



HAL
open science

Synthèse, caractérisation et évaluation des effets biologiques des hybrides "FcTAM-SAHA" et composés dérivés

José de Jesús Cázares Marinero

► To cite this version:

José de Jesús Cázares Marinero. Synthèse, caractérisation et évaluation des effets biologiques des hybrides "FcTAM-SAHA" et composés dérivés. Chimie thérapeutique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2013. Français. NNT: . tel-00954959

HAL Id: tel-00954959

<https://theses.hal.science/tel-00954959v1>

Submitted on 3 Mar 2014

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

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

Thèse de doctorat de l'Université Paris VI Université Pierre et Marie Curie

Présentée par José de Jesús CÁZARES-MARINERO

Pour obtenir le grade de docteur de l'Université Paris VI

Synthèse, caractérisation et évaluation des effets biologiques des hybrides « FcTAM-SAHA » et composés dérivés

Soutenue le 02 septembre 2013
devant le jury composé de :

Pr. Serge THORIMBERT, Professeur à l'Université Pierre et Marie Curie
Dr. Gérard SIMONNEAUX, Directeur de recherche au CNRS
Pr. Gilles GASSER, Professeur à l'Université de Zürich
Pr. Christophe BIOT, Professeur à l'Université de Lille1
Dr. Siden TOP, Directeur de recherche au CNRS
Dr. Anne VESSIÈRES, Directrice de recherche au CNRS
Pr. Gérard JAOUEN, Professeur à l'École Nationale Supérieure de Chimie de Paris

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examinateur
Examinateur
Membre invité
Directeur de Thèse



Il faut faire de la vie un rêve...

et faire d'un rêve... une réalité

Pierre Curie

Lors de mon stage de recherche initiale dans un laboratoire de chimie inorganique au Mexique, j'ai été surpris de voir que la plupart des composés organométalliques étaient gardés dans un coffre fermant à clé. J'ai eu de ce fait le sentiment qu'il s'agissait d'espèces non seulement chères mais aussi toxiques et dangereuses. Puis, j'ai appris dans les cours, que leur principale utilité était en catalyse mais, en tant qu'agents instables, il fallait impérativement leur éviter tout contact avec l'eau, l'air et parfois la lumière ; et surtout s'assurer d'en avoir bien éliminé toutes traces lors de la purification des produits destinés à l'utilisation chez l'homme.

Mon opinion a évolué au cours du temps. J'ai pu constater expérimentalement la richesse de la variété des produits organométalliques, dont la compatibilité à l'eau, à la lumière, à l'air, aux changements de pH, inter alia, sont des impératifs pour pouvoir les soumettre aux conditions physiologiques. De même, j'ai appris que leur réactivité va au-delà de facilitations de couplages, d'hydrogénations et d'activations des liaisons. J'y vois, par contre, une potentialité incommensurable de réactivité et des possibilités abyssales de design qui ouvrent des horizons sans bornes pour le traitement de maladies actuellement incurables en raison d'une potentialité de chimie innovatrice.

Je n'ai plus peur de saisir un flacon de produit organométallique puisqu'après tout, il n'y a pas de produits toxiques, mais des doses toxiques.

JJCM

Remerciements

Cette thèse a été réalisée au sein de l'équipe de recherche « Chimie Bioorganométallique » du Laboratoire Charles Friedel (UMR CNRS 7223). Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements au Pr. Gérard Jaouen, au Dr. Anne Vessières et au Dr. Siden Top pour m'avoir accueilli. Je les remercie de m'avoir guidé au cours de ces trois ans, pour les discussions si enrichissantes que nous avons eues et pour l'aide au cours de ma rédaction. Un très grand merci. Je suis très honoré d'avoir fait partie de votre équipe.

Je voudrais également remercier les membres du jury, particulièrement le Dr. Gérard Simonneaux et le Pr. Gilles Gasser d'avoir pris le temps d'évaluer mon travail. Mes remerciements s'adressent également au Pr. Serge Thorimbert et au Pr. Christophe Biot pour avoir accepté d'apporter leur regard critique sur cette thèse.

J'aimerais remercier chaleureusement le gouvernement mexicain, particulièrement, le Conseil National de Science et Technologie (CONACyT) qui a financé ma bourse de doctorat (No. 308959). À mon École Doctorale 406 de Chimie Moléculaire, particulièrement, au Pr. Anna Proust et à mon comité de suivi Dr. Valérie Marvaud et Pr. Véronique Bellostat.

Je remercie également mes collègues de laboratoire, Pascal Pigeon, Rénette Saint-Fort, Nathalie Fischer-Durand, Michèle Salmain et Nathalie Ouvry, pour m'avoir fait part de leurs expériences. Mes remerciements s'adressent également aux équipes des plateformes de RMN et de spectrométrie de masse, Marie-Noëlle Rager, Sophie Walmé, Céline Fosse et Claudine Keil pour leur disponibilité. Je souhaite également remercier les membres de l'équipe d'électrochimistes de l'École Normale Supérieure, le Dr. Christian Amatore, le Dr. Oliver Buriez et le Pr. Eric Labbé pour les discussions très enrichissantes. De même, je remercie l'équipe de biologie de l'Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier, le Dr. Vincent Cavallès et Marion Lapière pour les études sur les enzymes histones désacétylases.

A mes amies du laboratoire, Marie Aude-Richard, pour avoir été là quand j'en avais besoin. L'ISBOMC m'a changé la vie et m'a donné une des meilleures amies que je n'ai jamais eue. Merci MAR ! Le vin, le fromage et toi, sont des choses qui vont beaucoup me manquer. Je remercie également Shirley Lee pour son amitié et les cacahuètes au café. You're the nicest singaporian girl I've ever known. Mes amis hors labo, Anthony Thébaud et « mon petit Mexique » : Diana Chólico, Bianca Medina, Vianey Hernández, Gonzalo Ramirez et Juan Carlos Dominguez, je vous remercie tous pour votre amitié et les moments sympas que nous avons vécus ensemble pendant notre séjour en France.

Pour finir, j'aurai une pensée toute particulière pour quelqu'un qui est la clé dans ce projet et qui j'adresse mes remerciements les plus profonds. *Mi amiga, mi cómplice y mi confidente. Mamá, gracias por enseñarme a crear en mis sueños, pero sobretodo, gracias por enseñarme a saborear el tiempo en el que ellos se convierten en realidad. ¡Todo llega a su debido tiempo... con el favor por supuesto de mi catalizador universal, para Él todo el honor!*

Mamá, te amo y esto... ¡va por ti!

Sommaire

• Partie A

Chapitre I. La chimie bioorganométallique et le cancer	1
1. Chimie bioorganométallique	2
2. Composés organométalliques naturels	3
2.1 Coenzyme B ₁₂ et méthylcobalamine	3
2.2 Intermédiaires dans le métabolisme microbien	5
2.3 Composés d'arsenic dans les plantes, lichens et champignons	8
2.4 Métallocarbènes du cytochrome P-450	9
3. Métalloporphyrines	12
4. Chimie médicinale des composés organométalliques	15
4.1 Antiinflammatoires	16
4.2 Antibactériens	19
4.3 Antiparasitaires	21
5. Le cancer : un défi pour les chimistes médicaux	24
5.1 Le cancer du sein	26
5.1.1 Cancer du sein hormono-dépendant	26
5.1.2 Cancer du sein triple-négatif	28
6. Les composés organométalliques contre le cancer	29
6.1 Les ferrocifènes	30
6.2 Composés à base de ferrocène	34
6.3 Composés à base d'or	37
6.4 Composés à base de ruthénium	38

• Partie B

Chapitre II. Combinaison ferrocifène et motif HDACi	40
1. Introduction	42
1.1 Pharmacophore	43
1.2 Epigénétique : cause de cancer	43
1.3 Le SAHA : une molécule HDACi	46
1.3.1 Modifications structurales	48
1.4 Conception des hybrides	53
2. Résultats et discussion	55
2.1 Synthèse	55
2.1.1 Synthèse de précurseurs	55
2.1.2 Synthèse des acides carboxyliques	57
2.1.3 Synthèse des acides hydroxamiques et des amides primaires	58
2.1.4 Synthèse du ferrocifène	59
2.2 Stabilité	60
2.3 Lipophilie	61
2.4 Interactions avec le récepteur α des œstrogènes (ER α)	64
2.4.1 Affinité relative de liaison (RBA) sur l'ER α	64
2.4.2 Régulation du signal des œstrogènes	66
2.4.3 Effets œstrogéniques et antiœstrogéniques	67
2.5 Interactions avec les enzymes histones-désacétylases (HDAC)	68
2.5.1 Modélisation	68
2.5.2 Inhibition enzymatique des HDAC	70
2.6 Effet de chélation	72
2.7 Effet sur l'expression du gène p21 ^{WAF1}	74
2.8 Activité antiproliférative sur les cellules de cancer humain	76
3. Conclusion	81
4. Partie expérimentale	82
4.1 Considérations générales	82
4.1.1 Procédures chimiques	82
4.1.2 Modélisation moléculaire	83
4.1.3 Affinité relative de liaison (RBA)	83
4.1.4 Lipophilie	84
4.1.5 Détermination de l'effet HDACi	84
4.1.6 Test avec la luciférase	85
4.1.7 Activité antiproliférative	85
4.1.8 Quantification de l'ARN _m	86
4.2 Dérivés activés de l'acide subérique	86
4.3 Acides carboxyliques hybrides	88
4.4 Subéramides	93
4.5 Tamoxifène et ferrocifène	99

Chapitre III. Rôle de la longueur de la chaîne alkyle	101
1. Introduction	103
2. Résultats et discussion	107
2.1 Synthèse des dérivés adipiques	107
2.2 Synthèse des dérivés succiniques	108
2.3 Activité antiproliférative sur les cellules de cancer du sein	112
3. Conclusion	115
4. Partie expérimentale	116
Chapitre IV. Rôle de la fonction phénolique	125
1. Introduction	127
2. Résultats et discussion	131
2.1 Synthèse	131
2.2 Isomérisation	134
2.3 Activité antiproliférative	140
2.4 Electrochimie	142
3. Conclusion	147
4. Partie expérimentale	148
Chapitre V. Rôle de l'entité organométallique	166
1. Introduction	168
2. Résultats et discussion	170
2.1 Synthèse	170
2.2 Activité antiproliférative	172
2.3 Electrochimie	173
3. Conclusion	180
4. Partie expérimentale	181
Chapitre VI. Rôle des substituants sur des cycles aromatiques	186
1. Introduction	188
2. Résultats et discussion	193
2.1 Synthèse	193
2.1.1 Synthèse alternative de la dianiline Fn-dialine	193
2.1.2 Synthèse de diamides Fn-diBUT, Fn-diHEX et Fn-diOCT	194
2.1.3 Synthèse de la dianiline organique Ph-dialine	195
2.1.4 Synthèse des dianilines tétraméthylées	196
2.2 Activité biologique	197
2.2.1 Activité antiproliférative des dianilides	197
2.2.2 Activité antiproliférative de la dianiline organique	201
2.2.3 Activité antiproliférative des dianilines tertiaires	202
2.3 Electrochimie	203
3. Conclusion	208
4. Partie expérimentale	209
• Partie C	
Conclusion générale	222

Abréviations

AcOEt	acétate d'éthyle
DCM	dichlorométhane
DMSO	diméthylsulfoxyde
EGFR	récepteur du facteur de croissance épiderme
ENDOR	double résonance électronique nucléaire
IES	ionisation par électrospray
EPR	résonance paramagnétique électronique
ER	récepteur des œstrogènes
ET	écart type
DCM	dichlorométhane
Fc ⁺	ferricénium
Fc	ferrocényle
FcH	ferrocène
Fcpd	1-ferrocénylpropylidène
Fnpd	[3]ferrocénophan-1-ylidène
FDA	administration américaine d'aliments et des produits pharmaceutiques
FcTAM	ferrocifène
FcOHTAM	hydroxyferrocifène
HAT	histone-acétyle transférase
HDAC	histone-désacétylases
HDACi	inhibiteurs d'histone-désacétylases
HER2	récepteur 2 de croissance-épidermique humain
IC	ionisation chimique
IC ₅₀	concentration minimale d'une substance chimique provoquant l'inhibition du 50% de la croissance cellulaire
IE	impact électronique

IR	infrarouge
MCF-7	lignée cellulaire archétype du cancer du sein hormono-dépendant
MDA-MB-231	lignée cellulaire archétype du cancer du sein triple-négatif
MeCN	acétonitrile
MeOH	méthanol
MOPS	acide 3-morpholinopropane-1-sulfonique
<i>m/z</i>	rapport masse sur charge
OHTAM	hydroxytamoxifène
OPOA	acide 8-oxo-8-phénylamino-octanoïque
PC-3	lignée cellulaire archétype du cancer de la prostate
PSA	<i>N</i> ¹ -phénylsubéramide
pf	point de fusion
ppm	partie par million
PR	récepteur de la progestérone
Phpd	1-phénylpropylidène
Py	pyridine
RMN du ¹ H	résonance magnétique nucléaire du proton
RMN du ¹³ C	résonance magnétique nucléaire du carbone-13
ROS	espèces réactives d'oxygène
<i>R</i> _T	temps de rétention
SERM	modulateurs sélectifs du récepteur des œstrogènes
SAHA	<i>N</i> ¹ -hydroxy- <i>N</i> ⁸ -phénylsubéramide
SAR	relations structure-activité
SM	spectrométrie de masse
TAM	tamoxifène
Et ₃ N	triéthylamine
THF	tétrahydrofurane
TNBC	cancer du sein triple-négatif

Chapitre I

La chimie bioorganométallique & le cancer

1. Chimie bioorganométallique

Le terme « chimie bioorganométallique » a été utilisé pour la première fois il y a vingt-huit ans^[1,2] et les débuts de cet axe peuvent être liés à des études spectroscopiques par FT-IR de complexes de métaux carbonyle associés à des protéines réceptrices.^[3] Cette spectroscopie bénéficiait alors d'un saut technologique, puisqu'on passait des appareils dispersifs peu sensibles à d'autres appareils faisant appel à des techniques comme l'interféromètre de Michelson et le traitement des données par transformée de Fourier permettant des études quantitatives. Ces études ont ouvert les portes au développement de dosages immunologiques par CMIA (de l'anglais : carbonyl metallo immunoassay).^[4]

Située à l'interface de la chimie, la biologie et la médecine, l'étude des espèces chimiques –synthétiques ou naturelles– ayant au moins une liaison covalente carbone-métal (C-M) ou carbone-métalloïde présentant des activités biologiques, a été définie comme **chimie bioorganométallique**.^[5] Les composés organométalliques –en tant qu'espèces à stabilité cinétique plus élevée que les complexes inorganiques de coordination et dotés d'une vaste diversité structurale– sont de fait attractifs pour le design des nouvelles classes de composés présentant des applications biologiques originales.

[1] G Jaouen, A Vessières. Transition metal carbonyl oestrogen receptor assay. *Pure Appl Chem* **1985**, *57*, 1865–1874.

[2] S Top, G Jaouen, A Vessières, JP Abjean, D Davoust, CA Rodger, BG Sayer, MJ McGlinchey. Chromium tricarbonyl complexes of estradiol derivatives: differentiation of α and β diastereoisomers using one- and two-dimensional NMR spectroscopy at 500 MHz. *Organometallics* **1985**, *4*, 2143–2150.

[3] G Jaouen, A Vessières, S Top, AA Ismail, IS Butler. Metal carbonyl fragments as a new class of markers in molecular biology. *J Am Chem Soc* **1985**, *107*, 4778–4780.

[4] A Vessières. Metal carbonyl tracers and the ferrocifen family: two facets of bioorganometallic chemistry. *J Organomet Chem* **2013**, *734*, 3–16.

[5] G Jaouen. *Bioorganometallics*, John Wiley & Sons: Germany, **2006**.

2. Composés organométalliques naturels

Quand le « coenzyme B₁₂ » a été identifié comme un composé organométallique naturel de la famille de la vitamine B₁₂,^[6] il a été admis ipso facto que les liaisons C-M pouvaient être importantes pour la vie, même si l'unicité de cet exemple faisait alors débat.

2.1 Coenzyme B₁₂ et méthylcobalamine

La vitamine B₁₂ a été isolée il y a 65 ans et surnommée « facteur d'anti-anémie pernicieuse ».^[7] Aujourd'hui, on sait que cette biomolécule et ses dérivés sont nécessaires pour le métabolisme de nombreuses espèces mais les microorganismes sont les seuls à pouvoir les biosynthétiser. En conséquence, chez l'homme –qui ne possède pas cette capacité– les complexes B₁₂ sont des vitamines qui doivent être prises lors de l'alimentation. Ils sont impliqués dans la formation d'érythrocytes et sont essentiels pour le développement et le fonctionnement correct du cerveau.^[8]

Dans les années suivant de près à sa découverte, la molécule a été caractérisée^[9,10] comme un complexe de coordination relativement inerte comportant un noyau de cobalt(III) hexacoordiné, lié à un groupe cyano (CN) et entouré de la corrine –un macrocycle hétérocyclique azoté ressemblant aux porphyrines–. La vitamine B₁₂ est indistinctement appelée « cyanocobalamine » et bien que celle-ci soit la forme des B₁₂ la plus répandue commercialement, il semble qu'elle n'ait aucune fonction physiologique par elle-même.^[11] Parmi les formes actives B₁₂, l'on peut trouver la coenzyme 5'-déoxy-5'-adénosylcobalamine et la méthylcobalamine (Figure 1).

[6] PG Lenhert, D Hodgkin-Crowfoot. Structure of the 5,6-dimethylbenzimidazolylcobamide coenzyme. *Nature* **1961**, *192*, 937–938.

[7] EL Smith, LFJ Parker. Purification of anti-pernicious anaemia factor. *Biochem J* **1948**, *43*, R8–R9.

[8] SF Battaglia-Hsua, N Akchichea, N Noela, JM Alberto, Jeannessona E, Orozco-Barriosa CE, Martinez-Fong, D, Davala JL, Guéant JL. Vitamine B₁₂ deficiency reduces proliferation and promotes differentiation of neuroblastoma cells and up-regulates PP2A, proNGF and TACE. *Proc Natl Academ Sci USA* **2009**, *106*, 21930–21935.

[9] EL Rickes, NG Brink, FR Koniuszy, TR Wood, K Folkers. Cristalline vitamine B₁₂. *Science* **1948**, *107*, 396–397.

[10] DC Hodgkin, J Pickworth, JH Robertson, KN Trueblood, RJ Prosen, JG White. The crystal structure of the hexacarboxylic acid derived from B₁₂ and the molecular structure of the vitamin. *Nature* **1955**, *176*, 325–328.

[11] L Ellenbogen, BA Cooper. In Handbook of vitamins, nutritional and clinical aspects, food science and technology. LJ Machlin. Ed. M Dekker M, **1984**; pp 491–536.

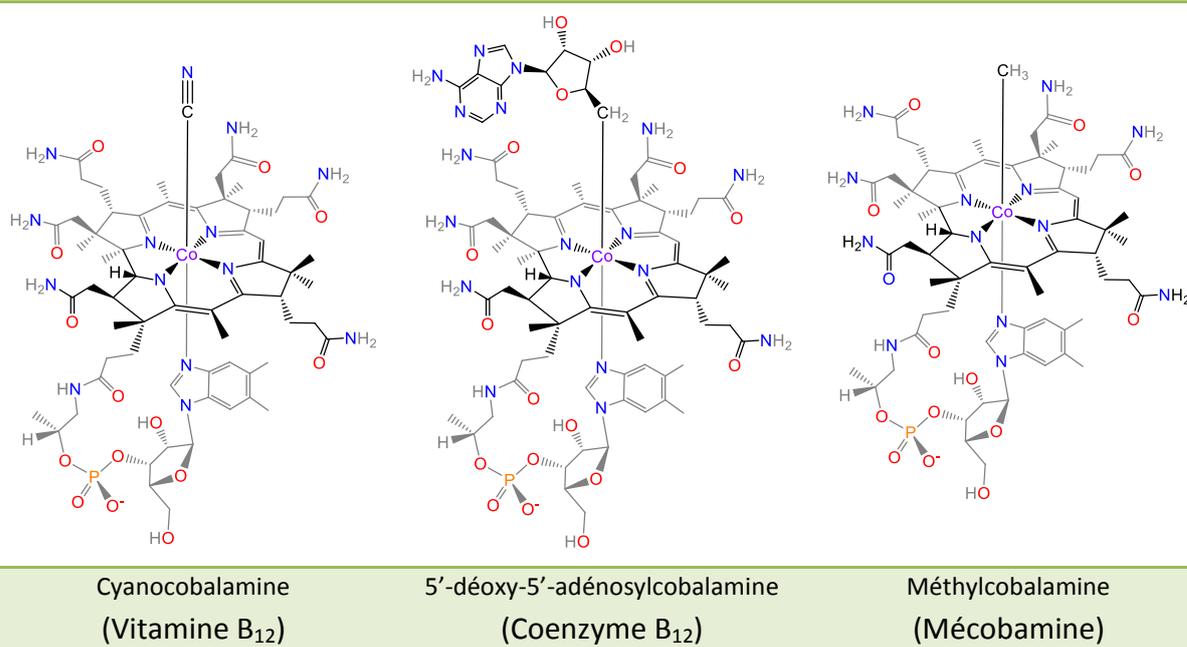


Figure 1. Structures chimiques de la vitamine B₁₂ et de ses dérivés bioorganométalliques.

Possédant une liaison directe et covalente carbone-cobalt (C-Co), ce sont donc des espèces organométalliques ou, plus précisément, bioorganométalliques. Parmi les espèces organométalliques naturelles, on estime que celles-ci représentent les cofacteurs physiologiques les plus pertinents. La 5'-déoxy-5'-adénosylcobalamine –mieux connue sous le nom de « coenzyme B₁₂ » et considérée comme un transporteur de radicaux alkyle– agit comme le cofacteur de l'enzyme méthylmalonyl-CoA mutase pour catalyser la réaction d'isomérisation de la méthylmalonyl-CoA en succinyl-CoA.^[12]

Pour sa part, la méthylcobalamine –également appelée mécobalamine– avec la méthionine-synthase effectuent le transfert du radical méthyle (CH₃•) *via* le clivage homolytique de la liaison C-Co de la méthylcobalamine afin de convertir l'homocystéine en méthionine.^[13] Comme nous pouvons imaginer, ces dérivés de la vitamine B₁₂ présentent un fort caractère de chimie organométallique non seulement dû à l'existence de la liaison C-M dans leurs structures mais surtout à leur réactivité dans les transformations métaboliques.^[14] Un certain degré de parenté réactionnelle avec les réactifs de Grignard peut être noté.

[12] J Halpern. Mechanisms of coenzyme B₁₂-dependent rearrangements. *Science* **1985**, 227, 869–875

[13] PA Butler, B Kräutler. Biological organometallic chemistry of B₁₂. In: *Bioorganometallic chemistry, Vol. 17; Topics in organometallic chemistry*; Beller M, Brown JM, Dixneuf PH, Fürstner A, Gooßen LJ, Hegedus LS, Hofmann P, Ikariya T, Nolan S, Oro LA, Zhou QL. Eds. Springer Berlin Heidelberg, 2006; pp 1–55.

[14] B Kräutler. Organometallic chemistry of B₁₂ coenzymes. In: *Metal-Carbon bonds in enzymes and cofactors, Vol. 6; Metal Ions in Life Sciences*; Sigel A, Helmut S, Sigel RKO, Eds. RSC Publishing, 2009; pp 1–42.

2.2 Intermédiaires dans le métabolisme microbien

Même quand fût prouvée –chez les dérivés de la vitamine B₁₂– la réalité des liaisons carbone-métal (C-M) dans les biomolécules, on a longtemps cru que les composés de cobalt étaient les seules espèces organométalliques présentes dans la nature. Il a fallu attendre la fin du XX^e siècle pour que la présence de ce type de liaisons dans la nature soit considérée comme plus générale. Maintenant, il est connu que plusieurs processus métaboliques dépendent d'intermédiaires organométalliques. L'existence des liaisons C-M est ainsi possible pour le nickel (Ni) et le fer (Fe) au sein des enzymes.^[15,16]

Par exemple, l'acétyl-coenzyme A synthase (ACS) et la monoxyde-de-carbone-déshydrogénase (CDH) sont des enzymes bactériennes bifonctionnelles qui constituent une pièce fondamentale dans la voie métabolique « Wood-Ljungdahl » pour la fixation du carbone dans les bactéries et archées. L'ACS promeut la synthèse de l'acétyl-CoA *via* la combinaison du monoxyde de carbone (CO) avec un groupe méthyle (CH₃).^[17] La CDH, pour sa part, catalyse l'oxydation réversible du CO en dioxyde du carbone (CO₂) dans un complexe hétérobimétallique de Ni et Fe situé dans le site actif de l'enzyme.^[18] La participation d'intermédiaires organométalliques comportant différents ligands carbonés a été postulée. Ainsi, des complexes méthyl (Ni-CH₃), acétyl (Ni-COCH₃), carbonyle (Ni-CO) et carboxylate (Ni-COO⁻) ont été identifiés par différentes techniques analytiques. Parmi celles-ci, on peut citer les études par marquage isotopique, par cinétique et par des spectroscopies appropriées telles que FT-IR, EPR, ENDOR et Mößbauer.^[19]

Un autre exemple des biomolécules contenant des motifs organométalliques sont les hydrogénases. Ces métalloenzymes –très apparentées à celles que l'on vient de décrire– catalysent la réaction d'activation de l'hydrogène moléculaire (H₂). La nature de leurs sites actifs observée dans leurs structures cristallines permet de les grouper en trois classes : hydrogénases hétérobimétalliques [Ni/Fe], hydrogénases homobimétalliques [Fe/Fe] et hydrogénases monométalliques [Fe].^[20,21]

[15] W Beck, K Severin. Biometallorganische chemie. *Chem Unserer Zeit* **2002**, 36, 356–365.

[16] A Sigel, H Sigel, RKO Sigel. *Metal Ions in Life Sciences*. RSC Publishing, **2009**.

[17] EL Hegg. Unraveling the structure and mechanism of acetyl-coenzyme A synthase. *Acc Chem Res* **2004**, 37, 775–783.

[18] JH Jeoung, H Dobbek. Carbon dioxide activation at the Ni,Fe-cluster of anaerobic carbon monoxide dehydrogenase. *Science* **2007**, 318, 1461–1464.

[19] PA Lindahl. Nickel-carbon bonds in acetyl-coenzyme A synthases/carbon monoxide dehydrogenases. In: *Metal-Carbon bonds in enzymes and cofactors, Vol. 6; Metal Ions in Life Sciences*; Sigel A, Helmut S, Sigel RKO, Eds. RSC Publishing, **2009**; pp 133–147.

[20] A Volbeda, JC Fontecilla-Camps. Structure-function relationships of nickel-iron sites in hydrogenase and a comparison with the active sites of other nickel-iron enzymes. *Coord Chem Rev* **2005**, 249, 1609–1619.

[21] FA Armstrong, JC Fontecilla-Camps. A natural choice for activating hydrogen. *Science* **2008**, 321, 498–499.

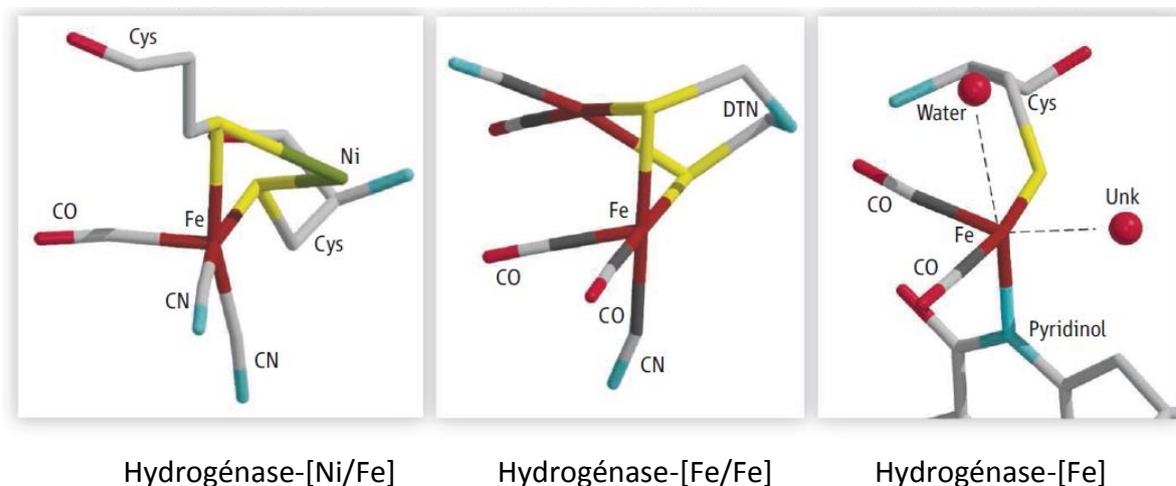


Figure 2. Site actif des trois classes d'hydrogénases.^[21]

Les trois types d'enzymes présentent une caractéristique structurale en commun : leurs sites actifs contiennent au moins une unité organométallique $\text{Fe}(\text{CO})_n$ (Figure 2). Ainsi, le site actif de l'hydrogénase-[Ni/Fe] est composé d'un centre bimétallique où l'atome de Ni est coordonné par des groupes thiolates provenant de résidus de cystéine. Ces thiolates coordonnent aussi le Fe qui à son tour est coordonné par deux ligands CN et un ligand CO. Dans l'hydrogénase-[Fe/Fe] les atomes métalliques dans le cluster homodinucéaire [FeFe] sont coordonnés par les ligands CN, CO et azanediyl diméthanethiolate. Dans d'autres rapports, des structures portant un des ligands CO ponté aux deux atomes de Fe sont décrites.^[22] Pour le cas des hydrogénases-[Fe], leur sphère de coordination est composée de deux ligands CO et de l'azote du pyridinol, en revanche, à la différence des deux autres, il manque de ligands CN. Cette représentation a été proposée avec quelques caractéristiques manquantes, par exemple, un des sites de coordination est occupé par un ligand inconnu. Un rapport de l'année dernière^[23] semble indiquer que ce ligand pourrait être un groupe acyle provenant de la position *ortho* de l'hétérocycle (pyridinol), ce qui pourrait établir une liaison C-M de plus.

[22] E Laffly, F Garzoni, JC Fontecilla-Camps, C Cavazza. Maturation and processing of the recombinant [FeFe] hydrogenase from *Desulfovibrio vulgaris* Hildenbourg (DvH) in *Escherichia coli*. *Int J Hydrog Energy* **2010**, *35*, 10761–10769.

[23] S Shima, M Schick, J Kahnt, K Ataka, K Steinbach, U Linne. Evidence for acyl-iron ligation in the active site of [Fe]-hydrogenase provided by mass spectrometry and infrared spectroscopy. *Dalton Trans* **2012**, *41*, 767–771.

D'autres exemples d'espèces organométalliques dans les processus biologiques sont les intermédiaires pour le mécanisme réactionnel proposé pour la formation du gaz méthane (CH_4) dans les archées (Schéma 1). Ces microorganismes possèdent l'enzyme méthyl-coenzyme M réductase (MCR) dont la structure cristalline révèle l'existence du Ni dans le site actif.^[24,25,26]

Le mécanisme montre les étapes pour la formation de CH_4 à partir de la réduction de la méthyl-coenzyme M ($\text{CH}_3\text{-S-CoM}$) en collaboration avec le coenzyme B (CoB-SH) dans des conditions anaérobies. Le cycle commence par l'attaque nucléophile (1) du Ni^{1+} au groupe méthyle de la CoM formant un adduit organométallique $[\text{CH}_3\text{-Ni}^{3+}]$. Il semble que le transfert du méthyle est facilité quand le groupe partant est protoné –sans doute, par la CoB-SH –. Dans la deuxième étape, le pouvoir oxydant du Ni^{3+} attire un électron de la CoM-SH (2) pour générer un radical thiyle –qui est fortement acide et par conséquent facilement dissociable–. Dans l'étape suivante, l'intermédiaire organométallique de nickel $[\text{CH}_3\text{-Ni}^{2+}]$ est protonolysé autour d'une réaction spontanée (3). Simultanément, le radical thiyle de la CoM est couplé au groupe thiolate de la CoB et l'électron excédent retourne au Ni^{2+} . Dans la dernière étape, le CH_4 et le CoMS-SCoB sont libérés (4) et le cycle peut être recommencé au vu de la présence du Ni^{1+} .

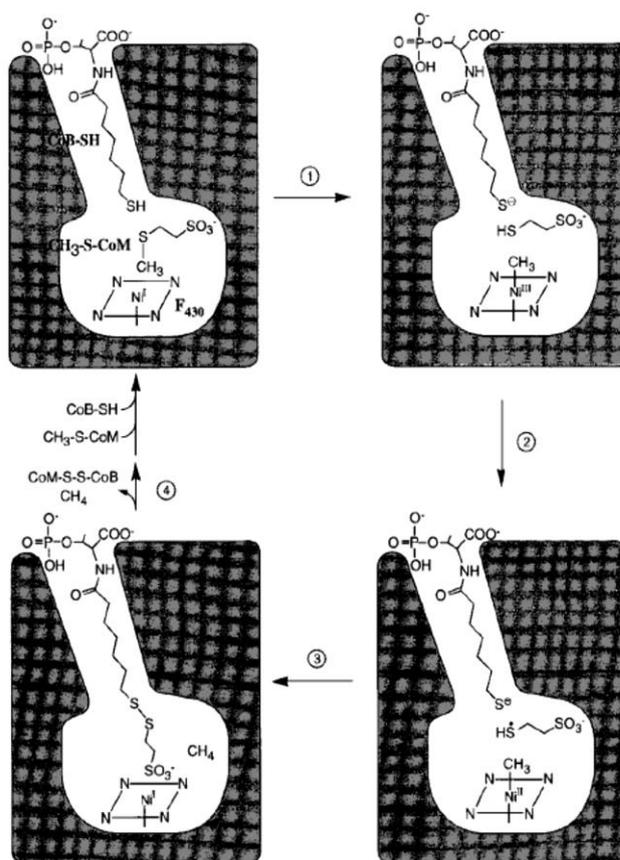


Schéma 1. Mécanisme de formation du méthane au sein de l'enzyme méthyl coenzyme M réductase.^[24]

[24] U Ermler, W Grabarse, S Shima, M Goubeaud, RK Thauer. Crystal structure of methyl-coenzyme M reductase: the key enzyme of biological methane formation. *Science* **1997**, 278, 1457–1462.

[25] S Scheller, M Goenrich, R Boecher, RK Thauer, B Jaun. The key nickel enzyme of methanogenesis catalyses the anaerobic oxidation of methane. *Nature* **2010**, 465, 606–609.

[26] S Scheller, M Groenrich, S Mayr, RK Thauer, B Jaun. Intermediates in the catalytic cycle of methyl coenzyme M reductase: isotope exchange is consistent with formation of a σ -alkane-nickel complex. *Angew Chem Int Ed* **2010**, 49, 8112–8115.

2.3 Composés d'arsenic dans les plantes, lichens et champignons

Un métalloïde présent dans la nature est l'arsenic (As) qui est distribué largement dans la lithosphère, l'hydrosphère et la biosphère.^[27] Il s'agit de l'élément 33 du tableau périodique et son nom latin *arsenīcum* dérivé du grec *ἀρσενικόν* signifie « qui dompte le mâle » faisant ainsi référence à sa forte toxicité. Son rôle de poison tout au long de l'histoire est bien documenté, d'où le nom de « poudre de succession » donné à l'arsenic blanc en France au XVII^e siècle.

Curieusement, des études sur la composition de certains organismes terrestres et aquatiques comme les plantes, lichens, champignons et algues ont montré l'existence des composés d'arsenic hydro et liposolubles.^[28] Ainsi, il est possible de trouver dans ces organismes des espèces telles que l'acide méthylarsonique **1**, l'acide diméthylarsonique **2**, l'oxyde de triméthylarsine **3**, la triméthylarsine **4** et l'ion tétraméthylarsonium **5** (Figure 3). Il est assuré que ces dérivés organométalliques sont un peu moins toxiques que les espèces inorganiques et que, parmi eux, les arsénoribosides (**6** ou **7**, R = motif ribose) sont considérés comme des espèces non toxiques. D'autres composés organoarséniques ont été aussi trouvés dans la nature, particulièrement dans les systèmes marins. L'arsénobétaïne (**6**, R = COO⁻) et l'arsenocholine (**6**, R = (CH₂)₂OH) sont les analogues arséniques de la « bêtaïne » et la « choline », respectivement. Celles-ci ne présentent pas de danger en termes de toxicité.

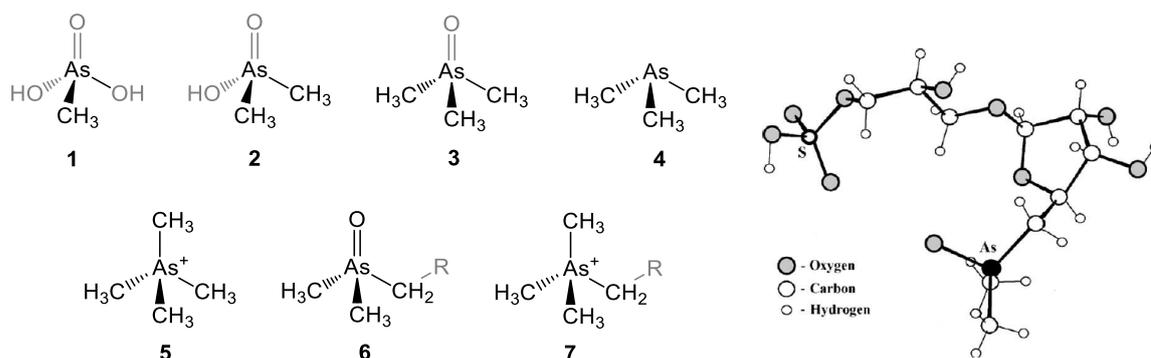


Figure 3. Espèces organoarséniques **1-7** isolées des plantes, lichens, champignons et algues et la structure cristalline d'un arsénoriboside^[28] non toxique.

[27] WR Cullen, KJ Reimer. Arsenic speciation in the environment. *Chem Rev* **1989**, 89, 713–764.

[28] VM Dembitsky, T Rezanka. Natural occurrence of arseno compounds in plants, lichens, fungi, algal species, and microorganisms. *Plant Sci* **2003**, 165, 1177–1192.

2.4 Métallocarbènes du cytochrome P-450

Le système cytochrome P-450 (CYP) comprend une grande famille de métalloenzymes dont la principale fonction est de catalyser l'oxydation de composés endogènes et exogènes afin de les rendre plus faciles à excréter de l'organisme.^[29] Chez les vertébrés, ces enzymes sont exprimées au niveau du foie et montrent une importance particulière en médecine et en pharmacologie grâce à leur forte participation dans la biotransformation des molécules xénobiotiques. Ainsi, les médicaments et les drogues, par exemple, peuvent être inactivés et excrétés. De même, le passage des promédicaments ou des prodrogues par le CYP les transforme en molécules biologiquement actives. Les enzymes du CYP contiennent le groupe prosthétique « hème », ce qui les fait appartenir à un type spécifique de protéines : « les hémoprotéines » dont l'hémoglobine est l'exemple le plus connu. La réactivité des métalloenzymes du CYP dépend de l'état d'oxydation du centre métallique. Dans le CYP, on trouve le fer qui est lié à une macromolécule de protoporphyrine IX et à deux ligands axiaux (Figure 4).^[30] Un de ces ligands est le groupe thiolate –dérivé des résidus de cystéine présents dans la structure protéinique du CYP– et le second ligand varie en fonction du cycle enzymatique.

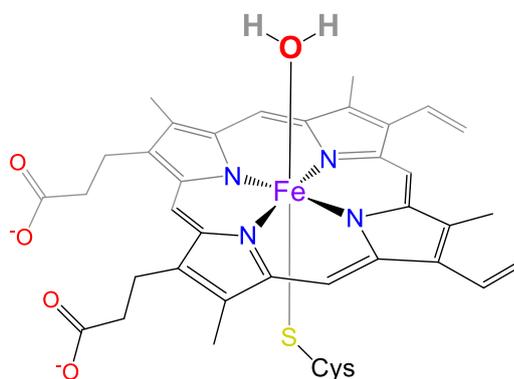


Figure 4. Site actif du cytochrome P-450 (CYP).

Il est connu que les composés polyhalogénés comme le tétrachlorure de carbone (CCl_4) ou l'agent anesthésique « halothane » (CF_3CHClBr) peuvent être biotransformés dans le foie par le cytochrome P-450. Ce métabolisme conduit à des complexes intermédiaires et cinétiquement stables avec des liaisons carbone-fer (C-Fe) générés par la rupture des liaisons carbone-halogène (C-X) des substrats à niveau du site actif du CYP.^[31]

[29] JT Groves. The bioinorganic chemistry of iron in oxygenases and supramolecular assemblies. *Proc Natl Acad Sci USA* **2003**, *100*, 3569–3574.

[30] IG Denisov, TM Makris, SG Sligar, I Schlichting. Structure and chemistry of cytochrome P450. *Chem Rev* **2005**, *105*, 2253–2277.

[31] JI Setsune, D Dolphin. Organometallic aspects of cytochrome P-450 metabolism. *Can J Chem* **1987**, *65*, 459–467.

Un complexe « carbène-CYP » a été identifié lors du métabolisme microsomal de l'halothane dans le foie du rat.^[32] Cette découverte donnait alors une explication aux observations préalables d'études spectroscopiques sur l'interaction des substances chimiques, particulièrement, des composés polyhalogénés avec le CYP. Cinq ans plus tard, des études électroniques ont proposé un modèle théorique (Figure 5) qui était en accord avec la structure du complexe métallocarbène proposé.^[33] En plus, des preuves expérimentales ultérieures ont confirmé l'existence de ces intermédiaires. Ainsi, il a été possible d'isoler le premier complexe carbénique d'une métalloporphyrine.^[34]

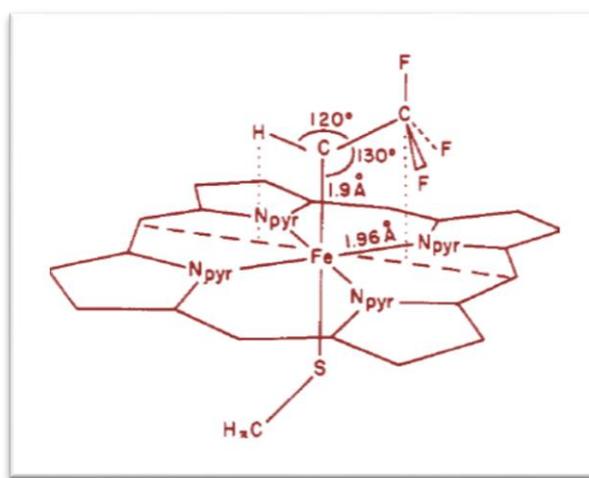


Figure 5. Modèle du complexe CYP-CHCF₃.^[33]

La réaction (Schéma 2) entre le 5,10,15,20-tétraphénylporphyrinatofer(II), [Fe^{II}(TPP)] et le tétrachlorure de carbone (CCl₄), en présence d'un agent réducteur, a produit le carbène [Fe^{II}(CCl₂)(TPP)] qui a pu être cristallisé un an plus tard.^[35] Il est important de noter que d'autres espèces polyhalogénés comme le tétrabromure de carbone (CBr₄), le 1,1,1-trichloro-2,2,2-trifluoroéthane (CF₃CCl₃), le bromotrichlorométhane (CCl₃Br), le trichlorofluorométhane (CCl₃F), le difluorodibromométhane (CF₂Br₂), le trichloroacétate d'éthyle (Cl₃CCO₂Et) et le 2,2,2-trichloroacétonitrile (CCl₃CN) montrent une réactivité similaire avec le site actif du CYP.

[32] D Mansuy, V Ullrich. P-450 carbene complexes. *Z Klin Chem Klin Biochem* **1975**, *13*, 376.

[33] G Loew, A Goldblum. Electronic spectrum of model cytochrome P450 complex with postulated carbène metabolite of halothane. *J Am Chem Soc* **1980**, *102*, 3657–3659.

[34] D Mansuy, M Lange, JC Chottard, P Guérin, P Morlière, D Brault. Reaction of carbontetrachloride with 5,10,15,20-tetraphenylporphyrinatoiron(II) [(TPP)Fe^{II}]: Evidence for the formation of the carbène complex [(TPP)Fe^{II}(CCl₂)]. *J Chem Soc Chem Commun* **1977**, 648–649.

[35] D Mansuy, M Lange, JC Chottard, JF Bartoli, B Chevrier, R Weiss. Dichlorocarbene(meso-tetraphenylporphyrinato)iron(II) complexes. Crystal and molecular structure of Fe(TPP)(CCl₂)(H₂O). *Angew Chem* **1978**, *90*, 828–829.

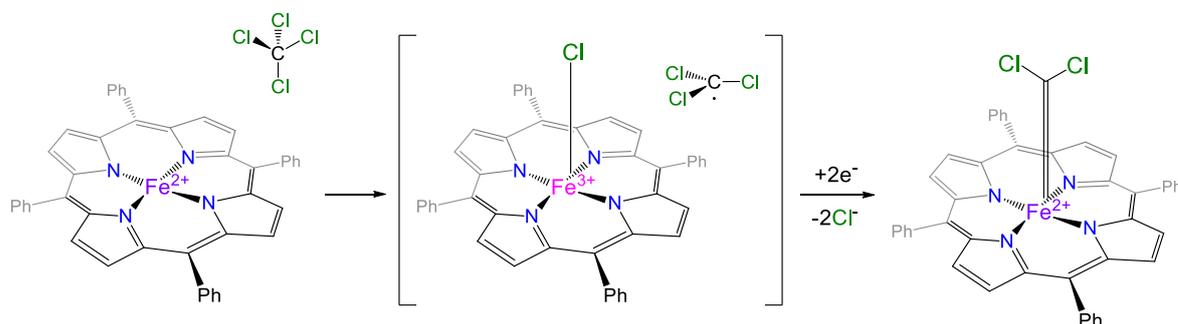


Schéma 2. Mécanisme proposé pour la formation du carbène [Fe^{II}(CCl₂)(TPP)].

Par ailleurs, un complexe montrant des propriétés très différentes à celles des complexes carbéniques a été aussi obtenu à partir de la réaction entre l'halothane et le [Fe^{II}(TPP)]. Il s'agit du premier complexe organométallique dérivé d'une porphyrine ayant une liaison sigma carbone-métal. Le complexe σ [Fe^{III}(TPP)(CHClCF₃)] diffère des métallocarbènes non seulement au niveau de l'état d'oxydation du centre métallique mais aussi au niveau de la nature de la liaison C-Fe (Schéma 3).^[36]

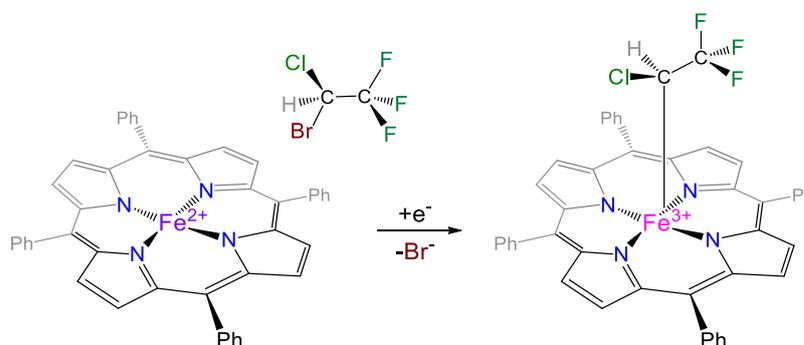


Schéma 3. Formation du complexe σ -[Fe^{III}(CHClCF₃)(TPP)].

Comme nous pouvons le voir, les intermédiaires identifiés dans le métabolisme de certains produits issus de l'action du cytochrome P-450 constituent un autre exemple d'espèces organométalliques présentes dans la nature. On peut constater que les liaisons simples et doubles C-Fe sont possibles dans les organismes incluant les vertèbres et les humains.

[36] D Mansuy, JP Battioni. Isolation of σ -alkyl-iron(III) or carbene-iron(II) complexes from reduction of polyhalogenated compounds by iron(II)-porphyrins: the particular case of halothane CF₃CHClBr. *J Chem Soc Chem Commun* **1982**, 638–639.

3. Métalloporphyrines

La découverte de complexes carbéniques du CYP comme intermédiaires importants dans les processus de biotransformation des composés polyhalogénés a stimulé l'intérêt pour la chimie organométallique biologique des complexes carbéniques et souligné celui de la chimie des porphyrines. Ainsi, des métalloporphyrines catalysant l'addition des carbènes à substrats organiques insaturés à base de métaux de transition, autres que le fer, ont été également explorées. Le complexe carbénique du ruthénium $\{\text{Ru}[:\text{C}(\text{COOEt})_2](\text{CH}_3\text{OH})(\text{TPP})\}$, formé à partir de la réaction entre le $[\text{Ru}(\text{CO})(\text{EtOH})(\text{TPP})]$ et le diazoacétate d'éthyle est le premier exemple de ruthénocarbène porphyrinique (Figure 6).^[37]

Grâce à sa stabilité, sa structure chimique a pu être étudiée par diffraction des rayons-X. Le produit est un composé hexacoordonné entouré par la tétraphénylporphyrine (TPP) dans une conformation quasi-plane, une molécule de méthanol (CH_3OH) située dans une des positions axiales et une molécule de carbène 1,3-diéthoxy-1,3-dioxopropan-2-ylidène $[:\text{C}(\text{COOEt})_2]$ dans l'autre position axiale.

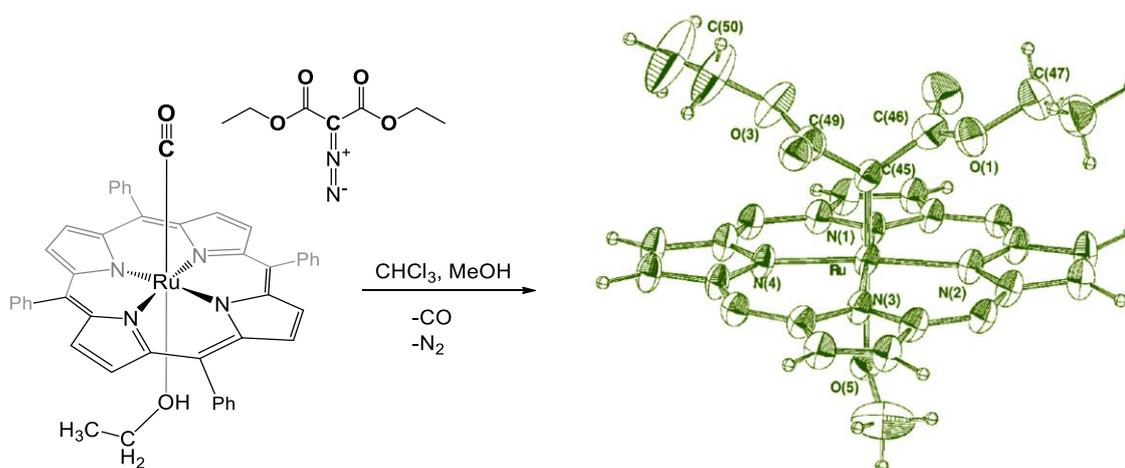


Figure 6. Synthèse et structure cristalline du premier complexe ruthénocarbénique^[37] dérivé d'une porphyrine $\{\text{Ru}[:\text{C}(\text{COOEt})_2](\text{CH}_3\text{OH})(\text{TPP})\}$.

[37] E Galardon, P Le Maux, L Toupet, G Simonneaux. Synthesis, crystal structure, and reactivity of (5,10,15,20-tetraphenylporphyrinato)ruthenium(II) (diethoxycarbonyl)carbene methanol. *Organometallics* 1998, 17, 565–569.

Cette structure organométallique fait sans doute penser à celle des intermédiaires CYP-carbéniques dans le métabolisme des polyhalogénés et aussi aux dérivés du complexe B₁₂. Ce complexe a montré une très bonne activité catalytique non seulement pour la formation d'oléfines mais aussi pour les réactions de cyclopropanation. Cette activité a été explorée avec le diazoacétate d'éthyle et le styrène (Schéma 4).

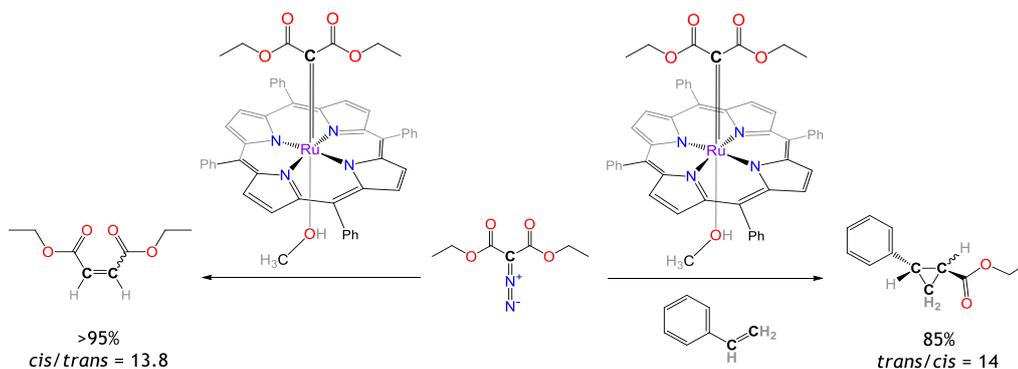


Schéma 4. Réactions d'oléfination (gauche) et de cyclopropanation (droite) catalysées par $\{Ru[:C(COOEt)_2](CH_3OH)(TPP)\}$.

En addition des réactions d'oléfinations et de cyclopropanations, ces complexes conduisent à la formation de produits d'insertion des liaisons C-S ou C-N à partir du clivage de liaisons S-H et N-H, respectivement.^[38] De même, elles favorisent des arrangements sigmatropiques [2,3] d'intermédiaires ylures allyliques.^[39] L'incorporation des motifs fluorophores sur leur structure produit des espèces optiquement actives, ce qui les font devenir des bons candidats pour accéder à des matériaux luminescents.^[40,41] Par ailleurs, le design moléculaire avec des stéréocentres sur le noyau porphyrinique a aussi créé des ruthénocomplexes chiraux qui peuvent être également utilisés en catalyse asymétrique.^[42,43,44]

[38] E Galardon, P Le Maux, G Simonneaux. Cyclopropanation of alkenes, N-H and S-H insertion of ethyl diazoacetate catalyzed by ruthenium porphyrin complexes. *Tetrahedron* **2000**, 56, 615–621.

[39] G Simonneaux, E Galardon, C Paul-Roth, M Gulea, S Masson. Ruthenium-porphyrin-catalyzed carbenoid addition to allylic compounds: application to [2,3]-sigmatropic rearrangements of ylides. *J Organomet Chem* **2001**, 617–618, 360–363.

[40] G Simonneaux, P Le Maux. Optically active ruthenium porphyrins: chiral recognition and asymmetric catalysis. *Coord Chem Rev* **2002**, 228, 43–60.

[41] CO Paul-Roth, G Simonneaux. Porphyrins with fluorenyl and fluorenone pendant arms. *Tetrahedron Lett* **2006**, 47, 3275–3278.

[42] Y Ferrand, P Le Maux, G Simonneaux. Highly enantioselective synthesis of cyclopropylphosphonates catalyzed by chiral ruthenium porphyrins. *Org Lett* **2004**, 6, 3211–3214.

[43] G Simonneaux, P Le Maux, Y Ferrand, J Rault-Berthelot. Asymmetric heterogeneous catalysis by metalloporphyrins. *Coord Chem Rev* **2006**, 250, 2212–2221.

[44] P Le Maux, T Roisnel, I Nicolas, G Simonneaux. Isolation, X-ray crystal structure, and reactivity of a new C-H carbene complex of (5,10,15,20-tetraphenylporphyrinato)ruthenium(II). *Organometallics* **2008**, 27, 3037–3042.

Ces travaux sur la chimie organométallique des porphyrines dérivées du ruthénium et du fer vérifient le caractère de faisabilité, l'existence et la stabilité des composés organométalliques de ce type dans les systèmes biologiques. En outre, ils fournissent des informations concernant leur réactivité possible lors du métabolisme afin d'aider l'élucidation des mécanismes catalytiques de réactions dans lesquelles des systèmes métalloenzymatiques comme le P-450 jouent un rôle fondamental.

Comme nous avons pu le souligner grâce à ces exemples, la chimie des espèces organométalliques est importante dans les phénomènes de biotransformation qui gèrent la vie. Le coenzyme B₁₂, la méthylcobalamine, les CO-déshydrogénases, l'acétyl-CoA synthase, les hydrogénases et les adduits avec le cytochrome P-450, sont quelques exemples dans la biologie où la présence de liaisons C-M est prouvée et où les mécanismes catalytiques sont caractéristiques de réactions organométalliques. En raison de la transition énergétique certains de ces exemples prennent de l'importance. De même, l'innocuité de certains composés organoarséniques dans les plantes, les champignons et les systèmes marins rend ces produits organométalliques intéressants dans la chimie des produits naturels car ils miment des dérivés de phosphore. En addition de l'étude des enzymes et des composés naturels –comme pronostiqué il y a vingt ans–^[45] la chimie bioorganométallique s'implique de nos jours dans des aspects de la science environnementale, la toxicologie, la métallomique, les biosenseurs, les bioanalyses, les radiopharmaceutiques, les enzymes synthétiques, la catalyse, la chimie analytique et la chimie médicinale.^[46] Cette dernière discipline est devenue récemment un champ très fertile en attirant les chimistes intéressés par l'interface et qui souhaitent contribuer à la recherche de thérapies innovantes.^[47,48] Au cours de cette thèse, nous allons approfondir quelques aspects de la chimie médicinale des composés organométalliques.

[45] G Jaouen, A Vessières, I Butler. Bioorganometallic chemistry: a future direction for transition metal organometallic chemistry? *Acc Chem Res* **1993**, *26*, 361–369.

[46] RH Fish, G Jaouen. Bioorganometallic chemistry: structural diversity of organometallic complexes with bioligands and molecular recognition studies of several supramolecular hosts with biomolecules, alkali-metal ions, and organometallic pharmaceuticals. *Organometallics* **2003**, *22*, 2166–2177.

[47] CG Hartinger, PJ Dyson. Bioorganometallic chemistry –from teaching paradigms to medicinal applications. *Chem Soc Rev* **2009**, *38*, 391–401.

[48] EA Hillard, G Jaouen. Bioorganometallics: future trends in drug discovery, analytical chemistry, and catalysis. *Organometallics* **2011**, *30*, 20–27.

4. Chimie médicinale des composés organométalliques

Un atome de carbone avec quatre substituants différents produit deux énantiomères différents : R et S. En revanche, un métal de transition coordonné à six ligands différents peut former jusqu'à trente stéréoisomères. On réalise ainsi que la diversité structurale des composés organométalliques excède largement celle des composés organiques. Le tableau périodique révèle qu'il y a 82 éléments non-radioactifs et que, parmi eux, plus de 60 peuvent former des composés avec des liaisons covalentes et générer des espèces stables à l'air et à l'eau.^[49]

Comme décrit précédemment, les complexes organométalliques possèdent des propriétés physico-chimiques particulières. Parmi les propriétés exploitées pour la création de composés à activités biologiques on peut citer : leur diversité structurale, la possibilité d'échange de leurs ligands, leurs propriétés catalytiques et leurs propriétés redox.^[50,51] A l'aide d'exemples représentatifs, nous allons illustrer quelques applications des composés organométalliques en thérapie. Citons par exemple, des espèces efficaces comme anti-inflammatoires, antibactériens et antiparasitaires.

[49] G Gasser, N Metzler-Nolte. The potential of organometallic complexes in medicinal chemistry. *Curr Op Chem Biol* **2012**, *16*, 84–91.

[50] G Jaouen, N Metzler-Nolte. Eds. Medicinal Organometallic Chemistry. *Top Organomet Chem* **2010**, vol. 32, 1st Ed., Springer.

[51] M Patra, G Gasser. Organometallic compounds: an opportunity for chemical biology? *ChemBioChem* **2012**, *13*, 1232–1252.

4.1 Antiinflammatoires

Bien que le monoxyde de carbone (CO) soit connu pour sa toxicité, ses effets biologiques positifs chez l'humain sont indéniables. Il est ainsi possible d'envisager de l'utiliser pour traiter certaines maladies.^[52] Par exemple, il est responsable de l'amélioration des affections dans le système cardiovasculaire^[53] et dans les réponses inflammatoires.^[54] Ce dernier aspect est particulièrement important pour des applications dans les transplantations d'organes.^[55]

Néanmoins, comme on pouvait le prévoir, le CO sous forme gazeuse est difficile à manipuler et surtout à administrer avec des doses adéquates. De même, le ciblage d'endroits spécifiques dans le corps n'est pas assuré. Cette problématique a voulu être abordée et remédiée par le design des molécules à base d'entités organométalliques qui pourraient libérer la molécule diatomique à dose contrôlée. Ces agents sont appelés « CORMs » de l'anglais CO-releasing molecules (Figure 7).^[56,57,58] Elles ont pour but se diriger vers des sites corporels spécifiques *via* la modulation de leur structure chimique pour libérer le CO avec des doses connues.^[59]

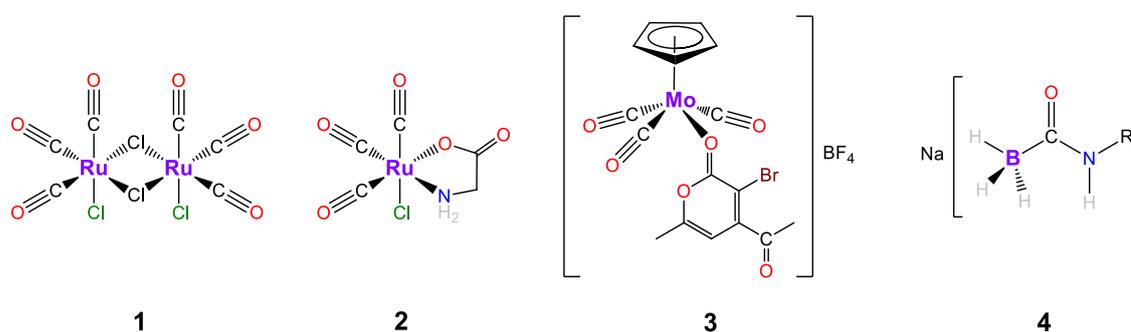


Figure 7. Structures chimiques de quatre CORMs.

- [52] R Motterlini, LE Otterbein. The therapeutic potential of carbon monoxide. *Nat Rev Drug Discov* **2010**, 9, 728–743.
- [53] B Wegiel, DK Gallo, KG Raman, JM Karlsson, B Ozanich, BY Chin, E Tzeng, S Ahmad, A Ahmed, CJ Baty, LE Otterbein. Nitric oxide-dependent bone marrow progenitor mobilization by carbon monoxide enhances endothelial repair after vascular injury. *Circulation* **2010**, 121, 537–548.
- [54] LE Otterbein. Carbon monoxide: innovative anti-inflammatory properties of an age-old gas molecule. *Antiox Redox Sign* **2002**, 4, 309–319.
- [55] A Nakao, AM Choi, N Murase. Protective effect of carbon monoxide in transplantation. *J Cell Mol Med* **2006**, 10, 650–671.
- [56] R Alberto, R Motterlini. Chemistry and biological activities of CO-releasing molecules (CORMs) and transition metal complexes. *Dalton Trans* **2007**, 1651–1660.
- [57] BE Mann. Carbon monoxide: an essential signaling molecule. *Top Organomet Chem* **2010**, 32, 247–285.
- [58] CC Romão, WA Blättler, JDA Seixas, GJL Bernardes. Developing drug molecules for therapy with carbon monoxide. *Chem Soc Rev* **2012**, 41, 3571–3583.
- [59] F Zobi. CO and CO-releasing molecules in medicinal chemistry. *Future Med Chem* **2013**, 5, 175–188.

Par exemple, le complexe dinucléaire de ruthénium **1** libère le CO lors d'un échange de ligand avec le DMSO. Le glycinat **2** est hydrosoluble et libère le CO dans des conditions physiologiques.^[60] Le complexe de molybdène **3** présente un excellent potentiel thérapeutique pour la vasorelaxation.^[61] Des boranocarbamates de sodium **4** hydrosolubles aussi permettent de moduler la libération du CO dans l'eau.^[62] Les résultats sur ce type de composés ont montré que des changements subtils dans leur structure moléculaire présentent des fortes répercussions dans le profil de libération de CO.

Contrairement aux principes actifs conventionnels dont la pharmacodynamie est généralement attribuée à l'interaction de la molécule avec une cible cellulaire, le potentiel bénéfique des CORMs est lié à la biochimie du détachement du CO du centre métallique. De même, l'activité de ce type de complexes est considérée comme indépendante du métal, en revanche, il est considéré seulement comme transporteur.

Certains CORMs ont été conçus pour ne pas libérer le gaz de manière spontané (pre-CORMs), par conséquent, ils doivent être activés. Une de méthode d'activation est par voie photochimique. Un exemple de « photoCORM » est le complexe **5** (Figure 8) qui dégage le CO seulement après l'excitation à la lumière ultraviolette.^[63,64] Une autre possibilité de conduire à la libération de CO est l'activation par des mécanismes enzymatiques et le composé **6** est un exemple de complexe « ET-CORM » (de l'anglais enzyme-triggered CO-releasing molecules) qui est activé grâce à l'action des estérases.^[65,66] Après la perte de la fonctionnalité ester, ce complexe génère un radical hydroxybutadiène au niveau du centre métallique qui active la décomposition de la molécule *via* l'oxydation du Fe(CO)₃ et finalement conduit à la libération de CO.

[60] R Motterlini, BE Mann, TR Johnson, JE Clark, R Foresti, CJ Green. Bioactivity and pharmacological actions of carbon monoxide-releasing molecules. *Curr Pharm Des* **2003**, 9, 2525–2539.

[61] IJS Fairlamb, JM Lynam, BE Moulton, IE Taylor, AK Duhme-Klair, P Sawle, R Motterlini. η^1 -2-Pyrone metal carbonyl complexes as CO-releasing molecules (CO-RMs): A delicate balance between stability and CO liberation. *Dalton Trans* **2007**, 3603–3605.

[62] TS Pitchumony, B Spingler, R Motterlini, R Alberto. Synthesis, structural characterization and CO releasing properties of boranocarbonate [H₃BCO₂H]⁻ derivatives. *Org Biomol Chem* **2010**, 8, 4849–4854.

[63] U Schatzschneider. PhotoCORMS: Light-triggered release of carbon monoxide from the coordination sphere of transition metal complexes for biological applications. *Inorg Chim Acta* **2011**, 374, 19–23.

[64] PC Kunz, W Huber, A Rojas, U Schatzschneider, B Spingler. Tricarbonylmanganese(I) and -rhenium(I) complexes of imidazol-based phosphane ligands: Influence of the substitution pattern on the CO release properties. *Eur J Inorg Chem* **2009**, 5358–5366.

[65] S Romanski, B Kraus, U Schatzschneider, JM Neudorfl, S Amslinger, HG Schmalz. Acyloxybutadiene iron tricarbonyl complexes as enzyme-triggered CO-releasing molecules (ET-CORMs). *Angew Chem Int Ed* **2011**, 50, 2392–2396.

[66] S Romanski, B Kraus, M Guttentag, W Schlundt, H Rucker, A Adler, JM Neudorfl, R Alberto, S Amslinger, HG Schmalz. Acyloxybutadiene tricarbonyl iron complexes as enzyme-triggered CO-releasing molecules (ET-CORMs): a structure-activity relationship study. *Dalton Trans* **2012**, 41, 13862–13875.

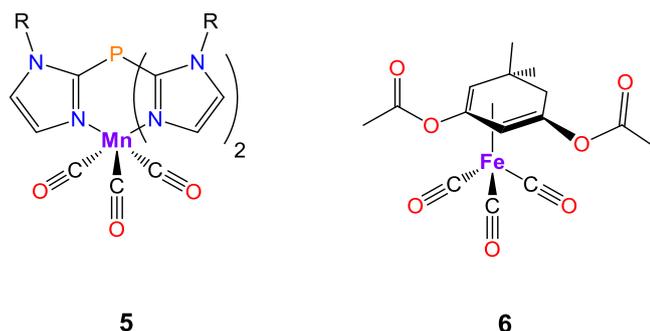


Figure 8. Structures chimiques de deux pro-CORMs.

Un exemple plus récent est un complexe stable, hydrosoluble et biocompatible obtenu grâce à l'introduction de la cyanocobalamine (vitamine B₁₂) dans la sphère de coordination d'un CORM à base de Re²⁺.^[67] Dans ce complexe, le métal est coordonné par le groupe cyano de la biomolécule connue (Figure 9). Les résultats de la toxicité de ces produits contre les cardiomyocytes ont montré que ces espèces ne représentent pas un danger contre ces cellules et, de même, il a été prouvé qu'elles exercent des effets bénéfiques contre des blessures causées par ischémie et reperfusion. D'autres résultats montrent qu'elles ont un effet cytoprotecteur qui pourrait être attribué à la libération du CO extracellulaire et à l'action antioxydante des molécules. Il est important de souligner que ces produits n'affectent pas la respiration mitochondriale et que des évidences biochimiques indiquent leur innocuité.

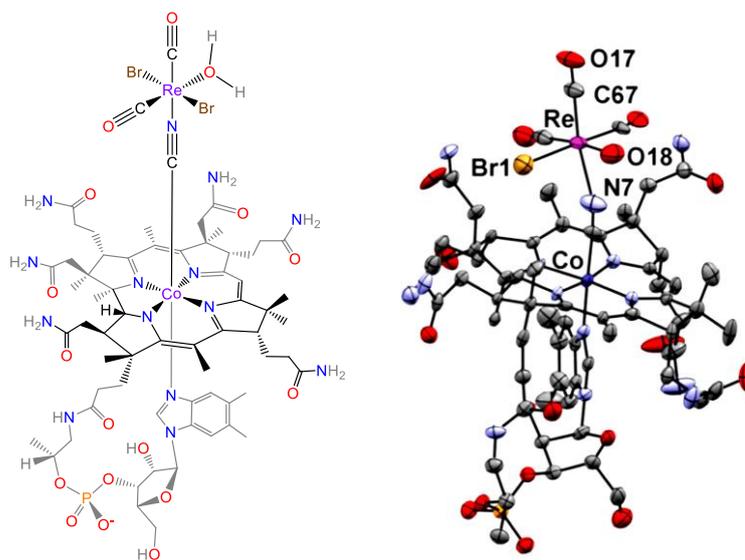


Figure 9. Structure chimique et structure cristalline^[67] d'un CORM-B₁₂.

[67] F Zobi, O Blacque, RA Jacobs, MC Schaub, AY Bodganova. 17e⁻ rhenium dicarbonyl CO-releasing molecules on a cobalamin scaffold for biological application. *Dalton Trans* 2012, 41, 370–378.

4.2 Antibactériens

Un des premiers exemples de molécules ayant montré des effets biologiques est l'arsphénamine –mieux connue comme Salvarsan®– qui a été développé par Paul Ehrlich au début du XX^e siècle pour traiter la syphilis.^[68] Curieusement, il s'agit d'un composé organométallique à base d'arsenic. Cet agent a eu un énorme succès pour traiter les patients qui avaient acquis la maladie occasionnée par le parasite *Treponema pallidum*. La méthode d'Ehrlich pour ce traitement lui a valu le titre de « père de la chimiothérapie » et ceci grâce à l'utilisation d'un composé bioorganométallique. Cependant l'identité structurale du Salvarsan restait non clarifiée à l'époque. Il y a sept ans, des études spectrométriques ont permis d'établir l'identité du Salvarsan. De façon intéressante, il s'agit d'un mélange contenant deux formes cycliques à trois et à cinq membres (Figure 10).^[69] Ces études vérifient la nature organométallique du composé.

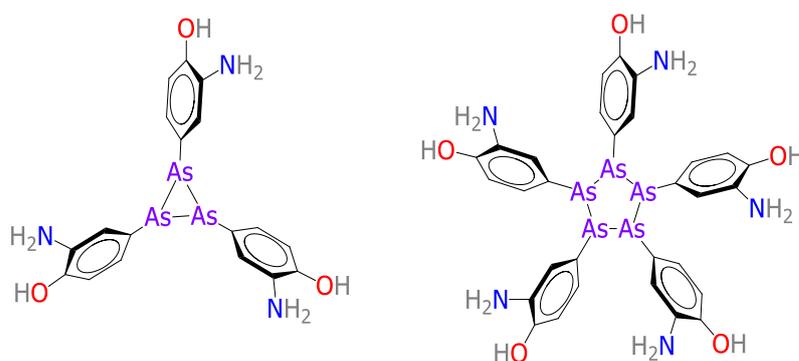


Figure 10. Structures chimiques du Salvarsan.

Par ailleurs, la résistance bactérienne aux antibiotiques commerciaux est un sujet de grande importance et le développement des nouvelles classes de composés pour contrôler les agents pathogènes est requis. Les chercheurs contemporains en chimie médicinale ont également voulu faire face à cette problématique en utilisant des espèces organométalliques comme agents antibactériens.^[70] Un exemple pertinent concerne les composés organométalliques à base d'argent. On sait que l'utilisation des composés d'argent comme agents antimicrobiens date du XVII^e siècle et le nitrate d'argent (AgNO_3) en est un exemple.^[71]

[68] P Ehrlich, A Bertheim. 3,3'-diamino-4,4'-dihydroxyarsenobenzene hydrochloride and its nearest relations. *Ber Deutsch Chem Ges* **1912**, *45*, 756–766.

[69] NC Lloyd, HW Morgan, BK Nicholson, RS Ronimus. The composition of Ehrlich's salvarsan: resolution of a century-old debate. *Angew Chem Int Ed* **2005**, *44*, 941–944.

[70] M Patra, G Gasser, N Metzler-Nolte. Small organometallic compounds as antibacterials agents. *Dalton Trans* **2012**, *41*, 6350–6358.

[71] HJ Klasen. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. *Burns* **2000**, *26*, 117–130.

En revanche, même si des évidences expérimentales ont montré que l'ion Ag^+ est l'espèce responsable de l'activité antibactérienne des composés –grâce à l'association à différentes cibles cellulaires comme les enzymes, le matériel génétique ou la membrane cellulaire– le mécanisme d'action des dérivés d'argent n'est pas totalement compris et la découverte des β -lactamines a atténué l'intérêt pour ce type de composés. Néanmoins, de nouvelles recherches dans ce domaine ont montré récemment que des complexes carbéniques *N*-hétérocycliques **1** hydrosolubles (Figure 11) présentaient des effets antibactériens contre des espèces cliniquement pertinentes comme : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces complexes ont montré de forts effets antimicrobiens, meilleurs que les agents conventionnels et leurs valeurs de concentration minimal inhibitrice (MIC) suggèrent des effets bactériostatiques meilleures que l' AgNO_3 .^[72]

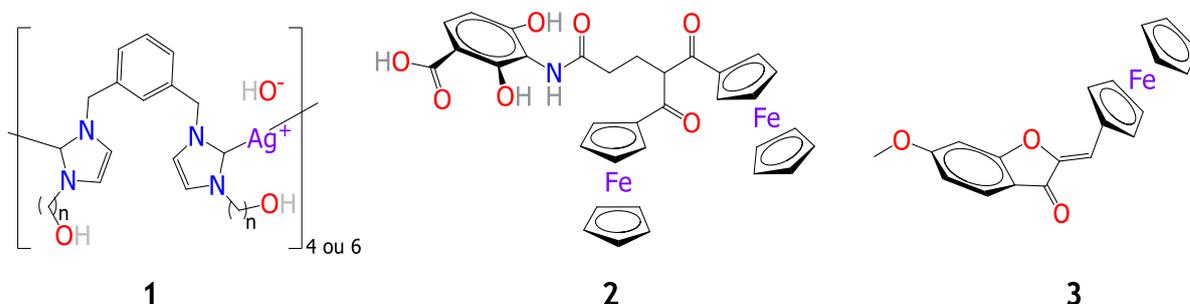


Figure 11. Structure chimique de complexes NHC d'argent antibactériens et de composés ferrocéniques à activités antibactériennes.

Le composé ferrocénique **2** (Figure 11) –inspiré du produit naturel platensimycine– inhibe sélectivement la croissance d'une souche de *Staphylococcus aureus*^[73] et la ferrocényl-aurone **3** présente également une bonne activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* mais aussi contre *Staphylococcus epidermidis* et *Escherichia coli*.^[74] Les valeurs de MIC pour **3** ont été rapportés comme étant inférieures à 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Ces résultats montrent que l'incorporation du motif organométallique module favorablement la réponse des molécules dans les systèmes biologiques.

[72] A Kascatan-Nebiogl, MJ Panzner, CA Tessier, CL Cannon, WJ Youngs. *N*-heterocyclic carbene-silver complexes: A new class of antibiotics. *Coord Chem Rev* **2007**, 251, 884–895.

[73] M Patra, G Gasser, M Wenzel, K Merz, JE Bandow, N Metzler-Nolte. Synthesis and biological evaluation of ferrocene-containing bioorganometallics inspired by the antibiotic platensimycin lead structure. *Organometallics* **2010**, 29, 4312–4319.

[74] KN Tiwari, JP Monserrat, A Hequet, C Ganem-Elbaz, T Cresteil, G Jaouen, A Vessières, EA Hillard, C Jolivald. *In vitro* inhibitory properties of ferrocene-substituted chalcones and aurones on bacterial and human cell cultures. *Dalton Trans* **2012**, 41, 6451–6457.

4.3 Antiparasitaires

L'un des premiers composés organoarséniques qui a été synthétisé et identifié pour son activité antiparasitaire contre le *Trypanosome* a été l'atoxyl **1** (Figure 12). Cependant, ce composé a montré une toxicité aussi contre le patient et son utilisation a été suspendue. La tryparsamide **2**, par contre, est considéré comme le premier composé d'arsenic cliniquement effectif pour traiter la trypanosomose humaine.^[75] Ce composé organométallique hydrosoluble possède une activité significative contre le parasite *Trypanosome gambiense*. Les propriétés physico-chimiques de la tryparsamide **2** ont permis de l'administrer par voie intramusculaire et voie intraveineuse.

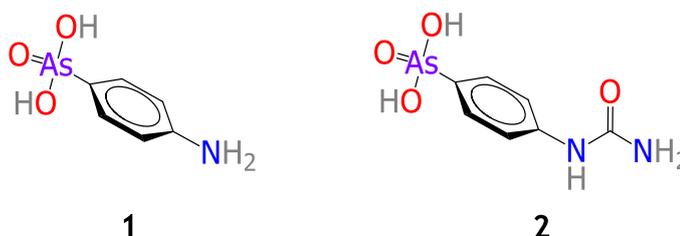


Figure 12. Structures chimiques de l'atoxyl (1) et de la tryparsamide (2).

Cette année, des dérivés organométalliques du médicament praziquantel ont montré des effets antiparasitaires contre l'espèce *Schistosoma mansoni*.^[76] Dans cette étude, l'entité organométallique tricarbonylchrome(0) [Cr(CO)₃] a été sélectionnée pour être incorporée dans la structure du médicament en partant du fait que le produit résultant (Figure 13) a une stabilité satisfaisante en présence de l'air et de l'eau et qu'il voit également ses propriétés physico-chimiques améliorées comme la lipophilie ou l'activation de son cycle aromatique. Les résultats montrent que les composés sont stables et sélectifs contre le parasite adulte qui se situe dans le système cardiovasculaire de l'humain infecté.

[75] S Gibaud, G Jaouen. Arsenic-based drugs: from fowler's solution to modern anticancer chemotherapy. *Top Organomet Chem* **2010**, 32, 1–20

[76] M Patra, K Ingram, V Pierroz, S Ferrari, B Spingler, RB Gasser, J Keiser, G Gasser. [(η^6 -praziquantel)Cr(CO)₃] derivatives with remarkable *in vitro* anti-schistosomal activity. *Chem Eur J* **2013**, 19, 2232–2235.

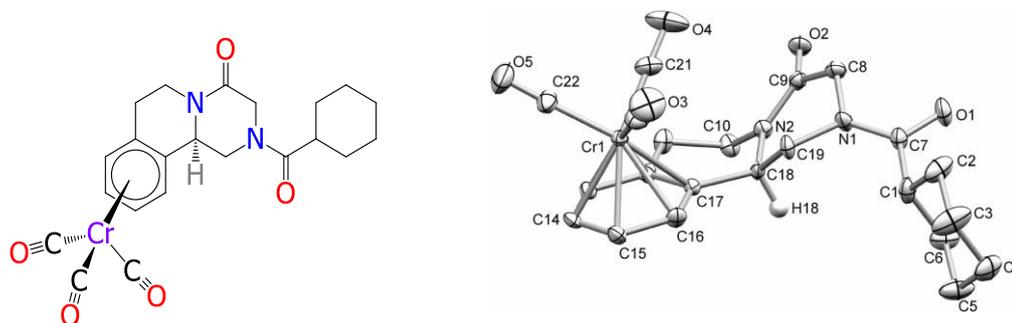


Figure 13. Structure chimique et structure cristalline^[76] du complexe de chrome à activité antiparasitaire contre *Schistosoma*.

La malaria est le problème d'infection parasitaire le plus important dans le monde. Elle cause autour de trois millions de morts chaque année. Le développement de résistance de la part du parasite contre les médicaments conventionnels représente un grave problème. Comme nous avons vu, la dérivation de molécules de médicaments avec des espèces organométalliques est une bonne alternative pour de moduler leur activité. L'un des composés des plus prometteurs est la « ferroquine » l'analogue ferrocénique de la chloroquine (Figure 14).^[77,78]

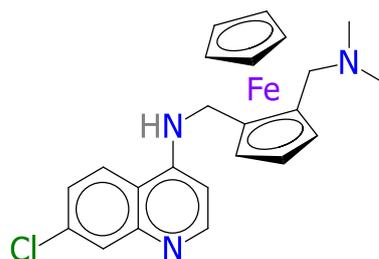


Figure 14. Structure chimique de la ferroquine.

[77] C Biot, G Glorian, LA Maciejewski, JS Brocard. Synthesis and antimalarial activity *in vitro* and *in vivo* for a new ferrocene-chloroquine analogue. *J Med Chem* **1997**, *40*, 3715–3718.

[78] D Dive, C Biot. Ferrocene conjugates of chloroquine and other antimalarials: the development of ferroquine, a new antimalarial. *ChemMedChem* **2008**, *3*, 383–391.

Ce composé ferrocénique est capable d'agir de manière similaire contre la souche sensible à la chloroquine et de manière intéressante, ceci est aussi capable d'agir contre la souche résistante au médicament. La ferroquine est aussi très active contre d'autres types de souches de *Plasmodium*. Des études chez le rat ont montré que son administration, avant le contact avec le parasite, protège de l'infection. À notre connaissance, la ferroquine est le seul composé organométallique à avoir obtenu des résultats positifs lors d'une phase II d'essais cliniques du développement pharmaceutique.

Un autre exemple d'un composé organométallique inspiré de la chloroquine est le complexe piano-stool de la Figure 15. Ce composé aryle tricarbonyl chrome a montré une bonne activité *in vitro* contre deux souches du parasite, une sensible et une résistante à la chloroquine. L'activité du composé sur la souche résistante est deux fois celle de la chloroquine. Des études ultérieures sont nécessaires pour déterminer l'origine de cette activité augmentée.^[79]

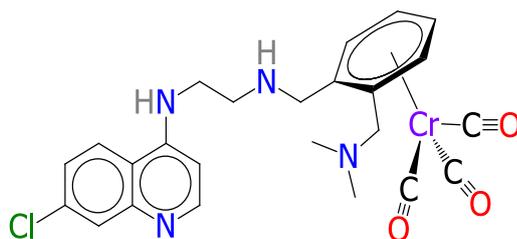


Figure 15. Structure chimique du dérivé organométallique de la chloroquine à base de chrome.

Comme nous avons pu le noter dans ces exemples, il est possible de former des composés organométalliques stables qui offrent des alternatives thérapeutiques innovantes contre les maladies difficiles à soigner. Des modifications judicieuses dans leurs structures peuvent apporter des améliorations considérables. Ainsi, les complexes organométalliques fournissent des outils versatiles pour le design des candidats à médicaments. Les liaisons métal-carbone présentent des effets électroniques et stériques qui peuvent être exploités pour contrôler divers activités biologiques.

[79] L Glans, D Taylor, C de Kock, PJ Smith M Haukka, JR Moss, E Nordlander. Synthesis, characterization and antimalarial activity of new chromium arene-quinoline half sandwich complexes. *J Inorg Biochem* **2011**, 105, 985–990.

5. Le cancer : un défi pour les chimistes médicaux

Le cancer est un problème public de grande importance dans les pays développés. On estime qu'un décès sur quatre aux États Unis est dû au cancer. Chaque année, la Société Américaine de Cancer calcule le nombre de nouveaux cas de cancer et de morts attendus. Ainsi pour cette année, 1 660 290 nouveaux cas de cancer sont attendus aux Etats Unis : 854 790 hommes et 805 500 femmes. En terme de mortalité, l'estimation est de 580 350 morts : 52.89% d'hommes et 47.11% de femmes.^[80]

L'Institut Nationale du Cancer des États-Unis définit le cancer comme un « terme générique utilisé pour désigner les maladies dans lesquelles il existe une division cellulaire incontrôlée pouvant envahir les tissus environnants ».^[81] Les cellules cancéreuses peuvent atteindre d'autres organes *via* les systèmes sanguin et lymphatique et créer des métastases. Le cancer ne doit pas être considéré comme une seule maladie mais comme un ensemble de maladies. De nos jours, 100 types différents de cancer sont connus et sont nommés en fonction de l'organe ou du type des cellules affectées. Ainsi, il est possible de regrouper les cancers en quatre grandes catégories : (i) carcinome, (ii) sarcome, (iii) leucémie, (iv) lymphome/myélome et (iv) les cancers du système nerveux central.

Le **carcinome** est un cancer qui commence dans la peau ou dans les tissus qui couvrent les organes internes. Le **sarcome** est un cancer qui commence dans les os, les cartilages, les tissus gras, les muscles, les vaisseaux sanguins ou d'autres tissus connectifs ou de support. La **leucémie** est un cancer qui commence généralement au niveau de la moelle osseuse au moment de la formation du tissu sanguin pour générer de nombreuses cellules anormales qui vont entrer dans le système vasculaire. Le **lymphome** et le **myélome** multiple sont des cancers qui commencent dans les cellules du système immunologique. Les **cancers du système nerveux** central se génèrent dans les tissus cérébraux et la moelle épinière. Tous les cancers commencent au niveau cellulaire et pour comprendre le cancer, il est important de connaître ce qui se passe lorsque les cellules normales deviennent cancéreuses.

[80] R Siegel, D Nashadham, A Jemal. Cancer statistics 2013. *CA Cancer J Clin* **2013**, 63, 11–30.

[81] NCI Dictionary of cancer terms. <http://www.cancer.gov/dictionary?CdrID=45333> (révisé le 2 juin 2013).

Le corps est fait de différents types des cellules. Les cellules croissent et se divisent d'une manière contrôlée pour produire plus de cellules qui sont nécessaires pour maintenir l'homéostasie. Quand les cellules vieillissent ou sont blessées (Figure 16) elles meurent et sont remplacées par d'autres cellules. Cependant, ce processus ordinaire peut fonctionner incorrectement. Le matériel génétique (ADN) d'une cellule peut être endommagé et produire des mutations qui affecteront la croissance normale des cellules et leur division. Lorsque cela arrive, les cellules ne meurent pas, même si celles-ci sont censées le faire. Les cellules anormales peuvent former une masse de tissu appelé « tumeur ».^[82]

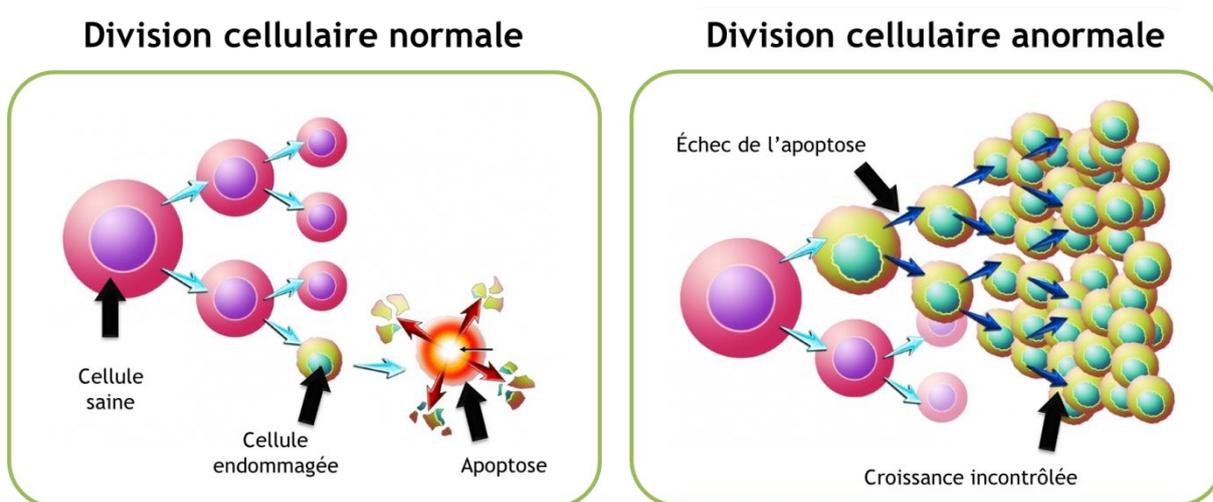


Figure 16. Division cellulaire normale et division cellulaire anormale.^[83]

Il est important de souligner que toutes les tumeurs ne sont pas forcément malignes. Les **tumeurs bénignes** peuvent être extirpées et de manière générale celles-ci ne se reproduisent plus. De même, ce type de tumeurs n'a pas la capacité de se répandre dans d'autres organes. En revanche, les **tumeurs malignes** peuvent facilement envahir d'autres tissus et se répandre dans le corps. Les tumeurs induites sont appelées « **métastases** ». Toutes les tumeurs malignes ne sont pas forcément métastatiques, la leucémie en est un exemple. En revanche, il y a des cancers qui peuvent développer rapidement des métastases, le cancer du sein est en un exemple.

[82] <http://www.cancer.gov/cancertopics/cancerlibrary/what-is-cancer> (révisé le 2 juin 2013).

[83] Adapté de « Normal versus cell division ». *Medical illustration, human anatomy drawing*. Item No AU00047. <http://graphicwitness.medicalillustration.com/> (révisé le 10 juin 2013).

5.1 Le cancer du sein

Entre tous les cancers, le cancer du sein fait l'objet d'une attention particulière dans les pays développés. Par exemple, parmi les 1 660 290 nouveaux cas de cancers attendus aux États Unis, 234 580 seront des cancers du sein et 99.05% seront diagnostiqués chez la femme. Ce type de cancer, est le plus diagnostiqué chez la femme dans le monde et il y représente la première cause de mort.^[84] Des 580,350 morts prévues aux États Unis, 40 030 seront à cause du cancer du sein. L'Institut National Américain du Cancer définit cette maladie comme « le cancer qui se forme dans les tissus des seins, généralement dans les conduits (les tubes qui emmènent le lait au mamelon) et les lobules (les glandules qui produisent le lait) ». Bien que très peu fréquent, le cancer du sein peut exister également chez les hommes.^[85]

Le cancer du sein est classé généralement selon son stade, pathologie et degré de l'expression des récepteurs. Parmi les récepteurs intracellulaires d'importance, nous pouvons citer les récepteurs des œstrogènes (ER) en premier lieu, suivis des récepteurs de la progestérone (PR) et des récepteurs 2 du facteur de croissance épidermique (HER2).

5.1.1 Le cancer du sein hormono-dépendant

Les récepteurs des œstrogènes (ER) sont surexprimés approximativement dans 70% des cas de cancer du sein. Les cancers ayant cette caractéristique sont nommés « ER positifs (ER+) » ou « hormono-dépendants ». L'association entre les hormones –comme l'œstradiol– et l'ER stimule la prolifération des cellules des glandes mammaires.^[86] Une lignée représentative de ce type de cellules cancéreuses est la lignée MCF-7. Ainsi, le fait de cibler l'ER est une stratégie pour le traitement de maladies régulées par les œstrogènes. Pour traiter le cancer du sein de type ER+, la prescription de modulateurs sélectifs du récepteur des œstrogènes (SERM) peut être nécessaire. L'un des médicaments les plus utilisés de ce type est l'agent antioestrogénique tamoxifène **TAM** (Figure 17).^[87]

[84] SE Moody, D Perez, TC Pan, CJ Sarkisian, CP Portocarrero, CJ Sterner, KL Notornfrancesco, RD Cardif, LA Chodosh. The transcriptional repressor snail promotes mammary tumor recurrence. *Cancer Cell* **2005**, 8, 197–209.

[85] <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast> (révisé 2 juin 2013)

[86] BJ Deroo, KS Korach. Estrogen receptors and human disease. *J Clin Invest* **2006**, 116, 561–570.

[87] VC Jordan. Tamoxifen: a most unlikely pioneering medicine. *Nat Rev Drug Discovery* **2003**, 2, 205–213.

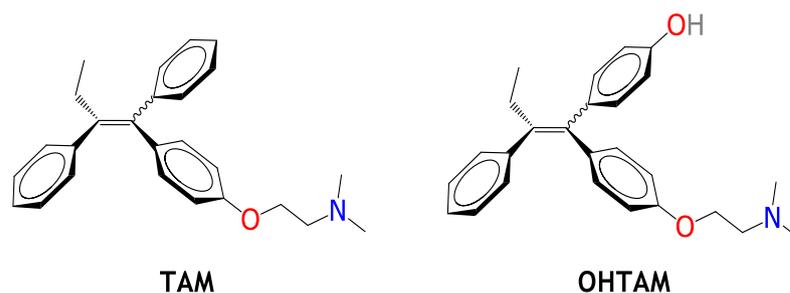


Figure 17. Structures chimiques du tamoxifène **TAM** et de son métabolite actif l'hydroxytamoxifène **OHTAM**.

TAM subit une biotransformation hépatique catalysée par le système cytochrome P-450 (CYP) pour former les métabolites *N*-diméthylés, 4-hydroxylés et α -hydroxylés.^[88] Parmi les métabolites actifs, le 4-hydroxytamoxifène **OHTAM** montre une affinité encore plus forte que le **TAM** pour l'isoforme alpha (α) du récepteur des œstrogènes pour produire l'effet antagoniste.^[89]

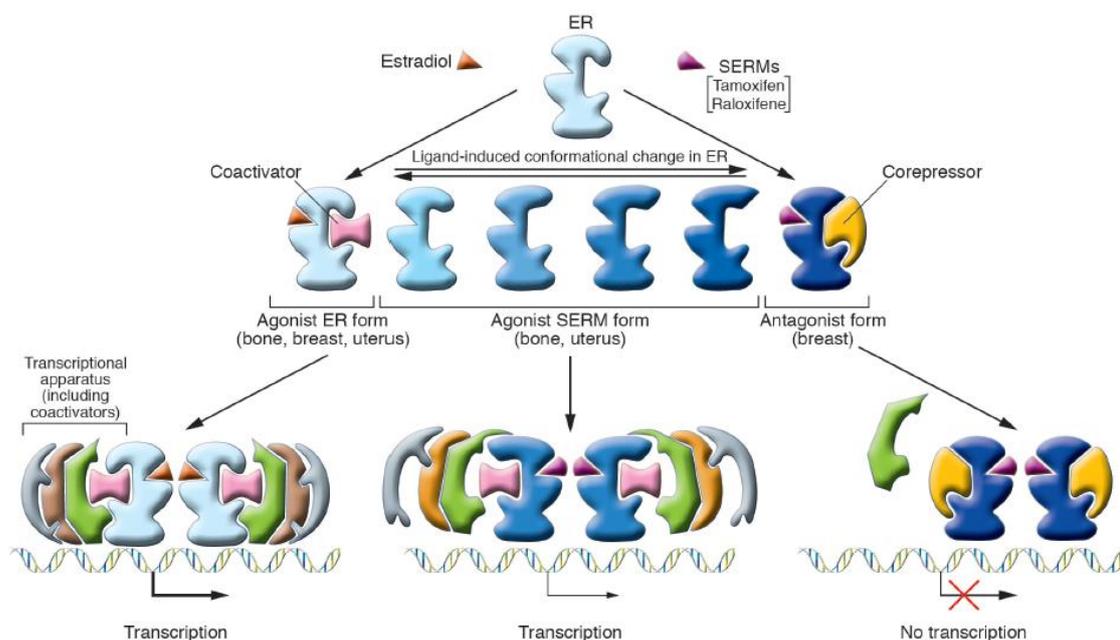


Figure 18. Structure différentielle du récepteur des œstrogènes et recrutement des coactivateurs et corépresseurs.^[86]

[88] Z Desta, BA Ward, NV Soukhova, DA Flockhart. Comprehensive evaluation of tamoxifen sequential biotransformation by the human cytochrome P450 system *in vitro*: prominent roles for CYP3A and CYP2D6. *J Pharmacol Exp Ther* **2004**, *310*, 1062–1075.

[89] E Coezy, JL Borgna, H Rochefort. Tamoxifen and metabolites in MCF7 cells-correlation between binding to estrogen-receptor and inhibition of cell-growth. *Cancer Res* **1982**, *42*, 317–323.

Le concept de modulateur sélectif des récepteurs des œstrogènes est basé sur la capacité de promouvoir des interactions entre le récepteur et diverses protéines comme les corégulateurs transcriptionnels (coactivateurs ou corépresseurs). Après la formation du complexe ER-ligand –où le ligand peut être l’hormone ou un SERM– le récepteur subit un changement structural (Figure 18) qui conditionne le recrutement des protéines corégulatrices transcriptionnelles. Les coactivateurs conduisent à la transcription pendant que les corépresseurs l’inhibent. Cette inhibition se traduit par un effet antioestrogénique et, par conséquent, antiprolifératif.

La relation entre les protéines à effets coactivateurs et corépresseurs varie selon le tissu. Ainsi, un même ligand peut agir comme **agoniste** dans un tissu –où les coactivateurs prédominent– ou comme **antagoniste** dans un autre tissu –où les corépresseurs prédominent–. Par exemple, le tamoxifène est un antagoniste dans le sein mais est un agoniste dans l’os et l’endomètre. Dans les os, l’effet est positif pour les patients puisqu’il prévient l’ostéoporose. En revanche, dans l’endomètre l’effet agoniste du tamoxifène augmente légèrement le risque de cancer d’utérus.

5.1.2 Le cancer du sein triple-négatif

Le cancer du sein type triple-négatif (TNBC, de l’anglais **triple-negative breast cancer**) est un ensemble hétérogène de néoplasmes qui est défini par l’absence de trois cibles : (i) le récepteur des œstrogènes (ER), (ii) le récepteur de la progestérone (PR) et (iii) le récepteur 2 de croissance épidermique humaine (HER2). Une lignée cellulaire représentative de ce type de cellules cancéreuses est la lignée MDA-MB-231. Approximativement, 15% des cancers sont désignés comme triple-négatifs.^[90,91] Vu que ce type de cancer agressif manque de cibles moléculaires définies, son pronostic reste sombre et le design des médicaments adaptés est un défi pour les chimistes médicaux.

[90] LA Carey, EC Dees, L Sawyer, L Gatti, DT Moore, F Collichio, DW Ollila, CI Sartor, ML Graham, CM Perou. The triple negative paradox: Primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* **2007**, *13*, 2329–2334.

[91] CR Tate, LV Rhodes, HC Segar, JL Driver, FN Pounder, ME Burrow, BM Collins-Burrow. Targeting triple-negative breast cancer cells with the histone deacetylase inhibitor panobinostat. *Breast Cancer Res* **2012**, *14*, R79.

6. Les composés organométalliques contre le cancer

La découverte du ferrocène^[92] et l'élucidation de sa structure chimique remarquable^[93] est considéré comme le début de la chimie organométallique moderne. Depuis lors, ce métallocène a été utilisé pour de nombreuses applications, parmi celles-ci, la chimie médicinale.^[94,95]

Les composés organométalliques –dans des situations favorables– sont de bons candidats pour devenir des médicaments anticancéreux offrant une variété de possibilités, dont par exemple des mécanismes d'action différents des agents de la thérapie conventionnelle.^[96,97] L'intérêt du ferrocène pour la chimie médicinale (Figure 19) débute vers les années 80's, quand certains sels du ferricenium ont révélé des effets antitumoraux.^[98] A partir de cette observation, il a été proposé que les composés ferrocéniques pouvaient être oxydés à l'intérieur de la cellule et qu'une telle oxydation pouvait être à l'origine de ces effets cytotoxiques. Il est important de mentionner que le ferrocène n'est pas toxique par lui-même.

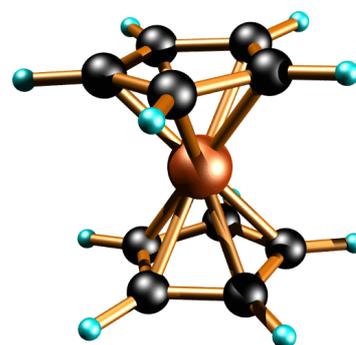


Figure 19. Structure 3D du ferrocène.^[99]

[92] T J Kealy, PL Pauson. A new type of organo-iron compound. *Nature* **1951**, *168*, 1039–1040.

[93] G Wilkinson, R Rosenblum, MC Whiting, RB Woodward. The structure of iron bis-cyclopentadienyl. *J Am Chem Soc* **1952**, *74*, 2125–2126.

[94] N Metzler-Nolte, M Salmain. In: *Ferrocenes Ligands Materials and Biomolecules*; Stepnicka, P., Ed.; Wiley, 2008; pp 499–639.

[95] MFR Fouda, MA Abd-Elzaher, RA Abdelsamaia, AA Labib. On the medicinal chemistry of ferrocene. *Appl Organomet Chem* **2007**, *21*, 613–625.

[96] G Gasser, I Ott, N Metzler-Nolte. Organometallic anticancer compounds. *J Med Chem* **2011**, *54*, 3–25.

[97] Hartinger CG, Metzler-Nolte N, Dyson PJ. Challenges and opportunities in the development of organometallic anticancer drugs. *Organometallics* **2012**, *31*, 5677–5685

[98] P Köpf-Meyer, H Köpf, W Neuse. Ferricenium complexes: a new type of water soluble antitumor agent. *J Cancer Res Clin Oncol* **1984**, *108*, 336–340.

[99] <http://syntekglobalxtremefuelreatment1.files.wordpress.com/2012/12/xftferrocenemolecule.gif> (révisé le 2 juin 2013)

Par ailleurs, il a été proposé que l'activité des dérivés de l'ion ferricenium ne pouvait pas être liée à l'intercalation directe à l'ADN. En revanche, il a été observé que ces espèces étaient capables d'engendrer des radicaux HO[•] dans les cellules cancéreuses et d'endommager rapidement leur ADN.^[100] Des études ultérieures ont confirmé la capacité des sels de ferricenium de produire des espèces réactives d'oxygène (ROS) comme conséquence de leur dégradation dans l'eau en présence d'oxygène. De cette manière, la toxicité de ce type d'espèces (Figure 20) a été attribuée à leur lipophilie élevée qui permet leur passage transmembranal pour conduire à l'endommagement oxydatif de l'ADN par la production de ROS simultanée à leur dégradation.^[101]

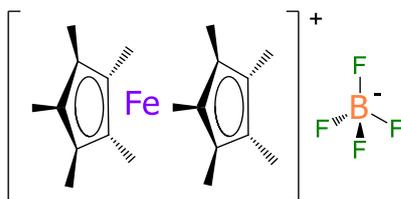


Figure 20. Sel de ferricenium à activité cytotoxique sur les cellules de cancer du sein MCF-7.

6.1 Les ferrocifènes

Probablement, l'un des exemples des plus cités dans la littérature scientifique montrant les effets antitumoraux des composés organométalliques est la famille des « **ferrocifènes** » qui a commencé à être développée à Paris il y a plus de vingt ans. Le groupe du Pr Jaouen a synthétisé les premiers composés organométalliques montrant des effets antiprolifératives remarquables particulièrement contre le cancer du sein. Ainsi, le simple remplacement du groupe phényle β par le ferrocényle et l'homologation de la chaîne alkyle de la molécule du tamoxifène **TAM** ou de son métabolite actif l'hydroxytamoxifène **OHTAM**, a produit les dérivés ferrocifène **FcTAM** et hydroxyferrocifène **FcOHTAM**, respectivement (Figure 21).^[102,103]

[100] D Osella, M Ferrali, P Zanello, F Laschi, M Fontani, C Nervi, G Cavigliolo. On the mechanism of the antitumor activity of ferrocenium derivative. *Inorg Chim Acta* **2000**, 306, 42–48.

[101] G Tabbi, C Cassino, G Cavigliolo, D Colangelo, A Ghiglia, I Vivano, D Osella. Water stability and cytotoxic activity relationship of a series of ferrocenium derivatives. ESR insights on the radical production during the degradation process. *J Med Chem* **2002**, 45, 5786–5796.

[102] S Top, J Tang, A Vessières, D Carrez, C Provote, G Jaouen. Ferrocenyl hydroxytamoxifen : a prototype for a new range of oestradiol receptor site-directed cytotoxics. *Chem Commun* **1996**, 955–956.

[103] S Top, A Vessières, G Leclercq, J Quivy, J Tang, J Vaissermann, M Huché, G Jaouen. Synthesis, biochemical properties and molecular modeling studies of organometallic specific estrogen receptor modulators (SERMs), the ferrocifens and hydroxyferrocifens: Evidence for an antiproliferative effect of hydroxyferrocifens on both hormone-dependent and hormone-independent breast cancer cell lines. *Chem Eur J* **2003**, 9, 5223–5236.

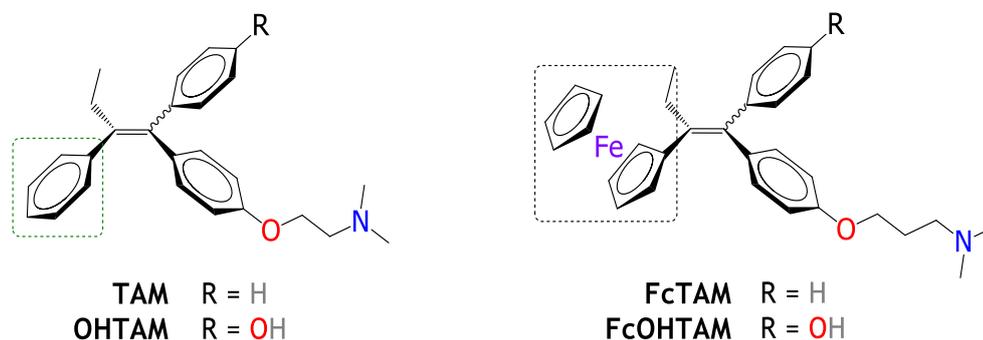


Figure 21. Structures chimiques du tamoxifène (**TAM**), de l'hydroxytamoxifène (**OHTAM**), du ferrocifène (**FcTAM**) et de l'hydroxyferrocifène (**FcOHTAM**).

En raison des méthodes de synthèse, **FcOHTAM** et ses analogues ont toujours été obtenus sous la forme de mélanges d'isomères géométriques *E* et *Z*. Des études spectroscopiques par RMN ont permis de les identifier et de découvrir que ces espèces s'isomérisent facilement en solution. Cela est consistant avec le fait que l'**OHTAM** s'isomérisent également dans des conditions physiologiques.^[104] Ainsi, le fait d'utiliser des mélanges d'isomères *E* et *Z* lors des études biologiques sur ce type de composés ne présente pas d'inconvénient puisque c'est ce qui se produit *in vivo*.

Sans action sur les cellules saines, les « ferrocifènes » montrent des effets antiprolifératifs meilleurs que leurs analogues organiques sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant. Par analogie à l'**OHTAM** et au vu des résultats sur les récepteurs des œstrogènes, l'activité sur les cellules cancéreuses MCF-7 a été attribuée dans un premier temps aux effets antioestrogéniques.^[105] Ainsi, ces complexes sont devenus les premiers modulateurs organométalliques sélectifs des œstrogènes (SERMs) efficaces contre le cancer du sein ER(+).^[106,107]

[104] DW Robertson, JA Katzenellenbogen. Synthesis of the *E* and *Z* isomers of the antiestrogen tamoxifen and its metabolite, hydroxytamoxifen in tritium-labeled form. *J Org Chem* **1982**, *47*, 2387–2393.

[105] G Jaouen, S Top, A Vessières, G Leclercq, J Quiivy, L Jin, A Croisy. The first organometallic antioestrogens and their antiproliferative effects. *CR Acad Sci Paris* **2000**, Série IIc, 89–93.

[106] G Jaouen, S Top, A Vessières, G Leclercq, MJ McGlinchey. The first organometallic selective estrogen receptor modulators (SERMs) and their relevance to breast cancer. *Curr Med Chem* **2004**, *11*, 2505–2517.

[107] EA Hillard, A Vessières, G Jaouen. Ferrocene functionalized endocrine modulators as anticancer agents. *Top Organomet Chem* **2010**, *32*, 81–117.

Cependant, ces composés ont également montré une activité importante sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein hormono-indépendant.^[108] De façon très intéressante, cette activité est plus élevée que celle observée sur les cellules MCF-7. Toutefois, les cellules MDA-MB-231 manquent de l'ER. Par conséquent, la forte activité antiproliférative des « ferrocifènes » ne peut pas être attribuée aux effets antiœstrogéniques. Cela est supporté par le fait que les agents antiœstrogéniques **TAM** et l'**OHTAM** ne sont pas actifs contre MDA-MB-231 dans les mêmes conditions. De même, nous pouvons exclure l'interaction avec le récepteur de la progestérone (PR) et avec le récepteur 2 du facteur de la croissance épidermique (HER2) pour les effets cytotoxiques contre MDA-MB-231 sachant que ces cellules, en tant que triples négatives, ne possèdent pas ces cibles intracellulaires.

Depuis la découverte des propriétés cytotoxiques des « ferrocifènes » le groupe s'est dédié à la synthèse de nombreux dérivés organométalliques qui ont permis d'effectuer des études de relation structure-activité avec des analogues portant des modifications structurales à différents niveaux moléculaires comme : la longueur de la chaîne alkyle,^[109] l'unité organométallique,^[110,111] la conjugaison^[112] et la nature des substituants aromatiques.^[113,114,115] A partir de ces résultats, nous avons lancé l'hypothèse que le système π -conjugué aux groupes aromatiques substitués par des groupes électrodonneurs et l'entité ferrocényle était un impératif structurelle pour assurer une activité cytotoxique.

[108] A Nguyen, A Vessières, EA Hillard, S Top, P Pigeon, G Jaouen. Ferrocifens and ferrocifenols as new potential weapons against breast cancer. *Chimia* **2007**, *61*, 716–724.

[109] A Nguyen, S Top, P Pigeon, A Vessières, EA Hillard, MA Plamont, M Huché, C Rigamonti, G Jaouen. Synthesis and structure-activity relationships of ferrocenyl tamoxifen derivatives with modified side chains. *Chem Eur J* **2009**, *15*, 684–696.

[110] A Vessières, S Top, W Beck, E Hillard, G Jaouen. Metal complex SERMs (selective oestrogen receptor modulators). The influence of different metal units on breast cancer cell antiproliferative effects. *Dalton Trans* **2006**, 529–541.

[111] EA Hillard, A Vessières, S Top, P Pigeon, K Kowalski, M Huché, G Jaouen. Organometallic diphenols: the importance of organometallic moiety on the expression of a cytotoxic effect on breast cancer cells. *J Organomet Chem* **2007**, *692*, 1315–1326.

[112] EA Hillard, A Vessières, F Le Bideau, D Plažuk, D Spera, M Huché, G Jaouen. A series of unconjugated ferrocenyl phenols: prospects as anticancer agents. *ChemMedChem* **2006**, *1*, 551–559.

[113] P Pigeon, S Top, O Zekri, EA Hillard, A Vessières, MA Plamont, O Buriez, E Labbe, M Huché, S Boutamine, C Amatore, G Jaouen. The replacement of a phenol group by an aniline or acetanilide group enhances the cytotoxicity of 2-ferrocenyl-1,1-diphenyl-but-1-ene compounds against breast cancer cells. *J Organomet Chem* **2009**, *694*, 895–901.

[114] O Zekri, EA Hillard, S Top, A Vessières, P Pigeon, MA Plamont, M Huché, S Boutamine, MJ McGlinchey, H Müller-Bunz, G Jaouen. Role of aromatic substituents on the antiproliferative effects of diphenyl ferrocenyl butene compounds. *Dalton Trans* **2009**, *22*, 4318–4326.

[115] A Vessières, S Top, P Pigeon, EA Hillard, L Boubeker, D Spera, G Jaouen. Modification of the estrogenic properties of diphenols by the incorporation of ferrocene. Generation of antiproliferative effects *in vitro*. *J Med Chem* **2005**, *48*, 3937–3940.

Lors des études électrochimiques par voltammétrie cyclique, le groupe a postulé que le groupement ferrocényle des composés phénoliques comme **Fc-diphol** agissait comme « antenne redox » pour l'oxydation irréversible de la molécule *via* un mécanisme intramoléculaire produisant des espèces insaturées sous des conditions réactionnelles douces (Schéma 5).^[116]

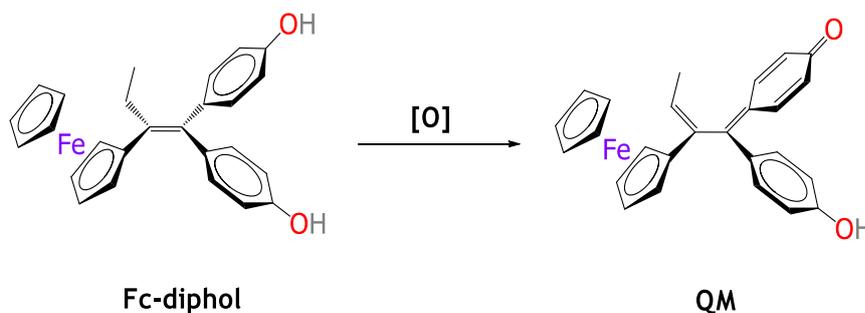


Schéma 5. Oxydation du **Fc-diphol** et formation du dérivé insaturé correspondant **QM**.

On considère que ces espèces insaturées, observées par des études électrochimiques et isolées par des voies chimiques et biochimiques,^[117] peuvent être les métabolites actifs des composés ayant la possibilité de suivre une séquence oxydative telle que le **Fc-diphol**. Ces espèces électrophiles sont susceptibles d'être attaquées par des biomolécules comme le glutathion et ainsi voir inactivée leur fonction. Par ailleurs, nous ne pouvons pas laisser de côté la possibilité de génération d'espèces réactives d'oxygène (ROS) observées lors des études expérimentales.^[118] On fait appel aux propriétés d'oxydo-réduction des composés ferrocéniques pour essayer d'expliquer leur activité cytotoxique singulière. De façon intéressante, notre postulat est en accord avec le fait que l'une des différences remarquables entre les cellules cancéreuses et les cellules normales est leur status redox.^[119,120]

[116] EA Hillard, A Vessières, L Thouin, G Jaouen, C Amatore. Ferrocene-mediated proton-coupled electron transfer in a series of ferrocifen-type breast cancer drug candidates. *Angew Chem Int Ed* **2006**, *45*, 285–290.

[117] D Hamels, PM Dansette, EA Hillard, S Top, A Vessières, P Herson, G Jaouen, D Mansuy. Ferrocenyl quinone methides as strong antiproliferative agents: formation by metabolic and chemical oxidation of ferrocenyl phenols. *Angew Chem Int Ed Engl* **2009**, *48*, 9124–9126.

[118] WA Wlassof, CD Albright, MS Sivanshinki, A Ivanova, JG Appelbaum, RI Salganik. Hydrogen peroxide overproduced in breast cancer cells can serve as an anticancer prodrug generating apoptosis-stimulating hydroxyl radicals under the effect of tamoxifen-ferrocene conjugate. *J Pharm Pharmacol* **2007**, *59*, 1549–1553.

[119] EA Hillard, FC Caxico de Abreu, DCM Ferreira, G Jaouen, MOF Goulart, C Amatore. Electrochemical parameters and techniques in drug development, with an emphasis on quinones and related compounds. *Chem Commun* **2008**, 2612–2628.

[120] H Hagen, P Marzenell, E Jentsch, F Wenz, MR Veldwijk, A Mokhir, A. Aminoferrocene-based prodrugs activated by reactive oxygen species. *J Med Chem* **2012**, *55*, 924–934.

6.2 Composés à base de ferrocène

Après la découverte des « ferrocifènes », le ferrocène s'est avéré très utilisé pour développer des composés à activités antitumorales. Par exemple, un dérivé de l'antiandrogène non-stéroïdien nilutamide (Figure 22) portant le groupement ferrocényle montre une activité cytotoxique significative contre des lignées cellulaires de cancer de la prostate hormono-dépendant et hormono-indépendant.^[121] Ce composé présente une affinité modeste pour le récepteur des androgènes, ce qui laisse penser que son effet antiprolifératif n'est pas associé à un effet antihormonal comme c'est le cas de son analogue organique nilutamide. De même, il semble que la stéréochimie de ce type de complexes ne joue pas un rôle significatif pour leur cytotoxicité.^[122]

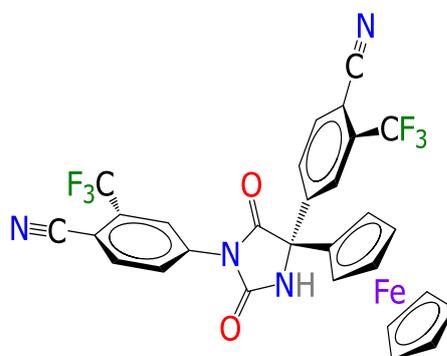


Figure 22. Structure chimique du dérivé ferrocénique de la nilutamide.

Il est important de souligner que le fait d'incorporer un motif ferrocényle n'assure pas à tout coup une bonne réponse biologique. Dans des cas favorables, l'amélioration de l'activité peut se produire soit en suivant les mêmes mécanismes d'action soit par des voies complètement différentes. Les effets de la nilutamide ferrocénique dans les cellules de la prostate et des « ferrocifènes » dans les cellules de cancer du sein, en sont des exemples.

[121] O Payen, S Top, A Vessières, E Brulé, MA Plamont, MJ McGlinchey, H Müller-Bunz, G Jaouen. Synthesis and structure-activity relationships of the first ferrocenyl-aryl-hydantoin derivatives of the nonsteroidal antiandrogen nilutamide. *J Med Chem* **2008**, *51*, 1791–1799.

[122] O Payen, S Top, A Vessières, E Brulé, A Lauzier, MA Plamont, MJ McGlinchey, H Müller-Bunz, G Jaouen. Synthesis and biological activity of ferrocenyl derivatives of the non-steroidal antiandrogens flutamide and bicalutamide. *J Organomet Chem* **2011**, *696*, 1049–1056.

Le composé **1** (Figure 23) existe sous deux formes d'isomères géométriques *E* et *Z*, les deux espèces montrent des activités cytotoxiques similaires sur les cellules B16-F10 de mélanome. Ceci suggère que l'isomérisation géométrique n'impacte pas significativement la cytotoxicité des produits. Des études de biologie moléculaire suggèrent que les effets antiprolifératifs de ce composé sont associés à l'inhibition enzymatique des kinases.^[123] La synthèse du complexe **2** est inspirée du métabolite fongique « illudine ». Le complexe ferrocénique présente une activité antiproliférative avec des valeurs d'IC₅₀ dans la gamme submicromolaire contre des cellules de cancer de colon et de cancer du sein. En plus, des études *in vivo* montrent qu'il est bien toléré sans produire des effets toxiques.^[124]

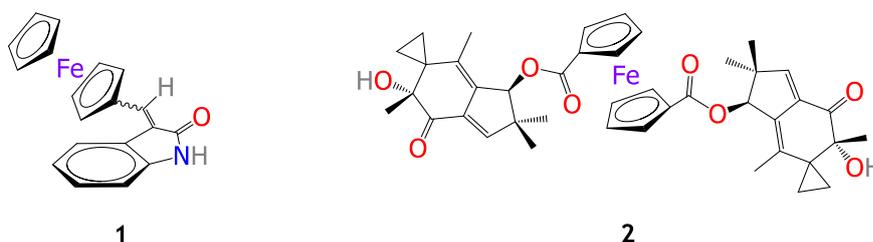


Figure 23. Structure chimique de la 3-(ferrocénylméthylène)indolin-2-one **1** et d'un dérivé ferrocénique de l'illudine **2**.

Le composé de la Figure 24 montre une activité contre la lignée cellulaire H1299 de cancer du poumon non microcytique avec des valeurs d'IC₅₀ dans la gamme submicromolaire. De même, ce composé montre une bonne réponse sur les cellules Sk-Mel-28 de mélanome malin. Des études sur le cycle cellulaire suggèrent que ce composé induit l'apoptose *via* un mécanisme d'endommagement oxydatif favorisé par les ROS.^[125]

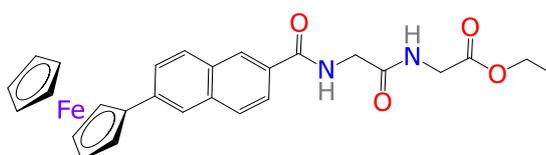


Figure 24. Structure chimique du 2-[2-(6-ferrocényl-2-naphthamido)acétamido]acétate d'éthyle à activité antiproliférative.

[123] J Spencer, AP Mendham, AK Kotha, SCW Richardson, EA Hillard, G Jaouen, L Malec, MB Hursthouse. Structural and biological investigation of ferrocene-substituted 3-methylidene-1,3-dihydro-2H-indol-2-ones. *Dalton Trans* **2009**, 918–921.

[124] R Schobert, S Seibt, K Mahal, A Ahmad, B Biersack, K Effenberger-Neidnicht, S Padhye, FH Sarkar, T Mueller. Cancer selective metallocenedicarboxylates of the fungal cytotoxin Illudin M. *J Med Chem* **2011**, *54*, 6177–6182.

[125] A Mooney, R Tiedt, T Maghoub, N O'Donovan, J Crown, B White, PTM Kenny. Structure-activity relationship and mode of action of N-(6-ferrocenyl-2-naphthoyl) dipeptide ethyl esters: novel organometallic anticancer compounds. *J Med Chem* **2012**, *55*, 5455–5466.

Par ailleurs, personnellement avant de venir en France pour préparer mon doctorat, j'ai eu l'opportunité de développer lors de mes travaux de M2,^[126] une série de ferrocényl sélénoamides **1** (Figure 25) et de 4,5-dihydro-1,3-sélénazoles qui ont montré une activité antiproliférative sur les cellules MCF-7 de cancer du sein, U251 de glioblastome et HCT-15 d'adénocarcinome colorectal. Les résultats ont montré que certains composés avec des activités modestes ont surpassé les effets cytotoxiques du **TAM** et du cisplatine dans les mêmes conditions.^[127] A notre connaissance, ce travail est le premier exemple au Mexique des composés organométalliques montrant des effets cytotoxiques. On espère que cette discipline intéressante pourra se répandre dans de nouveaux horizons.

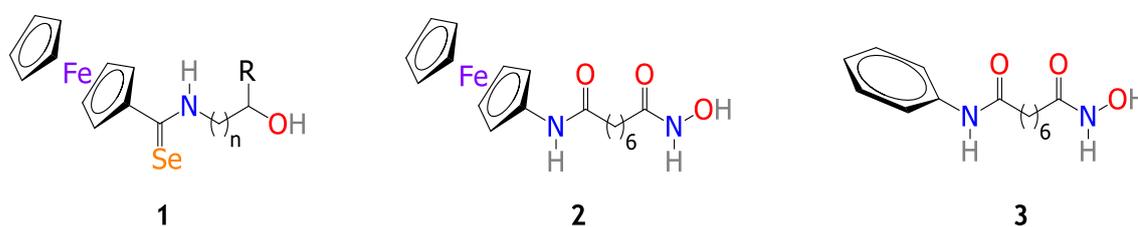


Figure 25. Structure chimique générale des ferrocényl sélénoamides **1**, du *N*¹-ferrocényl-*N*⁸-hydroxysubéramide **2** et du *N*¹-hydroxy-*N*⁸-phénylsuabéramide **3**.

Il y a deux ans, le *N*¹-ferrocényl-*N*⁸-hydroxysubéramide **2** (Figure 25), également appelé **JAHA**, a été synthétisé. Ceci est l'analogue ferrocénique direct de l'inhibiteur des histones-désacétylases *N*¹-hydroxy-*N*⁸-phénylsuabéramide **3**, mieux connu par **SAHA**. Ce dernier est déjà un médicament anticancéreux (Vorinostat®) dont nous allons approfondir l'étude de ses propriétés dans les Chapitres de la Partie B de cette thèse. **JAHA** et ses dérivés –portant le motif ferrocényle comme un bioisostère du groupement phényle– possède une très bonne activité d'inhibition enzymatique sur les histones-désacétylases dans une gamme nanomolaire et des effets anticancéreux sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant^[128] et MDA-MB-231 de cancer du sein triple-négatif.^[129]

[126] JJ Cázares-Marinero. Ferrocenoselenoamidas: síntesis y actividad citotóxica. Thèse du master. *Universidad Nacional Autónoma de México*, **2010**, pp 1–91.

[127] AI Gutiérrez-Hernández, JG López-Cortés, MC Ortega Alfaro, MT Ramirez-Apan, JJ Cázares-Marinero, RA Toscano. Ferrocenylselenoamides: synthesis, characterization and cytotoxic properties. *J Med Chem* **2012**, *55*, 4652–4663.

[128] J Spencer, J Amin, M Wang, G Packham, SS Syed Alwi, GJ Tizzard, SJ Coles, RM Paranal, JE Bradner, TD Heightman. Synthesis and biological evaluation of JAHA: ferrocene-based histone deacetylase inhibitors. *ACS Med Chem Lett* **2011**, *2*, 358–362.

[129] M Librizzi, A Longo, R Chiarelli, J Amin, J Spencer, C Luparello. Cytotoxic effects of jay amin hydroxamic acid (JAHA), a ferrocene-based class I histone deacetylase inhibitor, on triple-negative MDA-MB-231 breast cancer cells. *Chem Res Toxicol* **2012**, *25*, 2608–2616.

6.3 Composés à base d'or

Les complexes à base d'or (III) sont isoélectriques et isostructuraux de ceux du platine(II). De cette façon, ils offrent une alternative à la thérapie avec le cisplatine et ses dérivés. De fait, quelques composés organométalliques à base d'Au(III) ont été trouvés comme étant actifs sur des lignées de cancer résistantes au cisplatine.^[130] Cela suggère fortement que les mécanismes de résistance au cisplatine développés par les cellules cancéreuses n'affectent pas de la même façon aux composés à base d'or.

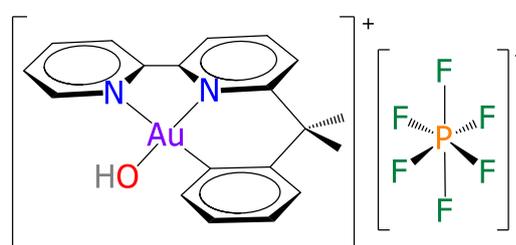


Figure 26. Composé organométallique à base d'or.

Le complexe illustré dans la Figure 26 est stable dans les conditions physiologiques et montre des propriétés cytotoxiques importantes contre un panel des cellules tumorales. Particulièrement sur les cellules A2780S, A2780R et SKOV3 de carcinome humain d'ovaire. Les deux dernières sont des cellules résistantes au cisplatine. Le composé organométallique est plus actif que le cisplatine contre ces deux lignées. De même, il a été rapporté que l'ADN n'est pas la cible principale de cette molécule. En revanche, des études sur des activités d'inhibition de l'enzyme thiorédoxine-réductase suggèrent que ceci est un processus très important pour les effets antiprolifératifs de ces composés. La thiorédoxine-réductase est particulièrement important pour le contrôle de la fonction mitochondriale et de l'état redox intracellulaire.^[131]

[130] G Marcon, S Carotti, M Coronello, L Messori, E Mini, P Orioli, T Mazzei, MA Cinellu, G Minghetti. Gold(III) complexes with bipyridyl ligands: solution chemistry, cytotoxicity, and DNA binding properties. *J Med Chem* **2002**, 45, 1672–1677.

[131] A Casini, C Hartinger, C Gabbiani, E Mini, PJ Dyson, BK Keppler, L Messori. Gold(III) compounds as anticancer agents : relevance of gold-protein interactions or their mechanism of action. *J Inorg Biochem* **2008**, 102, 564–575.

6.4 Composés à base de ruthénium

Le succès des complexes de coordination à base de ruthénium (Ru) –dont certains ont atteint les études cliniques en phase I– a attiré l'attention des chimistes pour concevoir des agents anticancéreux. De façon générale, les composés de ruthénium développent moins d'effets indésirables que les complexes de platine.

De bons exemples de composés organométalliques à base de ruthénium actifs contre le cancer sont les complexes appelés « RAPTA » (de l'anglais Ruthenium(II) Arene-PTA ou PTA = 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane). Un exemple est le complexe **1** (Figure 27). Son ligand PTA est amphiphile, ce qui le rend soluble dans l'eau et dans les solvants organiques. Ses activités antitumorales ont été évaluées contre des cellules d'adénocarcinome et les résultats *in vitro* montrent que son activité est sélective sur les cellules de cancer. Ce type de composés est aussi capable de réduire les métastases du carcinome mammaire chez la souris.^[132] Un autre exemple est le complexe dinucléaire **2**, qui est cytotoxique sur les cellules de cancer humain d'ovaires résistantes au cisplatine. Ce composé hydrosoluble montre une efficacité pour catalyser l'oxydation des thiols de la cystéine et du glutathionne (GSH) pour produire les disulfures correspondants (GSSG), ce qui peut expliquer sa forte activité sur les cellules cancéreuses.^[133]

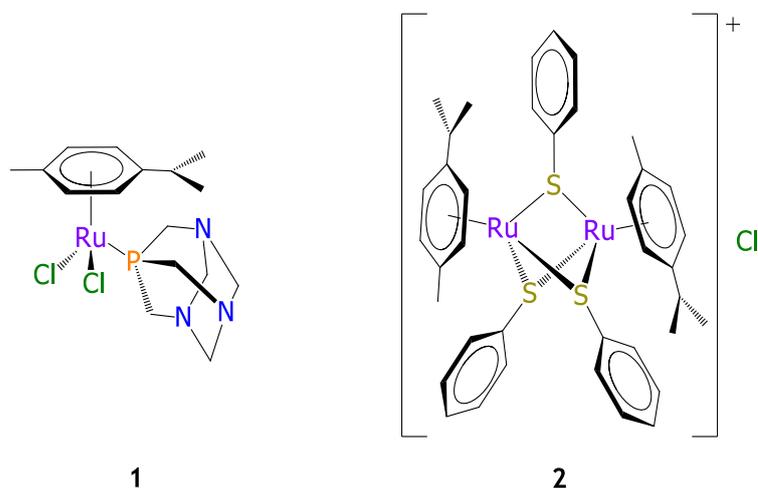


Figure 27. Structures chimiques de deux composés organométalliques à base de ruthénium.

[132] C Scolaro, A Bergamo, L Brescacin, R Delfino, M Cocchietto, G Laurency, TJ Geldbach, G Sava, PJ Dyson. *In vitro* and *in vivo* evaluation of ruthenium(II)-arene PTA complexes. *J Med Chem* **2005**, *48*, 4161–4171.

[133] F Giannini, G Süß-Fink, J Furrer. Efficient oxidation of cysteine and glutathione catalyzed by a dinuclear areneruthenium trithiolato anticancer complex. *Inorg Chem* **2011**, *50*, 10552–10554.

Comme nous l'avons vu dans ces exemples, les complexes organométalliques offrent la possibilité d'explorer de nouveaux mécanismes d'action par comparaison avec les médicaments purement organiques et ont également le potentiel de faire face à la résistance aux médicaments. Il est important de noter que les interactions intermoléculaires peuvent être contrôlées *via* la modification structurale des complexes pour optimiser leur activité et minimiser leurs effets secondaires indésirables.^[134] Pendant que d'un côté, certains chimistes étudient les processus de libération et les mécanismes d'action des composés, d'autres continuent à développer de nouveaux agents avec des effets biologiques améliorés.

De manière générale, au vu des exemples cités, les chimistes médicaux s'intéressent aux propriétés électroniques des complexes, particulièrement aux propriétés redox, pour expliquer l'éventuelle production des espèces réactives d'oxygène (ROS) générées *in vitro* par les composés qui sont supposées interagir avec l'ADN des cellules cancéreuses afin de les conduire à l'apoptose. Il existe aussi la possibilité d'envisager les effets stériques des molécules. Certains complexes organométalliques peuvent être conçus pour interagir spécifiquement avec une cible donnée. Nous pouvons imaginer que les structures tridimensionnelles des composés organométalliques favorisent les interactions avec des récepteurs d'une manière plus efficace que les groupements planaires comme le phényle. Ainsi et grâce à l'incorporation judicieuse de groupes fonctionnels nous pouvons également envisager des interactions avec les enzymes ou avec les récepteurs cellulaires –surexprimés dans le cancer– afin de les inactiver et de cette manière conduire à une réponse biologique favorable.

Les composés organométalliques avec des applications médicales sont devenus maintenant un domaine pluridisciplinaire excitant qui implique la collaboration de différents acteurs comme les chimistes organiciens, les chimistes inorganiciens, les pharmaciens, les biologistes, les chimistes théoriciens et les chimistes médicaux pour faire face aux besoins de la santé publique. Il reste encore à découvrir les meilleures particularités des complexes organométalliques et à exploiter leurs propriétés pour notre bénéfice à tous. Cependant, la porte a été ouverte il y a presque trente ans et maintenant c'est à nous de continuer ce chemin séduisant et très prometteur.

[134] AM Pizarro, A Habtemariam, PJ Sadler. Activation mechanisms for organometallic anticancer complexes. *Top Organomet Chem* **2010**, 32, 21–56.

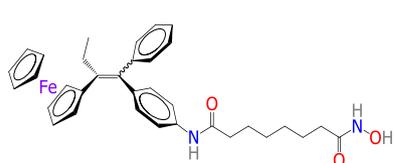
Chapitre II

Combinaison ferrocifène et motif HDACi

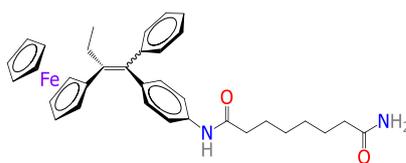
Résumé

Les principes actifs combinant différents pharmacophores dans une seule molécule peuvent moduler simultanément de multiples voies intracellulaires et montrer une efficacité globale plus élevée qu'une molécule dirigée uniquement sur une seule cible. Dans ce chapitre, nous allons présenter, dans un premier temps, la synthèse et la caractérisation de nouveaux composés hybrides combinant des motifs structuraux du ferrocifène et d'un inhibiteur des histones désacétylases dans le cadre d'une stratégie qui pourrait permettre d'explorer le mécanisme d'action des composés ferrocéniques à fortes activités antiprolifératives. Dans un deuxième temps, nous étudierons certains des paramètres physico-chimiques des produits et leurs interactions sur des cibles intracellulaires sélectionnées suivies par des études de biologie moléculaire. Finalement, nous exposerons les résultats concernant leurs effets antiprolifératifs contre des cellules cancéreuses. La comparaison avec des séries organiques également synthétisées met en évidence le comportement particulier des composés organométalliques. Un effet positif remarquable a été obtenu par une combinaison structurale des motifs du **FcTAM** et du **SAHA** dans la molécule hybride **FcTAM-SAHA** contre la lignée cellulaire triple-négative MDA-MB-231 de cancer du sein.

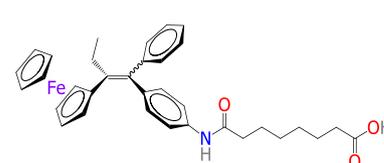
Nouvelles molécules étudiées



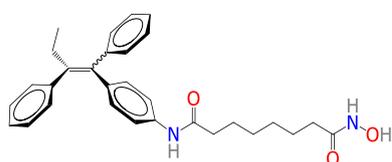
FcTAM-SAHA



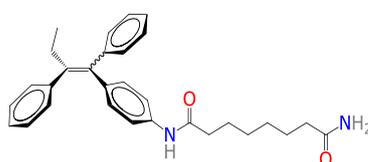
FcTAM-PSA



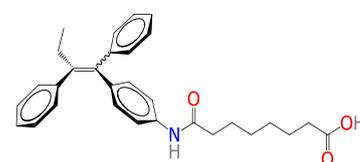
FcTAM-OPOA



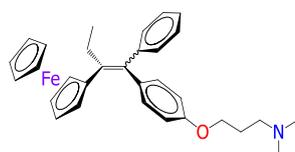
TAM-SAHA



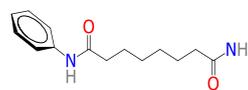
FcTAM-PSA



FcTAM-OPOA



FcTAM



PSA

1. Introduction

Comme nous l'avons décrit dans la Partie A, les composés organométalliques dérivés du squelette (2-ferrocénylbut-1-ène-1,1-diyl)dibenzène **1** (Figure 1) –apparentés au tamoxifène– ont montré d'excellentes propriétés chimiques, physico-chimiques et biologiques. Ils sont donc de bons candidats pour devenir des principes actifs thérapeutiques dans la lutte contre le cancer. Toutefois, même si plusieurs études de structure activité ont permis de postuler des hypothèses concernant leur mécanisme d'action, celui-ci reste pour le moment un sujet pas complètement élucidé et de ce fait intéressant.

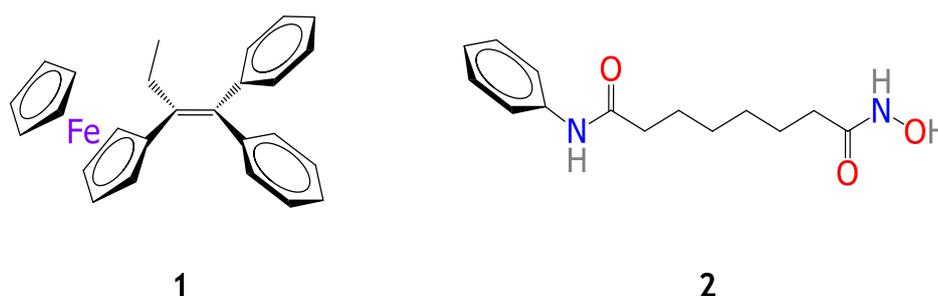


Figure 1. Structure chimique du squelette (2-ferrocénylbut-1-ène-1,1-diyl)dibenzène **1** et du *N*¹-hydroxy-*N*⁸-subéramide **2**.

Pour faire face à cette problématique attirante, nous avons supposé que le fait d'introduire une unité structurale à mode opératoire reconnu dans le squelette d'un de nos dérivés organométalliques pouvait apporter des informations importantes concernant la pharmacodynamique des « ferrocifènes ». C'est pour cette raison que nous avons choisi la molécule *N*¹-hydroxy-*N*⁸-phénylsuabéramide **2** (Figure 1) –mieux connue par l'acronyme **SAHA**, de l'anglais suberoylanilide hydroxamic acid– afin d'incorporer une grande partie de ses motifs moléculaires (qui le rendent efficace) dans la structure chimique du ferrocifène **FcTAM**. Ce concept est lié au terme « pharmacophore » que nous allons introduire par la suite.

1.1 Pharmacophore

Un des termes les plus utilisés par les chercheurs qui conçoivent de nouvelles molécules destinées à devenir un médicament est celui de « **pharmacophore** ». Ce terme a été utilisé par des chimistes théoriciens et médicinaux qui en ont proposé une définition.^[1,2,3] De son côté, l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC) établit qu'un pharmacophore est « l'ensemble des **caractéristiques stériques et électroniques** qui sont nécessaires pour assurer les interactions supramoléculaires optimales avec une cible biologique spécifique afin d'activer ou désactiver sa réponse biologique ».^[4] Ainsi, cette institution indique qu'un pharmacophore ne représente pas une molécule réelle sinon qu'il s'agit essentiellement d'un concept abstrait représentant les capacités d'interaction intermoléculaire entre les composés et leurs cibles. Il est donc concevable qu'au moment d'envisager un pharmacophore, on anticipe les propriétés biologiques.^[5] Le concept de pharmacophore inhérent à l'approche des scientifiques étudiant les relations structure-activité. Ceci rend en effet relativement facile la façon de comprendre les impératifs structuraux dont on a besoin pour créer des espèces actives que l'on souhaite.

1.2 Épigénétique : cause de cancer

Pendant longtemps, on a considéré que le cancer était qu'une maladie des **défauts génétiques** incluant les mutations, les délétions et les anomalies chromosomiques. Autrement dit, on croyait que le cancer était seulement le résultat de dommages directs de la structure de l'ADN qui conduisaient à la perte de la fonction des gènes suppresseurs de tumeurs ou bien à l'hyperactivation des oncogènes.^[6,7] Si ce concept reste, il a été suggéré récemment que l'établissement et la progression du cancer peuvent se produire par des changements dans des mécanismes non génétiques mais transmis par héritage mitotique. Ces modifications ont été nommées « **aberrations épigénétiques** ».^[8,9]

-
- [1] P Gund. Three-dimensional pharmacophoric pattern searching. *Prog Mol Subcell Biol* **1977**, *5*, 117–143.
 - [2] A Tropsha, W Zheng. Identification of the descriptor pharmacophores using variable selection QSAR: applications to database mining. *Curr Pharm Design* **2001**, *7*, 599–612.
 - [3] D Bernanrd, A Coop, A MacKerell. 2-D conformationally sampled pharmacophore: A novel approach to ligand-based pharmacophore development applied to δ opioid ligands. *J Am Chem Soc* **2003**, *125*, 3101–3107.
 - [4] CG Wermuth, CR Ganellin, P Lindberg, IA Mitscher. Glossary of terms used in medicinal chemistry. *IUPAC, Pure App Chem* **1998**, *70*, 1129–1143.
 - [5] JH van Drie, Monty Kier and the origin of the pharmacophore concept. *Internet Electron J Mol Des* **2007**, *6*, 271–279.
 - [6] KW Kinzler, B Vogelstein. Cancer-susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers. *Nature* **1997**, *386*, 761–763.
 - [7] D Hanahan, RA Winberg. The hallmarks of cancer. *Cell* **2000**, *100*, 57–70.
 - [8] AP Finberg, B Tycko. The history of cancer epigenetics. *Nature Rev Cancer* **2004**, *4*, 143–153.
 - [9] PA Jones, S Baylin. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* **2002**, *3*, 415–428.

Les aberrations épigénétiques peuvent être vues comme un ensemble de mécanismes qui interviennent entre l'ADN et son environnement favorisant des changements dans l'expression génétique qui conduisent à l'évolution du cancer.^[10] Dans le cas du cancer, les anomalies épigénétiques incluent différents types d'aberrations à différents niveaux de la chromatine (Figure 2) –impliquée dans l'enroulement du matériel génétique–. L'un des principaux types d'évènement épigénétique est la **modification d'histones**.

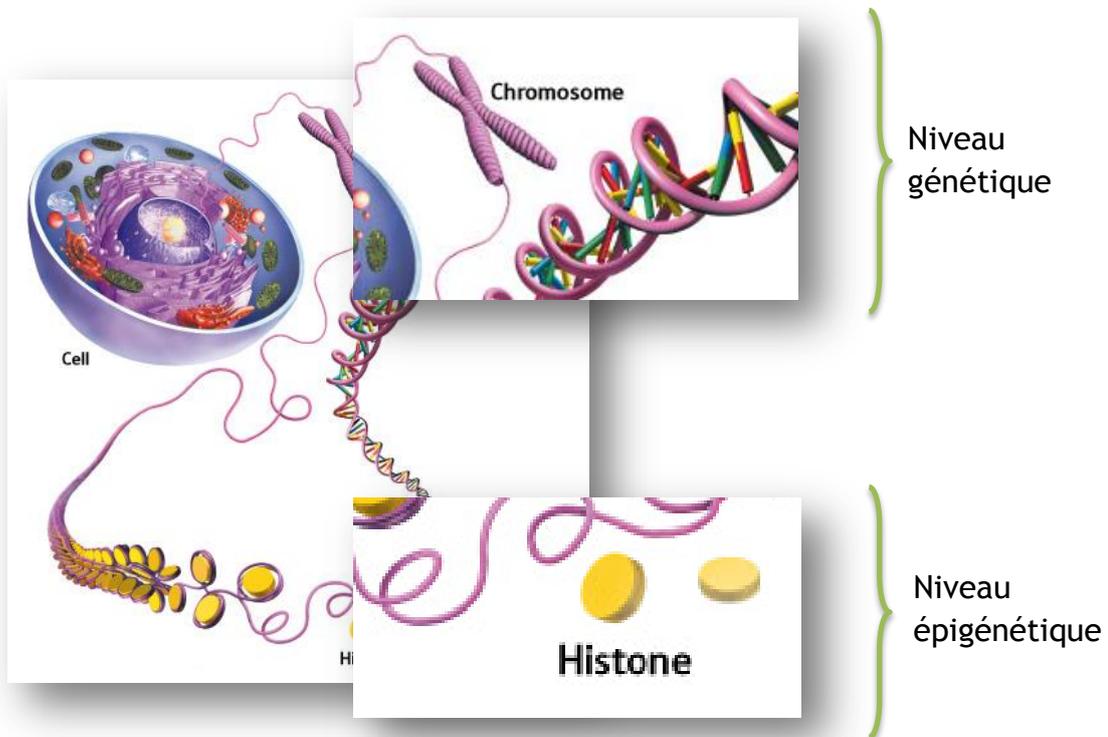


Figure 2. Représentation des deux niveaux (génétique et épigénétique) dans lesquels il peut exister une aberration conduisant au cancer.^[11]

[10] PA Jones, SB Baylin. The epigenomics of cancer. *Cell* **2007**, *128*, 683–692.

[11] http://www.tokresource.org/tok_classes/biobiobio/biomenu/dna_structure/hi_3733.jpg (révisé le 2 juin 2013).

Les **histones** sont des protéines de petite taille qui agissent comme régulateurs dynamiques de l'activité génétique, celles-ci enroulent l'ADN autour d'elles pour former les unités basiques dont la chromatine est composée : les **nucléosomes**.^[12] Comme nous pouvons le voir dans la Figure 3, le nucléosome est une structure nucléaire dans laquelle deux tours d'ADN (environ 83 nucléotides par tour) s'enroulent autour d'un cylindre formé par un octamère histonique.

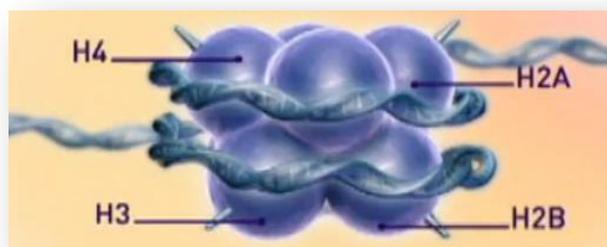


Figure 3. Structure du nucléosome.^[13]

Les chaînes terminales des histones peuvent subir des modifications covalentes comme la phosphorylation, la méthylation et l'acétylation. Parmi celles-ci, le processus d'acétylation d'histones reste le phénomène le plus étudié dans le contexte des aberrations épigénétiques.^[14] L'acétylation –favorisée par les enzymes **histones-acétyle-transférases** (HAT)– conduit à la dissociation entre les histones et l'ADN, ce qui rend le matériel génétique accessible aux facteurs de transcription (Figure 4).

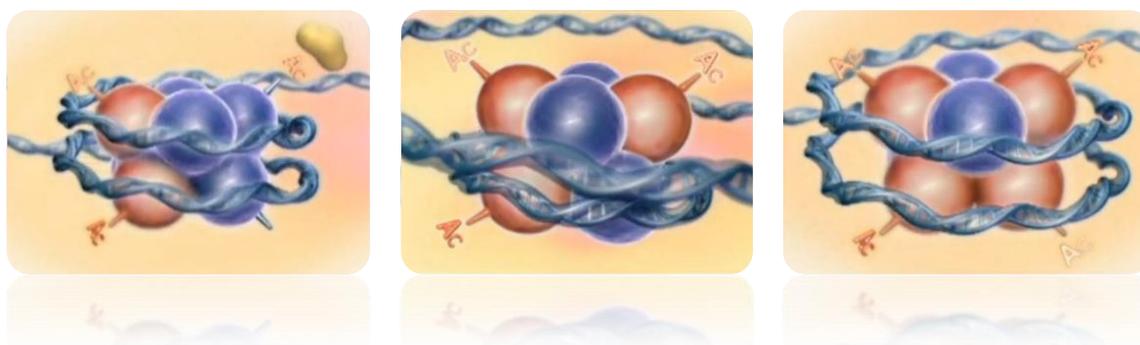


Figure 4. Acétylation d'histones.^[13]

[12] E Gracheva, SCR Elgin. Chromosome organization and structure, overview. *In Encyclopedia of Biological Chemistry*; WJ Lennarz, LM Daniel, Eds. Elsevier: Oxford, 2004; Vol. 1, pp 469–474.

[13] Histone acetylation and cancer, Rate My Science. <http://www.youtube.com/watch?v=Tze3XR4Kcj4> (révisé le 20 décembre 2012).

[14] T Jenuwein, CD Allis. Translating the histone code. *Science* 2001, 293, 1074–1080.

En revanche, la réaction de désacétylation –catalysée par les enzymes **histones-désacétylases** (HDAC)– favorise leur réassociation. Ceci fait que la chromatine adopte une conformation contrainte qui n'est plus accessible à la transcription de l'information génétique (Figure 5). Dans certains cancers, on considère que ces enzymes sont surexprimés et que leur action « **étouffe** » l'expression génétique.^[15]

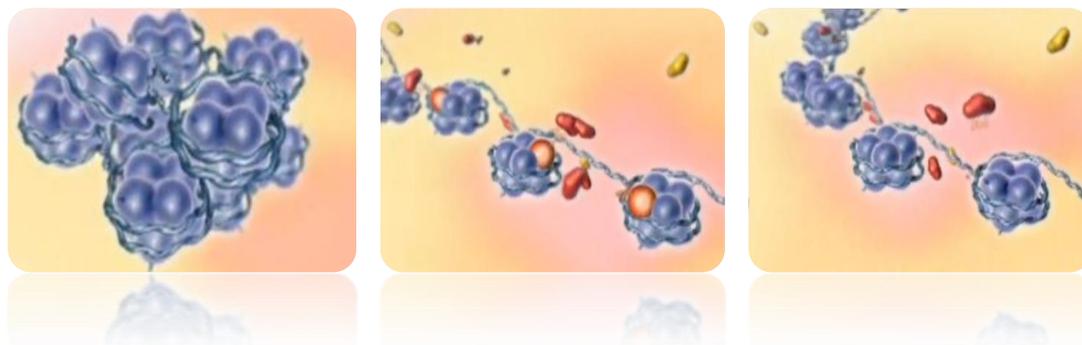


Figure 5. Acétylation d'histones.^[13]

Pour faire face à cette problématique, des molécules capables d'inhiber cette activité enzymatique pourraient être utilisées. Ces espèces sont appelées **inhibiteurs d'histones-désacétylases** (HDACi) et représentent une classe très importante de médicaments épigénétiques.^[16] On considère qu'en plus de leur effet sur les histones, les HDACi peuvent également favoriser l'hyperacétylation de cibles non-histoniques impliquées dans la progression du cycle cellulaire, conduisant à la réparation de l'ADN, la différenciation cellulaire, l'arrêt de croissance incontrôlé et la mort cellulaire.^[17]

1.3 Le SAHA : une molécule HDACi

Les HDACi peuvent être classés en fonction de leurs structures chimiques dans six groupes principaux: les acides gras à petite chaîne, les époxydes, les époxycétones, les peptides cycliques, les benzamides et les acides hydroxamiques.^[18] Parmi ceux-ci, les **acides hydroxamiques** sont les plus étudiés. Par exemple, l'inhibition d'HDAC comme nouvelle stratégie pour le traitement du cancer a démarré avec l'approbation d'un acide hydroxamique comme anticancéreux, le N^1 -hydroxy- N^8 -phénylsubéramide (**SAHA**).

[15] PA Marks, RA Rifkind, VM Richon, R Breslow, T Miller, WK Kelly. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nat Rev Cancer* **2001**, *1*, 194–202.

[16] JE Bolden, MJ Peart, RW Johnstone. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* **2006**, *5*, 769–784.

[17] M Paris, M Porcelloni, M Binaschi, D Fattori. Histone deacetylase inhibitors: from bench to clinic. *J Med Chem* **2008**, *51*, 1505–1529.

[18] S Shankar, RK Srivastava. Histone deacetylase inhibitors: mechanism and clinical significance in cancer. HDAC inhibitor-induced apoptosis. *Adv Exp Med Biol* **2008**, *615*, 261–298.

Le **SAHA** a été approuvé en 2007 pour la FDA (de l'anglais : Food and Drug Administration) sous le nom de Vorinostat pour le traitement du lymphome cutané primaire aux cellules T.^[19] Il a été démontré que l'activité antiproliférative de **SAHA** est principalement associée à la formation de liaison entre la fonction hydroxamate du **SAHA** et l'ion Zn^{2+} contenu dans le site actif de l'enzyme (Figure 6).^[20]

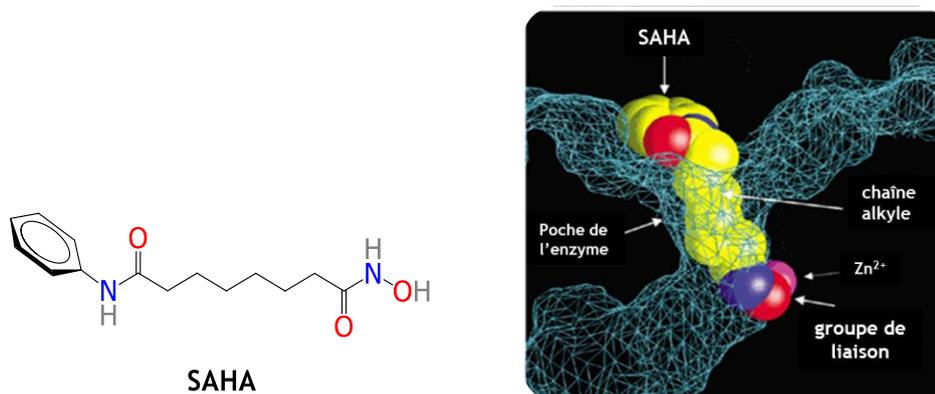


Figure 6. Structure chimique de **SAHA** et son interaction dans le site actif d'un enzyme HDAC.^[20]

Afin d'améliorer l'activité inhibitrice de ce type d'HDACi et de mieux comprendre les impératifs structuraux pour la création de nouveaux principes actifs, la recherche s'est orientée vers la synthèse des analogues de **SAHA** résultants des modifications subtiles de la molécule. Ainsi, pendant que certains chimistes étudient l'effet des substituants,^[21] la longueur de la chaîne alkyle et la présence de centres stéréogéniques,^[22] d'autres font des modifications au niveau du cycle aromatique^[23] et de la fonctionnalité chimique de la chaîne latérale.^[24] Bien que le **SAHA** reste pour le moment le composé modèle parmi les HDACi, tout au long de ces investigations, différentes espèces ont été découvertes montrant des améliorations en termes d'activité antiproliférative et de sélectivité sur les différentes isoformes enzymatiques.

[19] BS Mann, JR Johnson, MH Cohen, R Justice, R Pazdur. FDA approval summary: vorinostat for treatment of advanced primary cutaneous T-cell lymphoma. *Oncologist* **2007**, *12*, 1249–1252.

[20] PA Marks, R Breslow. Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug. *Nat Biotechnol* **2007**, *25*, 84–90.

[21] AV Bieliauskas, SV Weerasinghe, MK Pflum. Structural requirements of HDAC inhibitors: SAHA analogs functionalized adjacent to the hydroxamic acid. *Bioorg Med Chem Lett* **2007**, *17*, 2216–2219.

[22] S Hanessian, L Auzzas, G Giannini, M Marzim, W Cabri, M Barbarino, L Vesci, C Pisano. Omega-alkoxy analogues of SAHA (vorinostat) as inhibitors of HDAC: a study of chain-length and stereochemical dependence. *Bioorg Med Chem Lett* **2007**, *17*, 6261–6265.

[23] S Belvedere, DJ Witter, J Yan, JP Secrist, V Richon, TA Miller. Aminosuberoyl hydroxamic acids (ASHAs): a potent new class of HDAC inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* **2007**, *17*, 3969–3971.

[24] CB Botta, W Cabri, E Cini, L De Cesare, C Fattorusso, G Giannini, M Persico, A Petrella, F Rondinelli, M Rodriguez, A Russo, M Taddei. Oxime amides as a novel zinc binding group in histone deacetylase inhibitors: synthesis, biological activity and computational evaluation. *J Med Chem* **2011**, *54*, 2165–2182.

1.3.1 Modifications structurales

Par exemple, en 2010, la synthèse et l'évaluation biologique des composés analogues portant des groupements alkyles en différentes positions du cycle aromatique de **SAHA** ont été rapportées.^[25] Nous pouvons réaliser que ces modifications peuvent impacter d'une manière positive ou négative sur l'activité de **SAHA**. Le changement structural a produit différents effets lors d'études sur des isoformes d'HDAC et sur les cellules Caco-2 d'adénocarcinome colorectal humain (Figure 7). Les résultats mettent en évidence que des modifications mineures au niveau du groupement phényle du **SAHA** peuvent changer significativement les propriétés de l'inhibiteur.

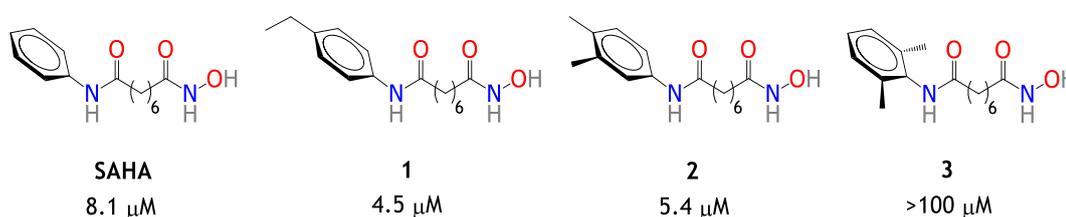


Figure 7. Structure chimique de **SAHA** et analogues avec les valeurs correspondantes d'IC₅₀ sur les cellules Caco-2 d'adénocarcinome colorectal.

Ainsi, pendant que la présence de groupes alkyles en positions 2,6 (**3**) diminue significativement l'activité cytotoxique, la substitution de positions 3,4 (**2**) et 4 (**1**) l'augmente. Comme nous pouvons imaginer, cette activité a été corrélée à de fortes affinités pour certains isoformes enzymatiques. Ces résultats indiquent que les modifications du cycle aromatique ouvrent des opportunités pour développer d'autres espèces avec des effets accrus et des sélectivités améliorées. De même, ce travail fournit de nouvelles informations relatives aux relations structure-activité des HDACi, en particulier à celles de **SAHA**, et suggèrent de nouveaux chemins pour le développement de molécules de type-**SAHA** de seconde génération.

D'autres exemples pertinents étudient non seulement la modification de la structure de **SAHA** mais également la conjugaison avec de motifs organométalliques choisis, particulièrement ceux dérivés du fer et ruthénium. Ces exemples montrent une nouvelle façon de moduler l'activité des composés organiques conventionnels par l'introduction d'espèces organométalliques, dont les propriétés sont particulières et méritent une exploration.

[25] F Oger, A Lecorgne, E Sala, V Nardese, F Demay, S Chevance, DC Desravines, N Aleksandrova, R Le Guével, S Lorenzi, AR Beccari, P Barath, DJ Hart, A Bondon, D Caretoni, G Simonneaux, G Salbert. Biological and biophysical properties of the histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid are affected by the presence of short alkyl groups on the phenyl ring. *J Med Chem* **2010**, 53, 1937–1950.

En 2011, pendant nous étions en train de synthétiser l'acide N^1 -ferrocénylamino-8-oxooctanoïque **1** (Figure 8) comme produit de départ pour l'obtention de l'acide hydroxamique **2**, nous avons noté avec surprise que la synthèse et les propriétés biologiques de ce dernier venaient d'être rapportées.^[26] Ainsi, le N^1 -ferrocényl- N^8 -subéramide **2** –connu sous l'acronyme **JAHA**– est le premier composé organométallique analogue de l'inhibiteur **SAHA**. Conçu par le remplacement du groupement phényle par le motif ferrocényle, ce composé a montré d'abord une activité antiproliférative significative sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant.

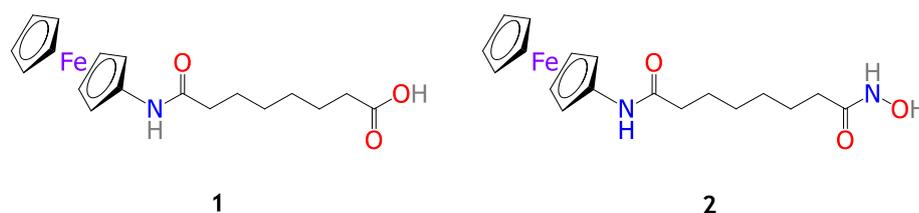


Figure 8. Structure chimique de l'acide N^1 -ferrocénylamino-8-oxooctanoïque **1** et du N^1 -ferrocényl- N^8 -hydroxysubéramide **2**.

Ce composé et des molécules ferrocéniques apparentées ont montré expérimentalement une très bonne activité d'inhibition contre certains isoformes choisis d'HDAC. Des études de modélisation moléculaire supportent les résultats montrant que **JAHA** est capable de se loger dans la cavité d'HDAC8 (une isoforme représentative de ce type d'enzymes) et se lier au Zn^{2+} comme le **SAHA** (Figure 9).

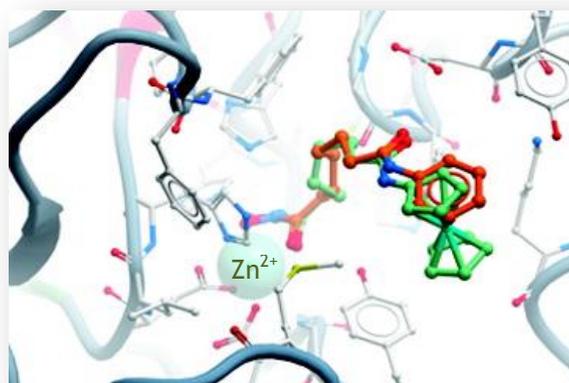


Figure 9. Superposition des molécules de **SAHA** et de **JAHA** cristallisées dans la cavité de HDAC8.^[26]

[26] J Spencer, J Amin, M Wang, G Packman, SS Syed Alwi, GJ Tizzard, SJ Coles. Synthesis and biological evaluation of JAHA: ferrocene-based histone deacetylase inhibitors. *ACS Med Chem Lett* **2011**, 2, 358–362.

L'année dernière, les effets cytotoxiques de **JAHA** sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein hormono-indépendant ont été également rapportés.^[27] Ainsi, le dérivé ferrocénique de **SAHA** est un agent actif contre les deux types des cellules de cancer du sein. Des études de biologie moléculaire ont montré que ce type de composés était capable d'altérer le cycle cellulaire et de produire des espèces réactives d'oxygène (ROS). Ces deux évènements ont été proposés comme responsables des effets antiprolifératifs montrés par les complexes.

Également, l'année dernière, la synthèse et les propriétés biologiques du deuxième analogue direct de **SAHA** basé sur une structure organométallique a été rapportée.^[28] Le complexe tricarbonyl[(8-hydroxyamino-8-oxooctanamido)- η^5 -cyclopentadiényl]rhénium(I) (Figure 10) et d'autres dérivés ont été évalués pour leurs propriétés cytotoxiques. Ces complexes ont montré une activité antiproliférative avec des valeurs d'IC₅₀ dans la gamme du micromolaire contre les lignées cellulaires cancéreuses incluant la lignée MCF-7 du cancer du sein hormono-dépendant. Lors de ces études, il a été trouvé que le raccourcissement à la chaîne alkyle d'un méthylène n'affecte pas significativement l'activité des composés. Cependant cette activité reste moins importante que celle du **SAHA**.

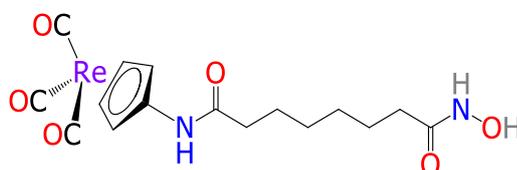


Figure 10. Structure chimique du complexe tricarbonyl[(8-hydroxyamino-8-oxooctanamido)- η^5 -cyclopentadiényl]rhénium(I).

Comme nous avons vu dans ces deux derniers exemples, les chimistes médicaux manifestent –comme notre groupe– un intérêt particulier pour combattre le cancer du sein. Ils se servent du mécanisme d'inhibition enzymatique combinée avec les propriétés intrinsèques des entités organométalliques, comme leur capacité redox. Ainsi, le **SAHA** et d'autres HDACi peuvent étendre leur spectre thérapeutique à d'autres types de cancer.

[27] M Librizzi, A Longo, R Chiarelli, J Amin, J Spencer, C Luparello. Cytotoxic effects of jay amin hydroxamic acid (JAHA), a ferrocene-based class I histone deacetylase inhibitor, on triple-negative MDA-MB231 breast cancer cells. *Chem Res Toxicol* **2012**, 25, 2608–2616.

[28] D Can, HW Peindy N'Dongo, B Spingler, P Schmutz, P Raposinho, I Santos, R Alberto. The [(Cp)M(CO)₃](M=Re, ^{99m}Tc) building block for imaging agents and bioinorganic probes: perspectives and limitations. *Chem Biodiversity* **2012**, 9, 1849–1866.

SAHA avait été déjà évalué contre le cancer du sein avant même son approbation comme médicament contre le lymphome cutané.^[29] Dans cette étude, il a été rapporté que le composé était actif sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono dépendant inhibant leur croissance *via* l'arrêt du cycle cellulaire et l'induction de différenciation cellulaire. Ainsi, d'autres HDACi synthétisés inspirés de **SAHA** ont été évalués pour leurs effets antiprolifératifs contre les cellules d'adénocarcinome mammaire montrant des résultats prometteurs.^[30,31]

Par ailleurs, d'autres études *in vitro* et *in vivo* indiquent que le **SAHA** est capable d'agir en synergie avec d'autres médicaments comme le taxol^[32] ou le tamoxifène^[33] pour améliorer leurs effets antitumoraux. Ceci suggère fortement que la combinaison des caractéristiques chimiques de la molécule de **SAHA** avec d'autres motifs structuraux pourrait produire des dérivés hybrides en tant qu'agents thérapeutiques potentiels contre le cancer. Il est possible de ce fait de trouver quelques exemples dans la littérature qui rapportent la formation des composés combinant un motif HDACi avec d'autres pharmacophores. Trois exemples sont présentés dans la Figure 11.

Un de ces composés est le triciferol **1** qui combine un motif agoniste des récepteurs nucléaires (le récepteur nucléaire de la vitamine D), l'unité 1,25-dihydroxyvitamin-D₃. De façon isolée, ce motif régule l'expression génétique et présente des propriétés anticancéreuses et immunomodulatrices. La combinaison de ce motif et du motif HDACi a produit un agent bifonctionnel qui est capable de cibler deux protéines différentes simultanément : une métalloenzyme et un récepteur nucléaire.^[34]

[29] PN Munster, T Troso-Sandoval, N Rosen, R Rifkind, PA Marks, VM Richon. The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid induces differentiation of human breast cancer cells. *Cancer Res* **2001**, *61*, 8492–8497.

[30] Y Zhang, H Fang, J Feng, Y Jia, X Wang, W Xu. Discovery of a tetrahydroisoquinoline-based hydroxamic acid derivative (ZYJ-34c) as histone deacetylase inhibitor with potent oral antitumor activities. *J Med Chem* **2011**, *54*, 5532–5539.

[31] KC Park, SW Kim, JH Park, EH Song, JW Yang, HJ Chung, HJ Jung, JS Suh, HJ Kwon, SH Choi. Potential anti-cancer activity of *N*-hydroxy-7-(2-naphthylthio)heptanamide (HNHA), a histone deacetylase inhibitor, against breast cancer both *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Sci* **2011**, *102*, 343–350.

[32] YK Si, ZH Li, XQ Han, JH Ji, ZH Wang, JL Hou, CR Feng, QH Fang, HH Wang, PF Zhang, FS Wang, J Shen, P Wang. The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid induces growth inhibition and enhances taxol induced cell death in breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* **2010**, *66*, 1131–1140.

[33] L Hodges-Gallagher, CD Valentine, S El Bader, PJ Kushner. Inhibition of histone deacetylase enhances the anti-proliferative action of antiestrogens on breast cancer cells and blocks tamoxifen-induced proliferation of uterine cells. *Breast Cancer Res Treat* **2007**, *105*, 297–309.

[34] LE Tavera-Mendoza, TD Quach, B Dabbas, J Hudon, X Liao, A Palijan, JL Gleason, JH White. Incorporation of histone deacetylase inhibition into the structure of a nuclear receptor agonist. *Proc Natl Acad Sci USA* **2008**, *105*, 8250–8255.

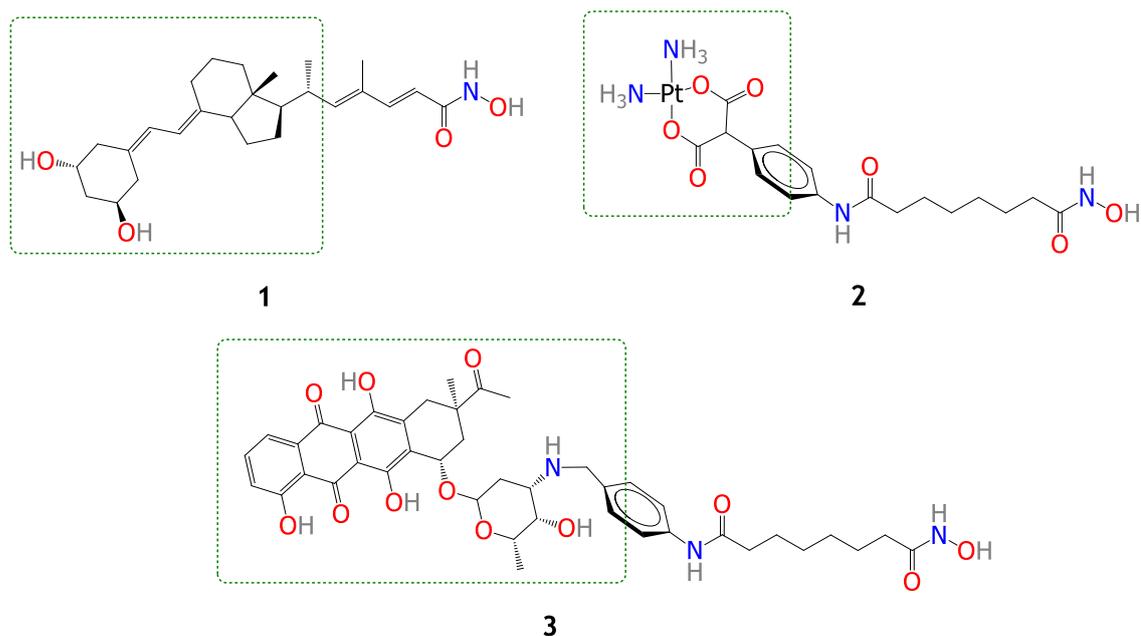


Figure 11. Structure chimique de composés combinant deux pharmacophores.

Un autre exemple est la combinaison entre le motif HDACi de la molécule de **SAHA** et un motif cisplatine comme substituant de la position 4 du groupe phényle de **SAHA** dans la molécule **2** résultante.^[35] Avec ce composé, l'objectif envisagé a été la recherche un comportement double : la liaison à l'ADN et l'activité d'inhibition enzymatique. Cependant, ce complexe n'a pas montré une amélioration en termes d'activité cytotoxique et le fait d'incorporer le substituant à la molécule de **SAHA** a diminué son activité contre les enzymes HDAC plus de dix fois. Des optimisations structurales sur ce composé se font actuellement afin de tenter d'augmenter son efficacité.

Le troisième exemple correspond à la combinaison avec un motif inhibiteur de l'enzyme topoisomérase II, un enzyme qui contrôle la structure de l'ADN. Le composé **3** est le produit de la combinaison entre la daunorubicine et le **SAHA**.^[36] Ce composé reste également actif comme molécule HDACi mais montre des effets antiprolifératifs supérieurs à ceux de **SAHA**. En revanche, il reste moins actif que la daunorubicine sur les cellules cancéreuses DU-145 de la prostate, SK-MES-1 du poumon et MCF-7 du sein. L'efficacité de ce produit sur les cellules de cancer est directement associée à son effet dual d'inhibition enzymatique. Il semble que la modification structurale produise un composé avec un comportement intermédiaire entre les molécules de départ.

[35] D Griffith, MP Morgan, CJ Marmion. A novel anti-cancer bifunctional platinum drug candidate with dual DNA binding and histone deacetylase inhibitory activity. *Chem Commun* **2009**, 6735–6737.

[36] W Guerrant, V Patil, JC Canzoneri, AK Oyelere. Dual targeting of histone deacetylase and topoisomerase II with novel bifunctional inhibitors. *J Med Chem* **2012**, 55, 1465–1477.

1.4 Conception des hybrides

Au vu de tous ces exemples d'incorporation de pharmacophores dans une même molécule, il semble que cette stratégie soit une bonne alternative afin de fabriquer des espèces à activité multifonctionnelle. Le motif HDACi représente actuellement un moyen attirant et exploitable pour le design des nouveaux agents anticancéreux. Ainsi, notre désir de trouver le mécanisme d'action des « ferrocifènes », d'enrichir les études des relations structure-activité sur ce type de composés et de trouver des espèces encore plus efficaces pourrait se faire grâce à la combinaison judicieuse des motifs structuraux. Pour ces raisons, nous avons envisagé la formation d'un composé hybride entre le ferrocifène (**FcTAM**) et le **SAHA** *via* le remplacement du groupement 4-[3-(diméthylamino)propan-1-oxy]phényle du **FcTAM** par le groupe 4-[(8-hydroxyamino)-8-oxooctanamido]phényle du **SAHA** (Figure 12).

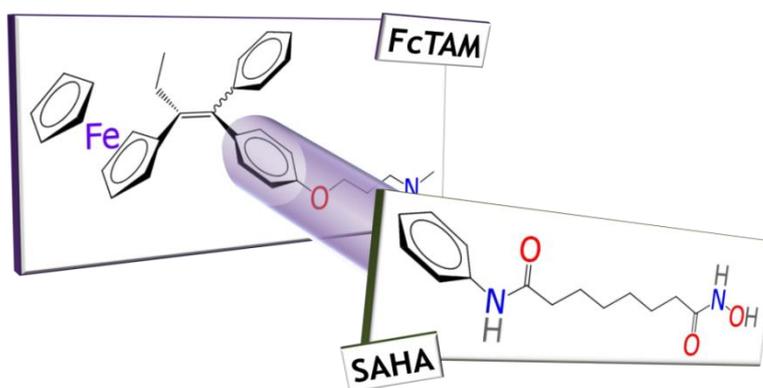


Figure 12. Design de l'hybride **FcTAM-SAHA**.

L'espèce résultante a été appelée **FcTAM-SAHA** et en addition à ceci, nous avons décidé d'étendre cet étude aux hybrides dérivés des molécules organiques de type-**SAHA** : le *N*¹-phénylsubéramide (**PSA**) et l'acide 8-oxo-8-(phénylamino)octanoïque (**OPOA**). Ces composés comportent une fonction chimique amide primaire (CONH₂) et un acide carboxylique (COOH), respectivement, à la place de la fonction hydroxamide (CONHOH) de **SAHA** (Figure 13).

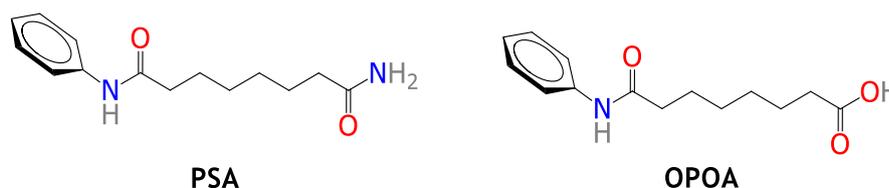


Figure 13. Structures chimiques du *N*¹-phénylsubéramide (**PSA**) et de l'acide 8-oxo-8-(phénylamino)octanoïque (**OPOA**).

De même, dans un but de comparaison, nous avons poursuivi la synthèse et l'évaluation des composés hybrides organiques qui sont le résultat de la combinaison entre le tamoxifène (**TAM**) et le **SAHA**. Ainsi, nous avons préparé, caractérisé et évalué six nouveaux hybrides correspondant aux couples **FcTAM** et **TAM** avec le **SAHA**. Les composés organiques **OPOA**, **PSA** et **SAHA** ont été également évalués. Nous avons testé donc quelques propriétés biologiques associées à chaque partie des hybrides :

- (i) l'effet antiprolifératif dans les cellules cancéreuses, qui est très bien documenté pour les ferrocifènes,
- (ii) l'interaction avec le récepteur alpha des œstrogènes (ER α) qui est associé à la structure du tamoxifène et
- (iii) l'activité d'inhibition des enzymes histone-désacétylases et l'expression du gène p21 associés au motif acide hydroxamique à longue chaîne.

Comme nous l'avons déjà anticipé, nous espérons que ces molécules soient susceptibles de présenter un effet synergique des « molécules mère » pour atteindre une cytotoxicité améliorée. Également, nous attendons que ces molécules fournissent des informations importantes concernant les relations structure-activité des deux parties, la partie **FcTAM** et la partie **SAHA**. Nous espérons que les études sur les cibles choisies nous indiquent si les activités des composés sont associées au ciblage de ces récepteurs.

En outre, comme la circulation intracellulaire des espèces biologiquement actives est évènement difficile à contrôler, on ne peut exclure que l'un des effets des précurseur domine sur l'autre. Ceci présentera un intérêt mécanistique certain sur le potentiel de l'une des composantes des conjugués.

2. Résultats et discussion

2.1 Synthèse

2.1.1 Synthèse de précurseurs

Afin d'accéder aux hybrides dérivés de l'acide subérique **acs**, celui-ci est activé sous la forme de trois produits de départ : l'anhydride subérique **ans**, le chlorure de subéroyle **cls** et l'éthylcarbonate de subéroyle **ecs** (Schéma 1). L'anhydride **ans** est obtenu à partir de la réaction thermique de l'acide subérique et de l'anhydride acétique comme indiqué dans la littérature.^[1] Pour le chlorure **cls**^[2,3] et le carbonate **ecs**,^[4] des modifications aux protocoles rapportés ont été faites. Ainsi, le **cls** a été formé à partir du chlorure d'oxalyle en présence du diméthylformamide et l'**ecs** est synthétisé par la réaction avec du chloroformate d'éthyle (ClCO₂Et) en présence de la triéthylamine (Et₃N).

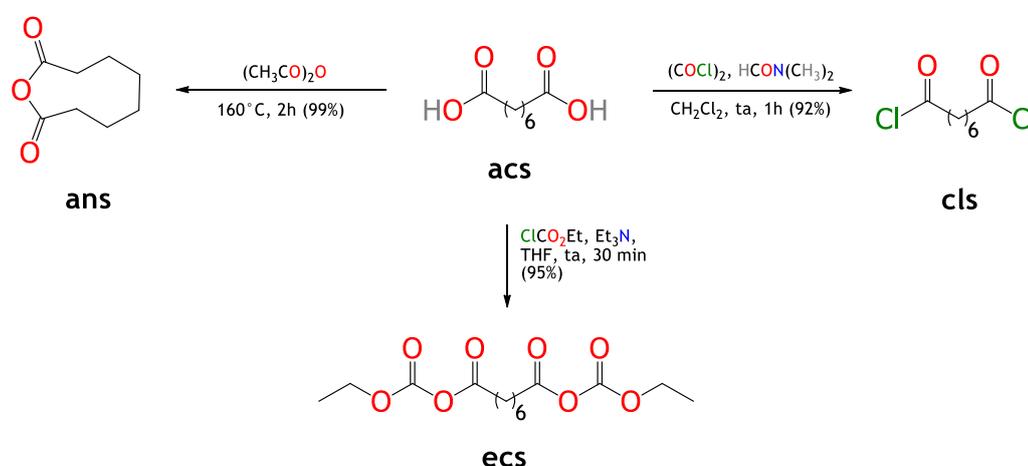


Schéma 1. Synthèses des dérivés de l'acide subérique.

- [1] A Mai, M Esposito, G Sbardellat, S Massat. A new facile and expeditious synthesis of *N*-hydroxy-*N'*-phenyloctanediamide, a potent inducer of terminal cytodifferentiation. *Org Prep Proced Int* **2001**, *33*, 391–394.
- [2] Y Okunoi, K Horita, O Yonemitsu, K Shibata, T Amemiya. A convenient method for the synthesis of macrocyclic tetraamides by double condensation reaction. *J Chem Soc Perkin Trans 1* **1984**, 1115–1118.
- [3] L Kubicova, K Waisser, J Kunes, K Kralova, Z Odlerova, M Slosarek, J Janota, Z Svodoba. Synthesis of *N,N*-diarylalkanediamides and their antimycobacterial and antialgal activity. *Molecules* **2000**, *5*, 714–726.
- [4] TB Windholz, JB Clements. Proximity effects in the decomposition of mixed dicarboxylic-carbonic anhydrides. *J Org Chem* **1964**, *29*, 3021–3023.

Dans un but de comparaison pour les études biologiques et biochimiques, des séries des composés organiques hybrides et non hybrides ont été également synthétisées. Les produits non hybrides organiques envisagés sont des molécules dont la structure est apparentée au N^1 -hydroxy- N^8 -phénylsubéramide **SAHA** (Figure 14). Il s'agit du N^1 -phénylsubéramide **PSA** et de l'acide 8-oxo-8-anilino-octanoïque **OPOA**, synthétisés en suivant les protocoles décrits plus loin. Curieusement, ni la synthèse ni la caractérisation de l'amide **PSA** n'avaient été rapportées.

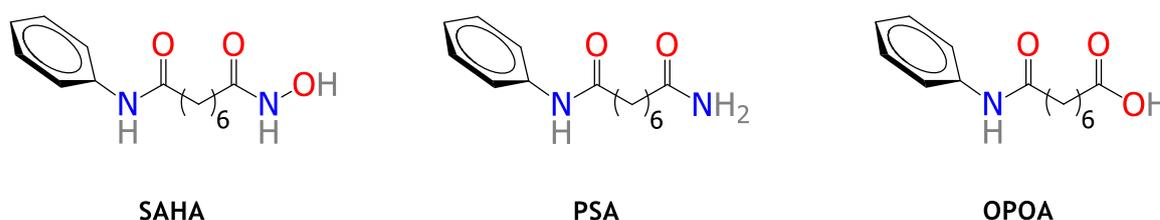


Figure 14. Structure chimique des composés organiques **SAHA**, **PSA** et **OPOA**.

Les composés hybrides organiques et organométalliques sont préparés à partir des amines correspondantes provenant d'une réaction d'hétérocouplage de McMurry qui forme les produits en un mélange d'isomères géométriques *Z/E* non séparable par les techniques chromatographiques conventionnelles.^[5] Ainsi, la 4-(1,2-diphénylbut-1-én-1-yl)aniline **Ph-aline** et la 4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)aniline **Fc-aline** ont été obtenues par réaction de couplage entre la 4-aminobenzophénone et les cétones propiophénone (**Ph-one**) et propionylferrocène (**Fc-one**), respectivement (Schéma 2).

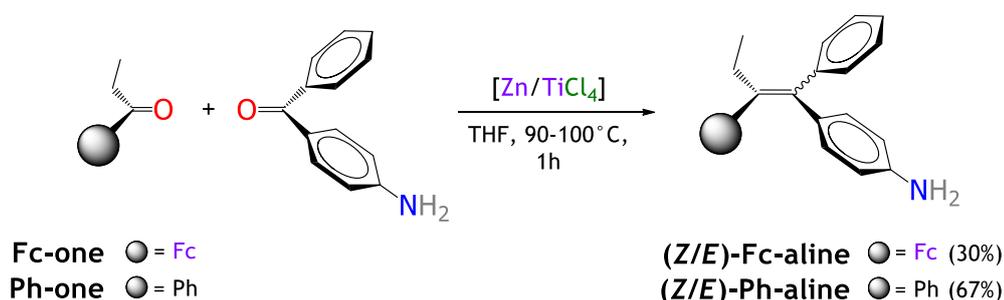


Schéma 2. Synthèse des anilines **(Z/E)-Fc-aline** et **(Z/E)-Ph-aline**.

[5] P Pigeon, S Top, O Zekri, EA Hillard, A Vessières, MA Plamont, O Buriez, E Labbé, M Huché, S Boutamine, C Amatore, G Jaouen. The replacement of a phenol group by an aniline or acetanilide group enhances the cytotoxicity of 2-ferrocenyl-1,1-diphenyl-but-1-ene compounds against breast cancer cells. *J Organomet Chem* **2009**, 694, 895–901.

L'étude spectroscopique bidimensionnelle par RMN a permis d'identifier les deux isomères de chaque produit. Les proportions *Z/E* entre les deux isomères sont : 85/15 pour l'amine organique **Fc-aline** et 95/5 pour l'amine organométallique **Ph-aline**. L'isomère *Z* est largement majoritaire.

2.1.2 Synthèse des acides carboxyliques

Les amines **Fc-aline** et **Ph-aline** ont été ensuite mises à réagir avec l'anhydride subérique **ans** pour former les acides carboxyliques correspondants. Ainsi, le Schéma 3 montre la formation de l'acide 8-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)anilino]-8-oxooctanoïque **FcTAM-OPOA** et l'acide 8-[4-(1,2-diphénylbut-1-én-1-yl)anilino]-8-oxooctanoïque **TAM-OPOA**. La formation concomitante des bisamides N^1, N^8 -bis[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]subéramide (**FcTAM**)₂SA, dans le cas de la synthèse de **FcTAM-OPOA** et le N^1, N^8 -bis[4-(1,2-diphénylbut-1-én-1-yl)phényl]subéramide (**TAM**)₂SA, dans le cas de la synthèse de **TAM-OPOA**, a été toujours observée même en changeant les conditions de réaction comme la température, le solvant, l'ordre d'intervention et les temps d'addition.

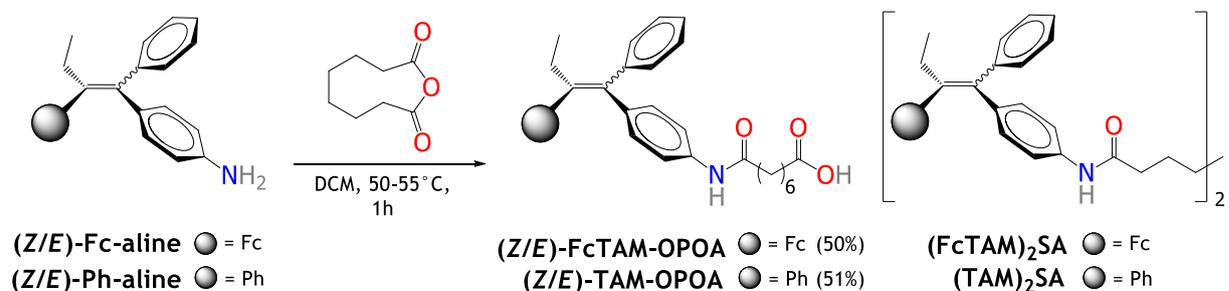


Schéma 3. Synthèse des acides carboxyliques (Z/E)-FcTAM-SAHA et (Z/E)-TAM-SAHA.

Par ailleurs, il est possible de former les acides carboxyliques à partir d'autres formes activées de l'acide subérique. Par exemple, avec le carbonate **ecs**, la réaction procède à température ambiante en 1 h tandis qu'avec le chlorure **cls**, la réaction se fait aussi à température ambiante mais en 15 min. Avec **ecs** et **cls**, la formation des bisamides est aussi observée dans les mêmes proportions.

2.1.3 Synthèse des acides hydroxamiques et des amides primaires

L'étape suivante est la dérivatisation de l'acide carboxylique afin d'obtenir l'acide hydroxamique et l'amide primaire correspondants. Pour rendre possible l'attaque nucléophile sur le carbone de la fonction COOH, l'acide carboxylique est activé avec le chloroformate d'éthyle (ClCO₂Et) en présence de triéthylamine (Et₃N) pour former *in situ* des carbonates (Schéma 4) qui seront utilisés dans l'étape suivante sans besoin de les isoler.

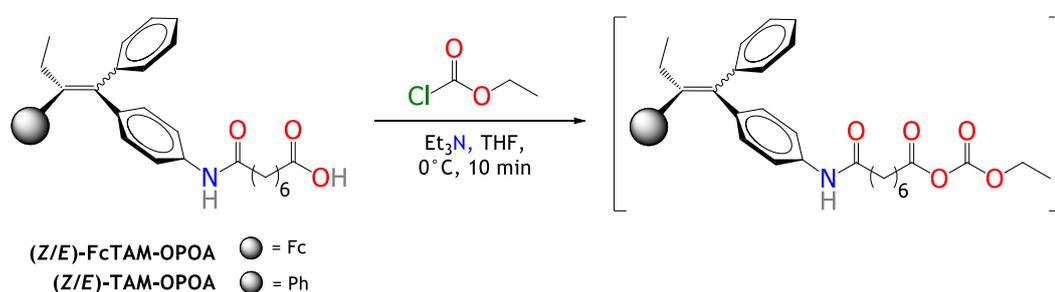


Schéma 4. Activation des acides carboxyliques (Z/E)-FcTAM-OPOA et (Z/E)-TAM-OPOA.

Ainsi, la réaction de ces carbonates avec une solution d'hydroxylamine (NH₂OH) – préparée auparavant – a formé les acides hydroxamiques correspondants N¹-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]-N⁸-hydroxysubéramide **FcTAM-SAHA** et N¹-[4-(1,2-diphénylbut-1-én-1-yl)phényl]-N⁸-hydroxysubéramide **TAM-SAHA** (Schéma 5).

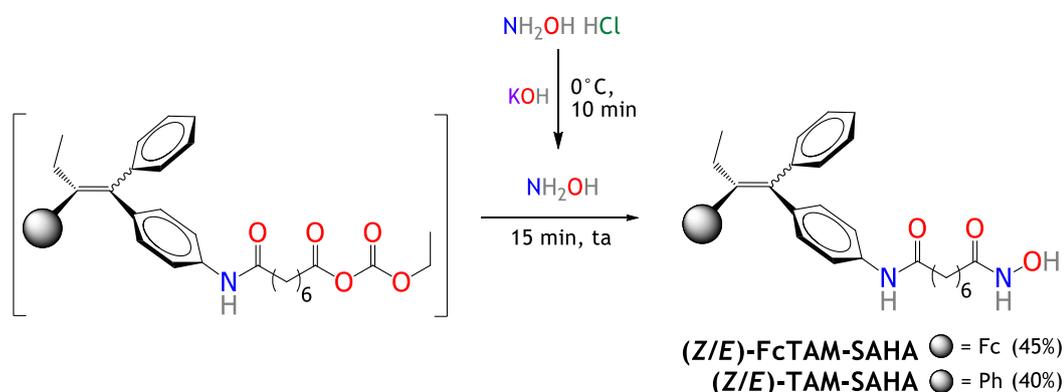


Schéma 5. Synthèse des acides hydroxamiques (Z/E)-FcTAM-SAHA et (Z/E)-TAM-SAHA.

Afin de déterminer si la fonction acide hydroxamique constituait un impératif structural pour que les espèces organométalliques produisent des effets cytotoxiques et ainsi estimer l'effet du pharmacophore de **SAHA** dans la molécule, l'amide primaire **FcTAM-PSA** a été aussi synthétisé dans un but de comparaison (Schéma 6). La réaction des carbonates avec un excès d'amidure de sodium (NaNH_2) a produit les amides primaires respectifs : N^1 -[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]subéramide **FcTAM-PSA** et N^1 -[4-(1,2-diphénylbut-1-én-1-yl)phényl]subéramide **TAM-PSA**.

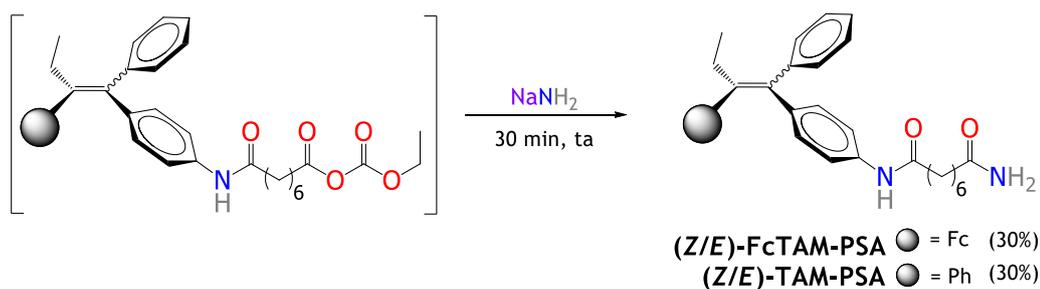


Schéma 6. Synthèse des amides primaires (Z/E)-FcTAM-PSA et (Z/E)-TAM-PSA.

2.1.4 Synthèse du ferrocifène

Le ferrocifène **FcTAM** a été également préparé pour permettre d'effectuer une étude comparative avec les activités biologiques des nouveaux composés. Ainsi, **FcTAM** a été obtenu en faisant réagir d'abord le 4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phénol **Fc-phol** avec de l'hydruide de sodium (NaH) suivi par addition de la 2-chloro-*N,N*-diméthylpropan-1-amine (Schéma 7).

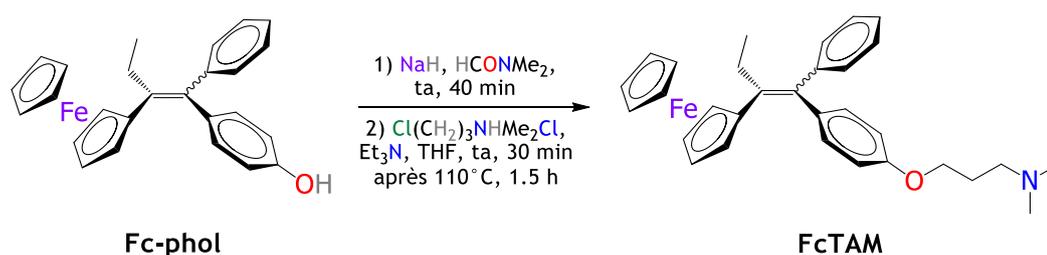


Schéma 7. Synthèse du ferrocifène (FcTAM).

Tous les composés ont été purifiés par colonne chromatographique au gel de silice. Les produits ont été caractérisés par des techniques conventionnelles. Les rendements ont été calculés après purification. Les produits n'ayant pas une pureté supérieure à 99.5% sont repurifiés sur une colonne préparative en phase inverse d'HPLC ou par recristallisation avant de les soumettre aux évaluations biologiques.

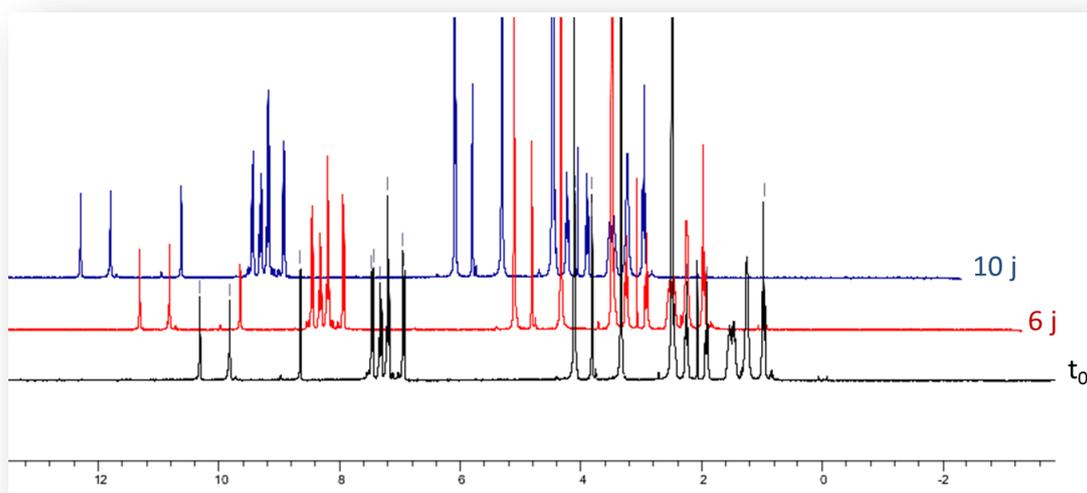
2.2 Stabilité

Tous les produits ont été obtenus sous forme d'un mélange d'isomères géométriques *Z* et *E* non séparables par chromatographie conventionnelle. L'identification des deux isomères a été faite grâce à l'étude spectroscopique bidimensionnelle de RMN et les proportions des isomères sont présentées dans le Tableau 1. Comme on peut le voir, un grand excès de l'isomère *Z* a été observé pour tous les produits. Ces proportions proviennent de la réaction d'hétérocouplage de McMurry déjà décrite pour former les précurseurs et sont susceptibles de changer pendant les processus de purification et de cristallisation à cause des différentes solubilités des isomères dans un solvant donné.

Tableau 1. Proportion d'isomères *Z/E* dans les produits organométalliques et organiques.

Composé	Z (%)	E (%)	Composé	Z (%)	E (%)
FcTAM-SAHA	94	06	TAM-SAHA	89	11
FcTAM-PSA	82	18	TAM-PSA	92	08
FcTAM-OPOA	86	14	TAM-OPOA	91	09

Leur stabilité a été évaluée par spectroscopie de RMN du ^1H (Spectre 1). Les produits se sont avérés très stables dans le DMSO- d_6 à température ambiante pendant une période supérieure à dix jours et au cours de ce temps l'isomérisation n'a pas été observée.



Spectre 1. Spectres de RMN du ^1H (DMSO) pour le composé FcTAM-SAHA à t_0 , 6 et 10 jours.

2.3 Lipophilie

L'un des premières études réalisées aux produits a été la détermination de leur lipophilie *via* l'obtention du coefficient de partition octanol/eau et leurs valeurs ont été comparées avec celle de l'œstradiol (E₂). Ainsi, les trois acides hydroxamiques (CONHOH), les trois amides primaires (CONH₂) et les trois acides carboxyliques (COOH) obtenus ont été testés en suivant la méthode rapportée dans la littérature.^[6,7] Cette méthode implique la détermination des facteurs de capacité chromatographique (*k'*) des molécules relativement petites et non-ioniques par HPLC en phase inverse et en utilisant différentes concentrations de MeOH avec 0.25% d'octanol. Ces facteurs de capacité chromatographique sont calculés selon l'équation « $k' = (t-t_0)/t_0$ » où le *t*₀ est le temps de rétention d'un composé référence qui ne se voit pas affecté par le changement de la polarité de la phase mobile. Pour ce faire, l'uracile a été utilisé. Les facteurs *k'* sont extrapolables pour le component aqueux (*k'*_w).

La valeur logarithmique de ce dernier est calculée par l'équation « $\log k'_w = -b/a$ » où les valeurs pour « *a* » et pour « *b* » proviennent de l'équation « $y = ax + b$ » de la régression linéaire entre le log *k'* et la concentration du MeOH. Ainsi, l'obtention des valeurs logarithmiques des coefficients de partition octanol/eau est faite à partir d'une dernière équation : « $\log P_{o/w} = 0.13418 + 0.98452 (\log k'_w)$ ». Un exemple est présenté pour le cas de l'œstradiol (Tableau 2).

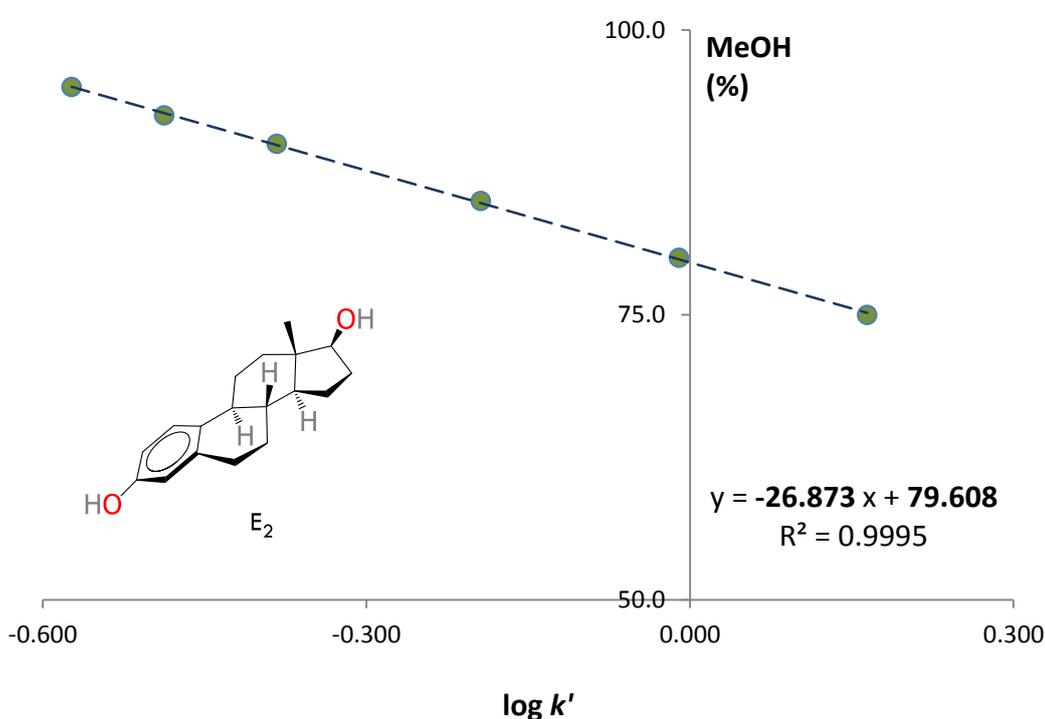
Tableau 2. Détermination des valeurs logarithmiques des facteurs chromatographiques *k'* pour l'œstradiol (E₂) en fonction des concentrations du MeOH.

% MeOH	<i>t</i> ₀	<i>t</i>	<i>k'</i>	log <i>k'</i>
95.0	2.47	3.13	0.267	-0.573
92.5	2.58	3.42	0.326	-0.487
90.0	2.56	3.62	0.414	-0.383
85.0	2.61	4.28	0.640	-0.194
80.0	2.63	5.20	0.977	-0.010
75.0	2.65	6.52	1.460	0.164

[6] DJ Minnick, JH Frenz, MA Patrick, DA Brent. A comprehensive method for determining hydrophobicity constants by reversed-phase high performance liquid chromatography. *J Med Chem* **1988**, 31, 1923–1933.

[7] MG Pomper, H VanBrocklin, AM Thieme, RD Thomas, DO Kiesewetter, KE Carlson, CJ Mathias, MK Welch, JA Katzenellenbogen. 11β-methoxy-, 11β-ethyl- and 17α-ethynyl-substitued 16α-fluoroestradiols: receptor-based imaging agents with enhanced uptake efficiency and selectivity. *J Med Chem* **1990**, 33, 3143–3155.

La corrélation de chaque valeur de concentration de MeOH dans la phase mobile –qui varie de 95% à 75%– avec la valeur correspondante de $\log k'$ produit une série de points qui suit une régression linéaire avec un coefficient de détermination $R^2 = 0.9995$ pour le cas de l'œstradiol (Graphique 1). Cette régression a généré l'équation linéaire « $y = -26.873 x + 79.608$ » qui a servi pour calculer le $\log k'_w = 2.962$ pour l'œstradiol (E_2). Cette dernière valeur a permis d'obtenir la valeur du $\log P_{o/w} = 3.051$ pour E_2 .



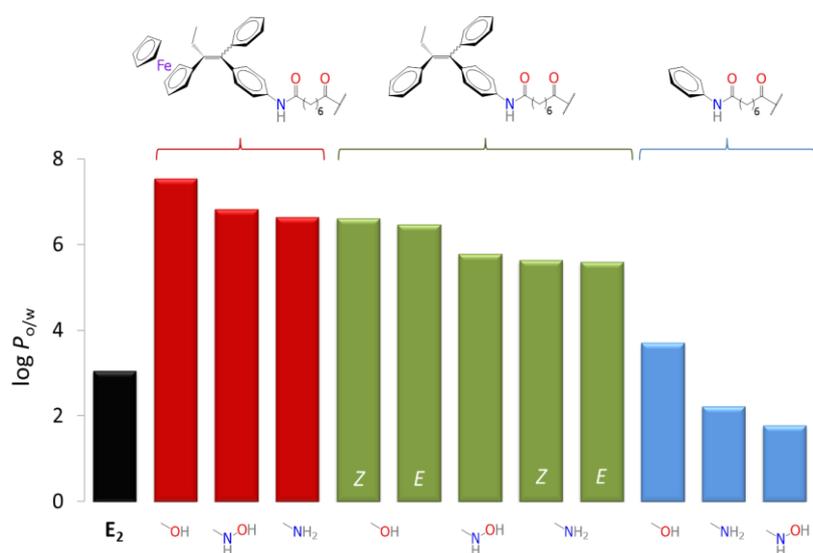
Graphique 1. Régression linéaire entre le k' et $[MeOH]$ pour le cas de l'œstradiol.

Ainsi, toutes les valeurs des composés ont été déterminées et le résultat est présenté dans le Tableau 3. Il est important de souligner que tous les points déterminés ont généré des régressions linéaires qui ont montré des valeurs de coefficient de détermination R^2 supérieures à 0.99. Comme nous pouvons le constater au Tableau 3 et sur le Graphique 2, les hybrides organométalliques (**FcTAM-**) sont les espèces les plus lipophiles des trois séries, suivies par les hybrides organiques (**TAM-**) et finalement par les composés organiques non hybrides. Sauf **PSA** et **SAHA**, tous les composés sont plus lipophiles que l'œstradiol (E_2).

Tableau 3. Valeurs de $\log P_{o/w}$ avec le coefficient de détermination R^2

Composé	$\log P_{o/w}$	R^2
E_2	3.05	0.9995
FcTAM-OPOA	7.53	0.9978
FcTAM-SAHA	6.82	0.9993
FcTAM-PSA	6.63	0.9994
Z-TAM-OPOA	6.61	0.9977
E-TAM-OPOA	6.47	0.9936
TAM-SAHA	5.78	0.9997
Z-TAM-PSA	5.63	0.9997
E-TAM-PSA	5.59	0.9999
OPOA	3.70	0.9952
PSA	2.22	0.9959
SAHA	1.77	0.9985

En termes de fonctionnalité chimique, pour les trois séries, les composés ayant une fonction acide carboxylique (**-OPOA**) présentent des valeurs de $\log P_{o/w}$ plus élevées que les acides hydroxamiques (**-SAHA**) et que les amides (**-PSA**). Pour le cas des deux séries d'hybrides, les amides primaires (**-PSA**) sont les composés les moins lipophiles tandis que pour ce qui concerne la série des composés non-hybrides, la fonction acide hydroxamique (**SAHA**) est la moins lipophile. L'acide carboxylique **TAM-OPOA** et l'amide primaire **TAM-PSA** ont montré une séparation des isomères *Z* et *E* avec des temps de rétention très longs. Pour ces deux cas, nous avons déterminé que la forme *Z* était légèrement plus lipophile que la forme *E*. Pour le reste des composés, les deux isomères présentent le même comportement chromatographique.

**Graphique 2.** Valeur de $\log P_{o/w}$ pour les différents composés.

2.4 Interactions avec le récepteur α des œstrogènes (ER α)

Il est connu que les œstrogènes interviennent dans plusieurs processus physiologiques chez les mammifères, incluant la reproduction, le système cardiovasculaire, l'intégrité des os, la cognition et le comportement.^[8] Au vu de ces rôles répandus dans la physiologie humaine, ce n'est pas étonnant que les œstrogènes soient aussi impliqués dans le développement ou la progression de diverses maladies incluant le cancer, particulièrement, le cancer colorectal, du sein, de l'ovaire, de la prostate et de l'endomètre. Ainsi, une part de l'activité antiproliférative des composés sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant (ER+) peut avoir une relation avec des effets antiœstrogéniques. C'est pour cela que l'expression de ces effets a été étudiée *via* trois évaluations différentes : (i) la détermination de leurs affinités relatives de liaison pour l'isoforme α du récepteur des œstrogènes, (ii) l'effet des concentrations basses des composés sur la croissance des cellules et (iii) la régulation du signal des hormones.

2.4.1 Affinité relative de liaison (RBA) sur l'ER α

Les hybrides ont été évalués tout d'abord dans une étude de ciblage compétitif pour déterminer leurs affinités pour la forme α du récepteur des œstrogènes (ER α). Les récepteurs sont un groupe des protéines cellulaires qui s'activent par l'action de l'hormone appropriée, le 17 β -œstradiol pour ER α . La principale fonction de l'ER est d'agir comme facteur de transcription qui se lie à l'ADN afin de réguler l'expression génétique. Il y a deux types différents d'ER : la forme α et la forme β . Les ER sont exprimés dans une grande variété des tissus. L'ER α est exprimé principalement dans l'endomètre, les cellules de cancer du sein, dans les cellules du stroma ovarien et l'hypothalamus. L'ER α fait partie du groupe des récepteurs nucléaires. L'ER β est exprimée principalement dans les reins, le cerveau, les os, le cœur, les poumons, la mucoité intestinale, la prostate et les cellules de l'endothélium.^[9] Dans le cancer du sein l'isoforme principalement exprimée est l'isoforme alpha (α).^[10]

[8] BJ Deroo, KS Korach. Estrogen receptors and human disease. *J Clin Invest* **2006**, *116*, 561–570.

[9] JF Couse, J Lindzey, K Grandien, JA Gustafsson, KS Korach. Tissue distribution and quantitative analysis of estrogen receptor- α (ER α) and estrogen receptor- β (ER β) messenger ribonucleic acid in the wild-type and ER α -knockout mouse. *Endocrinology* **1997**, *138*, 4613–4621.

[10] SI Hayashi, H Eguchi, K Tanimoto, T Yoshida, Y Omoto, A Inoue, N Yosida, Y Yamaguchi. The expression and function of estrogen receptor α and β in human breast cancer and its clinical application. *Endocr-Relat Cancer* **2003**, *10*, 193–202.

Les affinités de liaison exprimées sont relatives à l'œstradiol E_2 . Les valeurs d'affinité relative de liaison (RBA) sont présentées dans le Tableau 5 pour les six hybrides testés. L'association E_2 -ER α (Figure 15) est prise comme référence et une valeur de RBA de 100% est attribuée à E_2 .

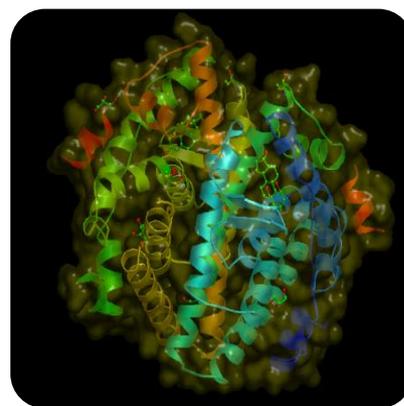


Figure 15.

Structure cristalline du LBD d'ER α complexé avec l'œstradiol.^[11,12]

Tableau 5. Affinité relative de liaison (RBA) de composés pour l'ER α .^a

Composé	RBA (%)	Composé	RBA (%)
TAM-SAHA	21.7	FcTAM-SAHA	9.5
TAM-PSA	25.0	FcTAM-PSA	6.9
TAM-OPOA	22.3	FcTAM-OPOA	4.1

^a Les valeurs sont les résultats des expériences faites en duplicata. RBA pour E_2 = 100%.

Les trois composés organiques **TAM-SAHA**, **TAM-PSA** et **TAM-OPOA** ont montré des affinités pour ER α avec des valeurs de l'ordre de 21.7-25.0%. Ces valeurs sont plus élevées de ce qui était attendu pour des composés avec une chaîne allongée et où manque le motif phénol. La valeur de RBA de **OHTAM** a été trouvée à 38.5%.^[13] Ces résultats montrent que les composés sont capables de se loger dans la cavité du récepteur. Pour les dérivés ferrocéniques **FcTAM-SAHA**, **FcTAM-PSA** et **FcTAM-OPOA**, les valeurs sont plus faibles que celles de leurs analogues organiques. Cependant, avec des valeurs de RBA entre 4.1-9.5%, ils restent raisonnablement reconnus pour le récepteur. Cette différence peut être expliquée par l'effet stérique du groupe ferrocénique qui est plus volumineux que groupement phényle. La différence d'affinité entre les groupes fonctionnels est plus marquée dans le cas de la série ferrocénique et suit l'ordre décroissant : acide hydroxamique > amide > acide carboxylique.

[11] V Delfosse, M. Grimaldi, JL Pons, A Boulahtouf, A le Maire, V Cavallès, G Labesse, W Bourguet, P Balaguer. Structural and mechanistic insights into bisphenols action provide guidelines for risk assessment and discovery of bisphenol A substitutes. *Proc Natl Acad Sci USA* **2012**, *109*, 14930–4935.

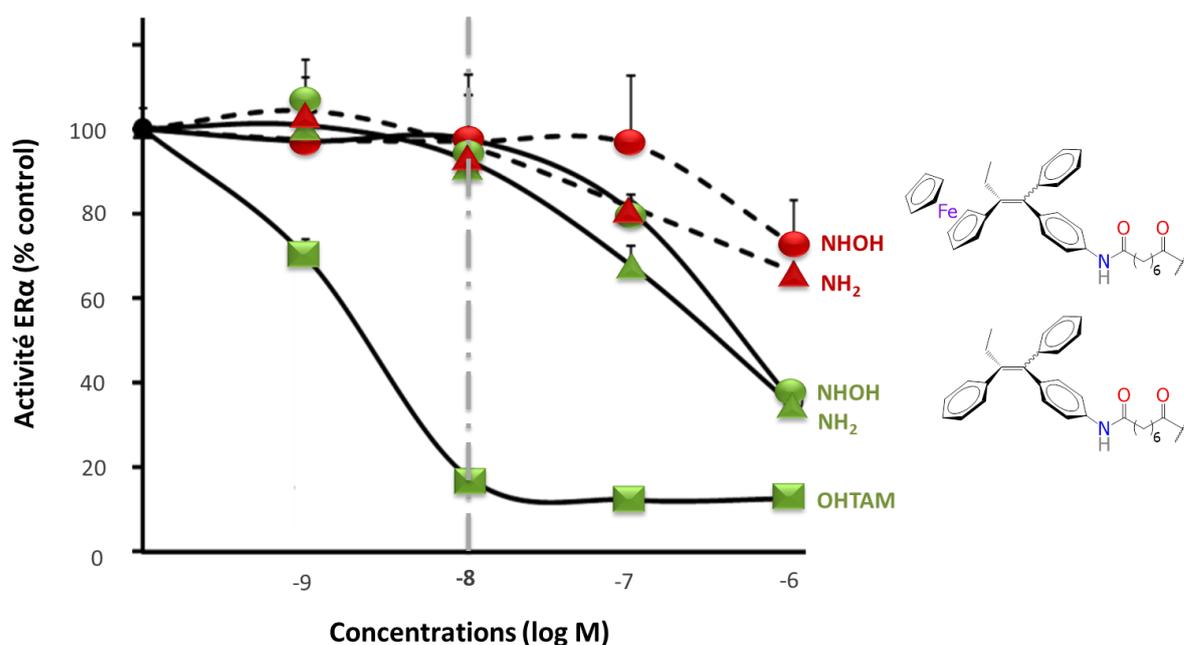
[12] (a) European Molecular Biology Laboratory & European Bioinformatics Institute. EMBL-EBI 2013. Protein data bank in Europe. <http://www.ebi.ac.uk/pdbe-srv/view/entry/3uu7/openastex> (consulté le 18 mai 2013).

(b) Protein data bank in <http://www.pdb.org> (PDB ID codes : 3UU7). (Révisé le 18 mai 2013).

[13] S Top, A Vessières, G Leclercq, J Quivy, J Tang, J Vaisserman, M Huché, G Jaouen. Synthesis, biochemical properties and molecular modelling studies of organometallic specific estrogen receptor modulators (SERMs), the ferrocifens and hydroxyferrocifens: Evidence for an antiproliferative effect of hydroxyferrocifens on both hormone-dependent and hormone-independent breast cancer cell lines. *Chem Eur J* **2003**, *9*, 5223–5236.

2.4.2 Régulation du signal des œstrogènes

Nous avons ensuite quantifié l'effet des deux acides hydroxamiques hybrides **FcTAM-SAHA** et **TAM-SAHA** et des deux amides hybrides **FcTAM-PSA** et **TAM-PSA** sur l'activité transcriptionnelle du ER α . Pour ce faire, la lignée cellulaire HELN-ER α ^[14] a été utilisée. Dans la Graphique 3, nous pouvons voir la forte activité antiœstrogénique observée pour le cas d'**OHTAM** à partir d'une concentration de 10 nM (log M = -8) alors que les quatre hybrides montrent cet effet à des doses plus élevées. La faible activité antiœstrogénique des composés semblent indiquer que le récepteur α des œstrogènes (ER α) n'est pas la cible principale des hybrides pour qu'ils puissent exercer leurs effets cytotoxiques.

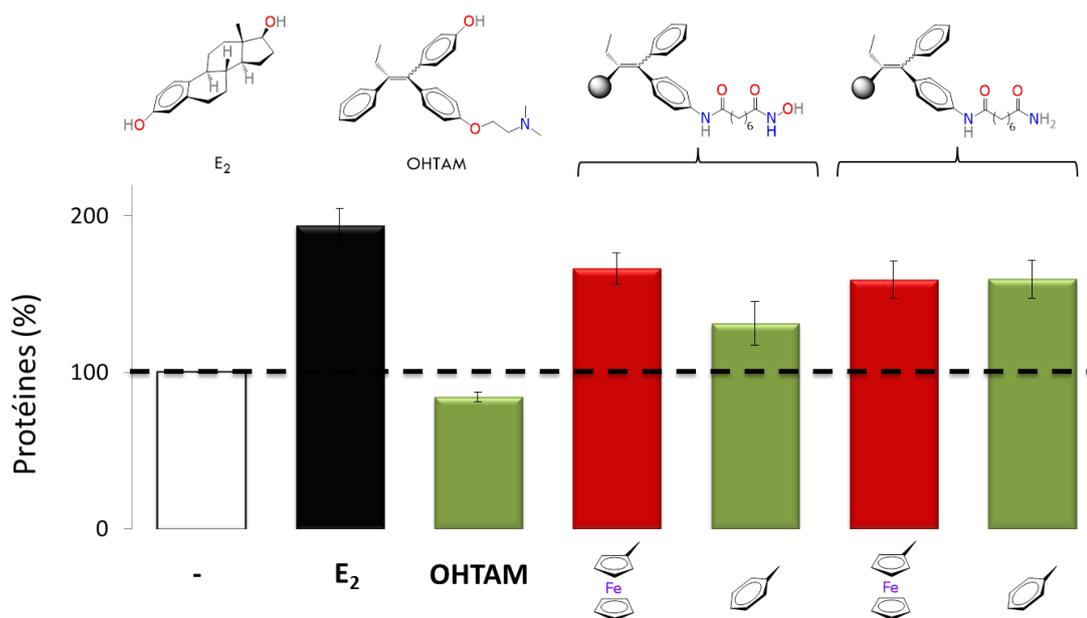


Graphique 3. Effet des composés sur l'activité transcriptionnelle ER α sur les cellules HELN-ER α .

[14] A Escande, A Pillon, N Servant, JP Cravedi, F Larrea, P Muhn, JC Nicolas, C Cavaillès, P Balaguer. Evaluation of ligand selectivity using reporter cell lines stably expressing estrogen receptor alpha or beta. *Biochem Pharmacol* 2006, 71, 1459–1469.

2.4.3 Effets œstrogéniques et antiœstrogéniques

Les effets œstrogéniques et antiœstrogéniques des composés ont été testés à une concentration de 10 nM sur les cellules hormono-dépendantes MCF-7. Les composés **E₂** et **OHTAM** ont été utilisés comme références pour les effets œstrogéniques et antiœstrogéniques, respectivement. Les résultats montrent clairement (Graphique 4) l'existence d'un effet œstrogénique induit pour tous les composés hybrides à une concentration de 10 nM.



Graphique 4. Effet de 10 nM de composé sur la croissance des cellules MCF-7.

L'effet œstrogénique des dérivés ferrocéniques **FcTAM-SAHA** et **FcTAM-PSA** est similaire à celui du composé organique **TAM-PSA**. En revanche, **TAM-SAHA** a montré une activité œstrogénique légèrement plus basse. Ces résultats suggèrent que la présence d'un motif de type-**TAM** n'est pas systématiquement associée aux effets antiœstrogéniques.

2.5 Interactions avec les enzymes histones-désacétylases (HDAC)

Comme nous l'avons vu dans l'introduction de ce chapitre, les HDAC sont un groupe d'enzymes importants impliqués dans les aberrations épigénétiques et leur inhibition induit l'arrêt de la croissance cellulaire, la différenciation, l'apoptose et la mort cellulaire.^[15] Ainsi, une part de l'activité antiproliférative des composés sur les cellules cancéreuses peut avoir une relation avec des effets HDACi. Au moins pour les composés portant une fonction chimique acide hydroxamique capables de lier le cation Zn^{2+} –localisé dans la cavité des enzymes– grâce à leurs propriétés chélatantes. Pour étudier l'activité des composés deux évaluations ont été effectués : une étude théorique de modélisation moléculaire concernant leur interaction avec une isoforme représentative et une étude expérimentale de l'activité d'inhibition enzymatique grâce à l'utilisation de substrats acétylées.

2.5.1. Modélisation

Comme première approche, nous avons réalisé des études de modélisation moléculaire utilisant les structures d'acides hydroxamiques cristallisés avec l'isoforme HDAC8 (pdb : 1t69).^[16] Ainsi, basés sur un rapport de la bibliographie montrant l'interaction entre cette isoforme enzymatique et le **SAHA** (Figure 16), nous avons également introduit les molécules hybrides **FcTAM-SAHA** et **TAM-SAHA** dans la poche enzymatique pour calculer les valeurs de variation d'enthalpie ($\Delta_r H^\circ$).

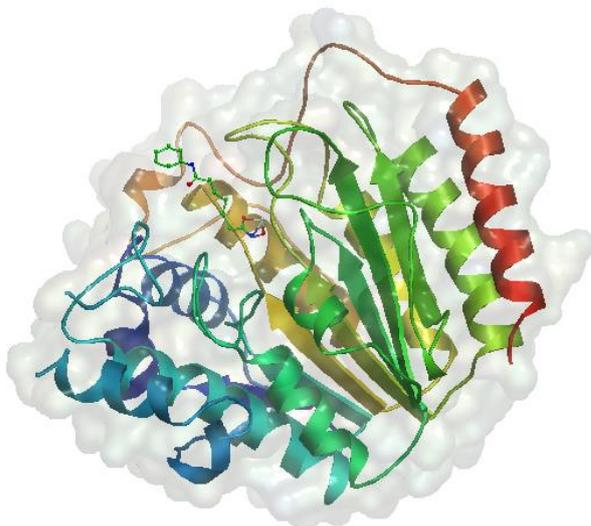


Figure 16. Structure cristalline de HDAC8 complexé avec SAHA^[17]

[15] M Dokmanovic, PA Marks. Prospects: histone deacetylase inhibitors. *J Cell Biochem* **2005**, *96*, 293–304.

[16] JR Somoza, RJ Skene, BA Katz, C Mol, JD Ho, AJ Jennings, C Luong, A Arvai, JJ Buggy, E Chi, T Jie, S Bi-Ching, E Verner, R Wynands, EM Leahy, DR Dougan, S Gyorgy, M Navre, MW Knuth, RV Swanso, DE McRee, LW Tari. Structural snapshots of human HDAC8 provide insights into the class I histone deacetylases. *Structure* **2004**, *12*, 1325–1334.

[17] European Molecular Biology Laboratory & European Bioinformatics Institute. EMBL-EBI 2013. Protein data bank in Europe. <http://www.ebi.ac.uk/pdbe-srv/view/entry/1t69/openastex> (révisé le 20 mai 2013).

Pour ces composés, il a été trouvé que l'interaction avec l'HDAC8 est un processus favorisé thermodynamiquement. Cela est mis en évidence au vu des valeurs négatives d'enthalpie de formation pour le complexe récepteur-ligand (Tableau 5).

Tableau 5. Valeurs de variation d'enthalpie ($\Delta_r H^\circ$) pour les composés liés à l'isoforme HDAC8.

Ligand	$\Delta_r H^\circ$ (kcal/mol)
SAHA	-257.7
<i>E</i> -FcTAM-SAHA	-270.4
<i>Z</i> -FcTAM-SAHA	-267.1
<i>E</i> -TAM-SAHA	-268.1
<i>Z</i> -TAM-SAHA	-264.8

Les valeurs de $\Delta_r H^\circ$ présentées sont la conséquence des deux liaisons σ formées entre le ligand et le cation Zn^{2+} dans la protéine (Figure 17). Les hybrides **FcTAM-SAHA** et **TAM-SAHA** présentent des valeurs similaires et même un peu plus négatives que le **SAHA**. De toutes les espèces étudiées l'isomère ***E*-FcTAM-SAHA** est l'isoforme la plus fortement reconnu.

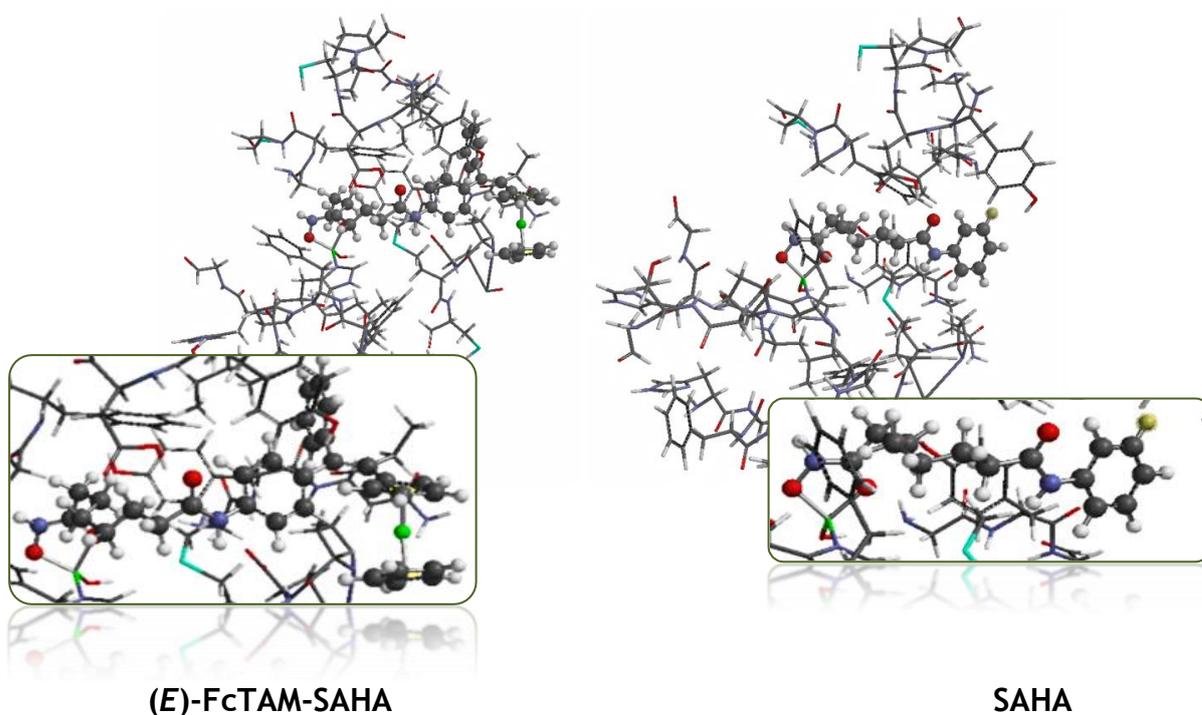


Figure 17. *E*-FcTAM-SAHA et SAHA dans la cavité d'HDAC8.

2.5.2. Inhibition enzymatique des HDAC

La capacité des différents composés d'agir comme inhibiteurs des histones désacétylases (HDACi) est estimée par une mesure basée sur la fluorescence.^[18] La méthode est basée sur l'activité d'un extrait nucléaire des cellules HeLa riche en HDAC 1 et 2 sur un substrat portant un fragment terminal de lysine acétylée. La réaction de désacétylation provoque la génération d'un fluorophore qui peut être détecté dans un fluorimètre. Pour ce faire, nous avons utilisé l'inhibiteur (*R*)-trichostatine A (**TSA**) comme contrôle positif à une concentration de 10 μ M (Figure 18).

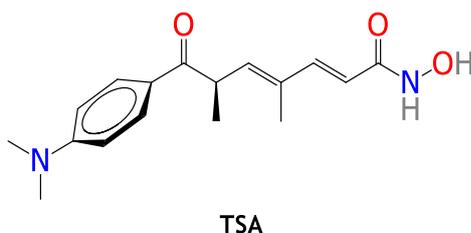


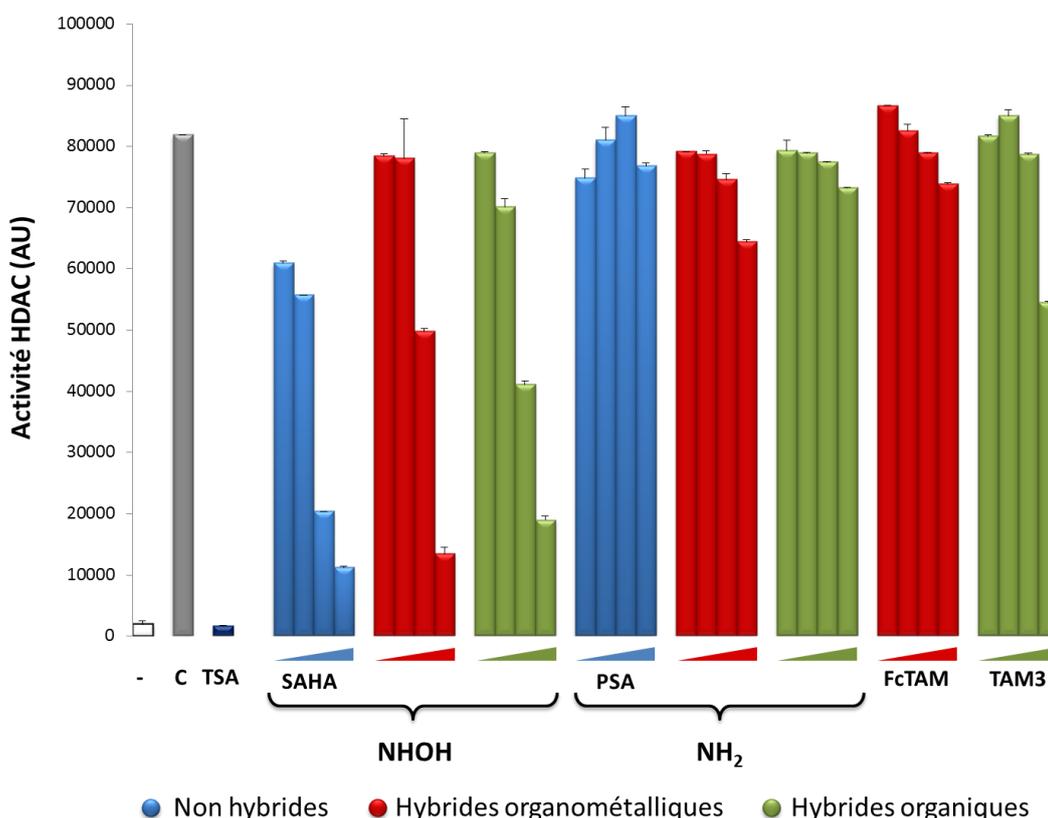
Figure 18. Structure chimique de la (*R*)-trichostatine A.

La molécule de **TSA** a été originalement rapportée comme un antibiotique isolé du genre *Streptomyces*. Cependant, ce composé organique est plus connu de nos jours pour causer l'accumulation *in cellulo* des histones sous une forme acétylée grâce à ses forts effets inhibiteurs des enzymes HDAC. La molécule est responsable également de la différenciation des cellules cancéreuses et de la diminution de leur prolifération ; ce deux derniers événements peuvent être attribués principalement à ses capacités d'inhibition enzymatique des histones-désacétylases.^[19]

[18] Enzo Life Sciences, kit BML-AK500, <http://www.enzolifesciences.com/BML-AK500/fluor-de-lys-hdac-fluorometric-activity-assay-kit/> et http://www.enzolifesciences.com/fileadmin/reports/els_dfab5f24b3.pdf (révisé le 19 mai 2013).

[19] M Yoshida, M Kijima, M Akita, T Beppu. Potent and specific inhibition of mammalian histone deacetylase both *in vivo* and *in vitro* by trichostatine A. *J Biol Chem* **1990**, 265, 17174–17179.

SAHA –qui peut être également vu comme contrôle positif– et les hybrides ont été évalués à différentes concentrations. Les résultats montrent (Graphique 5) que **SAHA** –comme attendu– a inhibé l'activité HDAC et que c'est aussi les cas des deux acides hydroxamiques **FcTAM-SAHA** et **TAM-SAHA** mais leur effet est moins important que celui du **SAHA**. Le reste des produits n'a pas montré une telle activité. L'amide **PSA** –analogue direct de **SAHA**– est resté complètement inactif. Les hybrides **FcTAM-PSA** et **TAM-PSA** confirment que la fonction amide primaire –dans les cas de ces trois molécules– ne produit pas un effet HDACi. Cette inactivité a été aussi observée pour le cas de **TAM3** et de **FcTAM**. Au vu de ces résultats, nous pouvons postuler que seuls les composés des séries ici présentées ayant la fonction acide hydroxamique sont capables d'inhiber l'activité HDAC.



Graphique 5. Effet des composés aux concentrations 0.1 μM, 1 μM, 10 μM et 100 μM. Contrôles : (-) activité en absence d'extraits, (C) activité en absence de produit et (TSA) activité de la trichostatine à 10 μM.

2.6 Effet de chélation

Comme on a pu apprécier dans l'introduction, les effets de **SAHA** en étant qu'HDACi sont très bien documentés et son mécanisme principal d'inhibition enzymatique est la chélation du Zn^{2+} des enzymes HDAC.^[20] Cette caractéristique joue un rôle important dans la biochimie vu que cet effet chélateur peut être exploité pour l'inactivation enzymatique en général.^[21] Les désacétylases –comme les HDAC– sont étudiés *in vitro* comme métalloenzymes qui contiennent normalement le Zn^{2+} . Cependant, ce cation métallique peut varier *in vivo*.^[22,23] Quelle que soit l'espèce métallique, les effets d'inhibition des HDACi comme le **SAHA** sont fortement liés à la chélation du cation exercé par la fonctionnalité chimique au bout de la chaîne alkyle.

En outre, les acides hydroxamiques sont utilisés pour l'extraction des métaux comme le zinc et fer,^[24] certains sont appelés « sidérophores » grâce à leur intervention dans le transport du Fe^{3+} lors du métabolisme microbien^[25] et ils sont utilisés pour révéler les sels ferriques dans des analyses colorimétriques.^[26] Ainsi, pour mesurer la capacité chélatante des composés, le chlorure ferrique ($FeCl_3$) a été mis en présence de **SAHA** et des produits hybrides portant les trois fonctions chimiques, acide hydroxamique (CONHOH), amide primaire ($CONH_2$) et acide carboxylique (COOH). Les résultats apparaissent dans le Tableau 6.

Tableau 6. Comportement des produits en présence du chlorure ferrique.

Composé	Groupe fonctionnel	Effet chélateur	Composé	Groupe fonctionnel	Effet chélateur
SAHA	CONHOH	+	FcTAM-PSA	$CONH_2$	-
FcTAM-SAHA	CONHOH	+	TAM-PSA	$CONH_2$	-
TAM-SAHA	CONHOH	+	FcTAM-OPOA	COOH	-
			TAM-OPOA	COOH	-

[20] PM Lombardi, KE Cole, DP Dowling, DW Christianson. Structure, mechanism, and inhibition of histone deacetylases and related métalloenzymes. *Curr Opin Struct Biol* **2011**, 21, 735–743.

[21] D Griffith, JP Parker, CJ Marmion. Enzyme inhibition as a key target for the development of novel metal based anti-cancer therapies. *Anticancer Agents Med Chem* **2010**, 10, 354–370.

[22] SL Gantt, SG Gattis, CA Fierke. Catalytic activity and inhibition of human histone deacetylase 8 is dependent on the identity of the active site metal ion. *Biochemistry* **2006**, 45, 6170–6178.

[23] DP Dowling, SG Gattis, CA Fierke, DW Christianson. Structures of metal-substituted human histone deacetylase 8 provide mechanistic inferences on biological function. *Biochemistry* **2010**, 49, 5048–5056.

[24] BK Tait, KE Mdlalose, I Taljaard, I. The extraction of some metal ions by LIX 1104 dissolved in toluene. *Hydrometallurgy* **1995**, 38, 1–6.

[25] MJ Miller. Synthesis and therapeutic potential of hydroxamic acid based siderophores and analogs. *Chem Rev* **1989**, 89, 1563–1579.

[26] D Vincent, H Schwal, MC Vincent. Analysis of cardiotoxic heterosides by the color reaction with hydroxylamine and ferric chloride. *Annales Pharm Françaises* **1959**, 17, 579–584.

La solution orange de **FcTAM-SAHA** dans le THF et les solutions incolores de **SAHA** et **TAM-SAHA** ont changé (+) immédiatement en brun foncé après l'addition du FeCl_3 et un précipité s'est formé dans les trois cas. Ce changement de couleur n'a pas été observé (-) dans les cas des amides et acides carboxyliques. En conséquence, parmi cette liste de composés, seulement les acides hydroxamiques (**SAHA**, **FcTAM-SAHA** et **TAM-SAHA**) peuvent former des chélates avec le Fe^{3+} (Figure 19). Cette observation est supportée par une étude cristallographique récente montrant l'interaction du **SAHA** avec différents ions métalliques comme le Fe^{3+} et le Zn^{2+} pour former des complexes *tris-* et *bis-*hydroxamato, respectivement.^[27] Au vu de ces résultats expérimentales, on peut penser que l'hybride organométallique agit de même. Le fait que seulement les acides hydroxamiques montrent une activité chélatante est consistant avec le fait que seulement les acides hydroxamiques ont montré une activité HDACi.

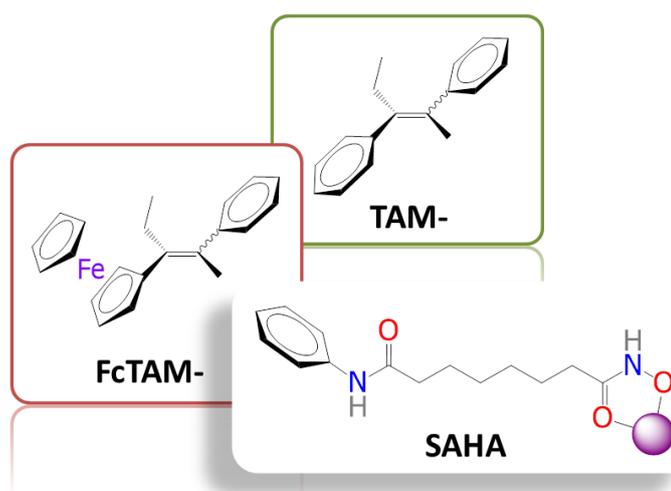
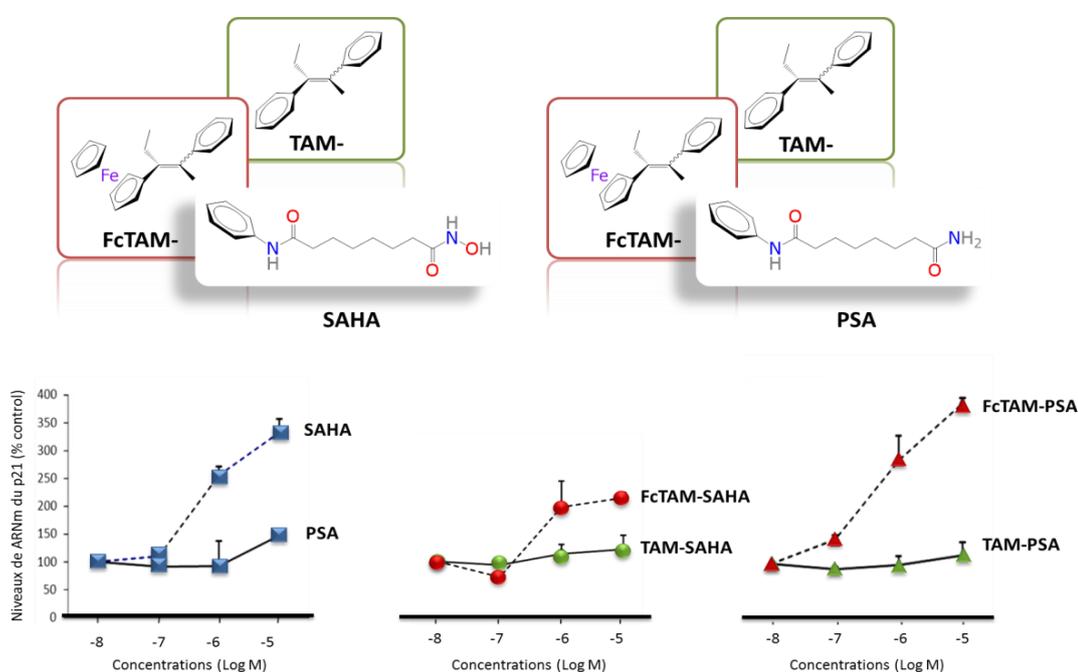


Figure 19. Chélation des ions métalliques par des acides hydroxamiques **SAHA**, **FcTAM-SAHA** et **TAM-SAHA**

[27] DM Griffith, B Szöcs, T Keogh, KY Suponitsky, E Farkas, P Buglyó, CJ Marmion. Suberoylanilide hydroxamic acid, a potent histone deacetylase inhibitor; its X-ray crystal structure and solid state and solution studies of its Zn(II), Ni(II), Cu(II) and Fe(III) complexes. *J Inorg Biochem* **2011**, *105*, 763–769.

2.7 Effet sur l'expression du gène p21^{WAF1}

Le p21^{WAF1} est un gène humain situé dans le chromosome 6 (6p21.2) qui code pour un inhibiteur des kinases dépendantes de cycline (CDKN1A) pour conduire à l'arrêt de la progression du cycle cellulaire.^[28] Le p21 est aussi un médiateur de l'activité du gène suppresseur des tumeurs p53.^[29] Certaines études ont montré que les inhibiteurs d'HDAC activent fortement et de manière sélective l'expression du p21.^[30,31,32] Cette expression génétique –qui est supprimée dans plusieurs cellules tumorales– est directement associée à l'arrêt de la croissance cellulaire. Pour cette raison nous avons mené une étude d'évaluation des effets des hybrides sur l'expression du gène p21 dans les cellules MCF-7 par des méthodes rapportées.^[33,34] Les résultats sont présentés dans la Graphique 6.



Graphique 6. Effet des acides hydroxamiques et des amides sur l'expression du gène p21.

- [28] T Abbas, A Dutta. p21 in cancer: intricate networks and multiple activities. *Nat Rev Cancer* **2009**, 9, 400–414.
- [29] WS el-Deiry, T Tokino, VE Velculescu, DB Levy, R Parsons, JM Trent, WE Mercer, KW Kinzler, B Vogelstein. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* **1993**, 75, 817–825.
- [30] VM Richon, TW Sandhoff, RA Rifkind, P Marks. Histone deacetylase inhibitor selectively induces p21^{WAF1} expression and gene-associated histone acetylation. *Proc Natl Acad Sci USA* **2000**, 97, 10014–10019.
- [31] CY Gui, L Ngo, WS Xu, VM Richon, PA Marks. Histone deacetylase (HDAC) inhibitor activation of p21WAF1 involves changes in promoter-associated proteins, including HDAC1. *Proc Natl Acad Sci USA* **2004**, 101, 1241–1246.
- [32] M Ocker, R Schneider-Stock. Histone deacetylase inhibitors: signalling towards p21^{cip1/waf1}. *Int J Biochem Cell Biol* **2007**, 39, 1367–1374.
- [33] Y Sowa, T Orita, S Minimikawa, K Nakano, T Mizuno, H Nomura, T Sakai. Histone deacetylase inhibitor activates the WAF1/Cip1 gene promoter through the Sp1 sites. *Biochem Biophys Res Commun* **1997**, 241, 142–150.
- [34] R Margueron, A Licznar, G Lazennec, F Vignon, V Cavaillès. Estrogen receptor alpha increases p21 (WAF1/CIP1) gene expression and the antiproliferative activity of histone deacetylase inhibitors in human breast cancer cells. *J Endocrinol* **2003**, 179, 41–53.

Comme nous pouvons voir, les niveaux de l'ARN_m du p21 ont augmenté fortement après le traitement avec **SAHA**. En revanche, une faible activité a été observée pour le cas de **PSA**. Sachant que l'activation du p21 est liée à une activité HDACi, on s'attendait à ce que l'amide **PSA** –qui ne montre pas une activité HDACi– ne soit pas capable d'induire l'accumulation de p21. Pour le cas des acides hydroxamiques hybrides, on peut apprécier que, contrairement à leurs similitudes en activité HDACi, leurs effets sur le p21 ont été significativement différents. L'hybride organométallique **FcTAM-SAHA** –montrant une activité moins forte que **SAHA**– a favorisé l'accumulation d'ARN du p21 plus que son analogue organique **TAM-SAHA**. Il est intéressant de noter que le composé avec l'activité la plus forte dans cette étude est l'amide organométallique **FcTAM-PSA** alors qu'il ne possède pas d'effets HDACi. Par conséquent, sa forte production de p21 ne peut pas être liée aux effets d'inhibition de ces enzymes et d'autres mécanismes doivent être pris en considération. D'une manière générale, les composés organiques **PSA**, **TAM-PSA** et **TAM-SAHA** ont une faible activité sur l'expression du gène p21 alors que **SAHA** et les composés ferrocéniques **FcTAM-SAHA** et **FcTAM-PSA** induisent fortement l'expression du gène p21.

Sachant que le p53 peut être régulé par des mécanismes redox,^[35] par exemple, par des espèces réactives d'oxygène (ROS),^[36] l'une des hypothèses qui pourrait donner une explication à la forte accumulation du p21 générée par le composé ferrocénique **FcTAM-PSA** serait sa capacité à produire des ROS. Dans ce contexte, nous avons déjà exploré que l'hydroxyferrocifène **FcOHTAM** est capable d'induire les ROS.^[37] Par ailleurs, les effets antiprolifératifs d'autres composés organométalliques de ruthénium ont été liés à leur capacité d'activer le p21 et le p53.^[38,39] Des études préliminaires suggèrent que **FcTAM-PSA** a été capable d'augmenter l'accumulation d'autres cibles de p53 dans les cellules MCF-7 à savoir le PIG et le PUMA.

[35] DH Kim, JK Kundu, YJ Suth. Redox modulation of p53: Mechanisms and functional significance. *Mol Carcinog* **2011**, 50, 222–234.

[36] A Maillot, S Pervaiz. Redox regulation of p53, redox effectors regulated by p53: a subtle balance. *Antioxid Redox Signal* **2012**, 16, 1285–1294.

[37] A Vessières, C Corbet, JM Heldt, N Lories, N Jouy, I Laïos, G Leclercq, G Jaouen, RA Toillon. A ferrocenyl derivative of hydroxytamoxifen elicits an estrogen receptor-independent mechanism of action in breast cancer cell lines. *J Inorg Biochem* **2010**, 104, 503–511.

[38] C Gaiddon, P Jeannequin, P Bischoff, M Pfeffer, C Sirlin, JP Loeffler. Ruthenium (II)-derived organometallic compounds induce cytostatic and cytotoxic effects on mammalian cancer cell lines through p53-dependent and p53-independent mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther* **2005**, 315, 1403–1411.

[39] RL Hayward, QC Schornagel, R Tente, JS Macpherson, RE Aird, S Guichard, A Habtemariam, P Sadler, DI Jodrell. Investigation of the role of Bax, p21/Waf1 and p53 as determinants of cellular responses in HCT116 colorectal cancer cells exposed to the novel cytotoxic ruthenium(II) organometallic agent, RM175. *Cancer Chemother Pharmacol* **2005**, 55, 577–583.

2.8 Activité antiproliférative sur les cellules de cancer humain

Les composés ont été tout d'abord évalués dans une étude d'inhibition de la croissance de cellules de cancer du sein et de la prostate à une concentration de 10 μM pour déterminer les espèces les plus actives. Les composés actifs à cette concentration ont été sélectionnés pour la détermination des valeurs d' IC_{50} . Les lignées cellulaires évaluées ont été MDA-MB-231 pour le cancer du sein de type triple négatif, MCF-7 pour le cancer du sein du type hormono-dépendant et PC-3 pour le cancer de la prostate du type hormono-indépendant (Tableau 3). Toutes les évaluations biologiques des produits hybrides ont été réalisées sous la forme des mélanges d'isomères *Z/E* avec un très large excès de l'isomère *Z* (supérieure à 80%).

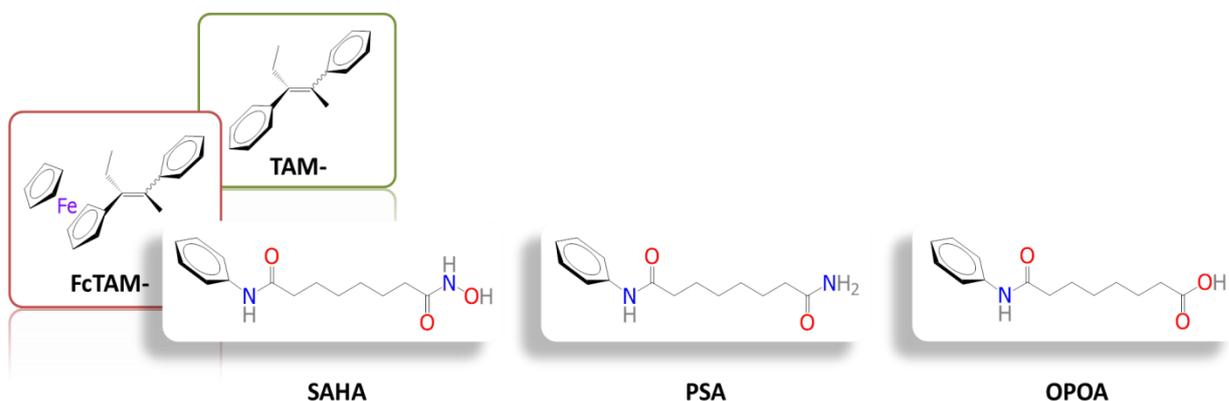
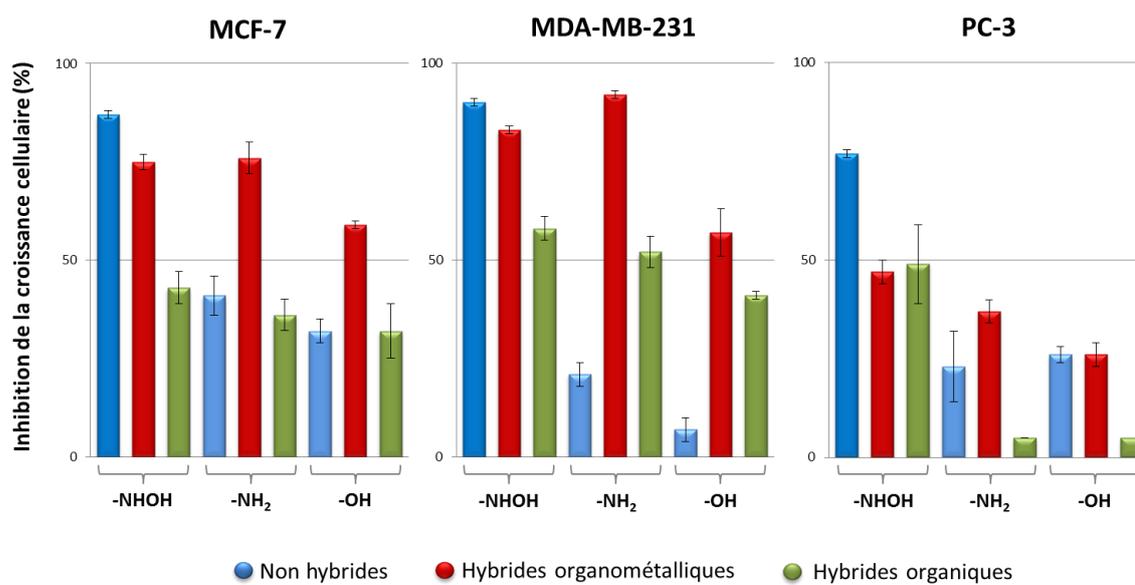


Tableau 3. Inhibition de la croissance cellulaire (%) à 10 μM dans les trois lignées cellulaires^a

Composé	MDA-MB-231	MCF-7	PC-3
SAHA	90 \pm 1	87 \pm 1	77 \pm 1
FcTAM-SAHA	83 \pm 1	75 \pm 2	47 \pm 3
TAM-SAHA	58 \pm 3	43 \pm 4	49 \pm 10
PSA	21 \pm 3	41 \pm 5	23 \pm 9
FcTAM-PSA	92 \pm 1	76 \pm 4	37 \pm 3
TAM-PSA	52 \pm 4	36 \pm 4	< 5
OPOA	7 \pm 3	32 \pm 3	26 \pm 2
FcTAM-OPOA	57 \pm 6	59 \pm 1	26 \pm 3
TAM-OPOA	41 \pm 1	32 \pm 7	< 5

^a Les mesures ont été faites après 72 h. Les valeurs sont la moyenne des trois manipulations \pm ET.

A cette concentration, la plupart des composés ont montré des effets antiprolifératifs *in vitro* sur les cellules du cancer. Cet effet a été légèrement plus élevé contre la lignée cellulaire MDA-MB-231 et d'une manière générale la lignée cellulaire PC-3 a été moins sensible à l'effet des composés. **SAHA** –qui peut être vu comme le composé de référence– a été très actif contre les trois lignées cellulaires. Dans la Graphique 7, nous pouvons voir les comportements des produits testés.



Graphique 7. Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses causée par les composés à 10 µM.

Dans le cas des cellules MDA-MB-231, **SAHA** et les deux dérivés organométalliques **FcTAM-PSA** et **FcTAM-SAHA** montrent une activité assez forte inhibant plus du 83% de la croissance cellulaire, suivis de l'acide organométallique **FcTAM-OPOA** et le reste des composés hybrides organiques. L'amide **PSA** et l'acide carboxylique **OPOA** exhibent une très faible activité. Sur les cellules MCF-7, **SAHA** est le produit le plus actif suivi des composés organométalliques (**FcTAM-**) et le reste des produits organiques qui ont montré une activité moins importante. Dans le cas des cellules PC-3, le composé le plus actif est le **SAHA** suivi par les acides hydroxamiques **TAM-SAHA** et **FcTAM-SAHA**. Les deux autres composés organométalliques montrent une activité modérée pendant que les hybrides organiques **TAM-PSA** et **TAM-OPOA** restent les moins actifs. En termes de fonctionnalité chimique, les acide hydroxamique (NHOH) et les amides primaires (CONH₂) semblent avoir une activité meilleure et, particulièrement dans la série organométallique, l'amide primaire reste légèrement plus actif sur la fonction acide hydroxamique. Dans tous les cas, la fonction acide carboxylique a rendu les produits moins actifs et les hybrides organométalliques dominant sur les analogues organiques.

Afin de vérifier les effets antiprolifératifs des composés organométalliques, nous avons poursuivi la détermination des valeurs d' IC_{50} sur les deux lignées cellulaires de cancer du sein pour les composés hybrides à savoir les amides (-**PSA**) et les acides hydroxamiques (-**SAHA**). Pour ce faire, nous avons considéré également le **FcTAM** et le **SAHA** comme produits de référence. Les résultats sont montrés dans le Tableau 4.

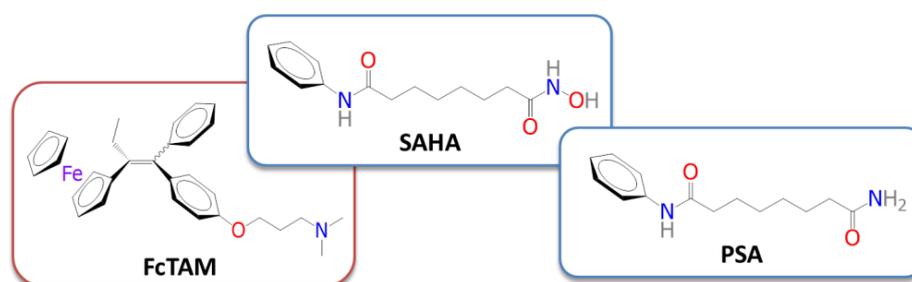


Tableau 4. Valeurs d' IC_{50} (μM) des produits choisis sur les lignées cellulaires de cancer du sein MCF-7 et MDA-MB-231.^a

Composés	MDA-MB-231	MCF-7
SAHA	3.64 \pm 0.51	1.04 \pm 0.19
FcTAM	2.62 \pm 0.70	4.41 \pm 0.99
FcTAM-SAHA	0.70 \pm 0.07	2.01 \pm 0.07
TAM-SAHA	8.61 \pm 0.79	> 10
FcTAM-PSA	0.50 \pm 0.11	1.81 \pm 0.88
TAM-PSA	25.90 \pm 4.95	> 10

^a Les mesures ont été faites après 72 h. Les valeurs sont la moyenne des deux manipulations \pm ET.

Ces résultats confirment le fort pouvoir antiprolifératif des hybrides ferrocéniques et leur supériorité sur leurs analogues organiques correspondants. Sur les cellules MDA-MB-231, l'acide hydroxamique **FcTAM-SAHA** est douze fois plus actif que son analogue organique **TAM-SAHA** et l'amide primaire **FcTAM-PSA** est plus de cinquante fois plus actif que **TAM-PSA**. Ces études biologiques sur les cellules montrent que la combinaison des deux caractéristiques (**FcTAM** et **SAHA**) apporte des effets bénéfiques en termes d'activité antiproliférative.

Pour le cas des cellules MCF-7 (ER+), l'activité des hybrides a été identifiée avec des valeurs d'IC₅₀ plus élevées en comparaison avec les cellules MDA-MB-231 (ER-). Comme nous l'avons observé dans le point 2.4.3, le léger effet œstrogénique pourrait expliquer ces légères différences sur les deux type de cellules ER+ et ER-. Cependant, les hybrides ferrocéniques **FcTAM-SAHA** et **FcTAM PSA** restent –au moins cinq fois– plus actifs que les organiques **TAM-SAHA** et **TAM-PSA**, respectivement. Les deux composés organométalliques sont environ deux fois plus actifs que leur précurseur **FcTAM**. Cette dernière comparaison peut indiquer que la modification sur la structure chimique du **FcTAM** apporte également des effets bénéfiques en termes de cytotoxicité. Sur ces cellules, **SAHA** est le composé le plus actif. La combinaison structurale de **SAHA** et **FcTAM** a amélioré l'activité de **FcTAM** plus de deux fois (d'un IC₅₀ = 4.41 μM à 2.01 μM). Cependant, la modification sur la molécule du **SAHA** n'a pas apporté d'augmentation à l'activité antiproliférative sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant, au vu que l'hybride **FcTAM-SAHA** reste autour de deux fois moins actif que **SAHA** (2.01 μM vs 1.04 μM). Ce comportement sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant a été également rapporté pour les deux autres analogues organométalliques de **SAHA** que nous avons décrits lors de l'introduction de ce Chapitre : le *N*¹-ferrocényl-*N*⁸-hydroxysuberamide **JAHA** et le complexe tricarbonyl[(8-hydroxyamino-8-oxooctanamido)-η⁵-cyclopentadiényl]rhénium(I) **[Re]-HSA** (Figure 20). Dans tous les cas, **SAHA** a montré une activité supérieure à celle des analogues contre les cellules de cancer du sein ER+. Cependant, il semble que cette différence entre l'activité de **SAHA** et son analogue est moins prononcée dans le cas de l'hybride **FcTAM-SAHA**, qui s'approche plus de l'activité de l'inhibiteur.

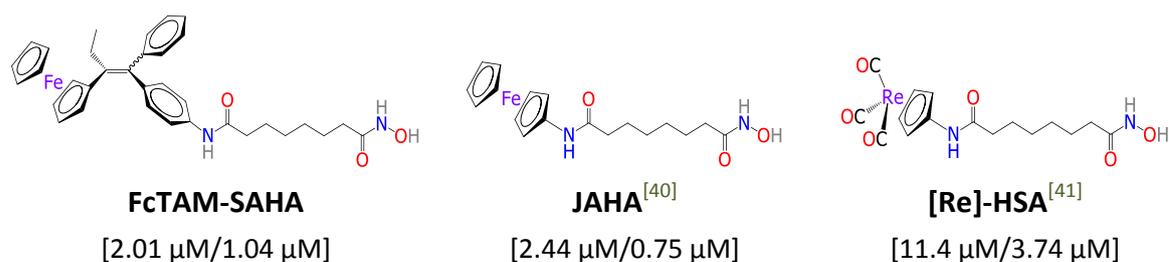


Figure 20. Structures chimiques de trois composés organométalliques dérivés de **SAHA** avec leurs valeurs correspondantes d'IC₅₀ vs les valeurs d'IC₅₀ rapportées pour le **SAHA** [composé/SAHA] sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant.

[40] J Spencer, J Amin, M Wang, G Packham, SS Syed Alwi, GJ Tizzard, SJ Coles, RM Paranal, JE Bradner, TD Heightman. Synthesis and biological evaluation of JAHA: ferrocene-based histone deacetylase inhibitors. *ACS Med Chem Lett* **2011**, 2, 358–362.

[41] D Can, HW Peindy N'Dongo, B Spingler, P Schmutz, P Raposinho, I Santos, R Alberto. The [(Cp)M(CO)₃](M=Re, ^{99m}Tc) building block for imaging agents and bioinorganic probes: perspectives and limitations. *Chem Biodiversity* **2012**, 9, 1849–1866.

Il est intéressant de noter qu'en opposition à la remarquable différence des effets antiprolifératifs exercés par **FcTAM-SAHA** (très actif) et **TAM-SAHA** (peu actif), les deux hybrides ont montré leur capacité d'inhibition des enzymes HDAC dans les mêmes proportions. Cela suggère que les HDAC ne sont pas ciblées principalement par l'hybride organométallique **FcTAM-SAHA** afin qu'il puisse exprimer de forts effets cytotoxiques contre les cellules cancéreuses, même si sa structure ressemblant à celle de **SAHA** et son activité HDACi pouvaient *a priori* indiquer le contraire. Ce raisonnement peut être extrapolé à l'hybride **FcTAM-PSA** et à **FcTAM** qui n'ayant pas une activité HDACi, montrent des effets cytotoxiques remarquables. Au vu de ces résultats nous pouvons supposer que d'autres événements mécanistiques doivent opérer pour que les composés exercent leurs effets antiprolifératifs.

Les deux hybrides organométalliques sont plus actifs que **FcTAM** et de façon remarquable, ils dépassent aussi l'activité de **SAHA**. Cela suggère l'occurrence d'un effet synergique entre **FcTAM** et **SAHA** sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein (Figure 21). Analysant les cytotoxicités de façon séparée, on peut réaliser que dans le cas de **SAHA**, la présence de l'unité organométallique 2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yle –comme substituant de la position 4 du phényle de **SAHA**– a augmenté sa cytotoxicité plus de cinq fois –d'une valeur d' $IC_{50} = 3.64 \mu M$ à $0.70 \mu M$ – pendant que dans le cas de **FcTAM**, l'échange par la chaîne 8-hydroxyamino-8-oxooctanamido à la place de la diméthylaminoalkoxy a amélioré son activité de plus de trois fois –d'une valeur d' $IC_{50} = 2.62 \mu M$ à $0.70 \mu M$ –.

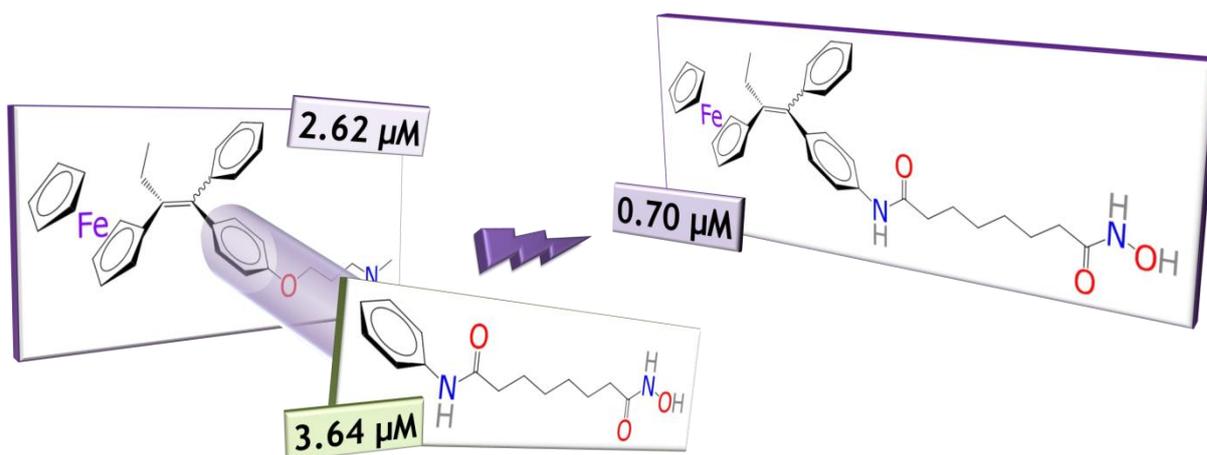


Figure 21. Structures of **FcTAM**, **SAHA** et **FcTAM-SAHA** et valeurs d' IC_{50} sur les cellules MDA-MB-231 (cancer du sein triple négatif).

3. Conclusion

Une nouvelle famille des composés hybrides combinant les motifs structuraux des médicaments : le tamoxifène (**TAM**) et le vorinostat (**SAHA**) et le complexe organométallique ferrocifène (**FcTAM**) a été synthétisée, caractérisée et évaluée. Les résultats montrent clairement que les complexes organométalliques sont plus actifs que les analogues organiques contre les lignées MDA-MB-231 et MCF-7 de cancer du sein et contre la lignée PC-3 de cancer de la prostate. Ils confirment l'importance de l'unité organométallique pour assurer les effets anticancéreux. L'activité de **SAHA** contre la lignée MDA-MB-231 de cancer du sein triple négatif peut être améliorée *via* la *para* substitution au niveau de son « cap » par le groupe 2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yle du **FcTAM**. L'activité antiproliférative du **FcTAM** pour les deux lignées cellulaires MCF-7 et MDA-MB-231 de cancer du sein peut être améliorée moyennant le remplacement de son groupe 3-(diméthylamino)propan-1-oxy par le groupe 8-hydroxyamino-8-oxooctanamido présent dans la molécule du **SAHA** ou par le groupe 8-amino-8-oxooctanamido présent dans la molécule de **PSA**.

Les hybrides **FcTAM-SAHA** et **FcTAM-PSA** présentent de meilleurs effets antiprolifératifs que le **SAHA** sur les cellules du cancer du sein triple-négatif, pour lequel la thérapie reste encore un challenge vu que ce type de cancer agressif ne possède pas des récepteurs intracellulaires définis. On a montré que, contre la lignée MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant, le **SAHA** est l'agent le plus efficace parmi les espèces présentées dans ce chapitre. Ces effets sont attribués à sa capacité d'arrêter le cycle cellulaire et d'induire la différenciation des cellules cancéreuses. La forte activité antiproliférative de **FcTAM-PSA** n'est pas attribuable à une activité HDACi. Pour le cas de **FcTAM-SAHA** qui a montré une activité HDACi, on peut soupçonner que les enzymes HDAC ne sont pas les cibles principales *in cellulo* pour le développement d'une cytotoxicité. Par conséquent, l'activité des composés ferrocéniques est attribuable aux propriétés spécifiques du groupe ferrocénique, en particulier à ses propriétés d'oxydo-réduction qui pourraient générer les espèces réactives d'oxygène (ROS). L'augmentation de l'expression du gène suppresseur de tumeurs p21^{WAF1} est probablement due à cette génération de ROS.

4. Partie expérimentale

4.1 Considérations générales

4.1.1 Procédures chimiques

Tous les réactifs utilisés ont été obtenus commercialement et ont été utilisés sans autre purification. Le tétrahydrofurane (THF) a été distillé sous atmosphère inerte (argon) sur sodium (Na) / benzophénone et le dichlorométhane (DCM) a été distillé sur pentoxyde de phosphore (P₂O₅). La chromatographie sur couche mince a été réalisée avec des plaques de gel de silice 60 GF₂₅₄. Les colonnes chromatographiques ont été préparées avec le gel de silice Merk 60 (40-63 μm). Tous les produits ont été caractérisés par les techniques conventionnelles. Les spectres infrarouges ont été enregistrés sur le spectromètre Jasco FT/IR-4100, les échantillons ont été préparés sous forme de pastilles de bromure de potassium (KBr). Les points de fusion ont été déterminés à l'aide d'un banc de Kofler sans correction. Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton (¹H) et du carbone (¹³C) ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker de 300 MHz, les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en parties par million (ppm). Les spectres de masse ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre *Thermo Scientific* DSQII et ITQ 1100 pour les mesures par les méthodes d'impact électronique (EI) et ionisation chimique (CI), le modèle API 3000 PE Sciex Applied Biosystem a été utilisé pour la méthode d'ionisation par électrobuliseur (ESI). La pureté (>99%) des produits testés a été confirmée par un système d'HPLC analytique en phase inverse avec des colonnes Kromasil C18, 10 μm, L = 25 cm, D = 4.6 mm et Macherey-Nagel C18, 5 μm, L = 15 cm, 4.6 mm ; en utilisant des mélanges MeOH/H₂O et MeCN/H₂O comme phase mobile, débit = 1 mL/min, λ = 254 nm. Les analyses élémentaires et les HRMS ont été effectuées dans le laboratoire de microanalyses et dans le service de spectrométrie de masse, respectivement, de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN) du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) à Gif-sur-Yvette, France.

4.1.2 Modélisation moléculaire

Les expériences de modélisation moléculaire ont été effectuées en utilisant la structure cristalline connue de l'enzyme HDAC8 contenant le SAHA dans sa cavité (pdb : 1t69).^[1] Seuls les acides aminés qui constituent la paroi de la cavité sont conservés pour le calcul. La molécule de SAHA est enlevée et remplacée par le bioligand à étudier. La mécanique « *Merck Molecular Force Field* (MMFF) » a été utilisée pour calculer l'énergie de minimisation. Tous les atomes lourds des acides aminés de la paroi ont été immobilisés, cela a permis de déterminer les positions idéales des bioligands. Les méthodes semiempiriques de la mécanique quantique PM3 ont été utilisées. Les variations d'enthalpie de réactions $\Delta_r H^\circ$ ont été déterminées en utilisant la formule: bioligand + cavité = assemblage moléculaire. Cela requiert le calcul des énergies (a) du groupe cavité-bioligand, (b) de la cavité elle-même et (c) du ligand. La cavité et le ligand adoptent les conformations qu'elles présentaient dans les assemblages moléculaires. Les études de modélisation moléculaire ont été réalisées à l'aide des logiciels suivants, Spartan, Trident et Odyssey.^[2]

4.1.3 Affinité relative de liaison (RBA)

Les composés sont mis en solution dans du DMSO à une concentration 1 mM. Les solutions obtenues sont conservées à 4°C dans l'obscurité. Tous les produits testés ont montré une grande stabilité dans le DMSO pendant une période supérieure à 30 jours à température ambiante et exposés à la lumière. Les solutions pour les mesures ont été préparées juste avant l'utilisation. Les valeurs de RBA ont été déterminées pour les protéines réceptrices alpha des œstrogènes (ER α) de cytosol d'utérus d'agneau acheté chez Pan Vera (Madison, WI, USA). Les aliquotes de 200 μ L du ER α répartis dans des tubes en verre ont été incubés pendant 3 h à 0°C avec du [6,7-³H]-œstradiol (2 nM, activité spécifique 1.62 TBq/mmol, NEN Life Science, Boston MA) et le produit à tester sous neuf concentrations différentes. Après la période d'incubation, les fractions du marqueur libre et lié ont été séparées par précipitation avec du sulfate de protamine. Le pourcentage de diminution de liaison de [³H]-œstradiol (Y) a été calculé en utilisant la fonction logit de Y (logit (Y) = ln[Y/1-Y]) versus le log of de la masse du stéroïde en compétition. La concentration du stéroïde non marqué nécessaire pour déplacer 50% du [³H]-œstradiol a été calculée pour chaque composé testé et les résultats sont exprimés en RBA. La valeur de RBA du 17 β -œstradiol est, par définition, égale à 100%.

[1] Somoza JR, Skene RJ, Katz BA, Mol C, Ho JD, Jennings AJ, Luong C, Arvai A, Buggy JJ, Chi E, Jie T, Bi-Ching S, Verner E, Wynands R, Leahy EM, Dougan DR, Gyorgy S, Navre M, Knuth MW, Swanso RV, McRee DE, Tari LW. Structural snapshots of human HDAC8 provide insights into the class I histone deacetylases. *Structure* **2004**, *12*, 1325–1334.

[2] MacSpartan, Spartan, Trident and Odyssey, Wavefunction Co. Irvine CA 92612, USA. <http://www.wavefun.com>

4.1.4 Lipophilie

Les valeurs de coefficient de partition octanol/eau, $\log P_{o/w}$, ont été déterminées à partir des valeurs $\log k'_w$ selon les protocoles décrits dans la littérature.^[3,4] La détermination des facteurs de capacité (k') pour chaque composé a été effectuée l'aide d'un appareil HPLC équipé d'une colonne en phase inverse (Kromasil C18, 10 μm , L = 25 cm, D = 4.6 mm) et en utilisant comme phase mobile des mélanges d'une solution méthanolique et d'une solution aqueuse à différentes proportions : 95/5, 90/10, 85/15, 80/20 et 75/25. La solution méthanolique contenait 0.25 v/v de 1-octanol et la solution aqueuse était composée d'eau distillée saturée à l'octanol, d'acide 3-morpholinopropanesulfonique (MOPS) à la concentration de 0.02 M et du modificateur *n*-décylamine dans une proportion de 0.15% v/v. Le mélange a été ajusté à pH 7.4. Les analytes ont été dissouts dans du méthanol à une concentration de 1 mg/mL. Les volumes morts ont été estimés à partir du temps de rétention de l'uracile inclus dans la solution de l'analyte et utilisé comme référence interne pour chaque injection.^[5] Finalement, les valeurs des facteurs de capacité (k') ont été extrapolées à 100% du composant aqueux conduisant à la valeur de k'_w . Le $\log P_{o/w}$ a été ainsi obtenu par la formule $\log P_{o/w} = 0.13418 + 0.98452 \log k'_w$.

4.1.5 Détermination de l'effet HDACi

L'activité d'inhibition enzymatique des histones désacétylases (HDAC) a été déterminée à l'aide d'un kit *Fluor de Lys® Fluorescent Assay System* (Enzo Life Sciences) et effectuée selon les instructions du fabricant. Le substrat Fluor de Lys® –contenant une lysine acétylée dans la chaîne latérale– a été incubé avec un extrait préparé à partir des cellules HeLa contenant HDAC. Des solutions des composés à différentes concentrations sont ajoutées et la réaction se poursuit pendant 30 min à température ambiante. La réaction est stimulée par l'addition du « *Fluor de Lys® Developer* ». La désacétylation du substrat produit un fluorophore. Les unités arbitraires de fluorescence (AFU) de chaque échantillon sont quantifiées à l'aide d'un fluorimètre lecteur de plaques fixé à 460 nm. Cette évaluation a été réalisée dans l'Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier sous la direction du Dr. Vincent Cavailès.

-
- [3] Minick DJ, Frenz JH, Patrick MA, Brent DA. A comprehensive method for determining hydrophobicity constants by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Med Chem* **1988**, 31, 1923–1933.
- [4] Pomper MG, VanBrocklin H, Thieme AM, Thomas RD, Kiesewetter DO, Carlson KE, Mathias CJ, Welch MJ, Katzenellenbogen. 11 β -methoxy-, 11 β -ethyl- and 17 α -ethynyl-substituted 16 α -fluoroestradiols: receptor-based imaging agents with enhanced uptake efficiency and selectivity. *J Med Chem* **1990**, 33, 3143–3155.
- [5] D'Amboise M, Hanai T. Hydrophobicity and retention in reversed-phase liquid chromatography. *J Liq Chromatogr* **1982**, 5, 229–244.

4.1.6 Test avec la luciférase

Les cellules HELN-ER α ont étéensemencées à une densité de 4×10^4 cellules/puits dans 96 puits blancs et opaques des cultures (Greiner CellStar, D Dutscher, Brumath, France) et maintenues dans 5% de DCC-FCS. Après 20 h de culture, les produits à tester sont ajoutés et l'incubation dure 16 h. A la fin de l'incubation, le milieu a été retiré et remplacé par 0.3 mM de luciférine contenant 5% de DCC-FCS. La plaque de 96 puits a été ensuite introduite dans un luminomètre (Microbeta, Wallac) et la luminescence des cellules vivantes et intactes a été mesurée pendant 2 s. Les expériences ont été réalisées en quatre exemplaires.

4.1.7 Activité antiproliférative

Les lignées cellulaires d'adénocarcinome du sein MDA-MB-231 (triple négatif) et MCF-7 (hormono-dépendant) sont utilisées pour les tests. Elles ont été obtenues auprès de la société *American Type Culture Collection* (ATTC) pour MDA-MB-231 et du Dr Matthias Kassack (Bonn, Allemagne) pour MCF-7. Les cellules sont cultivées dans le milieu RPMI alimentées avec 10% du sérum fœtal de veau en présence de la pénicilline, de la streptomycine et du fungizone dans une boîte de 75 cm³ sous 5% de CO₂. Les cellules sont réparties dans 96 puits de culture dans 200 μ L du milieu de culture et traitées 24 h après avec 2 μ L de solution des composés solubilisés dans du DMSO en utilisant un équipement Biomek 3000 (Beckman-Coulter). Le contrôle a reçu le même volume de DMSO (1% comme volume final). Après 72 h d'exposition, le réactif MTS (Promega) est ajouté et après 3 h d'incubation à 37°C, l'absorbance est mesurée à 490 nm. Les résultats sont exprimés comme l'inhibition de la prolifération cellulaire calculée selon le rapport $[(1-(OD_{490} \text{ traité}/OD_{490} \text{ control})) \times 100]$. La valeur donnée est une moyenne d'une série de trois expériences. Pour la détermination de la valeur d'IC₅₀ (50% d'inhibition de prolifération cellulaire), les cellules ont été incubées pendant 72 h suivant le même protocole avec des concentrations de produits variant de 5 nM et 100 μ M effectuées dans deux expériences indépendantes. La détermination des cytotoxicités sur les lignées U373, A549, LoVo, T98G, B16F10 et 9L ont été effectuées à l'Université Libre de Bruxelles.

4.1.8 Quantification de l'ARN_m

Les cellules de cancer humain MCF-7 sont cultivées dans un milieu DMEM/F12 exempt de stéroïdes et supplémenté avec 3% DCC/FCC, 100 U/mL de pénicilline, 100 mg/mL de streptomycine et 100 mg/mL de pyruvate de sodium pendant 5 jours. Les cellules sont ensuite stimulées dans un milieu contenant 3% de DCC/FCS avec l'œstradiol à une concentration de 10^{-8} M pendant 1 jour. L'ARN total est extrait des cellules en utilisant le kit *High Pure RNA* (Roche) selon les instructions du fabricant. L'ARN total (1 µg) est soumis à la transcription inverse en utilisant la transcriptase reverse Superscript II (Invitrogen). La RT-PCR (qPCR) quantitative est réalisée pour des gènes indiqués en utilisant l'équipement *LightCycler 480 SYBR Green I Master* (Roche Diagnostics). La qPCR a été réalisée dans un volume final de 10 µL en utilisant 0.25 µL de chaque primer (25 µM), 5 µL des enzymes, 3 µL de H₂O et 2 µL de matrice diluée à 1/10. Après 10 min de préincubation à 95°C, 35 cycles d'expériences ont été réalisés de 15 s chacun à 95°C, 5 s à 60°C et 15 s à 72°C. Les courbes de fusion des produits ont été analysées par le logiciel *LightCycler* afin d'exclure l'amplification des produits non spécifiques. Les résultats ont été normalisés aux transcriptions du gène domestique RS9.

4.2 Dérivés actifs de l'acide subérique

La synthèse de trois dérivés de l'acide subérique **acs** est présentée dans le Schéma 8. Ces trois dérivés sont : l'anhydride subérique **ans**, le chlorure de subéroyle **cls** et l'éthylcarbonate de subéroyle **ecs**.

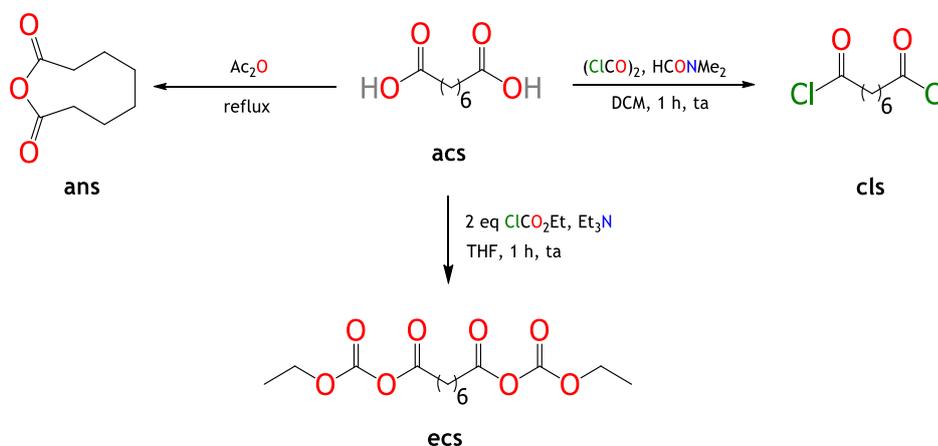
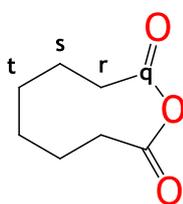


Schéma 8. Synthèse des trois dérivés de l'acide subérique **acs**

ans • Anhydride subérique

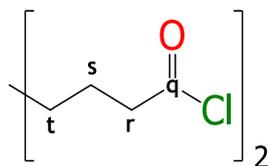
Une solution d'**acs** (57.5 mmol, 10.00 g) dans 20 mL d'anhydride acétique (Ac_2O) est chauffée à 140°C avec agitation. Après 1 h de reflux, le mélange est refroidi à température ambiante. Le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif. Le brut obtenu est lavé à l'hexane. 95% (8.50 g) de produit est obtenu sous forme d'un solide blanc.



- **RMN du ^1H** (300 MHz, CDCl_3 , ppm) : δ 1.37 (m, 4H : **t**), 1.66 (m, 4H : **s**), 2.44 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H : **r**).
- **RMN du ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3 , ppm) : δ 23.9 (**s**), 28.4 (**t**), 35.1 (**r**), 169.4 (**q**).
- **IR** (CH_2Cl_2 , $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 2935, 2862 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1813, 1747, ($\text{C}=\text{O}$ stretch), 1229, 1045, 906 (CO stretch).

cls • Chlorure de subéroyle

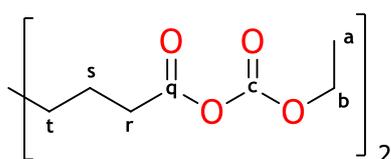
À une suspension d'**acs** (28.70 mmol, 5.00 g) dans 50 mL de dichlorométhane (DCM), mise en agitation et à température ambiante, du chlorure d'oxalyle [$(\text{ClCO})_2$, 63.20 mmol, 8.05 g] est ajouté goutte-à-goutte. Cette addition est suivie par l'ajout du diméthylformamide (HCONMe_2 , 0.5 mL). Après 1 h d'agitation, tous les composés volatils sont évaporés à pression réduite. 92% (6.45 g) de produit désiré **cls** est obtenu.



- **RMN du ^1H** (300 MHz, CDCl_3 , ppm) : δ 1.38 (m, 4H : **t**), 1.71 (m, 4H : **s**), 2.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H : **r**).
- **RMN du ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3 , ppm) : δ 24.7 (**s**), 27.9 (**t**), 46.9 (**r**), 173.7 (**q**).
- **IR** (CH_2Cl_2 , $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 2943, 2866 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1797 ($\text{C}=\text{O}$ stretch). **SM** (IE, m/z) : 211 [$\text{M}]^{+\bullet}$, 175 [$\text{M}-\text{Cl}]^+$, 139 [$\text{M}-\text{Cl}-\text{HCl}]^+$.

ecs • Éthylcarbonate de subéroyle

À une solution d'**acs** (31.4 mmol, 5.47 g) dans 60 mL de THF, du chloroformate d'éthyle (ClCO₂Et, 69.2 mmol, 6.6 mL) et de la triéthylamine (Et₃N, 75.5 mmol, 10.5 mL) sont ajoutés. Après 1 h d'agitation à température ambiante, le mélange est filtré, lavé à l'eau et extrait à l'acétate d'éthyle (AcOEt). La phase organique est séchée au sulfate de magnésium (MgSO₄) et les solvants sont éliminés à l'évaporateur rotatif. 95% (9.5 g) de produit est obtenu sous forme d'une huile transparente légèrement jaune.



●RMN du ¹H (300 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : δ 1.32 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H : **a**), 1.43 (m, 4H : **t**), 1.69 (m, 4H : **s**), 2.55 (t, *J* = 7.3 Hz, 4H : **r**), 4.30 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H : **b**).

●RMN du ¹³C (75 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : δ 14.2 (**a**), 24.7 (**s**), 28.1 (**t**), 33.4 (**r**), 66.3 (**b**), 149.9 (**c**), 168.9 (**q**).

4.3 Acides carboxyliques hybrides

La réaction d'amidation pour former les acides carboxyliques **FcTAM-OPOA** et **TAM-OPOA** est présentée dans le Schéma 9. Le protocole général de synthèse est le suivant. À une solution d'**ans** dans du DCM ou du tétrahydrofurane (THF), sous agitation, une solution de l'aniline (**1** ou **2**) est lentement ajoutée. Après le chauffage à 50-55°C pendant 1 h, le mélange est refroidi à température ambiante et mis dans une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium (KOH). Le mélange est légèrement acidifié avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique (HCl_{aq}) à 10%. Le produit est extrait à l'AcOEt, la phase organique est séchée sur MgSO₄ et filtrée. Les solvants sont éliminés à l'évaporateur rotatif. Le brut de la réaction est purifié sur une colonne chromatographique au gel de silice. L'AcOEt est utilisé comme éluant. La première fraction est identifiée comme un bisamide qui est le principal sous-produit de la réaction.

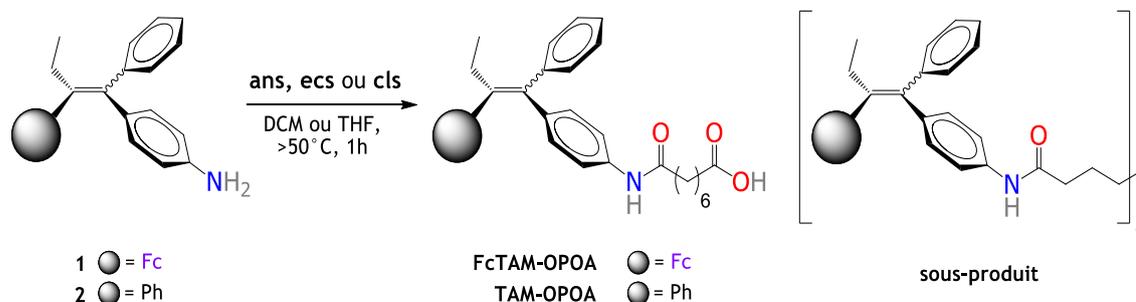
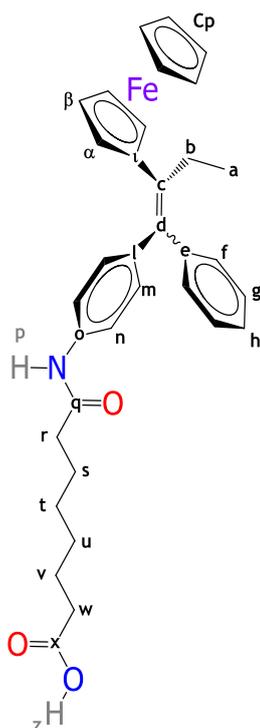


Schéma 9. Synthèse des acides carboxyliques **FcTAM-OPOA** et **TAM-OPOA**.

FcTAM-OPOA • Acide 8-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)anilino]-8-oxooctanoïque

Réactifs et conditions. **1** (5.2 mmol, 2.1 g), DCM (50 mL), **ans** (7.7 mmol, 1.2 g), DCM (20 mL). Température de réaction : 50-55°C. 50% (1.45 g) de produit est obtenu. Solide orange-marron. *Z/E* = 86/14. L'identification des isomères *Z* et *E* a été déterminée par analyse bidimensionnel par RMN.



●**RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *Z*, δ 0.97 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H : **a**), 1.26 (m, 4H : **u** et **t**), 1.47 (m, 2H : **v**), 1.54 (m, 2H : **s**), 2.16 (m, 2H : **w**), 2.24 (m, 2H : **r**), 2.46 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H : **b**), 3.81 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.09 (t, $J = 1.9$ Hz : **β**), 4.11 (s, 5H : **Cp**), 6.94 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H : **m**), 7.10-7.35 (m, 5H : **f**, **h** et **g**), 7.46 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H : **n**), 9.82 (s, 1H : **p**), 11.97 (s, 1H : **z**). Isomère *E*, δ 0.98 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H : **a**), 1.26 (m, 4H : **u** et **t**), 1.47 (m, 2H : **v**), 1.54 (m, 2H : **s**), 2.16 (m, 2H : **w**), 2.24 (m, 2H : **r**), 2.46 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H : **b**), 3.75 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.06 (t, $J = 1.9$ Hz : **β**), 4.10 (s, 5H : **Cp**), 7.02 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H : **m**), 7.10-7.35 (m, 5H : **f**, **h** et **g**), 7.53 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H : **n**), 9.85 (s, 1H : **p**), 11.97 (s, 1H : **z**).

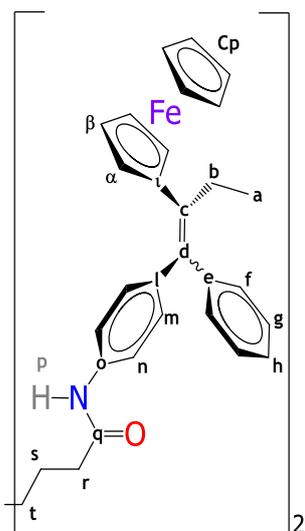
●**RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, ppm) : δ 15.9 (**a**), 25.5 (**v**), 26.1 (**s**), 28.4 (**b**), 29.5 (**u**), 29.6 (**t**), 34.1 (**w**), 37.7 (**r**), 68.9 (**β**), 69.9 (**Cp**), 70.0 (**α**), 87.2 (**t**), 119.7 (**n**), 127.0 (**h**), 129.1 (**g**), 130.4 (**f**), 130.8 (**m**), 138.0 (**c**), 138.4 (**d**), 138.8 (**o**), 140.5 (**l**), 145.7 (**e**), 171.9 (**q**), 174.7 (**x**).

●**IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3320 (N-H et O-H stretch), 3094, 3043 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2931, 2873 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$), 1705 (OC=O stretch), 1647 (NC=O stretch), 1593 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1523 (N-H bend), 1400 (C-N stretch). **SM** (IE, m/z) : 563 $[\text{M}]^{+\bullet}$, 498 $[\text{M-Cp}]^+$, 480 $[\text{M-H}_2\text{O-Cp}]^+$.

●**Anal. Calc.** pour $\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{FeNO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (%): C, 70.22; H, 6.76; N, 2.41. Trouvé : C, 70.12; H, 6.66; N, 2.15. **HPLC** (R_{T} , min) : 3.44 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 153-154°C. **R_F** : 0.81 (Me_2CO).

(FcTAM)₂SA • N¹,N⁸-bis[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]subéramide

Solide orange-marron, Z,Z/E,E = 69/31.



● **RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère Z,Z, δ 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 6H : a), 1.27-1.41 (m, 4H : t), 1.50-1.68 (m, 4H : s), 2.20-2.37 (m, 4H : r), 2.40-2.60 (q, J = 7.4, 4H : b), 3.83 (t, J = 1.9 Hz, 4H : α), 4.10 (t, J = 1.9 Hz, 4H : β), 4.12 (s, 10H : Cp), 6.96 (d, J = 8.4 Hz, 4H : m), 7.06-7.25 (m, 6H : f et h), 7.34 (t, J = 7.4 Hz, 4H : g) 7.49 (d, J = 8.4 Hz, 4H : n), 9.84 (s, 1H : p).

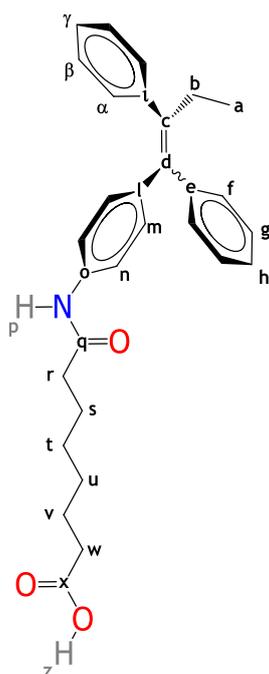
● **RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 15.4 (a), 25.1 (s), 27.1 (b), 28.5 (t), 36.3 (r), 68.0 (β), 68.8 (α), 69.1 (Cp), 85.5 (t), 119.0 (n), 126.2 (h), 128.4 (g), 128.8 (f), 129.5 (m), 136.6 (c), 137.0 (d), 137.6 (o), 139.1 (l), 144.4 (e), 171.1 (q).

● **IR** (KBr, ν_{max}/cm⁻¹) : 3398, 3290 (N-H stretch), 3093, 3040 (C_{Ar}-H stretch), 2931, 2866 (C_{Alk}-H stretch), 1662 (NC=O stretch), 1593 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1520 (N-H bend), 1400 (C-N stretch). **SM** (IES, m/z) : 953 [MH]⁺.

● **HRMS** pour C₆₀H₆₀Fe₂N₂O₂ [M]⁺, calc.: 952.3354. Trouvé : 952.3379. **HPLC** (R_T, min) : 5.00 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 208-210°C. **R_F** : 0.58 (Hexane/AcOEt : 50/50).

TAM-OPOA • Acide 8-[4-(1,2-diphénylbut-1-én-1-yl)anilino]-8-oxooctanoïque

Réactifs et conditions : **2** (4.0 mmol, 1.19 g), THF (20 mL), **ans** (10.0 mmol, 1.56 g), THF (10 mL). Température de réaction : 48-50°C. 51% (0.93 g) de produit est obtenu. Solide blanc. Z/E = 91/9.



●RMN du ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère Z, δ 0.85 (t, $J = 7.32$ Hz, 3H : **a**), 1.20-1.32 (m, 4H : **u** et **t**), 1.42-1.54 (m, 4H : **v** et **s**), 2.17 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **w**), 2.20 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **r**), 2.38 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H : **b**), 6.73 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H : **m**), 7.08-7.15 (m, 3H : γ et α), 7.15-7.23 (m, 4H : β et **f**), 7.25 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H : **n**), 7.26-7.30 (m, 1H : **h**), 7.38 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **g**), 9.70 (s, 1H : **p**), 11.90 (s, 1H : **z**).

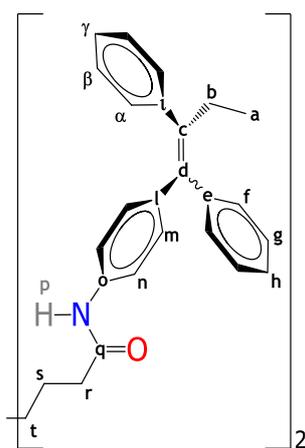
●RMN du ^{13}C (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 13.3 (**a**), 24.4 (**v**), 25.0 (**s**), 28.3 (**u**), 28.4 (**t**), 28.5 (**b**), 33.7 (**w**), 36.3 (**r**), 118.1 (**n**), 126.2 (γ), 126.7 (**h**), 127.9 (β), 128.3 (**g**), 129.0 (**f**), 129.4 (α), 130.5 (**m**), 137.1 (**o**), 137.3 (**l**), 138.1 (**d**), 141.1 (**c**), 141.7 (**l**), 143.1 (**e**), 171.0 (**q**), 174.6 (**x**).

●IR (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3336 (N-H et O-H stretch), 3060 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2931, 2862 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1705 (OC=O stretch), 1643 (NC=O stretch), 1597 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1531 (N-H bend), 1408 (C-N stretch). **SM** (IC, m/z) : 473 $[\text{MNH}_4]^+$, 456 $[\text{MH}]^+$.

●**Anal. Calc.** pour $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{NO}_3$ (%) : C, 79.09; H, 7.30; N, 3.07. Trouvé : C, 78.60; H, 7.32; N, 3.12. **HPLC** (R_T) : 2.90 min. **pf** : 169-170°C. **R_F** : 0.73 (Me_2CO).

(TAM)₂SA • N¹,N⁸-bis[4-(1,2-diphénylbut-1-én-1-yl)phényl]subéramide

Solide blanc, Z,Z/E,E = 67/33.



● **RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère Z,Z, δ 0.85 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H : **a**), 1.18-1.36 (m, 4H : **t**), 1.42-1.65 (m, 4H : **s**), 2.19 (t, *J* = 7.3 Hz, 4H : **r**), 2.37 (q, *J* = 7.3 Hz, 4H : **b**), 6.72 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **m**), 7.05-7.30 (m, 20H : **γ**, **α**, **β**, **f**, **n** et **h**), 7.38 (t, *J* = 7.4 Hz, 4H : **g**), 9.69 (s, 1H : **p**).

● **RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 13.4 (**a**), 25.1 (**s**), 28.5 (**t** et **b**), 36.3 (**r**), 118.1 (**n**), 126.3 (**γ**), 126.8 (**h**), 128.0 (**β**), 128.3 (**g**), 129.0 (**f**), 129.4 (**α**), 130.5 (**m**), 138.0 (**o** et **l**), 138.9 (**d**), 141.1 (**c**), 141.7 (**u**), 142.6 (**e**), 171.0 (**q**).

● **IR** (KBr, *v*_{max}/cm⁻¹): 3271 (N-H stretch), 3097, 3047 (C_{Ar}-H stretch), 2962, 2931, 2862 (C_{Alk}-H stretch), 1655 (NC=O stretch), 1596 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1527 (N-H bend), 1400 (C-N stretch). **SM** (IC, *m/z*) : 754 [MNH₄]⁺, 737 [MH]⁺.

● **HRMS** pour C₅₂H₅₃N₂O₂ [MH]⁺, calc. : 737.4107. Trouvé : 737.4110. **HPLC** (*R*_T, min) : 3.28 (Macherey-Nagel C18, MeOH). **pf** : 212-214°C. **R_F** : 0.48 (Hexane/AcOEt: 50/50).

4.4 Subéramides

Le protocole général pour la synthèse des subéramides de ce chapitre et des chapitres ultérieurs est représenté dans le Schéma 10. Activation des acides carboxyliques : dans un ballon, à une solution de l'acide carboxylique correspondant dans du THF et refroidie à 0°C, du ClCO₂Et et de la Et₃N sont ajoutés. Le mélange est mis en agitation pendant 10 min, après ce temps le mélange est filtré. La solution résultante est mise dans un autre ballon et, sous agitation, le **nucléophile** correspondant est ajouté. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM). A la fin de la réaction, de l'eau est ajoutée et le mélange est légèrement rendu acide par addition de HCl. Le produit est extrait à l'AcOEt, la phase organique est séchée sur MgSO₄ et éliminé à l'évaporateur rotatif. Le brut obtenu est séparé par chromatographie sur colonne à gel de silice en utilisant différents mélanges d'éther de pétrole et d'acétate d'éthyle comme éluant. L'intermédiaire obtenu est mis à réagir avec un nucléophile. Pour la synthèse des amides primaires, l'amidure de sodium (NaNH₂) est utilisé en excès. Pour la synthèse des acides hydroxamiques, le nucléophile utilisé est préparé selon la procédure suivante : une solution du chlorhydrate d'hydroxylamine (NH₂OH•HCl) à 0°C dans du méthanol (MeOH) est ajoutée à une solution de KOH dans du MeOH à 0°C. Après une agitation pendant 15 min, le précipité formé est éliminé par filtration sous vide. La solution obtenue contient NH₂OH utilisé comme nucléophile.

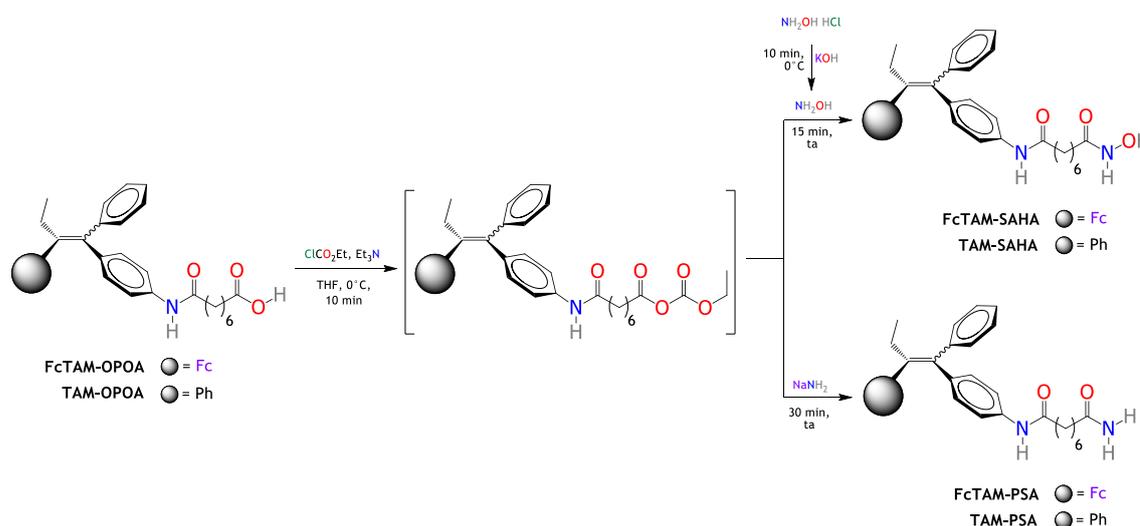
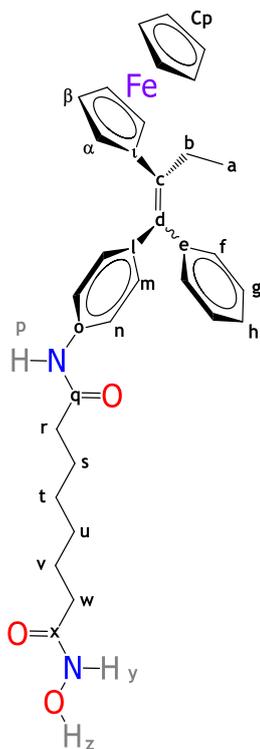


Schéma 10. Synthèse des acides hydroxamiques FcTAM-SAHA, TAM-SAHA et des amides primaires FcTAM-PSA et TAM-PSA.

FcTAM-SAHA • N^1 -[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]- N^8 -hydroxysubéramide

Réactifs et conditions : nucléophile, $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (4.2 mmol, 0.293 g), MeOH (5 mL), KOH (4.2 mmol, 0.24 g), MeOH (5 mL) ; activation : FcTAM-OPOA (1.4 mmol, 0.80 g), THF (14 mL), ClCO_2Et (2.1 mmol, 0.2 mL), Et_3N (2.5 mmol, 0.35 mL). Temps de réaction : 15 min. 30% (0.246 g) de produit est obtenu. Solide orange-marron. $Z/E = 94/6$.



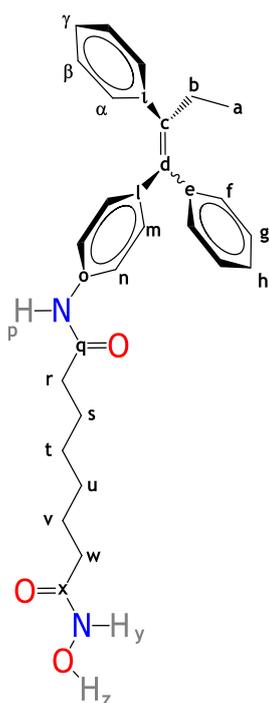
●**RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *Z*, δ 0.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.24 (m, 4H : **u** et **t**), 1.46 (m, 2H : **v**), 1.53 (m, 2H : **s**), 1.91 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **w**), 2.24 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **r**), 2.46 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 3.81 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.09 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.10 (s, 5H : **Cp**), 6.94 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H : **m**), 7.18-7.23 (m, 3H : **h** et **f**), 7.32 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **g**), 7.46 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H : **n**), 8.65 (s, 1H : **y**), 9.82 (s, 1H : **p**), 10.31 (s, 1H : **z**). Isomère *E*, δ 0.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.24 (m, 4H : **u** et **t**), 1.46 (m, 2H : **v**), 1.53 (m, 2H : **s**), 1.91 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **w**), 2.24 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **r**), 2.46 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 3.75 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.06 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.10 (s, 5H : **Cp**), 7.02 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H : **m**), 7.18-7.23 (m, 3H : **h** et **f**), 7.32 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **g**), 7.53 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H : **n**), 8.99 (s, 1H : **y**), 9.85 (s, 1H : **p**), 10.31 (s, 1H : **z**).

●**RMN du ^{13}C** (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 15.7 (**a**), 25.9 (**v**), 26.0 (**s**), 28.3 (**b**), 29.3 (**u**), 29.5 (**t**), 33.0 (**w**), 37.5 (**r**), 68.8 (**β**), 69.8 (**Cp**), 69.9 (**α**), 87.1 (**i**), 119.6 (**n**), 126.8 (**h**), 129.0 (**g**), 129.9 (**f**), 130.7 (**m**), 137.9 (**c**), 138.3 (**d**), 138.7 (**o**), 140.4 (**l**), 145.5 (**e**), 170.6 (**x**), 171.7 (**q**). **IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3266 (N-H et O-H stretch), 3095, 3035 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2927, 2862 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1655 (NC=O stretch), 1593 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1519 (N-H bend), 1400 (C-N stretch). **SM** (IE, m/z) : 578 $[\text{M}]^{+\bullet}$, 562 $[\text{M-O}]^{+\bullet}$, 544 $[\text{M-H}_2\text{O}_2]^{+\bullet}$, 497 $[\text{M-O-Cp}]^+$, 407 $[\text{FcEtC=CPhPhNH}_2]^{+\bullet}$. (IES, MeCN, m/z) : 578 $[\text{M}]^{+\bullet}$.

●**Anal. Calc.** pour $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{FeN}_2\text{O}_3 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (%) : C, 69.86; H, 6.77; N, 4.79. Trouvé : C, 70.02; H, 6.64; N, 4.62. **HPLC** (R_{T} , min) : 3.70 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 142-144°C. R_{F} : 0.74 (Me_2CO).

TAM-SAHA • N^1 -[4-(1,2-diphénylbut-1-én-1-yl)phényl]- N^8 -hydroxysubéramide

Réactifs et conditions : nucléophile, $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (4.2 mmol, 0.293 g), MeOH (5 mL), KOH (4.2 mmol, 0.236 g), MeOH (5 mL) ; activation : **TAM-OPOA** (1.0 mmol, 0.455 g), THF (10 mL), ClCO_2Et (1.4 mmol, 0.13 mL), Et_3N (1.7 mmol, 0.24 mL). Temps de réaction : 15 min. 30% (0.141 g) de produit est obtenu. Solide blanc. $Z/E = 89/11$.



• **RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère Z, δ 0.83 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H : **a**), 1.20 (m, 4H : **u** et **t**), 1.46 (m, 4H : **v** et **s**), 1.89 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **w**), 2.18 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **r**), 2.36 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H : **b**), 6.71 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.09-7.29 (m, 10H : **γ**, **α**, **β**, **f**, **n** et **h**), 7.36 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H : **g**), 8.64 (s, 1H : **y**), 9.69 (s, 1H : **p**), 10.30 (s, 1H : **z**).

• **RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, ppm) : δ 13.8 (**a**), 26.0 (**v**), 26.1 (**s**), 29.4 (**u**), 29.5 (**t**), 29.6 (**b**), 33.1 (**w**), 37.6 (**r**), 118.0 (**n**), 127.0 (**γ**), 127.5 (**h**), 128.8 (**β**), 129.1 (**g**), 130.1 (**f**), 130.5 (**α**), 131.7 (**m**), 138.3 (**o**), 138.7 (**l**), 139.5 (**d**), 142.5 (**c**), 143.2 (**i**), 144.5 (**e**), 170.9 (**x**), 171.8 (**q**).

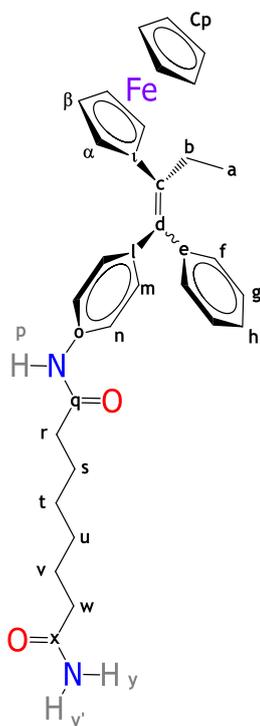
• **IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3240 (N-H et O-H stretch), 3051 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2931, 2862 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1655 (NC=O stretch), 1597 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1523 (N-H bend), 1400 (C-N stretch).

SM (IC, m/z) : 488 $[\text{MNH}_4]^+$, 471 $[\text{MH}]^+$.

• **Anal. Calc.** pour $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (%) : C, 75.13; H, 7.36; N, 5.84. Trouvé : C, 75.06; H, 7.35; N, 4.70. **HPLC** (R_T , min) : 3.34 (Kromasil C18, MeOH). **fp** : 135-137°C R_F : 0.70 (Me_2CO).

FcTAM-PSA • N¹-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]subéramide

Réactifs et conditions : **FcTAM-OPOA** (1.4 mmol, 0.80 g), THF (14 mL), ClCO₂Et (2.1 mmol, 0.2 mL), Et₃N (2.5 mmol, 0.35 mL), NaNH₂ (excès). Temps de réaction : 30 min. 45% (0.35 g) de produit est obtenu. Solide orange-marron. Z/E = 82/18.



●**RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère Z, δ 0.97 (t, J = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.25 (m, 4H : **u** et **t**), 1.45 (m, 2H : **v**), 1.54 (m, 2H : **s**), 2.00 (t, J = 7.4 Hz, 2H : **w**), 2.25 (t, J = 7.4 Hz, 2H : **r**), 2.46 (q, J = 7.4 Hz, 2H : **b**), 3.81 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.09 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.11 (s, 5H : **Cp**), 6.67 (s, 1H : **y'**), 6.94 (d, J = 8.7 Hz, 2H : **m**), 7.10-7.25 (m, 4H : **h**, **y** et **f**), 7.32 (t, J = 7.3 Hz, 2H : **g**), 7.46 (d, J = 8.7 Hz, 2H : **n**), 9.82 (s, 1H : **p**). Isomère E, δ 0.97 (t, J = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.25 (m, 4H : **u** et **t**), 1.45 (m, 2H : **v**), 1.54 (m, 2H : **s**), 2.00 (t, J = 7.4 Hz, 2H : **w**), 2.25 (t, J = 7.4 Hz, 2H : **r**), 2.46 (q, J = 7.4 Hz, 2H : **b**), 3.75 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.06 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.11 (s, 5H : **Cp**), 6.67 (s, 1H : **y'**), 7.02 (d, J = 8.7 Hz, 2H : **m**), 7.10-7.25 (m, 4H : **h**, **y** et **f**), 7.32 (t, J = 7.3 Hz, 2H : **g**), 7.53 (d, J = 8.7 Hz, 2H : **n**), 9.85 (s, 1H : **p**).

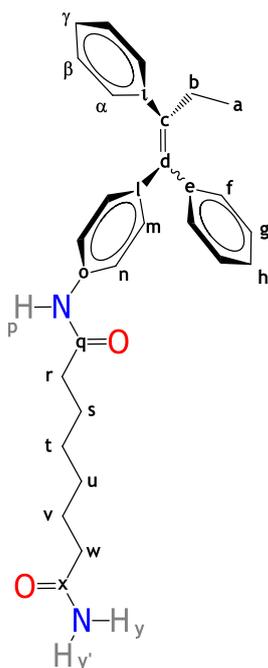
●**RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 15.4 (**a**), 24.9 (**v**), 25.0 (**s**), 27.0 (**b**), 28.4 (**u**), 28.5 (**t**), 35.1 (**w**), 36.3 (**r**), 68.0 (**β**), 68.7 (**α**), 69.0 (**Cp**), 85.4 (**i**), 118.9 (**n**), 126.1 (**h**), 128.3 (**g**), 128.7 (**f**), 129.4 (**m**), 136.5 (**c**), 136.9 (**d**), 137.5 (**o**), 139.0 (**l**), 144.3 (**e**), 171.1 (**q**), 174.2 (**x**).

●**IR** (KBr, ν_{max}/cm^{-1}) : 3410 (N-H stretch), 3097 (C_{Ar}-H stretch), 2931, 2862 (C_{Alk}-H stretch), 1662 (NC=O stretch), 1601 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1523 (N-H bend), 1408 (C-N stretch).
SM (IE, m/z) : 562 [M]⁺, 497 [M-Cp]⁺, 479 [M-H₂O-Cp]⁺, 407 [FcEtC=CPhPhNH₂]⁺, 342 [FeCpEtC=CPhPhNH₂].

●**Anal. Calc.** pour C₃₄H₃₈FeN₂O₂•H₂O (%) : C, 70.34; H, 6.94; N, 4.83. Trouvé : C, 70.30; H, 7.00, N, 4.58. **HPLC** (R_T, min) : 3.68 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 98-100°C. **R_F** : 0.70 (Me₂CO).

TAM-PSA • N^1 -[4-(1,2-diphénylbut-1-én-1-yl)phényl]subéramide

Réactifs et conditions. **FcTAM-OPOA** (2.0 mmol, 0.91 g), THF (15 mL), ClCO₂Et (3.0 mmol, 0.29 mL), Et₃N (3.4 mmol, 0.47 mL), NaNH₂ (excès). Temps de réaction : 30 min. 40% (0.363 g) de produit est obtenu. Solide blanc. $E/Z = 92/8$.



●**RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère *Z*, δ 0.83 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.11-1.31 (m, 4H : **u** et **t**), 1.40-1.51 (m, 4H : **v** et **s**), 1.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **q**), 2.18 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **r**), 2.36 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 6.66 (s, 1H : **y'**), 6.71 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H : **m**), 7.09-7.29 (m, 11H : γ , α , γ , β , **f**, **n** et **h**), 7.36 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H : **g**), 9.69 (s, 1H : **p**).

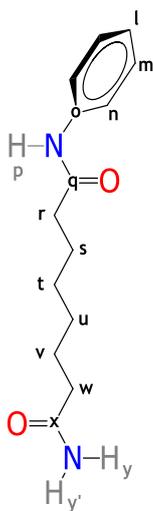
●**RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 13.3 (**a**), 24.9 (**v**), 25.0 (**s**), 28.4 (**u**), 28.5 (**t**), 28.6 (**b**), 35.0 (**w**), 36.3 (**r**), 118.0 (**n**), 126.2 (γ), 126.7 (**h**), 127.9 (β), 128.2 (**g**), 128.9 (**f**), 129.3 (α), 130.4 (**m**), 137.0 (**o**), 137.2 (**l**), 138.0 (**d**), 141.0 (**c**), 141.7 (**i**), 143.0 (**e**), 171.0 (**q**), 174.2 (**x**).

●**IR** (KBr, ν_{max}/cm^{-1}) : 3464, 3278, 3182 (N-H stretch), 3101, 3043 (C_{Ar}-H stretch), 2927, 2858 (C_{Alk}-H stretch), 1662 (NC=O stretch), 1601 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1523 (N-H bend), 1400 (C-N stretch). **SM** (IC, m/z) : 472 [MNH₄]⁺, 455 [MH]⁺.

●**Anal. Calc.** pour C₃₀H₃₄N₂O₂•½H₂O (%): C, 77.72; H, 7.61; N, 6.04. Trouvé : C, 77.65; H, 7.60; N, 5.78. **HPLC** (R_T , min) : 3.28 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 178-180°C. **R_F** : 0.68 (Me₂CO).

PSA • N¹-phénylsubéramide

OPOA (3.0 mmol, 0.747 g) –préparé comme **FcTAM-OPOA** et **TAM-OPOA**– THF (5 mL), ClCO₂Et (4.5 mmol, 0.44 mL), Et₃N (5.1 mmol, 0.71 mL), NaNH₂ (excès). Temps de réaction : 30 min. 50% (0.372 g) de produit est obtenu sous la forme d'un solide blanc.



●**RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 1.26 (m, 4H : **u** et **t**), 1.46 (quint, *J* = 7.0 Hz, 2H : **v**), 1.56 (quint, *J* = 7.1 Hz, 2H : **s**), 2.00 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H : **w**), 2.27 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H : **r**), 6.67 (s, 1H : **y'**), 6.99 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H : **l**), 7.21 (s, 1H : **y**), 7.26 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H : **m**), 7.56 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H : **n**), 9.83 (s, 1H : **p**).

●**RMN du ¹³C** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 25.0 (**v** et **s**), 28.5 (**u** et **t**), 35.0 (**w**), 36.3 (**r**), 119.0 (**n**), 122.8 (**l**), 128.6 (**m**), 139.3 (**o**), 171.2 (**q**), 174.3 (**x**).

●**IR** (KBr, *v*_{max}/cm⁻¹): 3406, 3309, 3201 (N-H stretch), 3055 (C_{Ar}-H stretch), 2939, 2856 (C_{Alk}-H stretch), 1658 (NC=O), 1604 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1527 (N-H bend), 1419 (C-N stretch). **SM** (IE, *m/z*) : 248 [M]⁺, 232 [M-NH₂]⁺, 190 [M-CONH₂]⁺, 93 [PhNH₂]⁺.

●**HRMS** pour C₁₄H₂₁N₂O₂ [MH]⁺, calc.: 249.1603. Trouvé : 249.1596. **R_F** : 0.73 (Me₂CO). **HPLC** (*R_T*, min) : 2.68 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 160-161°C.

4.5 Tamoxifène et ferrocifène

La synthèse est représentée dans le Schéma 11. Dans un tube de Schlenk, 1 mmol du phénol correspondant (**3** ou **4**) est dissous dans 8 mL de DMF. NaH (60% dans l'huile, 1.1 mmol, 0.044 g) est additionné lentement par petites portions à la solution. Dans un autre tube de Schlenk, Et₃N (3 mmol, 0.303 g) est additionnée à une suspension du sel du chlorhydrate de 2-chloro-*N,N*-diméthylpropan-1-amine (Cl(CH₂)₃NMe₂·HCl, 3 mmol, 0.474 g) dans 15 mL de THF. Après 30 min d'agitation, la solution est filtrée et concentrée à 1 mL. Ensuite, 2 mL de DMF sont ajoutés. Cette solution est additionnée à la première solution et le mélange est chauffé à 110°C. Après 1.5 h de chauffage, le mélange est refroidi à température ambiante et 100 mL de l'AcOEt sont ajoutés. La phase organique est lavée, séchée au MgSO₄ et concentrée. Le brut de la réaction est séparé par chromatographie en colonne à gel de silice en utilisant dans un premier temps de l'acétone et à la fin un mélange 10/1 d'acétone/TEA.

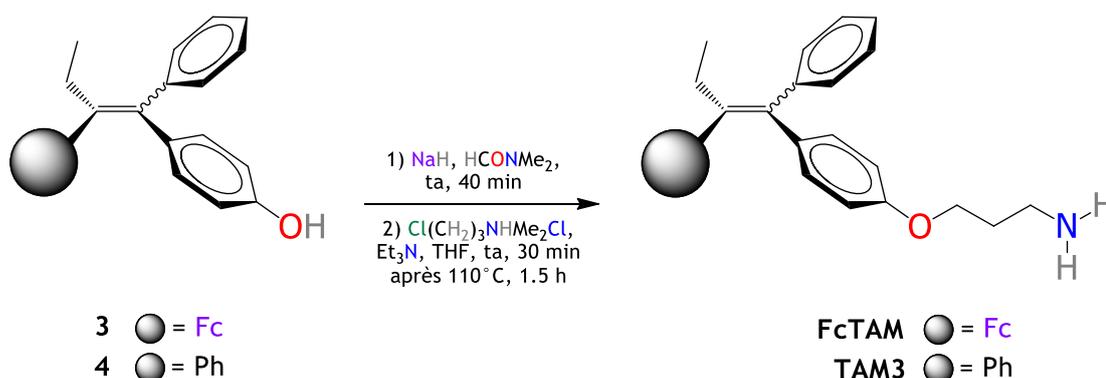
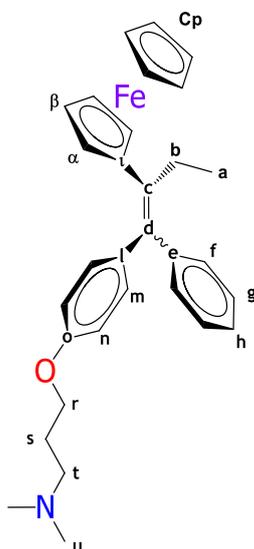


Schéma 11. Synthèse des dérivés du tamoxifène, TAM3 et ferrocifène FcTAM.

FcTAM • 3-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phénoxy]-*N,N*-diméthylpropan-1-amine

Réactif et quantité : **3** (1 mmol, 0.408 g). 70% (0.35 g) de produit a été obtenu. Huile orange. *Z/E* = 50/50.



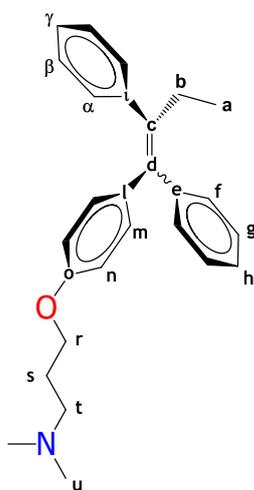
●**RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, ppm) : Isomère *Z*, δ 1.01 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.89 (m, 2 H : **s**), 2.15 (s, 6H : **u**), 2.38 (m, 2 H : **b**), 2.60 (m, 2H : **t**), 3.91 (3.85 pour *E*, t $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.00 (m, 2H : **r**), 4.07 (4.04 pour *E*, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.12 (s, 5H : **Cp**), 6.77-7.34 (m, 9 H : **n, m, h, g** et **f**). Isomère *E*, δ 1.03 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.89 (m, 2 H : **s**), 2.16 (s, 6H : **u**), 2.38 (m, 2 H : **b**), 2.60 (m, 2H : **t**), 3.85 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.00 (m, 2H : **r**), 4.04 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.12 (s, 5H : **Cp**), 6.77-7.34 (m, 9 H : **n, m, h, g** et **f**).

●**RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, ppm) : δ 15.8 (**a**), 28.3 (**b**), 45.7 (**u**), 56.9 (**t**), 66.7 (**r**), 68.8 (**β**), 69.9 (**Cp** et **α**), 87.3 (**i**), 115.0, 115.1 (**n**), 126.9 (**h**), 129.0, 129.1 (**g**), 130.0, 131.1, 131.6 (**f** et **m**), 137.7, 137.9 (**c**) 138.0 (**d**) 138.5 (**l**) 145.9, 146.1 (**e**) 158.6 (**o**).

●**SM** (IC, m/z) : 494.20 $[\text{M}+\text{H}]^+$. **Anal. Calc.** pour $\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{FeNO}$: C, 75.45; H, 7.15; N, 2.84. Trouvé : C, 75.22; H, 7.20; N, 2.62.

TAM3 • 3-[4-(1,2-diphénylbut-1-én-1-yl)phénoxy]-*N,N*-diméthylpropan-1-amine

Réactif et quantité : **4** (1 mmol, 0.300 g). 90% (0.346 g) de produit a été obtenu. Huile incolore. *Z/E* = 31/69.



●**RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, ppm) : Isomère *Z*, δ 0.89 (t, 3H, $J = 7.4$ Hz : **a**), 1.80 (quint, 2H : **s**), 2.12 (2.17 pour *E*, s, 6H : **u**), 2.29-2.53 (m, 4H : **b** et **t**), 3.88 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz : **r**), 6.55-7.37 (m, 14 H : **n, α , β , γ , h, m, g** et **f**). Isomère *E*, δ 0.91 (t, 3H, $J = 7.4$ Hz : **a**), 1.90 (quint, 2H : **s**), 2.17 (s, 6H : **u**), 2.29-2.53 (m, 4H : **b** et **t**), 4.05 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz : **r**), 6.55-7.37 (m, 14 H : **n, α , β , γ , h, j, g** et **f**).

●**RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, ppm) : δ 13.8 (**a**), 28.3 (**b**), 29.6 (**s**), 45.7 (**u**), 56.8 (**t**), 66.5, 66.7 (**r**), 114.2, 115.0 (**n**), 126.5, 126.9, 127.4 (**γ** et **h**), 128.1, 128.6, 128.7, 129.0, 130.1, 130.5, 131.2 (**β , f, g** et **α**), 131.4, 132.5 (**m**), 136.1, 136.5, 139.6, 142.0, 142.6, 143.2 (**l, c, d** et **i**) 144.4, 144.7 (**e**), 159.0 (**o**).

●**SM** (IC, m/z) : 386.24 $[\text{M}+\text{H}]^+$. **Anal. Calc.** pour $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{NO}$: C, 84.11; H, 8.10; N, 3.63. Trouvé : C, 83.68; H, 8.12; N, 3.66.

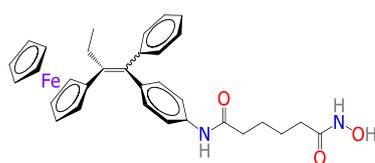
Chapitre III

Rôle de la longueur de la chaîne alkyle

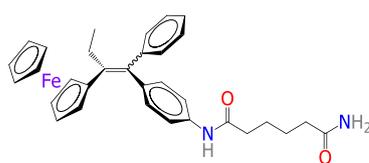
Résumé

Une nouvelle famille de composés organométalliques portant différentes longueurs de chaînes alkyles et différents groupes fonctionnels a été synthétisée et leur effet antiprolifératif a été évalué sur les cellules de cancer du sein. Les résultats biologiques montrent que le raccourcissement de la chaîne alkyle n'affecte pas significativement les activités cytotoxiques des composés **FcTAM-SAHA** et **FcTAM-PSA**. La cytotoxicité des amides primaires n'est pas dépendante de la longueur de la chaîne. Quant aux acides hydroxamiques, leur activité peut être liée à une inhibition enzymatique, par exemple, celle des histones désacétylases (HDAC) vu que le raccourcissement de la chaîne a un effet légèrement négatif sur les valeurs d'IC₅₀. Les acides carboxyliques de la série adipique et succinique ont été également testés et ils montrent de bons effets cytotoxiques. On remarque que –parmi les composés étudiés– le succinimide a une meilleure activité sur les cellules du cancer de sein hormono-dépendant.

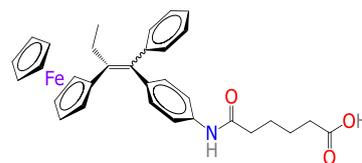
Nouvelles molécules étudiées



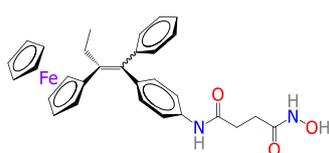
FcTAM-AdHx



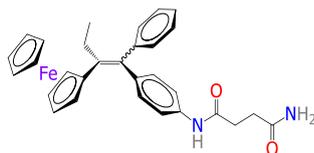
FcTAM-AdAm



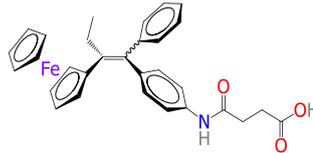
FcTAM-AdAc



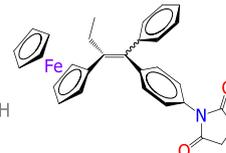
FcTAM-ScHx



FcTAM-ScAm



FcTAM-ScAc



FcTAM-ScIm

1. Introduction

Nous venons de voir dans le Chapitre II que l'incorporation d'un motif HDACi sur la structure du **FcTAM** apportait des effets bénéfiques à son activité antiproliférative contre les cellules cancéreuses. Il est par ailleurs évident que les effets cytotoxiques de **FcTAM** et **FcTAM-PSA** ne peuvent être associés à un effet HDACi comme dans le cas de **FcTAM-SAHA**. Sachant que la longueur de la chaîne de la molécule de **SAHA** est un motif structural important pour assurer l'activité d'inhibition enzymatique et par conséquent son effet antiprolifératif, nous avons voulu étudier l'impact de son raccourcissement sur l'activité biologique des hybrides.

Dans ce contexte, il est possible de trouver dans la littérature des études de relations structure-activité basée sur la modification de chaînes latérales. Par exemple, un analogue de l'idoxifène (**IDO-2**) portant une chaîne modifiée par la présence de huit groupes méthylènes (CH_2) à la place de deux (Figure 1) conduit au composé **IDO-8** qui n'a pas montré d'améliorations de ses propriétés biologiques (effets antiprolifératif et œstrogénique).^[1] Cependant, d'autres changements structuraux ont montré que la fonctionnalité chimique de la chaîne latérale a une importance majeure.

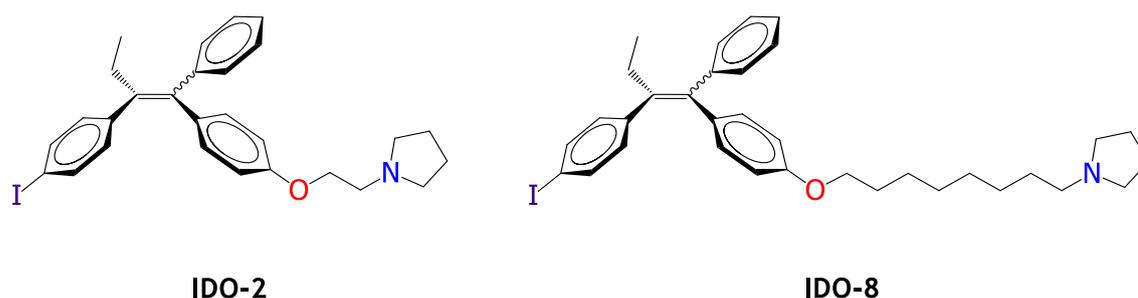


Figure 1. Structure chimique de l'idoxifène **IDO-2** et de son analogue à chaîne modifiée **IDO-8**.

[1] L Jin, N Legros, G Leclercq, IR Hardcastle, M Jarman. Length increase of the side chain of idoxifene does not improve its antagonistic potency in breast-cancer cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* **1998**, *41*, 339–342.

L'influence de la taille de la chaîne alkyle a été également étudiée dans le cas des HDACi. Par exemple, des molécules portant de chaînes latérales à quatre et à dix méthylènes (Figure 2) ont été évaluées sur une lignée d'érythroleucémie murine.^[2] Les études comparatives entre **Ph-4** et **Ph-10** ont montré que le composé **Ph-10** a une activité antiproliférative plus grande mais un effet HDACi plus faible. Ceci suggère qu'il n'existe pas de corrélations entre l'activité HDACi et l'effet cytotoxique. Egalement, ceci fait penser que l'allongement de la chaîne fait à **Ph-4** et **Ph-10** différer dans leur mécanisme d'action.

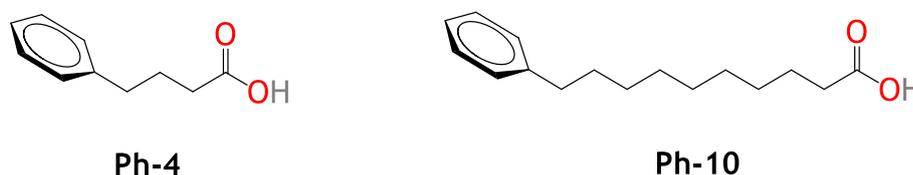


Figure 2. Structure chimique de l'acide 4-phénylbutyrique 1 et de l'acide 10-phényldécanoïque 2.

D'autres études sur la dépendance de la taille de la chaîne des HDACi pour l'activité d'inhibition enzymatique ont montré que la longueur idéale est de huit carbones (comme dans le cas de la molécule du **SAHA**). De même, il a été prouvé que l'activité antiproliférative n'est pas significativement affectée par la stéréochimie des dérivés.^[3] Cela est en accord avec un autre rapport sur des évaluations biologiques des composés combinant la biodisponibilité des acides gras à chaînes courtes –comme l'acide butyrique– et la capacité de chélation conférée par la fonction hydroxamate de la molécule du **SAHA**.^[4] Les résultats de cette étude ont montré que les espèces efficaces portaient la fonction acide hydroxamique au bout d'une chaîne de huit carbones.

[2] MA Lea, A Shareef, M Sura, C desBordes. Induction of histone acetylation and inhibition of growth by phenyl alkanolic acids and structurally related molecules. *Cancer Chemother Pharmacol* **2004**, 54, 57–63.

[3] S Hanessian, L Auzzas, G Giannini, M Marzi, W Cabri, M Barbarino, L Vesci, C Pisano. ω -Alkoxy analogues of SAHA (vorinostat) as inhibitors of HDAC: a study of chain-length and stereochemical dependence. *Bioorg Med Chem Lett* **2007**, 17, 6261–6265.

[4] JL Tischler, B Abuaita, SC Cuthbert, C Fage, K Murphy, A Saxe, EB Furr, J Hedrick, J Meyers, D Snare, AR. Zand. Simple inhibitors of histone deacetylase activity that combine features of short-chain fatty acid and hydroxamic acid inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem* **2008**, 23, 549–555.

D'autres études concernant des molécules multifonctionnelles ont montré que la longueur de la chaîne avait un effet important sur l'inhibition des enzymes HDAC. Il a été trouvé que les analogues à chaînes longues étaient les agents les plus efficaces. Les composés montrés dans la Figure 3 ont été conçus pour cibler simultanément plusieurs protéines : par exemple, le récepteur du facteur de transcription épidermique humain (EGFR), le récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2) et les histones-désacétylases (HDAC) pour le traitement du cancer.^[5,6]

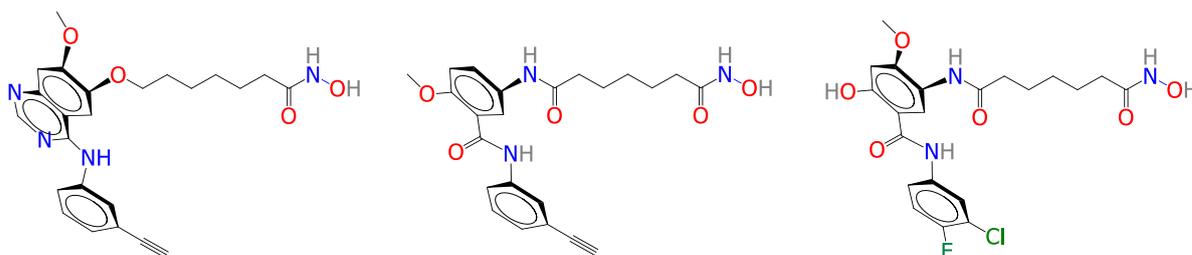


Figure 3. Structure chimique des inhibiteurs d'activité multifonctionnelle à chaînes longues avec la fonction acide hydroxamique.

Pour sa part, notre groupe a aussi reporté les effets de la modification de la chaîne lors des études des relations structure-activité sur l'hydroxyferrocifène **FcOHTAM** et ses dérivés.^[7,8] D'un côté, il a été trouvé que le léger allongement de la chaîne de **FcOHTAM-2** (Figure 4) par un méthylène (CH₂) renforçait la reconnaissance du composé (**FcOHTAM-3**) par le récepteur alpha des œstrogènes (ER α). Cependant, une chaîne plus longue rendait le produit plus lipophile mais moins bien reconnu par cette cible. De même, il a été observé que le produit **FcOHTAM-8** (chaîne à huit carbones) présentait une faible activité antiproliférative. Toutefois, il faut noter que dans le cas de **FcTAM-SAHA** (chaîne à huit carbones) l'effet antiprolifératif du ferrocifène (**FcTAM**) ne diminue pas, en revanche, il reste dans la même gamme de valeurs d'IC₅₀ que l'hydroxyferrocifène (**FcOHTAM**) qui est plus actif que **FcTAM**.

- [5] X Cai, HX Zhai, J Wang, J Forrester, H Qu, L Yin, C.J. Lai, R. Bao, C. Qian. Discovery of 7-(4-(3-ethynylphenylamino)-7-methoxyquinazolin-6-yloxy)-N-hydroxyheptanamide (CUDC-101) as a potent multi-acting HDAC, EGFR, and HER2 inhibitor for the treatment of cancer. *J Med Chem* **2010**, 53, 2000–2009.
- [6] M Zuo, YW Zeng, SM Lu, Y Li, SQ Zhang. Synthesis and biological evaluation of N-aryl salicylamides with a hydroxamic acid moiety at 5-position as novel HDAC-EGFR dual inhibitors *Bioorg Med Chem* **2012**, 20, 4405–4412.
- [7] S Top, A Vessières, C Cabestaing, I Laios, G Leclercq, C Provot, G Jaouen. Studies on organometallic selective estrogen receptor modulators. (SERMs) Dual activity in the hydroxy-ferrocifen series. *J Organomet Chem* **2001**, 637–639, 500–506.
- [8] S Top, A Vessières, G Leclercq, J Quivy, J Tang, J Vaissermann, M Huché, G Jaouen. Synthesis, biochemical properties and molecular modelling studies of organometallic specific estrogen receptor modulators (SERMs), the ferrocifens and hydroxyferrocifens: evidence for an antiproliferative effect of hydroxyferrocifens on both hormone-dependent and hormone-independent breast cancer cell lines. *Chem Eur J* **2003**, 9, 5223–5236.

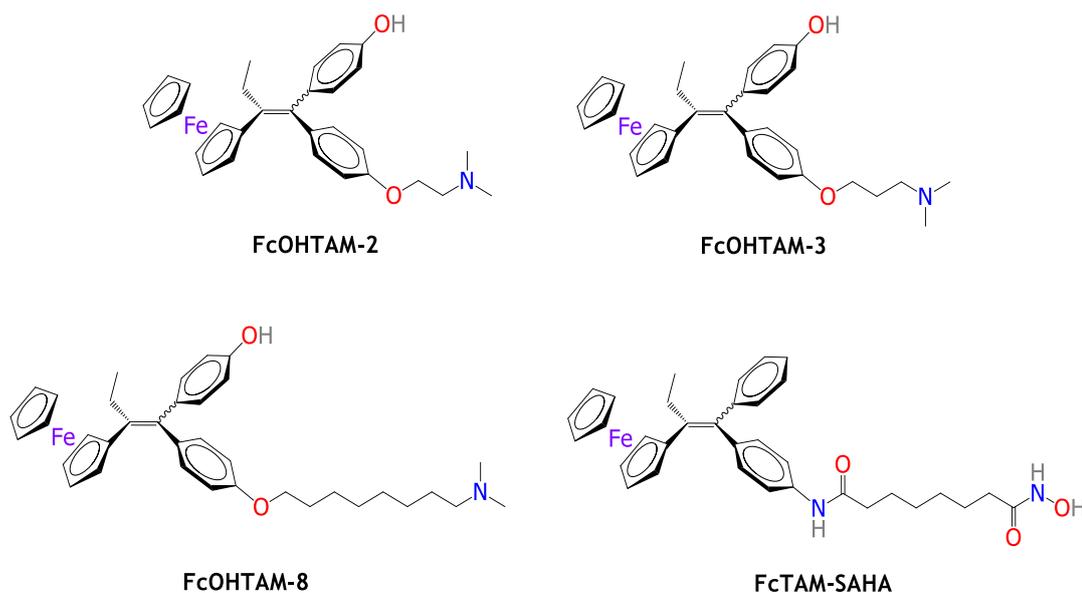


Figure 4. Structure chimique des hydroxyferrocifènes de longueurs de chaînes différents et de l'hybride **FcTAM-SAHA**.

Ces résultats montrent que l'augmentation de la lipophilie d'un produit par modification de la chaîne alkyle ou par incorporation du groupement ferrocényle n'assure pas toujours une bonne réponse biologique. Nous pouvons avancer que –dans certains produits– la longueur de la chaîne latérale joue un rôle très important dans la modulation des propriétés cytotoxiques et du ciblage moléculaire. Nous avons vu que –dans certains cas– une chaîne courte permettait à la molécule de se loger dans la poche d'un récepteur donné, pendant que dans d'autres cas –comme pour l'inhibition des HDACi– une chaîne longue était toujours souhaitée pour atteindre le site actif.

Il ne faut pas oublier qu'un autre motif structural important modulant les activités biologiques est la fonctionnalité chimique. Nous avons vu par exemple qu'il existait des différences significatives d'activité antitumorale, d'affinité pour les ER α et de ciblage sur les enzymes parmi les fonctions acide carboxylique (–COOH) dans le cas de **FcTAM-OPOA**, de l'acide hydroxamique (–CONHOH) dans le cas de **FcTAM-SAHA**, de l'amide primaire (–CONH₂) dans le cas de **FcTAM-PSA** et de l'amine tertiaire (–NMe₂) dans le cas de **FcTAM**.

Nous allons maintenant explorer, l'impact de la modification de la chaîne sur les composés présentés précédemment. Pour ce faire, nous nous servons de l'acide **adipique** – pour le raccourcissement de six à quatre méthylènes– et de l'acide **succinique** –pour le raccourcissement à deux méthylènes–. Les trois fonctionnalités chimiques : acide hydroxamique, amide primaire et acide carboxylique sont accompagnées d'un succinimide également inclus dans cette étude.

2. Résultats et discussion

2.1 Synthèse des dérivés adipiques

La synthèse des trois dérivés de l'acide adipique a été réalisée en suivant le protocole décrit dans le Chapitre II (Schéma 1). Ainsi, pour obtenir l'acide carboxylique 6-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)anilino]-6-oxohexanoïque **FcTAM-AdAc**, l'aniline **Fc-aline** – préalablement obtenue par réaction de McMurry– réagit avec le chlorure d'adipoyle en 20 min à température ambiante. Le produit est obtenu avec un rendement de 51% (Schéma 1). Comme reporté, l'abaissement de température n'augmente pas significativement le rendement de l'acide carboxylique. Le bisamide (**FcTAM**)₂**Ad** est toujours obtenu comme sous-produit. Dès que la **Fc-aline** est consommée dans la réaction, le mélange est hydrolysé dans une solution basique pour s'assurer que les chlorures deviennent des carboxylates. Évidemment, une acidification subséquente est nécessaire pour favoriser la solubilité du composé dans les solvants d'extraction.

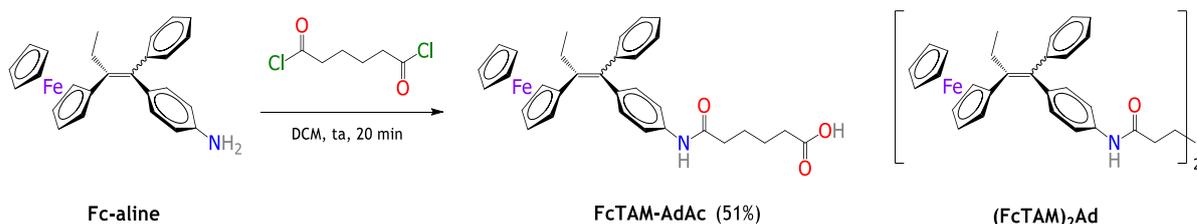


Schéma 1. Synthèse de l'acide 6-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)anilino]-6-oxohexanoïque **FcTAM-AdAc**.

Afin d'obtenir l'acide hydroxamique **FcTAM-AdHx**, une solution d'hydroxylamine a été préparée à 0°C à partir de 4 équivalents de NH₂OH•HCl et 8 équivalents KOH. Simultanément, l'acide carboxylique **FcTAM-AdAc** réagit avec 2 équivalents du ClCO₂Et et 2.5 équivalents d'Et₃N pour former le carbonate intermédiaire. Ce dernier a été attaqué par NH₂OH. Le rendement relativement faible en produit (36%) peut être expliqué par la réaction compétitive du MeOH en milieu basique pour former le méthyl ester correspondant. Finalement, pour obtenir l'amide primaire **FcTAM-AdAm**, le même processus d'activation de l'acide carboxylique a été nécessaire avant de le faire réagir avec un excès du NaNH₂ pour conduire au produit final avec un rendement de 93% après purification (Schéma 2). Tous les produits ont été caractérisés par les techniques conventionnelles.

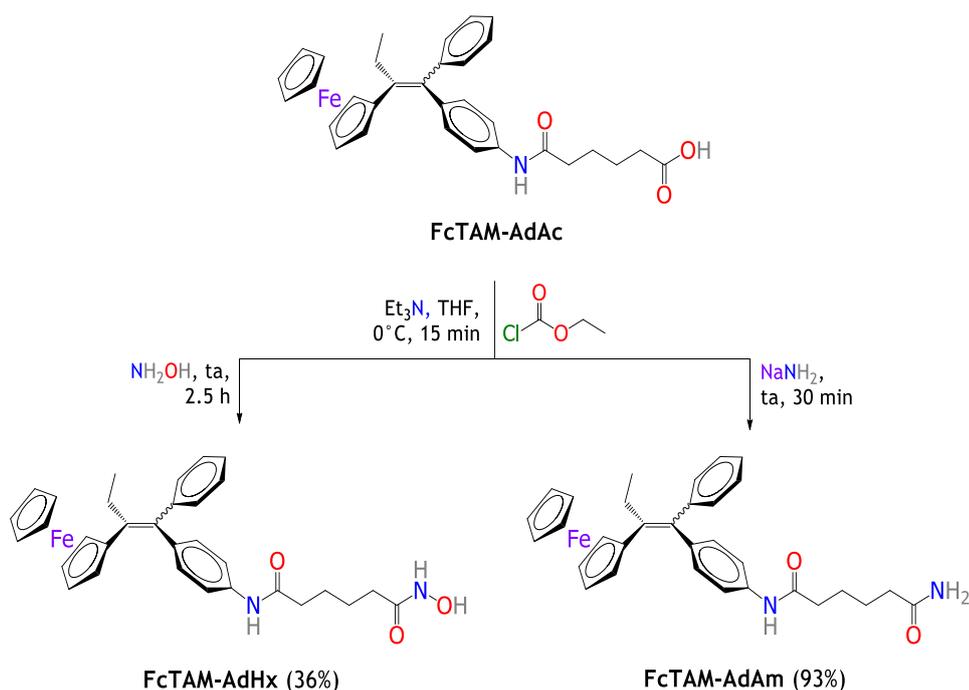


Schéma 2. Synthèse de l'acide hydroxamique FcTAM-AdHx et de l'amide FcTAM-AdAm.

2.2 Synthèse des dérivés succiniques

La voie de synthèse des composés succiniques est différente de celle des séries adipique et subérique. La réaction entre le chlorure de succinyle et l'aniline **Fc-aline** forme majoritairement le succinimide **FcTAM-ScIm** à la place de l'acide carboxylique (Schéma 3). Après purification, les produits obtenus ont été identifiés comme le succinimide **FcTAM-ScIm**, le bisamide **(FcTAM)₂Sc** et l'acide carboxylique **FcTAM-ScAc** en traces.

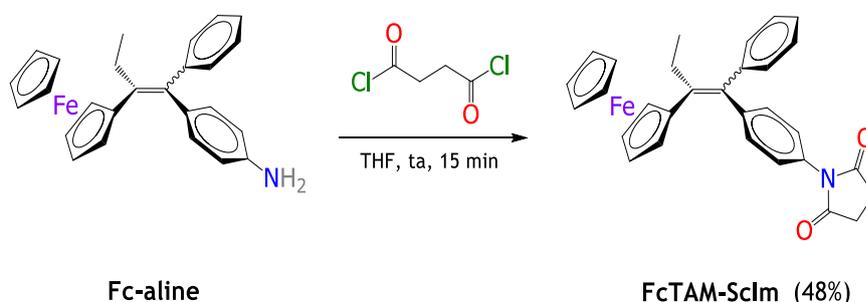


Schéma 3. Formation du succinimide FcTAM-ScIm.

La formation préférentielle du succinimide peut s'expliquer par le fait que –une fois que l'attaque nucléophile de l'aniline **Fc-aline** sur le chlorure de succinyle se produit (**A**)– une réaction intramoléculaire intervient par une deuxième attaque de l'azote sur la fonction chlorure d'acyle de la chaîne latérale de l'intermédiaire (**B**) avant que l'hydrolyse du chlorure –lors du work-up– produise l'acide carboxylique correspondant (Schéma 4). La force motrice de cette transformation peut être la formation d'un cycle à cinq chaînons thermodynamiquement stable, de sorte que le changement des conditions de réaction n'altère pas significativement les proportions des produits obtenus.

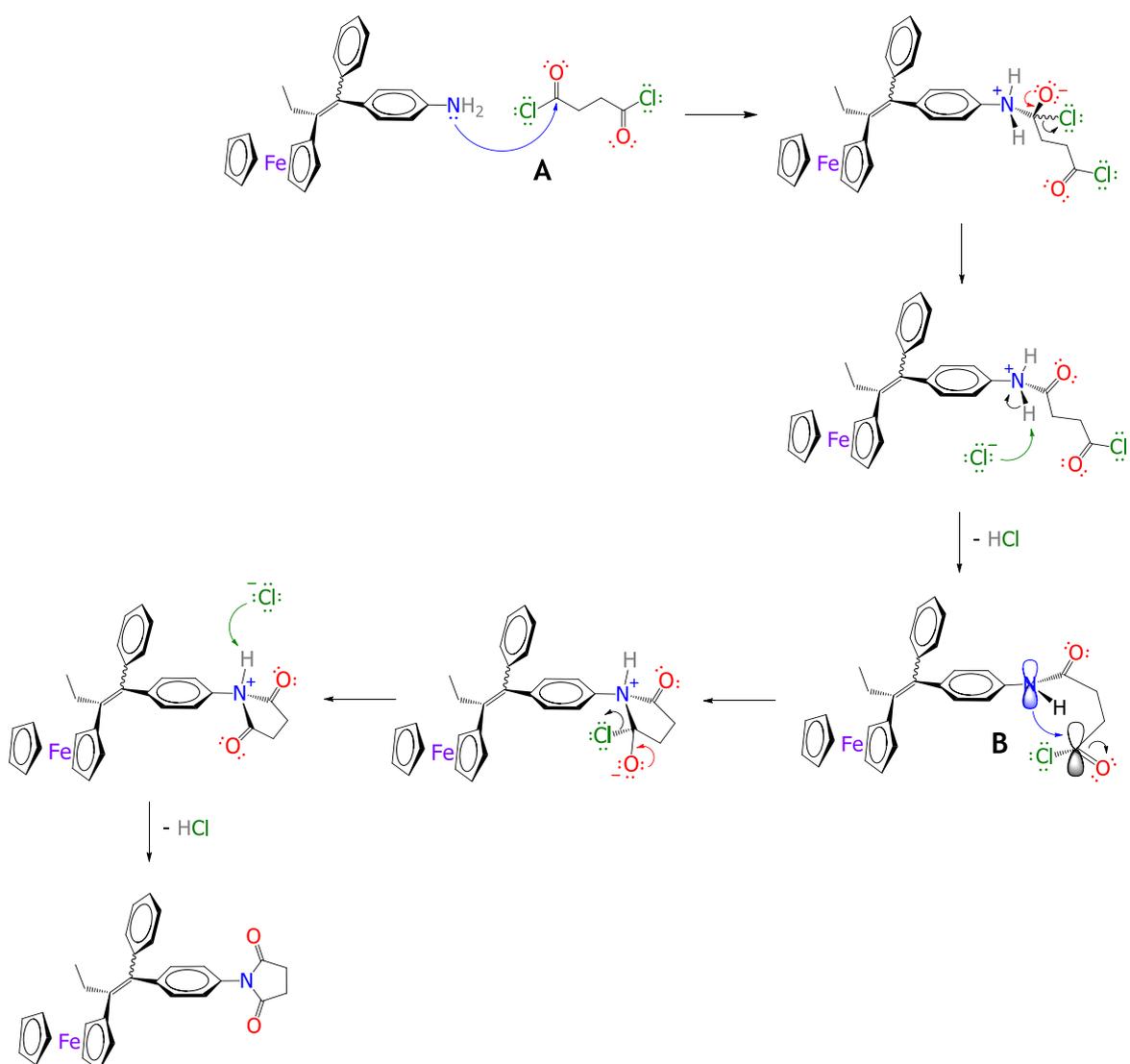


Schéma 4. Mécanisme réactionnel pour la formation de FcTAM-ScIm.

Comme ce protocole n'a pas conduit à la formation de l'acide carboxylique **FcTAM-ScAc** avec des rendements adéquats, nous avons voulu explorer la possibilité de promouvoir l'ouverture du **FcTAM-ScIm** pour conduire à l'acide souhaité. En effet, l'hydroxyde de sodium (NaOH) réagit sur le succinimide dans ces conditions (Schéma 5) pour former **FcTAM-ScAc** avec un très bon rendement (96%).

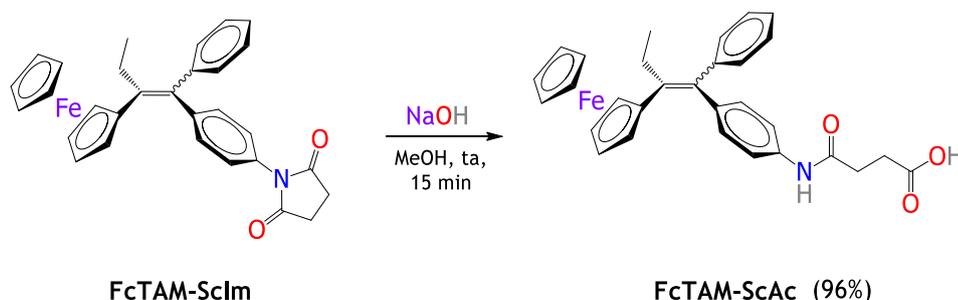


Schéma 5. Formation de l'acide carboxylique **FcTAM-ScAc** par ouverture du succinimide **FcTAM-ScIm**.

Par ailleurs, dans un effort pour explorer la possibilité d'optimiser la production de l'acide **FcTAM-AdAc** –qui est le produit de départ pour la formation de l'acide hydroxamique et l'amide primaire correspondants–, le bisamide (**FcTAM**)₂Sc a été hydrolysé avec HCl dans un mélange acétone/eau. Après 1 h de reflux, l'acide carboxylique et l'aniline de départ ont été obtenus quantitativement (Schéma 6).

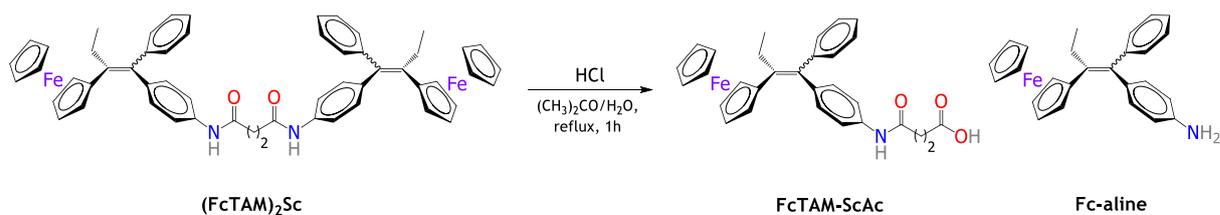


Schéma 6. Réaction d'hydrolyse acide du bisamide (**FcTAM**)₂Sc.

Etant donné que le succinimide **FcTAM-ScIm** peut réagir avec des nucléophiles comme l'anion hydroxyde (HO⁻), nous avons exploré la possibilité de synthétiser l'acide hydroxamique **FcTAM-ScHx** en une seule étape. En effet, l'addition d'un excès d'hydroxylamine (NH₂OH) au succinimide conduit à la formation du produit souhaité mais avec un faible rendement (19%). Pour cette raison, nous avons gardé la voie classique à partir de l'acide carboxylique **FcTAM-ScAc**. Le rendement pour cette voie est de 30% (Schéma 7).

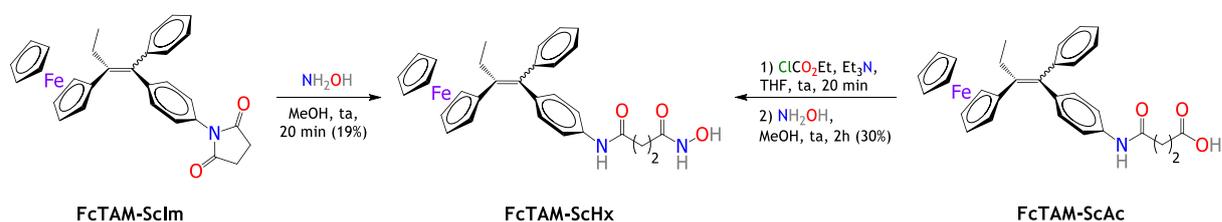


Schéma 7. Réactions d'obtention de l'acide hydroxamique **FcTAM-ScHx** à partir du succinimide **FcTAM-Sclm** et de l'acide carboxylique **FcTAM-ScAc**.

Finalement, vu que l'amide primaire **FcTAM-ScAm** n'a pas pu être obtenu par l'attaque nucléophile directe de NaNH_2 sur le succinimide (Schéma 8), nous avons décidé de suivre un protocole éprouvé à partir de l'acide carboxylique **FcTAM-ScAc**. Ainsi, l'activation par ClCO_2Et suivie par attaque de NaNH_2 conduit à la formation de l'amide primaire **FcTAM-ScAm** avec un rendement de 36%.

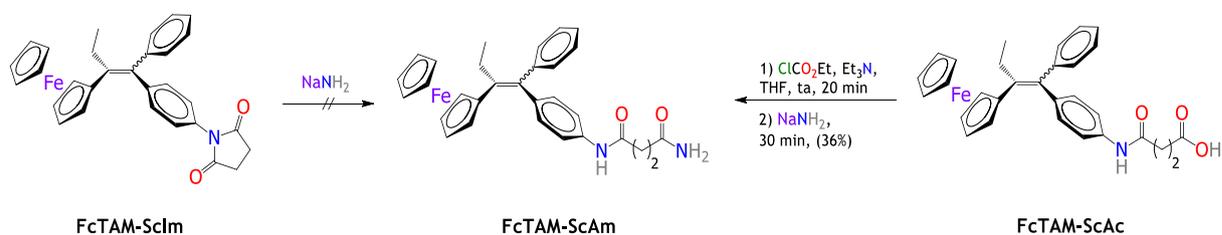


Schéma 8. Réaction d'obtention de l'amide primaire **FcTAM-ScAm** à partir de l'acide carboxylique **FcTAM-ScAc**.

La non réactivité de NaNH_2 sur le succinimide peut s'expliquer par le fort caractère basique de l'anion amidure (NH_2^-) par rapport à sa capacité nucléophile et par le fait que le succinimide est moins activé que le carbonate qui se forme lors de la voie classique. À la place de l'amide, l'acide carboxylique **FcTAM-ScAc** a été identifié après le work-up de la réaction. Ce dernier a pu être généré après attaque nucléophile du HO^- formé à partir de l'eau dans le milieu basique.

2.3 Activité antiproliférative sur les cellules de cancer du sein

Comme dans le cas précédent, les deux acides hydroxamiques, les deux amides primaires et les deux acides carboxyliques des deux séries adipique et succinique et le succinimide ont été d'abord évalués à une concentration de 10 μM dans une étude d'inhibition de la croissance de cellules cancéreuses. Ainsi, les lignées cellulaires MDA-MB-231 pour le cancer du sein type triple-négatif et MCF-7 pour le cancer du sein du type hormono-dépendant ont été employées. Les résultats sont présentés dans le Tableau 1.

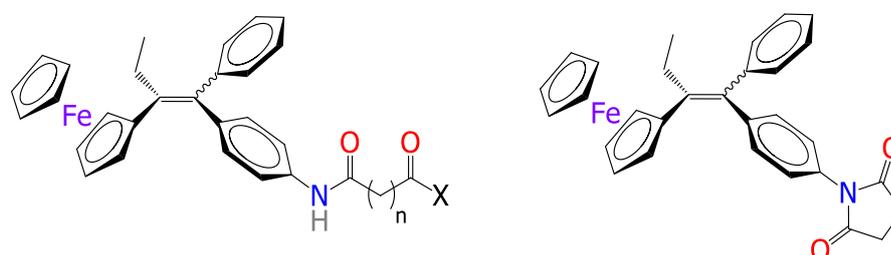


Tableau 1. Inhibition de la croissance cellulaire (%) à 10 μM dans les deux lignées cellulaires de cancer du sein^a

Composé	n	X	MDA-MB-231	MCF-7
FcTAM-AdHx	4	NHOH	86 \pm 1	73 \pm 5
FcTAM-ScHx	2	NHOH	99 \pm 1	83 \pm 4
FcTAM-AdAm	4	NH ₂	88 \pm 1	79 \pm 1
FcTAM-ScAm	2	NH ₂	99 \pm 1	87 \pm 1
FcTAM-AdAc	4	OH	68 \pm 2	67 \pm 5
FcTAM-ScAc	2	OH	72 \pm 1	58 \pm 1
FcTAM-Sclm	-	-	79 \pm 1	65 \pm 1

^a Les mesures ont été faites après 72 h. Les valeurs sont la moyenne de trois manipulations \pm ET.

A cette concentration de 10 μM , tous les composés organométalliques ont montré des effets antiprolifératifs *in vitro* et, d'une manière générale, les effets sont plus importants sur les cellules MDA-MB-231 que sur les cellules MCF-7. Cette différence de comportement entre les deux lignées cellulaires est comparable à celle observée au Chapitre II et peut être associée à un effet œstrogénique (agoniste) des composés sur la lignée MCF-7 hormono-dépendante.

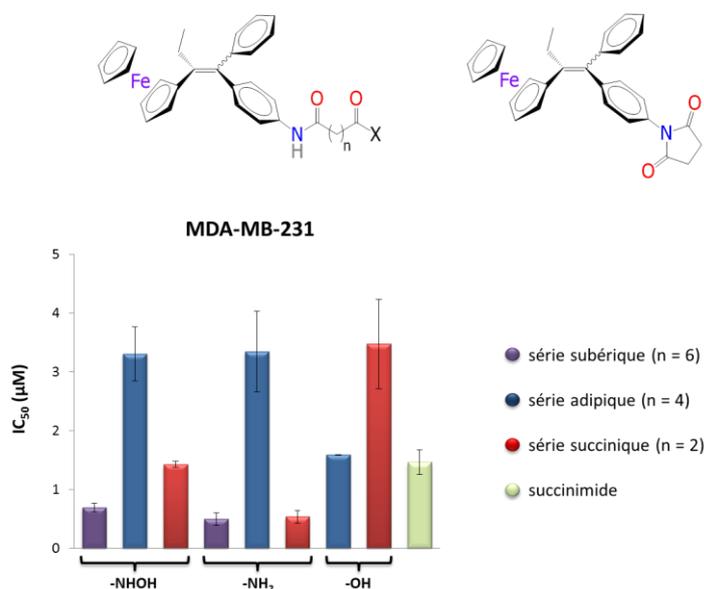
Nous avons ensuite mesuré les valeurs d'IC₅₀ des composés sur ces deux lignées cellulaires. Les résultats sont présentés dans le Tableau 2. Les valeurs de **FcTAM-SAHA** et **FcTAM-PSA** ont été ajoutées pour comparaison. Les produits présentent des valeurs d'IC₅₀ dans la gamme de 0.54- 4.12 µM, ce qui confirme que ceux-ci ont tous un niveau de toxicité significatif.

Tableau 2. Valeurs d'IC₅₀ (µM) des produits sur les lignées cellulaires de cancer du sein.^a

Composé	n	X	MDA-MB-231	MCF-7
FcTAM-SAHA	6	NHOH	0.70 ± 0.07	2.01 ± 0.07
FcTAM-AdHx	4	NHOH	3.31 ± 0.46	3.71 ± 0.76
FcTAM-ScHx	2	NHOH	1.43 ± 0.05	2.78 ± 0.82
FcTAM-PSA	6	NH ₂	0.50 ± 0.11	1.81 ± 0.88
FcTAM-AdAm	4	NH ₂	3.35 ± 0.68	3.14 ± 0.43
FcTAM-ScAm	2	NH ₂	0.54 ± 0.11	1.30 ± 0.18
FcTAM-AdAc	4	OH	1.89 ± 0.01	2.69 ± 0.78
FcTAM-ScAc	2	OH	3.48 ± 0.76	4.12 ± 0.09
FcTAM-ScIm	-	-	1.74 ± 0.21	1.06 ± 0.06

^a Les mesures ont été faites après 72 h. Les valeurs sont la moyenne des deux manipulations ± ET.

Si l'on considère l'effet de la chaîne latérale sur les cellules MDA-MB-231 (Graphique 1), il est frappant de constater que –pour les acides hydroxamiques (X = NHOH) et les amides primaires (X = NH₂)– des valeurs d'IC₅₀ basses et proches entre 0.5 µM et 1.4 µM sont trouvées pour les composés avec une chaîne longue (n = 6) et courte (n = 2) alors que les composés avec la chaîne de longueur intermédiaire (n = 4) ont une toxicité nettement moins forte (IC₅₀ ~ 3.30 µM). Cette observation n'est pas vérifiée pour les deux acides



carboxyliques puisque dans ce cas, la valeur d'IC₅₀ du composé **FcTAM-AdAc** (n = 4) est environs deux fois plus faible que celle du complexe avec **FcTAM-ScAc** (n = 2). Quant au dérivé succinimide, ceci montre une toxicité intermédiaire.

Graphique 1. Valeurs d'IC₅₀ (µM) pour les composés de la série subérique, adipique et succinique sur les cellules MCF-7 et MDA-MB-231 de cancer du sein.

Par ailleurs, sur les cellules MCF-7, les effets antiprolifératifs sont moins prononcés mais suivent les mêmes tendances. Comme il l'a déjà été signalé, on a –sur ces cellules– une compétition entre l'effet cytotoxique des composés et l'effet œstrogénique (prolifératif) induit par une interaction entre les composés et le récepteur des œstrogènes (ER α). En revanche, nous pouvons remarquer que le succinimide **FcTAM-ScIm** est le composé le plus actif contre avec une valeur d'IC₅₀ de 1.06 μ M comparable à celle du **SAHA** (1.04 μ M).

En outre, l'étude sur le ciblage des récepteurs EGFR et HER2 par les molécules multifonctionnelles présentées dans l'introduction de ce chapitre a montré que leur efficacité n'est pas dépendante de la chaîne. Les résultats trouvés ici vont dans le même sens. Le raccourcissement de cette composante dans les hybrides organométalliques n'affecte pas significativement leur cytotoxicité (Figure 5).

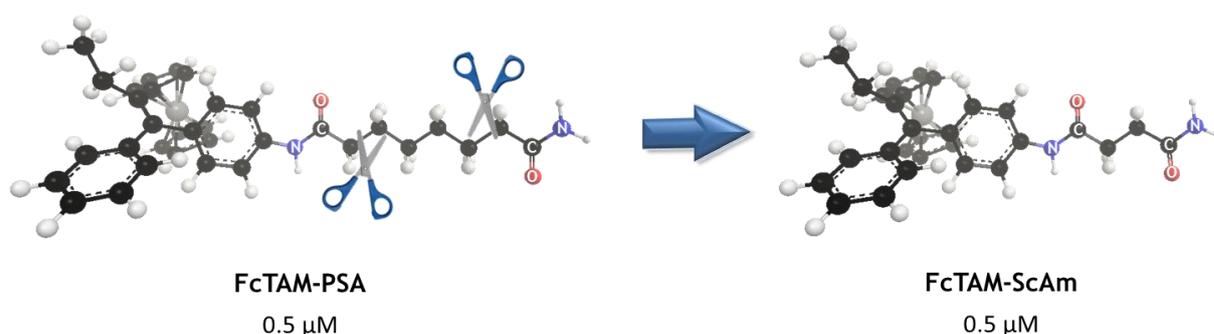


Figure 5. Structures 3D des amides primaires **FcTAM-PSA** et **FcTAM-ScAm** avec leurs valeurs correspondantes d'IC₅₀ sur les cellules MDA-MB-231.

Toutefois, nous ne connaissons pas encore les cibles qui permettent à nos produits d'exprimer leurs effets cytotoxiques. Ce dernier point nous ouvre des perspectives de recherche sur d'autres récepteurs, enzymes et protéines surexprimées dans les cellules cancéreuses qui pourraient éventuellement nous fournir des informations concernant le mécanisme d'action des dérivés du ferrocifène. Pour l'instant, avec les résultats de ce chapitre et sachant qu'un des impératifs dans un acide hydroxamique pour une inhibition HDACi est une chaîne longue, nous pouvons indiquer que nos produits évalués ne ciblent pas principalement les enzymes HDAC pour déclencher leurs effets anticancéreux. Ceci est consistant avec les évidences expérimentales résultantes des études de biologie moléculaire présentés dans le Chapitre II.

3. Conclusion

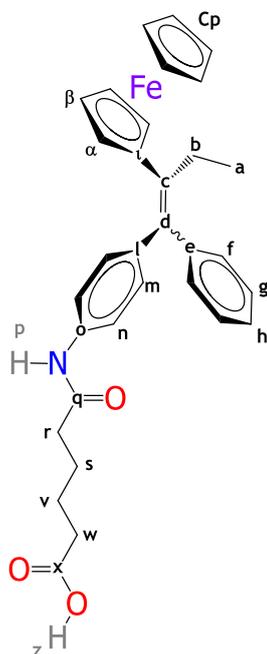
Nous avons synthétisé sept nouveaux composés portant différentes chaînes alkyles et différentes fonctionnalités. Les chaînes alkyles évaluées comprennent deux et quatre méthylènes. Les fonctionnalités chimiques ont été un acide hydroxamique, un amide primaire, un acide carboxylique et un succinimide. Tous les composés ont montré une activité antiproliférative significative sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant et MDA-MB-231 de cancer du sein triple-négatif. Les composés de ce chapitre sont antiprolifératifs avec des valeurs d'IC₅₀ dans la gamme de 0.5-4.12 μ M. Les amides primaires **FcTAM-PSA** et **FcTAM-ScAm** se sont avérés être les produits les plus cytotoxiques des trois séries (subérique, adipique et succinique) sur la lignée MDA-MB-231 pendant que la succinimide **FcTAM-ScIm** s'est révélé le produit le plus actif sur les cellules MCF-7. La série adipique montre un comportement particulier qui peut être dû à des propriétés spécifiques des composés portant une chaîne à quatre méthylènes.

Cette étude montre encore que les cellules MCF-7 et MDA-MB-231 sont différemment sensibles aux effets des composés. Ceci rend les produits sélectivement cytotoxiques sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein triple-négatif. L'activité antiproliférative des amides primaires n'est pas affectée par le raccourcissement de la chaîne et celle des acides hydroxamiques ne l'est pas significativement. Ainsi, les activités similaires entre les amides primaires et les acides hydroxamiques organométalliques pourraient être expliquées par de caractéristiques mécanistiques communes. Nous pouvons citer, la stimulation de l'expression des gènes suppresseurs de tumeurs, comme le p21 –qui a été observé dans le cas des hybrides du Chapitre II– vraisemblablement par la participation des évènements redox de ce type de complexes organométalliques.

4. Partie expérimentale

FcTAM-AdAc • acide 6-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)anilino]-6-oxohexanoïque

Le protocole de synthèse de ce produit et celui des dérivés de l'acide adipique sont décrits dans la partie expérimentale des Chapitres II et III. Réactifs et conditions : **1** (5.53 mmol, 2.25 g), DCM (30 mL), chlorure d'adipoyle (11.05 mmol, 1.6 mL), DCM (10 mL). Temps de réaction: 20 min. Éluant pour la colonne : hexane/AcOEt, 1/1. 51% (1.50 g). Solide orange-marron. *Z/E* = 78/22.

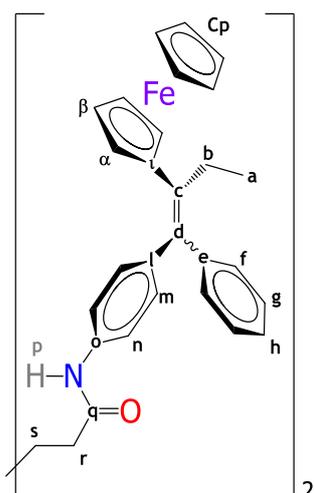


● **RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *Z*, δ 0.99 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.42-1.67 (m, 4H : **v** et **s**), 2.18-2.36 (m, 4H : **w** et **r**), 2.48 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 3.84 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.11 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.12 (s, 5H : **Cp**), 6.96 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H : **f**), 7.25 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H : **h**), 7.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **g**), 7.49 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 9.86 (s, 1H : **p**), 12.04 (s, 1H : **z**). Isomère *E*, δ 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.42-1.67 (m, 4H : **v** et **s**), 2.18-2.36 (m, 4H : **w** et **r**), 2.48 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 3.78 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.07 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.12 (s, 5H : **Cp**), 7.04 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H : **f**), 7.25 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H : **h**), 7.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **g**), 7.56 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 9.89 (s, 1H : **p**), 12.04 (s, 1H : **z**).

● **RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 15.4 (**a**), 24.1 (**v**), 24.7 (**s**), 27.1 (**b**), 33.4 (**w**), 36.1 (**r**), 68.1 (**β**), 68.8 (**α**), 69.1 (**Cp**), 85.5 (**u**), 119.1 (**n**), 126.2 (**h**), 128.4 (**g**), 128.8 (**f**), 129.5 (**m**), 136.6 (**c**), 137.0 (**d**), 137.5 (**o**), 139.1 (**l**), 144.3 (**e**), 170.9 (**q**), 174.4 (**x**).

● **IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3298 (N-H et O-H stretch), 3093, 3051 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2970, 2962 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1709 (OC=O stretch), 1662 (NC=O stretch), 1593 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1523 (N-H bend), 1404 (C-N stretch), 1242 (C-O stretch). **SM** (IC, m/z) : 553 $[\text{MNH}_4]^+$, 536 $[\text{MH}]^+$, 408 $[\text{Fc-alineH}]^+$.

● **Anal. Calc.** pour $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{FeNO}_3$ (%) : C, 71.78; H, 6.21; N, 2.62. Trouvé : C, 71.16; H, 6.78; N, 2.22. **HPLC** (R_T , min) : 2.97 (Kromasil C18, MeOH), 4.17 (Kromasil C18, MeOH/ H_2O , 90:10). **pf** : 85-87°C.

(FcTAM)₂Ad • N¹,N⁶-bis[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]adipamideSolide orange-marron. *Z,Z/E,E* = 68/32

● **RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère *Z,Z*, δ 0.98 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H : **a**), 1.55-1.70 (m, 4H : **s**), 2.24-2.38 (m, 4H : **r**), 2.48 (q, *J* = 7.4 Hz, 4H : **b**), 3.88 (t, *J* = 1.9 Hz, 4H : **α**), 4.10 (t, *J* = 1.9 Hz, 4H : **β**), 4.12 (s, 10H : **Cp**), 6.96 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **m**), 7.21 (d, *J* = 7.5 Hz, 4H : **f**), 7.24 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **h**), 7.34 (t, *J* = 7.5 Hz, 4H : **g**), 7.49 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **n**), 9.88 (s, 1H : **p**). Isomère *E,E*, δ 0.98 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H : **a**), 1.55-1.70 (m, 4H : **r**), 2.24-2.38 (m, 4H : **s**), 2.48 (q, *J* = 7.4 Hz, 4H : **b**), 3.77 (t, *J* = 1.9 Hz, 4H : **α**), 4.07 (t, *J* = 1.9 Hz, 4H : **β**), 4.12 (s, 10H : **Cp**), 7.04 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **m**), 7.21 (d, *J* = 7.5 Hz, 4H : **f**), 7.24 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **h**), 7.34 (t, *J* = 7.5 Hz, 4H : **g**), 7.56 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **n**), 9.91 (s, 1H : **p**).

● **RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 15.4 (**a**), 24.9 (**s**), 27.1 (**b**), 36.3 (**r**), 68.1 (**β**), 68.8 (**α**), 69.1 (**Cp**), 85.5 (**t**), 119.1 (**n**), 126.2 (**h**), 128.4 (**g**), 128.8 (**f**), 129.5 (**m**), 136.6 (**c**), 137.0 (**d**), 137.6 (**o**), 139.1 (**l**), 144.4 (**e**), 171.0 (**q**).

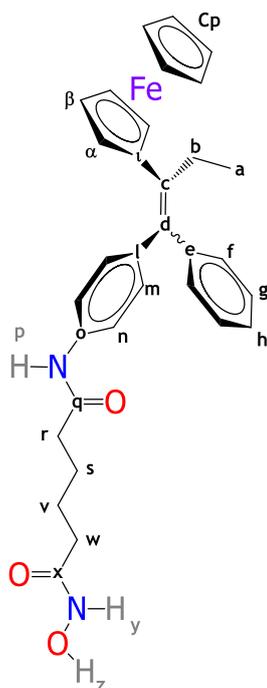
● **IR** (KBr, $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$) : 3297 (N-H stretch), 3093, 3040 (C_{Ar}-H stretch), 2927, 2866 (C_{Alk}-H stretch), 1662 (NC=O stretch), 1593 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1520 (N-H bend), 1401 (C-N stretch).

● **SM** (IC, *m/z*) : 925 [MH]⁺, 408 [Fc-alineH]⁺.

● **Anal. Calc.** for C₅₈H₅₆Fe₂N₂O₂•3H₂O (%) : C, 71.17; H, 6.38; N, 2.86. Trouvé : C, 70.99; H, 6.43; N, 2.57. **HPLC** (*R_T*, min) : 8.52 (Kromasil C18, MeOH). **pf**: 96-98°C.

FcTAM-AdHx • N^1 -[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]- N^6 -hydroxyadipamide

Réactifs et conditions : $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (4.0 mmol, 0.278 g), MeOH (10 mL), KOH (8.0 mmol, 0.448 g), MeOH (10 mL), **FcTAM-AdAc** (1.0 mmol, 0.535 g), THF (15 mL), ClCO_2Et (2.0 mmol, 0.19 mL), Et_3N (2.5 mmol, 0.35 mL). Temps de réaction : 2.5 h. Éluant pour la colonne: AcOEt. 36% (0.200 g) de produit est obtenu. Solide orange-marron. $Z/E = 71/29$.



●**RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *Z*, δ 0.99 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.42-1.67 (m, 4H : **v** et **s**), 1.91-2.04 (m, 2H : **w**), 2.18-2.36 (m, 2H : **r**), 2.48 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 3.83 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.11 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.12 (s, 5H : **Cp**), 6.96 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H : **f**), 7.25 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H : **h**), 7.35 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **g**), 7.48 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 8.69 (s, 1H : **y**), 9.86 (s, 1H : **p**), 10.37 (s, 1H : **z**). Isomère *E*, δ 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.42-1.67 (m, 4H : **v** et **s**), 1.91-2.04 (m, 2H : **w**), 2.18-2.36 (m, 2H : **r**), 2.48 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 3.77 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.08 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.12 (s, 5H : **Cp**), 7.04 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H : **f**), 7.25 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H : **h**), 7.35 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **g**), 7.56 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 8.69 (s, 1H : **y**), 9.89 (s, 1H : **p**), 10.37 (s, 1H : **z**).

●**RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 15.4 (**a**), 24.9 (**v** et **s**), 27.1 (**b**), 32.2 (**w**), 36.2 (**r**), 68.1 (**β**), 68.8 (**α**), 69.1 (**Cp**), 85.5 (**t**), 119.1 (**n**), 126.2 (**h**), 128.4 (**g**), 128.8 (**f**), 129.5 (**m**), 136.6 (**c**), 137.0 (**d**), 137.5 (**o**), 139.1 (**l**), 144.3 (**e**), 169.0 (**x**), 171.0 (**q**).

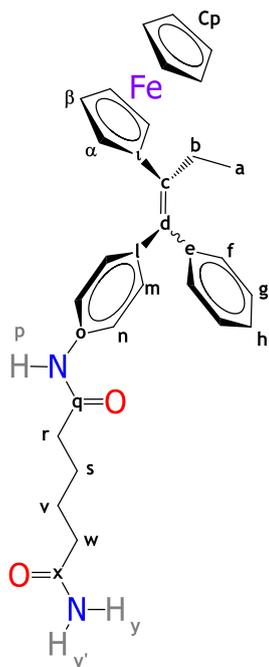
●**IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3236 (N-H et O-H stretch), 3101 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2958, 2931 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1643 (NC=O stretch), 1597 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1523 (N-H bend), 1401 (C-N stretch).

●**SM** (IES, m/z) : 549 [M-H]⁻.

●**Anal. Calc.** pour $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{FeN}_2\text{O}_3 \cdot \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$ (%) : C, 69.25; H, 6.27; N, 5.05. Trouvé : C, 69.51; H, 6.55; N, 5.05. **HPLC** (R_T , min) : 3.78 (Kromasil C18, MeOH), 7.85 (Kromasil C18, MeOH/ H_2O , 90/10). **pf** : 130-132°C.

FcTAM-AdAm • N¹-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]adipamide

Réactifs et conditions : **FcTAM-Ad** (1.0 mmol, 0.535 g), THF (10 mL), ClCO₂Et (2.0 mmol, 0.19 mL), Et₃N (2.5 mmol, 0.35 mL), NaNH₂ (excès). Temps de réaction : 30 min. Éluant pour la colonne : AcOEt. 93% (0.500 g) de produit est obtenu. Solide orange-marron. Z/E = 60/40.



● **RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère Z, δ 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.42-1.67 (m, 4H : **v** et **s**), 2.00-2.13 (m, 2H : **w**), 2.16-2.36 (m, 2H : **r**), 2.48 (q, J = 7.4 Hz, 2H : **b**), 3.83 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.11 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.12 (s, 5H : **Cp**), 6.72 (s, 1H : **y'**), 6.96 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, J = 7.5 Hz, 2H : **f**), 7.20-7.30 (m, 4H : **f**, **y** et **h**), 7.34 (t, J = 7.5 Hz, 2H : **g**), 7.48 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **n**), 9.86 (s, 1H : **p**). Isomère E, δ 1.00 (t, J = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.42-1.67 (m, 4H : **v** et **s**), 2.00-2.13 (m, 2H : **w**), 2.16-2.36 (m, 2H : **r**), 2.48 (q, J = 7.4 Hz, 2H : **b**), 3.77 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.08 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.12 (s, 5H : **Cp**), 6.72 (s, 1H : **y'**), 7.04 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, J = 7.5 Hz, 2H : **f**), 7.20-7.30 (m, 4H : **f**, **y** et **h**), 7.34 (t, J = 7.5 Hz, 2H : **g**), 7.55 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **n**), 9.89 (s, 1H : **p**).

● **RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 15.4 (**a**), 24.9 (**v**), 25.0 (**s**), 27.1 (**b**), 35.0 (**w**), 36.3 (**r**), 68.1 (**β**), 68.8 (**α**), 69.1 (**Cp**), 85.5 (**i**), 119.1 (**n**), 126.2 (**h**), 128.4 (**g**), 128.8 (**f**), 129.5 (**m**), 136.6 (**c**), 137.0 (**d**), 137.6 (**o**), 139.1 (**l**), 144.4 (**e**), 171.1 (**q**), 174.2 (**x**).

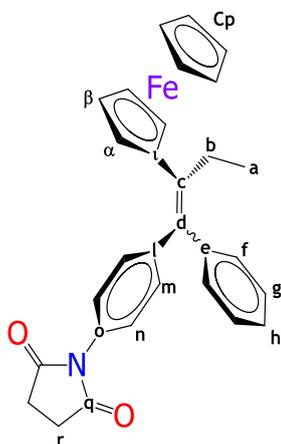
● **IR** (KBr, $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$) : 3433, 3294 (N-H stretch), 3097 (C_{Ar}-H stretch), 2950, 2873 (C_{Alk}-H stretch), 1658 (NC=O stretch), 1600 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1519 (N-H bend), 1404 (C-N stretch).

● **SM** (IC, m/z) : 552 [MNH₄]⁺, 535 [MH]⁺.

● **Anal. Calc.** pour C₃₂H₃₄FeN₂O₂ • ½ H₂O (%): C, 70.72; H, 6.49; N, 5.15. Trouvé : C, 70.71; H, 6.48, N, 5.08. **HPLC** (R_T, min) : 3.77 (Kromasil C18, MeOH), 7.79 (Kromasil C18, MeOH/H₂O, 90/10). **pf** : 95-96°C.

FcTAM-ScIm • *N*-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]succinimide

Une solution de **1** (5.13 mmol, 2.09 g) dans 45 mL de THF est lentement ajoutée dans une solution de chlorure de succinyle **cls** (6.35 mmol, 0.7 mL) dans 15 mL de THF sous agitation. Après 30 min, le mélange est mis dans 50 mL d'une solution aqueuse de bicarbonate de sodium (NaHCO₃). Le produit est extrait à l'AcOEt, la phase organique est lavée, séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. Le brut de la réaction est purifié sur une colonne de silice à gel de silice. Éluant : hexane/AcOEt, 1/1. La première fraction est identifiée comme un bisamide, le sous-produit. La deuxième fraction est le succinimide désiré et la dernière fraction est l'acide carboxylique **FcTAM-ScAc**. Les caractéristiques du **FcTAM-ScAc** seront ultérieurement décrites. 48% (1.2 g) du succinimide **FcTAM-ScIm** est obtenu. Solide orange-rouge. *Z/E* = 72/28.



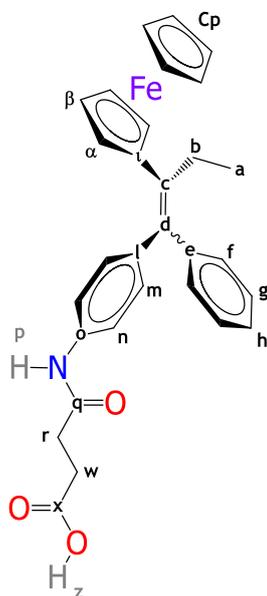
● **RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère *Z*, δ 1.01 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **a**), 2.41-2.60 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H : **b**), 2.76 (s, 4H : **r**), 3.85 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.13 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.16 (s, 5H : **Cp**), 7.17 (s, 4H : **n** et **m**), 7.21-7.33 (t, 1H : **h**), 7.26 (d, *J* = 7.5 Hz : **f**), 7.37 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **g**). Isomère *E*, δ 1.05 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **a**), 2.41-2.60 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H : **b**), 2.78 (s, 4H : **r**), 3.80 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.10 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.15 (s, 5H : **Cp**), 7.17 (s, 4H : **n** et **m**), 7.21-7.33 (t, 1H : **h**), 7.26 (d, *J* = 7.5 Hz : **f**), 7.37 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **g**).

● **RMN du ¹³C** (75MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 15.4 (**a**), 27.1 (**b**), 28.4 (**r**), 68.2 (**β**), 68.8 (**α**), 69.1 (**Cp**), 85.0 (**ι**), 126.4 (**h**), 126.9 (**n**), 128.5 (**g**), 128.8 (**f**), 129.4 (**m**), 130.6 (**o**), 136.3 (**d**), 137.4 (**c**), 143.9 (**l**), 144.0 (**e**), 176.9 (**q**). **IR** (KBr, $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$) : 3086 (C_{Ar}-H stretch), 2966, 2873 (C_{Alk}-H stretch), 1712 (C=O stretch), 1381 (C-N stretch). **SM (IC, *m/z*)** : 507 [MNH₄]⁺, 490 [MH]⁺.

● **Anal. Calc.** pour C₃₀H₂₇FeNO₂•½H₂O (%) : C, 72.30; H, 5.66; N, 2.81. Trouvé : C, 72.40; H, 5.56; N, 2.82. **HPLC** (*R_T*, min) : 3.57 (Kromasil C18, MeOH), 7.13 (Kromasil C18, MeOH/H₂O, 90/10). **pf** : 89-90°C.

FcTAM-ScAc • Acide 4-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)anilino]-4-oxobutyrique

Un excès d'hydroxyde de sodium (NaOH) est ajouté à une solution de **FcTAM-ScIm** (0.51 mmol, 0.25 g) dans le MeOH à température ambiante. Après 15 min d'agitation, de l'eau est ajouté et le mélange est acidifié à l'HCl. Le produit est extrait à l'AcOEt. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. Le brut de la réaction est purifié par chromatographie sur colonne. Éluant : hexane/AcOEt, 1/1. 96% (0.25 g) de produit est obtenu. Solide orange-rouge. Z/E = 70/30. Ce produit est aussi formé avec faible rendement en suivant le protocole de la synthèse de **FcTAM-ScIm**. L'hydrolyse du bisamide, le sous-produit de la réaction, est une alternative pour produire **FcTAM-ScAc**. L'hydrolyse peut se faire directement dans le milieu de réaction ou sur le bisamide isolé. Ainsi, un excès d'HCl est additionné à une solution sous agitation du bisamide dans un mélange acétone/eau. Après 1 h de reflux, l'acide carboxylique **FcTAM-ScAc** et l'amine **1** sont obtenus.



● **RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère Z, δ 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 3H : **a**), 2.41-2.60 (m, 6H : **b**, **w** et **r**), 3.83 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.11 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.13 (s, 5H : **Cp**), 6.96 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, J = 7.5 Hz, 2H : **f**), 7.24 (t, J = 7.5 Hz, 1H : **h**), 7.34 (t, J = 7.5 Hz, 2H : **g**), 7.48 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **n**), 9.94 (s, 1H : **p**), 12.17 (s, 1H : **z**). Isomère E, δ 1.00 (t, J = 7.4 Hz, 3H : **a**), 2.41-2.60 (m, 6H : **b**, **w** et **r**), 3.78 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.08 (t, J = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.13 (s, 5H : **Cp**), 7.04 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, J = 7.5 Hz, 2H : **f**), 7.24 (t, J = 7.5 Hz, 1H : **h**), 7.34 (t, J = 7.5 Hz, 2H : **g**), 7.55 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **n**), 9.97 (s, 1H : **p**), 12.17 (s, 1H : **z**).

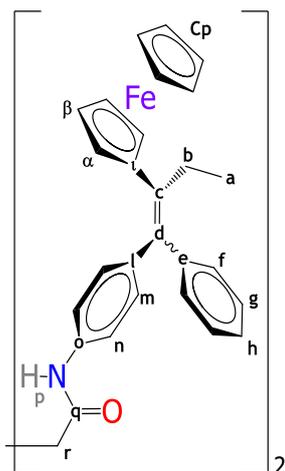
● **RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 15.4 (**a**), 27.1 (**b**), 28.8 (**w**), 31.0 (**r**), 68.1 (**β**), 68.8 (**α**), 69.1 (**Cp**), 85.5 (**l**), 118.9 (**n**), 126.2 (**h**), 128.4 (**g**), 128.7 (**f**), 129.5 (**m**), 136.6 (**c**), 137.0 (**d**), 137.5 (**o**), 139.1 (**l**), 144.3 (**e**), 170.0 (**q**), 173.8 (**x**).

● **IR (KBr, ν_{max}/cm⁻¹)** : 3321 (N-H et O-H stretch), 3097 (C_{Ar}-H stretch), 2966 (C_{Alk}-H stretch), 1712 (OC=O stretch), 1662 (NC=O stretch), 1601 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1531 (N-H bend), 1404 (C-N stretch), 1250 (C-O stretch). **SM** (IC, m/z) : 525 [MNH₄]⁺, 508 [MH]⁺, 408 [Fc-alineH]⁺.

● **Anal. Calc.** pour C₃₀H₂₉FeNO₃ (%): C, 71.01; H, 5.76; N, 2.76. Trouvé : C, 69.91 H, 5.86; N, 2.75. **HPLC** (R_T, min): 3.46 (Kromasil C18, MeOH), 5.98 (Kromasil C18, MeOH/H₂O, 90:10). **pf** : 210-213°C.

(FcTAM)₂Sc • N¹,N⁴-bis[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]succinamide

Solide orange-marron. Z,Z/E,E = 78/22



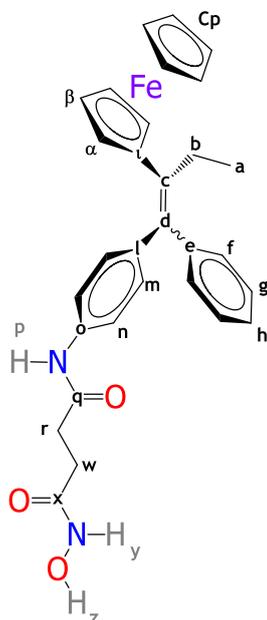
● **RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : Isomère Z,Z, δ 1.02 (t, J = 7.4 Hz, 6H : **a**), 2.60 (q, J = 7.4 Hz, 4H : **b**), 2.72 (s, 4H : **r**), 3.92 (t, J = 1.9 Hz, 4H : **α**), 4.08 (t, J = 1.9 Hz, 4H : **β**), 4.13 (s, 5H : **Cp**), 6.99 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **m**), 7.10-7.29 (m, 3H : **f** et **h**), 7.34 (t, J = 7.5 Hz, 2H : **g**), 7.55 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **n**), 9.24 (s, 1H : **p**). Isomère E,E, δ 1.04 (t, J = 7.4 Hz, 6H : **a**), 2.60 (q, J = 7.4 Hz, 4H : **b**), 2.73 (s, 4H : **r**), 3.87 (t, J = 1.9 Hz, 4H : **α**), 4.06 (t, J = 1.9 Hz, 4H : **β**), 4.13 (s, 5H : **Cp**), 7.08 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **m**), 7.10-7.29 (m, 3H : **f** et **h**), 7.34 (t, J = 7.5 Hz, 2H : **g**), 7.65 (d, J = 8.5 Hz, 2H : **n**), 9.28 (s, 1H : **p**).

● **RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : δ 15.8 (**a**), 28.4 (**b**), 32.4 (**r**), 68.9 (**β**), 69.9 (**Cp**), 70.0 (**α**), 87.2 (**t**), 119.7 (**n**), 127.0 (**h**), 129.1 (**g**), 130.0 (**f**), 130.8 (**m**), 138.0 (**c**), 138.4 (**d**), 138.7 (**o**), 140.6 (**l**), 145.6 (**e**), 171.1 (**q**).

● **SM** (IC, m/z): 897 [MH]⁺, 408 [Fc-alineH]⁺. **pf** : 98-99°C.

FcTAM-ScHx • N^1 -[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]- N^4 -hydroxysuccinamide

Le protocole de synthèse des produits **FcTAM-ScHx** et **FcTAM-ScAm** est décrit dans la partie expérimentale du Chapitre II. Réactifs et conditions: $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (10.0 mmol, 0.695 g), MeOH (10 mL), KOH (20.0 mmol, 1.120 g), MeOH (15 mL), **FcTAM-ScAc** (1.18 mmol, 0.600 g), THF (15 mL), ClCO_2Et (5.7 mmol, 0.55 mL), Et_3N (6.84 mmol, 0.95 mL). Temps de réaction : 2 h. Éluant pour la colonne : AcOEt. 30% (0.185 g) de produit est obtenu. Solide rouge orange. $Z/E = 73/27$. Ce composé peut être obtenu à partir de l'attaque nucléophile de l'hydroxylamine sur le succinimide de la manière suivante : une solution de **FcTAM-ScIm** (1.02 mmol, 0.50 g) est mise à réagir avec une solution basique de NH_2OH (en excès) pendant 20 min. Après ce temps, le traitement de la réaction est fait en suivant le protocole déjà décrit. 19% (0.100 g) de produit est obtenu par cette méthode.



● **RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *Z*, δ 0.99 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 2.27 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H : **w**), 2.43-2.60 (m, 4H : **b** et **r**), 3.82 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.11 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.12 (s, 5H : **Cp**), 6.96 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H : **f**), 7.24 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H : **h**), 7.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **g**), 7.48 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 8.72 (s, 1H : **y**), 9.95 (s, 1H : **p**), 10.43 (s, 1H : **z**). Isomère *E*, δ 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 2.27 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H : **w**), 2.43-2.60 (m, 4H : **b** et **r**), 3.77 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.08 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.12 (s, 5H : **Cp**), 7.04 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H : **f**), 7.24 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H : **h**), 7.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **g**), 7.55 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 8.72 (s, 1H : **y**), 9.98 (s, 1H : **p**), 10.43 (s, 1H : **z**).

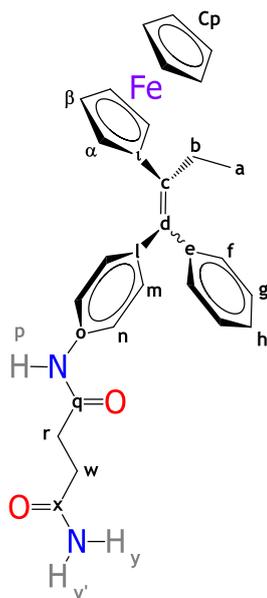
● **RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 15.4 (**a**), 27.1 (**b**), 27.4 (**w**), 31.5 (**r**), 68.1 (**β**), 68.8 (**α**), 69.1 (**Cp**), 85.5 (**t**), 118.9 (**n**), 126.2 (**h**), 128.4 (**g**), 128.7 (**f**), 129.5 (**m**), 136.6 (**c**), 137.0 (**d**), 137.6 (**o**), 139.1 (**l**), 144.3 (**e**), 168.3 (**x**), 170.1 (**q**).

● **IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3255 (N-H et O-H stretch), 3097 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2966 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1658 (NC=O stretch), 1600 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1523 (N-H bend), 1404 (C-N stretch). **MS** (IES, m/z) : 521 [M-H].

● **Anal. Calc.** pour $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{FeN}_2\text{O}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ (%): C, 66.67; H, 5.97; N, 5.18. Trouvé : C, 66.17; H, 5.63; N, 5.22. **HPLC** (R_T , min) : 3.55 (Kromasil C18, MeOH), 7.07 (Kromasil C18, MeOH/ H_2O , 90:10). **pf** : 200-202°C.

FcTAM-ScAm • N^1 -[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]succinimide

Réactifs et conditions : **FcTAM-ScAc** (0.59 mmol, 0.300 g), THF (10 mL), ClCO_2Et (3.0 mmol, 0.29 mL), Et_3N (3.4 mmol, 0.47 mL), NaNH_2 (excès). Temps de réaction : 30 min. Éluant pour la colonne : AcOEt. 36% (0.102 g) de produit est obtenu. Solide rouge. $Z/E = 65/35$.



● **RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *Z*, δ 0.99 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 2.33-2.42 (m, $J = 7.0$ Hz, 2H : **w**), 2.48 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 2.46-2.60 (m, 2H : **r**), 3.82 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.11 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.13 (s, 5H : **Cp**), 6.77 (s, 1H : **y'**), 6.96 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H : **f**), 7.24 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H : **h**), 7.31-7.36 (s, 1H : **y**), 7.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **g**), 7.48 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 9.91 (s, 1H : **p**). Isomère *E*, δ 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 2.33-2.42 (m, $J = 7.0$ Hz, 2H : **w**), 2.48 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 2.46-2.60 (m, 2H : **r**), 3.77 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.08 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.13 (s, 5H : **Cp**), 6.77 (s, 1H : **y'**), 7.04 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.21 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H : **f**), 7.24 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H : **h**), 7.31-7.36 (s, 1H : **y**), 7.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **g**), 7.55 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 9.94 (s, 1H : **p**).

● **RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 15.4 (**a**), 27.1 (**b**), 29.9 (**w**), 31.5 (**r**), 68.1 (**β**), 68.8 (**α**), 69.1 (**Cp**), 85.5 (**l**), 118.9 (**n**), 126.2 (**h**), 128.4 (**g**), 128.8 (**f**), 129.5 (**m**), 136.6 (**c**), 137.0 (**d**), 137.6 (**o**), 139.0 (**l**), 144.4 (**e**), 170.5 (**q**), 173.4 (**x**).

● **IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3433, 3282 (N-H stretch), 3093 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2966, 2927, 2873 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1654 (NC=O stretch), 1604 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1516 (N-H bend), 1404 (C-N stretch). **SM** (IC, m/z) : 524 $[\text{MNH}_4]^+$, 507 $[\text{MH}]^+$, 408 $[\text{Fc-alineH}]^+$.

● **Anal. Calc.** pour $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{FeN}_2\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (%) : C, 64.29; H, 6.47; N, 5.00. Trouvé : C, 64.79; H, 6.07; N, 4.86. **HPLC** (R_T , min) : 3.59 (Kromasil C18, MeOH), 7.32 (Kromasil C18, MeOH/ H_2O , 90:10). **pf** : 235-236°C.

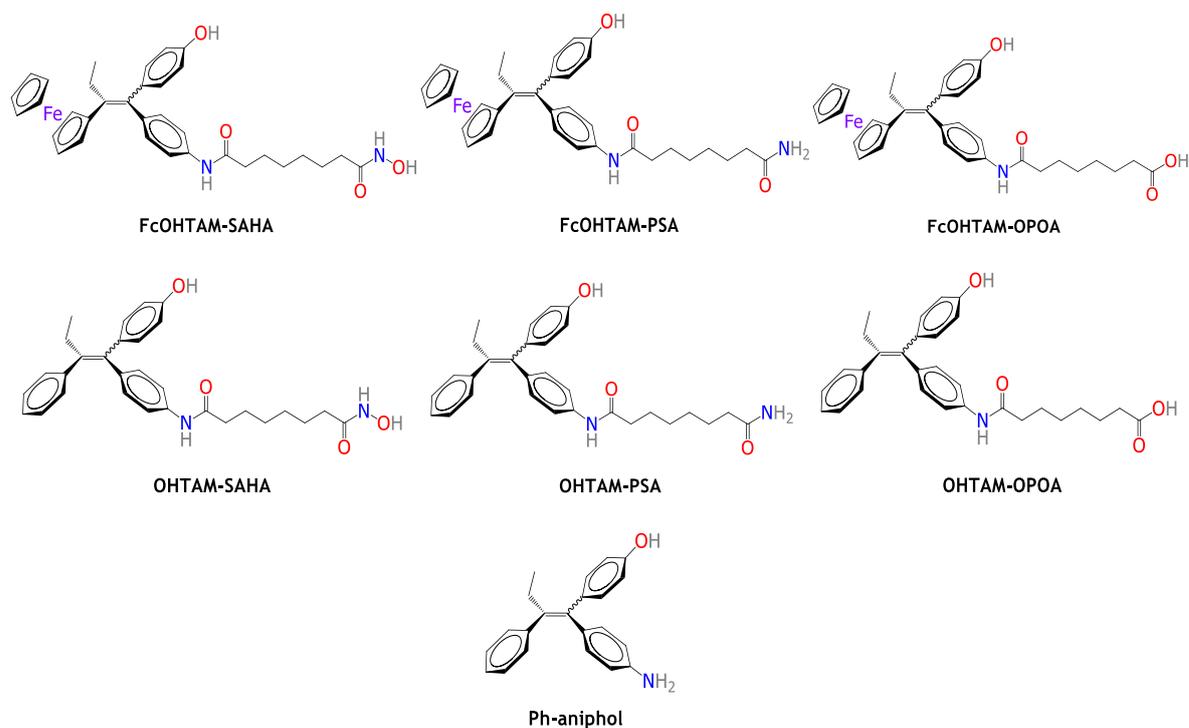
Chapitre IV

Rôle de la fonction phénolique

Résumé

La combinaison du ferrocifène (**FcTAM**) et du *N*¹-hydroxy-*N*⁸-phénylsubéramide (**SAHA**) pour produire l'hybride **FcTAM-SAHA** a permis d'améliorer l'activité antiproliférative *in vitro* des précurseurs sur des lignées cellulaires de cancer du sein. Sachant que l'hydroxyferrocifène (**FcOHTAM**) montre une activité supérieure à celle de **FcTAM**, nous avons voulu vérifier si cette caractéristique était aussi valable pour les hybrides. Dans ce chapitre nous allons présenter la synthèse, le phénomène d'isomérisation géométrique et les activités biologiques de nouveaux hybrides résultants de la combinaison structurale du **FcOHTAM** et du **SAHA**. Dans un but de comparaison, la série organique correspondante a été préparée. Les résultats concernant leur activité antiproliférative vis-à-vis de lignées cellulaires de cancer du sein confirment l'efficacité des dérivés ferrocéniques. Par exemple, l'hybride **FcOHTAM-SAHA** –avec une valeur d'IC₅₀ de 1.53 µM– est plus actif que son analogue organique **OHTAM-SAHA** (IC₅₀ = 10.85 µM) sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant. Toutefois, l'effet du substituant hydroxy du cycle aromatique ne révèle pas un effet positif par rapport à l'activité des hybrides non-phénoliques. Des études comparatives par voltammétrie cyclique entre les deux séries ferrocéniques seront également présentées.

Nouvelles molécules étudiées



1. Introduction

En 1996, la synthèse du premier composé organométallique montrant des effets biologiques prometteurs contre les deux types principaux de cancer du sein a été rapportée.^[1] Inspirée par la molécule de l'hydroxytamoxifène **OHTAM**, notre équipe a remplacé le groupement phényle non-substitué de cette molécule par le motif ferrocényle. Le produit résultant avec la chaîne latérale adaptée à l'effet stérique de l'organométallique a été appelé « hydroxyferrocifène » **FcOHTAM** par analogie (Figure 1).

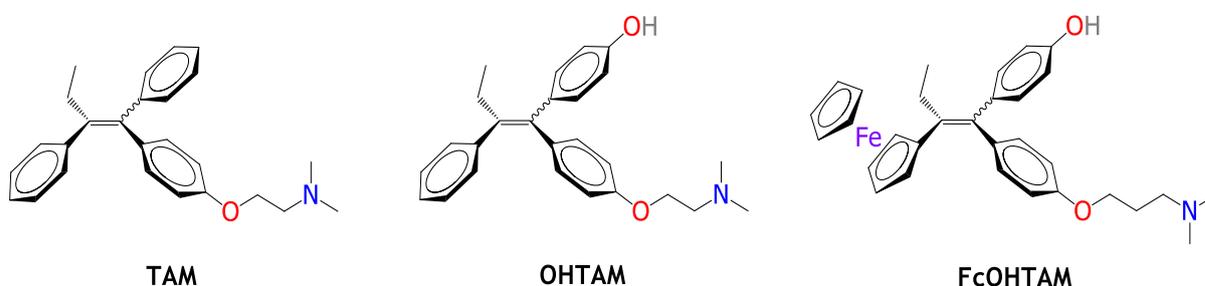


Figure 1. Structures chimiques du tamoxifène (**TAM**), hydroxytamoxifène (**OHTAM**) et hydroxyferrocifène (**FcOHTAM**).

Dans la molécule d'**OHTAM**, le groupe hydroxyle (OH) est essentiel pour la reconnaissance du récepteur des œstrogènes (ER α). La forte interaction « **OHTAM-ER α** » conduit à un effet antagoniste responsable des effets antiprolifératifs sur les cellules de cancer du sein ER(+). Le comportement similaire de **FcOHTAM** a permis d'attribuer ses effets antiprolifératifs à son effet antioestrogénique sur les cellules MCF-7.^[2] Ainsi, le caractère antagoniste et sélectif du **FcOHTAM** a permis de le classer dans la famille des modulateurs sélectifs des récepteurs des œstrogènes (SERMs, de l'anglais : Selective Estrogen Receptor Modulators). Les SERMs sont efficaces contre le cancer du sein hormono-dépendant.

[1] S Top, J Tang, A Vessières, D Carrez, C Provot, G Jaouen. Ferrocenyl hydroxytamoxifen: a prototype for a new range of oestradiol receptor site-directed cytotoxics. *Chem Commun* **1996**, 995–956.

[2] S Top, A Vessières, G Leclercq, J Quivy, J Tang, J Vaissermann, M Huché, G Jaouen. Synthesis, biochemical properties and molecular modeling studies of organometallic specific estrogen receptor modulators (SERMs), the ferrocifens and hydroxyferrocifens: evidence for an antiproliferative effect of hydroxyferrocifens on both hormone-dependent and hormone independent breast cancer cell lines. *Chem Eur J* **2003**, 9, 5223–5236.

Par ailleurs, nous avons constaté, qu'à la différence d'**OHTAM**, le dérivé ferrocénique **FcOHTAM** avait un fort effet antiprolifératif sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein du type hormono-indépendant. Le manque de récepteurs hormonaux ER α dans MDA-MB-231 rend **OHTAM** inactif. Ce comportement singulier de **FcOHTAM** sur les deux types de cellules cancéreuses laisse penser que ce composé pouvait présenter des caractéristiques mécanistiques singulières qui s'expriment différemment dans deux environnements biologiques différents.

Il a donc été proposé que le système ferrocène/ferricénium de **FcOHTAM** agissait comme une « antenne redox » favorisant (i) soit la production des espèces réactives d'oxygène (ROS), (ii) soit la formation de dérivés insaturés, (iii) soit les deux évènements simultanément. Les ROS pourraient avoir un effet direct sur le matériel génétique conduisant à la mort cellulaire alors que les espèces insaturées pourraient réagir sur les antioxydants protecteurs des cellules comme le glutathion. Nous supposons que cette inactivation est due au caractère électrophile des dérivés insaturés nommés « méthine-quinones ».

La formation des méthine-quinones a été d'abord étudiée sur le composé 4,4'-(2-ferrocénylbut-1-èn-1,1-diyl)diphénol **Fc-diphol** qui possède une activité similaire à celle du **FcOHTAM**. L'analyse par voltammétrie cyclique a permis de les élucider^[3] et trois années plus tard, elles ont été obtenues par une méthode chimique et par une méthode biochimique *via* le métabolisme microsomal du foie de rat.^[4] Ce résultat suggère que la présence du groupe 4-hydroxyphényle conjugué au ferrocényle est nécessaire pour produire une séquence oxydative. Cet évènement est catalysé de manière intramoléculaire par le fragment organométallique en présence d'une base (Schéma 1).

[3] E Hillard, A Vessières, L Thouin, G Jaouen, C Amatore. Ferrocene-mediated proton coupled electron transfer in a series of ferrocifen-type breast-cancer drug candidates. *Angew Chem Int Ed* **2006**, *45*, 285–290.

[4] D Hamels, PM Dansette, EA Hillard, S Top, A Vessières, P Herson, G Jaouen, D Mansuy. Ferrocenyl quinone methides as strong antiproliferative agents: formation by metabolic and chemical oxidation of ferrocenyl phenols. *Angew Chem Int Ed* **2009**, *48*, 9124–9126.

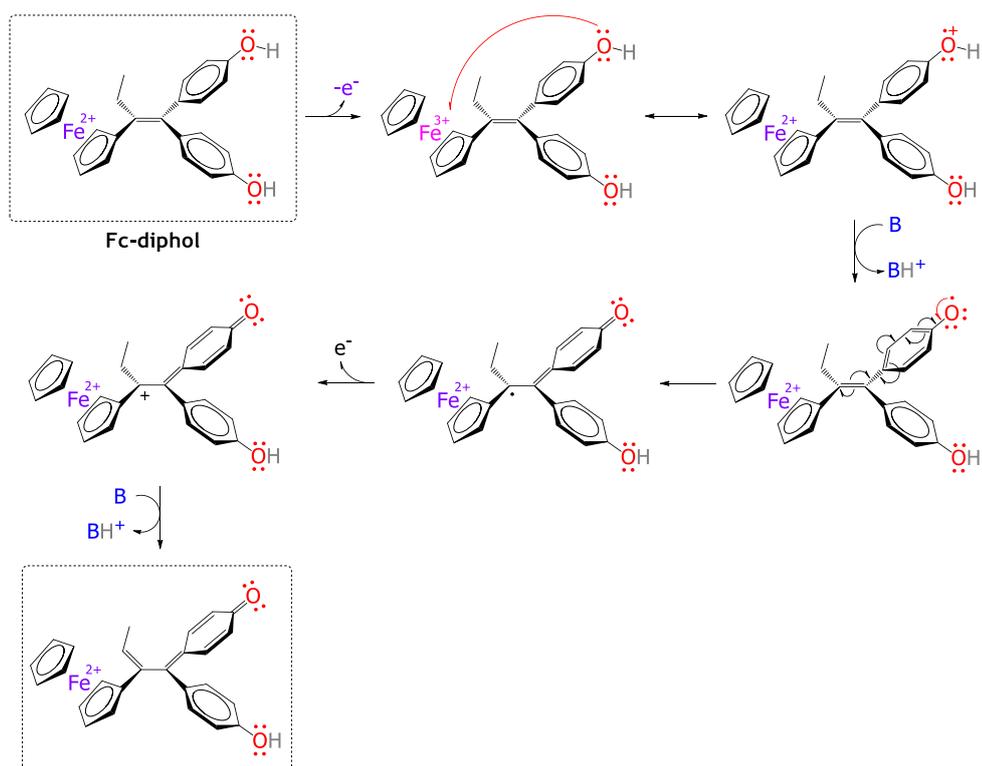


Schéma 1. Mécanisme d'oxydation électrochimique du Fc-diphol en présence d'une base (B).^[3]

Par ailleurs, nous avons déjà constaté que les complexes organométalliques sont plus efficaces –dans des conditions similaires– que leurs analogues organiques. Nous avons vu que l'activité des composés est modulée par la nature des fonctionnalités. Ainsi, dans le cas de nos hybrides, les amides primaires et les acides hydroxamiques sont plus actifs que les acides carboxyliques. De même, nous avons observé que le raccourcissement de leur chaîne alkyle ne fait que modifier légèrement leur activité. Nous pouvons voir que les composés actifs présentés partagent un motif commun : le squelette 4-[(2-ferrocényl-1-phényl)but-1-én-1-yl]phényle (Figure 2).

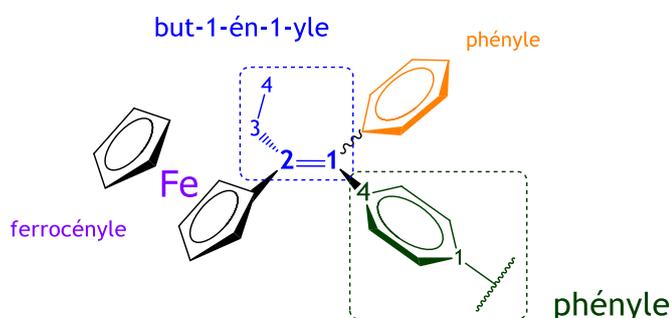


Figure 2. Structure chimique du squelette 4-[(2-ferrocényl-1-phényl)but-1-én-1-yl]phényle

Ce motif est également présent dans la molécule de ferrocifène **FcTAM** et pourrait être majoritairement responsable de l'activité des composés. Dans ce cadre, nous avons poursuivi des modifications au niveau de ce motif moléculaire afin d'explorer son impact sur l'activité anticancéreuse. Pour ce faire, nous nous sommes inspirés de l'hydroxyferrocifène **FcOHTAM** qui –possédant le substituant hydroxyle (OH)– montre des effets biologiques meilleurs que le ferrocifène **FcTAM** (Figure 3).

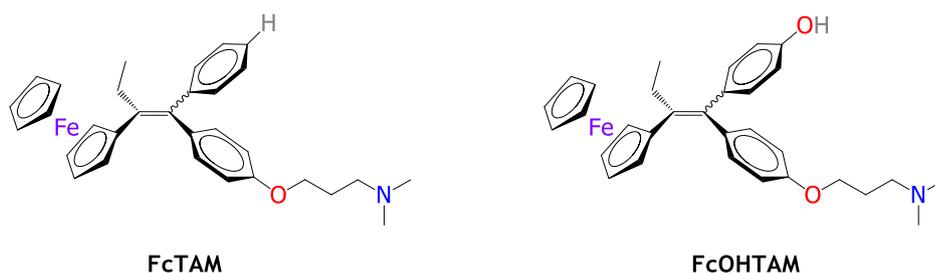


Figure 3. Structure chimique du ferrocifène (**FcTAM**) et de l'hydroxyferrocifène (**FcOHTAM**).

Ainsi, comme la combinaison entre **FcTAM** et **SAHA** a produit l'hybride non-phénolique **FcTAM-SAHA**, la combinaison entre **FcOHTAM** et **SAHA** conduit à l'analogue phénolique **FcOHTAM-SAHA** (Figure 4). Nous allons donc exposer dans ce chapitre, la synthèse, les phénomènes d'isomérisation, l'évaluation biologique et l'analyse par voltammétrie cyclique des composés ferrocéniques de la famille du **FcOHTAM-SAHA**. De même, des analogues organiques seront présentés dans un souci de comparaison.

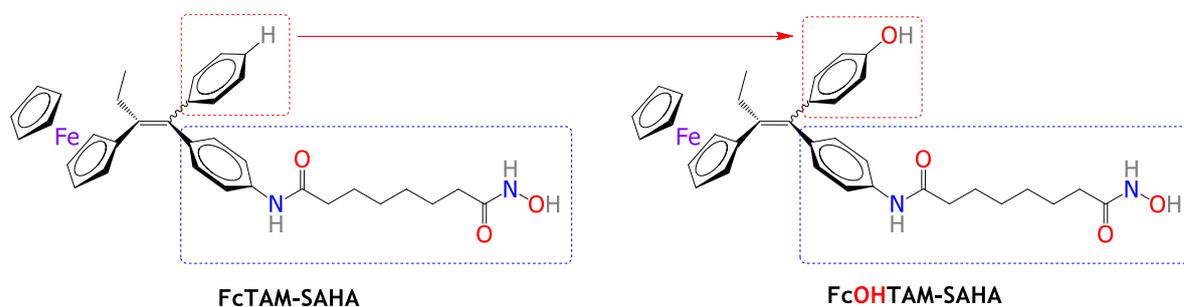


Figure 4. Structure chimique des hybrides **FcTAM-SAHA** et **FcOHTAM-SAHA**.

2. Résultats et discussion

2.1 Synthèse

Les produits de départ ont été synthétisés en suivant les protocoles rapportés dans la littérature et la voie de synthèse est représentée dans le Schéma 2. Ainsi, le chlorure de 4-nitrobenzoyle **1** réagit –dans les conditions de la réaction de Friedel-Crafts– avec l'anisole **2** pour former la 4-méthoxy-4'-nitrobenzophénone **3**.^[1] Cette dernière a été deméthylée en présence de l'acide bromhydrique (HBr) et de l'acide acétique (AcOH) pour produire la 4-hydroxy-4'-nitrobenzophénone **4**.^[2] Puis, une réaction d'hétérocouplage de McMurry a été réalisée entre le propionylferrocène **Fc-one** et **4** pour conduire au 4-[1-(4-aminophényl)-2-ferrocénylbut-1-én-1-yl]phénol **Fc-aniphol**.^[3] De la même façon, le nouveau composé organique 4-[1-(4-amino)phényl-2-phénylbut-1-én-1-yl]phénol **Ph-aniphol** a été synthétisé avec un rendement de 41% à partir de la propiophénone **Ph-one**.

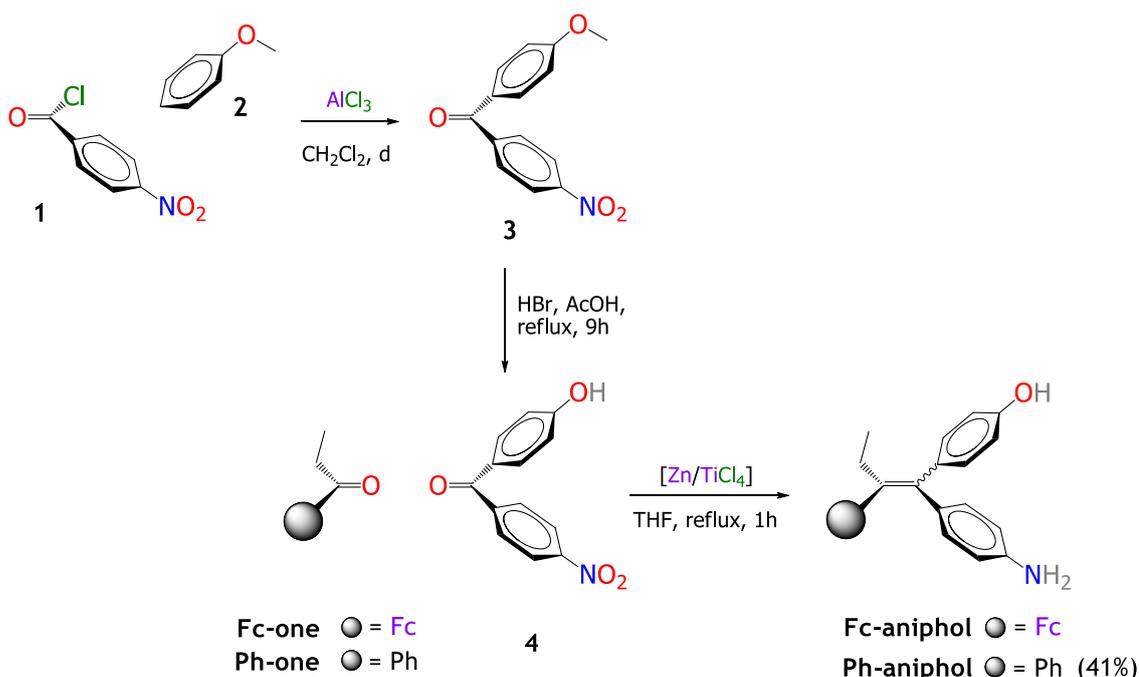


Schéma 2. Synthèse des phénols **Fc-aniphol** et **Ph-aniphol**.

- [1] F Yang, Y Li, T Ma, Q Bu, S. Zhang, Synthesis and characterization of fluorinated polyimides derived from novel unsymmetrical diamides. *J Fluorine Chem* **2010**, *131*, 767–775.
- [2] X Bao, S Lu, JS Liow, SS Zoghbi, KJ Jenko, DT Clark, RL Gladding, RB Innis, VW Pike. Radiosynthesis and evaluation of an ¹⁸F-labeled positron emission tomography (PET) radioligand for brain histamine subtype-3 receptors based on a nonimidazole 2-aminoethylbenzofuran chemotype. *J Med Chem* **2012**, *55*, 2406–2415.
- [3] M Görmen, P Pigeon, S Top, EA Hillard, M Huche, CG Hartinger, F de Montigny, MA Plamont, A Vessières, G Jaouen. Synthesis, cytotoxicity and compare analysis of ferrocene and [3]ferrocenophane tetrasubstituted olefin derivatives against human cancer cells. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 2039–2050.

Fc-aniphol et **Ph-aniphol** ont été utilisés pour accéder aux hybrides lors des réactions de *N*-acylation avec le chlorure de subéroyle selon le protocole rapporté dans le Chapitre III (Schéma 3). De cette manière, l'acide 8-{4-[2-ferrocényl-1-(4-hydroxy)phénylbut-1-én-1-yl]phényl}amino-8-oxooctanoïque **FcOHTAM-OPOA** est obtenu avec un rendement de 62% à partir du **Fc-aniphol** pendant que son analogue organique, l'acide 8-{4-[1-(4-hydroxy)phényl-2-phénylbut-1-én-1-yl]anilino}-8-oxooctanoïque est synthétisé à partir de **Ph-aniphol** avec un rendement de 58%. Au cours de ces réactions, nous avons observé une fois encore la formation simultanée indésirable des bisamides. En revanche, cette fois-ci nous avons voulu profiter de cette situation et évaluer l'activité biologique du bisamide ferrocénique **(FcOHTAM)₂SA**.

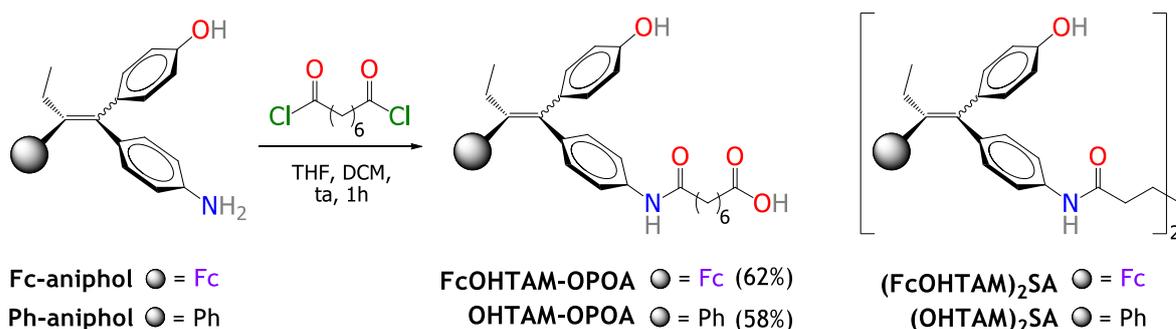


Schéma 3. Synthèse des phénols **Fc-aniphol** et **Ph-aniphol**.

Pour former l'acide hydroxamique **FcOHTAM-SAHA** et l'amide **FcOHTAM-PSA**, nous avons suivi le même protocole de synthèse de la série des hybrides non-phénoliques du Chapitre II et III. Ainsi, les acides carboxyliques **FcOHTAM-OPOA** et **OHTAM-OPOA** ont réagi avec le chloroformate d'éthyle (ClCO₂Et) en présence de la triéthylamine (Et₃N) afin de les activer pour les futures transformations en acide hydroxamique et en amide primaire (Schéma 4). Néanmoins, le phénol (-PhOH) s'est montré également réactif en présence du chloroformate. Ceci a été vérifié lors de la caractérisation des produits qui montrent deux fonctions carbonate.

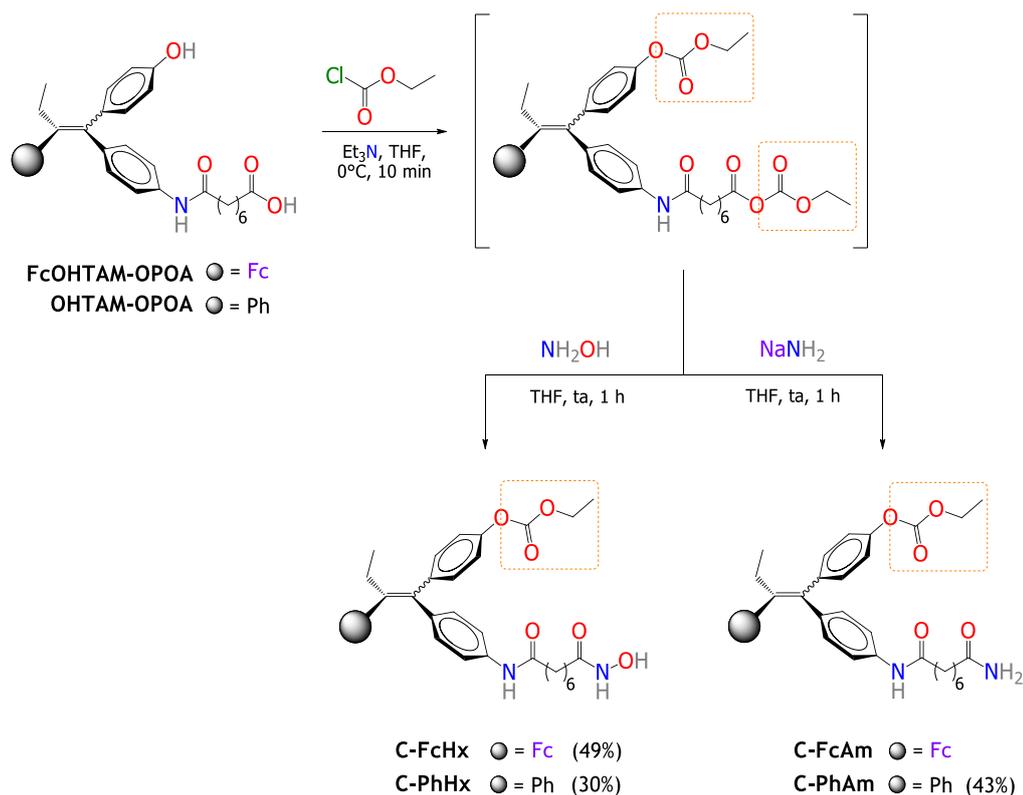


Schéma 4. Voie de synthèse des dérivés d'acides carboxyliques FcOHTAM-OPOA et OHTAM-OPOA.

L'attaque nucléophile de l'hydroxylamine (NH_2OH) et de l'amidure de sodium (NaNH_2) s'est produite seulement au niveau de l'acylcarbonate. Nous avons réalisé que le phénylcarbonate est moins électrophile, par conséquent, le phénol reste protégé. Toutefois, la déprotection du phénol peut se faire facilement par hydrolyse basique. Cette déprotection nous permet d'accéder aux produits souhaités avec des rendements quantitatifs (Schéma 5). Tous les produits ont été caractérisés par les techniques conventionnelles.

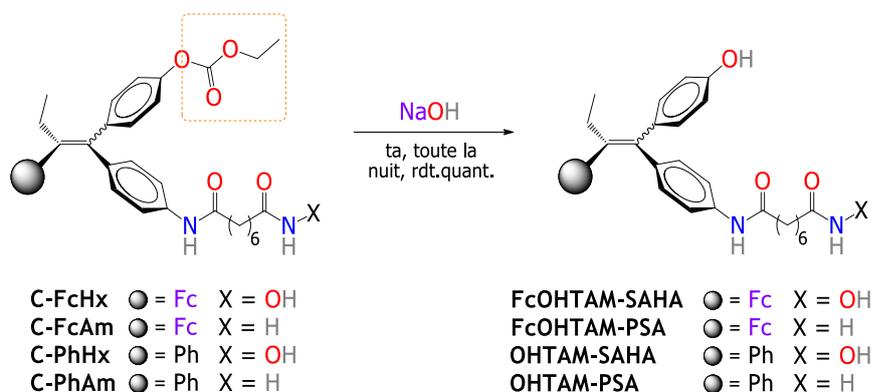


Schéma 5. Hydrolyse des carbonates pour la formation des dérivés phénoliques.

2.2 Isomérisation

Il est connu que les composés phénoliques, comme le diéthylstilbestrol (**DES**)^[4] et l'hydroxytamoxifène (**OHTAM**)^[5] s'isomérisent dans les conditions physiologiques (Figure 5). En termes d'antagonisme œstrogénique, l'isomère Z de l'hydroxytamoxifène (**Z-OHTAM**) est un puissant agent antiœstrogénique. Toutefois, une partie du **Z-OHTAM** se transforme en son isomère géométrique **E-OHTAM** qui est moins reconnu par le récepteur ER α . Ce phénomène –résultant de la biotransformation de **TAM**– est associé à la résistance clinique à la thérapie avec **TAM**.^[6,7]

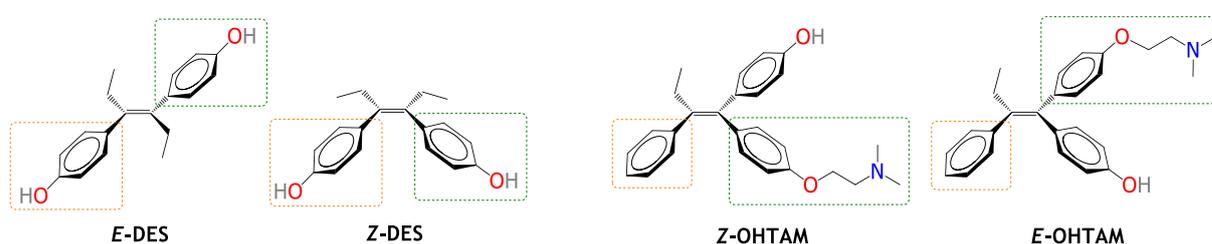
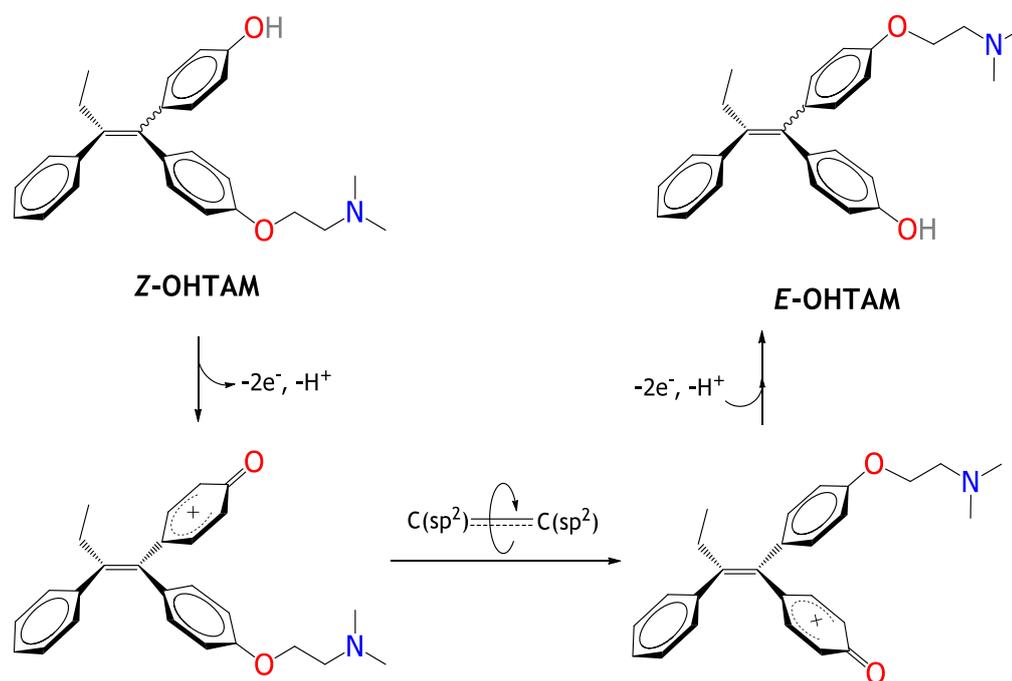


Figure 5. Structure chimique des isomères géométriques *E* et *Z* du diéthylstilbestrol (**DES**) et de l'hydroxytamoxifène (**OHTAM**).

Le processus d'isomérisation d'**OHTAM** est catalysé par les différentes isoformes du cytochrome P-450 (CYP). Pour expliquer ce phénomène, des études théoriques ont proposé la participation d'évènements redox conduisant à la formation d'intermédiaires cationiques.^[8] Il a été établi qu'une espèce cationique de l'**E-OHTAM** était plus stable (>3 kcal/mol) que celle de la forme Z. Dans la structure chimique de cet intermédiaire, l'unité vinyle est plus tordue que dans les espèces neutres. Par conséquent, moins d'énergie est requise pour la faire tourner. Ainsi, le passage du **Z-OHTAM** à **E-OHTAM** est plus facile que l'inverse (Schéma 6).

- [4] VW Winkler, MA Nyman, RS Egan. Diethylstilbestrol *cis-trans* isomerization and estrogen activity of diethylstilbestrol isomers. *Steroids* **1971**, *17*, 197–207.
- [5] BS Katzenellenbogen, MJ Norman, RL Eckert, SW Peltz, WF Mangel. Bioactivities, estrogen-receptor interactions, and plasminogen activator-inducing activities of tamoxifen and hydroxytamoxifen isomers in MCF-7 human-breast cancer-cells. *Cancer Res* **1984**, *44*, 112–119
- [6] CK Osborne, E Coronado, DC Allred, V Wiebe, M Degregorio. Acquired tamoxifen resistance-correlation with reduced breast-tumor levels of tamoxifen and isomerization of *trans*-4-hydroxytamoxifen. *J Natl Cancer Inst* **1991**, *83*, 1477–1482.
- [7] CK Osborne, VJ Wiebe, WL Mcguire, D. R. Ciocca, M. W. Degregorio. Tamoxifen and the isomers of 4-hydroxytamoxifen in tamoxifen-resistant tumors from breast-cancer patients. *J Clin Oncol* **1992**, *10*, 304–310.
- [8] L Gao, Y Tu, P Wegman, S Wingren, LA Eriksson. A mechanistic hypothesis for the cytochrome P450-catalyzed *cis-trans* isomerization of 4-hydroxytamoxifen: an unusual redox reaction. *J Chem Inf Model* **2011**, *51*, 2293–2301.

Schéma 6. Mécanisme proposé pour l'isomérisation d'OHTAM.^[12]

Notre groupe de travail a aussi rapporté le phénomène d'isomérisation des composés phénoliques. L'analyse par RMN a permis d'étudier la transformation de **FcOHTAM** dans des solvants comme le chloroforme ou l'acétone. Il a été proposé que l'isomérisation pouvait être une conséquence d'interactions intermoléculaires entre le motif phénol et le motif vinyle de **FcOHTAM** catalysées par des espèces protiques. Il faut remarquer que cette transformation n'est pas observable dans les cas de **TAM** et de **FcTAM**. Il semble que seuls les dérivés hydroxylés –comme l'OHTAM et **FcOHTAM**– subissent une telle transformation.

Afin de vérifier si le processus d'isomérisation se présentait également dans le cas de nos hybrides phénoliques, nous avons poursuivi l'étude par spectroscopie de RMN. **FcOHTAM-OPOA** et **FcOHTAM-PSA** ont été obtenus avec l'isomère Z en proportion majoritaire (>70%). Ces proportions proviennent des processus de purification. Pour faire l'analyse, tous les composés ont été solubilisés dans le DMSO-*d*₆ et stockés pendant une période supérieure à 30 jours. Nous avons déterminé le pourcentage (%) pour chaque paire d'isomères et le résultat pour le cas des composés organométalliques est présenté dans le Tableau 1.

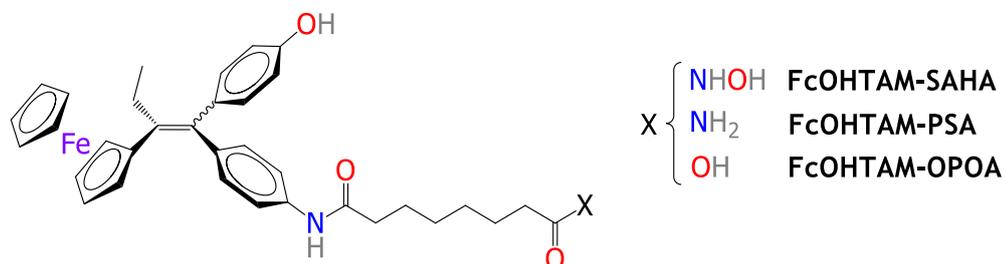
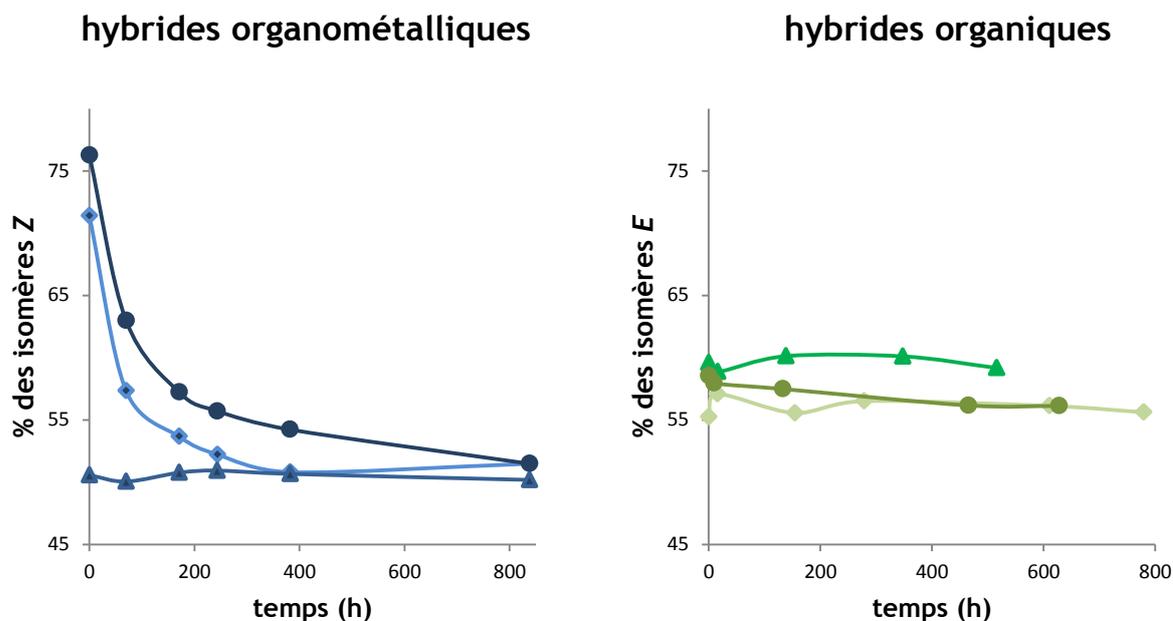


Tableau 1. Proportion d'isomères (%) *E* et *Z* pour les composés organométalliques

Temps (h)	FcoHTAM-PSA		FcoHTAM-OPOA		FcoHTAM-SAHA	
	Z	E	Z	E	Z	E
t ₀	76	24	71	29	51	49
70	63	37	57	43	50	50
171	57	43	54	46	51	49
244	56	44	52	48	51	49
382	54	46	51	49	51	49
838	51	49	51	49	50	50

Comme nous pouvons le voir, les proportions des isomères **Z-FcoHTAM-PSA** et **Z-FcoHTAM-OPOA** ont diminué à partir des valeurs de 76% et 71%, respectivement, pour atteindre l'équilibre *Z/E*. Nous observons qu'à la différence de la série d'hybrides non-phénoliques présentés dans le Chapitre II, ces composés sont tout à fait capables de s'isomériser même dans un solvant aprotique comme le DMSO. On note que les composés ferrocéniques ont évolué aisément à partir de l'isomère *Z* –où le motif phénol est dans un arrangement *cis* par rapport au groupement ferrocényle– même s'il avait été suggéré –pour le cas d'OHTAM– que ce type de transformation pouvait être moins favorable lorsque le phénol est dans une position *trans* par rapport au groupe aromatique.

En outre, une fois cet équilibre atteint par les complexes ferrocéniques, les espèces restent dans les mêmes proportions. Ceci est également mis en évidence avec **FcOHTAM-SAHA** –qui après purification a été obtenu dans une proportion *E/Z* très proche de l'équilibre– montrant un comportement linéaire pendant tout le temps d'évaluation (Graphique 1).



Graphique 1. Évolution de la proportion d'isomères au cours du temps dans le cas des composés organométalliques et organiques (● = amides primaires **FcOHTAM-PSA** et **OHTAM-PSA**, ▲ = acides hydroxamiques **FcOHTAM-SAHA** et **OHTAM-SAHA** et ◆ = acides carboxyliques **FcOHTAM-OPOA** et **OHTAM-OPOA**).

Contrairement aux composés organométalliques, les dérivés organiques ont été obtenus dans des proportions légèrement supérieures pour l'isomère *E* : 60% pour **E-OHTAM-SAHA**, 59% pour **E-OHTAM-PSA** et 55% pour **E-OHTAM-OPOA**. L'analyse spectroscopique montre que ces proportions n'ont pas changé au cours du temps. Ceci nous laisse penser que l'absence d'évolution dans les produits organiques pourrait provenir d'une des raisons suivants : (i) le fait que les espèces sous examen existaient déjà dans des proportions proches de l'équilibre, (ii) que le passage de la forme *E* à la forme *Z* est moins favorable pour ce type de composés ou (iii) que le groupement phényle n'a pas le même effet que le groupement ferrocényle dans le processus d'isomérisation. Nous proposons que dans les composés ferrocénique, l'antenne organométallique doit jouer un rôle important dans ce processus spontané *via* une diminution de l'énergie d'activation, ce qui n'est pas montré dans le cas des dérivés organiques.

Afin d'étudier ce comportement et de comprendre les caractéristiques moléculaires qui permettent une telle isomérisation, nous avons évalué les propriétés électroniques des groupes aromatiques par RMN. Les détails concernant ce point se trouvent dans la partie expérimentale du chapitre. Nous avons observé que les signaux des protons pour les unités phénol et anilide sont déplacés vers des champs plus faibles quand ceux-ci se trouvent dans un arrangement *trans* par rapport au groupement ferrocényle (Figure 6). Il semble que cet *effet* configurationnel *trans* provoque le déblindage des groupes aromatiques substitués.

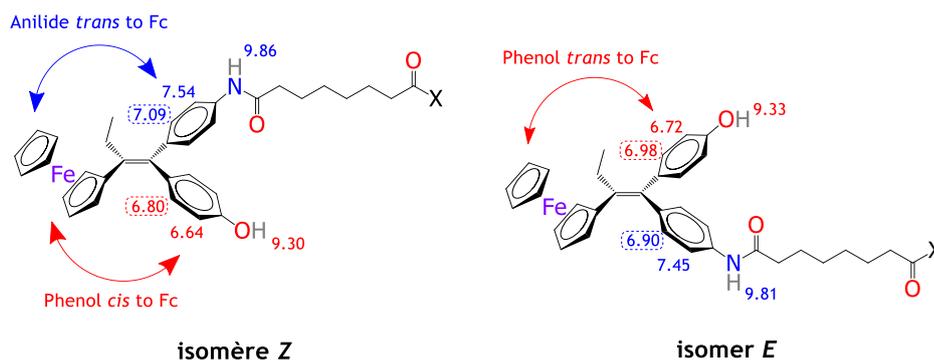


Figure 6. Structures chimiques générales des isomères géométriques des hybrides phénoliques avec des valeurs choisies de déplacement chimique (ppm) de RMN du ^1H (DMSO- d_6).

Les protons en position *meta* des motifs phénol et anilide sont les plus sensibles aux effets d'isomérisation géométrique. Ceci nous laisse penser que les états de transition –lors du processus d'isomérisation– pourraient être des espèces cétoniques et iminoniques (Figure 7). Ce postulat est en accord avec la formation des méthine-quinones observées à partir du **Fc-diphol**.

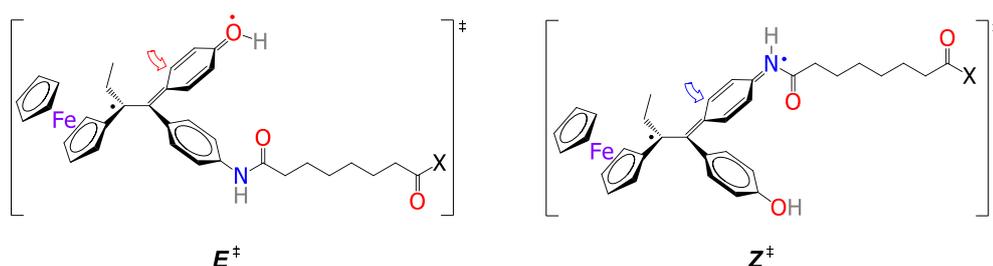


Figure 7. États de transition proposés pour l'isomérisation des composés phénoliques hybrides.

Cette isomérisation semble être indépendante de la nature de la fonctionnalisation de la chaîne latérale des composés puisque l'acide carboxylique **FcOHTAM-OPOA** et l'amide **FcOHTAM-PSA** –portant des fonctionnalités différentes– montrent un comportement similaire. Cela peut aussi suggérer que la transformation peut faire intervenir un mécanisme intramoléculaire et non intermoléculaire.

Afin de donner une explication à l'isomérisation des composés hybrides de ce chapitre, un mécanisme est proposé (Schéma 7). Celui-ci diffère des mécanismes antérieurs car il ne prend pas en considération des espèces cationiques ni des interactions avec le solvant. En revanche, des états de transition radicalaires sont mis en jeu.

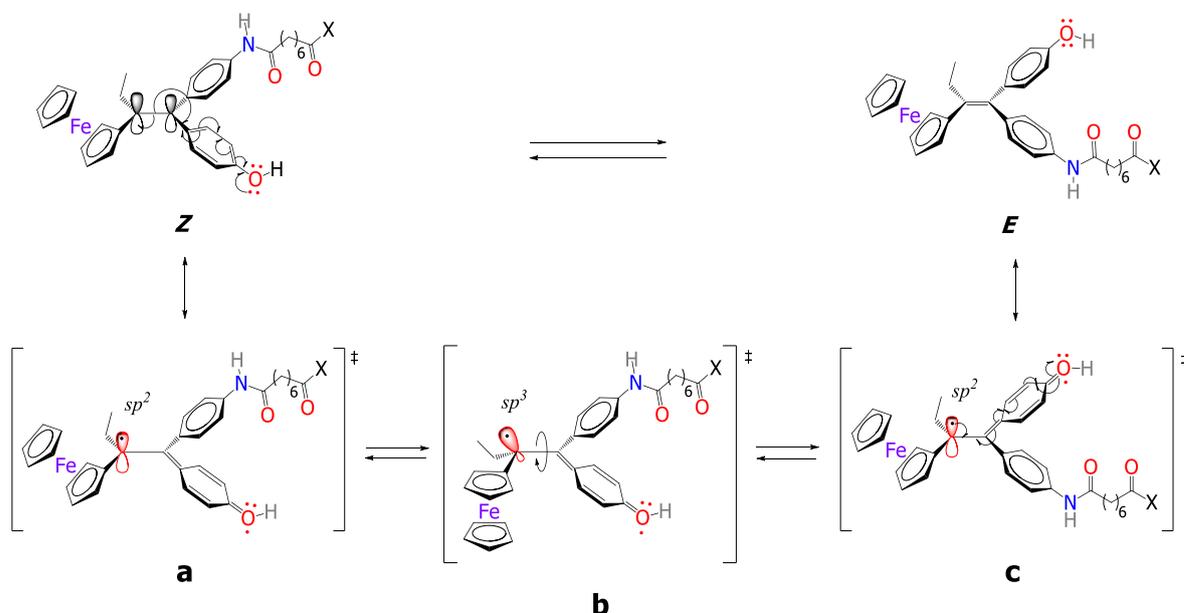


Schéma 7. Mécanisme proposé pour l'isomérisation des hybrides ferrocéniques.

Dans la première étape, on postule la formation de deux radicaux dans un hybride de résonance –résultant de clivages homolytiques– l'un dans l'atome d'oxygène du phénol et l'autre dans le carbone α au ferrocène (**a**). D'une part, ce dernier est connu pour être stabilisé par les effets du groupement ferrocényl^[9] et, d'autre part, nous pouvons envisager le passage de la configuration électronique à l'hybridation sp^3 (**b**), qui conduirait le système vinylique (C=C) à perdre son caractère de double liaison. En conséquence, la barrière rotationnelle devrait impliquer moins d'énergie pour que cette rotation soit possible. Ceci conduirait à l'état de transition (**c**) comportant une fois encore un radical sp^2 qui –après un réarrangement électronique selon la même voie homolytique– formerait l'isomère *E*. La force motrice de l'isomérisation à partir de l'isomère *Z* doit impliquer la participation du fragment organométallique qui favorise une conformation π -*trans* **Fc-C=C-PhOH** conjuguée. Cette isomérisation devra s'arrêter une fois que l'équilibre est atteint grâce à d'autres forces motrices (*i.e.* interactions intermoléculaires entre les paires d'isomères).

[9] X Creary. Radical stabilizing ability of the ferrocenyl and cyclobutadienyl tricarboxyl groups. *Org Lett* **2000**, 2, 2069–2072.

Par ailleurs, pendant la période d'évaluation du processus d'isomérisation, des changements autres dans les spectres des produits hybrides phénoliques n'ont pas été observés. Ceci révèle leur stabilité en solution à température ambiante et pendant des périodes prolongées. En revanche, les précurseurs (**Fc-aniphol** et **Ph-aniphol**) montrent un comportement particulier dans l'acétone qui pourrait être associé à leur réaction avec ce solvant. Un exemple est présenté dans la partie expérimentale.

2.3 Activité antiproliférative

Les hybrides phénoliques des deux séries organique et organométallique ont été évalués dans une étude d'inhibition de croissance des deux lignées cellulaires MCF-7 et MDA-MB-231 de cancer du sein à une concentration de 10 μM . Dans ces conditions tous les produits –sauf le bisamide (**FcOHTAM**)₂**SA** et l'amide organique **OHTAM-PSA**– ont montré des effets antiprolifératifs supérieurs à 50%. Cela nous a permis de sélectionner les produits pour déterminer leur valeur d'IC₅₀ (Tableau 2).

Tableau 2. Valeurs d'IC₅₀ (μM) des composés sur cellules de cancer du sein^a

Composé	MDA-MB-231	MCF-7
FcOHTAM-SAHA	1.28 \pm 0.64	1.53 \pm 0.64
FcOHTAM-PSA	2.11 \pm 0.16	4.40 \pm 0.94
FcOHTAM-OPOA	4.52 \pm 1.07	6.63 \pm 0.54
OHTAM-SAHA	5.17 \pm 2.19	10.85 \pm 0.49
OHTAM-PSA	>10	>10
OHTAM-OPOA	34.45 \pm 2.62	20.50 \pm 1.56

^aLes déterminations ont été faites en duplicate après 72h. Les valeurs ici rapportées comprennent les valeurs moyennes avec un ET.

Comme attendu, tous les composés hybrides organométalliques montrent une activité antiproliférative supérieure à celles des analogues organiques. Les valeurs d'IC₅₀ des composés ferrocéniques sur les cellules MDA-MB-231 sont dans la gamme de 1.3-4.5 μM . Le composé le plus actif de cette famille est l'hybride **FcOHTAM-SAHA**. Celui-ci s'est avéré plus actif que **SAHA** sur les cellules de cancer du sein triple-négatif (Figure 8). Nous pouvons ainsi considérer qu'une amélioration à la molécule du **SAHA** est produite *via* la substitution par le groupement 2-ferrocényl-1-(4-hydroxyphényl)but-1-én-1-yle.

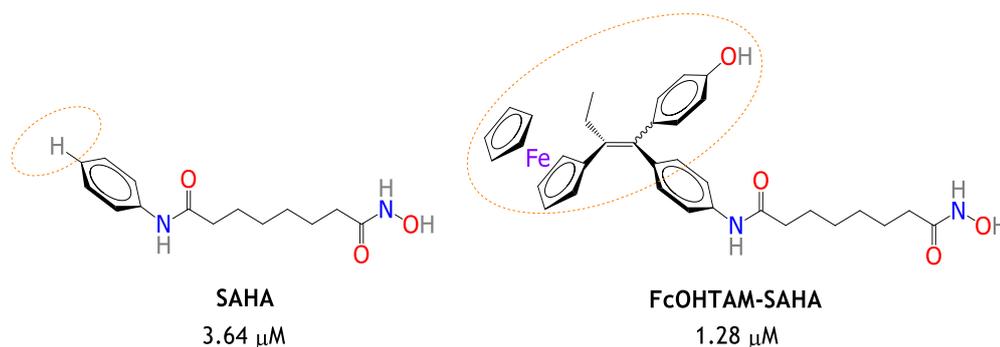


Figure 8. Structures chimiques de SAHA et de l'hybride FcOHTAM-SAHA avec leur valeur correspondante d' IC_{50} sur cellules MDA-MB-231.

L'activité de l'amide primaire **FcOHTAM-PSA** et de l'acide carboxylique **FcOHTAM-OPOA** suivent celle de **FcOHTAM-SAHA**. Dans cette série phénolique, la fonction chimique acide hydroxamique semble avoir une importance majeure pour les effets antiprolifératifs par comparaison aux hybrides non-phénoliques. Ainsi l'activité antiproliférative des nouveaux composés diminue en fonction du groupe fonctionnel dans l'ordre suivant : acide hydroxamique (CONHOH) > amide primaire (CONH_2) > acide carboxylique (COOH). En général, contrairement à **FcOHTAM** –qui est plus actif que **FcTAM**– l'incorporation du motif phénol dans les hybrides ne fait pas augmenter ici leurs effets cytotoxiques sur cellules MDA-MB-231. Quant aux cellules MCF-7, tous les produits montrent les mêmes tendances et dans le cas particulier des acides hydroxamiques, nous pouvons voir que l'hydroxylation augmente légèrement l'activité (Figure 9).

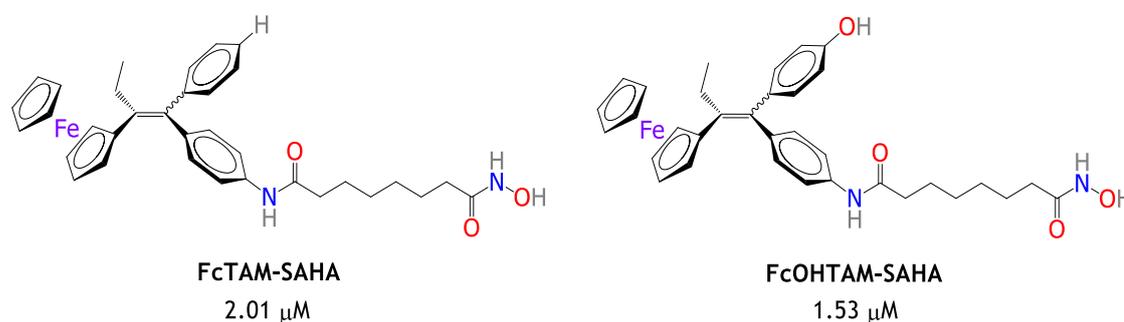


Figure 9. Structures chimiques des hybrides FcTAM-SAHA et FcOHTAM-SAHA avec leur valeur correspondante d' IC_{50} sur cellules MCF-7.

En outre, le bisamide (**FcOHTAM**)₂SA (Figure 10) a été également évalué avec les deux types de cellules cancéreuses. Le résultat sur l'inhibition de leur croissance à une concentration de 10 μ M montre qu'il n'est pas capable de produire une réponse sur MCF-7 même s'il peut être vu comme un composé doublement porteur d'un motif reconnu par ses propriétés cytotoxiques. Cette faible activité montre l'importance de la substitution de la chaîne latérale. Sur MDA-MB-231, seulement 11% de la croissance cellulaire est inhibée. Le fait que le bisamide soit légèrement actif sur les cellules MDA-MB-231 mais inactif sur les cellules MCF-7, nous fait supposer que l'environnement redox *in cellulo* est différent. On pourrait penser que MDA-MB-231 laisse exprimer plus favorablement les propriétés électroniques des complexes organométalliques tandis que pour MCF-7 les propriétés stériques pourraient être plus importantes (e.g. les interactions avec les ER).

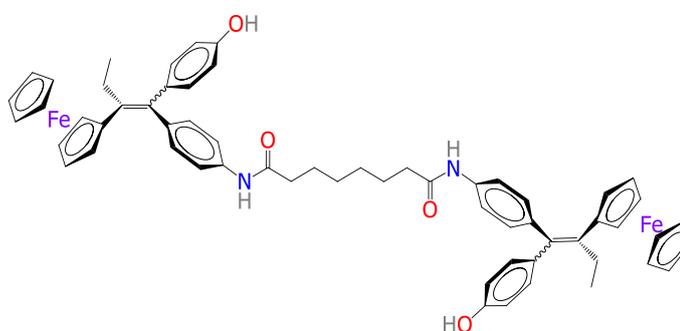


Figure 10. Structure chimique du bisamide (**FcTAM**)₂SA

2.4 Electrochimie

Il est intéressant de noter que notre proposition du mécanisme pour l'oxydation électrochimique des dérivés du **FcOHTAM** –illustrée dans l'introduction– est en accord avec celui de la biotransformation et l'isomérisation d'**OHTAM** par le cytochrome P450 –présenté dans le point 2.2–. Dans ce cas, il semble y avoir une corrélation entre les études électrochimiques et ce qui se passe au niveau biologique. Ces deux mécanismes postulent des phénomènes redox et d'abstractions de protons qui dans le cas de l'**OHTAM** conduisent aux espèces cationiques et dans le cas du **FcOHTAM** conduisent aux espèces insaturées. Les études électrochimiques réalisées sur les dérivés du **FcOHTAM** ont établi que ceux-ci subissent une séquence oxydative en présence d'une base. Cette oxydation conduit aux méthine-quinones qui semblent être impliquées dans les effets cytotoxiques. Ainsi, vu que les structures chimiques des hybrides phénoliques sont très proches de celle du **FcOHTAM**, nous avons poursuivi leur analyse par voltammétrie cyclique afin d'explorer si l'activation redox conduisant aux espèces insaturées était également envisageable dans ce cas.

Pour avoir un élément de comparaison, nous avons d'abord enregistré les voltammogrammes cycliques des composés de la série non-phénolique du Chapitre II : **FcTAM-SAHA**, **FcTAM-PSA** et **FcTAM-OPOA** (Figure 11). Ces composés –n'ayant pas de fonction phénolique– sont censés être non réactifs dans la séquence d'oxydative qui conduit aux espèces insaturées.

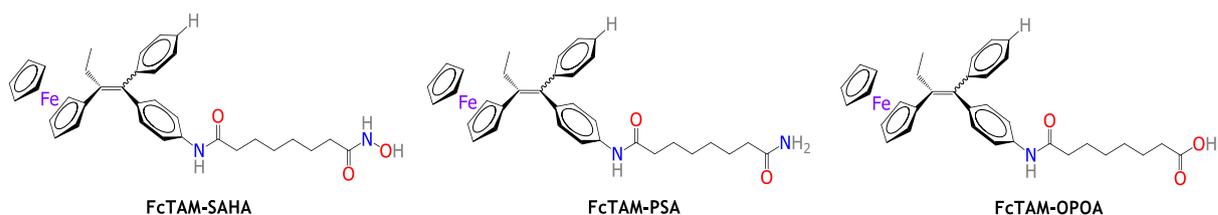


Figure 11. Structures chimiques des composés de la série d'hybrides ferrocéniques non-phénoliques

En effet, les voltammogrammes obtenus pour les trois composés montrent un comportement complètement réversible (Figure 12). Nous observons qu'ils sont oxydés à la même valeur du potentiel d'oxydation [O] 500 mV. Cette vague [O] a été associée à la transformation du groupement ferrocényle (Fe^{2+}) en ion ferricinium (Fe^{3+}). Le résultat suggère que les composés –après avoir subi des transferts d'électrons– reviennent à leur état d'origine puisque la base n'a aucun effet sur les espèces électrogénérées à [O]. De même, il semble que les fonctionnalités chimiques de la chaîne latérale n'interviennent absolument pas dans la réponse redox (lignées bleues).

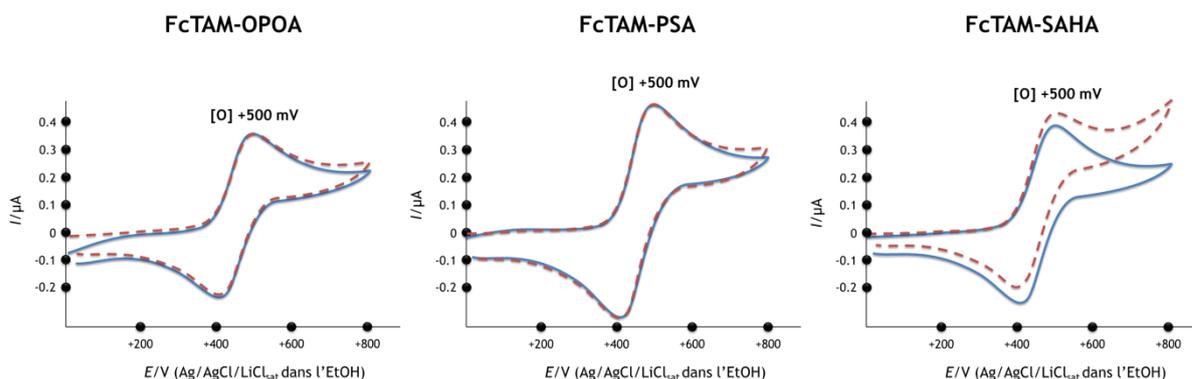


Figure 12. Voltammogrammes cycliques pour les composés de la série d'hybrides non-phénoliques en absence (bleu) et en présence (rouge) de 50 équivalents d'imidazole.^[10]

[10] Les voltammogrammes ont été enregistrés d'une solution 0.5 mM d'analyte dans une solution 0.1 M de Bu_4NBF_4 dans le MeOH. Électrode de travail : Pt ($\varnothing = 0.5$ mm), électrode auxiliaire : baguette d'acier inoxydable, électrode de référence : Ag/AgCl/LiCl_{sat} dans l'EtOH. Vitesse de balayage : 0.5 V/s.

En présence de la base, aucun changement significatif n'a été observé pour l'acide carboxylique **FcTAM-OPOA** ni pour l'amide primaire **FcTAM-PSA**, que ce soit au niveau du potentiel d'oxydation ou au niveau de l'intensité de la vague (lignées rouges). Par contre, un léger changement est observé pour l'acide hydroxamique **FcTAM-SAHA**. Il s'agit d'un agrandissement subtil de la vague d'oxydation accompagné d'un abaissement de celle correspondant à la réduction à 410 mV. Ceci pourrait être dû à une éventuelle interaction entre le Fe^{3+} électrogénéré à 500 mV avec la fonction hydroxamate (CONHO^-) –résultat de la déprotonation de l'hydroxamide en présence de l'imidazole–.

Dans le cas des composés hydroxylés, les voltammogrammes enregistrés avant l'ajout de la base (courbes bleues) montrent le même comportement d'oxydation réversible que les séries non-phénoliques. Les composés sont oxydés à un potentiel [O] de 470 mV pour **FcOHTAM-OPOA** et de 490 mV pour **FcTAM-PSA** et **FcTAM-SAHA** (Figure 13). Cette vague d'oxydation réversible est associée à la formation de l'ion Fc^+ . Il semble que les composés phénoliques –avec des valeurs de potentiel d'oxydation légèrement plus faibles– sont plus faciles à oxyder que ceux de la série non-phénolique, vraisemblablement grâce à l'apport électronique de la substitution.

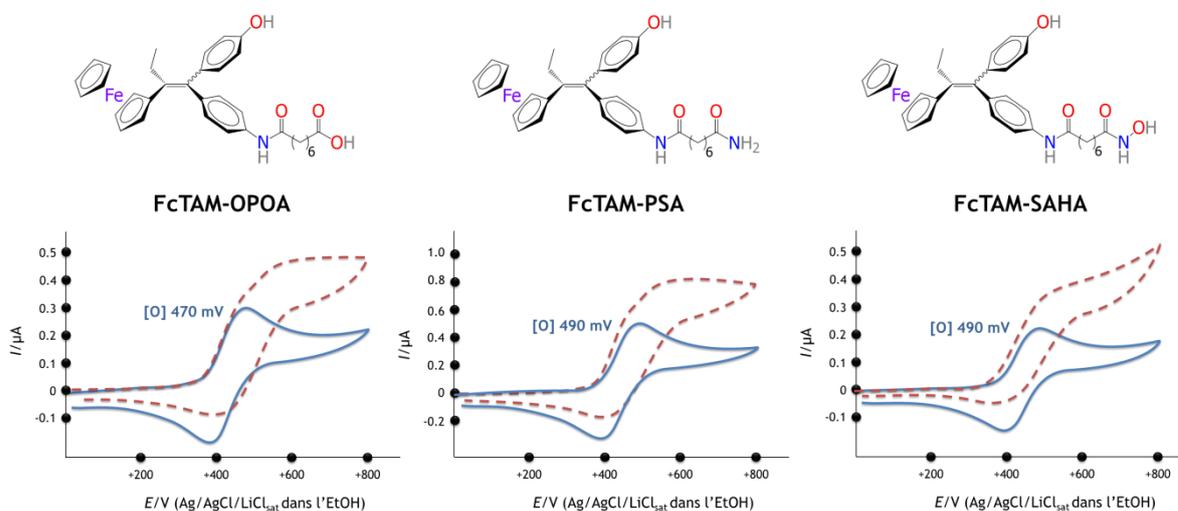


Figure 13. Voltammogrammes cycliques pour les composés de la série d'hybrides phénoliques en absence (bleu) et en présence (rouge) de 50 équivalents d'imidazole.^[11]

[11] Les voltammogrammes ont été enregistrés d'une solution 0.5 mM d'analyte dans une solution 0.1 M de Bu_4NBF_4 dans le MeOH. Électrode de travail : Pt ($\varnothing = 0.5$ mm), électrode auxiliaire : baguette d'acier inoxydable, électrode de référence : Ag/AgCl/LiCl_{sat} dans l'EtOH. Vitesse de balayage : 0.5 V/s.

Après l'addition de la base, les voltammogrammes sont complètement modifiés (courbes rouges). Nous observons l'augmentation de l'intensité des vagues d'oxydation et la perte de leur réversibilité. En plus, dans le cas de **FcTAM-PSA** et **FcTAM-SAHA** un léger déplacement vers un potentiel d'oxydation plus faible est observé. Le voltammogramme de **FcTAM-SAHA** semble montrer un comportement particulier qui pourrait être consistant avec ce qui a été postulé préalablement concernant l'interaction du groupe hydroxamate avec le Fe^{3+} électrogénéré à [O]. De cette manière, les voltammogrammes suggèrent fortement que ces hybrides phénoliques suivent le même processus d'activation redox que le **Fc-diphol**. Ainsi, ils doivent également conduire à la formation de dérivés insaturés correspondants. Ceci a été mis en évidence dans un premier temps par les voltammogrammes du monophénol **Fc-phol** qui se sont avérés identiques à ceux des hybrides en présence et en absence de base (Figure 14).

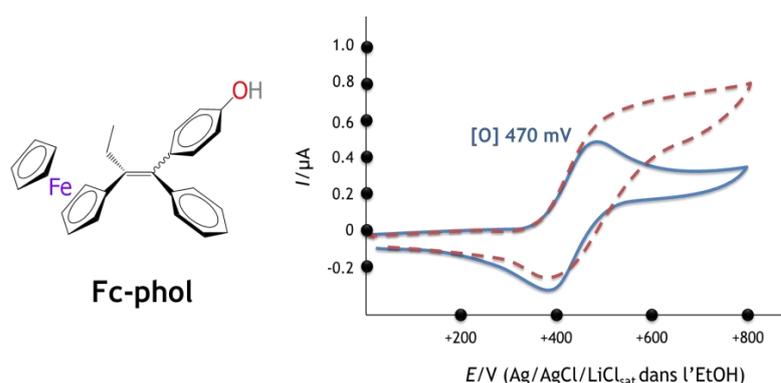


Figure 14. Voltammogramme cyclique pour le monophénol **Fc-phol** en absence (bleu) et en présence (rouge) de 50 équivalents d'imidazole.^[12]

Pour confirmer notre hypothèse, nous avons essayé d'obtenir un de ces dérivés insaturés par voie chimique (Schéma 8). Pour ce faire, nous avons oxydé l'amide primaire **FcOHTAM-PSA** en présence d'oxyde d'argent (Ag_2O). La réaction faite dans des conditions douces dans le DMSO-d_6 a permis de suivre la réaction par RMN. En effet, cette analyse –que nous détaillons dans la partie expérimentale– révèle clairement la formation d'un nouveau produit qui s'est avéré être la méthine-quinone **FcQMTAM-PSA**.

[12] Les voltammogrammes ont été enregistrés d'une solution 0.5 mM d'analyte dans une solution 0.1 M de Bu_4NBF_4 dans le MeOH. Électrode de travail : Pt ($\varnothing = 0.5$ mm), électrode auxiliaire : baguette d'acier inoxydable, électrode de référence : Ag/AgCl/LiCl_{sat} dans l'EtOH. Vitesse de balayage : 0.5 V/s.

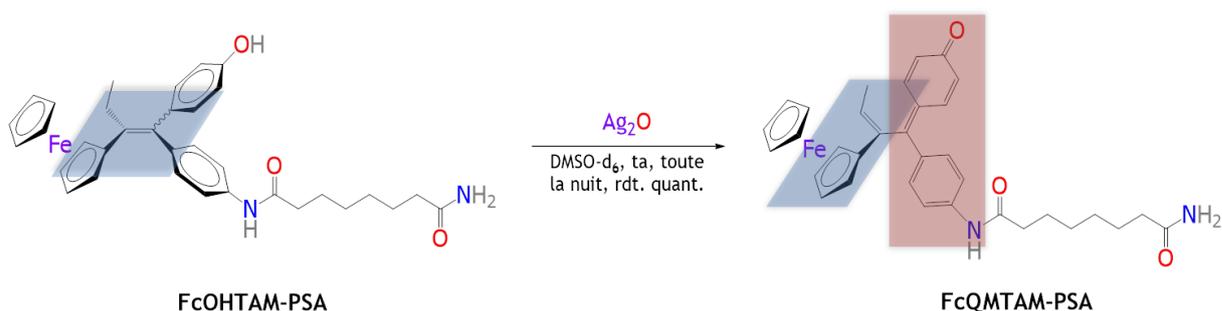


Schéma 8. Oxydation chimique du composé **FcOHTAM-PSA**.

Nous avons ainsi confirmé expérimentalement par voie chimique la formation d'une méthine-quinone (**FcQMTAM-PSA**) à partir de l'oxydation du composé hybride **FcOHTAM-PSA**. Nous pouvons de même supposer que la modification des voltammogrammes des composés phénoliques, après l'ajout d'une base, révèle leur formation électrochimique. De telle sorte que les hybrides phénoliques suivent le même processus d'activation redox observé préalablement dans d'autres séries. Il est par ailleurs intéressant de noter que le dérivé insaturé **FcQMTAM-PSA** s'est avéré stable en solution dans le DMSO pendant une période supérieure à 15 jours.

Au vu des résultats, nous pouvons énoncer que le fait d'avoir une structure type-**FcOHTAM** rend susceptible les molécules de former –dans des conditions favorables– des produits insaturés. Nous avons proposé que ces produits d'oxydation pouvaient être les métabolites actifs des composés phénoliques. Cependant, dans la famille du **FcOHTAM-SAHA**, la présence du phénol n'a pas amélioré les effets antiprolifératifs. Ici, nous voyons que ces dérivés phénoliques ont tout dans leur structure pour réagir par voie redox mais que cela ne se traduit pas par une augmentation de leur effet antiprolifératif. Ceci nous conduit à émettre l'hypothèse que la chaîne latérale fonctionnalisée joue un rôle important dans le transport des molécules *in cellulo* qui pourrait les conduire dans des endroits où les propriétés redox ne sont pas fortement exprimées. Dans ce contexte, il a été rapporté que le trafic intracellulaire d'un agent est extrêmement complexe en raison de la grande variété des cibles possibles.^[13,14]

[13] MP Coogan, PJ Dyson, M Bochmann. Introduction to the organometallics in biology and medicine issue. *Organometallics* **2012**, *31*, 5671–5672.

[14] G Sava, G Jaouen, EA Hillard, A Bergamo. Targeted therapy vs. DNA-adduct formation-guided design: thoughts about the future of metal-based anticancer drugs. *Dalton Trans* **2012**, *41*, 8226–8234.

3. Conclusion

Nous avons synthétisé une nouvelle famille de composés hybrides phénoliques combinant des motifs structuraux de l'hydroxytamoxifène (**OHTAM**), de l'hydroxyferrocifène (**FcOHTAM**) et du N^1 -hydroxy- N^8 -phenylsuberamide (**SAHA**). Contrairement aux composés non-phénoliques, ces composés s'isomérisent facilement en solution. Ceci peut être expliqué par les effets de l'antenne organométallique qui favorisent les états de transition électronique minimisant l'énergie d'activation des intermédiaires impliqués.

Les résultats biologiques montrent clairement que les dérivés ferrocéniques sont plus cytotoxiques que leurs analogues organiques vis-à-vis des cellules cancéreuses. Parmi les fonctionnalités chimiques évaluées dans la série phénolique, l'acide hydroxamique conduit à de meilleurs effets que l'amide primaire et l'acide carboxylique. Les différences d'activités entre les cellules MDA-MB-231 triple-négatif et MCF-7 hormono-dépendant pourraient être liées aux effets œstrogéniques à faible doses.

Nous pouvons également mettre en évidence l'étude du bisamide (**FcOHTAM**)₂**SA**, qui nous a permis de montrer que la présence d'un motif ferrocényle n'est pas suffisante pour conduire à une bonne activité antiproliférative. En revanche, un bon candidat résulte de la combinaison de différentes caractéristiques structurales qui permettent de le diriger vers une cible dans les meilleures conditions.

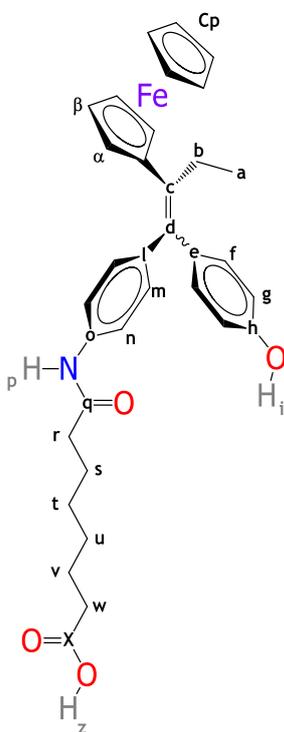
Le mécanisme d'activation redox des composés phénoliques semble suivre la même voie intramoléculaire de transfert électronique que celle observée pour d'autres séries phénoliques. Cependant, cette activation semble dépendre de l'environnement intracellulaire où se trouvent les composés. Ce transport intracellulaire et les interactions ligand-récepteur pourraient être modulés par la chaîne latérale et par sa fonctionnalité chimique.

4. Partie expérimentale

FcOHTAM-OPOA •

Acide 8-{4-[2-ferrocényl-1-(4-hydroxy)phénylbut-1-én-1-yl]anilino}-8-oxooctanoïque

Le protocole de synthèse est rapporté dans la partie expérimentale du Chapitre II. Réactifs et conditions : 4-[1-(4-aminophényl)-2-ferrocénylbut-1-én-1-yl]phénol **Fc-aniphol** (13.05 mmol, 5.52 g), THF (100 mL), **cls** (19.57 mmol, 3.52 mL), DCM (30 mL). Temps de réaction : 1 h. Éluant pour la colonne : hexane/AcOEt, 4/6. La première fraction est le sous-produit de la réaction et identifié comme un bisamide. La dernière fraction est le produit désiré. 62% (4.68 g) de produit est obtenu sous la forme d'un solide orange-rouge. *Z/E* = 71/29.



●**RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *E*, δ 0.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.20-1.40 (m, 4H : **u** et **t**), 1.41-1.54 (m, 2H : **v**), 1.54-1.68 (m, 2H : **s**), 2.19 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **w**), 2.26 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **r**), 2.44-2.58 (q, 2H : **b**), 3.82 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.09 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.11 (s, 5H : **Cp**), 6.72 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **g**), 6.90 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 6.98 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **f**), 7.45 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 9.34 (s, 1H : **i**), 9.82 (s, 1H : **p**), 11.95 (s, 1H : **z**). Isomère *Z*, δ 0.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.20-1.40 (m, 4H : **u** et **t**), 1.41-1.54 (m, 2H : **v**), 1.54-1.68 (m, 2H : **s**), 2.19 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **w**), 2.28 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **r**), 2.44-2.58 (q, 2H : **b**), 3.81 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **α**), 4.08 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : **β**), 4.11 (s, 5H : **Cp**), 6.64 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **g**), 6.80 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **f**), 7.09 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.54 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 9.31 (s, 1H : **i**), 9.86 (s, 1H : **p**), 11.95 (s, 1H : **z**).

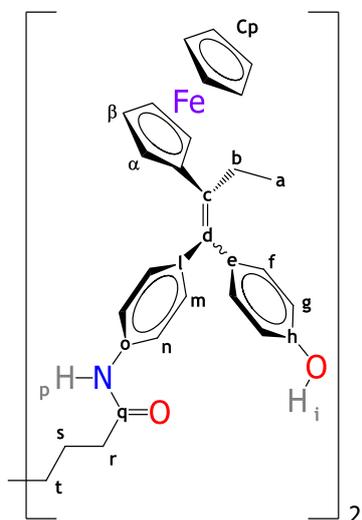
●**RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *E*, δ 15.4 (**a**), 24.5 (**v**), 25.0 (**s**), 27.1 (**b**), 28.4 (**u**), 28.5 (**t**), 33.6 (**w**), 36.4 (**r**), 67.9 (**β**), 68.7 (**α**), 69.0 (**Cp**), 86.1 ou 86.2 (**ι**), 115.1 (**g**), 118.9 (**n**), 129.5 (**m**), 129.9 (**f**), 135.0 (**e**), 135.9 (**c**), 136.0 (**d**), 137.4 (**o**), 139.7 (**l**), 155.8 (**h**), 171.1 (**q**), 174.5 (**x**). Isomère *Z*, δ 15.4 (**a**), 24.5 (**v**), 25.1 (**s**), 27.1 (**b**), 28.4 (**u**), 28.5 (**t**), 33.6 (**w**), 36.4 (**r**), 67.9 (**β**), 68.7 (**α**), 69.0 (**Cp**), 86.1 ou 86.2 (**ι**), 115.1 (**g**), 119.0 (**n**), 129.0 (**m**), 130.3 (**f**), 135.2 (**e**), 135.9 (**c**), 136.0 (**d**), 137.1 (**o**), 139.4 (**l**), 155.7 (**h**), 171.2 (**q**), 174.5 (**x**).

● **IR** (KBr, $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$) : 3309 (N-H et O-H stretch), 3101 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2931, 2862 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1709 (OC=O stretch), 1658 (NC=O stretch), 1597 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1515 (N-H bend), 1234 (C-O stretch). **SM** (IC, m/z) : 597 $[\text{MNH}_4]^+$, 580 $[\text{MH}]^+$, 458 $[\text{M-FeCp}]^{+\bullet}$.
 ● **Anal. Calc.** pour $\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{FeNO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}(\%)$: C, 68.34; H, 6.58; N, 2.34. Trouvé : C, 67.74; H, 6.60; N, 2.13. **HPLC** (R_T , min) : 3.05 (Kromasil, MeOH).

(FcOHTAM)₂SA •

*N*¹,*N*⁸-bis[4-[2-ferrocényl-1-(4-hydroxy)phényl]but-1-én-1-yl]phényl}subéramide

Solide orange-rouge, *Z,Z/E,E* = 51/49.



● **RMN du ¹H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *E,E*, δ 0.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H : **a**), 1.30-1.40 (m, 4H : **t**), 1.54-1.68 (m, 4H : **s**), 2.20-2.39 (m, 4H : **r**), 2.44-2.58 (q, 4H : **b**), 3.82 (t, $J = 1.9$ Hz, 4H : **α**), 4.09 (t, $J = 1.9$ Hz, 4H : **β**), 4.11 (s, 10H : **Cp**), 6.72 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H : **g**), 6.90 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H : **m**), 6.98 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H : **f**), 7.45 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H : **n**), 9.35 (s, 2H : **i**), 9.82 (s, 2H : **p**). Isomère *Z,Z*, δ 0.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H : **a**), 1.30-1.40 (m, 4H : **t**), 1.54-1.68 (m, 4H : **s**), 2.28 (t, $J = 7.5$ Hz, 4H : **r**), 2.44-2.58 (q, 4H : **b**), 3.81 (t, $J = 1.9$ Hz, 4H : **α**), 4.08 (t, $J = 1.9$ Hz, 4H : **β**), 4.11 (s, 10H : **Cp**), 6.64 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H : **g**), 6.80 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H : **f**), 7.09 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H : **m**), 7.54 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H : **n**), 9.31 (s, 2H : **i**), 9.86 (s, 2H : **p**).

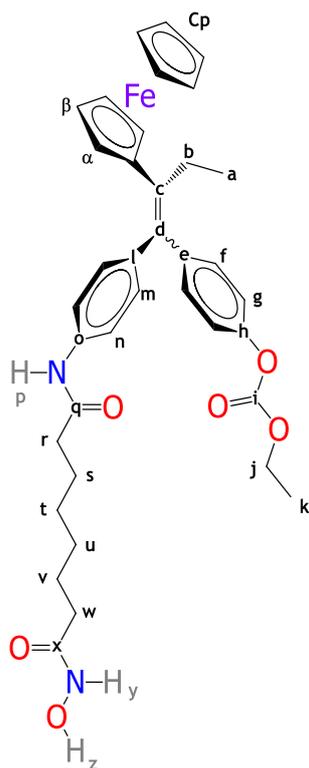
● **RMN du ¹³C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *E,E* δ 15.4 (**a**), 25.0 (**s**), 27.1 (**b**), 28.5 (**t**), 36.4 (**r**), 67.9 (**β**), 68.7 (**α**), 69.0 (**Cp**), 86.1 ou 86.2 (**t**), 115.1 (**g**), 118.9 (**n**), 129.5 (**m**), 129.9 (**f**), 135.0 (**e**), 135.9 (**c**), 136.0 (**d**), 137.4 (**o**), 139.7 (**l**), 155.8 (**h**), 171.1 (**q**). Isomère *Z,Z*, δ 15.4 (**a**), 25.1 (**s**), 27.1 (**b**), 28.5 (**t**), 36.4 (**r**), 67.9 (**β**), 68.7 (**α**), 69.0 (**Cp**), 86.1 ou 86.2 (**t**), 115.1 (**g**), 119.0 (**n**), 129.0 (**m**), 130.3 (**f**), 135.2 (**e**), 135.9 (**c**), 136.0 (**d**), 137.1 (**o**), 139.2 (**l**), 155.7 (**h**), 171.2 (**q**).

● **IR** (KBr, $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$) : 3325 (N-H et O-H stretch), 3097 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2931, 2866 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1662 (NC=O stretch), 1597 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1512 (N-H bend), 1234 (C-O stretch). **SM** (IC, m/z) : 1002 $[\text{MNH}_4]^+$, 985 $[\text{MH}]^+$, 863 $[\text{M-FeCp}]^{+\bullet}$. **Anal. Calc.** pour $\text{C}_{60}\text{H}_{60}\text{Fe}_2\text{N}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}(\%)$: C, 71.86; H, 6.23; N, 2.79. Trouvé : C, 70.77; H, 6.22; N, 2.72. **HPLC** (R_T , min) : 6.86 (Kromasil, MeCN).

C-FcHx •

4-{2-ferrocényl-1-[4-(8-hydroxyamino-8-oxooctanamido)phényl]but-1-én-1-yl}phényl carbonate d'éthyle

Réactifs et conditions : $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (4 mmol, 0.28 g), MeOH (10 mL), KOH (4 mmol, 0.22 g), MeOH (10 mL), **FcOHTAM-OPOA** (2.0 mmol, 1.16 g), THF (15 mL), ClCO_2Et (2.0 mmol, 0.19 mL), Et_3N (2.0 mmol, 0.28 mL). Temps de réaction : 1 h. Éluant pour la colonne: hexane/AcOEt, 4/6. 49% (0.59 g) de produit est obtenu sous forme d'un solide orange-rouge. $Z/E = 51/49$.



•**RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *E*, δ 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : a), 1.21-1.35 (m, 7H : u, t et k), 1.40-1.52 (m, 2H : v), 1.51-1.64 (m, 2H : s), 1.94 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : w), 2.27 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : r), 2.44-2.58 (q, 2H : b), 3.83 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : α), 4.09-4.12 (t, 2H : β), 4.13 ou 4.14 (s, 5H : Cp), 4.24 (q, 2H : j), 6.97 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : m), 7.19 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : f), 7.25 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : g), 7.50 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : n), 8.66 (s, 1H : y), 9.85 (s, 1H : p), 10.33 (s, 1H : z). Isomère *Z*, δ 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : a), 1.21-1.35 (m, 7H : u, t et k), 1.40-1.52 (m, 2H : v), 1.51-1.64 (m, 2H : s), 1.94 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : w), 2.28 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : r), 2.44-2.58 (q, 2H : b), 3.80 (t, $J = 1.9$ Hz, 2H : α), 4.09-4.12 (t, 2H : β), 4.13 ou 4.14 (s, 5H : Cp), 4.23 (q, 2H : j), 7.05 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : f), 7.11 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : g), 7.15 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : m), 7.57 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : n), 8.66 (s, 1H : y), 9.88 (s, 1H : p), 10.33 (s, 1H : z).

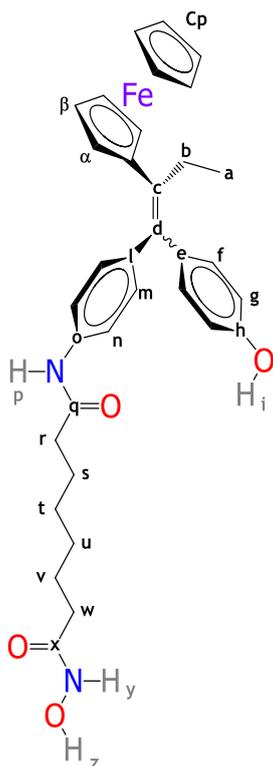
•**RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *E*, δ 14.0 (k), 15.4 (a), 25.1 (v et s), 27.1 (b), 28.4 (u et t), 32.3 (w), 36.4 (r), 64.6 (j), 68.1 (β), 68.8 (α), 69.1 (Cp), 85.4 (i), 119.0 (n), 121.2 (g), 129.5 (m), 129.9 (f), 136.0 (c et d), 138.6 ou 138.9 (e), 137.3 (o), 142.4 (l), 149.0 (h), 153.0 (i), 169.1 (x), 171.2 (q). Isomère *Z*, δ 14.0 (k), 15.4 (a), 25.1 (v et s), 27.1 (b), 28.4 (u et t), 32.3 (w), 36.4 (r), 64.6 (j), 68.1 (β), 68.8 (α), 69.1 (Cp), 85.4 (i), 119.1 (n), 121.2 (g), 129.1 (m), 130.3 (f), 136.0 (c et d), 137.3 (o), 138.6 ou 138.9 (e), 142.4 (l), 149.0 (h), 153.0 (i), 169.1 (x), 171.3 (q).

•**IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3244 (N-H et O-H stretch), 3101, 3040 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2931, 2866 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1759 (OC=O stretch), 1655 (NC=O stretch), 1597 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1520 (N-H bend), 1250 (C-O stretch). **SM** (ESI, m/z) : 689 $[\text{MNa}]^+$ et 665 $[\text{M-H}]^-$. **HPLC** (R_T , min) : 3.34 (Kromasil, MeOH).

FcOHTAM-SAHA •

 N^1 -{4-[2-ferrocényl-1-(4-hydroxyphényl)but-1-én-1-yl]phényl}- N^8 -hydroxysubéramide

Une solution méthanolique de **C-FcHx** est versée dans une solution aqueuse concentrée de NaOH. Après une nuit sous agitation, le produit est acidifié à l'HCl et extrait à l'AcOEt. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. Le brut de réaction est purifié par chromatographie sur colonne. Éluant utilisé : hexane/AcOEt, 2/3. Le produit est obtenu avec rendement quantitatif sous forme d'un solide orange-rouge. Z/E = 51/49.



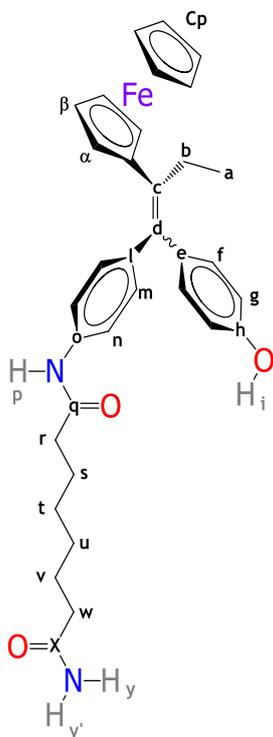
●**RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère *E*, δ 0.98 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.21-1.35 (m, 4H : **u** et **t**), 1.40-1.52 (m, 2H : **v**), 1.51-1.64 (m, 2H : **s**), 1.94 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **w**), 2.26 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **r**), 2.44-2.58 (q, 2H : **b**), 3.82 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.09 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.11 (s, 5H : **Cp**), 6.72 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **g**), 6.90 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **m**), 6.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **f**), 7.45 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **n**), 8.66 (s, 1H : **y**), 9.33 (s, 1H : **i**), 9.81 (s, 1H : **p**), 10.33 (s, 1H : **z**). Isomère *Z*, δ 0.98 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.21-1.35 (m, 4H : **u** et **t**), 1.40-1.52 (m, 2H : **v**), 1.51-1.64 (m, 2H : **s**), 1.94 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **w**), 2.28 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **r**), 2.44-2.58 (q, 2H : **b**), 3.81 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.08 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.11 (s, 5H : **Cp**), 6.64 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **g**), 6.80 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **f**), 7.09 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **m**), 7.54 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **n**), 8.66 (s, 1H : **y**), 9.30 (s, 1H : **i**), 9.86 (s, 1H : **p**), 10.33 (s, 1H : **z**).

●**RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère *E*, δ 15.4 (**a**), 25.1 (**v** et **s**), 27.1 (**b**), 28.4 (**u** et **t**), 32.3 (**w**), 36.4 (**r**), 67.8 (**β**), 68.7 (**α**), 69.0 (**Cp**), 86.0 (**ι**), 115.1 (**g**), 118.8 (**n**), 129.5 (**m**), 129.9 (**f**), 135.0 (**e**), 135.8 (**c**), 136.0 (**d**), 137.3 (**o**), 139.7 (**l**), 155.7 (**h**), 169.1 (**x**), 171.1 (**q**). Isomère *Z*, δ 15.4 (**a**), 25.1 (**v** et **s**), 27.1 (**b**), 28.4 (**u** et **t**), 32.3 (**w**), 36.4 (**r**), 67.8 (**β**), 68.7 (**α**), 69.0 (**Cp**), 86.0 (**ι**), 115.1 (**g**), 119.0 (**n**), 129.0 (**m**), 130.3 (**f**), 135.2 (**e**), 135.8 (**c**), 136.0 (**d**), 137.1 (**o**), 139.4 (**l**), 155.6 (**h**), 169.1 (**x**), 171.2 (**q**).

●**IR** (KBr, ν_{\max} /cm⁻¹) : 3244 (N-H et O-H stretch), 3099 (C_{Ar}-H stretch), 2930, 2864 (C_{Alk}-H stretch), 1653 (NC=O stretch), 1592 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1508 (N-H bend), 1259 (C-O stretch). **MS** (IES, *m/z*) : 617 [MNa]⁺ et 593 [M-H]⁻. **Anal. Calc.** pour C₃₄H₃₈FeN₂O₃ • ½H₂O(%) : C, 65.70; H, 6.65; N, 4.51. Trouvé : C, 65.56; H, 6.48; N, 3.92. **HPLC** (*R*_T, min) : 1.79 (Macherey-Nagel, MeOH).

FcOHTAM-PSA • N^1 -{4-[2-ferrocényl-1-(4-hydroxyphényl)but-1-én-1-yl]phényl}subéramide

Ce produit est obtenu suivant le protocole préalablement décrit. Réactifs et conditions : FcOHTAM-OPOA (2.0 mmol, 1.16 g), THF, (15 mL), ClCO₂Et (4.0 mmol, 0.38 mL), Et₃N (4.02 mmol, 0.56 mL), NaNH₂ (excès). Temps de réaction : 80 min. Après l'extraction à l'AcOEt, la phase organique est concentrée. Le brut de la réaction est solubilisé dans le MeOH et versé dans une solution aqueuse de NaOH. Le mélange est resté sous agitation pendant toute la nuit. Après ce temps, le mélange est acidifié à l'HCl et le produit est extrait à l'AcOEt. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne. Éluant utilisé : hexane/AcOEt, 2/3. 72% (0.84 g) de produit est obtenu sous forme d'un solide orange-rouge. Z/E = 76/24.



●RMN du ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère *E*, δ 0.98 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.21-1.36 (m, 4H : **u** et **t**), 1.40-1.52 (m, 2H : **v**), 1.51-1.65 (m, 2H : **s**), 2.03 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **w**), 2.26 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **r**), 2.43-2.58 (q, 2H : **b**), 3.82 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.09 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.11 (s, 5H : **Cp**), 6.68 (s, 1H : **y'**), 6.72 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **g**), 6.90 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **m**), 6.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **f**), 7.22 (s, 1H : **y**), 7.45 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **n**), 9.33 (s, 1H : **i**), 9.82 (s, 1H : **p**). Isomère *Z*, δ 0.98 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.21-1.36 (m, 4H : **u** et **t**), 1.40-1.52 (m, 2H : **v**), 1.51-1.65 (m, 2H : **s**), 2.03 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **w**), 2.28 (*J* = 7.5 Hz, 2H : **r**), 2.43-2.58 (q, 2H : **b**), 3.81 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **α**), 4.08 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : **β**), 4.11 (s, 5H : **Cp**), 6.68 (s, 1H : **y'**), 6.64 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **g**), 6.80 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **f**), 7.09 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **m**), 7.22 (s, 1H : **y**), 7.54 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **n**), 9.30 (s, 1H : **i**), 9.86 (s, 1H : **p**).

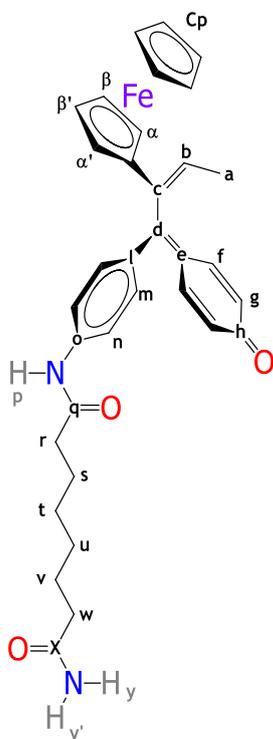
●RMN du ¹³C (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère *E*, δ 15.4 (**a**), 25.0 (**v** et **s**), 27.1 (**b**), 28.5 (**u** et **t**), 35.1 (**w**), 36.4 (**r**), 67.8 (**β**), 68.7 (**α**), 69.0 (**Cp**), 86.0 (**i**), 115.1 (**g**), 118.9 (**n**), 129.5 (**m**), 129.9 (**f**), 135.0 (**e**), 135.8 (**c**), 136.0 (**d**), 137.3 (**o**), 139.6 (**l**), 155.7 (**h**), 171.1 (**q**), 174.3 (**x**). Isomère *Z*, δ 15.4 (**a**), 25.0 (**v** et **s**), 27.1 (**b**), 28.5 (**u** et **t**), 35.1 (**w**), 36.4 (**r**), 67.8 (**β**), 68.7 (**α**), 69.0 (**Cp**), 86.0 (**i**), 115.1 (**g**), 119.0 (**n**), 129.0 (**m**), 130.3 (**f**), 135.2 (**e**), 135.8 (**c**), 136.0 (**d**), 137.1 (**o**), 139.4 (**l**), 155.6 (**h**), 171.2 (**q**), 174.3 (**x**).

● **IR** (KBr, $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$) : 3305 (N-H et O-H stretch), 3100 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2931, 2862 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1662 (NC=O stretch), 1597 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1511 (N-H bend), 1246 (C-O stretch). **SM** (IC, m/z) : 596 $[\text{MNH}_4]^+$, 579 $[\text{MH}]^+$. **Anal. Calc.** pour $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{FeN}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}(\%)$: C, 68.46; H, 6.76; N, 4.70. Trouvé : C, 68.77; H, 6.71; N, 4.45. **HPLC** (R_{T} , min) : 1.81 (Macherey-Nagel, MeOH).

FcQMTAM-PSA •

N^1 -{4-[2-ferrocényl-1-(4-oxocyclohexa-2,5-diène-1-ylidène)but-2-én-1-yl]phényl}subéramide

Ce produit est obtenu dans un but d'identification spectroscopique. Ainsi, dans un tube à hémolyse, le **FcOHTAM-PSA** (0.026 mmol, 15 mg) est dissout dans du DMSO- d_6 (1 mL) à température ambiante et de l'oxyde d'argent (0.26 mmol, 60 mg) est ensuite ajouté. Le mélange est mis en agitation pendant toute la nuit à température ambiante. Après ce temps, le mélange est filtré et analysé par spectroscopie de RMN. Le produit correspondant est obtenu quantitativement.

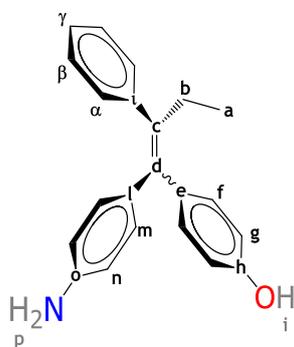


● **RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 1.21-1.36 (m, 4H : **u** et **t**), 1.40-1.52 (m, 2H : **v**), 1.51-1.65 (m, 2H : **s**), 1.60 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H : **a**), 2.02 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **w**), 2.32 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **r**), 3.96, 4.09, 4.16, 4.23 (s, 4H : **α** , **α'** , **β** , **β'**), 6.40 (q, $J = 7.0$ Hz, 1H : **b**), 6.41 (d, $J = 10.1$ Hz, 2H : **g**), 6.68 (s, 1H : **y'**), 7.22 (s, 1H : **y**), 7.41 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.50 (d, $J = 10.1$ Hz, 2H : **f**), 7.75 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 10.17 (s, 1H : **p**).

● **RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 15.4 (**a**), 25.0 (**v** et **s**), 28.5 (**u** et **t**), 35.1 (**w**), 36.4 (**r**), 66.2, 66.5 (**α** et **α'**), 67.9 (**β**), 69.1 (**Cp**), 87.0 (**i**), 118.9 (**n**), 124.7 (**b**), 128.1 (**g**), 128.5, 131.6 (**m**), 137.5 (**c**), 137.9 (**f**), 139.0, 141.2 (**o**), 157.3 (**d**), 171.7 (**q**), 174.3 (**x**), 185.9 (**h**).

Ph-aniphol • 4-[1-(4-amino)phényl-2-phénylbut-1-én-1-yl]phénol

Le protocole de synthèse est décrit dans la partie expérimentale du Chapitre II. Réactifs et quantités : Zn (300 mmol, 19.65 g), THF (200 mL), TiCl₄ (150 mmol, 16.5 mL), 4-hydroxy-4'-nitrobenzophénone (30 mmol, 7.30 g), propiophénone (30 mmol, 4.02 g), THF (100 mL) Temps de réaction : 1 h. Éluant pour la colonne : hexane/AcOEt, 75/25. 41% (3.91 g) du produit est obtenu sous forme d'un solide blanc. *Z/E* = 50/50.



●**RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : Isomère *E*, δ 0.89 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H : **a**), 2.46 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H : **b**), 4.42 (s, 2H : **p**), 6.30 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **n**), 6.56 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **m**), 6.83 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H : **g**), 7.06 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H : **f**), 7.08-7.20 (m, 5H : **γ**, **α** et **β**), 8.29 (s, 1H : **i**). Isomère *Z*, δ 0.90 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H : **a**), 2.52 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H : **b**), 4.64 (s, 2H : **p**), 6.47 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H : **g**), 6.66 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **n**), 6.70 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H : **f**), 6.93 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **m**), 7.08-7.20 (m, 5H : **γ**, **α** et **β**), 8.04 (s, 1H : **i**).

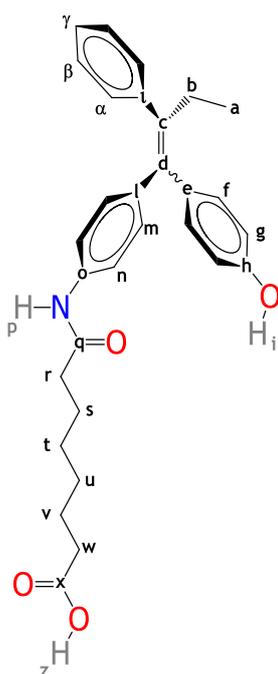
●**RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : Isomère *E*, δ 13.9 (**a**), 29.5 (**b**), 114.7 (**g**), 119.3 (**n**), 126.5 ou 126.7 (**γ**), 128.6 (**β**), 130.5 (**α**), 130.6 (**m**), 132.0 (**f**), 135.6, 139.1, 139.5, 141.4 (**l**, **c**, **d** et **u**), 147.1 (**o**), 157.0 (**h**). Isomère *Z*, δ 14.0 (**a**), 29.5 (**b**), 114.1 (**g**), 120.0 (**n**), 126.5 ou 126.7 (**γ**), 128.6 (**β**), 130.5 (**α**), 132.4 (**m**), 132.8 (**f**), 135.6, 139.1, 139.5, 141.4 (**l**, **c**, **d** et **u**), 148.0 (**o**), 156.1 (**h**).

●**IR** (KBr, ν_{\max} /cm⁻¹) : 3382, 3320 (N-H et O-H stretch), 3055 (C_{Ar}-H stretch), 2962, 2866 (C_{Alk}-H stretch), 1608 (H-N-H scissoring), 1508 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1261 (C-N stretch). **SM** (IC, *m/z*) : 333 [MNH₄]⁺, 316 [MH]⁺. **HPLC** (*R*_T, min): 2.81 min. (Kromasil C18, MeOH).

OHTAM-OPOA •

Acide 8-{4-[1-(4-hydroxy)phényl-2-phénylbut-1-én-1-yl]anilino}-8-oxooctanoïque

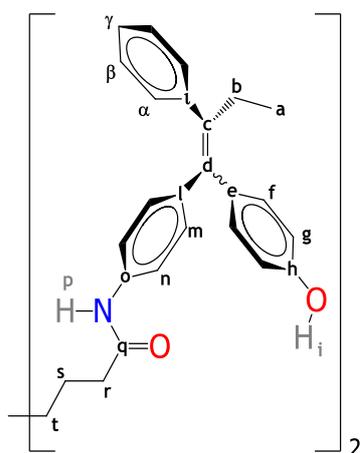
Le protocole de synthèse est décrit dans la partie expérimentale du Chapitre II. Réactifs et conditions : **Ph-aniphol** (12.42 mmol, 3.91 g), THF (90 mL), **cls** (18.63 mmol, 3.35 mL), DCM (30 mL). Temps de réaction : 1 h. Éluant pour la colonne : hexane/AcOEt. La première fraction est un sous-produit identifié comme un bisamide. La dernière fraction est le produit désiré. 58% (3.43 g) de produit est obtenu sous forme d'un solide blanc. *Z/E* = 45/55.



• **RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *E*, δ 0.85 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.20-1.38 (m, 4H : **u** et **t**), 1.42-1.62 (m, 4H : **v** et **s**), 2.17 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **w**), 2.13-2.24 (t, 2H : **r**), 2.39 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 6.70 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 6.75 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **g**), 6.98 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **f**), 7.04-7.13 (m, 3H : **α** et **γ**), 7.17 (t, 2H : **β**), 7.23 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 9.43 (s, 1H : **i**), 9.68 (s, 1H : **p**), 11.96 (s, 1H : **z**). Isomère *Z*, δ 0.85 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.20-1.38 (m, 4H : **u** et **t**), 1.42-1.62 (m, 4H : **v** et **s**), 2.20 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **w**), 2.29 ($J = 7.5$ Hz, 2H : **r**), 2.41 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 6.40 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **g**), 6.60 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **f**), 7.09 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.04-7.13 (m, 3H : **α** et **γ**), 7.17 (t, 2H : **β**), 7.58 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 9.18 (s, 1H : **i**), 9.90 (s, 1H : **p**), 11.96 (s, 1H : **z**).

• **RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *E*, δ 13.4 (**a**), 24.4 (**v**), 25.0 (**s**), 28.3 (**u**), 28.4 (**t**), 28.5 (**b**), 33.6 (**w**), 36.3 (**r**), 115.0 (**g**), 118.0 (**n**), 126.0 (**γ**), 127.9 (**β**), 129.4 (**α**), 130.2 (**f**), 130.6 (**m**), 133.7 (**e**), 136.9 (**o**), 137.9 (**l**), 138.0 (**d**), 140.3 (**c**), 142.2 (**l**), 156.1 (**h**), 171.0 (**q**), 174.5 (**x**). Isomère *Z*, δ 13.4 (**a**), 24.4 (**v**), 25.1 (**s**), 28.3 (**u**), 28.4 (**t**), 28.5 (**b**), 33.6 (**w**), 36.4 (**r**), 114.3 (**g**), 118.8 (**n**), 126.0 (**γ**), 127.9 (**β**), 129.3 (**m**), 129.4 (**α**), 131.4 (**f**), 133.4 (**e**), 137.8 (**o**), 138.0 (**d**), 138.1 (**l**), 139.9 (**c**), 142.2 (**l**), 155.3 (**h**), 171.2 (**q**), 174.5 (**x**).

• **IR (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$)** : 3375 (N-H et O-H stretch), 3060 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch) 2935, 2866 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1705 (OC=O stretch), 1658 (NC=O stretch), 1597 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1516 (N-H bend), 1238 (C-O stretch). **SM** (IC, m/z) : 489 $[\text{MNH}_4]^+$, 472 $[\text{MH}]^+$. **Anal. Calc.** pour $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{NO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}(\%)$: C, 74.51; H, 7.16; N, 2.90. Trouvé : C, 74.43; H, 7.07; N, 2.83. **HPLC** (R_{T} , min) : 1.87 (Macherey-Nagel, MeOH).

(FcOHTAM)₂SA •*N*¹,*N*⁸-bis{4-[1-(4-hydroxy)phényl-2-phénylbut-1-én-1-yl]phényl}subéramideSolide blanc, *Z,Z/E,E* = 35/65.

●**RMN du ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm)** : Isomère *E,E*, δ 0.85 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H : **a**), 1.20-1.38 (m, 4H : **t**), 1.43-1.68 (m, 4H : **s**), 2.19 (t, *J* = 7.5 Hz, 4H : **r**), 2.39 (q, *J* = 7.4 Hz, 4H : **b**), 6.70 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **m**), 6.75 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **g**), 6.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **f**), 7.04-7.13 (m, 6H : **α** et **γ**), 7.17 (t, 4H : **β**), 7.23 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **n**), 9.44 (s, 1H : **i**), 9.68 (s, 1H : **p**). Isomère *Z,Z*, δ 0.85 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H : **a**), 1.20-1.38 (m, 4H : **t**), 1.48-1.68 (m, 4H : **s**), 2.29 (*J* = 7.5 Hz, 4H : **r**), 2.41 (q, *J* = 7.4 Hz, 4H : **b**), 6.40 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **g**), 6.60 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **f**), 7.09 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **m**), 7.04-7.13 (m, 6H : **α** et **γ**), 7.17 (t, 4H : **β**), 7.58 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H : **n**), 9.19 (s, 1H : **i**), 9.90 (s, 1H : **p**).

●**RMN du ¹³C (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm)** : Isomère *E,E*, δ 13.4 (**a**), 25.0 (**s**), 28.5 (**t** et **b**), 36.3 (**r**), 115.0 (**g**), 118.0 (**n**), 126.0 (**γ**), 127.9 (**β**), 129.4 (**α**), 130.2 (**f**), 130.6 (**m**), 133.7 (**e**), 136.9 (**o**), 137.9, 138.0 (**l** et **d**), 140.3 (**c**), 142.2 (**u**), 156.1 (**h**), 171.0 (**q**). Isomère *Z,Z*, δ 13.4 (**a**), 25.1 (**s**), 28.5 (**t**, **b**), 36.4 (**r**), 114.3 (**g**), 118.8 (**n**), 126.0 (**γ**), 127.9 (**β**), 129.3 (**m**), 129.4 (**α**), 131.4 (**f**), 133.4 (**e**), 137.8 (**o**), 138.0, 138.1 (**l** et **d**), 139.9 (**c**), 142.2 (**u**), 155.3 (**h**), 171.2 (**q**).

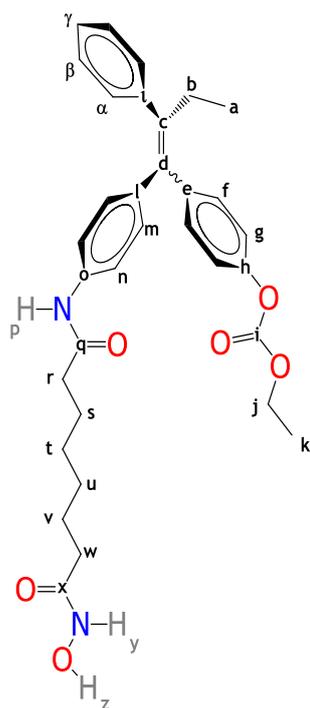
●**IR (KBr, ν_{\max} /cm⁻¹)** : 3313 (N-H et O-H stretch), 3051 (C_{Ar}-H stretch), 2935, 2866 (C_{Alk}-H stretch), 1662 (NC=O stretch), 1597 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1518 (N-H bend), 1246 (C-O stretch).

SM (IC, *m/z*) : 786 [MNH₄]⁺, 769 [MH]⁺. **HPLC** (*R_T*, min) : 2.90 (Macherey-Nagel, MeOH).

C-PhHx •

4-{1-[4-(8-hydroxyamino-8-oxooctanamido)phényl]-2-phénylbut-1-én-1-yl}phényl carbonate d'éthyle

Réactifs et conditions : $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (16.98 mmol, 1.18 g), MeOH (20 mL), KOH (21.23 mmol, 1.19 g), MeOH (20 mL), **OHTAM-OPOA** (4.25 mmol, 2.00 g), THF (15 mL), ClCO_2Et (8.50 mmol, 0.81 mL), Et_3N (8.50 mmol, 1.18 mL). Temps de réaction : 1 h. Éluant pour la colonne : hexane/AcOEt, 1/1. 30% (0.72 g) de produit est obtenu sous la forme d'un solide blanc. $Z/E = 39/61$.



● **RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *E*, δ 0.86 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.15-1.36 (m, 7H : **u**, **t** et **k**), 1.37-1.65 (m, 4H : **v** et **s**), 1.91 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **w**), 2.20 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **r**), 2.39 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 4.18 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H : **j**), 6.74 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 6.80-7.30 (m, 9H : **f**, **g**, α , γ et β), 6.80-7.30 (d, 2H : **n**), 8.66 (s, 1H : **y**), 9.72 (s, 1H : **p**), 10.32 (s, 1H : **z**). Isomère *Z*, δ 0.86 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.15-1.36 (m, 7H : **u**, **t** et **k**), 1.37-1.65 (m, 4H : **v** et **s**), 1.94 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **w**), 2.29 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **r**), 2.41 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 4.25 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H : **j**), 6.74 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 6.80-7.30 (m, 9H : **f**, **g**, α , γ et β), 7.61 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 8.66 (s, 1H : **y**), 9.93 (s, 1H : **p**), 10.32 (s, 1H : **z**).

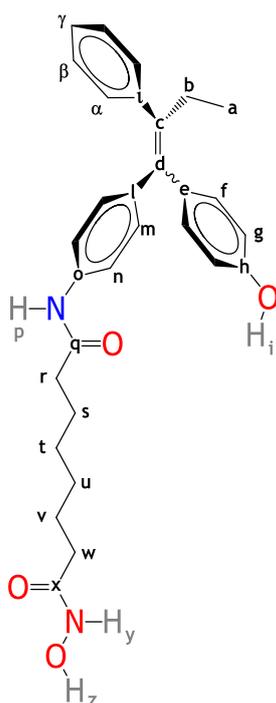
● **RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *E*, δ 13.3 (**a**), 14.0 (**k**), 25.0 (**v** et **s**), 28.4 (**u**, **t** et **b**), 32.3 (**w**), 36.3 (**r**), 64.7 (**j**), 118.2 (**n**), 121.2 (**g**), 126.3 or 126.4 (γ), 128.0 (β), 129.4 (α), 130.1 (**f**), 130.5 (**m**), 137.1 (**o**), 137.2, 137.3, 140.8, 141.6 (**d**, **c**, **e** et **l**), 141.9 (**i**), 149.4 (**h**), 152.8 ou 153.0 (**i**), 169.1 (**x**), 171.1 (**q**). Isomère *Z*, δ 13.3 (**a**), 14.0 (**k**), 25.0 (**v** et **s**), 28.4 (**u**, **t** et **b**), 32.3 (**w**), 36.4 (**r**), 64.7 (**j**), 118.9 (**n**), 120.3 (**g**), 126.3 ou 126.4 (γ), 128.0 (β), 129.4 (α), 131.2 (**f**), 129.4 (**m**), 137.1 (**o**), 137.2, 137.3, 140.8, 141.6 (**d**, **c**, **e**, **l**), 141.9 (**i**), 148.5 (**h**), 152.8 ou 153.0 (**i**), 169.1 (**x**), 171.3 (**q**).

● **IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3240 (N-H et O-H stretch), 3057 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2931, 2862 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1763 (OC=O stretch), 1658 (NC=O stretch), 1597 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1520 (N-H bend), 1254 (C-O stretch). **SM** (IES, m/z) : 581 $[\text{MNa}]^+$ et 557 $[\text{M-H}]^-$. **HPLC** (R_{T} , min) : 2.95 (Kromasil, MeOH).

OHTAM-SAHA •

N^1 -hydroxy- N^8 -{4-[1-(4-hydroxyphényl)-2-phénylbut-1-èn-1-yl]phényl}subéramide

Une solution méthanolique de **C-PhHx** versée dans une solution aqueuse de NaOH. Le mélange est mis en agitation pendant toute la nuit à la température ambiante. Puis, la solution est acidifiée à l'HCl et le produit a été extrait à l'AcOEt. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée. Le brut de la réaction est purifié sur une colonne de gel de silice. Éluant : hexane/AcOEt, 2/3. Le produit est obtenu dans un rendement quantitatif. $Z/E = 40/60$.



●**RMN du 1H** (300 MHz, $(CD_3)_2SO$, ppm) : Isomère *E*, δ 0.85 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.15-1.36 (m, 4H : **u** et **t**), 1.37-1.65 (m, 4H : **v** et **s**), 1.91 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **w**), 2.20 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **r**), 2.39 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 6.70 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 6.75 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **g**), 6.98 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **f**), 7.04-7.13 (m, 3H : **α** et **γ**), 7.17 (t, 2H : **β**), 7.22 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 8.65 (s, 1H : **y**), 9.43 (s, 1H : **i**), 9.68 (s, 1H : **p**), 10.32 (s, 1H : **z**). Isomère *Z*, δ 0.85 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : **a**), 1.15-1.36 (m, 4H : **u** et **t**), 1.37-1.65 (m, 4H : **v** et **s**), 1.94 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **w**), 2.29 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : **r**), 2.41 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : **b**), 6.40 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **g**), 6.60 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **f**), 7.09 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.04-7.13 (m, 3H : **α** et **γ**), 7.17 (t, 2H : **β**), 7.57 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **n**), 8.65 (s, 1H : **y**), 9.18 (s, 1H : **i**), 9.90 (s, 1H : **p**), 10.32 (s, 1H : **z**).

●**RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(CD_3)_2SO$, ppm) : Isomère *E*, δ 13.4 (**a**), 25.0 (**v** et **s**), 28.4 (**u** et **t**), 28.5 (**b**), 32.3 (**w**), 36.3 (**r**), 115.0 (**g**), 118.0 (**n**), 126.0 (**γ**), 127.9 (**β**), 129.4 (**α**), 130.2 (**f**), 130.6 (**m**), 133.7 (**e**), 136.9 (**o**), 137.9 (**l**), 138.0 (**d**), 140.4 (**c**), 142.2 (**i**), 156.1 (**h**), 169.1 (**x**), 171.0 (**q**). Isomère *Z*, δ 13.4 (**a**), 25.0 (**v**), 25.1 (**s**), 28.4 (**u** et **t**), 28.5 (**b**), 32.3 (**w**), 36.4 (**r**), 114.3 (**g**), 118.8 (**n**), 126.0 (**γ**), 127.9 (**β**), 129.3 (**m**), 129.4 (**α**), 131.4 (**f**), 133.4 (**e**), 137.8 (**o**), 138.0 (**d**), 138.1 (**l**), 139.9 (**c**), 142.2 (**i**), 155.3 (**h**), 169.1 (**x**), 171.2 (**q**).

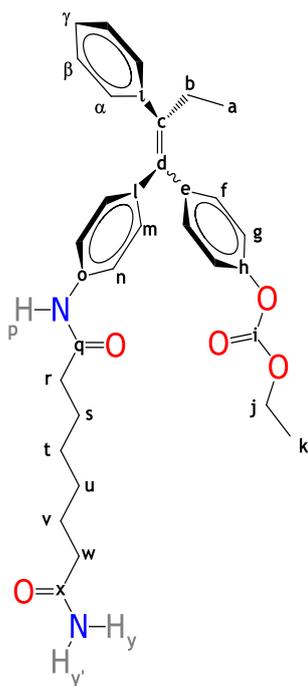
●**IR (KBr, ν_{max}/cm^{-1})**: 3247 (N-H et O-H stretch), 3050 (C_{Ar} -H stretch), 2931, 2864 (C_{Alk} -H stretch), 1652 (NC=O stretch), 1594 ($C_{Ar}=C_{Ar}$ stretch), 1510 (N-H bend), 1259 (C-O stretch). **SM** (IES, m/z) : 509 $[MNa]^+$ et 485 $[M-H]^-$.

●**Anal. Calc.** pour $C_{30}H_{34}N_2O_4 \cdot 3C_4H_8O_2$ (%) : C, 69.88; H, 7.49; N, 4.53. Trouvé : C, 69.40; H, 7.04; N, 5.01. **HPLC** (R_T , min) : 1.73 (Macherey-Nagel, MeOH).

C-PhAm •

4-{1-[4-(8-amino-8-oxooctanamido)phényl]-2-phénylbut-1-èn-1-yl}phényl carbonate d'éthyle

Réactifs et conditions : **OHTAM-PSA** (2.12 mmol, 1.00 g), THF (20 mL) ClCO₂Et (3.18 mmol, 0.3 mL), Et₃N (3.18 mmol, 0.44 mL), NaNH₂ (excès). Temps de réaction : 1 h. Éluant pour la colonne : hexane/AcOEt, 3/2. 43% (0.50 g) de produit est obtenu sous forme d'un solide blanc. Z/E = 44/56.



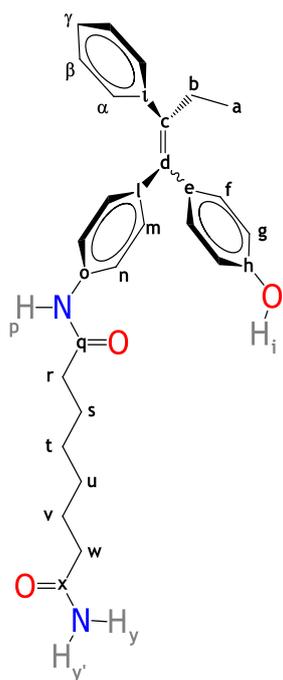
● **RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère *E*, δ 0.86 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.19-1.36 (m, 7H : **u**, **t** et **k**), 1.38-1.66 (m, 4H : **v** et **s**), 2.01 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **w**), 2.20 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **r**), 2.39 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H : **b**), 4.18 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H : **j**), 6.68 (s, 1H : **y'**), 6.74 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **m**), 6.80-7.30 (m, 10H : **f**, **g**, **y**, **α**, **γ** et **β**), 6.80-7.30 (d, 2H : **n**), 9.72 (s, 1H : **p**). Isomère *Z*, δ 0.86 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.19-1.36 (m, 7H : **u**, **t** et **k**), 1.38-1.66 (m, 4H : **v** et **s**), 2.03 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **w**), 2.30 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **r**), 2.41 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H : **b**), 4.25 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H : **j**), 6.68 (s, 1H : **y'**), 6.74 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **m**), 6.80-7.30 (m, 10H : **f**, **g**, **y**, **α**, **γ** et **β**), 7.61 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **n**), 9.93 (s, 1H : **p**).

● **RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère *E*, δ 13.3 (**a**), 14.0 (**k**), 25.0 (**v** et **s**), 28.5 (**u**, **t** et **b**), 35.1 (**w**), 36.3 (**r**), 64.5 ou 64.7 (**j**), 118.1 (**n**), 121.2 (**g**), 126.3 ou 126.4 (**γ**), 128.0 (**β**), 129.3 (**α**), 130.1 (**f**), 130.5 (**m**), 137.1 (**o**), 137.2, 138.1, 140.8, 141.6 (**d**, **c**, **e** et **l**), 141.9 (**ι**), 149.4 (**h**), 152.8 ou 153.0 (**i**), 171.1 (**q**), 174.3 (**x**). Isomère *Z*, δ 13.3 (**a**), 14.0 (**k**), 25.0 (**v** et **s**), 28.5 (**u**, **t** et **b**), 35.1 (**w**), 36.4 (**r**), 64.5 ou 64.7 (**j**), 118.9 (**n**), 120.3 (**g**), 126.3 ou 126.4 (**γ**), 128.0 (**β**), 129.3 (**α** et **m**), 131.2 (**f**), 137.1 (**o**), 137.2, 138.1, 140.8, 141.6 (**d**, **c**, **e** et **l**), 141.9 (**ι**), 148.5 (**h**), 152.8 ou 153.0 (**i**), 171.3 (**q**), 174.3 (**x**).

● **IR (KBr, ν_{\max} /cm⁻¹)**: 3294 (N-H et O-H stretch), 3109, 3051 (C_{Ar}-H stretch), 2931, 2862 (C_{Alk}-H stretch), 1759 (OC=O stretch), 1662 (NC=O stretch), 1597 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1520 (N-H bend), 1254 (C-O stretch). **SM** (IC, *m/z*) : 559 [MNH₄]⁺, 453 [MH]⁺. **HPLC** (*R_T*, min) : 2.99 (Kromasil, MeOH).

OHTAM-PSA • N^1 -{4-[1-(4-hydroxyphényl)-2-phénylbut-1-èn-1-yl]phényl}subéramide

Une solution méthanolique de **C-PhAm** est versée dans une solution aqueuse concentrée de NaOH. Le mélange est mis sous agitation pendant une nuit à température ambiante. Puis, la solution est acidifiée à l'HCl et le produit est extrait à l'AcOEt. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. Le brut de la réaction est purifié sur une colonne de gel de silice. Éluant : hexane/AcOEt, 2/3. Le produit est obtenu avec un rendement quantitatif. Z/E = 41/59.



•**RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère *E*, δ 0.85 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.19-1.36 (m, 4H : **u** et **t**), 1.38-1.66 (m, 4H : **v** et **s**), 2.00 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **w**), 2.20 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **r**), 2.39 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H : **b**), 6.68 (s, 1H : **y'**), 6.70 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **m**), 6.75 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **g**), 6.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **f**), 7.22 (s, 1H : **y**) 7.04-7.13 (m, 3H : **α** et **γ**), 7.17 (t, 2H : **β**), 7.23 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **n**), 9.43 (s, 1H : **i**), 9.68 (s, 1H : **p**). Isomère *Z*, δ 0.85 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **a**), 1.19-1.36 (m, 4H : **u** et **t**), 1.38-1.66 (m, 4H : **v** et **s**), 2.03 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **w**), 2.29 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H : **r**), 2.41 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H : **b**), 6.40 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **g**), 6.60 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **f**), 6.68 (s, 1H : **y'**), 7.22 (s, 1H : **y**), 7.09 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **m**), 7.04-7.13 (m, 3H : **α** et **γ**), 7.17 (t, 2H : **β**), 7.58 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H : **n**), 9.18 (s, 1H : **i**), 9.90 (s, 1H : **p**).

•**RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : Isomère *E*, δ 13.4 (**a**), 25.0 (**v**), 25.0 (**s**), 28.5 (**u**, **t** et **b**), 35.1 (**w**), 36.3 (**r**), 115.0 (**g**), 118.0 (**n**), 126.0 (**γ**), 127.9 (**β**), 129.4 (**α**), 130.2 (**f**), 130.6 (**m**), 133.7 (**e**), 136.9 (**o**), 137.9 (**l**), 138.0 (**d**), 140.3 (**c**), 142.2 (**l**), 156.1 (**h**), 171.0 (**q**), 174.3 (**x**). Isomère *Z*, δ 13.4 (**a**), 25.0 (**v**), 25.1 (**s**), 28.5 (**u**, **t** et **b**), 35.1 (**w**), 36.4 (**r**), 114.3 (**g**), 118.8 (**n**), 126.0 (**γ**), 127.9 (**β**), 129.3 (**m**), 129.4 (**α**), 131.4 (**f**), 133.4 (**e**), 137.8 (**o**), 138.0 (**d**), 138.1 (**l**), 139.9 (**c**), 142.2 (**l**), 155.3 (**h**), 171.2 (**q**), 174.3 (**x**).

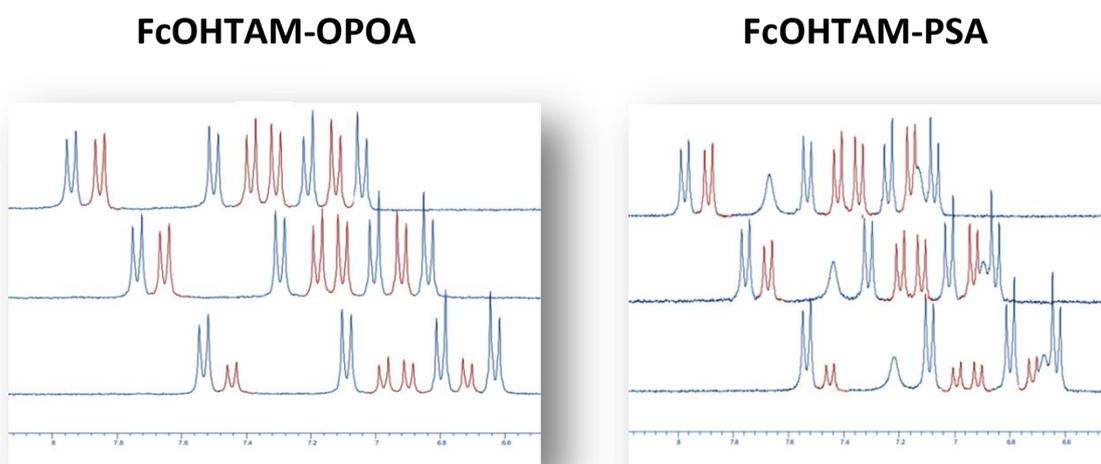
•**IR** (KBr, ν_{\max} /cm⁻¹) : 3308 (N-H et O-H stretch), 3050 (C_{Ar}-H stretch), 2955, 2930, 2859 (C_{Alk}-H stretch), 1667 (NC=O stretch), 1595 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1509 (N-H bend), 1264 (C-O stretch). **SM** (IC, *m/z*) : 488 [MNH₄]⁺, 471 [MH]⁺.

•**Anal. Calc.** pour C₃₀H₃₄N₂O₃•2C₄H₈O₂(%) : C, 74.12; H, 7.49; N, 5.29. Expérimentale : C, 74.71; H, 7.61; N, 5.42. **HPLC** (*R_T*, min) : 1.93 (Macherey-Nagel, MeCN).

4.1 Isomérisation

Les hybrides organiques et organométalliques ont été stockés dans le DMSO- d_6 pendant 30 jours. Des études préalables par RMN bidimensionnelle ont permis d'identifier les signaux correspondants à chaque paire d'isomères *E* et *Z*. Les déplacements chimiques des protons dans les motifs phénol et anilide diffèrent d'un isomère à l'autre. Ainsi, les signaux des protons aromatiques, phénolique (OH) et amidique (NHCO) des deux isomères ont été choisis à des fins de comparaison. Il faut spécifier qu'au niveau structural, les composés **Z-FcOHTAM-SAHA**, **Z-FcOHTAM-PSA** et **Z-FcOHTAM-OPOA** portent le motif anilide en position *trans* par rapport au groupement ferrocényle, tandis que dans les formes *E*, le motif phénol est en position *trans* par rapport à cette entité organométallique.

Les déplacements chimiques pour l'unité **anilide** des isomères *Z* sont de : 9.86 ppm (NH), 7.54 ppm (*ortho*) et 7.09 ppm (*meta*) pendant que pour les formes *E*, ils sont de : 9.81 ppm (NH), 7.45 ppm (*ortho*) et 6.90 ppm (*meta*). Les déplacements chimiques pour l'unité **phénol** des isomères *Z* sont de : 9.30 ppm (OH), 6.64 ppm (*ortho*) et 6.80 ppm (*meta*), et pour les formes *E*, ils sont de : 9.33 ppm (OH), 6.72 ppm (*ortho*) et 6.98 ppm (*meta*). Le Spectre 1 montre la région aromatique pour les hybrides **FcOHTAM-OPOA** et **FcOHTAM-PSA**.



Spectre 1. Spectres de RMN du ^1H pour les isomères *E* (rouge) et *Z* (bleu) de l'acide carboxylique **FcOHTAM-OPOA** et l'amide primaire **FcOHTAM-PSA** à t_0 (inférieur), 3 jours (milieu) et 34 jours (supérieur).

Les valeurs des déplacements chimiques pour les signaux des protons choisis sont regroupées dans le Tableau 3. Nous pouvons voir que dans le cas des hybrides organiques (**OHTAM-**) ces différences de déplacements chimiques ($\Delta\delta$) sont plus grandes en magnitude mais plus proches entre elles.

Tableau 3. Déplacements chimiques (ppm) des signaux choisis pour les isomères *E* et *Z* des hybrides phénoliques.

Unité	Composés organométalliques			Composés organiques			
	<i>E</i>	<i>Z</i>	$\Delta\delta$	<i>E</i>	<i>Z</i>	$\Delta\delta$	
Phénol	OH	9.33	9.30	0.03	9.43	9.18	0.25
	<i>ortho</i>	6.72	6.64	0.08	6.75	6.40	0.35
	<i>meta</i>	6.98	6.80	0.18	6.98	6.60	0.38
Anilide	NH	9.81	9.86	0.05	9.68	9.90	0.22
	<i>ortho</i>	7.45	7.54	0.09	7.23	7.58	0.35
	<i>meta</i>	6.90	7.09	0.19	6.70	7.09	0.39

4.2 Stabilité

Les composés **Fc-aniphol** et **Ph-aniphol** ont montré un comportement particulier dans l'acétone- d_6 . Nous prenons d'exemple le cas du **Ph-aniphol** (Figure 15). Ceci a été analysé par RMN du ^1H à t_0 , 1 h, 24 h et 120 h et le résultat est montré dans le Spectre 2.

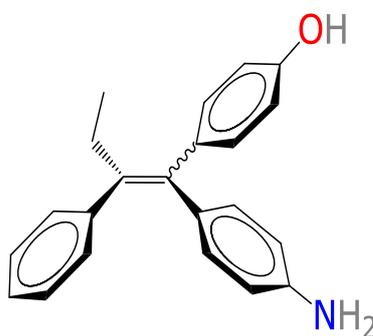
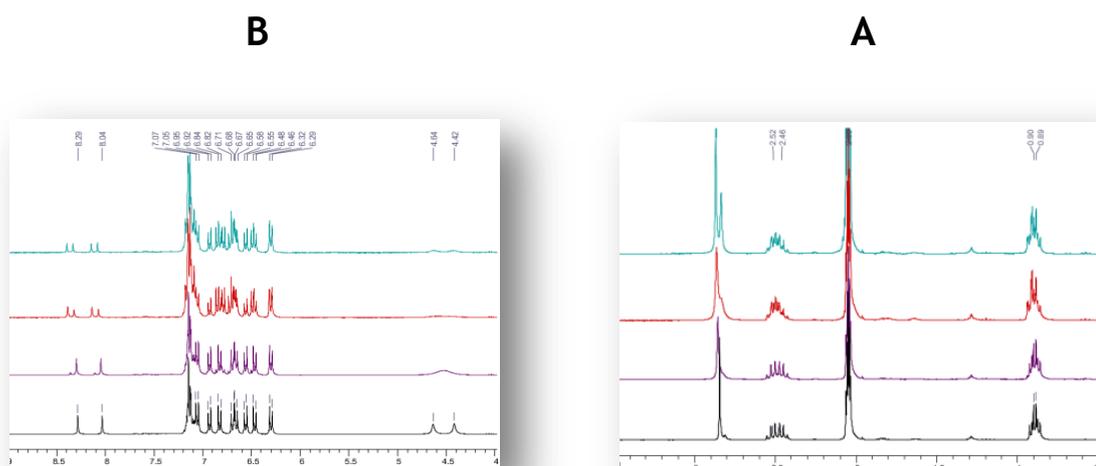


Figure 15. Structure chimique du 4-[1-(4-amino)phényl-2-phénylbut-1-én-1-yl]phénol
Ph-aniphol



Spctre 2. Spectre de RMN du ^1H pour le (*E+Z*)-Ph-aniphol dans la $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ à t_0 , 1h, 24 h et 120 h.

À champ fort (**A**) nous pouvons observer une déformation des triplets à 0.89 ppm et 0.90 ppm assignés aux groupements méthyles (CH_3) des isomères *E* et *Z*, respectivement. Ceci est aussi le cas des quadruplets à 2.46 ppm et à 2.52 ppm pour leur correspondant méthylène (CH_2). À 4.42 ppm et à 4.46 ppm nous trouvons les signaux pour le groupe amino (NH_2) des isomères *E* et *Z*, respectivement, très bien définis. Néanmoins, comme nous pouvons le voir (**B**), leur intensité diminue significativement au cours du temps. Dans la région des aromatiques, la génération de nouveaux signaux à 6.50 ppm, à 6.67 ppm, à 6.72 ppm, à 6.79 ppm et à 6.86 ppm accompagne une diminution de l'intensité des intégrations des signaux existants. Finalement, les signaux à 8.04 ppm et à 8.29 ppm assignés aux protons phénoliques des isomères *Z* et *E*, respectivement, diminuent aussi en intensité avec l'apparition des nouveaux signaux légèrement déplacées à champ faible. Ce comportement est consistant avec les observations faites avec d'autres composés aminés apparentées du Chapitre VI. Ces observations nous conduisent à proposer que ce comportement particulier des anilines avec l'acétone pourrait être dû à la formation de dérivés iminiques (Schéma 9).

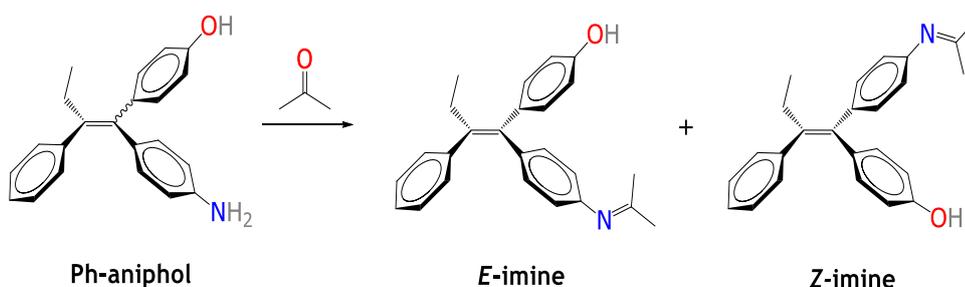
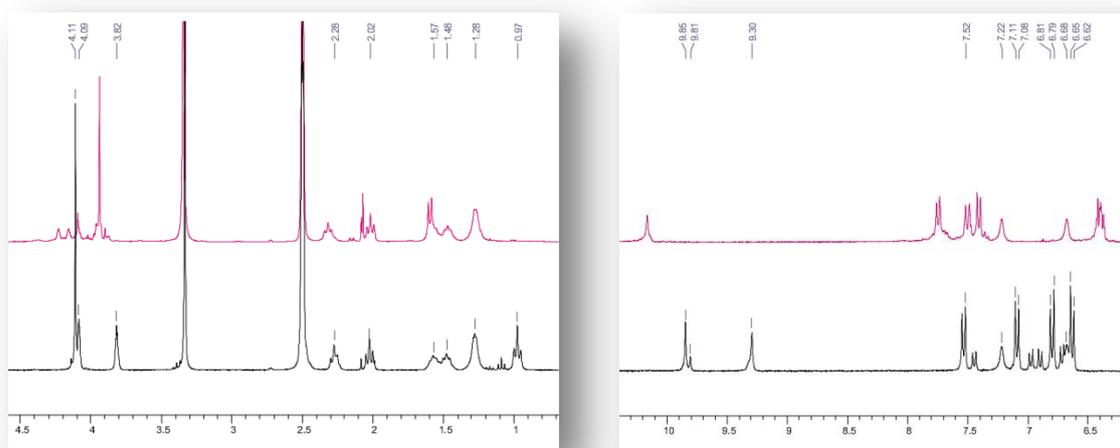


Schéma 9. Réaction de formation possible des imines à partir de l'aniline **Ph-aniphol** avec l'acétone.

Le spectre de masse d'un échantillon du **Ph-aniphol** stocké dans l'acétone montre un pic à $m/z = 356$. Ce qui peut être assigné au composé 4-{2-phényl-1-[4-(propan-2-ylidèneamino)phényl]but-1-én-1-yl}phénol (**Z+E**)-imine, produit de la réaction entre l'acétone et l'aniline. Ceci pourrait mettre l'accent sur les propriétés nucléophiles des anilines qui les font réagir avec des espèces relativement non activées dans des conditions douces. Ceci pourrait également être à l'origine des effets cytotoxiques de ce type de composés.

4.3 FcOHTAM-PSA et FcQMTAM-SAHA

L'analyse par RMN du produit de la réaction d'oxydation de **FcOHTAM-PSA** montre qu'à champ fort, le triplet à 0.97 ppm assigné au méthyle du groupement éthyle (CH_3CH_2) de **FcOHTAM-PSA** a disparu. En revanche, un doublet à 1.60 ppm apparaisse, ceci assignée au méthyle (CH_3CH) du produit insaturé **FcQMTAM-PSA**. L'intégration et le déplacement chimique des méthylènes de la chaîne alkyle ne se voient pas modifiés, sauf pour le triplet à 2.28 ppm assigné au méthylène dans la position α à l'amide secondaire (ArCONHCH_2) qui est légèrement déplacé vers le champ faible. Pour le groupement ferrocényle, nous pouvons voir que les protons du ligand cyclopentadiényle non substitué (Cp) situés à 4.11 ppm se déplacent à champ fort et les triplets à 3.82 ppm et à 4.09 ppm assignés aux protons α et β du Cp monosubstitué se divisent en d'autres signaux déplacés vers le champ faible.



Spectre 3. Sections choisis des spectres de RMN du ^1H pour **FcOHTAM-PSA** (inférieur) et **FcQMTAM-PSA** (supérieur) dans le DMSO-d_6

Dans la région des signaux des protons aromatiques (Spectre 4), on peut voir que quatre doublets y restent mais avec des déplacements chimiques différents. Vers 6.40-6.41 ppm, nous observons la superposition d'un quadruplet et un doublet. Le quadruplet est assigné au méthine (CH_3CH) et le doublet aux protons de la position α à la cétone générée. Il est à noter que les doublets correspondants à l'isomère minoritaire ont disparu. Le singulet à 9.30 ppm assigné à l'OH du phénol a aussi disparu et les signaux à 9.91 ppm et à 9.85 ppm assignés au proton de l'amide aromatique ArNHCO des isomères *Z* et *E*, respectivement, sont devenus un seul singulet plus déplacé.

Comme nous pouvons le constater dans la Figure 16, **FcQMTAM-PSA** ne contient plus le système « but-1-én-1-yle » comme dans le cas du **FcOHTAM-PSA** et les autres dérivés phénoliques. À la place, le système « but-2-én-1-yle » y est présent. Ceci fait que la liaison $\sigma_{\text{C}_1\text{-C}_2}$ générée peut tourner autour de son axe. En revanche, l'apparition du système vinylique $\text{C}_2=\text{C}_3$ entraîne la formation de deux isomères géométriques *E* et *Z*. Des études par RMN bidimensionnelle suggèrent que l'oxydation produit uniquement l'isomère *E*. Dans cette forme isomérique, le groupe méthyle (CH_3) se trouve éloigné du motif ferrocényle.

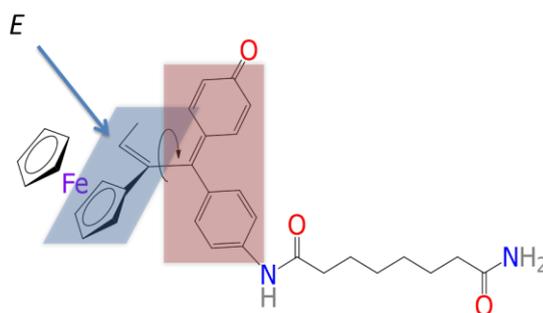


Figure 16. Structure chimique du produit insaturé **FcQMTAM-PSA**.

4.4 Électrochimie

Les voltammogrammes cycliques (CV) ont été enregistrés sur l'appareil potentiostat μ -Autolab 3 opérant avec le logiciel *General Purpose Electrochemical System* (GPES) version 4.8, EcoChemie B.V., Utrecht, Pays-Bas. Une cellule à trois électrodes a été utilisée : une électrode de travail de Pt de 0.5 mm de diamètre, une électrode auxiliaire en acier inoxydable et une électrode de référence de $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{LiCl}_{\text{sat}}$. Le méthanol a été utilisé comme solvant et la solution de mesure est composée de 5 mL de MeOH, d'analyte à une concentration de 0.5 mM et du tétrafluoroborate de tétrabutylammonium (Bu_4NBF_4) à une concentration de 0.1 M, ce dernier est utilisé comme électrolyte de support. Dans certains cas, après l'obtention des premiers CV, 50 équivalents d'imidazole ont été ajoutés aux solutions pour un nouvel enregistrement de CV.

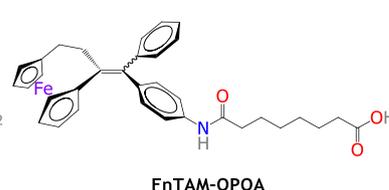
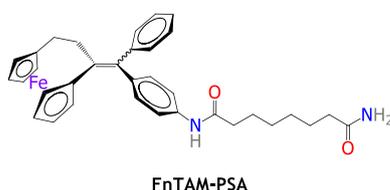
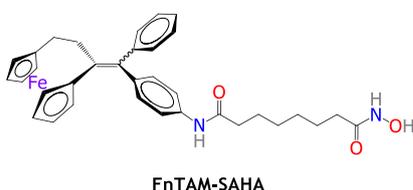
Chapitre V

Rôle de l'entité organométallique

Résumé

Dans ce chapitre nous allons présenter la synthèse et la caractérisation d'une nouvelle famille de trois composés organométalliques dérivés du motif [3]ferrocénophane. Ces composés ont montré des activités antiprolifératives sur les cellules de cancer du sein avec des valeurs d' IC_{50} dans la gamme de 0.8-4.1 μ M. Ces composés sont des analogues de la famille de l'hybride **FcTAM-SAHA** et, par analogie, nous allons nommer le dérivé correspondant ferrocénophanique : **FnTAM-SAHA**. Des études de cytotoxicité sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant révèlent l'effet positif du motif métallocénophane. L'analyse par voltammétrie cyclique montre des comportements similaires entre les composés ferrocéniques et les composés ferrocénophaniques. Cependant, des études identiques sur d'autres dérivés comme les phénols et les anilines suggèrent que ces espèces ne suivent pas le même mécanisme d'activation redox. Ceci pourrait expliquer leur différence d'activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses.

Nouvelles molécules étudiées



1. Introduction

Pendant les quatre dernières années, notre groupe a rapporté les fortes activités antiprolifératives d'une nouvelle famille des composés organométalliques à structures contraintes.^[1] En supposant que les molécules rigides dans une géométrie appropriée peuvent se fixer aux sites actifs de façon plus favorable que les molécules flexibles, on a effectué le remplacement du motif 1-ferrocénylpropylidène (Fcpd) par le motif [3]ferrocénophan-1-ylidène (Fnpd). Une vingtaine de molécules ont été ainsi synthétisées portant différents substituants (R et R') sur les cycles aromatiques, à savoir, bromo, cyano, amino, acétamido, hydroxy, acétoxy et diméthylaminoalkoxy (Figure 1). Des études comparatives d'activité biologique ont montré que cette nouvelle famille de composés ferrocénophaniques (Fnpd) était plus active que celle des composés ferrocéniques (Fcpd). Avec des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire sur les cellules cancéreuses du sein et de la prostate, ces composés ont montré leur forte cytotoxicité *in vitro*.^[2,3]

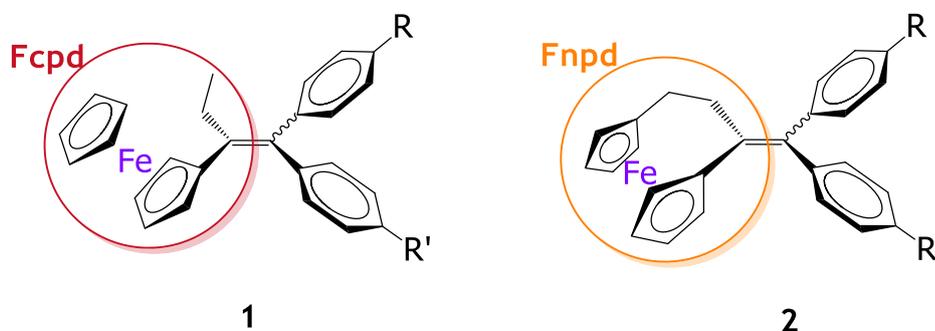


Figure 1. Structures chimiques générales des composés ferrocéniques 1 et ferrocénophaniques 2.

- [1] JS Park, TR Lee. Carbon-bridged ferrocenophanes. In: *Modern Cyclophane Chemistry*; R Gleiter, H Hopf. Eds.; Wiley, 2004, pp 131–157.
- [2] D Plazuk, A Vessières, EA Hillard, O Buriez, E Labbé, P Pigeon, MA Plamont, C Amatore, J Zakrzewski, G Jaouen. A [3]ferrocenophane polyphenol showing a remarkable antiproliferative activity on breast and prostate cancer cell lines. *J Med Chem* **2009**, *52*, 4964–4967
- [3] M Görmen, P Pigeon, S Top, A Vessières, MA Plamont, EA Hillard, G Jaouen. Facile synthesis and strong antiproliferative activity of disubstituted diphenylmethylidene-[3]ferrocenophanes on breast and prostate cancer cell lines. *MedChemCom* **2010**, *1*, 149–151.

Nous avons vu dans les chapitres précédents que, dans les composés hybrides **FcTAM-SAHA**, **FcTAM-PSA** et **FcTAM-OPOA**, le groupe ferrocényle est essentiel pour l'expression de l'effet cytotoxique de ces molécules. De même, nous avons déjà signalé que la nature de la fonction chimique de la chaîne latérale et la taille de cette dernière modulent l'activité biologique des composés et que l'incorporation du motif phénol peut –dans certains cas– activer les agents pour conduire à des espèces potentiellement cytotoxiques. Nous allons maintenant étudier l'effet du remplacement du groupe 1-ferrocénylpropylidène (Fcpd) par le groupe ferrocénophanylidène (Fnpd) dans la série des hybrides. Ce remplacement peut être également vu comme l'attachement du groupement méthyle au cyclopentadiényle (Cp) non substitué pour cycliser le métallocène (Figure 2). Nous avons également réalisé des études électrochimiques afin d'obtenir certaines informations concernant le(s) mécanisme(s) d'activation de ces complexes.

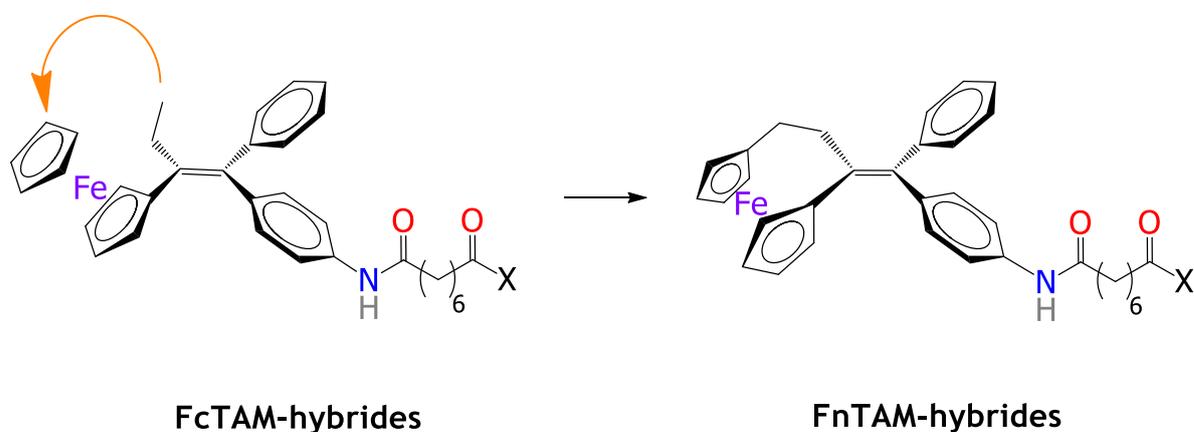


Figure 2. Conception des nouveaux hybrides organométalliques dérivés du motif [3]ferrocénophane

2. Résultats et discussion

2.1 Synthèse

Pour accéder à la nouvelle famille des composés hybrides, nous avons préparé les produits de départ à partir des protocoles publiés dans la littérature.^[1,2] Ainsi, la [3]ferrocénophan-1-one **Fn-one** a été synthétisée par réaction avec le chlorure d'acryloyle dans les conditions de la réaction de Friedel-Crafts (Schéma 1). Nous avons ensuite fait réagir cette cétone avec la 4-aminobenzophénone dans les conditions de la réaction de McMurry pour former, en 5 min, le produit d'hétérocouplage **Fn-aline**.^[3] Finalement, nous avons fait réagir, comme décrit dans les chapitres précédents, la **Fn-aniline** avec le chlorure de subéroyle pour former l'acide carboxylique **FnTAM-OPOA** avec un rendement de 50%. La formation concomitante du bisamide (**FnTAM**)₂SA a été aussi observée.

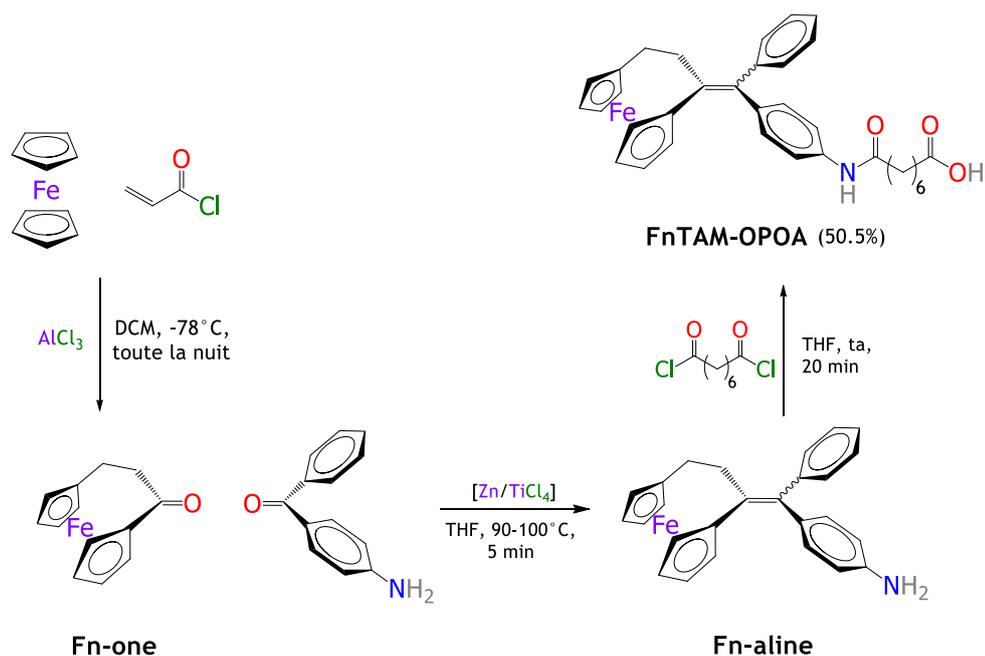


Schéma 1. Réaction de synthèse de la [3]ferrocénophan-1-one.

- [1] TD Turbitt, WE Watts. Bridges ferrocenes. XII. Synthesis of [3]ferrocenophan-1-one from ferrocene by a novel one-step annelation reaction. *J Organomet Chem* **1972**, *46*, 109–117.
- [2] O Dogan, V Senol, S Zeytinci, H Koyuncu, A Bulut. Efficient synthesis of ferrocenylenones by Friedel-Crafts acylation with $\text{EtAlCl}_2\text{-Me}_3\text{Al}$. *J Organomet Chem* **2005**, *690*, 430–434.
- [3] M Görmen, D Plazuk, P Pigeon, EA Hillard, MA Plamont, S Top, A Vessières, G Jaouen. Comparative toxicity of [3]ferrocenophane and ferrocene moieties on breast cancer cells. *Tetrahedron Lett* **2010**, *51*, 118–120.

L'acide hydroxamique **FnTAM-SAHA** et l'amide primaire **FnTAM-PSA** ont été synthétisés à partir de l'activation de l'acide carboxylique **FnTAM-OPOA** (Schéma 2). Ainsi, **FnTAM-SAHA** a été obtenu avec un rendement de 31% à partir de l'attaque nucléophile de NH_2OH . Nous avons supposé que ce faible rendement était la conséquence de la réaction concomitante entre **FnTAM-OPOA** activé et le MeOH pour conduire à l'ester méthylique correspondant. Nous avons donc isolé le sous-produit de cette réaction et après caractérisation, identifié le méthyl ester correspondant qui est décrit dans la partie expérimentale. L'amide primaire **FnTAM-PSA** a été obtenu avec un rendement de 36% à partir de l'attaque nucléophile de NaNH_2 . Les rendements des produits ont été calculés après purification par chromatographie sur colonne et les molécules ont été caractérisées par les techniques spectroscopiques conventionnelles.

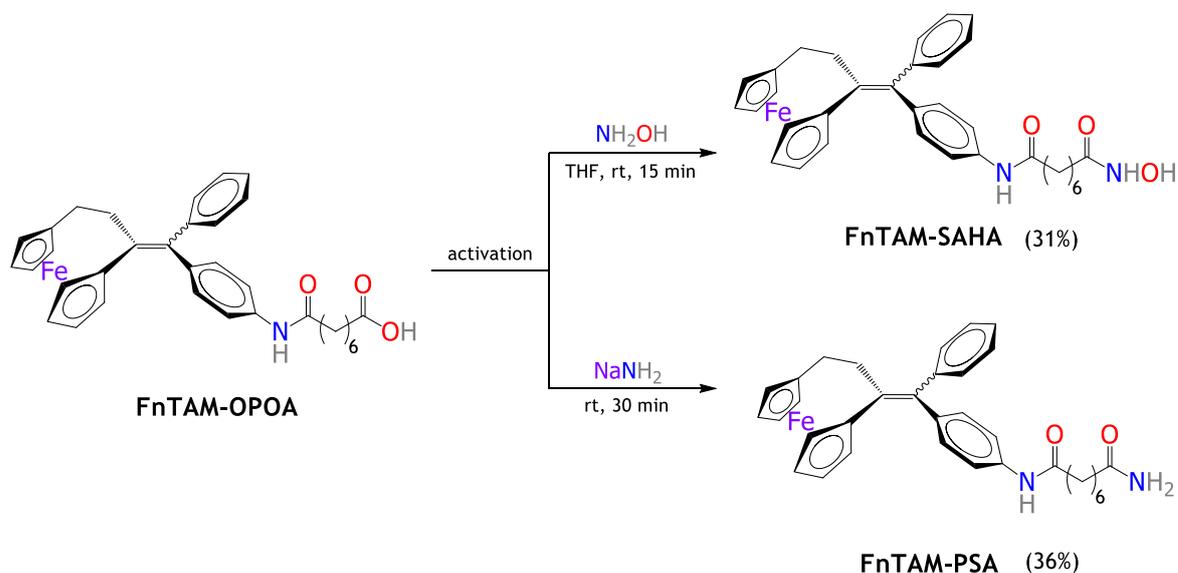
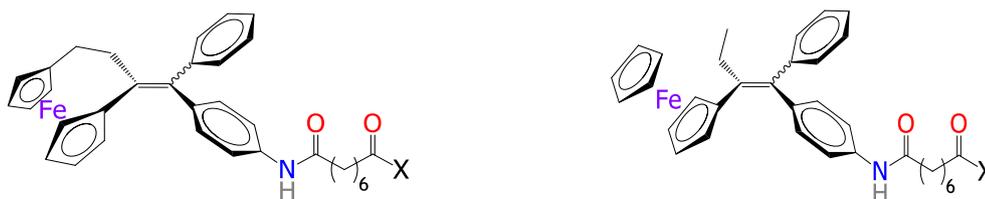


Schéma 2. Synthèse de l'acide hydroxamique **FnTAM-SAHA** et de l'amide primaire **FnTAM-PSA**.

2.2 Activité antiproliférative

Les effets antiprolifératifs d'une concentration élevée (10 μM) de trois composés **FnTAM-SAHA**, **FnTAM-PSA** et **FnTAM-OPOA** ont été d'abord évalués sur les lignées MDA-MB-231 et MCF-7 de cancer du sein dans une étude d'inhibition de la croissance cellulaire. Les résultats ont montré un effet antiprolifératif significatif sur les deux types de cellules étudiés. Les valeurs d' IC_{50} ont alors été déterminées et elles figurent dans Tableau 1. Nous avons inclus, pour comparaison, les valeurs d' IC_{50} de la série des hybrides ferrocéniques correspondants pour comparaison.

Tableau 1. IC_{50} (μM) sur les cellules de cancer du sein^a



	MDA-MB-231	MCF-7		MDA-MB-231	MCF-7
FnTAM-SAHA	0.94 \pm 0.08	0.87 \pm 0.14	FcTAM -SAHA	0.70 \pm 0.07	2.01 \pm 0.07
FnTAM-PSA	0.84 \pm 0.28	1.78 \pm 0.40	FcTAM-PSA	0.50 \pm 0.11	1.81 \pm 0.88
FnTAM-OPOA	2.72 \pm 0.29	4.05 \pm 0.57	FcTAM-OPOA	>10	~10

^a Les mesures ont été faites après 72 h. Les valeurs sont la moyenne de deux manipulations \pm ET.

Les nouveaux composés présentent des valeurs d' IC_{50} dans la gamme de 0.94-2.72 μM sur les cellules MDA-MB-231 et dans la gamme de 0.87-4.05 μM sur les cellules MCF-7. Globalement, ces composés sont légèrement plus actifs sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein triple-négatif. Ceci est également le cas pour la série ferrocénique. Ce comportement a été attribué à l'effet œstrogénique de ce type de composés qui s'exprime à basse concentration (autour de 10 nM).

Sur les cellules MDA-MB-231, le composé le plus actif de la série Fnpd est l'amide **FnTAM-PSA** ($IC_{50} = 0.84 \mu\text{M}$) suivi de près de l'acide hydroxamique **FnTAM-SAHA** ($IC_{50} = 0.94 \mu\text{M}$). L'acide carboxylique **FnTAM-OPOA** ($IC_{50} = 2.72 \mu\text{M}$) est le moins actif des trois. Nous pouvons voir que, sauf pour les acides carboxyliques, les composés ferrocéniques restent plus actifs que les composés ferrocénophaniques sur les cellules de cancer du sein triple-négatif. Ainsi, la modification moléculaire au niveau du métallocène n'augmente pas l'activité des produits avec ces cellules comme on aurait pu s'attendre vu que la modification du métallocène de l'aniline **Fc-aline** par le motif ferrocénophan-1-ylidène (**Fn-aline**) impacte positivement les valeurs d' IC_{50} d'un facteur 5.

Pour le cas des cellules MCF-7, l'acide hydroxamique **FnTAM-SAHA** est le composé le plus actif de la série ($IC_{50} = 0.87 \mu\text{M}$) suivi par l'amide **FnTAM-PSA** ($IC_{50} = 1.78 \mu\text{M}$) et par l'acide carboxylique **FnTAM-OPOA** ($IC_{50} = 4.05 \mu\text{M}$). Nous pouvons voir que globalement la série ferrocénophanique est plus active que la série ferrocénique sur les cellules de cancer du sein hormono-dépendantes. Il est intéressant de noter que l'acide hydroxamique **FnTAM-SAHA** ($IC_{50} = 0.87 \mu\text{M}$) est légèrement plus actif que **SAHA** ($IC_{50} = 1.04 \mu\text{M}$). De telle sorte que la modification structurale au niveau du métallocène apporte une amélioration de la cytotoxicité sur ces cellules.

2.3 Électrochimie

Lors des études de relation structure-activité des complexes dérivés du ferrocifène, leurs propriétés redox ont été explorées par voltammétrie cyclique et corrélées avec leurs effets antiprolifératifs.^[4,5] Nous venons de voir aussi dans le chapitre précédent que des informations utiles peuvent être obtenues à partir de l'analyse électrochimique pour des mécanismes possibles d'activation des molécules actives. Ainsi, nous avons enregistré les voltammogrammes (Figure 3) des composés ferrocénophaniques en absence et en présence d'imidazole.

[4] O Buriez, JM Heldt, E Labbé, A Vessières, G Jaouen, C Amatore. Reactivity and antiproliferative activity of ferrocenyl-tamoxifen adducts with cyclodextrins against hormone-independent breast-cancer cell lines. *Chem Eur J* **2008**, *14*, 8195–8203.

[5] YLK Tan, P Pigeon, S Top, E Labbé, O Buriez, EA Hillard, A Vessières, C Amatore, WK Leonge, G Jaouen. Ferrocenyl catechols: synthesis, oxidation chemistry and anti-proliferative effects on MDA-MB-231 breast cancer cells. *Dalton Trans* **2012**, *41*, 7537–7549.

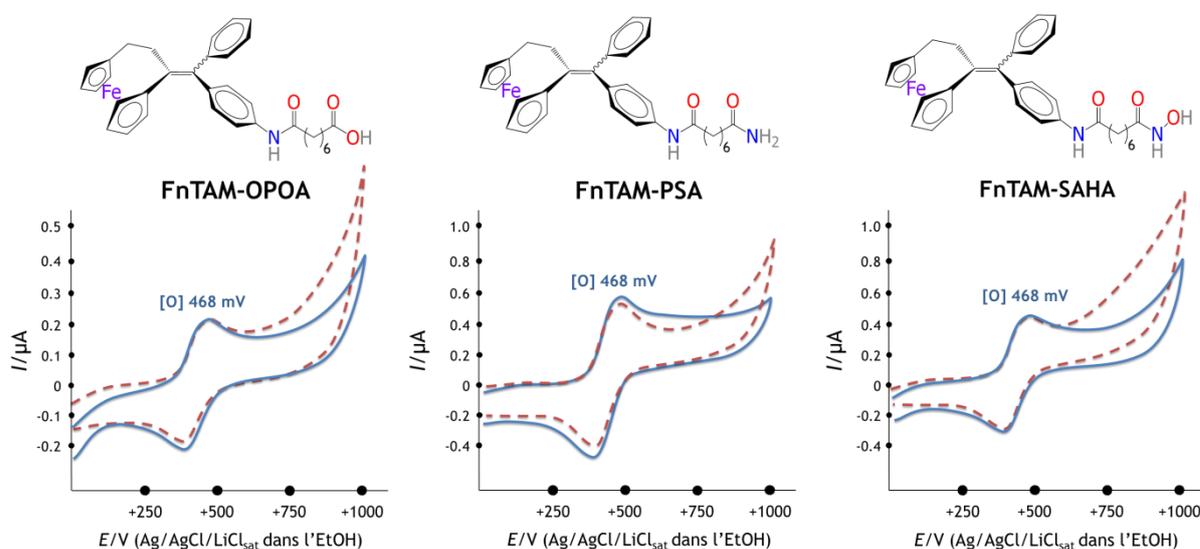


Figure 3. Voltammogrammes cycliques pour les composés de la série des hybrides ferrocénophaniques en absence (bleu) et en présence (rouge) de 50 équivalents d'imidazole.^[6]

Les voltammogrammes des trois composés montrent une vague réversible à un potentiel d'oxydation [O] de 468 mV associée à l'oxydation du Fe^{2+} en Fe^{3+} . Avec une valeur de 468 mV, les composés de la série ferrocénophanique sont légèrement plus faciles à oxyder que les hybrides ferrocéniques (Figure 4). En présence de la base, le comportement des voltammogrammes n'est pas significativement modifié. La vague [O] se situe au même potentiel d'oxydation sans perte de réversibilité. Ce résultat reste en accord avec le comportement des dérivés ferrocéniques **FcTAM-OPOA**, **FcTAM-PSA** et **FcTAM-SAHA**. La similitude des voltammogrammes cycliques des deux séries ferrocénique et ferrocénophanique peut refléter des activités antiprolifératives similaires pour les cellules MDA-MB-231 où nous supposons que les effets redox s'expriment plus favorablement.

[6] Les voltammogrammes ont été enregistrés d'une solution 0.5 mM d'analyte dans une solution 0.1 M de Bu_4NBF_4 dans le MeOH. Électrode de travail : Pt ($\varnothing = 0.5$ mm), électrode auxiliaire : baguette d'acier inoxydable, électrode de référence : Ag/AgCl/LiCl_{sat} dans l'EtOH. Vitesse de balayage : 0.5 V/s.

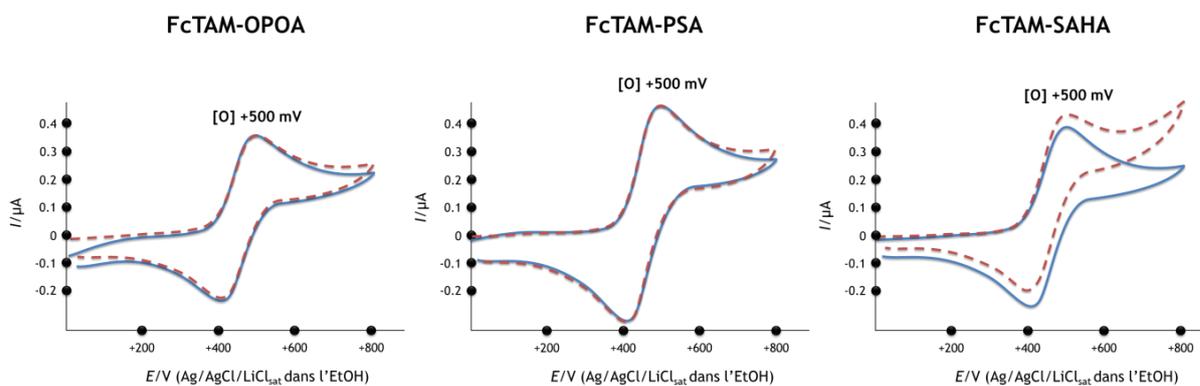


Figure 4. Voltammogrammes cycliques pour les composés de la série des hybrides non-phénoliques en absence (bleu) et en présence (rouge) de 50 équivalents d'imidazole.^[7]

Contrairement à ce que nous avons vu entre les séries ferrocéniques et ferrocénophaniques, nos hybrides sont des exemples particuliers où les deux séries des composés montrent des résultats biologiques similaires. Nous avons vu que, de même que la *O*-alkylation des phénols organométalliques empêche la séquence oxydative par une voie électrochimique,^[8] la *N*-acylation des anilines peut avoir le même effet. Ceci est l'issue tiré du Chapitre VI. Comme nous l'avons vu, tous les hybrides sont le résultat d'une *N*-acylation sur les anilines correspondantes (**Fc-aline** et **Fn-aline**). Ainsi, afin d'explorer leur comportement redox, nous avons enregistré leurs voltammogrammes cycliques dans les mêmes conditions (Figure 5).

[7] Les voltammogrammes ont été enregistrés d'une solution 0.5 mM d'analyte dans une solution 0.1 M de Bu_4NBF_4 dans le MeOH. Électrode de travail : Pt ($\varnothing = 0.5$ mm), électrode auxiliaire : baguette d'acier inoxydable, électrode de référence : Ag/AgCl/LiCl_{sat} dans l'EtOH. Vitesse de balayage : 0.5 V/s.

[8] P Pigeon, S Top, A Vessières, M Huché, M Görmen, M El Arbi, MA Plamont, MJ McGlinchey, G Jaouen. A new series of ferrocifen derivatives, bearing two aminoalkyl chains, with strong antiproliferative effects on breast cancer cells. *New J Chem* **2011**, 35, 2212–2218.

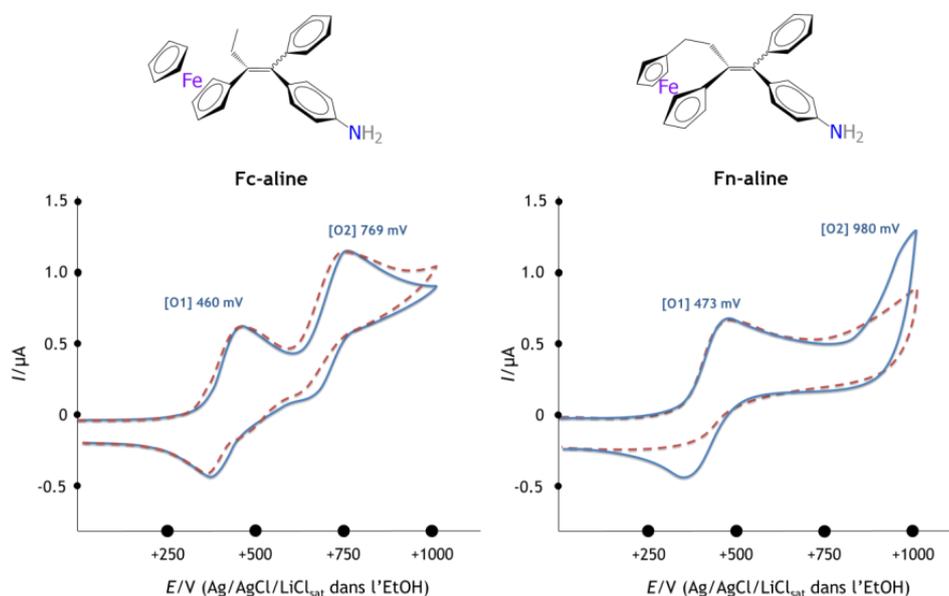


Figure 5. Voltammogrammes cycliques pour les anilines **Fc-aniline** et **Fn-aniline** en absence (bleu) et en présence (rouge) de 50 équivalents d'imidazole.^[9]

Avant l'addition de l'imidazole, le voltammogramme de l'aniline ferrocénique **Fc-aniline** montre deux vagues d'oxydation, la première à [O1] 460 mV et la seconde à [O2] 769 mV. L'aniline ferrocénophanique **Fn-aniline** montre également deux vagues, la première à [O1] 473 mV et la seconde qui commence à apparaître à partir de [O2] 980 mV. Dans les deux cas, [O1] est assignée à l'oxydation du Fe^{2+} en Fe^{3+} . Avec une légère différence de 13 mV, le composé ferrocénique **Fc-aniline** s'oxyde à un potentiel plus faible. La deuxième vague [O2] est attribuée à l'oxydation du motif aniline. De manière intéressante, avec une différence remarquable de 211 mV, ce motif est oxydé avec un potentiel plus fort dans la molécule ferrocénophanique. Ceci signifie que le processus d'oxydation du **Fn-aniline** au niveau du motif aniline est moins favorable.

[9] Les voltammogrammes ont été enregistrés d'une solution 0.5 mM d'analyte dans une solution 0.1 M de Bu_4NBF_4 dans le MeOH. Électrode de travail : Pt ($\varnothing = 0.5$ mm), électrode auxiliaire : baguette d'acier inoxydable, électrode de référence : Ag/AgCl/LiCl_{sat} dans l'EtOH. Vitesse de balayage : 0.5 V/s.

Une des explications possibles à ces différences d'oxydation est le degré de conjugaison dans chaque molécule. Dans la molécule **Fc-aline**, une conjugaison π entre le motif aniline et le groupe organométallique est possible, ce qui fait que les transferts d'électrons entre les deux motifs peuvent se produire (Figure 6). Ceci entraîne l'abaissement de son potentiel d'oxydation [O2]. En revanche, dans le cas de l'analogue ferrocénophanique **Fn-aline**, la contrainte structurale empêche la pleine communication entre les deux motifs.

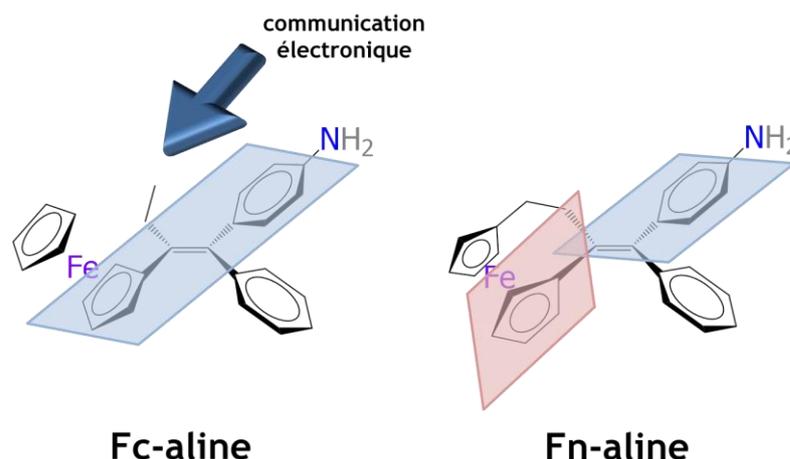


Figure 6. Structures chimiques des composés **Fc-aline** et **Fn-aline**.

En présence de l'imidazole, le voltammogramme de la **Fc-aline** ne montre pas de modifications significatives, seulement un léger décalage de [O2] vers un potentiel plus faible et une légère perte de sa réversibilité. En revanche, le voltammogramme de **Fn-aline** montre des changements substantiels. Nous pouvons voir que [O1] devient irréversible et que [O2] semble se déplacer vers des potentiels encore plus élevés (supérieurs à 1 V). Ce comportement laisse penser qu'après l'addition de la base, le composé oxydé se transforme en un nouveau composé. Nous suggérons la formation du composé montré dans la Figure 7. Ce composé électrogénéré est encore moins susceptible de faciliter l'oxydation du motif aniline.

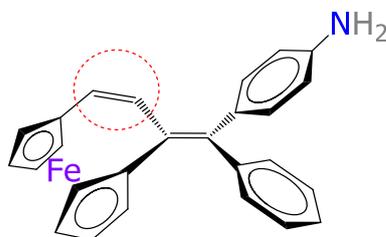


Figure 7. Structure chimique du produit possible électrogénéré à partir de la **Fn-aline** à 473 mV en présence d'une base.

Au vu du comportement bien différent entre les deux séries, nous avons décidé d'examiner d'autres composés de structure plus simplifiée. Ainsi, nous avons choisi les composés carbonyliques précurseurs des anilines, la [3]ferrocénophan-1-one **Fc-one** et le propionylferrocène **Fc-one** (Figure 8).

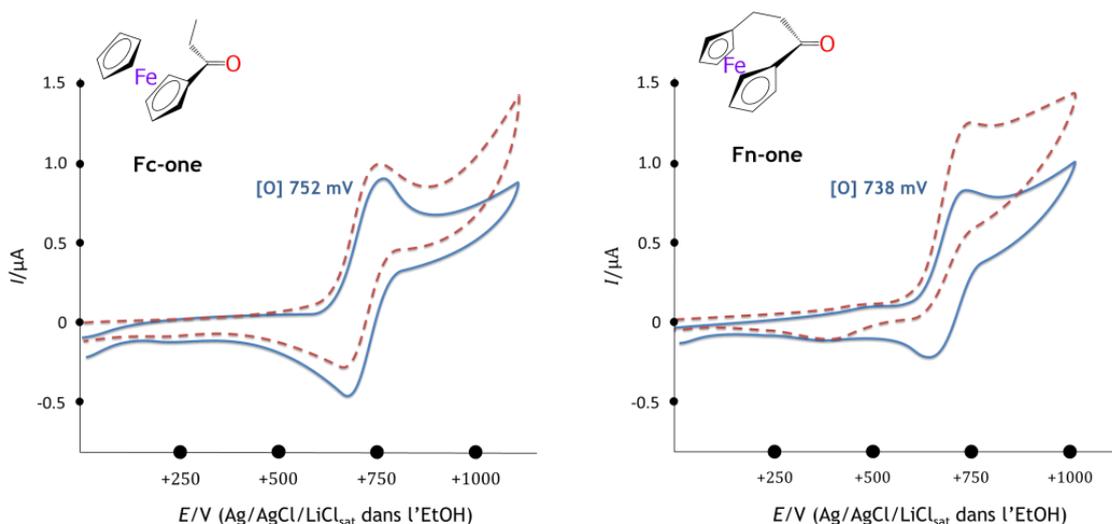


Figure 8. Voltammogrammes cycliques pour les cétones **Fc-one** et **Fn-one** en absence (bleu) et en présence (rouge) de 50 équivalents d'imidazole.^[10]

Sans base, le voltammogramme du **Fc-one** révèle une oxydation réversible à [O] 752 mV. Le potentiel d'oxydation élevé –en comparaison de la **Fc-aline** (470 mV)– peut être expliqué par le fait que la molécule **Fc-one** est moins riche en électrons. Le voltammogramme de la **Fn-one** montre l'oxydation réversible [O] à 738 mV. Quand la base est ajoutée, nous observons que la vague [O] pour **Fc-one** reste réversible au même potentiel. En revanche, celle de la **Fn-one** perd sa réversibilité et une augmentation significative de son intensité est observée. Ceci indique qu'un second transfert électronique s'est produit. Au vu du potentiel d'oxydation requis, nous proposons que cette réactivité électrochimique est produite au niveau du métallocénophane.

[10] Les voltammogrammes ont été enregistrés d'une solution 0.5 mM d'analyte dans une solution 0.1 M de Bu_4NBF_4 dans le MeOH. Électrode de travail : Pt ($\varnothing = 0.5$ mm), électrode auxiliaire : baguette d'acier inoxydable, électrode de référence : Ag/AgCl/LiCl_{sat} dans l'EtOH. Vitesse de balayage : 0.5 V/s.

Pour tenter d'expliquer le comportement observé pour l'oxydation électrochimique irréversible de la [3]ferrocénophan-1-one **Fc-one** en présence d'une base, nous proposons le mécanisme suivant (Schéma 3). **Fc-one** subirait d'abord la perte d'un électron conduisant à un intermédiaire Fe^{3+} qui peut exister sous sa forme mésomère où l'atome d'oxygène devient un cation radical. Cette espèce serait susceptible d'une abstraction d'un proton en α du carbonyle pour former un intermédiaire insaturé qui subirait une deuxième perte électronique. Ce nouvel intermédiaire serait également susceptible d'une deuxième abstraction du proton en position β du carbonyle pour conduire à la formation d'un dérivé α,β -insaturé.

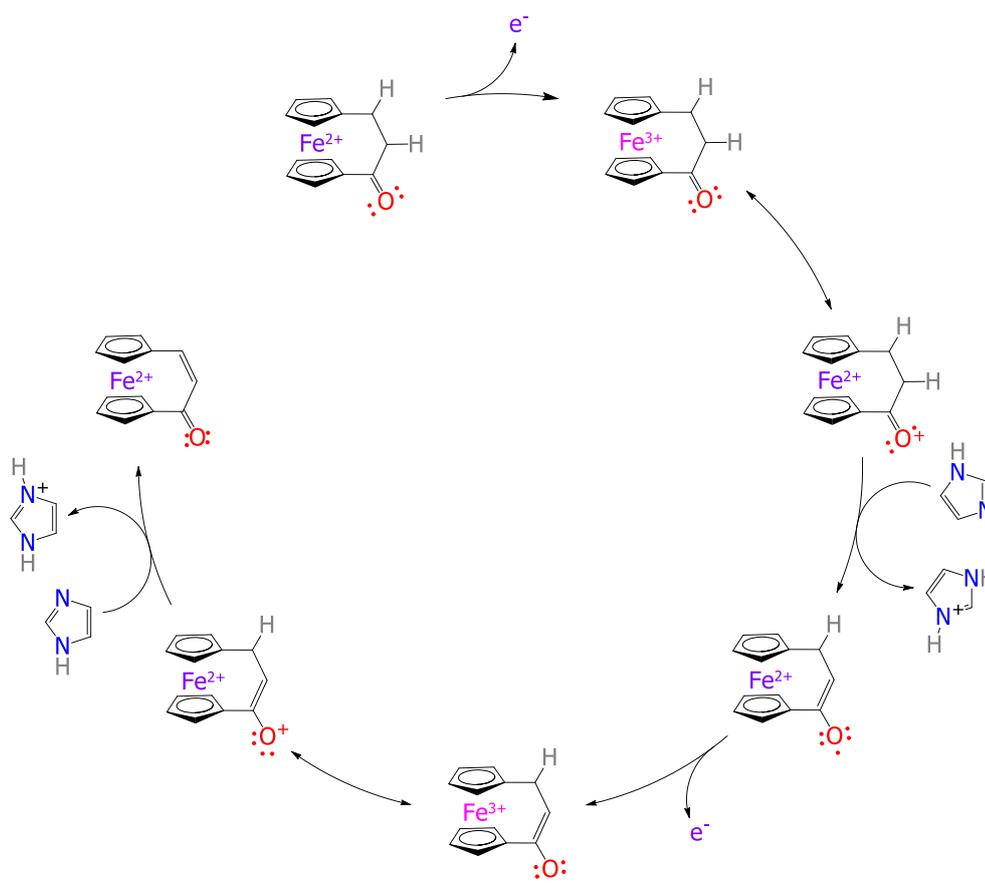


Schéma 3. Mécanisme possible de l'oxydation électrochimique ($-2e^-$, $-2H^+$) de la [3]ferrocénophan-1-one **Fc-one** en présence de base.

Le comportement du **Fn-one** et de la **Fn-aline** est bien différent de celui des composés **FnTAM-SAHA**, **FnTAM-PSA** et **FnTAM-OPOA** où la réversibilité est toujours observée comme dans le cas des hybrides ferrocéniques. Cette réversibilité peut être expliquée par la présence de la fonction amide sur la molécule empêchant le transfert d'électrons. Ce comportement redox des composés ferrocéniques et ferrocénophaniques semble avoir une corrélation avec leurs propriétés cytotoxiques. Les deux séries montrent des effets redox similaires et des activités antiprolifératives similaires sur MDA-MB-231.

3. Conclusion

Nous avons synthétisé et caractérisé une nouvelle famille de composés organométalliques basés sur le motif subéramide. Ces molécules ont montré une activité antiproliférative importante sur les cellules de cancer du sein triple négatif (TNBC) MDA-MB-231 avec des valeurs d'IC₅₀ dans la gamme de 0.84-0.94 μ M. Des études sur leurs effets cytotoxiques pour les cellules du cancer du sein du type hormono-dépendent MCF-7 ont été aussi explorées et un effet positif a été observé quand on passe de la série ferrocénique à la série ferrocénophanique.

L'analyse par électrochimie a montré que les composés hybrides génèrent des voltammogrammes bien différents de ceux de leurs précurseurs. Une réversibilité est toujours observable dans les cas des hybrides ferrocénophaniques et ferrocéniques tandis que, dans les cas des précurseurs, des modifications de voltammogrammes sont présentées. La réversibilité des hybrides pourrait être expliquée par le fait que les propriétés électroniques des produits sont masquées par la *N*-acylation. Par conséquent, l'activité cytotoxique des anilides de la série ferrocénophane doit suivre un mécanisme différent par rapport aux précurseurs. Nous pouvons ainsi réaliser que les propriétés électroniques des composés semblent jouer un rôle très important pour ce qui concerne les effets cytotoxiques.

4. Partie expérimentale

FnTAM-OPOA • Acide 8-[4-([3]ferrocénophan-1-ylidène(phényl)méthyl)anilino]-8-oxooctanoïque

Une solution de **1** (2.47 mmol, 1.0 g) dans 50 mL de THF est lentement ajoutée à température ambiante (pendant 20 min) à une solution de **cls** (3.70 mmol, 0.78 g) dans le THF et sous agitation. Après 20 min de réaction, le mélange est versé dans une solution aqueuse de KOH. Après acidification au HCl, le produit est extrait à l'AcOEt. La phase organique est séchée au MgSO_4 , filtrée et évaporée. Le brut de la réaction est chromatographié sur une colonne de gel de silice. Éluant : hexane/AcOEt, 60/40. La première fraction est identifiée comme le produit de départ **1** non réagi, la seconde fraction est un bisamide obtenu comme le sous-produit de cette réaction et la troisième fraction est identifiée comme le produit désiré. 50% (0.70 g) de l'acide carboxylique **FnTAM-OPOA** est obtenu. Solide jaune. *Z/E* = 88/12.

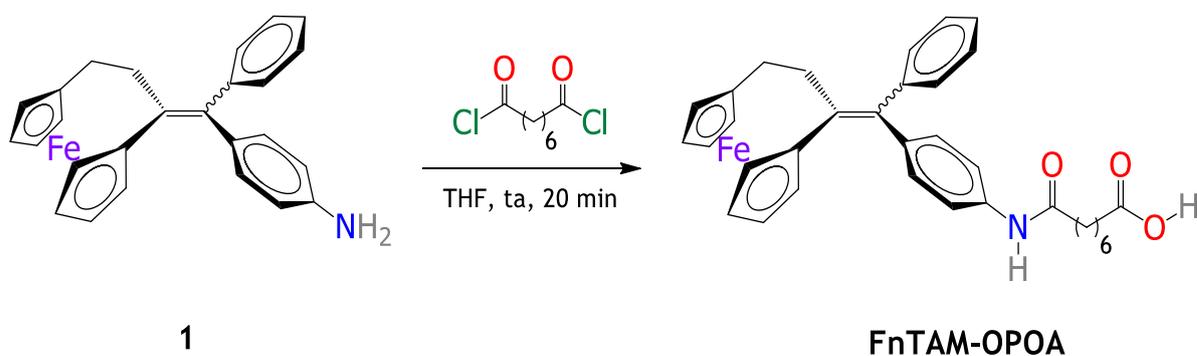
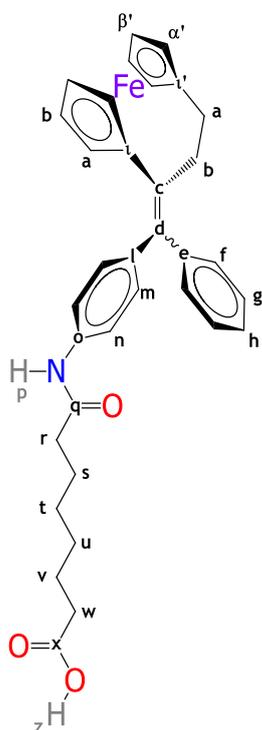


Schéma 4. Synthèse de l'acide carboxylique **FnTAM-OPOA**



●**RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *Z*, δ 1.20-1.35 (m, 4H : **u** et **t**), 1.44-1.54 (m, 4H : **v** et **s**), 2.18 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H : **w**), 2.22 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H : **r**), 2.25-2.35 (m, 2H : **a**), 2.55-2.65 (m, 2H : **b**), 3.95 (t, $J = 1.8$ Hz, 2H : **β'**), 4.00 (s, 4H : **β** et **α**), 4.30 (t, $J = 1.8$ Hz, 2H : **α'**), 6.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.20 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H : **f**), 7.23-7.33 (m, 1H : **h**), 7.30 (d, $J = 8.5$, 2H : **n**), 7.38 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H : **g**), 9.74 et 9.91 pour l'isomère *E* (s, 1H : **p**), 11.97 (s, 1H : **z**).

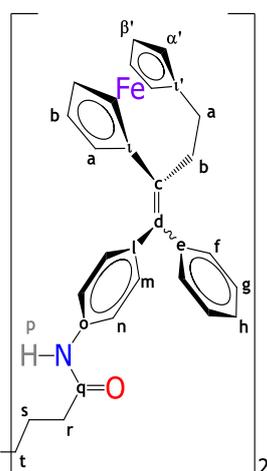
●**RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 24.4 (**v**), 25.0 (**s**), 28.0 (**a**), 28.3 (**u**), 28.4 (**t**), 33.6 (**w**), 36.3 (**r**), 40.2 (**b**), 68.2 (**β'**), 68.6 (**β**), 69.8 (**α**), 70.1 (**α'**), 83.1 (**l**), 86.4 (**l'**), 118.0 (**n**), 126.7 (**h**), 128.3 (**g**), 128.9 (**f**), 130.3 (**m**), 134.1 (**c**), 137.3 (**o**), 137.5 (**l**), 139.9 (**d**), 143.2 (**e**), 171.0 (**q**), 174.4 (**x**).

●**IR (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$)** : 3313 (N-H et O-H stretch), 3089, 3051 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2927, 2854 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1701 (OC=O stretch), 1662 (NC=O stretch), 1593 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1520 (N-H bend). **SM** (IC, m/z) : 579 $[\text{MNH}_4]^+$, 562 $[\text{MH}]^+$.

●**Anal. Calc.** pour $\text{C}_{34}\text{H}_{35}\text{FeNO}_3 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (%) : C, 71.58; H, 6.36; N, 2.46. Trouvé : C, 71.60; H, 6.44; N, 2.08. **HPLC** (R_T , min) : 3.25 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 174-178°C. **R_F** (AcOEt) : 0.68.

(FnTAM) $_2$ SA • N^1, N^8 -bis(4-[[3]ferrocénophan-1-ylidène(phényl)méthyl]phényl)subéramide

Solide jaune, *Z,Z/E,Z* = 75/25.



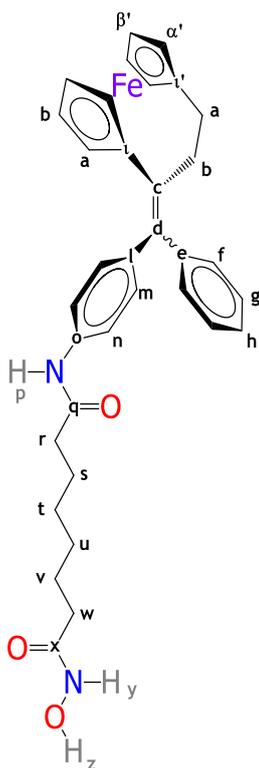
●**RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *Z,Z*, δ 1.20-1.40 (m, 4H : **t**), 1.45-1.55 (m, 4H : **s**), 2.14-2.24 (m, 4H : **r**), 2.25-2.40 (m, 4H : **a**), 2.55-2.65 (m, 4H : **b**), 3.95 (t, $J = 1.8$ Hz, 4H : **β'**), 4.00 (s, 8H : **β** et **α**), 4.30 (t, $J = 1.8$ Hz, 4H : **α'**), 6.86 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H : **m**), 7.20 (d, $J = 7.0$ Hz, 4H : **f**), 7.24-7.32 (m, 6H : **h** et **n**), 7.37 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H : **g**), 9.73 (s, 2H : **p**).

●**RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 25.0 (**s**), 28.0 (**a**), 28.4 (**t**), 36.3 (**r**), 40.2 (**b**), 68.1 (**β'**), 68.6 (**β**), 69.8 (**α**), 70.1 (**α'**), 83.1 (**l**), 86.4 (**l'**), 118.0 (**n**), 126.7 (**h**), 128.3 (**g**), 128.9 (**f**), 130.3 (**m**), 134.1 (**c**), 137.3 (**o**), 137.5 (**l**), 139.9 (**d**), 143.2 (**e**), 171.0 (**q**).

●**IR (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$)** : 3321 (N-H stretch), 3086 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2924, 2854 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1666 (NC=O stretch), 1593 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1520 (N-H bend). **SM** (IC, m/z) : 966 $[\text{MNH}_4]^+$, 949 $[\text{MH}]^+$, (IES, m/z) : 971 $[\text{MNa}]^+$, 948 $[\text{M}]^+$. **HRMS** pour $\text{C}_{60}\text{H}_{56}\text{Fe}_2\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$ calc. : 948.3041. Trouvé : 948.3029. **HPLC** (R_T , min) : 7.65 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 184-186°C. **R_F** (AcOEt) : 0.92.

FnTAM-SAHA • N^1 -[4-{[3]ferrocénophan-1-ylidène(phényl)méthyl}phényl]- N^8 -hydroxysubéramide

Le protocole de synthèse est identique à celui décrit dans la partie expérimentale du Chapitre II. Réactifs et conditions : $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (4.0 mmol, 0.28 g), MeOH (5 mL), KOH (8.0 mmol, 0.45 g) MeOH (10 mL). **FnTAM-OPOA** (1 mmol, 0.56 g), THF (10 mL), ClCO_2Et (2 mmol, 0.19 mL) Et_3N (2.5 mmol, 0.35 mL). La première fraction est identifiée comme un ester, le principal sous-produit de la réaction. Éluant pour la colonne : mélanges hexane/AcOEt. 31% (0.18 g) de produit est obtenu. Solide jaune. $Z/E = 89/11$.



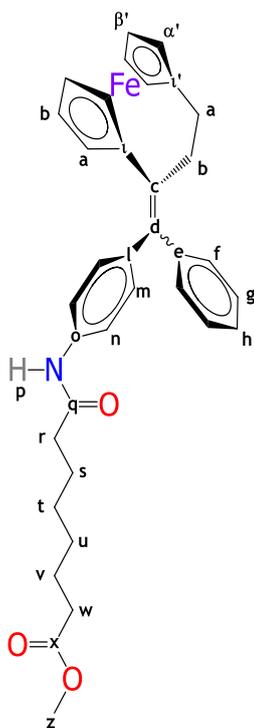
• **RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère Z, δ 1.18-1.33 (m, 4H : **u** et **t**), 1.41-1.57 (m, 4H : **v** et **s**), 1.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H : **w**), 2.22 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H : **r**), 2.26-2.36 (m, 2H : **a**), 2.56-2.65 (m, 2H : **b**), 3.95 (t, $J = 1.8$ Hz, 2H : β'), 4.00 (s, 4H : β et α), 4.29 (t, $J = 1.8$ Hz, 2H : α'), 6.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.20 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H : **f**), 7.24-7.34 (t, 1H : **h**), 7.30 (d, $J = 8.5$, 2H : **n**), 7.37 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H : **g**), 8.67 et 9.0 pour l'isomère E (s, 1H : **y**), 9.76 et 9.93 pour E (s, 1H : **p**), 10.33 (s, 1H : **z**).

• **RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 25.1 (**v** et **s**), 28.0 (**a**), 28.4 (**u** et **t**), 32.3 (**w**), 36.4 (**r**), 40.3 (**b**), 68.2 (β'), 68.6 (β), 69.8 (α), 70.1 (α'), 83.2 (**i**), 86.4 (**t'**), 118.0 (**n**), 126.8 (**h**), 128.3 (**g**), 128.9 (**f**), 130.3 (**m**), 134.1 (**c**), 137.3 (**o**), 137.6 (**l**), 140.0 (**d**), 143.3 (**e**), 169.1 (**x**), 171.1 (**n**).

• **IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3240 (N-H et O-H stretch), 3089, 3051 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2923, 2854 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1658 (NC=O stretch), 1597 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1520 (N-H bend). **SM** (IES, m/z) : 575 $[\text{M-H}]^-$ et 599 $[\text{MNa}]^+$.

• **Anal. Calc.** pour $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{FeN}_2\text{O}_3 \cdot \frac{1}{2}\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ (%) : C, 69.68; H, 6.50; N, 4.51. Trouvé : C, 69.67; H, 6.87; N, 4.62. **HPLC** (R_{T} , min) : 3.62 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 118-120°C. **R_F** (AcOEt) : 0.12.

8-[4-[[3]ferrocénophan-1-ylidène(phényl)méthyl]anilino]-8-oxooctanoate de méthyle

Solide jaune. *Z/E* = 85/15.

● **RMN du ^1H** (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : Isomère *Z*, δ 1.19-1.34 (m, 4H : **u** et **t**), 1.43-1.63 (m, 4H : **v** et **s**), 2.22 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H : **w**), 2.27 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H : **r**), 2.26-2.37 (m, 2H : **a**), 2.56-2.67 (m, 2H : **b**), 3.56 (s, 3H : **z**), 3.95 (t, $J = 1.8$ Hz, 2H : **β'**), 4.01 (s, 4H : **β** et **α**), 4.30 (t, $J = 1.8$ Hz, 2H : **α'**), 6.86 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.20 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H : **f**), 7.24-7.34 (t, 1H : **h**), 7.30 (d, $J = 8.5$, 2H : **n**), 7.37 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H : **g**), 9.76 et 9.93 pour *E* (s, 1H : **p**).

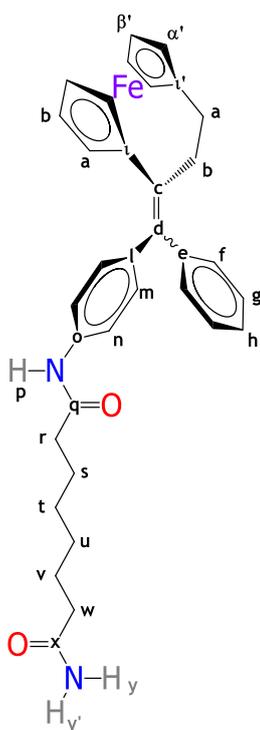
● **RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 24.3 (**v**), 24.9 (**s**), 28.0 (**a**), 28.2 (**u**), 28.3 (**t**), 33.2 (**w**), 36.3 (**r**), 40.3 (**b**), 51.2 (**z**), 68.2 (**β'**), 68.6 (**β**), 69.8 (**α**), 70.1 (**α'**), 83.1 (**t**), 86.4 (**t'**), 118.0 (**n**), 126.7 (**h**), 128.3 (**g**), 128.9 (**f**), 130.3 (**m**), 134.1 (**c**), 137.3 (**o**), 137.5 (**l**), 139.9 (**d**), 143.2 (**e**), 171.1 (**q**), 173.3 (**x**).

● **IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3302 (N-H stretch), 3086, 3051 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2931, 2854 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1735 (OC=O stretch), 1662 (NC=O stretch), 1597 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1523 (N-H bend).

SM (IC, m/z) : 593 $[\text{MNH}_4]^+$, 576 $[\text{MH}]^+$, (ESI, m/z): 598 $[\text{MNa}]^+$, 575 $[\text{M}]^+$. **HRMS** pour $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{FeNO}_3$ $[\text{M}]^+$ calc.: 575.2123. Trouvé : 575.2130. **HPLC** (R_T , min) : 4.38 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 103-107°C. **R_f** (AcOEt) : 0.90.

FnTAM-PSA • N¹-(4-[[3]ferrocénophan-1-ylidène(phényl)méthyl]phényl)subéramide

Réactifs et conditions : **FnTAM-OPOA** (1 mmol, 0.56 g), THF (10 mL), ClCO₂Et (2 mmol, 0.19 mL), Et₃N (2.5 mmol, 0.35 mL), NaNH₂ (excès). Eluant pour la colonne : mélanges hexane/AcOEt. 36% (0.20 g) de produit est obtenu. Solide jaune. *Z/E* = 96/4.



● **RMN du ¹H** (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : isomère *Z*, δ 1.24 (brs, 4H : **u** et **t**), 1.42-1.60 (m, 4H : **v** et **s**), 2.01 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H : **w**), 2.22 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H : **r**), 2.26-2.38 (m, 2H : **a**), 2.55-2.70 (m, 2H : **b**), 3.95 (brs, 2H : β'), 4.01 (s, 4H : β et α), 4.29 (brs, 2H : α'), 6.66 (s, 1H : γ'), 6.86 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **m**), 7.20 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H : **f**), 7.15-7.25 (s, 1H : **y**), 7.24-7.34 (t, 1H : **h**), 7.30 (d, $J = 8.5$, 2H : **n**), 7.37 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H : **g**), 9.76 et 9.93 pour l'isomère *E* (s, 1H : **p**).

● **RMN du ¹³C** (75 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 25.1 (**v** et **s**), 28.0 (**a**), 28.5 (**u** et **t**), 35.1 (**w**), 36.4 (**r**), 40.3 (**b**), 68.2 (β'), 68.7 (β), 69.8 (α), 70.2 (α'), 83.2 (**i**), 86.5 (**t'**), 118.0 (**n**), 126.8 (**h**), 128.3 (**g**), 129.0 (**f**), 130.3 (**m**), 134.2 (**c**), 137.3 (**o**), 137.6 (**l**), 140.0 (**d**), 143.3 (**e**), 171.2 (**q**), 174.4 (**x**).

● **IR** (KBr, $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$) : 3394, 3325 (N-H stretch), 3093 (C_{Ar}-H stretch), 2927, 2854 (C_{Alk}-H stretch), 1662 (NC=O stretch), 1597 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1519 (N-H bend). **SM** (IC, m/z) : 578 [MNH₄]⁺, 561 [MH]⁺, 406 [MH-C₈H₁₃NO₂]⁺.

● **Anal. Calc.** pour C₃₄H₃₆FeN₂O₂•½H₂O(%) : C, 71.70; H, 6.55; N, 4.92. Trouvé : C, 70.82; H, 6.51; N, 5.10. **HRMS** pour C₃₄H₃₆FeN₂O₂ [M]⁺ calc.: 560.2126. Trouvé : 560.2109. **HPLC** (R_T , min) : 3.70 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 171-172°C. **R_F** (AcOEt) : 0.18.

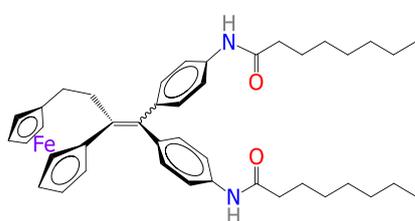
Chapitre VI

Rôle des substituants des cycles aromatiques

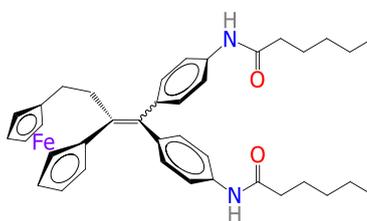
Résumé

Afin d'évaluer l'impact des motifs structuraux comme les fonctionnalisations et la conjugaison sur l'activité antiproliférative des complexes ferrocéniques sur les cellules cancéreuses, une nouvelle famille de dérivés azotés a été synthétisée, caractérisée et étudiée. Ces composés sont du type 4,4'-([3]ferrocénophan-1-ylidèneméthylène)dianilide et dianilines tétraméthylées dérivées de la cétone de Michler. Une méthode alternative de synthèse de la 4,4'-([3]ferrocénophan-1-ylidèneméthylène)dianiline *via* un hétérocouplage de McMurry est décrite et des études électrochimiques sont également présentés.

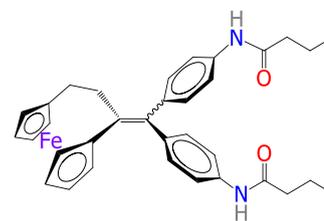
Nouvelles molécules étudiées



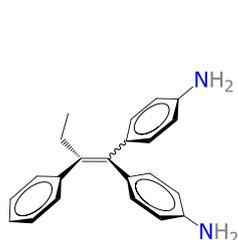
Fn-diOCT



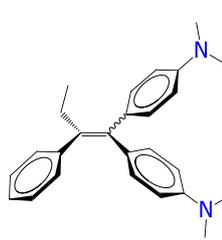
Fn-diHEX



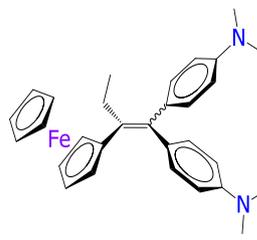
Fn-diBUT



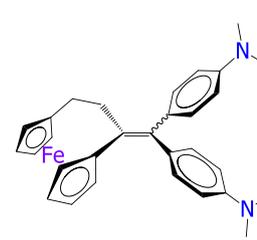
Ph-dialine



Ph-dialineTM



Fc-dialineTM



Fn-dialineTM

1. Introduction

Généralement, les propriétés antiprolifératives des médicaments à base de métaux sont attribuées à leurs interactions avec l'ADN comme il a été proposé pour le cas du cisplatine.^[1] Cependant, comme nous avons vu dans les chapitres précédents, notre groupe de travail s'est intéressé à la synthèse d'une nouvelle classe de complexes organométalliques ayant des activités cytotoxiques et cytostatiques qui semblent être liées à des mécanismes non génomiques et qui peuvent représenter une alternative pour le traitement de cancers ayant développé une résistance aux médicaments ou pour ceux encore incurables en raison de voies mécanistiques nouvelles.

Nous avons trouvé que les polyphénols organiques comme le resvératrol **res** (Figure 1) ou le 4,4'-(2-phénylbut-1-én-1,1-diyl)diphénol **Ph-diphol** peuvent être activés *via* l'incorporation d'unités organométalliques dans leurs squelettes pour offrir une réponse biologique différente. Par exemple, pendant que **Ph-diphol** stimule la croissance des lignées cellulaires MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant, le dérivé ferrocénique 4,4'-(2-ferrocénylbut-1-én-1,1-diyl)diphénol **Fc-diphol** montre une forte activité antiproliférative, non seulement sur les cellules MCF-7 mais aussi sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein triple négatif.^[2,3]

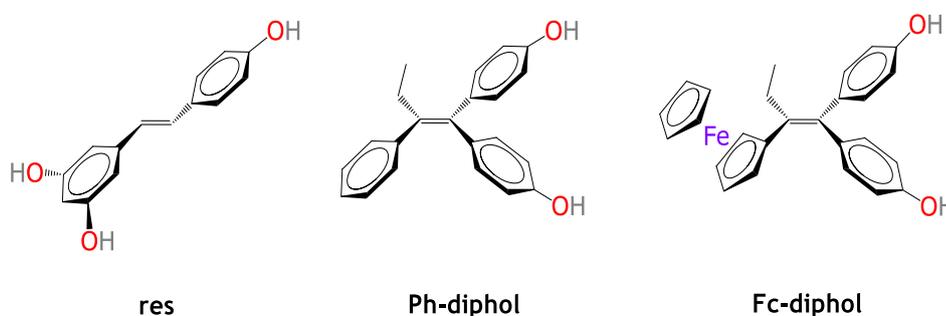


Figure 1. Structures chimiques du resvératrol, du 4,4'-(2-phénylbut-1-én-1,1-diyl)diphénol **Ph-diphol** et du 4,4'-(2-ferrocénylbut-1-én-1,1-diyl)diphénol **Fc-diphol**.

- [1] SM Cohen, SJ Lippard. Cisplatin: from DNA damage to cancer chemotherapy. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* **2001**, 67, 93–130.
- [2] S Top, A Vessières, G Leclercq, J Quivy, J Tang, J Vaissermann, M Huché, G Jaouen. Synthesis, biochemical properties and molecular modelling studies of organometallic specific estrogen receptor modulators (SERMs), the ferrocifens and hydroxyferrocifens : evidence for an antiproliferative effect of hydroxyferrocifens on both hormone-dependent and hormone-independent breast cancer cell lines. *Chem Eur J* **2003**, 9, 5223–5236.
- [3] A Vessières, S Top, P Pigeon, E Hillard, L Boubeker, D Spera, G Jaouen. Modification of the estrogenic properties of diphenols by the incorporation of ferrocene. Generation of antiproliferative effects *in vitro*. *J Med Chem* **2005**, 48, 3997–3940.

Comme nous l'avons déjà signalé préalablement, en addition de la possibilité de génération *in cellulo* d'espèces réactives d'oxygène (ROS),^[4] un autre mécanisme impliquant la production d'espèces électrophiles est également envisageable.^[5] L'oxydation du groupement 1-(4-hydroxyphényl)but-1-én-1,2-diyle –catalysée de façon intermoléculaire par le passage réversible ferrocényle/ferricinium en présence d'une base– produit des métabolites insaturés (Schéma 1). Ainsi, le groupement ferrocényle conjugué au groupement 4-hydroxyphényle est un motif essentiel pour la cytotoxicité de ce type de produits.^[6] D'après ce mécanisme d'activation redox, des espèces portant d'autres fonctionnalités protiques et oxydables peuvent présenter le même type de comportement.

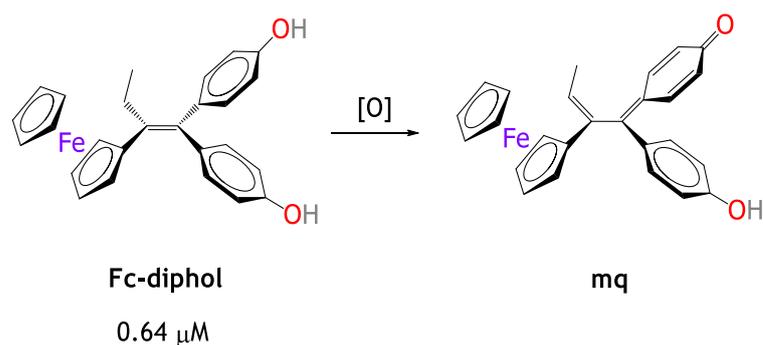


Schéma 1. Oxydation du 4,4'-(2-ferrocénylbut-1-én-1,2-diyl)diphénol **Fc-diphol** et sa valeur d'IC₅₀ sur les cellules MDA-MB-231.

- [4] WA Wlassoff, CD Albright, MS Sivashinski, A Ivanova, JG Appelbaum, RI Salganik. Hydrogen peroxide overproduced in breast cancer cells can serve as an anticancer prodrug generating apoptosis-stimulating hydroxy radicals under the effect of tamoxifen-ferrocene conjugate. *J Pharm Pharmacol* **2007**, *59*, 1549–1553.
- [5] E Hillard, A Vessières, L Thouin, G Jaouen, C Amatore. Ferrocene-mediated proton-coupled electron transfer in a series of ferrocifen-type breast-cancer drug candidates. *Angew Chem Int Ed* **2006**, *45*, 285–290.
- [6] EA Hillard, P Pigeon, A Vessières, C Amatore, G Jaouen. The influence of phenolic hydroxy substitution on the electron transfer and anti-cancer properties of compounds based on the 2-ferrocenyl-1-phenyl-but-1-ene motif. *Dalton Trans* **2007**, *43*, 5073–5081.

Dans ce contexte, lors des études sur différents produits, il a été trouvé que des composés ayant des fonctionnalités chimiques amino (NH_2) et acétamido (NHCOCH_3) étaient aussi actifs contre les cellules cancéreuses.^[7,8] Il a été rapporté que l'aniline **Fc-aline** –à l'image du diphenol **Fc-diphol**– subissait une séquence d'oxydation favorisée par une base^[9] conduisant à la formation des dérivés insaturés correspondants (Schéma 2). L'existence d'espèces apparentées a été déjà rapportée pour le métabolisme de quelques xénobiotiques comme l'agent antibactérien triméthoprime.^[10,11]

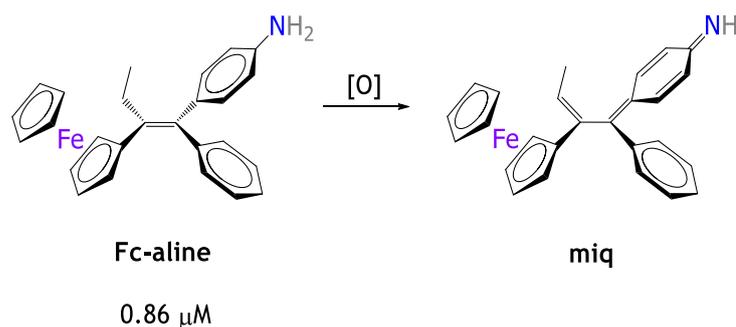


Schéma 2. Oxydation du 4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)aniline **Fc-aline** et sa valeur d' IC_{50} sur les cellules MDA-MB-231.

Il a été proposé que ces espèces insaturées sont potentiellement réactives en présence de nucléophiles comme les thiols, les composés polyhydroxylés et la cytosine. De même, ils peuvent réagir avec des diénophiles électrodéficients.^[12] Ainsi, les propriétés cytotoxiques des amino-analogues comme **Fc-aline** peuvent être fortement liées au caractère électrodonneur de l'hétéroatome qui active le système π -conjugué. En plus, comme nous l'avons déjà introduit, cette activation redox est dépendante d'une base. Par conséquent, les protons acides dans les substituants aromatiques doivent être des éléments importants pour le design moléculaire de composés efficaces pour engendrer des effets cytotoxiques.

- [7] P Pigeon, S Top, O Zekri, EA Hillard, A Vessières, MA Plamont, O Buriez, E Labbé, M Huché, S Boutamine, C Amatore, G Jaouen. The replacement of a phenol group by an aniline or acetanilide group enhances the cytotoxicity of 2-ferrocenyl-1,1-diphenyl-but-1-ene compounds against breast cancer cells. *J Organomet Chem* **2009**, 694, 895–901.
- [8] O Zekri, EA Hillard, S Top, A Vessières, P Pigeon, MA Plamont, M Huché, S Boutamine, MJ McGlinchey, H Müller-Bunz, G Jaouen. Role of aromatic substituents on the antiproliferative effects of diphenyl ferrocenyl butane compounds. *Dalton Trans* **2009**, 22, 4318–4326.
- [9] O Buriez, E Labbé, P Pigeon, G Jaouen, C Amatore. Electrochemical attachment of a conjugated amino-ferrocifen complex onto carbon and metal surfaces. *J Electroanal Chem* **2008**, 619, 169–175.
- [10] WG. Lai, N Zahid, JP Uetrecht. Metabolism of trimethoprim to a reactive iminoquinone methide by activated human neutrophils and hepatic microsomes. *J Pharm Exp Ther* **1999**, 291, 292–299.
- [11] MC Damsten, JSB de Vlieger, WMA Niessen, H Irth, NPE. Vermeulen, JNM Commandeur. Trimethoprim: novel reactive intermediates and bioactivation pathways by cytochrome P450s. *Chem Res Toxicol* **2008**, 21, 2181–2187.
- [12] G Bucher. A laser flash photolysis study on 2-azido-*N,N*-diethylbenzylamine – the reactivity of iminoquinone methides in solution. *Eur J Org Chem* **2001**, 2463–2475.

Par ailleurs, le composé **Fc-alide** (Schéma 3) –qui a également révélé une activité antiproliférative contre les cellules MDA-MB-231– ne subit pas une séquence d’oxydation stimulée par une base dans les mêmes conditions que pour l’amine **Fc-aline** ou le diphenol **Fc-diphol**. Dès lors, nous avons proposé que le mécanisme d’activation redox pouvait se produire une fois que l’amide **Fc-alide** était convertie *in vitro* en l’amine **Fc-aline** par des phénomènes d’hydrolyse enzymatique.^[13]

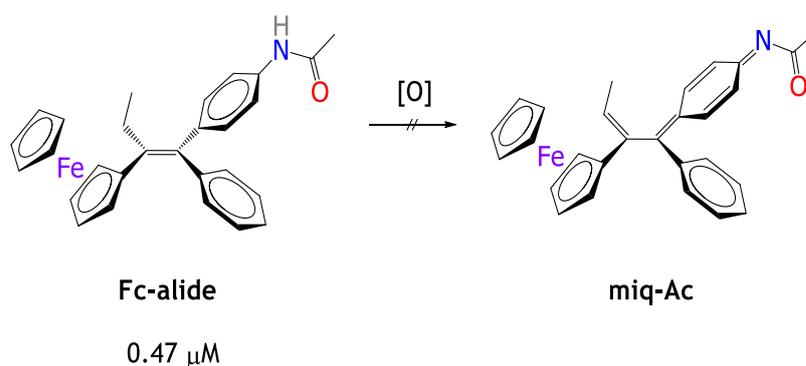


Schéma 3. Oxydation du 4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)acétanilide **Fc-alide** non observable et sa valeur d’IC₅₀ sur les cellules MDA-MB-231.

D’un autre côté –comme souligné dans le chapitre précédent– notre groupe a prouvé que le remplacement de l’entité 1-ferrocénylpropylidène (Fcpd) par le [3]ferrocénophan-1-ylidène (Fnpd) produisait des espèces encore plus actives contre les cellules cancéreuses.^[14] Par exemple, la 4-[[3]ferrocénophan-1-ylidène(phényle)méthyl]aniline **Fn-aline** (Figure 2) est quatre fois plus active que son homologue **Fc-aline** sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein triple négatif.^[15] Cette activité est encore renforcée par l’incorporation d’un deuxième motif anilino comme dans le cas du composé **Fn-dialine**.^[16]

[13] K Sakano, S Oikawa, Y Hiraku, S Kawanishi. Mechanism of metal-mediated DNA damage induced by a metabolite of carcinogenic acetamide. *Chem Biol Interact* **2004**, *149*, 51–59.

[14] D Plazuk, A Vessières, EA Hillard, O Buriez, E Labbé, P Pigeon, MA Plamont, C Amatore, J Zakrzewski, G Jaouen. A [3]Ferrocenophane polyphenol showing a remarkable antiproliferative activity on breast and prostate cancer cell lines. *J Med Chem* **2009**, *52*, 4964–4967.

[15] M Görmen, D Plazuk, P Pigeon, EA Hillard, MA Plamont, S Top, A Vessières, G Jaouen. Comparative toxicity of [3]ferrocenophane and ferrocene moieties on breast cancer cells. *Tetrahedron Lett* **2010**, *51*, 118–120.

[16] M Görmen, P Pigeon, S Top, EA Hillard, M Huché, CG Hartinger, F de Montigny, MA Plamont, A Vessières, G Jaouen. Synthesis, cytotoxicity, and compare analysis of ferrocene and [3]ferrocenophane tetrasubstituted olefin derivatives against human cancer cells. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 2039–2050.

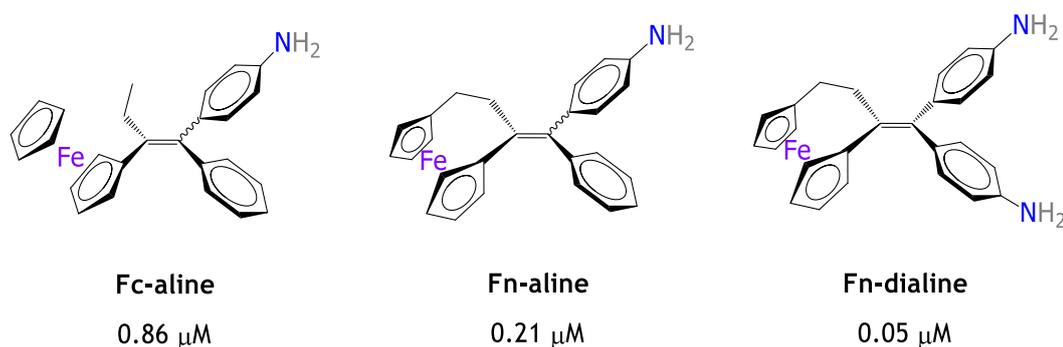


Figure 2. Structures chimiques des anilines des séries **Fcpd** et **Fnpd** avec leur valeurs d' IC_{50} sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein triple négatif.

Il est important de souligner que les résultats sur ce type de composés suggèrent fortement que les espèces portant un motif **Fnpd** ne subissent pas une séquence d'oxydation semblable à celle des analogues de type **Fcpd**. Ainsi, l'intervention d'autres motifs structuraux pour l'activation redox pourrait être à l'origine de l'excellente activité de la série **Fnpd**.

Dans ce chapitre, nous décrivons la synthèse et la caractérisation d'une nouvelle série de composés **Fnpd** portant des chaînes latérales non fonctionnalisées. Avec ces composés, nous explorerons l'impact de la longueur de la chaîne, le rôle de la fonctionnalisation chimique et l'importance de l'unité organométallique sur l'activité antiproliférative. Nous rapporterons également la synthèse et la caractérisation de trois nouvelles dianilines tétraméthylées dérivées de la cétone de Michler. Avec ces composés, nous évaluerons l'importance des atomes d'hydrogène sur de la dianiline **Fn-dialine**. De même, nous présenterons la formation de l'analogue organique **Ph-dialine** de la dianiline organométallique **Fn-dialine**. Avec ce composé, nous analyserons l'impact du remplacement du motif **Fnpd**. Il est donc attendu que ces nouveaux composés « bloqués » montrent des faibles effets antiprolifératifs à la vue des hypothèses établies concernant les impératifs structuraux des composés à fortes activités cytotoxiques. En outre, une méthode alternative concernant la synthèse de l'amine 4,4'-([3]ferrocénophan-1-ylidèneméthylène)dianiline **Fn-dialine** est décrite. Pour finir, des études par voltammétrie cyclique des composés sont discutées et un mécanisme pour expliquer les empêchements de la formation des dérivés insaturés par voie électrochimique à partir des *N*-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]alkanamides est proposé.

2. Résultats et discussion

2.1 Synthèse

2.1.1 Synthèse alternative de la dianiline **Fn-dialine**

Le protocole rapporté pour la synthèse de la dianiline organométallique 4,4'-([3]ferrocénophan-1-ylidène)aniline **Fn-dialine** implique deux étapes (Schéma 4) : (i) une réaction d'hétérocouplage de McMurry entre la [3]ferrocénophan-1-one et la *N,N'*-[carbonylbis(4,1-phénylène)]diacétamide –formée préalablement par réaction d'acétylation à partir de la 4,4'-diaminobenzophénone– qui produit, après trois jours de reflux, un intermédiaire diamide qui a été (ii) hydrolysé pendant quatre heures. A la fin de ces étapes longues, le produit a été obtenu avec un rendement de 34%. Nous montrons maintenant qu'il est possible de réaliser la réaction d'hétérocouplage de type McMurry directe à partir de la [3]ferrocénophan-1-one et la 4,4'-diaminobenzophénone. En une seule étape, on obtient le produit **Fn-dialine** avec un rendement de 42% en 15 min. Cette méthode non seulement produit un meilleur rendement mais est aussi beaucoup plus rapide.

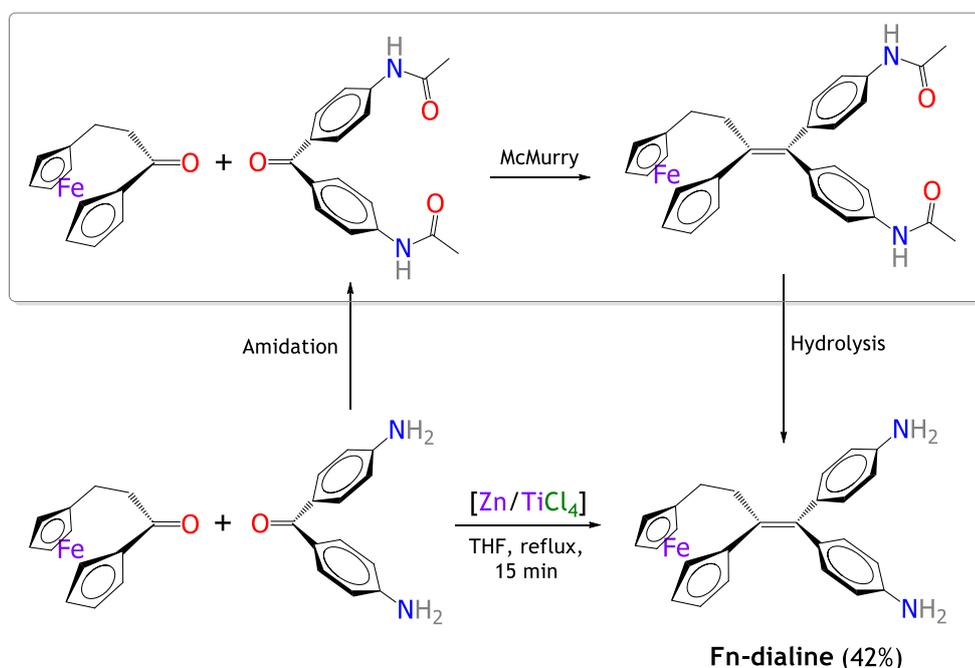
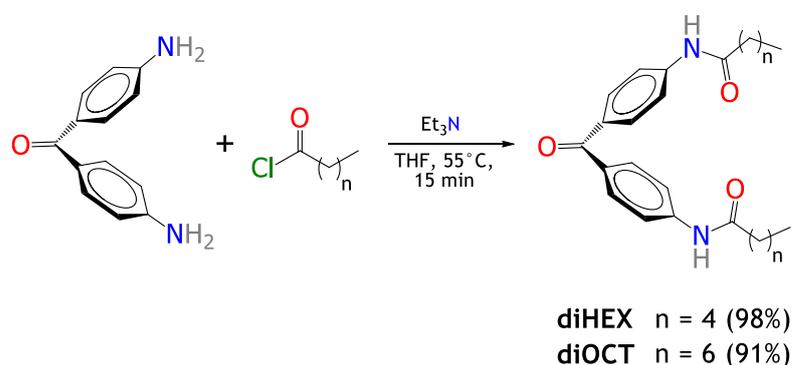


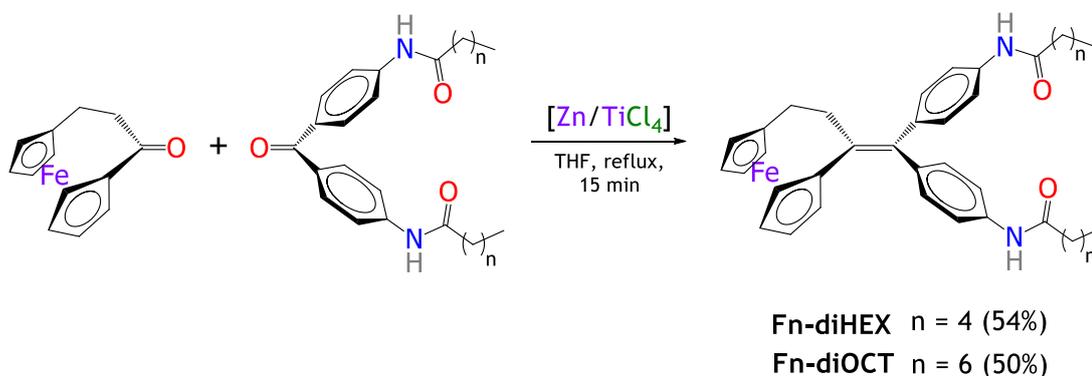
Schéma 4. Voies de synthèse de la 4,4'-([3]ferrocénophan-1-ylidène)dianiline **Fn-dialine**.

2.1.2 Synthèse de diamides **Fn-diBUT**, **Fn-diHEX** et **Fn-diOCT**

Les *N,N'*-[([3]ferrocénophan-1-ylidèneméthylène)bis(4,1-phénylène)]dialkanamides dérivés de la dianiline **Fn-dialine** et les chlorures de butyryle (**bu**), hexanoyle (**he**) et octanoyle (**oc**) peuvent être préparés selon deux voies. La voie-A implique, dans un premier temps, la réaction d'amidation de la 4,4'-diaminobenzophénone avec les chlorures d'acyle correspondants en présence de la triéthylamine (Schéma 5). Les produits sont obtenus avec d'excellents rendements (plus de 90%).

Schéma 5. Réactions d'amidation pour former les composés **dihex** et **dioc**.

Dans un deuxième temps, une réaction d'hétérocouplage entre la [3]ferrocénophan-1-one et les *N,N'*-[carbonylbis(4,1-phénylène)]dialkanamides formés préalablement a été réalisée (Schéma 6). Les produits ont été obtenus avec des rendements supérieurs à ceux que l'on attendrait pour une réaction d'hétérocouplage de type McMurry.

Schéma 6. Réactions de McMurry pour former les amides **Fn-diHEX** et **Fn-diOCT**.

Selon la Voie-B, le chlorure d'acyle correspondant réagit avec la **Fn-dialine** en présence de triéthylamine (Et_3N) pour former le produit souhaité (Schéma 7). Les composés **Fn-diBUT** et **Fn-diOCT** ont été obtenus avec des très bons rendements, égaux ou supérieurs à 80 %.

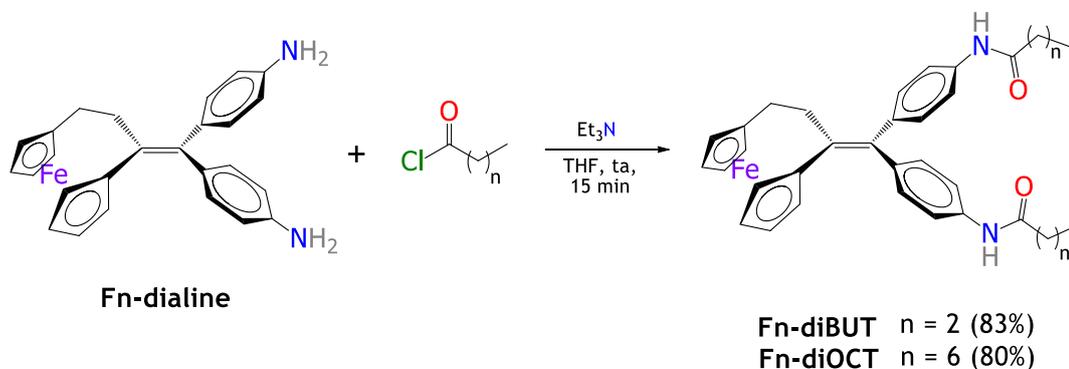


Schéma 7. Réactions d'amidation pour former les amides **Fn-diBUT** et **Fn-diOCT**.

2.1.3 Synthèse de la dianiline organique **Ph-dialine**

Afin d'évaluer l'effet du motif [3]ferrocénophan-1-ylidène (Fnpd) dans l'activité antiproliférative de l'aniline **Fn-dialine**, un analogue organique portant le groupement 1-phénylpropylidène (Phpd) à la place du Fnpd a été synthétisé. Ainsi, la 4,4'-(2-phénylbut-1-ène-1,1-diyl)dianiline **Ph-dialine** a été préparée *via* une réaction directe d'hétérocouplage de McMurry à partir de la propiophénone et la 4,4'-diaminobenzophénone dans les mêmes conditions que pour **Fn-dialine**. Le produit organique **Ph-dialine** est obtenu en 5 min de réaction (Schéma 8). Cette aniline s'est avérée très stable en solution dans le DMSO par périodes longues. En revanche, elle ne l'est pas dans l'acétone comme c'était le cas du **Ph-aniphol** du Chapitre IV. Nous supposons que ces espèces sont capables de réagir avec l'acétone pour former des imines.

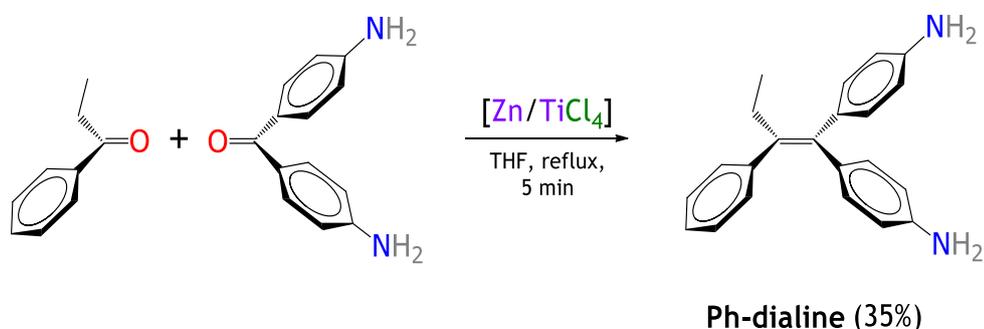


Schéma 8. Réaction d'hétérocouplage de McMurry pour l'obtention de **Ph-dialine**.

2.1.4 Synthèse des dianilines tétraméthylées

Afin d'évaluer l'effet de l'absence des protons sur les atomes d'azote de la dianiline organométallique **Fn-dialine**, son analogue tétraméthylé a été synthétisé. La réaction d'hétérocouplage de McMurry entre la [3]ferrocénophan-1-one et la [bis(4-(diméthylamino)phényl)méthanone (cétone de Michler) a permis d'obtenir **Fn-dialineTM** en 25 min avec un rendement de 41% (Schéma 9).

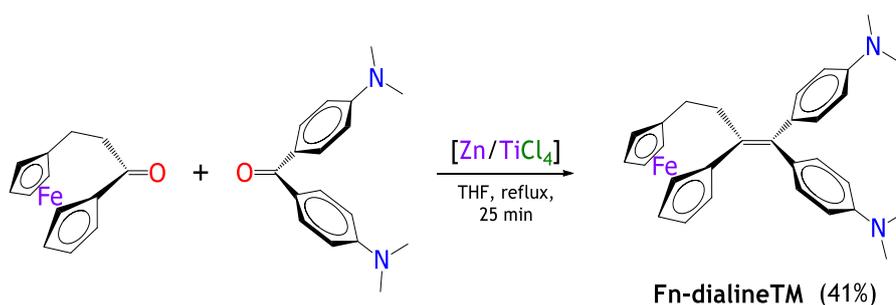


Schéma 9. Réaction d'hétérocouplage McMurry pour l'obtention de la dianiline **Fn-dialineTM**.

De la même manière, les analogues tétraméthylés des deux anilines primaires : (i) l'organique **Ph-dialine** et (ii) l'inexistante organométallique 4,4'-(2-ferrocénylbut-1-ène-1,1-diyl)dianiline ont été aussi préparés. Ainsi, la propiophénone et le propionylferrocène ont réagi indépendamment avec la cétone de Michler selon la réaction de McMurry (Schéma 10).

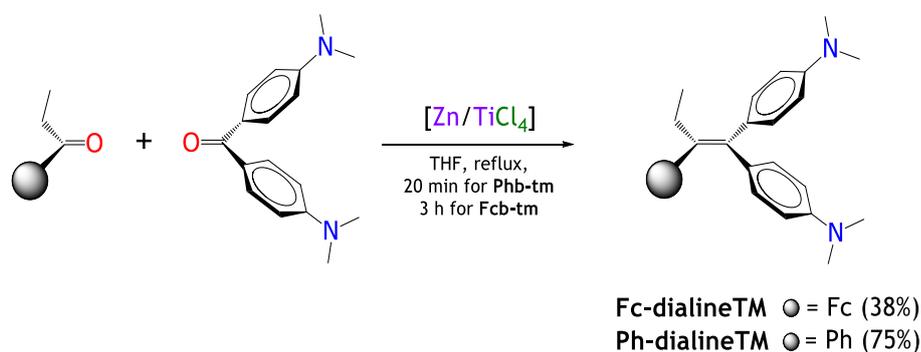


Schéma 10. Réaction d'hétérocouplage de McMurry pour l'obtention de dianilines **Fc-dialineTM** et **Ph-dialineTM**.

On remarque que la dianiline **Ph-dialineTM** a été obtenue avec un rendement inhabituellement élevé (75%) pour une réaction de McMurry où il y a toujours formation de produits d'homocouplage. Il semble que le couple propiophénone et cétone de Michler est une bonne combinaison pour former un produit d'hétérocouplage. D'un autre côté, la dianiline ferrocénique **Fc-dialineTM** inattendue a été obtenue tandis que son analogue, l'amine primaire n'a pas encore été synthétisée dans les mêmes conditions.

2.2 Activité biologique

2.2.1 Activité antiproliférative des dianilides

On a déterminé dans un premier temps, l'influence de l'amidation de la **Fn-dialine** sur son activité antiproliférative (Schéma 11). Avec une valeur d'IC₅₀ de 0.05 μM sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein,^[1] la **Fn-dialine** est l'un des meilleurs composés anticancéreux de cette série. Les premiers produits étudiés sont les diamides portant différentes longueurs de chaîne alkylque **Fn-diBUT**, **Fn-diHEX** et **Fn-diOCT**. Ce sont des composés qui ne portent pas de fonctionnalité chimique au bout de la chaîne latérale. Les résultats concernant leur cytotoxicité sur les cellules MCF-7 de cancer du sein hormono-dépendant et sur les cellules MDA-MB-231 sont regroupés au Tableau 1.

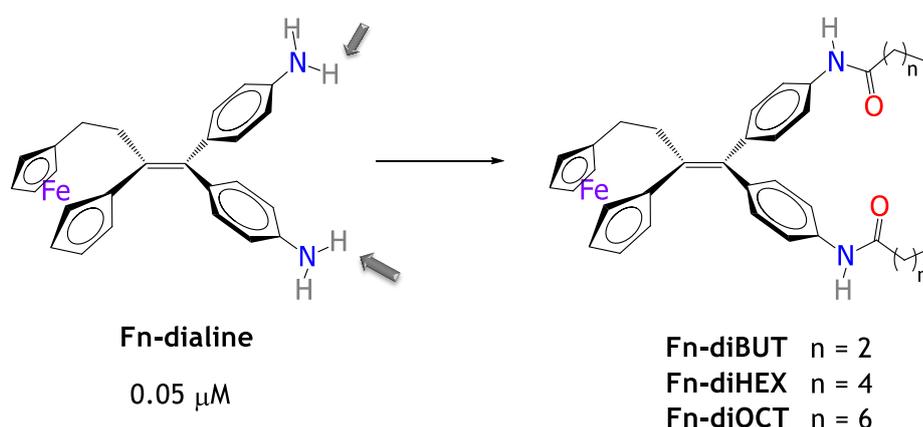


Schéma 11. Structure chimique de la dianiline **Fn-dialine** et de ses dérivés amides et la valeur d'IC₅₀ de **Fn-dialine** sur les cellules MDA-MB-231.

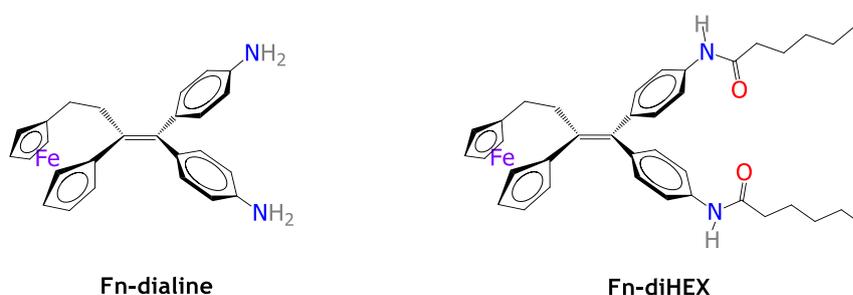
[1] M Görmen, P Pigeon, S Top, A Vessières, MA Plamont, EA Hillard, G Jaouen. Facile synthesis and strong antiproliferative activity of disubstituted diphenylmethylidene-[3]ferrocenophanes on breast and prostate cancer cell lines. *MedChemComm* **2010**, *1*, 149–151.

Tableau 1. Inhibition (%) de la croissance des cellules MCF-7 de cancer du sein.

Composé	MCF-7	
	10 μ M	1 μ M
Fn-diBUT	< 5	< 5
Fn-diHEX	17 \pm 5	< 5
Fn-diOCT	< 5	< 5

^a Les mesures ont été faites après 72 h. Les valeurs sont la moyenne de trois manipulations \pm ET.

Comme on peut voir dans le Tableau 1, ces anilides sont très peu actives sur les cellules MCF-7. Le seul composé qui a montré une activité –mais très faible à 10 μ M– est l'amide **Fn-diHEX** avec un taux d'inhibition de 17%. Par conséquent, la transformation de la dianiline **Fn-dialine** en dianilide diminue son activité. La forte activité de **Fn-dialine** et la faible activité de l'anilide **Fn-diHEX** ont été également observées lors de l'évaluation contre les lignées cellulaires de cancer humain suivantes : glioblastome (U373 et T98G), cancer du poumon (A549) et de colon (LoVo). De même, sur les cellules de cancer murin : mélanome (B16F10) et gliosarcome (9L). Comme on peut remarquer dans le Tableau 2, la modification avec la diacylation du composé a apporté des effets négatifs en termes de cytotoxicité à la **Fn-dialine** qui reste très active pour toutes les cellules cancéreuses. Remarquons que les lignées du Tableau 2 ont été choisies pour ne pas répondre aux stimuli pro-apoptotiques. Il y a donc ici mis en jeu d'un autre mécanisme.

**Tableau 2.** Valeurs d'IC₅₀ (μ M) des produits sur des lignées cellulaires de cancer humain et de murin.

Composé	Lignées cellulaires de cancer humain				Lignées cellulaires de cancer murin	
	U373	A549	LoVo	T98G	B16F10	9L
Fn-dialine	0.02	0.02	0.01	0.1	0.02	0.01
Fn-diHEX	>100	>100	67	>100	38	50

^a Les mesures ont été faites après 72 h.

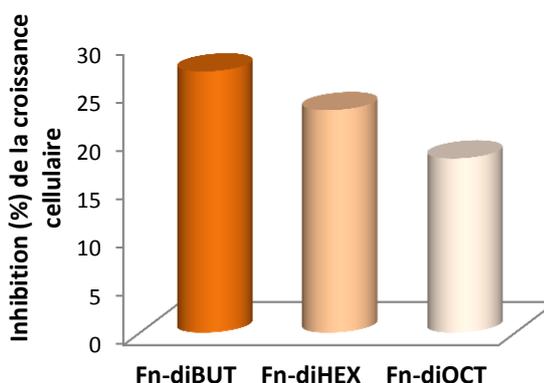
Pour le cas de la lignée MDA-MB-231 (Tableau 3) de cancer du sein triple négatif, les produits sont légèrement plus actifs par rapport au résultat sur les cellules MCF-7. À 10 μM , le composé le plus actif de la série est l'amide **Fn-diHEX** présentant un taux d'inhibition de 51%. Par conséquent, la valeur d' IC_{50} de ce composé est de l'ordre de 10 μM . A la même concentration, les taux d'inhibition des amides **Fn-diBUT** et **Fn-diOCT** sont 34% et 16%, respectivement.

Tableau 3. Inhibition (%) de la croissance des cellules MDA-MB-231 de cancer du sein.

Composé	Concentration	
	10 μM	1 μM
Fn-diBUT	34 \pm 8	27 \pm 4
Fn-diHEX	51 \pm 10	23 \pm 9
Fn-diOCT	16 \pm 10	18 \pm 11

^a Les mesures ont été faites après 72 h. Les valeurs sont la moyenne de trois manipulations \pm ET.

Il est intéressant de noter qu'à la concentration de 1 μM (Graphique 1), l'efficacité des espèces est inversement proportionnelle à la longueur de la chaîne. L'activité cytotoxique diminue dans l'ordre **Fn-diBUT** > **Fn-diHEX** > **Fn-diOCT**. Cependant, les écarts ne sont pas très significatifs ; ils reflètent une tendance.



Graphique 1. Inhibition de la croissance des cellules MDA-MB-231 par les dianilides à 1 μM .

La diminution de l'activité antiproliférative en fonction de la longueur de la chaîne se vérifie pour les composés **Fn-dialine**, **Fn-dialide** et **Fn-diHEX** (Figure 3). Le composé acétylé **Fn-dialide** est 100 fois moins actif que la dianiline **Fn-dialine**, alors que le composé **Fn-diHEX** est encore moins actif (200 fois). Cette comportement peut être dû au fait que l'allongement de la chaîne rend le produit plus lipophile et, par conséquent, plus facile à s'attacher aux membranes cellulaires.

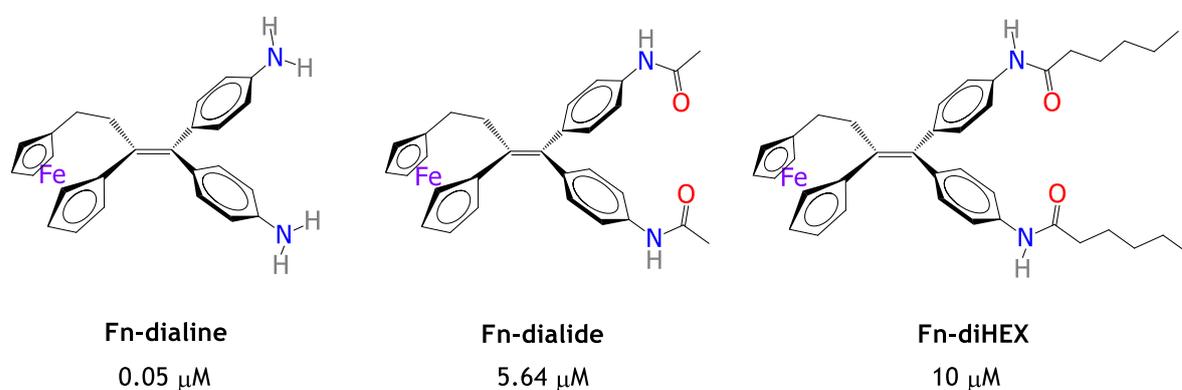


Figure 3. Structures de l'anilide **Fn-dialine** et ses amides **Fn-dialide** et **Fnpdhex** avec leur valeur d' IC_{50} sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein triple négatif.

Ainsi, le fait de « protéger » ou dérivatiser la fonction amine (NH_2) avec un amide (NHCOR) « masque » les forts effets cytotoxiques du composé. En plus, l'allongement de la chaîne alkyle –sans incorporer des fonctionnalités chimiques– conduit à une diminution significative de l'activité –de très faible à nulle–. Dans ce contexte, il est important de souligner que la fonctionnalité chimie au bout des chaînes latérales –longues ou courtes– module l'activité des produits comme nous l'avons déjà montré avec les dérivés subériques, adipiques et succiniques lors de la Partie B de cette thèse.

2.2.2 Activité antiproliférative de la dianiline organique

Dans le souci d'évaluer l'impact du motif [3]ferrocénophan-1-ylidène (Fnpd) dans le squelette de la dianiline **Fn-dialine**, nous avons effectué une comparaison directe entre **Fn-dialine** et son analogue organique **Ph-dialine**. Le résultat montre que **Fn-dialine** est beaucoup plus efficace que **Ph-dialine** (76 fois) contre les cellules cancéreuses MDA-MB-231 (Figure 4).

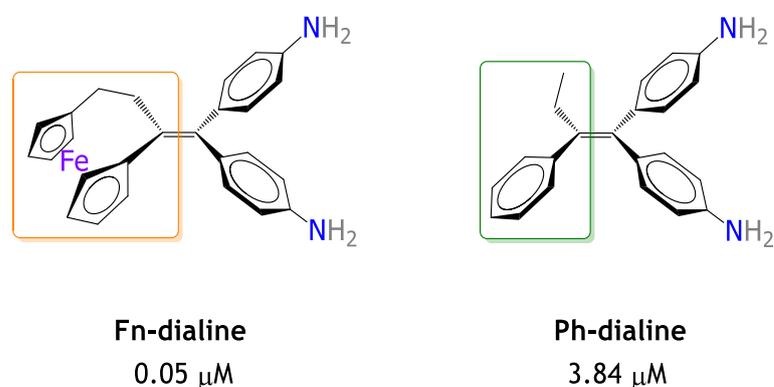


Figure 4. Structures de l'anilide **Fn-dialine** et son analogue organique **Ph-dialine** avec leur valeur d' IC_{50} sur les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein triple négatif.

En revanche, avec des valeurs d' IC_{50} de 3.84 μM sur les cellules MDA-MB-231 et 5.01 μM sur les cellules MCF-7, la dianiline organique **Ph-dialine** est meilleure que tous les amides organométalliques décrits dans la section 2.5.1. Ce qui peut indiquer que la modification des substituants aromatiques azotés avec des groupes électroattracteurs – comme le groupement acyle– impacte plus fortement l'activité cytotoxique de **Fn-dialine** que le remplacement du groupement Fnpd par Phpd.

2.2.3 Activité antiproliférative des dianilides tertiaires

Nous avons vu l'importance de l'unité organométallique Fnpd pour les effets cytotoxiques des composés. Nous examinons maintenant les activités des amines tétraméthylées **Fn-dialineTM**, **Ph-dialineTM** et **Fc-dialineTM** (Figure 5) avec les cellules MDA-MB-231 de cancer du sein.

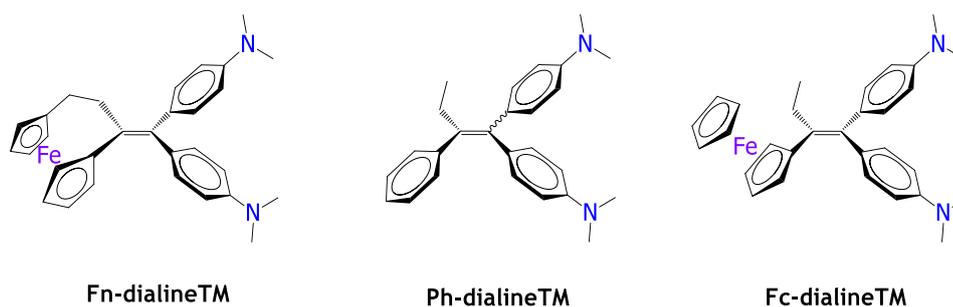


Figure 5. Structures chimiques des dianilines tétraméthylées **Fn-dialineTM**, **Ph-dialineTM** et **Fc-dialineTM**.

Le résultat présenté dans le Tableau 4 montre que ces trois composés sont faiblement actifs avec une nette différence avec les amines primaires correspondantes **Fn-dialine** et **Ph-dialine**. **Ph-dialineTM** n'est pas capable d'inhiber 5% de la croissance cellulaire à une concentration de 10 μM . A cette concentration, les taux d'inhibition de **Fn-dialineTM** et **Fc-dialineTM** sont seulement de 20% et 15%, respectivement. L'impact de la modification des substituants sur le cycle aromatique est évident et l'effet négatif sur l'activité de la **Fn-dialine** est dans l'ordre : *N*-diméthylation \gg *N*-acylation > remplacement par Phpd.

Tableau 4. Inhibition (%) de la croissance des cellules de cancer du sein.

Composé	MDA-MB-231	
	10 μM	1 μM
Fn-dialineTM	20 \pm 7	13 \pm 3
Ph-dialineTM	<5	< 5
Fc-dialineTM	15 \pm 5	< 5

^a Les mesures ont été faites après 72 h. Les valeurs sont la moyenne de trois manipulations \pm ET.

2.3 Électrochimie

Il a été démontré que les propriétés redox de la famille du ferrocifène jouent un rôle important sur l'activité antiproliférative. Dans ce contexte –comme nous l'avons commencé à le signaler depuis le Chapitre IV– ces composés sont étudiés en absence et en présence d'une base modèle ayant une valeur de pKa proche de celle des peptides et des bases azotées dans l'ADN.^[2,3] Des études électrochimiques antérieures ont établi que la monoaniline **Fc-aline** subit une séquence d'oxydation favorisée par une base pour former des espèces insaturées qui pourraient jouer un rôle important pour ses propriétés cytotoxiques. Afin de comparer le comportement redox des anilines, des voltammogrammes cycliques de la monoaniline ferrocénique **Fc-aline** et de la dianiline ferrocénophanique **Fn-dialine** ont été obtenus (Figure 6).

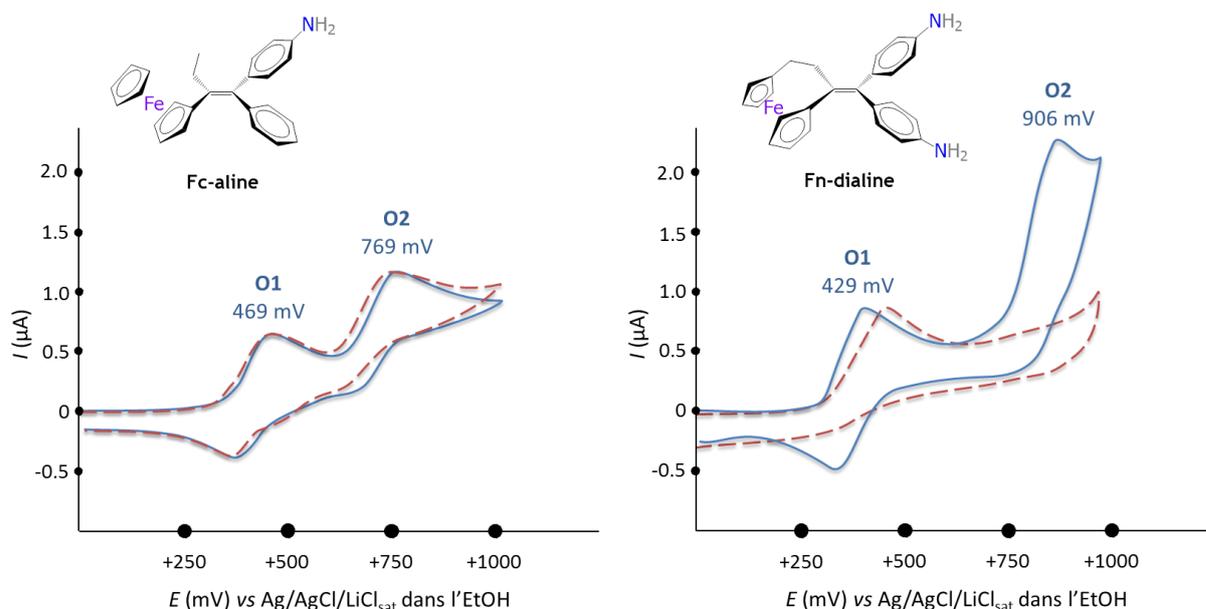


Figure 6. Voltammogrammes cycliques pour l'aniline ferrocénique **Fc-aline** et l'aniline ferrocénophanique **Fn-dialine** en absence (bleu) et en présence (rouge) de 50 équivalents d'imidazole.^[4]

- [2] P Messina, E Labbé, O Buriez, EA Hillard, A Vessières, D. Hamels, S Top, G Jaouen, YM Frapart, D Mansuy, C Amatore. Deciphering the activation sequence of ferrociphenol anticancer drug candidates. *Chem Eur J* **2012**, *18*, 6581–6587.
- [3] YLK Tan, P Pigeon, S Top, E Labbé, O Buriez, EA Hillard, A Vessières, C Amatore, WK Leonge, G Jaouen. Ferrocenyl catechols: synthesis, oxidation chemistry and anti-proliferative effects on MDA-MB-231 breast cancer cells. *Dalton Trans* **2012**, *41*, 7537–7549.
- [4] Les voltammogrammes ont été enregistrés d'une solution 0.5 mM d'analyte dans une solution 0.1 M de Bu_4NBF_4 dans le MeOH. Électrode de travail : Pt ($\varnothing = 0.5$ mm), électrode auxiliaire : bague de Pt, électrode de référence : Ag/AgCl/LiCl_{sat} dans l'EtOH. Vitesse de balayage : 0.5 V/s.

Sans base ajoutée, les deux composés montrent deux potentiels d'oxydation. Pour le cas de la monoaniline **Fc-aline**, ces potentiels se trouvent à 469 mV pour [O1] et à 769 mV pour [O2]. Dans le cas de la dianiline **Fn-dialine**, ces potentiels se situent à 429 mV pour [O1] et 906 pour [O2]. Pour la **Fc-aniline**, [O1] a été assignée à l'oxydation monoélectronique du groupe ferrocényle et [O2] a été assignée à l'oxydation du groupement anilino de l'espèce cationique ferricénium électrogénérée à [O1]. Ces deux vagues d'oxydation, dans le cas de **Fn-dialine**, peuvent être attribuées exactement aux mêmes phénomènes redox, sauf qu'à [O2] les deux groupements amino sont oxydés. Ceci s'appuie sur la vue de l'intensité de la vague de [O2] qui est deux fois plus intense que celle à [O1]. Quand la base est ajoutée, la monoaniline **Fc-aline** a seulement montré un très léger déplacement de la vague [O2] vers les faibles potentiels, alors que dans le cas de la dianiline **Fn-dialine**, un comportement particulier a été observé.

En présence d'imidazole, l'oxydation du groupement ferrocénediyle [O1] de la **Fn-dialine** est devenue irréversible et légèrement décalée avec un potentiel d'oxydation plus élevé (483 mV pour [O1']) et la seconde vague [O2'] –assignée à l'oxydation de l'aniline– a disparu. Cette modification pourrait indiquer que l'oxydation observée à [O1'] 483 mV est le résultat d'une transformation au niveau du noyau ferrocénophanique pour conduire à la possible formation d'une espèce insaturée. Cette dernière peut aussi suggérer que si ce phénomène se présente, il est la conséquence de la communication- π défavorable entre le groupement anilino et l'unité organométallique. Par conséquent, pour oxyder le motif anilino dans cette espèce contrainte électrogénérée à [O1'] en présence de base, un potentiel d'oxydation supérieur sera nécessaire.

En absence de base, on peut réaliser que l'oxydation de l'unité organométallique de la **Fn-dialine** est 40 mV plus faible que celle de **Fc-aline**. Il serait donc plus facile d'oxyder le noyau organométallique de la **Fn-dialine** que dans le cas de la **Fc-dialine**, mais pour le cas de l'oxydation du motif anilino, le comportement est inversé. Avec un écart de 137 mV, la **Fc-aline** devient plus facile à oxyder que la **Fn-dialine**. Le Tableau 5 résume les potentiels d'oxydation des anilines.

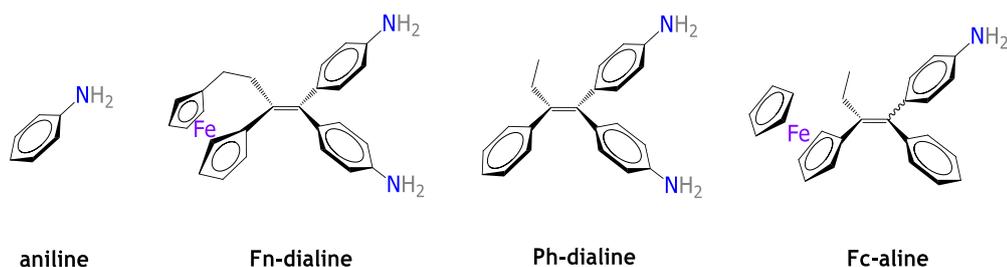


Tableau 5. Valeurs du potentiel d'oxydation des vagues O1 et O2 pour les composés sélectionnés quand les voltammogrammes sont enregistrés sans base ajoutée.

Composé	O1 (mV)	O2 (mV)
aniline	-	1 170
Fn-dialine	429	906
Ph-dialine	-	789
Fc-aline	469	769

Le composé **Ph-dialine** a montré une vague d'oxydation irréversible à 789 mV assignée à la transformation du motif anilino [O2], alors que l'**aniline** (dans le MeCN) est oxydée à 1170 mV, proche de la valeur de 1 000 mV de la littérature.^[5] Grâce à la communication électronique entre le groupe ferricénium Fc^+ et le motif anilino, l'oxydation de ce dernier dans **Fc-aline** devient plus facile et se fait à 769 mV. Cet effet est aussi observé pour le composé ferrocénophanique **Fn-dialine** mais avec un potentiel plus élevé de 906 mV. On remarque que le potentiel [O2] du **Ph-dialine** est similaire à celui du **Fc-dialine**. Ainsi, selon l'effet du substituant en position *para* du motif aniline, ce dernier voit son potentiel d'oxydation qui varie dans l'ordre décroissant suivant : 1170 mV pour H > 906 mV pour Fnpd dans **Fn-dialine** >> 789 mV pour Phpd dans **Ph-dialine** > 769 mV pour Fcpd dans **Fc-aline**.

La valeur assez élevée du potentiel d'oxydation de [O2] du **Fn-dialine** semble indiquer que le groupe ferrocénophane est seulement partiellement conjugué à l'unité aniline à cause de la rigidité de la molécule. Contrairement au **Fn-dialine**, dans les molécules **Ph-dialine** et **Fc-aline** –qui sont planaires et plus flexibles– la communication- π est plus favorisée. Cette constatation est vérifiée par les voltammogrammes des dianilines tétraméthylées **Fn-dialineTM**, **Ph-dialineTM** et **Fc-dialineTM**. La valeur du potentiel d'oxydation de leur groupement anilino est de 825 mV, 695 mV et 558 mV, respectivement. Ainsi, le potentiel diminue dans l'ordre Fnpd > Phpd > Fcpd.

[5] M Matsushita, H Kuramitz, S Tanaka. Electrochemical oxidation for low concentration of aniline in neutral pH medium: application to the removal of aniline based on the electrochemical polymerization on a carbon fiber. *Environ Sci Technol* **2005**, 39, 3805–3810.

Bien que le potentiel [O2] de **Ph-dialine** soit inférieur à celui du **Fn-dialine** (789 mV vs 906 mV), **Ph-dialine** est beaucoup moins active que **Fn-dialine** avec les cellules cancéreuses. Ainsi, nous n'observons pas de correspondance directe entre le comportement redox à [O2] et leur activité cytotoxique. En revanche, il pourrait exister une correspondance avec [O1]. Les seuls composés qui ont montré une activité biologique importante sont ceux qui peuvent générer une oxydation à [O1] –ceux qui se composent d'un motif organométallique–. Ainsi, même si on observe certaines différences dans leur comportement redox, les deux composés sont électrochimiquement actifs à [O1] et par conséquent oxydables. Il semble donc que la possibilité d'oxyder le groupe ferrocénique en ion ferricénium est important pour l'activité des composés. Le passage de Fc à Fc⁺ peut activer la génération des ROS qui agissent sur l'expression des gènes suppresseurs de tumeurs comme le p53 pour conduire à l'apoptose ou à la senescence des cellules cancéreuses.

Par ailleurs, nous avons observé que les voltammogrammes des dianilides **Fc-alide**, **Fn-diBUT**, **Fn-diHEX** et **Fn-diOCT** sont similaires entre eux. Nous montrons ici comme exemple, le voltammogramme du dianilide **Fn-diBUT** (Figure 7). Une vague d'oxydation réversible est observée à 482 mV qui est assignée à l'oxydation du groupement ferrocène-1,1'-diyle de la molécule. Ce potentiel est légèrement plus positif que celui de l'aniline **Fn-dialine**, ce qui met en évidence un effet énergétique des substituants électroattracteurs.

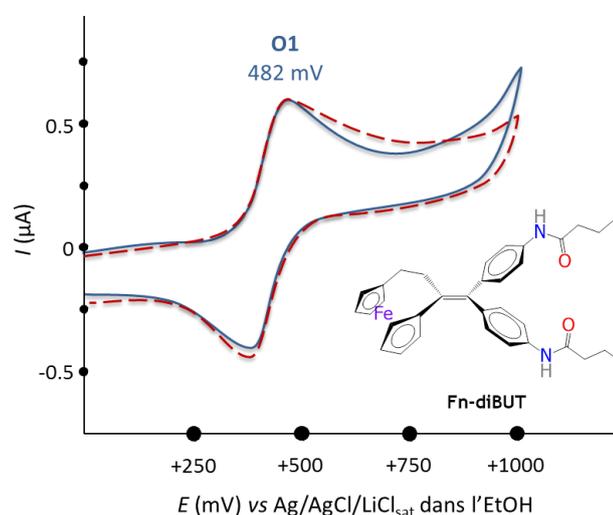


Figure 7. Voltammogrammes cycliques pour l'amide **Fn-diBUT** en absence (bleu) et en présence (rouge) de 50 équivalents d'imidazole.^[6]

[6] Les voltammogrammes ont été enregistrés d'une solution 0.5 mM d'analyte dans une solution 0.1 M de Bu₄NBF₄ dans le MeOH. Électrode de travail : Pt (Ø = 0.5 mm), électrode auxiliaire : baguette d'acier inoxydable, électrode de référence : Ag/AgCl/LiCl_{sat} dans l'EtOH. Vitesse de balayage : 0.5 V/s.

Il est intéressant de noter que la deuxième vague d'oxydation [O2] observée pour les diamines n'est pas observée pour les dianilides quand le composé est analysé sans la présence de la base et en présence d'elle. Ceci pourrait être expliqué par des effets électroniques de la fonction amide au cycle aromatique. Pour expliquer ce phénomène nous proposons le mécanisme illustré dans le Schéma 12.

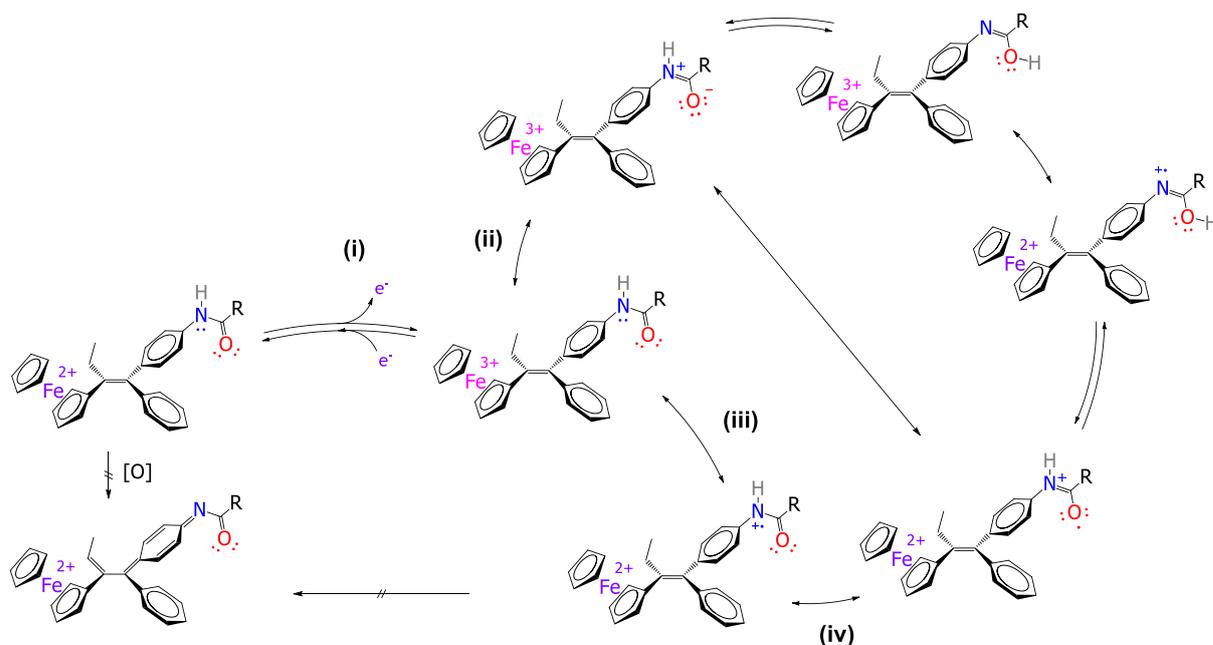


Schéma 12. Mécanisme proposé pour l'oxydation des N-[4-(2-ferrocényl-1-phénylbut-1-én-1-yl)phényl]alkanamides.

Après l'oxydation du ferrocényle (i), l'atome d'azote n'effectue pas un transfert électronique intramoléculaire vers le ferricénium –comme attendu– en raison des effets de résonance avec le groupe carbonyle de la fonction amide, en considérant que l'atome d'oxygène est plus électronégatif que l'atome d'azote.^[7] Ainsi, les électrons de l'azote peuvent se déplacer à la liaison N-C (ii) pour former un intermédiaire iminolique. On peut aussi envisager que, si le transfert d'électrons se fait entre l'azote et le ferricénium (iii), le radical-cation aminyl peut aussi manifester l'effet de résonance (iv) conduisant à la formation des espèces iminoliques radicales. Dans les deux cas, la possibilité de différentes formes mésomères pour les intermédiaires montre que ceux-ci sont thermodynamiquement stables et que, pour oxyder la fonction anilide, un potentiel d'oxydation supérieur sera nécessaire.

[7] J March, MB Smith (2007) Electronegativity. In: March's Advanced Organic Chemistry. John Wiley and Sons, 6th Ed, pp 17.

3. Conclusion

Nous avons synthétisé une nouvelle famille de composés organométalliques et organiques portant des substituants aromatiques azotés. Nous avons montré que la modification des amines primaires par méthylation ou acylation affaiblit largement l'activité antiproliférative des composés. Ceci est rationalisable pour les considérations mécanistiques. Nous vérifions que les dérivés organiques sont beaucoup moins actifs que les composés organométalliques. Néanmoins, la modification des substituants sur les cycles aromatiques a un impact plus important sur l'activité antiproliférative des composés que le remplacement du motif organométallique pour un motif organique.

Le mécanisme redox d'activation des séries ferrocéniques semble suivre le même processus de transfert électronique déjà observé pour le cas des séries phénoliques. En revanche, pour certains produits de la série ferrocénophanique, ce mécanisme d'activation redox paraît être différent. Malgré les différences entre les composés ferrocéniques et ferrocénophaniques, les membres actifs des deux séries sont oxydables à [O1], ce qui peut générer des espèces réactives d'oxygène (ROS) dans les cellules cancéreuses. Ces dernières sont probablement responsables des effets cytotoxiques *via* l'activation des gènes suppresseurs des tumeurs comme le p53 ou *via* l'action directe sur l'ADN.

4. Partie expérimentale

4.1 Réactions d'amidation

Les réactions d'amidation sont résumées dans le Schéma 13. L'amine primaire correspondante est dissoute dans 30 mL de THF et mise en agitation. Dans le cas de la 4,4'-diaminobenzophénone, du DMSO a été utilisé pour compléter sa solubilisation. Ensuite, le respectif chlorure d'acyle est ajouté, suivi par l'addition de triéthylamine (Et_3N). Après 15 min, de l'eau est ajoutée et le brut de la réaction est extrait à l'AcOEt. La phase organique est lavée par une solution saturée de NaHCO_3 , séchée sous MgSO_4 et filtrée. Les solvants sont éliminés à l'évaporateur rotatif et le brut de la réaction est purifié sur une colonne de gel de silice.

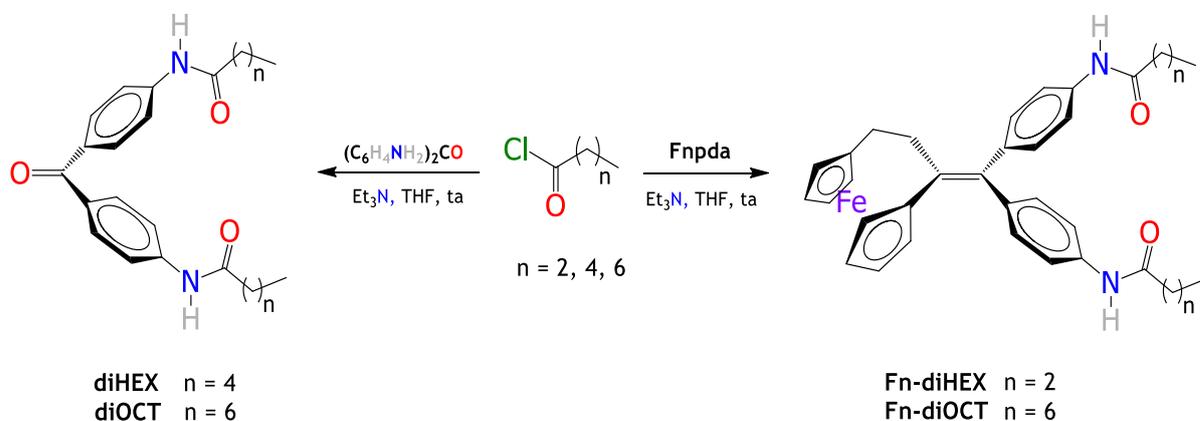
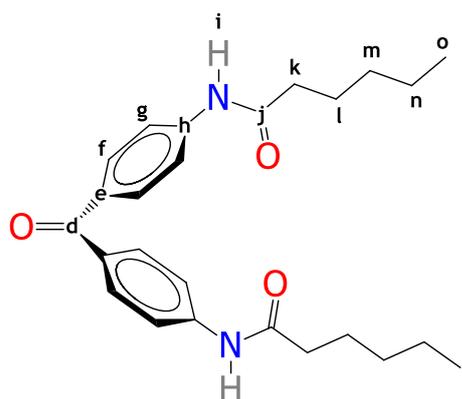


Schéma 13. Synthèse générale d'amides.

diHEX • *N,N'*-[carbonylbis(4,1-phénylène)]dihexanamide

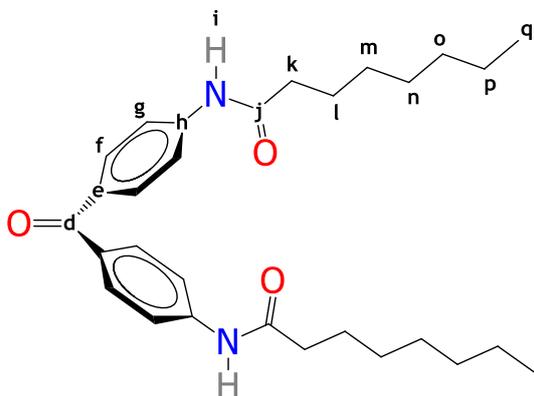
Réactifs et quantités : 4,4'-diaminobenzophénone (4.72 mmol, 1.00 g), chlorure d'hexanoyle (9.44 mmol, 1.3 mL), Et₃N (9.44 mmol, 1.3 mL). Le mélange est chauffé à 55°C. Éluant pour la colonne: éther de pétrole/AcOEt: 1/1. 98% (1.90 g) de produit est obtenu.



RMN du ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO, ppm) : δ 0.88 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H : o), 1.20-1.40 (m, 8H : n et m), 1.55-1.70 (quint, *J* = 7.3 Hz, 4H : l), 2.35 (t, *J* = 7.4, 4H : k), 7.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 4H : f), 7.76 (d, *J* = 8.8 Hz, 4H : g), 10.23 (s, 2H : i)

diOCT • *N,N'*-[carbonylbis(4,1-phénylène)]dioctanamide

Réactifs and quantités : 4,4'-diaminobenzophénone (4.72 mmol, 1.00 g), chlorure d'octanoyle (9.44 mmol, 1.6 mL), Et₃N (9.44 mmol, 1.3 mL). Le mélange est chauffé à 55°C. Éluant pour la colonne: éther de pétrole/AcOEt, 1/1. 91% (2.00 g) de produit est obtenu.

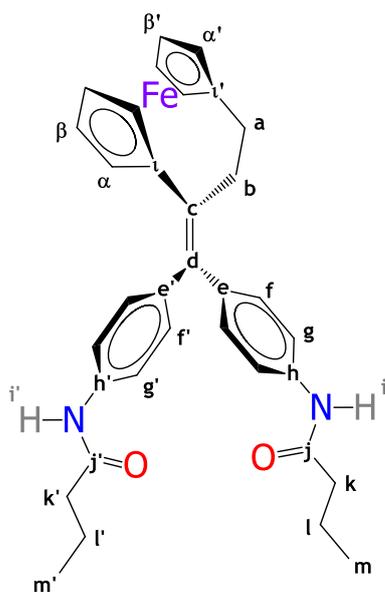


RMN du ¹H (300 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : δ 0.88 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H : q), 1.20-1.40 (m, 16H : p, o, m et n), 1.69 (quint, *J* = 7.3 Hz, 4H : l), 2.44 (t, *J* = 7.4, 4H : k), 7.73 (d, *J* = 8.8 Hz, 4H : f), 7.87 (d, *J* = 8.8 Hz, 4H : g), 9.69 (s, 2H : i).

Fn-diBUT •

N,N'-[([3]ferrocénophan-1-ylidèneméthylène)bis(4,1-phénylène)]dibutyramide

Réactifs et quantités : **Fn-dialine** (2.36 mmol, 0.99 g), chlorure de butyryle (4.72 mmol, 0.5 mL), Et₃N (4.72 mmol, 0.7 mL). Eluant pour la colonne: CHCl₃/AcOEt/AcOH: 2/1/1. La première fraction a été identifié comme le produit désiré, la deuxième était le produit de monoamidation et la troisième, le produit de départ **Fn-dialine**. 83% (1.10 g) de produit est obtenu.



●RMN du ¹H (300 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : δ 0.91 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **m**), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H : **m'**), 1.64 (sext, *J* = 7.4 Hz, 2H : **l**), 1.70 (sext, *J* = 7.4 Hz, 2H : **l'**), 2.27 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H : **k**), 2.35 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H : **k'**), 2.32-2.42 (m, 2H : **a**), 2.67-2.76 (m, 2H : **b**), 3.93 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **β'**), 3.98 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **β**), 4.01 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **α**), 4.27 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **α'**), 6.94 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **f'**), 7.17 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **f**), 7.39 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **g'**), 7.68 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **g**), 8.99 (s, 1H : **i'**), 9.16 (s, 1H : **i**).

●RMN du ¹³C (75 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : δ 14.0 (**m'**), 14.5 (**m**), 19.5 (**l'**), 19.6 (**l**), 29.2 (**a**), 39.6 (**k**, **k'**), 41.5 (**b**), 68.9 (**β'**), 69.4 (**β**), 70.9 (**α**), 71.1 (**α'**), 84.5 (**ι**), 87.6 (**ι'**), 118.7 (**g'**), 119.6 (**g**), 130.4 (**f**), 131.6 (**f'**), 135.1 (**c**), 138.5 (**h'**), 139.2 (**h**, **e'**), 139.4 (**e**), 141.1 (**d**), 171.6 (**j'**), 171.8 (**j**).

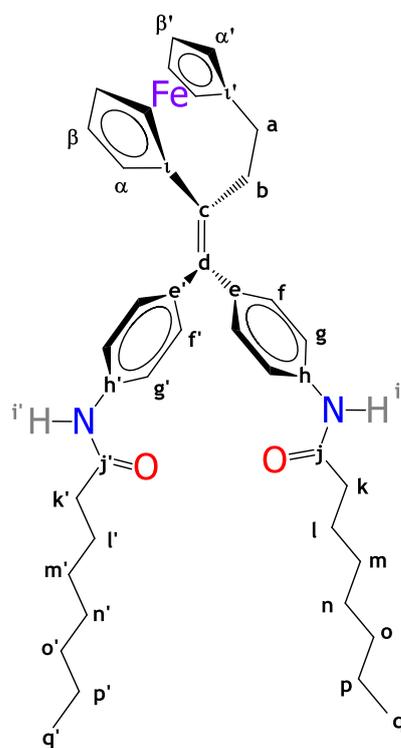
●IR (KBr, *ν*_{max}/cm⁻¹) : 3298 (N-H stretch), 3101 (C_{Ar}-H stretch), 2958, 2873 (C_{Alk}-H stretch), 1662 (N=CO stretch), 1597 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch) 1523 (N-H bend), 1400 (C-N stretch). SM (IC, *m/z*) : 578 [MNH₄]⁺, 561 [MH]⁺.

●Anal. Calc. pour C₃₄H₃₆FeN₂O₂•CH₄O (%): C, 70.94; H, 6.80; N, 4.73. Trouvé : C, 71.01; H, 6.84; N, 4.40. HPLC (*R*_T, min) : 2.09 (Macherey-Nagel C18, MeOH). **pf** : 147-148 °C.

Fn-diOCT •

N,N'-[([3]ferrocénophan-1-ylidèneméthylène)bis(4,1-phénylène)]dioctanamide

Voie B. Réactifs et quantités : **Fn-dialine** (0.59 mmol, 0.25 g), THF (15 mL), chlorure d'octanoyle (1.18 mmol, 0.2 mL), Et₃N (1.43 mmol, 0.2 mL). Éluant pour la colonne: CHCl₃/AcOEt /AcOH: 2/1/1. La première fraction est le produit désiré, la seconde est le produit de monoamidation et la troisième, le produit de départ **Fn-dialine**. 80% (0.32 g) de produit est obtenu.



●RMN du ¹H (300 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : δ 0.86 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H : **q'**), 0.88 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H : **q**), 1.21-1.45 (m, 16H : **p'**, **p**, **o'**, **o**, **n'**, **n**, **m'** et **m**), 1.55-1.78 (m, 4H : **l'** et **l**), 2.29 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H : **k'**), 2.37 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H : **k**), 2.34-2.40 (m, 2H : **a**), 2.68-2.76 (m, 2H : **b**), 3.93 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **β'**), 3.98 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **β**), 4.02 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **α**), 4.27 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **α'**), 6.93 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **f'**), 7.17 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **f**), 7.39 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **g'**), 7.67 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **g**), 8.98 (s, 1H : **i'**), 9.15 (s, 1H : **i**).

●RMN du ¹³C (75 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : δ 14.3 (**q'** et **q**), 23.3 (**p'** et **p**), 26.2 (**o'**), 26.3 (**o**), 29.2 (**a**), 29.8 (**n'** et **n**), 29.9 (**l'** et **l**), 32.4 (**m'** et **m**), 37.7 (**k'**), 37.8 (**k**), 41.5 (**b**), 68.9 (**β'**), 69.4 (**β**), 70.9 (**α**), 71.1 (**α'**), 84.6 (**l**), 87.6 (**l'**), 118.7 (**g'**), 119.6 (**g**), 130.4 (**f**), 131.6 (**f'**), 135.1 (**c**), 138.5 (**h'**), 139.1 (**h**), 139.2 (**e'**), 139.4 (**e**), 141.1 (**d**), 171.8 (**j'**), 172.0 (**j**).

●IR (KBr, *v*_{max}/cm⁻¹) : 3298 (N-H stretch), 3101 (C_{Ar}-H stretch), 2924, 2854 (C_{Alk}-H stretch), 1662 (NC=O stretch), 1597 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1523 (N-H bend), 1400 (C-N stretch). **SM** (IC, *m/z*) : 690 [MNH₄]⁺, 673 [MH]⁺.

●Anal. Calc. pour C₄₂H₅₂FeN₂O₂ (%): C, 74.99; H, 7.79; N, 4.16. Trouvé : C, 74.54; H, 7.90; N, 4.04. **HPLC** (*R*_T, min) : 3.14 (Macherey-Nagel C18, MeOH). **pf** : 119-120°C.

4.2 Réactions d'hétérocouplage McMurry

Fn-dialine •

4,4'-([3]ferrocénophan-1-ylidèneméthylène)dianiline

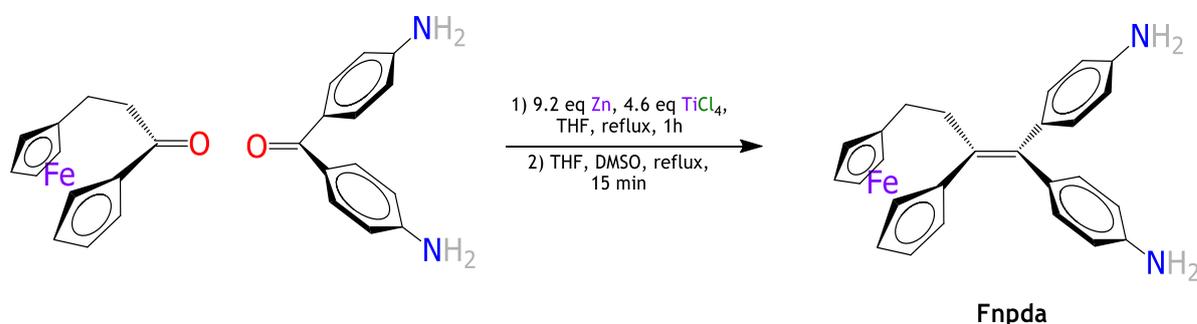


Schéma 14. Synthèse de la dianiline Fn-dialine par hétérocouplage McMurry.

Méthode alternative de synthèse (Schéma 14). Dans un tube Schlenk, du zinc en poudre (Zn, 36 mmol, 2.35 g) est mis en suspension dans 60 mL de tétrahydrofurane (THF) et mis en agitation à température ambiante. Ensuite, sous agitation, du chlorure de titane (IV) (TiCl₄, 18 mmol, 2.0 mL) est lentement ajouté à l'aide d'une seringue. Le mélange est chauffé à 90-100°C. Après 1 h de reflux, une solution contenant la [3]ferrocénophan-1-one (3.9 mmol, 0.94 g), la 4,4'-diaminobenzophénone (3.9 mmol, 0.83 g) et du diméthylsulfoxyde (DMSO, 1 mL) dans 30 mL de THF est ajoutée. Le reflux est maintenu pendant 15 min. Puis, le mélange est versé dans l'eau et extrait à l'AcOEt. La phase organique est lavée, séchée au MgSO₄, filtrée et concentrée à l'évaporateur rotatif. Le brut de la réaction est purifié sur une colonne de gel de silice. L'éluant utilisé est un mélange 75/25 d'éther de pétrole/AcOEt, respectivement. 42% (0.75 g) de produit est obtenu.

4.2.1 Méthode générale de la réaction de couplage McMurry

La réaction est décrite dans le Schéma 15. Dans un tube de Schlenk sous argon, du Zn est mis en suspension dans du THF à température ambiante. Sous agitation, du TiCl_4 est lentement ajouté à l'aide d'une seringue et le mélange est chauffé à 90-100°C. Après 1h de reflux, la solution contenant les cétones correspondantes est ajoutée. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM). Le mélange est versé dans l'eau et extrait à l'AcOEt. La phase organique est lavée, séchée sur MgSO_4 , filtrée et concentrée à l'évaporateur rotatif. Le brut de la réaction est purifié sur une colonne de gel de silice.

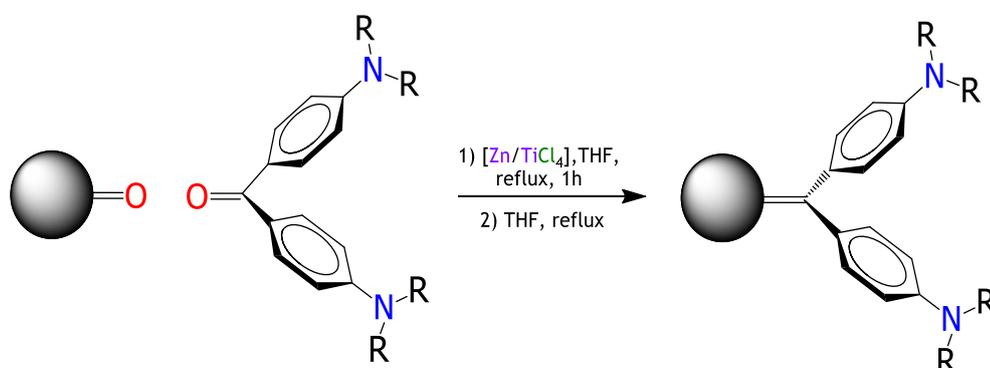


Schéma 15. Synthèse générale des produits d'hétérocouplage McMurry.

Fn-diOCT •

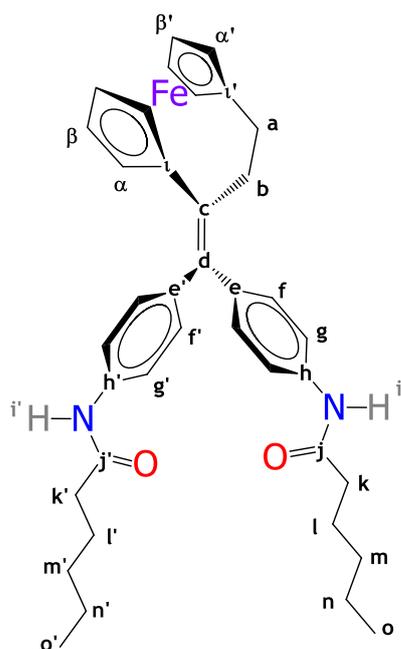
N,N'-[([3]ferrocénophan-1-ylidèneméthylène)bis(4,1-phénylène)]dioctanamide

Voie A. Réactifs et quantités : Zn (20.8 mmol, 1.36 g), TiCl_4 (10.4 mmol, 1.1 mL), THF (30 mL), **diOCT** (2.08 mmol, 0.97 g), **Fn-dialine** (2.08 mmol, 0.50 g), THF (17 mL). Le mélange est agité pendant 15 min après de l'addition des cétones. 50% (0.70 g) de produit est obtenu.

Fn-diHEX •

N,N'-[([3]ferrocénophan-1-ylidèneméthylène)bis(4,1-phénylène)]dihexanamide

Réactifs and quantités: Zn (24 mmol, 1.57 g), TiCl₄ (12 mmol, 1.3 mL), THF (30 mL), **dihex** (2.4 mmol, 0.98 g), **Fn-dialine** (2.4 mmol, 0.58 g), THF (20 mL). Le mélange est agité pendant 15 min après l'addition des cétones. Eluant pour la colonne : éther de pétrole/AcOEt, 7/3. 54% (0.80 g) de produit est obtenu.



RMN du ¹H (300 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : δ 0.86 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H : **ο'**), 0.89 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H : **ο**), 1.25-1.40 (m, 8H : **n'**, **n**, **m'** et **m**), 1.57-1.74 (m, 4H : **l'** et **l**), 2.29 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H : **k'**), 2.37 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H : **k**), 2.30-2.40 (m, 2H : **a**), 2.68-2.75 (m, 2H : **b**), 3.93 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **β'**), 3.98 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **β**), 4.01 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **α**), 4.27 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **α'**), 6.93 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **f'**), 7.16 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **f**), 7.39 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **g'**), 7.68 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H : **g**), 9.05 (s, 1H : **i'**), 9.22 (s, 1H : **i**).

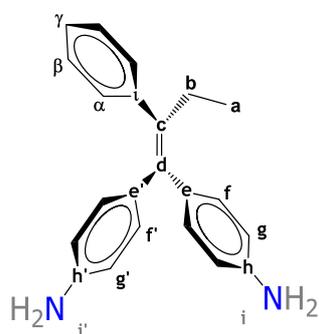
RMN du ¹³C (75 MHz, (CD₃)₂CO, ppm) : δ 14.2 (**ο'**), 14.3 (**ο**), 23.1 (**n'** et **n**), 25.9 (**l'**), 26.0 (**l**), 29.2 (**a**), 32.2 (**m'** et **m**), 37.6 (**k'**), 37.7 (**k**), 41.5 (**b**), 68.9 (**β'**), 69.3 (**β**), 70.9 (**α**), 71.0 (**α'**), 84.5 (**ι**), 87.6 (**ι'**), 118.7 (**g'**), 119.7 (**g**), 130.4 (**f**), 131.6 (**f'**), 135.0 (**c**), 138.5 (**h'**), 139.1 (**h** et **e'**), 139.4 (**e**), 141.0 (**d**), 171.9 (**j'**), 172.1 (**j**).

IR (KBr, *v*_{max}/cm⁻¹) : 3298 (N-H stretch), 3097, 3043 (C_{Ar}-H stretch), 2927, 2858 (C_{Alk}-H stretch), 1662 (NC=O stretch), 1597 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1523 (N-H bend), 1400 (C-N stretch). **SM** (IC, *m/z*) : 634 [MNH₄]⁺, 617 [MH]⁺.

Anal. Calc. pour C₃₈H₄₄FeN₂O₂ (%) : C, 74.02; H, 7.19; N, 4.54. Trouvé : C, 73.92; H, 7.47; N, 4.49. **HPLC** (*R*_T, min) : 2.47 (Macherey-Nagel, C18, 5 μm, 4.6 x 250 mm, MeOH, 1 mL/min). **pf** : 133-134°C.

Ph-dialine • 4,4'-(2-phénylbut-1-ène-1,1-diyl)dianiline

Réactifs et quantités : Zn (48 mmol, 3.14 g), TiCl_4 (24 mmol, 2.6 mL), THF (80 mL). Propiophénone (6.78 mmol, 0.91 g), 4,4'-diaminobenzophénone (5.09 mmol, 1.08 g), THF (40 mL), DMSO (1 mL). Temps de réaction : 5 min. Éluant : éther de pétrole/AcOEt, 1/1. 35% (0.57 g) de produit est obtenu.



●**RMN du ^1H** (300MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 0.84 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H : **a**), 2.42 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H : **b**), 4.84 (s, 2H : **i'**), 5.05 (s, 2H : **i**), 6.19 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H : **g'**), 6.46 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H : **f'**), 6.54 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **g**), 6.83 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H : **f**), 7.02-7.10 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H : γ), 7.07 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H : α), 7.15 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H : β).

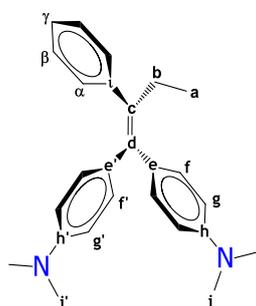
●**RMN du ^{13}C** (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, ppm) : δ 13.7 (**a**), 28.6 (**b**), 112.9 (**g'**), 113.5 (**g**), 125.5 (γ), 127.8 (β), 129.5 (α), 129.8 (**f**), 131.1 (**e'**), 131.3 (**f'**), 131.4 (**e**), 137.4 (**c**), 139.3 (**d**), 143.1 (**u**), 146.3 (**h'**), 147.2 (**h**).

●**IR** (KBr, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) : 3432, 3352, 3213 (N-H stretch), 3024 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ stretch), 2962, 2927, 2870 ($\text{C}_{\text{Alk}}\text{-H}$ stretch), 1616 (NH_2 scissoring), 1508 ($\text{C}_{\text{Ar}}=\text{C}_{\text{Ar}}$ stretch), 1280 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-N}$ stretch). **MS** (IC, m/z) : 332 $[\text{MNH}_4]^+$, 315 $[\text{MH}]^+$.

●**Anal. Calc.** pour $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2 \cdot \frac{1}{3}\text{H}_2\text{O}$ (%) : C, 82.46; H, 7.13; N, 8.74. Found: C, 82.49; H, 6.96; N, 8.73. **HPLC** (R_T , min) : 2.79 (Kromasil C18, MeOH). **pf** : 150-151°C.

Ph-dialineTM • 4,4'-(2-phénylbut-1-ène-1,1-diyl)bis(*N,N*-diméthylaniline)

Réactifs et quantités : Zn (72 mmol, 4.71 g), TiCl₄ (36 mmol, 3.9 mL), THF (100 mL). Propiophénone (7.6 mmol, 1.02 g), bis[(4-(diméthylamino)phényl)méthanone] (7.6 mmol, 2.04 g), THF (60 mL). Temps de réaction : 20 min. Éluant : éther de pétrole/AcOEt, 9/1. 74.6 % (2.10 g) de produit est obtenu.



●**RMN du ¹H** (300 MHz, CDCl₃, ppm) : δ 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H : a), 2.52 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H : b), 2.83 (s, 6H : i'), 2.97 (s, 6H : i), 6.39 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H : g'), 6.72 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H : g), 6.73 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H : f'), 7.12 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H : f), 7.05-7.18 (m, 5H : γ , α et β).

●**RMN du ¹³C** (75 MHz, CDCl₃, ppm) : δ 14.0 (a), 29.3 (b), 40.6 (i'), 40.8 (i), 111.4 (g'), 112.1 (g), 125.6 (γ), 127.9 (β), 130.0 (α), 130.6 (f), 132.0 (f'), 132.1 (e'), 132.9 (e), 138.8 (c), 139.2 (d), 143.6 (t), 148.3 (h'), 149.2 (h).

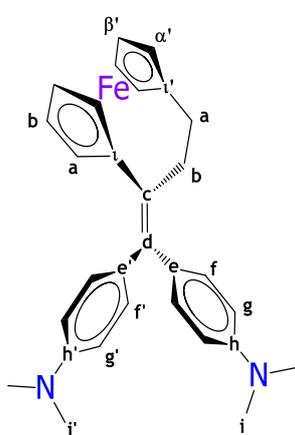
●**IR** (KBr, $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$) : 3074, 3032 (C_{Ar}-H stretch), 2962, 2877 (C_{Alk}-H stretch), 1608, 1515 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1342 (C_{Ar}-N stretch). **SM** (IE, m/z) : 370 (100%) [M]⁺, 355 [M-CH₃]⁺.

●**Anal. Calc.** pour C₂₆H₃₀N₂(%) : C, 84.28; H, 8.16; N, 7.56. Found: C, 83.91; H, 8.16; N, 7.48. **HPLC** (R_T , min) : 3.62 (Kromasil C18, MeCN). **pf** : 123-125°C.

Fn-dialine™ •

4,4'-([3]ferrocénophan-1-ylidène)méthylène)bis(*N,N*-diméthylaniline)

Réactifs et quantités: Zn (72 mmol, 4.71 g), TiCl₄ (36 mmol, 3.9 mL), THF (100 mL), bis[4-(diméthylamino)phényl]méthanone (7.6 mmol, 2.04 g), [3]ferrocénophan-1-one (7.6 mmol, 1.82 g), THF (60 mL). Temps de réaction : 25 min. Éluant : éther de pétrole/AcOEt, 85/15. 41.4% (1.50 g) de produit est obtenu.



●RMN du ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm) : δ 2.30-2.40 (m, 2H : **a**), 2.69-2.74 (m, 2H : **b**), 2.87 (s, 6H : **i'**), 2.98 (s, 6H : **i**), 3.97 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **β'**), 4.00 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **α**), 4.03 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **β**), 4.21 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H : **α'**), 6.45 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H : **g'**), 6.71 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H : **g**), 6.92 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H : **f'**), 7.12 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H : **f**).

●RMN du ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm) : δ 28.8 (**a**), 40.5 (**i'**), 40.7 (**i**), 41.5 (**b**), 68.2 (**β'**), 68.6 (**β**), 70.3 (**α**), 70.4 (**α'**), 85.0 (**ι**), 87.2 (**ι'**), 111.1 (**g'**), 112.0 (**g**), 130.4 (**f**), 131.0 (**e'**), 131.8 (**f'**), 132.2 (**e**), 132.6 (**c**), 141.1 (**d**), 148.5 (**h'**), 149.2 (**h**).

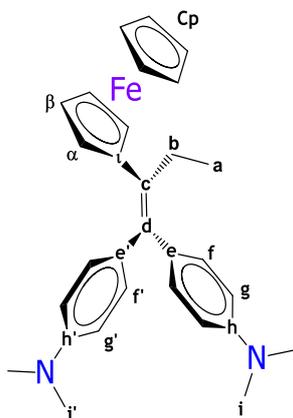
●IR (KBr, *v*_{max}/cm⁻¹) : 3085, 3039 (C_{Ar}-H stretch), 2935, 2893 (C_{Alk}-H stretch), 1604, 1516 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1342 (C_{Ar}-N stretch). **SM** (IE, *m/z*) : 476 (100%) [M]⁺, 397, 238, 199.

●**Anal. Calc.** pour C₃₀H₃₂FeN₂(%) : C, 75.63; H, 6.77; N, 5.88. Trouvé : C, 75.45; H, 6.89; N, 5.60. **HPLC** (*R*_T, min) : 4.24 (Kromasil, MeCN). **pf** : 210-212°C.

Fc-dialine™ •

4,4'-(2-ferrocénylbut-1-ène-1,1-diyl)bis(N,N-diméthylaniline)

Réactifs et quantités : Zn (72 mmol, 4.71 g), TiCl₄ (36 mmol, 3.9 mL), THF (100 mL). bis[4-(diméthylamino)phényl]méthanone (7.6 mmol, 2.04 g), propionylferrocène (7.6 mmol, 1.84 g), THF (60 mL). Temps de réaction : 3 h. Éluant : éther de pétrole/AcOEt, 9/1. 38.5 % (1.40 g) de produit est obtenu.



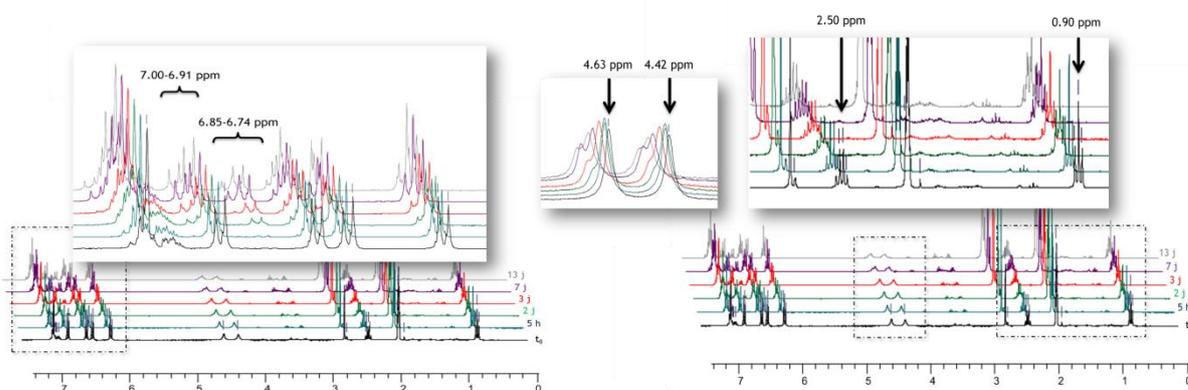
●RMN du ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm) : δ 1.04 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H : a), 2.62 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H : b), 2.91 (s, 6H : i'), 2.96 (s, 6H : i), 3.96 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : α), 4.06 (t, *J* = 1.9 Hz, 2H : β), 4.11 (s, 5H: Cp), 6.59 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H : g'), 6.70 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H : g), 6.92 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H : f'), 7.05 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H : f).

●RMN du ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm) : δ 15.8 (a), 28.2 (b), 40.7 (i' et i), 67.8 (β), 69.2 (Cp), 69.4 (α), 88.2 (t), 112.2 (g'), 112.3 (g), 130.4 (f), 130.9 (f'), 133.8 (e'), 134.0 (e), 135.0 (c), 138.5 (d), 148.8 (h' et h).

●IR (KBr, *v*_{max}/cm⁻¹) : 3089, 3031 (C_{Ar}-H stretch), 2951, 2920, 2862 (C_{Alk}-H stretch), 1604, 1515 (C_{Ar}=C_{Ar} stretch), 1346 (C_{Ar}-N stretch). SM (IE, *m/z*): 478 (100%) [M]⁺, 449 [M-Et]⁺, 413 [M-Cp]⁺. Anal. Calc. pour C₃₀H₃₄FeN₂(%): C, 75.31; H, 7.16; N, 5.86. Found: C, 75.15; H, 7.25; N, 5.86. HPLC (*R*_T, min) : 4.72 (Kromasil C18, MeCN). pf : 168-170°C.

4.3 Stabilité

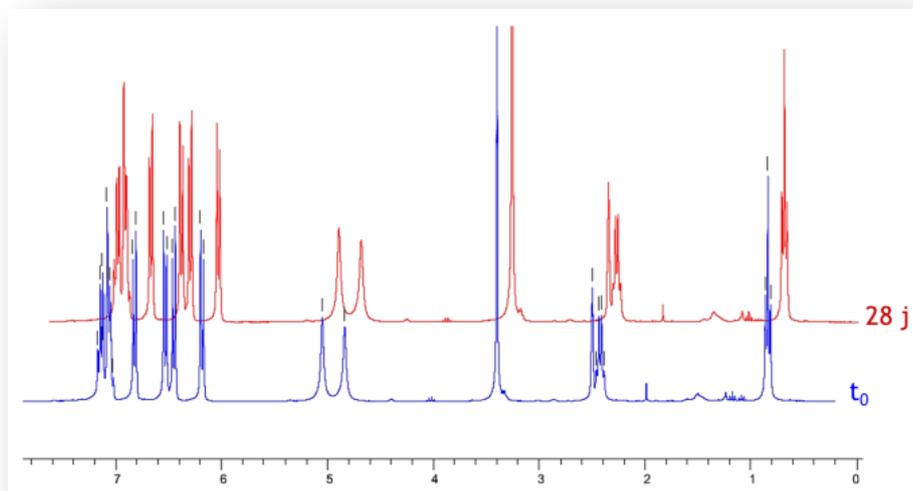
Lors des études de caractérisation spectroscopique et de stabilité suivies par résonance magnétique nucléaire du proton (RMN du ^1H), nous avons trouvé que les dianilines **Ph-dialine** et **Fn-dialine** –à l’image de l’aniline **Ph-diphol** du Chapitre IV– montrent un comportement particulier quand l’acétone- d_6 est utilisée comme solvant (Spectre 1).



Spectre 1. Spectre de RMN du ^1H de la dianiline (*E+Z*)-**Ph-dialine** dans la $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ de t_0 à 13 j.

L’analyse de **Ph-dialine** montre la déformation du triplet à 0.90 ppm (CH_3) et du quadruplet à 2.50 ppm (CH_2). De même, nous observons la diminution de l’intensité des singulets à 4.42 ppm et à 4.63 ppm (NH_2). Dans la région des aromatiques (Spectre 2), nous observons la déformation de tous les doublets due à l’apparition de nouveaux signaux. Ces nouveaux signaux sont particulièrement visibles dans les régions de 6.74-6.85 ppm et de 6.91-7.00 ppm.

Contrairement au comportement dans l’acétone, dans le DMSO (Spectre 2) nous n’avons pas observé de changements notables, même au cours d’une période plus longue. Ceci veut dire que la **Ph-dialine** est inerte en présence du diméthylsulfoxyde mais réactive dans l’acétone.



Spectre 2. Spectres de RMN du ^1H de la dianiline **Ph-dialine** dans le $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ à t_0 et 28 j après.

Nous supposons que ce comportement particulier des anilines dans l'acétone serait dû à la formation d'imines (Schéma 16) *via* l'addition nucléophile de l'azote au carbonyle de la cétone catalysée par l'aniline elle-même. Cette réaction produit dans un premier temps les monoimines qui évolueraient au cours du temps en diimines. Il est intéressant de noter que cette réaction spontanée se fait à température ambiante et sans additif.

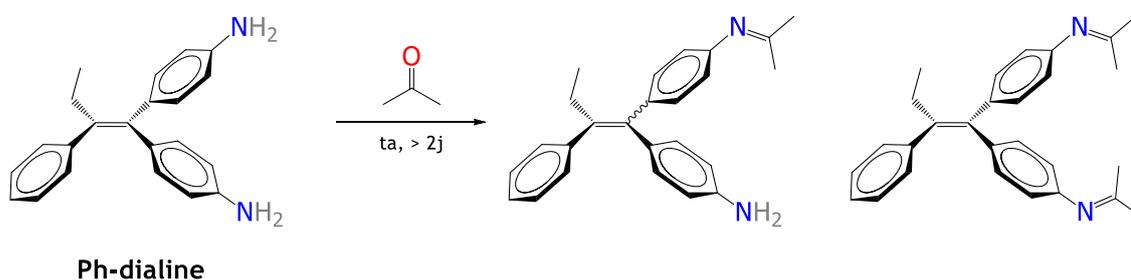


Schéma 16. Réaction d'iminisation possible entre la **Ph-dialine** et l'acétone.

Conclusion générale

Les membres de la famille des « ferrocifènes » se sont avérés être des espèces organométalliques très actives non seulement sur les cellules MCF-7 de cancer du sein du type hormono-dépendant mais aussi sur les cellules MDA-MB-231 du sous-type très agressif de cancer du sein désigné sous le vocable de triple-négatif (TNBC : triple negative breast cancer cell). Ceci a suscité l'intérêt de notre groupe pour la recherche de leur mécanisme d'action. Dans une stratégie pour obtenir des informations complémentaires aux études antérieures de relation structure-activité, nous avons réalisé la synthèse, la caractérisation et l'évaluation de l'hybride organométallique « **FcTAM-SAHA** » exposé dans le Chapitre II. Cette espèce se compose de motifs structuraux clés choisis dans les molécules du ferrocifène (**FcTAM**) et du médicament anticancéreux Vorinostat (**SAHA**). L'hybride **FcTAM-SAHA** présente une activité d'inhibition enzymatique significative sur les histones-désacétylases (HDAC) et une très bonne activité antiproliférative sur les cellules de cancer du sein. Cette activité a été particulièrement remarquable contre les cellules TNBC. Il est intéressant de noter que l'hybride **FcTAM-SAHA** dépasse l'activité antiproliférative de ses précurseurs (**FcTAM** et **SAHA**) dans ces cellules.

A partir de la structure de l'hybride **FcTAM-SAHA**, cinq types de modifications ont été envisagés dans cette thèse et sont présentés dans les chapitres II-V (Figure 1). Il s'agit (1) de la modification de la fonction chimique, (2) de la variation de la longueur de la chaîne, (3) de la présence ou non d'un substituant aromatique, (4) de la disubstitution du métalloène et (5) du remplacement du groupement ferrocényle par un phényle.

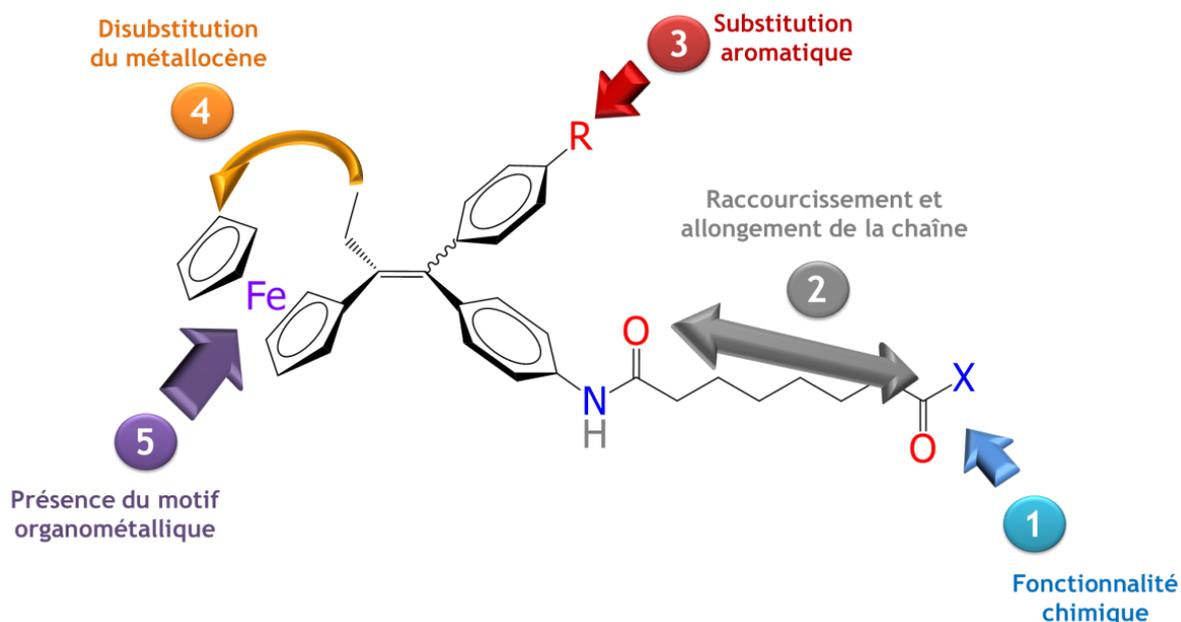


Figure 1. Modification structurale des différents composants du composé hybride

Dans le Chapitre II, nous avons montré que les composés ferrocéniques sont plus actifs que leurs analogues organiques. Nous avons également trouvé que les composés porteurs d'une fonction amide primaire (CONH₂) ou acide hydroxamique (CONHOH) avaient des effets antiprolifératifs supérieurs à ceux des acides carboxyliques (COOH). Nous avons postulé que les différences de cytotoxicité observées entre les cellules MDA-MB-231 et MCF-7 pouvaient être dues à l'expression –à très basses concentrations– d'un effet œstrogénique sur les cellules ER(+) MCF-7. De même, nous avons montré que l'activité antiproliférative du ferrocifène et des hybrides ne pouvait pas être associée à un effet HDACi. En revanche, ces composés se sont avérés très efficaces pour l'expression des cibles du gène suppresseur de tumeurs p53, à savoir, le p21^{WAF1}, PIG et PUMA. Ainsi, il semble exister une corrélation entre l'expression génétique générée par les espèces organométalliques et leurs effets cytotoxiques sur cellules cancéreuses.

Dans le Chapitre III, nous avons exploré la modulation des effets antiprolifératifs selon la taille de la chaîne alkyle fonctionnalisée. Nous avons montré que le raccourcissement de chaîne des acides hydroxamiques affaiblissait légèrement l'activité cytotoxique des composés. Dans les amides primaires cette modification n'a pas d'impact significatif.

Vu que les molécules organométalliques se composent d'un centre susceptible d'engendrer des phénomènes redox, il est envisageable de faire appel à ces propriétés électroniques afin de tenter d'expliquer à leur comportement dans les systèmes biologiques. Ceci est en accord avec le fait que l'une des différences entre les cellules cancéreuses et les cellules saines est leur statut redox. Dans le Chapitre IV, nous avons étudié les composés portant un motif phénol dans un arrangement structural similaire à celui de l'hydroxyferrocifène. Nous avons vu que le motif phénol rendait le **FcOHTAM** plus actif que son analogue non-phénolique **FcTAM**. En revanche, pour le cas de nos hybrides phénoliques (e.g. **FcOHTAM-SAHA**), nous n'avons pas vérifié cet effet positif. Nous avons postulé que les composés dérivés du **FcOHTAM** sont susceptibles de subir une séquence oxydative pour conduire à la formation des méthine-quinones. En effet, nous avons démontré –par voies chimique et électrochimique– qu'il est possible de les former également par oxydation à partir de nos hybrides. Il a été établi que les méthine-quinones pourraient n'être que partiellement responsables des effets antiprolifératifs. Ceci nous laisse penser que d'autres caractéristiques mécanistiques dans nos hybrides ne laissent pas exprimer totalement leurs propriétés redox qui requièrent une protéine cible particulière pour une activation intracellulaire.

Dans le Chapitre V, nous avons effectué une modification des hybrides au niveau du métallocène. Il est connu que l'incorporation du motif [3]ferrocénophan-1-ylidène (metallocène disubstitué) augmente dramatiquement l'efficacité des dérivés ferrocéniques (metallocène monosubstitué) contre les cellules cancéreuses (e.g. les anilines). Toutefois, nous n'avons pas vérifié cet effet dans le cas des hybrides. D'une manière globale, le passage des hybrides ferrocéniques aux hybrides ferrocénophaniques a produit –dans certains cas– des composés légèrement plus actifs mais pas une amélioration significative. Ces deux observations dans la série phénolique (Chapitre IV) et la série ferrocénophanique (Chapitre V), où la modification structurale était censée produire des espèces encore plus efficaces, nous laissent penser qu'un composant moléculaire pourrait dominer sur l'autre.

L'analyse par voltammétrie cyclique des hybrides de deux séries (ferrocénique et ferrocénophanique) révèle un comportement redox similaire. Ceci n'est pas le cas de leurs précurseurs respectifs (les anilines). Les anilines ferrocénique et ferrocénophanique génèrent des voltammogrammes avec des évolutions oxydatives complètement différentes. D'un côté, l'aniline ferrocénique semble suivre le même mécanisme de transfert électronique entre le groupement aromatique substitué et l'antenne organométallique qui semble conduire –dans ce cas– à une « méthine-iminoquinone » et, d'un autre côté, l'aniline ferrocénophanique ne semble être oxydée dans les mêmes conditions qu'au niveau du métallocénophane. Dans les deux cas, la formation d'espèces insaturées est envisageable, en revanche, ni les hybrides ferrocéniques ni les hybrides ferrocénophaniques ne montrent une telle évolution. Ainsi, le comportement redox similaire des hybrides des séries différentes pourrait refléter leur comportement biologique similaire, au moins, pour le cas des cellules MDA-MB-231. De même, les différentes voies d'activation redox des anilines des séries différentes pourraient refléter différents comportements biologiques.

Finalement dans le Chapitre VI, nous avons poursuivi l'étude des dérivés portant le motif [3]ferrocénophan-1-ylidène. Pour ce faire, nous nous sommes servis de la dianiline **Fn-dialine** (Figure 2) qui a été rapportée comme un produit très actif contre les cellules de cancer humain. Nous avons effectué des modifications de sa structure chimique à deux niveaux différents : (i) la substitution aromatique et (ii) l'absence du motif [3]ferrocénophan-1-ilydène (remplacé par un motif organique) afin de déterminer les impératifs structuraux qui le rendent si efficace.

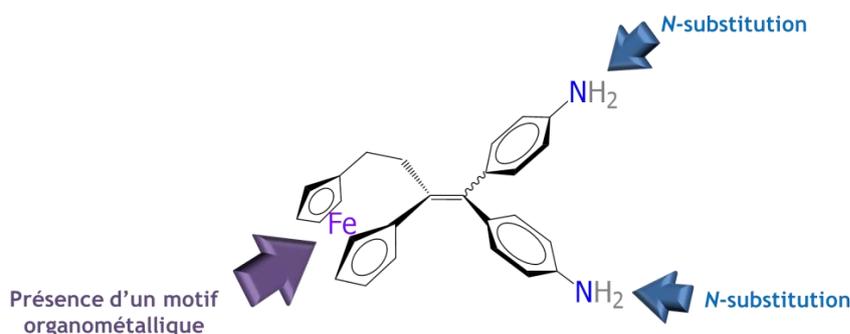


Figure 2. Modification structurale des différents composants de l'aniline **Fn-dialine**

Dans un premier temps, nous avons exploré l'impact de la *N*-substitution dans les études biologiques. Nous avons observé que la diméthylation et l'acylation ont un impact négatif sur l'activité antiproliférative. Pour le cas de l'acylation, l'allongement d'une chaîne alkyle non-fonctionnalisée conduit à une diminution progressive d'activité cytotoxique. Plus longue est la chaîne alkyle (non fonctionnalisée) moindre est la cytotoxicité du composé. Nous avons ensuite, analysé l'impact de cette *N*-substitution par voltammétrie cyclique. Nous avons observé que les anilides (produits des *N*-acylations) –comme les hybrides– n'expriment pas la séquence oxydative du précurseur **Fn-dialine**. Ceci nous laisse penser que la *N*-acylation « masque » les propriétés électroniques qui permettent d'activer les composés pour une évolution redox qui conduit aux espèces quinoniques.

Nous avons également remplacé le motif [3]ferrocénophan-1-ylidène par le motif organique 1-phénylpropylidène. L'aniline organique résultante **Ph-dialine** est évidemment moins active que le dérivé ferrocénophanique **Fn-dialine**. Néanmoins, avec des valeurs d'IC₅₀ égales et inférieures à 5 μM sur les deux lignées cellulaires de cancer du sein, la **Ph-dialine** est raisonnablement cytotoxique. Les effets de cette dernière ne peuvent être attribués qu'aux propriétés spécifiques des motifs anilines. Dans ce contexte, ces espèces se sont avérées être réactives en présence d'électrophiles relativement non-activés. Ainsi, une grande partie de l'activité de **Fn-dialine** doit être liée à cet effet et le motif organométallique renforce l'activité vraisemblablement grâce aux phénomènes redox.

De façon générale, le comportement des composés sur les deux types de cellules cancéreuses laisse penser que les espèces présentent de particularités mécanistiques communes qui s'expriment sélectivement dans deux environnements intracellulaires différents. Il semble que le motif organométallique est majoritairement responsable de l'activité antiproliférative, mais il doit se servir d'une chaîne latérale-fonctionnalisée afin d'assurer son trafic dans la cellule. Ainsi, nous proposons que l'ensemble « **chaîne latérale-fonction chimique** » joue un rôle fondamental pour le transport intracellulaire des motifs organométalliques potentiellement antiprolifératifs qui pourrait les emmener à des endroits où les propriétés redox s'expriment différemment.

De même, nous supposons qu'à part la présence discriminante de récepteurs (cibles), les cellules MCF-7 et MDA-MB-231 peuvent se différencier par leur statut redox. Vu qu'elles répondent différemment à l'action de composés, nous proposons que MDA-MB-231 peut être plus sensible aux effets électroniques tandis que MCF-7 peut être plus sensible aux effets stériques (e.g interaction avec l'ER).

Les résultats obtenus lors de l'analyse électrochimique nous laissent penser que la première étape d'oxydation [O1] des composés ferrocéniques (passage de Fc à Fc⁺) pourrait être déterminante pour les effets cytotoxiques. Une activation successive [O2] demande évidemment un apport énergétique supérieur. Les composés ne montrant pas une deuxième évolution redox mais qui montrent des forts effets cytotoxiques peuvent trouver ici une explication de leur comportement. Tous les composés actifs évalués dans cette thèse sont oxydables à un potentiel [O1]. Ainsi, une molécule plus facile à oxyder électrochimiquement pourrait subir une activation intracellulaire plus favorable par les voies métaboliques oxydatives. Le passage de Fc au Fc⁺ pourrait catalyser la formation des espèces réactives d'oxygène (ROS).

Une bonne construction moléculaire est celle qui combine les meilleurs composants qui dirigent les molécules vers les cibles spécifiques. Nous avons vu que l'incorporation des motifs organométalliques est une stratégie pour le développement de nouvelles espèces modulant les propriétés physico-chimiques et biologiques. En revanche, le fait d'incorporer des structures organométalliques n'assure pas toujours la réponse biologique souhaitée. Dans les cas où cette incorporation conduit à un effet favorable, l'amélioration de l'activité biologique peut être conséquence du même mécanisme d'action du composant moléculaire dominant ou bien le résultat des mécanismes complètement différents. Nos hybrides en sont des exemples.