

à ma femme

à mes parents

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie le Dr. C. BENEZRA qui a supervisé ce travail et guidé efficacement ses premiers pas de chercheur. Il tient également à remercier le Dr. H.J. CALLOT pour d'utiles discussions et le Dr. J.K. SAUNDERS qui a effectué les mesures d'effet N.O.E.

L'auteur remercie le Dr. B. LACOUME (N.V. Organon, 60 Eragny sur Epte, France) pour le don gracieux de 20 g de 19-nortestostérone, ainsi que le N.R.C. pour le soutien financier de ce travail.

L'auteur remercie enfin sa femme pour la patience qu'elle a montrée dans la confection de l'exemplaire dactylographique de cette thèse.

TABLE DES MATIERES

	<u>Page</u>
Remerciements.....	i
Table des matières.....	ii
Tableaux et figures.....	v
Résumé.....	vi
<u>INTRODUCTION</u> .....	1
I - GENERALITES.....	1
II - METHODES DE PREPARATION DE STEROYLPHOSPHO NATES.....	3
III- PLAN DE LA RECHERCHE.....	7
<u>RESULTATS ET DISCUSSION</u> .....	10
I - SYNTHESES A PARTIR DE L'HYDROXYMETHYLENE-2 TESTOSTERONE ET NORTESTOSTERONE.....	10
II - SYNTHESE A PARTIR DE LA METHYLENE-2 TESTOSTERONE.....	12
A - Préparation du dérivé méthylénique.....	12
B - Phosphonation du dérivé méthylénique.....	15
1) Addition de Michael du phosphite diméthylrique.....	15
2) Réaction avec le phosphite triméthylrique.....	16
3) Structure des produits de phosphonation V et VI.....	20

	<u>Page</u>
C - Réaction d'aromatisation.....	23
1) Choix de la méthode.....	23
2) Déshydrogénation de VI.....	24
3) Aromatisation.....	25
4) Structure du produit d'aromatisation.....	28
III- SYNTHÈSE A PARTIR DE LA METHYLENE-2 19-NORTESTOSTERONE.....	32
A - Préparation du dérivé méthylénique XIII.....	32
B - Phosphonation de la méthylène-2 nortestostérone.....	36
Structure du produit XV.....	38
C - Aromatisation.....	39
Structure du produit XVI.....	41
IV - SPECTRES DE MASSE.....	43
<u>ESSAIS BIOLOGIQUES</u> .....	47
<u>PARTIE EXPERIMENTALE</u> .....	49
- Indications générales.....	49
- Préparation de la méthylène-2 testostérone (III).....	51
- Préparation de l'acétoxy-17 $\beta$ diméthylphos- phonométhyl-2 $\alpha$ testostérone (VI).....	53
- Préparation de la diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$ testostérone (V).....	55
- Corrélation des produits de phosphonation.....	57

	<u>Page</u>
- Déshydrogénation de l'acétoxy-17 $\beta$ diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$ testostérone (VI) - Préparation du composé VII.....	57
- Aromatisation de l'acétoxy-17 $\beta$ diméthylphosphonométhyl-2 androstadiène-1, 4 one-3 (VII) - Préparation du composé VIIb.....	59
- Préparation de la méthylène-2 19-nortestostérone (XIII) et de l'hydroxyméthyl-2 $\alpha$ 19-nortestostérone (XX).....	61
- Oxydation de la méthylène-2 19-nortestostérone..	63
- Phosphonation de la méthylène-2 oestrène-4 dione-3, 17.....	64
- Préparation de la diméthylphosphonométhyl-2 oestrone (XVI) par aromatisation de la diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$ oestrène-4 dione-3, 17 (XV).....	66
<u>RESULTATS ORIGINAUX</u> .....	69
<u>BIBLIOGRAPHIE</u> .....	70

TABLEAUX ET FIGURES

	<u>Page</u>
Synthèse à partir de la méthylène-2 testostérone.....	13
Courbes de DC des stéroylphosphonates VI et XV.....	22
Spectre de RMN du composé VII.....	26
Aromatisation du composé VII.....	27
Spectre de RMN du composé VIIb.....	29
Synthèse à partir de la méthylène-2 nortestostérone....	33
Spectre de RMN du composé XVI.....	42
Spectres de masse (tableau des 10 principaux pics).....	46

RESUME

Ce travail décrit la préparation de plusieurs stéroylphosphonates dérivés de l'oestrone.

Le point de départ de la première synthèse est la méthylène-2 testostérone qui conduit, par deux voies différentes, à un diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$  stéroïde qui est déshydrogéné, puis aromatisé en dihydroxy-1, 17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 méthyl-4 oestratriène-1, 3, 5 (10) dont la structure est prouvée en RMN par effet N.O.E.

La deuxième synthèse comporte l'addition de phosphite triméthylrique à la méthylène-2 19-nortestostérone. Le phosphonate ainsi obtenu est aromatisé en diméthylphosphonométhyl-2 oestrone.

Les spectres de RMN et de masse sont discutés.

Des essais biologiques effectués à Strasbourg, sur des embryons de poulet, avec les composés aromatiques préparés dans ce travail sont décrits brièvement.

## INTRODUCTION

### I - GENERALITES

La synthèse de dérivés phosphorés de stéroïdes suscite, depuis quelque temps, un très grand intérêt. Plusieurs laboratoires (1-3) ont entrepris la synthèse de stéroïlmonophosphates, produits dont l'hydrosolubilité permet l'injection par voie intraveineuse de l'hormone dans l'organisme (2, 4); le caractère fragile de la liaison phosphore-stéroïde est une propriété intéressante, car l'hydrolyse in vivo permet de libérer l'hormone après administration, l'activité hormonale et la toxicité de ces phosphates étant encore incertaines (4). En entreprenant la synthèse de phosphates et de méthylphosphonates de stéroïdes, RIESS (3) pensait que l'introduction d'un groupe encombrant et polaire dans la molécule rigide d'un stéroïde pouvait apporter des modifications profondes et imprévisibles de ses propriétés.

D'autres laboratoires (5-8) ont mené à bien la synthèse de stéroïlphosphonates (et des acides phosphoniques correspondants), différents des phosphates par le fait que le phosphore est relié au noyau stéroïdique par un atome de carbone au lieu d'un oxygène. La synthèse de composés à liaison C-P a pris un grand essor depuis la

découverte, il y a 12 ans, du premier composé naturel possédant une telle liaison (9). Plusieurs autres dérivés phosphoniques naturels ont été découverts depuis, provenant surtout d'anémones de mer et de mollusques marins (10). Une des propriétés importantes de tels composés est la stabilité de la liaison C-P à la coupure hydrolytique (11). En série stéroïde, cette propriété devrait permettre de savoir si les nouvelles hormones ainsi obtenues, ont une activité biologique.

Nous avons entrepris la synthèse de stéroïlphosphonates dérivés de l'oestrone, en espérant que ces composés se révéleraient de plus puissants oestrogènes que l'oestrone dans la transformation d'embryons mâles de poulets en embryons femelles. Il a déjà été prouvé (12) que l'acide oestrone-phosphorique avait, en ce sens, une activité supérieure au benzoate d'oestradiol et que l'effet de ces composés sur des embryons de poulets mâles fournit des intersexués, la fragilité de la liaison phosphore-stéroïde conduisant d'ailleurs à un affaiblissement de l'effet de cette hormone. En revanche, un stéroïlphosphonate dérivé de la testostérone\* préparé par BENEZRA et OURISSON (6), n'a eu aucun effet masculinisant sur des embryons femelles. Cet essai n'était cependant pas concluant car, si le changement de sexe dans le sens de la féminisation sous l'effet d'oestrogènes peut être spectaculaire, le changement inverse sous l'effet d'androgènes l'est en général beaucoup moins (13).

---

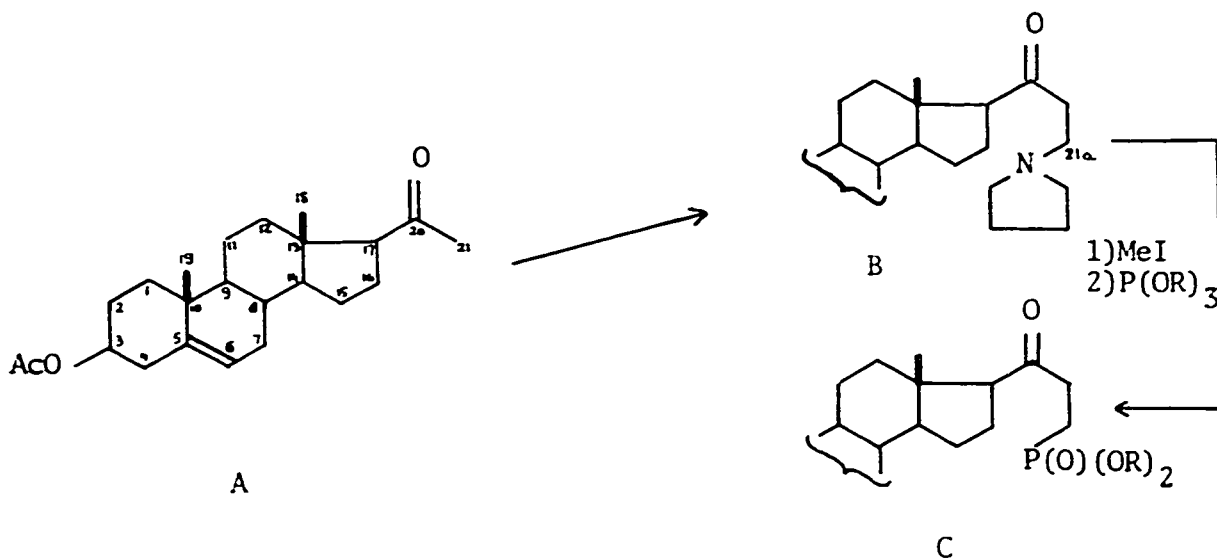
\* Cf. p. 6, produit K.

Notre objectif était donc de faire la synthèse de stéroylphosphonates dérivés de l'oestrone et de les obtenir en quantités suffisantes pour permettre des essais biologiques.

## II - METHODES DE PREPARATION DE STEROYLPHOSPHONATES

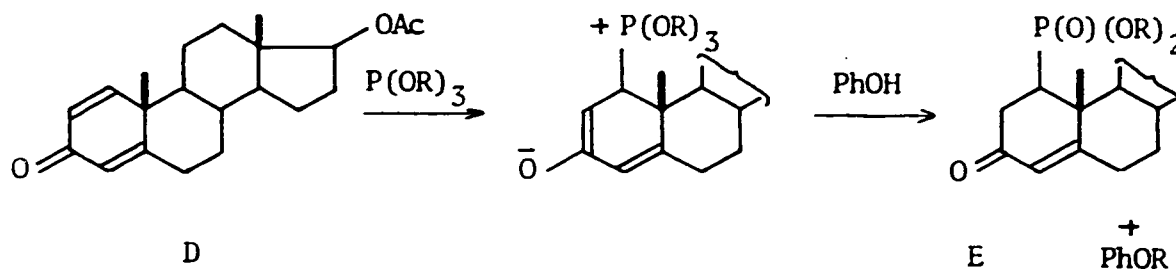
Nous avons été conduits à étudier les différentes méthodes de synthèse de liaisons C-P pour déterminer celles qui s'adaptent le mieux au cas des stéroïdes. Il convient tout d'abord d'examiner les différentes synthèses de stéroylphosphonates déjà effectuées.

JENSEN et coll. (5) ont décrit la synthèse de stéroylphosphonates à partir d'une base de Mannich: l'acétoxy-3 $\beta$  prègnènolone, A, traitée par la pyrrolidine et le paraformaldéhyde dans le diméthoxyéthane est transformée en dérivé B qui est quaternarisé (MeI) puis mis en réaction avec un phosphite trialkoylique, P(OR)<sub>3</sub> pour donner finalement un 21a phosphonate, C.



Les auteurs proposent, comme mécanisme, un déplacement par le phosphite trialcoylique de la fonction ammonium quaternaire pour donner un ion phosphonium quaternaire intermédiaire conduisant au phosphonate par expansion de valence au niveau du phosphore (14, 15); le même intermédiaire peut aussi être produit par la décomposition de la base de Mannich, en cétone  $\alpha, \beta$ -insaturée et attaque nucléophile du phosphite sur ce système.

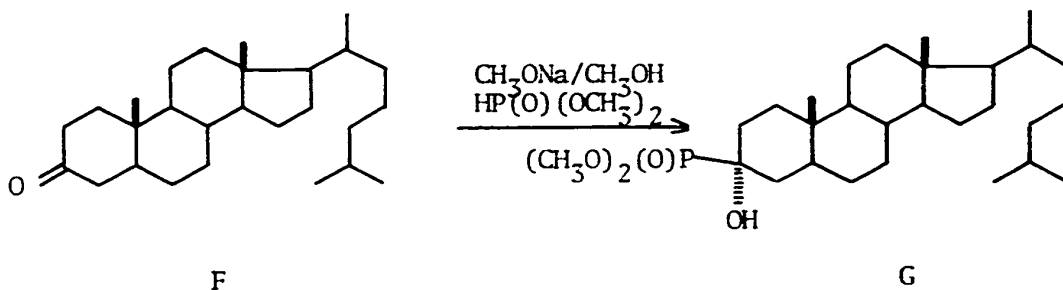
JENSEN et coll. (7) ont également réussi à introduire le groupe dialcoylphosphonique  $(RO)_2P(O)-$  dans les positions 1, 7 et 16 du noyau stéroïdique, en faisant réagir le cétostéroïde  $\alpha, \beta$ -insaturé correspondant et un phosphite trialcoylique en présence d'un donneur de proton (éthanol ou phénol). Cette méthode, baptisée hydrophosphinylation (16), implique une addition 1, 4 du phosphite sur le système conjugué, suivie de la protonation par le solvant et expansion de valence au niveau du phosphore pour former une liaison  $P=O$ .



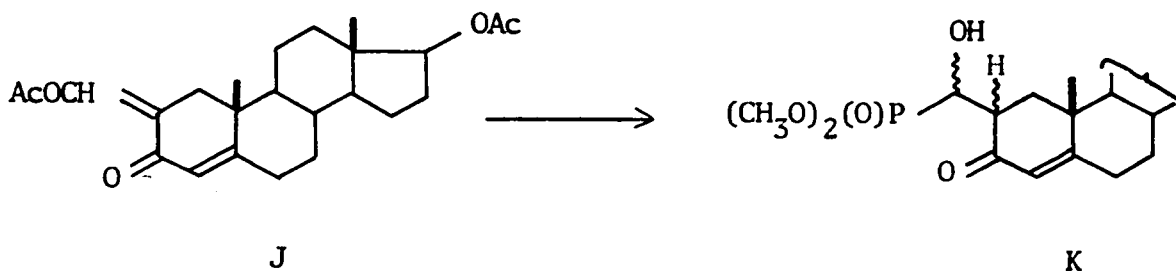
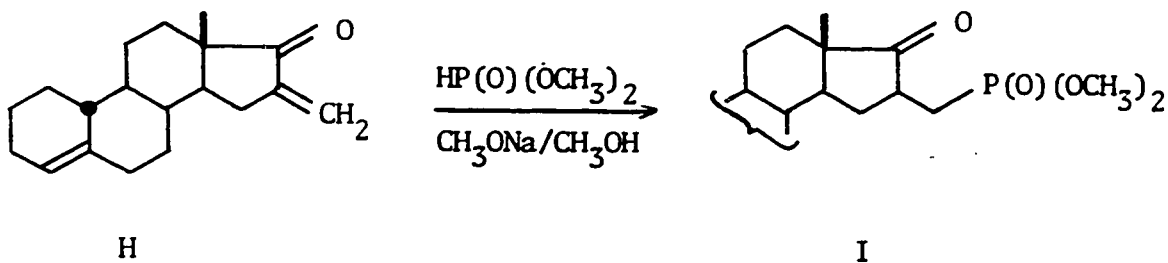
De cette manière, le groupe dialcoylphosphonique a été fixé en position 1 de la testostérone (E), de l'hydrocor-

tisone et de la cortisone, en position 7 de la testostérone et en position 16 de la prégnénolone et de la progestérone.

BENEZRA et OURISSON (6) ont synthétisé des stéroïlphosphonates à partir de cétostéroïdes saturés et insaturés. Par addition d'un phosphite dialcoylique  $\text{HP(O)(OR)}_2$  sur une cétone saturée, en présence d'une base ( $\text{RONa}$ ) (réaction d'ABRAMOV)(17), il est possible d'obtenir un  $\alpha$ -hydroxyphosphonate. C'est ainsi qu'a été préparé le composé G à partir de la  $5\alpha$ -cholestanone-3 (F).

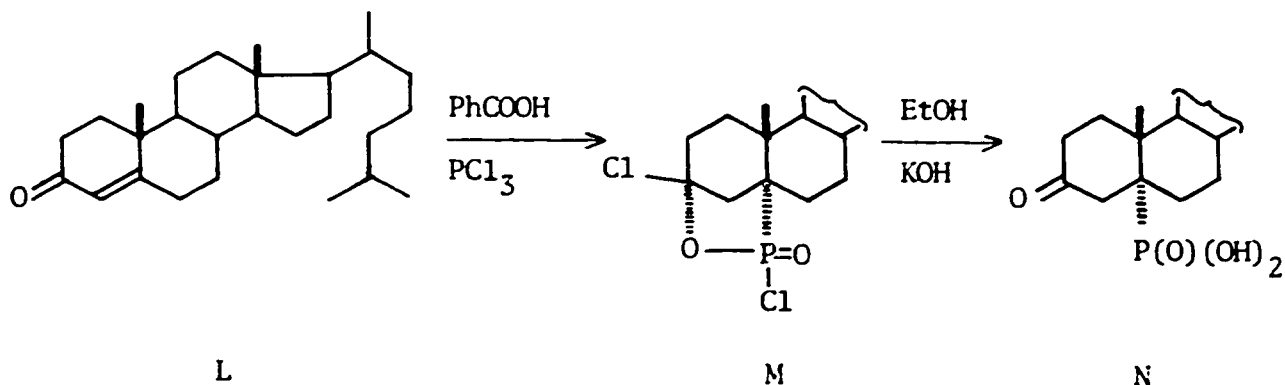


Ils ont également réalisé la synthèse de stéroïlphosphonates à partir de cétones  $\alpha,\beta$ -éthyléniques. L'addition de Michael, baso-catalysée, d'un phosphite dialcoylique sur une cétone conjuguée conduit à un  $\beta$ -cétophosphonate. Cette réaction a été réalisée dans le cas de la méthylène-16 oestrène-4 one-17 (H) et de l'hydroxyméthylène testostérone diacétylée (J).



Enfin, dans le cadre d'une addition en 1, 4 de  $\text{PCl}_3$  sur les cétones  $\alpha, \beta$ -éthyléniques cycliques, ROSS et MATZ (8) sont récemment parvenus à introduire le groupe phosphonique en position 5 du noyau stéroïdique.

La réaction de  $\text{PCl}_3$  sur la cholestène-4 one-3 (L) en présence d'acide benzoïque, conduit d'abord à un chlorure de phostonyle, M, qui est ensuite hydrolysé pour donner l'acide phosphonique 5 $\alpha$ : N



Le mécanisme proposé par ces auteurs implique une attaque électrophile du carbone sur l'oxygène. Toutefois, ce mécanisme est contesté par TRIPPETT (18) qui pense qu'il s'agit plutôt d'une addition 1, 4 de  $\text{PCl}_3$  sur le système insaturé.

### III - PLAN DE LA RECHERCHE

A la lumière de ces résultats et de ces méthodes, il nous a semblé intéressant de synthétiser les stéroïlphosphonates dérivés de l'oestrone, en utilisant comme produit de départ, la testostérone et la 19-nortestostérone, de fixer le phosphore sur le cycle A, puis d'aromatiser ce cycle pour obtenir des produits ayant le squelette de l'oestrone. Il apparaît difficile de fixer le phosphore directement sur le cycle A de l'oestrone elle-même. Les méthodes ne sont pas très nombreuses et on pense surtout à un mode radicalaire (par substitution du groupe dialcoylphosphonique sur un noyau aromatique). Cette réaction a été effectuée avec succès sur l'anthracène, le naphthalène, le phénanthrène (19) et le benzoate de méthyle (20) en utilisant un phosphite dialcoylique et un peroxyde.

Nous avons essayé cette réaction sur l'oestrone avec le phosphite diméthylrique et le peroxyde de benzoyle, mais nous n'avons obtenu que des produits de polymérisation. Il est probable que dans le cas de phénols, il

faible prendre des précautions supplémentaires (protection du groupe OH); il est aussi possible que ce résultat soit dû à un choix inapproprié de l'initiateur (19) ou du phosphite.

Nous avons envisagé deux voies pour fixer le phosphore au cycle A de la testostérone et de la 19-nortestostérone:

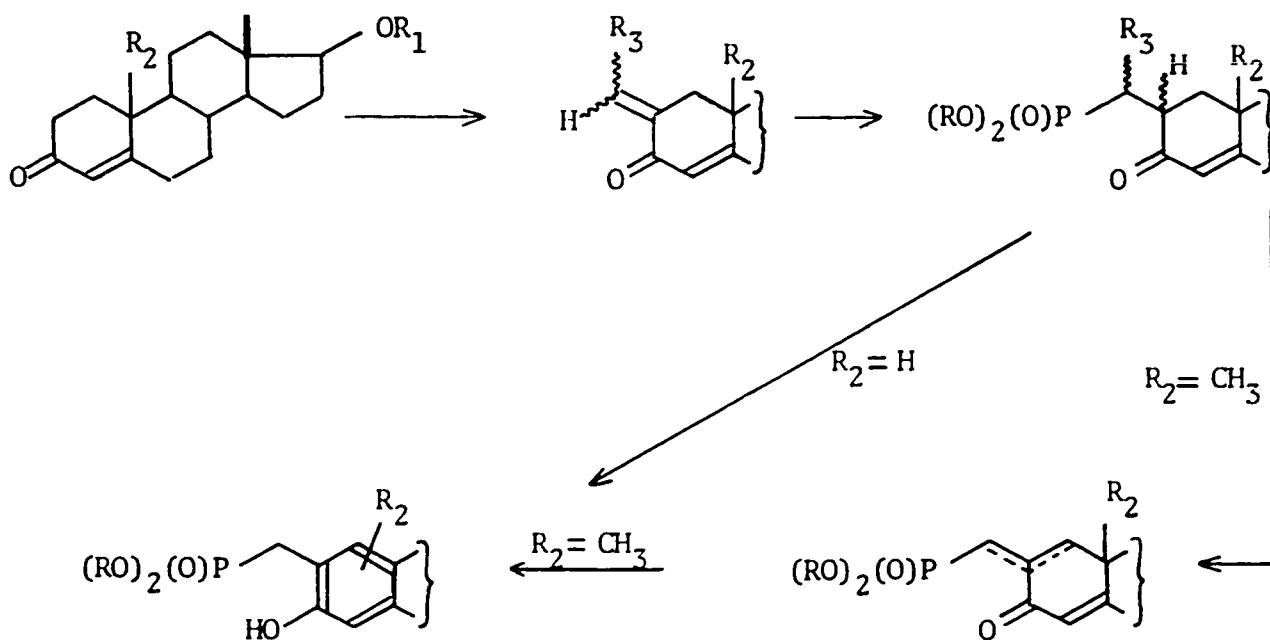
- addition du phosphite dialcoylique sur l'hydroxyméthylène-2 testostérone (ou nortestostérone) diacétylée, telle que réalisée par BENEZRA et OURISSON (6)
- réaction des phosphites dialcoylique ou trialcoylique sur la méthylène-2 testostérone (ou nortestostérone).

Comme réactifs phosphorés, nous utiliserons les phosphites di- et tri-méthyliques à cause de la simplicité des spectres de RMN des phosphonates qui en découlent et de l'intérêt que porte notre laboratoire à la grosseur du groupe diméthylphosphonique et à son comportement en RMN.

En règle générale, nous nous sommes efforcés de mettre au point les différentes étapes de la synthèse en utilisant la testostérone comme produit de départ, pour appliquer ensuite les résultats obtenus à la 19-nortestostérone (qui est un produit beaucoup plus

coûteux et d'accès moins facile). Les seules différences entre ces deux types de synthèse ne semblent devoir apparaître qu'au stade de l'aromatisation. La synthèse sera d'abord décrite pour la testostérone, et ensuite pour la nortestostérone; nous nous attacherons surtout à souligner les différences entre les deux types de synthèse.

Le schéma général de la synthèse est esquissé ci-dessous.



$R_1 = H$ , puis Ac

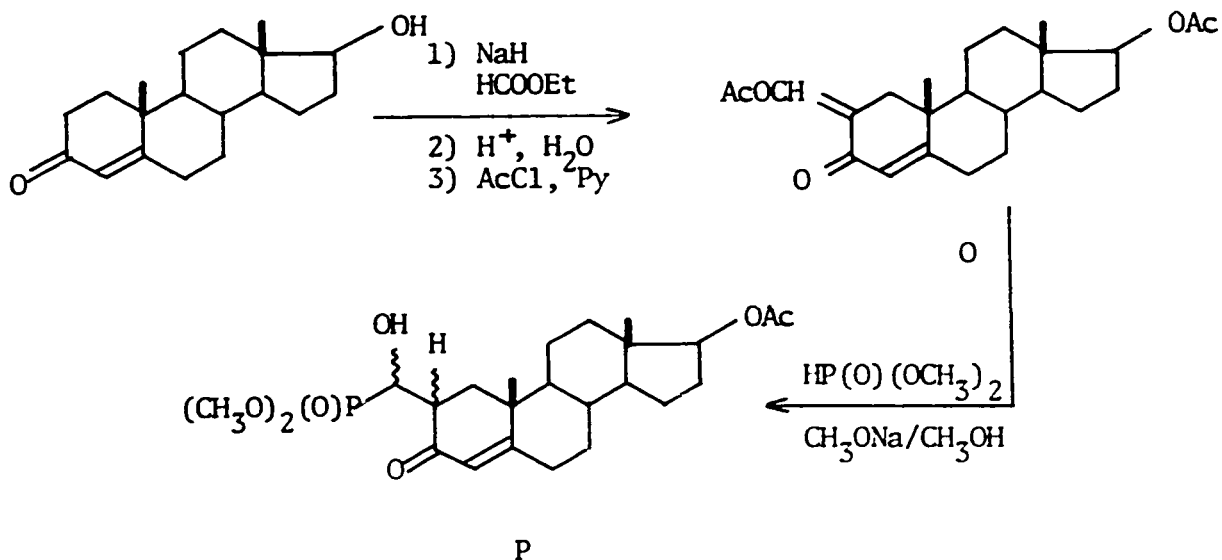
$R_2 = CH_3$  ou H

$R_3 = H$ , OH ou OAc

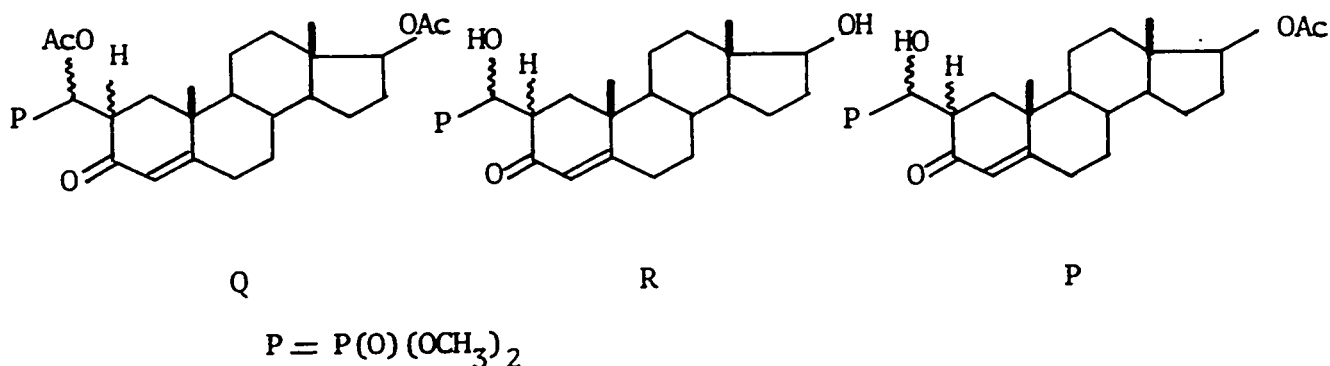
RESULTATS ET DISCUSSION

I - SYNTHESSES A PARTIR DE L'HYDROXYMETHYLENE-2 TESTOSTERONE  
(et 19-NORTESTOSTERONE)

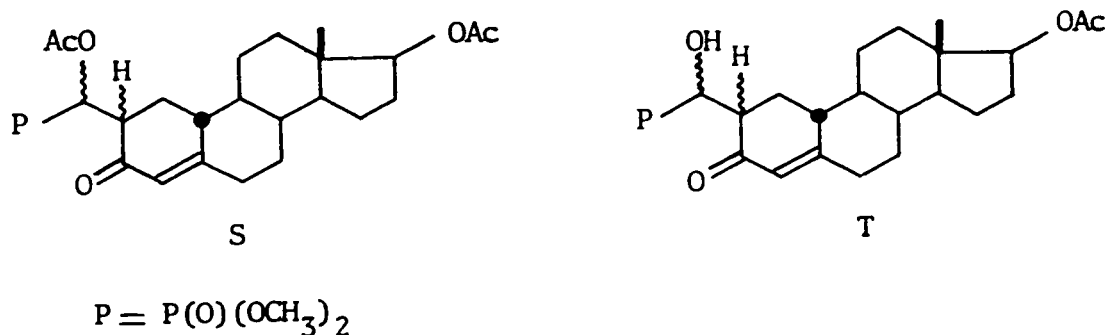
Il nous a d'abord semblé intéressant d'exploiter une des réactions faite par BENEZRA et OURISSON (6): l'addition de Michael, baso-catalysée du phosphite diméthylique sur l'hydroxyméthylène-2 testostérone diacétylée, préparée à partir de la testostérone (21).



La réaction de phosphonation n'a pas donné les résultats escomptés; nous avons pu isoler 3 produits dont les spectres de RMN et d'IR permettent d'attribuer les structures suivantes:



Les produits purs n'ont été recueillis qu'avec de faibles rendements. Avec la nortestostérone, 2 phosphonates seulement ont été isolés, avec des rendements légèrement supérieurs.



Les phosphonates P, Q, R, S, T ont été obtenus en quantités très médiocres à côté d'un grand nombre de produits secondaires. Cette réaction semble d'ailleurs être extrêmement sensible aux conditions et notamment à la quantité de catalyseur utilisée. Ainsi, PUDOVIK (22) et McCONNELL (23) ont décrit, pour ce type de réaction (phosphite dialcoylique sur acétate d'énol), la formation d'un acétoxyphosphonate. Le problème se complique dans notre cas par la présence d'un acétate en  $17\beta$  qui peut subir l'hydrolyse pour donner le produit R.

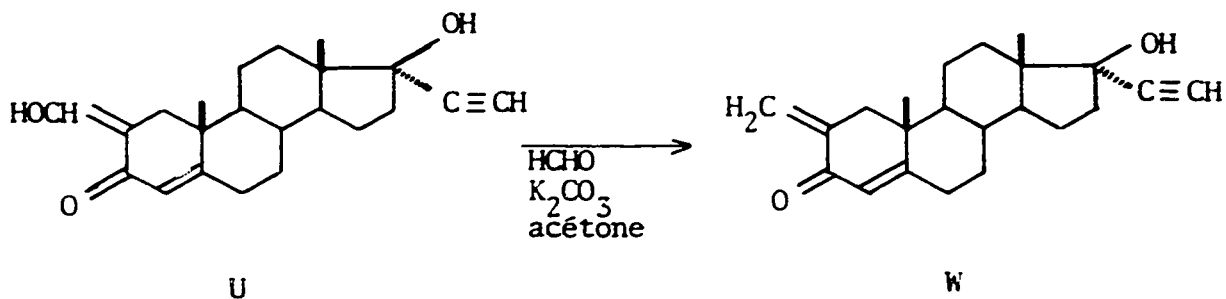
Cette voie, qui impliquait ensuite l'introduction d'une insaturation supplémentaire dans le cycle A (ou hors du cycle) et l'aromatization de ce cycle, a été abandonnée à cause du faible rendement de la première étape au profit de la synthèse à partir des méthylène-2 testostérone et nortestostérone.

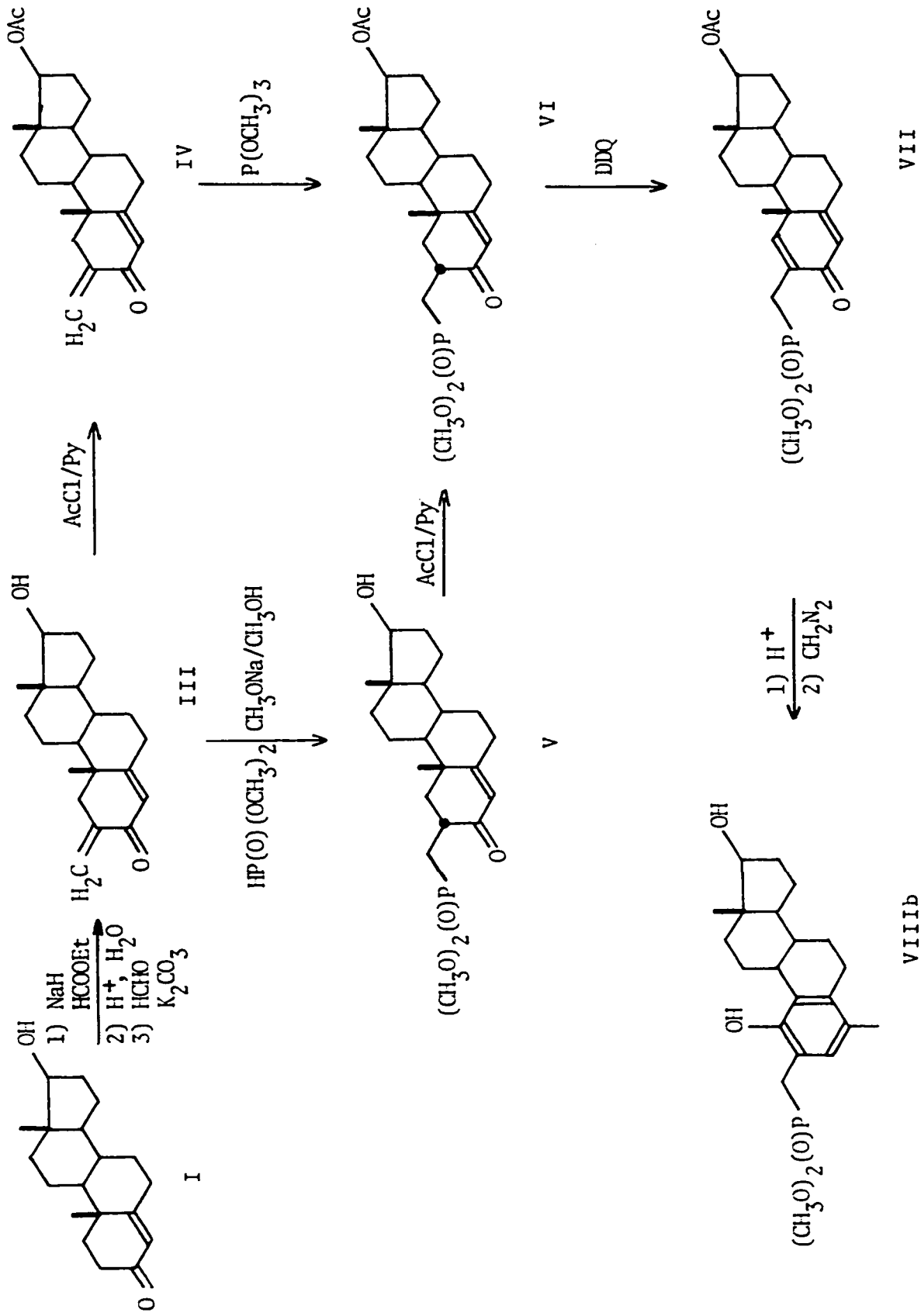
## II - SYNTHESE A PARTIR DE LA METHYLENE-2 TESTOSTERONE

### A - Préparation du dérivé méthylénique

Les dérivés méthyléniques en position 2 de stéroïdes sont bien connus de la littérature, mais ils n'avaient été isolés, dans le cas de la testostérone ou la 19-nortestostérone, qu'avec des rendements médiocres (24); il en est de même pour la base de Mannich correspondante (diméthylaminométhyl-2 $\alpha$  stéroïde) (25) qui aurait pu donner lieu à une réaction du type de celle décrite par JENSEN (5). Nous avons donc préféré utiliser une autre route.

MANSON et WOOD (26) ont décrit une synthèse intéressante du dérivé méthylénique à partir du dérivé hydroxyméthylénique sur l'hydroxy-17 $\beta$  prégnène-4 yne-20 one-3 avec un rendement d'environ 80%.

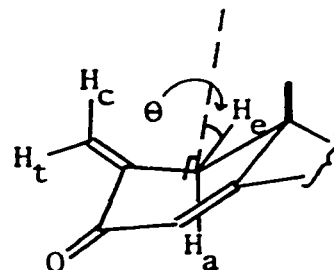
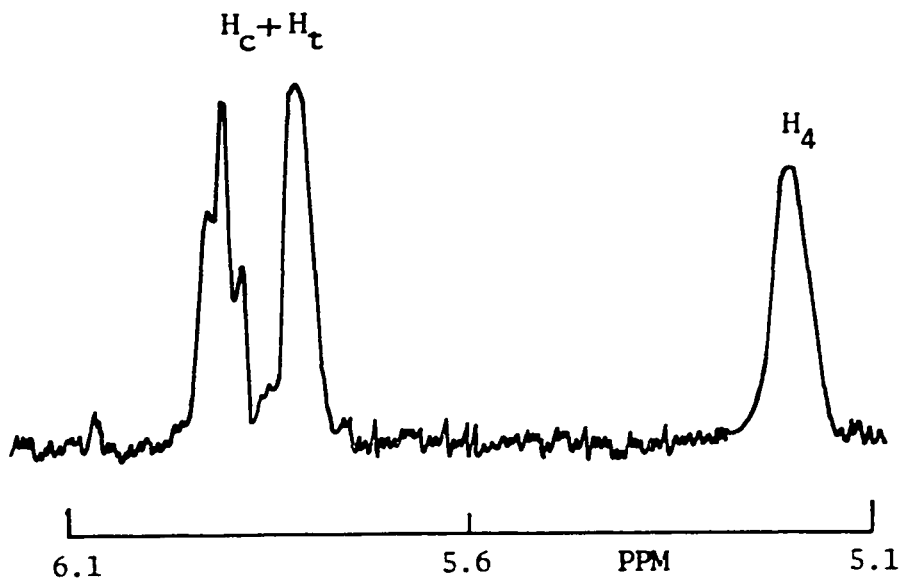




Synthèse à partir de la méthylène-2 testostérone

Comme l'hydroxyméthylène-2 testostérone se prépare aisément avec un rendement quantitatif (21), il nous a paru intéressant de préparer le dérivé méthylénique par cette méthode.

Nous avons préparé le méthylène-2 testostérone (III) avec un rendement de 79%; le produit brut isolé se révèle très propre et utilisable, sans purification, pour l'étape suivante. Il a été identifié (IR, UV,  $(\alpha)_D$ , PF) à celui préparé par EVANS, EVANS, LEWIS et PALMER (24). Le spectre de RMN, que nous donnons en plus, correspond à la structure attendue. Le signal des protons méthyléniques se compose d'un singulet adjacent à un triplet.



Les 2 protons méthyléniques ont donc un déplacement chimique différent. Ceci s'explique sans doute par le fait que l'un d'eux se situe dans le cône de blindage du carbonyle. De plus, ils sont probablement plus couplés

par l'hydrogène axial  $H_a$  que par l'équatorial  $H_e$  (angle  $\theta$  voisin de  $60^\circ$  pour  $H_e$  et de  $180^\circ$  pour  $H_a$ ), mais il n'est pas possible de les caractériser car les constantes de couplage  $J_{cis}$  et  $J_{trans}$  sont très proches dans ce cas (27).

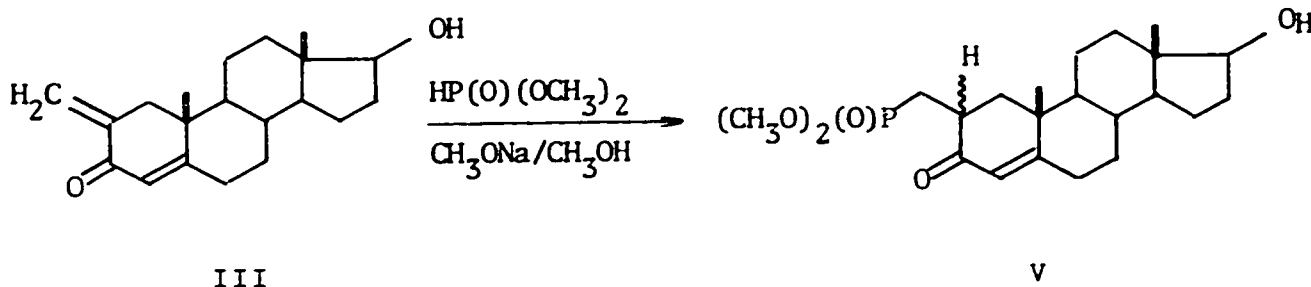
### B - Phosphonation du dérivé méthylénique

Nous avons réalisé cette réaction par deux méthodes:

- addition de Michael du phosphite diméthylque
- réaction du phosphite triméthylque, en milieu aprotique.

#### 1) Addition de Michael du phosphite diméthylque

Cette réaction conduit à la formation d'un  $\beta$ -cétophosphonate.



Le catalyseur est une solution saturée de méthylate de sodium dans le méthanol. Les premiers essais de phosphonation par cette méthode ont montré que les résultats variaient avec la proportion de catalyseur employée:

suivant les cas, nous avons obtenu deux produits, ou bien le produit attendu mais avec une polymérisation se produisant très rapidement. Les tentatives effectuées pour arrêter la réaction, en neutralisant le catalyseur avant que le produit ne se polymérise, se sont révélées infructueuses. Le meilleur rendement (41%) a été obtenu en ajoutant, en plusieurs fois, d'assez grandes quantités de catalyseur. La réaction doit alors être suivie de très près sur plaque. On remarque la formation d'un produit supplémentaire qui disparaît progressivement. Au bout de 48 heures, la réaction n'évolue plus.

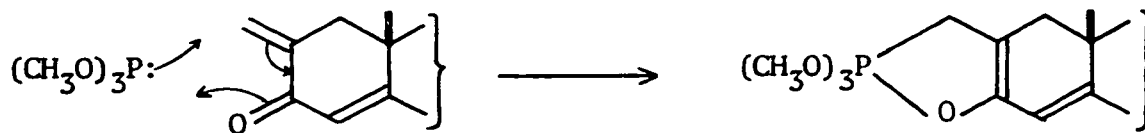
Il est probable que la transestérification de la fonction alcool-17 est une réaction secondaire importante qui limite le rendement. Nous avons en effet observé la présence de phosphites dans les résidus de chromatographie. Il est donc nécessaire de protéger la fonction alcool par acétylation, par exemple, chaque fois que l'on travaille avec des phosphites. Ce fait avait d'ailleurs été observé par JENSEN (7).

## 2) Réaction avec le phosphite triméthylrique

Nous avons réalisé cette réaction en milieu aprotique et en milieu protique. La réaction avec donneur de proton sera décrite dans le cas de la 19-nortestostérone.

Nous pensions qu'avec un système insaturé de type s-cis, il était possible d'obtenir un phosphorane selon

la réaction suivante:



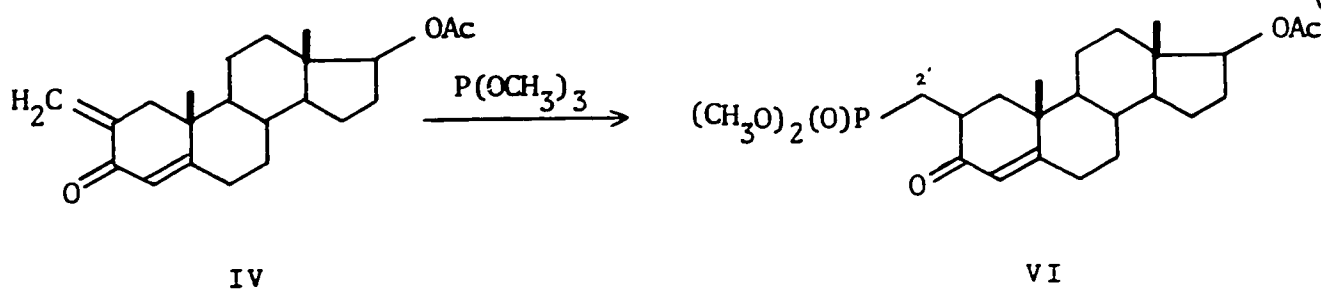
De tels phosphoranes ont été préparés à partir d' $\alpha$ -dicétones (28) et de cétones  $\alpha,\beta$ -éthyléniques (29).

La réaction est réalisée en dissolvant le dérivé méthylénique dans une quantité de phosphite triméthylrique juste suffisante pour le dissoudre (ceci nécessite toutefois un léger chauffage). Le mélange est ensuite laissé à température ordinaire. On constate en chromatographie sur couche mince la formation d'un produit en quantité importante et le spectre de RMN du mélange réactionnel brut montre la disparition des pics des hydrogènes méthyléniques et un grand nombre de pics méthoxyles.

Les essais préliminaires ont aussi permis de mettre en évidence la transestérification de l'hydroxyle en 17 du stéroïde, détail qui avait aussi été observé par JENSEN (7). Ici encore, il s'est avéré nécessaire de protéger l'alcool en 17 avant phosphonation, ce qui a été réalisé par acétylation.

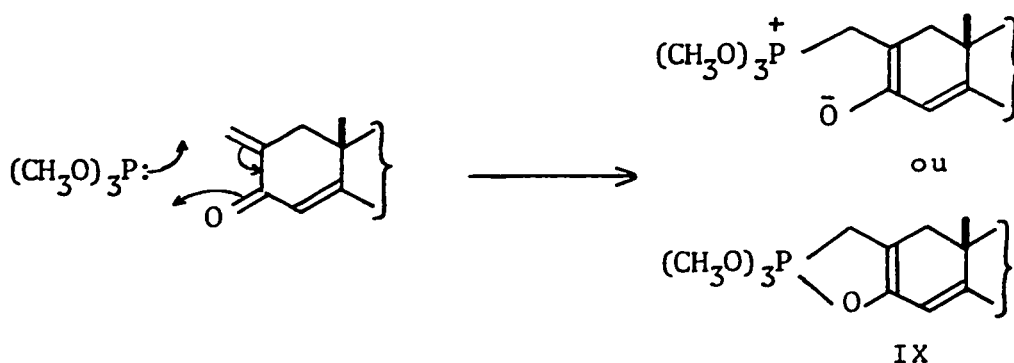
Au bout de 2 jours à température ordinaire, la réaction ne semblait plus évoluer. L'excès de phosphite a été éliminé par distillation sous vide et le résidu chromatographié. Le produit est élué en compagnie de quelques traces de phosphate triméthylique (résultant probablement de l'oxydation du phosphite lors de la distillation, ou sur la colonne). Ces traces sont éliminées par lavage à l'eau d'une solution étherée du mélange.

Les spectres de RMN et d'IR du produit montrent qu'il s'agit du même  $\beta$ -cétophosphonate que celui obtenu par addition de Michael du phosphite diméthylique, après acétylation.



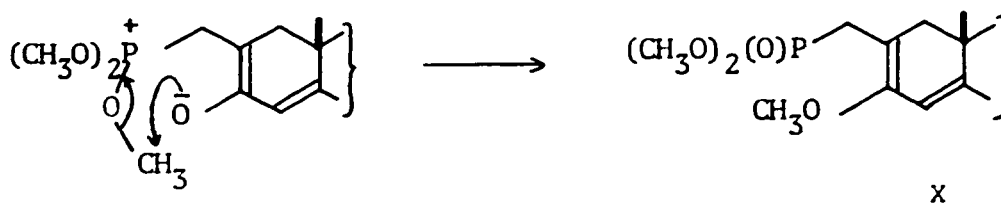
L'acétylation du phosphonate V conduit au même acétoxyphosphonate VI (spectres de RMN, IR, UV et point de fusion identiques).

Du point de vue mécanisme de réaction, il semble raisonnable de postuler une attaque nucléophile du phosphite sur le carbone méthylénique conduisant à un intermédiaire dipolaire ou au phosphorane IX correspondant.



Le nombre important de pics  $\text{OCH}_3$  est probablement une indication que la réaction donne un mélange complexe. Le milieu étant aprotique, l'expansion de valence au niveau du phosphore peut se faire de deux façons:

a) attaque nucléophile intramoléculaire de l'oxygène sur un groupe méthyle pour conduire à l'éther d'énol X.



Nous n'avons cependant pas trouvé trace de l'éther d'énol X, ce qui ne prouve pas grand chose étant donné qu'il devrait être très facile à hydrolyser en redonnant le phosphonate VI final.

b) formation du phosphonate VI lors de l'élu-tion en chromatographie; en effet ce composé est élué au mélange éther-méthanol 9: 1 et le méthanol pourrait agir comme donneur de proton (16).

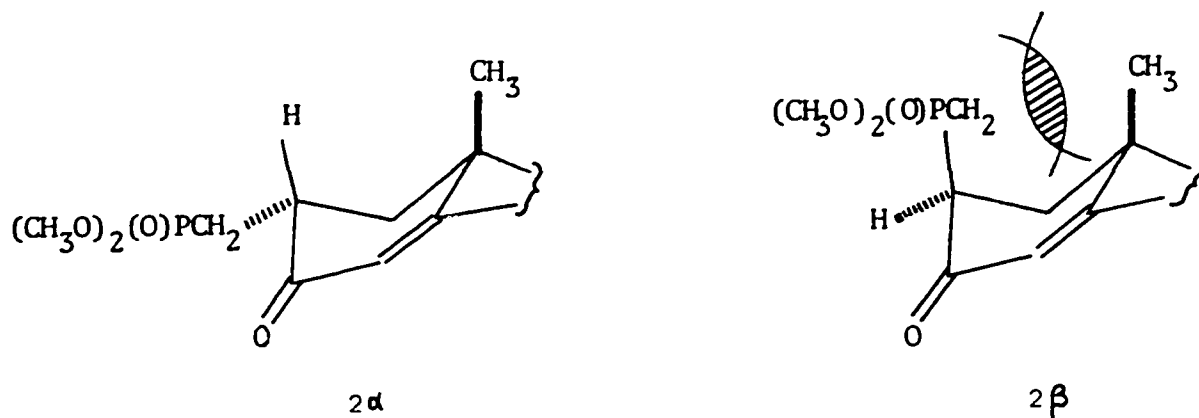
Il est aussi possible que le passage au phosphonate VI, par expansion de valence au niveau du phosphore, s'effectue par hydrolyse du phosphorane IX lors du lavage à l'eau de la solution étherée qui avait pour but de se débarrasser des traces de phosphate triméthylrique; cette expansion de valence aurait enfin pu être provoquée dans le mélange réactionnel par les traces d'eau que contient le phosphite triméthylrique (en effet, il est utilisé en très grand excès et les traces d'eau sont alors en proportion à peu près équimoléculaire avec le produit).

### 3) Structure des produits de phosphonation V et VI

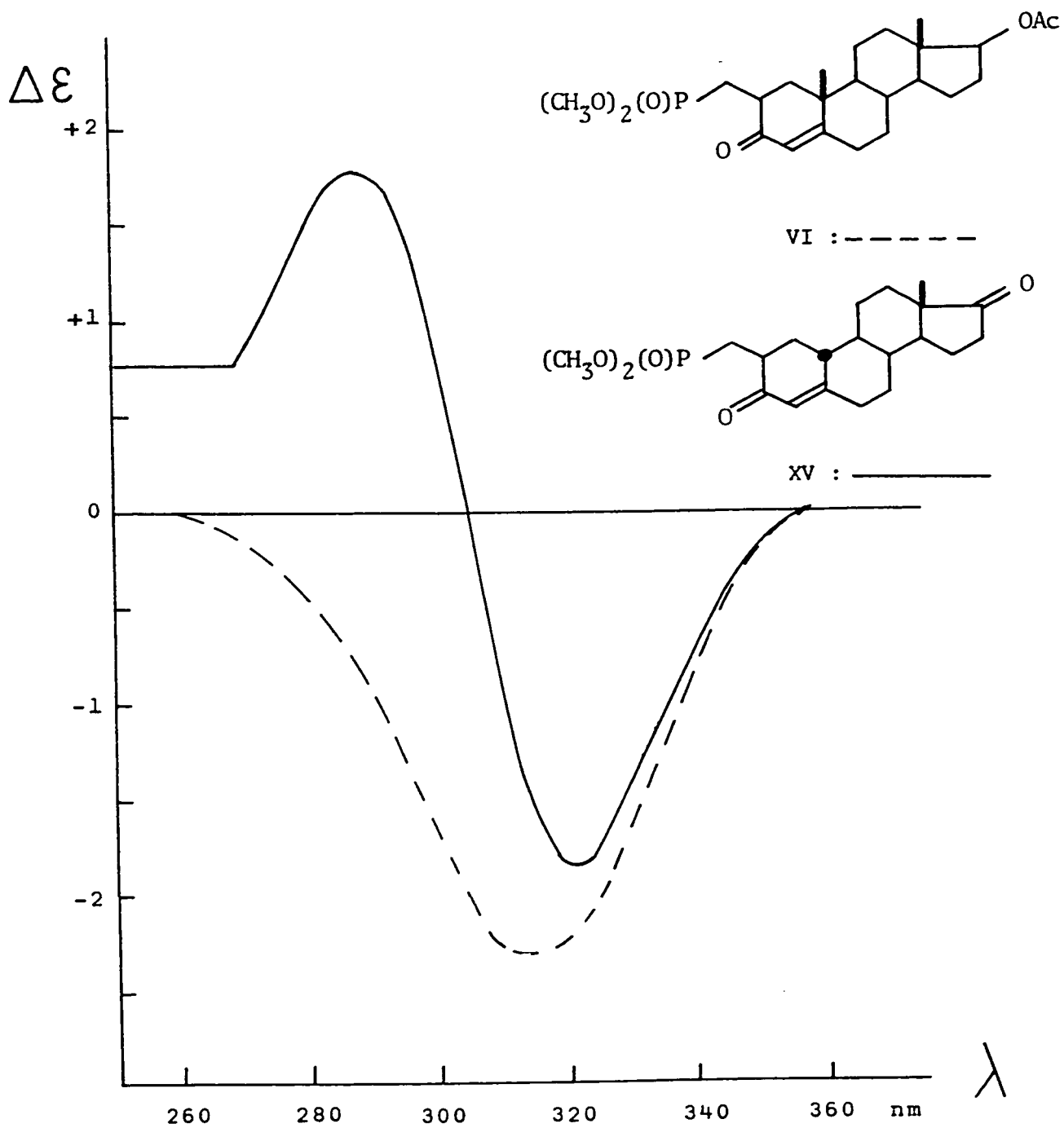
La structure des phosphonates V et VI est confirmée par RMN: absence des hydrogènes méthyléniques et apparition d'un doublet à 3.78 ppm pour V et à 3.72 ppm pour VI (P-O-CH<sub>3</sub>,  $^3J_{PH} = 10.8$  Hz), et par IR: (P=O) vers  $1240\text{ cm}^{-1}$  et (P-O-C) vers  $1040\text{ cm}^{-1}$ . L'ultra-violet confirme la présence d'une cétone conjuguée ( $\lambda_{\text{max}} = 244\text{ nm}$ ,  $\epsilon = 26,700$  pour V, et  $\lambda_{\text{max}} = 242.5\text{ nm}$ ,  $\epsilon = 23,800$  pour VI); le déplacement de l'absorption par rapport au produit non substitué est faible ( $\lambda_{\text{max}} = 241\text{ nm}$ ,  $\epsilon = 16,600$  pour la testostérone). En spectrométrie de masse, les pics les plus importants sont à 410 pour V et 452 pour VI (pics M<sup>+</sup>).

Le problème de la configuration en C-2 de ces phosphonates ne peut être résolu par RMN, car l'hydrogène en 2 et les deux hydrogènes en 2' sont masqués dans le spectre par les autres hydrogènes du noyau stéroïdique. La

dispersion rotatoire (DR) et le dichroïsme circulaire (DC) ne permettent pas de donner une réponse, car la règle des octants ne s'appliquant pas aux cétones  $\alpha, \beta$ -éthyléniques (30), on ne peut pas prévoir le signe de l'effet Cotton qui leur est associé. Cependant, CRABBE (31) a établi que les  $\Delta^4$  céto-3 stéroïdes substitués en  $2\alpha$  ont des courbes de DR similaires à celles des composés non substitués, alors que les dérivés substitués en  $2\beta$  montrent des courbes de DR ayant des différences importantes. Comme l'allure de la courbe de DR du phosphonate VI dérivé de la testostérone est très voisine de celle de la testostérone, nous pouvons conclure comme très probable l'orientation  $2\alpha$  pour le groupe diméthylphosphonométhylrique.



Ceci peut être appuyé par des considérations stériques: il est probable que la configuration  $2\alpha$  correspond à l'isomère le plus stable. En effet, dans le cas d'une configuration  $2\beta$ , les modèles montrent qu'il y a une forte interaction diaxiale 1, 3 entre le méthyle- $10\beta$



Courbes de DC des stéroylphosphonates VI et XV

et le volumineux substituant  $2\beta$ , conduisant à un cycle A demi-bateau.

Les courbes de DC (voir p. 22) des stéroylphosphonates dérivés de la testostérone (VI) et de la nortestostérone (XV) présentent le même effet Cotton négatif pour le voisinage de la cétone-3, ce qui montre que ces deux composés ont la même configuration en C-2, c'est-à-dire avec le groupe diméthylphosphonométhyl- $2\alpha$ .

### C - Réaction d'aromatisation

#### 1) Choix de la méthode

Toutes les méthodes décrites pour l'aromatisation du cycle A de stéroïdes du type de la testostérone impliquent le passage préliminaire par une diène-1, 4 one-3. On peut les classer en trois catégories:

a) méthodes thermiques, avec expulsion du méthyle C-19 (32).

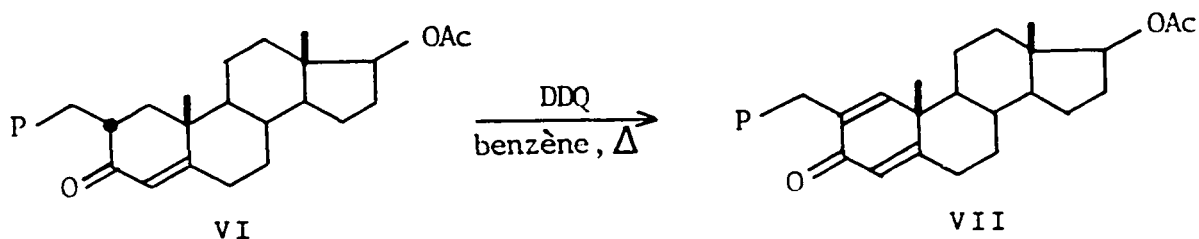
b) réaction du zinc, dans la pyridine, sur les diène-1, 4 one-3 possédant une double liaison supplémentaire dans les cycles B ou C et conduisant à une aromatisation accompagnée de l'expulsion (ou non) du méthyle C-19 (33). Aromatisation réductive de ces diènonnes avec expulsion du méthyle C-19 (34).

c) réarrangement acido-catalysé des diène-1, 4 one-3 (35-37).

Les méthodes thermiques sont brutales (chauffage à 400°C au moins) et les rendements faibles (moins de 15%). Le succès et les rendements de la méthode b) dépendent beaucoup de la position de la double liaison additionnelle. Le réarrangement acido-catalysé (diènone-phénol), qui est décrit avec de bons rendements par DREIDING et coll. (37) sur l'androstadiène-1, 4 dione-3, 17 est la méthode que nous avons choisie.

## 2) Déshydrogénation de VI

La déshydrogénation en  $\Delta^1$  est aisément réalisé par la dichloro-2, 3 dicyano-5, 6 benzoquinone (DDQ) (50) après 48 heures de reflux dans le benzène, la réaction est complète et le rendement est de 88%.



Comme la DDQ risque de déshydrogéner aussi la fonction alcool 17 $\beta$  du stéroïlphosphonate V (oxydation en cétone-17) et donner un mélange, nous avons jugé préférable d'utiliser l'acétate VI.

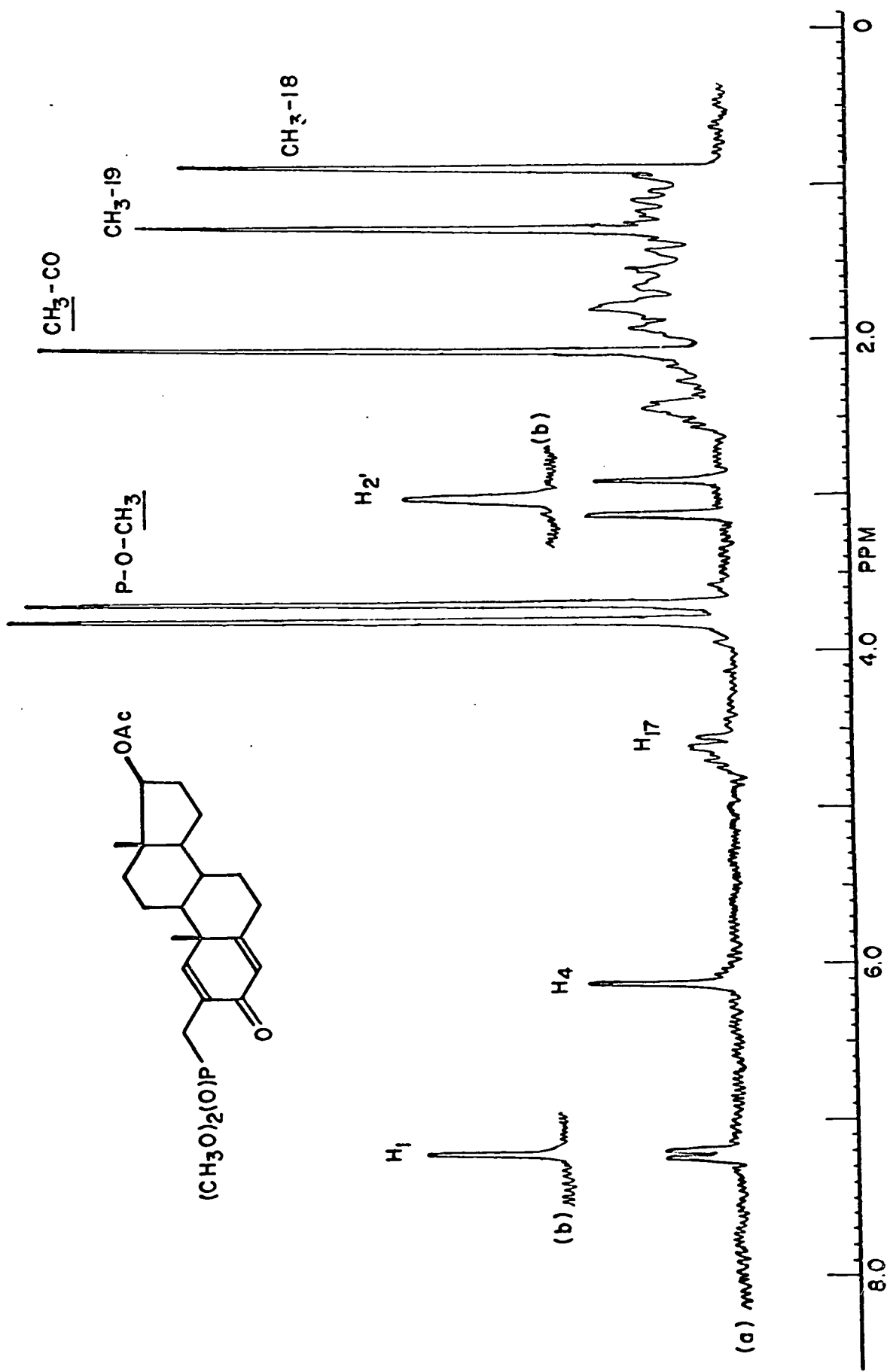
La structure du produit VII (acétoxy-17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 androstadiène-1, 4 one-3) est con-

firmée par spectroscopie. En infra-rouge, le pic à  $1636 \text{ cm}^{-1}$  correspondant à l'absorption (C=C) est beaucoup plus intense et déplacé par rapport à celui du produit VI non déshydrogéné ((C=C) à  $1622 \text{ cm}^{-1}$ ). La forte absorption ( $\lambda_{\text{max}} = 228 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 22,000$ ) en ultra-violet montre la présence d'une cétone conjuguée. Il faut noter toutefois le déplacement de l'absorption par rapport à une diènone non substituée ( $\lambda_{\text{max}} = 246 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 15,000$ ). Ce déplacement est beaucoup plus élevé que celui entre le phosphonate VI et l'enone correspondante ( $\Delta\lambda = 1.5 \text{ nm}$ ) dans ce cas. En RMN (voir le spectre p. 26), on constate l'apparition d'un doublet à 7.18 ppm (1H,  $-\overset{\cdot}{\text{C}}_2=\text{C}_1\text{H}-$ ,  $^4\text{J}_{\text{PH}} = 4.5 \text{ Hz}$ ) et d'un doublet à 2.96 ppm (2H,  $\text{P}-\text{CH}_2-\overset{\cdot}{\text{C}}_2=$ ,  $^2\text{J}_{\text{PH}} = 21 \text{ Hz}$ ). La présence d'une double liaison en  $\Delta^1$  provoque le déblindage des hydrogènes en 2' (non discernables dans le spectre du produit VI). Le pic le plus important du spectre de masse est à 450 (pic  $\text{M}^+$ ).

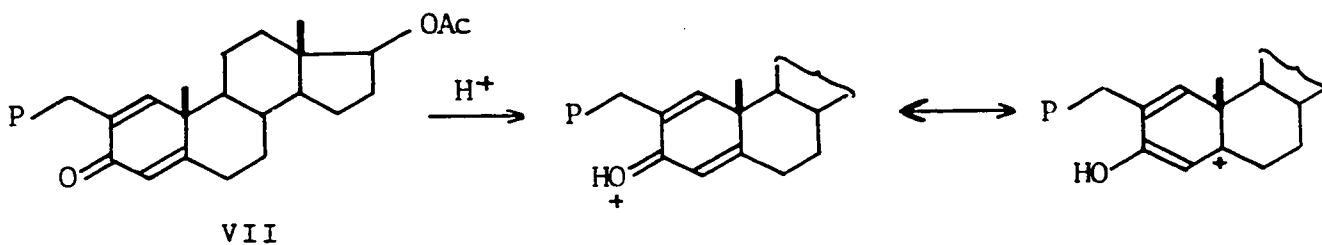
### 3) Aromatisation

Le réarrangement diènone-phénol est réalisé sur la diènone VII avec une solution aqueuse à 48% d'acide bromhydrique (37). Le produit aromatisé est recueilli par filtration. Comme on pouvait s'y attendre, le traitement de VII par un acide concentré provoque, en plus de l'aromatisation, l'hydrolyse de l'acétate  $17\beta$  en alcool  $17\beta$  et celle des méthoxyles  $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_3$ . Le produit recueilli est donc un acide phosphonique dérivé de l'oestradiol; il est

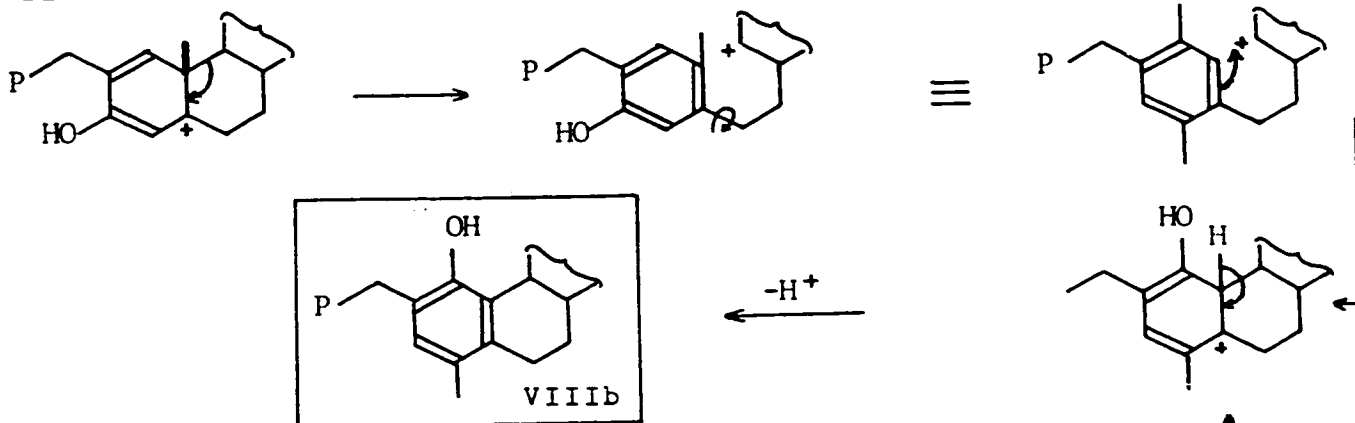
Spectre de RMN du composé VII. (a) Spectre régulier; (b) avec découplage du  $^{31}\text{P}$



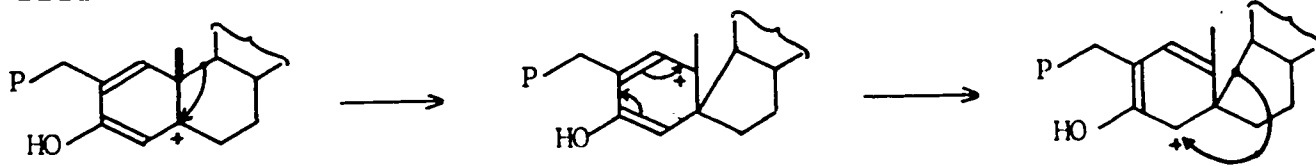
AROMATISATION DU COMPOSE VII



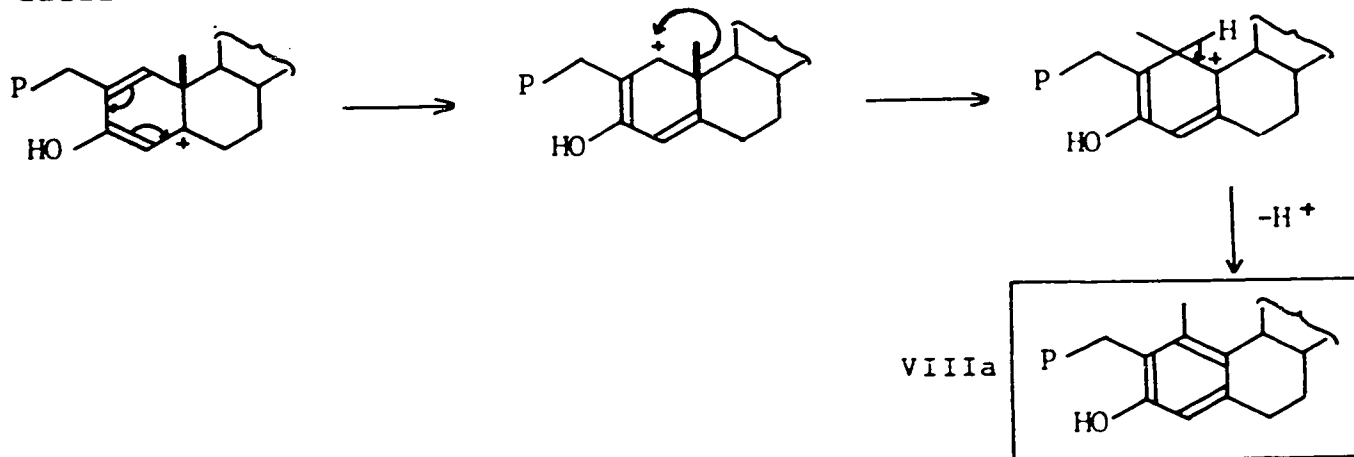
Mécanisme n° 1



Mécanisme n° 2



Mécanisme n° 3

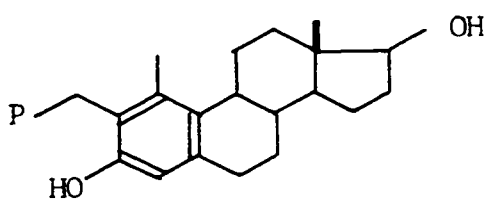


$P = P(O)(OR)_2$  avec  $R = CH_3$ , puis  $H$

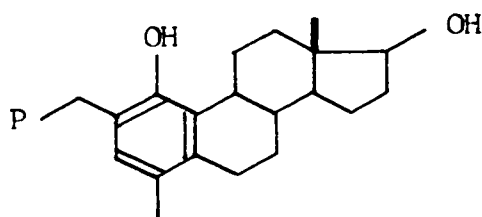
aussitôt méthylé par le diazométhane en phosphonate diméthylique.

4) Structure du produit d'aromatisation

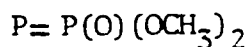
Selon le mécanisme du réarrangement diènone-phénol (38), on peut s'attendre à obtenir 2 produits: VIIIa ou VIIIb (voir tableau p. 27).



VIIIa "meta"

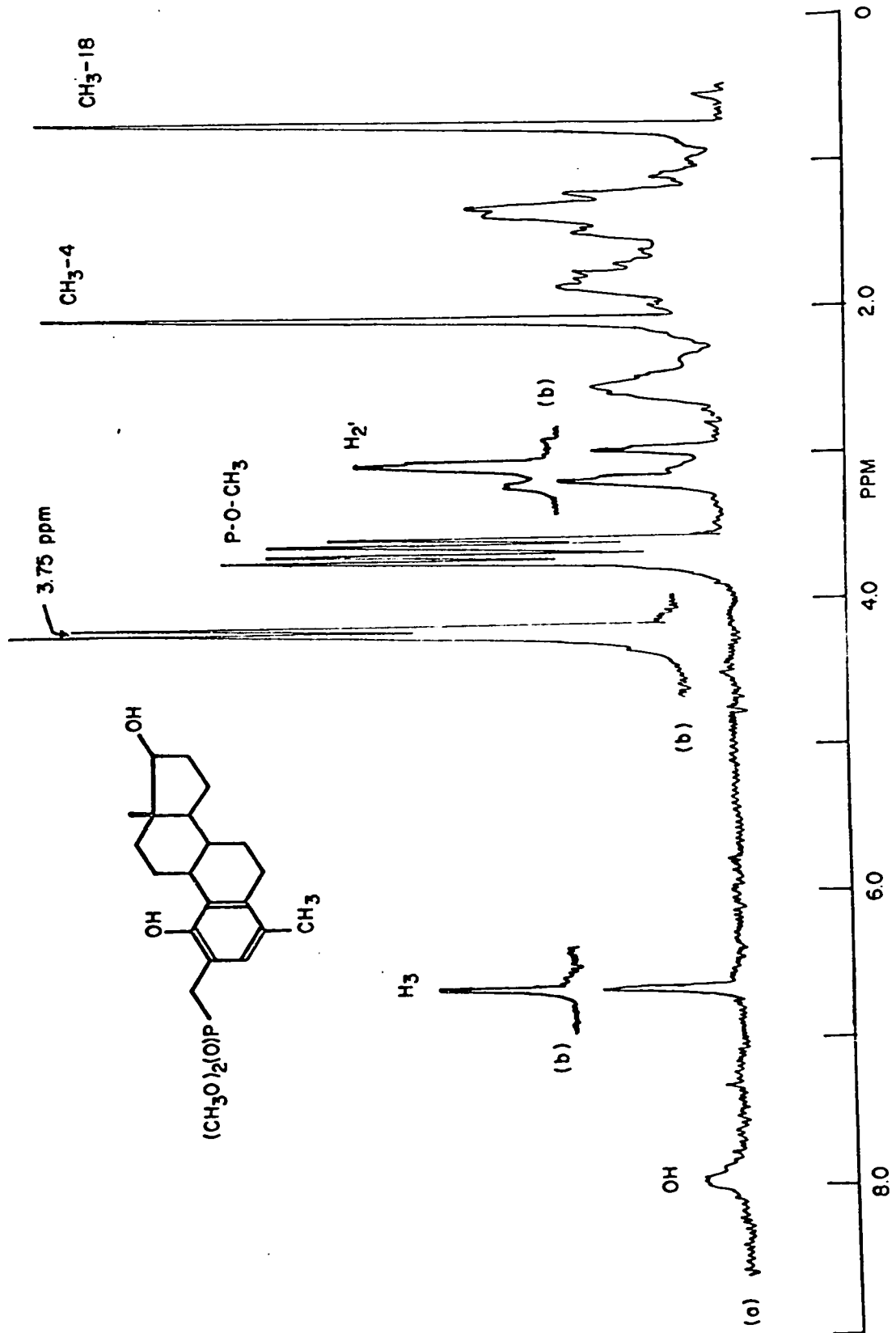


VIIIb "para"



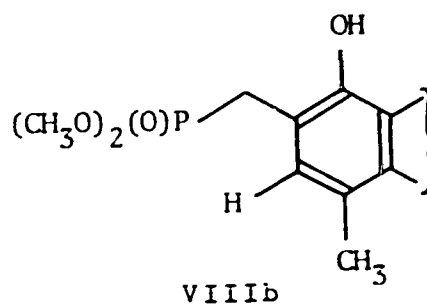
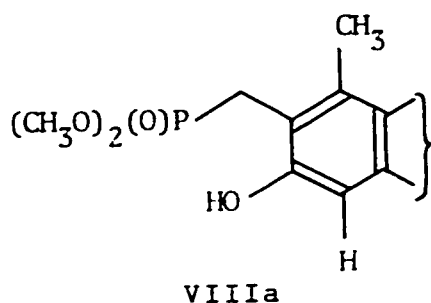
Le point de fusion net, la présence d'une seule tache en CCM et le spectre de RMN du produit obtenu (voir p. 29) semblent montrer qu'un seul des deux isomères est présent. En effet, si les méthoxyles ( $P-O-\underline{CH}_3$ ) sont dédoublés (ce qui n'indique pas forcément la présence d'un mélange) (39), le méthyle et l'hydrogène du cycle aromatique ne donnent lieu qu'à un seul signal chacun. Il n'est toutefois pas possible de décider de quel isomère (VIIIa ou VIIIb) il s'agit. En infra-rouge, la disparition de la bande à  $1666\text{ cm}^{-1}$  (cétone conjuguée) et l'apparition de bandes à  $1600$  et  $1575\text{ cm}^{-1}$  ( $C=C$  aromatique) et à  $3400$  et  $3230\text{ cm}^{-1}$  (OH) confirment que l'aromatisation a eu lieu; il en est de même en UV, où l'absorption faible à  $288\text{ nm}$

Spectre de RMN du composé VIIb. (a) Spectre régulier; (b) avec découplage du  $^{31}\text{P}$



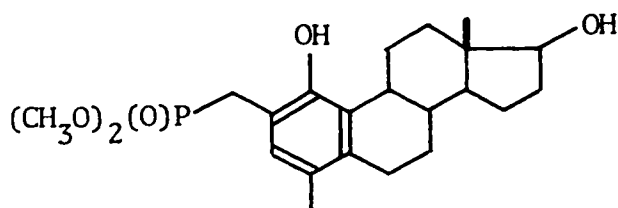
( $\epsilon = 4,400$ ) est caractéristique d'un phénol ( $\lambda = 280$  nm,  $\epsilon = 2,300$  pour l'oestradiol). Ces méthodes ne permettent toutefois pas de trancher en ce qui concerne la structure du composé obtenu.

La technique de l'effet N.O.E. en RMN s'est révélée beaucoup plus efficace pour résoudre ce problème. Il a été démontré (40) que l'amplitude de l'effet N.O.E. est une fonction de la distance internucléaire entre le proton sur lequel on observe l'effet et le proton irradié. C'est pourquoi nous avons pensé qu'en irradiant divers protons du cycle A et en observant l'effet N.O.E. qui en résulte sur l'hydrogène aromatique, il serait possible de tirer des enseignements sur les positions relatives de ces protons les uns par rapport aux autres et donc de déterminer la structure.



L'irradiation des protons du méthyle "C-19" provoque un effet N.O.E. de 15% sur l'hydrogène aromatique et l'irradiation des hydrogènes benzyliques ( $P-CH_2-C_2=$ ) provoque un effet N.O.E. supérieur à 10% sur ce même hydrogène. Ces deux valeurs d'effet N.O.E. sont suffisamment

significatives pour affirmer que tous ces protons sont très voisins dans l'espace, ce qui n'est réalisé que dans la structure VIIIb. Nous concluons donc que le stéroïl-phosphonate obtenu est le dihydroxy-1, 17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 méthyl-4 oestratriène-1, 3, 5 (10) (VIIIb), c'est-à-dire le composé de type "para".



VIIIb

Cette structure permet, de plus, d'expliquer la non-équivalence des méthoxyles ( $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_3$ ) en RMN: il est en effet probable qu'une liaison hydrogène s'établisse entre le  $\text{P}=\text{O}$  du groupe diméthylphosphonique et l'hydroxyle en 1, et la présence d'un méthyle en C-4 accentue encore la dissymétrie de l'environnement (les deux méthyles ne "voient" pas le même enchainement d'atomes).

Ce résultat est un peu surprenant car nous nous attendions plutôt à une structure de type "méta" (VIIIa). En effet, DREIDING et coll. (37) ont montré qu'en milieu aqueux le réarrangement acido-catalysé conduit de préférence au composé "méta". En milieu non aqueux ( $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) en revanche, le composé "para" est généralement obtenu (35),

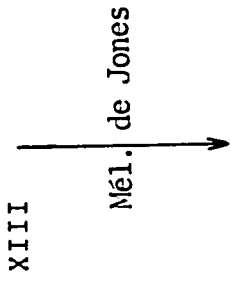
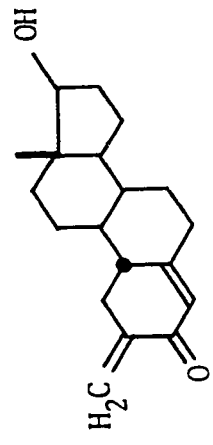
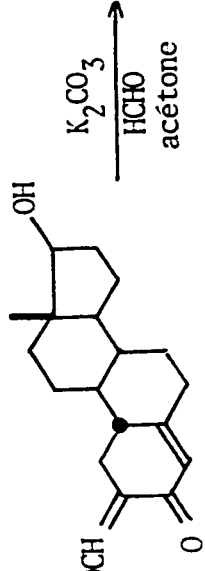
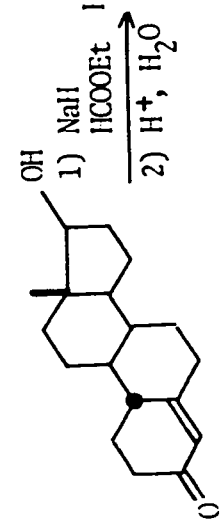
sauf dans le cas de la présence d'une double liaison additionnelle en  $\Delta^6$ . Il ne semble donc pas y avoir de règle générale concernant la direction de l'aromatisation car si les mécanismes du réarrangement (voir p. 27) ont pour initiateur le cation tertiaire en C-5, ils passent tous ensuite par un cation secondaire et il paraît difficile de décider lequel est le plus stable.

Dans notre cas, le groupe diméthylphosphonométhylrique influence probablement la direction de l'aromatisation, mais le rendement global peu élevé de la réaction ne permet pas de tirer des conclusions définitives.

### III - SYNTHESE A PARTIR DE LA METHYLENE-2 19-NORTESTOSTERONE

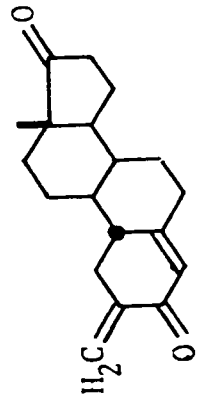
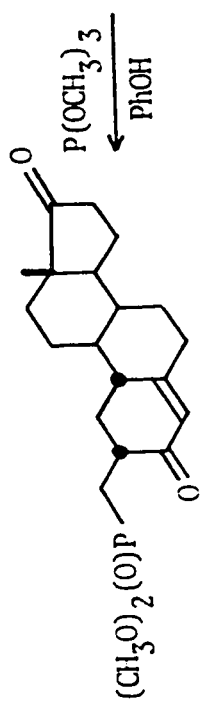
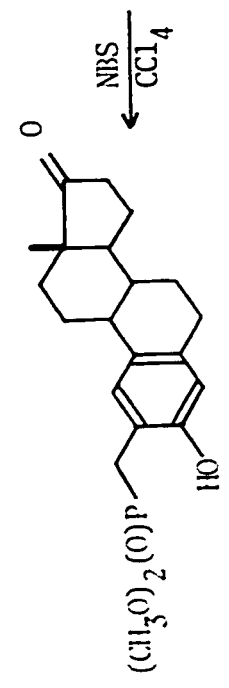
#### A - Préparation du dérivé méthylénique XIII

La préparation de la méthylène-2 19-nortestostérone est beaucoup moins aisée que celle de la méthylène-2 testostérone. Le produit ne précipite pas après dilution à l'eau du milieu réactionnel. L'extraction avec le chlorure de méthylène s'effectue avec une perte de 30% de produit et permet de récupérer un mélange de deux produits en quantité à peu près équivalente; il s'agit du dérivé méthylénique XIII et d'un composé pour lequel nous proposons la structure suivante: hydroxyméthyl-2 $\alpha$  nortestostérone (XX).

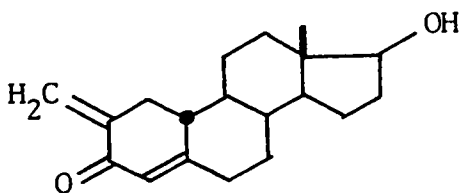


XII

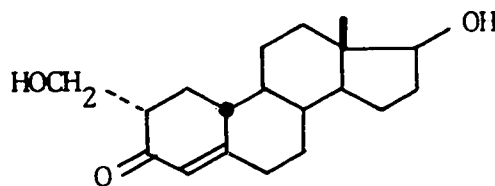
XI



Synthèse à partir de la méthylène-2 19-nortestostérone



XIII



XX

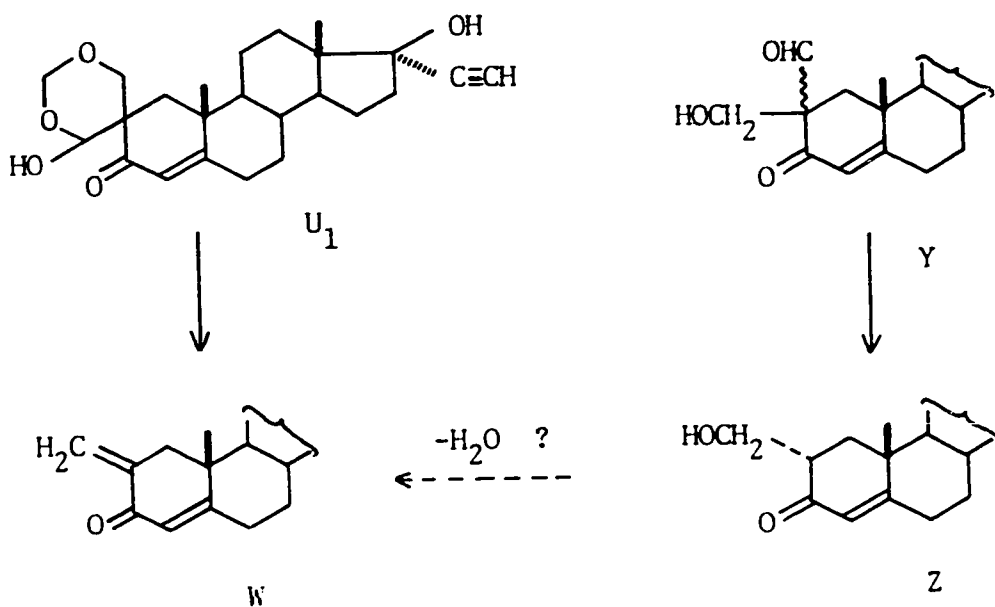
En effet, le spectre de RMN du produit XX montre la présence d'un signal complexe vers 3.67 ppm, constitué d'un doublet (2H, HO-CH<sub>2</sub>-C<sub>2</sub><sup>1</sup>, J = 5 Hz) et d'un multiplet (1H, -C<sub>17</sub>H-OH). La présence d'une cétone conjuguée est confirmée par IR: (O=C<sub>3</sub>-C=C) à 1655 cm<sup>-1</sup> et (C=C) à 1620 cm<sup>-1</sup>, et par UV: λ<sub>max</sub> = 239 nm (ε = 17,650). La courbe de dichroïsme circulaire (DC) a un effet Cotton négatif (Δε<sub>319</sub> = -1.25), comme dans le cas des stéroïlphosphonates VI et XV; de la même façon que pour ces deux composés (voir p. 23) nous en déduisons une orientation 2α pour le groupe hydroxyméthylé.

La formation d'un composé du même type mais pour un dérivé de l'hydroxy-17β prégénène-4 yne-20 one-3 avait été observée par MANSON et WOOD (26). Ces auteurs postulaient comme mécanisme de la réaction:

- soit la condensation d'une mole de dérivé hydroxyméthylénique avec 2 moles de formaldéhyde pour donner un spirodioxane (U<sub>1</sub>) et décomposition de celui-ci conduisant au dérivé

méthylénique.

- soit la condensation d'une mole de dérivé hydroxyméthylénique avec une mole de formaldéhyde conduisant au dérivé Y, non isolé, mais se dégradant lors de la dilution à l'eau pour donner le dérivé hydroxyméthylé Z.



Il est également possible que  $W$  soit obtenu par déshydratation de  $Z$ .

Si la formation du dérivé hydroxyméthylé  $XX$  s'explique ainsi facilement, il est beaucoup plus difficile d'expliquer pourquoi cette formation est plus favorisée en série nortestostérone qu'en série testostérone. En effet, le rendement de 80% en dérivé méthylénique (III) en série testostérone autorise à penser que s'il se forme du dérivé hydroxyméthylé, ce n'est qu'en quantité négligeable;

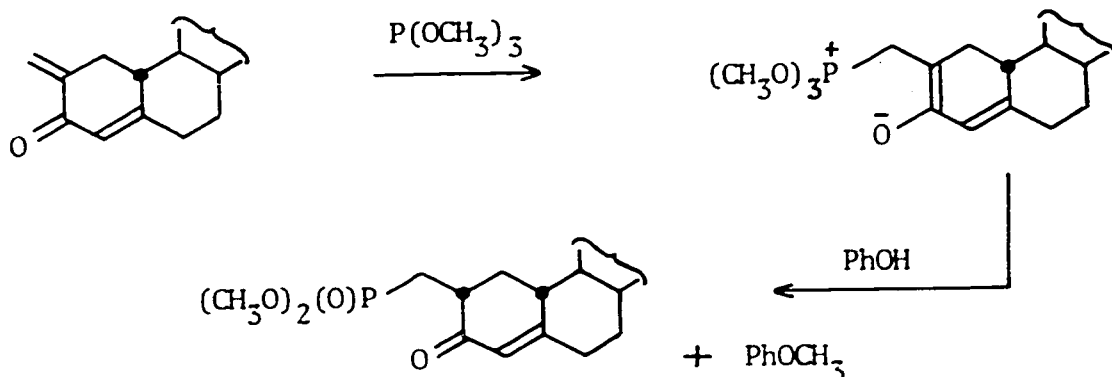
en série nortestostérone, il se forme avec un rendement de 28%; cette différence ne peut être imputable aux conditions expérimentales car nous avons effectué ces réactions plusieurs fois et exactement dans les mêmes conditions: nous avons obtenu chaque fois les mêmes résultats.

Les dérivés méthyléniques étant obtenus par précipitation, nous pensons que le facteur solubilité joue un rôle important dans cette réaction, mais nous n'avons pas encore pour l'instant d'explication satisfaisante à proposer.

#### B - Phosphonation de la méthylène-2 nortestostérone

Nous avons effectué cette réaction avec le phosphite triméthyllique, en présence de phénol (7); un essai de la réaction en milieu aprotique (comme dans le cas de la testostérone) avait donné un rendement faible (20%).

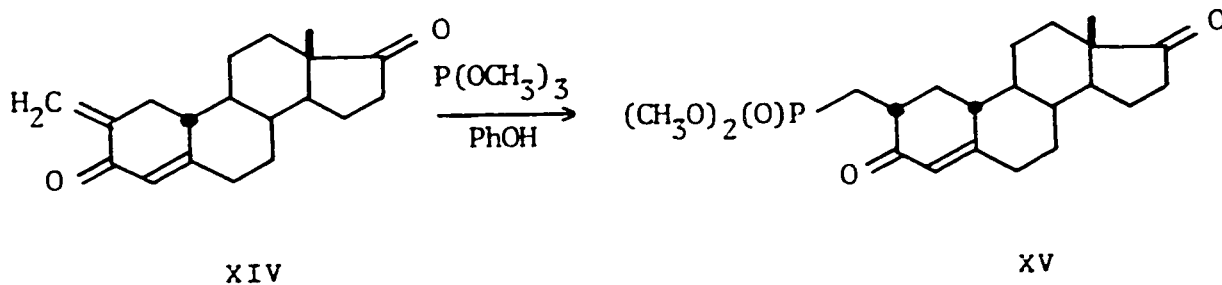
Il y a d'abord addition en 1, 4 du phosphite sur le système conjugué, puis protonation et réarrangement au niveau du phosphore.



Des essais préliminaires nous ont permis de vérifier la supériorité, observée par JENSEN (7), du phénol par rapport à l'éthanol dans cette réaction. Avec l'éthanol la réaction est lente, très incomplète et le produit récupéré n'est pas le phosphonate attendu. Avec le phénol, la réaction est au contraire très rapide (5-10 mn), et beaucoup plus propre.

Afin d'éviter des réactions toujours possibles de transestérification avec l'alcool en 17 $\beta$  de la méthylène-2 nortestostérone (7), nous avons commencé par l'oxyder par le réactif de JONES en méthylène-2 oestrène-4 dione-3, 17, XIV, (rendement de 85% par rapport au produit de départ).

Après la réaction de  $P(OCH_3)_3$  sur le dérivé méthylénique XIV, les constituants du mélange sont séparés par chromatographie sur colonne de silice; le phénol élué en tête, est facilement éliminé. Le rendement en  $\beta$ -cétophosphonate XV est de 63%.



### Structure du produit XV

La structure du composé d'addition est confirmée par spectroscopie (IR, UV, RMN et spectre de masse).

L'infra-rouge montre la disparition de la bande à  $900\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2=\overset{1}{\text{C}}_2-$ ) et l'apparition de pics à  $1245\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{P}=\text{O}$ ) et  $1035\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ ). Le spectre IR est pratiquement identique à ceux des dérivés V et VI de la testostérone; la seule modification importante provient de la présence de groupes fonctionnels différents en 17.

En RMN on remarque la disparition des signaux à 5.82 et 5.88 ppm ( $\text{CH}_2=\overset{1}{\text{C}}_2-$ ) et l'apparition d'un doublet à 3.72 ppm (6H,  $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_3$ ,  $^3\text{J}_{\text{PH}} = 10.8\text{ Hz}$ ); les méthoxyles sont équivalents.

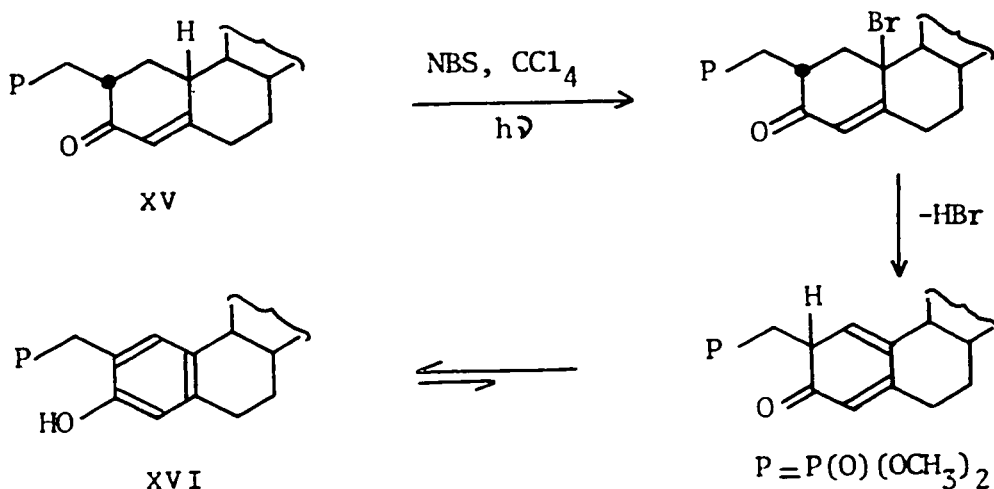
La présence d'une cétone conjuguée est démontrée en ultra-violet ( $\lambda_{\text{max}} = 237\text{ nm}$ ,  $\epsilon = 10,000$ ). Il faut noter le déplacement de l'absorption par rapport à un stéroïde non substitué en 2 (nortestostérone:  $\lambda_{\text{max}} = 241\text{ nm}$ ,  $\epsilon = 17,600$ ).

La configuration du carbone C-2 est la même que pour le dérivé correspondant de la testostérone VI, comme le montrent les courbes de dichroïsme circulaire. La courbe correspondant au dérivé XV comporte deux extrema, l'un avec effet Cotton positif ( $\Delta\epsilon_{287} = 1.26$ ) et correspondant à un céto-17 stéroïde (41), l'autre avec effet Cotton négatif ( $\Delta\epsilon_{321} = -2.29$ ), cette dernière partie de la courbe étant superposable à celle du dérivé correspondant de la testostérone (voir fig. p. 22).



(avec le NBS dans  $\text{CCl}_4$ ) (44).

Nous avons choisi la troisième méthode, qui est en particulier décrite (44) dans le cas de l'acétate de 19-nortestostérone avec un rendement de 60%. Dans le cas de  $\Delta^4$ -céto-3 stéroïdes, la bromation ne s'effectue pas en  $\alpha$  du carbonyle mais en position allylique (45), c'est-à-dire en C-10 pour les 19-norstéroïdes (la bromation en C-6 s'effectue parfois, mais d'une façon mineure); la débromhydratation se réalise alors in situ. La réaction est amorcée par une lumière intense (de type lampe photoflood). Pour le phosphonate XV on peut donc s'attendre à la suite de réactions suivantes:



Un essai préliminaire de cette réaction sur le phosphonate XV a été encourageant mais nous a montré qu'elle devait être suivie de très près. Après 24 h de reflux de la solution de XV dans  $\text{CCl}_4$  en présence de NBS, en plus de XVI et du produit de départ, commence à se former un produit

supplémentaire provenant vraisemblablement de la bromation en  $\alpha$  de la cétone-17. Il vaut donc mieux arrêter la réaction au bout de quelques heures de reflux, alors qu'il ne se forme pratiquement plus de dérivé phénolique. De plus, la réaction produit du HBr qui peut hydrolyser le phosphonate en acide phosphonique.

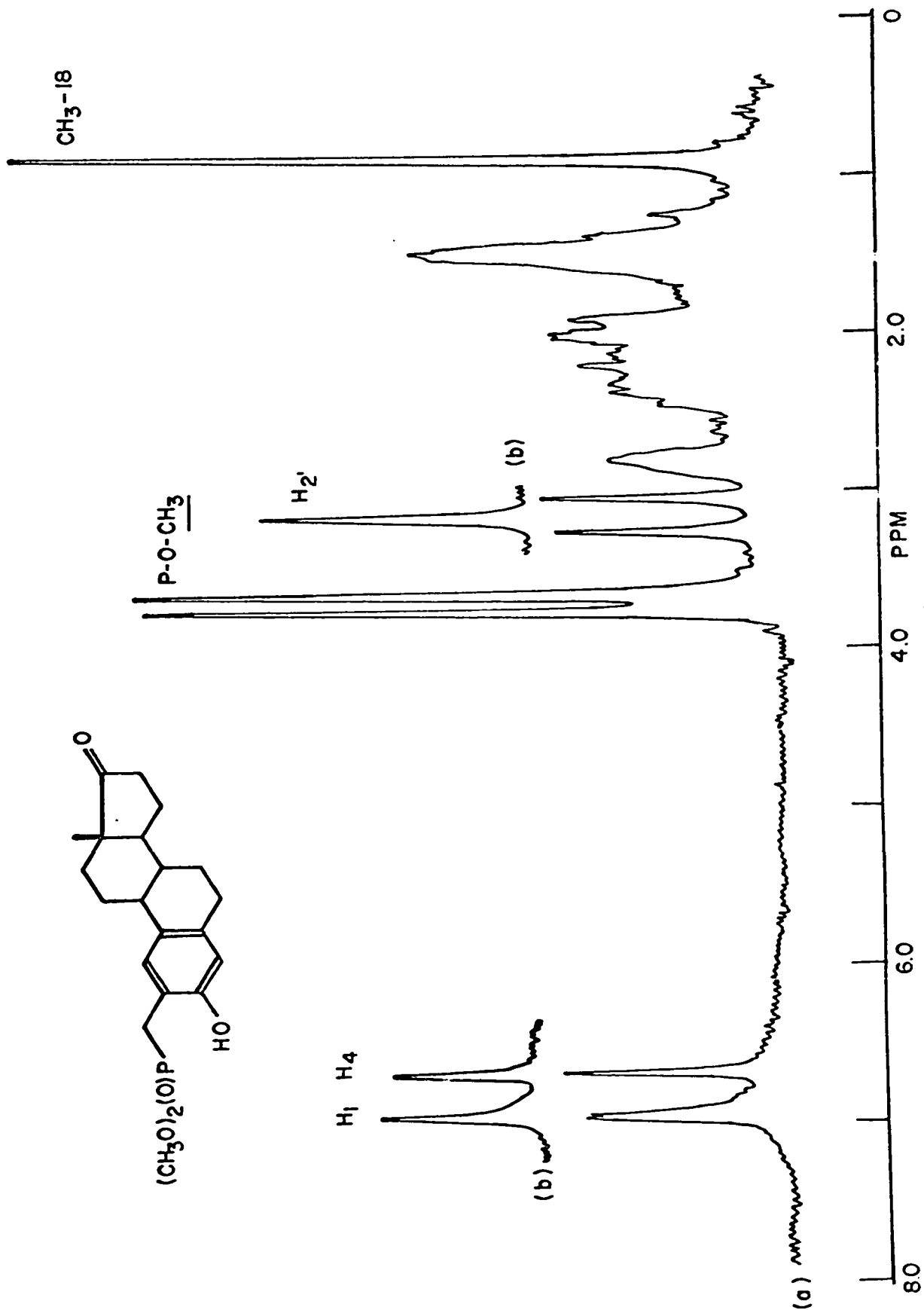
La réaction sur le restant de stéroylphosphonate XV a été beaucoup moins intéressante du point de vue du rendement. Une décoloration soudaine du mélange réactionnel se produit après 5 h de reflux ainsi que la formation de vapeurs acides (HBr) et celle d'un précipité. Après filtration de ce précipité, la solution est évaporée à sec et la purification du résidu par chromatographie produit le stéroylphosphonate aromatisé (XVI) avec un rendement assez bas (20%).

Le traitement au diazométhane du précipité a conduit à un mélange de stéroylphosphonate XVI et de N-méthylsuccinimide (présence en RMN de 2 singulets supplémentaires à 2.68 et 2.95 ppm, d'intensité relative 4 et 3). Comme le phosphonate XVI n'était pas en quantité suffisamment importante dans ce mélange (35% en poids, estimé par RMN), nous n'avons pas jugé utile de séparer ces produits.

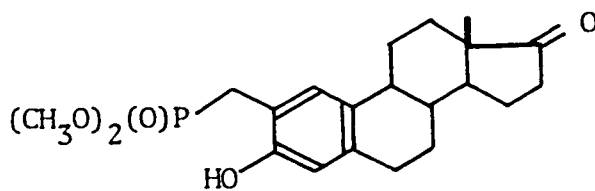
#### Structure du produit XVI

La structure du produit est confirmée par RMN (voir le spectre p. 42) : présence de deux protons

Spectre de RMN du composé XVI. (a) Spectre régulier; (b) avec découplage du  $^{31}\text{P}$



aromatiques à 6.66 (s, 1H,  $-\underline{\text{CH}}=\overset{1}{\text{C}}_5-$ ) et à 6.94 ppm (d, 1H,  $-\underline{\text{CH}}=\overset{1}{\text{C}}_{10}-$ ,  ${}^4J_{\text{PH}} = 2$  Hz), de deux protons benzyliques à 3.13 ppm (d, 2H,  $\text{P}-\underline{\text{CH}}_2-\overset{1}{\text{C}}_2=$ ,  ${}^2J_{\text{PH}} = 21$  Hz) des méthoxyles  $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_3$  (d à 3.69 ppm, 6H,  ${}^3J_{\text{PH}} = 10.8$  Hz) équivalents; par IR:  $3200\text{ cm}^{-1}$  (OH phénolique),  $1740\text{ cm}^{-1}$  (C=O, penta- none),  $1615\text{ cm}^{-1}$  (C=C aromatique), et par UV: ( $\lambda_{\text{max}} = 283\text{ nm}$ ,  $\epsilon = 5,900$ ).



XVI

#### IV - SPECTRES DE MASSE

Les dix principaux pics, ainsi que les pics significatifs, des spectres de masse des stéroïlphosphonates V, VI, VII, VIIIb, XV, XVI et de l'alcool XX sont reportés dans le tableau de la page 46.

En général, le pic de masse est un des plus importants de chaque spectre; c'est le pic de base pour les composés VI, VII et XV et c'est un des pics majeurs

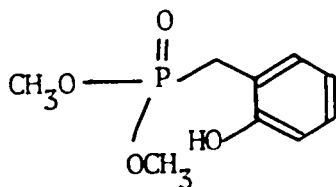
pour les composés V et XX. Son intensité est faible pour les composés VIIIb et XVI; il est probable que la présence d'un cycle A aromatique rende les fragmentations plus faciles.

Il est intéressant de comparer les spectres du phosphonate V et de l'alcool XX. Ces composés ont des structures voisines et il est donc possible, par comparaison, de déduire les fragmentations imputables au groupe diméthylphosphonique. Ainsi, le pic à 300 provient vraisemblablement de la perte des éléments du phosphite diméthyllique  $\text{HP(O)(OCH}_3)_2$  (masse 110). Il faut aussi noter la présence du pic  $\text{M}^+ - \text{CH}_3$  dans le spectre de V (série testostérone, perte du méthyle C-19 (46)) et son absence en série nortestostérone (XX).

La perte des éléments  $\text{HP(O)(OCH}_3)_2$  (masse 110) ou  $\text{P(O)(OCH}_3)_2$  (masse 109) se retrouve généralement dans les phosphonates, fait qui avait été noté dans des séries plus simples (47). Ce sont les pics à  $\frac{m}{e} = 300$  (27%) et 301 (16%) dans le composé V, 342 (61%) et 343 (23%) dans le composé VI, 284 (19%) et 285 (32%) dans le composé XV. Cette perte de phosphite semble peu favorisée lorsque le cycle A est aromatique (VIIIb et XVI) ou possède deux doubles liaisons (VII).

Les dérivés phénoliques VIIIb et XVI sont très à part. Le pic de base pour le dérivé VIIIb est à  $\frac{m}{e} = 376$  (perte de 32 unités de masse, vraisemblablement  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).

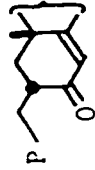

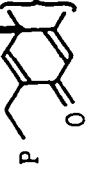
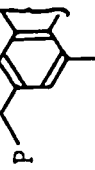
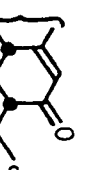
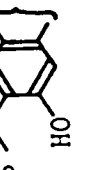
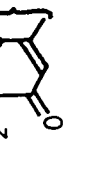
Ce pic à  $M^+ - 32$  se retrouve dans le dérivé de l'oestrone, XVI, bien qu'il soit nettement plus faible (11%). Cependant, les rapports d'intensité  $\frac{M}{M - 32}$  ne sont pas très différents:  $\sim 2$  pour XVI et  $\sim 3.9$  pour VIIIb. Cette coupure est sans doute caractéristique de l'enchaînement suivant:



mais nous manquons d'éléments de comparaison pour pouvoir en dire plus à ce sujet.

Enfin, les pics abondants à  $\frac{m}{e} = 149, 55, 57, 71$ , se retrouvent dans presque tous les spectres et proviennent vraisemblablement de la fragmentation du squelette stéroïdique (ils sont en effet présents dans le cas de l'alcool XX).

SPECTRES DE MASSE (10 principaux pics)

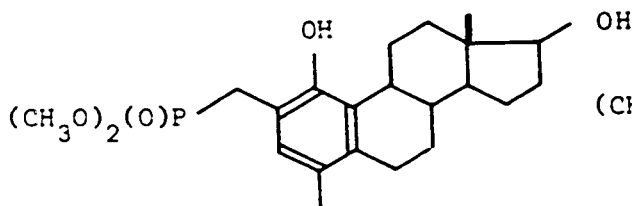
						
V	VI	VII	VIIIb	XV	XVI	XX
410 M <sup>+</sup> (66)	452 M <sup>+</sup> (100)	450 M <sup>+</sup> (100)	409 (9)	394 M <sup>+</sup> (100)	149 (59)	304 M <sup>+</sup> (43)
395 (41)	342 (61)	149 (54)	408 M <sup>+</sup> (26)	125 (50)	125 (43)	97 (62)
149 (54)	329 (43)	83 (42)	377 (29)	124 (99)	111 (36)	95 (57)
97 (30)	135 (51)	81 (32)	376 (100)	94 (65)	97 (59)	85 (44)
83 (40)	124 (54)	71 (45)	317 (16)	86 (63)	95 (42)	83 (59)
71 (49)	121 (46)	69 (54)	264 (13)	84 (85)	85 (100)	81 (59)
69 (48)	94 (60)	67 (31)	263 (9)	79 (55)	81 (54)	71 (54)
58 (38)	91 (48)	57 (90)	247 (9)	57 (77)	79 (38)	69 (77)
57 (100)	79 (47)	56 (31)	57 (12)	55 (77)	70 (53)	57 (97)
55 (70)	55 (53)	55 (83)	55 (10)	51 (57)	67 (50)	55 (100)
Autres pics significatifs						
301 (16)	342 (M-109) (23)	57 (36)		285 (M-103) (32)	392 M <sup>+</sup> (7)	286 (M-H <sub>2</sub> O) (19)
300 (27)				284 (M-110) (19)	360 (M-32) (11)	149 (40)

Les abondances relatives de chaque pic sont indiquées entre parenthèses. Les pics de base sont soulignés.

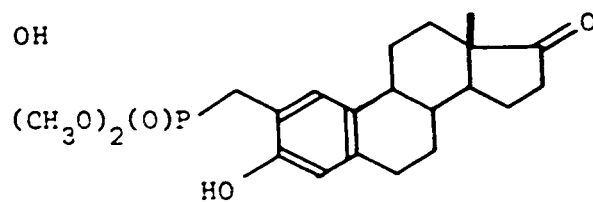
ESSAIS BIOLOGIQUES

Ces essais ont été effectués par le Dr. J.P. WENIGER, Laboratoire de Zoologie et d'Embryologie expérimentale de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg, sur des embryons de poulet de 5 jours; le composé (VIIIb ou XVI) est injecté, en solution dans un mélange à base de propylèneglycol, a plusieurs lots de ces embryons, et les survivants sont autopsiés après 14 jours.

Les résultats ont été complètement négatifs avec chacun des produits VIIIb et XVI: aucun embryon n'a été transformé. Le résultat du test sur le produit VIIIb ne prouve pas grand-chose; en effet, ce produit n'a pas vraiment le squelette d'un oestrogène et l'hydroxy-1 méthyl-4 oestratriène-1, 3, 5 (10) one-17 est même inactif (36). Par contre, le résultat du test sur le produit XVI est plus significatif et nous permet de conclure que le groupe diméthylphosphonométhyle  $-\text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OCH}_3)_2$  inactive complètement l'oestrone.



VIIIb



XVI

Il resterait maintenant à prouver si cette inactivité est causée par le groupe diméthylphosphonique  $-P(O)(OCH_3)_2$  ou par le groupe méthylène ( $-CH_2-$ ) auquel il est attaché. Il a en effet été démontré que la présence d'un méthyle en position 1 ou 2 de l'oestrone provoque une décroissance importante ( $1/200^{\text{ème}}$ ) de l'activité de cette hormone (48). Il faudrait donc pouvoir comparer ces essais avec ceux de la méthyl-2 oestrone et d'un produit où le phosphore serait directement attaché au cycle A de l'oestrone, pour pouvoir tirer une conclusion définitive. Ceci sera sans doute l'objet de travaux ultérieurs.

## PARTIE EXPERIMENTALE

### INDICATIONS GENERALES

Les spectres infra-rouges (IR) ont été pris, en solution dans le chloroforme ou le tétrachlorure de carbone, sur des spectrophotomètres Beckmann IR-8 ou Beckmann IR-20. Les absorptions sont exprimées en  $\text{cm}^{-1}$ .

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été pris, en solution dans le deutérochloroforme, soit sur T-60 Varian soit sur HA-100 de Varian; les déplacements chimiques sont indiqués en ppm et en unités  $\delta$  par rapport au tétraméthylsilane, pris comme référence interne. Le découplage du  $^{31}\text{P}$  a été réalisé à 40 MHz avec un découpleur de spin hétéronucléaire, N.M.R. Varian Specialties.

Les spectres ultra-violet (UV) ont été pris, en solution dans le méthanol, sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer 202.

Les courbes de dichroïsme circulaire (DC) et de dispersion rotatoire (DR) ont été prises, en solution dans le méthanol, sur un spectropolarimètre Jasco ORD/UV-5.

Les spectres de masse ont été pris sur un spectromètre Hitachi Perkin-Elmer RMU-6D.

Les mesures de pouvoir rotatoire,  $(\alpha)_D$ , ont été effectuées à 25°C dans le chloroforme, sur un polarimètre Perkin-Elmer 141.

Les points de fusion, non corrigés, ont été pris sur un appareil Thomas-Hoover Uni-melt.

Les microanalyses ont été effectuées par Organic microanalyses (Dr. C. DAESSLE), 5757 Decelles Ave., Montréal.

Nous avons utilisé les chromatoplaques (CCM) pour suivre le déroulement des réactions et contrôler la pureté des produits. Il s'agissait de "plaques finies Sil. G.25 UV<sub>254</sub>" (couche de 0.25 mm de gel de silice avec indicateur de fluorescence) de Macherey-Nagel. Le développement a été fait dans des mélanges à proportions variables d'héxane et d'acétate d'éthyle, ou d'acétate d'éthyle et de méthanol, et la révélation réalisée par l'acide sulfurique.

Les chromatographies sur colonne ont été effectuées sur du gel de silice 0.05-0.2 mm Merck ou Mallinckrodt cc-7 mesh: 100-200.

Les phosphites diméthylrique et triméthylrique utilisés sont des produits Aldrich.

La solution de méthanolate de sodium dans le méthanol a été préparée en ajoutant des morceaux de sodium

à du méthanol; le sodium en excès est ôté après réaction à température ordinaire.

Les solutions de diazométhane dans l'éther ont été préparées par réaction d'un mélange d'éther, d'éthanol et de soude 30% sur la Bis (N-méthyl N-nitroso) téréphtalamide, suivie de la distillation du mélange éther-diazométhane (49).

### PREPARATION DE LA METHYLENE-2 TESTOSTERONE (III)

#### Hydroxyméthylène-2 testostérone (II)

Suivant le procédé de BLOCH (21) (NaH, formiate d'éthyle, sous azote), on prépare 12.3 g d'hydroxyméthylène-2 testostérone (II) à partir de 10.84 g de testostérone (I). Le rendement est quantitatif. Le produit brut est utilisé tel quel pour l'étape suivante.

RMN (60 MHz) - 2 s à 0.78 (3H, méthyle C-18) et 1.04  
(3H, méthyle C-19)  
- 1 m vers 3.65 (1H, - $\overset{\overset{|}{\text{C}}}{\text{C}}_{17}\text{H}-\text{OH}$ )  
- 2 s à 5.75 (1H, - $\text{CH}=\overset{\overset{|}{\text{C}}}{\text{C}}_5-$ ) et à 7.35  
(1H,  $\text{HO}-\text{CH}=\overset{\overset{|}{\text{C}}}{\text{C}}_2-$ )

#### Préparation de la méthylène-2 testostérone (III)

A 12.3 g d'hydroxyméthylène-2 testostérone dissous dans 1060 ml d'acétone sont ajoutés 27 ml de formol

(à 37.2%) et 27 g de carbonate de potassium. Le mélange est agité vigoureusement pendant 30 mn. Il est ensuite étendu graduellement avec 3200 ml d'eau. Le carbonate de potassium se dissout et des microcristaux blanchâtres apparaissent petit à petit. Le mélange réactionnel est concentré aux deux-tiers par évaporation sous vide. Le produit précipite alors sous forme d'un solide blanc qu'on recueille par filtration, lave sur le filtre à l'eau et sèche pendant 24 heures à 60°C jusqu'au poids constant de 9.05 g (rendement de 79%, calculé à partir de la testostérone). Après deux recristallisations dans l'acétone, le point de fusion est de 153°C.

La méthylène-2 testostérone (III) est identique au produit décrit dans la littérature (24):

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3430 (OH), 1663 (O= $\overset{\cdot}{\text{C}}_3\text{-(}\overset{\cdot}{\text{C}}=\overset{\cdot}{\text{C}}\text{)}$ ), 1615 (C=C),  
895 (CH<sub>2</sub>= $\overset{\cdot}{\text{C}}$ -); (Litt.: 3448, 1661, 1618, 941,  
889)

UV:  $\lambda_{\text{max}}$  = 260 nm ( $\epsilon$  = 14,700); (Litt.:  $\lambda_{\text{max}}$  = 260 nm  
( $\epsilon$  = 14,650))

PF: 153-5°; (Litt.: 160-2°)

( $\alpha$ )<sub>D</sub>: +165° (c=0.95); (Litt.: +166° (c=1.0))

RMN (100 MHz): - 2 s à 0.78 (3H, méthyle C-18) et 1.11  
(3H, méthyle C-19)  
- 1 m vers 3.66 (1H, - $\overset{\cdot}{\text{C}}_{17}\text{H-OH}$ )  
- 1 s à 5.21 (1H, -CH= $\overset{\cdot}{\text{C}}_5$ -)  
- 1 d à 5.87 et 1 t à 5.92 (2H, CH<sub>2</sub>= $\overset{\cdot}{\text{C}}_2$ -)

PREPARATION DE L'ACETOXY-17 $\beta$  DIMETHYLPHOSPHONOMETHYL-2 $\alpha$   
TESTOSTERONE (VI)

Préparation de l'acétate de méthylène-2 testostérone (IV)

A une solution de 9.05 g (30.1 mM) de méthylène-2 testostérone dissous dans 140 ml de pyridine anhydre, on ajoute avec précaution 9.8 ml (137 mM) de chlorure d'acétyle. On laisse pendant la nuit à température ordinaire et on extrait ensuite 3 fois à l'éther. Les phases étherées combinées sont lavées avec une solution d'acide chlorhydrique 2N, à l'eau, avec une solution saturée de bicarbonate de sodium, à l'eau jusqu'à neutralité, avec une solution saturée de NaCl, séchées sur sulfate de sodium et évaporées sous vide. On obtient 10.31 g de produit (rendement quantitatif), dont la structure est confirmée par RMN ( $1 \underline{s}$  à 2.06, 3H,  $\underline{C}_3$ -CO) et par IR (1734, C=O de  $\text{CH}_3\text{CO}$ ). Le produit brut, jaunâtre, est utilisé tel quel pour l'étape suivante.

Phosphonation de l'acétate de méthylène-2 testostérone;  
préparation du composé VI

10.31 g d'acétate de méthylène-2 testostérone sont dissous dans 100 ml de phosphite de triméthyle. La dissolution nécessite un léger chauffage et la solution obtenue est de couleur orange. On laisse le mélange à température ordinaire et on suit l'évolution de la réaction en CCM. Au bout de 3 jours la réaction est considérée comme

terminée. L'excès de phosphite de triméthyle est éliminé par distillation sous vide. Le résidu est dissous dans un minimum de benzène et chromatographié sur une colonne de 120 g de silice. Au mélange éther de pétrole/éther 1:1, on élue 1.62 g de produit initial (acétate de méthylène-2 testostérone, IV). A l'éther contenant 2%, puis 5% de méthanol sont élués ensuite 8.7 g d'une huile. On dissout cette huile dans un peu de benzène et on la chromatographie sur une colonne de 250 g de silice. Au mélange de 10% de méthanol dans l'éther, on élue 7.92 g d'un produit donnant une seule tache en CCM et dont le spectre de RMN montre essentiellement un doublet à 3.80 ppm ( $P-O-\underline{CH}_3$ ,  $J_{PH} = 11$  Hz). Ce doublet, voisin de celui du phosphonate ( $P-O-\underline{CH}_3$ , 3.75 ppm,  $J_{PH} = 10.8$  Hz), est probablement attribuable au phosphate de triméthyle résultant de l'oxydation du phosphite de triméthyle résiduel; cette oxydation peut avoir eu lieu soit lors du chauffage, soit sur la colonne de silice. Pour éliminer cette impureté, on dissout le mélange dans 300 ml d'éther et on lave la phase étherée une dizaine de fois à l'eau (le phosphate de triméthyle est soluble dans l'eau). Après séchage et évaporation, on recueille 6.70 g de phosphonate VI (rendement total: 49%).

Acétoxy-17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$  androstène-4 one-3:

PF: 141°C (recristallisations dans l'acétone)

( $\alpha$ )<sub>D</sub>: + 23.9° (c=1.05)  
-----

Analyse:  $C_{24}H_{37}O_6P$  (PM: 452.51)

Calculé %: C 63.69 H 8.24 P 6.84

Trouvé : 63.71 8.14 6.59

IR ( $CCl_4$ ): 1735 ( $(CH_3)-\overset{\cdot}{C}=O$ ), 1677 ( $\leftarrow\overset{\cdot}{C}=\overset{\cdot}{C}\rightarrow\overset{\cdot}{C}_3=O$ ), 1622 (C=C),  
1242 (P=O),  $\sim 1040$  (P-O-C)

UV:  $\lambda_{max} = 242.5$  nm ( $\epsilon = 23,800$ )

DC:  $\Delta\epsilon_{321} = -2.46$

DR:  $(\Phi)_{341} = -287^\circ$

RMN (100 MHz) - 2 s à 0.82 (3H, méthyle C-18) et 1.24  
(3H, méthyle C-19)

- 1 s à 2.02 (3H,  $CH_3-CO$ )

- 1 d à 3.72 (6H, P-O- $CH_3$ ,  $J_{PH} = 10.8$  Hz)

- 1 m vers 4.48 (1H,  $-\overset{\cdot}{C}_{17}H-OAc$ )

- 1 s à 5.73 (1H,  $-CH=\overset{\cdot}{C}_5-$ )

### PREPARATION DE LA DIMETHYLPHOSPHONOMETHYL-2 $\alpha$ TESTOSTERONE (V)

A une solution de 2.00 g (6.67 mM) de méthylène-2 testostérone III dissous dans 25 ml de benzène, on ajoute 0.835 g (7.60 mM) de phosphite de diméthyle, puis 20 gouttes d'une solution saturée  $CH_3ONa/CH_3OH$ . Le mélange est agité magnétiquement et la réaction est suivie en CCM. La réaction démarre lentement et, sur plaque, on décèle la formation d'un produit supplémentaire entre le phosphonate attendu et le produit initial. On ajoute 20 nouvelles gouttes de catalyseur après 4, puis après 22 h de réaction.

Après 24 h on ajoute 10 gouttes de catalyseur, puis encore 5 gouttes après 48 h de réaction à température ordinaire; le produit supplémentaire a alors presque complètement disparu.

Le mélange est ensuite chromatographié sur une colonne de 75 g de silice. Au mélange éther de pétrole/éther 1:1, on élue 594 mg d'un produit identifié au produit de départ. A l'éther pur on élue 116 mg d'un produit intermédiaire non identifié, et au mélange de 10% de méthanol dans l'éther on élue 1.145 g de phosphonate (V) (rendement 42%). L'échantillon analytique est obtenu après 2 recristallisations dans l'acétone.

Hydroxy-17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$  androstène-4 one-3:

PF: 151°C

( $\alpha$ )<sub>D</sub>: + 28.4° (c=1.0)

Analyse: C<sub>22</sub>H<sub>35</sub>O<sub>5</sub>P (PM: 410.48)

Calculé %:	C	64.37	H	8.59	P	7.54
Trouvé :		64.27		8.49		7.49

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3390 (OH), 1665 ( $\leftarrow \overset{\cdot}{\text{C}}=\overset{\cdot}{\text{C}}\rightarrow \overset{\cdot}{\text{C}}_3=\text{O}$ ), 1617 (C=C),  
1232 (P=O), ~1039 (P-O-C)

UV:  $\lambda_{\text{max}}$  = 244 nm ( $\mathcal{E}$  = 26,700)

RMN (100 MHz): - 2 s à 0.80 (3H, méthyle C-18) et 1.28  
(3H, méthyle C-19)

- 1 d à 3.78 (6H, P-O-CH<sub>3</sub>, J<sub>PH</sub> = 11.4 Hz,  
cachant le m (- $\overset{\cdot}{\text{C}}_{17}\text{H-OH}$ )

- 1 s à 5.78 (1H, -CH= $\overset{\cdot}{\text{C}}_5$ -)

CORRELATION DES PRODUITS DE PHOSPHONATION

A une solution de 146 mg (0.36 mM) de diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$  testostérone (V) dans 5 ml de pyridine on ajoute une quinzaine de gouttes de chlorure d'acétyle et on laisse reposer à température ambiante pendant la nuit. Le produit est extrait de la façon habituelle à l'éther. Après évaporation du solvant et séchage sous vide, on obtient 160 mg d'acétate (VI). Les composés V acétylé et VI sont identifiés par RMN, IR, CCM et PF.

DESHYDROGENATION DE L'ACETOXY-17 $\beta$  DIMETHYLPHOSPHONOMETHYL-2 $\alpha$  TESTOSTERONE (VI) - PREPARATION DU COMPOSE VII

Une solution de 6.00 g (13.3 mM) d'acétoxy-17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$  testostérone (VI) dans 310 ml de benzène est "séchée par évaporation" (50). On réalise ceci en distillant à la pression ordinaire le quart de la solution (le benzène ainsi distillé aura entraîné toute trace d'eau).

A la solution résiduelle (230 ml), on ajoute 2.95 g de DDQ (15.9 mM; 1.20 eq.) et on chauffe à reflux. La réaction, suivie sur plaque, nécessite 48 h pour la disparition complète du produit de départ (au bout de 24 h, un précipité de dichloro-2, 3 dicyano-5, 6 hydroquinone commence à se former dans le mélange réactionnel).

Le mélange est alors refroidi, puis dissous dans

800 ml d'éther environ. La solution obtenue est lavée avec une solution saturée de sulfite de sodium, à l'eau, au sulfite de sodium, à l'eau, finalement avec une solution saturée de NaCl, séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporée à sec.

Le résidu (5.25 g), pur sur plaque, ne contient plus de produit initial (rendement 88%). L'échantillon analytique a été obtenu par chromatographie sur 2 g de silice d'un échantillon de 50 mg de produit et élution à l'éther, les recristallisations, dans l'acétone, étant difficiles.

Acétoxy-17β diméthylphosphonométhyl-2 androstadiène-1, 4 one-3 (VII):

PF: 140.5°C

(α)<sub>D</sub>: -15.2° (c=0.5)

Analyse: C<sub>24</sub>H<sub>35</sub>O<sub>6</sub>P (PM: 450.51)

Calculé %:	C	63.98	H	7.83	P	6.87
Trouvé :		64.38		7.46		6.62

IR (CCl<sub>4</sub>): 1734 ((CH<sub>3</sub>)-C=O), 1666 (←C=C→C<sub>3</sub>=O), 1636 (C=C), 1246 (P=O), ~1046 (P-O-C)

UV: λ<sub>max</sub> = 228 nm (ε = 22,000)

RMN (100 MHz): - 2 s à 0.84 (3H, méthyle C-18) et 1.23 (3H, méthyle C-19)  
- 1 s à 2.01 (3H, CH<sub>3</sub>-CO)  
- 1 d à 2.96 (2H, P-CH<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>=, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 21 Hz)

- 1 d à 3.69 (6H, P-O-CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10.8 Hz)
- 1 m vers 4.58 (1H, -C<sub>17</sub>H-OAc)
- 1 s à 6.09 (1H, -CH=C<sub>5</sub>-)
- 1 d à 7.18 (1H, -C<sub>2</sub>=CH-, <sup>4</sup>J<sub>PH</sub> = 4.5 Hz)

AROMATISATION DE L'ACETOXY-17 $\beta$  DIMETHYLPHOSPHONOMETHYL-2  
ANDROSTADIENE-1, 4 ONE-3 (VII) - PREPARATION DU COMPOSE VIIIb

Une solution rouge clair de 4.75 g d'acétoxy-17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 androstadiène-1, 4 one-3 (VII) dans 47 ml d'acide bromhydrique aqueux à 48% est laissée pendant 6 jours à température ordinaire dans un ballon fermé. On recueille alors, par filtration du milieu réactionnel, 3.93 g d'un produit d'apparence grisâtre. Les eaux mères sont chauffées pendant 24 h à 55°C, ce qui permet de récupérer 0.60 g additionnels de produit par filtration.

Le produit recueilli (4.53 g) est insoluble dans tous les solvants usuels, excepté le méthanol. Les méthoxyles ont été probablement hydrolysés et le produit recueilli est un acide phosphonique.

Le produit, dissous dans un mélange éther-méthanol, est reméthylé par le diazométhane, puis la solution est évaporée à sec. Le résidu est repris par un mélange de chlorure de méthylène et de chloroforme (chauffage à reflux pendant 1 h). Une partie se solubilise et une autre reste insoluble. Cette partie insoluble (2 g) ne résulte pas d'une méthylation

incomplète puisqu'il n'est pas possible de la méthyler de nouveau. La partie soluble est évaporée pour donner 2.50 g d'une mousse qui contient 4 produits (décélés en CCM), dont un très nettement majeur. Cette mousse est chromatographiée sur une colonne de 120 g de silice. Le mélange de 5% de méthanol dans l'éther élue 0.85 g du produit majeur (rendement: 20%). Il est ensuite purifié par chromatographie sur une colonne de 35 g de silice. Le mélange de 2% de méthanol dans l'éther élue alors 0.66 g de produit pur. Les trois autres produits révélés sur plaque sont séparés par la première chromatographie, mais les quantités obtenues sont négligeables. Le mauvais rendement de la réaction est dû en grande partie à la quantité considérable (2g) de produit non méthylable et résultant probablement de polymérisations. L'échantillon analytique est préparé, comme précédemment, par chromatographie sur silice.

Dihydroxy-1, 17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 méthyl-4 oestratriène-1, 3, 5 (10) (VIIIb):

PF: 134.5°C

( $\alpha$ )<sub>D</sub>: + 178° (c=1.04)

Analyse: C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>O<sub>5</sub>P (PM: 408.48)

Calculé %:	C	64.68	H	8.14	P	7.58
Trouvé :		64.79		8.39		7.37

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3400 et 3230 (OH phénolique et alcoolique),  
1600 et 1575 (C=C aromatique), 1240 (P=O),  
~1045 (P-O-C)

UV:  $\lambda_{\text{max}} = 288 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 4,400$ )

RMN (100 MHz):

- 1 s à 0.78 (3H, méthyle C-18)
- 1 s à 2.10 (3H, méthyle en C-4)
- 1 d à 3.10 (2H, P-CH<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>=,  $^2J_{\text{PH}} = 20 \text{ Hz}$ )
- 2 d à 3.64 et 3.68 (6H, P-O-CH<sub>3</sub> non équivalents,  $^3J_{\text{PH}} = 10.8 \text{ Hz}$ ), cachant l'hydrogène -C<sub>17</sub>H-OH
- 1 s à 6.68 (1H, =C<sub>3</sub>H-)
- 1 m à 7.97 (1H, -C<sub>17</sub>H-OH ou =C<sub>1</sub>-OH)

PREPARATION DE LA METHYLENE-2 19-NORTESTOSTERONE (XIII)

Suivant le procédé de BLOCH (21), on prépare 5.85 g d'hydroxyméthylène-2 nortestostérone (XII) à partir de 4.91 g de 19-nortestostérone; le produit brut est utilisé tel quel pour l'étape suivante.

A une solution de 5.85 g d'hydroxyméthylène-2 nortestostérone (XII) dans 490 ml d'acétone, on ajoute 12.2 ml de formol et 12.2 g de carbonate de potassium. Le mélange est agité vigoureusement pendant 30 mn, puis est étendu graduellement avec 1470 ml d'eau. Le carbonate de potassium se dissout, mais aucun précipité ne se forme.

Le mélange est soumis à 3 extractions successives au chlorure de méthylène. Après plusieurs lavages à l'eau, séchage sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporation du solvant, on récupère 4 g d'une mousse qui montre, en CCM, la présence

d'au moins deux produits prépondérants; le produit initial a complètement disparu. La mousse est chromatographiée sur une colonne de 160 g de silice. A l'éther, on élue 1.57 g de méthylène-2 nortestostérone (XIII), puis au mélange de 10% de méthanol dans l'éther on élue 1.50 g d'hydroxyméthyl-2 $\alpha$  nortestostérone (XX). La méthylène-2 nortestostérone (XIII) (rendement 31%) est utilisée telle quelle sans purification pour l'étape suivante. Elle est identique au produit décrit dans la littérature (24):

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3450 (OH), 1656 (O=C←C=C→), 1618 (C=C),  
900 (CH<sub>2</sub>=C-); (Litt.: 3448, 1653, 1608, 935,  
883)

UV:  $\lambda_{\max} = 258 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 13,800$ ); (Litt.:  $\lambda_{\max} = 260 \text{ nm}$   
( $\epsilon = 14,000$ ))

PF: 120-3°; (Litt.: 124-6°)

( $\alpha$ )<sub>D</sub>: + 61° (c=0.2); (Litt.: +63° (c=1.0))

RMN (60 MHz): - 1 s à 0.78 (3H, méthyle C-18)  
- 1 m vers 3.67 (1H, -C<sub>17</sub>H-OH)  
- 1 s à 5.18 (1H, -CH=C<sub>5</sub>-)  
- 1 t à 5.82 et 1 s à 5.88 (2H, CH<sub>2</sub>=C<sub>2</sub>-)

Hydroxyméthyl-2 $\alpha$  19-nortestostérone XX

PF: 182-183°C Recristallisations dans le mélange hexane-  
acétone

( $\alpha$ )<sub>D</sub>: + 108° (c=0.52)

Analyse: C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub> (PM: 304.41)

Calculé %: C 74.96 H 9.27

Trouvé : 75.12 9.04

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3590 et 3460 (OH), 1655 (O=C<sub>3</sub>←C=C<sub>2</sub>),  
1620 (C=C)

UV: λ<sub>max</sub> = 239 nm (ε = 17,650)

DC: Δε<sub>319</sub> = -1.25

RMN (100 MHz): - 1 s à 0.78 (3H, méthyle C-18)  
- 1 m vers 3.56 (1H, -C<sub>17</sub>H-OH)  
- 1 d à 3.72 (2H, HO-CH<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>H-, J = 5 Hz)  
- 1 s à 5.82 (1H, -CH=C<sub>5</sub>-)

### OXYDATION DE LA METHYLENE-2 19-NORTESTOSTERONE

A une solution de 1.30 g de méthylène-2 nortestostérone (XIII) dans 80 ml d'acétone, refroidie dans la glace, on ajoute, sous agitation magnétique et par petites portions, du mélange de JONES (51). L'évolution de la réaction est suivie en CCM: il suffit de quelques minutes pour obtenir une oxydation complète.

Le mélange réactionnel est étendu avec 150 ml d'eau et le produit est extrait 3 fois à l'éther. Les phases étherées sont lavées à l'eau jusqu'à neutralité, puis par une solution saturée de NaCl, séchées sur sulfate de sodium. Après évaporation du solvant, on obtient 1.10 g d'une huile qui cristallise par séchage sous vide (rendement 85%).

La méthylène-2 oestrène-4 dione-3, 17 (XIV) est identique au produit décrit (24), et le produit brut sera utilisé tel quel pour l'étape suivante.

PF: 135-7°; (Litt.: 134-7°)

( $\alpha$ )<sub>D</sub>: +138° (c=0.2); (Litt.: +135° (c=1.03))

IR (CHCl<sub>3</sub>): 1735 ( $\overset{\cdot}{\text{C}}_{17}=\text{O}$ ), 1666 ( $\text{O}=\overset{\cdot}{\text{C}}_3\leftarrow\overset{\cdot}{\text{C}}=\overset{\cdot}{\text{C}}\rightarrow$ ), 1620 (C=C),  
895 ( $\text{CH}_2=\overset{\cdot}{\text{C}}-$ ); (Litt.: 1740, 1664, 1620, 941,  
886)

UV:  $\lambda_{\text{max}} = 258 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 14,600$ ); (Litt.:  $\lambda_{\text{max}} = 260 \text{ nm}$   
( $\epsilon = 14,300$ ))

RMN (60 MHz): - 1 s à 0.92 (3H, méthyle C-18)  
- 1 s à 5.18 (1H,  $-\text{CH}=\overset{\cdot}{\text{C}}_5-$ )  
- 1 t à 5.82 et 1 s à 5.88 (2H,  $\text{CH}_2=\overset{\cdot}{\text{C}}_2-$ )

#### PHOSPHONATION DE LA METHYLENE-2 OESTRENE-4 DIONE-3, 17 (XIV)

On dissout 1.10 g (3.88 mM) de méthylène-2 oestrène-4 dione-3, 17 (XIV) dans 1.2 g de phénol chauffé à 50°C. A cette solution on ajoute, sous agitation, 0.603 g (4.86 mM) de phosphite triméthylrique; on chauffe le mélange à 100°C et on suit sur plaque l'évolution de la réaction: au bout de 5 mn la réaction est terminée; le chauffage est arrêté au bout d'une demi-heure.

Le mélange réactionnel est ensuite dissous dans un peu de benzène et chromatographié sur une colonne de

66 g de silice. Au mélange éther de pétrole/éther 50/50, on élue le phénol (rendement quantitatif) avec un peu de dérivé méthylénique initial (XIV); on élue ensuite environ 300 mg de produits divers non identifiés apparaissant sur plaque sous forme de longues traînées, puis au mélange de 10% de méthanol dans l'éther on élue 960 mg de phosphonate XV (rendement 63%) sous forme d'une huile. Toutes les tentatives de recristallisation ont été vaines. Le produit brut sera utilisé tel quel pour l'étape suivante. Le produit sera caractérisé sous la forme de sa Bis-dinitro-2, 4 phénylhydrazone.

Diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$  oestrène-4 dione-3, 17 (XV):

( $\alpha$ )<sub>D</sub>: + 58.4° (c=1.06)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 1732 (-C<sub>17</sub>=O), 1665 (O=C<sub>3</sub>←C=C<sub>1</sub>), 1625 (C=C),  
1245 (P=O), ~1035 (P-O-C)

UV:  $\lambda_{\text{max}}$  = 237 nm ( $\epsilon$  = 10,000)

DC:  $\Delta\epsilon_{287}$  = +1.26;  $\Delta\epsilon_{321}$  = -2.29

DR: ( $\Phi$ )<sub>306</sub> = +1135°; ( $\Phi$ )<sub>342</sub> = -96.2°

RMN (100 MHz): - 1 s à 0.90 (3H, méthyle C-18)  
- 1 d à 3.72 (6H, P-O-CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10 Hz)  
- 1 s à 5.85 (1H, -CH=C<sub>5</sub>-)

Bis-dinitro-2, 4 phénylhydrazone

PF: 228-9°; recristallisations dans le mélange hexane-acétate d'éthyle

Analyse:  $C_{33}H_{39}O_{11}N_8P$  (PM: 754.67)

Calculé %:	C	52.51	H	5.21	N	14.85	P	4.10
Trouvé :		52.50		5.48		14.74		3.87

La structure de ce produit a été démontrée par infra-rouge: disparition des bandes à 1732 (C=O, pentanone) et à 1665 (C=O conjuguée) et apparition de bandes à 3330 (NH) et à 1595 ((C=C) cyclique ou aromatique, (C=N) ou (NO<sub>2</sub>)).

PREPARATION DE LA DIMETHYLPHOSPHONOMETHYL-2 OESTRONE (XVI)  
PAR AROMATISATION DE LA DIMETHYLPHOSPHONOMETHYL-2 OESTRENE-4  
DIONE-3, 17 (XV)

On dissout 0.529 g (2.97 mM) de N-bromosuccinimide dans 65 ml de CCl<sub>4</sub> (pour arriver à la dissolution complète, il est nécessaire de chauffer un peu). On ajoute alors une solution de 0.647 g (1.64 mM) de phosphonate XV dans 60 ml de CCl<sub>4</sub> et on chauffe le mélange à reflux, sous azote.

Au bout d'une heure, on peut constater la formation importante de produit aux dépens du produit initial; cette formation semble se ralentir progressivement au cours des 5 heures qui suivent mais brusquement, après 6 heures de reflux, le mélange réactionnel se décolore très nettement (il passe du rouge orangé au jaune très pâle et un précipité abondant se forme ainsi qu'un peu de fumée (vapeur de HBr probablement). La réaction est arrêtée et le mélange réaction-

nel filtré. Une petite partie du précipité obtenu est soluble dans le chlorure de méthylène, le résidu (200 mg) restant insoluble. Les phases organiques sont réunies dans un excès d'éther, lavées à l'eau jusqu'à neutralité puis par une solution saturée de NaCl, séchées sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et évaporées pour donner 297 mg d'une mousse qui révèle en CCM de nombreuses impuretés (en plus du produit attendu il y a probablement du produit initial, XV, un autre produit, et une assez forte proportion de produits de polymérisation).

La mousse est chromatographiée sur une colonne de 15 g de silice. Au mélange de 5% de méthanol dans l'éther, on élue 125 mg de diméthylphosphonométhyl-2 oestrone (XVI), très propre. Les autres fractions de la chromatographie contiennent toutes un mélange de 2 ou 3 produits, incluant le produit XVI. Le rendement réel de cette réaction est donc certainement plus élevé que le rendement pratique (20%).

Le résidu insoluble de la filtration ne migre pas sur plaque; nous avons pensé qu'il s'agissait de l'acide phosphonique résultant de l'hydrolyse acide du phosphonate. Dans l'espoir de récupérer une partie du produit, nous avons tenté la reméthylation avec le diazométhane. Le spectre de RMN du produit ainsi obtenu montre la présence d'une quantité prépondérante de N-méthylsuccinimide (résultant de la méthylation du succinimide) par

rapport au phosphonate XVI. Celui-ci représente 70 des 200 mg (déterminé par intégration en RMN) et nous n'avons pas jugé utile de l'isoler. Par contre, ceci augmente le rendement global de la réaction (qui pourrait atteindre 35%).

L'échantillon analytique de la diméthylphosphonométhyl-2 oestrone a été préparé par chromatographie sur 2 g de silice de 40 mg de produit. Le produit pur élué a été utilisé aussi pour les mesures de PF,  $(\alpha)_D$  et UV.

PF: 210°C

$(\alpha)_D$ : +84° (c=0.5)

Analyse: C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>O<sub>5</sub>P (PM: 392.41)

Calculé %:	C	64.27	H	7.45	P	7.89
Trouvé :		64.25		7.33		7.65

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3200 (OH), 1740 ( $\overset{\cdot}{\text{C}}_{17}=\text{O}$ ), 1620 (C=C),  
1280 (P=O), ~1040 (P-O-C)

UV:  $\lambda_{\text{max}} = 283 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 5,900$ )

RMN (100 MHz): - 1 s à 0.86 (3H, méthyle C-18)  
- 1 d à 3.13 (2H, P-CH<sub>2</sub>- $\overset{\cdot}{\text{C}}_2$ =,  $^2J_{\text{PH}} = 21 \text{ Hz}$ )  
- 1 d à 3.69 (6H, P-O-CH<sub>3</sub>,  $^3J_{\text{PH}} = 10.8 \text{ Hz}$ )  
- 1 s à 6.66 (1H, -CH= $\overset{\cdot}{\text{C}}_5$ -)  
- 1 d à 6.94 (1H, -CH= $\overset{\cdot}{\text{C}}_{10}$ -, J = 2 Hz)

RESULTATS ORIGINAUX

1) Synthèses des produits nouveaux suivants:

- Hydroxy-17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$  androstène-4 one-3 (V)
- Acétoxy-17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$  androstène-4 one-3 (VI)
- Acétoxy-17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 androstadiène-1, 4 one-3 (VII)
- Dihydroxy-1, 17 $\beta$  diméthylphosphonométhyl-2 méthyl-4 oestratriène-1, 3, 5 (10) (VIIIb)
- Diméthylphosphonométhyl-2 $\alpha$  oestrène-4 dione-3, 17 (XV)
- Diméthylphosphonométhyl-2 oestrone (XVI)
- Hydroxy-17 $\beta$  hydroxyméthyl-2 $\alpha$  oestrène-4 one-3 (XX)

2) Synthèse de la méthylène-2 testostérone avec un rendement de 79%.

3) Phosphonation de cétostéroïdes  $\alpha,\beta$ -insaturés par le phosphite triméthylque en milieu aprotique, conduisant à un  $\beta$ -cétophosphonate.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) T. Reichstein et W. Schindler, *Helv. Chim. Acta*, 1940, 23, 669.
- (2) F.A. Cutler Jr., J.P. Conbere, R.M. Lukes, J.F. Fisher, H.E. Mertel, R. Hirschmann, J.M. Chemerda, L.H. Sarett et K. Pfister, *J. amer. chem. Soc.*, 1958, 80, 6300.
- (3) J. Riess, *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1965, p. 18.
- (4) J. Cheymol, P. Chabrier et A. Carayon-Gentil, *Biol. Médicale*, 1963, 52, 527.
- (5) S. Hirai, R.G. Harvey et E.V. Jensen, *Tetrahedron*, 1966, 22, 1625.
- (6) C. Benezra et G. Ourisson, *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1967, p. 624 et 632.
- (7) R.G. Harvey, E.R. DeSombre et E.V. Jensen, *Steroids*, 1967, 9, 101.
- (8) J.A. Ross et M.D. Matz, *J. Org. Chem.*, 1969, 34, 399.
- (9) M. Horiguchi et M. Kandatsu, *Nature*, 1959, 184, 901.
- (10) J.S. Kittregde et E. Roberts, *Science*, 1969, 164, 37.
- (11) L. Freedmann et G. Doak, *Chem. Revs.*, 1957, 57, 479.
- (12) S. May, *D.E.S. de Sciences naturelles*, Strasbourg, 1962.
- (13) J.P. Weniger, Communication personnelle.
- (14) T.C. Myers, R.G. Harvey et E.V. Jensen, *J. amer. chem. Soc.*, 1955, 77, 3101.
- (15) R.G. Harvey et E.R. DeSombre, *Topics in phosphorus chemistry*, Vol. 1, Interscience, New York, 1964, p. 55.
- (16) R.G. Harvey, *Tetrahedron*, 1966, 22, 2561.
- (17) V.S. Abramov, *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 1950, 73, 487; *Chem. Abstr.*, 1951, 45, 2855h; V.S. Abramov, R.V. Dmitrieva et A.S. Kaputsina, *Zh. obshch. Khim.*, 1953, 23, 257; *Chem. Abstr.*, 1954, 48, 2572c.

- (18) S. Trippett, Organophosphorus Chemistry, Specialist periodical reports, The Chemical Society, London, Vol. 1, p. 122.
- (19) E.F. Jason et E.K. Fields, J. Org. Chem., 1962, 27, 1402.
- (20) E.K. Fields et R.J. Rolih, Chem. Ind., 1960, 999.
- (21) J.C. Bloch, Thèse de doctorat ès-Sciences, Strasbourg, 1964.
- (22) A.N. Pudovik, Zh. obshch. Khim , 1956, 26, 3110; Chem. Abstr., 1957, 51, 8642é.
- (23) R.L. McConnell et H.W. Coover Jr., J. amer. chem. Soc., 1957, 79, 1961.
- (24) D.D. Evans, D.E. Evans, G.S. Lewis et P.J. Palmer, J. Chem. Soc., 1963, p. 4312.
- (25) T.R. Carrington, A.G. Long et A.F. Turner, J. Chem. Soc., 1962, p. 1572.
- (26) A.J. Manson et D. Wood, J. Org. Chem., 1967, 32, 3434.
- (27) G.P. Newsoroff et S. Sternhell, Tetrahedron Letters, 1968, p. 6117.
- (28) F. Ramirez et N.B. Desai, J. amer. chem. Soc., 1963, 85, 3056.
- (29) F. Ramirez, O.P. Madan et S.R. Heller, J. amer. chem. Soc., 1965, 87, 731.
- (30) C. Djerassi, R. Records, E. Bunnenberg, K. Mislow et A. Moscowitz, J. amer. chem. Soc., 1962, 84, 870.
- (31) P. Crabbé, "Optical Rotatory dispersion and circular dichroism in organic chemistry", Holden-Day Inc., San Francisco, 1965, p. 198.
- (32) A.L. Wilds et C. Djerassi, J. amer. chem. Soc., 1946, 68, 2125.
- (33) K. Tsuda, E. Ohki et S. Nozoe, J. Org. Chem., 1963, 28, 783.
- (34) H.L. Dryden Jr., G.M. Webber, J.J. Wieczorek, J. amer. chem. Soc., 1964, 86, 742.
- (35) H.H. Inhoffen et G. Zuhlsdorf, Chem. Ber., 1941, 74, 604.

- (36) C. Djerassi, G. Rosenkranz, J. Romo, J. Pataki et S. Kaufmann, J. amer. chem. Soc., 1950, 72, 4540.
- (37) A.S. Dreiding, W.J. Pummer et A.J. Tomasewski, J. amer. chem. Soc., 1953, 75, 3159.
- (38) C. Djerassi, "Steroid Reactions", Holden-Day Inc., San Francisco, 1963, p. 373.
- (39) C. Benezra et G. Ourisson, Bull. Soc. chim. Fr., 1967, p. 2270.
- (40) R.A. Bell et J.K. Saunders, Can. J. Chem., 1970, 48, 1114, et ref. citées.
- (41) P. Crabbé, Tetrahedron, 1964, 20, 1236.
- (42) R.B. Turner et J.A. Meschino, J. amer. chem. Soc., 1958, 80, 4862.
- (43) H.R. Levy et P. Talalay, J. amer. chem. Soc., 1957, 79, 2658.
- (44) J.A. Hartman, A.J. Tomasewski et A.S. Dreiding, J. amer. chem. Soc., 1956, 78, 5662.
- (45) C. Meystre et A. Wettstein, Experientia, 1946, 2, 408.
- (46) J.M. Midgley, B.J. Millard et W.B. Whalley, J. Chem. Soc., C, 1971, p. 13, et ref. citées.
- (47) H.J. Callot et C. Benezra, Org. Mass. Spectr., 1971, sous presse.
- (48) J. Iriarte et H.J. Ringold, Tetrahedron, 1958, 3, 28.
- (49) J.A. Moore et D.E. Reed, Org. Syn., 1961, 41, 16.
- (50) R.M. Dodson, S. Kraychy, R.T. Nicholson et S. Mizuba, J. Org. Chem., 1962, 27, 3159.
- (51) A. Bowers, T.G. Halsall, E.R.H. Jones et A.J. Lemin, J. Chem. Soc., 1953, p. 2548.