 62,6 (**n**), 62,2 (**m**), 60,4, 52,8 (**i**), 49,7, 46,2, 44,3, 38,1, 35,8, 34,9, 32,3, 31,8, 31,0, 30,6, 29,98, 29,84, 29,73, 29,61, 26,8, 26,5, 25,92, 25,73, 25,67, 25,49, 22,9, 19,9, 19,0, 14,35, 14,28 (**k**). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère majoritaire, avec la chaîne en 16 α , ceux distincts de l'isomère avec la chaîne en 16 β , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), $\text{C}_{44}\text{H}_{68}\text{O}_7$: 726 (MNH_4)⁺, 624 ($\text{M} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}$)⁺.

Masse exacte : calculée pour $\text{C}_{44}\text{H}_{68}\text{O}_7 + \text{NH}_4 = 726,5308$; trouvée = 726,5326.

Formation du 3-hydroxy-16 α,β -(6'-hydroxyhexyl)-1,3,5(10)-estratrièn-17-one (27a) :



L'estrone alkylée (**26a**) (1,56 g, 2,62 mmol), le chlorure de lithium (2,43 g, 57,6 mmol), et l'eau (1,04 mL, 57,6 mmol) sont mis en solution dans le *N,N*-diméthylformamide (15 mL). Le tout est agité à reflux pour une période de 20

heures. Le parachèvement est effectué dans l'acétate d'éthyle avec deux extractions avec une solution d'acide chlorhydrique 10% v/v et quatre extractions avec de l'eau. Après filtration, la phase organique est séchée et évaporée. Le produit brut est obtenu sous forme d'une huile jaune. Celle-ci est adsorbée sur silice et purifiée par chromatographie éclair avec un mélange de solvants hexanes : acétone (70 : 30). Le rendement final est de 57% (0,55 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3200-3600 (O-H), 1711 (C=O), 1624 et 1578 (C=C), 1255 et 1076 (C-O).

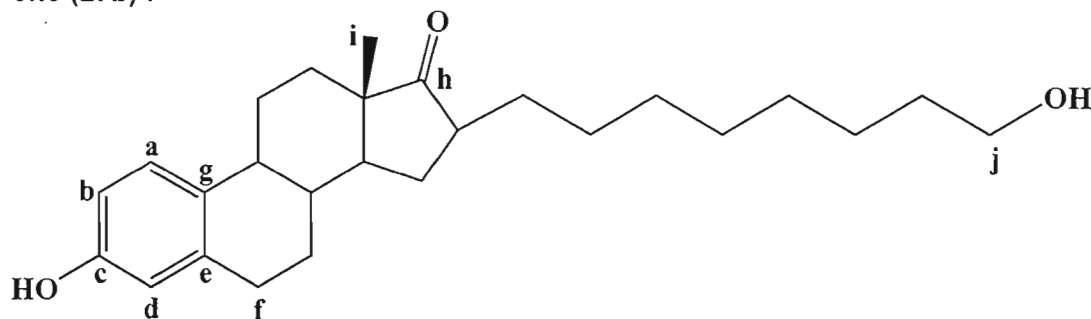
RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 7,10 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, **a**), 6,60 (1H, dd, $J = 2,7$ Hz et $J = 8,2$ Hz, **b**), 6,55 (1H, s, **d**), 3,52 (2H, t, $J = 5,9$ Hz, **j** 16β), 2,83 (2H, m, **f**), 2,26-1,32 (24H, #m, 4 x CH, 9 x CH_2 , 2 x OH), 0,94 et 0,85 (3H, 2s, **i**, $16\alpha,\beta$ (1 : 1,9)).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 221,0 (**h**), 155,4 (**c**), 137,7 (**e**), 131,0 (**g**), 126,4 (**a**), 115,3 (**d**), 113,0 (**b**), 61,8 (**j**), 49,18, 49,01, 48,25, 44,37, 38,69, 38,33, 33,07, 32,46, 32,28, 29,5, 28,6, 28,2, 26,9, 26,04, 25,92, 13,7 (**i**). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_3$: 370 (M^+), 353 ($\text{M}^+ - \text{OH}$), 270 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$ et C_6H_{10}).

Masse exacte : calculée pour $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_3 = 370,2508$; trouvée = 370,2512.

Formation du 3-hydroxy-16 α,β -(8'-hydroxyoctyl)-1,3,5(10)-estratrièn-17-one (27b) :



L'estrone alkylée (**26b**) (1,80 g, 2,88 mmol), le chlorure de lithium (2,67 g, 63,4 mmol), et l'eau (1,14 mL, 63,4 mmol) sont mis en solution dans le *N,N*-diméthylformamide (20 mL). Le tout est agité à reflux pour une période de 15

heures. Le parachèvement est effectué dans l'acétate d'éthyle avec deux extractions avec une solution d'acide chlorhydrique 10% v/v et quatre extractions avec de l'eau. Après filtration, la phase organique est séchée et évaporée. Le produit brut est obtenu sous forme d'une huile jaune. Celle-ci est adsorbée sur silice et purifiée par chromatographie éclair avec un mélange de solvants hexanes : acétone (70 : 30). Le rendement final est de 71% (0,81 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3200-3600 (O-H), 1711 (C=O), 1629 et 1583 (C=C), 1255 et 1071 (C-O).

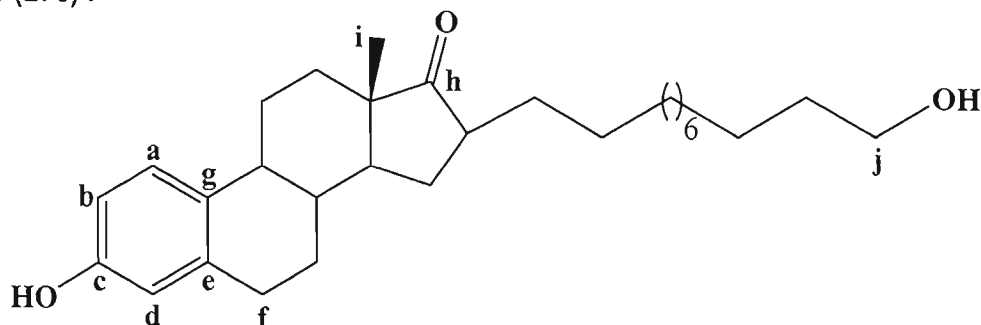
RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 7,10 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, **a**), 6,60 (1H, dd, $J = 2,7$ Hz et $J = 8,2$ Hz, **b**), 6,55 (1H, s, **d**), 3,51 (2H, t, $J = 5,9$ Hz, **j**, 16β), 2,82 (2H, m, **f**), 2,40-1,33 (28H, #m, 4 x CH, 11 x CH_2 , 2 x OH), 0,94 et 0,85 (3H, 2s, **i**, $16\alpha,\beta$ (1 : 4)).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 220,9 (**h**), 155,4 (**c**), 137,7 (**e**), 131,0 (**g**), 126,4 (**a**), 115,3 (**d**), 113,0 (**b**), 61,8 (**j**), 49,17, 49,01, 48,24, 44,38, 38,33, 33,13, 32,49, 32,28, 29,5, 26,9, 26,0, 13,7 (**i**), (6 signaux masqués par l'acétone- d_6). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_3$: 398 (M^+), 383 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$), 270 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$ et C_8H_{14}).

Masse exacte : calculée pour $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_3 = 398,2821$; trouvée = 398,2824.

Formation du 3-hydroxy- $16\alpha,\beta$ -(11'-hydroxyundécyl)-1,3,5(10)-estratrièn-17-one (27c) :



L'estrone alkylée (**26c**) (1,32 g, 1,98 mmol), le chlorure de lithium (1,84 g, 43,5 mmol), et l'eau (0,78 mL, 44 mmol) sont mis en solution dans le *N,N*-

diméthylformamide (20 mL). Le tout est agité à reflux pour une période de 19 heures. Le parachèvement est effectué dans l'acétate d'éthyle avec deux extractions avec une solution d'acide chlorhydrique 10% v/v et quatre extractions avec de l'eau. Après filtration, la phase organique est séchée et évaporée. Le produit brut est obtenu sous forme d'une huile jaune. Celle-ci est adsorbée sur silice et purifiée par chromatographie éclair avec un mélange de solvants hexanes : acétone (70 : 30). Le rendement final est de 65% (0,57 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3200-3600 (O-H), 1732 (C=O), 1670 (C=C), 1255 et 1093 (C-O).

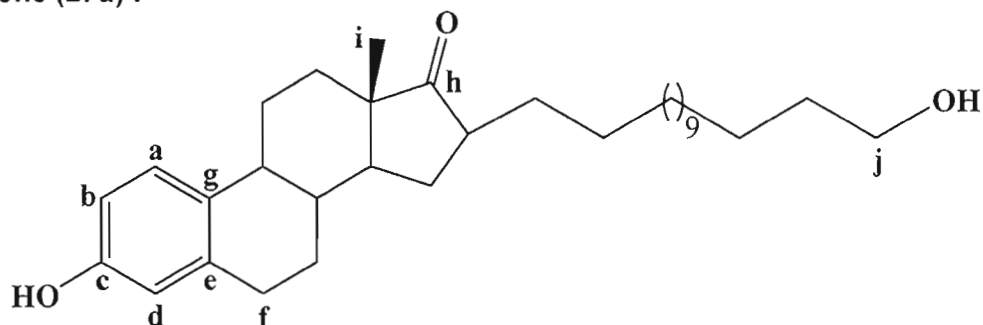
RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 7,10 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, **a**), 6,60 (1H, dd, $J = 2,7$ Hz et $J = 8,2$ Hz, **b**), 6,55 (1H, s, **d**), 3,51 (2H, t, $J = 5,9$ Hz, **j**, 16β), 2,82 (2H, m, **f**), 2,40-1,33 (28H, #m, 4 x CH, 11 x CH_2 , 2 x OH), 0,94 et 0,85 (3H, 2s, **i**, $16\alpha,\beta$ (1 : 4)).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 220,9 (**h**), 155,4 (**c**), 137,7 (**e**), 131,0 (**g**), 126,4 (**a**), 115,3 (**d**), 113,0 (**b**), 61,8 (**j**), 49,17, 49,01, 48,24, 44,38, 38,33, 33,13, 32,49, 32,28, 29,5, 26,9, 26,0, 13,7 (**i**), (9 signaux masqués par l'acétone- d_6). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_3$: 440 (M^+), 422 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 270 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$ et $\text{C}_{11}\text{H}_{20}$).

Masse exacte : calculée pour $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_3 = 440,3290$; trouvée = 440,3297.

Formation du 3-hydroxy- $16\alpha,\beta$ -(14'-hydroxytétradécyl)-1,3,5(10)-estratrièn-17-one (27d) :



L'estrone alkylée (**27d**) (1,36 g, 1,92 mmol), le chlorure de lithium (1,79 g, 42,3 mmol), et l'eau (0,76 mL, 42 mmol) sont mis en solution dans le *N,N*-

diméthylformamide (20 mL). Le tout est agité à reflux pour une période de 24 heures. Le parachèvement est effectué dans l'acétate d'éthyle avec deux extractions avec une solution d'acide chlorhydrique 10% v/v et quatre extractions avec de l'eau. Après filtration, la phase organique est séchée et évaporée. Le produit brut est obtenu sous forme d'une huile jaune. Celle-ci est adsorbée sur silice et purifiée par chromatographie éclair avec un mélange de solvants hexanes : acétone (70 : 30). Le rendement final est de 51% (0,48 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3200-3600 (O-H), 1737 (C=O), 1511 (C=C), 1214 (C-O).

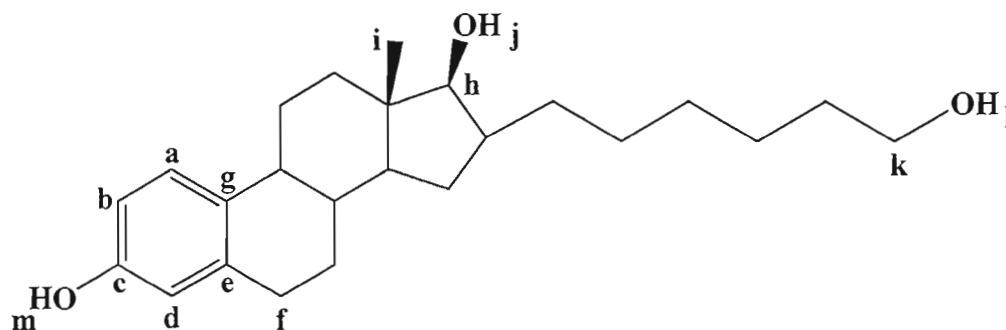
RMN-¹H (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 7,12 (1H, d, J = 8,6 Hz, **a**), 6,60 (1H, dd, J = 2,7 Hz et J = 8,6 Hz, **b**), 6,56 (1H, s, **d**), 3,51 (2H, t, J = 5,9 Hz, **j**, 16 β), 2,81 (2H, m, **f**), 2,38-1,13 (40H, #m, 4 x CH, 17 x CH₂, 2 x OH), 0,95 et 0,86 (3H, 2s, **i**, 16 α,β (1 : 1,2)).

RMN-¹³C (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 220,4 (**h**), 155,4 (**c**), 137,8 (**e**), 131,3 (**g**), 126,4 (**a**), 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 62,0 (**j**), 49,20, 49,01, 48,24, 44,38, 38,33, 33,13, 33,00, 32,49, 32,28, 31,45, 31,14, 29,5, 26,9, 26,0, 13,7 (**i**), (9 signaux masqués par l'acétone-*d*₆). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16 β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16 α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₃₂H₅₀O₃ : 482 (M⁺), 464 (M⁺ - H₂O) et 270 (M⁺ - H₂O et C₁₄H₂₆).

Masse exacte : calculée pour C₃₂H₅₀O₃ = 482,3760 ; trouvée = 482,3755.

Formation du 16 α,β -(6'-hydroxyhexyl)-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol (28a) :



L'estrone décarboalkoxylée (**27a**) (0,49 g, 1,3 mmol) est dissoute dans un mélange d'éther (10 mL), de dichlorométhane (3 mL) et de tétrahydrofurane anhydre (5 mL)

sous atmosphère d'azote. La solution est refroidie à l'aide d'un bain de glace après quoi le borohydrure de lithium (0,17 g, 7,9 mmol) est ajouté rapidement. Le mélange réactionnel est agité à une température de 0°C pendant 3 heures et ensuite à température ambiante pour une durée de 3 jours. Une fois la réaction à terme, du sulfate de sodium décahydraté est ajouté au mélange pour détruire l'excès d'hydruure. Le parachèvement s'effectue avec de l'éther (40 mL), 2 x 20 mL d'une solution de chlorure d'ammonium saturée et 4 x 50 mL d'eau. La phase organique est séchée avec le sulfate de magnésium. La solution est filtrée, le solvant est évaporé et un solide blanc est isolé avec 100% de rendement brut (0,49 g). Le produit est utilisé tel quel pour la prochaine étape.

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}): 3200-3600 (O-H), 1621 (C=C), 1255 et 1072 (C-O).

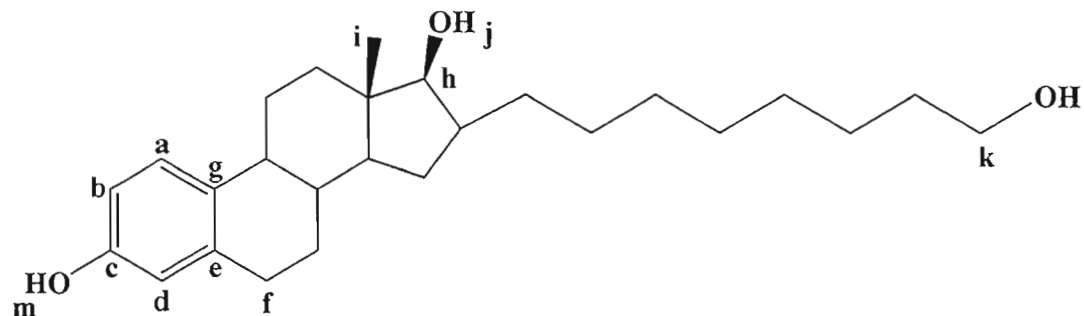
RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm): 7,90 (1H, s, **m**), 7,09 (1H, d, J = 8,2 Hz, **a**), 6,60 (1H, dd, J = 2,7 Hz et J = 8,2 Hz, **b**), 6,53 (1H, s, **d**), 3,62 (1H, m, **j**), 3,52 (2H, t, J = 6,1 Hz, **k**), 3,40 (1H, m, **h**), 2,86 (1H, s, **l**), 2,75 (2H, m, **f**), 2,30-1,29 (22H, #m, 4 x CH, 9 x CH₂), 0,81 et 0,78 (3H, 2s, **i**, 16 α,β (1 : 2)).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm): 155,3 (**c**), 137,8 (**e**), 131,5 (**g**), 126,4 (**a**), 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 81,7 (**h**), 61,9 (**k**), 49,0, 44,34, 44,30, 40,7, 38,9, 38,1, 33,2, 32,7, 32,0, 30,2, 29,7, 29,0, 27,7, 26,6, 26,1, 12,5 (**i**). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16 β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16 α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₂₄H₃₆O₃: 372 (M⁺), 354 (M⁺ - H₂O), 285 (M⁺ - C₅H₁₁O).

Masse exacte : calculée pour C₂₄H₃₆O₃ = 372,2664 ; trouvée = 372,2662.

Formation du 16 α,β -(8'-hydroxyoctyl)-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol (28b) :



L'estrone décarboalkoxylée (**27b**) (0,79 g, 2,0 mmol) est dissoute dans un mélange d'éther (5 mL), de dichlorométhane (5 mL) et de tétrahydrofurane anhydre (13 mL) sous atmosphère d'azote. La solution est refroidie à l'aide d'un bain de glace après quoi le borohydrure de lithium (0,26 g, 12 mmol) est ajouté rapidement. Le mélange réactionnel est agité à une température de 0°C pendant 3 heures et ensuite à température ambiante pour une durée de 3 jours. Une fois la réaction à terme, du sulfate de sodium décahydraté est ajouté au mélange pour détruire l'excès d'hydrure. Le parachèvement s'effectue avec de l'éther (40 mL), 2 x 20 mL d'une solution de chlorure d'ammonium saturée et 4 x 50 mL d'eau. La phase organique est séchée avec le sulfate de magnésium. La solution est filtrée, le solvant est évaporé et un solide blanc est isolé avec 100% de rendement brut (0,79 g). Le produit est utilisé tel quel pour la prochaine étape.

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3200-3600 (O-H), 1619 et 1506 (C=C), 1245 et 1066 (C-O).

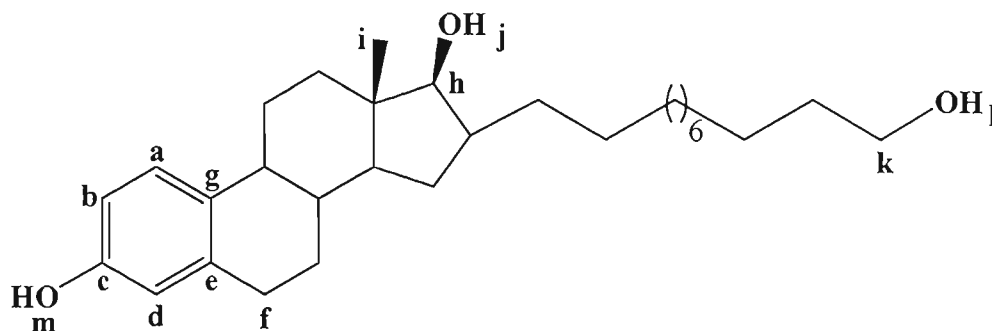
RMN-¹H (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 7,95 (1H, s, **m**), 7,09 (1H, d, J = 8,6 Hz, **a**), 6,56 (1H, dd, J = 2,7 Hz et J = 8,6 Hz, **b**), 6,53 (1H, s, **d**), 3,68-3,47 (2H, 2m, **j** et **h**), 3,52 (2H, t, J = 5,5 Hz, **k**), 2,96 (1H, s, **l**), 2,75 (2H, m, **f**), 2,23-1,07 (26H, #m, 4 x CH, 11 x CH₂), 0,81 et 0,78 (3H, 2s, **i**, 16 α,β (1 : 2,7)).

RMN-¹³C (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 155,3 (**c**), 137,8 (**e**), 131,5 (**g**), 126,4 (**a**), 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 81,7 (**h**), 61,9 (**k**), 48,9, 44,34, 44,30, 40,7, 38,9, 33,1, 32,75, 32,09, 30,4, 30,12, 30,07, 29,90, 29,85, 29,74, 29,69, 29,03, 26,07, 12,5 (**i**). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16 β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16 α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₂₆H₄₀O₃ : 400 (M⁺), 382 (M⁺ - H₂O), 354 (M⁺ - C₂H₆O).

Masse exacte : calculée pour C₂₆H₄₀O₃ = 400,2977; trouvée = 400,2964.

Formation du 16 α,β -(11'-hydroxyundécyl)-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol (28c) :



L'estrone décarboalkoxylée (**27c**) (0,56 g, 1,3 mmol) est dissoute dans un mélange d'éther (4 mL), de dichlorométhane (3 mL) et de tétrahydrofurane anhydre (13 mL) sous atmosphère d'azote. La solution est refroidie à l'aide d'un bain de glace après quoi le borohydrure de lithium (0,17 g, 7,7 mmol) est ajouté rapidement. Le mélange réactionnel est agité à une température de 0°C pendant 3 heures et ensuite à température ambiante pour une durée de 17 heures. Une fois la réaction à terme, du sulfate de sodium décahydraté est ajouté au mélange pour détruire l'excès d'hydrure. Le parachèvement s'effectue avec de l'éther (40 mL), 2 x 20 mL d'une solution de chlorure d'ammonium saturée et 4 x 50 mL d'eau. La phase organique est séchée avec le sulfate de magnésium. La solution est filtrée, le solvant est évaporé et un solide blanc est isolé avec 100% de rendement brut (0,56 g). Le produit est utilisé tel quel pour la prochaine étape.

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3200-3600 (O-H), 1600 et 1506 (C=C), 1245 et 1066 (C-O).

RMN- ^1H (CDCl_3 , δ ppm) : 7,27 (1H, s, m), 7,14 (1H, d, J = 7,8 Hz, a), 6,61 (1H, dd, J = 2,7 Hz et J = 8,6 Hz, b), 6,56 (1H, s, d), 3,85-3,45 (1H, m, h), 3,64 (2H, m, k), 2,80 (2H, m, f), 2,70-0,88 (34H, #m, 4 x CH, 14 x CH₂, 2 x OH), 0,79 et 0,76 (3H, 2s, i, 16 α,β (1 : 1,2)).

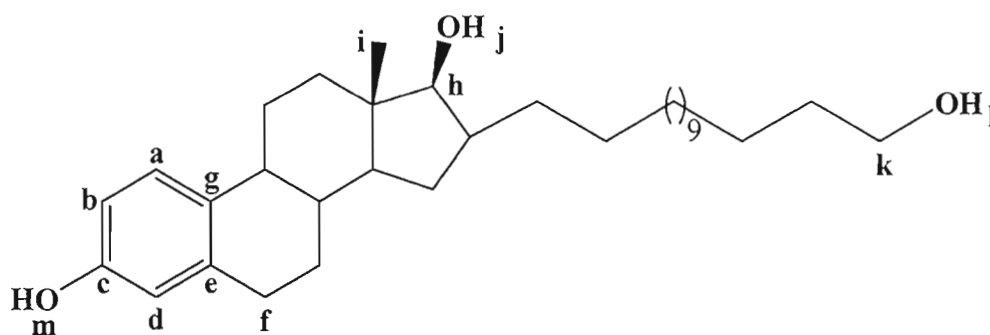
RMN- ^{13}C (CDCl_3 , δ ppm) : 153,6 (c), 138,5 (e), 132,9 (g), 126,7 (a), 115,5 (d), 112,9 (b), 82,8 (h), 63,4 (k), 44,35, 44,20, 40,2, 38,6, 33,0, 32,6, 30,54, 30,12, 29,90, 29,85, 29,74, 29,63, 28,9, 25,9, 12,6 (i), (6 signaux masqués par le CDCl_3).

Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), $C_{29}H_{46}O_3$: 442 (M^+), 424 ($M^+ - H_2O$).

Masse exacte : calculée pour $C_{29}H_{46}O_3 = 442,3447$; trouvée = 442,3449.

Formation du $16\alpha,\beta$ -(14'-hydroxytétradécyl)-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol (28d) :



L'estrone décarboalkoxylée (**27d**) (0,46 g, 0,96 mmol) est dissoute dans un mélange d'éther (4 mL), de dichlorométhane (3 mL) et de tétrahydrofurane anhydre (13 mL) sous atmosphère d'azote. La solution est refroidie à l'aide d'un bain de glace après quoi le borohydrure de lithium (0,13 g, 5,8 mmol) est ajouté rapidement. Le mélange réactionnel est agité à une température de 0°C pendant 3 heures et ensuite à température ambiante pour une durée de 3 jours. Une fois la réaction à terme, du sulfate de sodium décahydraté est ajouté au mélange pour détruire l'excès d'hydrure. Le parachèvement s'effectue avec de l'éther (40 mL), 2 x 20 mL d'une solution de chlorure d'ammonium saturée et 4 x 50 mL d'eau. La phase organique est séchée avec le sulfate de magnésium. La solution est filtrée, le solvant est évaporé et un solide blanc est isolé avec 96% de rendement brut (0,45 g). Le produit est utilisé tel quel pour la prochaine étape.

IR (NaCl, ν_{max} , cm^{-1}) : 3650-3100 (O-H), 1609 (C=C), 1230 et 1061 (C-O).

RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 7,94 (1H, s, **m**), 7,09 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, **a**), 6,58 (1H, dd, $J = 2,7$ Hz et $J = 8,6$ Hz, **b**), 6,53 (1H, s, **d**), 3,69-3,42 (2H, 2m, **j** et **h**), 3,52

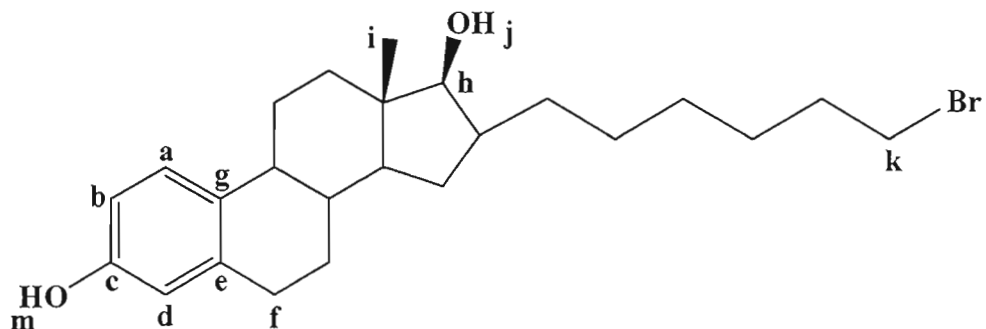
(2H, m, **k**), 2,94 (1H, s, **l**), 2,76 (2H, m, **f**), 2,23-1,03 (40H, #m, 4 x CH, 18 x CH₂), 0,81 et 0,79 (3H, 2s, **i**, 16 α,β (1 : 4,5)).

RMN-¹³C (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 155,2 (**c**), 137,8 (**e**), 131,5 (**g**), 126,4 (**a**), 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 81,7 (**h**), 61,9 (**k**), 49,0, 44,34, 44,31, 40,7, 38,9, 38,1, 33,1, 32,8, 32,1, 30,15, 29,86, 29,79, 29,66, 29,45, 29,03, 27,7, 26,6, 26,1, 25,5, 12,5 (**i**), (4 signaux masqués par l'acétone-*d*₆). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16 β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16 α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₃₂H₅₂O₃ : 484 (M⁺), 466 (M⁺ - H₂O) et 397 (M⁺ - C₅H₁₁O).

Masse exacte : calculée pour C₃₂H₅₂O₃ = 484,3916 ; trouvée = 484,3922.

Formation du 16 α,β -(6'-bromohexyl)-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol (29a) :



Le triol (**28a**) (0,51 g, 1,4 mmol) à l'état brut est solubilisé dans le dichlorométhane (15 mL). Ensuite, le tétrabromure de carbone (1,81 g, 5,44 mmol) et la triphénylphosphine (1,46 g, 5,44 mmol) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est maintenu sous atmosphère d'azote et à la température ambiante (23°C) pendant 5 heures. La phase organique est ensuite extraite avec 50 mL d'éther et 2 x 60 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium et finalement 2 x 60 mL d'eau. La portion étherée est séchée avec le sulfate de magnésium, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par chromatographie éclair avec comme éluant un mélange de solvants hexanes : acétone (80 : 20). Le produit bromé (**29a**) est obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 36% (0,21 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm⁻¹) : 3650-3150 (O-H), 1624 et 1501 (C=C), 1230 et 1071 (C-O).

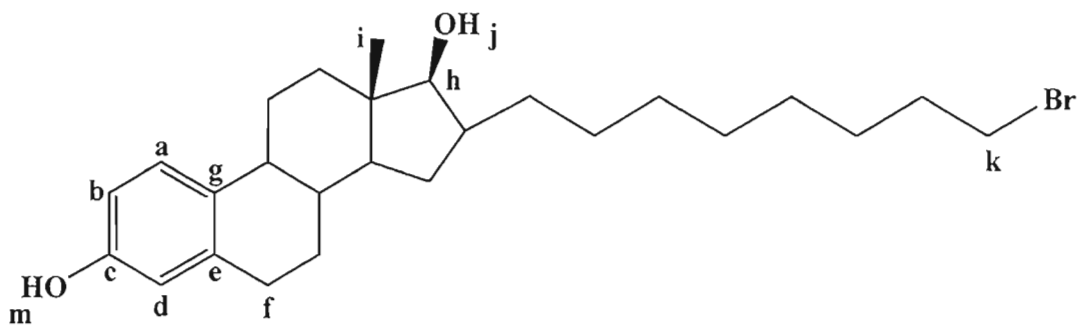
RMN-¹H (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 7,90 (1H, s, **m**), 7,09 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, **a**), 6,58 (1H, dd, $J = 2,3$ Hz et $8,2$ Hz, **b**), 6,53 (1H, s, **d**), 3,74 (1H, m, **h**), 3,49 (2H, t, $J = 6,6$ Hz, **k**), 2,90 (1H, s, **j**), 2,76 (2H, m, **f**), 2,25-1,03 (22H, #m, 4 x CH, 9 x CH₂), 0,81 et 0,78 (3H, 2s, **i**, 16 α,β (1 : 23)).

RMN-¹³C (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 155,3 (**c**), 137,8 (**e**), 131,5 (**g**), 126,4 (**a**), 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 81,7 (**h**,16 β), 49,0, 44,33, 44,31, 40,7, 38,9, 38,1, 34,2, 33,0, 32,7, 32,0, 29,73, 29,45, 29,06, 28,26, 27,73, 26,6, 12,5 (**i**). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16 β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16 α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₂₄H₃₅BrO₂ : 434 (M⁺).

Masse exacte : calculée pour C₂₄H₃₅BrO₂ = 434,1820 ; trouvée = 434,1815.

Formation du 16 α,β -(8'-bromooctyl)-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol (29b) :



Le triol (**28b**) (0,79 g, 2,0 mmol) à l'état brut est solubilisé dans le dichlorométhane (20 mL). Ensuite, le tétrabromure de carbone (2,61 g, 7,88 mmol) et la triphénylphosphine (2,11 g, 7,88 mmol) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est maintenu sous atmosphère d'azote et à la température ambiante (23°C) pendant 21 heures. La phase organique est ensuite extraite avec 50 mL d'éther et 2 x 60 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium et finalement 2 x 60 mL d'eau. La portion étherée est séchée avec le sulfate de magnésium, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par chromatographie éclair avec comme éluant un mélange de

solvants hexanes : acétone (85 : 15). Le produit bromé (**29b**) est obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 34% (0,31 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3650-3150 (O-H), 1614 et 1501 (C=C), 1255 et 1066 (C-O).

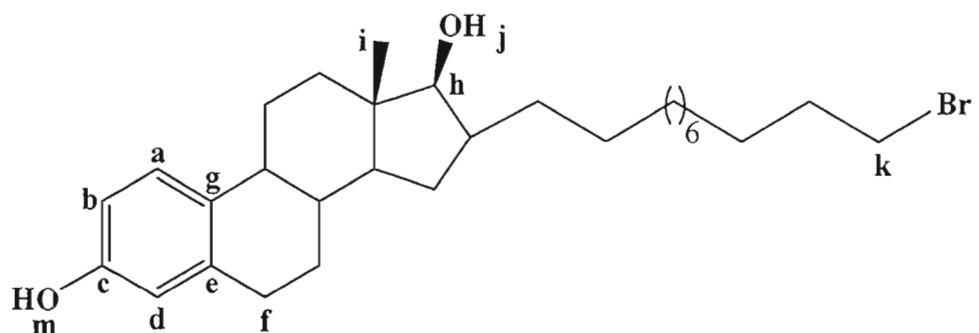
RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 7,94 (1H, s, **m**), 7,09 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, **a**), 6,58 (1H, dd, $J = 2,7$ Hz et 8,2 Hz, **b**), 6,53 (1H, s, **d**), 3,69 (1H, m, **h**), 3,49 (2H, t, $J = 6,6$ Hz, **k**), 2,88 (1H, s, **j**), 2,75 (2H, m, **f**), 2,23-1,02 (26H, #m, 4 x CH, 11 x CH₂), 0,81 et 0,78 (3H, 2s, **i**, 16 α,β (1 : 16)).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 155,3 (**c**), 137,8 (**e**), 131,5 (**g**), 126,4 (**a**), 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 81,7 (**h**,16 β), 48,9, 44,34, 44,30, 40,7, 38,9, 38,1, 34,2, 33,0, 32,7, 32,1, 29,82, 29,72, 29,43, 28,94, 28,16, 27,72, 26,6, 12,5 (**i**), (1 signal masqué par l'acétone- d_6). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16 β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16 α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₂₆H₃₉BrO₂ : 462 (M⁺).

Masse exacte : calculée pour C₂₆H₃₉BrO₂ = 462,2133 ; trouvée = 462,2129.

Formation du 16 α,β -(11'-bromoundécyl)-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol (29c**) :**



Le triol (**28c**) (0,56 g, 1,3 mmol) à l'état brut est solubilisé dans le dichlorométhane (20 mL). Ensuite, le tétrabromure de carbone (1,68 g, 5,07 mmol) et la triphénylphosphine (1,37 g, 5,07 mmol) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est maintenu sous atmosphère d'azote et à la température ambiante (23°C) pendant 5 heures. La phase organique est ensuite extraite avec 50 mL d'éther, un minimum de

dichlorométhane et 2 x 60 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium et finalement 2 x 60 mL d'eau. La portion étherée est séchée avec le sulfate de magnésium, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par chromatographie éclair avec comme éluant un mélange de solvants hexanes : acétone (85 : 15). Le produit bromé (**29c**) est obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 59% (0,38 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3650-3150 (O-H), 1614 et 1516 (C=C), 1255 et 1071 (C-O).

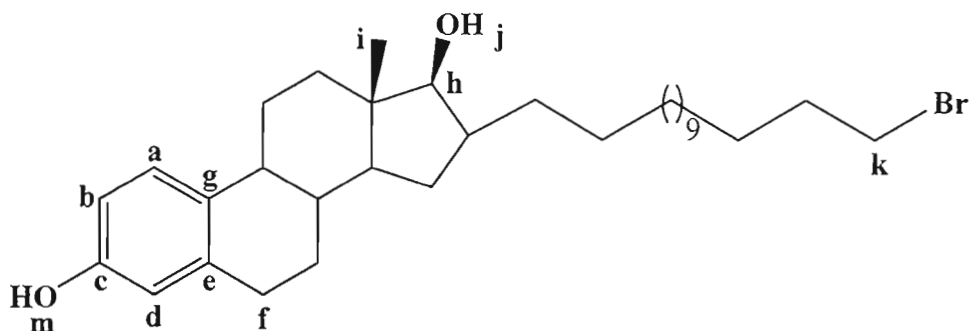
RMN-¹H (CDCl₃, δ ppm) : 7,26 (1H, s, **m**), 7,15 (1H, d, J = 8,2 Hz, **a**), 6,62 (1H, dd, J = 2,7 Hz et 8,2 Hz, **b**), 6,56 (1H, s, **d**), 3,74 (1H, d, J = 9,8 Hz, **h**), 3,41 (2H, t, J = 7,0 Hz, **k**), 2,80 (2H, m, **f**), 2,60-1,02 (33H, #m, 4 x CH, 14 x CH₂, 1 x OH), 0,80 et 0,76 (3H, 2s, **i**, 16 α,β (1 : 3,5)).

RMN-¹³C (CDCl₃, δ ppm) : 153,6 (**c**), 138,5 (**e**), 133,0 (**g**), 126,7 (**a**), 115,5 (**d**), 112,9 (**b**), 82,8 (**h**, 16 β), 48,8, 44,35, 44,21, 40,2, 38,6, 37,9, 34,3 (2 C), 33,1 (2 C), 32,6, 31,7, 30,1, 28,99 (2 C), 28,87, 28,41 (2 C), 27,63, 27,42, 26,52, 12,6 (**i**). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16 β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16 α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₂₉H₄₅BrO₂ : 504 (M⁺).

Masse exacte : calculée pour C₂₉H₄₅BrO₂ = 504,2603 ; trouvée = 504,2592.

Formation du 16 α,β -(14'-bromotétradécyl)-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol (29d) :



Le triol (**28d**) (0,39 g, 0,81 mmol) à l'état brut est solubilisé dans le dichlorométhane (15 mL). Ensuite, le tétrabromure de carbone (1,08 g, 3,26 mmol) et la triphénylphosphine (0,87 g, 3,3 mmol) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est

maintenu sous atmosphère d'azote et à la température ambiante (23°C) pendant 6 heures. La phase organique est ensuite extraite avec 50 mL d'éther, un minimum de dichlorométhane et 2 x 60 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium et finalement 2 x 60 mL d'eau. La portion étherée est séchée avec le sulfate de magnésium, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par chromatographie éclair avec comme éluant un mélange de solvants hexanes : acétone (85 :15). Le produit bromé (**29d**) est obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 62% (0,28 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3650-3150 (O-H), 1619 et 1506 (C=C), 1260 et 1081 (C-O).

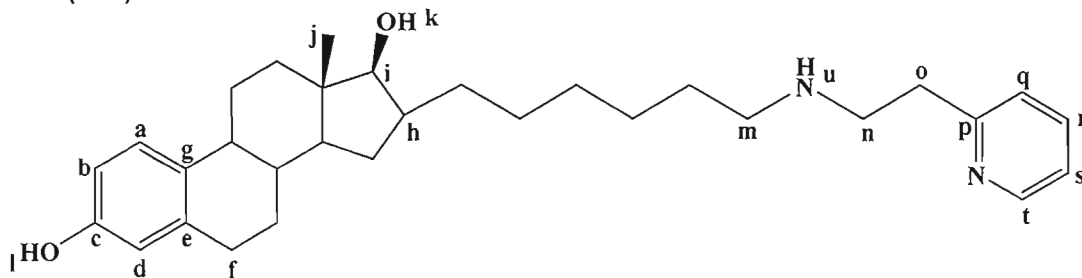
RMN-¹H (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 7,92 (1H, s, **m**), 7,09 (1H, d, J = 8,5 Hz, **a**), 6,58 (1H, dd, J = 2,7 Hz et 8,2 Hz, **b**), 6,53 (1H, s, **d**), 3,71 (1H, m, **h**), 3,48 (2H, t, J = 6,6 Hz, **k**), 2,98, (1H, s, **j**), 2,76 (2H, m, **f**), 2,23-1,03 (38H, #m, 4 x CH, 17 x CH₂), 0,81 et 0,79 (3H, 2s, **i**, 16 α,β (1:11,5)).

RMN-¹³C (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 155,3 (**c**), 137,7 (**e**), 131,5 (**g**), 126,4 (**a**), 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 81,7 (**h**,16 β), 49,0, 44,35, 44,31, 40,7, 38,9, 38,1, 34,2, 33,0, 32,8, 32,1, 30,19, 29,91, 29,83, 29,77, 29,70, 29,07, 28,2, 27,8, 26,6, 12,5 (**i**), (5 signaux masqués par l'acétone-*d*₆). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16 β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16 α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₃₂H₅₁BrO₂ : 546 (M⁺).

Masse exacte : calculée pour C₃₂H₅₁BrO₂ = 546,3072 ; trouvée = 546,3079.

Formation du 16 α,β -[6'-(2''-pyridyléthylamino)hexyl]-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol (30a) :



Le bromure (**29a**) (0,20 g, 0,46 mmol) est dissout dans du méthanol anhydre (7 mL). Le 2-(2'-aminoéthyl)pyridine (0,56 mL, 4,6 mmol) est ensuite ajouté. Le mélange est agité à reflux sous atmosphère d'azote pendant 4 jours. Après évaporation du solvant, le résidu est récupéré avec 30 mL d'éther et lavé avec 6 x 50 mL d'eau. Les portions aqueuses sont lavées à nouveau avec de l'éther. Les phases étherées sont combinées, séchées, évaporées et pesées. Une amine (**30a**), sous forme d'huile visqueuse jaune, est obtenue avec un rendement brut de 94% (0,21 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3550-3050 (O-H et N-H), 1598 (C=C), 1255 et 1086 (C-O).

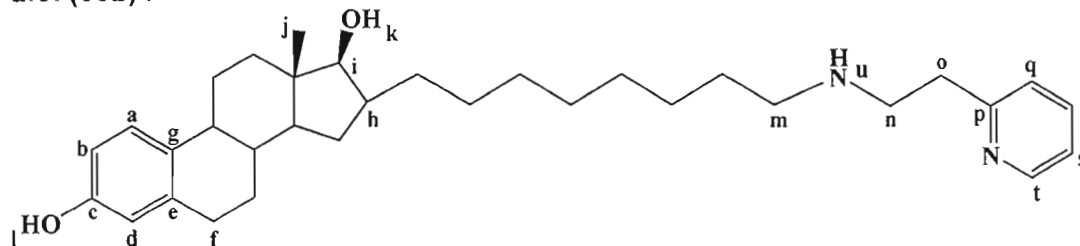
RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 8,48 (1H, dm, $J = 5,1$ Hz, **t**), 8,02 (1H, s, **l**), 7,66 (1H, td, $J = 1,6$ Hz et $J = 7,5$ Hz, **r**), 7,25 (1H, dd, $J = 1,2$ Hz et $J = 7,8$ Hz, **q**), 7,16 (1H, td, $J = 1,2$ Hz et $J = 5,1$ Hz, **s**), 7,08 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, **a**), 6,58 (1H, dd, $J = 2,3$ Hz et $J = 8,2$ Hz, **b**), 6,52 (1H, d apparent, $J = 2,3$ Hz, **d**), 3,72 (1H, d, $J = 9,8$ Hz, **i**, 16β), 3,26 (1H, d, $J = 4,3$ Hz, **i**, 16α), 2,94 (4H, m, **n** et **o**), 2,75 (2H, m, **f**), 2,60 (2H, t, $J = 6,6$ Hz, **m**), 2,24-1,90 (3H, m, **h**, **k** et **u**), 1,46-1,06 (21H, m, 3 x CH, 9 x CH_2), 0,78 (3H, s, **j**, 16β (pas 16α apparent)).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 161,0 (**p**), 155,4 (**c**), 149,3 (**t**), 137,7 (**e**), 136,4 (**r**), 131,4 (**g**), 126,4 (**a**), 123,3 (**q**), 121,3 (**s**), 115,4 (**d**), 113,0 (**b**), 81,6 (**i**, 16β), 49,8, 49,6, 49,0, 44,35, 44,30, 40,7, 38,9, 38,3, 38,1, 32,8, 32,1, 30,14, 30,08, 29,84, 29,75, 29,45, 27,51, 26,6, 12,5 (**j**). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_2$: 476 (M^+), 398 ($\text{M}^+ - \text{C}_5\text{H}_4\text{N}$), 384 ($\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_5\text{N}$).

Masse exacte : calculée pour $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_2 = 476,3403$; trouvée = 476,3408.

Formation du $16\alpha,\beta$ -[8'-(2''-pyridyléthylamino)octyl]-1,3,5(10)-estratrien-3,17 β -diol (30b**) :**



Le bromure (**29b**) (0,30 g, 0,65 mmol) est dissout dans du méthanol anhydre (10 mL). Le 2-(2'-aminoéthyl)pyridine (0,78 mL, 6,5 mmol) est ensuite ajouté. Le mélange est agité à reflux sous atmosphère d'azote pendant 5 jours. Après évaporation du solvant, le résidu est récupéré avec 30 mL d'éther et lavé avec 6 x 50 mL d'eau. Les portions aqueuses sont lavées à nouveau avec de l'éther. Les phases étherées sont combinées, séchées, évaporées et pesées. Une amine (**30b**), sous forme d'huile visqueuse jaune, est obtenue avec un rendement brut de 100% (0,33 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3550-3050 (O-H et N-H), 1609 (C=C), 1219 et 1061 (C-O).

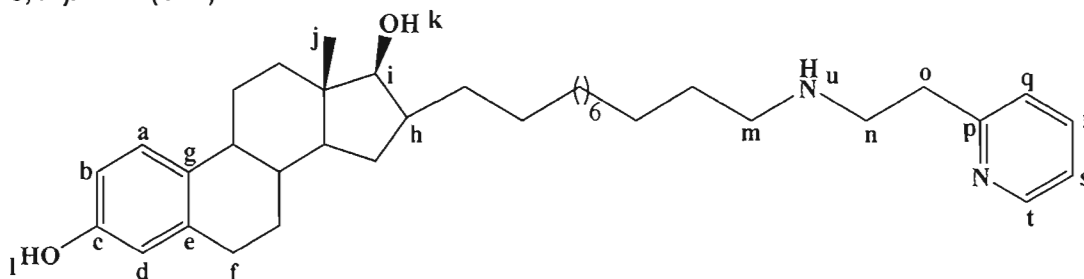
RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 8,48 (1H, dm, $J = 4,7$ Hz, **t**), 7,65 (1H, tt, $J = 2,0$ Hz et $J = 7,4$ Hz, **r**), 7,25 (1H, dd, $J = 1,2$ Hz et $J = 7,8$ Hz, **q**), 7,16 (1H, dd, $J = 1,2$ Hz et $J = 4,7$ Hz, **s**), 7,09 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, **a**), 6,58 (1H, dd, $J = 2,7$ Hz et $J = 8,6$ Hz, **b**), 6,52 (1H, d apparent, $J = 2,3$ Hz, **d**), 3,72 (1H, d, $J = 10,0$ Hz, **i**, 16β), 3,26 (1H, d, $J = 4,3$ Hz, **i**, 16α), 3,60-2,81 (4H, m, **n** et **o**), 2,75 (2H, m, **f**), 2,59 (2H, t, $J = 6,6$ Hz, **m**), 2,36-1,87 (3H, m, **h**, **k** et **u**), 1,46-1,02 (25H, m, 3 x CH, 11 x CH₂), 0,81 et 0,78 (3H, 2s, **j**, $16\alpha,\beta$ (1 : 15)).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 161,0 (**p**), 155,4 (**c**), 149,3 (**t**), 137,7 (**e**), 136,4 (**r**), 131,4 (**g**), 126,4 (**a**), 123,3 (**q**), 121,3 (**s**), 115,4 (**d**), 113,0 (**b**), 81,6 (**i**, 16β), 49,8, 49,6, 49,0, 44,35, 44,30, 40,7, 38,9, 38,3, 38,1, 32,8, 32,1, 30,14, 30,08, 29,84, 29,75, 29,45, 27,51, 26,6, 12,5 (**j**), (2 signaux masqués par l'acétone- d_6). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_2$: 504 (M^+).

Masse exacte : calculée pour $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_2 = 504,3716$; trouvée = 504,3726.

Formation du 16 α,β -[11'-(2''-pyridyléthylamino)undécyl]-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol (30c) :



Le bromure (**29c**) (0,37 g, 0,73 mmol) est dissout dans du méthanol anhydre (15 mL). Le 2-(2'-aminoéthyl)pyridine (0,88 mL, 7,3 mmol) est ensuite ajouté. Le mélange est agité à reflux sous atmosphère d'azote pendant 3 jours. Après évaporation du solvant, le résidu est récupéré avec 30 mL d'éther et lavé avec 6 x 50 mL d'eau. Les portions aqueuses sont lavées à nouveau avec de l'éther. Les phases étherées sont combinées, séchées, évaporées et pesées. Une amine (**30c**), sous forme d'huile visqueuse jaune, est obtenue avec un rendement brut de 94% (0,37 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3550-3050 (O-H et N-H), 1603 (C=C), 1250 et 1076 (C-O).

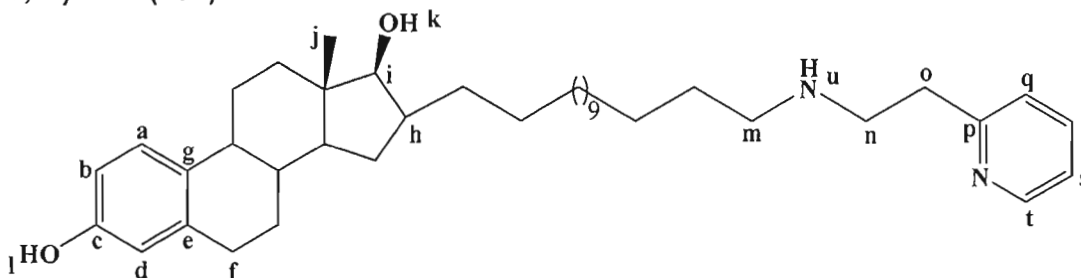
RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 8,48 (1H, dl, $J = 3,1$ Hz, t), 8,02 (1H, m, l), 7,67 (1H, dt apparent, $J = 2,0$ Hz et $J = 7,4$ Hz, r), 7,26 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, q), 7,18 (1H, t, $J = 5,1$ Hz, s), 7,09 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, a), 6,59 (1H, dd, $J = 2,3$ Hz et $J = 8,2$ Hz, b), 6,53 (1H, s, d), 3,72 (1H, d, $J = 9,4$ Hz, i, 16 β), 3,61-3,24 (2H, #m, k et i, 16 α), 2,95 (4H, m, n et o), 2,75 (2H, m, f), 2,61 (2H, t, $J = 6,6$ Hz, m), 2,29-1,04 (33H, m, 3 x CH, 14 x CH₂, h, et u), 0,81 et 0,79 (3H, 2s, j, 16 α,β (1 : 4)).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 160,9 (p), 155,4 (c), 149,3 (t), 137,7 (e), 136,5 (r), 131,3 (g), 126,4 (a), 123,4 (q), 121,4 (s), 115,4 (d), 113,0 (b), 81,6 (i, 16 β), 78,6, 49,7, 49,5, 49,0, 44,36, 44,30, 40,7, 38,9, 38,1, 38,0, 32,8, 32,2, 12,6 (j), (11 signaux masqués par l'acétone- d_6). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16 β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16 α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), C₃₆H₅₄N₂O₂ : 546 (M⁺), 454 (M⁺ - C₆H₄N).

Masse exacte : calculée pour $C_{36}H_{54}N_2O_2 = 546,4185$; trouvée = 546,4185.

Formation du $16\alpha,\beta$ -[14'-(2''-pyridyléthylamino)tétradécyl]-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol (30d) :



Le bromure (**29d**) (0,20 g, 0,36 mmol) est dissout dans du méthanol anhydre (10 mL). Le 2-(2'-aminoéthyl)pyridine (0,43 mL, 3,6 mmol) est ensuite ajouté. Le mélange est agité à reflux sous atmosphère d'azote pendant 3 jours. Après évaporation du solvant, le résidu est récupéré avec 30 mL d'éther et lavé avec 6 x 50 mL d'eau. Les portions aqueuses sont lavées à nouveau avec de l'éther. Les phases étherées sont combinées, séchées, évaporées et pesées. Une amine (**30d**), sous forme d'huile visqueuse jaune, est obtenue avec un rendement brut de 99% (0,21 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3550-3050 (O-H et N-H), 1598 (C=C), 1224 (C-O).

RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 8,48 (1H, dd, $J = 2,0$ Hz et $J = 4,7$ Hz, **t**), 7,65 (1H, tt, $J = 2,0$ Hz et $J = 7,4$ Hz, **r**), 7,25 (1H, dd, $J = 1,2$ Hz et $J = 7,8$ Hz, **q**), 7,16 (1H, tt apparent, $J = 1,6$ Hz et $J = 4,7$ Hz, **s**), 7,09 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, **a**), 6,96 (1H, s, **l**), 6,58 (1H, dd, $J = 2,7$ Hz et $J = 8,2$ Hz, **b**), 6,52 (1H, d apparent, $J = 2,7$ Hz, **d**), 3,72 (1H, d, $J = 9,4$ Hz, **i**, 16β), 3,61-2,82 (6H, #m, **n**, **o**, **h**, **i**, 16α), 2,76 (2H, m, **f**), 2,59 (2H, t, $J = 6,6$ Hz, **m**), 2,24-1,06 (39H, #m, 3 x CH, 17 x CH_2 , **k** et **u**), 0,81 et 0,79 (3H, 2s, **j**, $16\alpha,\beta$ (1 : 9)).

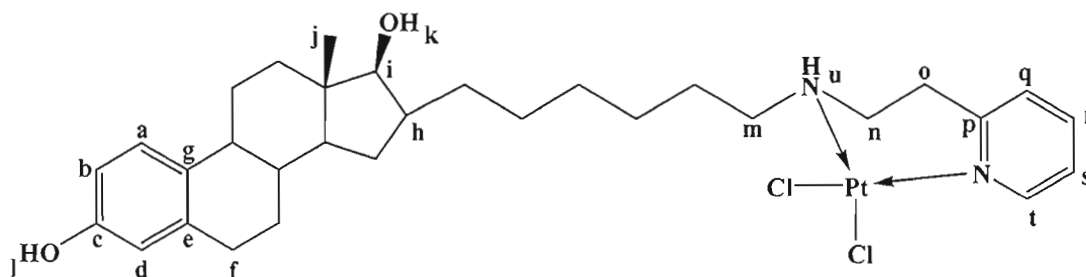
RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 161,1 (**p**), 155,3 (**c**), 149,3 (**t**), 137,7 (**e**), 136,3 (**r**), 131,4 (**g**), 126,4 (**a**), 123,3 (**q**), 121,3 (**s**), 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 81,5 (**i**, 16β), 65,5, 51,2, 49,7, 49,6, 49,0, 44,35, 44,28, 40,7, 39,6, 38,9, 38,4, 38,1, 34,3, 32,7, 32,1, 30,18, 30,06, 29,72, 29,44, 29,06, 28,98, 27,74, 27,44, 26,6, 15,0, 12,5 (**j**), (1 signal

masqué par l'acétone- d_6). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

SM (m/e), $C_{39}H_{60}N_2O_2$: 588 (M^+).

Masse exacte : calculée pour $C_{39}H_{60}N_2O_2$ = 588,4655 ; trouvée = 588,4658.

Formation du $16\alpha,\beta$ -[6'-(2''-pyridyléthylamino)hexyl]-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol dichloroplatine(II) (17a) :



L'amine (**30a**) (0,18 g, 0,37 mmol) est dissout dans 3 mL de *N,N*-diméthylformamide (DMF) à température ambiante (23°C). Ensuite, le tétrachloroplatinate(II) de potassium (0,16 g, 0,39 mmol) préalablement dissout dans un mélange DMF : eau (3,0 mL : 1,5 mL) est ajouté à la solution d'amine. Le pH du mélange est de 9. Après agitation pendant 7 jours à l'obscurité, le pH passe à 5. Une fois la réaction terminée, 5 gouttes de diméthylsulfoxyde (DMSO) sont ajoutées à la solution et le tout est agité durant 3 heures. Ensuite, 4 mL d'une solution de chlorure de potassium (KCl) saturée sont ajoutés ainsi que 1 g de KCl solide. Le mélange est agité très vigoureusement pendant la nuit après quoi la solution est filtrée avec un filtre en verre fritté de porosité fine (F) et lavé à l'eau. Le solide brun-vert est séché au dessiccateur, adsorbé sur silice et purifié par chromatographie éclair avec un mélange de solvants hexanes : acétone (50 : 50). Le complexe de platine (**17a**), sous forme de cristaux jaune, est obtenu avec un rendement de 45% (0,10 g).

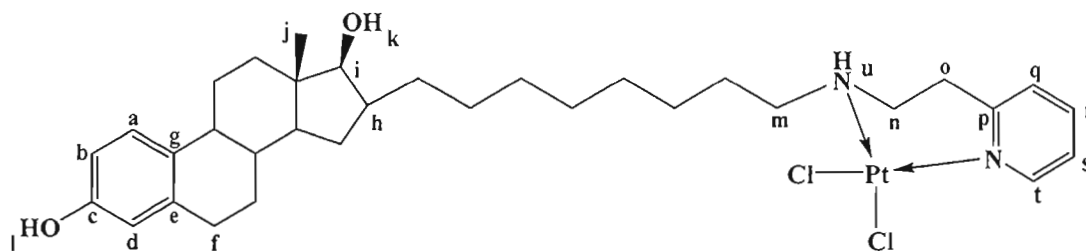
IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3600-3100 (O-H et N-H), 1614 (C=C), 1240 et 1076 (C-O).

RMN- 1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 9,15 (1H, dd, $J = 1,2$ Hz et $J = 6,3$ Hz, t), 8,04 (1H, td, $J = 1,6$ Hz et $J = 7,8$ Hz, r), 7,90 (1H, s, l), 7,54 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, q), 7,43 (1H,

td, $J = 1,6$ Hz et $J = 7,4$ Hz, **s**), 7,08 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, **a**), 6,58 (1H, dd, $J = 2,7$ Hz et $J = 8,2$ Hz, **b**), 6,53 (1H, d apparent, $J = 2,7$ Hz, **d**), 6,05 (1H, sl, **u**), 3,78-3,68 (1H, m, **i**, 16β), 3,50-2,81 (7H, #m, **m**, **n**, **o** et **i**, 16α), 2,78-2,74 (2H, m, **f**), 2,40-0,84 (23H, #m, 4 x CH, 9 x CH₂ et **k**), 0,80 et 0,77 (3H, 2s, **j**, $16\alpha,\beta$ (1 : 22)).

RMN-¹³C (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 160,0 (**p**), 155,2 (**t**), 153,7 (**c**), 139,4 (**r**), 137,8 (**e**), 131,5 (**g**), 127,8 (**a**), 126,4 (**q**), 124,9 (**s**), 123,9, 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 81,7 (**i**, 16β), 56,6, 49,0, 45,9, 44,33, 44,30, 40,6, 39,9, 38,9, 38,1, 32,7, 31,9, 29,7, 28,7, 27,93, 27,75, 26,68, 26,61, 12,5 (**j**). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

Formation du $16\alpha,\beta$ -[8'-(2''-pyridyléthylamino)octyl]-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol dichloroplatine(II) (17b) :



L'amine (**30b**) (0,26 g, 0,52 mmol) est dissout dans 4 mL de *N,N*-diméthylformamide (DMF) à température ambiante (23°C). Ensuite, le tétrachloroplatinate(II) de potassium (0,23 g, 0,54 mmol) préalablement dissout dans un mélange DMF : eau (3,0 mL : 2,5 mL) est ajouté à la solution d'amine. Le pH du mélange est de 9. Après agitation pendant 7 jours à l'obscurité, le pH passe à 4-5. Une fois la réaction terminée, 5 gouttes de diméthylsulfoxyde (DMSO) sont ajoutées à la solution et le tout est agité durant 3 heures. Ensuite, 6 mL d'une solution de chlorure de potassium (KCl) saturée sont ajoutés ainsi que 1 g de KCl solide. Le mélange est agité très vigoureusement pendant la nuit après quoi la solution est filtrée avec un filtre en verre fritté de porosité fine (F) et lavé à l'eau. Le solide brun-vert est séché au dessiccateur, adsorbé sur silice et purifié par chromatographie éclair avec un

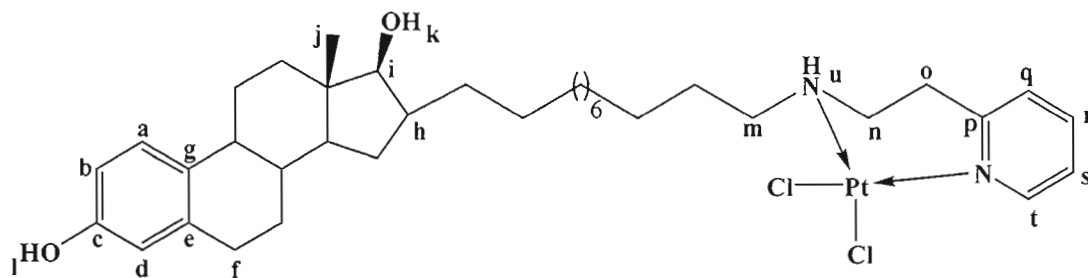
mélange de solvants hexanes : acétone (50 : 50). Le complexe de platine (**17b**), sous forme de cristaux jaune, est obtenu avec un rendement de 58% (0,23 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3600-3100 (O-H et N-H), 1624 (C=C), 1250 et 1076 (C-O).

RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 9,15 (1H, dd, $J = 1,2$ Hz et $J = 5,9$ Hz, **t**), 8,02 (1H, td, $J = 1,6$ Hz et $J = 7,8$ Hz, **r**), 7,90 (1H, sl, **l**), 7,53 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, **q**), 7,43 (1H, td, $J = 1,6$ Hz et $J = 7,4$ Hz, **s**), 7,08 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, **a**), 6,58 (1H, dd, $J = 2,7$ Hz et $J = 8,2$ Hz, **b**), 6,53 (1H, d apparent, $J = 2,7$ Hz, **d**), 6,11-6,06 (1H, sl, **u**), 3,83-3,70 (1H, m, **i**, 16β), 3,45-2,81 (7H, #m, **m**, **n**, **o** et **i**, 16α), 2,75 (2H, m, **f**), 2,40-0,97 (27H, #m, 4 x CH, 11 x CH₂ et **k**), 0,80 et 0,77 (3H, 2s, **j**, $16\alpha,\beta$ (1 : 14)).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 160,0 (**p**), 155,2 (**t**), 153,7 (**c**), 139,5 (**r**), 137,8 (**e**), 131,5 (**g**), 126,4 (**a**), 124,9 (**q**), 123,9 (**s**), 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 81,7 (**i**, 16β), 56,6, 54,4, 48,9, 45,9, 44,3, 39,9, 38,9, 38,1, 32,8, 32,1, 29,90, 29,76, 29,51, 29,37, 29,00, 27,97, 27,77, 26,71, 26,63, 12,6 (**j**), (1 signal masqué par l'acétone- d_6). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

Formation du $16\alpha,\beta$ -[11'-(2''-pyridyléthylamino)undécyl]-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol dichloroplatine(II) (17c**) :**



L'amine (**30c**) (0,090 g, 0,16 mmol) est dissout dans 1 mL de *N,N*-diméthylformamide (DMF) à température ambiante (23°C). Ensuite, le tétrachloroplatinate(II) de potassium (0,070 g, 0,17 mmol) préalablement dissout dans un mélange DMF : eau (1,0 mL : 1,0 mL) est ajouté à la solution d'amine. Le pH du mélange est de 8-9. Après agitation pendant 6 jours à l'obscurité, le pH

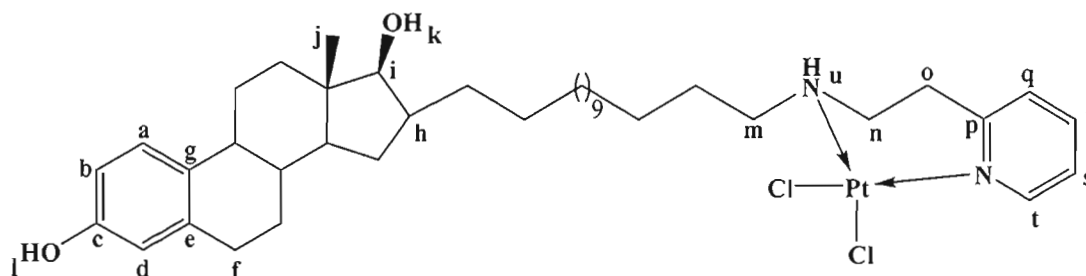
passé à 4-5. Une fois la réaction terminée, 3 gouttes de diméthylsulfoxyde (DMSO) sont ajoutées à la solution et le tout est agité durant 3 heures. Ensuite, 10 mL d'une solution de chlorure de potassium (KCl) saturée sont ajoutés ainsi que 1 g de KCl solide. Le mélange est agité très vigoureusement pendant la nuit après quoi la solution est filtrée avec un filtre en verre fritté de porosité fine (F) et lavé à l'eau. Le solide brun-vert est séché au dessiccateur, adsorbé sur silice et purifié par chromatographie éclair avec un mélange de solvants hexanes : acétone (50 : 50). Le complexe de platine (**17c**), sous forme de cristaux jaune, est obtenu avec un rendement de 50% (0,63 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3600-3100 (O-H et N-H), 1610 (C=C), 1211 et 1063 (C-O).

RMN-¹H (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 9,12 (1H, dd, J = 0,8 Hz et J = 5,9 Hz, **t**), 8,03 (1H, td, J = 1,6 Hz et J = 7,4 Hz, **r**), 7,53 (1H, d, J = 7,8 Hz, **q**), 7,41 (1H, td, J = 1,6 Hz et J = 6,3 Hz, **s**), 7,08 (1H, d, J = 8,6 Hz, **a**), 6,58 (1H, dd, J = 2,7 Hz et J = 8,2 Hz, **b**), 6,52 (1H, d apparent, J = 2,3 Hz, **d**), 5,99 (1H, sl, **u**), 3,72 (1H, d, J = 9,4 Hz **i**, 16 β), 3,68-2,80 (8H, #m, **m**, **n**, **o**, **l** et **i**, 16 α), 2,75 (2H, m, **f**), 2,40-1,07 (33H, #m, 4 x CH, 14 x CH₂-et **k**), 0,80 et 0,77 (3H, 2s, **j**, 16 α,β (1:6,7)).

RMN-¹³C (Acétone-*d*₆, δ ppm) : 159,8 (**p**), 155,3 (**t**), 153,7 (**c**), 139,4 (**r**), 137,8 (**e**), 131,5 (**g**), 126,3 (**a**), 124,9 (**q**), 123,8 (**s**), 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 81,7 (**i**, 16 β), 56,6, 48,9, 46,0, 44,33, 44,29, 40,7, 39,7, 38,9, 38,1, 32,7, 32,1, 30,1, 29,79, 29,70, 28,99, 27,93, 27,73, 26,6, 12,5 (**j**), (5 signaux masqués par l'acétone-*d*₆). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16 β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16 α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

Formation du 16 α,β -[14'-(2''-pyridyléthylamino)tétradécyl]-1,3,5(10)-estratrièn-3,17 β -diol dichloroplatine(II) (17d**) :**



L'amine (**30d**) (0,20 g, 0,33 mmol) est dissout dans 5 mL de *N,N*-diméthylformamide (DMF) à température ambiante (23°C). Ensuite, le tétrachloroplatinate(II) de potassium (0,14 g, 0,35 mmol) préalablement dissout dans un mélange DMF : eau (4,0 mL : 5,0 mL) est ajouté à la solution d'amine. Le pH du mélange est de 9. Après agitation pendant 6 jours à l'obscurité, le pH passe à 4-5. Une fois la réaction terminée, 6- gouttes de diméthylsulfoxyde (DMSO) sont ajoutées à la solution et le tout est agité durant 3 heures. Ensuite, 7 mL d'une solution de chlorure de potassium (KCl) saturée sont ajoutés ainsi que 2 g de KCl solide. Le mélange est agité très vigoureusement pendant la nuit après quoi la solution est filtrée avec un filtre en verre fritté de porosité fine (F) et lavé à l'eau. Le solide brun-vert est séché au dessiccateur, adsorbé sur silice et purifié par chromatographie éclair avec un mélange de solvants hexanes : acétone (50 : 50). Le complexe de platine (**17d**), sous forme de cristaux jaune, est obtenu avec un rendement de 39% (0,11 g).

IR (NaCl, ν_{\max} , cm^{-1}) : 3600-3100 (O-H et N-H), 1600 (C=C), 1212 et 1076 (C-O).

RMN- ^1H (Acétone- d_6 , δ ppm) : 9,14 (1H, dd, J = 0,8 Hz et J = 5,9 Hz, **t**), 8,03 (1H, td, J = 1,6 Hz et J = 7,8 Hz, **r**), 7,91 (1H, s, **l**), 7,54 (1H, d, J = 7,8 Hz, **q**), 7,42 (1H, td, J = 1,6 Hz et J = 5,9 Hz, **s**), 7,09 (1H, d, J = 8,6 Hz, **a**), 6,59 (1H, dd, J = 2,7 Hz et J = 8,2 Hz, **b**), 6,54 (1H, d apparent, J = 2,7 Hz, **d**), 6,04 (1H, sl, **u**), 3,84-2,80 (8H, #m, **m**, **n**, **o** et **i**, 16 α et 16 β), 2,76 (2H, m, **f**), 2,31-1,08 (39H, #m, 4 x CH, 17 x CH₂ et **k**), 0,80 et 0,77 (3H, 2s, **j**, 16 α,β (1 : 15)).

RMN- ^{13}C (Acétone- d_6 , δ ppm) : 159,9 (**p**), 155,3 (**t**), 153,7 (**c**), 139,4 (**r**), 137,8 (**e**), 131,5 (**g**), 126,4 (**a**), 124,9 (**q**), 123,8 (**s**), 115,3 (**d**), 112,9 (**b**), 81,7 (**i**, 16 β), 56,6,

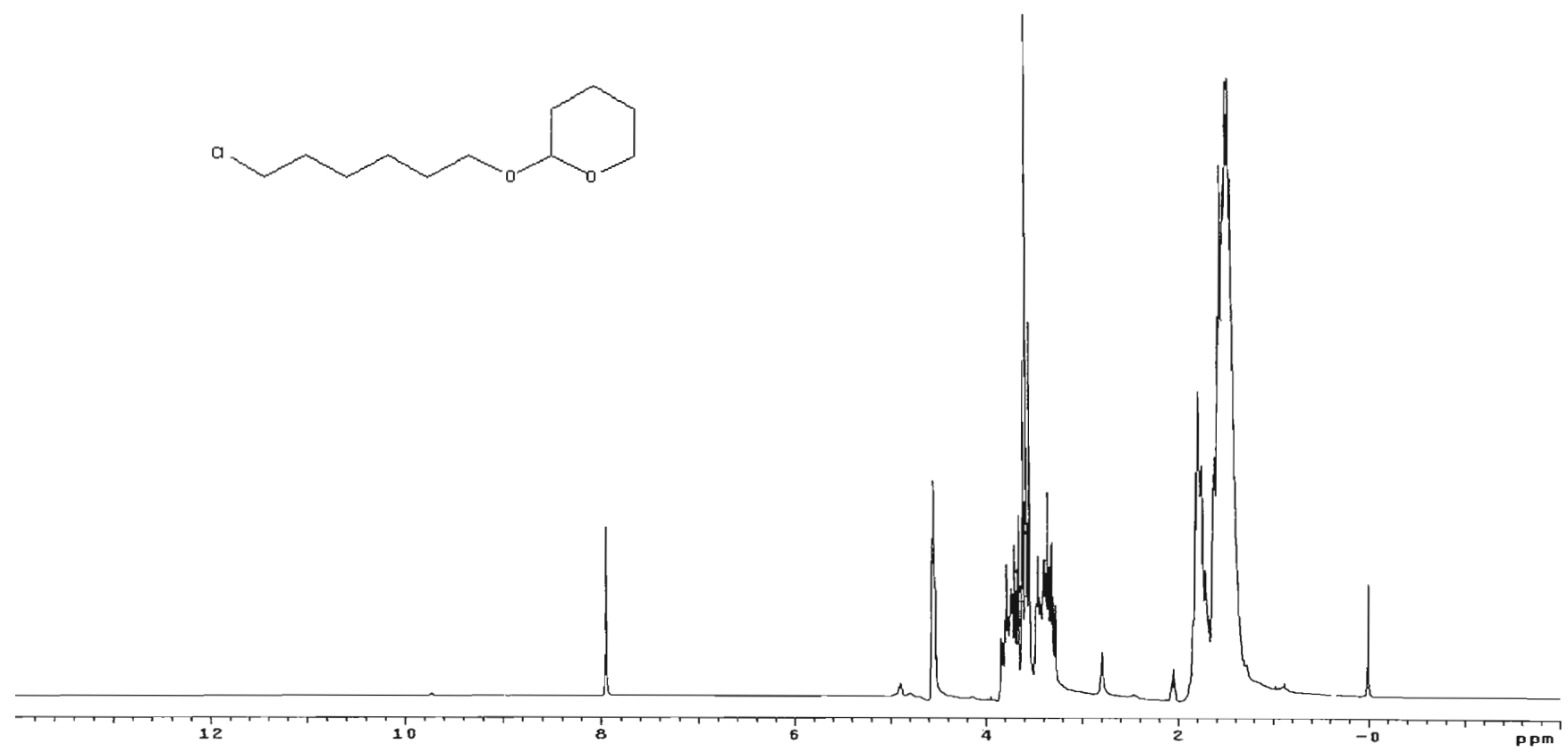
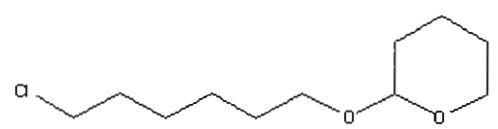
49,0, 45,9, 44,34, 44,30, 40,7, 39,8, 38,9, 38,1, 32,8, 32,1, 30,1, 29,85, 29,76 (4C), 29,34, 29,02, 27,96, 27,75, 26,67, 26,62, 12,5 (j), (3 signaux masqués par l'acétone- d_6). Certains signaux sont attribuables uniquement à l'isomère 16β majoritaire, ceux distincts de l'isomère 16α , en plus petite proportion, n'ont pas été énoncés.

Appendice

Les spectres RMN-¹H et RMN-¹³C relatifs à la molécule hybride porteuse d'une chaîne alkyle de six carbones sont présentés dans cette section. Les spectres de la chaîne sont présentés en premier, ensuite les spectres de l'estrone protégée (**24**) et activée (**25**), et ainsi de suite, les spectres de chacune des molécules de la série en question (chaîne à six atomes de carbone). Pour chaque cas, la molécule attribuable au spectre est schématisée sur ce dernier.

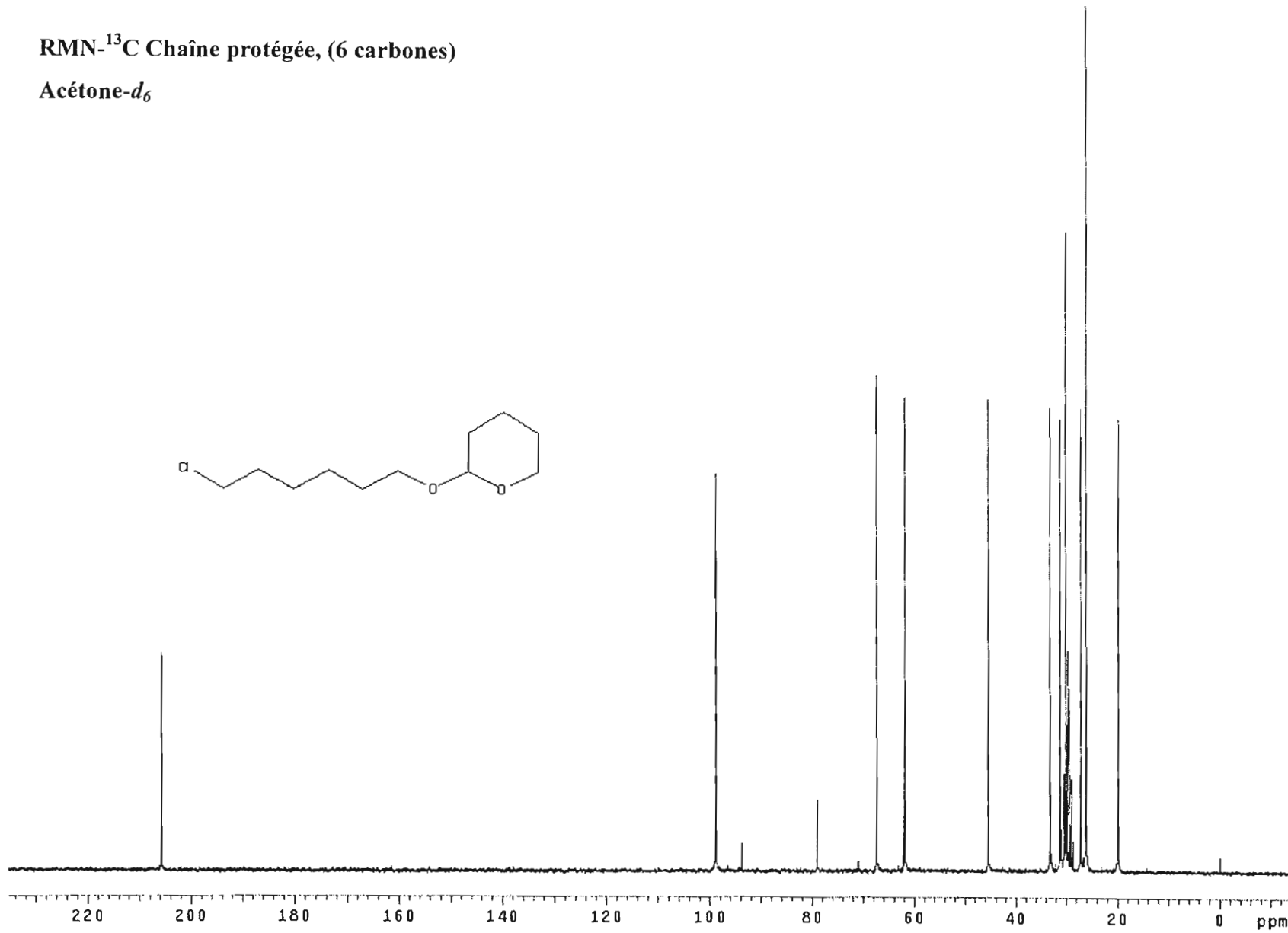
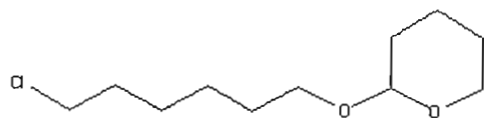
RMN-¹H Chaîne protégée, (6 carbones)

Acétone-*d*₆



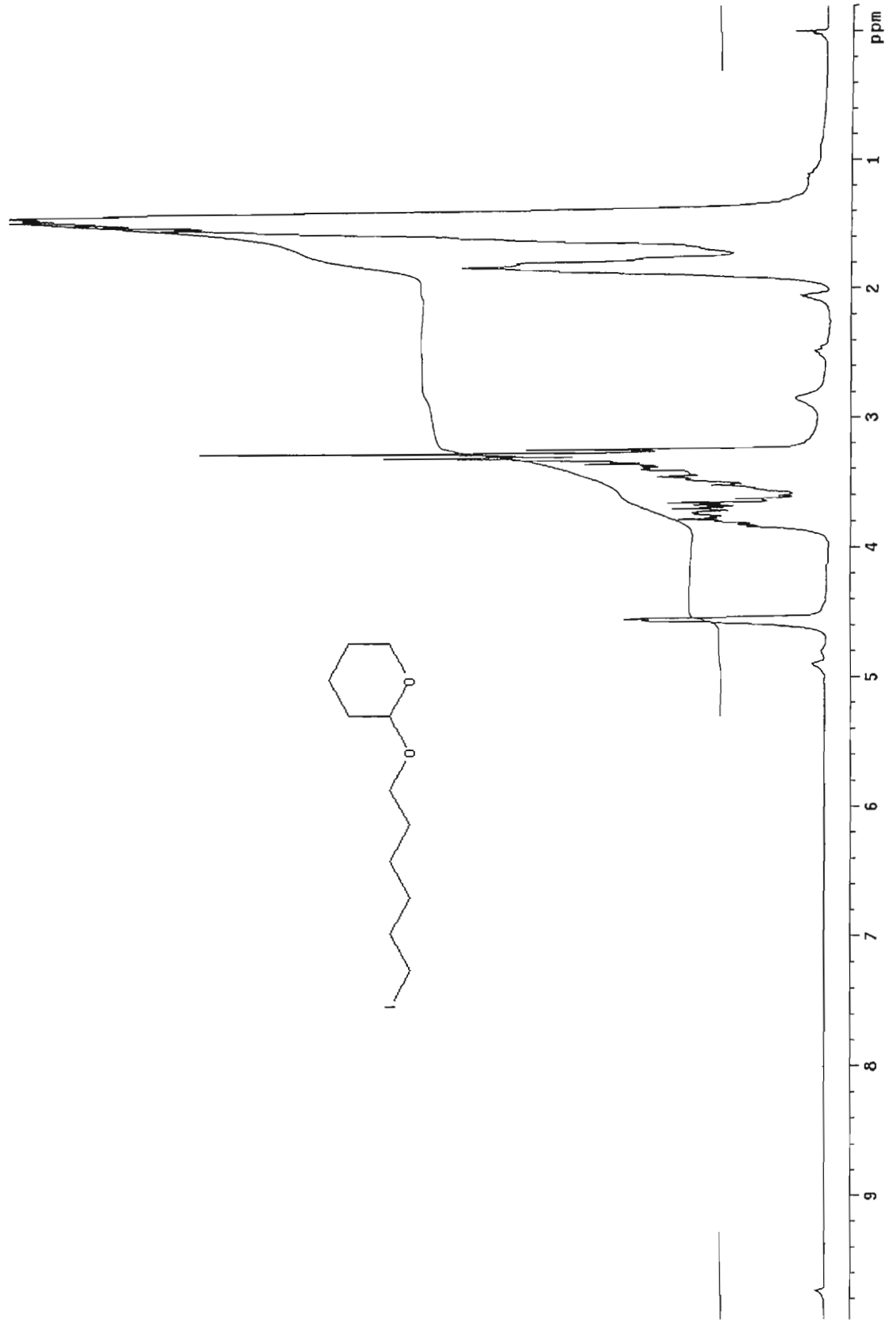
RMN-¹³C Chaîne protégée, (6 carbones)

Acétone-*d*₆



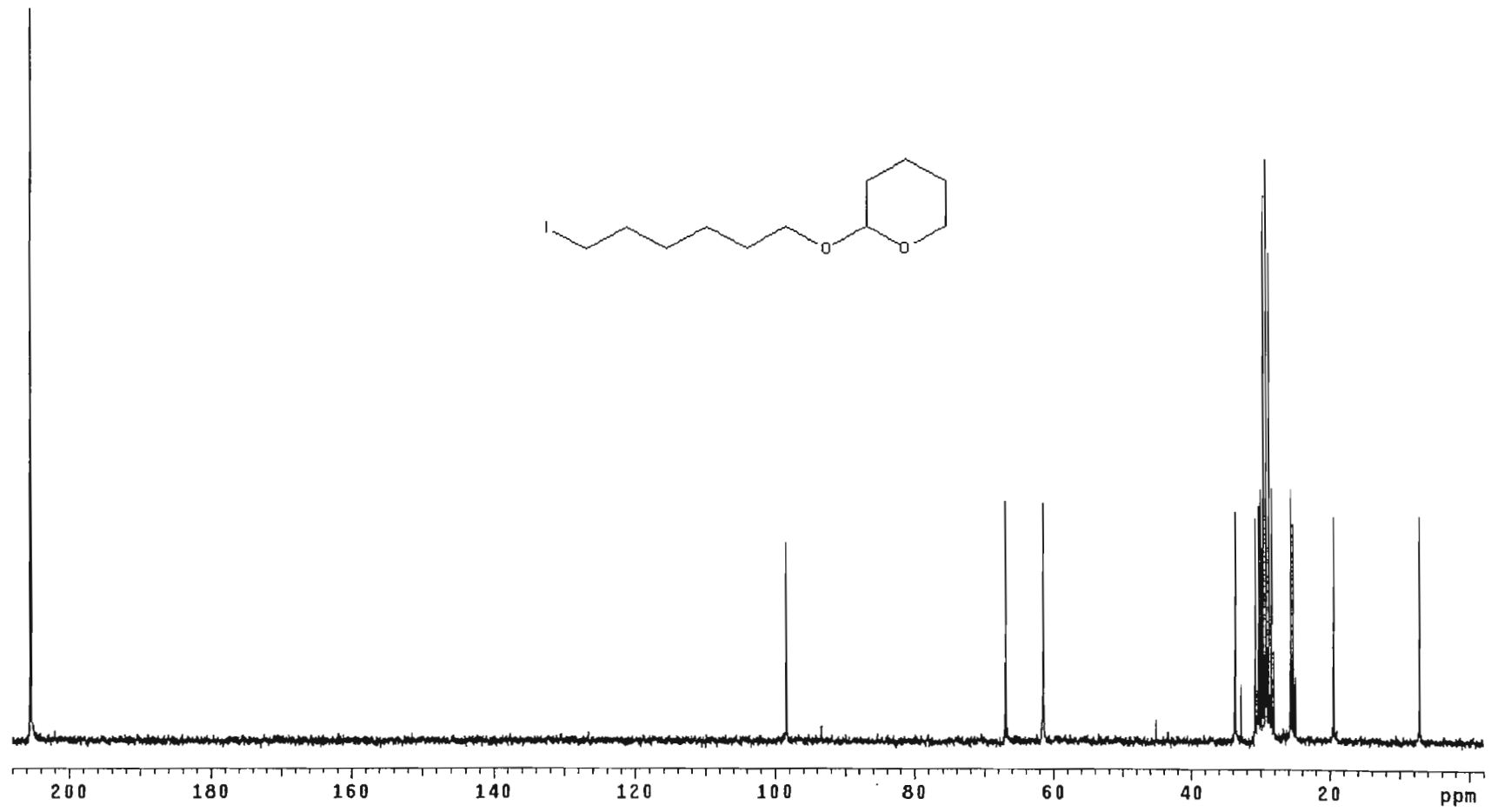
RMN-¹H Chaîne iodée, (6 carbones)

Acétone-*d*₆



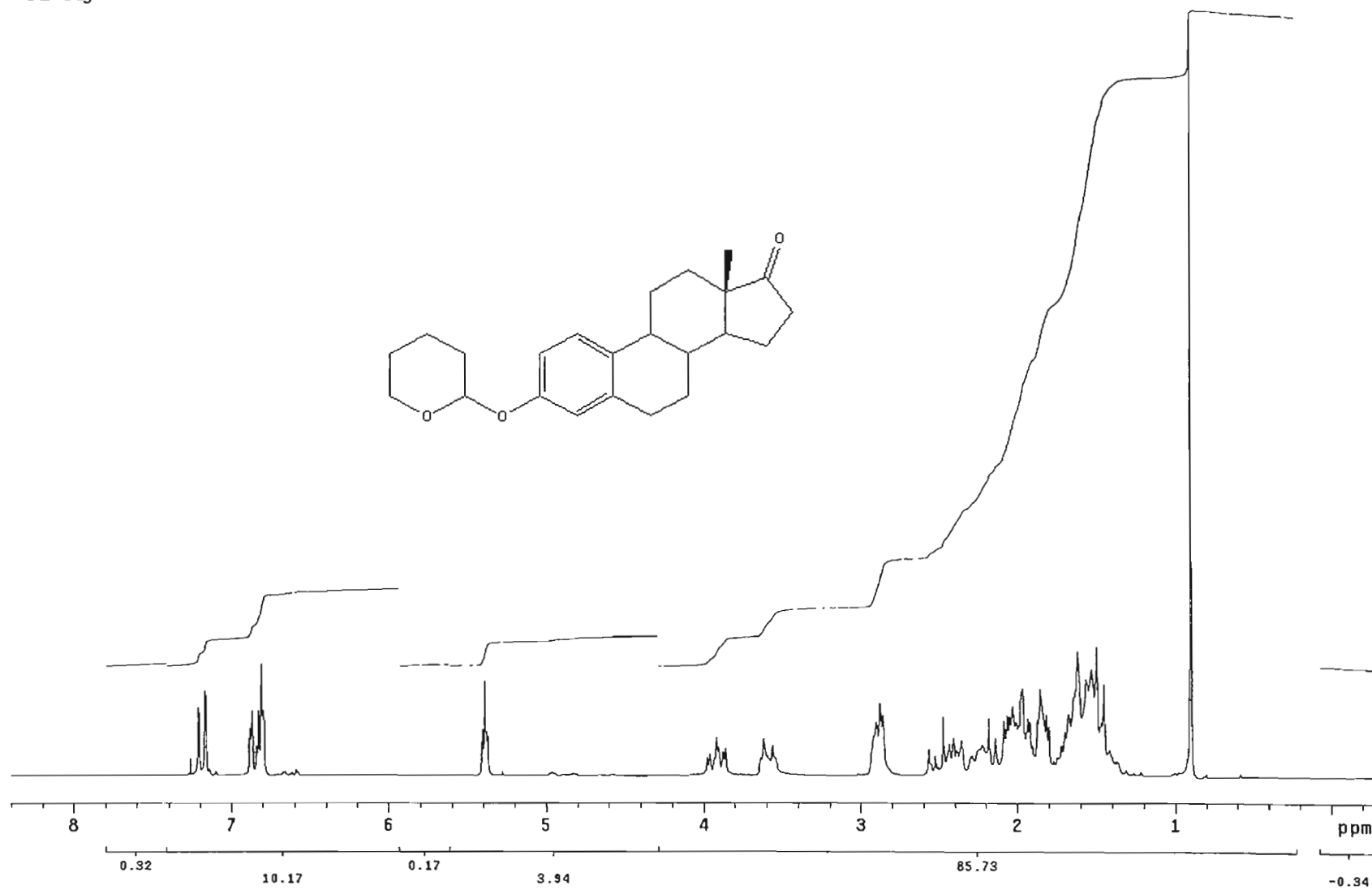
RMN-¹³C Chaîne iodée, (6 carbones)

Acétone-*d*₆



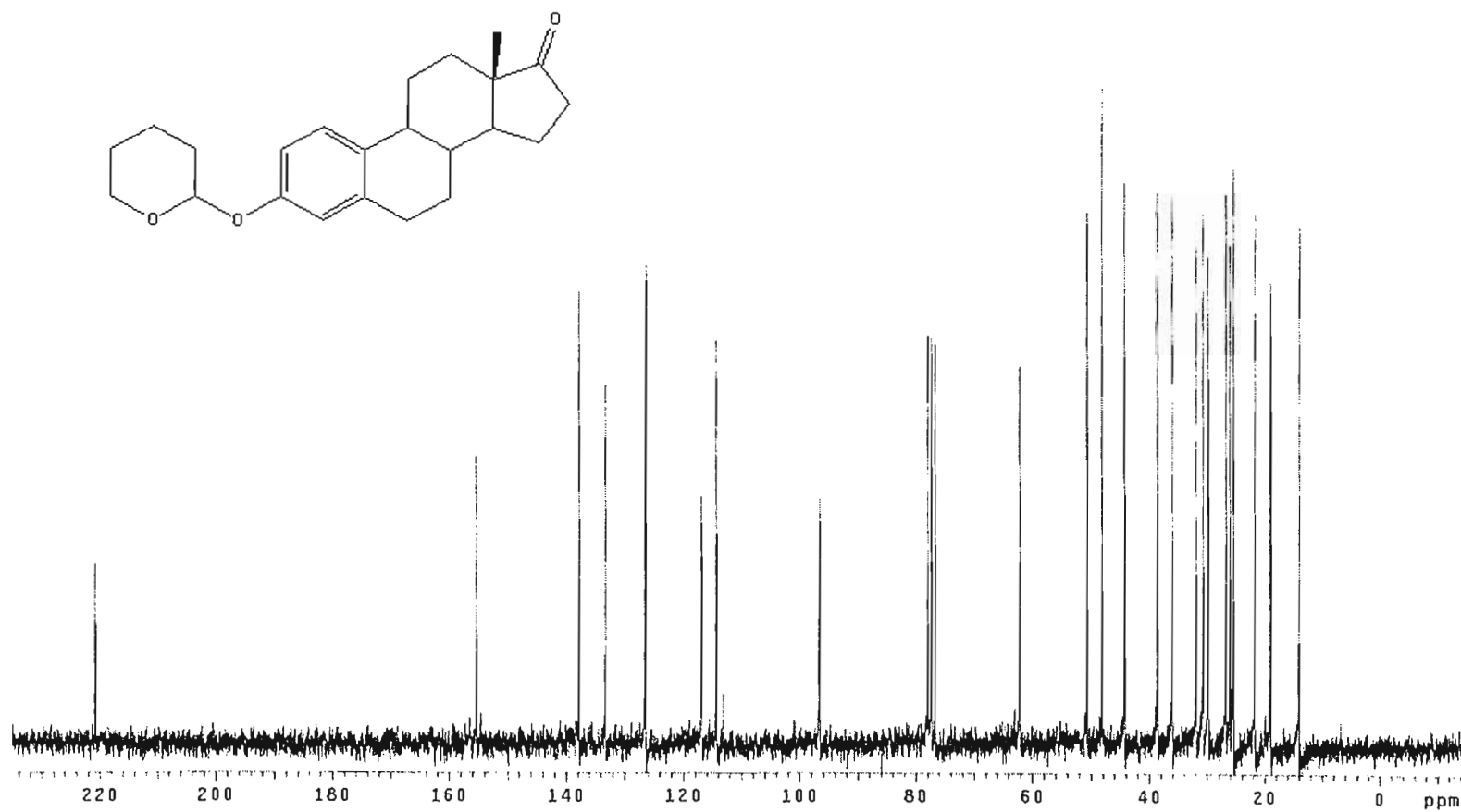
RMN-¹H Estrone protégée

CDCl₃



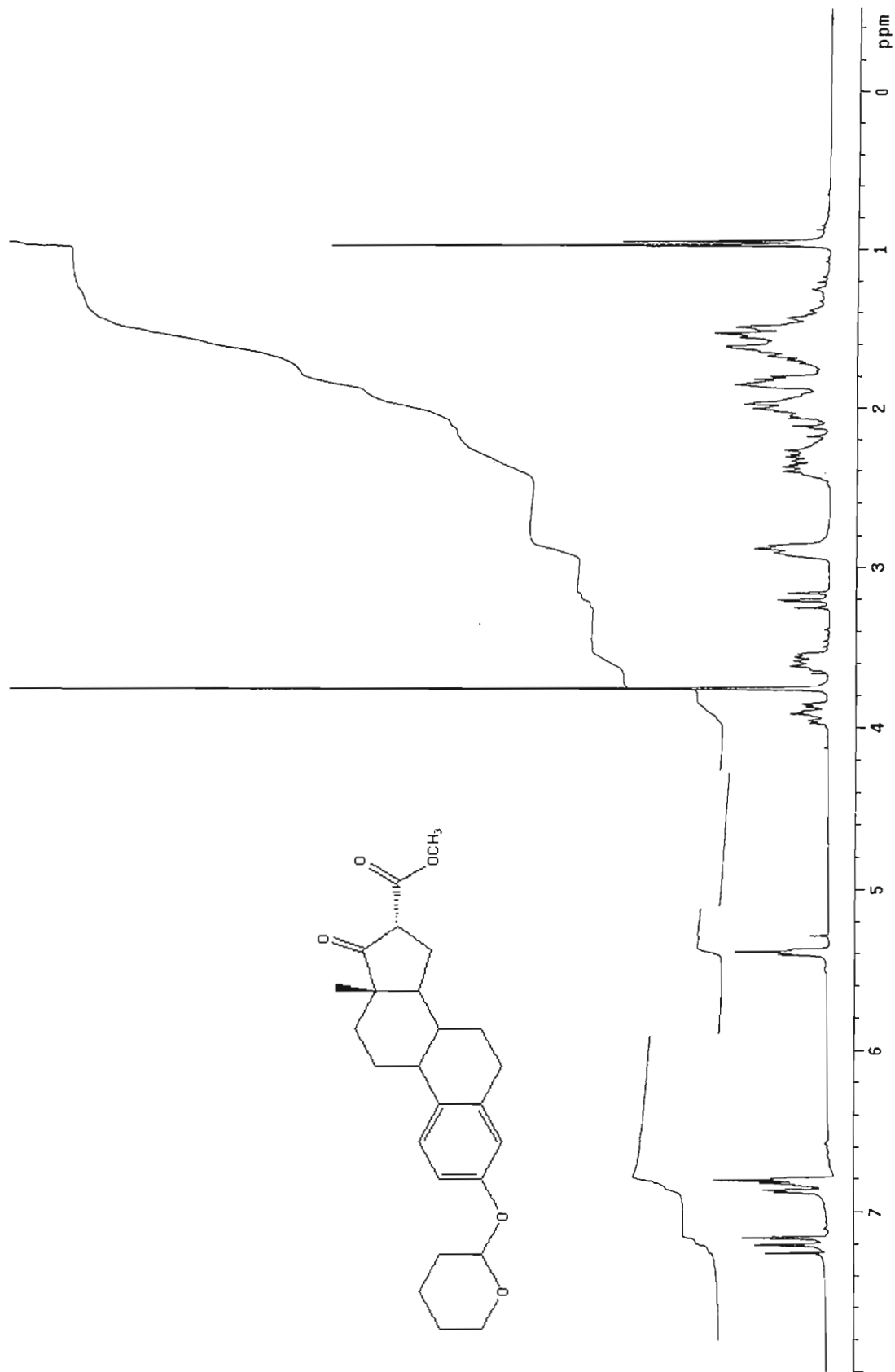
RMN-¹³C Estrone protégée

CDCl₃

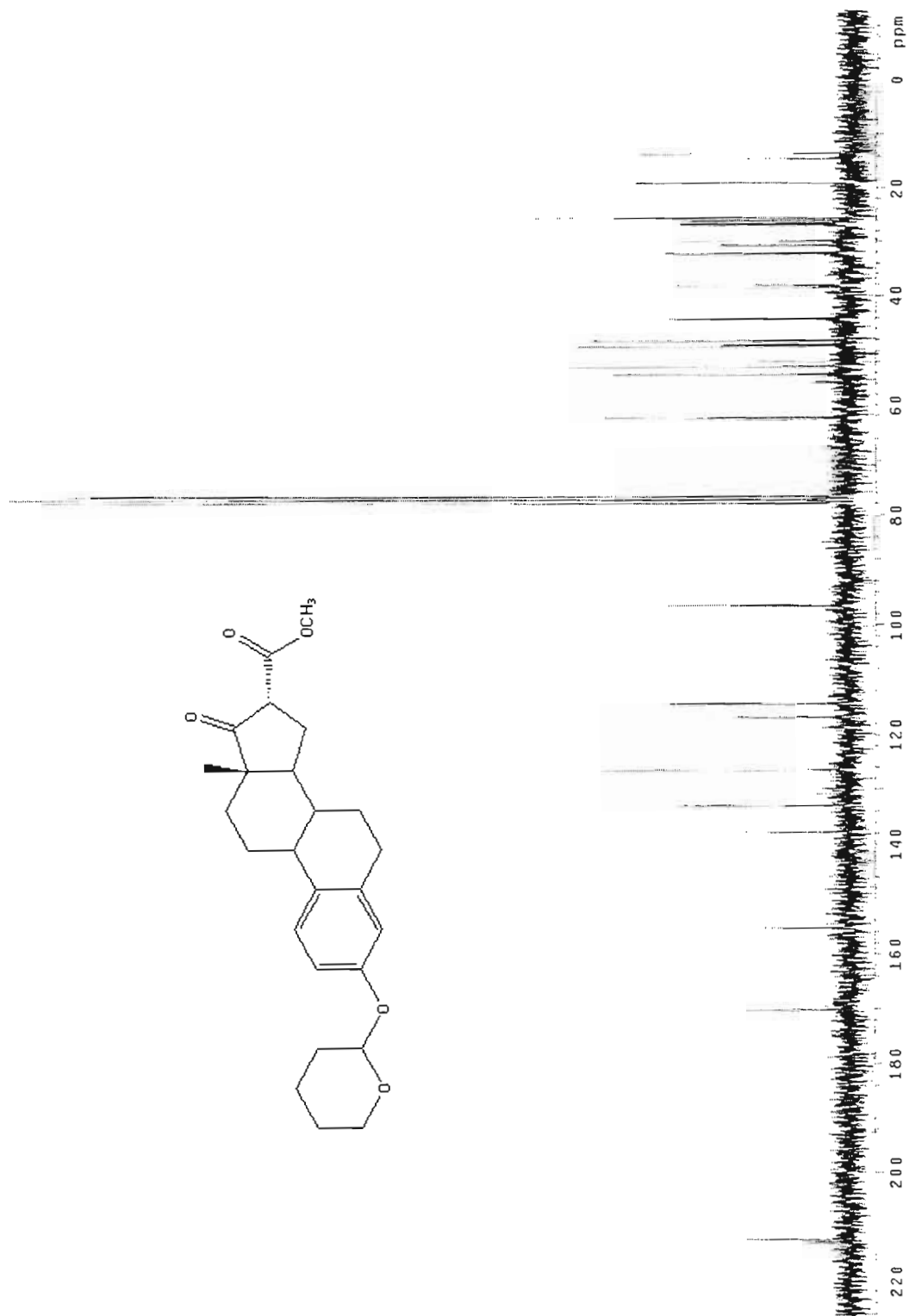
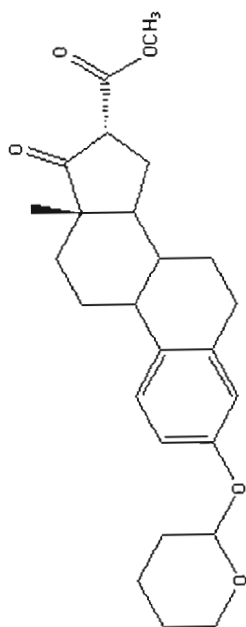


RMN-¹H Estrone activée

CDCl₃

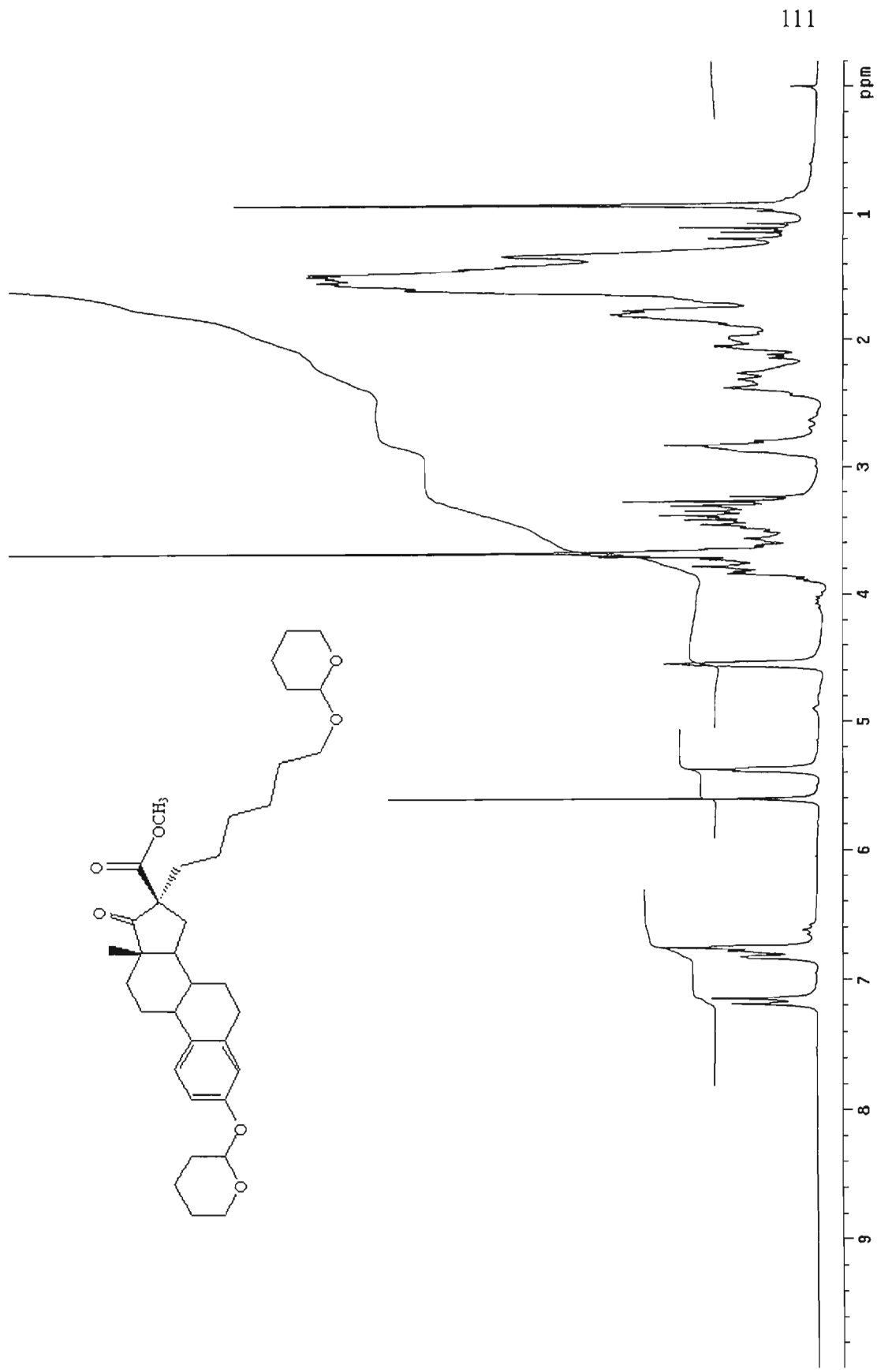


RMN-¹³C Estrone activée
CDCl₃



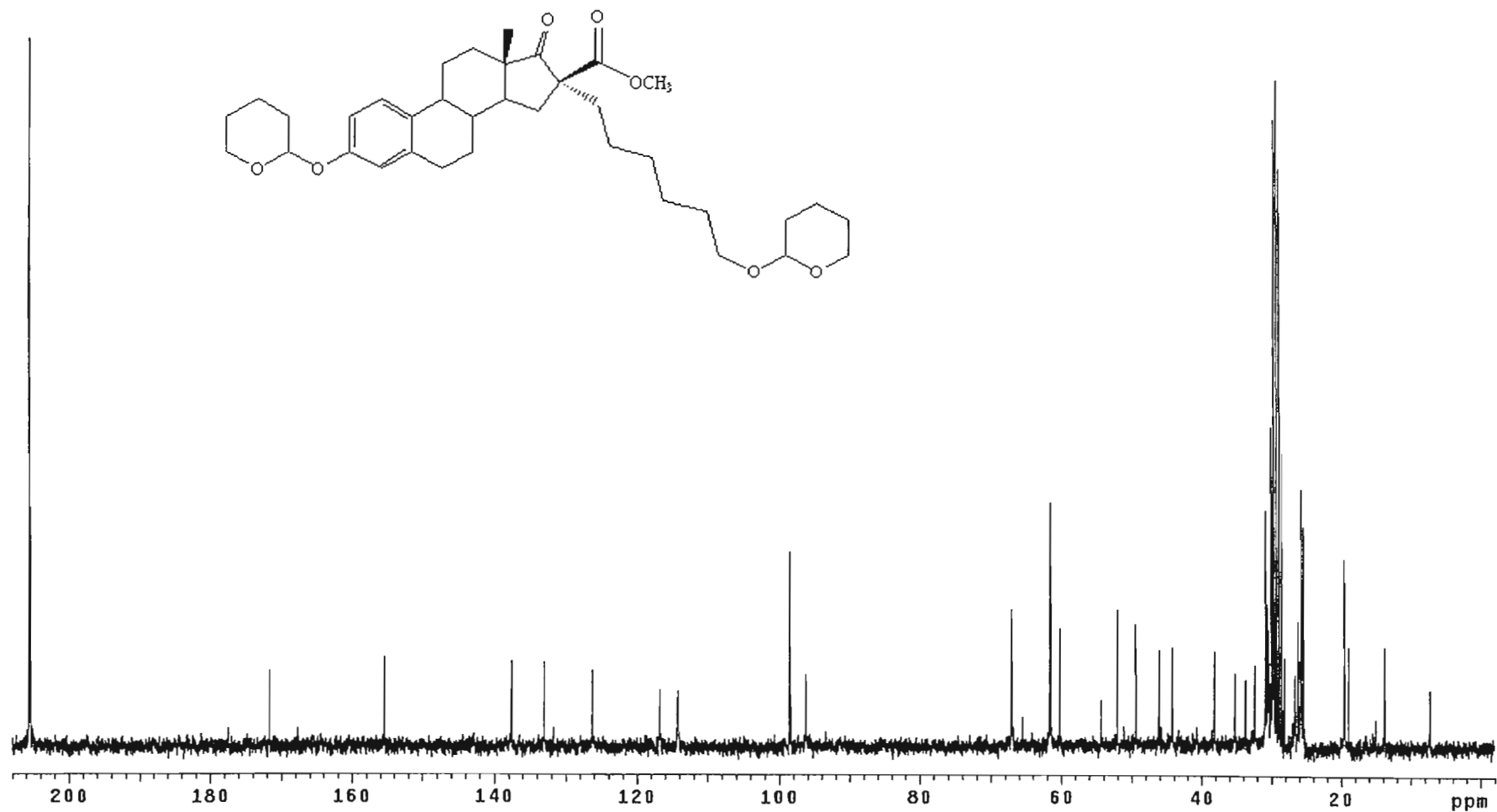
RMN-¹H Estrone alkylée, (6 carbones)

Acétone-*d*₆



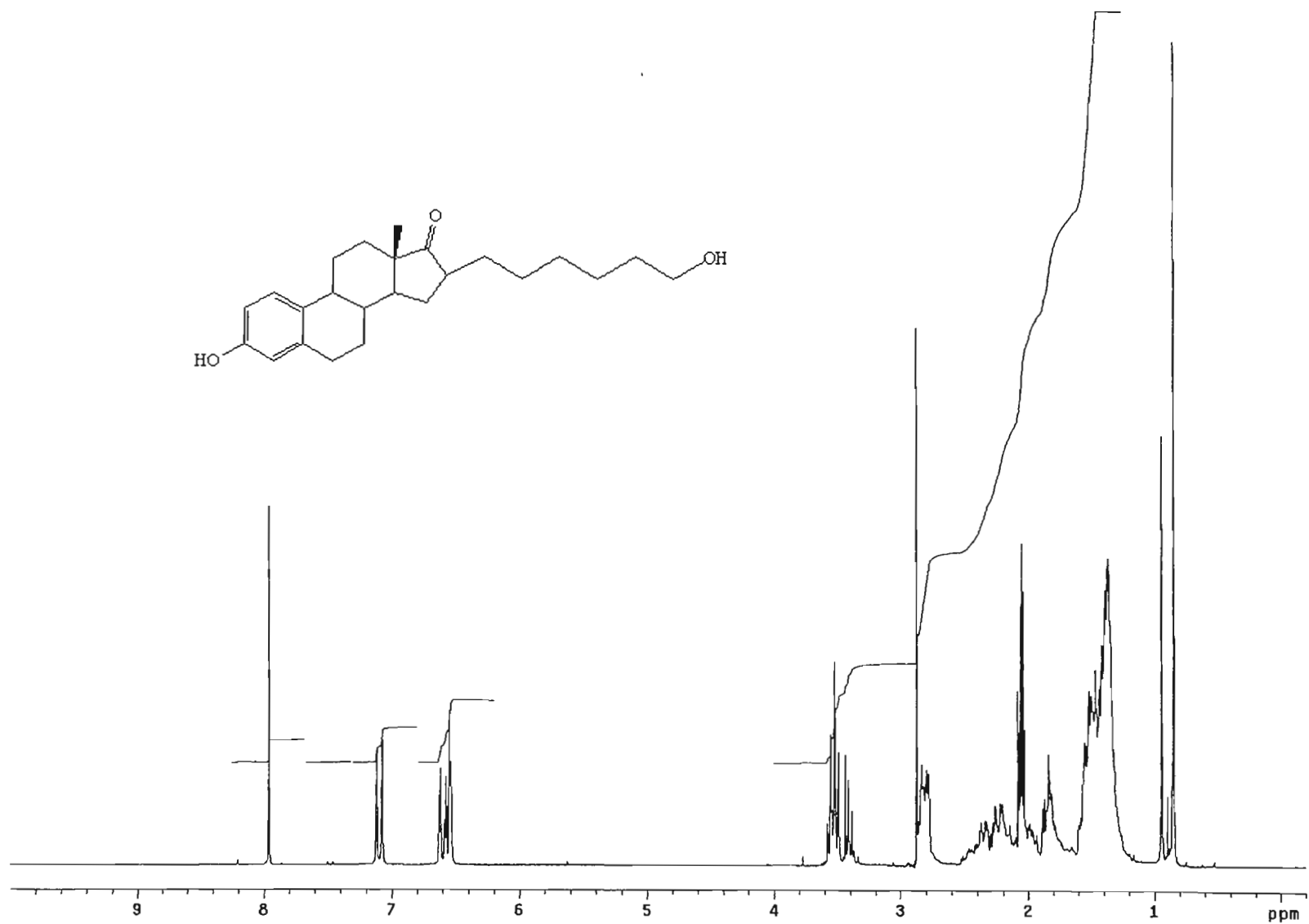
RMN-¹³C Estrone alkylée, (6 carbones)

Acétone-*d*₆



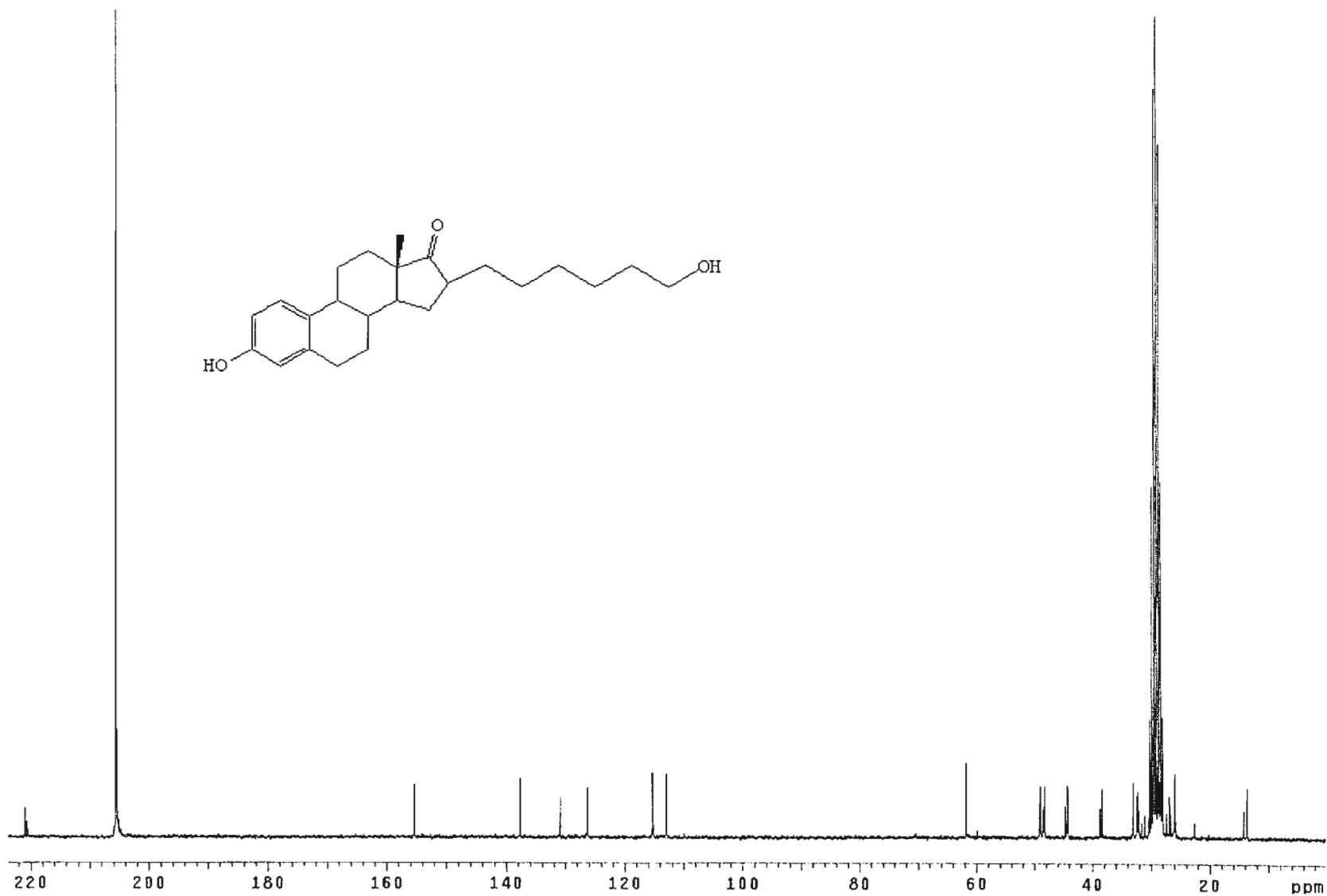
RMN-¹H Estrone décarboalkoxylée, (6 carbones)

Acétone-*d*₆



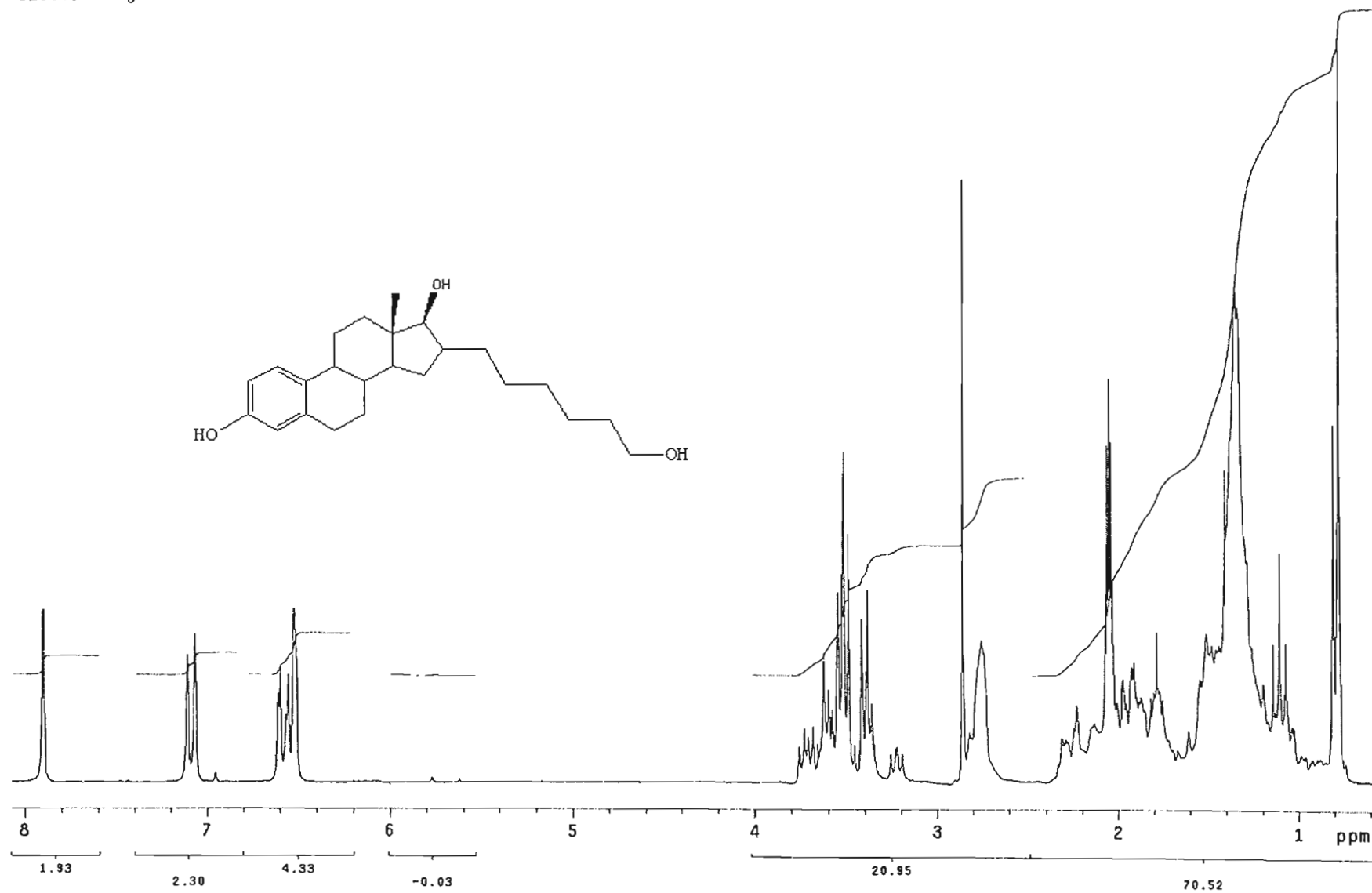
RMN-¹³C Estrone décarboalkoxylée, (6 carbones)

Acétone-*d*₆



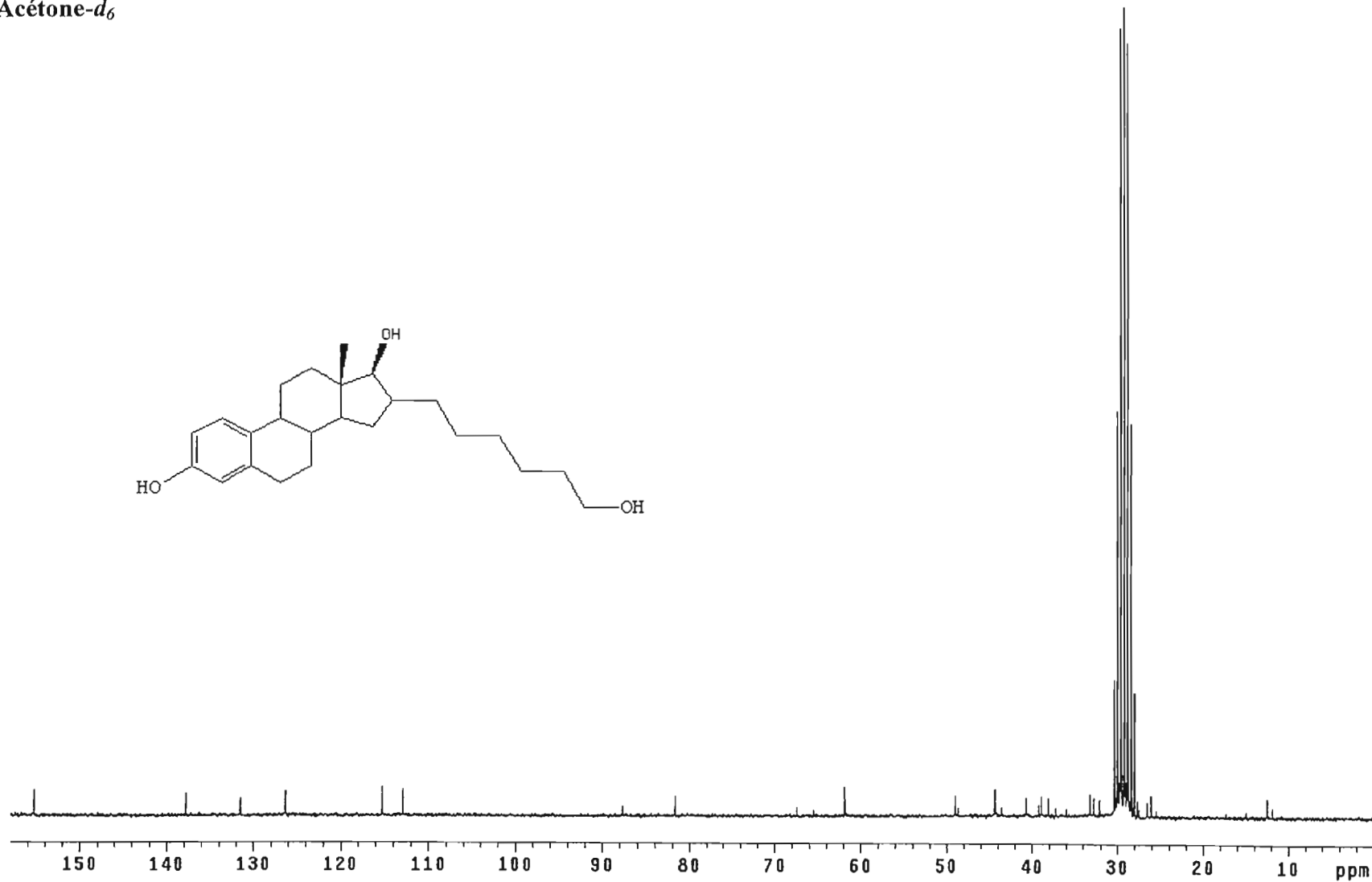
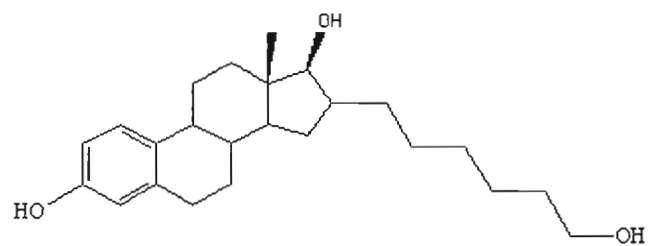
RMN-¹H Estrone réduite, (6 carbones)

Acétone-*d*₆



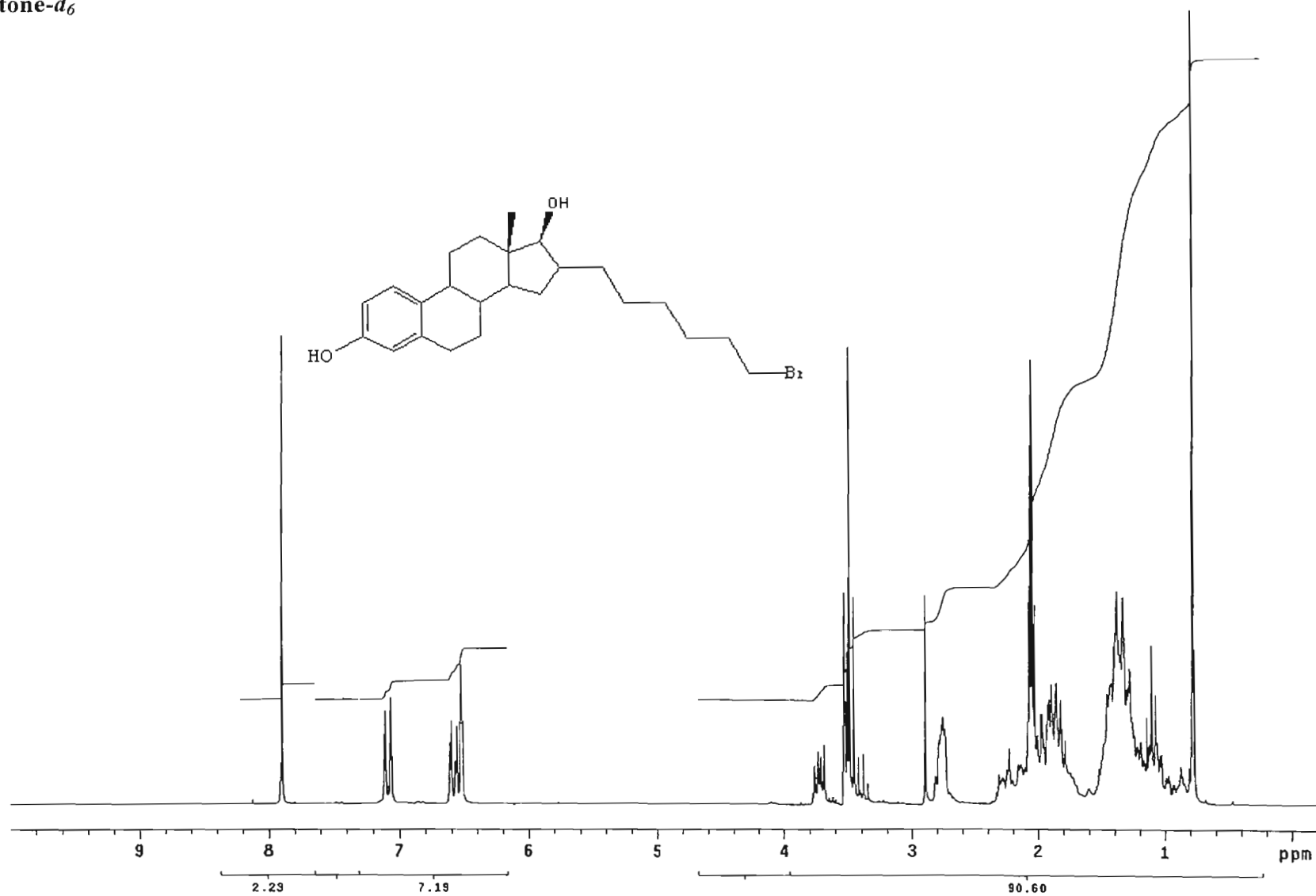
RMN-¹³C Estrone réduite, (6 carbones)

Acétone-*d*₆



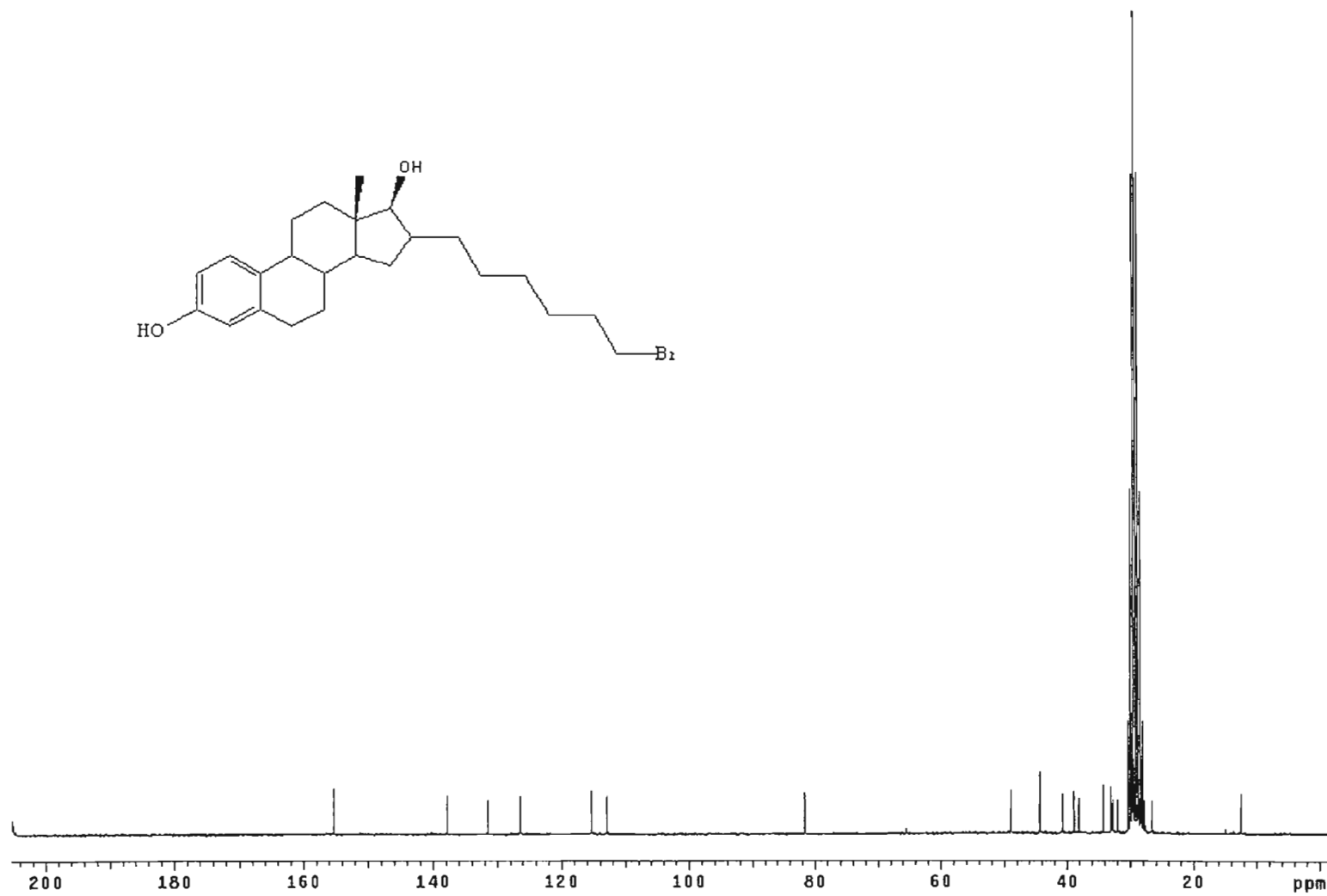
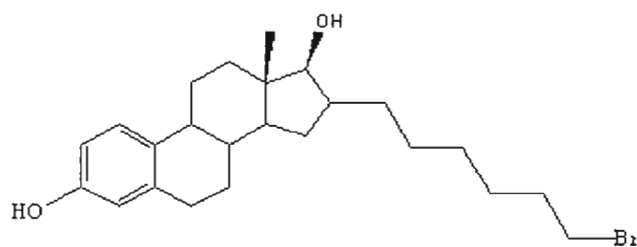
RMN-¹H Estrone bromée, (6 carbones)

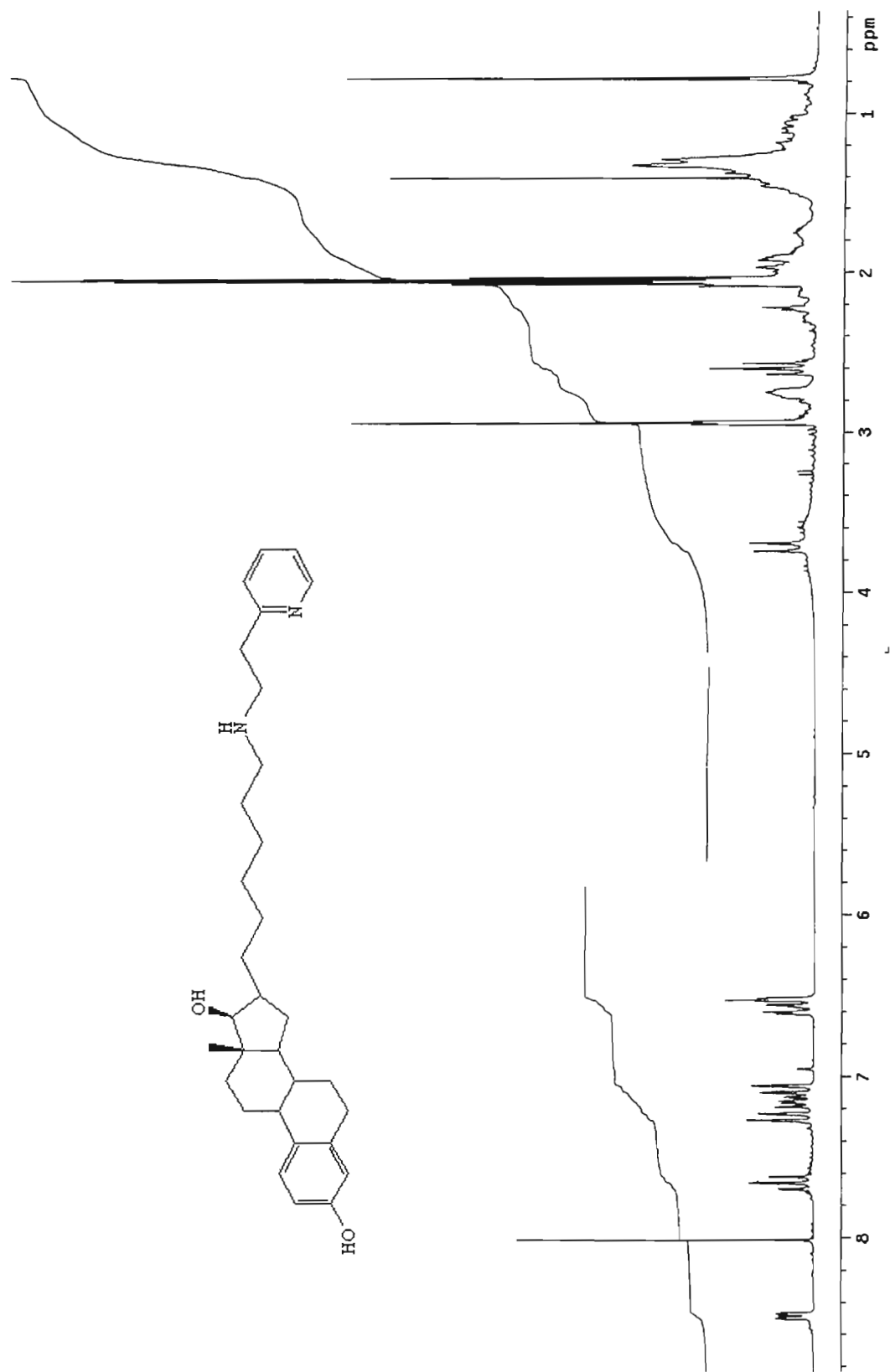
Acétone-*d*₆



RMN-¹³C Estrone bromée, (6 carbones)

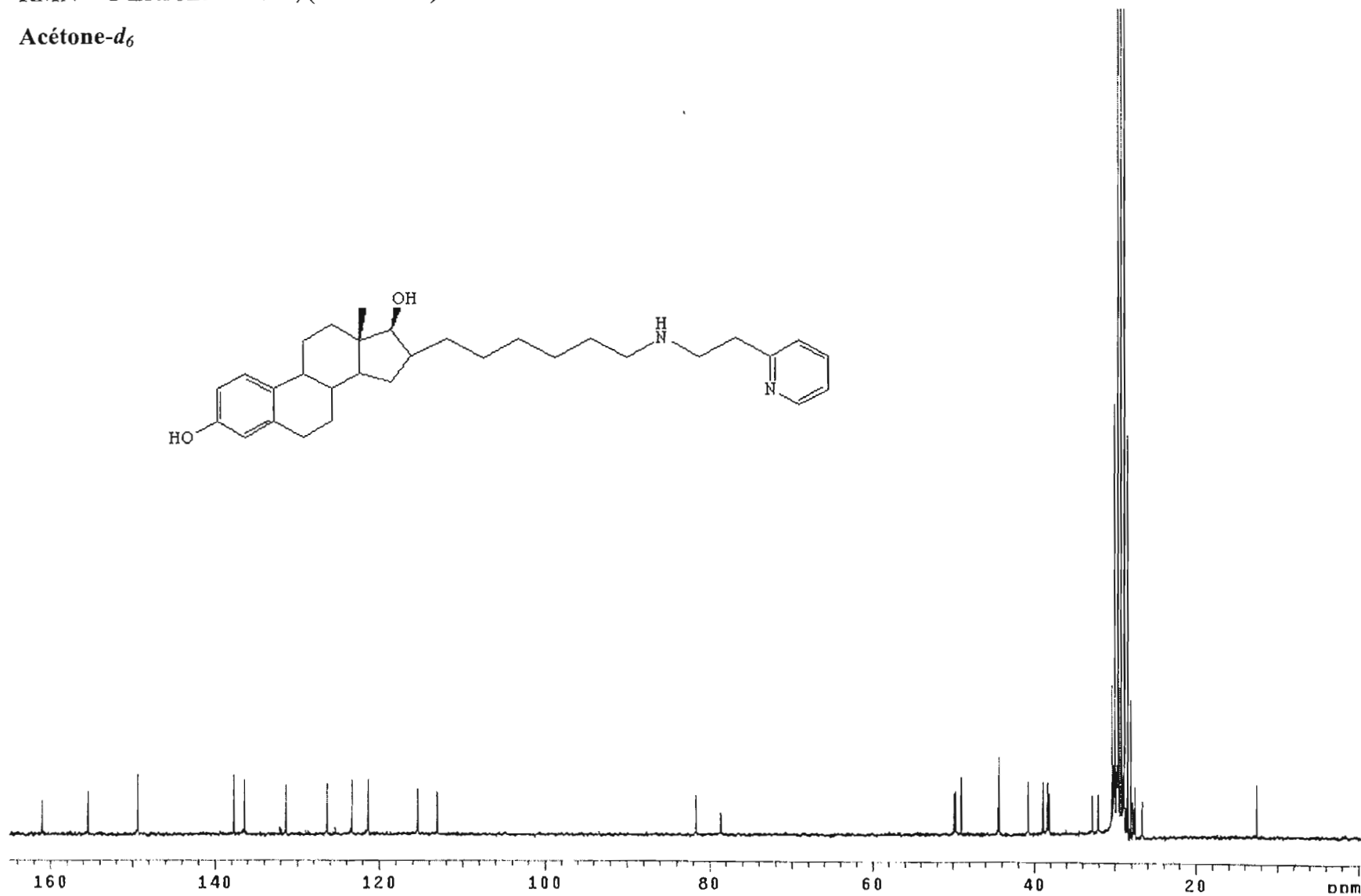
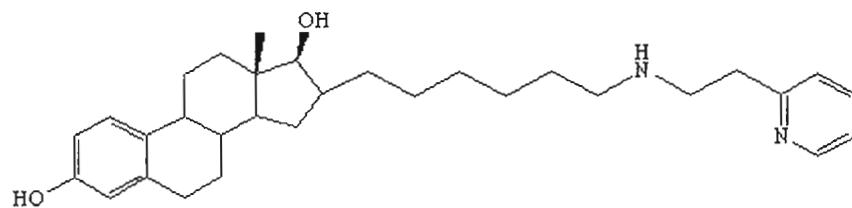
Acétone-*d*₆



RMN-¹H Estrone aminée, (6 carbones)Acétone-*d*₆

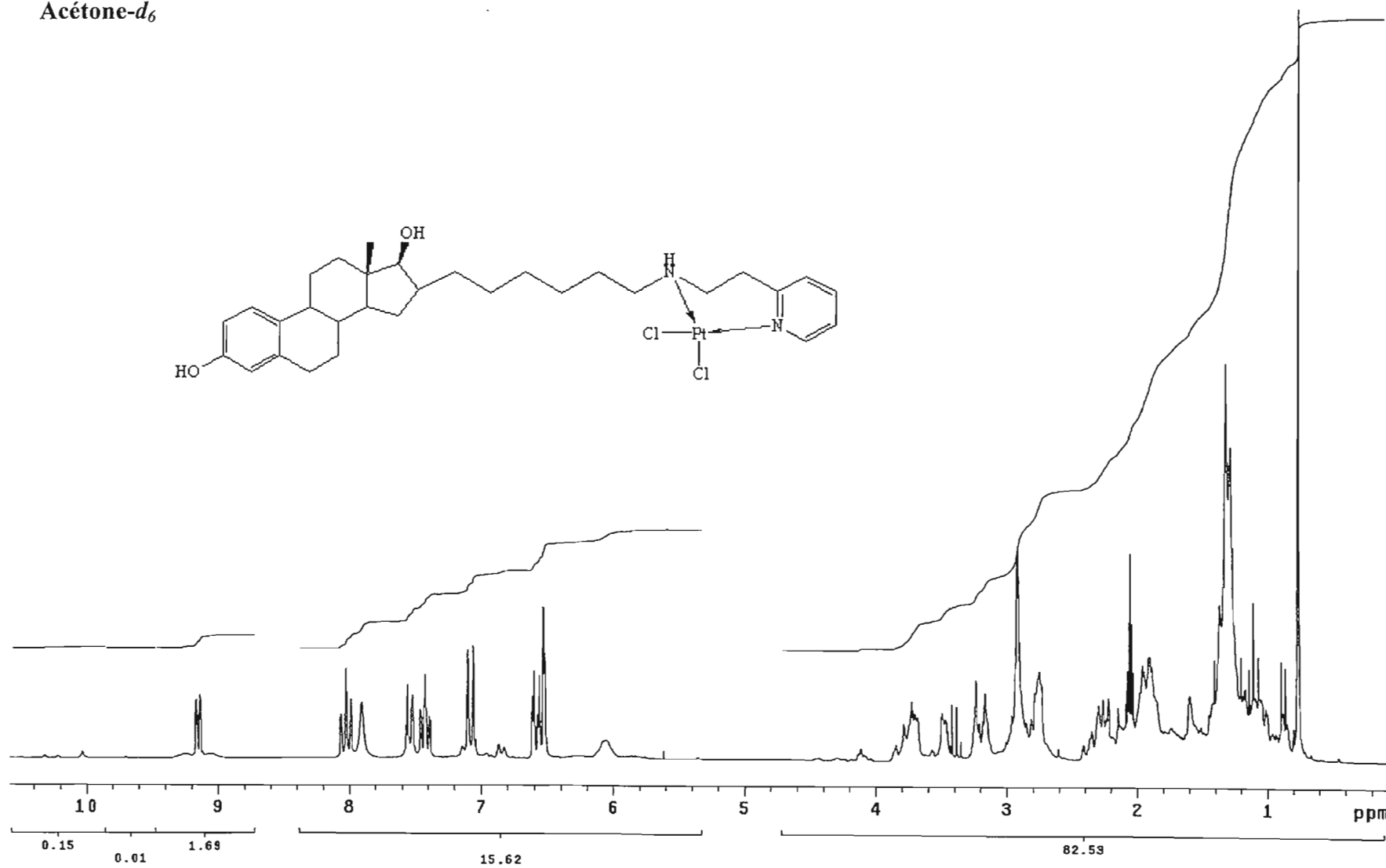
RMN-¹³C Estrone aminée, (6 carbones)

Acétone-*d*₆



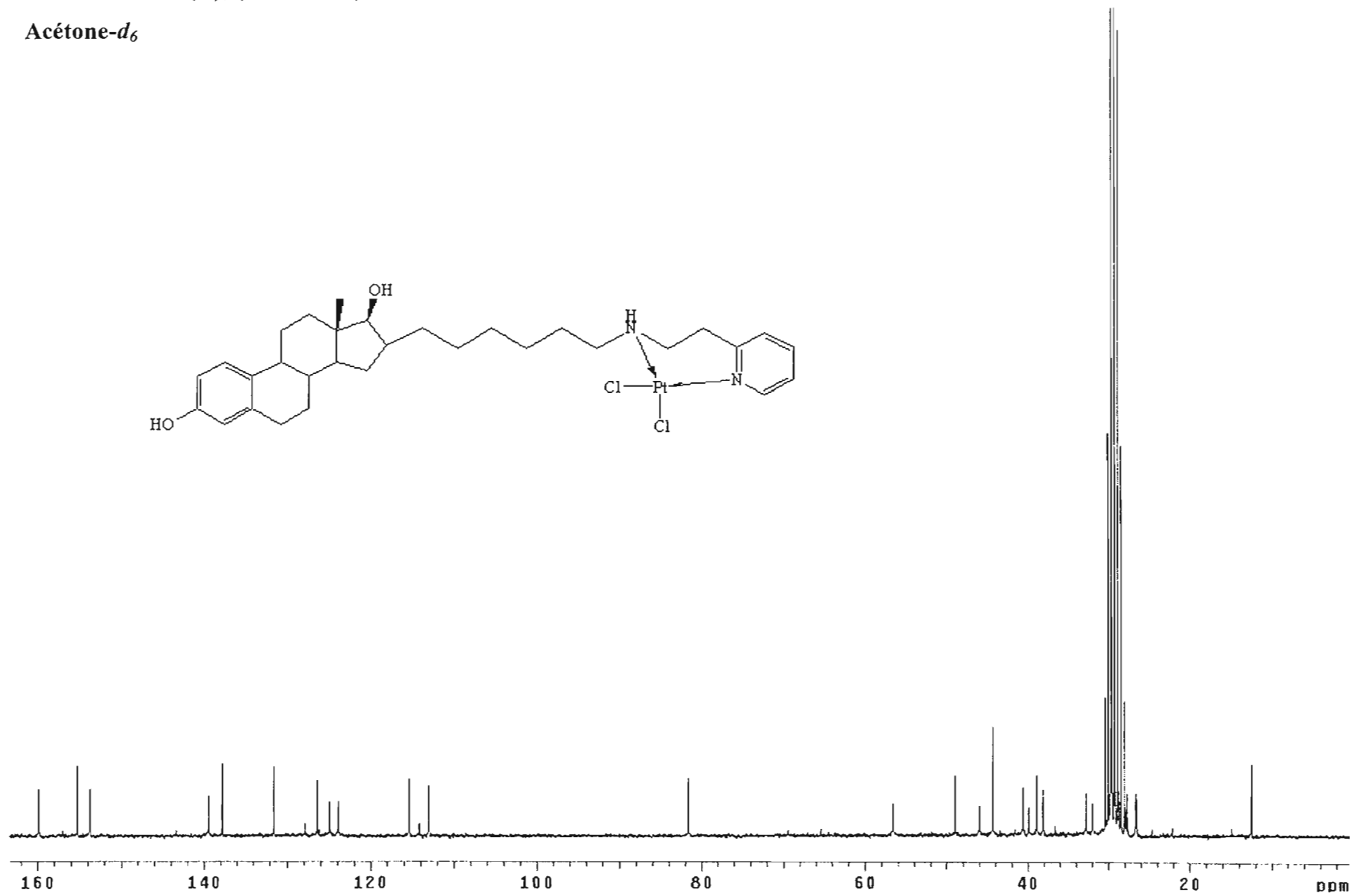
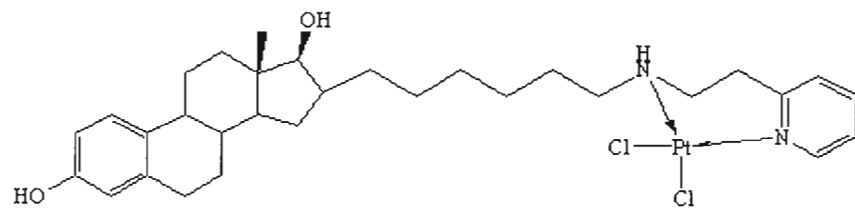
RMN-¹H E₂-Pt(II), (6 carbones)

Acétone-*d*₆



RMN-¹³C E₂-Pt(II), (6 carbones)

Acétone-*d*₆



Références

- Atkins, Peter et Loretta Jones. 1998. *Chimie: Molécules, matières, métamorphoses*. DeBoeck Université, Paris, p. 824.
- Barry, M.A., C.A. Behnke et A. Eastman. 1990. «Activation of Programmed Cell Death (Apoptosis) by Cisplatin, other Anticancer Drugs, Toxins and Hyperthermia.» *Biochem Pharmacol*, vol. 40, no 10, p. 2353-2362.
- Brückner, Reinhard. 1999. *Mécanismes réactionnels en chimie organique: méthodes synthétiques, stéréochimie et réactions modernes*. De Boeck Université, Paris, p. 350.
- Bruice, Paula Yurkanis. 1998. *Organic Chemistry*. Prentice Hall, 2^e éd., New Jersey, p.363.
- Canada, Statistiques Canada. 2005. *Statistiques canadiennes sur le cancer*. Toronto.
- Chauvergne, J. et B. Hoerni. 1992. *Chimiothérapie anticancéreuse*. Éditions Masson, Paris, p. 97.
- Connors, T.A. et J.J. Roberts. 1973. *Recent Results in Cancer Research, Platinum Coordination Complexes in Cancer Chemotherapy*. Editions Springer-Verlag, New York, p. 12-37.
- Conrad, Maren L., Jennifer E. Enman, Stephen J. Scales, Haiwen Zhang, Christopher M. Vogels, Mazen T. Saleh, Andreas Decken et Stephen A. Westcott. 2004. «Synthesis, Characterization, and Cytotoxicities of Platinum(II) Complexes Bearing Pyridinecarboxaldehydes Containing Bulky Aromatic Groups.» *Inorganica Chimica Acta*, vol. 358, no 1, p. 63-69.
- Coste F., J.M. Malinge, L. Serre, W. Shepard, M. Roth, M. Leng et C. Zelwer. 1999. «Crystal Structure of a Double-Stranded DNA Containing a Cisplatin Interstrand Cross-Link at 1.63 Å Resolution: Hydration at the Platinated Site.» *Nucleic Acids Research*, vol. 27, no 8, p. 1837-1846.
- Cotton, F. Albert et Geoffrey Wilkinson. 1972. *Advanced Inorganic Chemistry, a Comprehensive Text*. Wiley-Interscience, 3^e éd., New York, p. 665.
- Descôteaux, Caroline, Josée Provencher-Mandeville, Isabelle Mathieu, Valérie Perron, Sanat K. Mandal, Éric Asselin et Gervais Bérubé. 2003. «Synthesis of 17 β -Estradiol Platinum(II) Complexes : Biological Evaluation on Breast Cancer Cell Lines.» *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 13, p. 3927-3931.

- Dionne, Patricia, Béatrice Tchédam Ngatcha et Donald Poirier. 1997. «D-ring Allyl Derivatives of 17 β - and 17 α -Estradiols : Chemical Synthesis and ¹³C NMR Data.» *Steroids*, vol. 62, p. 674-681.
- Fabian, Carol et Andrea Warren. 1993. *Le cancer du sein: Traverser l'épreuve, étape par étape*. Les éditions de l'homme, Montréal, p. 25, 115-137.
- Gagnon, Véronique, Marie-Ève St-Germain, Caroline Descôteaux, Josée Provencher-Mandeville, Sophie Parent, Éric Asselin et Gervais Bérubé. 2004. «Biological Evaluation of Novel Estrogen-Platinum(II) Hybrid Molecules on Uterine and Ovarian Cancers-Molecular Modeling Studies.» *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 14, no 23, p. 5919-5924.
- Garrett, Reginald H. et Charles M. Grisham. 2000. *Biochimie*. DeBoeck Université, Paris, p. 340.
- Horwitz, Kathryn B., David T. Zava, Arulananam K.Thilagar, Erling M. Jensen et William L. McGuire. 1978. «Steroid Receptor Analyses of Nine Human Breast Cancer Cell Lines.» *Cancer Research*, vol. 38, p. 2434-2437.
- Huang H., L. Zhu, B.R. Reid, G.P. Drobny et P.B. Hopkins. 1995. «Solution Structure of a Cisplatin-Induced DNA Interstrand Cross-Link.» *Science*, vol. 270, no 5243, p. 1842-1845.
- Huheey James. 1996. *Chimie Inorganique*. Éditions Keiter & Keiter, De Boeck Université, Paris, p. 392-522.
- Jackson, Alexander, Julie Davis, Richard J. Pither, Alison Rodger et Michael J. Hannon. 2001. «Estrogen-Derived Steroidal Metal Complexes: Agents for Cellular Delivery of Metal Centers to Estrogen Receptor-Positive Cells.» *Inorganic Chemistry*, vol. 40, p. 3964-3973.
- Jamieson, Elizabeth R. et Stephen J. Lippard. 1999. «Structure, Recognition, and Processing of Cisplatin-DNA Adducts.» *Chemical Reviews*, vol. 99, p. 2467-2498.
- Julliard, Michel, Gaston Vernin et Jacques Metzger. 1982. «Synthesis of Platinum Complexes with Antitumour Activity.» *Communications*. Georg Thieme Verlag, New York, p. 49-50.
- Kartalou, Maria et John M. Essigmann. 2001. «Recognition of Cisplatin Adducts By Cellular Proteins.» *Mutation Research*, vol. 478, p. 1-21.
- Kohn, K.W.. 1989. *Anticancer Drug*. Éditions H. Tapiero, J. Robert et T.J. Lampidis, vol. 191, p.77-86.

- Kuiper, G.G., E. Enmark, M. Peltö-Huikko, S. Nilsson et J.A. Gustafsson. 1996. «Cloning of a Novel Receptor Expressed in Rat Prostate and Ovary.» *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 93, no 12, p. 5925-2930.
- Laflamme, N., R.E. Nappi, G. Drolet, C. Labrie et S. Rivest. 1998. «Expression and Neuropeptidergic Characterization of Estrogen Receptors (ERalpha and ERbeta) Throughout the Rat Brain : Anatomical Evidence of Distinct Roles of Each Subtype.» *Journal of Neurobiology*, vol. 36, no 3, p. 357-378.
- Lemieux, Christian. 2005. «Effets et mécanismes d'action d'un modulateur sélectif des récepteurs des oestrogènes sur le métabolisme des lipides.» Thèse, Doctorat en physiologie endocrinologie, Québec, Université Laval, p. 23-28.
- Maiti, G. et S. C. Roy. 1996. «A Mild and Efficient Method for Selective Deprotection of Tetrahydropyranyl Ethers to Alcohols.» *Journal of Organic Chemistry*, no 61, p. 6038-6039.
- Mandeville, Rosemonde. 1988. *Le cancer du sein, le comprendre pour le prévenir et le guérir*. Les Éditions La Presse, Ottawa, p. 159.
- Molenaar, Chris, Jan-Maarten Teuben, Robert J. Heetebrij, Hans J. Tanke et Jan Reedijk. 2000. «New Insights in the Cellular Processing of Platinum Antitumor Compounds, Using Fluorophore-Labeled Platinum Complexes and Digital Fluorescence Microscopy.» *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, no 5, p. 655-665.
- Pasini, Alessandro et Franco Zunino. 1987. «New Cisplatin Analogues – On the Way to Better Antitumor Agents.» *Angewandte Chemie International Edition in English*, vol. 26, p. 615-624.
- Perron, Valérie. 2001. «Nouveaux dérivés de l'estradiol liés à un complexe de platine(II) pour le traitement du cancer du sein.» Mémoire, Maîtrise en chimie, Montréal, Université du Québec à Montréal, p. 14.
- Perron, Valérie, Daniel Rabouin, Éric Asselin, Sophie Parent, René C.-Gaudreault et Gervais Bérubé. 2005. «Synthesis of 17-Estradiol-Linked Platinum(II) Complexes and their Cytocidal Activity on Estrogen-Dependent and Independent Breast Tumor Cells.» *Bioorganic Chemistry*, vol. 33, p.1-15.
- Poisson, Roger. 1997. *Le cancer du sein sans mutilation*. Les Éditions du Méridien, Montréal, p. 97-110.
- Reedijk, Jan. 2003. «New Clues for Platinum Antitumor Chemistry : Kinetically Controlled Metal Binding to DNA.» *Proceedings of the National Academy of Science*, vol. 100, no 7, p. 3611-3616.

- Reedjik, Jan. 1999. «Why Does Cisplatin Reach Guanine-N7 with Competing S-Donor Ligands Available in the Cell?» *Chemical Reviews*, vol. 99, p. 2499-2510.
- Rosenberg, B., L. Van Camp et T. Krigas. 1965. «Inhibition of Cell Division in Escherichia Coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode.» *Nature*, vol. 205, pp. 698-700.
- Ruest, L., G. Blouin et P. Deslongchamps. 1976. «A Convenient Synthesis of 2-Carbomethoxycyclohexanone.» *Synthetic Communications*, vol. 6, no 3, p. 169-174.
- Ruff, Marc, Monique Gangloff, Jean Marie Wurtz et Dino Moras. 2000. «Estrogen Receptor Transcription and Transactivation. Structure-Function Relationship in DNA- and Ligand-Binding Domains of Estrogen Receptors.» *Breast Cancer Research*, vol. 2, p. 353-359.
- Séné, Alexandre, Gervais Bérubé, et René C.-Gaudreault. 1998. «Synthesis and Preliminary *In Vitro* Cytotoxic Activity of Novel Cisplatin and Carboplatin Analogues.» *Drug Design and Discovery*, vol. 15, pp. 277-285.
- Seonghon, Kim, Jane Wu, Helen Y. Chen, Elizabeth T. Birzin, Wanda Chan, Yi Tien Yang, Lawrence Colwell, Susan Li, Johanna Dahllund, Frank DiNinno, Susan P. Rohrer, James M. Schaeffer et Milton L. Hammond. 2004. «Estrogen Receptor Ligands. Part 4: The SAR of the *syn*-Dihydrobenzoxathiin SERAMs.» *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 14, p. 2741-2745.
- Sigel, Helmut. 1980. *Metal Ions in Biological Systems, Metal Complexes as Anticancer Agents*, New York, p. 2-125.
- Stil, W. Clark, Michael Kahn et Abhijit Mitra. 1978. «Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution.» *Journal of Organic Chemistry*, vol. 43, no. 14, p. 2923-2925.
- Takahara, P.M., A.C. Rosenzweig, C.A. Frederick et S.J. Lippard. 1995. «Crystal Structure of Double-Stranded DNA Containing the Major Adduct of the Anticancer Drug Cisplatin.» *Nature*, vol. 377, no 6550, p. 649-52.
- The Merck Index*. 1989. Eleventh Edition, Centennial Edition, New Jersey, États-Unis, p. 361.
- Tremblay, R., S. Auger et D. Poirier. 1995. «A Convenient Synthetic Method for Alpha-Alkylation of Steroidal 17-Ketone : Preparation of 16 β -(THPO-Heptyl)-Estradiol.» *Synthetic Communications*, vol. 25, p. 2483-2495.

- W., Christopher. 2006. www.immunotec.centerblog.net.
- Wong, Ernest et Christen M. Giandomenico. 1999. «Current Status of Platinum-Based Antitumor Drugs.» *Chemical Reviews*, vol. 99, p. 2451-2466.
- Yang, D. et H.J. Wang A.. 1996. «Structural Studies of Interactions Between Anticancer Platinum Drugs and DNA.» *Progress in Biophysics and Molecular Biology, Review*, vol. 66, no 1, p. 81-111.
- Zhu, Haibi, Kai Cui, Lianhong Wang et Shaohua Gou. 2005. «Synthesis and *In Vitro* Cytotoxicity of Novel Hydrophilic Chiral 2-Alkoxy-1,4-Butanediamine Platinum (II) Complexes.» *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, no 15, p. 4936-4943.
- Van Zutphen, Steven et Jan Reedijk. 2005. «Targeting Platinum Anti-Tumour Drugs: Overview of Strategies Employed to Reduce Systemic Toxicity.» *Coordination Chemistry Reviews*, p.1-9.