

THÈSE

présentée à

**L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES
ET TECHNOLOGIES DE LILLE**



pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
*en Chimie Organique
et Macromoléculaire*
par

Philippe GAUTRET

Ingénieur H.E.I.

**CONCEPTION, SYNTHÈSE ET ÉTUDE DES
PROPRIÉTÉS CHIMIQUES ET BIOCHIMIQUES
D'ANALOGUES DE LA PODOPHYLLOTOXINE**

soutenue le 20 décembre 1994, devant la commission d'examen :

Président : D. COUTURIER

Rapporteurs : J.P. HENICHART
J.Y. MÉROUR

Examineurs : B. HASIAK
D. LESIEUR
B. RIGO

à Emma et Valérie

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de Synthèses Organiques de l'Ecole des Hautes Etudes Industrielles de Lille (HEI). Je tiens à remercier Monsieur B. Rigo, responsable de ce laboratoire, qui m'a initié à la recherche et qui m'a permis de mener cette étude à bien.

Ce laboratoire fait partie de la Jeune Equipe CNRS Chimie Organique et Environnement de l'Université des Sciences et Technologies de Lille, dirigée par Monsieur D. Couturier. Qu'il me soit permis de le remercier pour l'attention qu'il a portée à ce travail et pour m'avoir fait l'honneur de présider la commission d'examen.

Je remercie mes collègues du laboratoire pour leur accueil et leur sympathie. Je tiens à remercier plus particulièrement L. Dejans, R. Dolaine, D. Ducatez, S. El Gharmarti, B. Erb, I. Gouni, C. Hendann, C. Moncomble, B. Petitpré et S. Roche.

Je remercie Monsieur E. Denneulin et Madame S. Delattre pour la réalisation des spectres infrarouges. J'associe à ces remerciements, Monsieur P. Watkin pour m'avoir initié à l'utilisation de l'appareil rmn AC300 situé dans le bâtiment C4 de l'USTL, ainsi que A. Remoué pour m'avoir aidé à réaliser les études NOE.

Je remercie toutes les personnes qui m'ont fait l'honneur de constituer le jury de thèse : messieurs J.P. Henichart, Head of Drug Discovery - UCB (Braine l'Alleud - Belgique), et J.Y. Mérour, Professeur à l'Université d'Orléans, comme rapporteurs de ma thèse ; messieurs B. Hasiak, Maître de Conférence à l'Université de Lille I, et D. Lesieur, Professeur à l'Université de Lille II et Directeur de l'Institut de Chimie Pharmaceutique de Lille, comme membres du jury.

Je remercie Monsieur M. Vittu, Directeur de l'Ecole des Hautes Etudes Industrielles de Lille (HEI) ainsi que les enseignants et le personnel administratif et technique de l'école pour leur accueil.

Je remercie le personnel du COMES pour leur aide, notamment Messieurs F.X. Cordonnier et J. Dehondt pour l'efficacité dont ils ont fait preuve lors de la reprographie de ce document.

J'ai bénéficié pendant le déroulement de cette thèse d'une allocation du Ministère de la Recherche et de la Technologie et d'un complément de bourse de l'Association Fondation Norbert Segard. Je tiens à les remercier de la confiance qu'ils m'ont accordée.

SOMMAIRE

Introduction générale	1
1- Conception d'analogues de la podophyllotoxine à activité potentielle sur la tubuline ou la topoisomérase II	3
Introduction	5
1.1- Poisons du fuseau - Dérivés de la podophyllotoxine (1)	6
1.1.1- Tubuline et poisons du fuseau	6
1.1.1.1- Tubuline	6
1.1.1.2- Poisons du fuseau	8
1.1.2- Relations structure-activité des inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline	9
1.1.2.1- Analogues structuraux de la colchicine (6)	9
1.1.2.2- Phényltropolones et biphényles mimant les cycles A/C de la colchicine (6)	12
1.1.2.3- Analogues structuraux de la combrestatine (9)	14
1.1.2.4- Benzylbenzodioxoles et phénylbenzopyranes	16
1.1.2.5- Analogues structuraux de la podophyllotoxine (1)	19
1.1.3- Site de la colchicine	23
1.2- Inhibiteurs de la topoisomérase II - Dérivés de l'étoposide (3)	25
1.2.1- Cytotoxicité et cassures de l'ADN	25
1.2.2- Activité et mécanisme d'inhibition de la topoisomérase II par l'étoposide (3) et ses analogues	27
1.2.2.1- Activité de la topoisomérase II	27
1.2.2.2- Inhibition de la topoisomérase II	28
1.2.2.3- Relations structure-inhibition de l'activité de la topo II par les déméthylépipodophyllotoxines	30
1.2.3- Activité de certains métabolites de l'étoposide (3)	39
1.2.3.1- Activité métabolique de l'étoposide (3)	39
1.2.3.2- Mode d'action des métabolites	41
1.3- Isostères de la podophyllotoxine (1) et de l'étoposide (3)	43
1.3.1- Inhibiteurs potentiels de la polymérisation de la tubuline	44
1.3.1.1- 2-Azapodophyllotoxine (52)	44
1.3.1.2- Inhibiteurs potentiels	46
1.3.2- Inhibiteurs potentiels de l'activité de la topo II	48
Conclusion	51

2- Synthèse de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine et de ses dérivés	53
Introduction	55
2.1- Synthèse de l'acide N-benzhydripyroglutamique 67a	58
2.1.1- Résultats de la littérature	59
2.1.1.1- N-Alkylations de l'acide pyroglutamique (65)	59
2.1.1.2- N-Alkylations catalytiques de lactames silylés	62
2.1.2- Préparation des matières premières	67
2.1.2.1- Dérivés silylés de l'acide pyroglutamique (65)	67
2.1.2.2- Benzhydrols silylés	68
2.1.2.3- Disproportionation de benzhydrols et de benzhydrols silylés	70
2.1.3- Etude de la condensation du pyroglutamate de méthyle N-silylé (69) avec des chlorures de benzhydriyle et des benzhydrols silylés	74
2.1.3.1- Condensation avec des chlorures de benzhydriyle	74
2.1.3.2- Condensation avec des benzhydrols silylés	82
2.1.3.3- Application à d'autres lactames N-silylés	89
2.1.4- Application à la préparation de l'acide 67a	91
2.1.4.1- Préparation du benzhydrol 107a	91
2.1.4.2- Préparation de l'ester 116a	94
2.1.4.3- Préparation de l'acide 67a	97
2.1.4.4- Préparation "one pot" de l'acide 67a à partir du benzhydrol 107a	99
2.2- Synthèse de la 2-aza-10-carba-4-cétopodophyllotoxine (56a)	100
2.2.1- Résultats de la littérature	101
2.2.2- Cyclisation des acides N-benzhydripyroglutamique (67b) et N-(triméthoxybenzyl)pyroglutamique (141d)	103
2.2.2.1- Cyclisation de l'acide N-benzhydripyroglutamique (67b)	103
2.2.2.2- Cyclisation de l'acide N-benzylpyroglutamique (141d)	104
2.2.3- Synthèse de la 2-aza-10-carba-4-cétopodophyllotoxine (56a)	106
2.2.3.1- Mode opératoire	106
2.2.3.2- Détermination de la stéréochimie des cétones 56a et 56a' obtenues	108
2.2.3.3- Etude du mécanisme réactionnel	110
2.2.3.4- Application à la préparation des cétones 56m,n,m'	113
2.2.4- Réactions "one pot" à partir de l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (106)	114
2.2.4.1- Synthèse "one pot" de la 2-aza-10-carba-4-cétopodo- phyllotoxine (56a)	114
2.2.4.2- Synthèse "one pot" de la 1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indo- lizine-3,10-dione (143a)	115

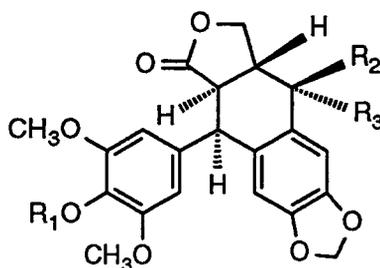
2.3- Synthèse de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (4a) et de dérivés potentiellement actifs	117
2.3.1- Synthèse de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (4a)	117
2.3.1.1- Résultats de la littérature	117
2.3.1.2- Réduction de la 2-aza-10-carba-4-cétopodophyllotoxine (56a) par l'hydrure de tri-t-butyloxyaluminium	119
2.3.2- Réactivité dans la série de la 1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indoli- zine-3,10-dione (143a)	121
2.3.2.1- Réductions de la cétone 143a	121
2.3.2.2- Ouverture du cycle lactame en milieu basique	123
2.3.2.3- Substitution de la cétone 143a en position 10a	123
2.3.2.4- Réarrangements observés avec l'acide chlorhydrique	124
2.3.2.5- Réarrangements observés avec l'acide polyphosphorique	128
2.3.2.6- Mécanisme proposé pour les réarrangements observés avec l'acide chlorhydrique concentré ou l'acide polyphosphorique	131
2.3.2.7- Réaction de Schmidt	134
2.3.3- Tentatives de synthèse de composés potentiellement actifs à partir de la 2-aza-10-carba-4-cétopodophyllotoxine (56a)	136
2.3.3.1- Tentative de réduction totale de la fonction cétone	136
2.3.3.2- Tentative de substitution de la position 3	138
2.3.3.3- Action de l'acide polyphosphorique	139
Conclusion	140
Partie expérimentale	145
3- Résultats biologiques	219
3.1- Tests d'inhibition de la polymérisation de la tubuline	221
3.1.1- Description du test	221
3.1.2- Résultats	223
3.2- Cytotoxicité	224
Conclusion générale	225
Bibliographie	227

INTRODUCTION GENERALE

La podophyllotoxine (**1**) est un composé naturel extrait des racines et des rhizomes de *Podophyllum Peltatum* (May apple ou mandragore d'Amérique) et de *P. Emodi*. Il y a plusieurs siècles, des propriétés médicinales des extraits aqueux de ces plantes ont été mises en évidence par des Indiens d'Amérique (*P. Peltatum*) et par des indigènes de la région de l'Himalaya (*P. Emodi*). L'extrait, nommé podophylline, était utilisé comme cathartique et anthelminthique. Les colons américains employaient la podophylline pour ses propriétés émétiques, et elle fut inscrite dans la première pharmacopée américaine en 1820. En 1942, l'activité de la podophylline contre les verrues est décrite et, en 1946, des propriétés antimitotiques sont reconnues.

Dans les années 50, la podophyllotoxine (**1**) et d'autres composés extraits du *Podophyllum* ont été testés en clinique. Bien que des résultats intéressants soient notés dans certaines tumeurs, ces composés sont généralement trop toxiques.

En 1963, Sandoz Pharmaceuticals commence un programme de synthèse et d'étude de dérivés semi-synthétiques de la podophyllotoxine (**1**). Puis deux composés, le téniposide (VM-26) (**2**) suivi par l'étoposide (VP-16) (**3**), arrivent en clinique au début des années 70 et se révèlent être, de loin, de meilleurs agents antitumoraux [1-8].



podophyllotoxine (**1**) : R₁ = -CH₃, R₂ = -OH, R₃ = -H

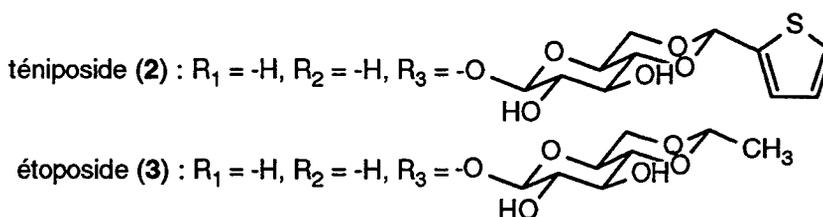


Schéma 1

Bien que l'étoposide (3) et le téniposide (2) soient très utilisés en clinique, le développement de résistances, la myélosuppression et la faible biodisponibilité justifient la synthèse de nouveaux analogues.

Une première partie de cet exposé décrit les relations structure-activité d'analogues de la podophyllotoxine (1), puis de l'étoposide (3). L'objectif de ces études est de mieux connaître les exigences structurales de ces produits afin de concevoir de nouveaux agents anticancéreux¹. Des composés appartenant à une nouvelle famille chimique ont particulièrement retenu notre attention. Il s'agit de dérivés de la 2-aza-10-déoxypodophyllotoxine (4a).

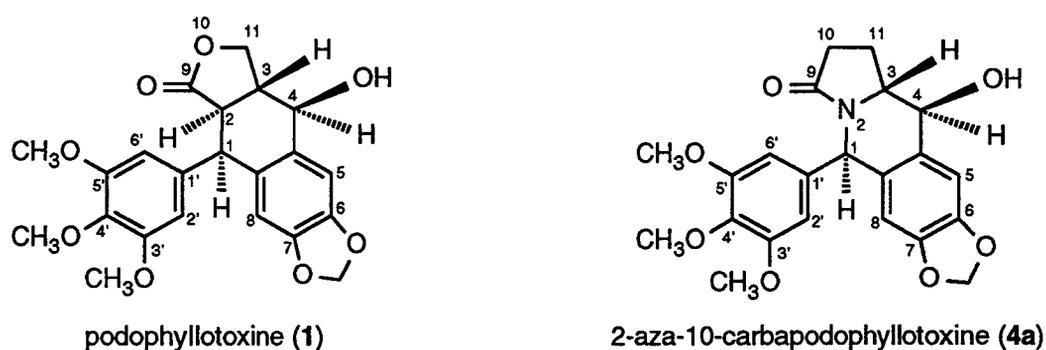


Schéma 2

La synthèse de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (4a) et de certains de ses dérivés est reportée dans le second chapitre².

Nous avons enfin testé la cytotoxicité des divers composés que nous avons préparés ainsi que leur activité d'inhibition de la polymérisation de la tubuline.

¹ Les études de modélisation moléculaire ont été réalisées avec le logiciel MAD (Molecular Advanced Design, 1990, Aquitaine Systemes. Paris La Défense). Malheureusement, il est à signaler que les représentations spatiales des travaux effectués avec ce logiciel n'ont pu être photographiées.

² La nomenclature usuelle des dérivés de la podophyllotoxine (1) utilise généralement le mot podophyllotoxine comme base. Nous avons ainsi nommé le composé 4a : 2-aza-10-carbapodophyllotoxine. Cependant, les autres produits que nous avons synthétisés ont été nommés d'après la nomenclature systématique.

**1- CONCEPTION D'ANALOGUES DE LA PODOPHYL-
LOTOXINE A ACTIVITE POTENTIELLE SUR LA
TUBULINE OU LA TOPOISOMERASE II**

1- CONCEPTION D'ANALOGUES DE LA PODOPHYLLOTOXINE A ACTIVITE POTENTIELLE SUR LA TUBULINE OU LA TOPOISOMERASE II

INTRODUCTION

Les agents antitumoraux classiques peuvent être divisés en plusieurs classes en fonction de leur mécanisme d'action : alkylants, intercalants, antimétabolites ... Comme pour la plupart des agents anticancéreux, l'établissement d'un mécanisme d'action antitumoral exact pour ces composés de la famille de la podophyllotoxine (1) a été et reste difficile. La majorité de ces drogues est capable de mettre en oeuvre plus d'un mode d'action, et les méthodes d'identification de ceux-ci sont généralement très différentes d'un composé à l'autre.

C'est le cas de différents dérivés de la podophyllotoxine (1). Le greffage d'un substituant glucopyranoside en position β -4 et la déméthylation en 4' transforment la podophyllotoxine (1), qui est un poison du fuseau, en un inhibiteur de la topoisomérase II (étoposide (3), téniposide (2) ...) (schéma 3) [9-11].

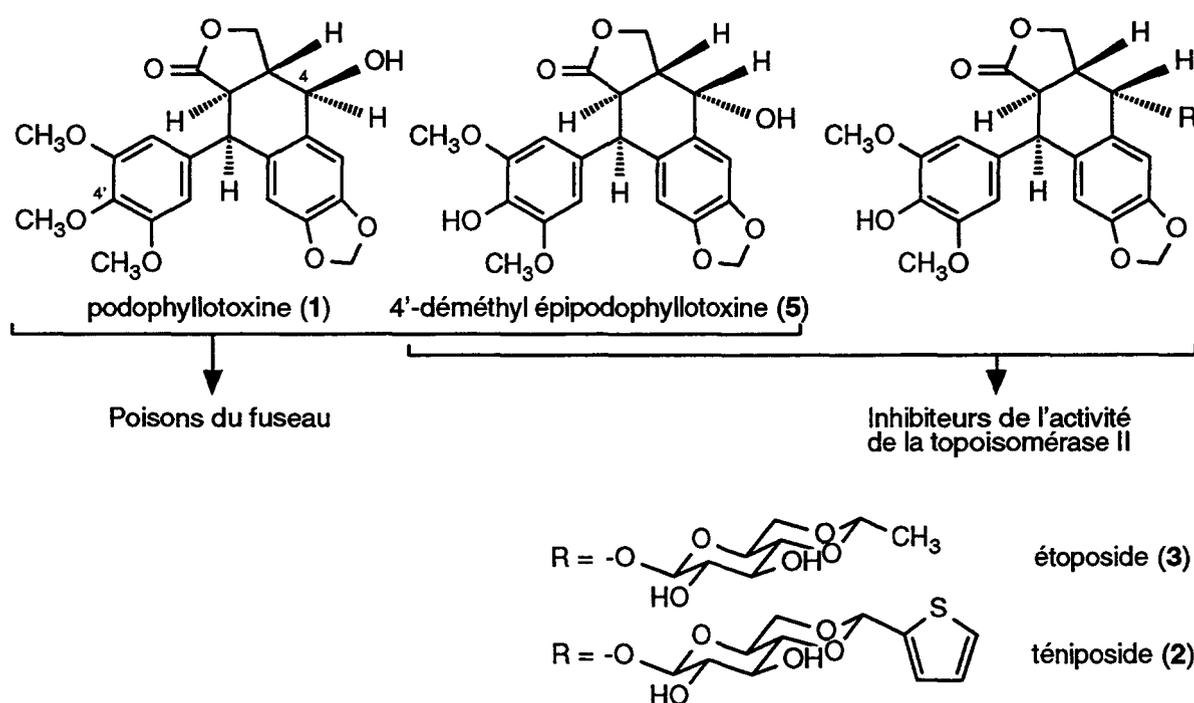


Schéma 3

1.1- POISONS DU FUSEAU - DERIVES DE LA PODO-PHYLLOTOXINE (1)

1.1.1- TUBULINE ET POISONS DU FUSEAU

1.1.1.1- TUBULINE

Une des étapes clés de la division cellulaire est la formation (et la disparition) du fuseau mitotique (ou méïotique). Le fuseau joue un rôle essentiel dans la distribution des chromosomes des deux cellules filles issues de la division cellulaire normale (schéma 4).

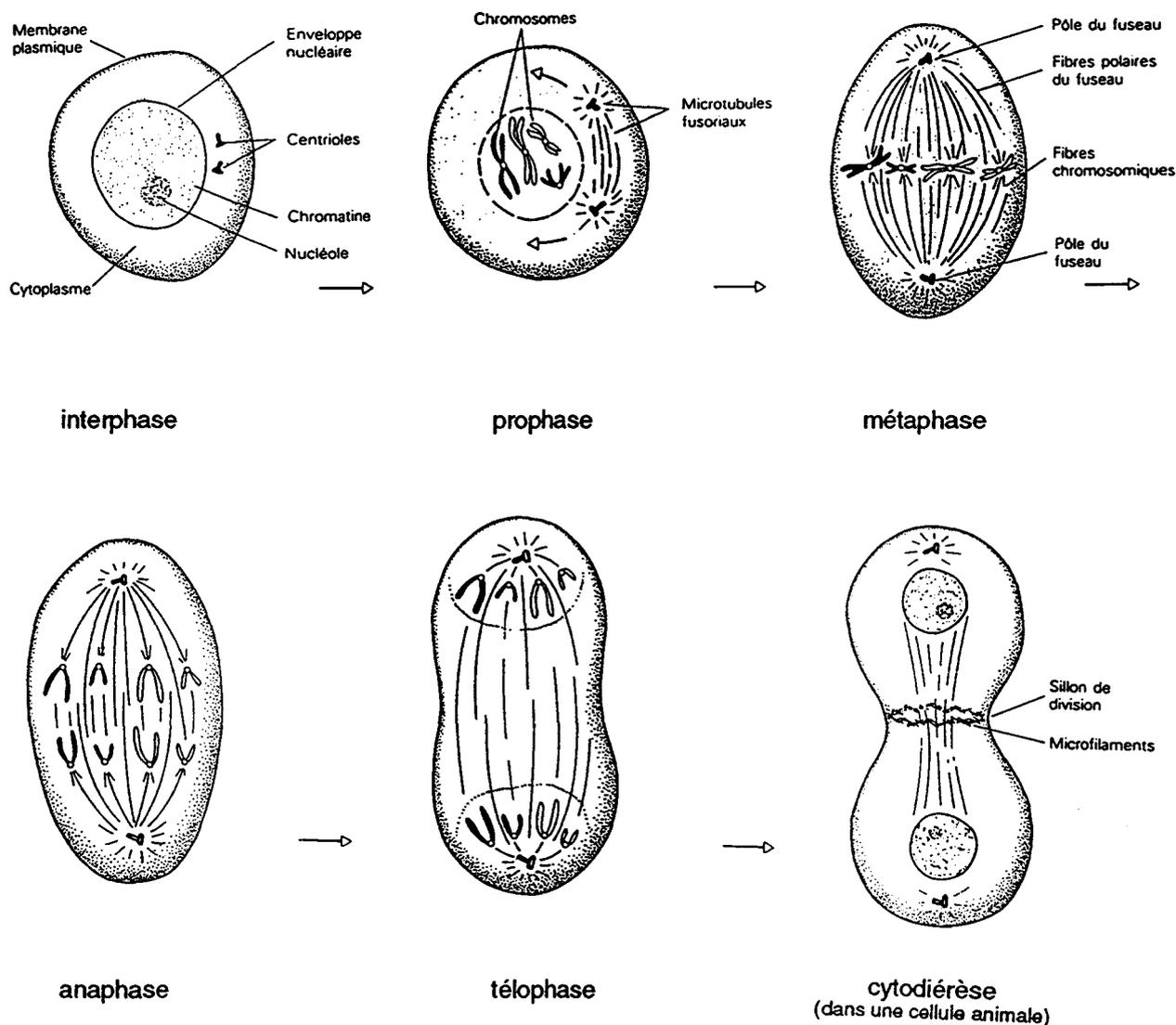


Schéma 4. Schéma de la mitose.

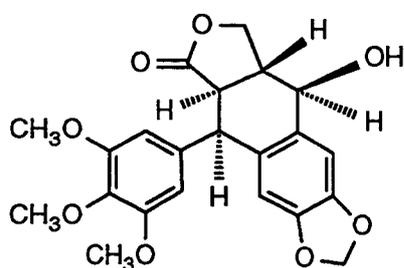
La tubuline est présente dans tous les organismes eucaryotes. Cette protéine hétérodimérique (2 x 55000 Dalton) polymérise en présence de nucléoside triphosphatol (activité GTPase) et conduit aux microtubules et aux microfilaments qui, après assemblage, constituent le fuseau [12-15].

La tubuline a été isolée de divers tissus : cellule HeLa, embryon de sauterelle, cerveau de mammifère, sperme d'oursin ...

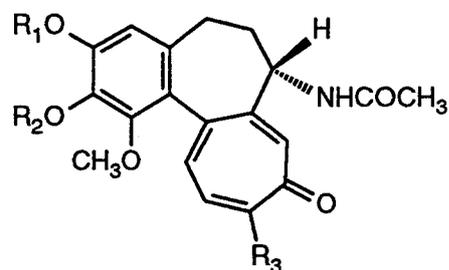
Les microtubules sont généralement accompagnés de MAPs (Microtubule Associated Proteins). Ce sont des protéines qui jouent un rôle important dans la variation des fonctions biologiques des microtubules ou des microfilaments (ex : transport axonal, organisation du cerveau, sécrétion d'hormones, mobilité de différentes cellules, etc.).

1.1.1.2- POISONS DU FUSEAU

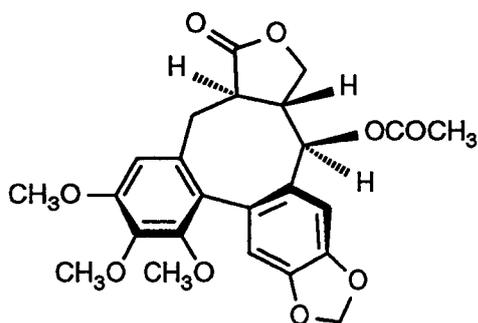
La tubuline constitue la principale cible, sinon la seule, des poisons du fuseau. Divers produits naturels sont connus pour interférer avec la formation du fuseau (schéma 5). La podophyllotoxine (1), la colchicine (6), la steganacine (8), la combrestatine (9), la vinblastine (12), la vincristine (13), ainsi que leurs dérivés inhibent la polymérisation de la tubuline en microtubules, et la division cellulaire s'arrête en métaphase [16]. Quant au taxol (14) et à ses dérivés, ils favorisent l'assemblage des microtubules en microfilaments et en fuseau ; ils stabilisent le fuseau qui devrait normalement disparaître à la fin de la division cellulaire [17].



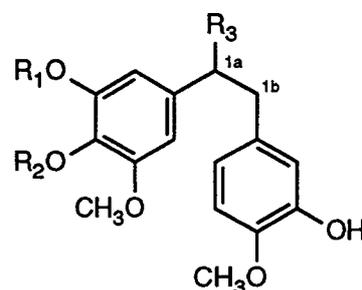
podophyllotoxine (1)



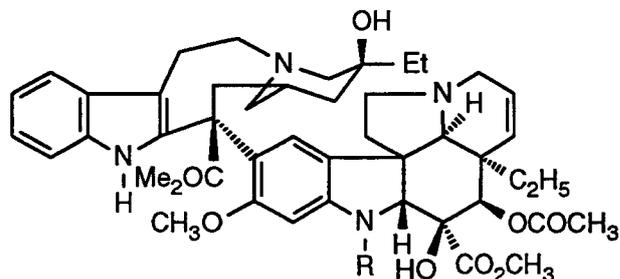
$R_1 = R_2 = -CH_3$, $R_3 = -OCH_3$: colchicine (6)
 $R_1, R_2 = -CH_2-$, $R_3 = -OCH_3$: comigicine (7)



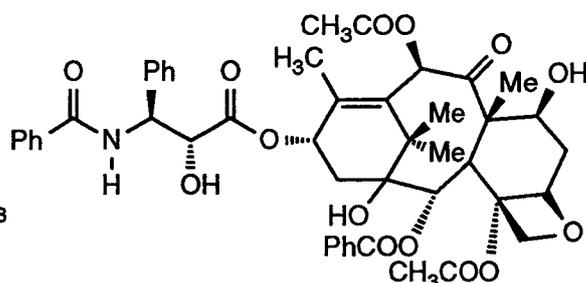
steganacine (8)



$R_1 = R_2 = -CH_3$, $R_3 = -OH$: combrestatine (9)
 $R_1, R_2 = -CH_2-$, $R_3 = -H$ (double liaison 1a-1b) : combrestatine A-2 (10)
 $R_1 = R_2 = -CH_3$, $R_3 = -H$ (double liaison 1a-1b) : combrestatine A-4 (11)



$R = -CH_3$: vinblastine (12)
 $R = -CHO$: vincristine (13)



taxol (14)

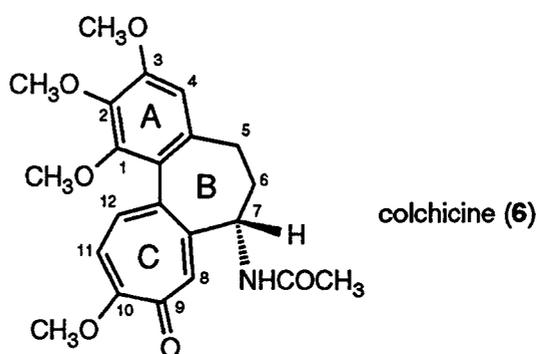
Schéma 5

1.1.2- RELATIONS STRUCTURE-ACTIVITE DES INHIBITEURS DE LA POLYMERISATION DE LA TUBULINE

1.1.2.1- ANALOGUES STRUCTURAUX DE LA COLCHICINE (6)

La colchicine (6) est un alcaloïde extrait d'une fleur, *Colchicum Autumnale*, et de la *Gloriosa Superba*. Elle possède des propriétés antimitotiques. Elle est trop toxique pour être utilisée en clinique comme agent anticancéreux [18], mais elle est employée dans le traitement de la goutte [19]. Ce composé induit la dissolution des microtubules présents dans les leucocytes polymorphonucléaires impliqués dans le processus inflammatoire [20]. La colchicine (6) est aussi utilisée dans le traitement de la fièvre méditerranéenne familiale et elle semblerait avoir des effets bénéfiques sur la cirrhose du foie [21-22].

De nombreux dérivés chimiques de la colchicine ont été préparés afin d'obtenir des actions pharmacologiques plus spécifiques, davantage d'informations sur le site de liaison de la colchicine, et de meilleurs poisons du fuseau. Le schéma 6 présente l'influence de modifications structurales de la colchicine (6) sur l'inhibition de la polymérisation de la tubuline [23-28].



- 1 : $-\text{OCH}_3 > -\text{OH}$
- 2 : $-\text{OCH}_3 > -\text{OCOCH}_3 > -\text{OH} > -\text{OPO}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$
- 3 : $-\text{OCH}_3 > -\text{OCO}_2\text{C}_2\text{H}_5 > -\text{OCOC}_3\text{H}_7, -\text{OCOC}_4\text{H}_9, -\text{OCOCH}_2\text{OC}_2\text{H}_5 > -\text{OH} > -\text{OCOCH}_3 > -\text{PO}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2 > -\text{OCOC}_6\text{H}_5$
- 1,2 : $-(\text{OCH}_3)_2, -\text{OCH}_2\text{O}- \gg \gg -(\text{OH})_2$
- 2,3 : $-(\text{OCH}_3)_2 > -\text{OCH}_2\text{O}- > -(\text{OH})_2$
- 4 : $-\text{CHO} > -\text{H}$
- 7 : $-\text{NHCOCF}_3 > -\text{N}(\text{CH}_3)\text{COCH}_2\text{OH} > -\text{N}(\text{CH}_3)\text{COCH}_3, -\text{NHCO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3, -\text{NHCOCH}_2\text{CH}_3 > -\text{NHCOCH}_2\text{OH} > -\text{NHCH}_3 > -\text{NHCOCH}_3 > -\text{NHCOCH}_2\text{OCOCH}_3, -\text{NHCO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 > -\text{NHCOC}_6\text{H}_5, -\text{N}(\text{CH}_3)\text{COCF}_3, -\text{NHCOCH}_2\text{OC}_6\text{H}_5, -\text{N}(\text{CH}_3)\text{CHO} > -\text{NHCOCH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3 > -\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3 > -\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2(2-(\text{OH})\text{C}_6\text{H}_4), -\text{NHCO}(3,4,5-(\text{OCH}_3)_3\text{C}_6\text{H}_2) > -\text{N}(\text{CH}_3)_2 \gg (+) \text{NHCOCH}_3$
- 9 : $=\text{O} > =\text{S}$
- 10 : $-\text{SCH}_3 > -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3, -\text{Cl}, -\text{I}, -\text{CH}_3, -\text{CH}_2\text{CH}_3, -\text{CH}(\text{CH}_3)_2, -\text{C}(\text{CH}_3)_3, -\text{N}_3, -\text{NHCH}_3 > -\text{OCH}_3 > -\text{OCH}_2\text{CH}_3 > -\text{H} > -\text{F} > -\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2 > -\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)(\text{CH}_3) > -\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 > -\text{OCH}(\text{CH}_3)_2 > -(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3 > -\text{Ph}$

Schéma 6

Il existe plusieurs conformères de la colchicine (6) et de ses dérivés. En effet, le cycle central à 7 sommets (B) est relativement flexible, et l'interaction stérique entre le substituant en position 1 et l'hydrogène en position 12 des cycles A et C les rend non coplanaires. Les composés possédant l'atome C-7 de configuration R sont généralement beaucoup moins actifs (voire inactifs) que ceux ayant un carbone de configuration S. La spectrométrie rmn et les études RX ont montré que les deux cycles A et C du conformère le plus stable du composé naturel (aS, 7S)-(-)-colchicine forment un arrangement hélicoïdal dans le sens trigonométrique, contrairement au conformère le plus stable de la (aR, 7R)-(+)-colchicine qui tourne dans le sens des aiguilles d'une montre (schéma 7) [28-29].

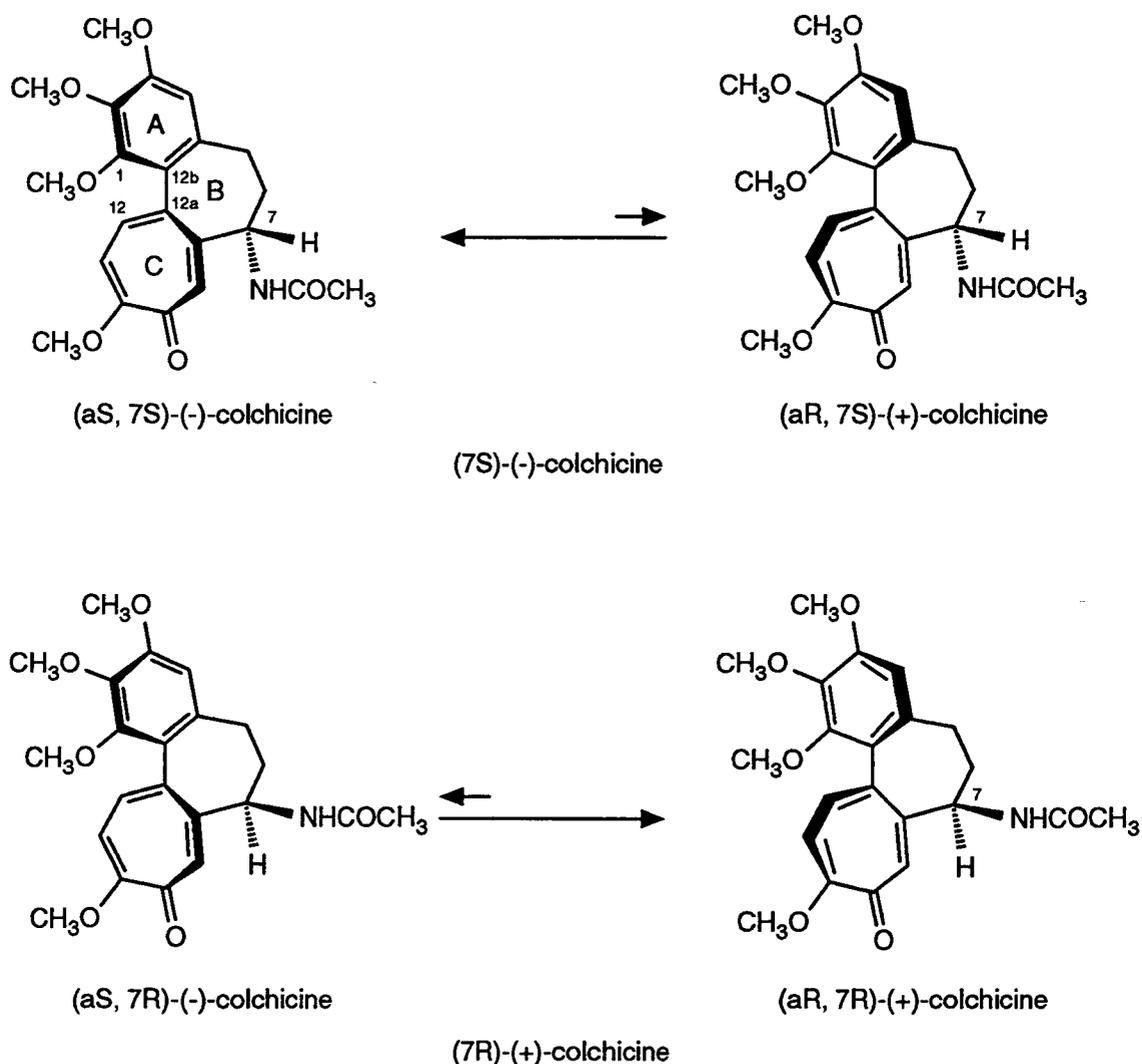


Schéma 7 (d'après [28])

Les principales exigences que doit assumer un composé de la famille de la colchicine (6) pour être un inhibiteur de la polymérisation de la tubuline sont résumées ci-dessous [22]:

- Pour se lier à la tubuline, le groupement phényltropolone des dérivés de cette famille doit adopter une configuration tournant dans le sens trigonométrique autour de l'axe 12a-12b. Les énantiomères ayant une configuration inverse sont inactifs.

- Le groupe acétamide en 7 n'est pas indispensable à la liaison de la molécule avec la tubuline et peut être remplacé, sans perte importante de l'activité, par d'autres substituants. La migration du groupe acétamide de la position 7 à la position 5 conduit à des produits inactifs.

- L'introduction d'un groupe carbaldéhyde en 4 sur la thiocolchicine (15) permet d'augmenter l'activité.

- Les dérivés phénoliques de la colchicine (6) sont moins actifs que leurs analogues O-méthylés, et l'activité décroît dans l'ordre suivant : colchicine (6) > 3-déméthylcolchicine > 2-déméthylcolchicine > 1-déméthylcolchicine > 2,3-déméthylcolchicine > 1,2-déméthylcolchicine. Les 3 groupes méthoxy du cycle A en position 1, 2 et 3 sont donc très importants et sont probablement des points d'interaction avec le site de liaison de la colchicine via des liaisons hydrogène.

- Cependant, le méthoxy situé en position 10 de la colchicine (6) ne semble pas impliqué dans une liaison hydrogène avec la tubuline. En effet, des composés substitués par une chaîne alkyle sont de meilleurs poisons de fuseau que la colchicine (6) : groupe propyle, éthyle, isopropyle, tertiobutyle. L'activité d'inhibition de la polymérisation de la tubuline est aussi augmentée lorsque ce groupe méthoxy du cycle C de la colchicine (6) est remplacé par un halogène (-Br, -Cl, -I), par un groupe -N(R)₂, ou par un groupe -SCH₃ ; la thiocolchicine (15) est l'un des composés les plus actifs de la famille de la colchicine (6).

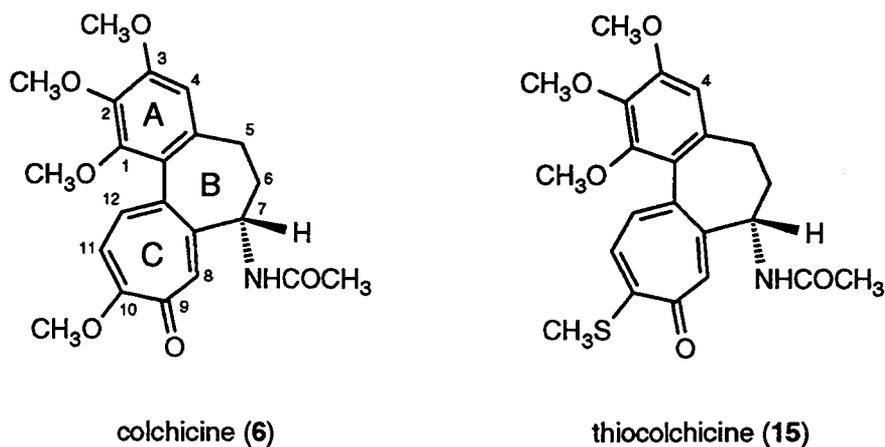


Schéma 8

1.1.2.2- PHENYL TROPOLONES ET BIPHENYLS MIMANT LES CYCLES A/C DE LA COLCHICINE (6)

Certains phényltropolones (composés **16**, **17** ...) ont une activité qui est du même ordre de grandeur que les composés de la famille de la colchicine (**6**) [30].

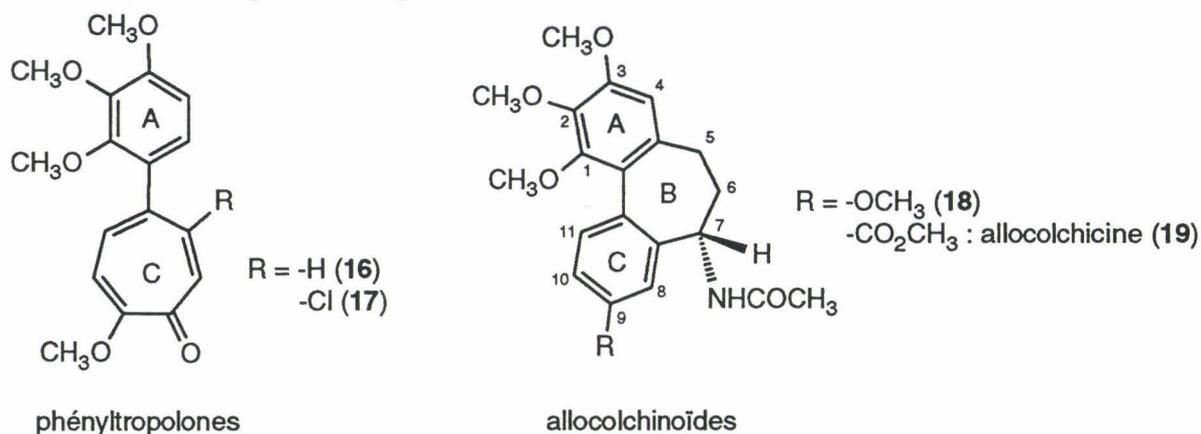
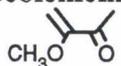


Schéma 9

Les allocolchinoïdes sont des analogues structuraux de la colchicine (**6**), dont le cycle tropolonique C est remplacé par un cycle benzénique. L'allocolchicine (**19**), ainsi que le composé correspondant possédant un substituant -OCH₃ en position 9 (**18**), sont de meilleurs inhibiteurs de la formation de microtubules que la colchicine (**6**) [30-31]. Il est à noter qu'une isostérie existe entre le noyau phényl ester de l'allocolchicine (**19**) et le cycle méthoxy tropolonique. En effet, ce dernier possède un groupe  vinylogue d'une fonction ester par l'intermédiaire de la conjugaison des doubles liaisons du cycle C à 7 chaînons.

Par ailleurs, la steganacine (**8**), un composé naturel isolé de la *Steganotaenia araliacea*, possède une bonne activité antimitotique [32-34]. De nombreuses ressemblances structurales existent entre la steganacine (**8**) et les allocolchinoïdes **18** et **19**. Les principales différences sont le cycle supplémentaire D, le groupe méthylène dioxy, et le cycle B qui est de taille un peu plus importante : il comporte 8 sommets contre 7 pour les allocolchinoïdes.

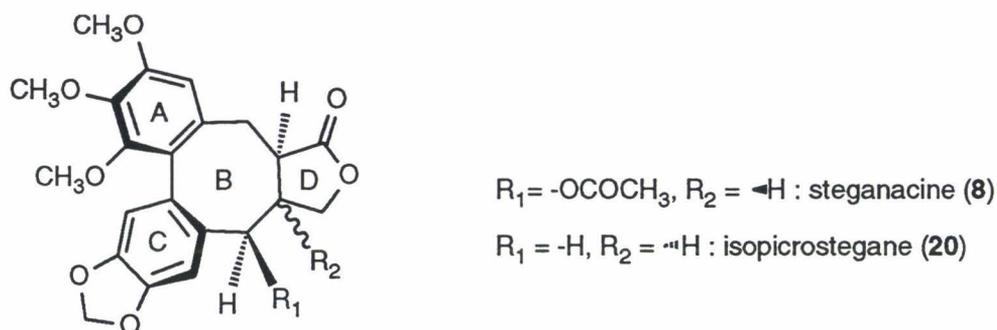
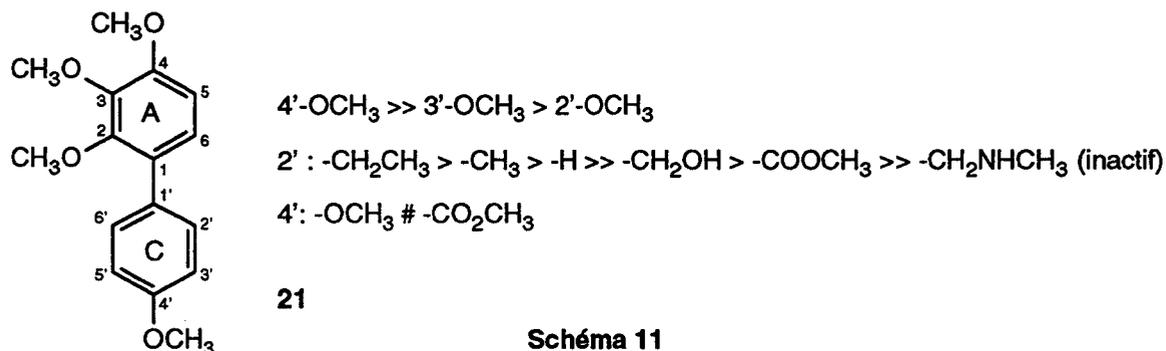
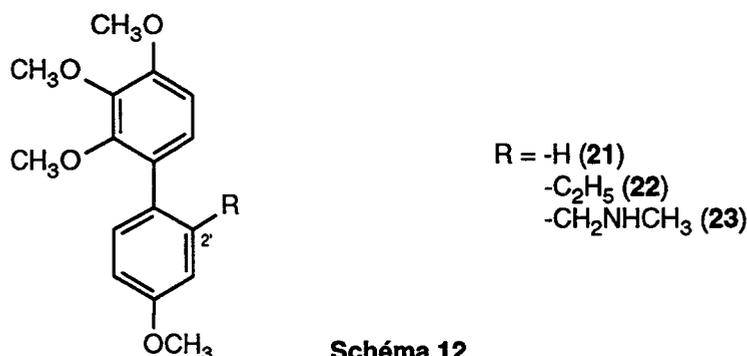


Schéma 10

La bonne activité *in vitro* des phényltropolones **16** et **17**, des allocolchinoïdes **18** et **19** et de la steganacine (**8**) dans les essais mesurant les effets d'inhibition de la polymérisation de la tubuline, suggère que des biphényls mimant les cycles A/C de la colchicine, puissent agir de la même manière.



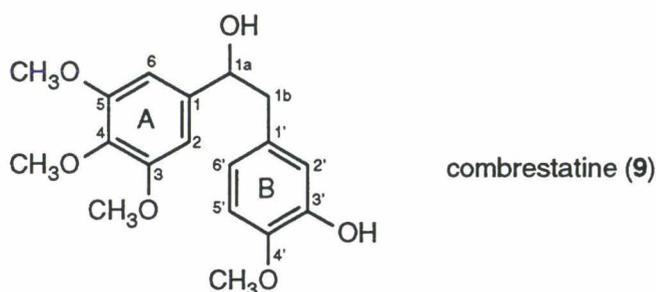
Le biphenyle **21**, substitué par 4 groupes méthoxy en position 2, 3, 4 et 4', est le seul composé possédant une activité significative parmi les différents isomères monosubstitués sur le cycle C par un éther méthylique (schéma 11) [30-31]. Cela montre clairement l'importance de la position de ce groupe précis. L'introduction d'un substituant en position 2' empêche la rotation autour de l'axe biphenyl 1-1'. Les tétraméthoxybiphényles avec un méthyle ou un éthyle (**22**) en 2' ont une activité légèrement meilleure que **21**, mais l'introduction d'un groupe $\text{-CH}_2\text{NHCH}_3$ dans la même position inactive complètement le produit (**23**). Le biphenyle substitué par un éthyle (**22**) et son analogue benzylamine (**23**) ont été étudiés en cristallographie RX. Dans le produit **22**, les deux cycles aromatiques sont perpendiculaires l'un par rapport à l'autre, cependant le composé **23** adopte une orientation gauche qui est incompatible avec la liaison à la tubuline. Ces différentes remarques mettent en évidence l'importance de la configuration relative des deux cycles A et C pour inhiber la polymérisation de la tubuline, et expliquent pourquoi le cycle tropolonique peut être remplacé par un cycle phényle. Comme pour la colchicine (**6**), on peut supposer que les trois groupes méthoxy situés en position 1, 2 et 3 des phényltropolones et des biphényls soient des points de fixation avec la tubuline. Quant au méthoxy en position 4', son remplacement par un groupe ester méthylique $\text{-CO}_2\text{CH}_3$ ne modifie en rien l'activité des allocolchinoïdes et des biphényls.



1.1.2.3- ANALOGUES STRUCTURAUX DE LA COMBRESTATINE (9)

La combrestatine (9), isolée de l'écorce d'un arbre d'Afrique du Sud (*Combrestatum Caffrum*) [35], présente des propriétés antimittotiques. Ce poison du fuseau agit sur le site d'action de la colchicine (6). En effet, c'est un inhibiteur compétitif de la liaison de la colchicine (6) à la tubuline [36].

La combrestatine (9) possède deux noyaux benzéniques substitués et reliés par un chaînon carboné de deux atomes. Certains analogues synthétiques de la combrestatine, ou isolés de l'écorce de *C. Caffrum*, sont encore plus actifs [37-42, 44-45]. Ces composés diffèrent de la combrestatine par les substituants du pont carboné, la longueur de ce chaînon et la nature des cycles. Le schéma 13 résume les relations structure-activité de la combrestatine (9) [37-40, 43-45].



- 2 : -H > -OCH₃
 3 : -OCH₃ > -H
 4 : -OCH₃ > -H
 3,4 : -(OCH₃)₂ > -OCH₂O-
 C_{1a}-C_{1b} : -CH_{cis}=CH- > -CH₂CH₂- > -CH_{trans}=CH- > -CH₂- > -CH₂CH₂CH₂- > -CH₂(CH₂)₂CH₂-
 1a : -OH (R), -H > -OH (S) > =O
 2' : -H > -OH > -OCH₃
 3' : -OH ≥ -OCOCH₃ >> -OCH₃, -H
 4' : -OCH₃ > -N(CH₃)₂ > -Br > -Cl > -H > -OCOCH₃ > -OH > -OSi(tC₄H₉)(CH₃)₂ > -NO₂
 5' : -H > -OCH₃
 C₂-C_{6'} : si liaison, activité ↘ ↘

Schéma 13

Les combrestatines A-4 (11) et A-2 (10) sont les composés les plus actifs de cette famille. Leurs dérivés substitués par un hydroxyle en 2' sont aussi de bons inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline, mais leur structure catéchol les rend moins cytotoxiques. En effet, la molécule présente alors une structure catéchol qui pourrait subir dans la cellule une di-méthylation métabolique conduisant à un produit peu actif.

Des caractéristiques structurales très importantes se dégagent de l'étude d'analogues de la combrestatine (9).

Les trois groupes méthoxy en position 3, 4 et 5 semblent indispensables à l'activité et seraient impliqués dans la formation de liaisons hydrogène avec le site de la colchicine. Il est à noter que le composé 24 ne possède pas de groupe méthoxy sur son noyau aromatique B. Cependant, il présente une activité aussi importante que celle de la combrestatine A-4 (11). La substitution de la combrestatine en position 2, 1a, 1b et 5' semble diminuer l'affinité de la molécule pour la tubuline. Un hydroxyle en position 3' augmente l'activité. Une fonction -OH en 2' ne fait pas varier l'inhibition de la polymérisation de la tubuline mais, lorsqu'un autre hydroxyle est présent en position 3', la cytotoxicité diminue.

Le meilleur pont qui relie les noyaux aromatiques est une double liaison de configuration cis (combrestatine A-2 (10), combrestatine A-4 (11)). Cela permet de placer les deux cycles à la bonne distance et de les diriger dans la bonne orientation. Les groupes méthoxy sont alors bien positionnés pour se lier à la tubuline. Quand la double liaison 1a-1b est de configuration trans, les noyaux sont plus éloignés l'un de l'autre et ne peuvent plus interagir avec le site de la colchicine. Avec un pont -CH₂CH₂-, l'activité est plus faible qu'avec une double liaison cis mais elle reste importante (combrestatine (9)). Cette liaison confère une certaine flexibilité à la molécule et, les noyaux aromatiques ainsi que les groupes méthoxy peuvent se placer dans la même position qu'avec un pont éthylénique cis sans que l'énergie de cette conformation s'écarte beaucoup de celle du conformère le plus stable. Lorsqu'une liaison supplémentaire entre les carbones C-2 et C-6' relie les deux noyaux aromatiques, l'inhibition de la polymérisation de la tubuline diminue fortement. La structure de la molécule est alors figée : les deux cycles A et B n'ont plus libre rotation autour des axes 1-1a et 1b-1', et la molécule adopte une géométrie incompatible avec la fixation sur le site de la colchicine (6).

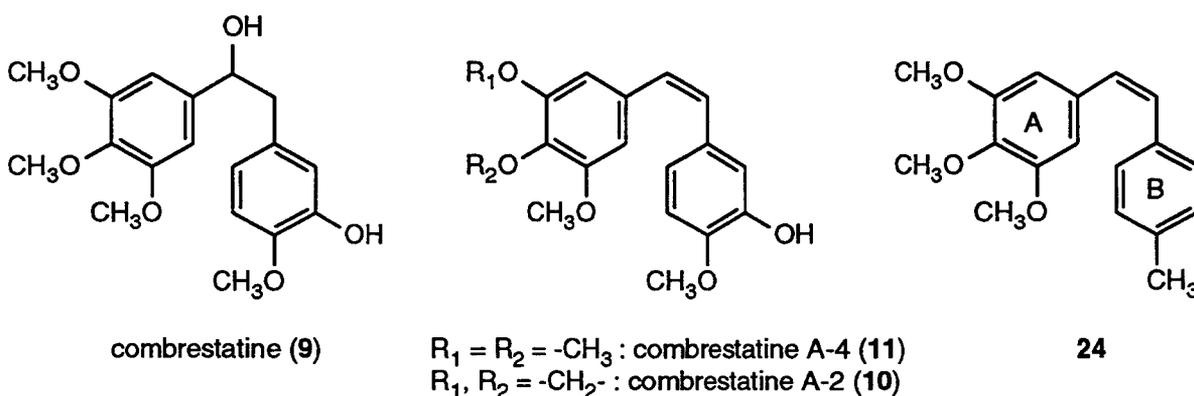


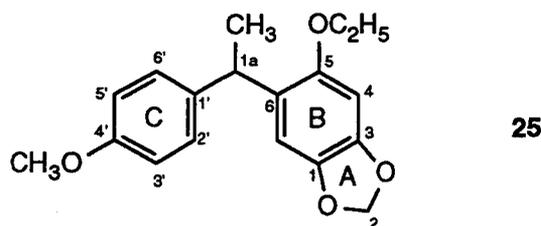
Schéma 14

1.1.2.4- BENZYL-BENZODIOXOLES ET PHENYL-BENZOPYRANES

Bien que certains benzylbenzodioxoles soient de bons inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline, ces composés sont souvent peu cytotoxiques. L'intérêt de ces ligands réside dans leurs relations structure-affinité, qui fournissent des renseignements supplémentaires sur la structure des ligands du site de la colchicine.

1.1.2.4.1- DERIVES DE LA 6-BENZYL-1,3-BENZODIOXOLE ¹

Certains dérivés de la famille de la 6-benzyl-1,3-benzodioxole, synthétisés en vue d'obtenir des agents insecticides [46-48], possèdent une activité cytotoxique intéressante [49-50]. Ces composés, tels que **25**, inhibent la polymérisation de la tubuline et sont des inhibiteurs compétitifs de la colchicine (**6**) sur la tubuline. Ils présentent une structure relativement simple (schéma 15).



1, 3 : -OCH₂O- >> 1,3-(OCH₃)₂, 1,3-(OCH₂CH₃, OCH₃) (inactifs)

5 : -OCH₃, -OCH₂CH₃ > -OCH₂CH₂OH > -O(CH₂)₂CH₃, -OCH₂CH=CH₂ > -OH >
-O(CH₂)₃, -O(CH₂)₄CH₃, -O(CH₂)₅CH₃

C₆-C_{1'} : -CH(CH₃)- (racémique), -C(CH₃)₂- ≥ -CH₂- ≥ -CH₂CH=CH-_{trans}, -(CH₂)₃- > -(CH₂)₂- >>
-(CH₂)₄-, -CH=CH-_{cis}

4' : -OCH₃ > -OCH₂CH₃ >>> -H, -OH, -O(CH₂)₂CH₃, -O(CH₂)₃CH₃, -OCH(CH₃)₂, -OPH
4'-OCH₃ > 3',4'-(OCH₃)₂ >>> 3',4',5'-(OCH₃)₃

Schéma 15

L'étude des relations structure-inhibition de la polymérisation de la tubuline (schéma 15) montre que le cycle dioxole A est indispensable à l'activité : son remplacement par deux -OCH₃ en position 1 et 3 rend le produit inactif [43, 51].

Le cycle B doit être substitué en position 5 par un groupe méthoxy ou éthoxy. Des substituants plus importants diminuent l'activité. L'encombrement stérique limite la libre rotation des deux noyaux aromatiques, et la molécule ne peut plus adopter une conformation capable d'interférer avec la tubuline.

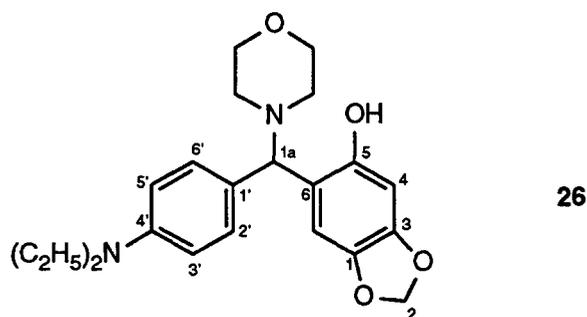
¹ La numérotation est celle généralement utilisée dans la littérature pour les dérivés de cette famille.

Il existe, au niveau des noyaux aromatiques, une certaine analogie de structure entre les dérivés de la 6-benzyl-1,3-benzodioxole et ceux de la combrestatine (9) (notamment la combrestatine A-2 (10)). Dans le cas des combrestatines, les deux cycles des composés les plus actifs sont reliés par un chaînon $-\text{CH}=\text{CH}-_{\text{cis}}$. Par contre, dans la série des 6-benzyl-5-éthoxy-1,3-benzodioxoles, le meilleur pont est un groupe $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ (voire $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$). En revanche une liaison $-\text{CH}=\text{CH}-_{\text{cis}}$ diminue fortement l'inhibition de la polymérisation de la tubuline.

Quant au noyau C, la polysubstitution par des groupes méthoxy en position 3', 4' ou 3', 4', 5' conduit à des produits moins actifs que le composé substitué par un seul méthoxy en position 4'. La poche, où prend place le groupe méthoxy dans la tubuline, doit être relativement petite car l'introduction d'un substituant en 4' plus encombrant qu'un $-\text{OCH}_3$ ou un $-\text{OC}_2\text{H}_5$ conduit à des produits inactifs.

1.1.2.4.2- DERIVES MORPHOLONIQUES DE LA 6-BENZYL-1,3-BENZODIOXOLE

Ces composés sont des intermédiaires de synthèse [52] et ont été testés pour leur propriété d'inhibition de la polymérisation de la tubuline [50]. Les différences structurales majeures avec les dérivés précédents (chapitre 1.1.2.4.1) sont la présence d'un hydroxyle en position 5 et un groupe morpholinique sur le pont reliant les deux noyaux aromatiques (schéma 16).



$4'-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2 > 4'-\text{N}(\text{CH}_3)_2 > 2',4',6'-(\text{OCH}_3)_3 > 2',4'-(\text{OCH}_3)_2 > 2',3',4'-(\text{OCH}_3)_3 > 4'-(\text{OCH}_3) \gg 3',4'-(\text{OCH}_3)_2 > 2'-(\text{OCH}_3), 4'-\text{F} > 4'-\text{Cl} \gg 2',3'-(\text{OCH}_3)_2 > 3'-(\text{OCH}_3) \gg 3',4',5'-(\text{OCH}_3)_3$

Schéma 16

Les résultats du schéma 16 montrent que les composés les plus actifs sont substitués en position 4', en particulier par un groupe $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$.

Comme pour les benzodioxoles non morpholiniques cités précédemment, la

polysubstitution en 3', 4' et 5' par des méthoxy conduit à des produits inactifs. Mais des substituants en position 2' et 6' permettent d'améliorer très nettement l'activité.

1.1.2.4.3- DERIVES DU PHENYLMETHYLENEDIOXYBENZOPYRANE

Des analogues cycliques du 6-benzyl-1,3-benzodioxole **25** ont été préparés et certains présentent une activité d'inhibition de la polymérisation de la tubuline intéressante : notamment lorsque trois groupes méthoxy sont présents en 3', 4' et 5' [53].

Les produits les plus actifs de la 6-benzyl-1,3-benzodioxole **25** doivent comporter un seul substituant méthoxy en position 4' sur le noyau aromatique C (cf chapitre 1.1.2.4.1). En revanche, la polysubstitution et la position des groupes méthoxy sur le cycle D des phénylbenzopyranes (tels que **27**) n'influencent pas de la même manière la polymérisation de la tubuline : les composés monosubstitués par un méthoxy en 4' sont inactifs. Une explication plausible de ce comportement est un positionnement différent des groupes -OCH₃ dans les deux familles de composés, provoqué par la présence ou l'absence d'un cycle supplémentaire.

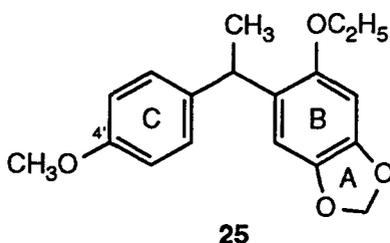
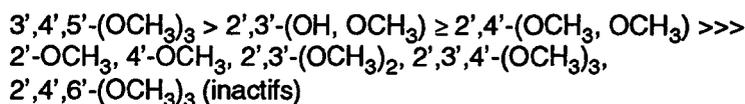
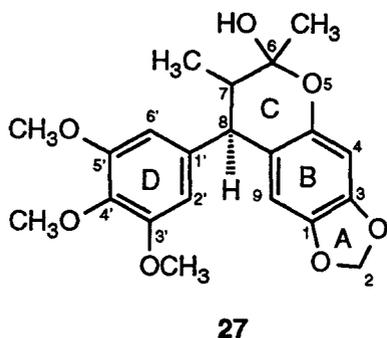
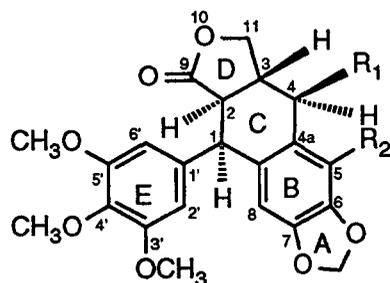


Schéma 17

1.1.2.5- ANALOGUES STRUCTURAUX DE LA PODOPHYLLOTOXINE

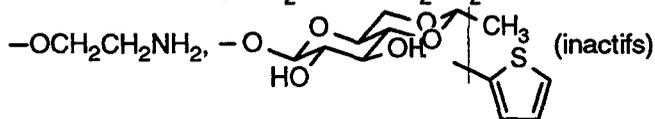
La podophyllotoxine (1) est un poison du fuseau [14, 54-55] qui est aussi un inhibiteur compétitif de la liaison de la colchicine (6) avec la tubuline [14, 56]. Mais elle se fixe et se sépare de ce site beaucoup plus rapidement que la colchicine (6) [14, 54, 57-59]. Il est à noter que la β -peltatine (28) possède une meilleure affinité pour la tubuline que la podophyllotoxine (1) et la colchicine (5) [60]. La podophyllotoxine (1) est un anticancéreux trop toxique pour être utilisé en clinique [58-59, 61-65]. Ainsi, de nombreux analogues structuraux ont été testés. Les variations réalisées à partir de la podophyllotoxine (1) concernent presque uniquement le cycle D et les substituants en position 4, 5 et 4'. Ceci a conduit à l'étoposide (VP-16) (3) et au téniposide (VM-26) (2) qui sont très utilisés en



$R_1 = -OH, R_2 = -H$: podophyllotoxine (1)
 $R_1 = -H, R_2 = -OH$: β -peltatine (28)

4' : $-OH \geq -OCH_3$

4 : $-H \geq -OH \gg -OH, -NH_2 \gg -OCH_2CH_2OH \gg -NHCH_2CH_2OH > -NHCH_2CH_2OH,$



5 : $-H > -OH > -OCH_3 \gg \gg -O$ (inactifs)

9 : $=O > -H_2$

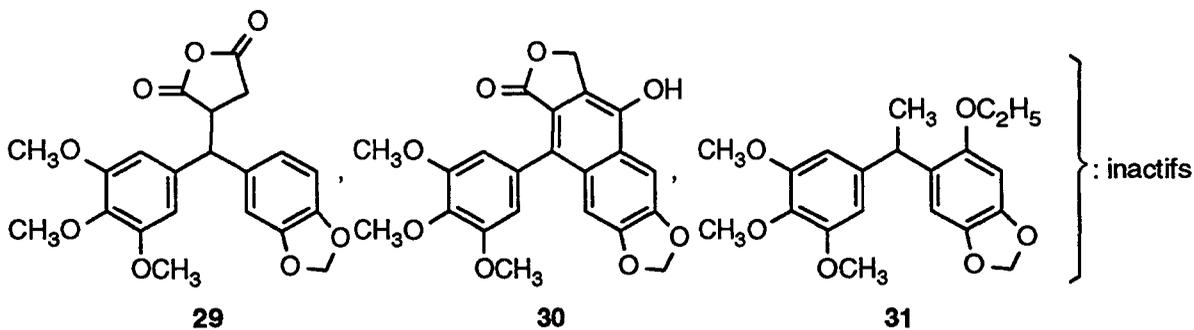
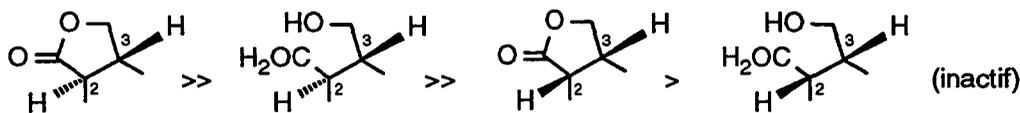


Schéma 18

clinique comme agents anticancéreux. En fait, ces deux produits sont les chefs de file d'une nouvelle famille de composés qui ne sont pas des poisons du fuseau mais des inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II (cf chapitre 1.2).

Le schéma 18 résume les relations structure-inhibition de la polymérisation de la tubuline dans la série de la podophyllotoxine (1) [9, 55, 63, 66].

Excepté le groupe méthoxy en position 4', peu de modifications des substituants des noyaux aromatiques B et E ont été réalisées. Mais a priori, comme pour la cornigérine (7), la steganacine (8), la combrestatine A-2 (10), et d'autres poisons du fuseau qui interfèrent avec le site de la colchicine, il semble probable que le cycle méthylènedioxy A et les groupes méthoxy représentent des points d'ancrage à la tubuline. Le groupe méthoxy en position 4' peut être remplacé par un hydroxyle : dans certains cas, l'activité peut être meilleure.

Dès que les positions 4 et 5 sont encombrées, l'activité diminue. Il est probable que, lors de l'interaction de la podophyllotoxine (1) avec la tubuline, les positions 4 et 5 de la molécule soient peu éloignées du bord de la poche de la protéine. Les molécules substituées en 4 ou 5 par un groupe volumineux ne peuvent donc pas se positionner correctement dans le site de la colchicine (comme dans le cas de l'étoposide (3) et du téniposide (2)).

Les 4 cycles ABCD de la podophyllotoxine (1) s'inscrivent globalement dans un même plan moyen. L'inversion de la configuration de l'atome de carbone C-2 conduit à des produits moins actifs dont le système tétracyclique n'est plus plan et n'est plus capable d'interagir avec la tubuline.

La podophyllotoxine (1) ne peut adopter qu'un nombre très limité de conformations. En effet, le système tétracyclique ABCD est assez rigide, et l'encombrement stérique à proximité du cycle triméthoxybenzénique E limite le pouvoir de rotation autour de l'axe 1-1'. Ainsi, la position relative des deux noyaux aromatiques B et E ne peut varier que très légèrement [67].

Les composés ayant un cycle C de nature aromatique (30), et les dérivés de la 6-(3',4',5'-triméthoxy)benzyl-1,3-benzodioxole (29, 31), pour lesquels le cycle C est ouvert entre les atomes de carbone C-3 et C-4, ne sont pas des inhibiteurs de la formation des microtubules. Il est probable, dans ces cas, que les deux noyaux aromatiques ne soient pas capables de bien s'orienter l'un par rapport à l'autre, ce qui gênerait la fixation de ces produits sur le site de la colchicine.

Les études des relations structure-inhibition de la polymérisation de la tubuline chez les dérivés de la 6-benzyl-1,3-benzodioxole (cf chapitre 1.1.2.4.1) ont montré que les composés les plus actifs de cette famille doivent posséder un seul méthoxy en 4'. Malgré les ressemblances entre les structures de la 6-(4'-méthoxy)benzyl-1,3-benzodioxole (**25**), du benzopyrane (**27**), de la steganacine (**8**), et de la podophyllotoxine (**1**), les groupes méthoxy situés en position 4' ne semblent pas y jouer le même rôle. Pour le premier type de composé (**25**), ce groupe -OCH₃ est essentiel à l'activité. Par contre, pour la podophyllotoxine (**1**), il peut être remplacé par un hydroxyle.

Ainsi, on peut supposer que les méthoxy en 3' ou 5' de la podophyllotoxine (**1**) et le groupe méthoxy en position 4' de la 6-(4'-méthoxy)benzyl-1,3-benzodioxole (**25**) interagissent avec la même position du site de la tubuline. Mais cette suggestion n'est vraisemblable que si les carbones C-1a de la 6-(4'-méthoxy)benzyl-1,3-benzodioxole (**25**) et C-1 de la podophyllotoxine (**1**) sont de même configuration. Or ceci n'est pas connu car les études d'inhibition des benzylbenzodioxoles ont été réalisées avec des mélanges racémiques. En fait, si le carbone qui relie les deux noyaux aromatiques était de configuration différente dans les deux familles de composés, les hypothèses précédentes seraient remises en cause.

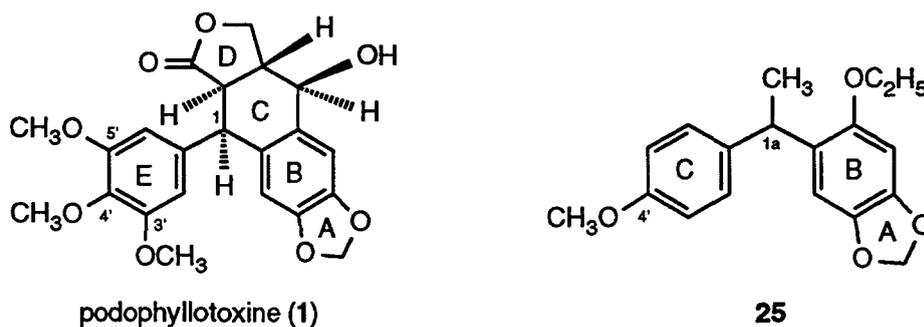
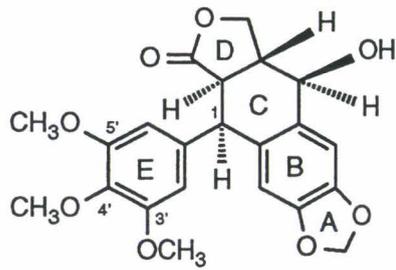
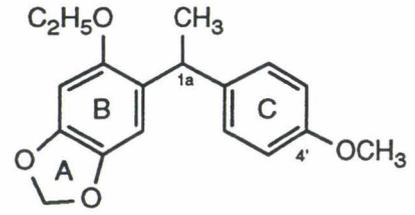


Schéma 19

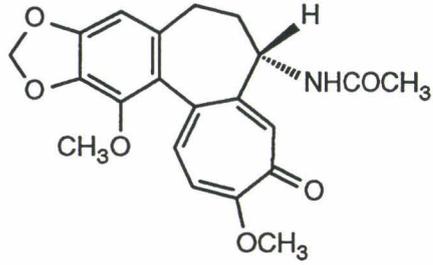
Dans le cas d'une telle inversion de configuration de ce carbone benzylique C-1a, la comparaison des conformations minimisées par ordinateur de ces produits montre que le cycle B, le groupe méthylènedioxy A, le cycle C et le substituant méthoxy en 4' de la 6-(4'-méthoxy)benzyl-1,3-benzodioxole (**25**) pourraient respectivement interagir avec les mêmes sites de la tubuline que le cycle E, deux des groupes méthoxy du noyau E, le cycle B et le groupe méthylènedioxy de la podophyllotoxine (**1**). Ainsi, comme pour la cornigérine (**7**) et la combrestatine A-2 (**10**), le cycle méthylènedioxy de **25** ne jouerait pas le même rôle que le cycle méthylènedioxy de la podophyllotoxine (**1**).



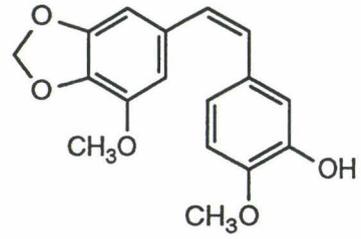
podophyllotoxine (1)



25



7



10

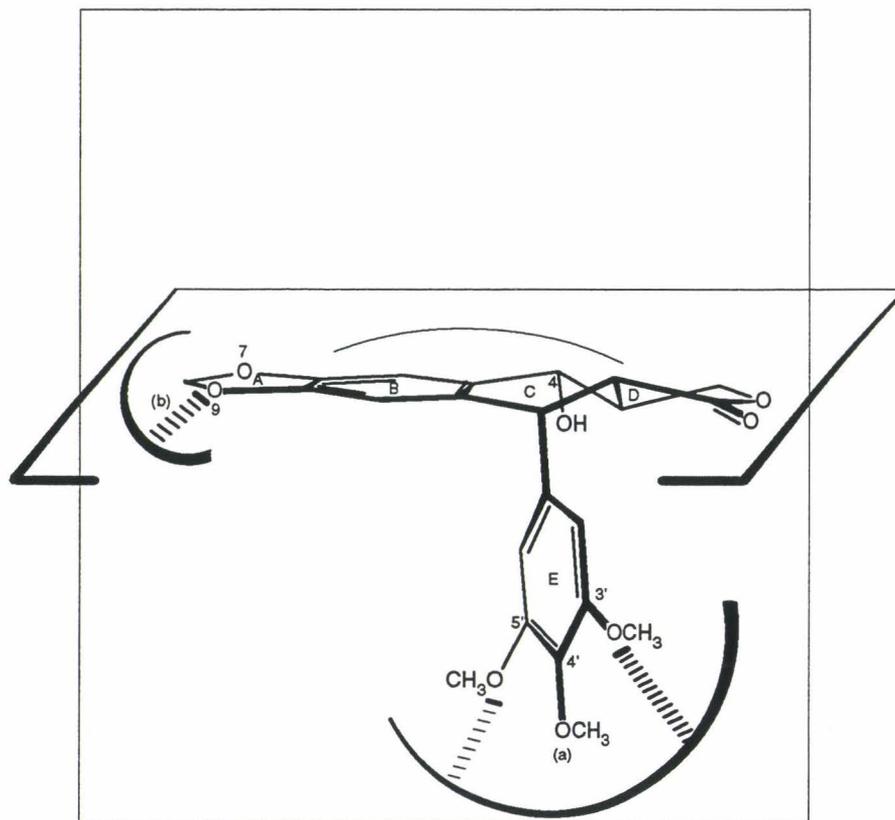
Schéma 20

1.1.3- SITE DE LA COLCHICINE

La colchicine (6) [12], la podophyllotoxine (1) [55, 60], la combrestatine (9) [36], la steganacine (8) [33] et leurs dérivés n'interagissent pas avec les microtubules intacts mais se lient à la tubuline libre sur un site commun nommé "site de la colchicine". Par contre, la vinblastine (12) et la vincristine (13) se fixent sur un site différent. Les ligands du site de la colchicine forment un complexe de stoechiométrie 1:1 avec la tubuline. Une modification dans la conformation de la protéine semblerait expliquer le blocage de l'élaboration des microtubules [68]. La liaison de la colchicine (6) à la tubuline est aussi fonction de la température et de la concentration en Ca^{2+} [14, 69] : les sites de liaison, cachés dans les microtubules normaux, sont exposés à basse température, ou en présence de calcium, car ces deux facteurs favorisent la dépolymérisation des microtubules [70].

Il semblerait que le site de la colchicine sur la tubuline soit aussi un site récepteur de molécules endogènes. En effet, il a été montré que certaines protéines et certains peptides, isolés du cerveau de mammifères, interagissent avec ce site [71-72]. Ces ligands endogènes joueraient un rôle important dans la régulation des fonctions des microtubules et dans leur assemblage.

L'emplacement exact du site de la colchicine et le mécanisme par lequel ces poisons du fuseau agissent avec la protéine sur le plan moléculaire ne sont pas encore connus. Mais, des points communs apparaissent dans les relations structure-activité des différentes classes chimiques que nous venons de détailler ; nous avons ainsi pu mettre en évidence des caractéristiques essentielles à l'activité de la podophyllotoxine (1) (schéma 21) :



- (a) ce groupe méthoxy pourrait aussi interagir avec la tubuline
- (b) cette liaison hydrogène concerne l'oxygène O-7 ou O-9

Schéma 21. Modèle hypothétique du site d'interaction de la tubuline avec les composés de la famille de la podophyllotoxine (1)

- *Le système tétracyclique ABCD doit être quasi plan,*
- *La position relative des noyaux aromatiques est importante,*
- *Les méthoxy en position 3', 5', et peut-être le groupe méthylène dioxy, interagissent avec la tubuline via des liaisons hydrogène,*
- *L'encombrement stérique de la position 4 diminue l'activité.*

1.2- INHIBITEURS DE L'ACTIVITE DE LA TOPOISOMERASE II - DERIVES DE L'ETOPOSIDE (3)

1.2.1- CYTOTOXICITE ET CASSURES DE L'ADN

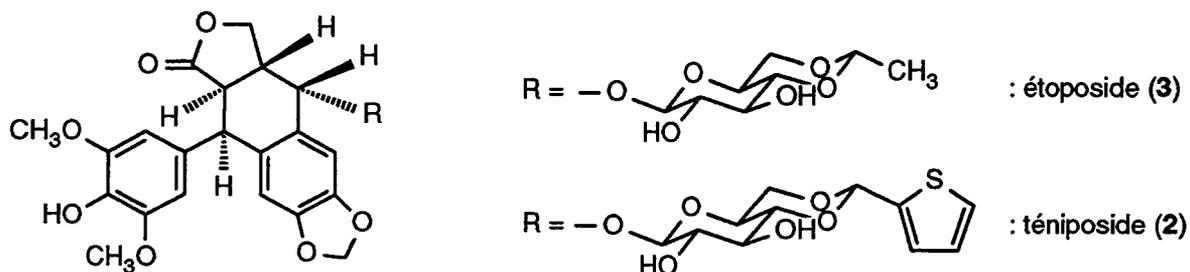


Schéma 22

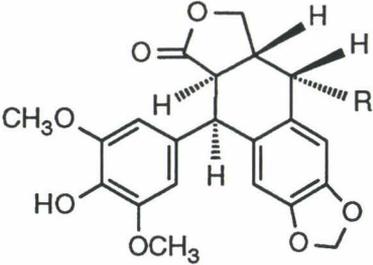
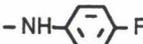
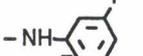
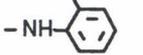
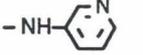
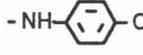
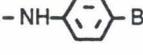
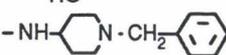
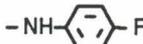
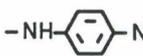
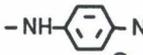
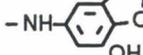
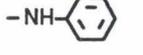
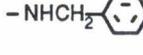
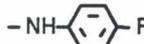
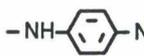
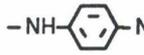
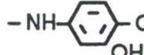
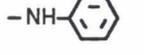
L'étoposide (VP-16) (3) et le téniposide (VM-26) (2) sont des analogues structuraux de la podophyllotoxine (1). Ils sont très utilisés en clinique comme agents antitumoraux, par exemple dans le traitement du cancer du poumon, du carcinome des testicules, de la leucémie, du lymphome et du sarcome de Kaposi [1-8, 62, 73-78].

Malgré les ressemblances structurales entre les deux composés 2 et 3 et la podophyllotoxine (1), ce ne sont pas des poisons du fuseau [11]. A l'inverse de la podophyllotoxine (1) qui arrête la division cellulaire en métaphase [11, 65, 79], le VM-26 (2) et le VP-16 (3), à faibles concentrations, empêchent les cellules d'entrer en mitose et les bloquent en phase S ou G₂ du cycle cellulaire [80-83]. Il a été montré que le mécanisme de cytotoxicité de ces drogues est lié à leur interaction avec l'ADN. En effet, ils provoquent des cassures de l'ADN simple et double brins [84-85] ; celles-ci sont supposées être l'étape initiale d'une succession de modifications biologiques comme des liaisons protéine-ADN, et des aberrations chromosomiques qui provoquent probablement la cytotoxicité [84, 86-87]. L'observation des effets de l'étoposide (3) sur le profil de sédimentation de l'ADN dans des cellules de HeLa a permis de mettre en évidence ces cassures de l'ADN : la masse moléculaire de l'ADN est fortement diminuée après une brève exposition de ces cellules à de faibles concentrations d'étoposide (3) [85].

La topoisomérase II est impliquée dans le processus de cassure de l'ADN. Il est supposé que la stabilisation du complexe topoisomérase II-ADN clivé par l'étoposide (3) et ses analogues inhibe l'activité de ressoudure de brin de cet enzyme [10, 63, 84, 88-91]. Cependant, le mécanisme précis par lequel la formation de ce complexe conduit à la cassure de l'ADN et à la mort cellulaire n'est pas connu.

D'autre part, l'inhibition de la topoisomérase II n'est pas le seul facteur responsable de la cytotoxicité de l'étoposide (3) et de ses dérivés. En effet, l'oxydation métabolique du cycle diméthoxy phénol produit des composés qui peuvent inactiver l'ADN en formant des adduits chimiques [92-93].

Ces deux mécanismes différents expliquent pourquoi la cytotoxicité des dérivés de la famille de l'étoposide (3) est parfois mal corrélée avec les cassures de l'ADN et avec l'inhibition de la topoisomérase II. Le tableau 1 présente les composés les plus cytotoxiques, les meilleurs inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II, ainsi que ceux qui induisent le plus de cassures de l'ADN parmi les divers analogues de l'étoposide (3) [63, 94-113].

		
Déméthyl épipodophyllotoxines possédant la meilleure activité :		
- cytotoxique ¹	- d'inhibition de la topo II	- de cassures du DNA
R = -NH-  -NH-  -NH-  -NH-  -NH-  -NH-  -O-  -O-  -O-  -NH-  -NH(CH ₂) ₃ NMe ₂	R = -NH-  -NH-  -NH-  -NH-  -NH-  -NHCH ₂ - 	R = -NH-  -NH-  -NH-  -NH-  -NH- 

¹ Les composés qui inhibent la polymérisation de la tubuline ne sont pas pris en compte.

Tableau 1

1.2.2- ACTIVITE ET MECANISME D'INHIBITION DE LA TOPOISOMERASE II PAR L'ETOPOSIDE (3) ET SES ANALOGUES

1.2.2.1- ACTIVITE DE LA TOPOISOMERASE II

L'ADN se présente sous forme d'une double hélice qui peut s'organiser, à son tour, de manière plus ou moins complexe, par exemple en cycle à double torrons. Cette complexité de la structure de l'ADN nécessite une restriction topologique de l'enchevêtrement des deux brins lors de nombreux événements biologiques vitaux comme la réplication de l'ADN, la transcription et la recombinaison de l'ARN.

Les topoisomérases sont des enzymes qui contrôlent et modifient la topologie de l'ADN [114-117]. Elles ont été classées en deux catégories selon leur mécanisme d'action. Les topoisomérases de type I coupent transitoirement un brin d'ADN et permettent le passage de l'autre brin à travers la cassure. Les topoisomérases de type II agissent de la même manière, mais elles coupent une paire de brins complémentaires. Ces enzymes peuvent catalyser diverses réactions de topoisomérisation de l'ADN telles que le surenroulement et la relaxation de la superhélice, le nouement et le dénouement, ainsi que la caténation et la décaténation.

La cassure transitoire d'un brin d'ADN par une topoisomérase est accompagnée de la formation d'un intermédiaire covalent enzyme-ADN grâce à une liaison phosphodiester entre un groupe tyrosine du site d'activité de la topoisomérase et une extrémité 5'-phosphoryle d'un brin de l'ADN clivé.

1.2.2.2- INHIBITION DE LA TOPOISOMERASE II

Il a été observé que l'étoposide (3) et le téniposide (2) induisent des cassures de l'ADN simple et double brins [63, 83-85, 118-126]. De nombreux travaux ont suggéré qu'un enzyme ou des enzymes interviennent dans les effets cytotoxiques de l'étoposide (3) et du téniposide (2) (et de certains agents intercalants) [83-85, 127]. Il a été montré que les cassures de l'ADN observées avec ces composés pouvaient être produites dans un noyau isolé et que la cassure n'avait pas lieu lors de l'incubation du noyau avec la drogue à 4°C au lieu de 37°C [83-85]. L'hypothèse de l'intervention d'un enzyme est confirmée par plusieurs autres expériences. Par exemple, lors de l'addition d'étoposide (3) et de téniposide (2), une étude cinétique a montré que le nombre de cassures de l'ADN augmente rapidement dans les cellules jusqu'à un plateau dépendant de la concentration en drogue [120, 123]. Cependant, si le milieu qui contient ces agents est remplacé par un milieu frais, c'est-à-dire sans ces drogues, alors les cassures de l'ADN disparaissent rapidement. Cette observation ne semble pas due à une réparation de l'ADN, car les inhibiteurs classiques de réparation de l'ADN n'ont pas d'effet sur la disparition des cassures de celui-ci, mais à un phénomène cinétique, concentration-dépendant, ressemblant aux phénomènes classiques d'adsorption / désorption, ou solution / précipitation.

D'autre part, il a été montré que la cytotoxicité d'autres familles de drogues anticancéreuses est aussi provoquée, au moins partiellement, par l'inhibition de l'activité de la topoisomérase II des eucaryotes. C'est le cas de certains agents intercalants de l'ADN [88, 134] : anthracyclines (adryamicine (32)), anthracènediones (mitoxantrone (33)), ellipticines (ellipticine (34)), acridines (amsacrine (35)), actinomycine D (36), etc.. Mais contrairement à ces composés, les déméthylépipo-dophyllotoxines ne se lient pas, ou très faiblement, à l'ADN [10, 128, 135-136].

Ces différentes observations ont conduit à examiner si la topoisomérase II ne serait pas la cible réelle des déméthylépipo-dophyllotoxines. L'inhibition de la topoisomérase II des eucaryotes par l'étoposide (3) et le téniposide (2) a été démontrée grâce à l'utilisation de topoisomérase II partiellement, puis fortement purifiée [10, 90, 132-133]. Quand des drogues sont ajoutées au mélange d'incubation avant l'addition de l'enzyme, une inhibition de l'activité de la topoisomérase II n'est observée que pour les composés capables d'induire de nombreuses cassures de l'ADN dans les cellules. Il semblerait donc que ces molécules affectent la réaction de cassure-soudure de l'ADN en stabilisant le complexe covalent ADN clivé-enzyme.

En plus des dérivés de l'étoposide (3) et des intercalants, de nombreuses autres

molécules interfèrent avec les topoisomérases II. Par exemple, la famille des quinolones antibactériennes (acide oxolinique (37)), empêche l'activité de la gyrase qui est une topoisomérase II présente dans les cellules procaryotes [115, 137-140]. Il faut noter, par ailleurs, que de faibles modifications structurales de ces antibactériens ont permis d'obtenir des inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II des mammifères (composé 38) [141-147].

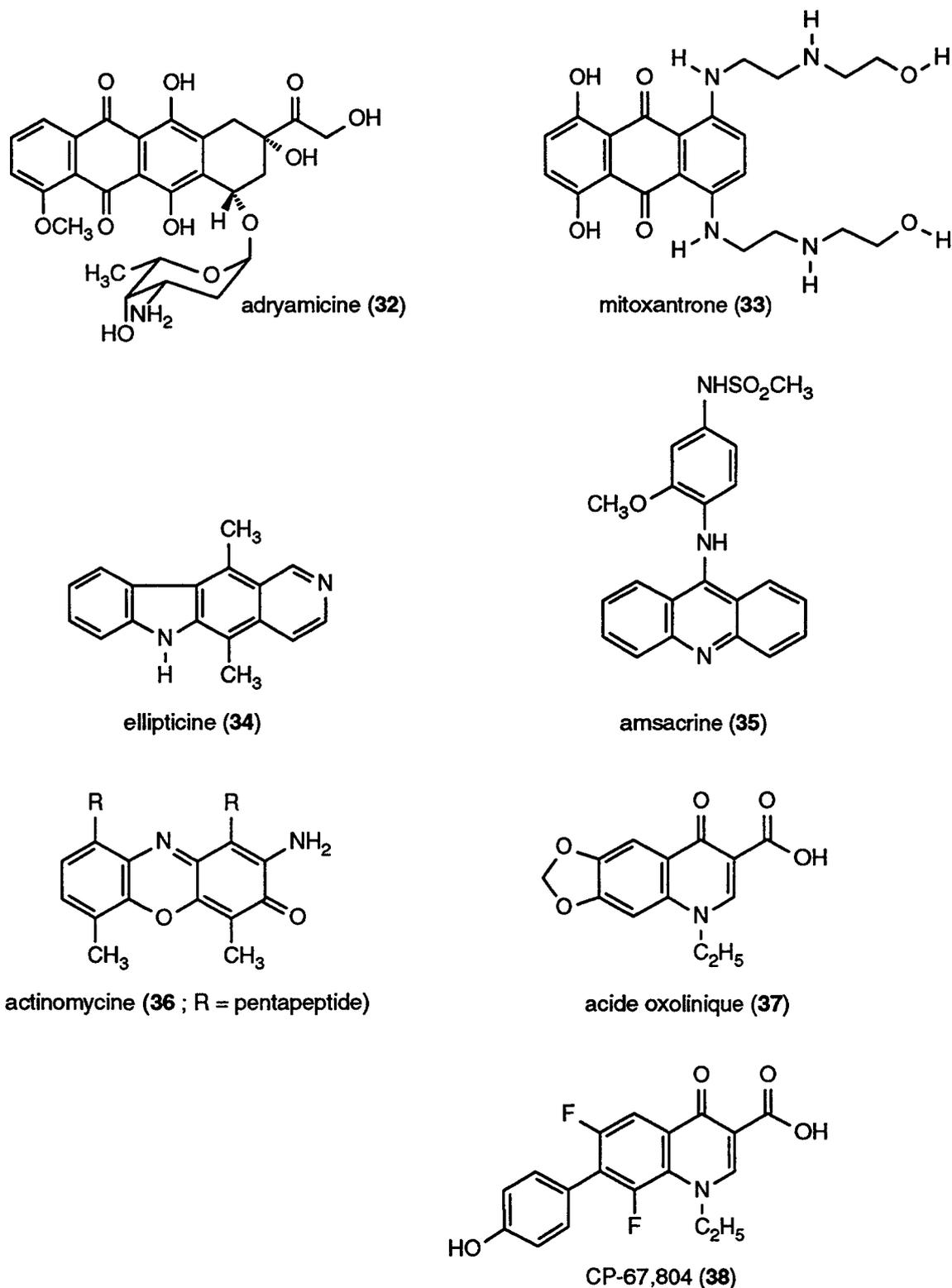
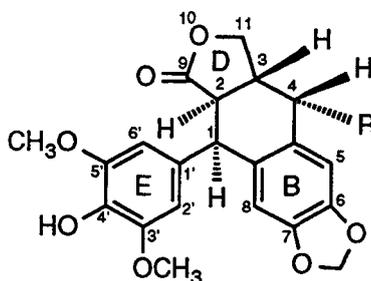


Schéma 23

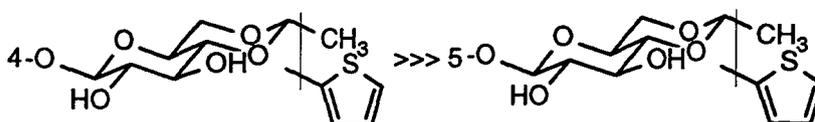
1.2.2.3- RELATIONS STRUCTURE-INHIBITION DE L'ACTIVITE DE LA TOPO II PAR LES DEMETHYL EPIPODOPHYLLOTOXINES

La cytotoxicité notable de l'étoposide (3) et du téniposide (2), liée à l'inhibition de l'activité de la topoisomérase II, a suscité la synthèse de nombreux analogues structuraux (schéma 24). Les principales modifications ont été effectuées en position 4 afin de remplacer le groupe glucopyranoside de l'étoposide (3) et du téniposide (2) par un substituant de structure plus simple.

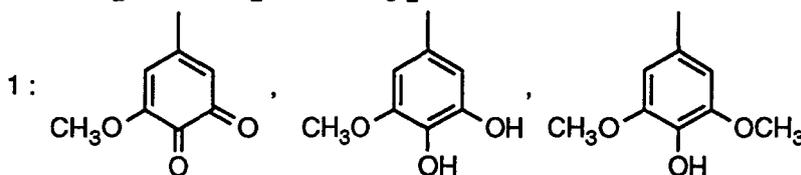


4-OH >> 5-OH

4-OCOCH₃ >> 5-OCOCH₃



6,7 : -OCH₂O- ≥ -(OH)₂ >> -(OCH₃)₂

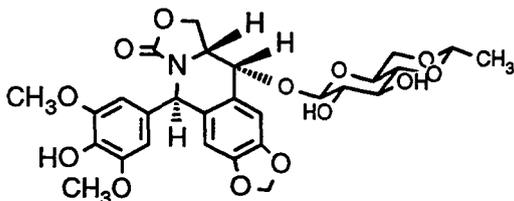
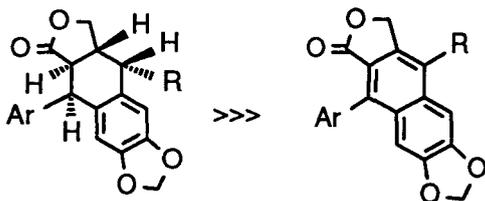


: l'ordre d'activité avec ces substituants dépend de la nature de R

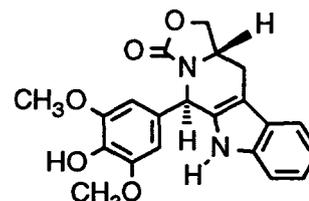
2' : -H >>> -Cl

4' : -OH >>> -OCH₃

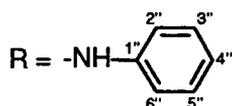
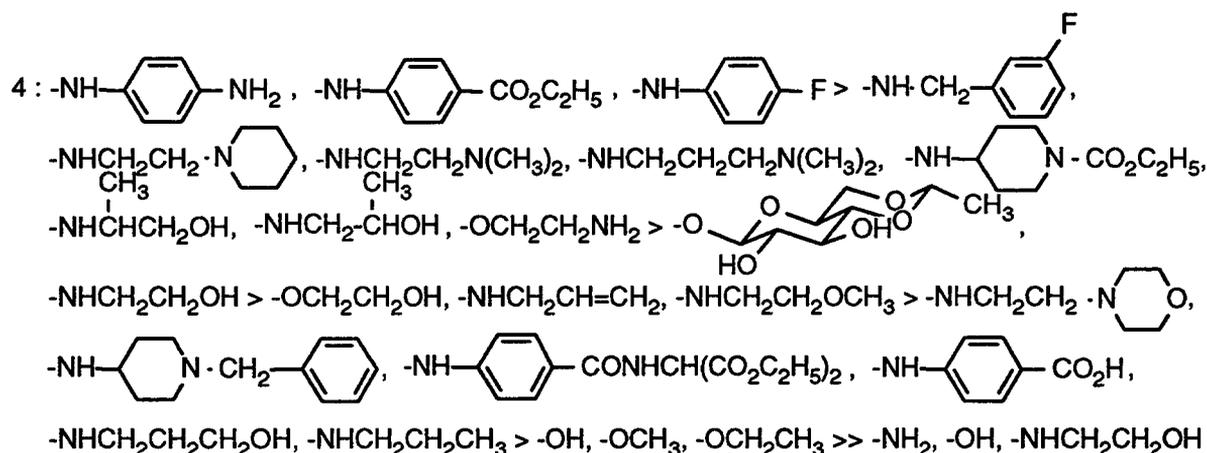
9: =O > -H, -OH > -OCH₃



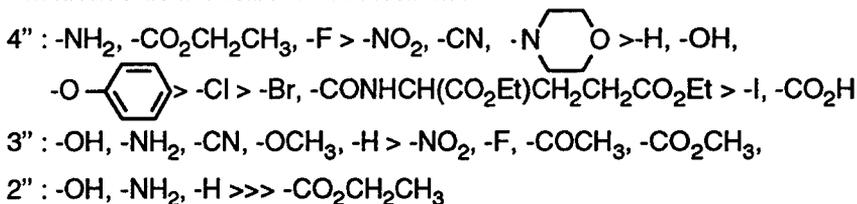
NVP (39) : inactif



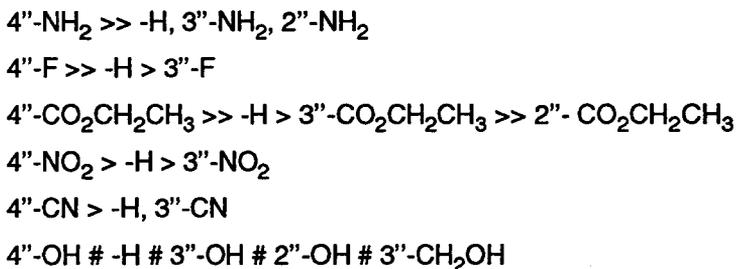
azatoxine (40) : actif (≅ étoposide)



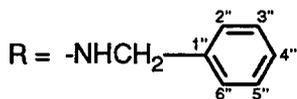
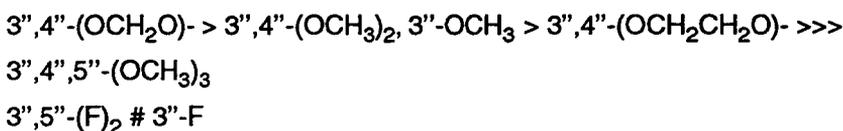
• Influence de la nature du substituant :



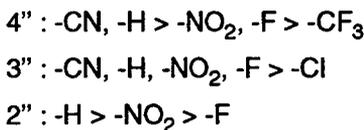
• Influence de la position du substituant :



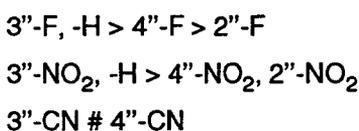
• Influence de la polysubstitution :

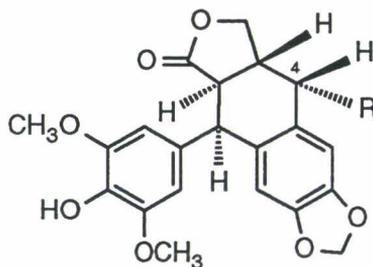


• Influence de la nature du substituant :

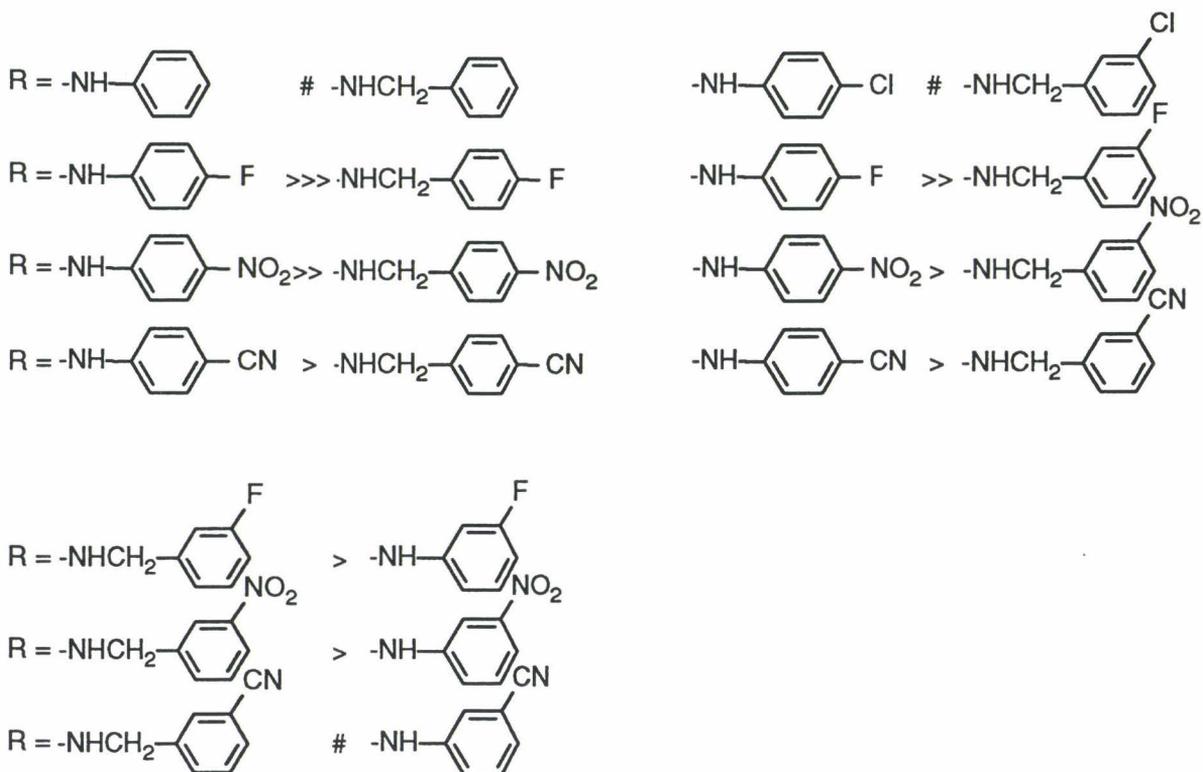


• Influence de la position du substituant :





Influence de la distance -NH-φ :



Influence de l'atome substituant la position 4 :

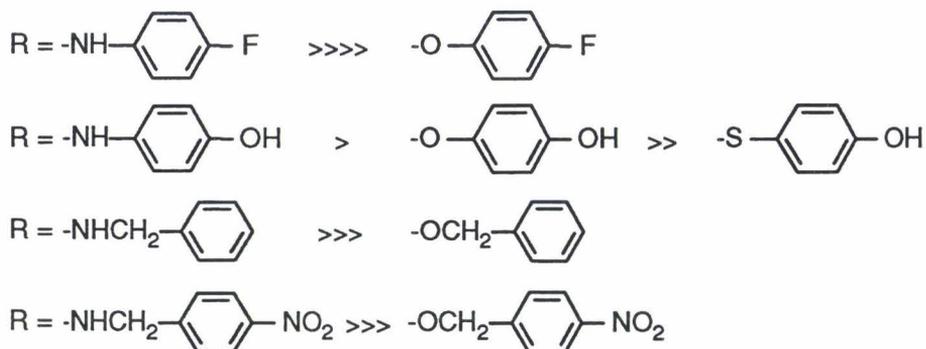


Schéma 24

L'étude des relations structure-inhibition de l'activité de la topoisomérase II (schéma 24) autour du motif déméthylépipodophyllotoxine a permis de mettre en lumière des caractéristiques structurales très intéressantes [96-99, 101-106, 109, 126].

La structure de l'étoposide (3) obtenue par cristallographie RX, ainsi que la modélisation moléculaire d'analogues actifs, montrent que les quatre cycles A, B, C et D forment globalement un squelette central plan. La configuration des atomes de carbone en position 1, 3 et 4 doit être identique à celle de l'étoposide (3) et du téniposide (2). En effet, l'inversion de la configuration conduit à des produits qui ne sont quasiment plus des inhibiteurs de la topoisomérase II. De plus, dans le cas où le cycle central C est aromatique, ses substituants sont dans le même plan que les cycles A, B, C et D, et la géométrie de la molécule n'est plus compatible avec l'inhibition de la topoisomérase II. Ainsi, la molécule doit posséder un système tétracyclique ABCD pratiquement plan avec de part et d'autre deux substituants importants en position 1 et 4 qui doivent être dirigés dans des directions bien définies.

Des modifications de la fonction lactone ont été réalisées. D'une part, il a été observé que la réduction du groupe carbonyle (situé en position 9) en groupe $-CH_2-$ ou en groupe $-CH(OCH_3)-$ entraîne une diminution importante de l'activité. D'autre part, le remplacement du carbone asymétrique C-2 (adjacent aux cycles A et B) par un azote permet de transformer la fonction lactone en fonction carbamate. D'après les études de modélisation moléculaire (effectuées avec le logiciel MAD), cette introduction d'un atome d'azote en position 2 permet de conserver un squelette central ABCD quasi plan. Pourtant, l'analogue de l'étoposide (3), le NVP (39), est totalement inactif [105]. Cependant, d'autres molécules possédant un atome d'azote dans cette position 2 sont capables d'interagir avec la topoisomérase II : l'azatoxine (40), notamment, présente une activité d'inhibition de l'enzyme légèrement supérieure à celle de l'étoposide (3) [106].

Quant au cycle E, l'hydroxyle en position 4' entre les deux méthoxy doit interagir d'une manière très importante avec l'enzyme et/ou l'ADN car les composés possédant trois groupes méthoxy en 3', 4' et 5' sont inactifs. L'addition d'un atome de chlore en position 2' du cycle diméthoxy phénol E diminue considérablement l'inhibition de la topoisomérase II. Dans ce cas, l'encombrement stérique provoqué par ce substituant limite la rotation du cycle E autour de l'axe 1-1' et, la molécule ne peut probablement pas adopter la bonne conformation pour interagir avec l'enzyme. D'autre part, par activation métabolique, le cycle diméthoxy phénol E peut se transformer en cycles 5'-méthoxy-3',4'-orthoquinone et 5'-méthoxy-3',4'-catéchol (cf chapitre 1.2.3). Selon la nature du substituant en position 4, ces deux familles de composés présentent parfois une meilleure activité que le dérivé

déméthylépipodophyllotoxine correspondant.

Par ailleurs, le groupe méthylène dioxy, greffé en position 6, 7 du cycle aromatique B, est important. Mais, dans certains cas, la forme catéchol peut être aussi active. Par contre, deux groupes méthoxy en 6, 7 conduisent à des produits qui ne sont que de très faibles inhibiteurs de la topoisomérase II.

Les déméthylépipodophyllotoxines n'interagissent pas, ou très faiblement, avec l'ADN seul. Cependant, T.L. McDonald et ses collaborateurs ont comparé les déméthylépipodophyllotoxines avec d'autres inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II qui sont des intercalants : anthracyclines, acridines, ellipticines et anthracènediones [107]. La superposition de ces différentes molécules a permis de mettre en évidence des analogies structurales. Ces auteurs ont ainsi proposé un pharmacophore commun constitué de trois domaines (schéma 25). Le premier, qui est commun à tous les inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II, est un système polycyclique quasi plan. Celui-ci est capable de s'intercaler entre deux paires de base de l'ADN ou, dans le cas des déméthylépipodophyllotoxines, il est capable de s'insérer dans les sites de clivage de la topoisomérase II ("pseudo-intercalation"). Le second domaine est un noyau aromatique ; il stabilise la molécule dans le complexe ternaire en se liant à l'enzyme et/ou à l'ADN : groupe diméthoxyphénol E des déméthylépipodophyllotoxines, groupe sulfonamide des aminoacridines. Le troisième domaine, enfin, peut être relativement variable, mais il est généralement de nature glucosidique (étoposide (3), téniposide (2), anthracyclines).

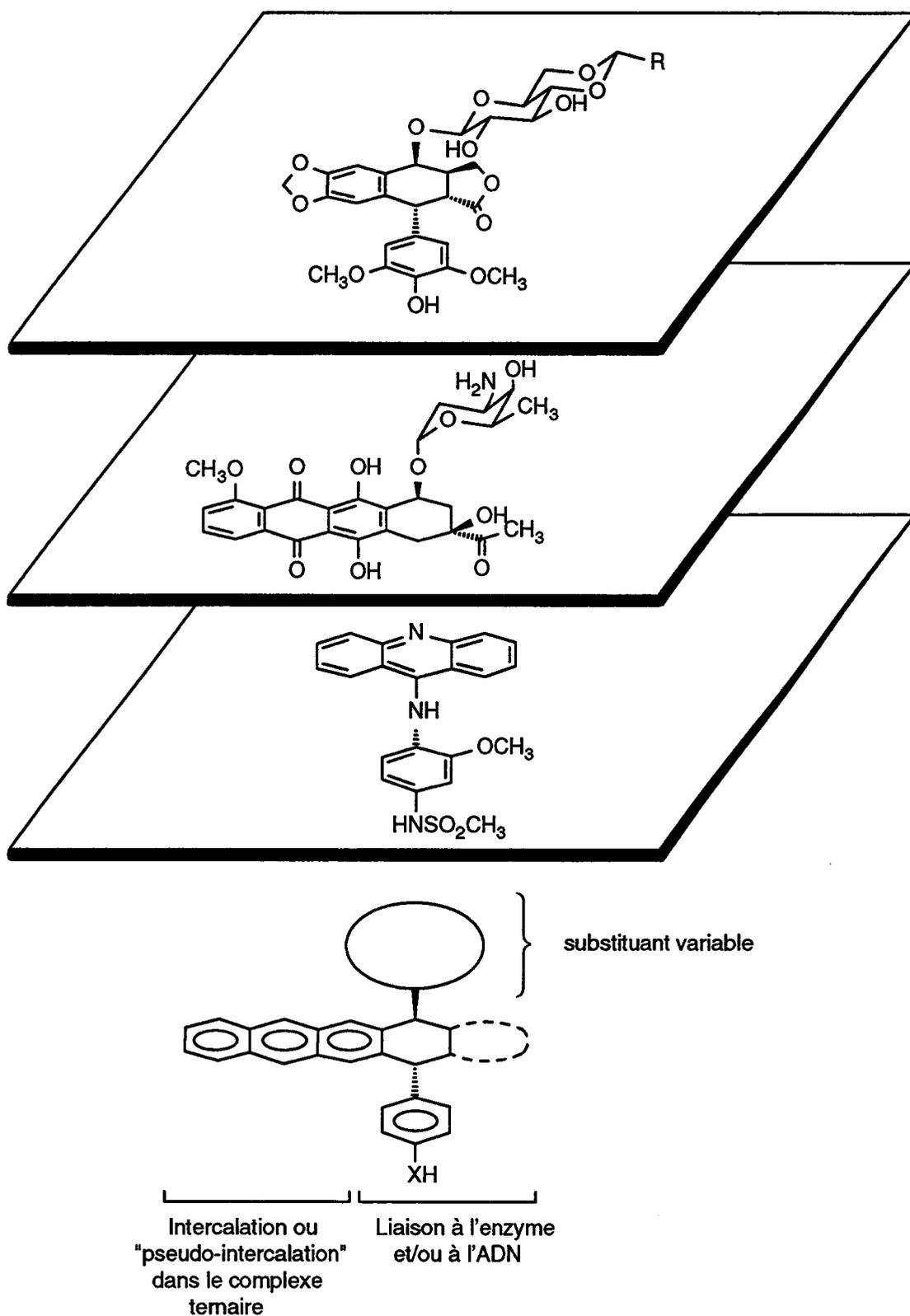


Schéma 25 (d'après [107]). Pharmacophore des inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II proposé par T.L. McDonald et ses collaborateurs (issu de la superposition de sous-unités structurales d'inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II : épipodophyllotoxines, anthracyclines et aminoacridines).

Pour notre part, nous nous sommes particulièrement intéressés à ce substituant situé en position 4 des déméthylépipodophyllotoxines.

Comme il a été indiqué précédemment, de nombreux substituants en position 4 ont été introduits dans ces dérivés. Les relations structure-inhibition de la topoisomérase II montrent qu'on peut obtenir de meilleurs inhibiteurs de l'enzyme que l'étoposide (3) et le téniposide (2) avec des substituants de structure relativement simple. La migration du substituant en position 4 des dérivés de la 4'-déméthylépipodophyllotoxine vers la position 5 conduit à des produits beaucoup moins actifs, voire inactifs. Ces composés de la famille de la peltatine montrent l'importance de la position et de la direction dudit substituant.

L'étude détaillée des relations structure-inhibition de la topoisomérase II (schéma 24) ainsi que la modélisation moléculaire de composés actifs sembleraient mettre en évidence certaines caractéristiques structurales communes entre divers substituants greffés en position 4. Par exemple, on retrouve de manière générale un atome accepteur de liaison hydrogène sur ce chaînon de nature aliphatique ou aromatique.

La modélisation par ordinateur de la conformation la plus stable de l'étoposide (3) est en accord avec la structure cristalline obtenue par RX. De plus, elle montre que le groupe glucopyranoside ne peut adopter qu'un nombre très réduit de positions dans l'espace autour de l'atome C-4 car la structure de ce chaînon est peu flexible et assez encombrante. Puisque le reste de la molécule, c'est-à-dire le groupe déméthylépipodophyllotoxine, est rigide, la conformation de l'étoposide (3) dans son ensemble est donc relativement figée. Ainsi, bien que l'étoposide (3) ne soit pas le meilleur inhibiteur de la topoisomérase II, il peut servir de modèle pour la comparaison à d'autres molécules actives, afin d'en déduire des caractéristiques structurales communes impliquées dans l'interaction avec le complexe enzyme-ADN. Aussi, la superposition de l'étoposide (3) avec la conformation la plus stable, ou d'une énergie très légèrement supérieure (moins de 1 kcal de différence), de dérivés de la déméthylépipodophyllotoxine, montre que l'atome accepteur de liaison hydrogène (du groupe substituant la position 4) peut occuper le même endroit de l'espace quelle que soit la molécule active (schéma 25). Il s'ensuit que la distance qui sépare cet atome porté par le substituant en position 4 et le reste de la molécule (groupe déméthylépipodophyllotoxine) demeure quasi constante. En effet, nous avons remarqué que l'azote N-w du composé 41, ou l'azote N-x du composé 42, ou l'oxygène O-y de la fonction carbonyle du composé 43, ou encore l'oxygène O-z du composé 44 peuvent se placer dans la même position que l'oxygène O-v de l'étoposide (3).

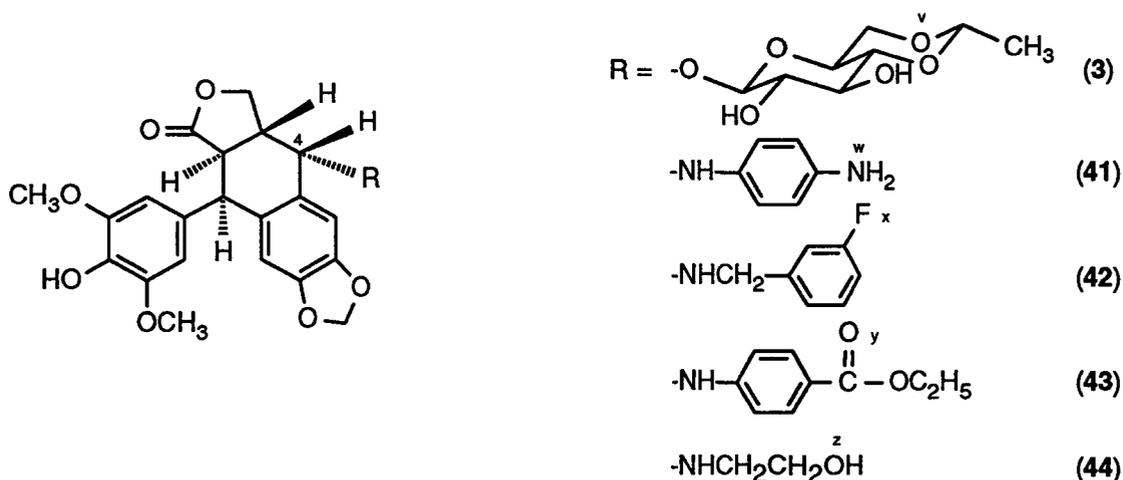


Schéma 26

Un autre atome, celui qui est directement lié à la position 4 du groupe déméthyl-épipodophyllotoxine, nous semble jouer un rôle important dans l'interaction de la molécule avec l'enzyme. En effet, l'activité d'inhibition de la topoisomérase II est bien plus faible, voire inexistante, lorsque cet atome est un oxygène ou un soufre au lieu d'un groupe -NH-. Les angles de liaison de ces trois types d'atomes (-O-, -S-, -N<) confèrent pratiquement la même géométrie à la molécule. Il ne semble donc pas, a priori, que ce soit la cause de la différence d'activité. Mais, contrairement à l'oxygène et au soufre, le groupe -NH- peut se comporter comme un donneur de liaison hydrogène et peut interagir avec un site supplémentaire de l'enzyme. Dans une autre hypothèse, après protonation au pH physiologique, ce groupe -NH₂⁺ formerait une liaison ionique avec un centre anionique de l'enzyme. Comme d'autre part, l'étoposide (3) et le téniposide (2) interagissent avec la topoisomérase II, cet enzyme doit posséder une poche suffisamment grande pour recevoir le groupe glucopyranoside thiophène (ou méthyle). Or, à proximité du site accepteur de liaison hydrogène décrit précédemment, sur le substituant en position 4, la poche doit être relativement étroite. En effet, une chute énorme de l'activité est observée lorsque la déméthylépipodophyllotoxine est substituée en position 4 par un groupe 3,4,5-triméthoxyaniline au lieu d'un groupe 3,4-diméthoxyaniline. Une perte importante de l'activité est aussi notée quand le cycle 3,4-méthylènedioxyaniline est remplacé par le groupe plus encombrant 3,4-éthylènedioxyaniline.

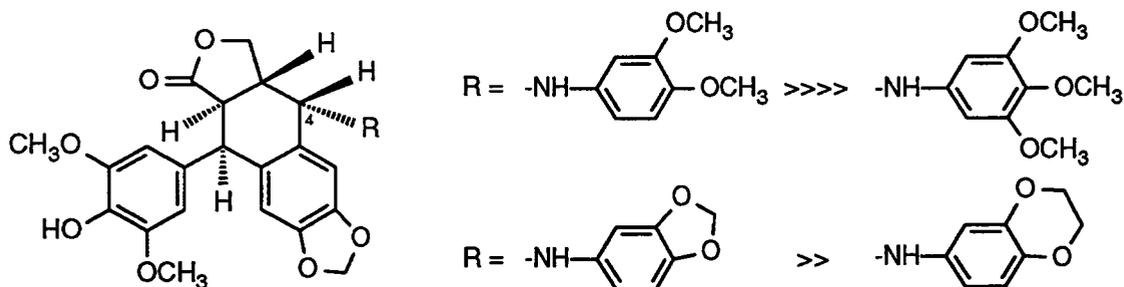


Schéma 27

Les relations structure-inhibition de l'activité de la topoisomérase II ont permis de déduire quelques caractéristiques essentielles d'un modèle hypothétique du site d'interaction du complexe enzyme-ADN clivé avec les composés de la famille de l'étoposide (3) et du téniposide (2) (schéma 28). Pour notre part, nous avons particulièrement étudié l'interaction du substituant situé en position 4.

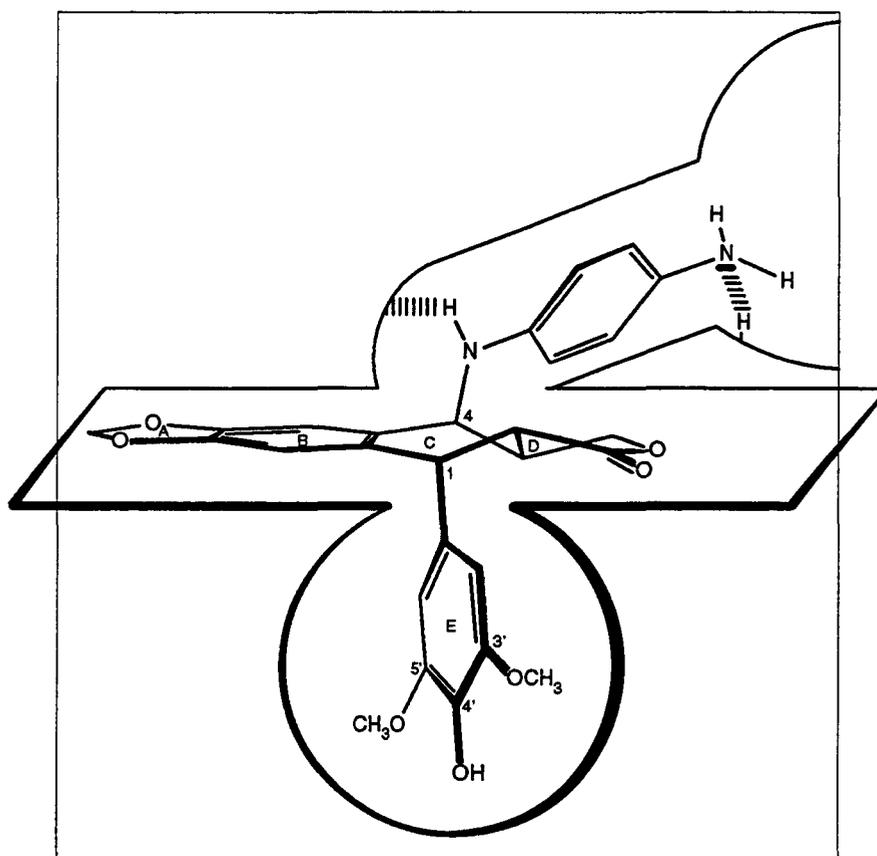


Schéma 28. Modèle hypothétique du site d'interaction du complexe topoisomérase II-DNA clivé avec des composés de la famille des déméthylépipodophyllotoxines.

- Le système tétracyclique ABCD doit être quasi plan. Les deux substituants en position 1 et 4 doivent être de part et d'autre du système tétracyclique ABCD et doivent être bien orientés.

- Le cycle E doit être du type 3',5'-diméthoxy-4-phénol ou 5'-méthoxy-3',4'-orthoquinone ou 5'-méthoxy-3',4'-catéchol. Il est probablement impliqué, via la fonction alcool ou carbonyle, dans une liaison de type hydrogène avec le complexe enzyme-ADN clivé.

- Le substituant en position 4 doit interagir, selon nous, avec le complexe par l'intermédiaire de deux liaisons hydrogène. Il peut être de nature aliphatique ou aromatique. La poche qui peut l'accueillir semble assez volumineuse mais étroite à sa base.

1.2.3- ACTIVITE DE CERTAINS METABOLITES DE L'ETOPOSIDE (3)

Avant même que ne soit montrée l'implication de la topoisomérase II dans l'activité de l'étoposide (3), il avait été suggéré qu'une activation métabolique était indispensable à l'étoposide (3) pour produire ses effets cytotoxiques et de dégradation de l'ADN [85, 148]. En effet, l'étoposide (3) provoque des dégradations intracellulaires de l'ADN de cellules de HeLa, tandis que l'incubation d'ADN purifié avec cette drogue ne conduit pas à des dégâts perceptibles de l'ADN. Par ailleurs, en parallèle avec la mise en évidence du rôle de l'inhibition de la topoisomérase II dans l'activité antitumorale de l'étoposide (3) et de ses analogues, des études ont montré que, parmi les multiples métabolites de l'étoposide (3) formés [149-156], certains composés sont très cytotoxiques. Notamment, l'activation métabolique du cycle diméthoxy phénol E des déméthylépipodophyllotoxines peut conduire à l'inactivation de l'ADN en formant des adduits chimiques [157-157].

1.2.3.1- ACTIVITE METABOLIQUE DE L'ETOPOSIDE (3)

Les métabolites les plus importants de l'étoposide (3) qui ont été identifiés chez l'homme sont les hydroxyacides 45 et 47 [153-154]. De nombreux autres métabolites, comme le microétoposide (46) et l'acide glucuronique conjugué, ont été mis en évidence [160].

Par ailleurs, en présence de traces de base, l'étoposide (3) est peu stable. Il peut s'épimériser en cis-lactone, via un intermédiaire énoate, pour donner le microétoposide (46) [66, 154, 161-164]. Ce dernier est capable de s'hydrolyser en cis hydroxy acide 47 [153, 165-169] (composé inactif) (schéma 29).

Il a été montré que la facilité d'épimérisation et d'hydrolyse des déméthylépipodophyllotoxines dépend de la nature et de la configuration du groupe en position 4 ainsi que des substituants sur le noyau aromatique E [172]. Aussi, en espérant obtenir des composés avec une durée de demi-vie plus longue que ceux de la famille de l'étoposide (3), des analogues avec un atome de chlore en position 2' ont été synthétisés [101]. Mais, bien que l'introduction de cet atome augmente la stabilité à l'épimérisation, les produits obtenus sont très peu cytotoxiques. D'une part, ce sont de très faibles inhibiteurs de la topoisomérase II (cf chapitre 1.2.2.3). D'autre part, il est probable qu'ils conduisent très difficilement à des métabolites actifs puisque les conditions d'oxydation *in vitro* en orthoquinone sont beaucoup plus dures que pour les analogues sans cet atome de chlore.

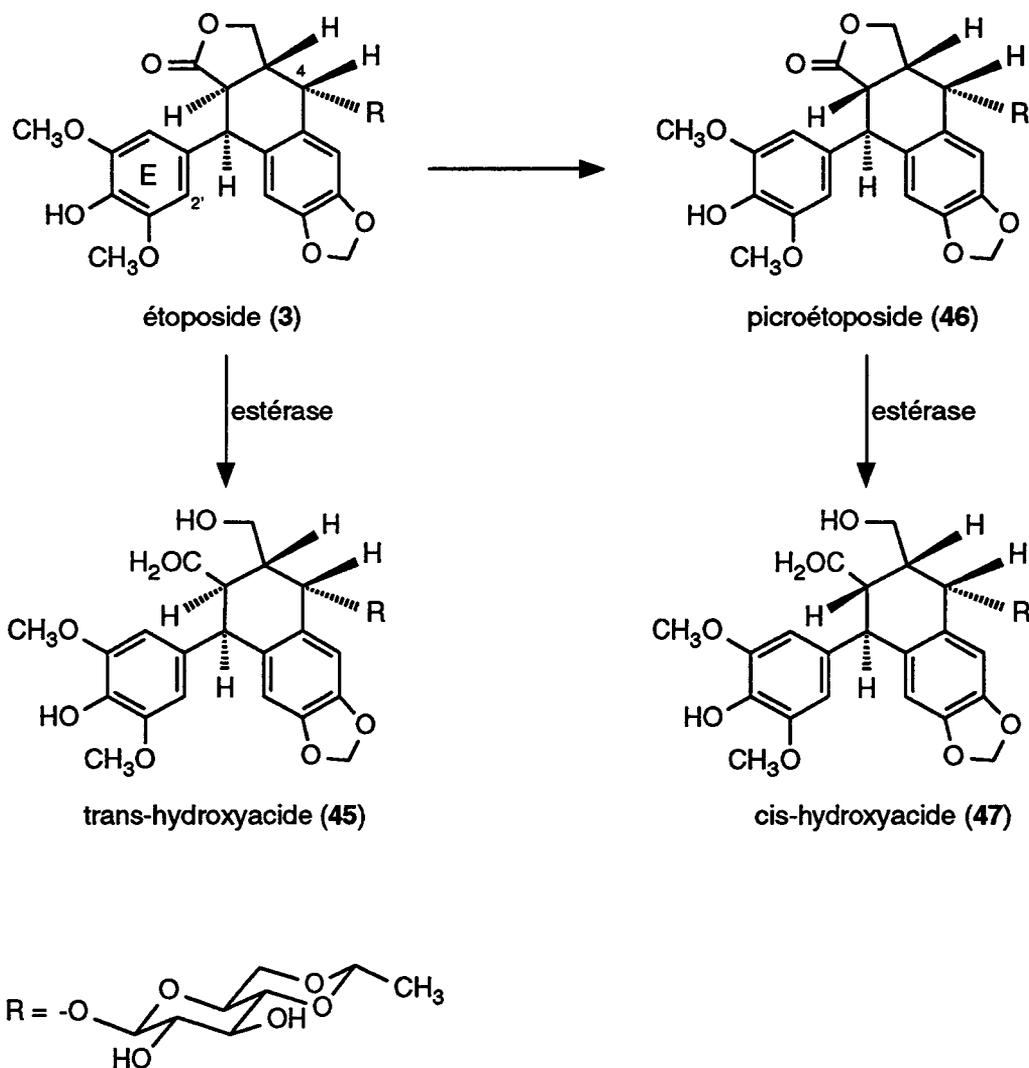


Schéma 29 (d'après [165])

Par ailleurs, le cycle E est capable de subir de nombreuses transformations métaboliques. Le dérivé 3',4'-catéchol **49** de l'étoposide (**3**) peut être formé grâce à une O-déméthylation par une cytochrome P-450 [93, 158, 173-174]. Ce composé **49** peut être, à son tour, oxydé en 3',4'-orthoquinone **51** en présence d'oxygène [136]. D'autres systèmes enzymatiques, comme la horseradish peroxydase / H_2O_2 [156], la prostaglandine synthétase / acide arachidonique [156], la myéloperoxydase / H_2O_2 , permettent d'obtenir *in vitro* cette orthoquinone **51**, ainsi que de nombreux autres composés (schéma 30).

1.2.3.2- MODE D'ACTION DES METABOLITES

Certains des produits issus de l'activation métabolique du cycle E de l'étoposide (**3**), notamment l'orthoquinone **51** et le catéchol **49**, se lient de façon irréversible à des protéines et à l'ADN [136, 151, 157-158, 175]. En revanche, l'étoposide (**3**) s'associe très faiblement à l'ADN purifié et, biologiquement, ne le désactive pas [128]. Pendant l'activation peroxydative, l'étoposide (**3**) forme un radical libre oxygéné [176]. D'autres radicaux hydroxy ont été aussi observés lorsque la forme catéchol **49** est mise en présence de fer et de H₂O₂ [177]. Le rôle de ces processus d'oxydo-réduction a aussi été mis en évidence dans des études *in vivo*. En effet, des inhibiteurs de la déhydrogénase et des scavengers de radicaux libres peuvent empêcher les dégâts et la cytotoxicité de l'étoposide (**3**) [178]. De plus, l'activité anticancéreuse de l'étoposide (**3**) peut être considérablement augmentée lorsque le tissu tumoral est oxygéné avant l'administration de la drogue [179]. A cause de l'implication de radicaux libres dans ces processus, un mécanisme d'action mettant en jeu des espèces radicalaires a été suggéré pour expliquer les dégâts de l'ADN dûs à l'étoposide (**3**). Cependant, l'importance de la réaction directe entre les radicaux de l'étoposide (**3**) et l'ADN a été réfutée par des études de RPE [181]. Il a été trouvé que, ni le radical phénoxy primaire, ni le radical secondaire de l'étoposide (**3**) ne réagissent à un taux appréciable avec une molécule d'oxygène ou l'ADN.

Au lieu d'une liaison qui se produirait par l'intermédiaire de radicaux libres, il a été suggéré que l'activité observée entre le radical semi-quinone de l'étoposide (**50**) et l'ADN proviendrait d'une interaction de l'orthoquinone **51** avec l'ADN [182].

D'autre part, une très récente publication montre que les orthoquinones de l'épipodophyllotoxine peuvent inhiber la topoisomérase II [182]. Les auteurs proposent que ces composés empêchent l'activité normale de cet enzyme par deux processus biologiques différents puisqu'il n'y a pas vraiment de corrélation entre son inhibition et la formation du complexe ADN-protéine. Un de ces mécanismes consisterait en la stabilisation d'un complexe transitoire entre la topoisomérase II et l'ADN clivé. Ceci provoquerait la cassure de l'ADN associé à une protéine tel qu'il a été exposé dans le cas de l'étoposide (**3**) (cf chapitre 1.2.2). Ici, les drogues sembleraient interagir avec ce complexe par l'intermédiaire d'une liaison de nature non covalente. Pour l'autre mode, les orthoquinones sembleraient inactiver directement l'enzyme en formant avec lui une liaison covalente. De manière générale, l'activité d'inhibition de la topoisomérase II diminue lorsque les orthoquinones sont substituées en position 4, par exemple par un groupe dérivé de l'aniline. Pourtant, on peut parfois observer une augmentation de la formation du complexe protéine-ADN. Cela montre que les deux modes d'action mis en jeu ont des préférences structurales différentes

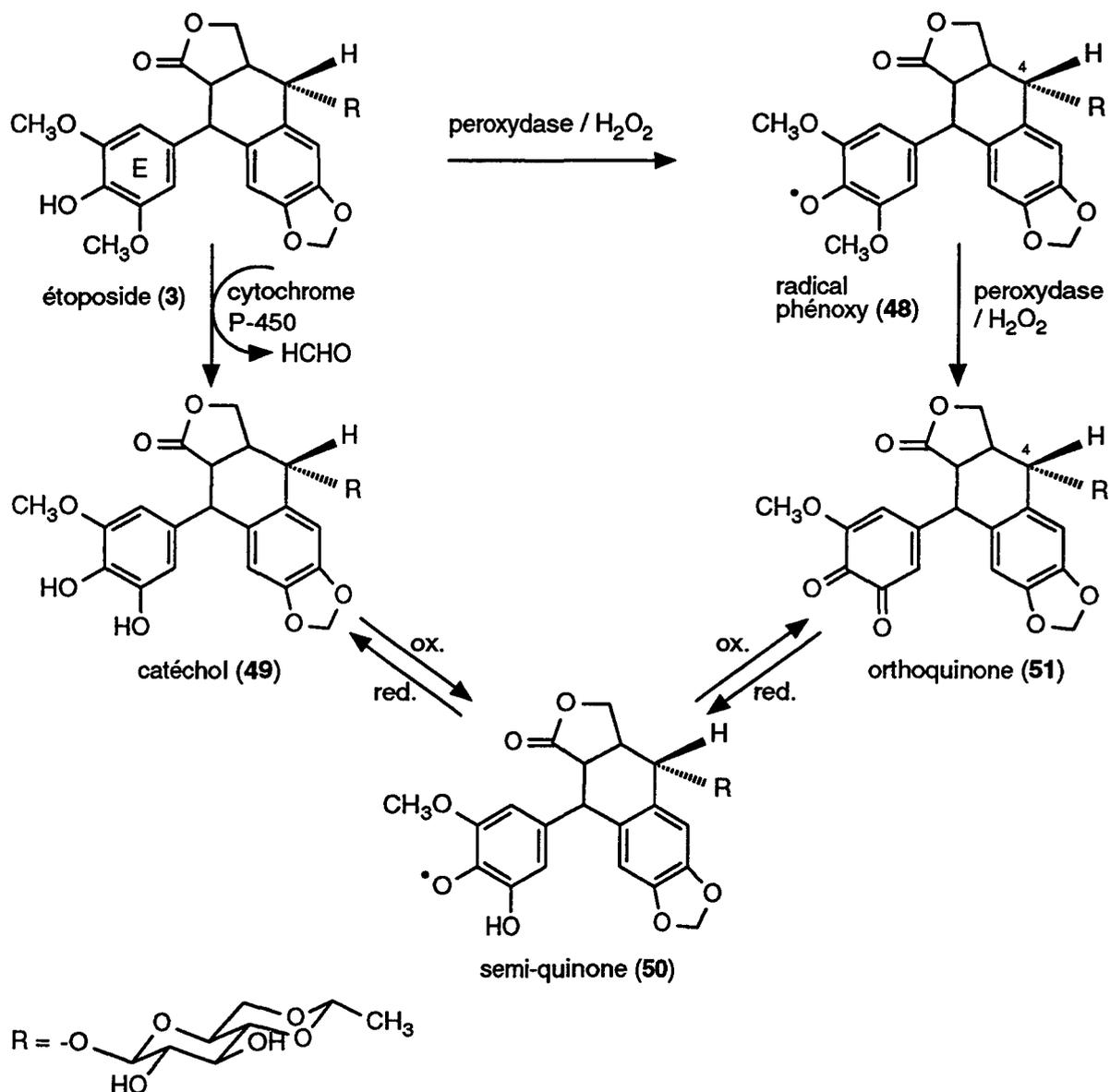


Schéma 30 (d'après [136])

l'un de l'autre pour les déméthylépipodophyllotoxines.

Ainsi, la cytotoxicité apparente des composés de la famille de l'étoposide (3) serait la résultante d'un mécanisme impliquant une liaison non covalente avec le complexe topoisomérase II-ADN clivé et, de la formation d'un adduit chimique covalent avec des protéines (la topoisomérase II par exemple) et avec l'ADN (de manière similaire à l'action des agents alkylants) [183].

1.3- ISOSTERES DE LA PODOPHYLLOTOXINE (1) ET DE L'ETOPOSIDE (3)

Contrairement à la podophyllotoxine (1) qui est trop toxique, l'étoposide (3) et le téniposide (2) sont utilisés en clinique comme anticancéreux. Cependant, leur faible biodisponibilité, le développement de résistances et la myélosuppression justifient la synthèse de nouveaux analogues.

L'étude des relations structure-activité, que nous avons effectuée dans la série de la podophyllotoxine (1) (inhibiteur de la polymérisation de la tubuline) et dans la série de l'étoposide (3) ou du téniposide (2) (inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II), permet de mieux connaître les exigences structurales de ces deux types d'inhibiteurs. Nous avons ainsi conçu un modèle hypothétique du site d'interaction de la tubuline avec les dérivés de la podophyllotoxine (1), ainsi que du complexe ADN clivé-topoisomérase II avec les déméthylépipodophyllotoxines. Nous pouvons remarquer qu'il existe de nombreuses analogies structurales entre les deux types d'inhibiteurs (squelette central quasi plan, noyau aromatique E bien positionné ...) ; les principales différences concernent les substituants situés en position 4 et 4'.

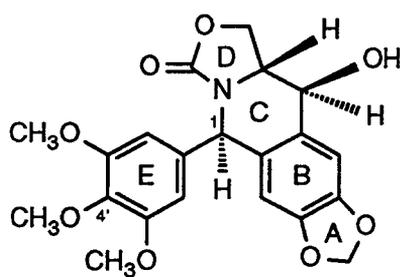
La préparation d'analogues de la podophyllotoxine (1) pourrait donc permettre d'obtenir de meilleurs inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline. Un autre intérêt de ces composés est qu'ils pourraient servir de matières premières à la synthèse de nouveaux inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II.

1.3.1- INHIBITEURS POTENTIELS DE LA POLYMERISATION DE LA TUBULINE

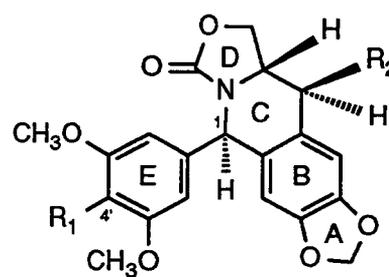
1.3.1.1- 2-AZAPODOPHYLLOTOXINE (52)

Très récemment, la 2-azapodophyllotoxine (52) et ses dérivés 53 ont été synthétisés [184-190]. Ces molécules semblent posséder des propriétés biologiques intéressantes [188-189], c'est-à-dire une bonne activité antitumorale et une faible toxicité. Dans ces composés, le cycle lactone D a été remplacé par un carbamate cyclique. Pour d'autres produits, un atome d'azote supplémentaire a été introduit dans le cycle C (54a,b) [190].

Contrairement à la podophyllotoxine (1) qui s'isomérisse facilement au niveau du carbone C-2 pour donner des produits inactifs (chapitre 1.2.3.1), les 2-azapodophyllotoxines ne présentent pas ce problème d'épimérisation.

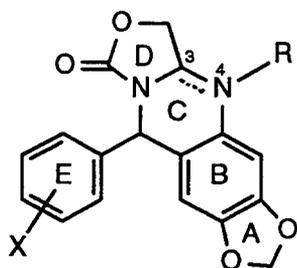


2-azapodophyllotoxine (52)



53

$R_1 = -OCH_3$, $R_2 = -H$ (C-1 peut être R ou S)
 $R_1 = -OCH_3$, $R_2 = -NH_2$
 $R_1 = -OH$, $R_2 = -OH$
 $R_1 = -OH$, $R_2 = -H$



$R = -H$, $-R$, $-RAr$, $-NH_2$

3, 4 : simple liaison : 54a

3, 4 : double liaison : 54b

Schéma 31

Il est important de remarquer que l'inversion de la configuration de l'atome C-1 ne semble pas modifier la cytotoxicité. Ceci est probablement dû à la très grande facilité d'épimérisation du carbone C-1 qui provoquerait une isomérisation du produit en milieu biologique [188-189].

Dans ces familles, aucune différence sensible de l'activité cytotoxique n'est décrite entre les composés possédant un groupe méthoxy en 4' et ceux substitués par un hydroxyle dans cette même position. Ainsi, on peut supposer que ces produits agissent par inhibition de la polymérisation de la tubuline plutôt qu'en empêchant le fonctionnement de la topoisomérase II. En effet, dans ce deuxième type de mécanisme, le groupe méthoxy en 4' n'est pas compatible avec l'inhibition de l'enzyme (cf chapitre 1.2.2.3).

1.3.1.2- INHIBITEURS POTENTIELS

L'activité des 2-azapodophyllotoxines **52** et **53** montre que des modifications de la nature du cycle D sont possibles. De plus, du point de vue chimique, leur préparation est beaucoup plus facile que celle des podophyllotoxines, grâce au remplacement du carbone asymétrique épimérisable C-2 par un atome d'azote.

Ces deux aspects sont les principales raisons qui nous conduisent à proposer comme variation structurale des podophyllotoxines, la transformation du cycle lactone D en cycle lactame D'' (schéma 32).

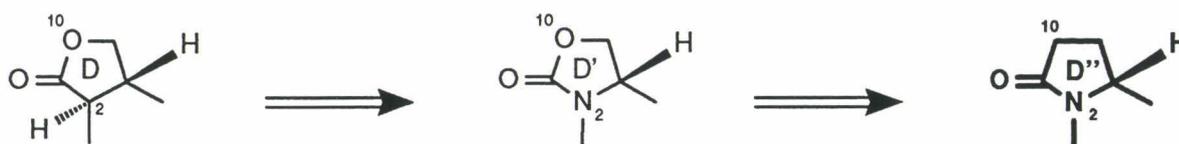


Schéma 32

Le composé **4a**, que nous avons nommé 2-aza-10-carbapodophyllotoxine, diffère de la 2-azapodophyllotoxine (**52**) uniquement par le remplacement de l'atome d'oxygène O-10 par un groupe -CH₂- : son système tétracyclique ABCD est aussi quasi plan. Cette modification structurale nous permettra de savoir si cet atome O-10 est indispensable à l'inhibition de la polymérisation de la tubuline (liaison hydrogène, électronégativité, lipophilie ...). Les produits **55** pourraient aussi être actifs. En effet, lors de l'étude des relations structure-activité de la podophyllotoxine (**1**), nous avons vu que l'absence de substituant en position 4 et le remplacement du groupe méthoxy situé en position 4' par un hydroxyle peuvent permettre d'obtenir de meilleurs inhibiteurs de la polymérisation de la

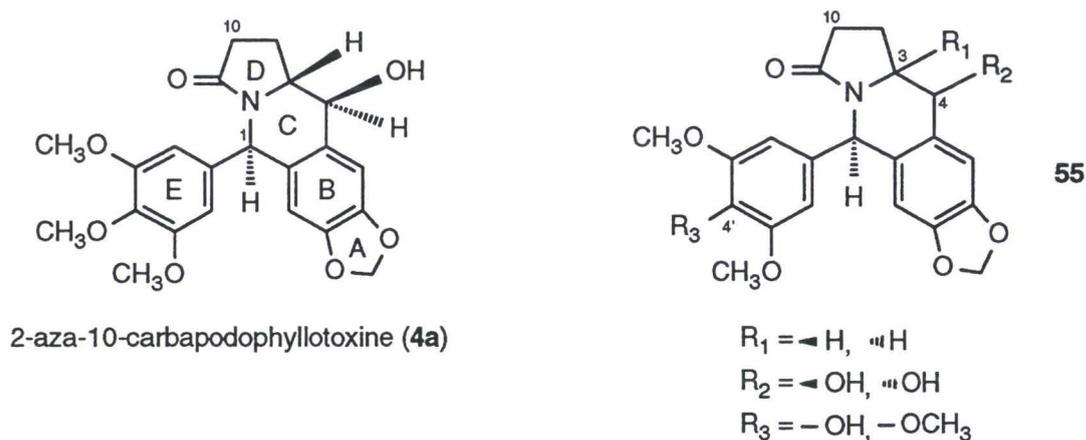


Schéma 33

tubuline. Il est probable que l'inversion de la configuration de leur carbone C-3 permettrait aussi d'avoir des produits actifs : nous avons montré par modélisation moléculaire que le système tétracyclique ABCD de ces produits est plan.

Les composés **56a** et **57** qui possèdent un groupe carbonyle en position 4 doivent être capables de se réarranger en dérivés diéthyléniques **58a** et **58b**. Il semble intéressant de tester ces molécules puisqu'elles possèdent les principales caractéristiques essentielles à l'activité. En effet, l'orientation du noyau aromatique E devrait permettre l'interaction avec la tubuline. De plus, grâce à la conjugaison du noyau aromatique, des deux doubles liaisons et de la fonction carbonyle, le système tétracyclique ABCD est quasi plan. Il est à noter que le cycle central C des composés **54b** et **58** contiennent tous deux une double liaison dans la même position 3-4.

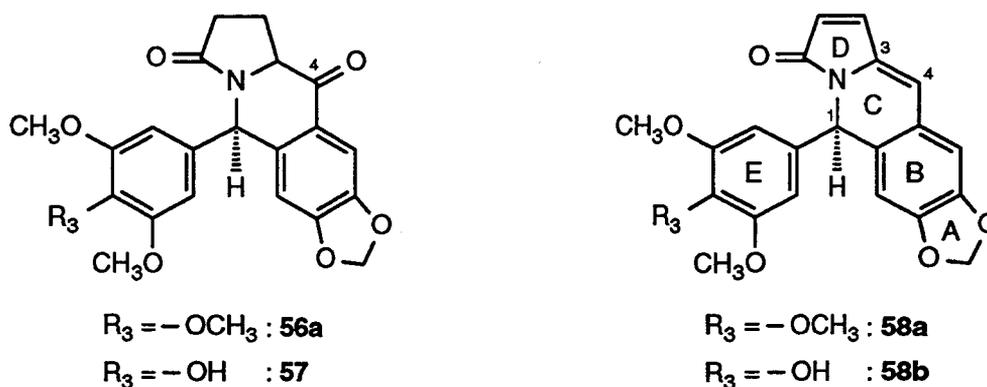


Schéma 34

1.3.2- INHIBITEURS POTENTIELS DE L'ACTIVITE DE LA TOPO II

De nombreux analogues structuraux de l'étoposide (3) et du téniposide (2) ont été synthétisés. Les principales modifications concernent les substituants en 4 et 4' ; peu de pharmacomodulations du système tétracyclique ABCD ont été réalisées.

Les relations structure-activité dans les deux séries (podophyllotoxine (1), étoposide (3)) nous ont montré que les exigences structurales de ces deux types d'inhibiteurs sont pratiquement semblables, sauf en ce qui concerne les groupements en position 4 et 4'. Ainsi, l'introduction d'un substituant judicieusement choisi en position 4 (un groupe glucopyranoside ou un groupe para phénylènediamine par exemple) et le remplacement du méthoxy en 4' du composé 4a par un hydroxyle, pourraient nous conduire à des molécules susceptibles de stabiliser le complexe topoisomérase II-ADN clivé (59a-b, 60 et 61).

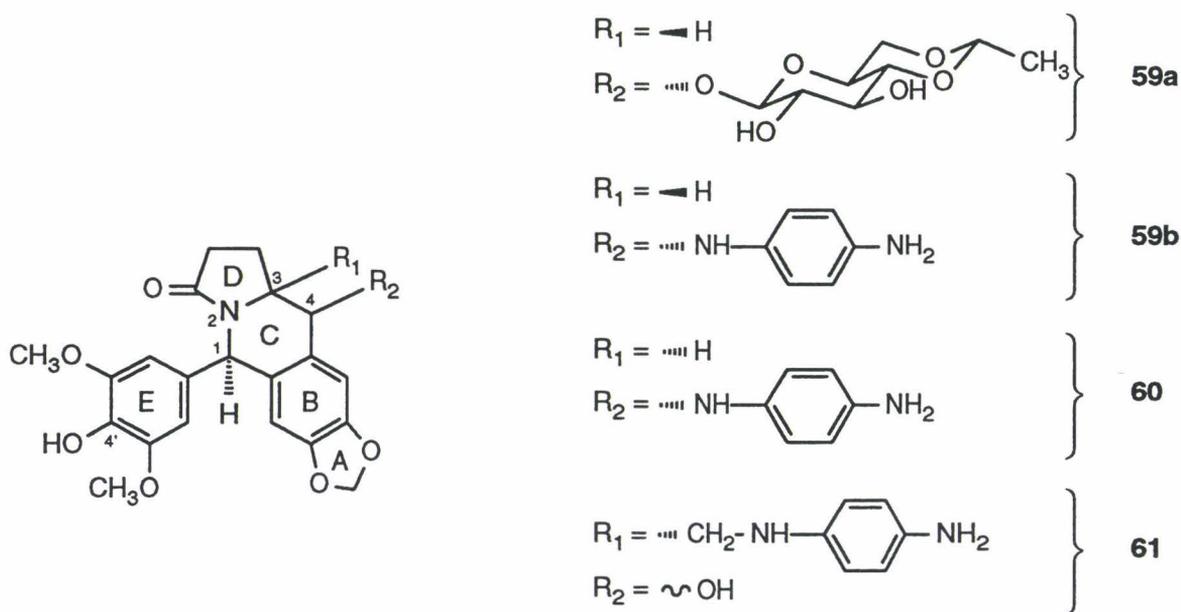


Schéma 35

1.3.2.1- COMPOSES 59a et 59b

Les molécules 59a et 59b semblent posséder les principales exigences structurales nécessaires à l'activité. En effet, leur système tétracyclique ABCD est pratiquement plan et leurs substituants en position 1 (cycle E) et 4 (groupe glucopyranoside ou groupe amino aniline) sont bien orientés.

1.3.2.2- COMPOSE **60**

Lorsque la liaison 2-3 des podophyllotoxines et des épipodophyllotoxines est de configuration cis au lieu de trans, le système tétracyclique ABCD perd sa planéité. Les produits obtenus sont alors inactifs.

Bien que la configuration de l'atome C-3 du composé **60** soit inversée par rapport à **59b**, le système tétracyclique ABCD reste quasi plan. Aussi, cette molécule **60** pourrait être un inhibiteur de l'activité de la topoisomérase II.

1.3.2.3- COMPOSE **61**

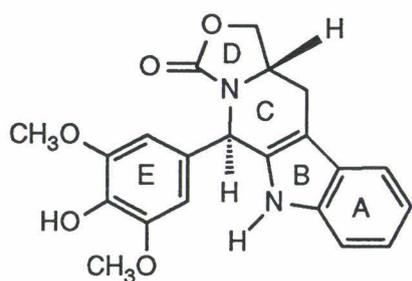
Il paraît possible de remplacer le substituant aminoaniline en position 4 du composé **60** par un substituant méthylaminoaniline en position 3. En effet, malgré ces modifications, les deux atomes d'azote impliqués dans des liaisons hydrogène avec le complexe topoisomérase II-ADN clivé conservent leur position.

1.3.2.4- COMPOSES **62** ET **63**

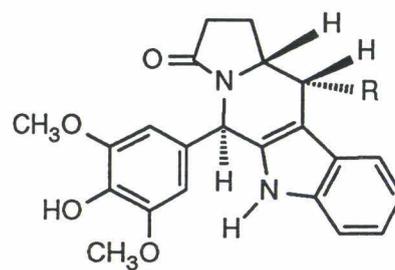
Nous avons montré précédemment que le substituant situé en position 4 des déméthylépipodophyllotoxines joue un rôle important avec le complexe topoisomérase II-ADN clivé (notamment par l'intermédiaire de liaisons hydrogène).

Pourtant, l'azatoxine (**40**), qui ne possède pas ce type de substituant, s'avère être un meilleur inhibiteur de la topoisomérase II que l'étoposide (**3**) [106]. L'activité de l'azatoxine (**40**) est probablement due à une bonne insertion de son système tétracyclique ABCD dans les sites de clivage de la topoisomérase II ("pseudo-intercalation") [106].

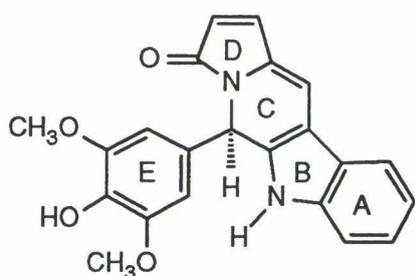
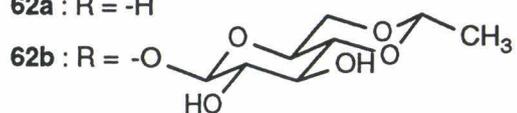
Il semble donc intéressant de préparer et de tester les dérivés indoliques des produits précédents **59-61** (par exemple les composés **62a** et **62b**). Le dérivé diéthylénique **63** a aussi retenu notre attention. En effet, ce dernier contient un squelette central ABCD quasi plan, tout en orientant convenablement le noyau diméthoxyphénol E. D'un point de vue structural, il faut aussi signaler que cette molécule **63** présente de nombreuses analogies avec la lavendamycine (**64**) qui possède des propriétés anticancéreuses et antibiotiques [191].



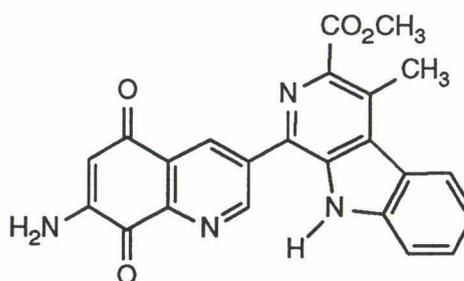
azatoxine (40)



62a : R = -H



63



64

Schéma 36

CONCLUSION

Les études des relations structure-activité ont permis de concevoir un modèle hypothétique du site d'interaction de la tubuline avec des dérivés de la podophyllotoxine (1) ainsi que du complexe ADN clivé-topoisomérase II avec des dérivés de la 4'-déméthylépipodophyllotoxine (5). Bien que les cibles de ces deux types de ligands soient totalement différentes l'une de l'autre, de nombreuses analogies structurales existent entre ces deux sites d'interaction. C'est ainsi que de faibles modifications de la molécule de podophyllotoxine (1), un inhibiteur de la polymérisation de la tubuline, ont conduit à des inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II (étoposide (3), téniposide (2) ...).

En espérant obtenir de meilleurs inhibiteurs et de meilleurs agents antitumoraux, nous nous intéressons à des isostères des podophyllotoxines et des 4'-déméthylépipodophyllotoxines ayant un azote en position 2 et un groupe $-CH_2-$ en 10. La modélisation moléculaire montre que ces composés semblent posséder les principales exigences structurales nécessaires à l'activité.

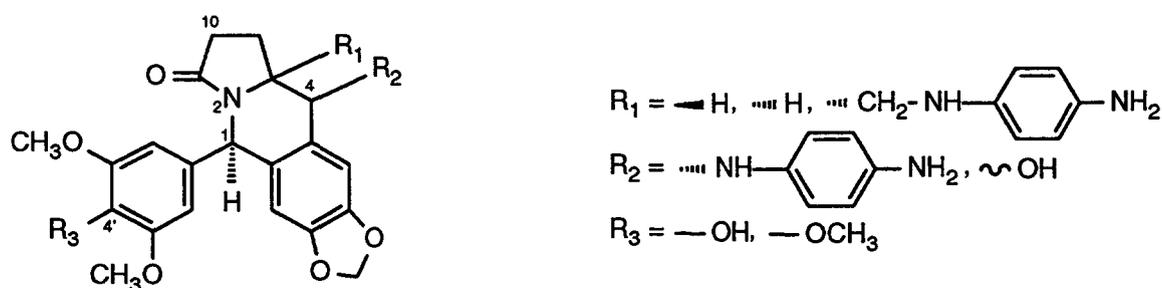


Schéma 37

Du point de vue chimique, la synthèse de ces 2-aza-10-carbapodophyllotoxines paraît beaucoup plus facile que celle des podophyllotoxines et des 4'-déméthylépipodophyllotoxines, grâce au remplacement du carbone asymétrique C-2 par un atome d'azote. De plus, il est à noter qu'une inversion de la configuration de l'atome C-1 ne devrait pas, a priori, diminuer la cytotoxicité. En effet, comme pour les 2-azapodophyllotoxines, l'atome de carbone C-1 devrait facilement s'épimériser *in vivo*.

Par ailleurs, afin d'augmenter la cytotoxicité des 4'-déméthylépipodophyllotoxines, il semble intéressant d'associer une reconnaissance de forme de l'ADN à l'inhibition de l'activité de la topoisomérase II. Le groupe apportant cette reconnaissance pourrait être greffé au substituant en position 4 car le site d'interaction du complexe topoisomérase II-ADN clivé possède dans cette région une poche relativement volumineuse.

**2- SYNTHÈSE DE LA 2-AZA-10-CARBAPODOPHYL-
LOTOXINE ET DE SES DERIVES**

2- SYNTHÈSE DE LA 2-AZA-10-CARBAPODOPHYLLOTOXINE ET DE SES DÉRIVÉS

INTRODUCTION

L'étude des relations structure-activité des podophyllotoxines et des 4'-déméthylépipodophyllotoxines souligne notamment l'importance cruciale des configurations 1,2-cis et 2,3-trans pour conserver une activité antitumorale. Ces exigences structurales sont par ailleurs un obstacle majeur à la synthèse totale de ces composés (une revue récente, publiée par R.S. Ward, résume les principales méthodes de synthèse de la podophyllotoxine (1) [192]). La podophyllotoxine (1), qui est utilisée dans l'industrie pour préparer l'étoposide (3) [193] et le téniposide (2), est en fait extraite des racines et des rhizomes de *Podophyllum Peltatum* et de *P. Emodi*.

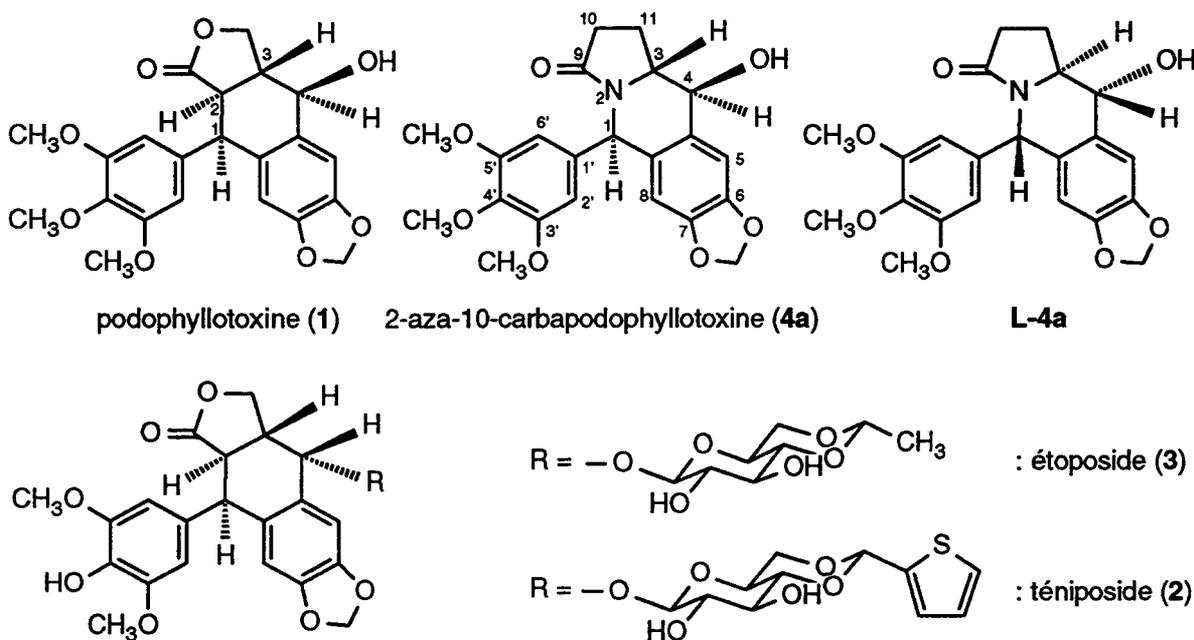


Schéma 38

Nous nous sommes particulièrement intéressés aux structures de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (4a) et de certains de ses dérivés. La modélisation moléculaire montre que ces produits sont potentiellement des inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline ou des inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II (chapitre 1.3). Du point de vue de leur synthèse, ils nous semblaient beaucoup plus faciles à obtenir que les composés de la famille de la podophyllotoxine (1).

La stratégie retenue pour synthétiser la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**) est originale. La préparation, menée à partir de l'acide D-pyroglytamique (**D-65**), comporte trois étapes essentielles :

- (1) une N-alkylation d'un dérivé de l'acide D-pyroglytamique (**D-65**) par le dérivé benzhydrylé **66a**,
- (2) une cyclisation stéréospécifique de l'acide **67a** par une réaction de type Friedel-Crafts,
- (3) et enfin une réduction sélective de la cétone **56a** conduisant à la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine désirée (**4a**).

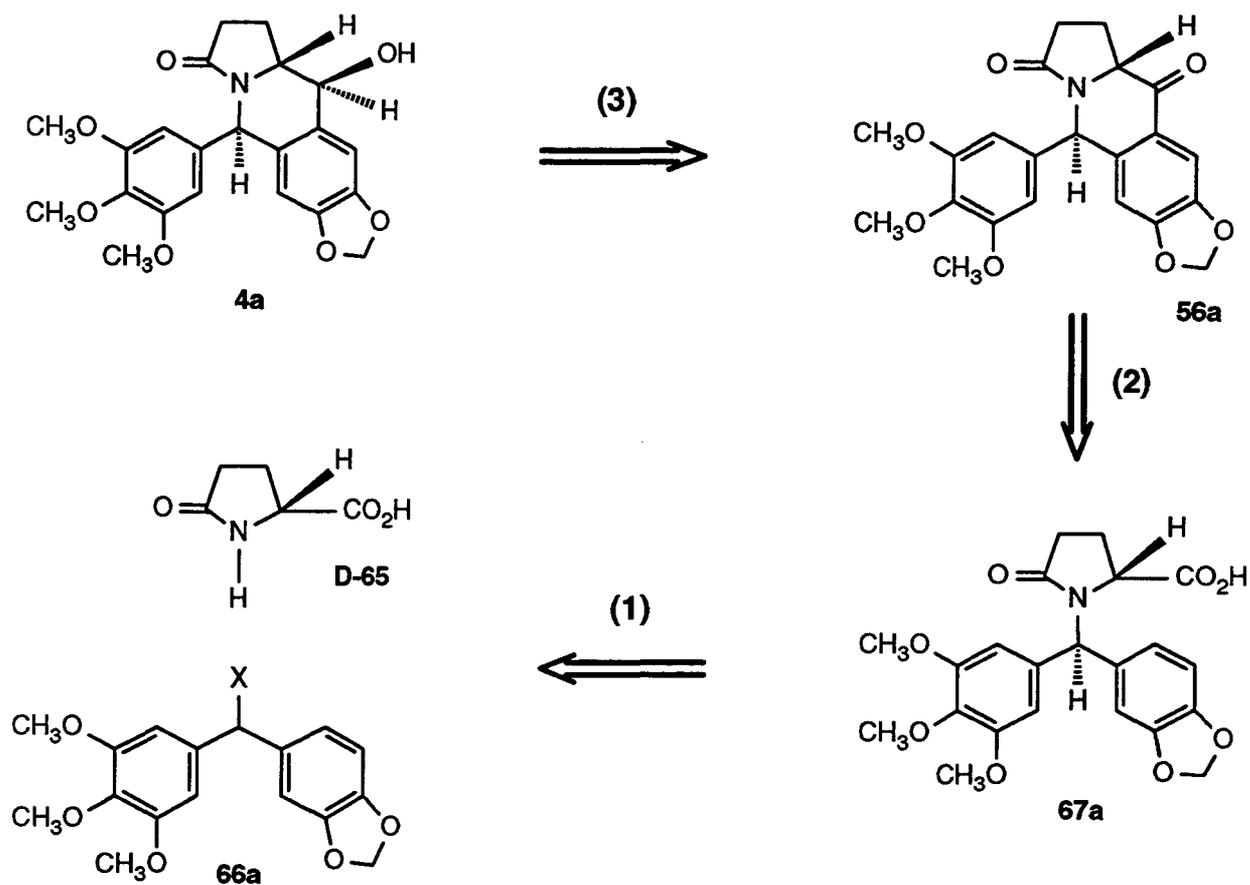


Schéma 39

L'acide D-pyroglutamique (**D-65**) est commercial et n'est pas trop dispendieux (50 g : 1017 F (Fluka)). Cependant, afin d'étudier la synthèse de l'alcool **4a**, nous préférons utiliser les acides L-pyroglutamique (**L-65**) et DL-pyroglutamique (**DL-65**) car ils sont beaucoup plus économiques [194]. Ces acides conduiraient donc respectivement à l'énantiomère **L-4a** de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**) et au mélange racémique **DL-4a**.

Il faut signaler que toutes les réactions de la partie théorique (chapitres 2.1, 2.2 et 2.3) sont décrites, par souci de simplification, avec l'acide D-pyroglutamique (**D-65**). En réalité, la quasi totalité des réactions que nous avons réalisées ont été menées d'une part avec l'acide L-pyroglutamique (**L-65**) et d'autre part avec l'acide DL-pyroglutamique (**DL-65**).

2.1- SYNTHÈSE DE L'ACIDE N-BENZHYDRYLPYRO-GLUTAMIQUE **67a**

Dans la méthodologie de synthèse de l'analogue de la podophyllotoxine **4a**, l'un des composés intermédiaires importants est l'acide **67a** ; nous avons envisagé de le synthétiser à partir d'un dérivé de l'acide pyroglutamique (**65**). Pour cela, nous avons étudié la réactivité de synthons pyroglutamiques, particulièrement celle du pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**), avec des composés benzhydrylés (notamment le chlorure de benzhydryle **70a** et le benzhydrol silylé **71a**).

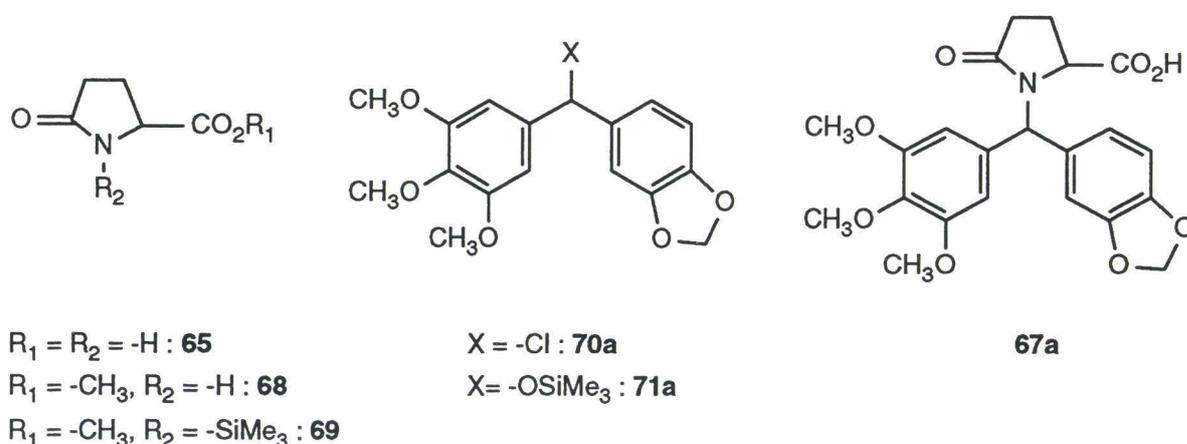


Schéma 40

2.1.1- RESULTATS DE LA LITTERATURE

2.1.1.1- N-ALKYLATIONS DE L'ACIDE PYROGLUTAMIQUE (65)

De nombreuses N-alkylations de l'acide pyroglutamique (65) ont été décrites. Généralement, lors de ces réactions, la fonction acide est protégée sous forme d'ester et, il est souvent nécessaire d'activer le groupe lactame.

• Par exemple, l'ester N-phénacyl pyroglutamique 74 a été obtenu par action du bromure de phénacyle (73) sur l'iminoéther pyroglutamique 72a [195].

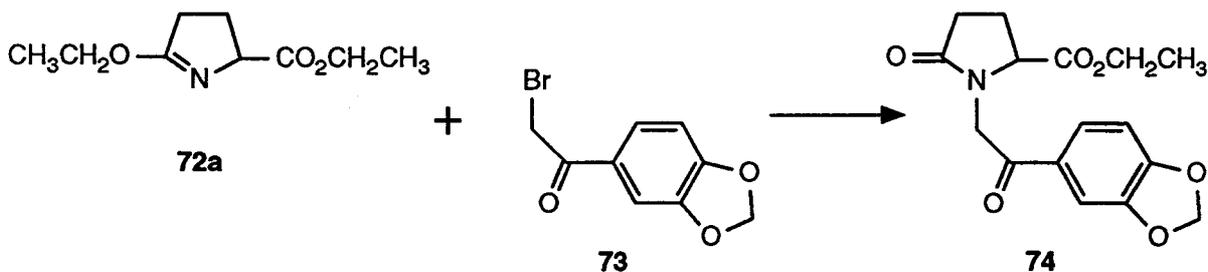


Schéma 41

• Le sel de sodium d'esters pyroglutamiques 75 peut aussi se condenser avec des dérivés halogénés [196-213].

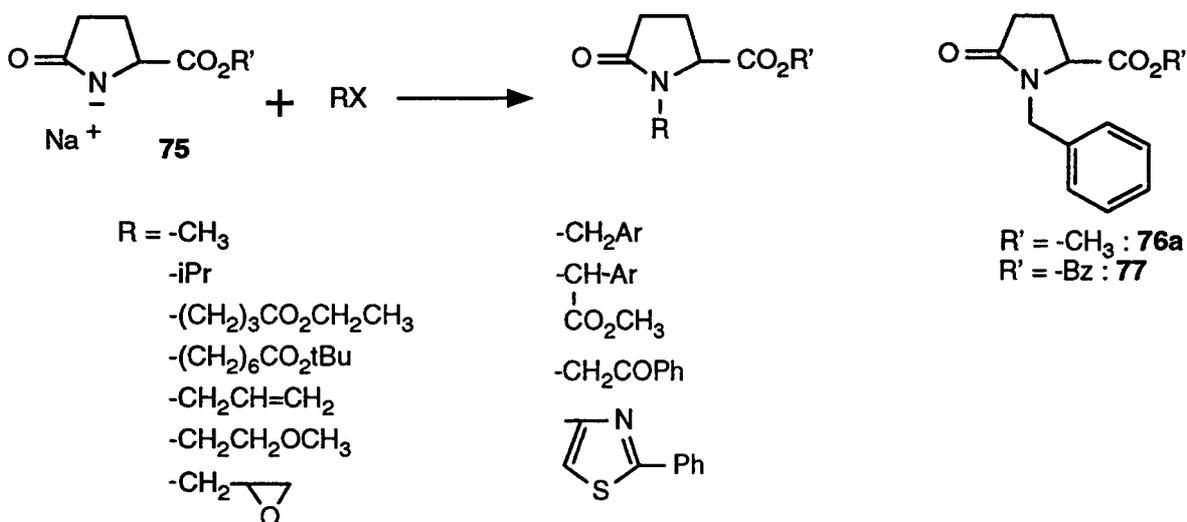


Schéma 42

Cette réaction est capable de donner de bons rendements. Cependant, elle présente l'inconvénient de conduire à des produits racémiques car les esters pyroglutamiques optiquement actifs se racémisent lors de la formation de leur dérivé sodé (schéma 43) [196, 206].

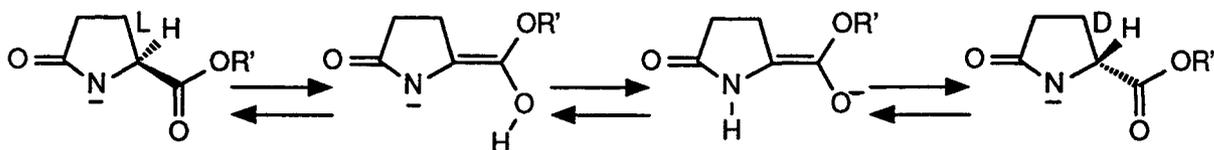


Schéma 43

Ce problème peut être évité en travaillant en conditions de transfert de phase avec du carbonate de potassium anhydre comme base dans un solvant aprotique, soit dans un autoclave [214], soit à basse température en conditions de transfert de phase avec une agitation de type Polytron [215] ou avec un générateur ultra-son pour améliorer la réactivité [216]. Dans certains cas, une trans-estérification a lieu : la réaction du pyroglutamate de méthyle (**68**) avec le chlorure de benzyle dans ces conditions conduit au N-benzylpyroglutamate de méthyle (**76a**) et à une quantité importante de N-benzylpyroglutamate de benzyle (**77**) [217].

• Il est aussi possible d'alkyler des esters pyroglutamiques N-silylés par des dérivés halogénés. En effet, B. Rigo a montré que la condensation du pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) avec le chlorure **78b** conduit au N-(4-nitrobenzyl) pyroglutamate de méthyle (**76b**) [218] (l'halogénure de triméthylsilyle est distillé au fur et à mesure de sa formation pour ne pas avoir une diminution de la température du milieu réactionnel au cours du temps). Cet ester **76b** ne peut être obtenu à partir du pyroglutamate de méthyle sodé (**75**) car ce dernier transforme le chlorure de 4-nitrobenzyle (**78b**) en 4,4'-dinitrotransstilbène [218].

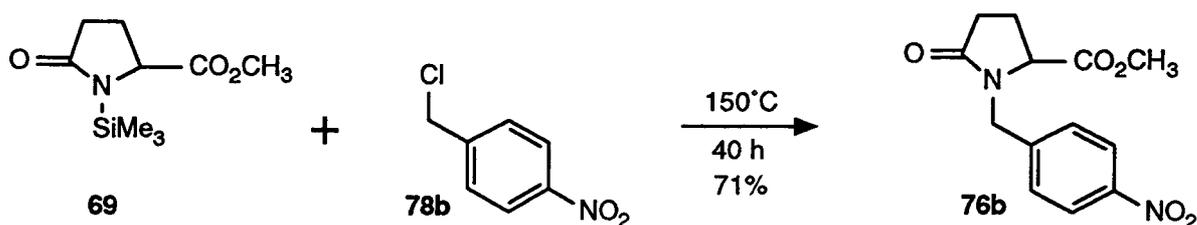


Schéma 44

En utilisant cette même méthode, U. Burkard, I. Walter et F. Effenberger ont préparé les composés **80**, **81** et **83** [219]. Les réactions avec les 6 et/ou 2-halohexanoates **79** ont été catalysées par du fluorure de potassium en présence d'un éther-couronne (18-crown-6). Ces auteurs ont noté un bien meilleur rendement lorsque l'halogénure utilisé est un dérivé bromé.

Le même laboratoire a décrit la condensation d'esters pyroglutamiques N-silylés avec le bromure de benzyle (**84a**) et les bromures de benzhydryle **85b-d** [220-221]. Une particularité importante de ces condensations est la conservation de la stéréochimie du

dérivé pyroglutamique de départ.

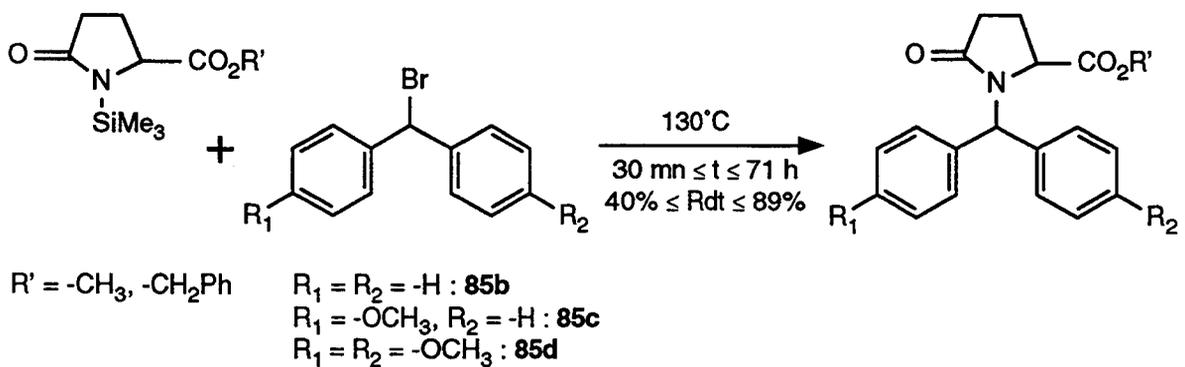
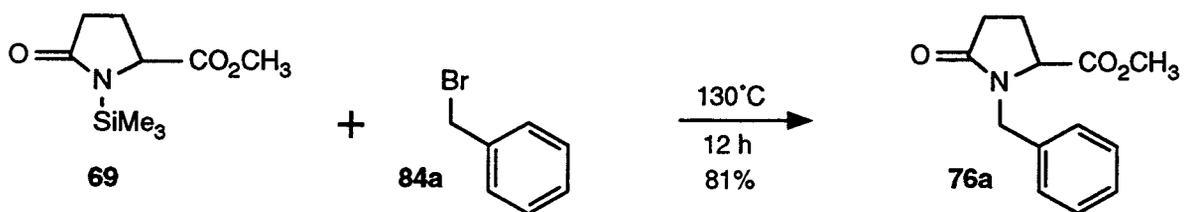
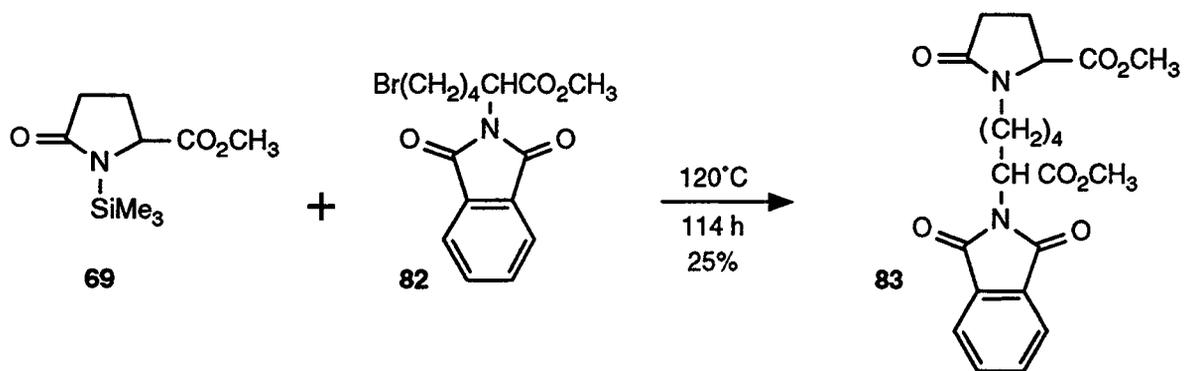
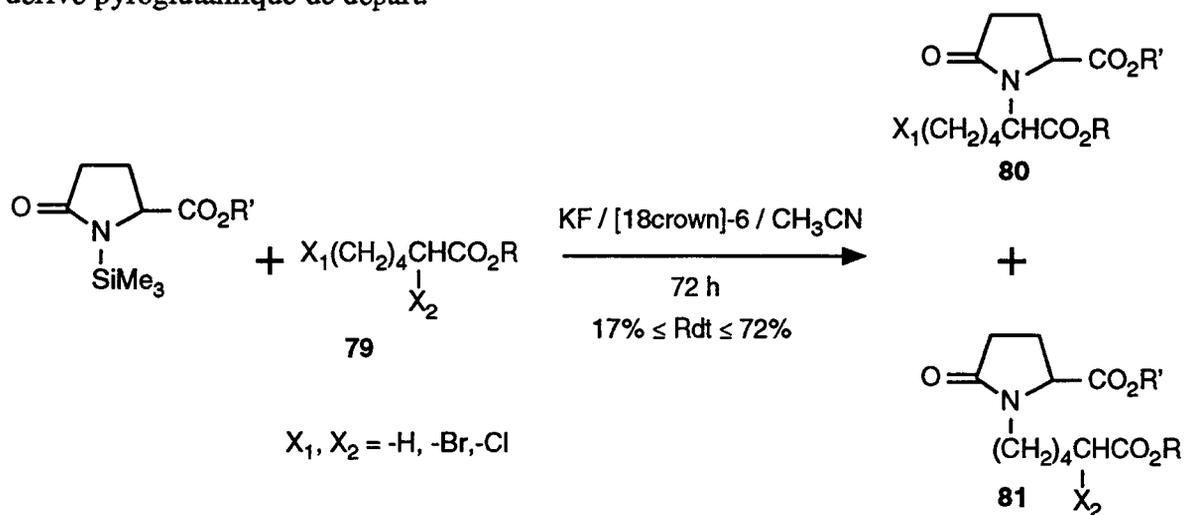


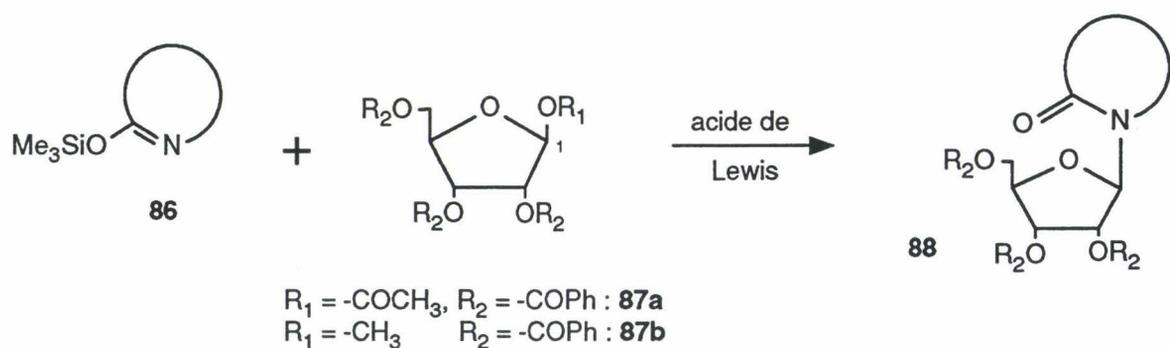
Schéma 45

2.1.1.2- N-ALKYLATIONS CATALYTIQUES DE LACTAMES SILYLES

Bien que certaines de ces N-alkylations de pyroglutamiques N-silylé durent assez longtemps et conduisent parfois à de faibles rendements, l'influence de catalyseurs a été peu étudiée sur ces réactions. Le seul exemple décrit concerne la condensation des 6 et/ou 2-halohexanoates **79** qui est réalisée en présence de fluorure de potassium et d'un éther-couronne (18-crown-6) [219].

Pourtant, il a été montré que certains agents sont capables de catalyser des N-alkylations de composés qui possèdent, comme le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**), le motif $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{SiMe}_3 \\ \parallel \quad | \\ -\text{C} - \text{N} - \end{array}$ ou la forme mésomère $\begin{array}{c} \text{OSiMe}_3 \\ | \\ -\text{C} = \text{N} - \end{array}$.

Notamment, la version silylée de la réaction de Hilbert-Johnson, développée par U. Niedballa et H. Vorbrüggen, a permis de préparer une variété de composés de type nucléosidique (**88**) [222-235]. Ces condensations sont menées entre une base hétérocyclique silylée (**86**) et un ribofuranose protégé O-acétylé ou O-méthylé en position 1 (**87a-b**) en présence de chlorure d'étain ou d'autres acides de Lewis comme le chlorure d'aluminium, le chlorure de mercure, le triflate de silyle ...



Acide de Lewis = $\text{SnCl}_4, \text{AlCl}_3, \text{HgCl}_2, \text{CF}_3\text{SO}_3\text{SiMe}_3, \dots$

Schéma 46

L'étape initiale de ces réactions est la formation d'un cation sous l'action de l'acide de Lewis (en sels de 1,2-acyloxonium tels que **89** [229-230]). La base silylée attaque alors le centre cationique du sucre **89** par le dessus et conduit ainsi au nucléoside β (**90**).

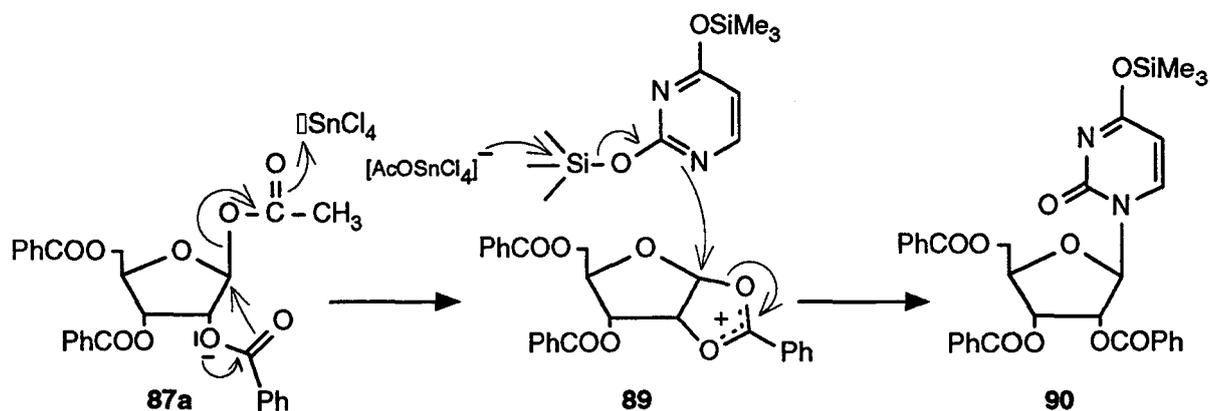
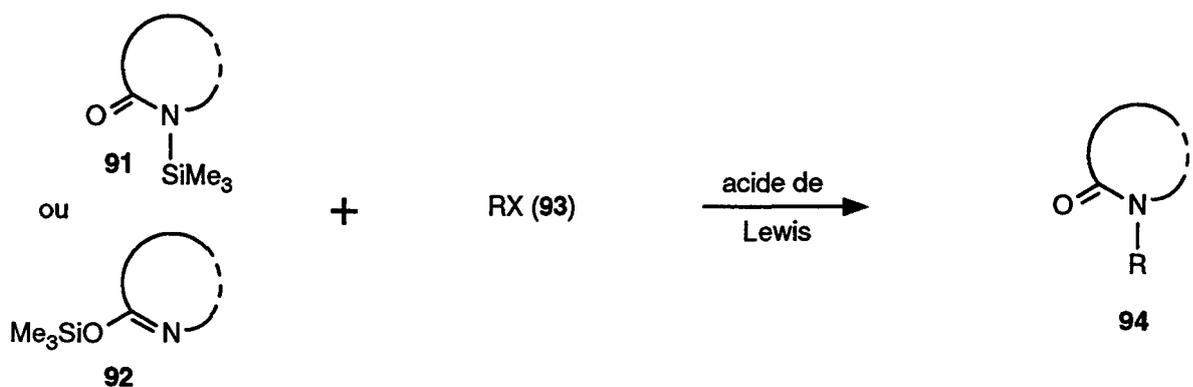


Schéma 47 (d'après [230])

Cette condensation de Hilbert-Johnson silylée, catalysée par des acides de Lewis, a été étendue à d'autres composés électrophiles (**93**) et à des lactames silylés non aromatiques (**91-92**) [236-250].



Acide de Lewis = SnCl₄, AlCl₃, TiCl₄, CF₃SO₃SiMe₃, ...

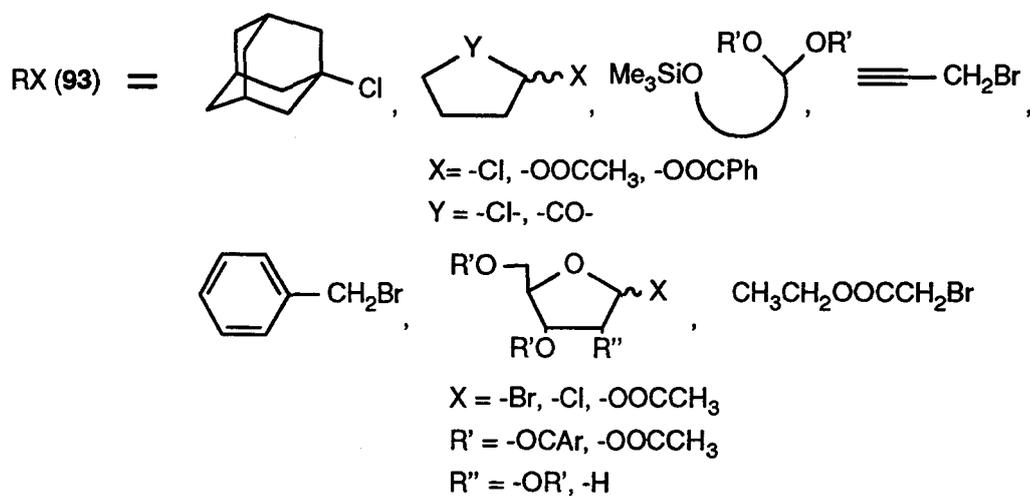
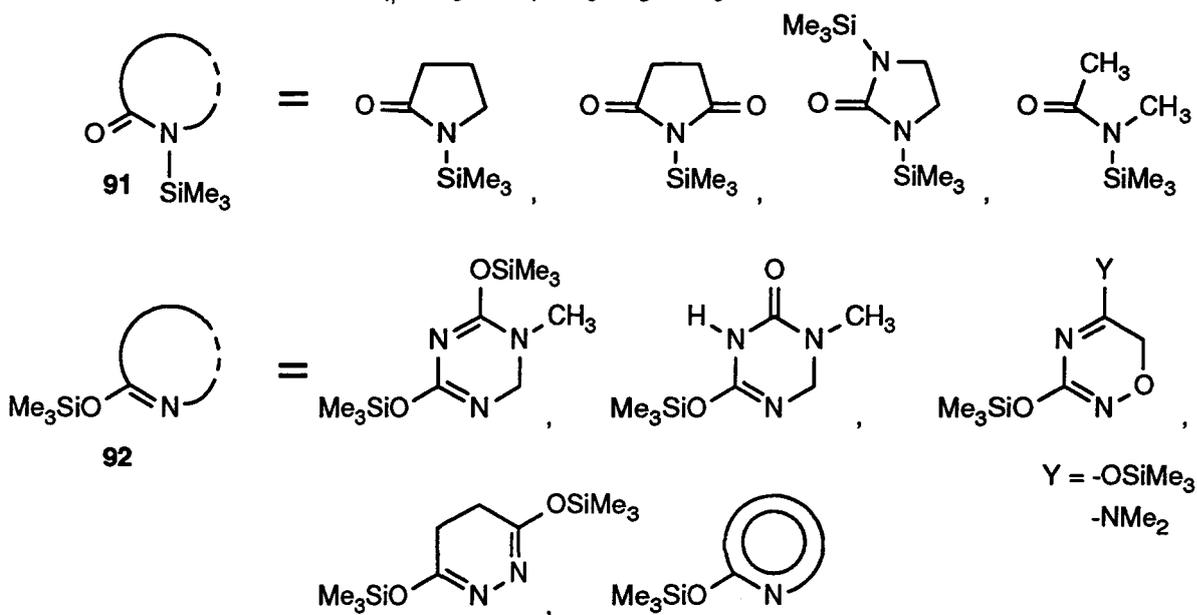


Schéma 48

Cependant, en présence d'acides de Lewis comme le chlorure d'étain ou le bromure de mercure, les urées cycliques N,N'-disilylées **95** ne réagissent pas avec l'acétate ou le bromure de déoxyribosyl protégé **87a-b**. Toutefois, le nucléoside urique **97** peut être obtenu en utilisant un mélange de HgBr₂ et de HgO comme catalyseur [251-252]. Ce composé semble provenir plus d'une transglycosylation O→N que d'une N-alkylation directe comme dans la réaction de Hilbert-Johnson silylée : l'oxyde de mercure catalyserait la formation du nucléoside intermédiaire **96** qui se réarrangerait ultérieurement en présence de bromure de mercure pour donner le N-nucléoside **97**, thermodynamiquement plus stable.

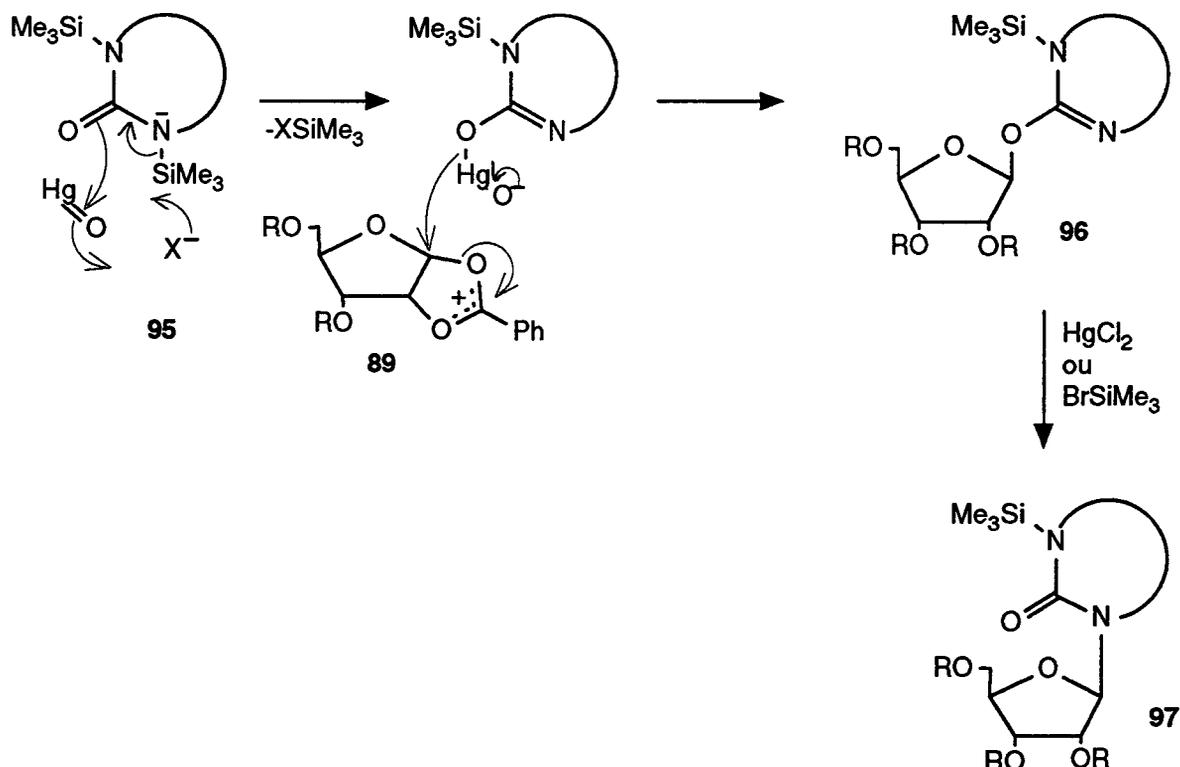


Schéma 49 (d'après [251-252])

D'autres types de composés sont capables de catalyser la N-alkylation de lactames silylés, comme des bases (le méthylate de sodium [253]). Il a aussi été montré que l'iode et l'iodure de sodium sont capables de catalyser des N-alkylations d'uraciles silylés (**98**, **100**, **102**) par des mécanismes probablement différents et qui restent à élucider [245, 250, 254].

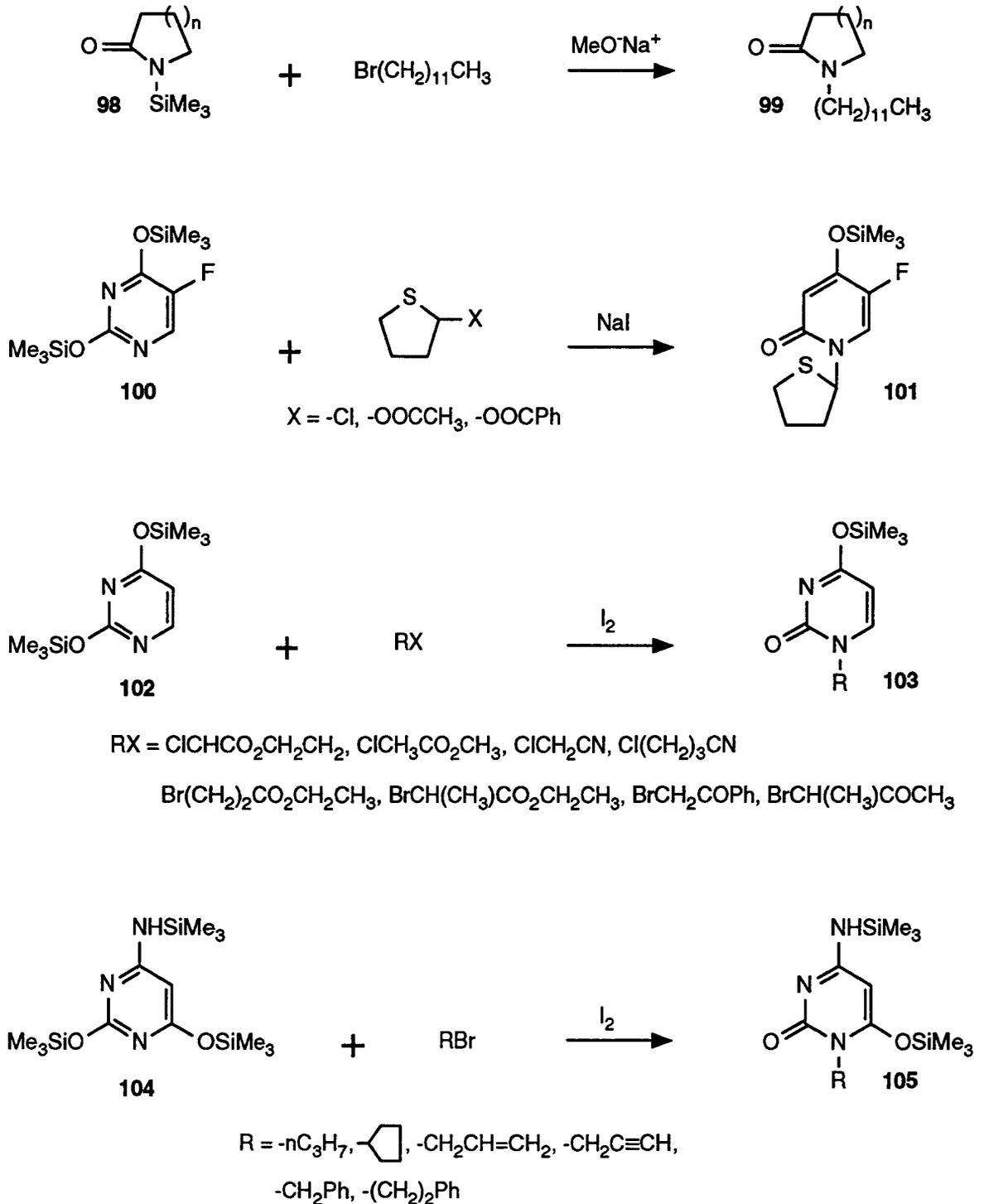


Schéma 50

2.1.2- PREPARATION DES MATIERES PREMIERES

2.1.2.1- DERIVES SILYLES DE L'ACIDE PYROGLUTAMIQUE (65)

Le pyroglutamate de méthyle N-silylé (69) peut être préparé par réaction du pyroglutamate de méthyle (68) avec le trifluoroacétamide disilylé [255] ou avec le chlorotriméthylsilane en présence de triéthylamine [256-263]. L'acide pyroglutamique N,O-disilylé (106) peut être obtenu de manière similaire à partir de l'acide pyroglutamique (65) [263].

Nous avons montré qu'il est aussi possible de réaliser ces silylations plus simplement en utilisant de l'hexaméthylidisilazane et une quantité catalytique de sulfate d'ammonium.

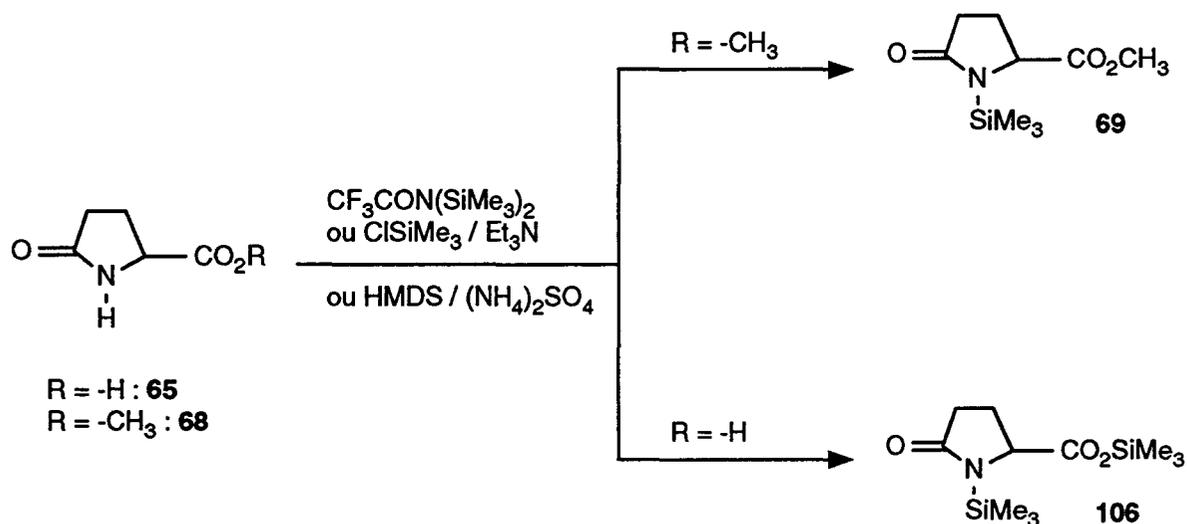


Schéma 51

2.1.2.2- BENZHYDROLS SILYLES

Nous avons tenté de silyler divers benzhydrols commerciaux avec de l'hexaméthylidisilazane : le benzhydrol (**107b**), le 4,4'-dichlorobenzhydrol (**107e**) et le 4,4'-diméthoxybenzhydrol (**107d**).

En l'absence de catalyseur, aucune réaction n'est constatée lorsque que ces composés sont traités par de l'hexaméthylidisilazane seul.

Divers agents permettent de catalyser la silylation par l'hexaméthylidisilazane du benzhydrol (**107b**) en benzhydrol silylé (**71b**) : par exemple, le chlorotriméthylsilane, l'acide triflique. Ces silylations peuvent aussi être réalisées en milieu basique avec le chlorotriméthylsilane dans la triéthylamine.

Catalyseur	Durée	$n_{\text{benzhydrol}} : n_{\text{cat}}$	Rendement (d'après rmn^1H)
-	24 h	1 : 0	0 %
ClSiMe_3	1 h	24 : 1	100 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	0.5 h	24 : 1	100 %

Tableau 2

Il est aussi possible de préparer le 4,4'-dichlorobenzhydrol silylé (**71e**) en utilisant l'acide triflique comme catalyseur.

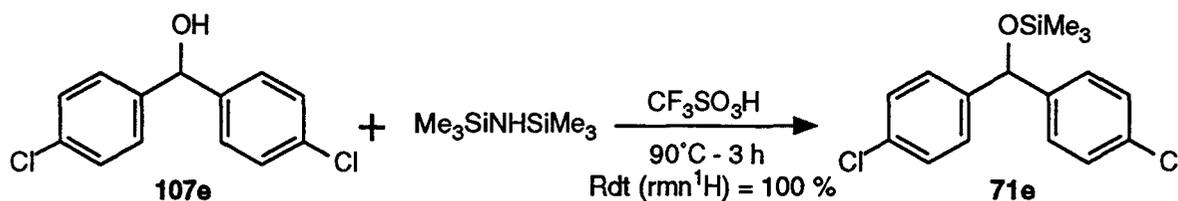


Schéma 52

Cependant, nous avons remarqué que lorsque les benzhydrols sont substitués par des groupes électrodonneurs sur les noyaux aromatiques, l'utilisation de l'acide triflique ne permet généralement pas d'isoler les dérivés silylés correspondants : une nouvelle réaction de disproportionnation se produit. Dans le cas du 4,4'-diméthoxybenzhydrol (**107d**) par exemple, on obtient un mélange équimolaire de dianisylméthane (**108d**) et de 4,4'-diméthoxybenzophénone (**109d**).

Le 4,4'-diméthoxybenzhydrol silylé (**71d**) peut cependant être synthétisé en menant la silylation avec de l'hexaméthylidisilazane en remplaçant l'acide triflique par du chlorotriméthylsilane comme catalyseur. Après 20 mn de chauffage à 130°C, la silylation est terminée. La distillation de l'excès d'hexaméthylidisilazane conduit quantitativement au benzhydrol silylé (**71d**) désiré (le chlorure d'ammonium formé sublime). Le produit préparé est suffisamment pur pour pouvoir être utilisé tel quel.

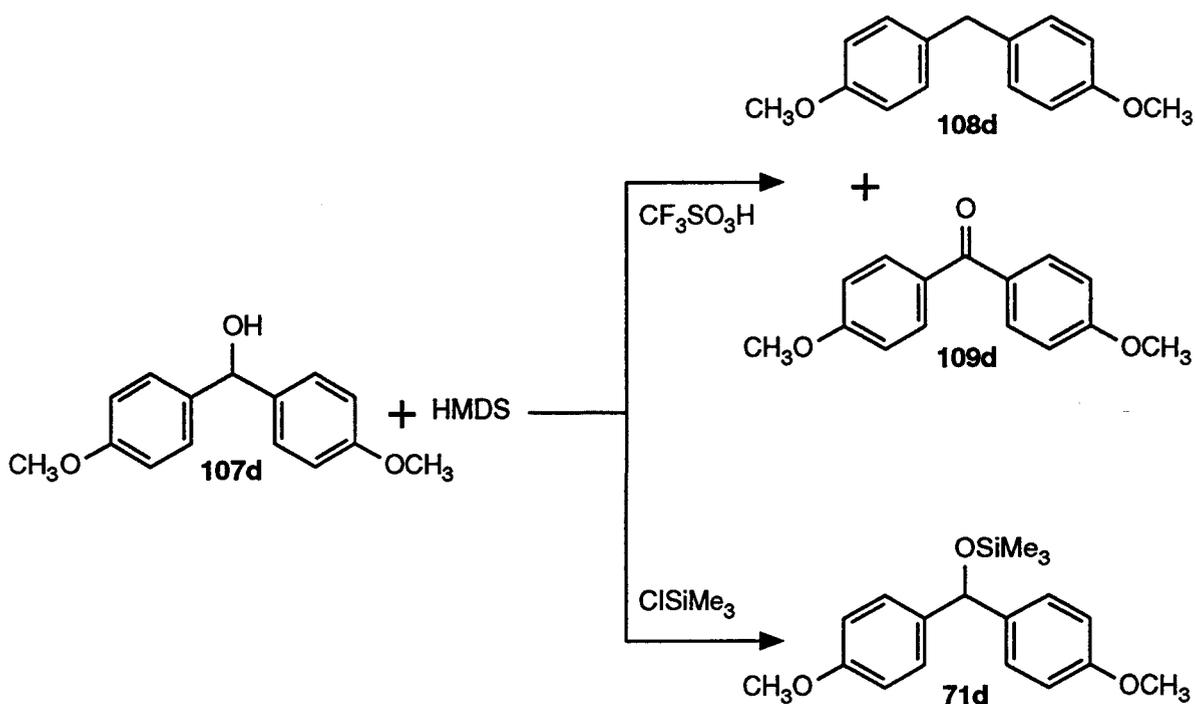


Schéma 53

2.1.2.3- DISPROPORTIONNATION DE BENZHYDROLS ET DE BENZHYDROLS SILYLES

Nous venons de voir que les essais de silylation du 4,4'-diméthoxybenzhydrol (**107d**) tentés avec l'acide triflique comme catalyseur n'ont pas permis d'isoler le benzhydrol silylé **71d**. En fait, on obtient un mélange équimolaire de dianisylméthane (**108d**) et de 4,4'-diméthoxybenzophénone (**109d**).

Nous avons jugé intéressant d'étudier quelques aspects de cette nouvelle réaction de disproportionnation et, en particulier, la stabilité du 4,4'-diméthoxybenzhydrol (**107d**) et de son dérivé silylé **71d** avec l'acide triflique.

2.1.2.3.1- Résultats de la littérature

Il est déjà connu que les benzhydrols sont capables de se disproportionner, en présence de certains acides, en diphenylméthanes et en benzophénone.

Par exemple, cette réaction a été observée lorsque le 4,4'-diméthoxybenzhydrol (**107d**) est traité par l'acide chlorhydrique concentré bouillant ou par un équivalent molaire d'acide trichloroacétique [264]. Cependant, dans ces mêmes conditions réactionnelles le

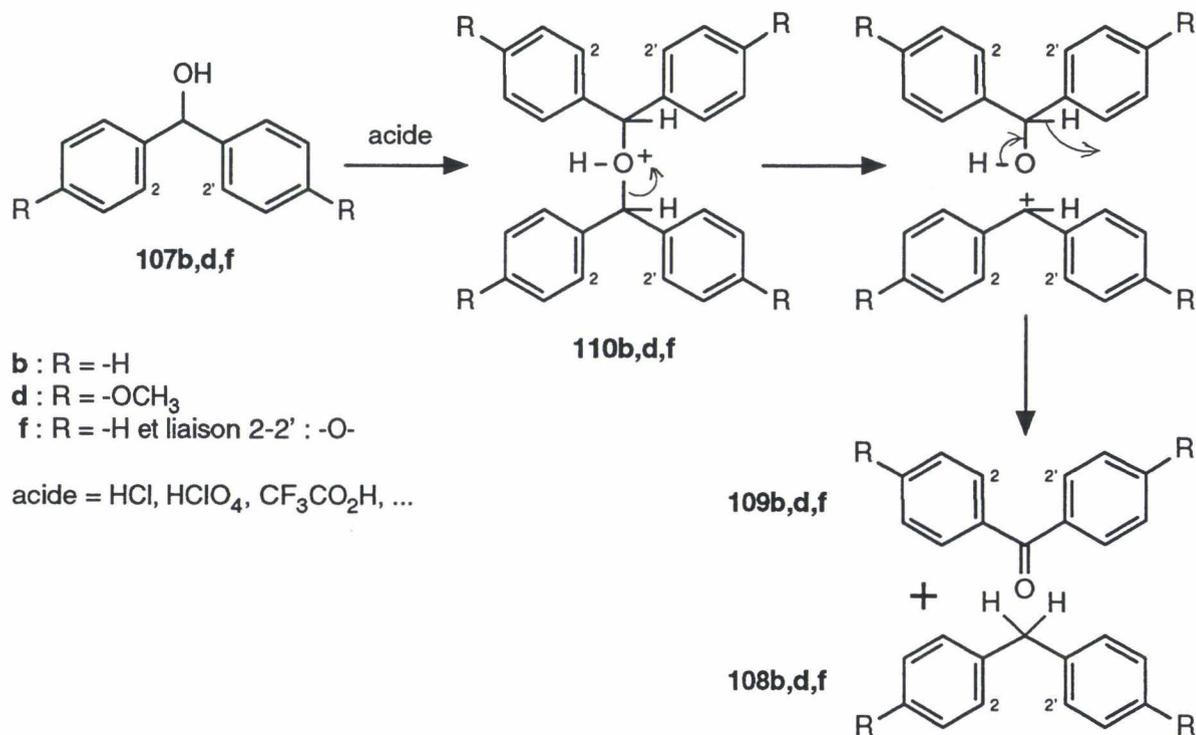


Schéma 54

benzhydrol (**107b**) ne réagit pas. Un acide plus fort tel l'acide perchlorique est nécessaire pour réaliser la dismutation en diphénylméthane (**108b**) et en benzophénone (**109b**) (chauffage à 80°C pendant 5 h en présence de 50 meq d'acide perchlorique) [265]. Il a aussi été noté que sous l'action de l'acide chlorhydrique, le xanthydrol (**107f**) est converti quantitativement en xanthane (**108f**) et en xanthone (**109f**). M.P. Balfe, J. Kenyon et E.M. Thain ont démontré que ces disproportionnements en diphénylméthanes et en benzophénones proviennent du réarrangement d'un éther intermédiaire **110b,d,f** grâce à un transfert d'hydrure [264, 266].

La réaction de Friedel-Crafts menée entre le benzène et des benzhydrols en présence de chlorure de fer permet de préparer des triphénylméthanes **111** [267]. Lors de cette synthèse, J. Yamamoto et ses collaborateurs ont remarqué la formation de benzophénones. L'apparition de ces sous-produits peut être supprimée par l'addition d'une petite quantité de tribenzylamine au milieu réactionnel. En fait, nous pensons que ces benzophénones sont issues d'une réaction de disproportionnement des benzhydrols due à la présence de l'acide de Lewis. L'ajout d'une base, diminuant l'acidité du milieu, permettrait d'éviter cette réaction secondaire.

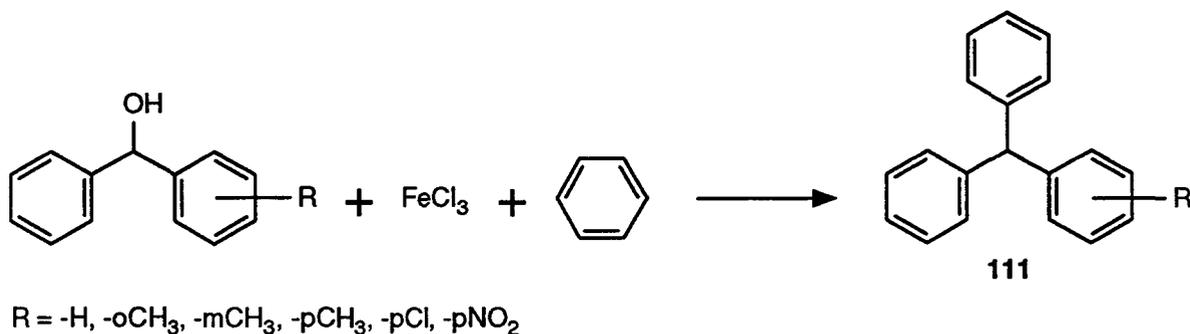


Schéma 55

La disproportionnement du benzhydrol (**107b**) peut aussi se produire thermiquement, dans des conditions moins acides, voire neutres. En effet, cet alcool **107b** est capable de se décomposer en benzophénone (**109b**) et en diphénylméthane (**108b**) lorsqu'il est porté à des températures élevées (>500°C) [268] ou lorsqu'il est traité par l'alumine à 290°C [269].

Le chauffage des alcools **112a** et **112b** à 160°C conduit aussi à une dismutation [270-271]. Selon nous, les benzylpyridazines **115a-b** et les benzoylpyridazines **114a-b** obtenues lors de cette réaction proviennent probablement d'un transfert d'hydrure via l'éther **113a-b** identique à celui observé avec les benzhydrols **107b,d,f**.

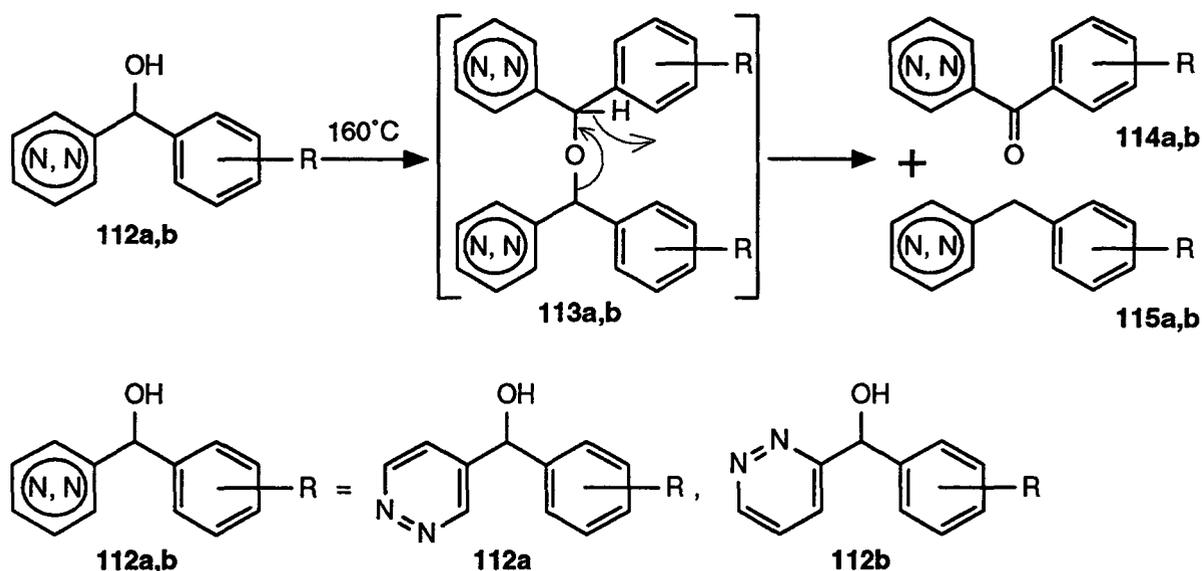


Schéma 56

2.1.2.3.2- Stabilité des benzhydrols et des benzhydrols silylés à l'acide triflique

Lorsque le 4,4'-diméthoxybenzhydrol (**107d**) et son dérivé silylé **71d** sont traités par 58.5 meq d'acide triflique à température ambiante ou à 80°C, on observe aussi la formation de dianisylméthane (**108d**) et de 4,4'-diméthoxybenzophénone (**109d**) en moins de 5 mn. A température ambiante, avec une quantité d'acide triflique plus faible (13.5 meq), deux

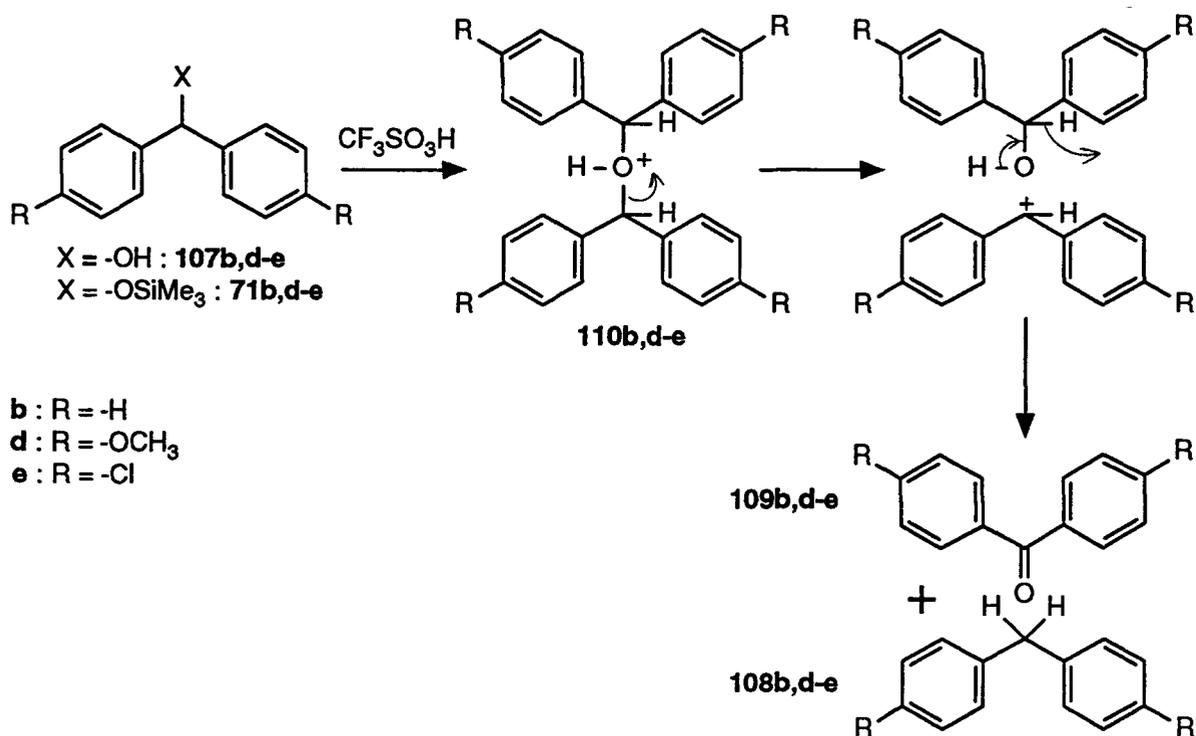


Schéma 57

heures de réaction sont nécessaires pour que tout l'alcool **107d** ou l'alcool silylé **71d** disparaissent. Ils sont alors transformés en dibenzhydryléther **110d**. Lorsque le milieu réactionnel est porté ensuite à 60°C, cet éther **110d** se décompose en dianisylméthane (**108d**) et en 4,4'-diméthoxybenzophénone (**109d**).

Il est donc probable que la disproportionation qui a lieu lors de la tentative de silylation par l'hexaméthylidisilazane et l'acide triflique passerait aussi par la formation de l'éther **110d**. Dans un second temps, ce dernier subirait un réarrangement en dérivés **108d** et **109d** grâce à un transfert d'hydrure comme l'ont décrit M.P. Balfe et ses collaborateurs dans le cas de l'acide trichloroacétique [264, 266].

Nous avons aussi observé cette dismutation en présence d'acide triflique avec le benzhydryol (**107b**) et le benzhydryol silylé (**71b**), ainsi qu'avec le 4,4'-dichlorobenzhydryol (**107e**) et son dérivé silylé **71e**. En diminuant la température et/ou la quantité de catalyseur, nous avons aussi réussi à mettre en évidence la formation de l'éther benzhydrylique intermédiaire.

Puisque les composés **107b,e** et **71b,e** sont relativement instables en présence d'acide triflique, il est surprenant qu'on puisse préparer et isoler les benzhydryols silylés **71b,e** par réaction des benzhydryols **107b,e** avec l'hexaméthylidisilazane et en présence d'acide triflique. Il est probable que, dans ce milieu, l'acide triflique soit transformé en acide de Lewis moins fort : le triflate de silyle.

2.1.3- ETUDE DE LA CONDENSATION DU PYROGLUTAMATE DE METHYLE N-SIPLYE (69) AVEC DES CHLORURES DE BENZHYDRYLE ET DES BENZHYDROLS SIPLYES

2.1.3.1- CONDENSATION AVEC DES CHLORURES DE BENZHYDRYLE

F. Effenberger et ses collaborateurs ont montré que le pyroglutamate de méthyle N-silylé (69), traité par le bromure de benzhydryle (85b) pendant 50 heures à 130°C, conduit au N-benzhydrylpyroglutamate de méthyle (116b) avec un rendement de 72 % [220-221].

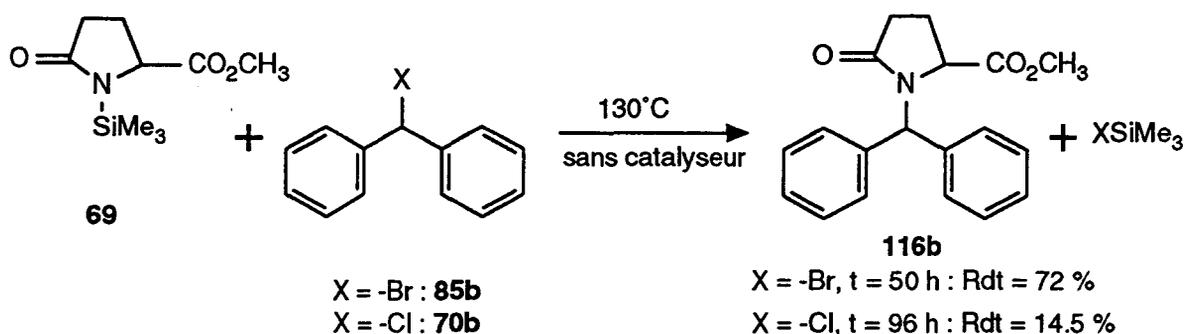


Schéma 58

Nous avons réalisé cette même réaction avec le chlorure de benzhydryle (70b) au lieu du dérivé bromé 85b. celle-ci est encore plus lente puisqu'on obtient, après 96 heures de chauffage, un rendement de 14,5 % en ester 116b.

Au vu de cette observation, nous avons étudié la catalyse de cette condensation par divers agents, comme des acides forts, des acides de Lewis, des bases et l'iode.

Ces résultats de différents essais de condensation du chlorure de benzhydryle (70b) avec le pyroglutamate de méthyle N-silylé (69), menés avec différents catalyseurs, sont regroupés dans le tableau suivant. Toutes les réactions ont été réalisées à 130°C, sans solvant, en distillant le chlorotriméthylsilane formé. Le degré d'avancement de la condensation a été déterminé en mesurant la quantité de chlorotriméthylsilane distillé et par analyse rmn^1H : notamment par le suivi de la disparition du pic correspondant aux protons du groupe $-\text{SiMe}_3$ (0.26 ppm) et, par l'examen des protons de la fonction ester et de l'hydrogène benzylique qui passent respectivement de 3.72 ppm et 6.03 ppm pour les produits initiaux (pyroglutamate de méthyle N-silylé (69) et chlorure de benzhydryle (70b)) à 3.18 et 6.53 ppm pour le N-benzhydrylpyroglutamate de méthyle (116b).

Catalyseur	$n_{\text{chlorure 70b}} : n_{\text{cat.}}$	Durée	Rendement (d'après rmn^1H)
-	1 : 0	96 h	14.5 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	188 : 1	2 h	100 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	44 : 1	1 h	100 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{SiMe}_3$	44 : 1	1 h	100 %
$\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$	10 : 1	26 h	56 %
$\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$	10 : 1	39 h	73 %
ClSO_3H	37 : 1	9 h	87 %
ClSO_3H	10 : 1	2.5 h	88.5 %
HgCl_2	90 : 1	45 h	88.5 %
HgCl_2	10 : 1	15 mn	100 %
SnCl_4	10 : 1	15 mn	100 %
AlCl_3	10 : 1	15 mn	75 %
$(\text{CH}_3)_3\text{SiOK}$	20 : 1	60 h	23 %
$(\text{CH}_3)_3\text{SiOK}$	10 : 1	26 h	18.6 %
$(\text{CH}_3)_3\text{SiOK}$	4 : 1	65 h	24.2 %
SiO_2	10 : 1	26 h	26 %
SiO_2	10 : 1	39 h	45 %
SiO_2	1 : 6	23 h	77.5 %
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$	10 : 1	26 h	84.7 %
KF	10 : 1	26 h	42.4 %
KF	10 : 1	39 h	68.5 %
I_2	464 : 1	26 h	38.9 %
I_2	63 : 1	1 h	100 %

Tableau 3

Les divers composés que nous avons testés sont tous capables de catalyser la condensation du pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) avec le chlorure de benzhydryle (**70b**). Le N-benzhydrylpyroglutamate de méthyle (**116b**) obtenu est optiquement actif ; le dérivé pyroglutamique **69** de départ n'a donc pas subi de racémisation au cours de la réaction. Dans de nombreux cas la cinétique peut même être beaucoup plus élevée que pour les expériences menées sans catalyseur avec le bromure de benzhydryle (**85b**). Les résultats les plus intéressants ont été observés avec trois familles d'agents chimiques différents qui ont permis d'obtenir quantitativement et très rapidement l'ester **116b** :

- des catalyseurs de Friedel-Crafts comme le chlorure mercurique, le tétrachlorure d'étain ...

- des acides de Brønsted forts comme l'acide triflique, l'acide chlorosulfonique ...

- l'iode.

Dans les mêmes conditions réactionnelles (130°C, sans solvant, distillation du chlorotriméthylsilane formé), nous avons aussi fait réagir d'autres chlorures de benzhydryle commerciaux (**70d,g-h**) avec le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) en utilisant l'acide triflique comme catalyseur.

n°	-R ₁	-R ₂	Durée	n _{chlorure 70} : n _{cat.}	Rendement (d'après $^1\text{H-NMR}$)
b	-H	-H	1 h	44 : 1	100 %
d	-OCH ₃	-OCH ₃	15 mn	364 : 1	100 %
g	-Cl	-H	1.5 h	41 : 1	100 %
h	-F	-F	2 h	37 : 1	100 %

Tableau 4

Le tableau n°4 montre que la réaction de condensation du pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) avec le chlorure de benzhydryle (**70b**) réalisée en présence d'acide triflique, est généralisable à d'autres chlorures de benzhydryle (**70d,g-h**). Dans le cas du chlorure de 4-chlorobenzhydryle (**70g**), l'ester **116g** obtenu possède deux carbones asymétriques. La rmn^1H montre la présence de deux diastéréoisomères dans des proportions de 1:1 : le déplacement chimique des protons de la fonction ester est assez différent pour les deux composés (3.19 ppm et 3.25 ppm).

On peut remarquer que la nature des substituants portés par les noyaux aromatiques influence fortement l'électrophilie des chlorures de benzhydryle. Plus les noyaux aromatiques possèdent des groupes électrodonneurs, plus la cinétique de N-alkylation du pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) est importante. En effet, la vitesse de condensation avec divers chlorures de benzhydryle croît dans l'ordre suivant : chlorure de 4,4'-difluorobenzhydryle (**70h**), chlorure de 4-chlorobenzhydryle (**70g**), chlorure de benzhydryle (**70b**) et enfin chlorure de 4,4'-diméthoxybenzhydryle (**70d**).

Ces méthodes de préparation d'esters pyroglutamiques N-benzhydryliques **116b,d,g-h** sont très simples à réaliser et relativement rapides. Il suffit de mélanger le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**), le chlorure de benzhydryle **70b,d,g-h**, puis d'ajouter la faible quantité de catalyseur nécessaire et de porter à 130°C, sans solvant, jusqu'à la fin du dégagement de chlorotriméthylsilane. L'isolement des esters **116b,d,g-h** est extrêmement facile. En effet, avec certains catalyseurs (comme l'acide triflique, le chlorure de mercure, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$, l'iode ...) et certains chlorures de benzhydryle, lorsque le milieu réactionnel est ramené à température ambiante, l'ester N-benzhydrylpyroglutamique cristallise directement. Dans ce cas, il est simplement nécessaire de laver l'ester obtenu à l'eau afin d'hydrolyser l'excès de pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) utilisé et de l'éliminer ainsi que le catalyseur. Une autre méthode de purification consiste à reprendre le mélange réactionnel au chlorure de méthylène, laver à l'eau, sécher et concentrer le solvant.

Nous avons examiné la généralisation de cette réaction de condensation catalysée en faisant réagir, d'une manière identique, le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) avec d'autres composés possédant un halogène mobile.

Par exemple, les halogénures de benzyle **78a** et **84a** permettent de préparer le N-benzylpyroglutamate de méthyle (**76a**). L'acide triflique catalyse la N-alkylation du chlorure de benzyle (**78a**) ; cependant, il n'améliore pas la cinétique de la réaction menée avec le bromure de benzyle (**84a**).

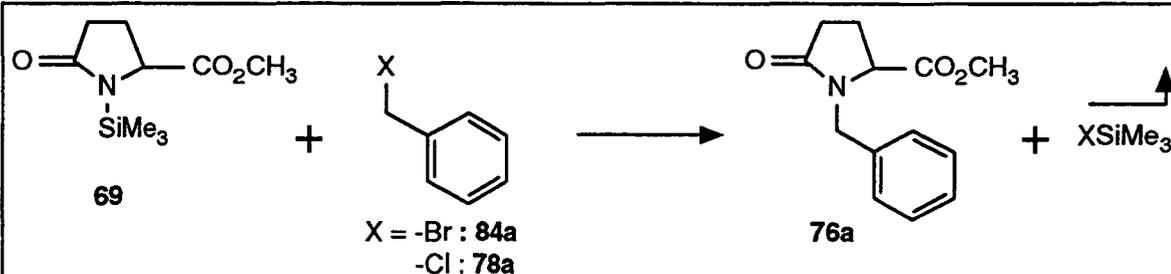
				
-X	Température	Durée	$n_{\text{halogénure}} : n_{\text{cat.}}$	Rendement
-Br	130°C	12 h	69 : 1	80 %
	130°C	12 h	1 : 0	81 %
-Cl	160°C	33 h	69 : 1	71 %
	160°C	81 h	1 : 0	56 %

Tableau 5

Contrairement au chlorure de 4-nitrobenzyle (**78b**) [218], le bromure de 2-nitrobenzyle (**84c**) ne se condense pas avec le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) en l'absence de catalyseur. Seule une dégradation du bromure de 2-nitrobenzyle (**84c**) est observée. En présence d'acide triflique, en même temps qu'une dégradation partielle du dérivé bromé **84c**, on peut obtenir le N-orthonitrobenzylpyroglutamate de méthyle (**76c**) avec un rendement inférieur à 20 %. Il est toutefois possible de préparer l'ester **76c** avec un bon rendement par réaction du bromure **84c** avec l'iminoéther du pyroglutamate de méthyle **72b** en travaillant à température peu élevée [272].

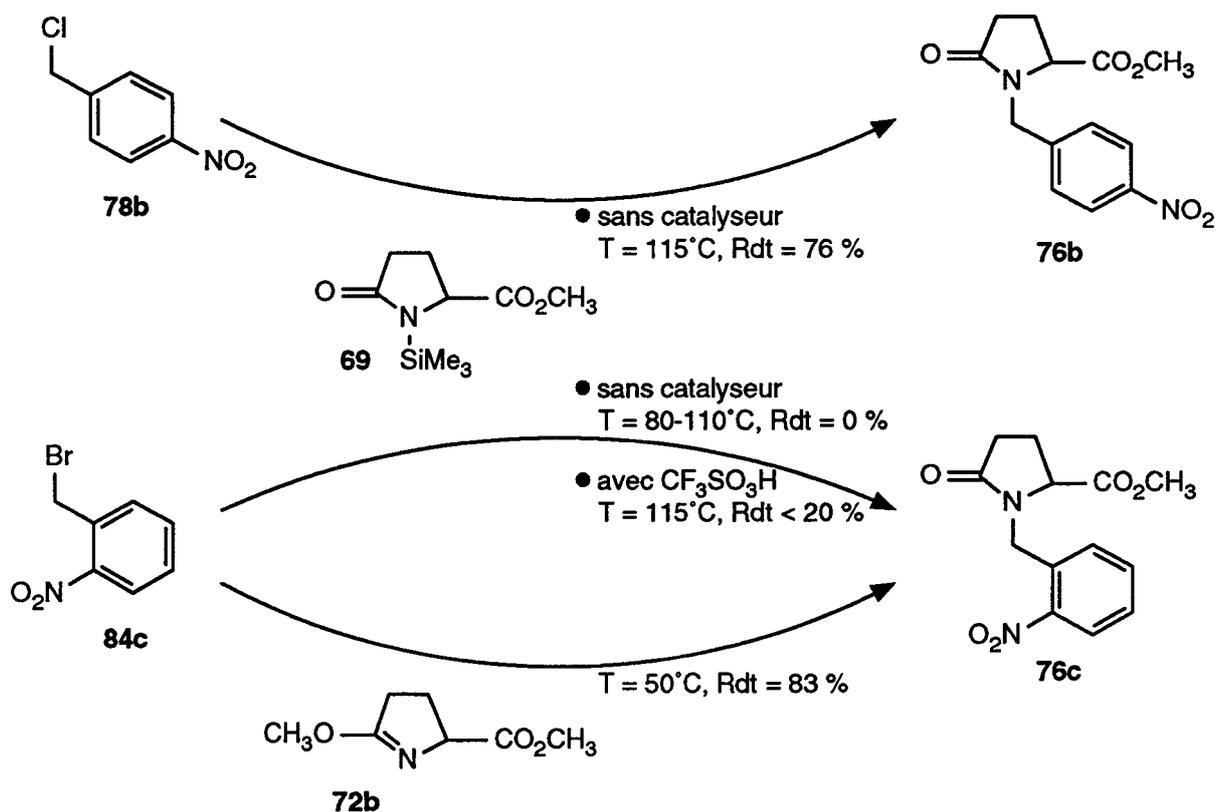


Schéma 59

Un mécanisme possible expliquant la dégradation du bromure de 2-nitrobenzyle (84c) s'inspire des travaux de A.D. Mease et de ses collaborateurs effectués sur le dérivé 85i [273].

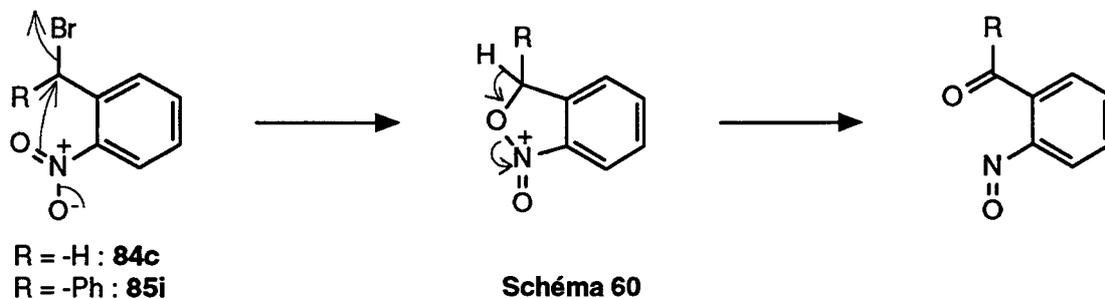


Schéma 60

Par ailleurs, cette réaction de N-alkylation réalisée avec le chlorure de 3,4,5-triméthoxybenzyle (78d) a échoué. Une polymérisation du chlorure 78d a probablement eu lieu.

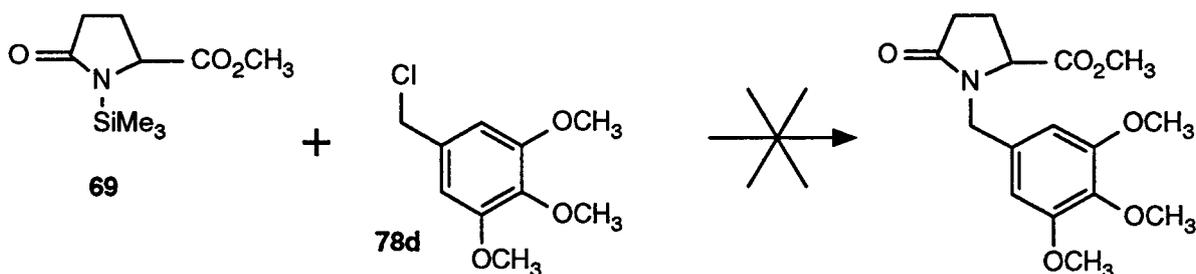


Schéma 61

Le chloro-2-benzothiazole (**117**) est aussi un dérivé halogéné pouvant facilement subir des réactions de substitution de type nucléophile. Traité par le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) et l'acide triflique, il conduit au produit **118** avec un rendement de 90 % (le racémique a été préalablement obtenu à partir du pyroglutamate de méthyle N-sodé avec un rendement de 42 % [274]).

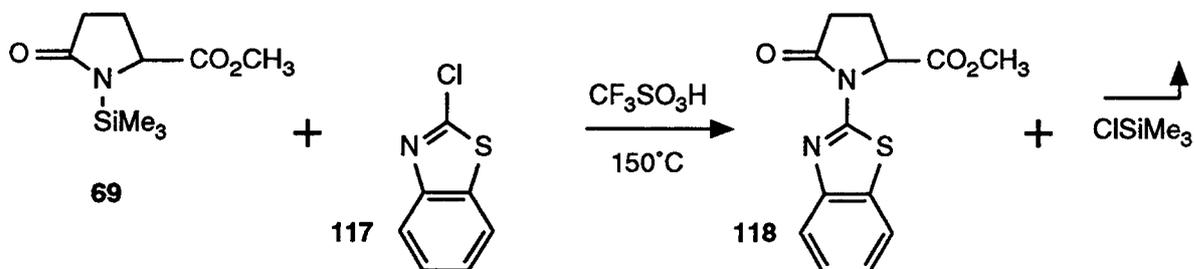


Schéma 62

Les N-phénéthyllactames sont généralement préparés par introduction du groupe phénacyle sur le noyau lactame suivie d'une réduction de la fonction cétone [195, 275-279]. Pour notre part, nous avons essayé de synthétiser directement le N-phénéthyl pyroglutamique **120** à partir du pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) et du chlorure (**119b**) ou du bromure de phénéthyle (**119a**). Lorsque la condensation est tentée sans catalyseur, aucune réaction n'est observée. L'utilisation de l'acide triflique entraîne une déshalogénéation de **119a** et **119b** en styrène qui, par la suite, se polymérise.

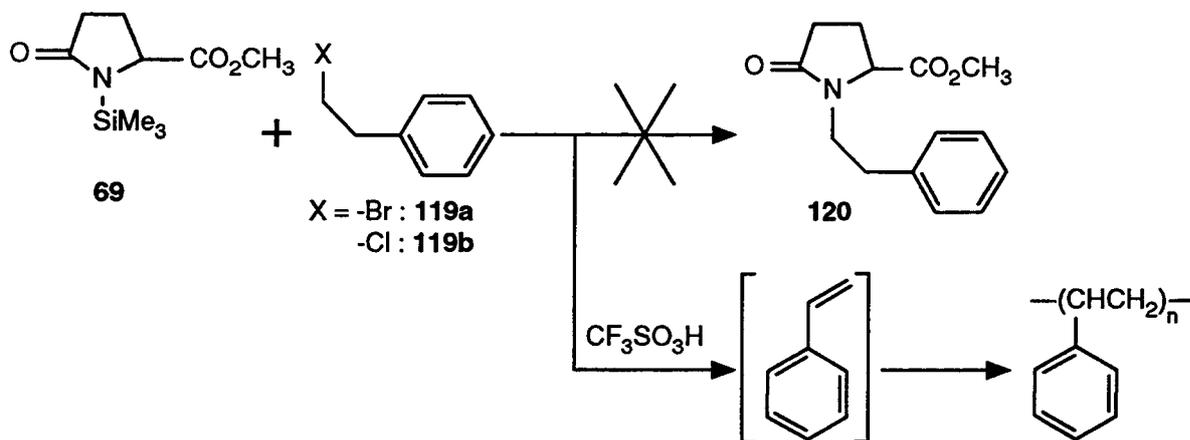


Schéma 63

Les mêmes problèmes de déshalogénéation sont rencontrés avec le bromure (**121a**) et le chlorure de tertio-butyle (**121b**).

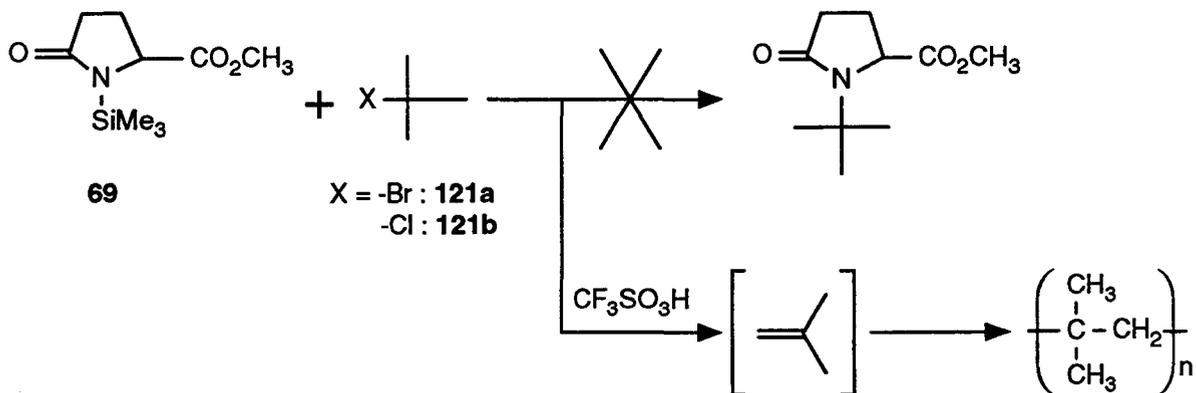


Schéma 64

Nous nous sommes aussi intéressés à greffer un noyau pyridinique sur le cycle pyroglutamique. Cependant, avec la 2-chloropyridine (**122**), aucune réaction n'est observée après 48 h de chauffage à 130°C en présence d'acide triflique.

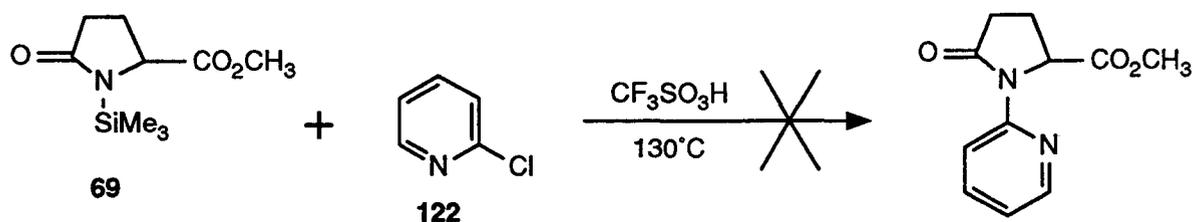


Schéma 65

Il est probable que, dans ce cas, l'acide triflique soit neutralisé par la base présente dans le milieu (2-chloropyridine (**122**)).

2.1.3.2- CONDENSATION AVEC DES BENZHYDROLS SILYLES.

Nous avons aussi tenté de préparer les pyroglutamates de méthyle N-benzhydrylés **116** à partir de benzhydrols silylés **71**, au lieu des bromures (**85**) ou des chlorures de benzhydryle **70**, en espérant que ces composés silylés **71** soient suffisamment électrophiles pour être N-alkylés par le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**).

Des essais de condensation ont été effectués avec les benzhydrols silylés **71b,d-e** à 130°C, sans solvant et en distillant l'hexaméthylidisiloxane susceptible de se former.

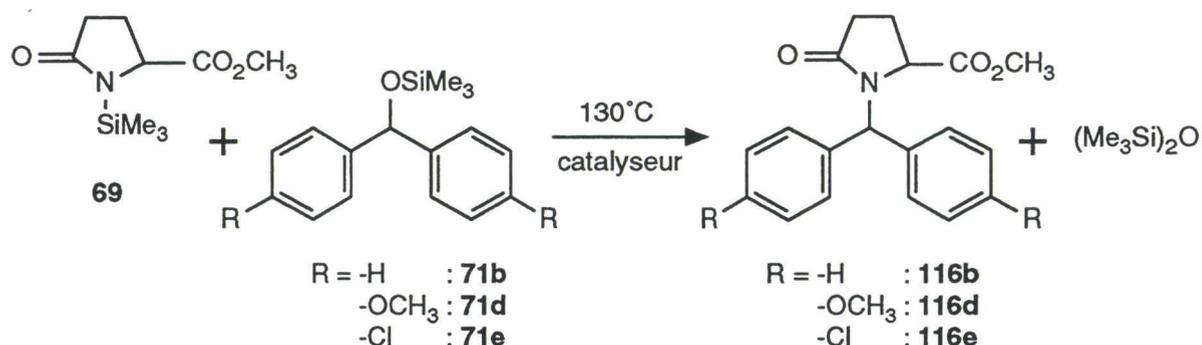


Schéma 66

En l'absence de catalyseur, après 100 heures de réaction, aucune formation d'esters N-benzhydryliques **116b,d-e** et aucune évolution des produits initiaux ne sont observables en rnm^1H .

Comme pour le chlorure de benzhydryle **70b**, nous avons étudié la réactivité de ces benzhydrols silylés **71b,d-e**, particulièrement le benzhydrol silylé (**71b**) et le 4,4'-diméthoxybenzhydrol silylé (**71d**), avec le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) en présence de divers catalyseurs (tableaux 6-8).

Catalyseur	$n_{\text{chlorure 71b}} : n_{\text{cat.}}$	Durée	Rendement (d'après rmn^1H)
-	1 : 0	96 h	0 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	35 : 1	1.5 h	100 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	20 : 1	45 mn	93.5 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	9 : 1	15 mn	100 %
ClSO_3H	24 : 1	18 h	100 %
HgCl_2	2 : 1	1 h	100 %
$(\text{CH}_3)_3\text{SiOK}$	2 : 1	< 6 mn	100 %
SiO_2	2 : 1	26 h	0 %
CsF	1 : 1	30 h	0 %
I_2	2 : 1	< 6 mn	100 %

Tableau 6

Catalyseur	$n_{\text{chlorure 71d}} : n_{\text{cat.}}$	Durée	Rendement (d'après mn^1H)
-	1 : 0	80 h	0 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	36 : 1	20 mn	100 %
HgCl_2	10 : 1	2 h	63 %
HgCl_2	10 : 1	3 h	100 %
SnCl_4	10 : 1	15 mn	100 %
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$	10 : 1	4 h	77 %
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$	10 : 1	6 h	100 %
I_2	10 : 1	< 2 s	100 %
I_2	100 : 1	< 15 mn	100 %

Tableau 7

Catalyseur	$n_{\text{chlorure 71e}} : n_{\text{cat.}}$	Durée	Rendement (d'après rmn^1H)
-	1 : 0	96 h	0 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	31 : 1	5 h	100 %
I_2	1 : 1	4 h	100 %

Tableau 8

On peut constater que certains catalyseurs permettent de préparer les esters N-benzhydrylpyroglutamiques **116b,d-e** par condensation des benzhydrols silylés **71b,d-e** avec le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**).

Comme pour la N-alkylation du chlorure de benzhydryle (**70b**), les catalyseurs les plus intéressants sont des acides vrais ($\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$, ClSO_3H , ...), des acides de Lewis (HgCl_2 , SnCl_4 , ...), et l'iode. Cependant, en employant la même quantité de catalyseur, les benzhydrols silylés se condensent plus lentement avec le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) que les chlorures de benzhydryle correspondants.

Lorsque la condensation est menée à 130°C en présence d'acide de Lewis tels que le chlorure de mercure, le chlorure d'aluminium, le chlorure d'étain, on observe dans un premier temps un dégagement de chlorotriméthylsilane et non d'hexaméthylidisiloxane. A ce stade, l'analyse rmn^1H du milieu réactionnel montre que le benzhydrol silylé (**71b**) n'a pas encore réagi et que le pic correspondant aux protons de la fonction triméthylsilyle du pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) a diminué (ou disparu si le catalyseur est utilisé en quantité équimolaire). La réaction commence donc par une condensation entre le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) et le catalyseur. Par exemple, dans le cas du chlorure de mercure, le produit intermédiaire formé est probablement l'espèce pyroglutamique activée **123** qui réagit, dans un second temps, avec le benzhydrol silylé (**71b**) pour donner le pyroglutamate de méthyle N-benzhydrylé **116b**.

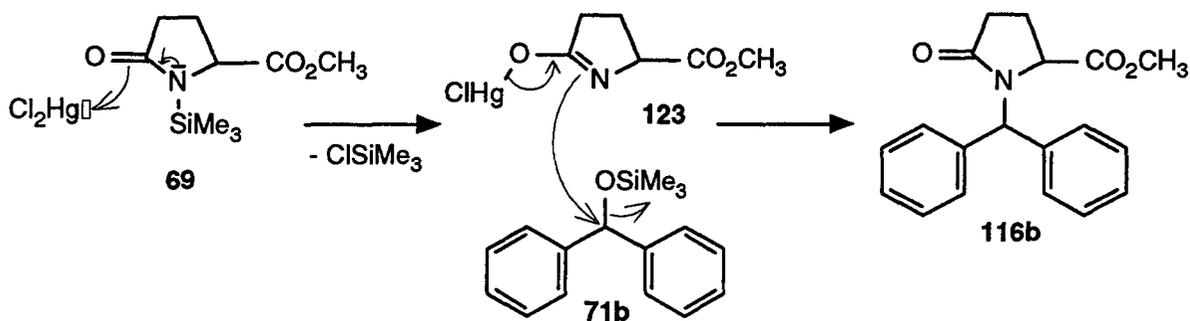


Schéma 67

Il est surprenant, a priori, de noter que ces condensations peuvent aussi être catalysées par des acides tels que l'acide triflique. En effet, nous avons montré que les benzhydrols silylés **71b,d-e** sont instables lorsqu'ils sont traités uniquement par l'acide triflique. Ils se transforment en diphénylméthanes **108b,d-e** et en benzophénones **109b,d-e** par l'intermédiaire d'un dibenzhydryléther **110b,d-e** (chapitre 2.1.2.3). De plus, en faisant réagir le benzhydrol silylé (**71b**) pur avec la même quantité d'acide triflique, nous avons observé que la disproportionation de ce benzhydrol silylé (**71b**) s'effectue beaucoup plus rapidement que sa condensation avec le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**). En effet, le benzhydrol silylé (**71b**) traité par 10 équivalents d'acide triflique à 130°C conduit quantitativement à la benzophénone (**109b**) et au diphénylméthane (**108b**) en quelques secondes (la durée de la réaction est bien inférieure à une minute). Par contre, lors de la condensation du pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) avec le benzhydrol silylé (**71b**) en présence du même nombre d'équivalents molaires d'acide triflique à 130°C, 90 mn sont nécessaires pour observer la disparition totale du benzhydrol silylé (**71b**) qui se transforme en ester **116b**.

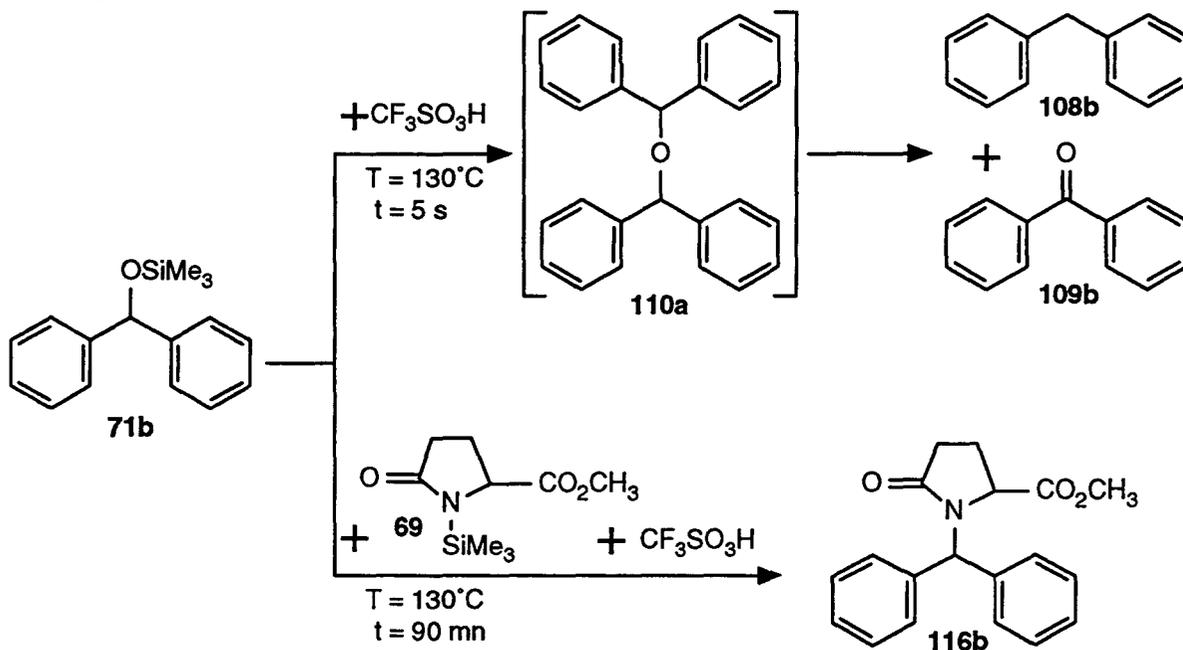


Schéma 68

On peut donc constater que la seule présence du pyroglutamate de méthyle N-silylé (69) permet d'augmenter fortement la stabilité du benzhydrol silylé (71b) vis à vis de l'acide triflique.

Par ailleurs, la condensation du pyroglutamate de méthyle N-silylé (69) avec le benzhydrol silylé (71b) peut aussi être réalisée avec le triflate de silyle au lieu de l'acide triflique. Avec ces deux types de catalyseurs, la cinétique de la réaction semble identique. Nous avons aussi observé que le benzhydrol silylé (71b) est beaucoup moins rapidement disproportionné en présence de triflate de silyle qu'en présence d'acide triflique. Nous avons aussi vérifié que, lorsqu'on fait réagir le pyroglutamate de méthyle N-silylé (69) avec un équivalent molaire d'acide triflique, on a formation instantanée du sel 124. Lors de la distillation de ce mélange, on obtient d'abord du triflate de silyle, puis du pyroglutamate de méthyle (68).

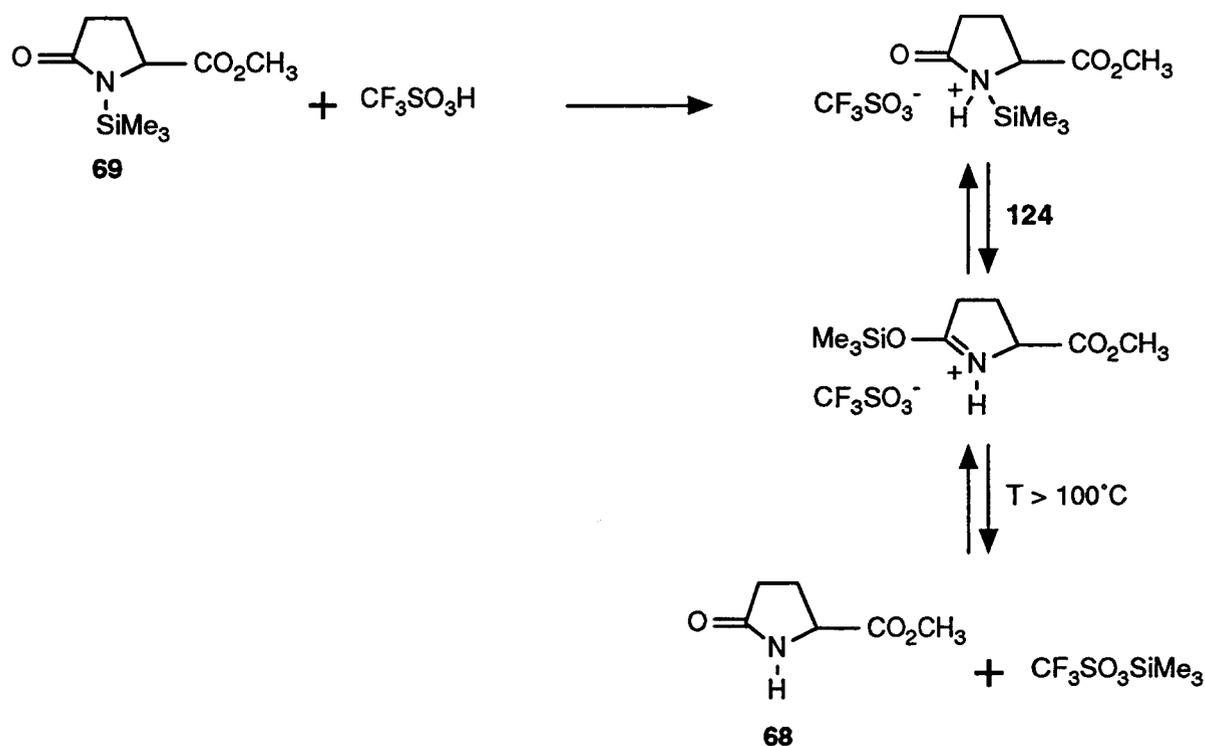


Schéma 69

Ces divers résultats permettent de mieux comprendre l'obtention de l'ester 116b à partir du pyroglutamate de méthyle N-silylé (69) en présence d'acide triflique malgré l'instabilité du benzhydrol silylé (71b). En effet, dans un premier temps, l'acide triflique réagirait avec le pyroglutamate de méthyle N-silylé (69) pour donner le sel 124 qui, sous l'action de la chaleur, fournirait le triflate de silyle. Cette réaction serait plus rapide que la disproportionnement du benzhydrol silylé (71b) en présence d'acide triflique. Le triflate de silyle ainsi formé, beaucoup moins acide que l'acide triflique, conduirait à une réaction de disproportionnement beaucoup plus lente que la réaction d'alkylation.

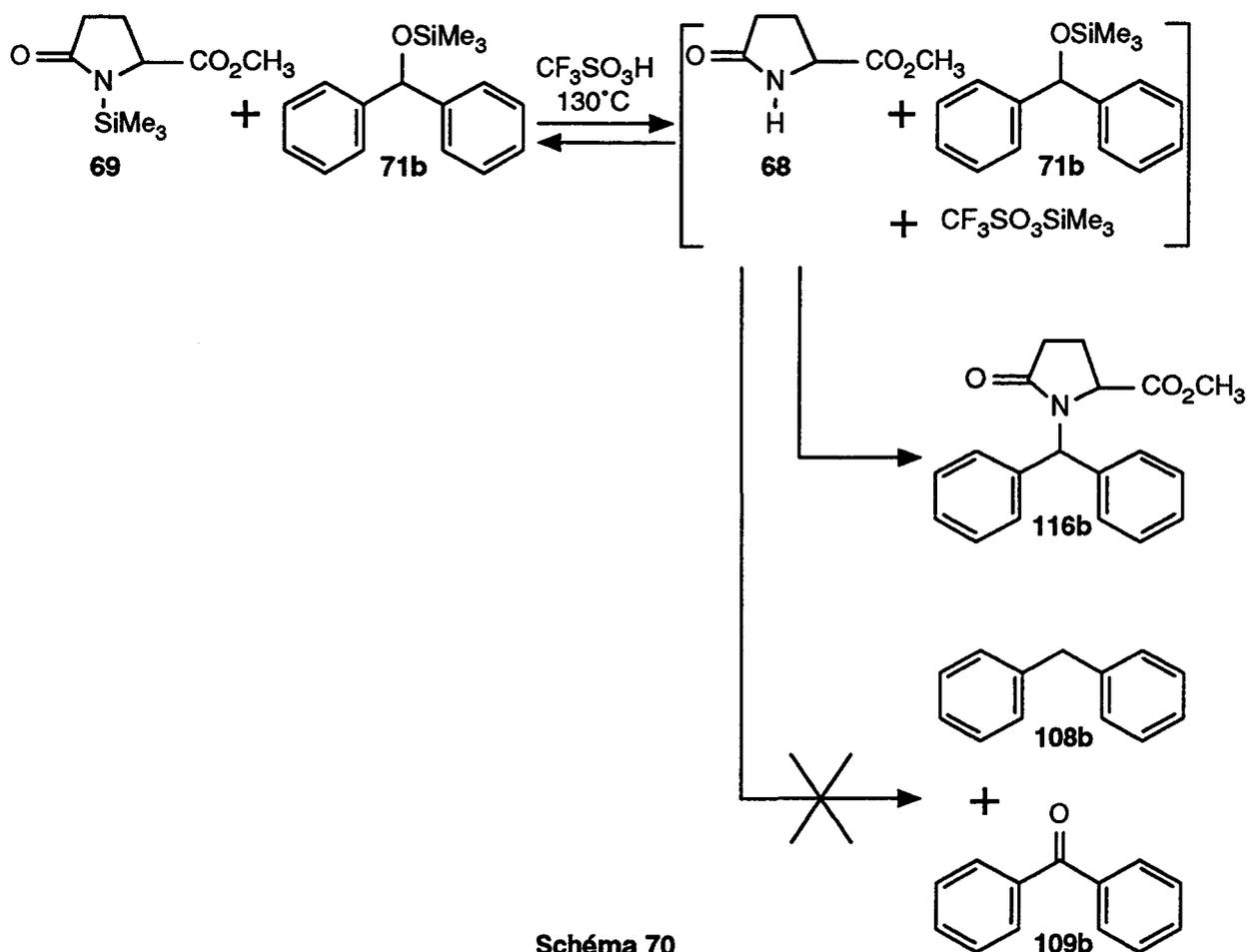


Schéma 70

Une constatation qui conforte cette hypothèse est que lorsqu'on fait réagir le pyroglutamate de méthyle (68) avec un équivalent molaire de triflate de silyle et de benzhydrol silylé (71b), on obtient aussi l'ester pyroglutamique 116b.

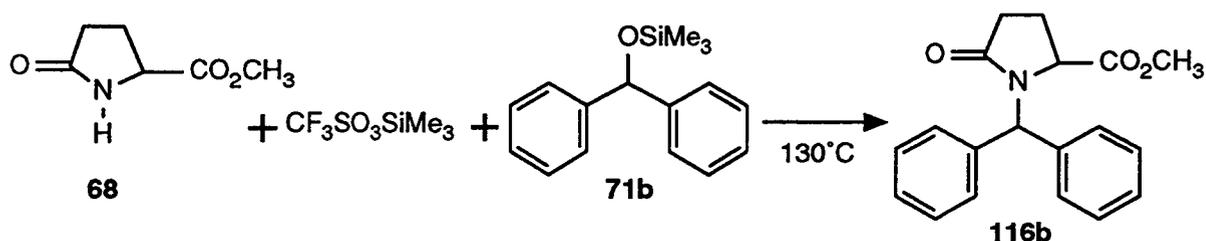


Schéma 71

L'ordre d'introduction des réactifs est donc important lors des réactions de condensation du pyroglutamate de méthyle N-silylé (69) avec les benzhydrols silylés en présence d'acide triflique : les benzhydrols silylés ne doivent, à aucun moment, être mis uniquement en présence d'acide triflique.

2.1.3.3- APPLICATION A D'AUTRES LACTAMES N-SILYLES

Afin de synthétiser des dérivés pyroglutamiques N-benzhydrylés, nous avons notamment étudié la réactivité du pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) avec les chlorures de benzhydryle **70b,d,g-h** et les benzhydrols silylés **71b,d-e**. En présence de certains catalyseurs, nous avons ainsi obtenu les esters correspondants avec d'excellents rendements.

Dans les mêmes conditions réactionnelles, l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (**106**) est aussi capable de N-alkyler le chlorure de benzhydryle (**70b**) et le benzhydrol silylé (**71b**) et conduit, avec un rendement supérieur à 93 % dans les deux cas, à l'acide pyroglutamique O-silylé N-benzhydrylé (**125b**). Par condensation avec le chlorure de benzyle (**84a**), nous avons aussi réussi à préparer le composé **126a**. Nous avons remarqué que la cinétique des N-alkylations de l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (**106**) est du même ordre de grandeur, voire identique, que celle des N-alkylations du pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**).

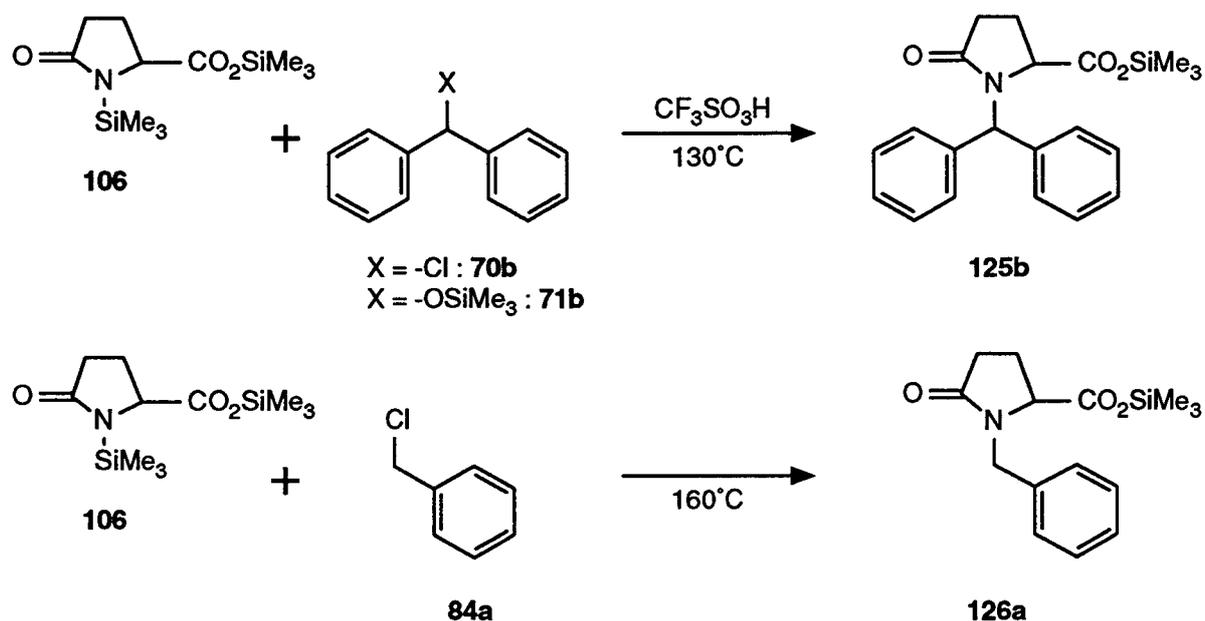


Schéma 72

Ces condensations menant aux acides silylés **125b** et **126a** montrent que l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (**106**) possède, comme le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**), une fonction lactame suffisamment activée et une fonction acide protégée par un groupe triméthylsilyle qui est insensible aux conditions de catalyse utilisées.

Par ailleurs, nous avons réalisé la N-alkylation de la 2-pyrrolidone N-silylé (**127a**) et

du ϵ -caprolactame N-silylé (**127b**) par le chlorure de benzhydryle (**70b**) en présence d'acide triflique. Cependant, lorsque ces réactions sont tentées avec le benzhydrol silylé (**71b**), aucune condensation n'est observée dans les mêmes conditions de température et de concentration en catalyseur.

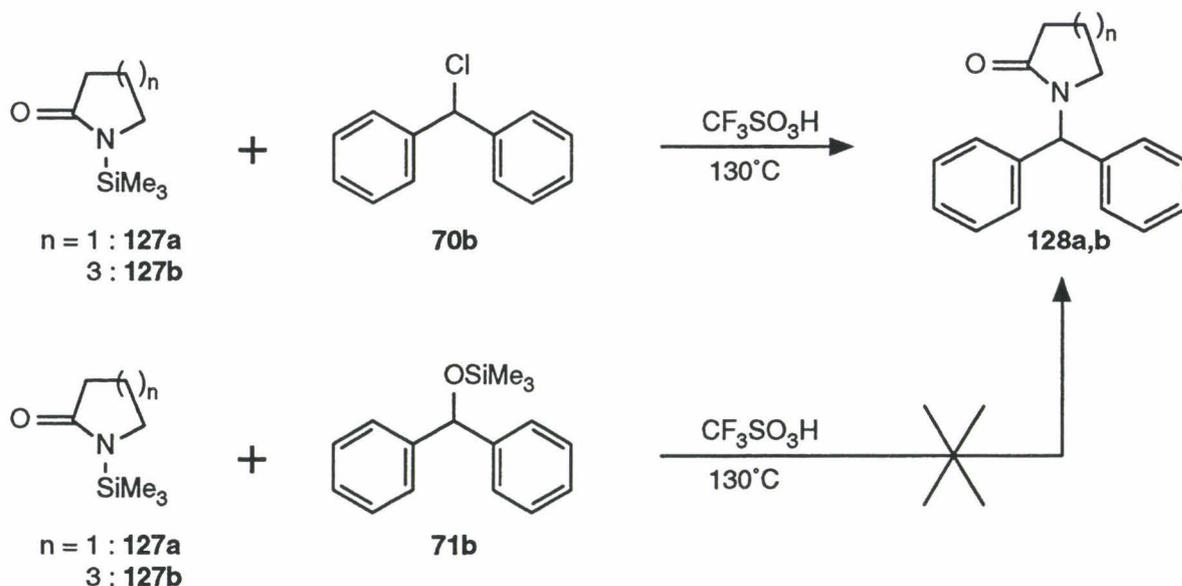


Schéma 73

2.1.4- APPLICATION A LA PREPARATION DE L'ACIDE 67a

2.1.4.1- PREPARATION DU BENZHYDROL 107a

Quelques benzhydrols et chlorures de benzhydryle sont disponibles dans le commerce. Cependant à notre connaissance, le benzhydrol **107a** n'est pas commercialisé et n'a jamais été décrit dans la littérature.

Nous l'avons synthétisé par réaction de Grignard en faisant réagir le 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde (**133**) avec l'organomagnésien mixte **131** ou l'organolithien **132**, préparés à partir du 5-bromo-1,3-benzodioxole (**130**). Ce composé **130** est commercial. Par ailleurs, il peut être facilement obtenu par action du brome sur le 1,3-benzodioxole (**129**) [280].

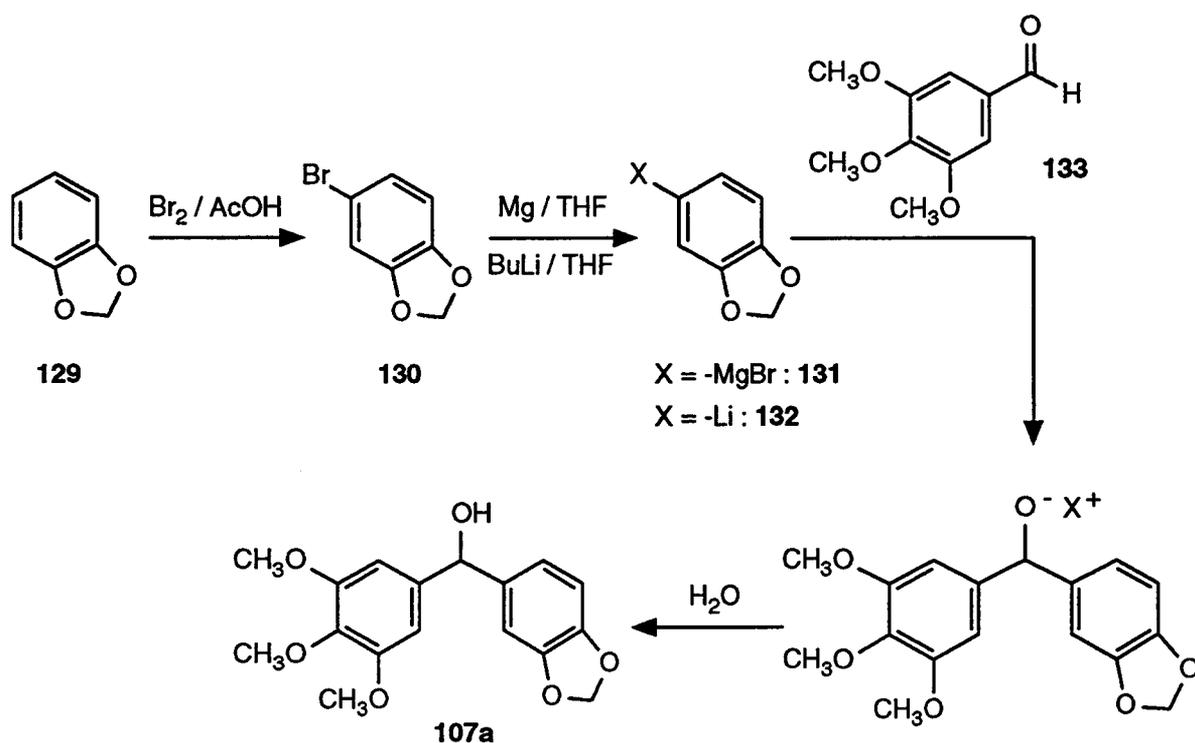


Schéma 74

A priori, le benzhydrol **107a** aurait pu aussi être préparé à partir du pipéronal et du 1-bromo-3,4,5-triméthoxybenzène (**137**). Nous n'avons pas tenté cette méthode qui aurait été plus longue et plus fastidieuse à réaliser que la précédente. En effet, la bromation directe du 1,2,3-triméthoxybenzène conduit à un mélange de produits polybromés.

Toutefois, il est possible de synthétiser ce dérivé bromé **137** :

- par bromation du 2,6-diméthoxyphénol (**134**), suivie d'une reméthylation du 4-bromo-2,6-diméthoxyphénol (**136**) [281-282],
- par bromation complète du 2,6-diméthoxyphénol (**134**) suivie d'une déshalogénéation partielle et d'une reméthylation [283],
- à partir de la 3,4,5-triméthoxyaniline (**138**) via une diazotation [284],
- par une bromation décarboxylante radicalaire de l'acide 3,4,5-triméthoxybenzoïque (**139**) via son chlorure d'acide **140** [285].

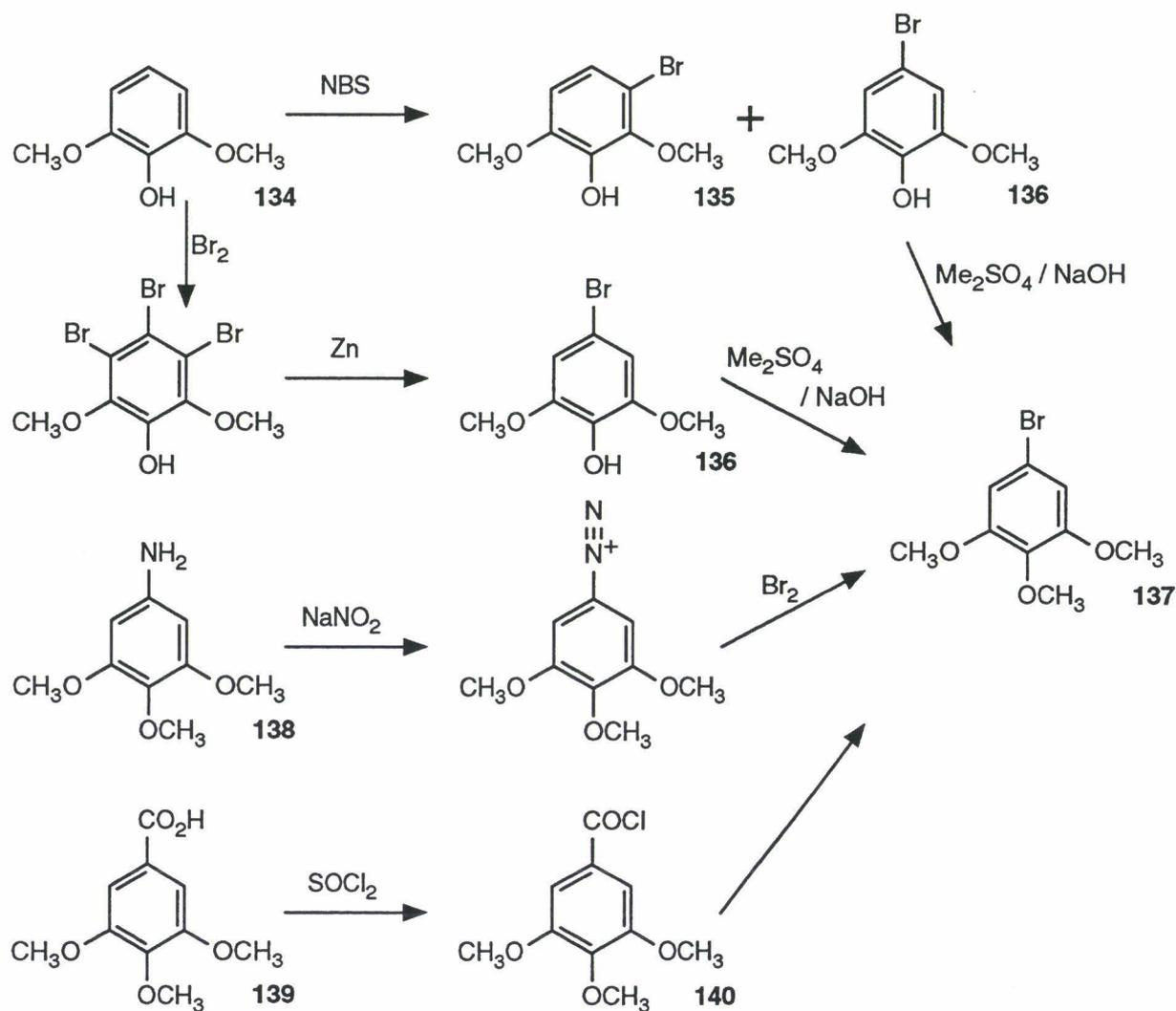


Schéma 75

De manière similaire au benzhydrol **107a**, nous avons préparé les composés **107j-n**. Ce sont des dérivés de la même famille qui possèdent d'autres groupes éther-aromatiques.

Réactifs	Benzhydrol préparé	Rendement

Tableau 9

2.1.4.2- PREPARATION DE L'ESTER 116a

Nous avons mis au point précédemment deux méthodes qui permettent de préparer facilement et avec d'excellents rendements des esters pyroglutamiques N-benzhydrylés : en faisant réagir le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**), en présence de catalyseur, soit avec des halogénures de benzhydryle, soit avec des benzhydrols silylés.

Aussi, il semblait envisageable d'obtenir l'ester **116a** par ces mêmes réactions à partir du chlorure de benzhydryle **70a** ou du benzhydrol silylé **71a**.

Nous avons tenté de synthétiser le chlorure de benzhydryle **70a** par halogénéation du benzhydrol **107a**. L'utilisation d'acide chlorhydrique n'a permis de préparer ce chlorure **70a** qu'avec un rendement moyen (40 %). Lors de cette réaction, il y a aussi formation de produits secondaires, même à 0°C, qui n'ont pas été identifiés (ce sont probablement des composés issus de la disproportionnation du benzhydrol **107a**). Ce chlorure de benzhydryle **70a** est capable de se condenser avec le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) pour conduire à l'ester **116a** désiré.

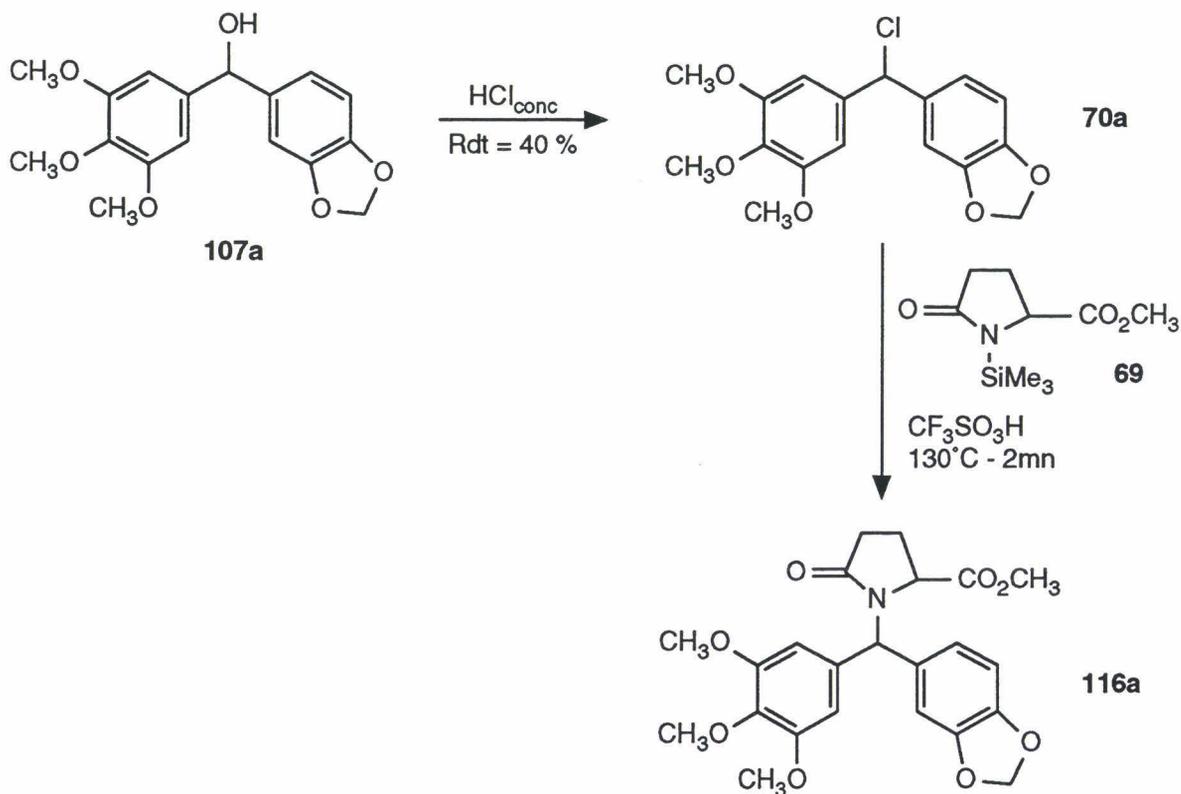


Schéma 76

Quant au benzhydrol silylé **71a**, il est possible de le préparer quantitativement à partir du benzhydrol **107a** en traitant ce dernier par de l'hexaméthyldisilazane et quelques gouttes de chlorotriméthylsilane. Après distillation de l'excès d'hexaméthyldisilazane (le chlorure d'ammonium formé sublime), le benzhydrol silylé **71a** obtenu est suffisamment pur pour être directement traité par le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) en présence d'un catalyseur comme l'acide triflique ou l'iode. Cette réaction de condensation conduisant à l'ester **116a** est terminée en moins de 15 mn de chauffage.

A l'inverse de l'autre procédure qui utilise le chlorure de benzhydryle **70a**, cette voie de synthèse présente la possibilité d'une préparation "one pot" de l'ester **116a** à partir du benzhydrol **107a** avec un rendement global assez élevé (96 %) (c'est la principale raison pour laquelle nous n'avons pas cherché à améliorer la réaction d'halogénéation du benzhydrol **107a** en chlorure de benzhydryle **70a**).

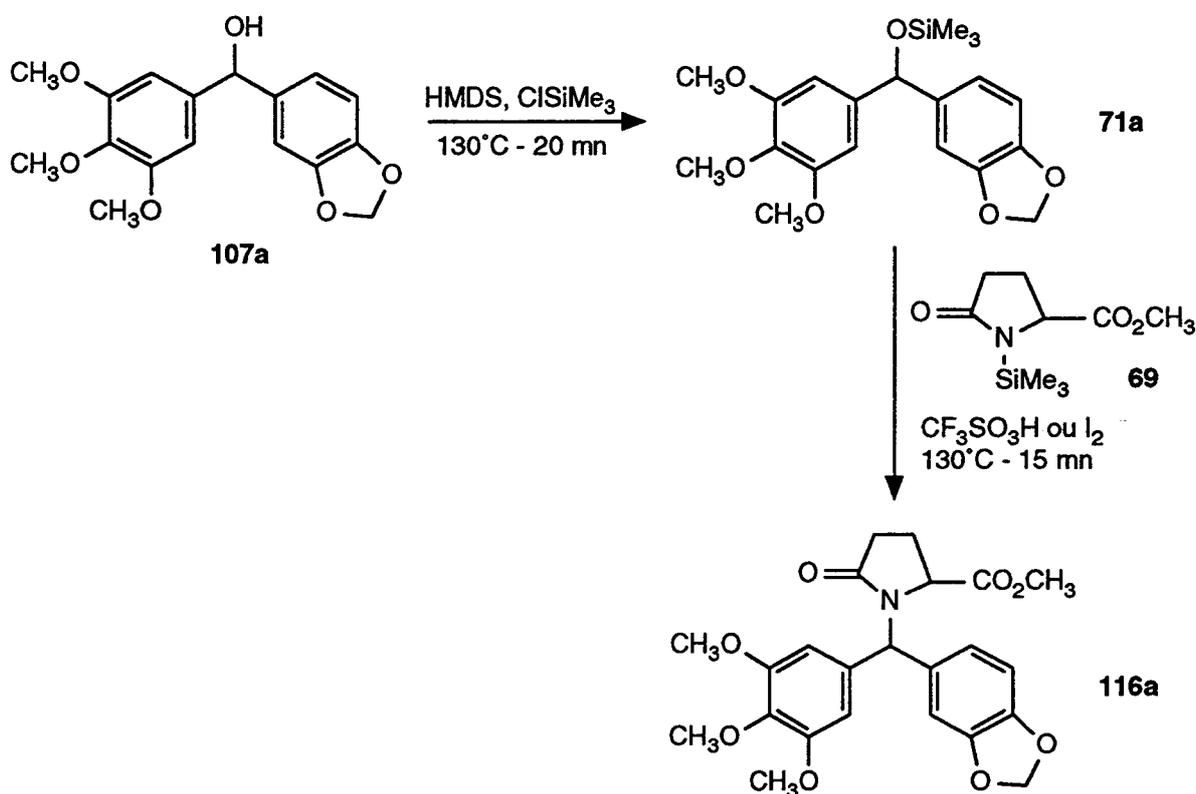


Schéma 77

Par cette méthode "one pot" nous avons aussi synthétisé d'autres esters pyroglutamiques N-benzhydrylés, dérivés de l'ester **116a**, à partir des benzhydrols **107j-n**. Hormis le composé **116n**, tous ces esters présentent deux carbones asymétriques et sont obtenus sous forme de deux diastéréoisomères dans des proportions de 1:1 (d'après l'analyse rmn^1H). Ces deux diastéréoisomères diffèrent par la stéréochimie du carbone benzylique.

Benzhydrol de départ	ester préparé	Rendement
 107a,j-n	 116a,j-n	
 107a	 116a	96 %
 107j	 116j	95 %
 107k	 116k	95 %
 107l	 116l	91 %
 107m	 116m	94 %
 107n	 116n	97 %

Tableau 10

2.1.4.3- PREPARATION DE L'ACIDE **67a**

L'acide **67a** ainsi que les acides **67b,d,j-n** peuvent être facilement préparés par saponification des esters **116a** et **116b,d,j-n**.

Comme les esters **116a,j-m** dont ils sont issus, les acides **67a,j-m** présentent deux carbones asymétriques et sont obtenus sous forme de deux diastéréoisomères dans des proportions de 1:1 (d'après l'analyse rmn^1H).

ester de départ : 116a-b,d,j-n	acide préparé : 67a-b,d,j-n	Rendement
 116a	 67a	82 %
 116j	 67j	92 %
 116k	 67k	79 %
 116l	 67l	83 %
 116m	 67m	74 %
 116n	 67n	80 %
 116d	 67d	97 %
 116b	 67b	93 %

Tableau 11

2.1.4.4- PREPARATION "ONE POT" DE L'ACIDE **67a** A PARTIR DU BENZHYDROL **107a**

Nous avons montré précédemment que l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (**106**) est capable de se condenser au benzhydrol silylé (**71b**) pour donner l'acide pyroglutamique N-benzhydrylique O-silylé (**125b**) (chapitre 2.1.3.3).

Il est aussi possible de mener cette N-alkylation avec le benzhydrol silylé **71a** qui peut être préparé *in situ* à partir du benzhydrol **107a**. On obtient ainsi quantitativement l'acide O-silylé **125a**. L'ajout d'eau au milieu réactionnel permet d'hydrolyser instantanément ce composé **125a** en acide **67a**. Ainsi, nous avons réussi à synthétiser l'acide **67a** en "one pot" à partir du benzhydrol **107a** et de l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (**106**). Le rendement global à partir du benzhydrol **107a** est de 96 %.

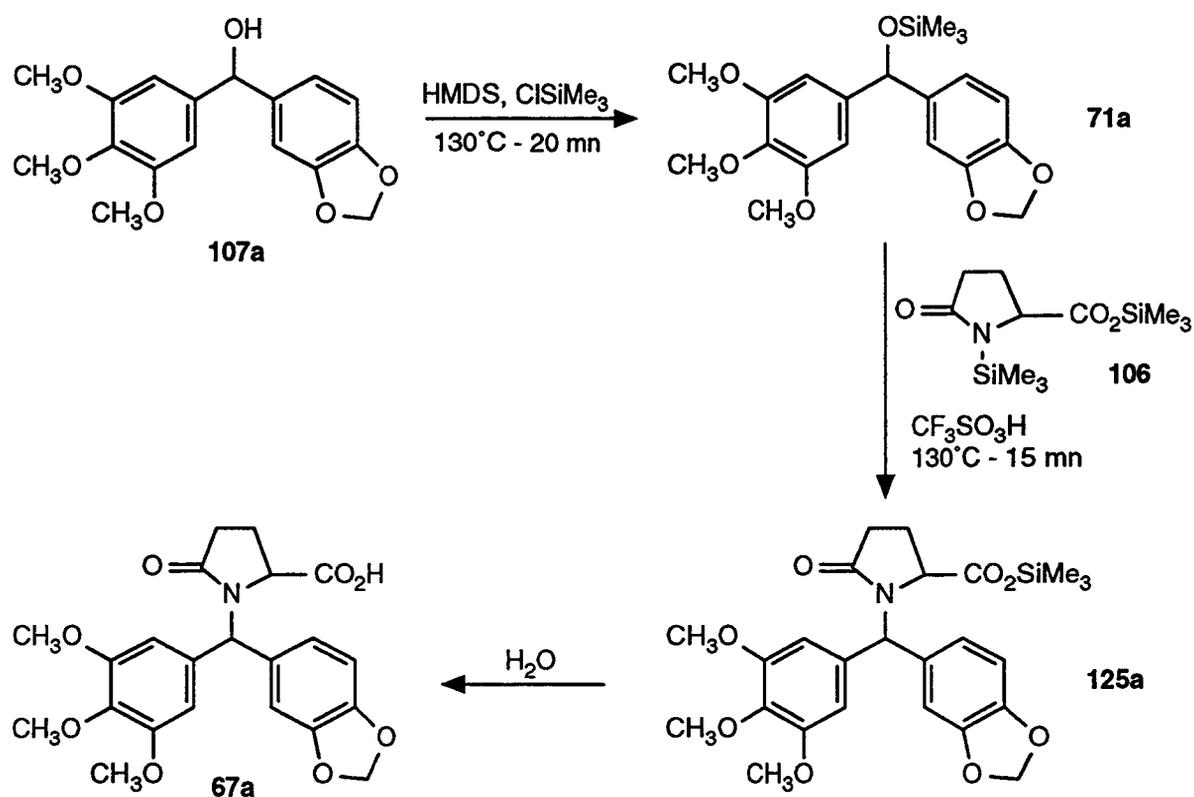


Schéma 78

Par ailleurs, lorsqu'on utilise le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) comme synthon pyroglutamique, la préparation de l'acide **67a** est plus longue. En effet, il est nécessaire d'isoler et de purifier l'ester **116a** avant d'en réaliser la saponification. De plus, dans ce cas, le rendement total de la synthèse de cet acide **67a** est moins élevé puisqu'il est de 78 % (contre 96 % par la méthode "one pot").

2.2- SYNTHÈSE DE LA 2-AZA-10-CARBA-4-CETOPODO-PHYLLOTOXINE (56a)

La seconde étape clef de notre synthèse de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (4a) consiste à cycliser l'acide N-benzhydrylpyroglutamique **67a** en cétone **56a** par une réaction de type Friedel-Crafts intramoléculaire.

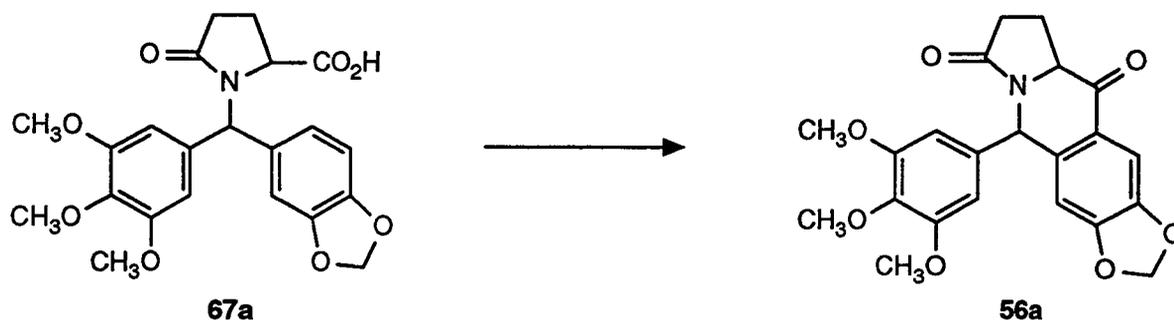
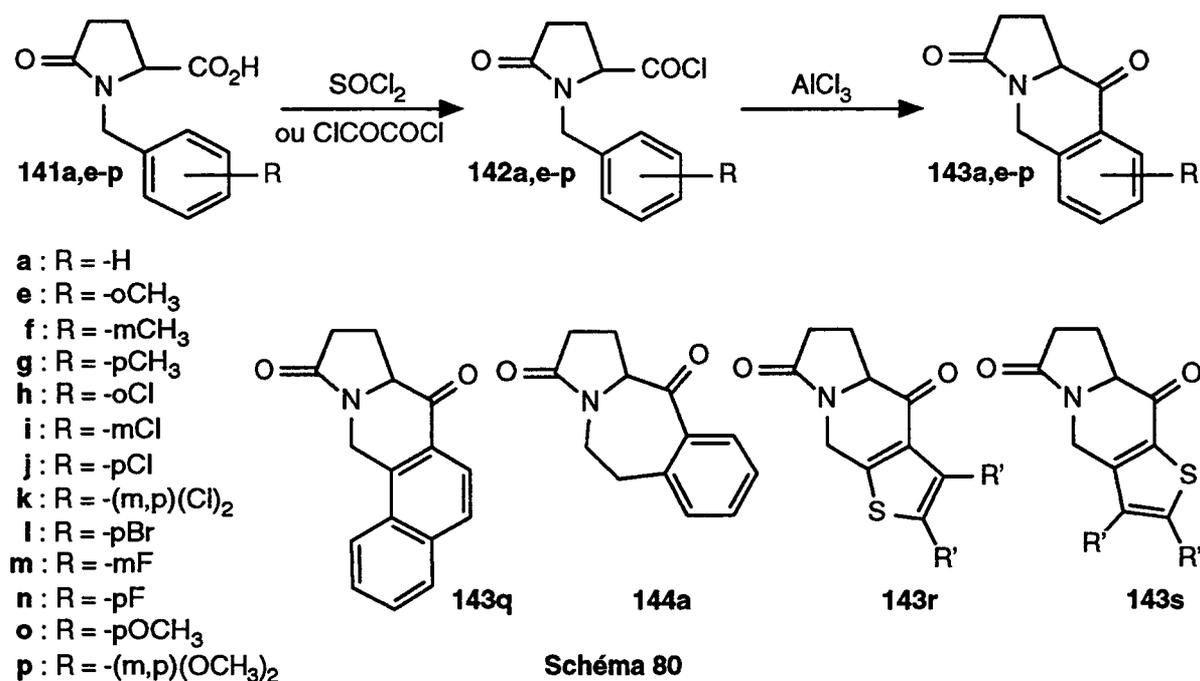


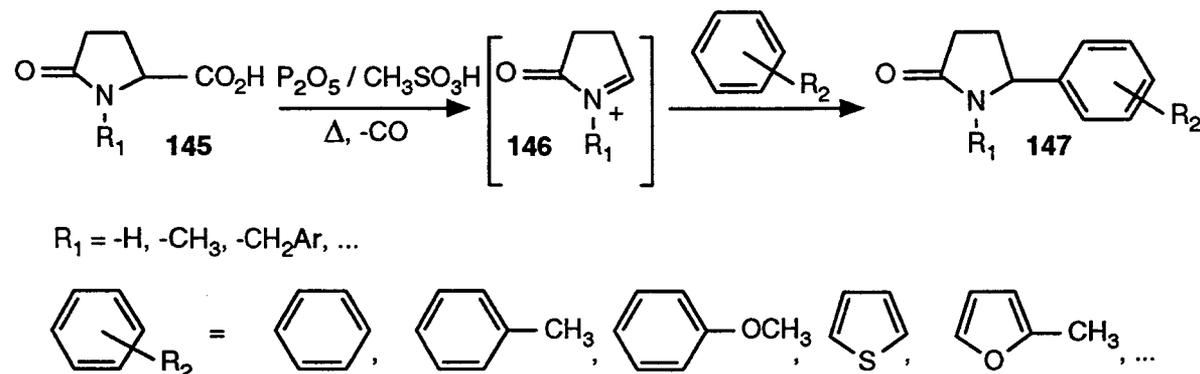
Schéma 79

2.2.1- RESULTATS DE LA LITTERATURE

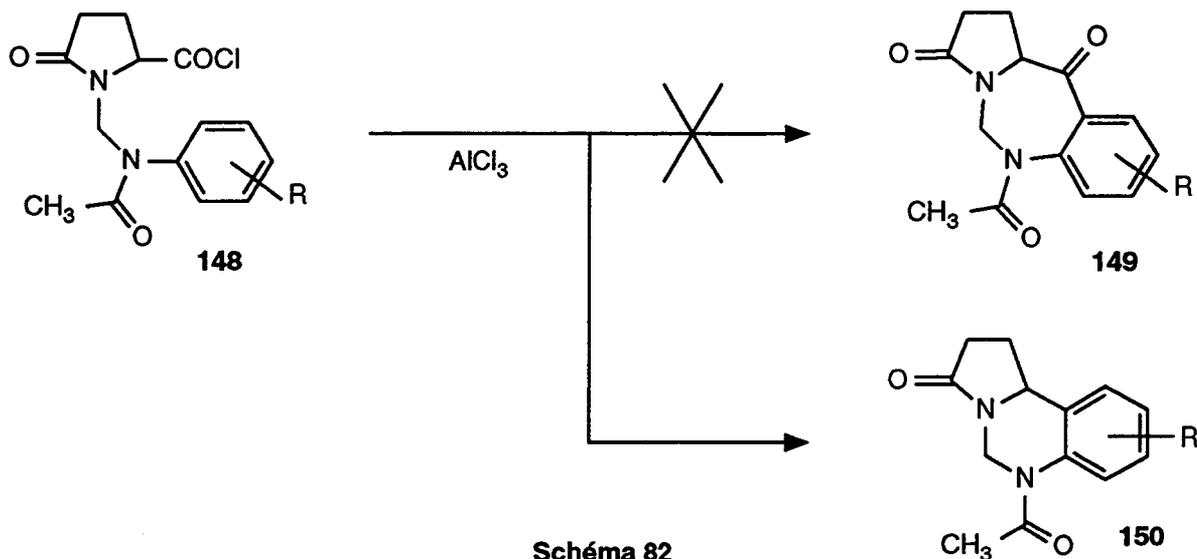
La littérature reporte de nombreuses réactions de Friedel-Crafts intramoléculaires dans la série des acides pyroglutamiques. Les chlorures d'acide N-benzylpyroglutamiques **142a,e-p**, obtenus par réaction du chlorure de thionyle ou du chlorure d'oxalyle sur l'acide **141a,e-p**, sont généralement capables de se cycliser avec de bons rendements en présence de chlorure d'aluminium. Le noyau aromatique peut être substitué par des halogènes, des groupes méthyle, un ou deux méthoxy [209-211, 213, 286-287] ... De manière identique, les composés **143q-s** et **144a** ont été synthétisés [211, 213, 286].



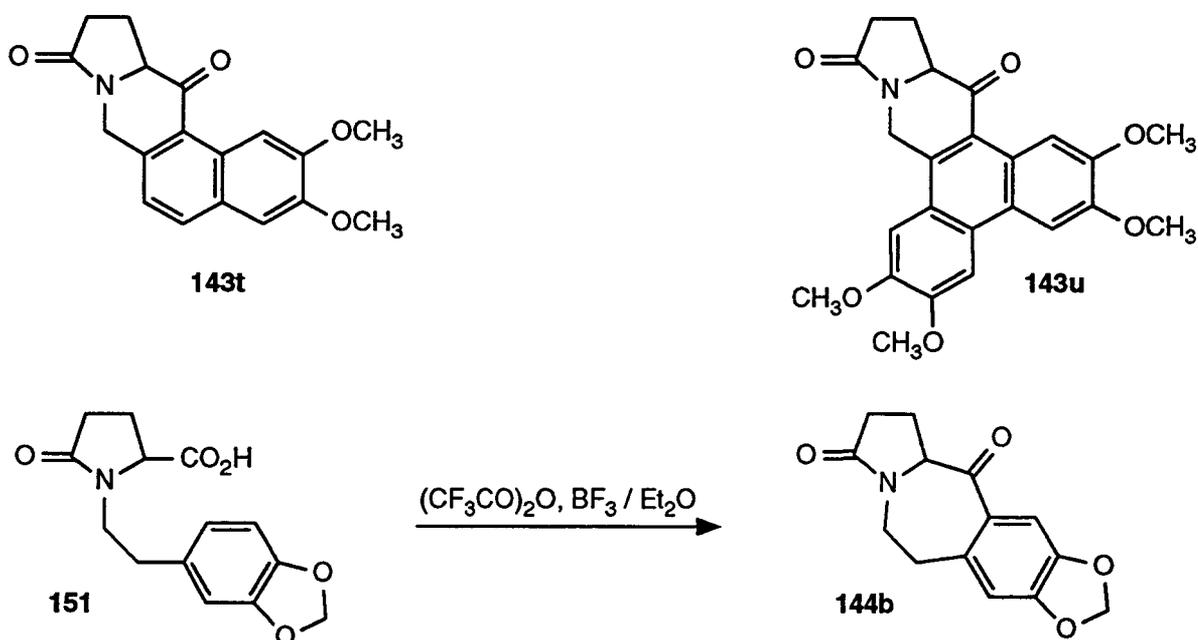
Par contre, il n'est pas possible de réaliser ces réactions de Friedel-Crafts en utilisant un agent acide déshydratant comme le mélange P₂O₅ / CH₃SO₃H, le PPA, le PPE ou le PPSE [288-291]. Dans ces conditions, l'acide pyroglutamique **145** subit une décarbonylation donnant un sel d'acyl imminium **146** qui peut réagir avec un noyau aromatique pour conduire à une 5-aryl-2-pyrrolidinone **147** [291].



Par un mécanisme similaire, les chlorures d'acide **148** ne sont pas cyclisés par le chlorure d'aluminium en cétones **149** mais, après décarbonylation, en produits **150** [292].



Les cétones **143t** et **143u** possèdent des substituants méthoxy comme les produits **143o** et **143p**, mais leur préparation nécessite un acide de Lewis plus doux : les essais de cyclisation menés avec le chlorure d'aluminium conduisent à un clivage partiel des éthers aromatiques de ces cétones [287, 293]. Toutefois, par reméthylation exhaustive de ces produits, il est possible d'obtenir les cétones désirées **143t** et **143u** [287]. Elles peuvent être aussi synthétisées directement en traitant le chlorure d'acide correspondant par le tétrachlorure d'étain [287, 293]. De même, la cétone **144b** a été préparée par une réaction de Friedel-Crafts dans des conditions modérées en chauffant l'acide **151** dans l'anhydride trifluoroacétique en présence du complexe trifluorure de bore / éther [195].



2.2.2- CYCLISATION DES ACIDES N-BENZHYDRYLPYROGLUTAMIQUE (67b) ET N-(TRIMETHOXYBENZYL)PYROGLUTAMIQUE (141d)

2.2.2.1- CYCLISATION DE L'ACIDE N-BENZHYDRYLPYROGLUTAMIQUE (67b)

Comme l'acide N-benzylpyroglutamique **141a**, l'acide N-benzhydrylpyroglutamique **67b** se cyclise, via son chlorure d'acide, en cétone **56b** par action du chlorure d'aluminium.

Par contre, le tétrachlorure d'étain et le complexe trifluorure de bore / éther ne sont pas capables de catalyser cette réaction de Friedel-Crafts intramoléculaire.

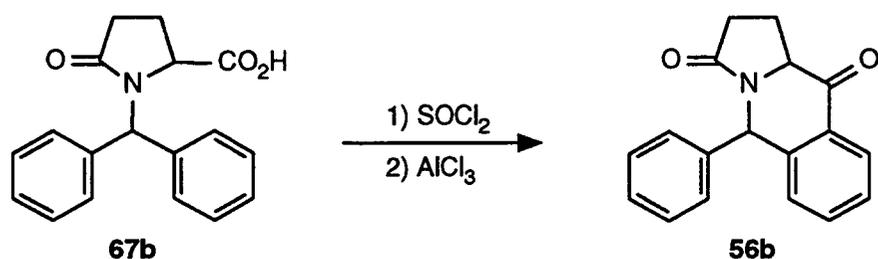


Schéma 84

Comme pour les cétones **143**, la rmn^1H montre que l'hydrogène aromatique H-9 situé en ortho de la fonction cétone de **56b** est beaucoup plus déblindé que dans les acides correspondants car il se trouve dans le cône de déblindage du groupe carbonyle.

2.2.2.2- CYCLISATION DE L'ACIDE N-(3,4,5-TRIMETHOXYBENZYL) PYROGLUTAMIQUE (**141d**)

L'action d'un mélange d'anhydride trifluoroacétique et de trifluorure de bore dans l'éther sur l'acide **141d** conduit, après hydrolyse et purification, à de beaux cristaux jaunes obtenus avec un rendement de 80.1 %. La rmn^1H a permis de montrer qu'une réaction s'est bien réalisée sur le noyau triméthoxybenzène. Néanmoins, ce composé n'est pas la cétone **152**, mais un analogue monodéméthylé (seulement 6 protons de type méthoxy aromatique sont observés).

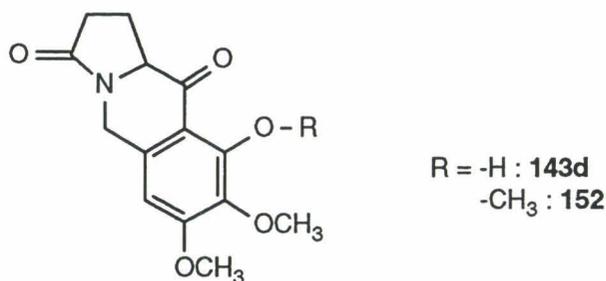


Schéma 85

Grâce à l'étude de sa réactivité chimique, il a été possible de déterminer la position de la fonction phénolique et, par conséquent, la structure du produit obtenu. Il s'agit de la cétone **143d**. Le pic du proton phénolique observé à 8,2 ppm ne disparaît pas lors de l'ajout de soude deutérée ou d'eau lourde. Cette particularité est l'une des caractéristiques des cétones orthophénoliques dont il est généralement très difficile de former le sel de sodium. En effet, ces composés ont des constantes d'acidité beaucoup plus faibles que pour celle des phénols "classiques" (schéma 86) car l'hydrogène phénolique forme, avec la fonction cétone voisine, un pseudocycle à six centres [294-296].

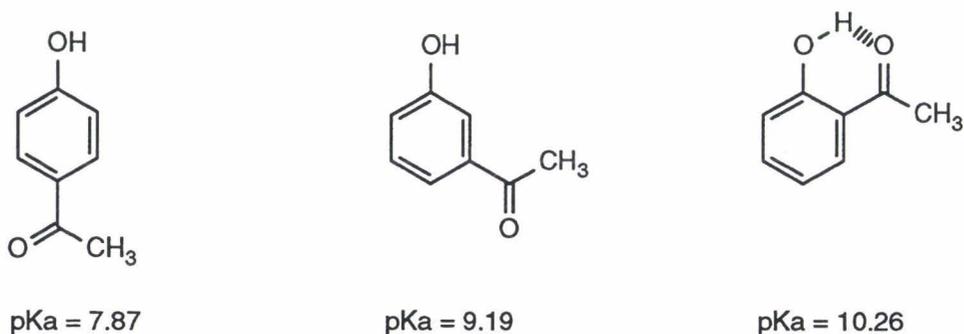


Schéma 86

Les méthoxy aromatiques sont généralement stables en présence d'acides de Lewis modérés tels que le trifluorure de bore dans l'éther [297]. Cependant, dans ces conditions de catalyse, les orthocétoanisoles se clivent facilement en orthocétophénols [298-299]. Cette déméthylation est provoquée par la complexation de l'acide de Lewis avec le groupe

cétonique : ce complexe favorise l'attaque de cet acide par le doublet libre du groupe méthoxy voisin.

Ainsi, l'acide N-(3,4,5-triméthoxybenzyl) pyroglutamique (**141d**) se cyclise probablement en cétone **152** sans être préalablement déméthylé. C'est en fait le composé **152** qui est instable dans le milieu réactionnel et subit un clivage du groupe méthoxy situé en ortho de la fonction cétone pour conduire, après hydrolyse, au composé **143d** (schéma 87) avec un rendement de 81 %.

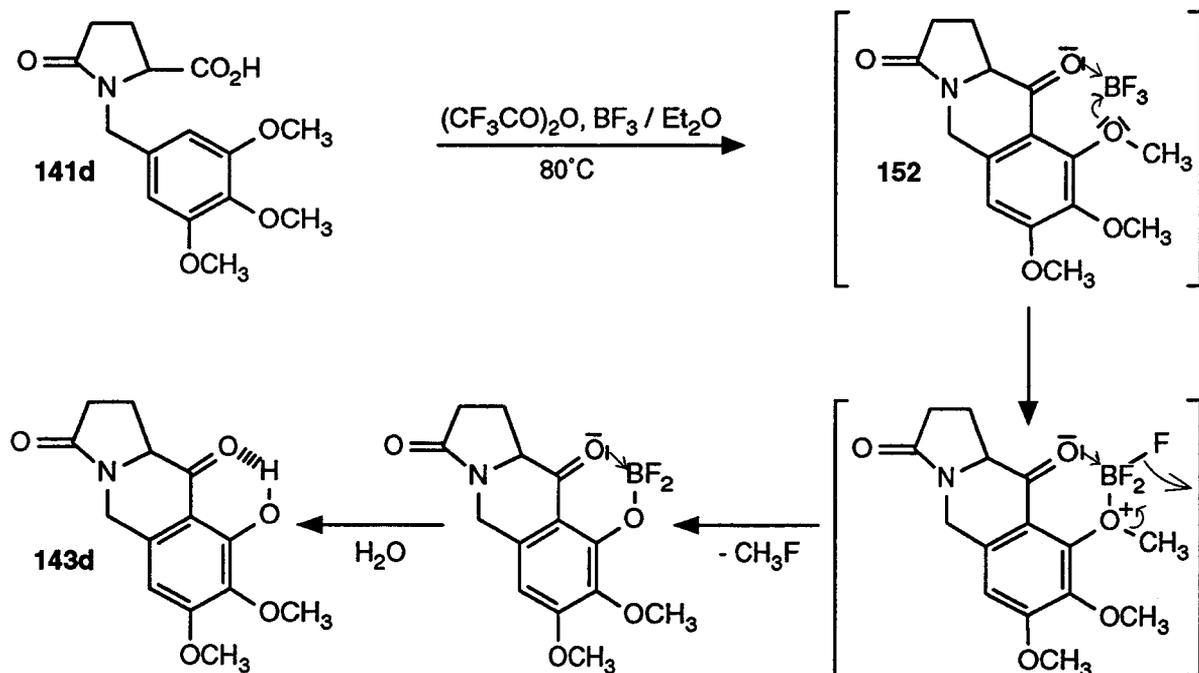


Schéma 87

La cétone **143d** peut être aussi obtenue en traitant l'acide **141d** par le POCl₃ (Rdt = 30 %) ou en faisant réagir son chlorure d'acide par le tétrachlorure d'étain (Rdt = 71 %).

2.2.3- SYNTHÈSE DE LA 2-AZA-10-CARBA-4-CETOPODOPHYLLOTOXINE (56a)

2.2.3.1- MODE OPERATOIRE

Les essais de cyclisation de l'acide **67a** tentés avec le chlorure d'aluminium présentent les mêmes problèmes de coupure des éthers aromatiques que ceux rencontrés lors de la synthèse des composés **143t-u** et **144b**. On observe par rmn^1H un clivage, au moins partiel, des groupes méthoxy ainsi qu'une coupure probable du cycle méthylène dioxy (nous ne sommes pas parvenus à isoler ces produits).

Cependant, la cétone **56a** peut être préparée soit en traitant l'acide **67a** par l'anhydride trifluoroacétique et le trifluorure de bore dans l'éther, soit en faisant réagir son chlorure d'acide par le tétrachlorure d'étain (dans ce cas, le mélange réactionnel est plus difficile à purifier). Un large excès d'acide de Lewis est nécessaire puisque l'acide **67a** possède de nombreux doublets libres capables de complexer le catalyseur. Lors de cette réaction, un deuxième produit apparaît en quantités importantes. Il s'agit de la cétone **56a'** issue de la cyclisation sur le noyau aromatique possédant trois groupes méthoxy. Son mécanisme de formation est identique à celui de la cétone **143d**.

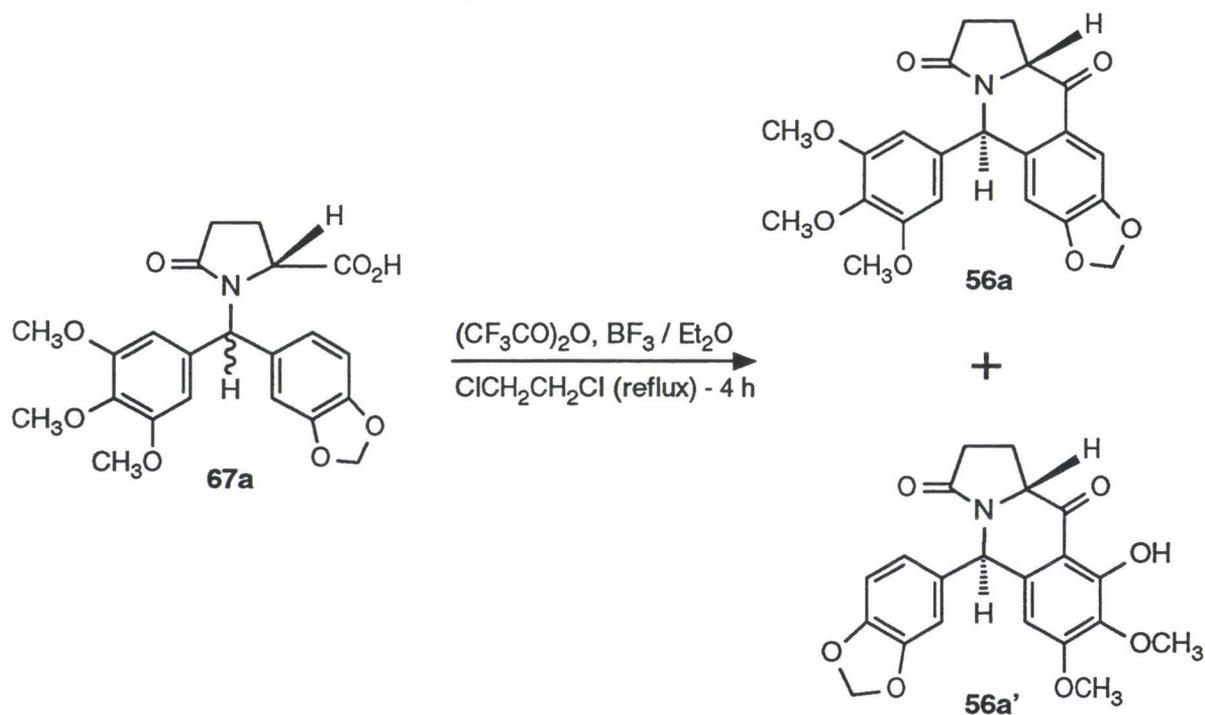


Schéma 88

En espérant privilégier la formation de la cétone **56a**, nous avons étudié l'influence de la température et du solvant sur cette réaction de Friedel-Crafts. Cependant, les vitesses de cyclisation sur le noyau benzodioxole et sur le groupe triméthoxybenzène sont du même

ordre de grandeur puisque le suivi rmn^1H de ces condensations montre que ces deux composés **56a** et **56a'** sont obtenus dans les mêmes proportions molaires quels que soient la température, le solvant et le degré d'avancement de la réaction. Il n'est donc pas possible, par cette méthode de synthèse, de préparer la cétone **56a** seule sans formation du composé **56a'**.

Par ailleurs, nous avons optimisé le rendement global de cyclisation de l'acide **67a** en cétones **56a** et **56a'**. Les résultats les meilleurs sont observés lorsque l'acide **67a** est mis en présence d'anhydride trifluoroacétique et de trifluorure de bore dans l'éther dans le 1,2-dichloroéthane à reflux pendant 4 heures. Par hydrolyse du milieu réactionnel, lavage et concentration de la phase organique, on obtient une huile qui est dissoute à chaud dans un faible volume de toluène. En refroidissant, la majeure partie de la cétone **56a** cristallise sous la forme d'une belle poudre blanche. Le reste de la cétone **56a** et la cétone **56a'** sont isolés et séparés par chromatographie d'adsorption (phase stationnaire : silice, éluant : acétate d'éthyle / heptane). On obtient ainsi un rendement global de cétone **56a** de 32 % et de cétone **56a'** de 30 %.

Il faut noter qu'il est possible de réaliser cette réaction sur au moins 40 g d'acide **67a** en purifiant les produits par chromatographie préparative.

2.2.3.2- DETERMINATION DE LA STEREOCHIMIE DES CETONES **56a** ET **56a'** OBTENUES

La réaction de Friedel-Crafts a été conduite sur un mélange de deux acides diastéréoisomères (acides **67a1** et **67a2**). Ceux-ci diffèrent par la configuration de leur carbone benzylique. Quant à l'autre carbone asymétrique, en α de la fonction acide, sa stéréochimie est celle du dérivé pyroglutamique de départ puisqu'il n'a subi aucune inversion ou racémisation au cours des diverses étapes de la synthèse. Ainsi, par cyclisation du noyau benzodioxole, on pourrait s'attendre, a priori, à l'obtention des cétones **56a** et **153** et, par cyclisation sur le triméthoxybenzène, aux cétones **56a'** et **153'**. En fait, pour chaque type de cétones, un seul des deux diastéréoisomères est isolé. Nous avons tenté de déterminer la stéréochimie de ces deux composés par une étude de modélisation moléculaire et par une analyse rmn^1H . La conformation minimisée par ordinateur des cétones **56a** et **56a'** montre que l'un des protons du noyau non cyclisé E (H-a ou H-a') et le proton H-c sont géométriquement proches. Si les produits obtenus par cyclisation s'avèrent être les cétones **56a** et **56a'**, un effet Overhauser doit donc être observé entre ces protons. Par ailleurs aucun NOE ne doit être constaté entre les protons correspondants des cétones **153** et **153'** car leur structure tridimensionnelle indique que ces protons sont très éloignés l'un de l'autre, mais un NOE pourrait être observé entre l'hydrogène H-c et l'hydrogène benzylique H-b puisqu'ils sont localisés dans la même région spatiale.

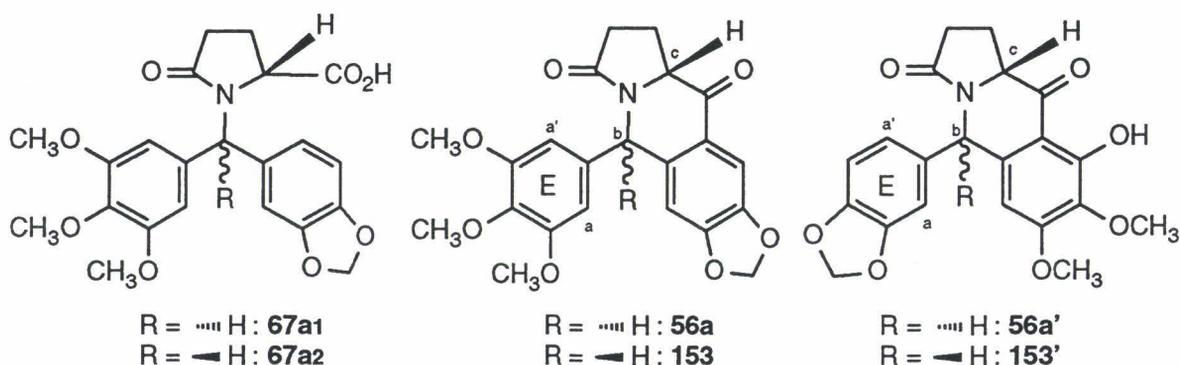


Schéma 89

L'analyse rmn^1H du produit présumé être soit la cétone **56a**, soit la cétone **153**, a été réalisée avec un appareil "Bruker AC300" (solvant : CDCl_3). Cependant, il n'a pas été possible d'irradier sélectivement les protons H-a ou H-a' du cycle triméthoxybenzène E sans perturber le proton benzylique H-b. En effet, ils présentent des déplacements chimiques très voisins : 6.37 ppm pour H-a et H-a' et 6.38 ppm pour H-b. Une augmentation du pic correspondant à H-c est bien notée, mais cela ne permet pas de savoir s'il est à proximité de H-a, H-a' ou H-b. Le même genre de problème se pose lorsqu'on irradie le proton H-c : on est incapable de voir, entre le pic des protons H-a et H-a' et le pic

de l'hydrogène H-b, quel est celui qui augmente car ces deux pics se chevauchent.

Finalement, la stéréochimie du composé obtenu lors de la cyclisation du noyau benzodioxole a été définie indirectement à partir de celle d'un de ses produits de réduction : l'alcool **4a** (la stéréochimie de l'alcool **4a** est discutée au paragraphe 2.3.1). Il s'agit bien de la cétone **56a** désirée.

Quant au produit issu de la cyclisation sur le noyau triméthoxybenzène, nous avons aussi déterminé sa stéréochimie après formation de l'alcool correspondant **4a'**. En fait, cette seconde cétone est le composé **56a'**.

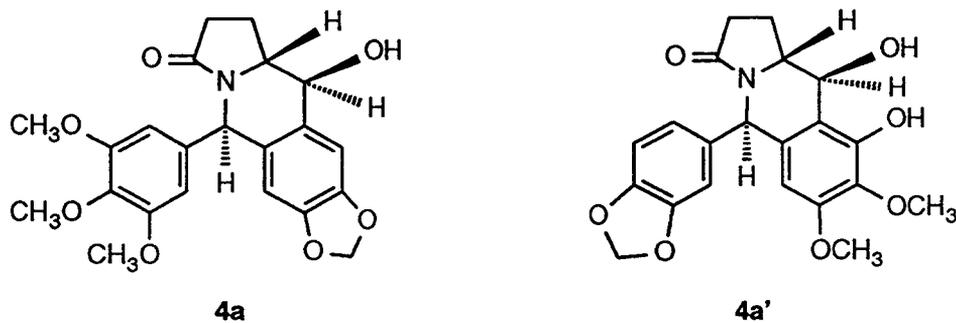
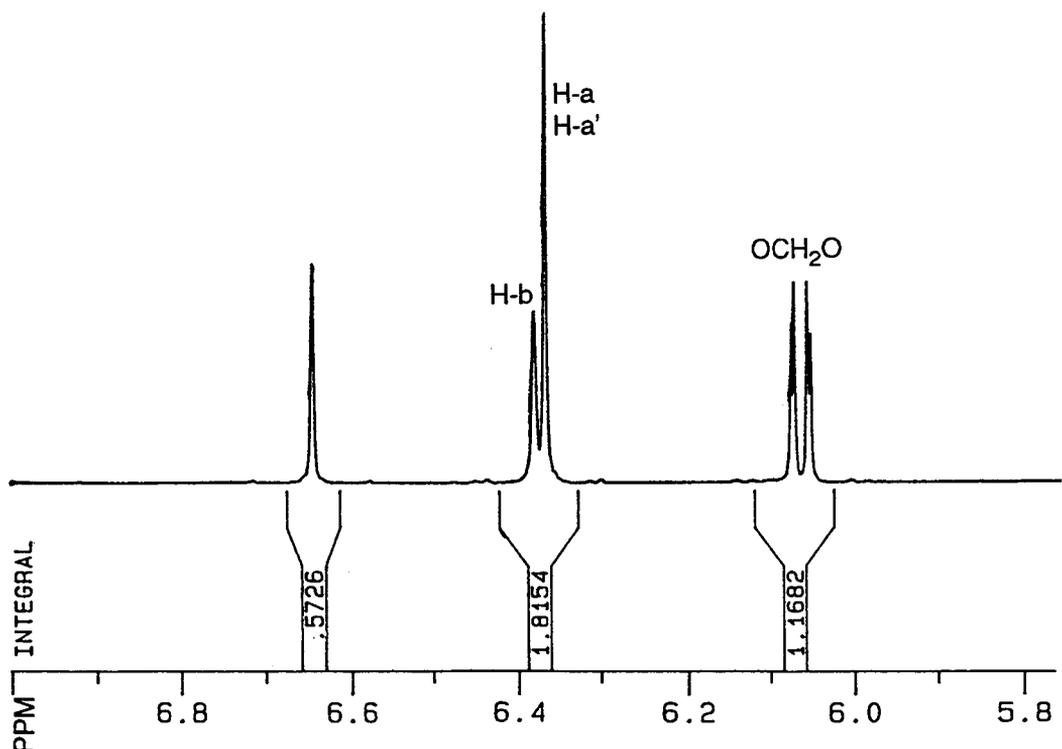


Schéma 90



Spectre 1. Spectre rmn^1H de la cétone **56a**.

2.2.3.3- ETUDE DU MECANISME REACTIONNEL

La modélisation moléculaire montre que le groupe benzhydrylique du diastéréoisomère **67a1** peut adopter de nombreuses orientations autour de l'axe C_b-N_d . Cependant, par rotation autour de cet axe, lorsqu'on tente d'approcher le noyau triméthoxybenzène de la fonction acide, on observe une interaction stérique importante entre le groupe benzodioxole et la fonction carbonyle du groupe lactame (conformation B). Par contre, lorsqu'on positionne le groupe benzodioxole à proximité de la fonction acide, le noyau triméthoxybenzène se retrouve relativement éloigné de la fonction carbonyle du groupe lactame (conformation A). Ainsi, la cyclisation de ce diastéréoisomère **67a1** semble beaucoup plus favorisée sur le noyau benzodioxole que sur le noyau triméthoxybenzène. De manière analogue, l'autre diastéréoisomère, l'acide **67a2**, se cycliserait préférentiellement sur le noyau triméthoxybenzène.

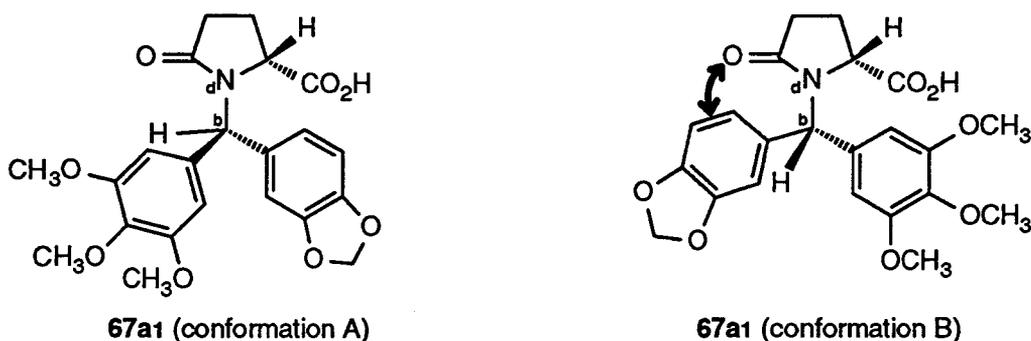


Schéma 91

On peut donc supposer que les cétones **153** et **153'** ne se forment pas au cours de la réaction de Friedel-Crafts parce que la cyclisation se ferait exclusivement sur le noyau benzodioxole pour le diastéréoisomère **67a1** et sur le cycle triméthoxybenzène pour le diastéréoisomère **67a2**.

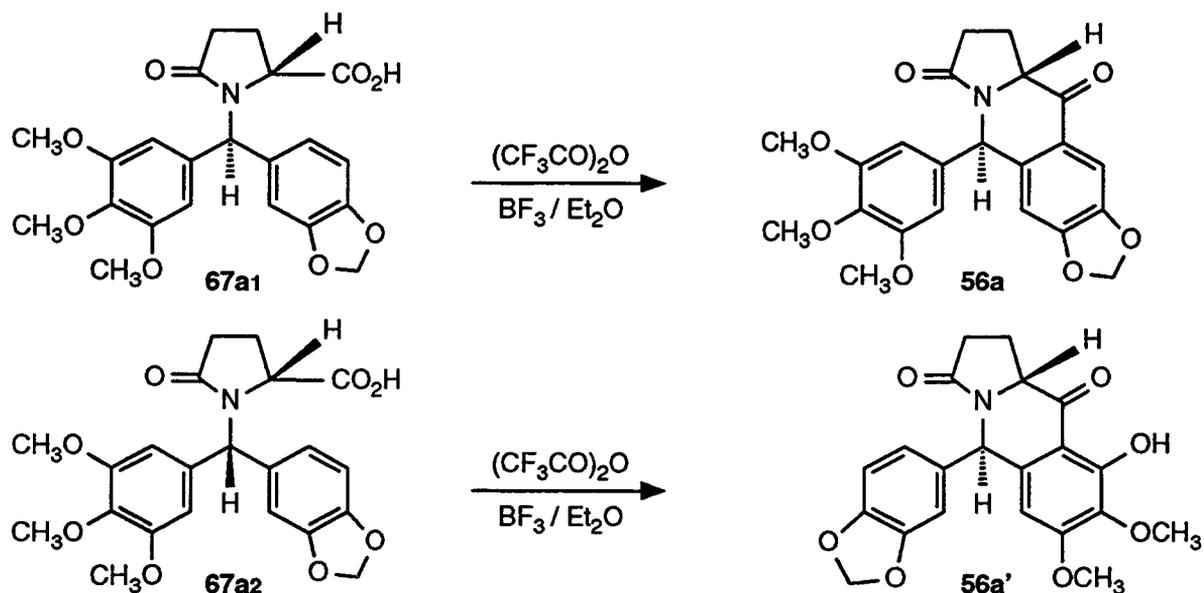


Schéma 92

D'autre part, il est aussi possible qu'une certaine proportion des diastéréoisomères **67a1** et **67a2** se soit cyclisée respectivement sur les noyaux triméthoxybenzène et benzodioxole. Les cétones **153'** et **153** ainsi obtenues ne pourraient être isolées à cause de leur instabilité dans le milieu réactionnel acide (trifluorure de bore dans l'éther, acide trifluoroacétique) : elles s'épimériseraient au niveau du carbone C-b pour conduire respectivement aux cétones **56a'** et **56a**.

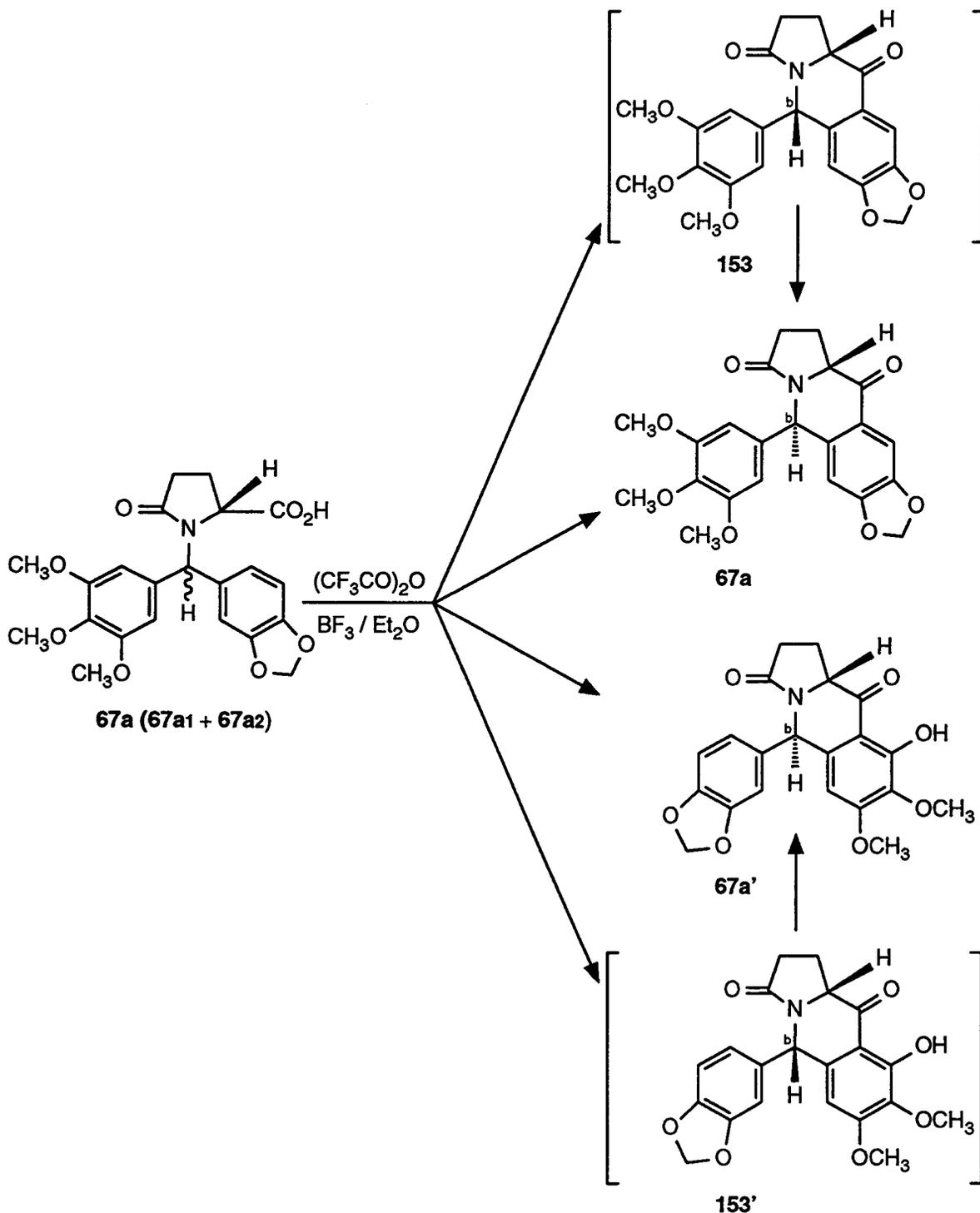
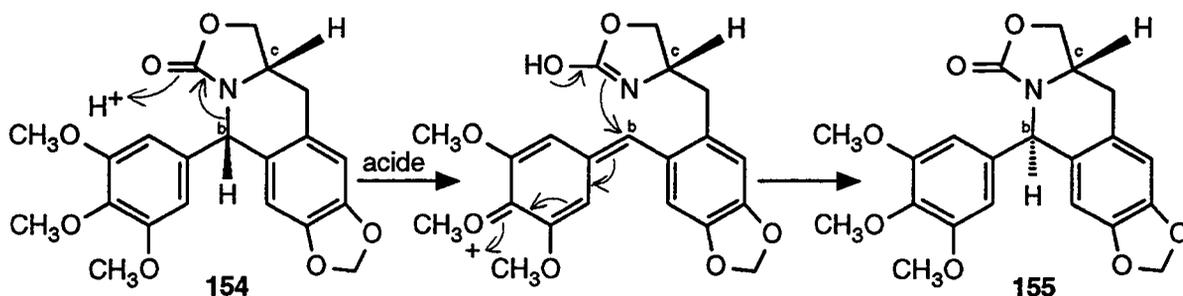


Schéma 93

Cette hypothèse d'épimérisation du carbone C-b est inspirée des travaux de K. Tomioka et de ses collaborateurs qui ont montré que le composé **154**, traité par des acides (l'acide sulfurique, l'acide bromhydrique, l'acide trifluoroacétique), s'isomérise en composé **155** [188-189]. Le cycle triméthoxybenzène qui était en trans par rapport au proton H-c se retrouve positionné en syn par rapport à celui-ci.



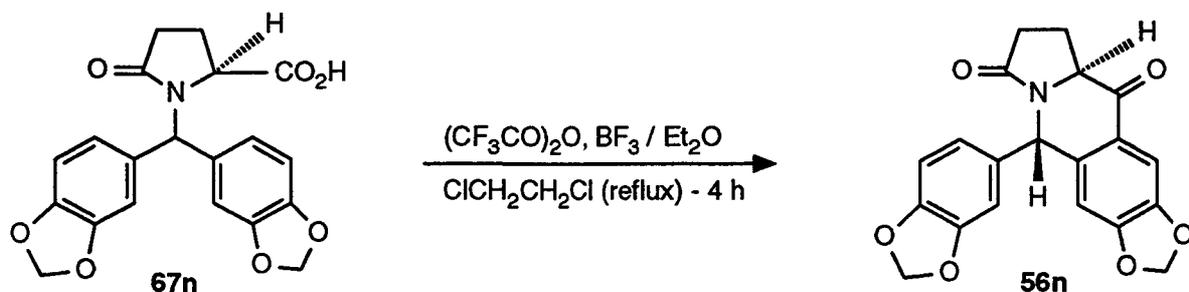
acide = H₂SO₄, HBr, CF₃CO₂H...

Schéma 94 (d'après [188-189])

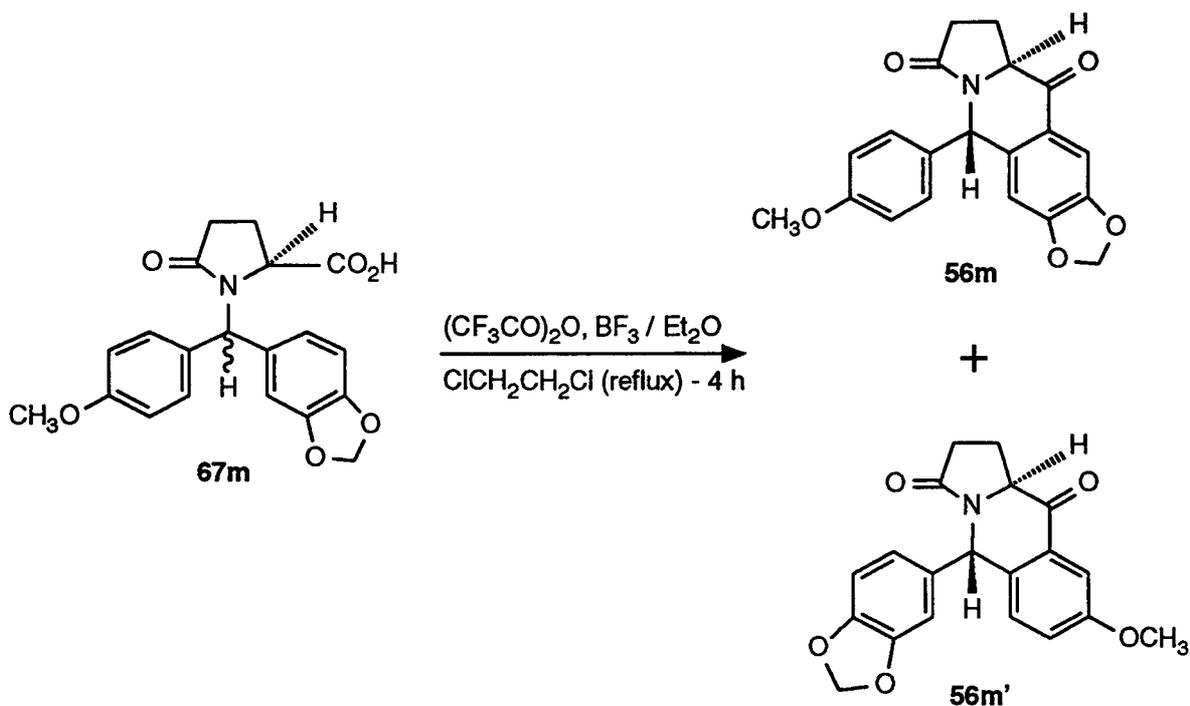
La séparation des deux acides diastéréoisomères **67a1** et **67a2** permettrait de savoir si la cyclisation de chaque diastéréoisomère se fait exclusivement sur le noyau le plus accessible (le noyau benzodioxole pour le diastéréoisomère **67a1**, le cycle triméthoxybenzène pour le diastéréoisomère **67a2**) ou si elle ne se fait que de manière préférentielle sur celui-ci. En effet, si on isole uniquement la cétone **56a** lorsqu'on mène la réaction de Friedel-Crafts sur l'acide **67a1** seul et si on obtient uniquement la cétone **56a'** en partant de l'acide **67a2**, cela prouverait que la cyclisation est totalement régiosélective. Par contre, dans le cas inverse, si la cyclisation peut se faire sur les deux noyaux aromatiques, on obtiendrait un mélange des deux cétones **56a** et **56a'** quel que soit l'acide de départ (diastéréoisomère **67a1**, diastéréoisomère **67a2**).

2.2.3.4- APPLICATION A LA PREPARATION DES CETONES 56m,n,m'

Nous avons préparé la cétone **56n** à partir de l'acide **67n** par la même procédure que celle utilisée pour cycliser l'acide **67a** en cétones **56a** et **56a'** (chauffage à reflux du 1,2-dichloroéthane pendant 4 heures en présence d'anhydride trifluoroacétique et du complexe trifluorure de bore / éther). Le rendement de cette réaction est de 76 %.



Nous avons aussi étudié la réactivité de l'acide **67m** dans les mêmes conditions expérimentales (chauffage à reflux du 1,2-dichloroéthane pendant 4 heures en présence d'anhydride trifluoroacétique et du complexe trifluorure de bore / éther). La cyclisation sur le noyau benzodioxole conduit à 39 % de cétone **56m**. La cyclisation sur le groupe méthoxybenzène est, par contre, plus difficile puisqu'on obtient moins de 5 % de cétone **56m'**.



2.2.4- REACTIONS "ONE POT" A PARTIR DE L'ACIDE PYROGLUTAMIQUE N,O-DISILYLÉ (106)

2.2.4.1- SYNTHÈSE "ONE POT" DE LA 2-AZA-10-CARBA-4-CETO- PODOPHYLLOTOXINE (56a)

Les cyclisations de Friedel-Crafts des acides N-benzhydrylpyroglutamiques peuvent aussi être réalisées avec leur dérivé silylé. Nous avons montré, par ailleurs, que les benzhydrols silylés sont capables de se condenser avec l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (106) pour fournir ces acides silylés. Au vu de ces résultats, nous avons essayé de synthétiser notamment la 2-aza-10-carba-4-cétopodophyllotoxine (56a) en "one pot" à partir du benzhydrol 107a et de l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (106).

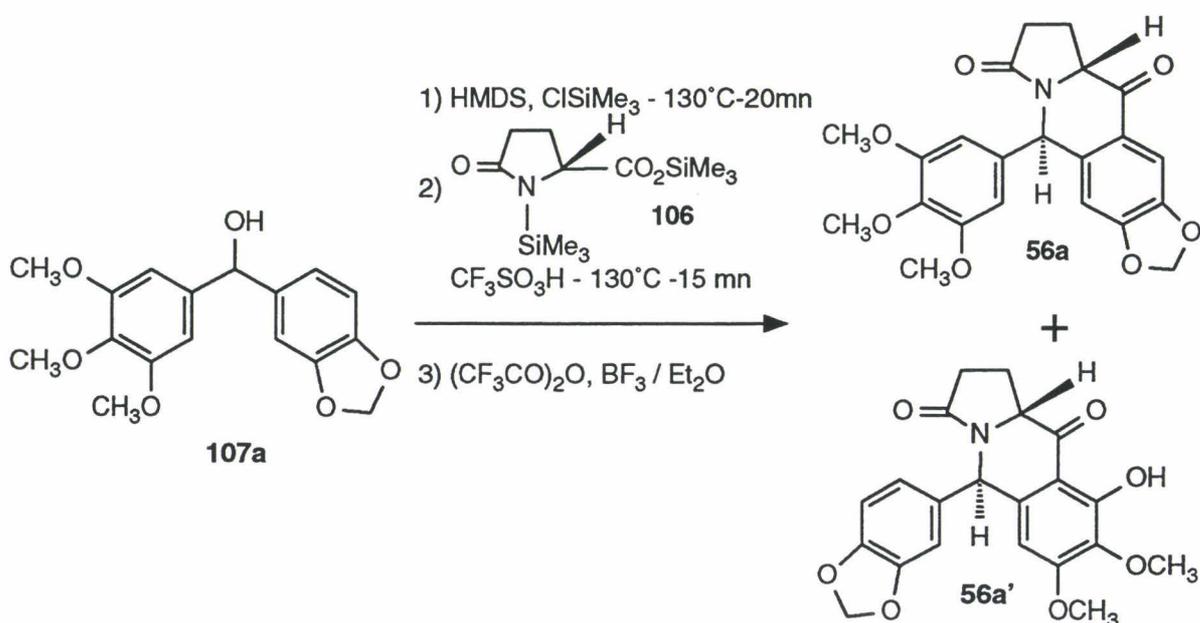


Schéma 97

Le benzhydrol 107a réagit avec l'hexaméthylidisilazane en présence de chlorotriméthylsilane. Dès que le benzhydrol silylé correspondant est totalement formé, l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (106) et une quantité catalytique d'acide triflique sont ajoutés. L'hexaméthylidisiloxane est distillé et l'acide O-silylé N-benzhydrylpyroglutamique préparé est traité par l'anhydride trifluoroacétique et le trifluorure de bore dans l'éther. Après hydrolyse et purification par chromatographie préparative, on obtient les cétones 56a et 56a'. Le rendement global de cette synthèse "one pot" est de 60 % à partir du benzhydrol 107a contre 49 % par la méthode utilisant le pyroglutamate de méthyle N-silylé (69) et nécessitant l'isolement des intermédiaires ester 116a et acide 67a. En plus de l'augmentation du rendement, cette synthèse "one pot" est plus simple et plus rapide puisqu'il est possible d'obtenir la cétone 56a en une journée contre deux par l'autre voie.

2.2.4.2- SYNTHÈSE "ONE POT" DE LA 1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDRO-BENZ[f]INDOLIZINE-3,10-DIONE (143a)

Il était intéressant de généraliser la synthèse "one pot" précédente. En effet, le laboratoire a déjà décrit une préparation en 5 étapes de la cétone **143a** sous sa forme racémique à partir du L-pyroglutamate de méthyle (**68**) [286]. Le rendement global est satisfaisant (55 % à partir du L-pyroglutamate de méthyle (**68**)). Cependant cette voie de synthèse présente plusieurs inconvénients comme la racémisation du sel de sodium **75** [195, 205] et la nécessité de purifier les composés intermédiaires.

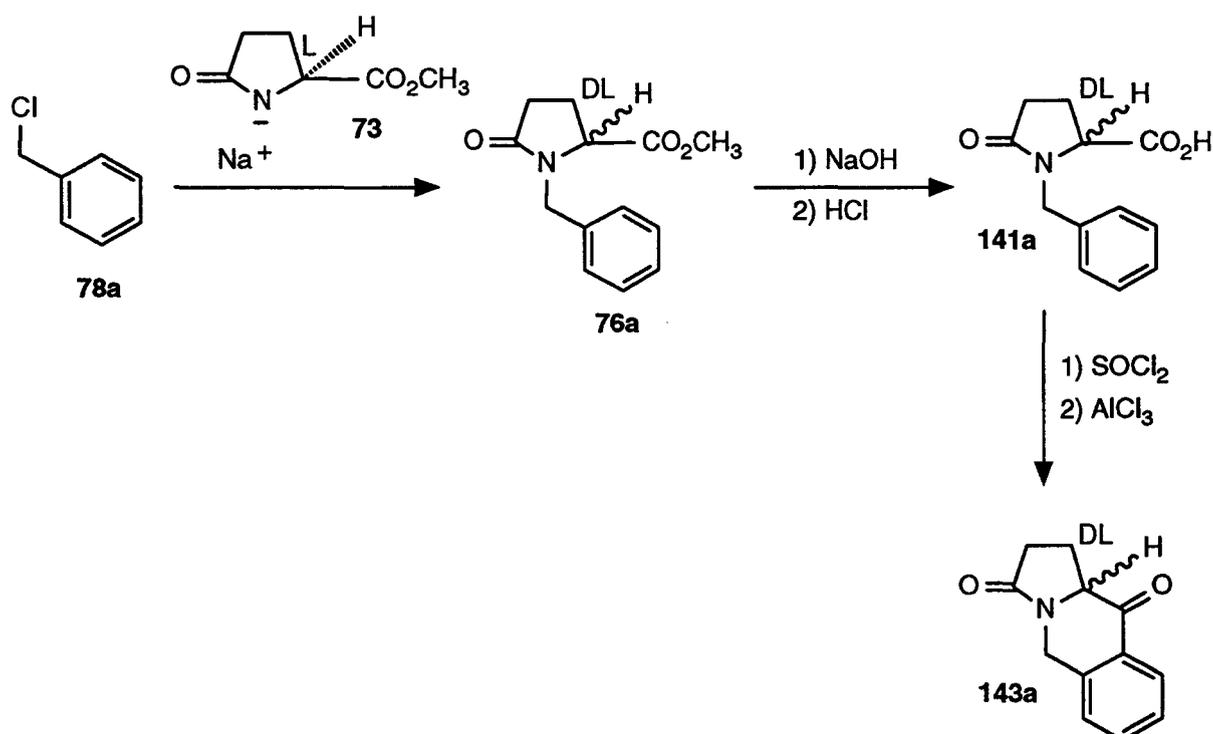


Schéma 98

Par une méthodologie similaire à celle de la synthèse "one pot" de la 2-aza-10-carba-4-cétopodophyllotoxine (**56a**), nous avons préparé la cétone **143a** à partir de l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (**106**). Le bromure de benzyle (**84a**) et l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (**106**) sont condensés en un acide N-benzylpyroglutamique silylé. Le chlorure d'acide correspondant, obtenu par ajout de chlorure de thionyle, est ensuite traité par le chlorure d'aluminium. L'hydrolyse et la distillation du milieu réactionnel conduisent à la cétone **143a** avec un rendement de 65 %.

Comme pour la préparation de la cétone **56a**, la méthode "one pot" présente ici de nombreux avantages. En effet, le rendement global est amélioré (65 % contre 55%) et le gain de temps est notable (2 jours contre une semaine ou plus). Il faut aussi remarquer que

la cétone **143a** obtenue, dans ce cas, est optiquement active.

Ces réactions conduisant au composé **143a** peuvent être généralisées à toute cette famille hétérocyclique. Notamment, les cétones **143g** et **56b** ont été synthétisées par cette méthode avec des rendements de 67 % à partir du bromure de 4-méthylbenzyle (**84g**) et du chlorure de benzhydryle (**70b**).

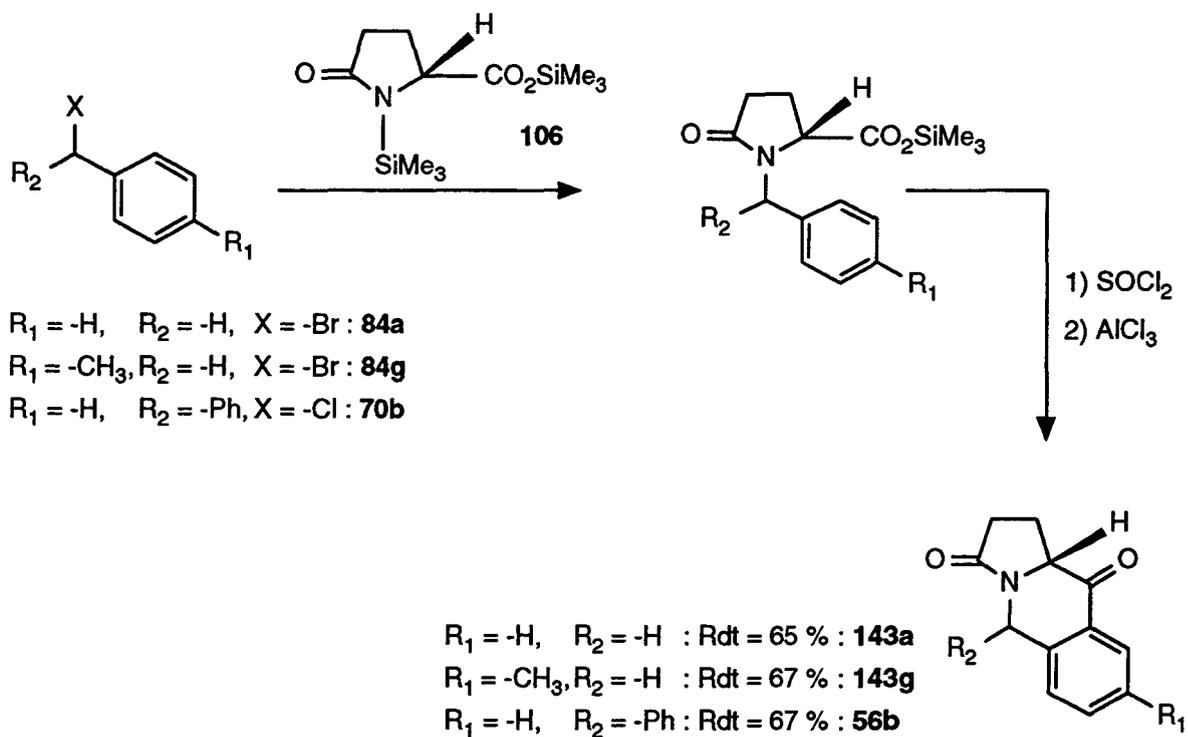


Schéma 99

2.3- SYNTHÈSE DE LA 2-AZA-10-CARBAPODOPHYLLOTOXINE (4a) ET DE DERIVES POTENTIELLEMENT ACTIFS

2.3.1- SYNTHÈSE DE LA 2-AZA-10-CARBAPODOPHYLLOTOXINE (4a)

2.3.1.1- RESULTATS DE LA LITTÉRATURE

Une réduction régiospécifique de la picropodophyllone (156) et de la 2-aza-4-cétopodophyllotoxine (158) en, respectivement, picropodophylline (157) et 2-azapodophyllotoxine (52), peut être réalisée soit par l'hydrure de lithium tri-*t*-butyloxyaluminium, soit par le borohydrure de zinc [184, 186, 300].

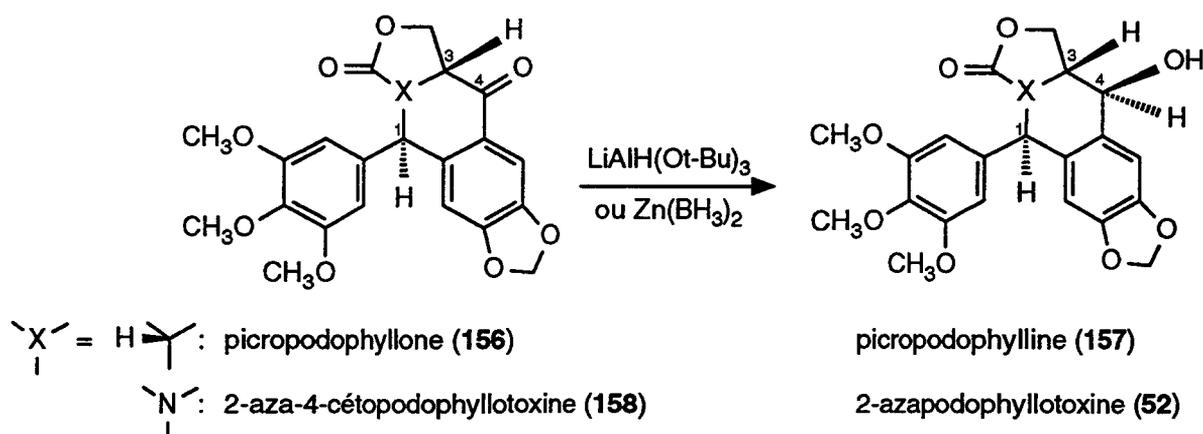


Schéma 100

Ces réducteurs permettent aussi de préparer l'alcool 160 [301]. Bien que la configuration du carbone asymétrique C-3 soit inversée par rapport à celle des composés 156 et 158, la fonction hydroxyle obtenue en position 4 est aussi en syn par rapport au noyau triméthoxybenzène.

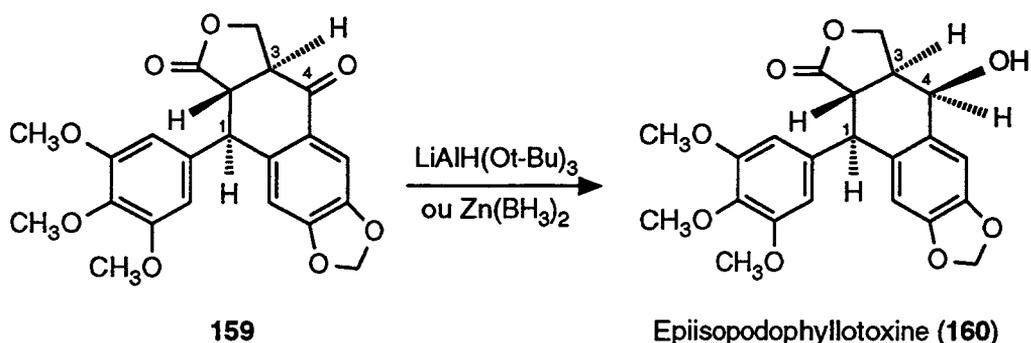


Schéma 101

Ces réducteurs sont relativement volumineux. L'attaque de la fonction cétone des composés **156**, **158** et **159** est donc orientée par l'encombrement stérique important du noyau triméthoxybenzène et non par la configuration du carbone asymétrique C-3 adjacent : l'approche ne pouvant se faire que par le côté opposé au noyau triméthoxybenzène, l'hydrure ne peut se positionner qu'en trans par rapport à ce noyau.

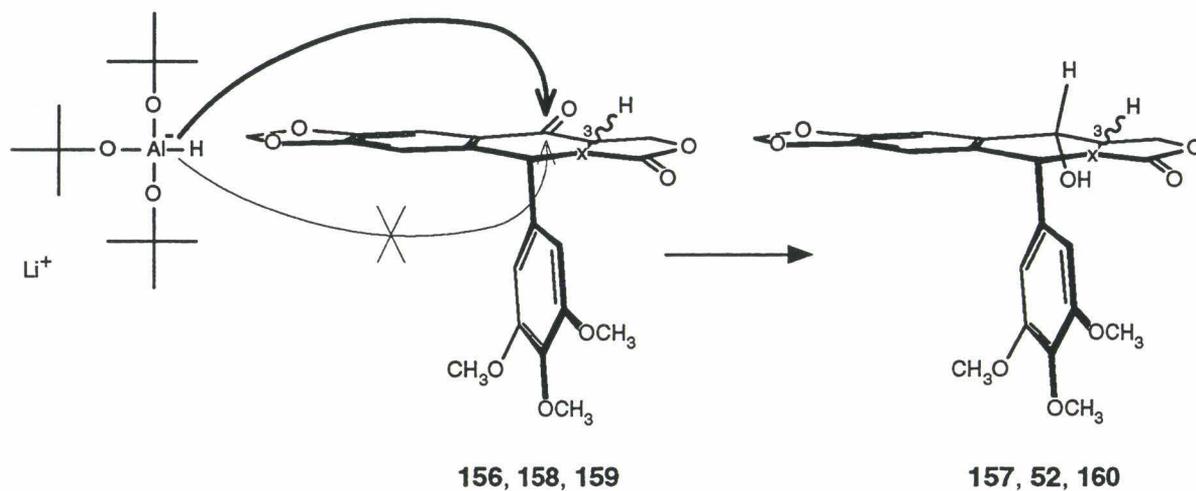


Schéma 102

2.3.1.2- REDUCTION DE LA 2-AZA-10-CARBA-4-CETOPODOPHYL-
LOTOXINE (**56a**) PAR L'HYDRURE DE LITHIUM TRI-t-BU-
THYLOXYALUMINIUM

L'action de l'hydrure de lithium tri-t-butyloxyaluminium sur le composé **56a** permet de réduire stéréospécifiquement la fonction cétone.

Comme pour la cétone **56a** dont il est issu, nous ne sommes pas parvenus à déterminer la stéréochimie de cet alcool **4a** par observation de l'effet Overhauser. Il est possible d'irradier sélectivement les deux protons H-2' et H-6' du noyau triméthoxybenzène (contrairement au composé **56a**) ; cependant, des résultats non reproductibles ont été obtenus.

Nous avons tout de même réussi à déterminer sa stéréochimie par ^1H de manière indirecte en examinant le couplage des protons H-3 et H-4. Un couplage de 9.3 Hz est observé entre ces deux protons. La valeur importante de ce couplage indique que ces deux protons ne peuvent être qu'en configuration trans l'un par rapport à l'autre (dans le cas de la 2-azapodophyllotoxine (**52**), le couplage entre H-3 et H-4 est de 9.1 Hz [186]). Par ailleurs, nous avons vu que pour les composés **156**, **158** et **159**, l'hydrure de lithium tri-t-butyloxyaluminium permet de réduire régiospécifiquement le groupe cétone en une fonction alcool qui est en syn par rapport au noyau triméthoxybenzène, quelle que soit la stéréochimie du carbone C-3. Ainsi, puisque la configuration du carbone C-4 de notre alcool est correcte, celle du carbone C-1 doit l'être aussi. L'alcool préparé ne peut donc être que l'analogue désiré de la 2-azapodophyllotoxine (**52**) : l'alcool **4a**.

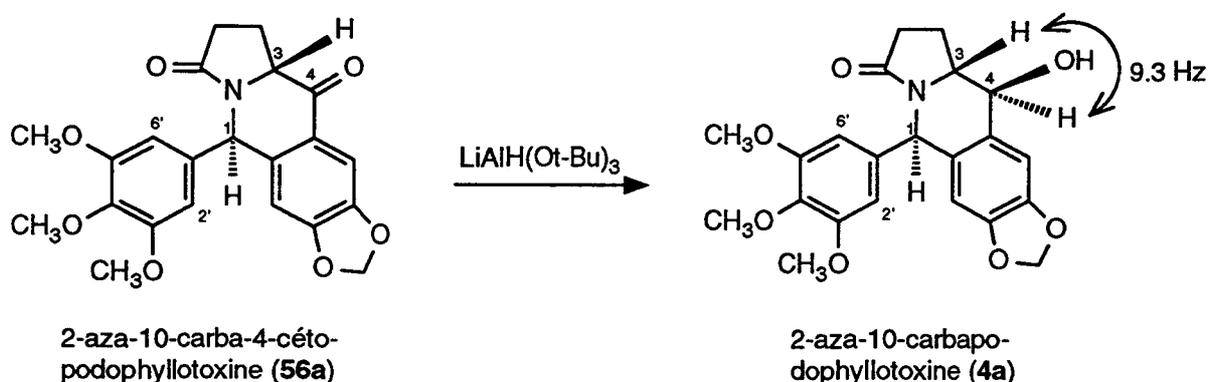
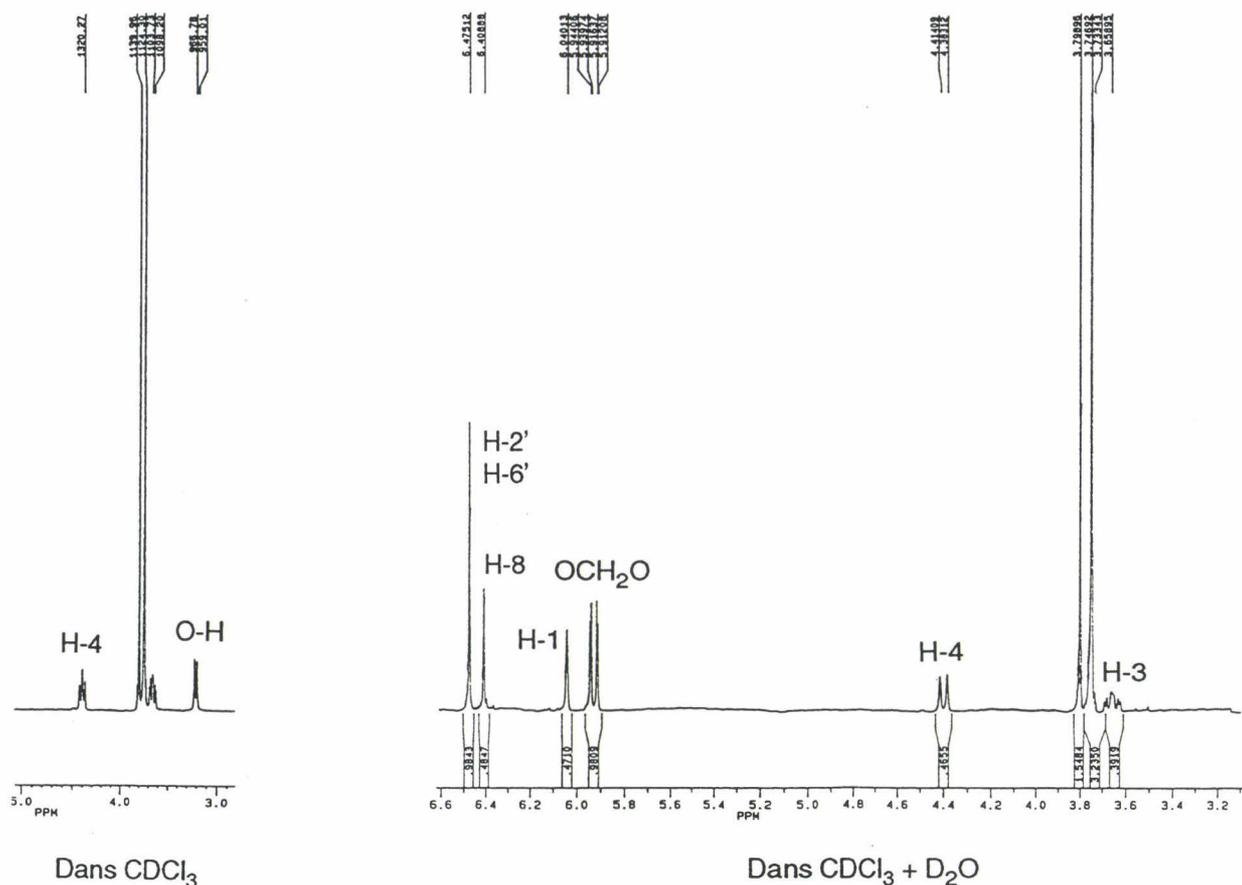


Schéma 103



Spectre 2. Spectres rmn^1H de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (4a).

Les cétones **56m,n,a'm'** peuvent aussi être réduites spécifiquement par l'hydruide de lithium tri-*t*-butyloxyaluminium. On a ainsi obtenu les alcools **4m,n,a'm'**.

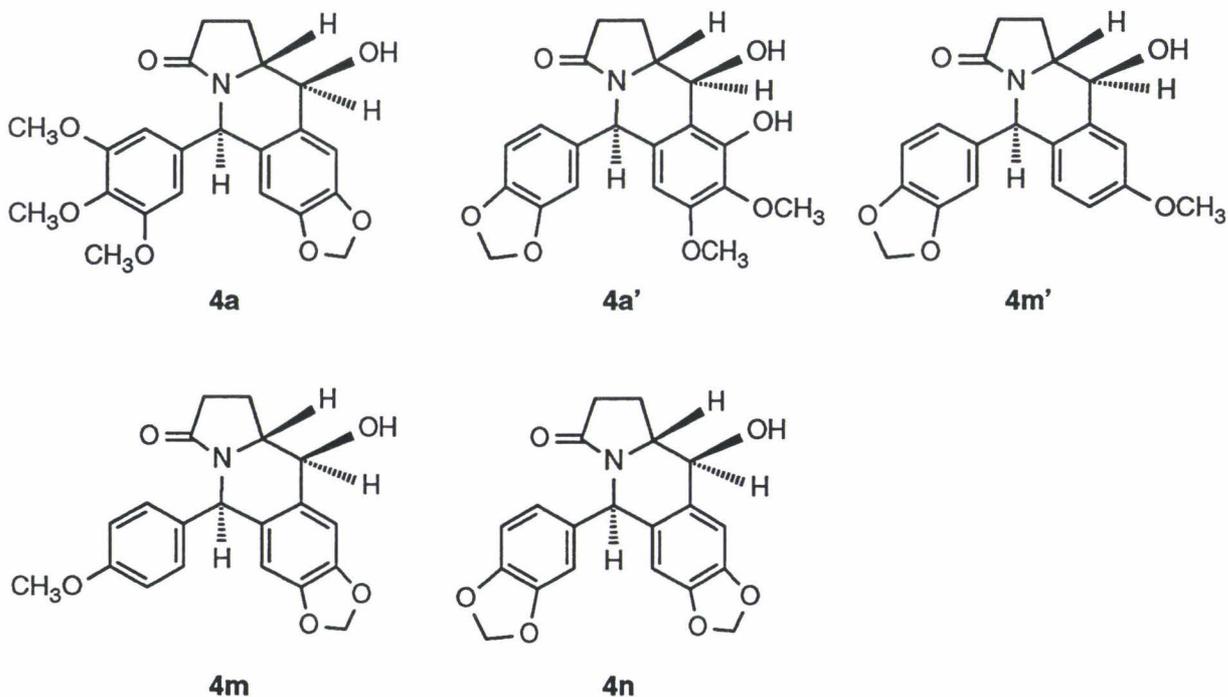


Schéma 104

2.3.2- REACTIVITE DANS LA SERIE DE LA 1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDRO-BENZ[f]INDOLIZINE-3,10-DIONE (143a)

Par réduction sélective de la cétone **56a** avec l'hydrure de lithium tri-*t*-butyloxyaluminium, nous avons synthétisé la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**). A partir de cette même cétone **56a**, nous avons envisagé la préparation d'autres composés possédant une structure originale et pouvant être des inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline ou des inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II.

Dans les paragraphes suivants nous avons rassemblé les données de la littérature ainsi que les résultats que nous avons obtenus concernant quelques aspects de la réactivité des cétones **143**. Cela nous permettra de proposer la synthèse de nouveaux dérivés de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**).

2.3.2.1- REDUCTIONS DE LA CETONE 143a

Les groupes carbonyles des fonctions cétone ou lactame de l'hétérocycle **143a** peuvent être spécifiquement réduits. Par exemple, il a été montré que la réaction de Merwein-Verley-Pondorf réalisée sur la cétone **143a** conduit à l'alcool **161** [286]. La déshydratation de celui-ci mène au dérivé éthylénique **162**.

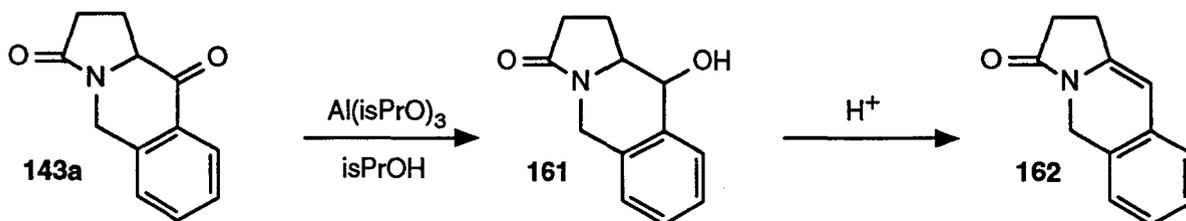


Schéma 105

Bien que l'hydrure de lithium aluminium réduise la fonction cétone du composé **163** sans toucher au groupement lactame [302], dans le cas de la cétone **143a**, les deux fonctions carbonyles sont réduites par un excès d'hydrure de lithium aluminium [286].

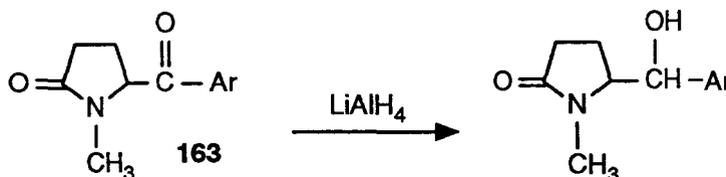


Schéma 106

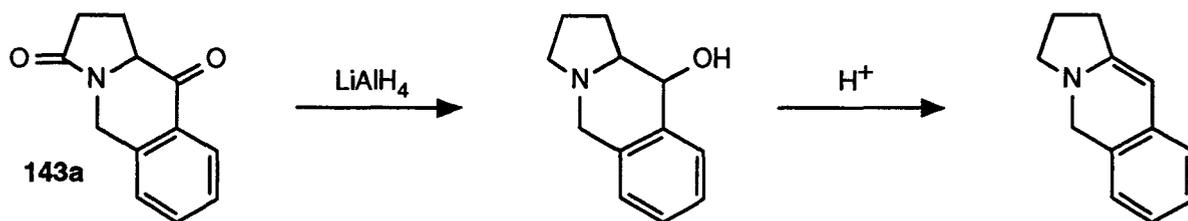


Schéma 107

La réduction sélective du groupement lactame est obtenue quand la fonction cétone est protégée par formation d'un cycle dioxolane [286].

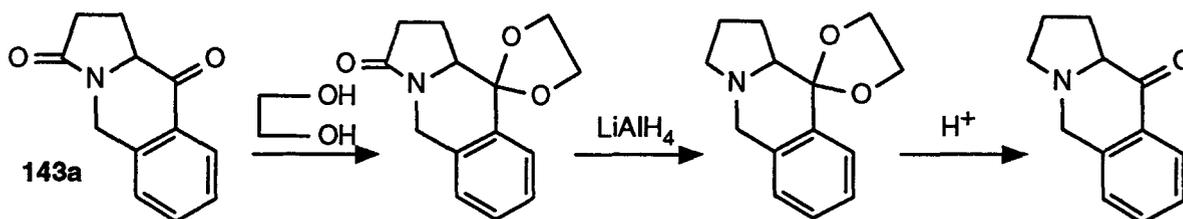


Schéma 108

La fonction cétone peut être réduite spécifiquement et complètement en faisant réagir le nickel de Raney sur le dithiolane **164** [286]. Le lactame **165** ainsi obtenu peut être réduit par l'hydrure d'aluminium lithium pour donner l'amine **166**.

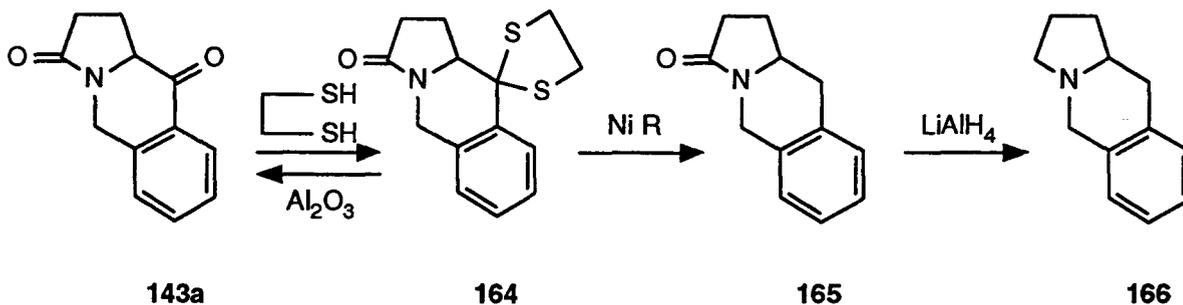


Schéma 109

2.3.2.2- OUVERTURE DU CYCLE LACTAME EN MILIEU BASIQUE

L'hydrolyse basique du fluoroborate de l'iminoéther de **143a** (dérivé **167**) donne le composé **168** [286].

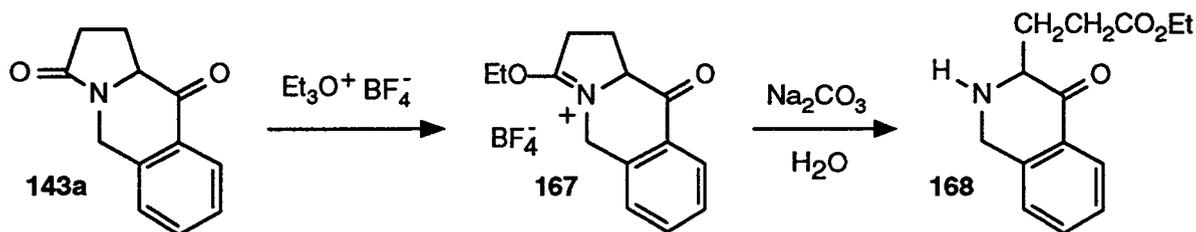


Schéma 110

2.3.2.3- SUBSTITUTION DE LA CETONE **143a** EN POSITION 10a

L'introduction d'un substituant en position 10a (produits **169a-c**) peut être réalisée par une réaction de type Michaël [286].

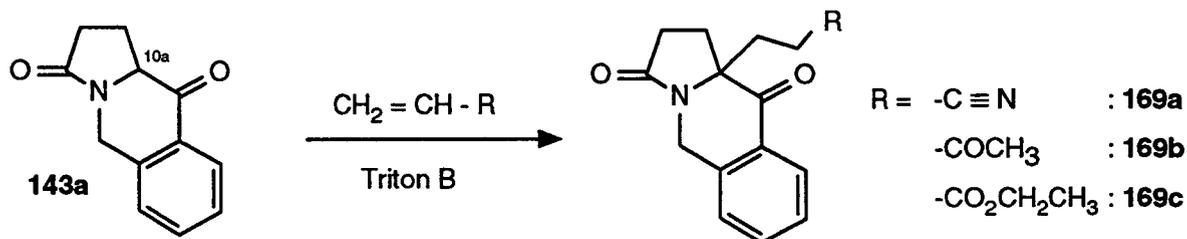


Schéma 111

Par réaction de Mannich, A. Kolocouris et ses collaborateurs ont préparé le composé **170** en traitant la cétone **143a** par le chlorhydrate de diméthylamine et le formaldéhyde [303].

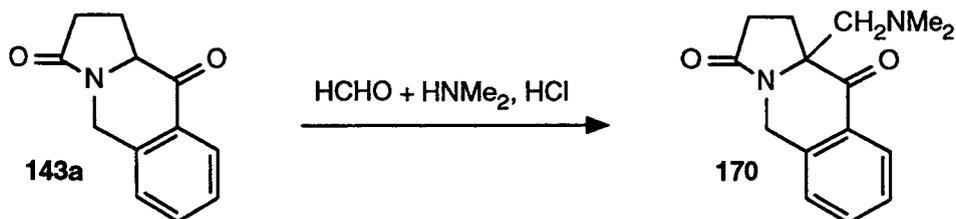


Schéma 112

2.3.2.4- REARRANGEMENTS OBSERVÉS AVEC L'ACIDE CHLORHYDRIQUE

Par acylation intramoléculaire de Friedel-Crafts des chlorures d'acide **142a,g-h,o** avec le chlorure d'aluminium dans le benzène, B. Rigo a synthétisé des hétérocycles appartenant à la série de la 1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizine-3,10-dione (**143a**) [286, 304]. Lors de la préparation de ces cétones, une réaction secondaire est observée. Il s'agit d'un réarrangement en dihydropyranoisoquinoléinones **171** ou en produits d'hydrolyse de ces lactones : les acides **172** [304].

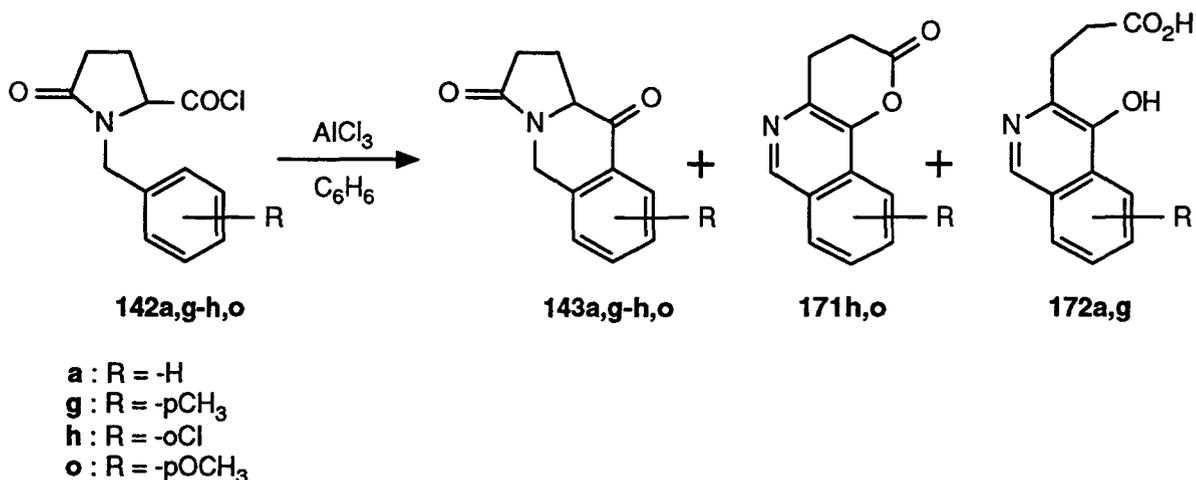


Schéma 113

Dans un premier temps, nous supposons que la transposition était provoquée par l'excès de chlorure d'aluminium utilisé pour réaliser la cyclisation des chlorures d'acide **142a,g-h,o**. Ainsi, nous avons traité la cétone **143a**, dissoute dans le benzène, avec 10 équivalents molaires de divers acides de Lewis. Après 20 heures de reflux, aucune évolution de la cétone initiale **143a** n'est observée. Par ailleurs, la réaction permettant de cycliser le chlorure d'acide **142a** en cétone **143a** a été poursuivie pendant trois semaines. Cependant, après hydrolyse du milieu réactionnel, on récupère la cétone **143a** sans formation supplémentaire de produit de transposition.

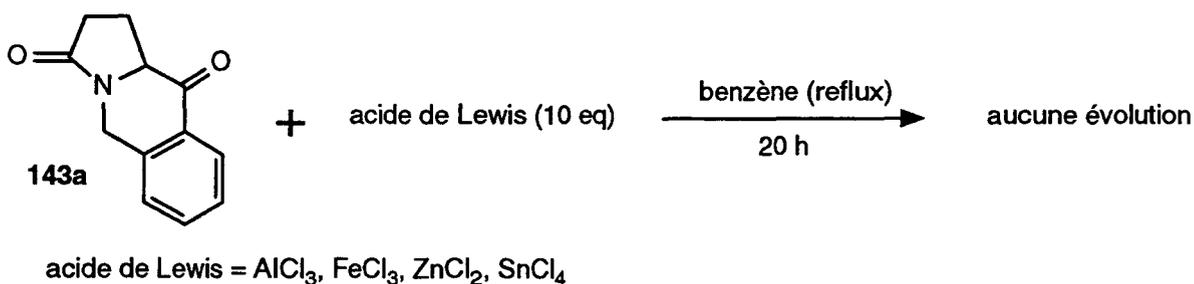


Schéma 114

Une autre hypothèse que nous avons étudiée est que les cétones **143a,e-f,l** subiraient un réarrangement par l'acide chlorhydrique anhydre, formé lors de la réaction de Friedel-Crafts des chlorures d'acide **142a,e-f,l**. Pourtant, en faisant barboter lentement de l'acide chlorhydrique gazeux dans une solution contenant la cétone **143a**, on n'observe aucune réaction.

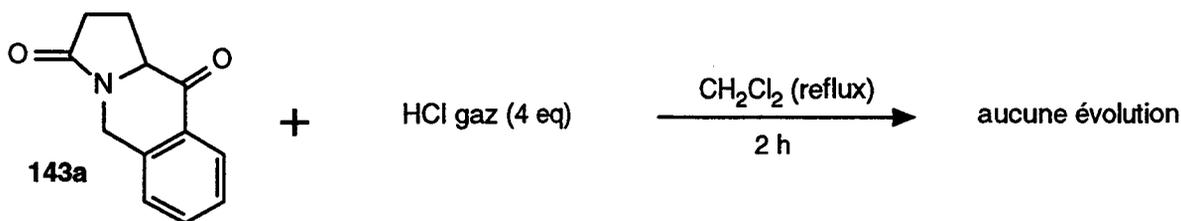


Schéma 115

Enfin, nous avons envisagé l'hypothèse que ces sous-produits **171h,o** et **172a,g** apparaissent lors de l'hydrolyse du milieu réactionnel. L'ajout d'eau à l'excès de chlorure d'aluminium utilisé forme de l'acide chlorhydrique. Par ailleurs, il a été montré que le traitement de la cétone **143a** par l'acide chlorhydrique dilué conduit à l'acide aminé **173** (le produit obtenu est sous forme d'un chlorhydrate) [286].

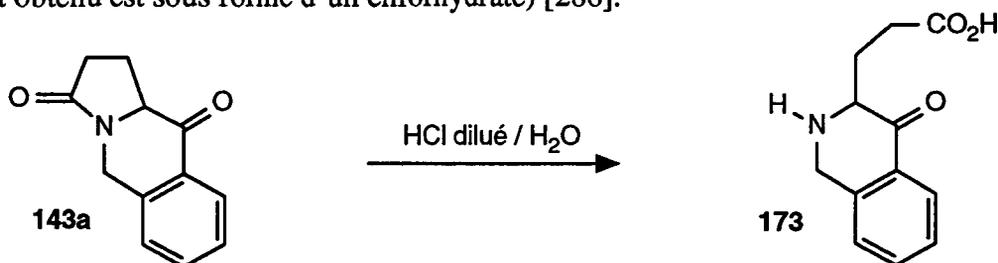


Schéma 116

Lorsque nous avons reproduit cette réaction avec de l'acide chlorhydrique concentré pendant 36 heures à 115°C, le réarrangement en produits **171** ou **172** n'est toujours pas observé. Cependant, dans ces conditions, deux nouveaux produits se forment essentiellement.

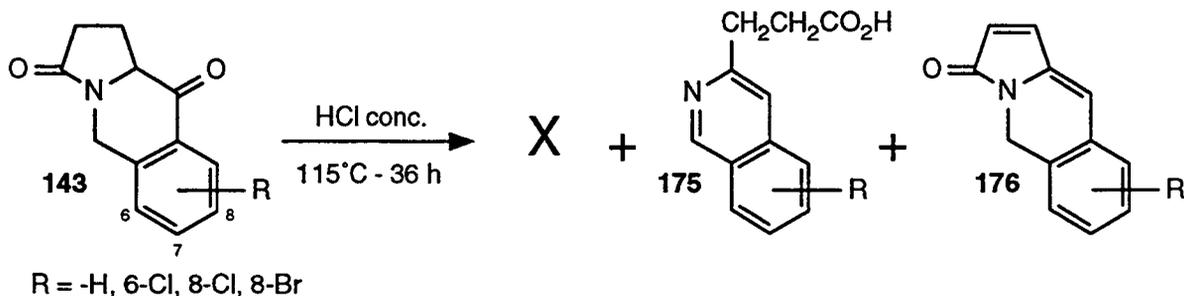
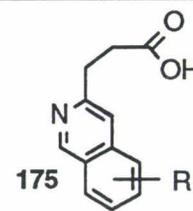
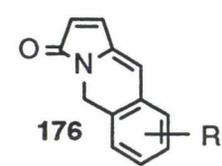


Schéma 117

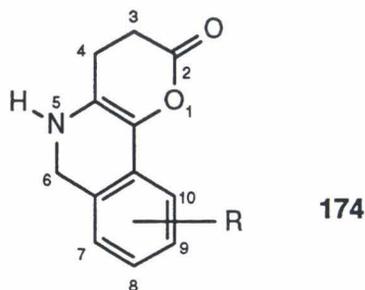
Produits finaux (% en masse brute) Cétones initiales 143 R =	X	 175	 176
-H	43 %	30 %	Traces (2)
6-Cl	50 %	35 %	0 %
8-Cl	40 %	25 %	10 %
8-Br	65 %	30 %	0 %

(1) : rendement brut (les composés peuvent être sous la forme d'un chlorhydrate)

(2) : visible en CCM et rmn^1H

Tableau 12

L'un des composés (noté X) précipite dans le milieu réactionnel. Sa structure n'a pu être établie avec certitude. D'après les analyses spectrales, nous pensons qu'il s'agit du composé 174. Par exemple, lorsque le substituant R est un chlore, on observe en rmn^1H un singulet à 2.1 ppm qui pourrait correspondre au proton H-5 de la fonction amine. Ce singulet disparaît quand on ajoute de l'acide chlorhydrique deutéré. Un massif à 2.55 ppm (4H) proviendrait des protons H-3 et H-4. Un singulet à 4.95 ppm (2H) serait dû aux deux protons H-6 magnétiquement équivalents, car ils se trouvent dans un cycle plan. Enfin, le massif qui s'étale de 6.8 à 7.1 ppm correspondrait aux protons aromatiques.



R = -H, 7-Cl, 9-Cl, 9-Br

Schéma 118

Un autre composé, obtenu lors de la réaction avec l'acide chlorhydrique concentré, se situe dans le filtrat. Il s'agit d'un acide dérivé de l'isoquinoléine qui est sous la forme d'un chlorhydrate (**175'**). La silylation de ce composé **175'** par le chlorotriméthylsilane en présence de triéthylamine conduit à l'acide silylé correspondant. La distillation de ce dernier, suivie d'une hydrolyse permet d'isoler l'acide aminé **175**. Une autre méthode de purification conduisant directement et facilement à l'acide aminé **175** consiste à faire réagir le chlorhydrate **175'** avec le 1,2-époxypropane.

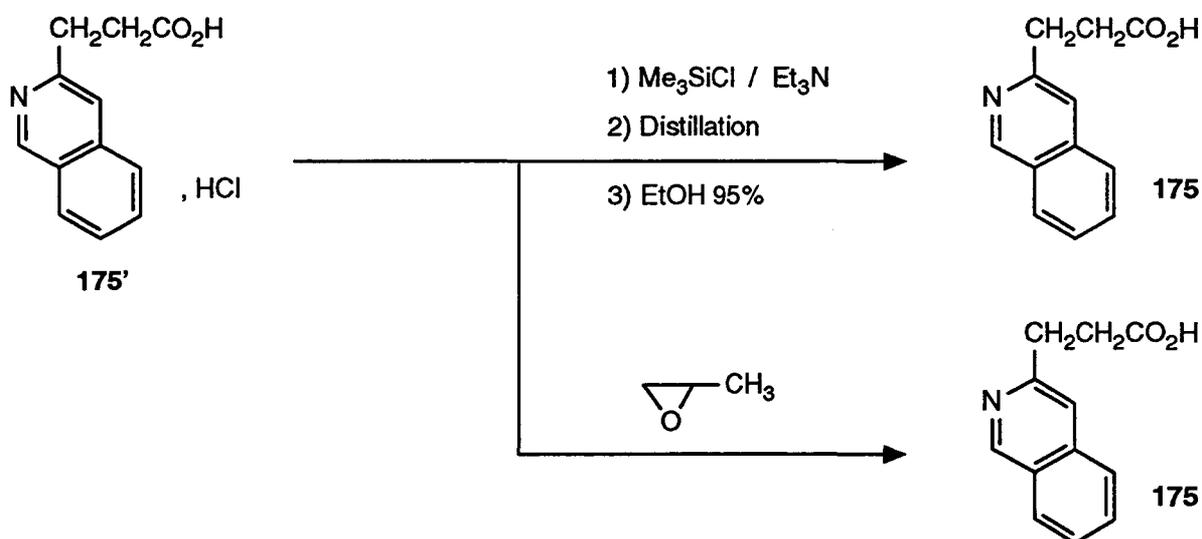


Schéma 119

Il faut noter que le filtrat peut aussi contenir de très faibles quantités de produit **X**, de cétone initiale **143** et de diéthylénique **176** (ce composé **176** peut être obtenu avec un bon rendement en traitant la cétone **143** par l'acide polyphosphorique (chapitre 2.3.2.5)).

2.3.2.5- REARRANGEMENTS OBSERVES AVEC L'ACIDE POLYPHOSPHORIQUE

L'acide polyphosphorique est aussi capable de réarranger les oximes **177** de ces mêmes cétones **143**. Dans certains cas, par réaction de Beckmann, on obtient les diazépines **178** [305]. Sous les mêmes conditions réactionnelles, l'action de l'acide polyphosphorique peut aussi conduire à la formation des naphthyridines **179** [209-210, 305]. Le type de réarrangement conduisant à l'un ou l'autre des produits semble dépendre de la configuration de l'oxime de départ. Lorsque le groupe -OH de la fonction oxime est en syn par rapport au noyau aromatique, le composé **178** est obtenu préférentiellement, voire exclusivement. A l'inverse, lorsque le groupe -OH est en anti, l'autre réarrangement conduisant à **179** est observé.

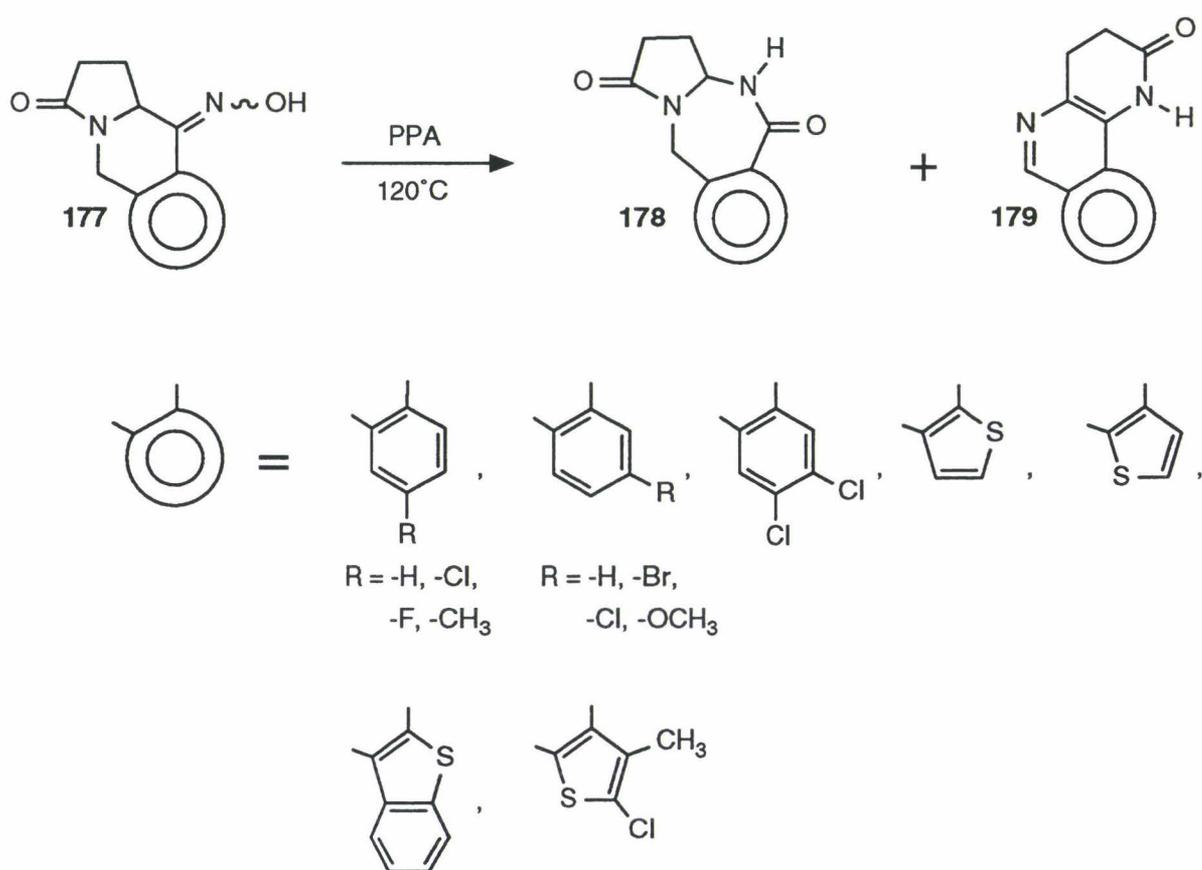


Schéma 120

En présence d'acide polyphosphorique, les oximes des cétones **143** sont donc capables de conduire aux lactames **179** qui possèdent une structure proche de celle des lactones **171**. Or, l'action de l'acide polyphosphorique directement sur la cétone **143a** ne donne pas la lactone **171a**, mais le composé diéthylénique **176a** [306]. Nous avons montré que cette nouvelle réaction de déshydratation est généralisable aux cétones **143a,g-h,j,l**.

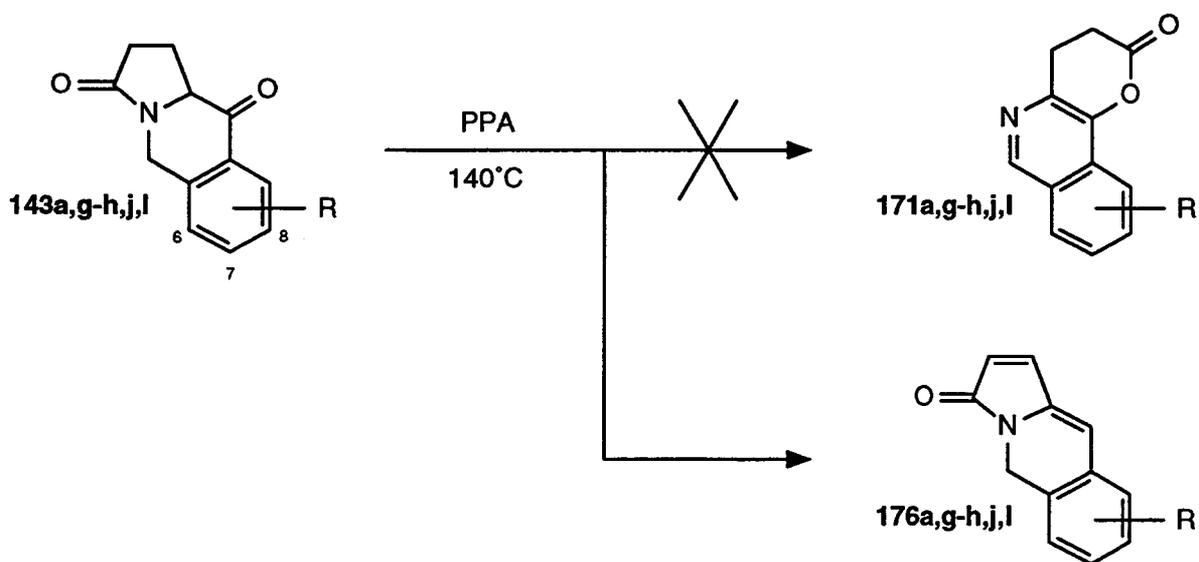


Schéma 121

Cétone initiale 143a,d,g-h,j,l,q		Composé diéthylénique 176a,d,g-h,j,l,q obtenu Rendement :
n°	R	
143a	H	70 %
143g	8-CH ₃	66 %
143h	6-Cl	87 %
143j	8-Cl	70 %
143l	8-Br	96 %
143q	6,7-C ₄ H ₄	0 %
143d	6,7-(OCH ₃) ₂ -8-OH	0 %

Tableau 13

La fonction carbonyle, les doubles liaisons éthyléniques et le noyau aromatique de ces composés forment un système conjugué. La structure cristallographique du produit **176a** a été établie par RX et a permis de montrer que cette molécule est quasi plane [307].

Il faut toutefois noter que pour deux cas particuliers ($R = 6,7\text{-C}_4\text{H}_4$ (**143q**) et $R = 6,7\text{-(OCH}_3)_2\text{-8-OH}$ (**143d**)), nous n'avons pas réussi à préparer les composés diéthyléniques correspondants bien que le suivi CCM montre la disparition des cétones initiales. Ces deux essais amènent à penser que ces deux cétones **143q** et **143d** ont subi un autre type de réaction, mais aucun produit n'a pu être isolé de son milieu réactionnel.

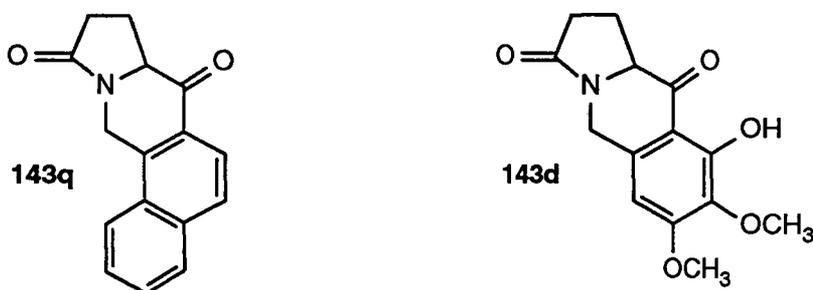


Schéma 122

Un mécanisme commun, impliquant une nouvelle formation de sels d'imminiums, permet d'expliquer les différents réarrangements des cétones **143** observés avec l'acide chlorhydrique concentré, l'acide polyphosphorique et lors de la cyclisation de Friedel-Crafts.

Une protonation de la cétone **143** conduirait au cation **180** qui, par une migration d'hydrogène, donnerait le sel de N-acyliminium **181** plus stable. L'ouverture du cycle lactame serait suivie par une recyclisation en lactone **182** qui, par une oxydation à l'air, conduirait à la lactone **171** ; mais elle pourrait aussi conduire à l'acide **175**. Par contre, le sel de N-acyliminium **181** pourrait donner l'intermédiaire ènamide **183**. Puis, par déshydratation de cet alcool allylique **183**, on obtiendrait le lactame **176**.

De façon similaire, le réarrangement de l'oxime **177** en lactame **179** pourrait être expliqué par une protonation initiale de l'azote, suivie par une migration d'hydrogène donnant le sel de N-acyliminium **184** plus stable.

Nous avons tenté divers essais pour prouver cette migration d'hydrogène après protonation de la cétone **143**. Le but était de substituer à cet hydrogène H-10a un autre groupement Z et de voir la migration de celui-ci.

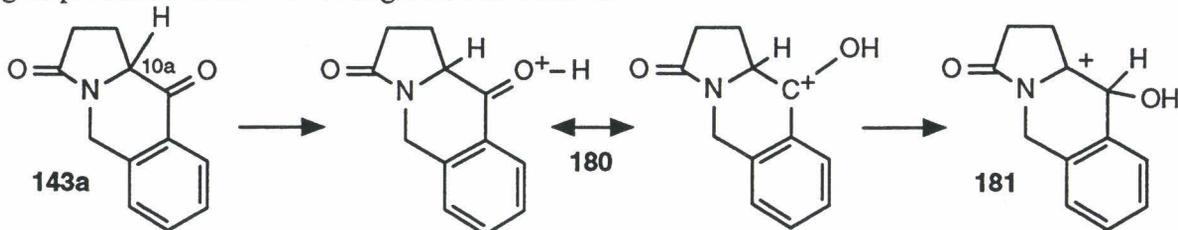


Schéma 124

L'action du PPA sur le composé **185** (Z = -CH₂CH₂CO₂Et) ne conduit pas à l'un des produits de réarrangement souhaités. On observe seulement une hydrolyse de la fonction ester.

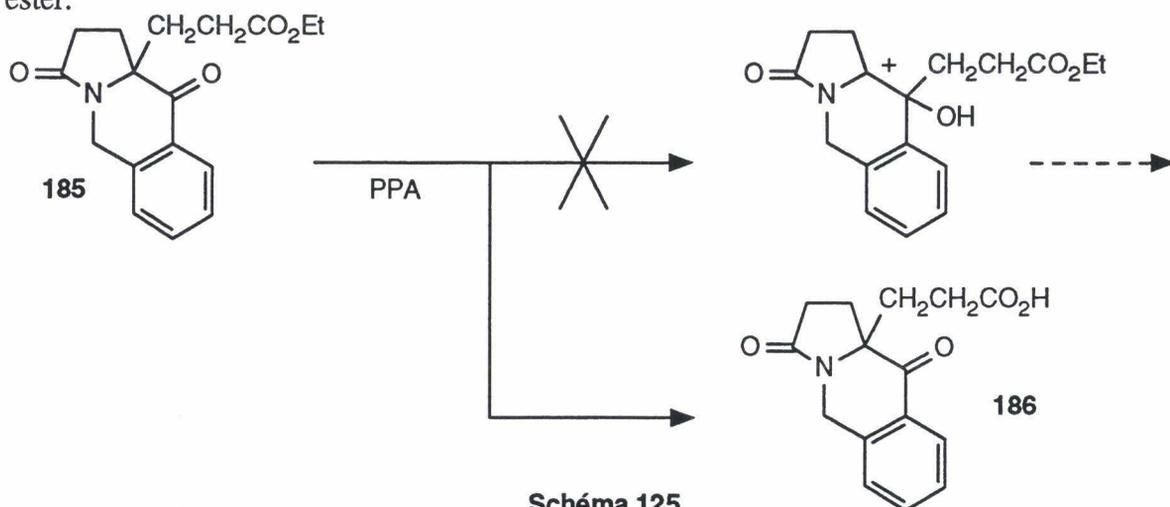


Schéma 125

Afin d'obtenir la cétone **143a** deutérée dans la position 10a (**178**), on a traité la cétone **143a** par l'hydrure de sodium puis par le méthanol deutéré.

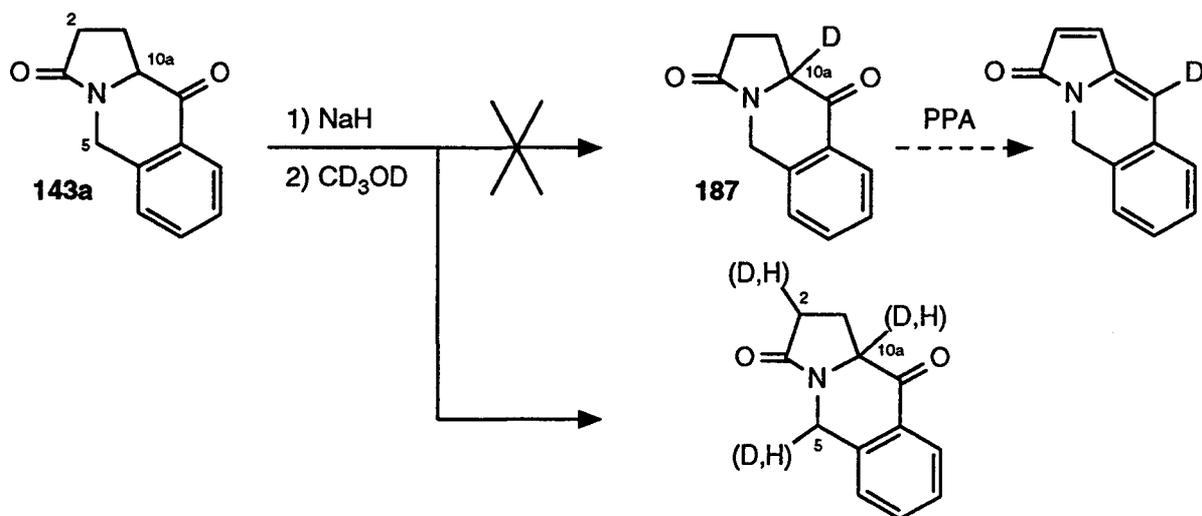


Schéma 126

La deutération par cette méthode n'est pas sélective : elle ne se fait pas uniquement en α de la fonction cétone. En effet, le spectre rmn^1H du produit obtenu montre une deutération partielle de la cétone initiale **143a** dans les positions 2, 5 et 10a. N'ayant pu accéder à la cétone deutérée sélectivement dans la position 10a par cette méthode, un essai de transposition avec l'acide polyphosphorique n'a pas été tenté.

2.3.2.7- REACTION DE SCHMIDT

Par réaction de Schmidt avec l'acide sulfurique et l'azoture de sodium, il a été montré que les cétones **143** peuvent se transposer en lactames **178** ou en lactames **188** [213].

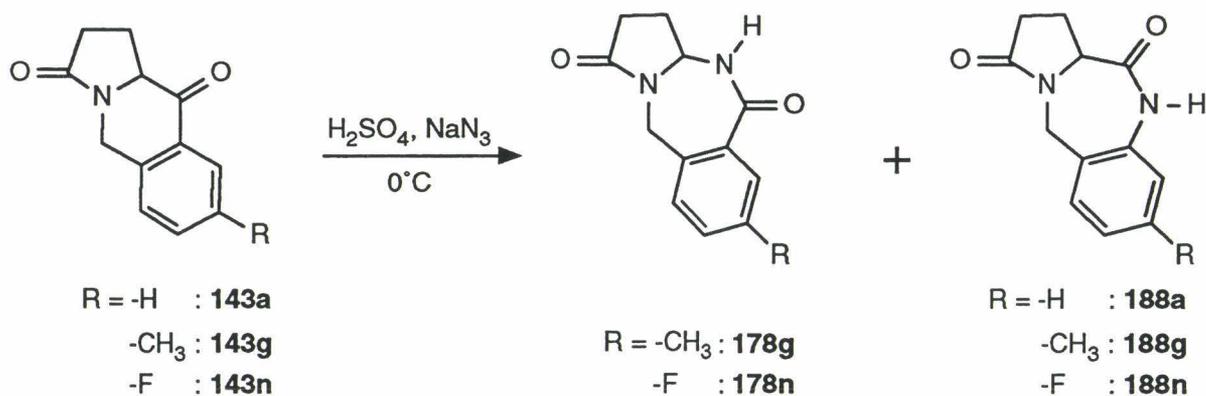


Schéma 127

Nous avons indiqué précédemment que les oximes **177** des cétones **143** peuvent généralement être réarrangés par l'acide polyphosphorique en composés **178** et **179** (chapitre 2.3.2.5). Cependant, il faut noter que pour la cétone **143a**, aucune formation du lactame **178a** n'a été constatée dans ces conditions. De même, la réaction de Schmidt menée sur la cétone **143a** ne permet pas de préparer ce composé **178a** mais conduit exclusivement au produit **188a**.

Avec la cétone **143q** qui possède un noyau naphthalénique, un réarrangement de Schmidt inhabituel est observé. En effet, avec ce composé on n'obtient ni le lactame **178q**, ni le lactame **188q**, mais le dérivé nitrilé **191** en tant que produit principal [308].

Le mécanisme postulé par J.Y. Mérour et ses collaborateurs est résumé dans le schéma 128 [308]. L'addition d'acide azotidrique conduirait, après perte d'eau, à l'intermédiaire **189**. Puis, le départ d'azote mènerait à l'ion nitrénium **190**. La coupure de la liaison a-b générerait un groupe nitrile et un carbocation. Ce dernier réagirait immédiatement avec le cycle le plus riche en électrons du noyau naphthalénique pour donner le composé tétracyclique **191**.

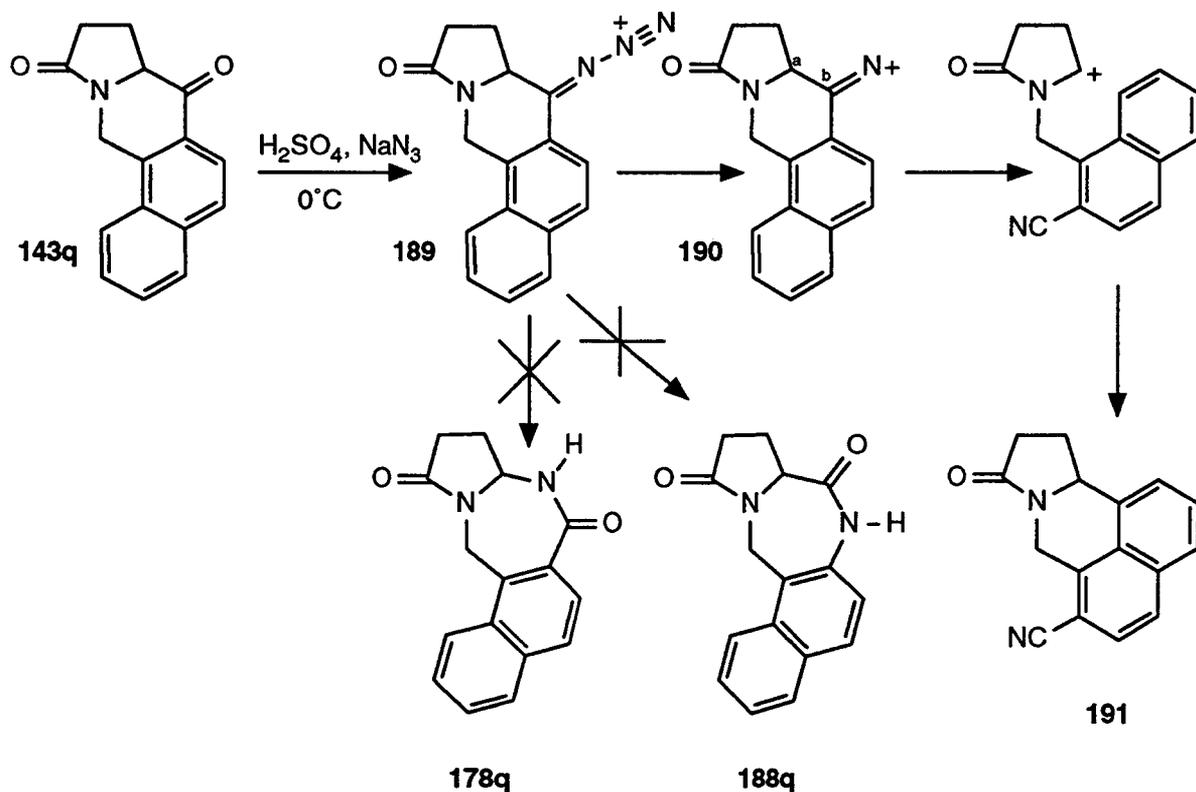


Schéma 128 (d'après [308])

Nous avons vu précédemment que l'action de l'acide polyphosphorique sur la cétone **143q** ne conduit pas au dérivé diéthylénique correspondant **176q** (chapitre 2.3.2.5). Cependant, par analogie avec le réarrangement décrit dans le schéma ci-dessus, nous pensons qu'il est possible que la cétone **143q** se soit transposée, en présence d'acide polyphosphorique, en acide **192**.

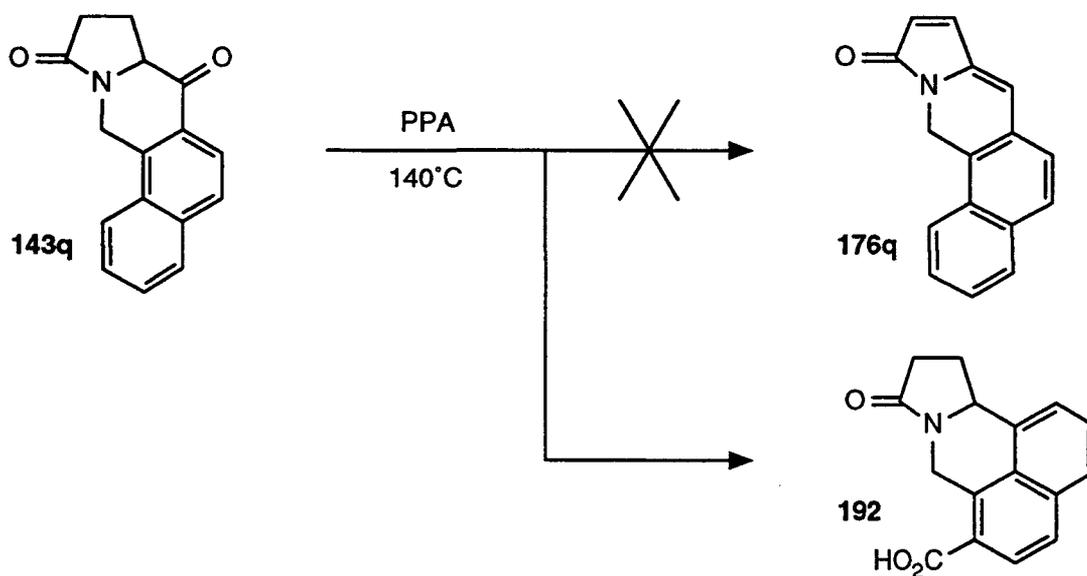


Schéma 129

2.3.2- TENTATIVES DE SYNTHÈSE DE COMPOSÉS POTENTIELLEMENT ACTIFS À PARTIR DE LA 2-AZA-10-CARBA-4-CETOPODOPHYLLOTOXINE (56a)

Des composés appartenant à des familles chimiques assez diverses peuvent donc être synthétisés à partir des cétones **143**. Dans l'hypothèse de réactions similaires effectuées cette fois-ci sur la cétone **56a**, trois produits, parmi ceux susceptibles d'être obtenus ont particulièrement retenu notre attention : composés **193**, **194** et **58a**.

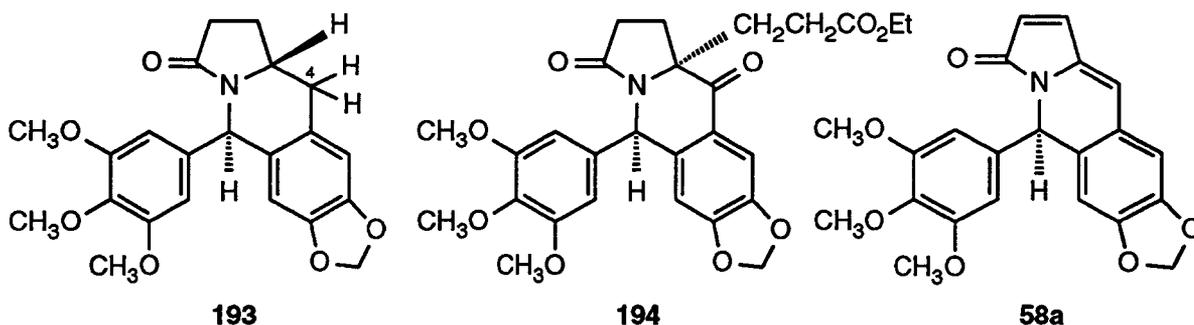


Schéma 130

2.3.3.1- TENTATIVE DE RÉDUCTION TOTALE DE LA FONCTION CÉTONE

Le composé **193** présente l'avantage de ne pas posséder de substituant en position 4. Nous avons indiqué précédemment que l'encombrement stérique en cette position peut diminuer l'activité d'inhibition de la polymérisation de la tubuline (chapitre 1.1.2.5).

Nous avons tenté de le préparer par réduction de la cétone **56a**. Toutefois, la méthode qui a permis de réduire la cétone **143a** en produit **165** (chapite 2.3.2.1) ne nous a pas conduits au composé **193**. En fait, nous n'avons pas réussi à former le dithiolane correspondant.

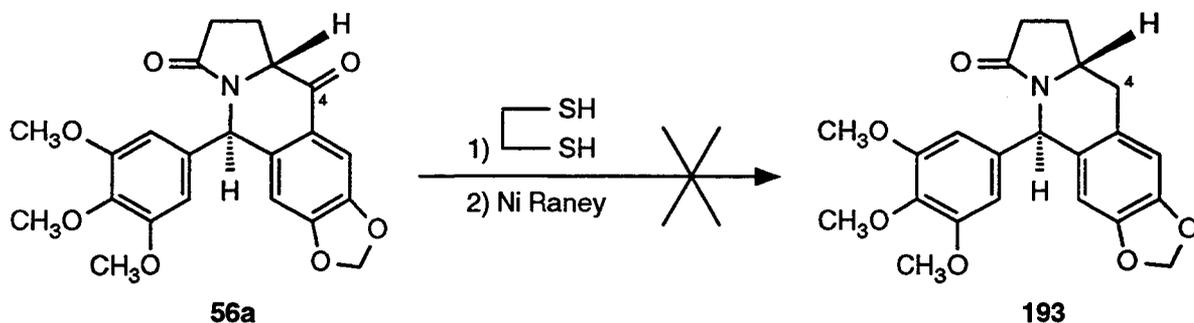


Schéma 131

Généralement, le triéthylsilane en présence d'acide trifluoroacétique permet de réduire les cétones aromatiques [309]. Par exemple, dans ces conditions, K. Tomioka et ses collaborateurs ont réduit quantitativement la 2-aza-4-cétopodophyllotoxine (**158**) en 2-azapodophyllotoxine (**155**) en 10 mn à température ambiante [189].

Dans le cas de la cétone **56a**, après 48 h de chauffage à 70°C, cette réaction a échoué. Nous avons seulement observé la formation d'une faible quantité d'alcool **4a**. Il semble donc que la réaction de réduction pour cette cétone **56a** soit beaucoup plus lente que pour le composé **158** (cette réactivité plus faible n'est pas liée à un problème de solubilité puisque la cétone **4a** se dissous rapidement dans le milieu).

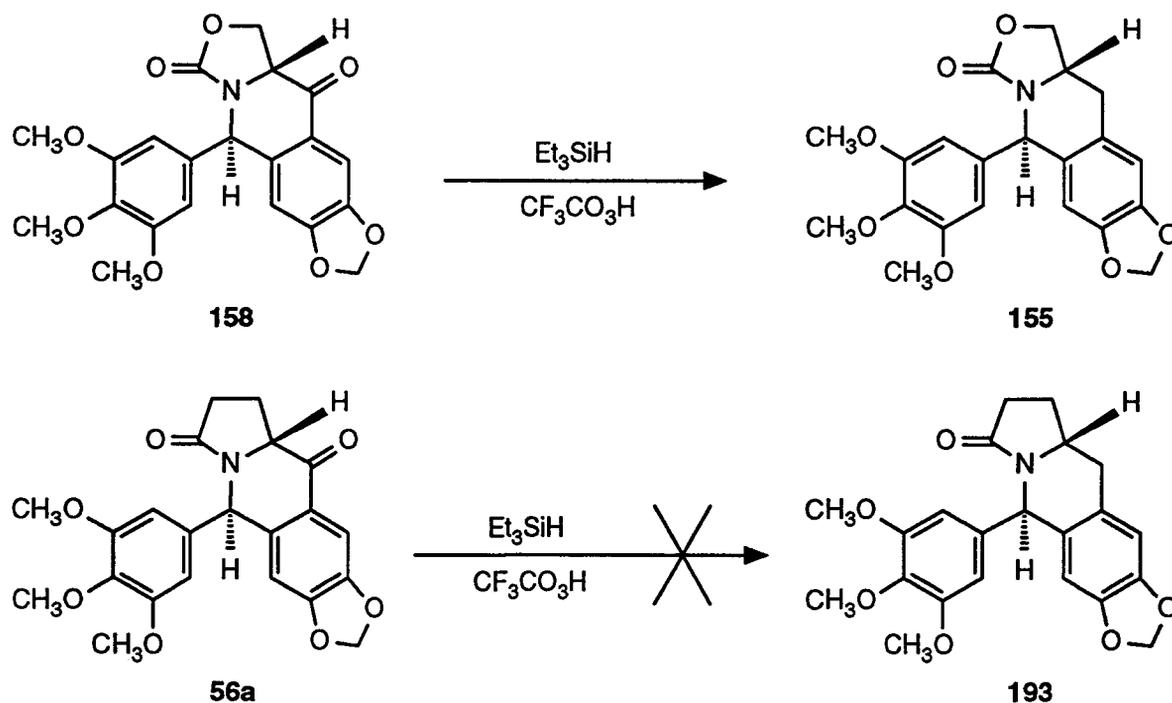


Schéma 132

2.3.3.2- TENTATIVE DE SUBSTITUTION DE LA POSITION 3

L'introduction d'un substituant en position 3 donnerait la possibilité de préparer de nouveaux inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II. Avec des conditions opératoires similaires à celles permettant de préparer le composé **169c** (chapitre 2.3.2.3), nous ne sommes pas parvenus à réaliser une réaction de Michaël entre la cétone **56a** et l'acrylate d'éthyle en présence de triton B.

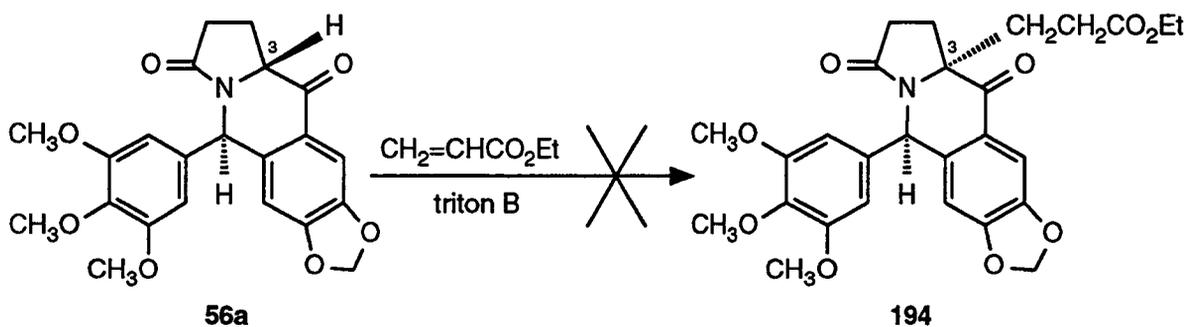


Schéma 133

2.3.3.3- ACTION DE L'ACIDE POLYPHOSPHORIQUE

Le composé diéthylénique **58a** semble aussi posséder les principales caractéristiques essentielles liées à l'activité d'inhibition de la polymérisation de la tubuline. En effet, le système tétracyclique ABCD doit probablement être quasi plan tout en orientant convenablement le noyau aromatique E grâce au carbone 1 qui est de type sp^3 .

La cétone **56b**, traitée par l'acide polyphosphorique, conduit avec un bon rendement au produit diéthylénique **195** (80 %). Or, dans les mêmes conditions expérimentales, nous n'avons pu isoler le dérivé **58a** à partir de la cétone **56a**. Le suivi CCM montre qu'un autre type de réaction s'est produit. Cependant, aucun produit n'a pu être isolé du milieu réactionnel.

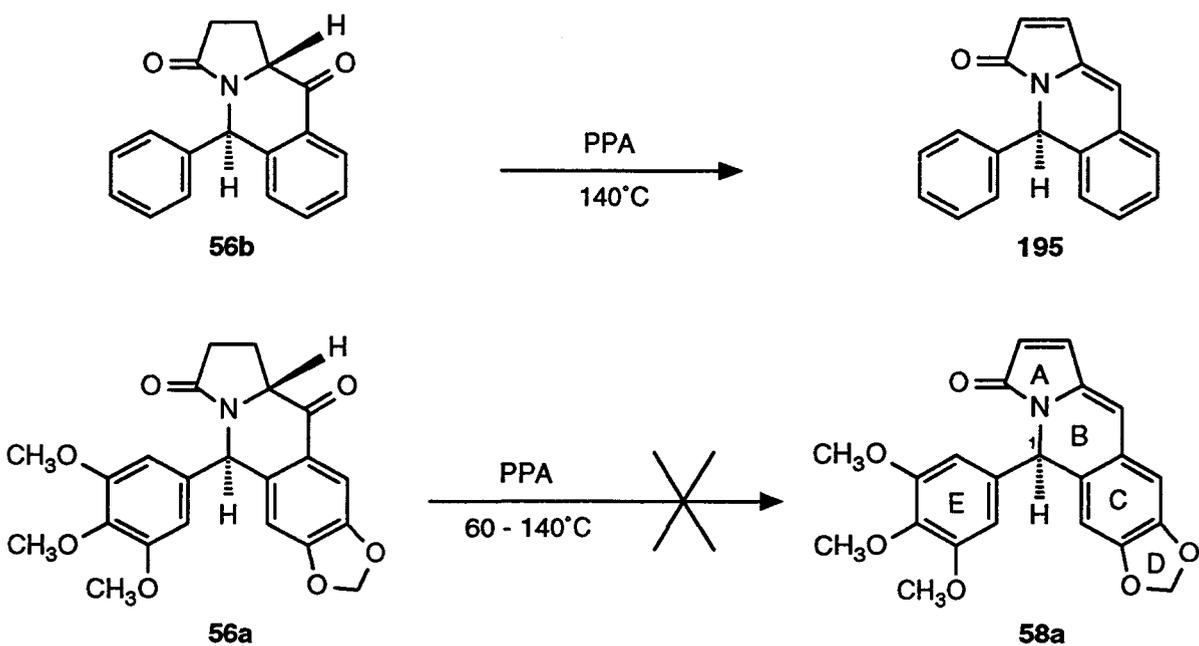


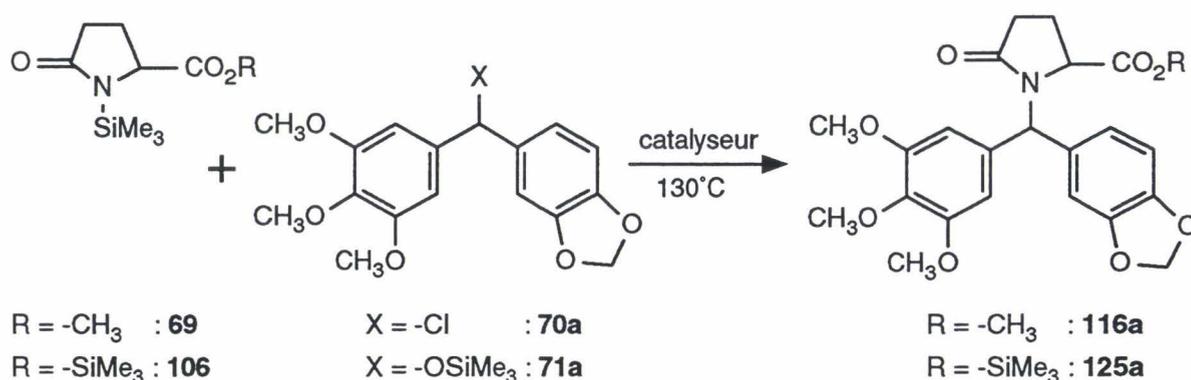
Schéma 134

CONCLUSION

Lors de la préparation de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**), nous avons particulièrement étudié deux réactions clefs : la N-benzhydrylation de dérivés pyroglutamiques et la cyclisation de Friedel-Crafts de l'acide pyroglutamique N-benzhydrylé **67a**.

D'une part, nous avons montré que, en présence d'un catalyseur comme l'iode ou l'acide triflique, le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) est capable de réagir avec les chlorures de benzhydryle pour donner rapidement et quantitativement des esters pyroglutamiques N-benzhydrylés. Ces N-alkylations peuvent aussi être réalisées avec un benzhydrol silylé. Pourtant, nous avons remarqué que les benzhydrols silylés, comme les benzhydrols, sont peu stables en milieu acide puisqu'ils subissent une réaction de disproportionation.

De manière similaire au pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**), l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (**106**) est aussi capable de se condenser avec les chlorures de benzhydryle et les benzhydrols silylés. L'acide pyroglutamique N,O-disilylé (**106**), comme le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) présente l'avantage de posséder une fonction lactame activée. Sa fonction acide est aussi protégée car le groupe $-\text{CO}_2\text{SiMe}_3$ est insensible aux conditions de catalyse utilisées. Cependant, au lieu de réaliser la réaction de Friedel-Crafts sur l'acide **67a**, préparé par saponification de l'ester **116a**, il est possible, dans ce cas, de la conduire directement sur l'acide silylé **125a** obtenu. En effet, comme l'acide libre correspondant, l'acide silylé **125a** réagit facilement avec le chlorure de thionyle ou avec des anhydrides.



Catalyseur = CF₃SO₃H, I₂, ...

Schéma 135

D'autre part, les acides **67a** et **125a** peuvent être cyclisés en cétone **56a** par l'anhydride trifluoroacétique et le trifluorure de bore dans l'éther ou par le chlorure d'étain via le chlorure d'acide. Nous avons montré que la condensation menée avec le pyroglutamate de méthyle N-silylé (**69**) ou l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (**106**) optiquement actifs n'est pas stéréospécifique puisque l'ester **116a** ou l'acide silylé **125a** sont obtenus sous forme de deux diastéréoisomères. La réaction de Friedel-Crafts, réalisée sur le mélange des deux diastéréoisomères de l'acide **67a** ou de l'acide silylé **125a**, fournit la cétone **56a** sous la forme d'un seul diastéréoisomère. Sa stéréochimie est celle désirée puisque les protons des deux carbones asymétriques sont en position trans l'un par rapport à l'autre comme dans la structure de la podophyllotoxine (**1**). Ainsi, le noyau triméthoxybenzène est bien positionné par rapport au reste de la molécule. Un produit secondaire (cétone **56a'**), provenant de la cyclisation sur le noyau triméthoxybenzène, se forme aussi lors de cette réaction de Friedel-Crafts.

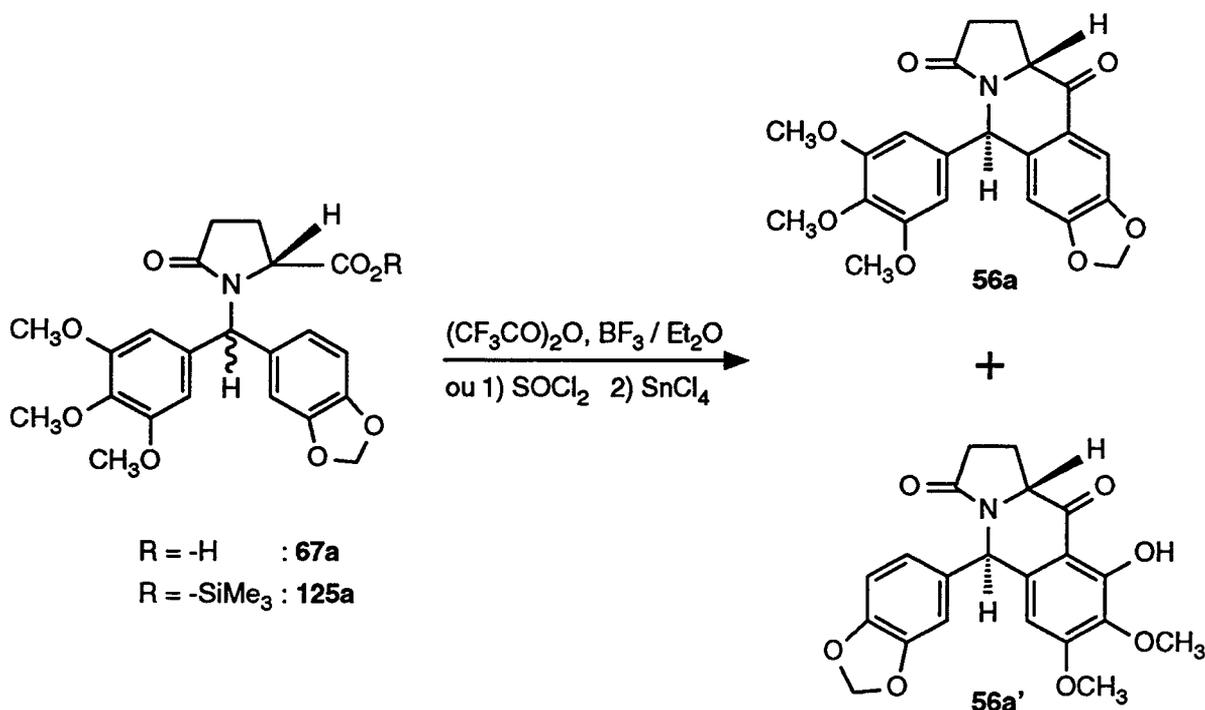


Schéma 136

La 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**) est finalement synthétisée par réduction régiosélective de la cétone **56a** avec l'hydrure de lithium tri-*t*-butoxylaluminium.

Grâce à ces diverses études, nous avons mis au point une méthode de synthèse originale qui permet de préparer rapidement, facilement et en trois étapes seulement la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**). Le rendement global est de 20 % à partir du 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde (**133**) et du 5-bromo-1,3-benzodioxole (**130**).

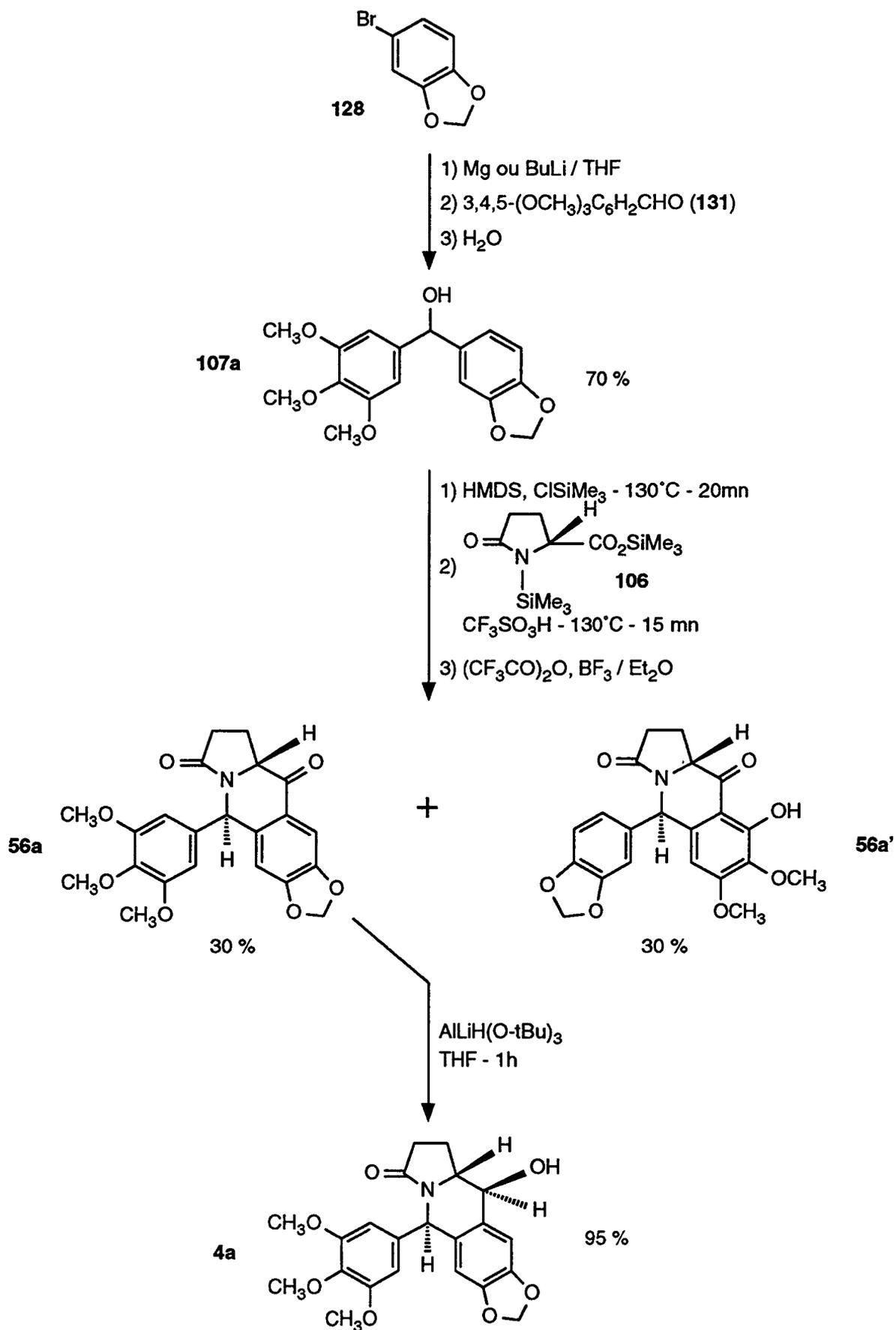


Schéma 137

Nous n'avons que très peu étudié la réactivité chimique de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (4a) et de son dérivé cétonique 56a. Cependant, ces composés peuvent être des synthons originaux permettant de préparer de nouvelles molécules intéressantes. Par exemple, il est probablement possible d'accéder aux analogues des déméthylépipodophyllotoxines 196-197 et 58b qui sont potentiellement des inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II.

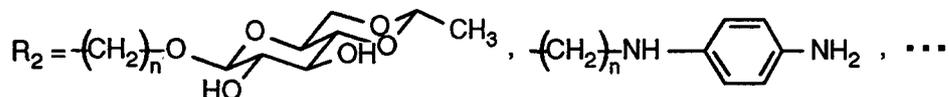
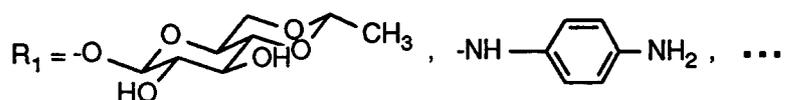
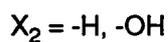
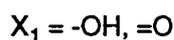
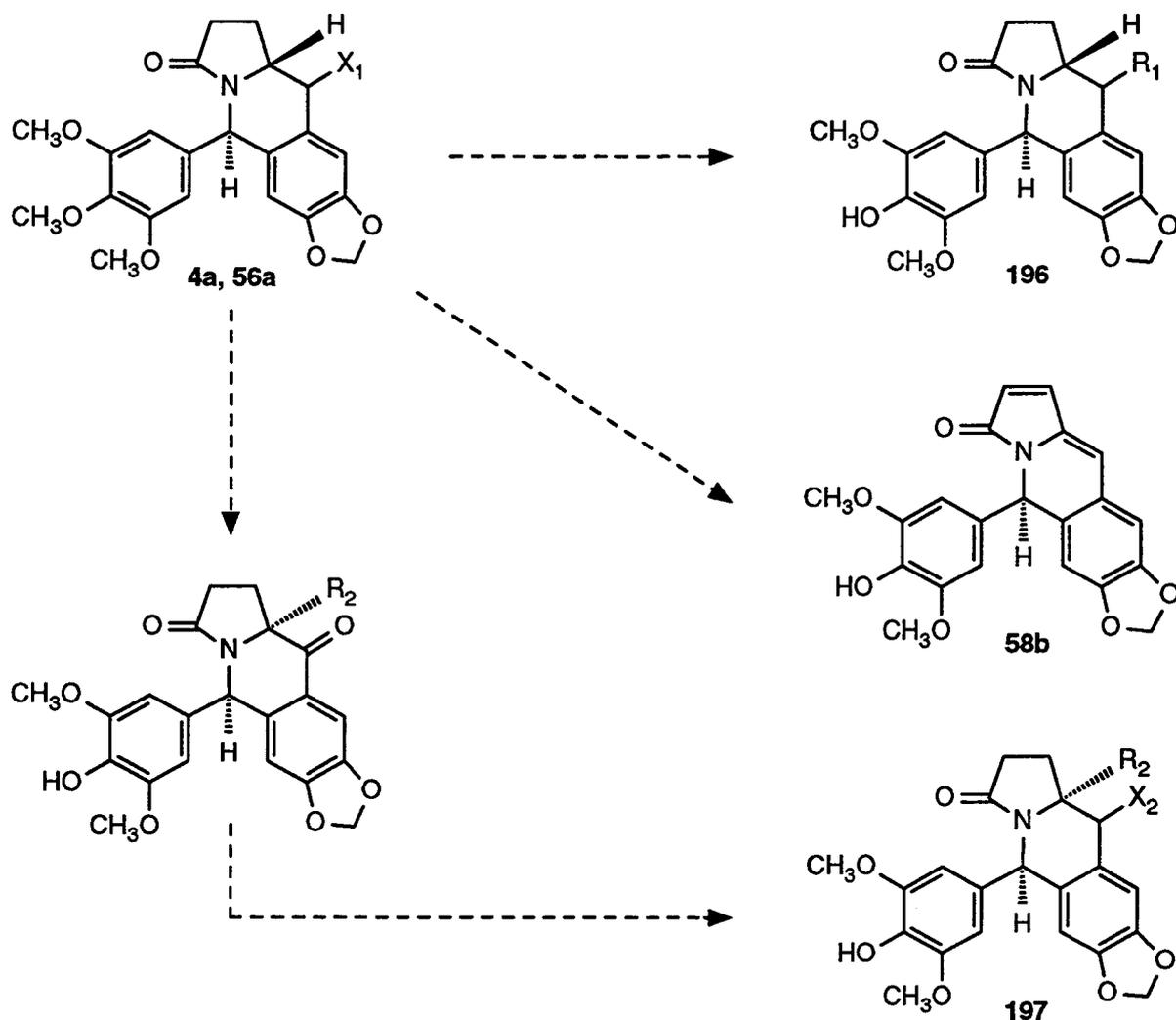


Schéma 138

PARTIE EXPERIMENTALE

PARTIE EXPERIMENTALE

Les spectres ir ont été enregistrés sur un appareil "Perkin Elmer 1600". Les spectres rmn ont été soit enregistrés sur un appareil "Bruker AC300", soit sur un appareil "Hitachi-Perkin-Elmer R-600". Les points de fusion ont été mesurés sur un appareil "Electrothermal" et sont non corrigés. Les micro-analyses ont été réalisées par le Service Central d'Analyse du CNRS (Vernaison). Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un polarimètre "Perkin Elmer 241".

N-TRIMETHYLSILYLPYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-69 ET DL-69)

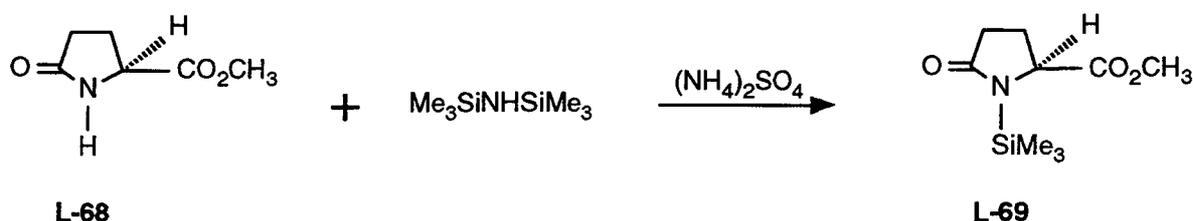


Schéma 139

On chauffe à 130°C un mélange de 200.0 g (1.40 mole) de L-pyroglutamate de méthyle (**L-68**) et de 4 g de chlorure d'ammonium. 295 ml (1.4 mole) d'hexaméthylsilazane sont ensuite additionnés à la même température. Après deux heures de reflux, on évapore l'excès d'hexaméthylsilazane et on distille (Eb (0.1 mmHg) = 88°C). On obtient ainsi 231.7 g (1.08 mole) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) (Rdt = 77.0 % ; les propriétés physiques de ce produit sont identiques à celles décrites dans la littérature [218]).

La même réaction menée avec le DL-pyroglutamate de méthyle (**DL-68**) au lieu du L-pyroglutamate de méthyle (**L-68**) permet de préparer le DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**).

Eb (0.1 mmHg) = 88°C

rmn¹H (CDCl₃) : 0.26 (s, 9H), 2.1-2.7 (m, 4H), 3.72 (s, 3H), 4.1-4.4 (m, 1H)

Anal. : Calculé : C, 50.20; H, 7.96; N, 6.50; O, 22.29; Si, 13.04 (C₉H₁₇NO₃Si : 215.33)

**N-TRIMETHYLSILYLPYROGLUTAMATE DE TRIMETHYLSILYLE
(L-106 ET DL-106)**

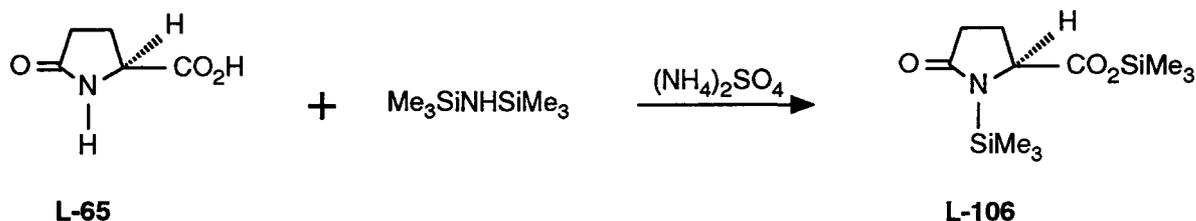


Schéma 140

On ajoute lentement 229 ml (1.08 mole) d'hexaméthylsilazane à un mélange de 129.1 g (1.00 mole) d'acide L-pyrroglutamique (**L-65**) et de 2 g de chlorure d'ammonium. Après 3 heures de reflux, on évapore l'excès d'hexaméthylsilazane et on distille (Eb (0.1 mmHg) = 105°C). On obtient ainsi 218.7 g (0.80 mole) d'acide L-pyrroglutamique N-silylé (**L-106**) (Rdt = 80.0 % ; les propriétés physiques de ce produit sont identiques à celles décrites dans la littérature [263]).

La même réaction menée avec l'acide DL-pyrroglutamique (**DL-65**) au lieu de l'acide L-pyrroglutamique (**L-65**) permet de préparer l'acide DL-pyrroglutamique N,O-disilylé (**DL-106**).

Eb (0.1 mmHg) = 105°C

^1H (CDCl₃) : 0.23 (s, 9H), 0.27 (s, 9H), 1.9-2.6 (m, 4H), 4.0-4.3 (m, 1H)

Anal. : Calculé : C, 48.31; H, 8.48; N, 5.12; O, 17.55; Si, 20.54 (C₁₁H₂₃NO₃Si₂ : 273.48)

BENZHYDRYLOXYTRIMETHYLSILANE (71b)

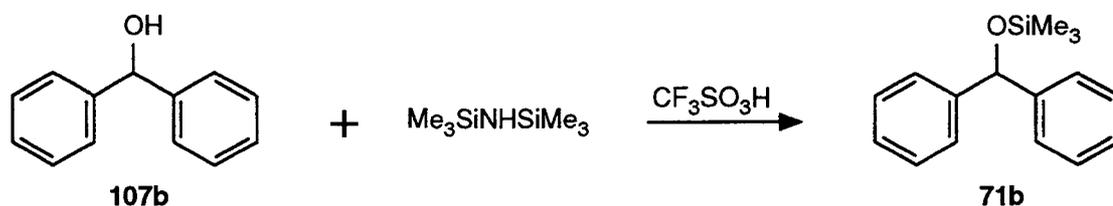


Schéma 141

Sous atmosphère d'azote, 100 ml (474.0 mmoles) d'hexaméthylsilazane sont ajoutés à 92.2 g (500.4 mmoles) de benzhydrol (**107b**). On introduit ensuite 0.05 ml d'acide triflique et on porte à 80°C jusqu'à la fin du dégagement d'ammoniac (30 mn de chauffage environ sont nécessaires). Après avoir évaporé l'excès d'hexaméthylsilazane, on distille (Eb (0.21 mmHg) = 85-87°C). On obtient ainsi 123.4 g (481.2 mmoles) de benzhydrol silylé (**71b**) (Rdt = 96.2 %) sous la forme d'un liquide incolore.

Eb (0.21 mmHg) = 85-87°C

rmn^1H (CDCl_3) : 0.06 (s, 9H), 5.77 (s, 1H), 7.28 (s, 10H)

Anal. : Calculé : C, 74.95; H, 7.86; O, 6.24; Si, 10.95 ($\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{OSi}$: 256.42)

Par la même procédure, le benzhydrol (**107b**) peut être silylé par l'hexaméthylidisilazane en utilisant du chlorotriméthylsilane à la place de l'acide triflique. En présence de 4.2 équivalents molaires de ce catalyseur, une heure de chauffage à 80°C est nécessaire pour que la silylation soit totale (Rdt = 98.0 %).

4,4'-DICHLOROBENZHYDRYLOXYTRIMETHYLSILANE (**71e**)

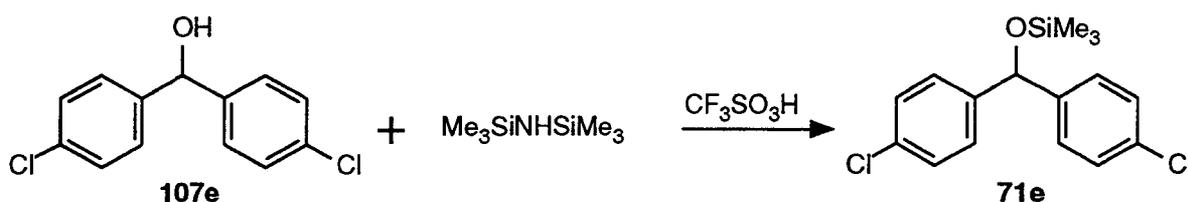


Schéma 142

Sous atmosphère d'azote, 10 ml (47.4 mmoles) d'hexaméthylidisilazane sont ajoutés à 5.0 g (19.8 mmoles) de 4,4'-dichlorobenzhydrol (**107e**). On introduit ensuite 0.05 ml d'acide triflique et on porte à 90°C jusqu'à la fin du dégagement d'ammoniac (3 heures de chauffage sont nécessaires). Après avoir évaporé l'excès d'hexaméthylidisilazane, on distille (Eb (0.375 mmHg) = 111-115°C). On obtient ainsi 5.7 g (17.5 mmoles) de benzhydrol silylé **71e** (Rdt = 88.7 %) sous la forme d'un liquide incolore.

Eb (0.375 mmHg) = 111-115°C

rmn^1H (CDCl_3) : 0.06 (s, 9H), 5.65 (s, 1H), 7.20 (s, 8H)

Anal. : Calculé : C, 59.07; H, 5.58; Cl, 21.80; O, 4.92; Si, 8.63 ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{OSi}$: 325.31)

4,4'-DIMETHOXYBENZHYDRYLOXYTRIMETHYLSILANE (**71d**)

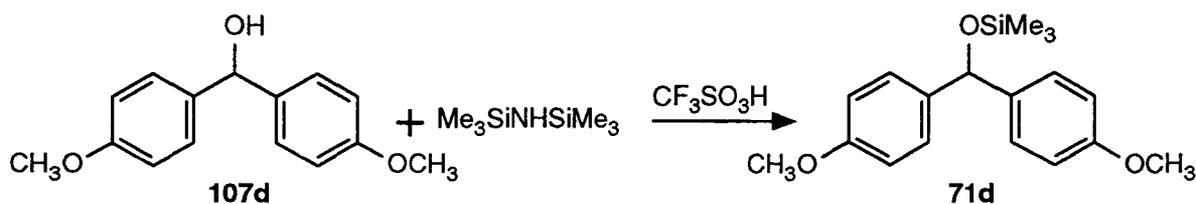


Schéma 143

Dans un bicol de 20 ml, équipé d'un réfrigérant et d'un bouchon à jupe rabattable,

on introduit, sous azote, 3.0 g (12.3 mmoles) de 4,4'-diméthoxybenzhydrol (**107d**) et 10.0 ml (47.4 mmoles) d'hexaméthylidisilazane. Après avoir ajouté 3 gouttes de chlorotriméthylsilane, on porte à 130°C. On observe très rapidement un dégagement d'ammoniac ainsi que la formation d'un dépôt de chlorure d'ammonium à la base du réfrigérant. Après 20 mn de chauffage, l'excès d'hexaméthylidisilazane est évaporé et le chlorure d'ammonium est sublimé. On obtient ainsi 3.9 g (12.3 mmoles) de benzhydrol silylé **71d** (Rdt # 100 %) sous la forme d'un liquide incolore.

rmn^1H (CDCl_3) : 0.05 (s, 9H), 3.68 (s, 6H), 5.65 (s, 1H), 6.80 (d, $J = 8.6$ Hz, 4H), 7.18 (d, $J = 8.6$ Hz, 4H)

Anal. : Calculé : C, 68.31; H, 7.64; O, 15.17; Si, 8.87 ($\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{Si}$: 316.48)

BIS-BENZHYDRYLOXYETHER (**110b**)

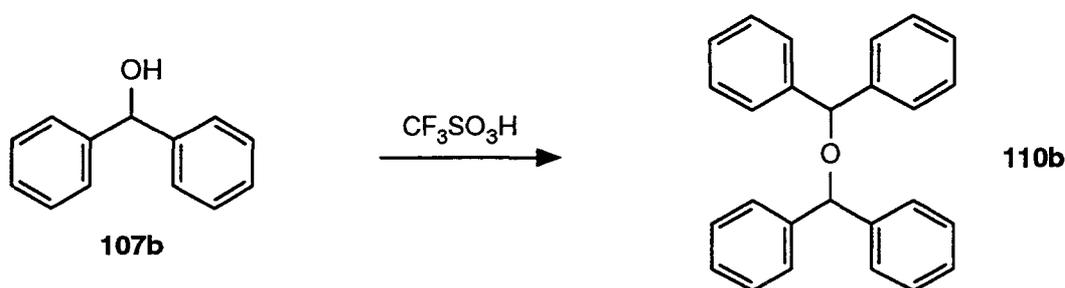


Schéma 144

4.6 g (25.0 mmoles) de benzhydrol (**107b**) sont dissous dans 12 ml de chlorure de méthylène. On ajoute 0.05 ml (0.57 mmole, soit 22.6 meq par rapport au benzhydrol **107b**) d'acide triflique et on porte à reflux. Après une heure de chauffage, l'analyse rmn^1H du milieu réactionnel montre que le benzhydrol (**107b**) s'est entièrement transformé en dibenzhydryléther (**110b**). On dilue ensuite par 20 ml de chlorure de méthylène et on additionne 20 ml d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on obtient 8.6 g (24.5 mmoles) de bis-benzhydryloxyéther (**110b**) sous forme de cristaux blancs (Rdt = 98.3 %) (l'éther **110b** est recristallisé dans l'heptane ; les propriétés physiques de ce produit sont identiques à celles décrites dans la littérature [310]).

DISPROPORTIONNATION DU BIS-BENZHYDRYLOXYETHER (110b)

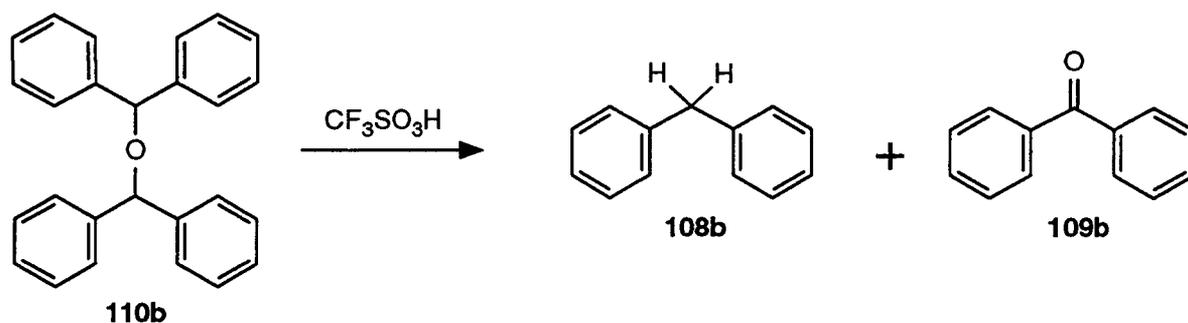


Schéma 145

2.30 g (6.56 mmoles) de dibenzhydryléther (**110b**) sont dissous dans 5 ml de chloroforme. On ajoute 0.05 ml (0.57 mmole) d'acide triflique et on porte à reflux. Après 8 heures de chauffage, le milieu réactionnel est dilué par 20 ml de chlorure de méthylène et on additionne 20 ml d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on obtient 2.2 g d'un mélange équimolaire (d'après l'analyse rmn^1H) de diphenylméthane (**108b**) et de benzophénone (**109b**) (Rdt = 95.7 %). Ces composés sont isolés par distillation (leurs propriétés physiques sont identiques à celles des produits commerciaux).

DISPROPORTIONNATION DU BENZHYDROL (107b) ET DU BENZHYDRYLOXYTRIMETHYLSILANE (71b)

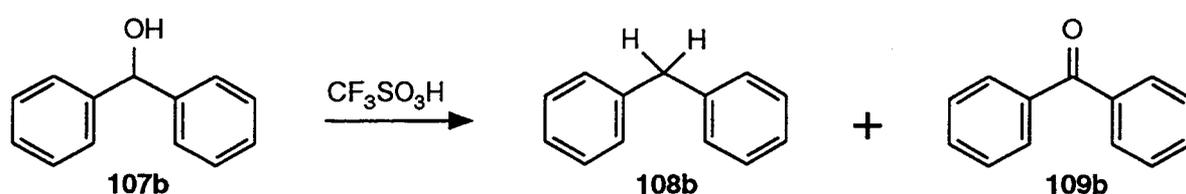


Schéma 146

2.4 g (13.0 mmoles) de benzhydrol (**107b**) sont dissous dans 5 ml de chloroforme. On ajoute 0.05 ml (0.57 mmole) d'acide triflique et on porte à reflux pendant 17 heures. On dilue ensuite le milieu réactionnel par 20 ml de chlorure de méthylène et on additionne 20 ml d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on obtient 2.1 g d'un mélange équimolaire (d'après l'analyse rmn^1H) de diphenylméthane (**108b**) et de benzophénone (**109b**) (Rdt = 92.0 %). Ces composés sont isolés par distillation (leurs propriétés physiques sont identiques à celles des

produits commerciaux).

Nous avons aussi étudié l'action de l'acide triflique sur le benzhydrol (**107b**) et sur le benzhydrol silylé (**71b**) en faisant varier la température, le solvant et la quantité d'acide triflique.

$\text{R} = \text{-H} : \mathbf{107b}$
 $\text{R} = \text{-SiMe}_3 : \mathbf{71b}$

110b

109b

108b

-R	Quantité de $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	Solvant	Température	Durée	Produit(s) obtenu(s) (d'après rmn^1H)		
					Ether 110b	$(\text{Ph})_2\text{CH}_2$ (108b)	$(\text{Ph})_2\text{C=O}$ (109b)
-H	6.25 meq	CH_2Cl_2	42°C	24 h	0 %	0 %	0 %
-H	11.0 meq	CH_2Cl_2	42°C	18 h	100 %	0 %	0 %
-H	22.6 meq	CH_2Cl_2	42°C	1 h	100 %	0 %	0 %
-H	27.1 meq	CH_2Cl_2	42°C	5 mn	100 %	0 %	0 %
-H	43.4 meq	CHCl_3	20°C	17 h	100 %	0 %	0 %
-H	43.4 meq	CHCl_3	61°C	5 mn	0 %	50 %	50 %
-SiMe ₃	9.7 meq	-	0°C	1 mn	100 %	0 %	0 %
-SiMe ₃	9.7 meq	-	130°C	< 5 s	0 %	50 %	50 %

Tableau 14

DISPROPORTIONNATION DU 4,4'-DICHLOROBENZHYDROL (107e)

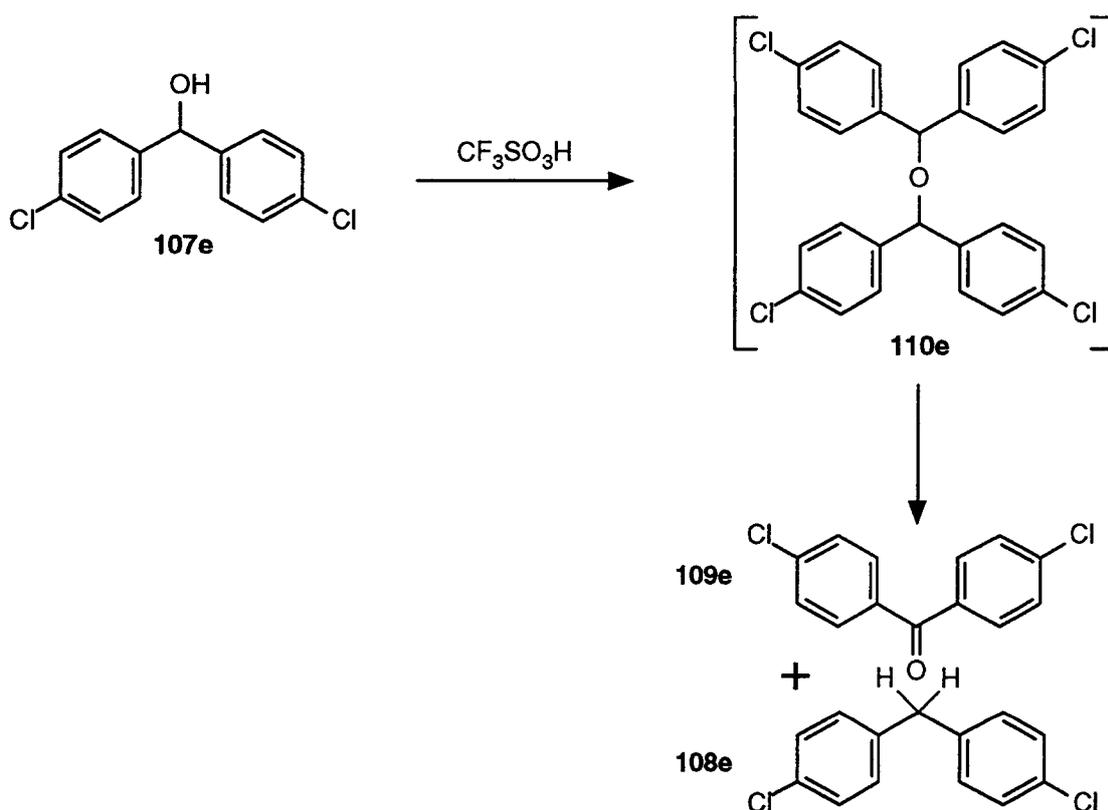


Schéma 147

2.4 g (9.5 mmoles) de 4,4'-dichlorobenzhydrol (**107e**) sont dissous dans 5 ml de chloroforme bouillant. La température du milieu réactionnel est maintenue à 61°C et 0.05 ml (0.57 mmole, soit 59.6 meq par rapport au benzhydrol **107e**) d'acide triflique est additionné. 5 mn après l'ajout du catalyseur, l'analyse rmn^1H montre que le 4,4'-dichlorobenzhydrol (**107e**) s'est entièrement transformé en dibenzhydryléther **110e**.

rmn^1H (CDCl_3) : 5.27 (s, 2H), 7.25 (s, 16H)

Anal. : Calculé : C, 63.96; H, 3.72; Cl, 29.04; O, 3.28 ($\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{Cl}_4\text{O}$: 470.57)

Après 5 heures de chauffage, on ajoute 10 ml de chlorure de méthylène et 10 ml d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation du solvant, le solide obtenu est filtré et lavé soigneusement avec de l'éther diisopropylique froid afin de solubiliser exclusivement le 4,4'-dichlorodiphénylméthane (**108e**). Les cristaux résiduels sont séchés : on récupère ainsi 0.75 g (3.0 mmoles) de 4,4'-dichlorobenzophénone (**109e**) (Rdt = 31.5 % ; ses propriétés physiques sont identiques à celles du produit commercial). La concentration des filtrats permet d'isoler 0.85 g (3.6 mmoles) de 4,4'-dichlorodiphénylméthane (**108e**) (Rdt = 37.8 % ; ses propriétés physiques sont identiques à celles décrites dans le Handbook).

**DISPROPORTIONNATION DU 4,4'-DIMETHOXYBENZHYDROL (107d)
ET DU 4,4'-DIMETHOXYBENZHYDRYLOXYTRIMETHYLSILANE (71d)**

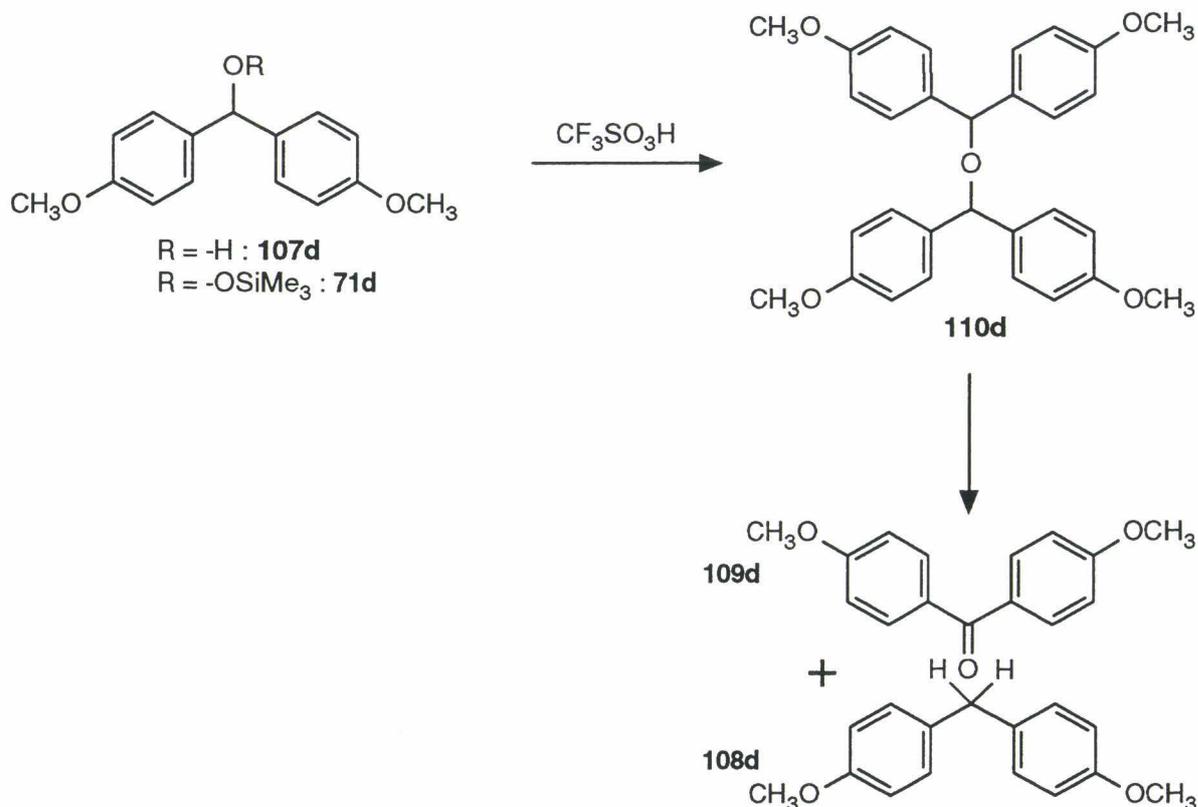


Schéma 148

10.2 g (41.7 mmoles) de 4,4'-diméthoxybenzhydrol (**107d**) (ou 13.2 g (41.7 mmoles) de benzhydrol silylé **71d**) sont dissous dans 20 ml de chloroforme. On ajoute, à température ambiante, 0.05 ml (0.56 mmole, soit 13.5 meq par rapport à **107d** ou **71d**) d'acide triflique. Deux heures après l'addition, l'analyse rmn^1H du milieu réactionnel montre que le 4,4'-diméthoxybenzhydrol (**107d**) (ou le benzhydrol silylé **71d**) s'est entièrement transformé en dibenzhydryléther **110d**.

Anal. : Calculé : C, 76.57; H, 6.43; O, 17.00 (C₃₀H₃₀O₅ : 470.57)

rmn^1H (CDCl₃) : 3.68 (s, 12H), 5.19 (s, 2H), 6.71 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 8.4 Hz, 1H)

La solution est ensuite chauffée à 60°C pendant 15 mn. On dilue ensuite par 50 ml de chlorure de méthylène et on additionne 50 ml d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, le solide obtenu est filtré et lavé soigneusement avec de l'heptane afin de solubiliser complètement le dianisylméthane (**108d**). Les cristaux résiduels sont séchés : on récupère ainsi 4.45 g (18.4 mmoles) de 4,4'-diméthoxybenzophénone (**109d**) (Rdt = 44.0 % ; ses propriétés physiques sont identiques à celles du produit commercial). La concentration des filtrats permet

d'isoler 4.0 g (17.5 mmoles) de dianisylméthane (**108d**) (Rdt = 42.0 % ; ses propriétés physiques sont identiques à celles décrites dans la littérature [264]).

Lorsque cette réaction est menée à température ambiante avec 58.5 meq d'acide triflique, on observe, en moins de 5 mn, une décomposition totale du 4,4'-diméthoxybenzhydrol (**107d**) en dianisylméthane (**108d**) et en 4,4'-diméthoxybenzophénone (**109d**).

N-BENZHYDRYLPYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-116b)

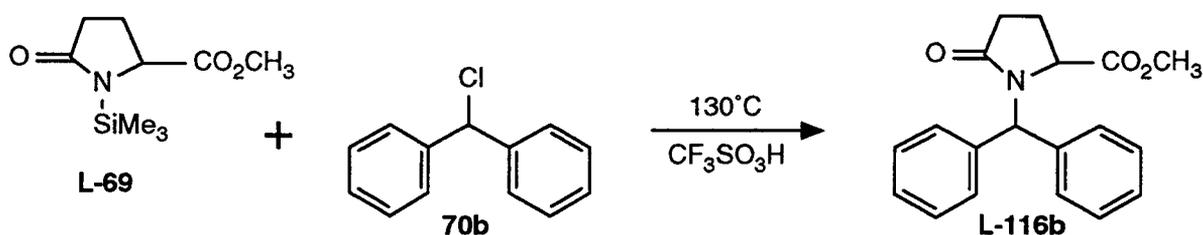


Schéma 149

Dans un bicol de 250 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 107.7 g (500.2 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) et 101.35 g (500.0 mmoles) de chlorure de benzhydryle (**70b**). 1.0 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Le chlorotriméthylsilane formé commence à distiller au bout de 25 mn. Après une heure de chauffage, l'analyse rmn^1H montre que le rendement de la condensation est de 100 %. Lorsque le milieu réactionnel est ramené à température ambiante, le N-benzhydrylpyroglutamate de méthyle (**L-116b**) cristallise directement. Le solide obtenu est broyé finement et est lavé à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage, on obtient 153.7 g (496.9 mmoles) d'ester **L-116b** (Rdt = 99.4 %) sous forme d'une poudre blanche (l'ester **L-116b** est recristallisé dans l'acétate d'éthyle ; ses propriétés physiques sont identiques à celles décrites dans la littérature [221]).

Une autre méthode de purification consiste à reprendre le mélange réactionnel dans le chlorure de méthylène, laver à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide, sécher sur sulfate de sodium et évaporer le solvant (Rdt = 97.8 %).

Par la même procédure, nous avons fait réagir 10.6 g (49.2 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) avec 10.0 g (49.3 mmoles) de chlorure de benzhydryle (**70b**) en utilisant d'autres catalyseurs à la place de l'acide triflique. Ces différents essais sont regroupés dans le tableau suivant (le degré d'avancement de la condensation a été déterminé par analyse rmn^1H).

Catalyseur	$n_{\text{chlorure 70b}} : n_{\text{cat.}}$	Durée	Rendement (d'après rmn^1H)
-	1 : 0	96 h	14.5 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	188 : 1	2 h	100 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	44 : 1	1 h	100 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{SiMe}_3$	44 : 1	1 h	100 %
$\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$	10 : 1	26 h	56 %
$\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$	10 : 1	39 h	73 %
ClSO_3H	37 : 1	9 h	87 %
ClSO_3H	10 : 1	2.5 h	88.5 %
HgCl_2	90 : 1	45 h	88.5 %
HgCl_2	10 : 1	15 mn	100 %
SnCl_4	10 : 1	15 mn	100 %
AlCl_3	10 : 1	15 mn	75 %
$(\text{CH}_3)_3\text{SiOK}$	20 : 1	60 h	23 %
$(\text{CH}_3)_3\text{SiOK}$	10 : 1	26 h	18.6 %
$(\text{CH}_3)_3\text{SiOK}$	4 : 1	65 h	24.2 %
SiO_2	10 : 1	26 h	26 %
SiO_2	10 : 1	39 h	45 %
SiO_2	1 : 6	23 h	77.5 %
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$	10 : 1	26 h	84.7 %
KF	10 : 1	26 h	42.4 %
KF	10 : 1	39 h	68.5 %
I_2	464 : 1	26 h	38.9 %
I_2	63 : 1	1 h	100 %

Tableau 15

**N-(4,4'-DIMETHOXYBENZHYDRYL)PYROGLUTAMATE DE METHYLE
(L-116d)**

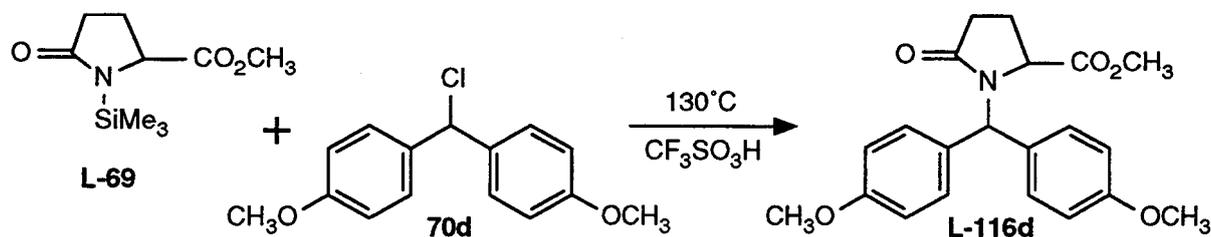


Schéma 150

Dans un bicol de 250 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 53.5 g (248.5 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) et 54.4 g (207.0 mmoles) de chlorure de 4,4'-diméthoxybenzhydryle (**70d**). 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C (le chlorotriméthylsilane distille rapidement). Après 15 mn de chauffage, l'analyse rmn^1H montre que le rendement de la condensation est de 100 %. Lorsque le milieu réactionnel est ramené à température ambiante, l'ester **L-116d** cristallise directement. Le solide obtenu est broyé finement et est lavé à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage, on obtient 75.8 g (205.2 mmoles) d'ester **L-116d** (Rdt = 99.1 %) sous forme d'une poudre blanche (l'ester **L-116d** est recristallisé dans l'acétate d'éthyle ; ses propriétés physiques sont identiques à celles décrites dans la littérature [220]).

Une autre méthode de purification consiste à reprendre le mélange réactionnel dans le chlorure de méthylène, laver à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide, sécher sur sulfate de sodium et évaporer le solvant (Rdt = 98.2 %).

**N-(4-CHLOROBENZHYDRYL)PYROGLUTAMATE DE METHYLE
(L-116g)**

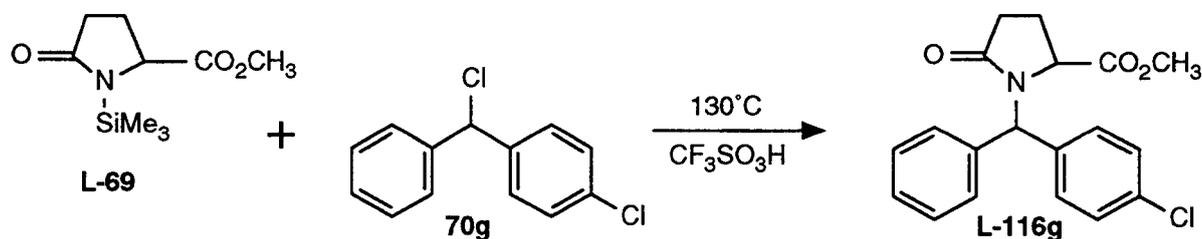


Schéma 151

Dans un bicol de 250 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 55.0 g (255.4 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle

N-silylé (**L-69**) et 55.1 g (232.4 mmoles) de chlorure de 4-chlorobenzhydryle (**70g**). 0.5 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Le chlorotriméthylsilane formé commence à distiller au bout de 30 mn. Après 1^h30 de chauffage (l'analyse rmn^1H montre que le rendement de la condensation est de 100 %), le milieu réactionnel est refroidi et dilué par 100 ml d'eau et 50 ml de chlorure de méthylène. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation du solvant, on obtient 72.7 g (211.5 mmoles) d'ester **L-116g** (Rdt = 91.0 %) sous la forme d'un mélange équimolaire de deux diastéréoisomères. Ces deux composés diffèrent par la configuration de leur carbone benzylique (l'ester **L-116g** est recristallisé dans l'acétate d'éthyle).

F = 145-146°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -148.86$ (c = 0.19 ; CH_2Cl_2)

rmn^1H (CDCl_3) : 1.85-2.62 (m, 4H), 3.19 (s, 1.5H), 3.25 (s, 1.5 H), 4.05-4.21 (m, 1H), 6.34 (s, 0.5H), 6.39 (s, 0.5H), 6.82-7.28 (m, 9H)

Anal. : Calculé : C, 66.38; H, 5.28; Cl, 10.31; N, 4.07; O, 13.96 ($\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClNO}_3$)

Trouvé : C, 66.21; H, 5.27; Cl, 10.43; N, 4.07; O, 13.94

N-(4,4'-DIFLUOROBENZHYDRYL)PYROGLUTAMATE DE METHYLE (**L-116h**)

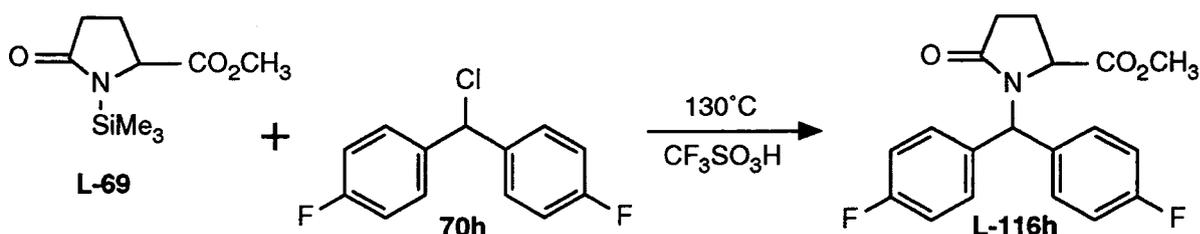


Schéma 152

Dans un bicol de 25 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 5.0 g (23.2 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) et 5.0 g (21.0 mmoles) de chlorure de 4,4'-difluorobenzhydryle (**70h**). 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Après deux heures de chauffage (l'analyse rmn^1H montre que le rendement de la condensation est de 100 %), le milieu réactionnel est refroidi et dilué par 10 ml d'eau et 10 ml de chlorure de méthylène. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation du solvant, on obtient 7.0 g (20.3 mmoles) d'ester **L-116h** (Rdt = 96.7 %) sous forme d'une poudre blanche.

F = 126-127°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -143.44$ (c = 0.23 ; CH_2Cl_2)

ir (KBr) cm^{-1} : 1740, 1695 (C=O), 1605, 1510 (C=C), 1230 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.00-2.70 (m, 4H), 3.26 (s, 3H), 3.97-4.23 (m, 1H), 6.43 (s, 1H), 6.70-7.30 (m, 8H)

Anal. : Calculé : C, 66.08; H, 4.96; F, 11.00; N, 4.06; O, 13.90 ($\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{NO}_3$)

Trouvé : C, 65.84; H, 4.79; F, 11.05; N, 3.89

N-BENZYLPIYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-76a) (PREPARE A PARTIR DU CHLORURE DE BENZYLE (78a))

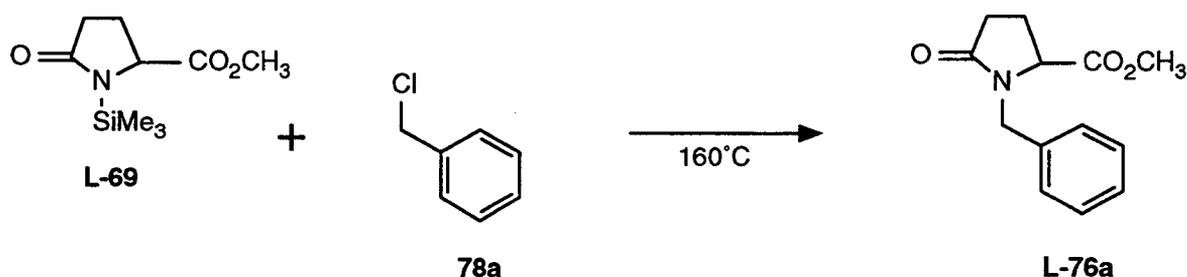


Schéma 153

Dans un bicol de 20 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 8.5 g (39.5 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) et 5.0 g (39.5 mmoles) de chlorure de benzyle (**78a**). 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 160°C. Après 18 heures de chauffage (l'analyse rmn^1H montre que la réaction n'évolue plus (Rdt = 61 %)), on refroidit le milieu réactionnel et on le transvase dans 20 ml d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on distille l'ester **L-76a** (Eb (1.5 mmHg) = 142°C). On obtient ainsi 6.0 g (25.8 mmoles) d'ester **L-76a** (Rdt = 65.2 % ; ses propriétés physiques sont identiques à celles décrites dans la littérature [221]).

Lorsque cette réaction est menée sans acide triflique, l'analyse rmn^1H du milieu réactionnel montre que le rendement de la condensation est de 56 % après 81 heures de chauffage à 160°C.

N-BENZYLPYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-76a) (PREPARE A PARTIR DU BROMURE DE BENZYLE (84a))

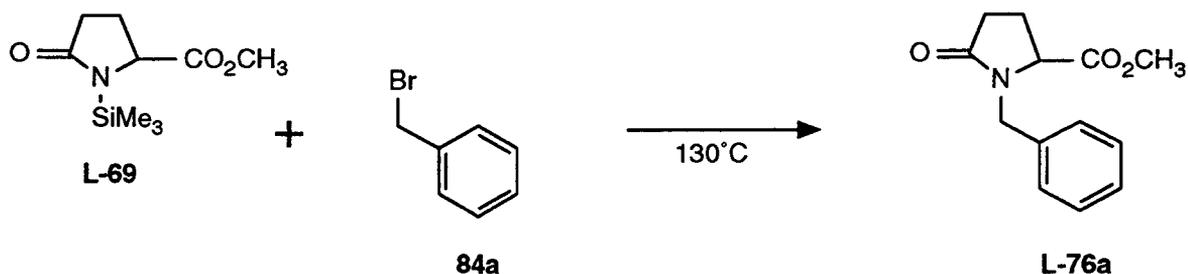


Schéma 154

Dans un bicol de 20 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 17.0 g (78.9 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) et 13.5 g (78.9 mmoles) de bromure de benzyle (**84a**). 0.1 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Après 12 heures de chauffage (la réaction n'évolue plus (Rdt = 80.0 %)), on transvase le milieu réactionnel dans 20 ml d'eau et 20 ml de chlorure de méthylène. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on distille l'ester **L-76a** (Eb = 142°C (1.5 mmHg)). On obtient ainsi 14.2 g (60.9 mmoles) d'ester **L-76a** (Rdt = 77.2 % ; ses propriétés physiques sont identiques à celles décrites dans la littérature [221]).

N-(2-BENZOTHIAZOLYL)PYROGLUTAMATE DE METHYLE (DL-118)

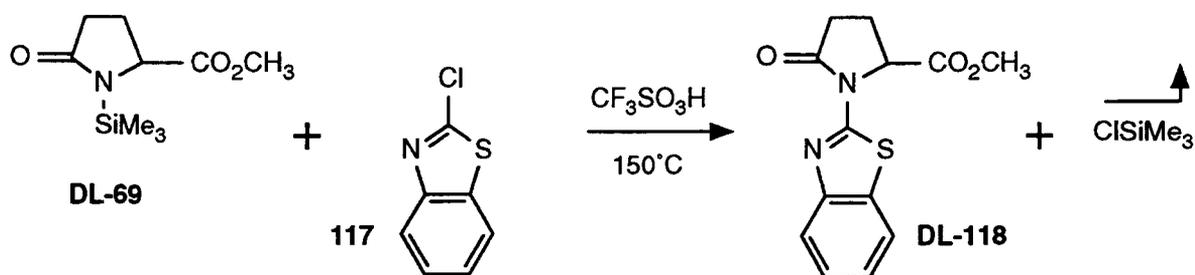


Schéma 155

Dans un bicol de 50 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 6.5 g (30.2 mmoles) de DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**) et 5.0 g (29.5 mmoles) de chloro-2-benzothiazole (**117**). 0.9 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 150°C. Le chlorotriméthylsilane qui se forme commence à distiller au bout de 30 mn. Après 7 heures de chauffage, 20 ml

d'eau et 20 ml de chlorure de méthylène sont ajoutés au milieu réactionnel. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, l'ester **DL-118** est enfin recristallisé dans l'acétone. On obtient ainsi 7.3 g (26.4 mmoles) d'ester **DL-118** sous forme d'une poudre blanche (Rdt = 89.6 % ; ses propriétés physiques sont identiques à celles décrites dans la littérature [274]).

N-BENZHYDRYLPYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-116b) (A PARTIR DU BENZHYDRYLOXYTRIMETHYLSILANE (71b))

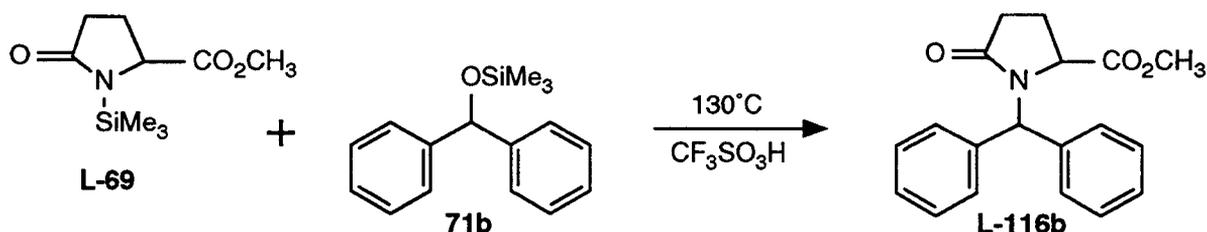


Schéma 156

Dans un bicol de 20 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 4.5 g (20.9 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) et 5.0 g (19.5 mmoles) de benzhydrol silylé (**71b**). 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Après deux heures de chauffage (l'analyse rmn^1H montre que le rendement de la condensation est de 100 %), le milieu réactionnel est dilué par 20 ml d'eau et 20 ml de chlorure de méthylène. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on obtient 5.8 g (18.7 mmoles) d'ester **L-116b** (Rdt = 96.1 %) sous forme d'une poudre blanche (l'ester **L-116b** est recristallisé dans l'acétate d'éthyle ; ses propriétés physiques sont identiques à celles décrites dans la littérature [221]).

Par la même procédure, nous avons fait réagir 10.0 g (46.4 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) avec 11.9 g (46.4 mmoles) de benzhydrol silylé (**71b**) en utilisant d'autres catalyseurs à la place de l'acide triflique. Ces différents essais sont regroupés dans le tableau suivant (le degré d'avancement de la condensation a été déterminé par analyse rmn^1H).

Catalyseur	$n_{\text{chlorure 71b}} : n_{\text{cat.}}$	Durée	Rendement (d'après mn^1H)
-	1 : 0	96 h	0 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	35 : 1	1.5 h	100 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	20 : 1	45 mn	93.5 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	9 : 1	15 mn	100 %
ClSO_3H	24 : 1	18 h	100 %
HgCl_2	2 : 1	1 h	100 %
$(\text{CH}_3)_3\text{SiOK}$	2 : 1	< 6 mn	100 %
SiO_2	2 : 1	26 h	0 %
CsF	1 : 1	30 h	0 %
I_2	2 : 1	< 6 mn	100 %

Tableau 16

N-BENZHYDRYLPYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-116d ET DL-116d) (PREPARE A PARTIR DU 4,4'-DIMETHOXYBENZHYDRYL-OXYTRIMETHYLSILANE (71d))

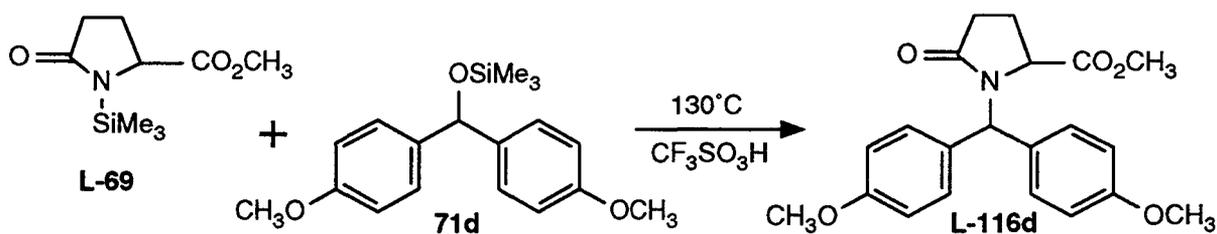


Schéma 157

Dans un bicol de 20 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 5.0 g (23.2 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) et 6.5 g (20.5 mmoles) du benzhydrol silylé **71d**. 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Après 20 mn de chauffage (l'analyse rmn^1H montre que le rendement de la condensation est de 100 %), le milieu réactionnel est dilué par 20 ml d'eau et 20 ml de chlorure de méthylène. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on obtient 6.9 g (18.7 mmoles) d'ester **L-116d** (Rdt = 90.9 %) sous forme d'une poudre blanche (l'ester **L-116d** est recristallisé dans l'acétate d'éthyle ; ses propriétés physiques sont identiques à celles décrites dans la littérature [220]).

La même réaction menée avec le DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**) au lieu du L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) permet de préparer l'ester racémique **DL-116d**.

F = 115-116°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1750, 1690 (C=O), 1605, 1585, 1510, 1450 (C=C), 1240 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.00-2.07 (m, 1H), 2.36-2.52 (m, 2H), 2.65-2.76 (m, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 4.23 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H, ArCHAR), 6.83 (d, J = 8.67 Hz, 2H), 6.88 (d, J = 8.64 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 8.67 Hz, 2H), 7.15 (d, J = 8.67 Hz, 2H)

Anal. : Calculé : C, 68.28; H, 6.28; N, 3.79; O, 21.65 ($\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_5$)

Trouvé : C, 68.10; H, 6.31; N, 3.78; O, 21.97

Par la même procédure, nous avons fait réagir 4.4 g (20.4 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) avec 6.5 g (20.5 mmoles) du benzhydrol silylé (**71d**) en utilisant d'autres catalyseurs à la place de l'acide triflique. Ces différents essais sont regroupés dans le tableau suivant (le degré d'avancement de la condensation a été déterminé par analyse rmn^1H).

Catalyseur	$n_{\text{chlorure 71d}} : n_{\text{cat.}}$	Durée	Rendement (d'après rmn^1H)
-	1 : 0	80 h	0 %
$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$	36 : 1	20 mn	100 %
HgCl_2	10 : 1	2 h	63 %
HgCl_2	10 : 1	3 h	100 %
SnCl_4	10 : 1	15 mn	100 %
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$	10 : 1	4 h	77 %
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$	10 : 1	6 h	100 %
I_2	10 : 1	< 2 s	100 %
I_2	100 : 1	< 15 mn	100 %

Tableau 17

**N-(4,4'-DICHLOROBENZHYDRYL)PYROGLUTAMATE DE METHYLE
(L-116e)**

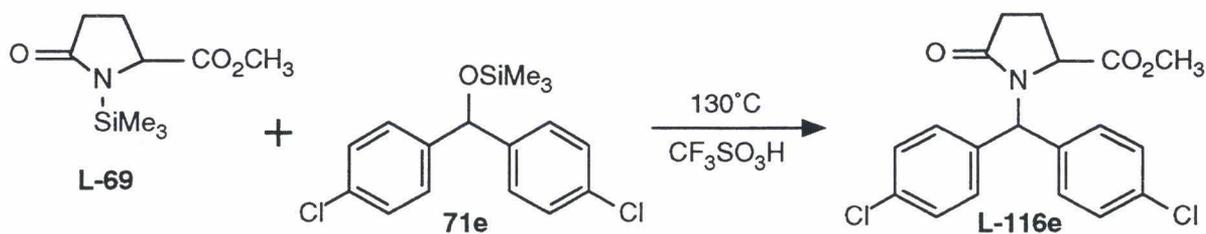


Schéma 158

Dans un bicol de 20 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe

rabattable, on introduit, sous azote, 4.0 g (18.6 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) et 5.7 g (17.5 mmoles) du benzhydrol silylé **71e**. 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Après 5 heures de chauffage (l'analyse rmn^1H montre que le rendement de la condensation est de 100 %), le milieu réactionnel est dilué par 20 ml d'eau et 20 ml de chlorure de méthylène. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on obtient 6.3 g (16.7 mmoles) d'ester **L-116e** (Rdt = 95.1 %) sous forme d'une poudre blanche (l'ester **L-116e** est recristallisé dans l'acétate d'éthyle).

$F = 137^\circ\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -181.71$ ($c = 0.25$; CH_2Cl_2)

ir (KBr) cm^{-1} : 1730, 1640 (C=O), 1600, 1585, 1500, 1450 (C=C), 1205 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : 1.95-2.6 (m, 4H), 3.26 (m, 3H), 3.95-4.21 (m, 1H), 6.39 (s, 1H), 6.9-7.35 (m, 8H)

Anal. : Calculé : C, 60.33; H, 4.53; Cl, 18.75; N, 3.70; O, 12.69; ($\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{NO}_3$)

Trouvé : C, 60.71; H, 4.79; Cl, 18.84; N, 3.84; O, 12.89

Par la même procédure, le 4,4'-dichlorobenzhydrol silylé (**71e**) peut être alkylé par le L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) en utilisant de l'iode à la place de l'acide triflique. En présence de un équivalent molaire de ce catalyseur, 4 heures de chauffage sont nécessaires pour que la condensation donnant le composé **L-116e** soit totale.

N-BENZHYDRYLPYROGLUTAMATE DE METHYLE (**L-116b**) A PARTIR DU PYROGLUTAMATE DE METHYLE (**L-68**)

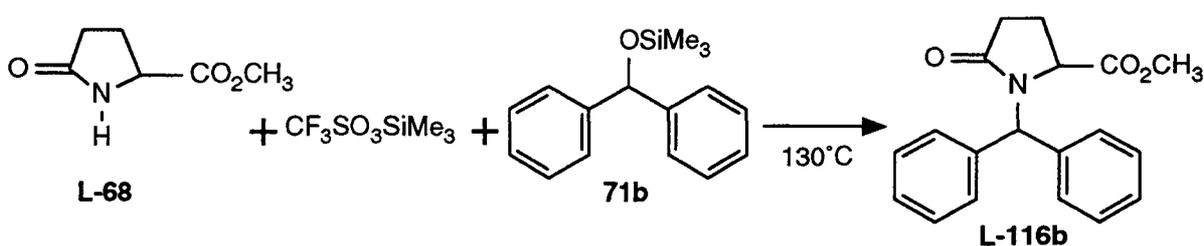


Schéma 159

Dans un bicol de 20 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit à l'aide d'une seringue, sous azote, 1.6 g (11.2 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle (**L-68**), 2.0 ml (11.0 mmoles) de triflate de silyle et 2.9 g (11.3 mmoles) de benzhydrol silylé (**71b**). On porte ensuite à 130°C : la distillation de l'hexaméthylidisiloxane est terminée après 30 mn de chauffage. L'analyse rmn^1H du milieu réactionnel montre que les produits initiaux ont totalement réagi pour donner quantitativement l'ester **L-116b**.

ACTION DE L'ACIDE TRIFLIQUE SUR LE L-PYROGLUTAMATE DE METHYLE N-SILYLE (L-69)

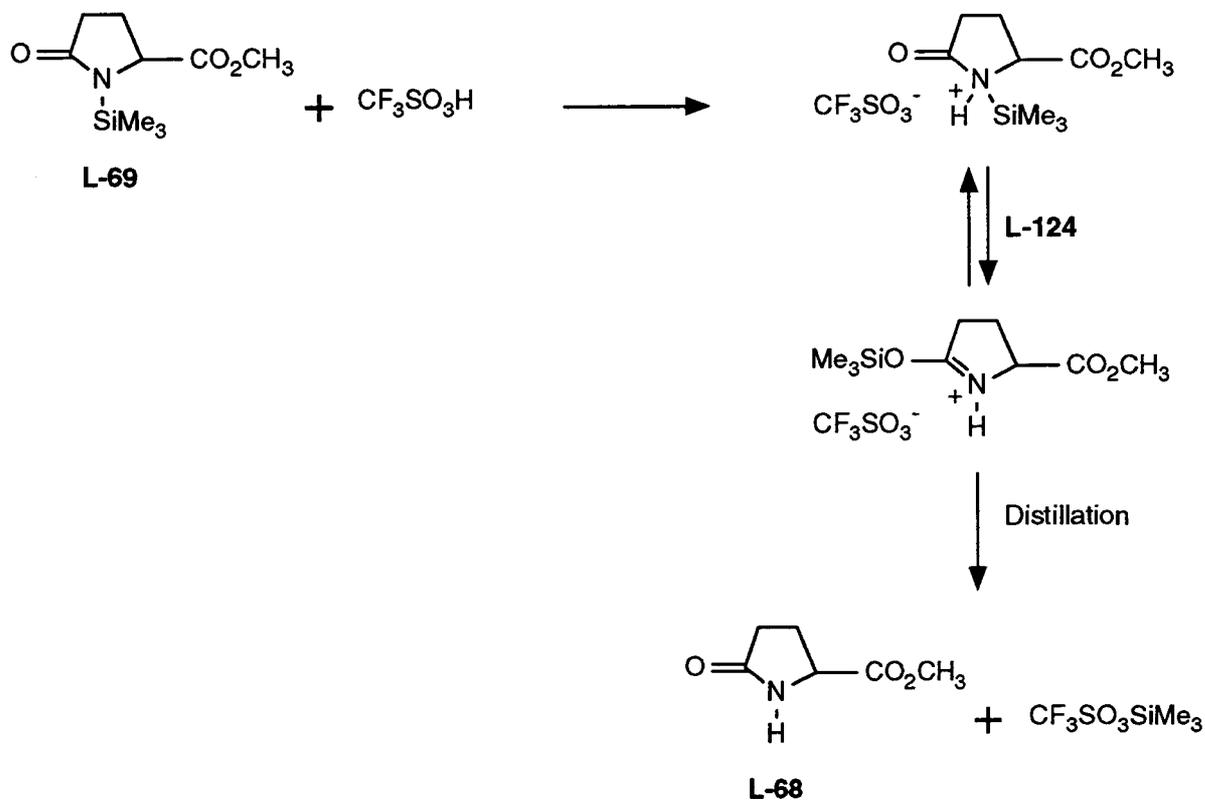


Schéma 160

0.45 ml (5.1 mmoles) d'acide triflique est ajouté, sous azote, à 1.1 g (5.1 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (L-69). Après quelques minutes d'agitation, le milieu réactionnel devient extrêmement visqueux (formation du sel intermédiaire L-124). En chauffant ce composé à une température supérieure à 100°C, on observe un départ de triflate de silyle et on distille 0.5 g (3.5 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle (L-68) (Rdt = 68.4 % ; les propriétés physiques des composés obtenus sont identiques à celles des produits commerciaux).

N-BENZHYDRYLPYROGLUTAMATE DE TRIMETHYLSILYLE (L-125b)
(A PARTIR DU BENZHYDRYLOXYTRIMETHYLSILANE (71b))

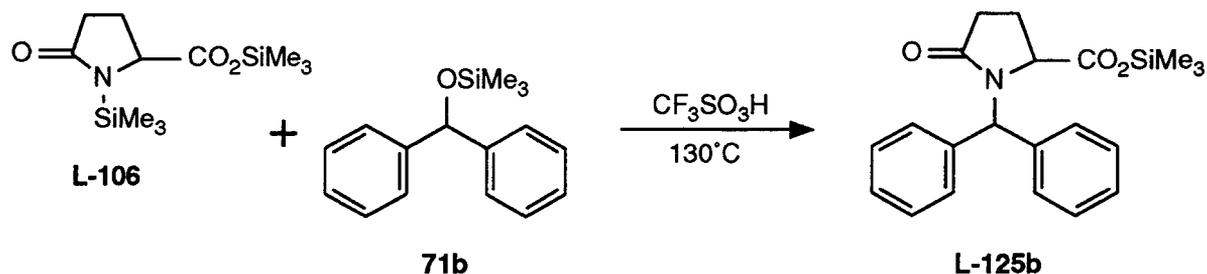


Schéma 161

Dans un bicol de 20 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 5.35 g (19.6 mmoles) d'acide L-pyroglutamique N,O-disilylé (**L-106**) et 5.0 g (19.5 mmoles) de benzhydryl silylé (**71b**). 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Après 2 heures de chauffage, on distille l'acide O-silylé **L-125b** (Eb (0.05 mmHg) = 111-115°C). On obtient ainsi 6.7 g (18.2 mmoles) d'acide O-silylé **L-125b** (Rdt = 93.5 %).

Eb (0.375 mmHg) = 111-115°C

rmn¹H (CDCl₃) : 0.10 (s, 9H), 2.54-2.60 (m, 4H), 4.15-4.35 (m, 1H), 6.47 (s, 1H), 7.25 (s, 10H)

Anal. : Calculé : C, 68.63; H, 6.86; N, 3.81; O, 13.06; Si, 7.64 (C₂₁H₂₅NO₃Si : 367.52)

N-BENZHYDRYLPYROGLUTAMATE DE TRIMETHYLSILYLE (L-125b)
(A PARTIR DU CHLORURE DE BENZHYDRYLE (70a))

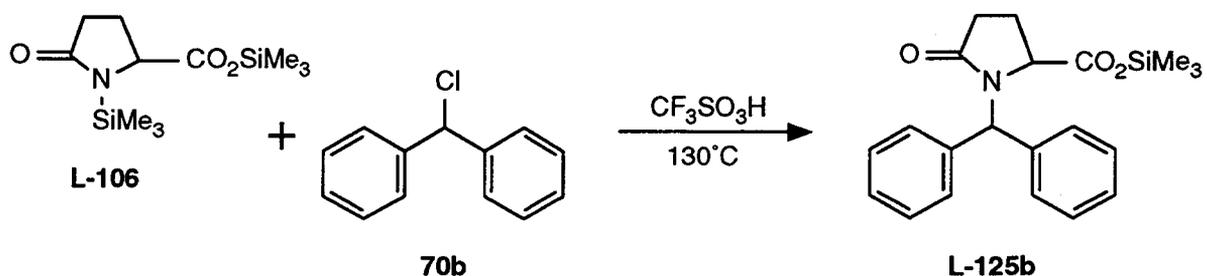


Schéma 162

Dans un bicol de 25 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 13.5 g (49.4 mmoles) d'acide L-pyroglutamique N,O-disilylé (**L-106**) et 10.0 g (49.3 mmoles) de chlorure de benzhydryle (**70b**). 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Après 2 heures de chauffage, on distille l'acide O-silylé **L-125b** (Eb (0.05 mmHg) = 111-115°C). On obtient

ainsi 17.3 g (47.1 mmoles) d'acide O-silylé **L-125b** (Rdt = 95.4 % ; ses propriétés physiques sont identiques à celles du produit précédemment décrit).

N-BENZYLPIYROGLUTAMATE DE TRIMETHYLSILYLE (L-126a)

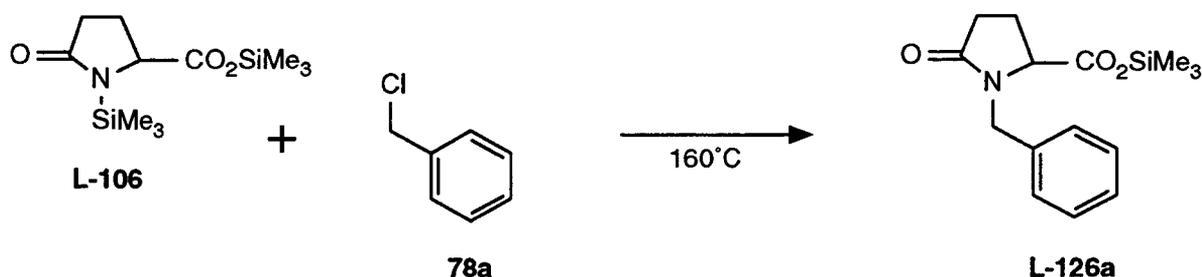


Schéma 163

Dans un bicol de 20 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 10.8 g (39.5 mmoles) d'acide L-pyrroglutamique N,O-disilylé (**L-106**) et 5.0 g (39.5 mmoles) de chlorure de benzyle (**78a**). 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Après 4 heures de chauffage à 160°C, on distille l'acide O-silylé **L-126a** (Eb (0.6 mmHg) = 90-93°C). On obtient ainsi 4.9 g (16.8 mmoles) d'acide O-silylé **L-126a** (Rdt = 42.6 %).

Eb (0.6 mmHg) = 90-93°C

rmn^1H (CDCl_3) : 0.06 (s, 9H), 5.65 (s, 1H), 7.20 (s, 8H)

Anal. : Calculé : C, 61.82; H, 7.26; N, 4.81; O, 16.47; Si, 9.64 ($\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{Si}$: 291.43)

N-BENZHYDRYLPYRROLIDONE (128a)

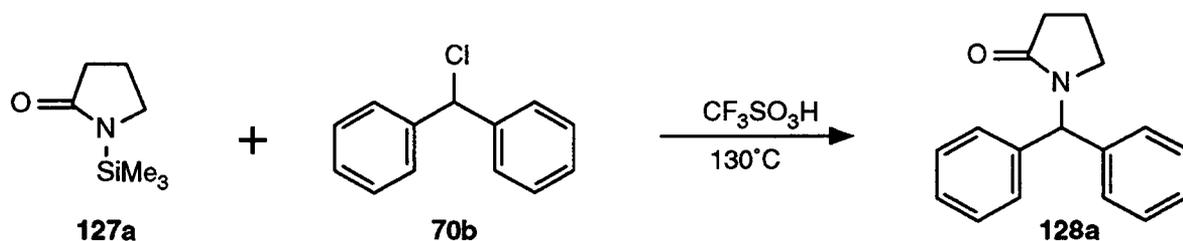


Schéma 164

Dans un bicol de 50 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 9.0 g (57.2 mmoles) de pyrrolidone N-silylée (**127a**) et 10.0 g (49.3 mmoles) de chlorure de benzhydre (**70b**). 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Le chlorotriméthylsilane qui se forme commence à distiller au bout de 2 mn. Après une heure de chauffage, 20 ml d'eau et 10 ml

de chlorure de méthylène sont ajoutés au milieu réactionnel. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, le composé **128a** est enfin recristallisé dans l'acétate d'éthyle. On obtient ainsi 10.9 g (43.4 mmoles) de produit **128a** (Rdt = 88.0 %) sous forme d'une poudre blanche.

F = 131°C

rmn^1H (CDCl_3) : 1.82-2.70 (m, 4H), 2.95-3.35 (m, 2H), 6.62 (s, 1H), 7.26 (s, 10H)

Anal. : Calculé : C, 81.24; H, 6.82; N, 5.57; O, 6.37; ($\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}$: 251.33)

Trouvé : C, 81.50; H, 7.09; N, 5.51; O, 6.25

N-BENZHYDRYLCAPROLACTAME (128b)

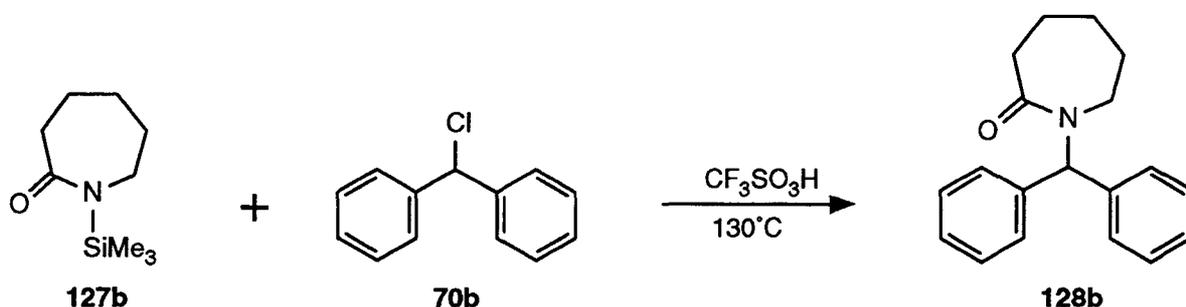


Schéma 165

Dans un bicol de 50 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 4.05 g (17.5 mmoles) de ϵ -caprolactame (**127b**) et 3.55 g (17.5 mmoles) de chlorure de benzhydryle (**70b**). 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C. Le chlorotriméthylsilane qui se forme commence à distiller au bout de 30 mn environ. Après deux heures de chauffage, 20 ml d'eau et 10 ml de chlorure de méthylène sont ajoutés au milieu réactionnel. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, le composé **128b** est enfin recristallisé dans l'acétate d'éthyle. On obtient ainsi 4.2 g (15.8 mmoles) de produit **128b** (Rdt = 90.5 %) sous forme d'une poudre blanche.

F = 148-149°C

rmn^1H (CDCl_3) : 0.95-3.63 (m, 10H), 7.05-7.80 (m, 11H)

Anal. : Calculé : C, 81.68; H, 7.58; N, 5.01; O, 5.73; ($\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}$: 279.39)

Trouvé : C, 81.81; H, 7.71; N, 4.96; O, 5.71

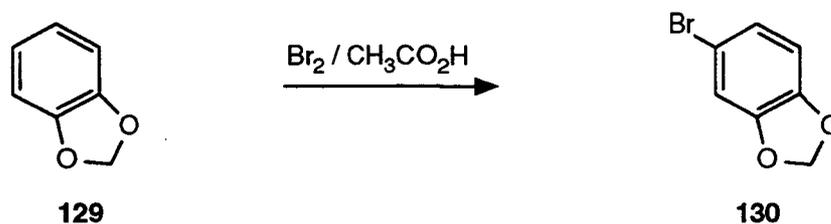
5-BROMO-1,3-BENZODIOXOLE (130)

Schéma 166

Nous avons préparé le 5-bromo-1,3-benzodioxole (**130**) à partir du 1,3-benzodioxole (**129**) selon la procédure de C. Feugas [280]. 93.4 ml (290.0 g ; 1.815 mole) de brome dissous dans 320 ml d'acide acétique sont ajoutés goutte à goutte, à température ambiante, à 200.0 g (1.638 mole) de 1,3-benzodioxole (**129**) mis en solution dans 200 ml d'acide acétique. Lorsque l'addition est terminée, on concentre puis on ajoute du chlorure de méthylène et du carbonate de potassium. Après avoir lavé à l'eau et séché sur sulfate de sodium, on concentre. L'huile obtenue est distillée (Eb = 114°C (17 mmHg)). On obtient ainsi 275.0 g (1.368 mole) de 5-bromo-1,3-benzodioxole (**130**) (Rdt = 83.5 % (Litt. : 89 % [280])).

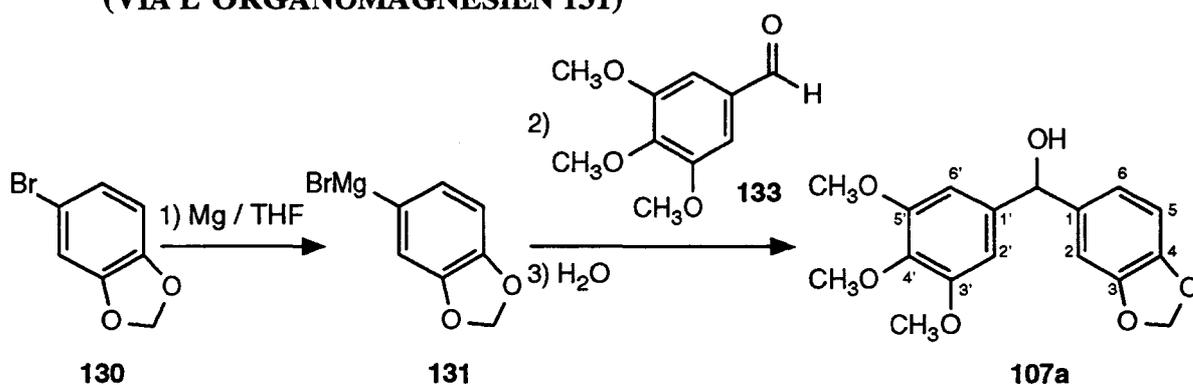
3,4-METHYLENEDIOXY-3',4',5'-TRIMETHOXYBENZHYDROL (107a)
(VIA L'ORGANOMAGNESIEN 131)


Schéma 167

1) Dans un tricol de 500 ml, on introduit 6.5 g (267.4 mmoles) de magnésium recouvert de 140 ml de THF anhydre. L'attaque du métal est amorcée par quelques gouttes de dibromoéthane. 50.0 g (248.7 mmoles) de 5-bromo-1,3-benzodioxole (**130**) dissous dans 50 ml de THF sont ensuite introduits goutte à goutte en maintenant la température du milieu réactionnel en dessous de 55°C. Puis on chauffe à 55°C pendant 2 heures.

2) A l'organomagnésien **131**, on ajoute lentement 48.8 g (248.7 mmoles) de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde (**133**) dissous dans 150 ml de THF et on chauffe à 60°C pendant une heure.

3) On concentre, puis on hydrolyse avec 300 ml d'eau contenant 70 g de chlorure d'ammonium. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. Après avoir séché sur sulfate de sodium, on filtre sur célite et on évapore le solvant. Le précipité obtenu est recristallisé dans l'acétate d'éthyle. On obtient ainsi 55.9 g (175.6 mmoles) d'alcool **107a** (Rdt = 70.6 %) sous la forme de cristaux blancs.

F = 111-112°C

ir (KBr) cm^{-1} : 3330 (large), 3230 (O-H, large), 1590, 1500, 1485, 1465, 1435 (C=C), 1125 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.90 (s (échangeable par D_2O), 1H), 3.80 (s, 9H), 5.61 (s, 1H, ArCHAR), 5.90 (s, 2H, OCH_2O), 6.56 (s, 2H, H-2', H-6'), 6.72-6.82 (m, 3H, H-2, H-5, H-6)

Anal. : Calculé : C, 64.14; H, 5.70; O, 30.16 ($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_6$: 318.33)

Trouvé : C, 63.95; H, 5.68; O, 30.12

3,4-METHYLENEDIOXY-3',4',5'-TRIMETHOXYBENZHYDROL (**107a**) (VIA L'ORGANOLITHIEN **132**)

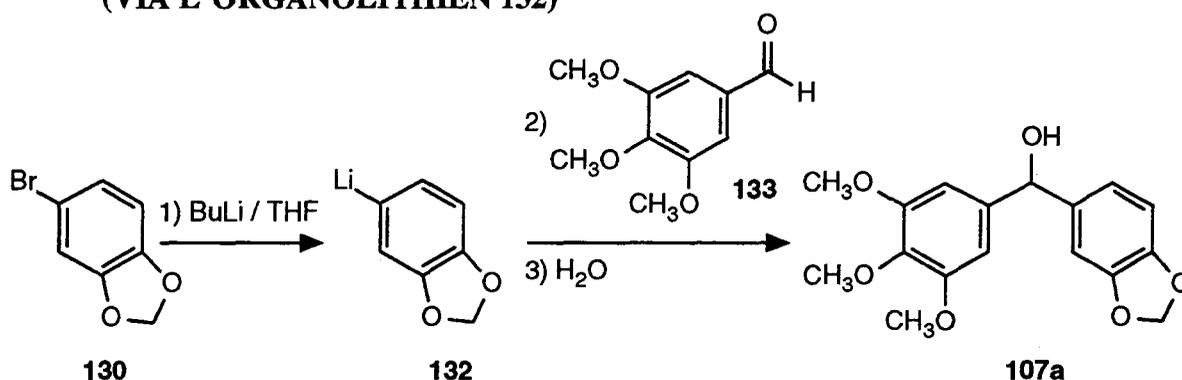


Schéma 168

1) 69.0 g (343.2 mmoles) de 5-bromo-1,3-benzodioxole (**130**) sont dissous dans 1 l de THF anhydre. Le mélange est refroidi à -78°C . Puis 185.5 ml de n-butyllithium 1.85 N (343.0 mmoles) sont additionnés.

2) La solution est alors agitée pendant une heure à -78°C et 67.3 g (343.0 mmoles) de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde (**133**) dissous dans 200 ml de THF sont ajoutés.

3) On laisse la solution revenir à température ambiante, puis 10 ml d'eau sont introduits et le THF est évaporé. 10 ml d'eau sont de nouveau ajoutés. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. Après avoir séché sur sulfate de sodium, on évapore le solvant. Le précipité obtenu est recristallisé dans l'acétate d'éthyle. On obtient ainsi 78.6 g (246.9 mmoles) d'alcool **107a** (Rdt = 72.0 %) sous la forme de cristaux blancs (les propriétés physiques du produit obtenu sont identiques à celles du composé précédemment décrit).

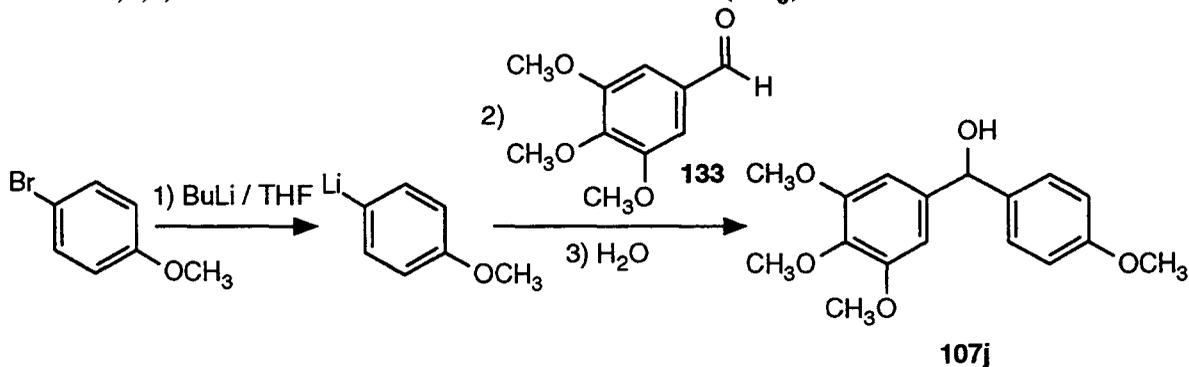
3,4,5,4'-TETRAMETHOXYBENZHYDROL (107j)

Schéma 169

Par la même procédure que celle utilisée pour préparer le benzhydrol **107a** via l'organolithien **132**, on obtient 8.0 g (26.3 mmoles) de benzhydrol **107j** (Rdt = 81.9 %) en partant de 6.0 g (32.1 mmoles) de 4-bromoanisole, 20.0 ml de butyllithium 1.6 N (32.0 mmoles) et 6.3 g (32.1 mmoles) de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde (**133**) (ses propriétés physiques sont identiques à celles décrites dans la littérature [311]).

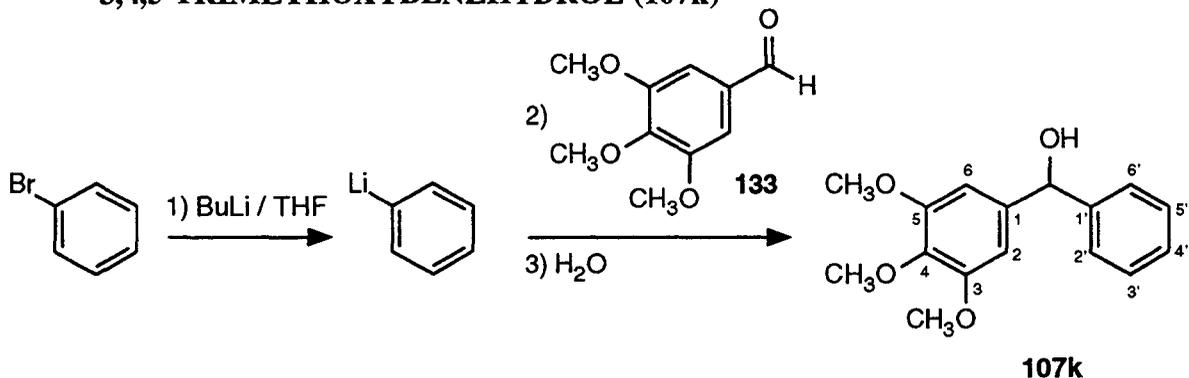
3,4,5-TRIMETHOXYBENZHYDROL (107k)

Schéma 170

Par la même procédure que celle utilisée pour préparer le benzhydrol **107a** via l'organolithien **132**, on obtient 74.3 g (270.9 mmoles) de benzhydrol **107k** (Rdt = 85.1 %) en partant de 50.0 g (318.4 mmoles) de bromobenzène, 200 ml de butyllithium 1.6 N (320 mmoles) et 62.5 g (318.6 mmoles) de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde (**133**).

F = 113-114°C

ir (KBr) cm^{-1} : 3485 (O-H), 1595, 1505, 1460, 1450 (C=C), 1125 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : 3.25 (s (échangeable par D_2O), 1H), 3.74 (s, 6H), 3.77 (s, 3H), 5.63 (s, 1H, ArCHAR), 6.54 (s, 2H, H-2, H-6), 7.19-7.34 (m, 5H)

Anal. : Calculé : C, 70.06; H, 6.61; O, 23.33 ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_4$: 274.32)

Trouvé : C, 70.14; H, 6.75; O, 23.17

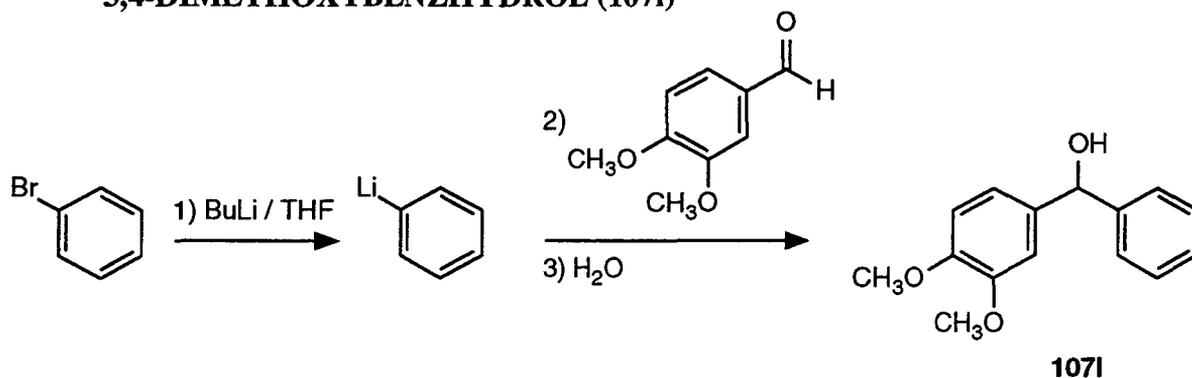
3,4-DIMETHOXYBENZHYDROL (107I)

Schéma 171

Par la même procédure que celle utilisée pour préparer le benzhydrol **107a** via l'organolithien **132**, on obtient 52.5 g (214.9 mmoles) de benzhydrol **107I** (Rdt = 71.4 %) en partant de 47.25 g (300.9 mmoles) de bromobenzène, 150.5 ml de butyllithium 2.0 N (301 mmoles) et 50.0 g (300.9 mmoles) de 3,4-diméthoxybenzaldéhyde.

F = 94-95°C

ir (KBr) cm^{-1} : 3505 (O-H), 1595, 1515, 1490, 1465, 1450 (C=C), 1135 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : 3.25 (s (échangeable par D_2O), 1H), 3.71 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 5.61 (s, 1H, ArCHAR), 6.68-6.81 (m, 3H), 7.14-7.28 (m, 5H)

Anal. : Calculé : C, 73.75; H, 6.60; O, 19.65 ($\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_3$: 244.26)

Trouvé : C, 73.99; H, 6.62; O, 19.54

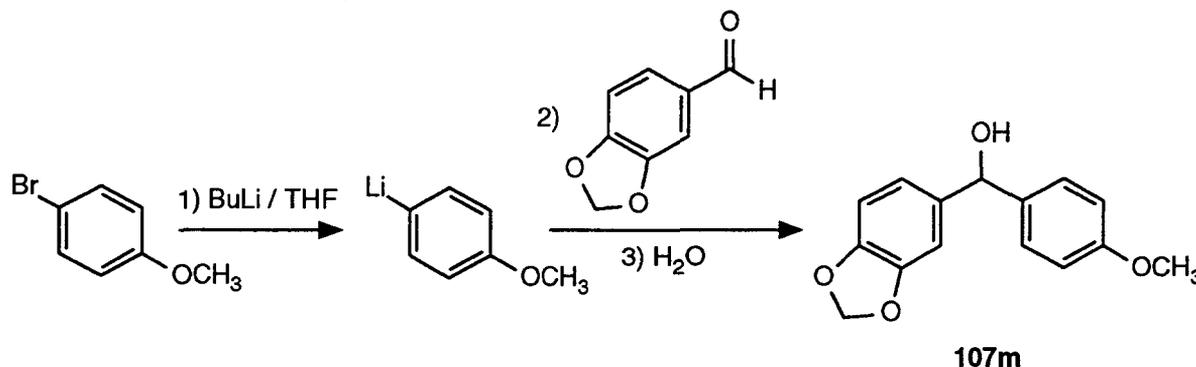
4-METHOXY-3',4'-METHYLENEDIOXYBENZHYDROL (107m)

Schéma 172

Par la même procédure que celle utilisée pour préparer le benzhydrol **107a** via l'organolithien **132**, on obtient 82.3 g (318.6 mmoles) de benzhydrol **107m** (Rdt = 95.7 %) en partant de 62.3 g (333.1 mmoles) de 4-bromoanisole, 180 ml de butyllithium 1.85 N (333 mmoles) et 50.0 g (332.0 mmoles) de pipéronal (le benzhydrol **107m** n'a pu être cristallisé).

rmn^1H (CDCl_3) : 2.30 (s (échangeable par D_2O), 1H), 3.69 (s, 3H), 5.58 (s, 1H, ArCHAR),

5.79 (s, 2H, OCH₂O), 6.71-6.75 (m, 3H), 6.79 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.21 (d, J = 8.7 Hz, 2H)
 Anal. : Calculé : C, 69.76; H, 5.46; O, 24.78 (C₁₅H₁₄O₄ : 258.28)

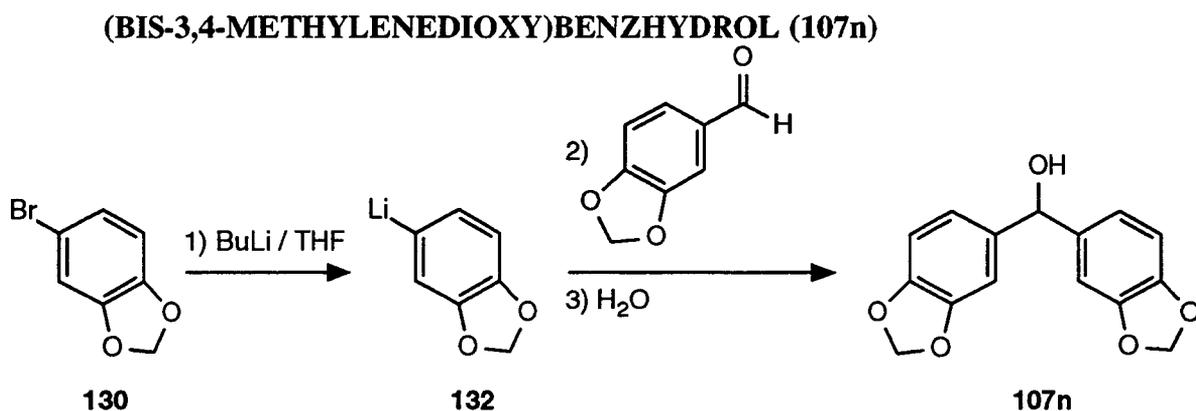


Schéma 173

Par la même procédure que celle utilisée pour préparer le benzhydrol **107a** via l'organolithien **132**, on obtient 84.8 g (311.5 mmoles) de benzhydrol **107n** (Rdt = 93.5 %) en partant de 66.95 g (333.0 mmoles) de 5-bromo-1,3-benzodioxole (**130**), 166.5 ml de butyllithium 2.0 N (333 mmoles) et 50.0 g (333.0 mmoles) de pipéronal.

F = 90-91°C

ir (KBr) cm⁻¹ : 3310, 3225 (O-H, large), 1500, 1485, 1440 (C=C), 1135 (C-O)

rmn¹H (CDCl₃) : 2.50 (s (échangeable par D₂O), 1H), 5.58 (s, 1H, ArCHAr), 5.87 (s, 4H, OCH₂O), 6.69-6.81 (m, 6H)

Anal. : Calculé : C, 66.17; H, 4.44; O, 29.38 (C₁₅H₁₂O₅ : 272.26)

Trouvé : C, 66.07; H, 4.48; O, 29.41

**N-(3,4-METHYLENEDIOXY-3',4',5'-TRIMETHOXYBENZHYDRYL)
PYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-116a) (VIA LE CHLORURE DE
3,4-METHYLENEDIOXY-3',4',5'-TRIMETHOXYBENZHYDRYLE (70a))**

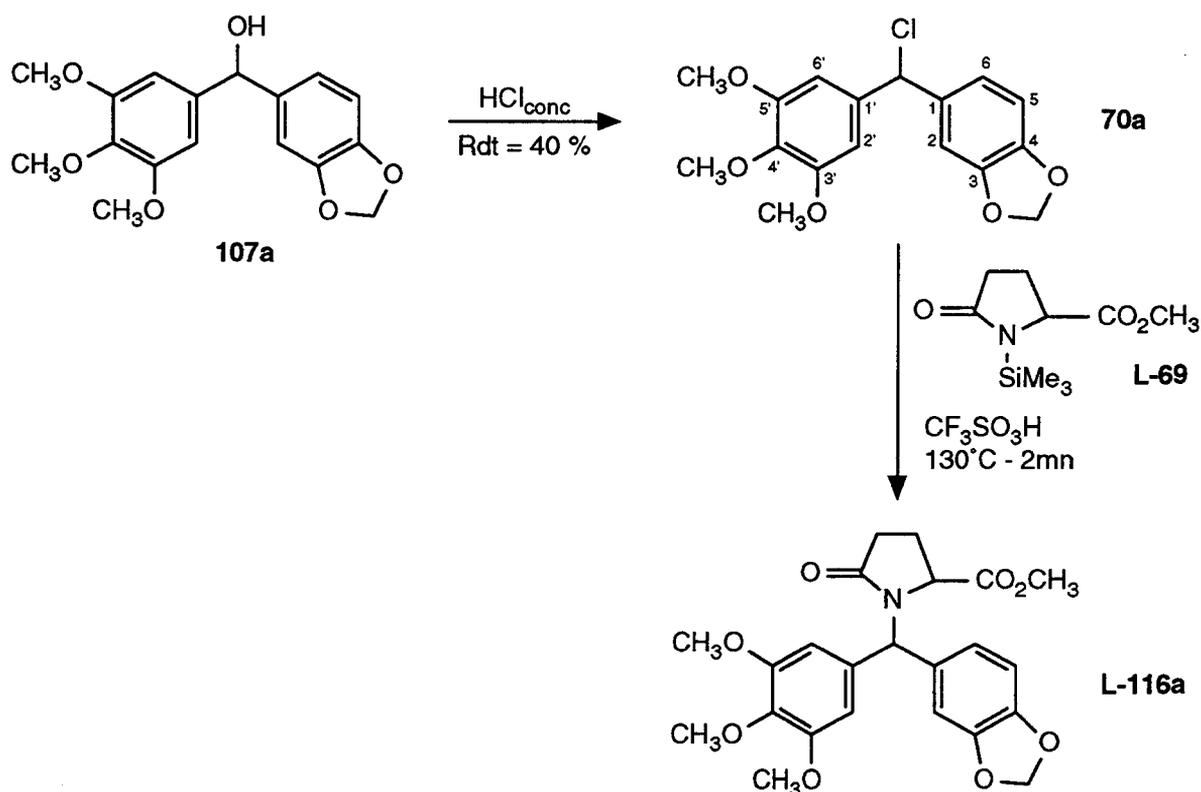


Schéma 174

8.3 g (26.1 mmoles) du benzhydrol **107a** et 15 ml d'acide chlorhydrique concentré sont agités à 0°C pendant 30 mn. On ajoute 50 ml de chlorure de méthylène et 50 ml d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. Après avoir séché sur sulfate de sodium, on évapore le solvant. On obtient ainsi 7.8 g d'une huile qui contient environ 3.5 g (10.4 mmoles) du chlorure de benzhydryle **70a** (le rendement de cette étape est de 40 % environ).

rmn^1H (CDCl_3) : 3.76 (s, 6H), 3.80 (s, 3H), 5.20 (s, 1H, ArCHAR), 5.89 (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 6.54 (s, 2H, H-2', H-6'), 6.75-6.83 (m, 3H)

Anal. : Calculé : C, 60.63; H, 5.09; Cl, 10.53; O, 23.75 ($\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ClO}_5$: 336.78)

Dans un bicol de 50 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 6.0 g (27.9 mmoles) de L-pyrroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) et l'huile brute obtenue précédemment qui contient environ 3.5 g (10.4 mmoles) de chlorure de benzhydryle **70a**. 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue et on porte à 130°C . Dès la fin de la distillation du chlorotriméthylsilane (moins de 5 mn de chauffage sont nécessaires), on ajoute 10 ml de chlorure de méthylène et 20 ml

d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. Après avoir séché sur sulfate de sodium, on évapore le solvant. L'huile obtenue contient environ 4.6 g (10.4 mmoles) d'un mélange équimolaire d'ester **L-116a1** et d'ester **L-116a2** (le rendement de cette étape est proche de 100 % ; les propriétés physiques des esters **L-116a1** et **L-116a2** obtenus sont reportées dans le mode opératoire suivant).

**N-(3,4-METHYLENEDIOXY-3',4',5'-TRIMETHOXYBENZHYDRYL)
PYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-116a ET DL-116a) (PREPARE EN
"ONE POT" A PARTIR DU BENZHYDROL 107a)**

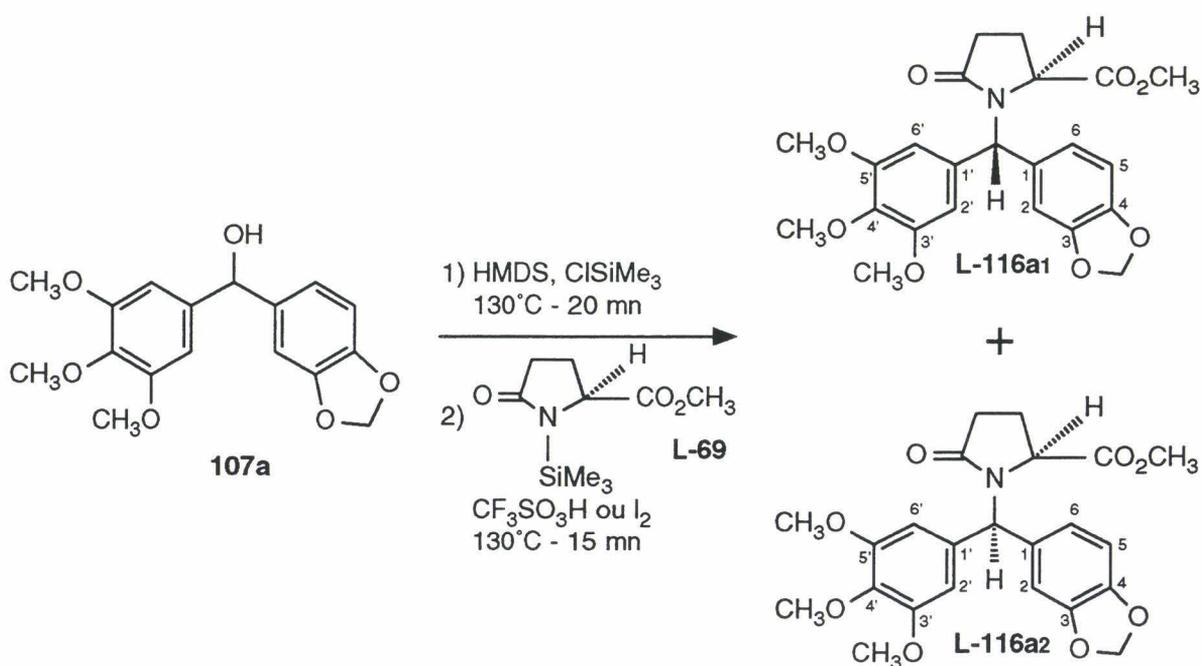


Schéma 175

Dans un bicol de 250 ml, équipé d'un réfrigérant et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 40.0 g (125.7 mmoles) de benzhydrol **107a** et 38.3 g (50.0 ml ; 237.3 mmoles) d'hexaméthylsilazane. Après avoir ajouté 3 gouttes de chlorotriméthylsilane, on porte à 130°C. On observe très rapidement un dégagement d'ammoniac ainsi que la formation d'un dépôt de chlorure d'ammonium à la base du réfrigérant. Après 20 mn de chauffage, on installe un petit appareil de distillation à la place du réfrigérant. La température est maintenue à 130°C et on tire sous vide l'excès d'hexaméthylsilazane (le chlorure d'ammonium formé sublime).

3,4-Méthylènedioxy-3',4',5'-triméthoxybenzhydroxytriméthylsilane (**71a**) :

rmn^1H (CDCl₃) : 0.10 (s, 9H), 3.81 (s, 9H), 5.61 (s, 1H, ArCHAR), 5.87 (s, 2H, OCH₂O), 6.57 (s, 2H, H-2', H-6'), 6.72-6.82 (m, 3H)

Anal. : Calculé : C, 61.51; H, 6.71; O, 24.58; Si, 7.19 (C₂₀H₂₆O₆Si : 390.51)

Le milieu réactionnel est ramené à pression atmosphérique et est remis sous courant d'azote. On introduit ensuite 32.4 g (150.5 mmoles) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) puis 0.05 ml d'acide triflique (ou 10 mg d'iode) et on porte à 130°C. Dès la fin de la distillation de l'hexaméthylidisiloxane (15 mn environ), on ajoute 50 ml de chlorure de méthylène et 100 ml d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. Après avoir séché sur sulfate de sodium, on évapore le solvant. On obtient ainsi, sous la forme d'une huile, 53.3 g (120.2 mmoles) d'un mélange équimolaire d'ester **L-116a1** et d'ester **L-116a2** (Rdt = 95.7 %). Après cristallisation de ce mélange dans l'acétate d'éthyle et recristallisation dans le même solvant, on obtient uniquement l'un des deux diastéréoisomères (ester n°1).

F = 182-184°C

ir (KBr) cm⁻¹ : 1740, 1680 (C=O), 1590, 1505, 1490, 1460 (C=C), 1120 (C-O)

rmn¹H (CDCl₃) : Ester n°1 : 2.04-2.12 (m, 1H), 2.32-2.52 (m, 2H), 2.68-2.77 (m, 1H), 3.40 (s, 3H), 3.80 (s, 6H), 3.84 (s, 3H), 4.23 (d, J = 8.67 Hz, 1H), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.35 (s, 2H, H-2', H-6'), 6.36 (s, 1H, ArCHAr), 6.70-6.76 (m, 3H)

Ester n°2 : 2.00-2.07 (m, 1H), 2.32-2.51 (m, 2H), 2.70-2.77 (m, 1H), 3.32 (s, 3H), 3.80 (s, 6H), 3.84 (s, 3H), 4.23 (d, J = 8.67 Hz, 1H), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.37 (s, 1H, ArCHAr), 6.45 (s, 2H, H-2', H-6'), 6.70-6.76 (m, 3H)

Anal. : Calculé : C, 62.30; H, 5.68; N, 3.16; O, 28.86 (C₂₃H₂₅NO₈ : 443.46)

Trouvé : C, 62.16; H, 5.57; N, 3.10; O, 29.21

La même réaction menée avec le DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**) au lieu du L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) permet de préparer les esters racémiques **DL-116a1** et **DL-116a2**. Après cristallisation de ce mélange dans l'acétate d'éthyle et recristallisation dans le même solvant, on obtient uniquement l'un des deux diastéréoisomères (ester n°1).

F = 187°C

ir (KBr) cm⁻¹ : 1740, 1680 (C=O), 1590, 1505, 1490, 1460 (C=C), 1120 (C-O)

Anal. : Trouvé : C, 62.18; H, 5.68; N, 3.18; O, 28.65

N-(3,4,5,4'-TETRAMETHOXYBENZHYDRYL)PYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-116j ET DL-116j)

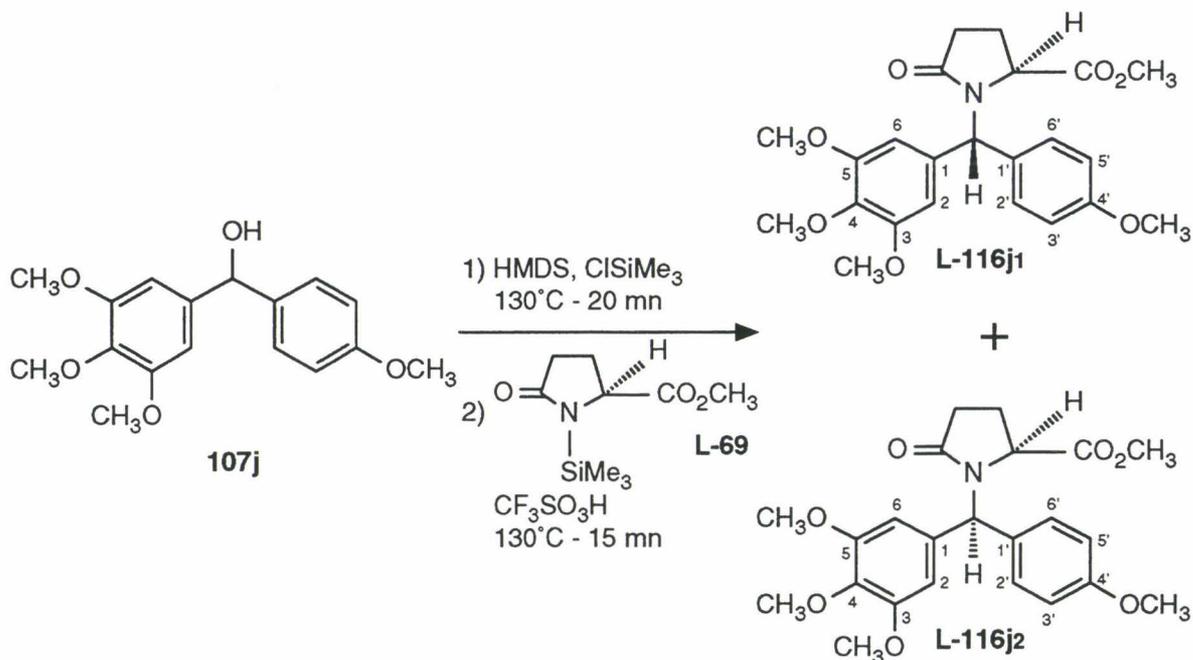


Schéma 176

Par la même procédure que celle utilisée pour préparer en "one pot" les esters **L-116a1** et **L-116a2**, on obtient 20.2 g (47.0 mmoles) d'un mélange équimolaire des esters **DL-116j1** et **DL-116j2** (Rdt = 95.4 %) en partant de 15.0 g (49.3 mmoles) de benzhydryol **107j** et de 12.5 g (58.1 mmoles) de DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**). Après cristallisation de ce mélange dans l'acétate d'éthyle et recristallisation dans le même solvant, on obtient uniquement l'un des deux diastéréoisomères (ester n°2).

F = 125-130°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1745, 1690 (C=O), 1590, 1510, 1410 (C=C), 1130 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : Ester n°1 : 2.00-2.07 (m, 1H), 2.35-2.52 (m, 2H), 2.70-2.75 (m, 1H), 3.31 (s, 3H), 3.79 (s, 6H), 3.82 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 4.21 (d, J = 8.50 Hz, 1H), 6.45 (s, 3H, ArCHAR, H-2 et H-6), 6.88 (d, J = 8.65 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 8.65 Hz, 2H)

Ester n°2 : 2.04-2.11 (m, 1H), 2.35-2.53 (m, 2H), 2.69-2.75 (m, 1H), 3.31 (s, 3H), 3.79 (s, 9H), 3.83 (s, 3H), 4.25 (d, J = 8.38 Hz, 1H), 6.36 (s, 2H, H-2, H-6), 6.42 (s, ArCHAR, 1H), 6.83 (d, J = 8.50 Hz, 2H), 7.15 (d, J = 8.50 Hz, 2H)

Anal. : Calculé : C, 64.32; H, 6.34; N, 3.26; O, 26.08 ($\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{NO}_7$: 429.47)

Trouvé : C, 63.92; H, 6.35; N, 3.35; O, 26.29

La même réaction menée avec le L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) au lieu du DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**) permet de préparer les esters **L-116j1** et **L-116j2**.

N-(3,4,5-TRIMETHOXYBENZHYDRYL)PYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-116k ET DL-116k)

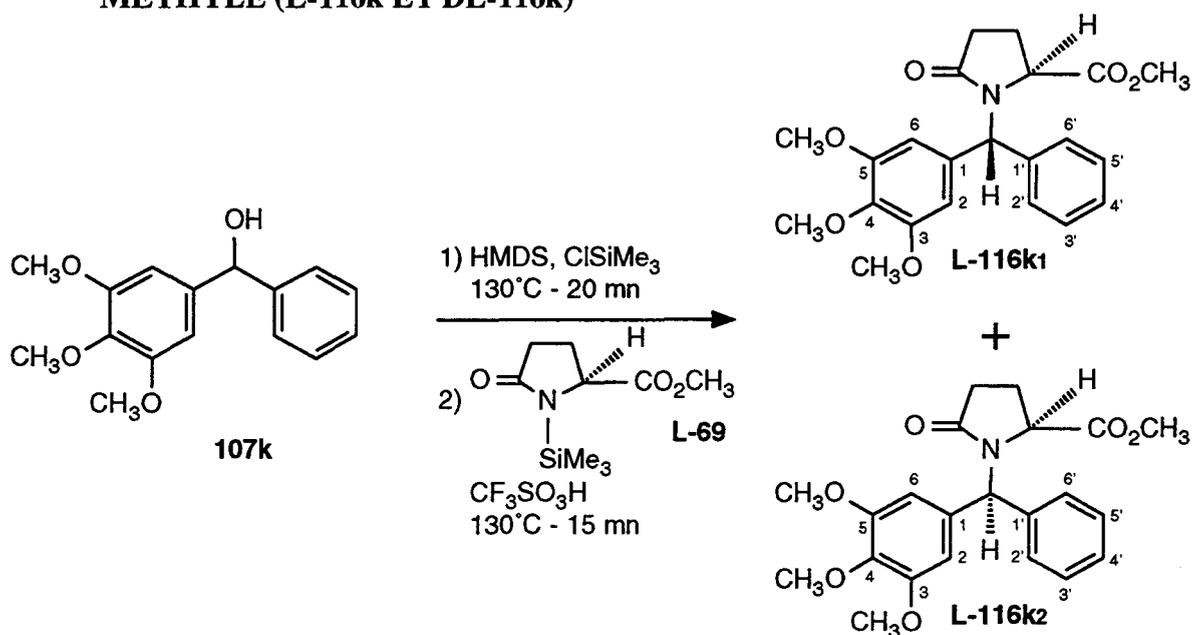


Schéma 177

Par la même procédure que celle utilisée pour préparer en "one pot" les esters **L-116a1** et **L-116a2**, on obtient 8.3 g (20.8 mmoles) d'un mélange équimolaire des esters **DL-116k1** et **DL-116k2** (Rdt = 95.0 %) en partant de 6.0 g (21.9 mmoles) de benzhydryl **107k** et de 5.0 g (23.2 mmoles) de DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**). Après cristallisation de ce mélange dans l'acétate d'éthyle et recristallisation dans le même solvant, on obtient majoritairement l'un des deux diastéréoisomères (46.0 % d'ester n°1, 54.0 % d'ester n°2).

F = 115-118°C

ir (KBr) cm⁻¹ : 1760, 1750, 1710 (C=O), 1690, 1590, 1505, 1460 (C=C), 1130 (C-O)

rmn¹H (CDCl₃) : Ester n°1 : 2.01-2.11 (m, 1H), 2.37-2.53 (m, 2H), 2.67-2.74 (m, 1H), 3.26 (s, 3H), 3.78 (s, 6H, 3-OCH₃, 5-OCH₃), 3.84 (s, 3H, 4-OCH₃), 4.26 (d, J = 8.01 Hz, 1H), 6.37 (s, 2H, H-2 et H-6), 6.48 (s, 1H, ArCHAr), 7.12 (d, J = 7.48 Hz, 1H, H-4'), 7.22-7.38 (m, 4H)

Ester n°2 : 2.01-2.11 (m, 1H), 2.37-2.53 (m, 2H), 2.67-2.74 (m, 1H), 3.31 (s, 3H), 3.78 (s, 6H, 3-OCH₃, 5-OCH₃), 3.83 (s, 3H, 4-OCH₃), 4.26 (d, J = 8.01 Hz, 1H), 6.45 (s, 2H, H-2 et H-6), 6.52 (s, 1H, ArCHAr), 7.13 (d, J = 7.54 Hz, 1H, H-4'), 7.23-7.35 (m, 4H)

Anal. : Calculé : C, 66.15; H, 6.31; N, 3.51; O, 24.03 (C₂₂H₂₅NO₆ : 399.45)

Trouvé : C, 66.04 ; H, 6.64 ; N, 3.59 ; O, 24.20

La même réaction menée avec le L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) au lieu du DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**) permet de préparer les esters **L-116k1** et **L-116k2**.

**N-(3,4-DIMETHOXYBENZHYDRYL)PYROGLUTAMATE DE METHYLE
(L-116l ET DL-116l)**

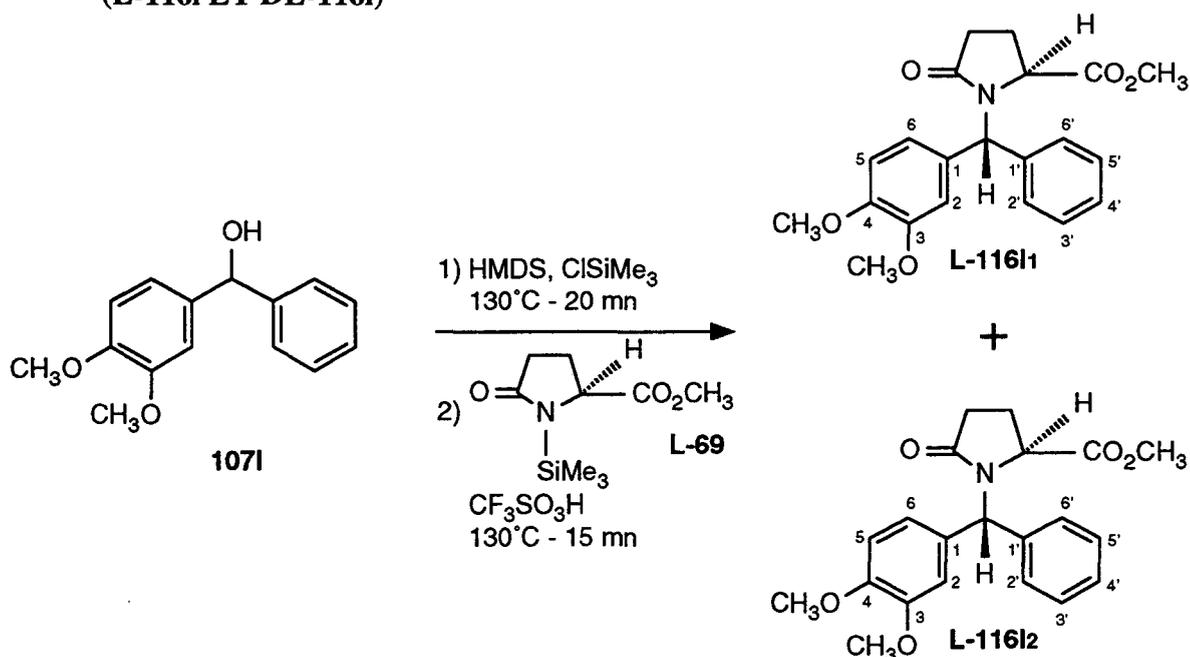


Schéma 178

Par la même procédure que celle utilisée pour préparer en "one pot" les esters **L-116a1** et **L-116a2**, on obtient 20.6 g (55.8 mmoles) d'un mélange équimolaire des esters **DL-116l1** et **DL-116l2** (Rdt = 90.8 %) en partant de 15.0 g (61.4 mmoles) de benzhydryol **1071** et de 14.5 g (67.3 mmoles) de DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**). Après cristallisation de ce mélange dans l'acétate d'éthyle et recristallisation dans le même solvant, on obtient majoritairement l'un des deux diastéréoisomères (52.6 % d'ester n°1, 47.4 % d'ester n°2).

F = 127-132°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1740, 1690 (C=O), 1590 (large), 1510, 1430, 1440 (C=C), 1230 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : Ester n°1 : 2.00-2.08 (m, 1H), 2.36-2.53 (m, 2H), 2.65-2.78 (m, 1H), 3.27 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 4.25 (d, J = 7.53 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H, ArCHAr), 6.71-6.79 (m, 3H), 7.12 (d, J = 7.65 Hz, 1H), 7.22-7.36 (m, 4H)

Ester n°2 : 2.00-2.08 (m, 1H), 2.36-2.53 (m, 2H), 2.65-2.78 (m, 1H), 3.25 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 4.23 (d, J = 7.42 Hz, 1H), 6.50 (s, 1H, ArCHAr), 6.63-6.86 (m, 3H), 7.12 (d, J = 6.83 Hz, 1H), 7.22-7.36 (m, 4H)

Anal. : Calculé : C, 68.28; H, 6.28; N, 3.79; O, 21.65 ($\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_5$: 369.42)

Trouvé : C, 68.31; H, 6.37; N, 3.78; O, 21.69

La même réaction menée avec le L-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) au lieu du DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**) permet de préparer les esters **L-116l1** et **L-116l2**.

N-(4-METHOXY-3',4'-METHYLENEDIOXYBENZHYDRYL)PYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-116m ET DL-116m)

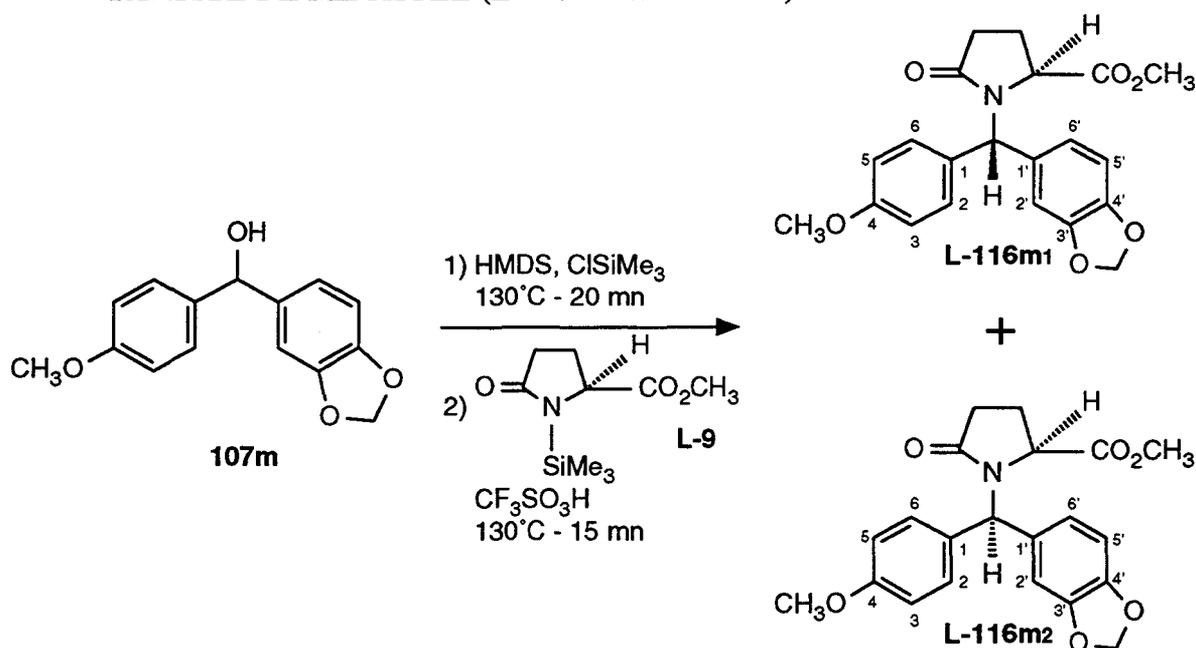


Schéma 179

Par la même procédure que celle utilisée pour préparer en "one pot" les esters **L-116m1** et **L-116m2**, on obtient 27.9 g (72.8 mmoles) d'un mélange équimolaire des esters **DL-116m1** et **DL-116m2** (Rdt = 94.0 %) en partant de 20.0 g (77.4 mmoles) de benzhydrol **107m** et de 16.7 g (77.6 mmoles) de DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**). Après cristallisation de ce mélange dans l'acétate d'éthyle et recristallisation dans le même solvant, on obtient majoritairement l'un des deux diastéréoisomères (35.8 % d'ester n°1, 64.2 % d'ester n°2).

F = 126-130°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1750, 1695 (C=O), 1610, 1580, 1510, 1490, 1460, 1440 (C=C), 1250 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : Ester n°1 : 1.98-2.08 (m, 1H), 2.31-2.50 (m, 2H), 2.62-2.77 (m, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 4.20 (d, J = 8.35 Hz, 1H), 5.93 (s, 2H, OCH_2O), 6.38 (s, 1H, ArCHAR), 6.68-6.77 (m, 3H), 6.81 (d, J = 8.66 Hz, 2H), 7.12 (d, J = 8.66 Hz, 2H)

Ester n°2 : 1.98-2.08 (m, 1H), 2.31-2.50 (m, 2H), 2.62-2.77 (m, 1H), 3.37 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 4.20 (d, J = 8.35 Hz, 1H), 5.92 (s, 2H, OCH_2O), 6.38 (s, 1H, ArCHAR), 6.68-6.77 (m, 3H), 6.86 (d, J = 8.69 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.69 Hz, 2H)

Anal. : Calculé : C, 65.79; H, 5.52; N, 3.65; O, 25.04 ($\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{NO}_6$: 383.40)

Trouvé : C, 65.48; H, 5.50; N, 3.64; O, 25.10

N-([BIS-3,4-METHYLENEDIOXY]BENZHYDRYL)PYROGLUTAMATE DE METHYLE (L-116n ET DL-116n)

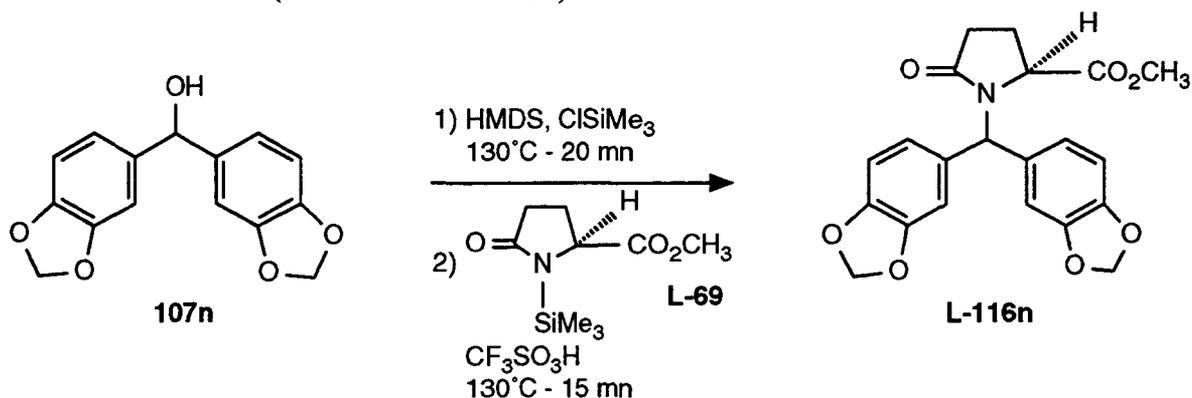


Schéma 180

Par la même procédure que celle utilisée pour préparer en "one pot" les esters **L-116a1** et **L-116a2**, on obtient 56.8 g (142.9 mmoles) d'ester **DL-116n** (Rdt = 97.3 %) en partant de 40.0 g (146.9 mmoles) de benzhydrol **107n** et de 34.9 g (162.0 mmoles) de DL-pyrroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**) (l'ester **DL-116n** est cristallisé dans l'acétate d'éthyle et recristallisé dans le même solvant).

F = 143-147°C

ir (KBr) cm⁻¹ : 1750, 1690 (C=O), 1610, 1505, 1490, 1440 (C=C), 1230 (C-O)

rmn¹H (CDCl₃) : 1.99-2.08 (m, 1H), 2.35-2.50 (m, 2H), 2.62-2.75 (m, 1H), 3.38 (s, 3H), 4.20 (d, J = 8.02 Hz, 1H), 5.93 (s, 1H, OCH₂O), 5.94 (s, 1H, OCH₂O), 6.31 (s, 1H, ArCHAR), 6.56-6.77 (m, 6H)

Anal. : Calculé : C, 63.47; H, 4.82; N, 3.52; O, 28.18 (C₂₁H₁₉NO₇ : 397.39)

Trouvé : C, 63.64; H, 4.85; N, 3.47; O, 28.52

La même réaction menée avec le L-pyrroglutamate de méthyle N-silylé (**L-69**) au lieu du DL-pyrroglutamate de méthyle N-silylé (**DL-69**) permet de préparer l'ester **L-116n**.

**ACIDE N-(3,4-METHYLENEDIOXY-3',4',5'-TRIMETHOXYBENZHY-
DRYL)PYROGLUTAMIQUE (L-67a ET DL-67a) (PREPARE PAR
SAPONIFICATION DE L'ESTER 116a)**

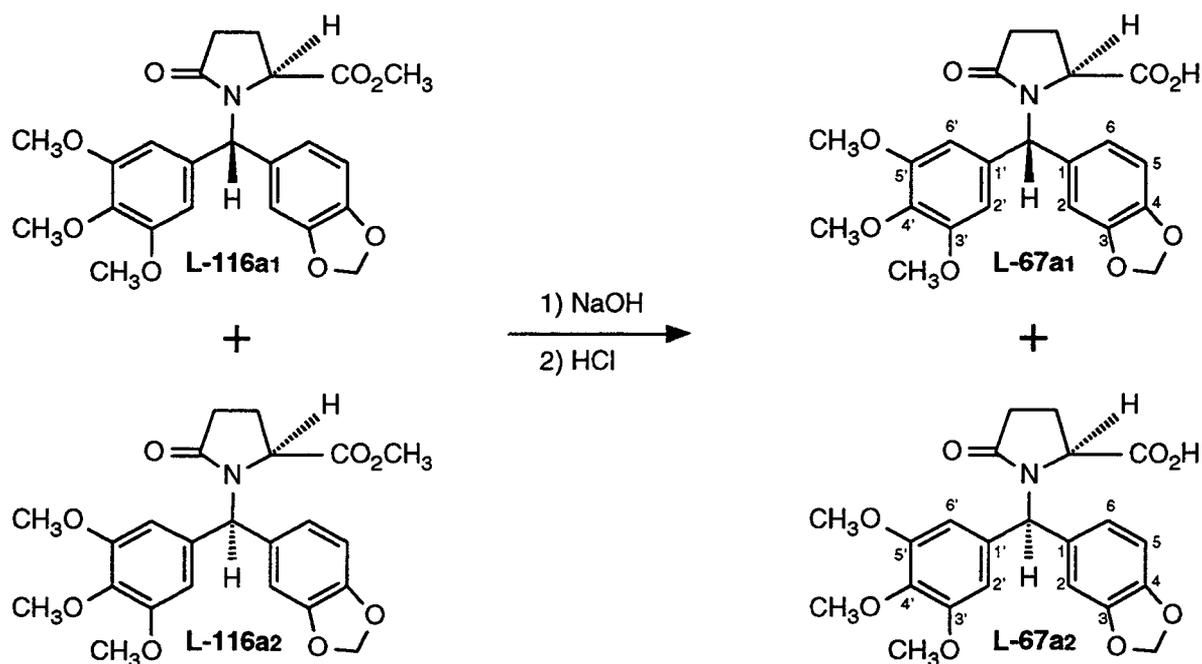


Schéma 181

20 ml de soude 1.5 N (30 mmoles) sont ajoutés à 10.7 g (24.1 mmoles) d'ester **L-116a** (mélange équimolaire des diastéréoisomères **116a1** et **L-116a2**). On chauffe à 80°C pendant une heure. Cette phase aqueuse est ensuite lavée trois fois avec du chlorure de méthylène et chauffée pendant quelques minutes à 40°C sous vide pour évaporer le chlorure de méthylène dissous. Après avoir refroidi à température ambiante, on acidifie lentement la solution jusqu'à précipitation complète des acides **L-67a1** et **L-67a2**. Le précipité est ensuite filtré, lavé à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage et séché. On obtient ainsi, sous la forme d'une poudre blanche, 8.5 g (19.8 mmoles) d'un mélange équimolaire des acides **L-67a1** et **L-67a2** (Rdt= 82.0 %). Après recristallisation de ce mélange dans le méthanol, on obtient les deux diastéréoisomères (acides **DL-67a1** et **DL-67a2**) en quantité équimolaire.

F = 221-223°C, $[\alpha]_D^{20} = -135.90$ (c = 0.25 ; NaOH (1.07 M))

rmn^1H (CDCl₃ + DMSO) : 2.05-2.15 (m, 1H), 2.31-2.48 (m, 2H), 2.63-2.72 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.70 (s, 4.5H), 3.73 (s, 1.5H), 4.18 (d, J = 7.55 Hz, 0.5H), 4.25 (d, J = 7.49 Hz, 0.5H), 5.99 (s, 1H, OCH₂O), 6.00 (s, 1H, OCH₂O), 6.42 (s, 3H, ArCHAr, H-2', H-6'), 6.62-6.87 (m, 3H)

Anal. : Calculé : C, 61.53; H, 5.40; N, 3.26; O, 29.81 (C₂₂H₂₃NO₈ : 429.43)

Trouvé : C, 61.49; H, 5.29; N, 3.27; O, 29.70

La même réaction menée avec les esters **DL-116a1** et **DL-116a2** au lieu des esters **L-116a1** et **L-116a2** permet de préparer les acides racémiques **DL-67a1** et **DL-67a2**. Après recristallisation de ce mélange dans le méthanol, on obtient les deux diastéréoisomères (acides **DL-67a1** et **DL-67a2**) en quantité équimolaire.

F = >190°C

Anal. : Trouvé : C, 61.36; H, 5.43; N, 3.30; O, 29.93

ACIDE N-(3,4,5,4'-TETRAMETHOXYBENZHYDRYL)PYROGLUTAMIQUE (L-116j ET DL-116j)

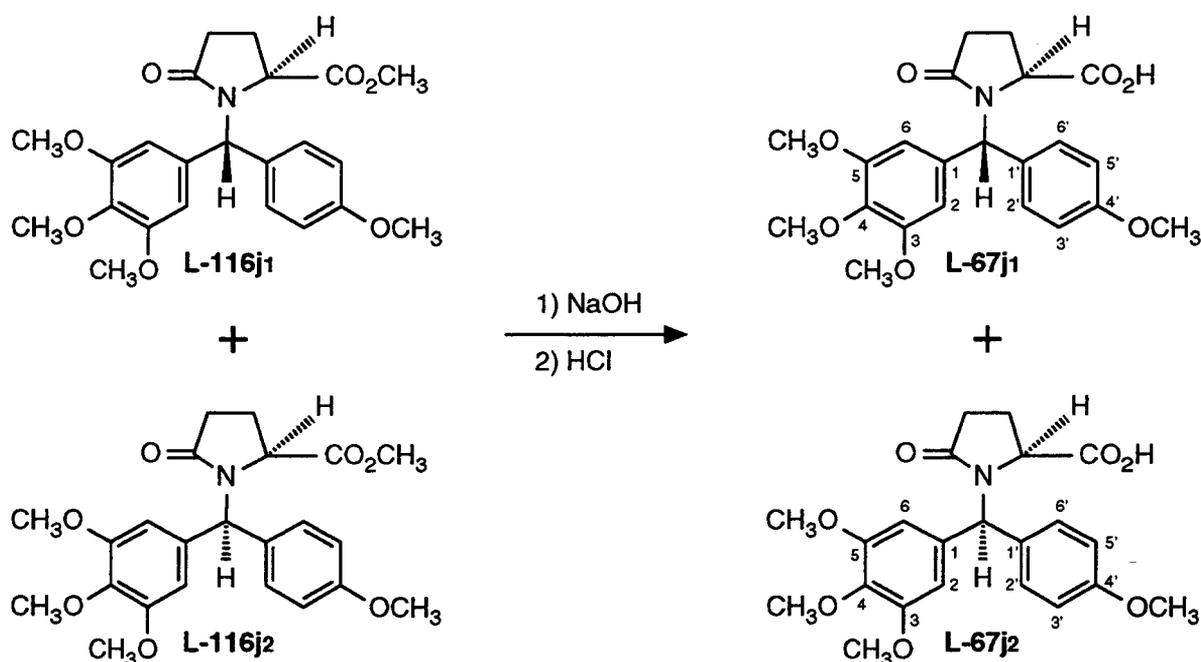


Schéma 182

16 ml de soude 2 N (32 mmoles) sont ajoutés à 12.6 g (29.3 mmoles) d'ester **L-116j** (mélange équimolaire des diastéréoisomères **116j1** et **L-116j2**). On chauffe à 80°C pendant une heure, puis on lave trois fois avec du chlorure de méthylène. La phase aqueuse est ensuite acidifiée jusqu'à pH = 5-6. Les acides **L-67j1** et **L-67j2** sont extraits au chlorure de méthylène, séchés sur sulfate de sodium et concentrés. On obtient ainsi, sous la forme d'une huile, 11.2 g (27.0 mmoles) d'un mélange équimolaire des acides **L-67j1** et **L-67j2** (Rdt = 91.9 %) (les acides **L-67j1** et **L-67j2** n'ont pas été cristallisés).

$[\alpha]_D^{20} = -37.33$ (c = 0.25 ; NaOH (1.07 M))

ir (KBr) cm^{-1} : 3000 (O-H), 1730, 1690-1650 (C=O), 1610, 1590, 1460 (C=C), 1125 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : acide n°1 : 2.11-2.19 (m, 1H), 2.33-2.49 (m, 2H), 2.63-2.73 (m, 1H), 3.71 (s, 6H), 3.78 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 4.14 (d, J = 8.33 Hz, 1H), 6.39 (s, 1H, ArCHAr), 6.44 (s, 2H, H-2, H-6), 6.87 (d, J = 8.70 Hz, 2H), 7.04 (d, J = 8.70 Hz, 2H), 7.90 (s, 1H, -CO₂H)

acide n°2 : 2.11-2.19 (m, 1H), 2.33-2.49 (m, 2H), 2.63-2.73 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.78 (s, 6H), 3.83 (s, 3H), 4.18 (d, J = 8.47 Hz, 1H), 6.33 (s, 2H, H-2, H-6), 6.37 (s, 1H, ArCHAR), 6.71 (d, J = 8.72 Hz, 2H), 7.15 (d, J = 8.72 Hz, 2H), 7.90 (s, 1H, -CO₂H)

Anal. : Calculé : C, 63.61; H, 6.07; N, 3.37; O, 26.96; (C₂₂H₂₅NO₇ : 415.45)

Trouvé : C, 63.64; H, 6.30; N, 3.27; O, 26.74

La même réaction menée avec les esters **DL-116j₁** et **DL-116j₂** au lieu des esters **L-116j₁** et **L-116j₂** permet de préparer les acides racémiques **DL-67j₁** et **DL-67j₂** (les acides **DL-67j₁** et **DL-67j₂** n'ont pas été cristallisés).

ir (KBr) cm⁻¹ : 3540, 3050 (O-H), 1740, 1700-1640 (C=O), 1610, 1590, 1510, 1460 (C=C), 1130 (C-O)

Anal. : Trouvé : C, 63.74; H, 6.54; N, 3.33; O, 27.34

ACIDE N-(3,4,5-TRIMETHOXYBENZHYDRYL)PYROGLUTAMIQUE (L-67k ET DL-67k)

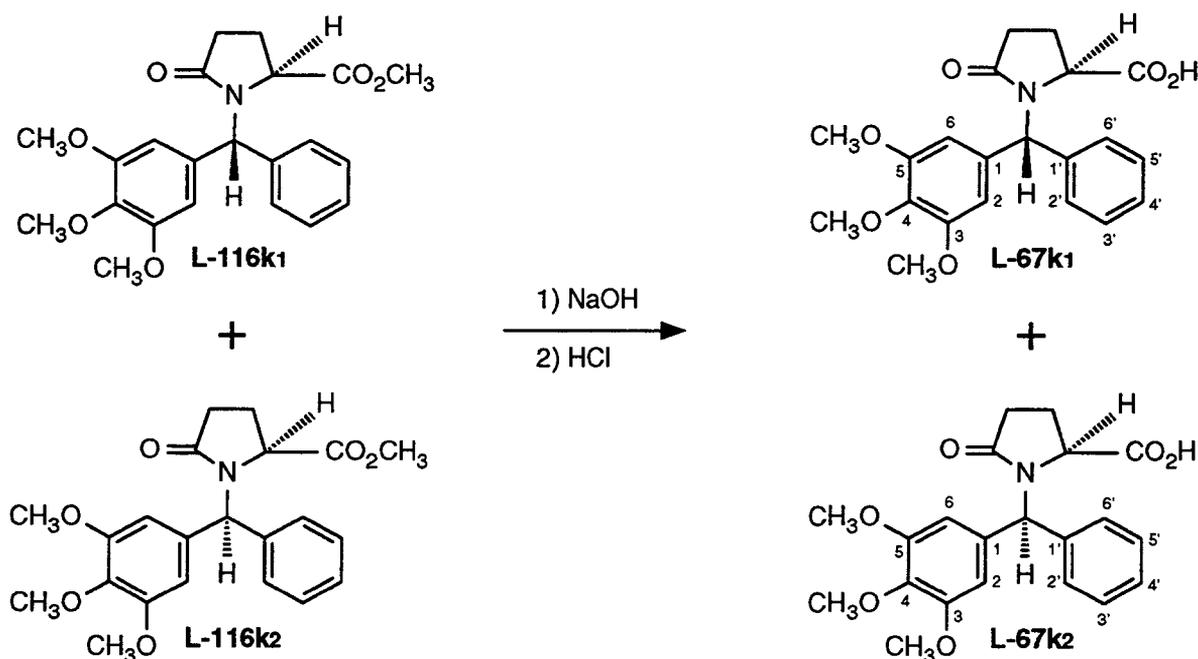


Schéma 183

Par la même procédure que celle utilisée pour saponifier les esters **L-116j₁** et **L-116j₂** en acides **L-67j₁** et **L-67j₂**, on obtient 6.35 g (16.5 mmoles) d'un mélange équimolaire des acides **L-67k₁** et **L-67k₂** (Rdt = 79.3 %) en partant de 8.3 g (20.8 mmoles) d'un mélange équimolaire des esters **L-116k₁** et **L-116k₂** et de 12.5 ml de soude 2 N (25 mmoles)(les acides **L-67k₁** et **L-67k₂** n'ont pas été cristallisés).

$[\alpha]_D^{20} = -46.95$ (c = 0.25 ; NaOH (1.07 M))

ir (KBr) cm^{-1} : 3640, 3000 (O-H), 1740, 1700, 1650 (C=O), 1590, 1510, 1460 (C=C), 1125 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : acide n°1 : 2.04-2.16 (m, 1H), 2.30-2.49 (m, 2H), 2.63-2.71 (m, 1H), 3.71 (s, 6H), 3.77 (s, 3H), 4.15 (d, $J = 8.35$ Hz, 1H), 6.35 (s, 1H, ArCHAR), 6.43 (s, 2H, H-2, H-6), 7.12 (d, $J = 7.40$ Hz, 1H, H-4'), 7.19-7.37 (m, 4H), 8.54 (s, 1H, $-\text{CO}_2\text{H}$)

acide n°2 : 2.04-2.16 (m, 1H), 2.30-2.49 (m, 2H), 2.63-2.71 (m, 1H), 3.78 (s, 6H), 3.83 (s, 3H), 4.19 (d, $J = 8.35$ Hz, 1H), 6.36 (s, 1H, H-2, H-6), 6.43 (s, 1H, ArCHAR), 7.12 (d, $J = 7.40$ Hz, 1H, H-4'), 7.19-7.37 (m, 4H), 8.54 (s, 1H, $-\text{CO}_2\text{H}$)

Anal. : Calculé : C, 65.44; H, 6.02; N, 3.63; O, 24.91 ($\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_6$: 385.42)

Trouvé : C, 65.51; H, 6.29; N, 3.46; O, 24.94

ACIDE N-(3,4-DIMETHOXYBENZHYDRYL)PYROGLUTAMIQUE (L-671 ET DL-671)

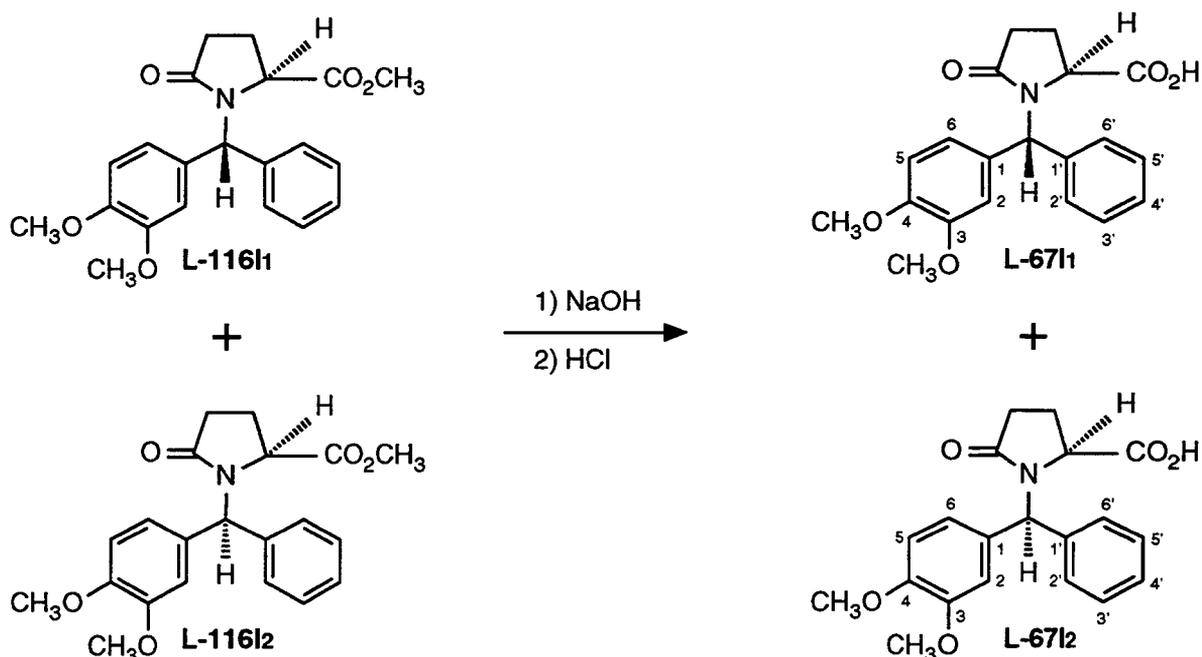


Schéma 184

Par la même procédure que celle utilisée pour saponifier les esters **L-116j1** et **L-116j2** en acides **L-67j1** et **L-67j2**, on obtient 16.5 g (46.4 mmoles) d'un mélange équimolaire des acides **L-6711** et **L-6712** (Rdt = 83.3 %) en partant de 20.6 g (55.8 mmoles) d'un mélange équimolaire des esters **L-11611** et **L-11612** et de 30 ml de soude 2 N (60 mmoles) (les acides **L-6711** et **L-6712** n'ont pas été cristallisés).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -41.50$ ($c = 0.25$; NaOH (1.07 M))

ir (KBr) cm^{-1} : 3550, 3100 (O-H), 1740, 1695 (large), 1640 (large) (C=O), 1605, 1595, 1515, 1495, 1465, 1450 (C=C), 1140 (C-O)

^1H (CDCl₃) : 2.06-2.13 (m, 1H), 2.32-2.48 (m, 2H), 2.58-2.70 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.75 (s, 1.5H), 3.85 (s, 1.5H), 4.15 (d, J = 7.87 Hz, 0.5H), 4.20 (d, J = 8.05 Hz, 0.5H), 6.38 (s, 0.5H, ArCHAr), 6.45 (s, 0.5H, ArCHAr), 6.61-6.86 (m, 3H), 7.10 (d, J = 7.28 Hz, 1H, H-4'), 7.16-7.35 (m, 4H), 8.68 (s, 1H, -CO₂H)

Anal. : Calculé : C, 67.59; H, 5.96; N, 3.94; O, 22.51 (C₂₀H₂₁NO₅ : 355.39)

Trouvé : C, 66.99; H, 6.14; N, 3.76; O, 22.78

La même réaction menée avec les esters **DL-116l1** et **DL-116l2** au lieu des esters **L-116l1** et **L-116l2** permet de préparer les acides racémiques **DL-67l1** et **DL-67l2** (les acides **DL-67l1** et **DL-67l2** n'ont pas été cristallisés).

ir (KBr) cm⁻¹ : 3550, 3100 (O-H), 1740, 1690-1640 (C=O), 1605, 1595, 1525, 1495, 1465, 1450 (C=C), 1130 (C-O)

Anal. : Trouvé : C, 67.31; H, 6.23; N, 3.85; O, 22.56

ACIDE N-(4-METHOXY-3',4'-METHYLENEDIOXYBENZHYDRYL)PYROGLUTAMIQUE (L-67m ET DL-67m)

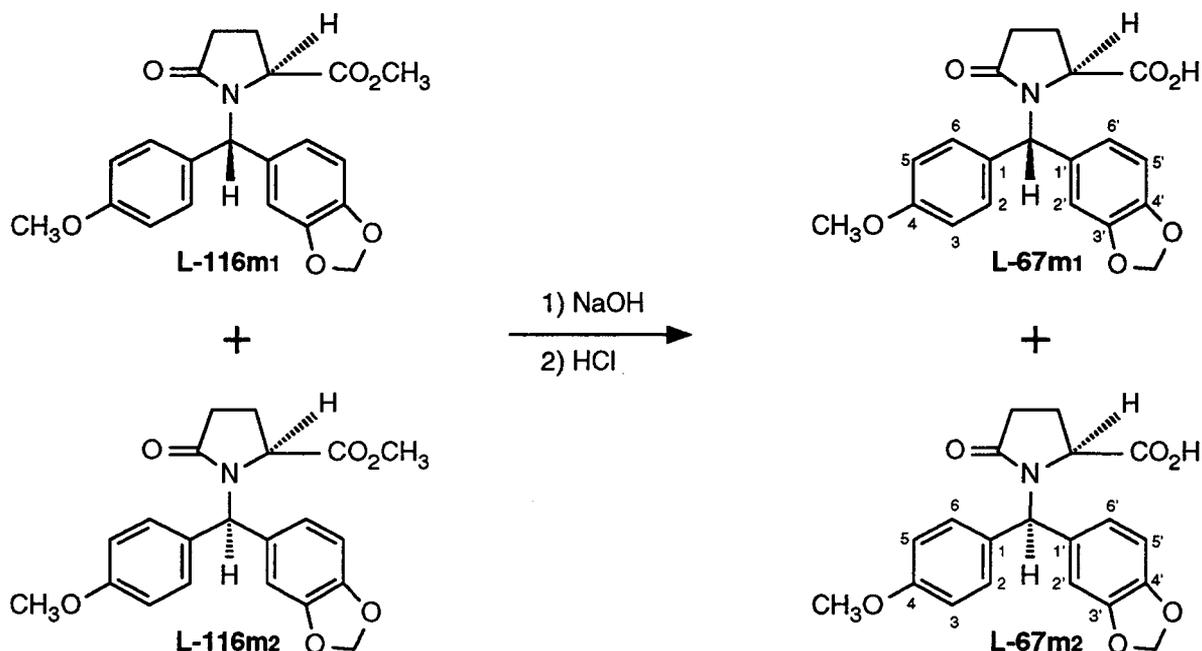


Schéma 185

Par la même procédure que celle utilisée pour saponifier les esters **L-116a1** et **L-116a2** en acides **L-67a1** et **L-67a2**, on obtient 9.8 g (26.5 mmoles) d'un mélange équimolaire des acides **L-67m1** et **L-67m2** (Rdt = 74.2 %) en partant de 13.7 g (35.7 mmoles) d'un mélange équimolaire des esters **L-116m1** et **L-116m2** et de 20 ml de soude 2 N (40 mmoles). Après recristallisation de ce mélange dans le méthanol, on obtient

majoritairement l'un des deux diastéréoisomères (25.0 % d'acide n°1, 75.0 % d'acide n°2).

F = 205-208°C, $[\alpha]_D^{20} = -177.83$ (c = 0.25 ; NaOH (1.07 M))

ir (KBr) cm^{-1} : 1720, 1620 (C=O), 1600, 1580, 1510, 1485, 1445 (C=C), 1170 (C-O)

rmn¹H (CDCl₃ + DMSO) : acide n°1 : 2.06-2.13 (m, 1H), 2.34-2.46 (m, 2H), 2.58-2.68 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 4.12 (d, J = 7.92 Hz, 1H), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.30 (s, 1H, ArCHAr), 6.59-6.79 (m, 3H), 6.80 (d, J = 8.33 Hz, 2H), 7.17 (d, J = 8.33 Hz, 2H)

acide n°2 : 2.06-2.13 (m, 1H), 2.34-2.46 (m, 2H), 2.58-2.68 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 4.12 (d, J = 7.92 Hz, 1H), 5.92 (s, 2H, OCH₂O), 6.30 (s, 1H, ArCHAr), 6.59-6.79 (m, 3H), 6.85 (d, J = 8.35 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 8.35 Hz, 2H)

Anal. : Calculé : C, 65.03; H, 5.18; N, 3.79; O, 25.99 (C₂₀H₁₉NO₆ : 369.38)

Trouvé : C, 64.76; H, 5.22; N, 3.86; O, 26.19

La même réaction menée avec les esters **DL-116m1** et **DL-116m2** au lieu des esters **L-116m1** et **L-116m2** permet de préparer les acides racémiques **DL-67m1** et **DL-67m2**. Après recristallisation de ce mélange dans le méthanol, on obtient majoritairement l'un des deux diastéréoisomères (22.9 % d'acide n°1, 77.1 % d'acide n°2).

F = 206-211°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1720, 1620 (C=O), 1600, 1580, 1510, 1485, 1445 (C=C), 1170 (C-O)

Anal. : Trouvé : C, 65.08; H, 5.16; N, 3.79; O, 26.19

ACIDE N-([BIS-3,4-METHYLENEDIOXY]BENZHYDRYL)PYROGLUTAMIQUE (**L-67n** ET **DL-67n**)

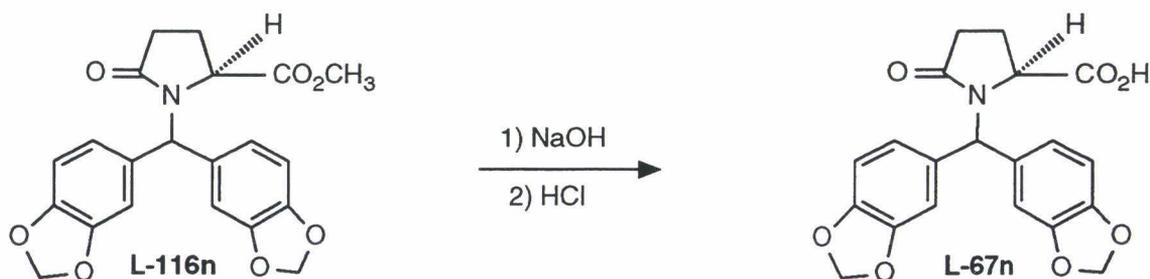


Schéma 186

Par la même procédure que celle utilisée pour saponifier les esters **L-116a1** et **L-116a2** en acides **L-67a1** et **L-67a2**, on obtient 44.2 g (115.3 mmoles) de l'acide **DL-67n** (Rdt = 80.7 %) en partant de 56.8 g (142.9 mmoles) de l'ester **DL-116n** et de 95 ml de soude 2 N (190 mmoles) (l'acide **DL-67n** est recristallisé dans le méthanol).

F = 229-230°C

ir (KBr) cm^{-1} : 2910 (O-H, large), 1735, 1640 (C=O, large), 1505, 1490, 1450 (C=C), 1150 (C-O)

Anal. : Calculé : C, 62.66; H, 4.47; N, 3.65; O, 29.21; (C₂₀H₁₇NO₇ : 383.36)

Trouvé : C, 62.39; H, 4.77; N, 3.46; O, 29.31

La même réaction menée avec l'ester **L-116n** au lieu de l'ester **DL-116n** permet de préparer l'acide **L-67n**.

ACIDE N-BENZHYDRYLPYROGLUTAMIQUE (L-67b)

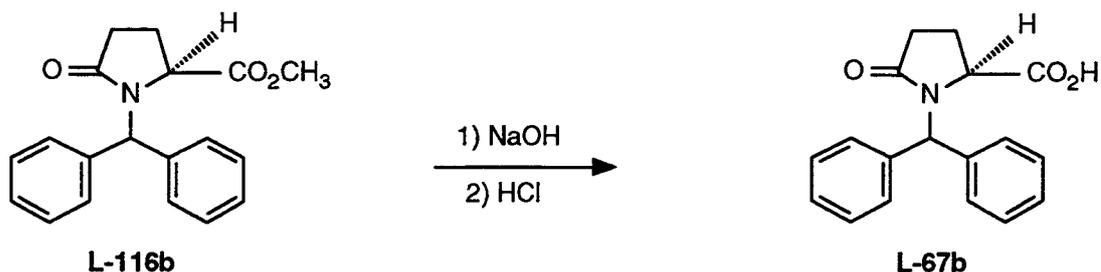


Schéma 187

Par la même procédure que celle utilisée pour saponifier les esters **L-116a1** et **L-116a2** en acides **L-67a1** et **L-67a2**, on obtient 134.3 g (454.7 mmoles) d'acide **L-67b** (Rdt = 93.0 %) en partant de 151.3 g (489.1 mmoles) d'ester **L-116b** et de 390 ml de soude 1.5 N (585 mmoles) (l'acide **L-67b** est recristallisé dans le méthanol).

F = 203-204°C, $[\alpha]_D^{20} = -221.85$ (c = 0.25 ; NaOH (1.07 M))

ir (KBr) cm⁻¹ : 2900 (O-H, large), 1760, 1680 (C=O), 1600, 1585, 1500, 1455, (C=C)

rmn¹H (CDCl₃) : 1.8-2.9 (m, 4H), 4.05-4.34 (m, 1H), 6.25 (s, 1H, PhCHPh), 7.20 (m, 10H)

Anal. : Calculé : C, 73.20; H, 5.80; N, 4.74; O, 16.25 (C₁₈H₁₇NO₃ : 295.34)

Trouvé : C, 73.07; H, 5.85; N, 4.73; O, 15.99

ACIDE N-(4,4'-DIMETHOXYBENZHYDRYL)PYROGLUTAMIQUE (L-67d ET DL-67d)

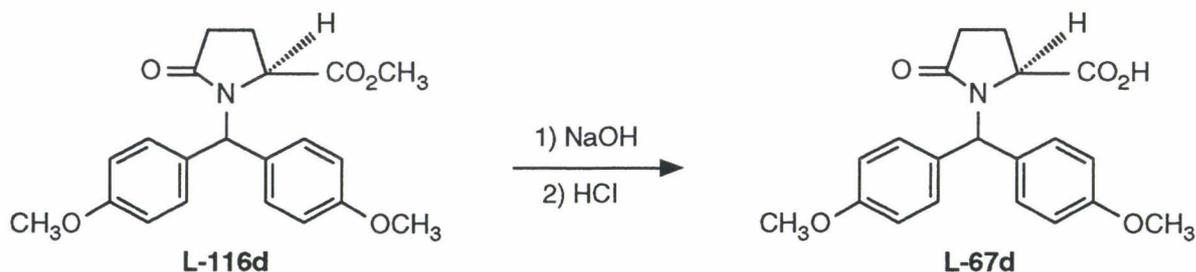


Schéma 188

Par la même procédure que celle utilisée pour saponifier les esters **L-116a1** et **L-116a2** en acides **L-67a1** et **L-67a2**, on obtient 63.0 g (177.3 mmoles) d'acide **L-67d** (Rdt = 87.2 %) en partant de 75.1 g (203.3 mmoles) d'ester **L-116d** et de 160 ml de soude 1.5 N (240 mmoles) (l'acide **L-116d** est recristallisé dans le méthanol).

F = 201-202°C, $[\alpha]_D^{20} = -178.38$ (c = 0.25 ; NaOH (1.07 M))

ir (KBr) cm^{-1} : 3480 (O-H), 1740, 1620 (C=O), 1605, 1585, 1510, 1470, (C=C), 1180 (C-O)
 rmn¹H (CDCl₃ + DMSO) : 2.05-2.12 (m, 1H), 2.35-2.46 (m, 2H), 2.57-2.70 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 4.14 (d, J = 7.94 Hz, 1H), 6.37 (s, 1H, ArCHAR), 6.80 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.85 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.04 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.16 (d, J = 8.6 Hz, 2H)

Anal. : Calculé : C, 67.59; H, 5.96; N, 3.94; O, 22.51 (C₂₀H₂₁NO₅ : 355.39)

Trouvé : C, 67.81; H, 6.23; N, 3.97; O, 22.38

La même réaction menée avec l'ester **DL-116d** au lieu de l'ester **L-116d** permet de préparer le racémique **DL-67d**.

F = 205-210°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1720, 1620 (C=O), 1605, 1580, 1510, 1450, (C=C), 1175 (C-O)

Anal. : Trouvé : C, 67.39; H, 5.95; N, 3.93; O, 22.57

ACIDE N-(3,4-METHYLENEDIOXY-3',4',5'-TRIMETHOXYBENZHYDRYL)PYROGLUTAMIQUE (L-67a et DL-67a) (PREPARE EN "ONE POT" A PARTIR DU BENZHYDROL 107a)

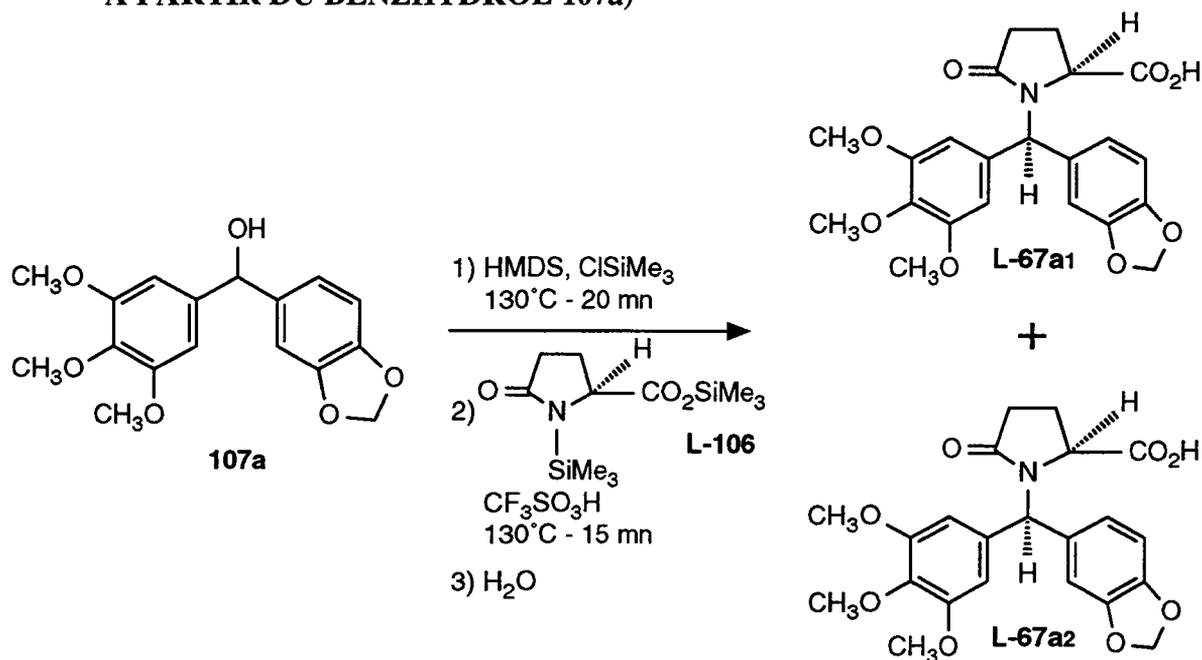


Schéma 189

Dans un bicol de 20 ml, équipé d'un réfrigérant et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 3.0 g (9.4 mmoles) de benzhydrol **107a** et 10 ml (47.4 mmoles) d'hexaméthylsilazane. Après avoir ajouté 3 gouttes de chlorotriméthylsilane, on porte à 130°C. On observe très rapidement un dégagement d'ammoniac ainsi que la formation d'un dépôt de chlorure d'ammonium à la base du réfrigérant. Après 20 mn de chauffage, on installe un appareil de distillation à la place du réfrigérant. La température est maintenue à 130°C et on tire sous vide l'excès d'hexaméthylsilazane (le chlorure d'ammonium formé sublime). Le milieu réactionnel est ramené à pression atmosphérique et est remis sous courant d'azote. On introduit ensuite, à la seringue, 2.6 g (9.5 mmoles) d'acide L-pyroglutamique N,O-disilylé (**L-106**) puis 0.05 ml d'acide triflique et on porte à 130°C. Dès la fin de la distillation de l'hexaméthylsiloxane (15 mn environ), on ajoute 5 ml de chlorure de méthylène et 10 ml d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène. On ajoute ensuite 15 ml de soude 1 N à la phase organique. La phase aqueuse est séparée, lavée deux fois avec du chlorure de méthylène, et enfin, chauffée pendant quelques minutes à 40°C sous vide pour évaporer le chlorure de méthylène dissous. Après avoir refroidi à température ambiante, on acidifie lentement la solution jusqu'à précipitation complète des acides **L-67a1** et **L-67a2**. Le précipité est ensuite filtré, lavé à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage et séché. On obtient ainsi 3.9 g (9.1 mmoles) d'un mélange équimolaire des acides **L-67a1** et **L-67a2** (Rdt = 96.4 % ; leurs propriétés physiques sont identiques à celles des produits obtenus par saponification des esters **L-116a1** et **L-116a2**).

5-PHENYL-1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[f]INDOLIZINE 3,10-DIONE (L-56b)

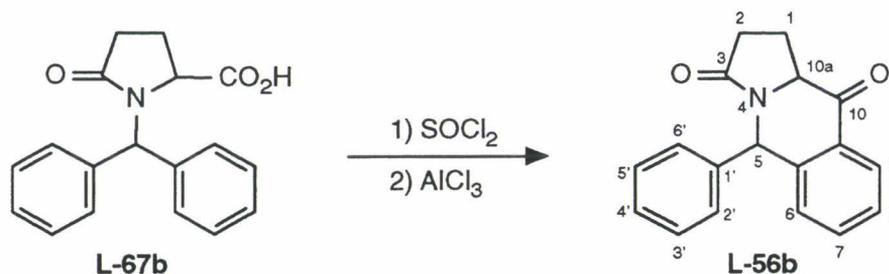


Schéma 190

25.0 g (15.0 ml ; 210 mmoles) de chlorure de thionyle sont ajoutés à 50.0 g (169.2 mmoles) d'acide **L-67b**, dissous dans 150 ml de chlorure de méthylène, et sont portés à reflux pendant 7 heures sous azote. La solution est ensuite concentrée afin d'éliminer l'excès de chlorure de thionyle utilisé. Le chlorure d'acide obtenu est dilué dans 150 ml de chlorure de méthylène et 80.0 g (600 mmoles) de chlorure d'aluminium sont ajoutés lentement sous un courant d'azote. Après une nuit à température ambiante, on hydrolyse en additionnant très lentement la solution dans de l'eau glacée. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Puis on sèche sur sulfate de sodium et on porte à reflux du chlorure de méthylène, en présence de charbon actif, pendant 4 heures. Après filtration du charbon actif et évaporation du chlorure de méthylène, on obtient 34.4 g de cétone **L-56b** brute (Rdt = 73.3 %). La cétone **L-56b** est purifiée par flash chromatographie sur une colonne de silice. (éluant :éther diéthylique). Après séparation, on évapore à sec l'éther diéthylique et on reprend dans 250 ml d'éther diisopropylique bouillant. Lorsqu'on porte cette solution à -40°C environ, la cétone **L-56b** cristallise sous forme de beaux cristaux blancs. Ceux-ci sont enfin filtrés, lavés à l'heptane et tirés sous vide. Ces manipulations ainsi que la conservation de la cétone **L-56b** doivent être réalisées à basse température, sinon les cristaux se transforment rapidement en huile. On obtient 32.0 g (115.4 mmoles) de cétone **L-56b** (Rdt = 68.2 %).

ir (KBr) cm^{-1} : 1695, 1670 (C=O), 1600, 1500, 1450 (C=C)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.25-2.63 (m, 4H), 3.98-4.40 (m, 1H, H-10a), 6.57 (s, 1H, H-5), 6.94-7.78 (m, 8H), 7.99-8.22 (m, 1H, H-9)

Anal. : Calculé : C, 77.96; H, 5.45; N, 5.05; O, 11.54 ($\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_2$: 277.33)

Trouvé : C, 77.24; H, 5.48; N, 4.71; O, 12.22

7,8-DIMETHOXY-9-HYDROXY-1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[f]INDO-LIZINE-3,10-DIONE (DL-143d)

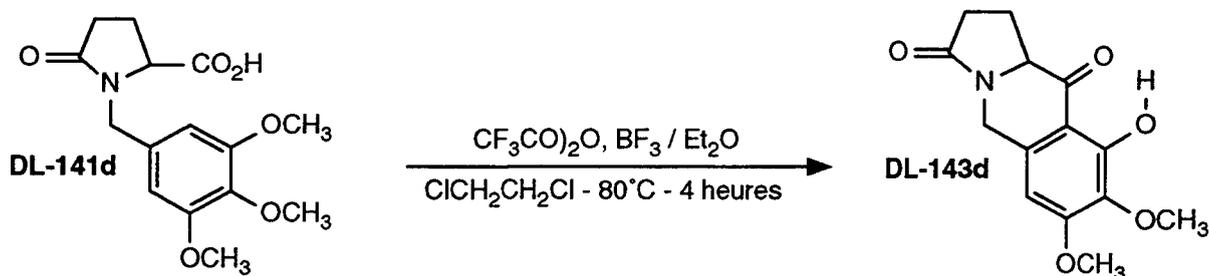


Schéma 191

27.9 ml (226.9 mmoles) du complexe trifluorure de bore / éther et 32.1 ml (227.3 mmoles) d'anhydride trifluoroacétique sont ajoutés à 11.7 g (37.8 mmoles) d'acide **DL-141d**, dissous dans 400 ml de 1,2-dichloroéthane, et sont portés à 80°C pendant 4 heures sous azote. Le milieu réactionnel, qui est initialement limpide, prend peu à peu une couleur orangée. Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé à l'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, la cétone **DL-143d** est recristallisée dans 120 ml d'acétate d'éthyle. On obtient ainsi 8.4 g (30.3 mmoles) de cétone **DL-143d** (Rdt = 80.1 %) sous forme de cristaux jaunâtres (aucune dégradation apparente n'est observée lorsque cette cétone **DL-143d** est conservée à température ambiante et au contact de l'air pendant plusieurs mois).

F = 174-180°C (dégradation)

ir (KBr) cm^{-1} : 1690, 1630 (C=O), 1615, 1570, 1510, 1460 (C=C), 1280 (C-O)

rmn¹H (CDCl₃) : 2.31-2.55 (m, 4H), 3.84 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 4.18-4.24 (m, 1H), 4.23 (d, J = 17.1 Hz, 1 H), 5.11 (d, J = 17.1 Hz, 1 H), 6.39 (s, 1H), 8.14 (s, 1H, -OH)

Anal. : Calculé : C, 60.65; H, 5.45; N, 5.05; O, 28.85 (C₁₄H₁₅NO₅ : 277.28)

Trouvé : C, 60.61; H, 5.43; N, 5.20; O, 28.99

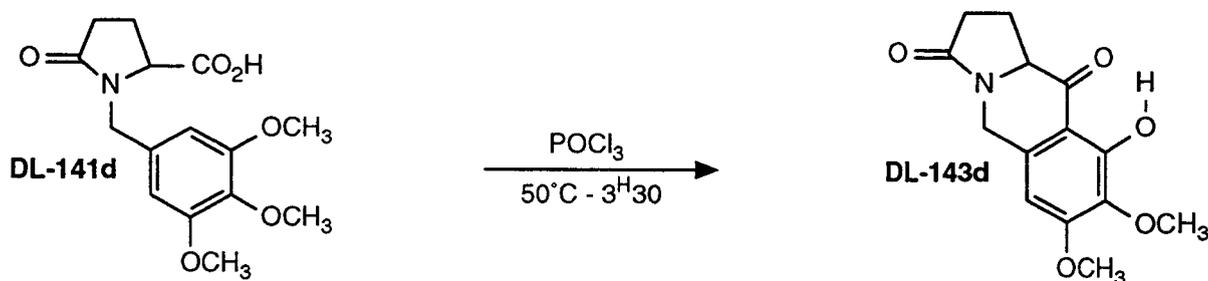


Schéma 192

3.0 g (9.7 mmoles) d'acide **DL-141d** sont traités par 10 ml de POCl₃ à 50°C pendant

³H₃₀. La solubilisation de l'acide dans POCl₃ est immédiate. Après une heure de réaction, les premières vapeurs d'acide chlorhydrique apparaissent et la solution devient rouge-orangée. Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé à l'eau. On extrait deux fois au chlorure de méthylène. La phase organique est lavée à la soude diluée et à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. Après séchage sur sulfate de sodium, on évapore les solvants. Les cristaux jaunâtres obtenus sont enfin lavés à l'éther et séchés. On isole ainsi 0.8 g (2.9 mmoles) de cétone **DL-143d** (Rdt = 29.7 %).

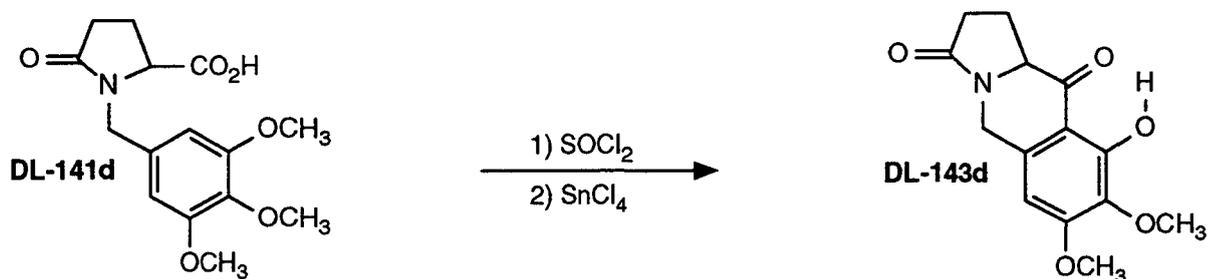


Schéma 193

2.3 g (1.4 ml ; 19.3 mmoles) de chlorure de thionyle sont ajoutés à 5.0 g (16.2 mmoles) d'acide **DL-141d**, dissous dans 20 ml de chlorure de méthylène, et sont portés à reflux pendant 6 heures sous azote. La solution est ensuite concentrée afin d'éliminer l'excès de chlorure de thionyle utilisé. Le chlorure d'acide préparé est dilué dans 200 ml de chlorure de méthylène et 26.7 g (12.0 ml ; 102.5 mmoles) de tétrachlorure d'étain sont ajoutés sous azote. On porte à reflux pendant 4 heures. Puis, on lave la phase organique avec, respectivement, 250 ml d'acide chlorhydrique 3 N, deux fois 250 ml d'acide chlorhydrique 1 N, deux fois 250 ml d'une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, et enfin 250 ml d'une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de sodium et concentrée. L'huile obtenue est diluée par de l'acétate d'éthyle bouillant et, en refroidissant, la cétone **DL-143d** cristallise. Après filtration et recristallisation dans l'acétate d'éthyle, on isole 3.2 g (11.5 mmoles) de cétone **DL-143d** (Rdt = 71.4 %).

**2-AZA-10-CARBA-4-CETOPODOPHYLLOTOXINE (L-56a ET DL-56a) ET
7,8-DIMETHOXY-9-HYDROXY-5-(3',4'-METHYLENEDIOXYPHENYL)-1,
2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3,10-DIONE (L-56a' ET
DL-56a')** (PREPARES A PARTIR DE L'ACIDE 67a)

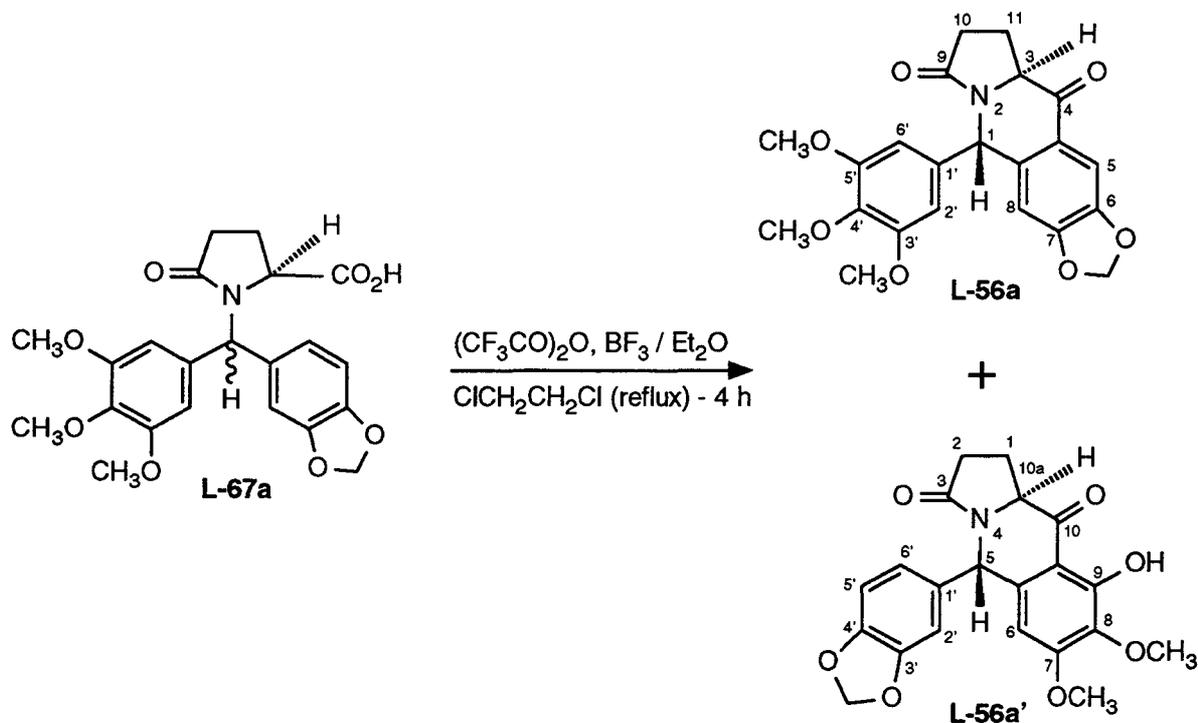
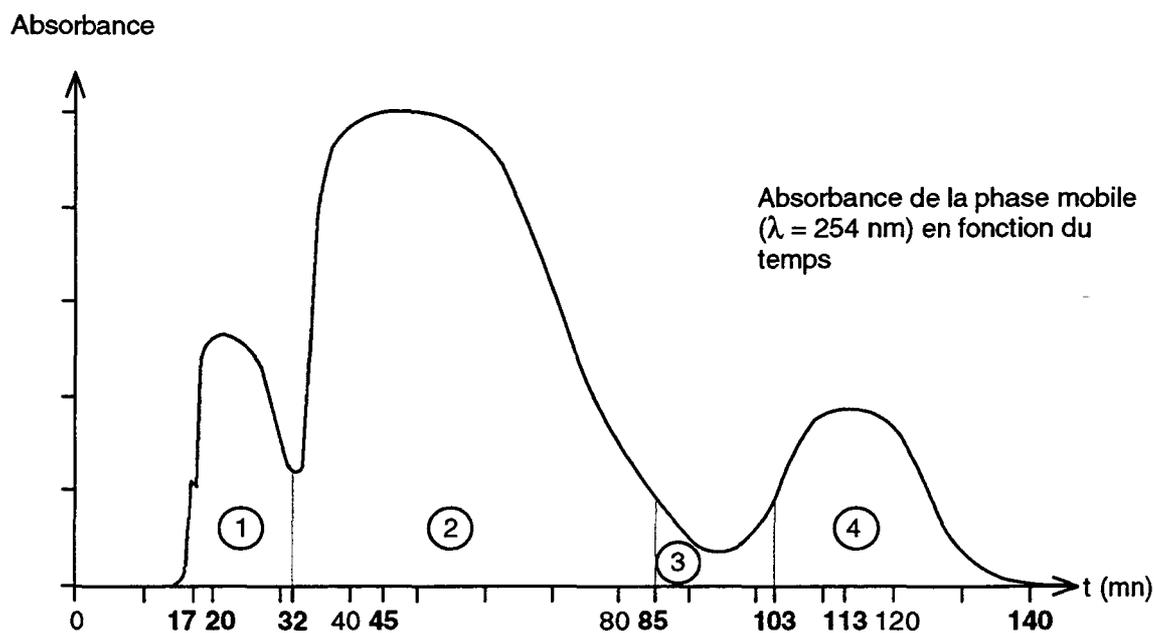
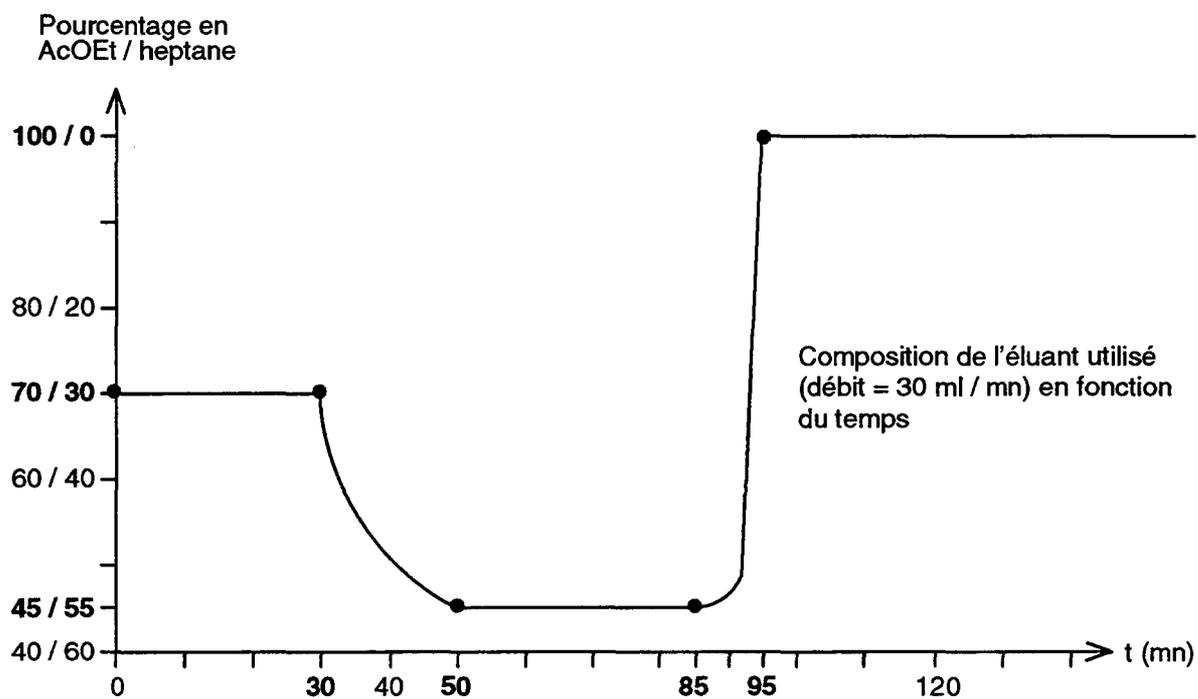


Schéma 194

100 ml (794.8 mmoles) du complexe trifluorure de bore / éther et 110 ml (778.8 mmoles) d'anhydride trifluoroacétique sont ajoutés à 42.3 g (98.5 mmoles) d'acide **L-67a**, dissous dans 1.5 l de 1,2-dichloroéthane, et sont portés à 80°C sous azote. Le milieu réactionnel prend une couleur violette. Après 4 heures de chauffage, le milieu réactionnel est hydrolysé à l'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Par séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on obtient une huile qui est dissoute à chaud dans un faible volume de toluène. En refroidissant, la majeure partie de la cétone **L-56a** cristallise sous la forme d'une belle poudre blanche. Ces cristaux sont filtrés et séchés. On obtient ainsi 10.3 g (25.0 mmoles) de cétone **L-56a** (recristallisée dans le toluène). Le filtrat est ensuite concentré et dissous dans 50 ml d'acétate d'éthyle. Afin d'éliminer les composés les plus polaires, cette solution est rapidement filtrée sur silice et lavée avec le minimum d'acétate d'éthyle. Puis on concentre de manière à obtenir 20 ml de solution environ. On injecte celle-ci dans une colonne préparative dont la phase stationnaire est de la silice (PrepPAK-500 / silica, Waters, 55-105 μm , 100 Å). L'élution est réalisée avec un mélange d'acétate d'éthyle et d'heptane en faisant varier sa composition en fonction du temps (voir schéma n°195).



- ① : impuretés
- ② : cétone 56a'
- ③ : cétone 56a' + cétone 56a
- ④ : cétone 56a

Séparation par chromatographie préparative de la cétone 56a et de la cétone 56a'

Schéma 195

La première fraction est composée d'impuretés qui absorbent intensément. La cétone **L-56a'** apparaît ensuite (fraction n°2). Cette fraction est concentrée et dissoute dans le minimum d'acétate d'éthyle bouillant. En refroidissant, la cétone **L-56a'** cristallise sous la forme d'une poudre jaunâtre. Ces cristaux sont filtrés et séchés. On isole ainsi 11.9 g (29.9 mmoles) de cétone **L-56a'** (recristallisée dans l'acétate d'éthyle). La fraction n°3 contient un mélange de cétone **L-56a** et de cétone **L-56a'** en faibles quantités (cette fraction peut être recyclée). On isole enfin le reste de la cétone **L-56a** dans la fraction n°4. Cette fraction est concentrée et dissoute dans le minimum de toluène bouillant. En refroidissant, la cétone **L-56a** cristallise sous la forme d'une poudre blanche (l'ajout de quelques gouttes d'heptane peut être nécessaire). Ces cristaux sont filtrés et séchés. On récupère ainsi 2.8 g (6.8 mmoles) de cétone **L-56a**. On obtient donc globalement 13.1 g (31.8 mmoles) de cétone **L-56a** (Rdt = 32.3 %) et 9.3 g (29.9 mmoles) de cétone **L-56a'** (Rdt = 30.4 %).

Cétone L-56a :

F = 192-196°C (dégradation)

ir (KBr) cm^{-1} : 1695, 1675 (C=O), 1625, 1590, 1500, 1465 (C=C), 1240 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.25-2.46 (m, 4H), 3.73 (s, 6H), 3.80 (s, 3H), 4.18-4.23 (m, 1H, H-3), 6.05 (d, J = 1.15 Hz, 1H, OCH_2O), 6.07 (d, J = 1.15 Hz, 1H, OCH_2O), 6.37 (s, 2H, H-2', H-6'), 6.38 (s, 1H, H-1), 6.65 (s, 1H, H-8), 7.53 (s, 1H, H-5)

Anal. : Calculé : C, 64.23; H, 5.15; N, 3.40; O, 27.22 ($\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NO}_7$: 411.42)

Trouvé : C, 64.31; H, 5.23; N, 3.26; O, 26.79

Cétone L-56a' :

F = 166°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1700, 1635 (C=O), 1615, 1570, 1500, 1490, 1460 (C=C), 1235 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.24-2.45 (m, 4H), 3.85 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 4.13-4.18 (m, 1H, H-10a), 5.90 (s, 2H, OCH_2O), 6.31 (s, 1H), 6.34 (s, 1H), 6.53 (dd, J = 1.69 Hz, J = 8.01 Hz, 1H, H-6'), 6.64 (d, J = 1.69 Hz, 1H, H-2'), 6.67 (d, J = 8.01 Hz, 1H, H-5'), 8.20 (s, 1H, -OH)

Anal. : Calculé : C, 63.47; H, 4.82; N, 3.52; O, 28.18 ($\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_7$: 397.39)

Trouvé : C, 63.19; H, 4.88; N, 3.43; O, 28.38

La même réaction menée avec l'acide **DL-67a** au lieu de l'acide **L-67a** permet de préparer les cétones **DL-56a** et **DL-56a'**

Cétone DL-56a :

F = 198-200°C

Anal. : Trouvé : C, 64.38; H, 5.38; N, 3.76; O, 27.60

Cétone DL-56a' :

F = 166-167°C

Anal. : Trouvé : C, 63.57; H, 4.82; N, 3.68; O, 28.35

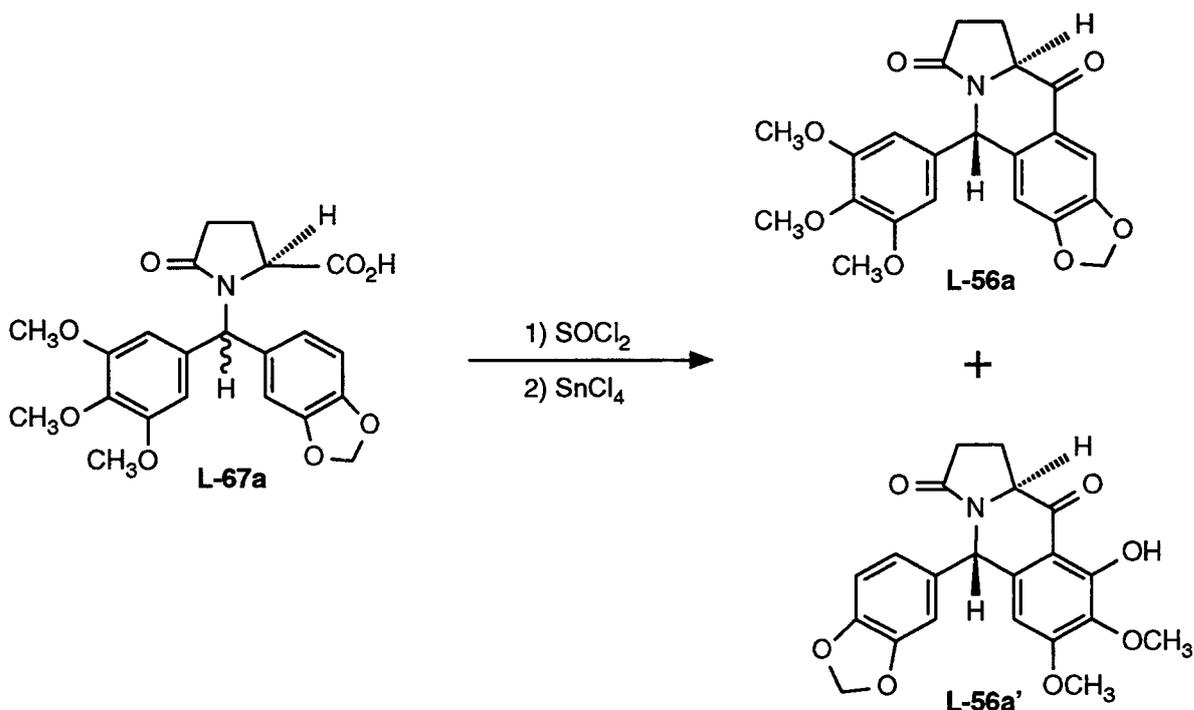


Schéma 196

3.3 g (2.0 ml ; 27.4 mmoles) de chlorure de thionyle sont ajoutés à 4.0 g (9.3 mmoles) d'acide **L-67a**, dissous dans 20 ml de chlorure de méthylène. Le tout est porté à reflux pendant 6 heures sous azote. La solution est ensuite concentrée afin d'éliminer l'excès de chlorure de thionyle utilisé. Le chlorure d'acide préparé est dilué dans 200 ml de chlorure de méthylène et 11.0 ml (94.0 mmoles) de tétrachlorure d'étain sont ajoutés sous azote. On porte à reflux pendant 4 heures. Puis, on lave la phase organique avec, respectivement, 250 ml d'acide chlorhydrique 3 N, deux fois 250 ml d'acide chlorhydrique 1 N, deux fois 250 ml d'une solution saturée d'hydrogencarbonate de sodium, et enfin 250 ml d'une solution saturée de chlorure de sodium. Par séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on obtient une huile qui est dissoute dans 50 ml d'acétate d'éthyle. Afin d'éliminer les composés les plus polaires, cette solution est rapidement filtrée sur silice et lavée avec le minimum d'acétate d'éthyle. Puis on concentre de manière à obtenir 3 ml de solution environ. La cétone **L-56a** et la cétone **L-56a'** sont ensuite isolées et séparées par chromatographie d'adsorption avec les mêmes conditions opératoires que celles utilisées lors de la cyclisation de l'acide **L-67a**. On obtient ainsi 2.15 g (5.2 mmoles) de cétone **L-56a** (Rdt = 28.1 %) et 2.0 g (5.0 mmoles) de cétone **L-56a'** (Rdt = 27.1 %). Les propriétés physiques de ces composés sont identiques à celles des produits obtenus par cyclisation des acides **L-67a1** et **L-67a2**.

**2-AZA-10-CARBA-4-CETOPODOPHYLLOTOXINE (L-56a ET DL-56a) ET
7,8-DIMETHOXY-9-HYDROXY-5-(3',4'-METHYLENEDIOXYPHENYL)-1,
2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[f]INDOLIZINE 3,10-DIONE (L-56a' ET
DL-56a')** (PREPARES EN "ONE POT" A PARTIR DU BENZHIDROL 107a)

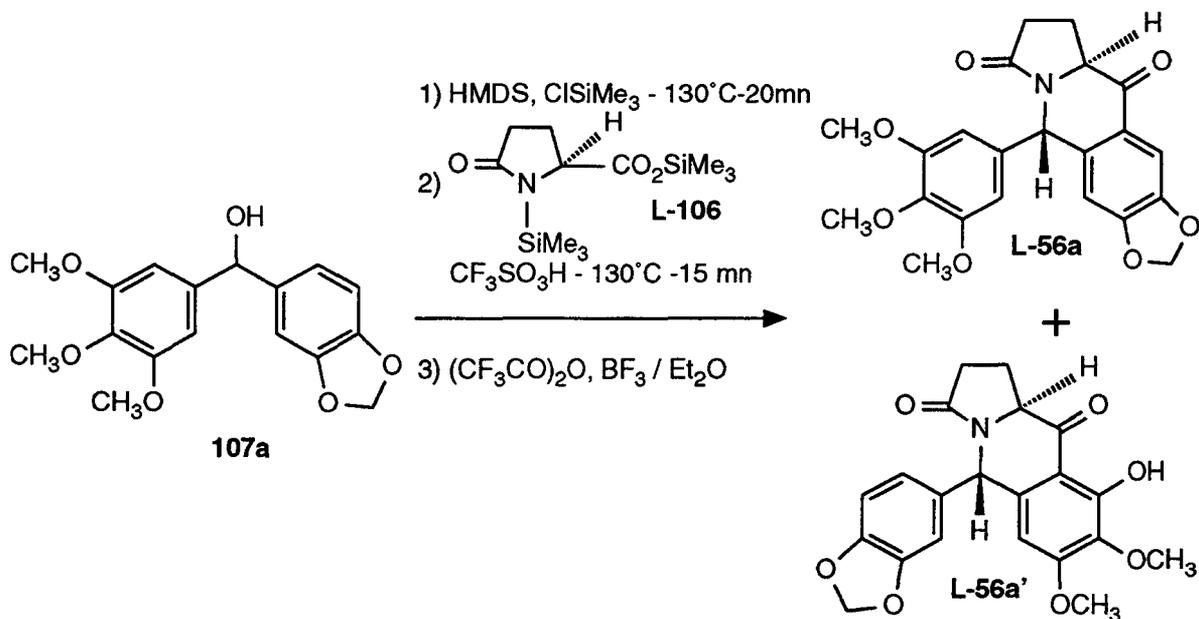


Schéma 197

Dans un bicol de 250 ml, équipé d'un réfrigérant et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 3.0 g (9.4 mmoles) de benzhydrol **107a** et 10 ml (47.4 mmoles) d'hexaméthylidisilazane. Après avoir ajouté 3 gouttes de chlorotriméthylsilane, on porte à 130°C. On observe très rapidement un dégagement d'ammoniac ainsi que la formation d'un dépôt de chlorure d'ammonium à la base du réfrigérant. Après 20 mn de chauffage, on installe un petit appareil de distillation à la place du réfrigérant. La température est maintenue à 130°C et on tire sous vide l'excès d'hexaméthylidisilazane (le chlorure d'ammonium formé sublime). Le milieu réactionnel est ramené à pression atmosphérique et est remis sous courant d'azote. On introduit ensuite à la seringue 2.6 g (9.5 mmoles) d'acide L-pyroglytamique N,O-disilylé (**L-106**) puis 0.05 ml d'acide triflique, et on porte à 130°C. Dès la fin de la distillation de l'hexaméthylidisiloxane (15 mn environ), on réinstalle un réfrigérant à la place de l'appareil de distillation. On ajoute 150 ml de 1,2-dichloroéthane, 9.3 ml (75.6 mmoles) du complexe trifluorure de bore / éther et 10.6 ml (75.0 mmoles) d'anhydride trifluoroacétique. Après 4 heures de chauffage à 80°C, le milieu réactionnel est hydrolysé à l'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Par séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on obtient une huile qui est dissoute dans 50 ml d'acétate d'éthyle. Afin d'éliminer les composés les plus polaires, cette solution est rapidement filtrée sur silice et lavée avec le minimum d'acétate d'éthyle. Puis on concentre de manière à

obtenir 3 ml de solution environ. La cétone **L-56a** et la cétone **L-56a'** sont ensuite isolées et séparées par chromatographie d'adsorption avec les mêmes conditions opératoires que celles utilisées lors de la cyclisation de l'acide **L-67a**. On obtient ainsi 1.15 g (2.8 mmoles) de cétone **L-56a** (Rdt = 29.7 %) et 1.15 g (2.9 mmoles) de cétone **L-56a'** (Rdt = 30.7 %). Les propriétés physiques de ces composés sont identiques à celles des produits obtenus par cyclisation des acides **L-67a1** et **L-67a2**.

5-(4'-METHOXYPHENYL)-7,8-METHYLENEDIOXY-1,2,3,5,10,10a-HEXA-HYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3,10-DIONE (DL-56m) ET
8-METHOXY-5-(3',4'-METHYLENEDIOXYPHENYL)-1,2,3,5,10,10a-HEXA-HYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3,10-DIONE (DL-56m')

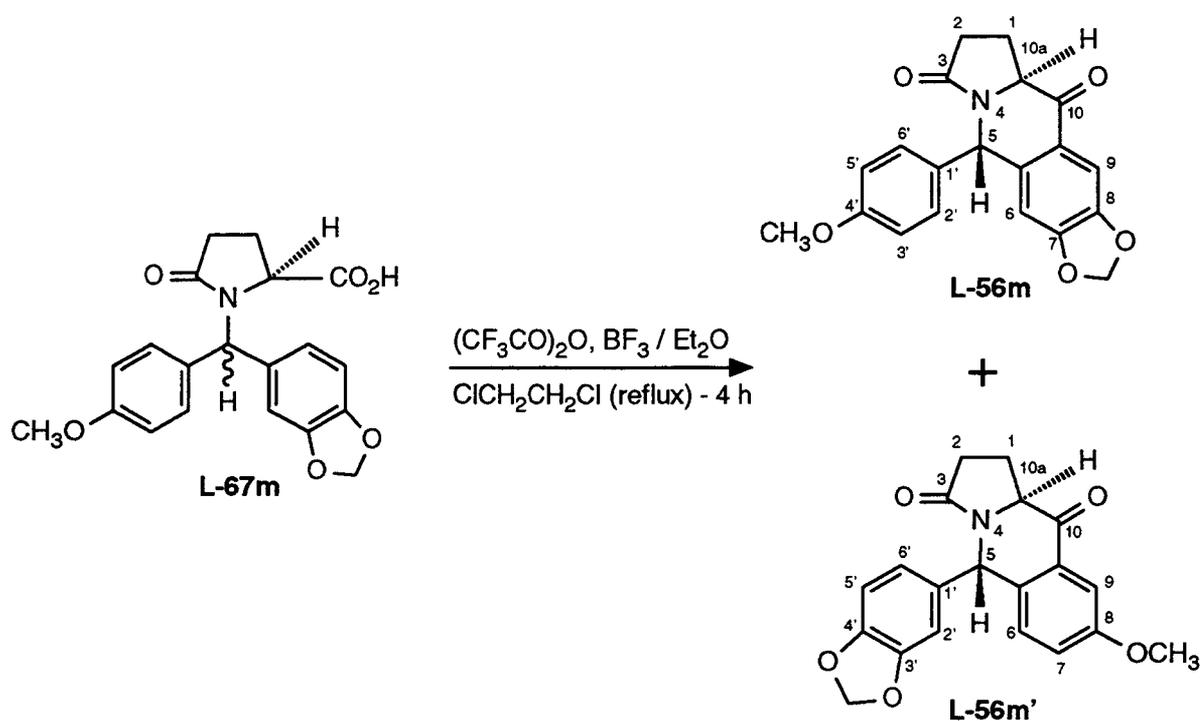


Schéma 198

23.0 ml (187.0 mmoles) du complexe trifluorure de bore / éther et 26.0 ml (184.1 mmoles) d'anhydride trifluoroacétique sont ajoutés à 11.1 g (30.1 mmoles) d'acide **DL-67m**, dissous dans 300 ml de 1,2-dichloroéthane, et sont portés à 80°C sous azote. Après 4 heures de chauffage, le milieu réactionnel est hydrolysé à l'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. On sèche ensuite sur sulfate de sodium et on évapore les solvants. Les divers composants de l'huile obtenue sont séparés par flash chromatographie (phase stationnaire : silice, éluant : acétate d'éthyle / heptane (40 : 60)). On isole ainsi la cétone

DL-56m' puis la cétone **DL-56m**. Après concentration et recristallisation de ces deux fractions dans le toluène, on obtient 0.5 g (1.4 mmole) de cétone **DL-56m'** et 4.0 g (11.4 mmoles) de cétone **DL-56m** (Rdt = 37.9 %).

Cétone DL-56m :

F = 175°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1700, 1685 (C=O), 1605, 1500, 1490 (C=C), 1250 (C-O)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.24-2.46 (m, 4H), 3.85 (s, 3H), 4.18-4.20 (m, 1H, H-10a), 6.05 (d, J = 1.16 Hz, 1H, OCH₂O), 6.07 (d, J = 1.16 Hz, 1H, OCH₂O), 6.37 (s, 1H, H-5), 6.65 (s, 1H, H-8), 6.80 (d, J = 8.60 Hz, 2H), 7.18 (d, J = 8.60 Hz, 2H), 7.53 (s, 1H, H-5)

Anal. : Calculé : C, 68.37; H, 4.88; N, 3.99; O, 22.77 ($\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_5$: 351.36)

Cétone DL-56m' :

F = 177°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1690 (C=O, large), 1610, 1500, 1490 (C=C), 1250 (C-O, large)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.25-2.45 (m, 4H), 3.85 (s, 3H), 4.17-4.21 (m, 1H, H-10a), 5.89 (s, 2H, OCH₂O), 6.42 (s, 1H, H-5), 6.51-6.53 (m, 1H, H-6'), 6.64-6.67 (m, 2H, H-2', H-5'), 7.14 (s, 2H, H-6, H-7), 7.55 (s, 1H, H-9)

Anal. : Calculé : C, 68.37; H, 4.88; N, 3.99; O, 22.77 ($\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_5$: 351.36)

7,8-METHYLENEDIOXY-5-(3',4'-METHYLENEDIOXYPHENYL)-1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[f]INDOLIZINE 3,10-DIONE (L-56n et DL-56n)

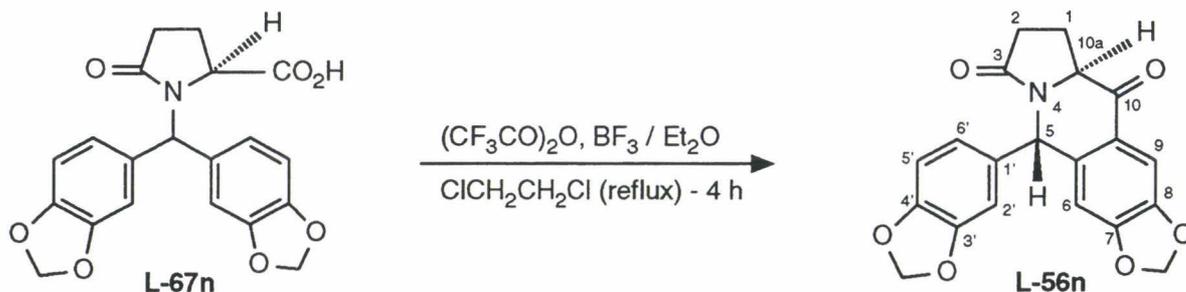


Schéma 199

34 ml (276.4 mmoles) du complexe trifluorure de bore / éther et 40 ml (283.2 mmoles) d'anhydride trifluoroacétique sont ajoutés à 15.0 g (39.1 mmoles) d'acide **L-67n**, dissous dans 500 ml de 1,2-dichloroéthane et sont portés à 80°C sous azote. Après 4 heures de chauffage, le milieu réactionnel est hydrolysé à l'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation des solvants, on obtient une huile qui est dissoute à chaud dans un faible volume de toluène. En refroidissant, la cétone **L-56n** cristallise sous la forme d'une poudre très colorée. Ces cristaux sont filtrés et séchés. On obtient ainsi 10.9 g (29.8 mmoles) de cétone **L-56n** (Rdt = 76.2 %) (la cétone **L-56n** est recristallisée dans le toluène).

F = 182-184°C, $[\alpha]_D^{20} = 35.15$ (c = 0.01 ; CH₂Cl₂)

ir (KBr) cm⁻¹ : 1680 (large, C=O), 1615, 1500, 1480, 1450 (C=C), 1250 (C-O)

rmn¹H (CDCl₃) : 2.24-2.44 (m, 4H), 4.13-4.18 (m, 1H, H-10a), 5.92 (s, 2H, 3'-OCH₂O-4'), 6.05 (s, 2H, 7-OCH₂O-8), 6.36 (s, 1H, H-5), 6.56-6.70 (m, 4H), 7.51 (s, 1H, H-9)

Anal. : Calculé : C, 65.75; H, 4.14; N, 3.83; O, 26.28 (C₂₀H₁₅NO₆ : 365.35)

Trouvé : C, 65.83; H, 4.48; N, 3.59; O, 26.60

La même réaction menée avec l'acide **DL-67n** au lieu de l'acide **L-67n** permet de préparer les cétones **DL-56n** et **DL-56n'**.

F = 183-185°C

ir (KBr) cm⁻¹ : 1680 (large, C=O), 1615, 1500, 1480, 1450 (C=C), 1250 (C-O)

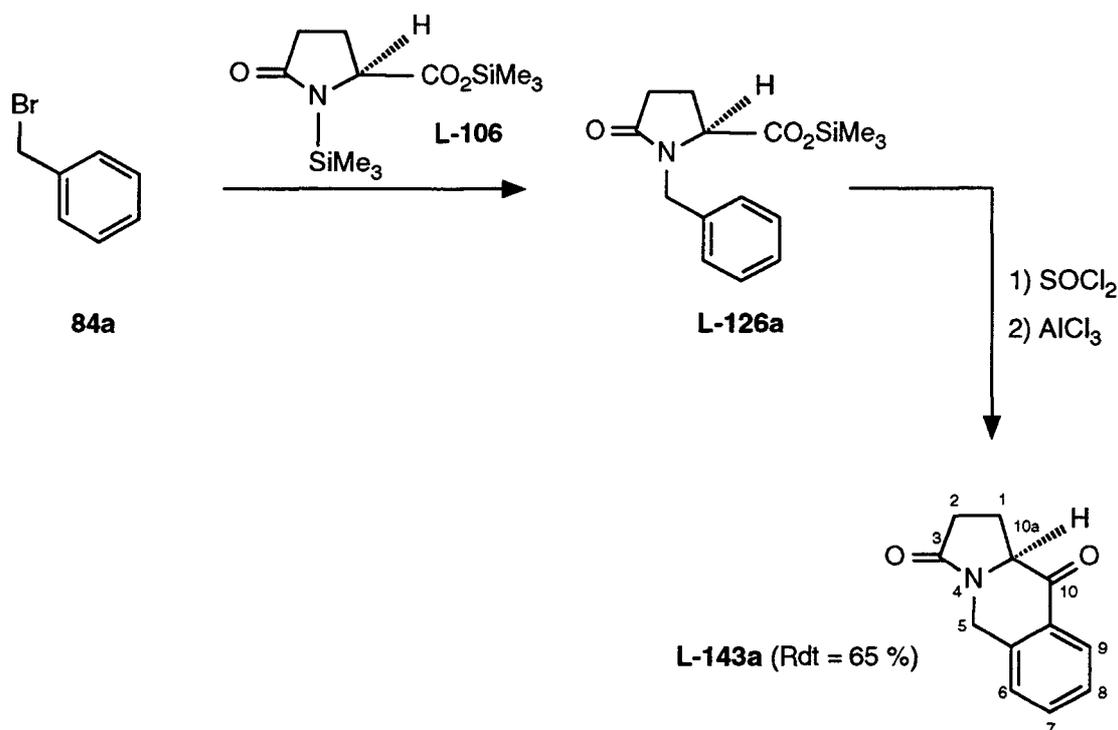
1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[*f*]INDOLIZINE-3,10-DIONE (L-143a)

Schéma 200

Dans un bicol de 100 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 8.0 g (29.2 mmoles) d'acide L-pyrroglutamique N,O-disilylé (L-106) et 5.0 g (29.2 mmoles) de bromure de benzyle (84a). Après 18 heures de chauffage à 150°C, on remplace l'appareil de distillation par un réfrigérant. 50 ml de chlorure de méthylène et 3.9 g (2.4 ml ; 32.78 mmoles) de chlorure de thionyle sont ajoutés sous azote. On porte à reflux pendant 6 heures sous azote. La solution est ensuite concentrée afin d'éliminer l'excès de chlorure de thionyle. Le chlorure d'acide préparé est dilué dans 50 ml de chlorure de méthylène et 12.0 g (90.0 mmoles) de chlorure d'aluminium sont ajoutés lentement sous un courant d'azote. Après une nuit à température ambiante, on hydrolyse en additionnant très lentement la solution dans de l'eau glacée. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Puis on sèche sur sulfate de sodium et on évapore les solvants. Par distillation (Eb = 180°C (0.05 mmHg)), on obtient 3.85 g (19.1 mmoles ; Rdt = 65.4 %) de cétone L-143a qui sont cristallisés dans l'acétate d'éthyle.

ir (KBr) cm^{-1} : 1690 (C=O), 1600 (C=C)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.44-2.48 (m, 4H), 4.32 (m, 1H, H-10a), 4.33 (d, J = 16.8 Hz, 1H, H-5), 5.21 (d, J = 16.8 Hz, 1H, H-5), 7.17-7.8 (m, 3H), 7.95-8.12 (m, 1H, H-9)

Anal. : Calculé : C, 71.63; H, 5.51; N, 6.96; O, 15.90 ($\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{NO}_2$: 201.23)

Trouvé : C, 71.62; H, 5.55; N, 7.08; O, 15.78

**8-METHYL-1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3,10-DIONE
(L-143g)**

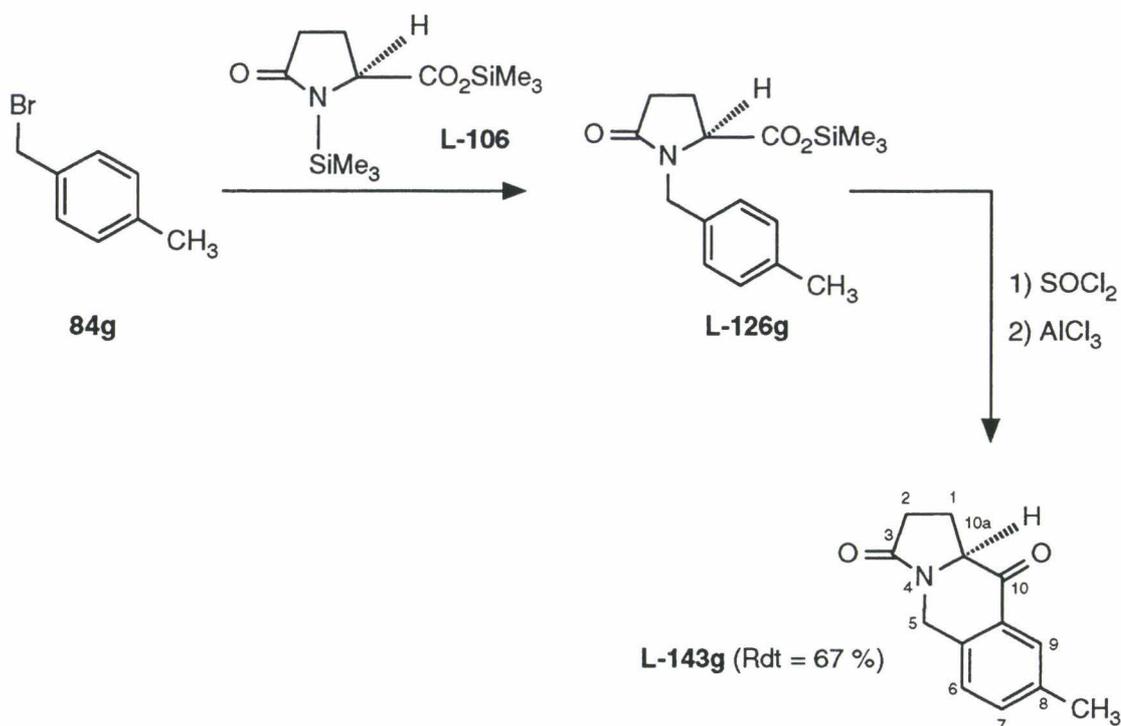


Schéma 201

Par la même procédure que celle utilisée pour synthétiser en "one pot" la cétone **L-143a** à partir du bromure de benzyle (**84a**), on obtient 4.2 g (19.5 mmoles ; Rdt = 66.9 %) de cétone **L-143g** (Eb = 205°C (0.05 mmHg)) en partant de 5.4 g (29.2 mmoles) de α -bromoxylène (**84g**) et de 8.0 g (29.2 mmoles) d'acide L-pyroglutamique N,O-disilylé (**L-106**).

ir (KBr) cm⁻¹ : 1690 (C=O), 1600 (C=C)

rmn¹H (CDCl₃) : 2.48-2.56 (m, 4H), 4.40 (m, 1H, H-10a), 4.49 (d, J = 18.0 Hz, H-5), 5.43 (d, J = 18.0 Hz, H-5), 7.53 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H, H-9)

Anal. : Calculé : C, 72.53; H, 6.09; N, 6.51; O, 14.87 (C₁₃H₁₃NO₂ : 215.25)

Trouvé : C, 72.61; H, 5.97; N, 6.72; O, 14.58

**5-PHENYL-1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3,10-DIONE
(L-56b) (PREPARE EN "ONE POT" A PARTIR DU CHLORURE DE BEN-
ZHYDRYLE (70b))**

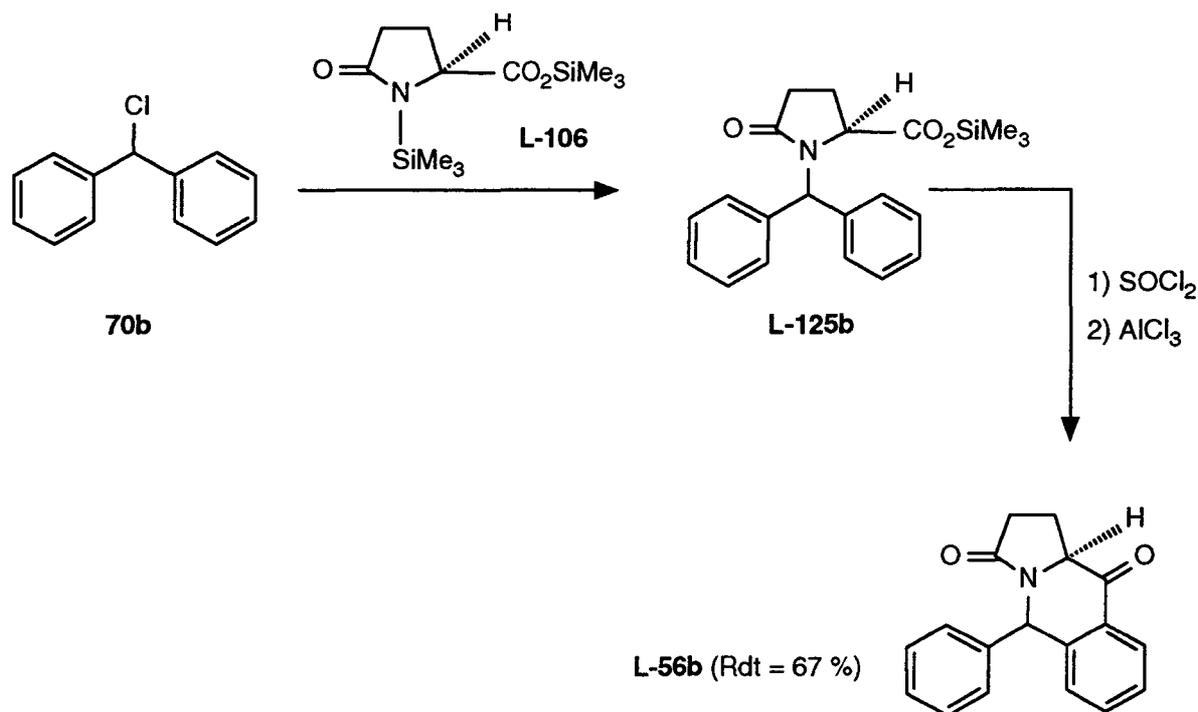


Schéma 202

Dans un bicol de 100 ml, équipé d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 13.5 g (49.4 mmoles) d'acide L-pyroglutamique N,O-disilylé (L-106) et 10.0 g (49.3 mmoles) de chlorure de benzhydryle (70b). 0.05 ml d'acide triflique est ensuite additionné à la seringue. Après une heure de chauffage à 130°C, on remplace l'appareil de distillation par un réfrigérant. 50 ml de chlorure de méthylène et 7.0 g (5.1 ml ; 59.1 mmoles) de chlorure de thionyle sont ajoutés sous azote. On porte à reflux pendant 7 heures sous azote. La solution est ensuite concentrée afin d'éliminer l'excès de chlorure de thionyle utilisé. Le chlorure d'acide préparé est dilué dans 50 ml de chlorure de méthylène et 20.0 g (150.0 mmoles) de chlorure d'aluminium sont ajoutés lentement sous un courant d'azote. Après une nuit à température ambiante, on hydrolyse en additionnant très lentement la solution dans de l'eau glacée. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Puis on sèche sur sulfate de sodium et on porte à reflux du chlorure de méthylène, en présence de charbon actif, pendant 4 heures. Après filtration du charbon actif et évaporation du chlorure de méthylène, on obtient 10.2 g de cétone L-56b brute (Rdt = 74.5 %). La cétone L-56b est purifiée par flash chromatographie sur colonne de silice avec l'éther diéthylique comme éluant. Après séparation, on évapore à sec l'éther diéthylique et

on reprend dans 250 ml d'éther diisopropylique bouillant. Lorsqu'on porte cette solution à -40°C environ, la cétone **L-56b** cristallise sous forme de beaux cristaux blancs. Ceux-ci sont enfin filtrés, lavés à l'heptane et tirés sous vide. Ces manipulations ainsi que la conservation de la cétone **L-56b** doivent être réalisées à basse température, sinon les cristaux se transforment rapidement en huile. On obtient 9.2 g (33.2 mmoles) de cétone **L-56b** (Rdt = 67.2 % ; ses propriétés physiques sont identiques à celles du produit obtenu par cyclisation de l'acide **L-67b**).

9,10-DIHYDROXY-7,8-DIMETHOXY-5-(3',4'-METHYLENEDIOXY-PHENYL)-1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3-ONE (DL-4a')

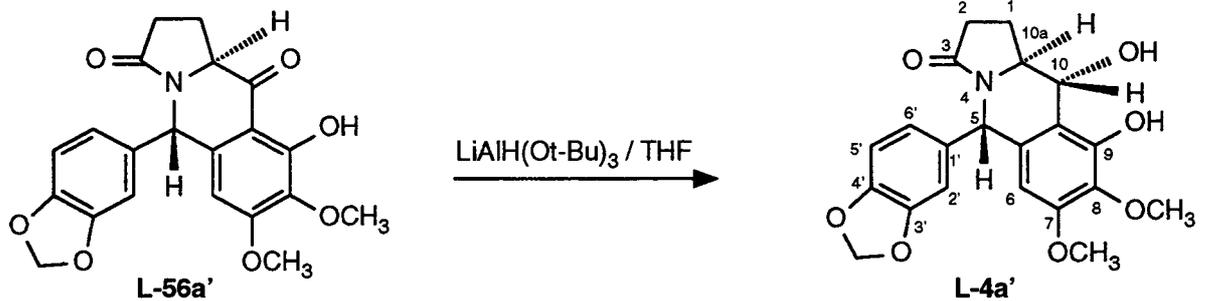


Schéma 204

Par la même procédure que celle utilisée pour réduire la cétone **L-56a** en alcool **L-4a**, on obtient 3.07 g (7.69 mmoles) d'alcool **DL-4a'** (Rdt = 93.4 %) en partant de 3.27 g (8.22 mmoles) de cétone **DL-56a'**.

F = 225°C

ir (KBr) cm^{-1} : 3340 (O-H), 1650 (C=O), 1610, 1595, 1500, 1490, 1450 (C=C), 1235 (C-O)
 nmn^1H (CDCl_3 + DMSO) : 1.95-2.35 (m, 4H), 3.56 (m, 1H, H-10a), 3.65 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 4.68 (d, J = 9.2 Hz, 1H, H-10), 5.94 (s, 1H, H-5), 5.99 (s, 2H, OCH_2O), 6.16 (s, 1H, H-6), 6.63-6.82 (m, 3H, H-2', H-5', H-6')

Anal. : Calculé : C, 63.15; H, 5.30; N, 3.51; O, 28.04 ($\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{NO}_7$: 399.40)

Trouvé : C, 62.99; H, 5.36; N, 3.69; O, 28.34

10-HYDROXY-5-(4'-METHOXYPHENYL)-7,8-METHYLENEDIOXY-1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3-ONE (L-4m et DL-4m)

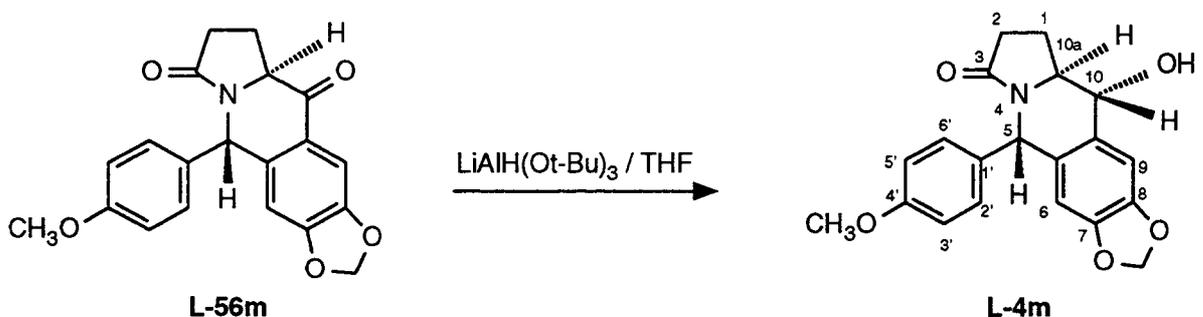


Schéma 205

Par la même procédure que celle utilisée pour réduire la cétone **L-56a** en alcool **L-4a**, on obtient 8.30 g (23.49 mmoles) d'alcool **L-4m** (Rdt = 90.2 %) en partant de 9.15 g (26.04 mmoles) de cétone **L-56m**.

F = 231-232°C, $[\alpha]_D^{20} = 23.62$ (c = 0.01 ; CH₂Cl₂ : DMSO (2 : 1))

ir (KBr) cm⁻¹ : 3220 (O-H), 1650 (C=O), 1610, 1590, 1505, 1485, 1445 (C=C), 1240 (C-O)
 rmn¹H (CDCl₃ + DMSO) : 2.14-2.41 (m, 4H), 3.61-3.65 (m, 1H, H-10a), 3.76 (s, 3H), 4.30 (dd, J = 7.24 Hz, J = 8.55 Hz, 1H, H-10), 5.87 (d, J = 7.24 Hz, -OH), 5.92 (d, J = 1.22 Hz, 1H, OCH₂O), 5.93 (d, J = 1.22 Hz, 1H, OCH₂O), 5.99 (s, 1H, H-5), 6.32 (s, 1H, H-6), 6.80 (d, J = 8.59 Hz, 2H), 7.16 (s, 1H, H-9), 7.18 (d, J = 8.59 Hz, 2H)

Anal. : Calculé : C, 67.98; H, 5.42; N, 3.96; O, 22.64 (C₂₀H₁₉NO₅ : 353.38)

Trouvé : C, 67.96; H, 5.72; N, 3.80; O, 22.84

La même réaction menée avec la cétone **DL-8b** au lieu de la cétone **L-8b** permet de préparer l'alcool **DL-4b**.

F = 248°C

ir (KBr) cm⁻¹ : 3220 (O-H), 1650 (C=O), 1610, 1590, 1505, 1485, 1445 (C=C), 1240 (C-O)

Anal. : Trouvé : C, 67.86; H, 5.48; N, 3.83; O, 22.69

10-HYDROXY-8-METHOXY-5-(3',4'-METHYLENEDIOXYPHENYL)-1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3-ONE (L-4m' et DL-4m')

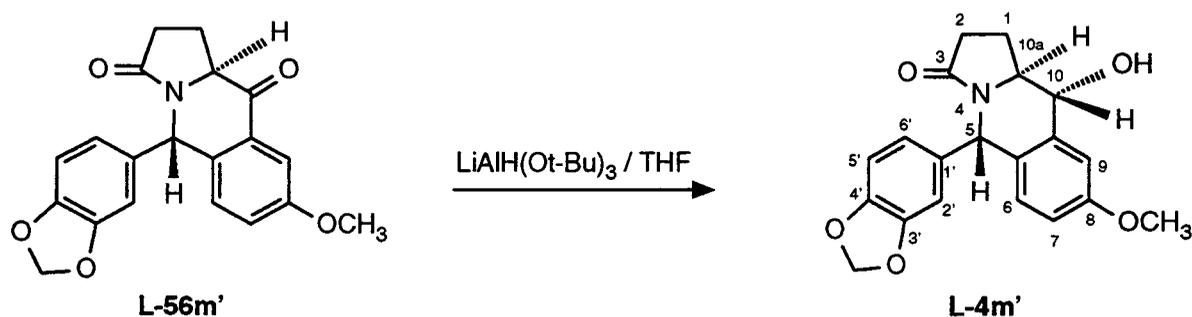


Schéma 206

Par la même procédure que celle utilisée pour réduire la cétone **L-56a** en alcool **L-4a**, on obtient 1.00 g (2.83 mmoles) d'alcool **L-4m'** (Rdt = 88.8 %) en partant de 1.12 g (3.19 mmoles) de cétone **L-56m'**.

Anal. : Calculé : C, 67.98; H, 5.42; N, 3.96; O, 22.64 (C₂₀H₁₉NO₅ : 353.38)

Trouvé : C, 68.01; H, 5.44; N, 3.87; O, 22.39

La même réaction menée avec la cétone **DL-56m'** au lieu de la cétone **L-56m'** permet de préparer l'alcool **DL-4m'**.

Anal. : Trouvé : C, 67.90; H, 5.49; N, 3.86; O, 22.54

**10-HYDROXY-7,8-METHYLENEDIOXY-5-(3',4'-METHYLENEDIOXY-PHENYL)-1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3-ONE
(DL-4n)**

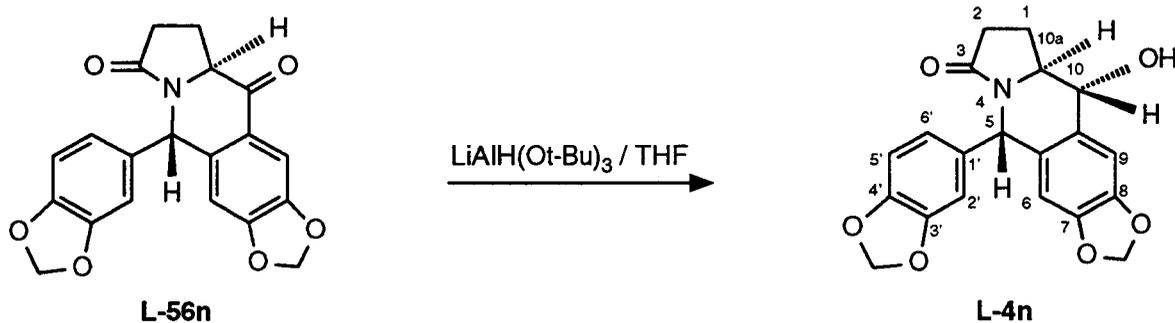


Schéma 207

Par la même procédure que celle utilisée pour réduire la cétone **L-56a** en alcool **L-4a**, on obtient 2.60 g (7.08 mmoles) d'alcool **DL-4n** (Rdt = 91.4 %) en partant de 2.83 g (7.75 mmoles) de cétone **DL-56n**.

F = 246°C

ir (KBr) cm^{-1} : 3220 (O-H, large), 1650, 1645 (C=O), 1620, 1505, 1485, 1445 (C=O), 1240 (C-O)

rnm^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$) : 1.98-2.43 (m, 4H), 3.45-3.61 (m, 1H, H-10a), 4.22 (dd, J = 7.64 Hz, J = 9.23 Hz, 1H, H-4), 5.91 (s, 4H, OCH_2O), 6.45 (s, 1H, H-6), 6.63-6.90 (m, 3H, H-2', H-5', H-6'), 7.09 (s, 1H, H-9)

Anal. : Calculé : C, 65.39; H, 4.66; N, 3.81; O, 26.13 ($\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_6$: 367.36)

Trouvé : C, 65.30; H, 4.51; N, 3.98; O, 26.04

REARRANGEMENT DE LA CETONE DL-143a PAR L'ACIDE CHLORHYDRIQUE CONCENTRE

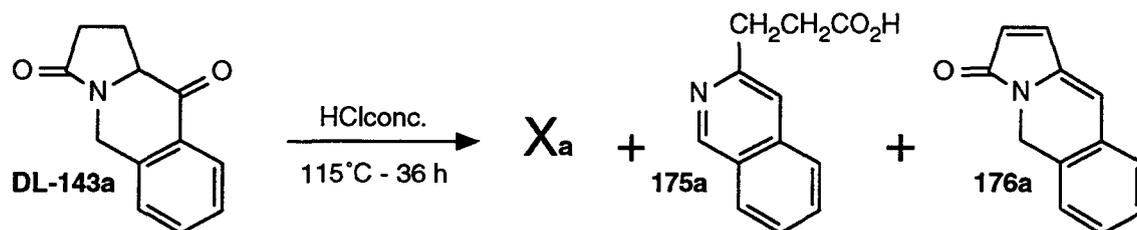


Schéma 208

12.4 g (61.7 mmoles) de cétone **DL-143a** sont chauffés avec 130 ml d'acide chlorhydrique concentré à 115°C pendant 36 heures. Après avoir refroidi le milieu réactionnel à température ambiante, le précipité **Xa** est filtré et lavé à l'eau. On obtient ainsi 5.3 g (rendement en masse = 42.7 %) de composé **Xa** (le composé **Xa** est recristallisé dans le N,N-diméthylformamide). Le filtrat est extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Puis on sèche sur sulfate de sodium et on évapore le chlorure de méthylène. On obtient ainsi quelques milligrammes d'un mélange de cétone **DL-143a** et de composé diéthylénique **176a**. Par ailleurs, les phases aqueuses obtenues lors des lavages sont rassemblées et concentrées à sec. On obtient ainsi 3.7 g (20.6 mmoles) d'un produit orangé hygroscopique correspondant à un chlorhydrate de l'acide **175a** (Rdt = 33.4 %). Ce composé **175a** peut être purifié soit par réaction avec le 1,2-époxypropane, soit par distillation de son acide silylé.

Composé **Xa** :

F = 195°C

ir (KBr) cm^{-1} : 3420 (N-H), 1710 (C=O), 1660, 1640, 1600, 1570, 1495 (C=C)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.1 (s, 1H), 2.55 (s, 4H), 4.95 (s, 2H), 6.8-7.1 (m, 4H)

ACIDE 3-(3-ISOQUINOLYL)PROPIONIQUE (175a) (PURIFIE PAR L'INTERMEDIAIRE DE SON ACIDE SILYLE)

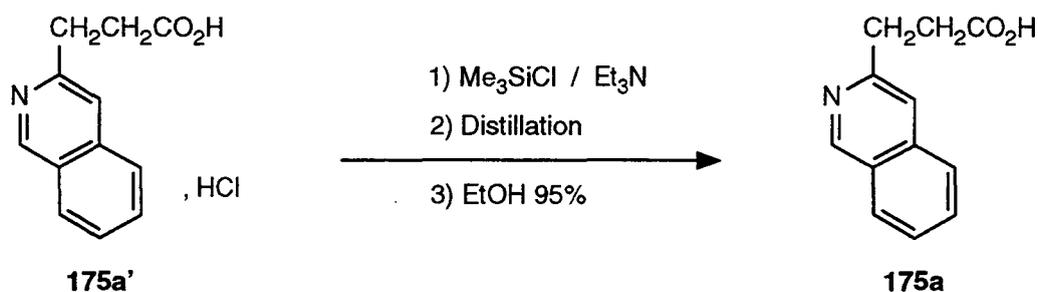


Schéma 209

6.3 g (35.1 mmoles) du chlorhydrate de l'acide **175a** (**175a'**), 180 ml de

triéthylamine et 19.2 ml (151.3 mmoles) de chlorotriméthylsilane sont chauffés à reflux pendant 12 heures. Après filtration du chlorure d'ammonium formé, on concentre et on distille l'acide silylé (liquide orangé, Eb = 148°C (0,2 mmHg)). L'ajout de 4 ml d'éthanol à 95 % au distillat fait précipiter l'acide **175a** sous la forme d'une poudre blanche. Cet acide est filtré, lavé par du chlorure de méthylène et séché. On obtient ainsi 2.2 g (15.4 mmoles) d'acide **175a** (Rdt = 43.8 %).

F = 210°C

ir (KBr) cm^{-1} : 3410 (O-H), 1395 (C-O), 1575 (C=N)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.5-3.2 (m, 4H), 7.4 (s, 1H), 7.65 (m, 4H), 8.8 (s, 1H)

Anal. : Calculé : C, 71.63; H, 5.51; N, 6.96; O, 15.90 ($\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{NO}_2$: 201.23)

Trouvé : C, 71.74; H, 5.30; N, 7.38

ACIDE 3-(3-ISOQUINOLYL)PROPIONIQUE (175a) (PURIFIÉ GRACE AU 1,2-EPOXYPROPANE)

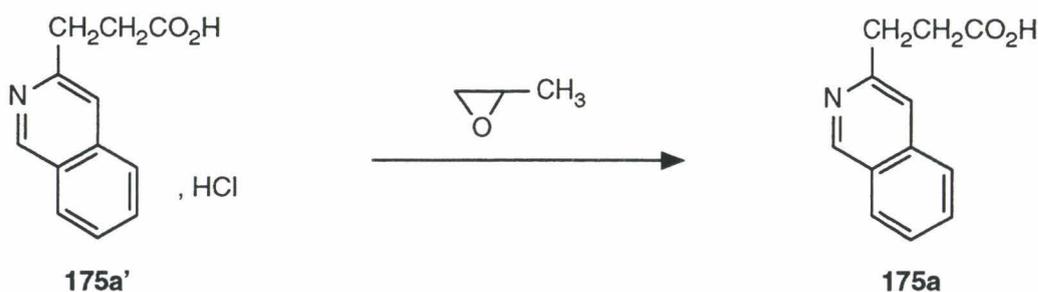


Schéma 210

3.0 g (16.7 mmoles) du chlorhydrate de l'acide **107a** sont dissous à température ambiante dans 25 ml d'éthanol absolu. Puis on ajoute 4.2 ml (60.0 mmoles) d'époxy-1,2 propane. L'acide **175a** précipite peu à peu. Après avoir laissé à température ambiante pendant une nuit, l'acide **175a** est filtré, lavé par du chlorure de méthylène et séché. On obtient ainsi 1.3 g (9.1 mmoles) d'acide **175a** (Rdt = 54.4 % ; ses propriétés physiques sont identiques à celles du produit précédemment décrit).

REARRANGEMENT DE LA CETONE DL-143h PAR L'ACIDE CHLORHYDRIQUE CONCENTRE

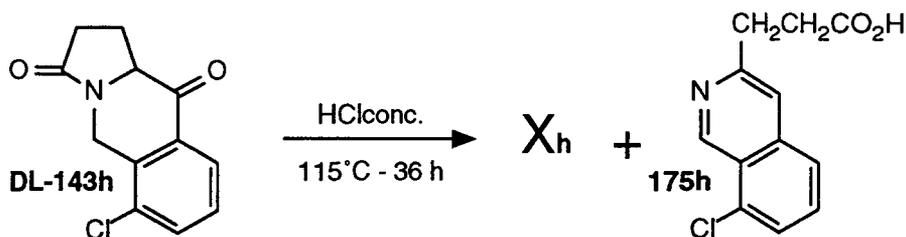


Schéma 211

Dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées lors du traitement de la cétone **DL-143a** par l'acide chlorhydrique, on obtient 0.5 g de précipité **Xh** et 0.4 g (1.5 mmoles) d'un chlorhydrate de l'acide **175h** (Rdt = 35 %) en partant de 1.0 g (4.2 mmoles) de cétone **DL-143h** et de 10.0 ml d'acide chlorhydrique.

Composé **Xh** :

F = > 240°C

ir (KBr) cm^{-1} : 3420 (N-H), 1715 (C=O), 1645, 1585, 1555, 1470 (C=C)

rnm^1H (CDCl_3) : 2.1 (s, 1H), 2.55 (s, 4H), 4.95 (s, 2H), 6.7-7.1 (m, 3H)

Acide **175h** :

F = > 240°C

Anal. : Calculé : C, 61.16; H, 4.28; Cl, 15.04; N, 5.94; O, 13.58 ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{ClNO}_2$: 235.67)

REARRANGEMENT DE LA CETONE DL-143j PAR L'ACIDE CHLORHYDRIQUE CONCENTRE

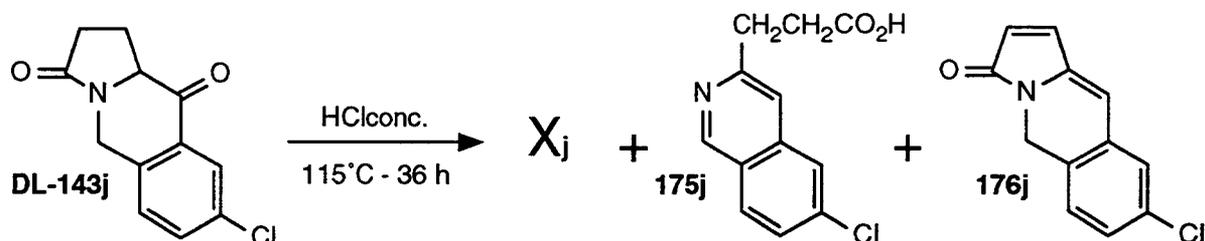


Schéma 212

Dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées lors du traitement de la cétone **DL-143a** par l'acide chlorhydrique, on obtient 0.4 g de précipité **Xj**, 0.3 g (1.1 mmoles) d'un chlorhydrate de l'acide **175j** (Rdt = 26 %) et 0.1 g (0.5 mmoles) de diéthylénique **176j** (Rdt = 10.8 %) en partant de 1.0 g (4.2 mmoles) de cétone **DL-143j** et de 10.0 ml d'acide chlorhydrique.

Composé **Xj** :

F = > 240°C

ir (KBr) cm^{-1} : 3420 (N-H), 1715 (C=O), 1655, 1640, 1595, 1490, 1465 (C=C) rmn^1H (CDCl_3) : 1.65 (s, 1H), 2.55 (s, 4H), 4.90 (s, 2H), 6.9-7.1 (m, 3H)Acide **107j** :

F = > 240°C

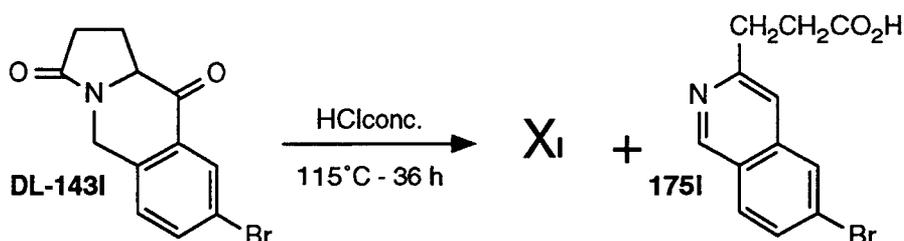
 rmn^1H (CDCl_3) : 2.3-3.3 (m, 4H), 7.15-7.7 (m, 4H), 8.1 (s, 1H)Anal. : Calculé : C, 61.16; H, 4.28; Cl, 15.04; N, 5.94; O, 13.58 ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{ClNO}_2$: 235.67)**REARRANGEMENT DE LA CÉTONE DL-143I PAR L'ACIDE CHLORHYDRIQUE CONCENTRÉ**

Schéma 213

Dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées lors du traitement de la cétone **DL-143a** par l'acide chlorhydrique, on obtient 0.65 g de précipité **XI** et 0.34 g (1.1 mmoles) d'un chlorhydrate de l'acide **175I** (Rdt = 30.1 %) en partant de 1.0 g (3.6 mmoles) de cétone **DL-143I** et de 10.0 ml d'acide chlorhydrique.

Composé **XI** :

F = > 240°C

ir (KBr) cm^{-1} : 3420 (N-H), 1720 (C=O), 1655, 1640, 1590, 1485 (C=C) rmn^1H (CDCl_3) : 2.0 (s, 1H), 2.55 (s, 4H), 4.85 (s, 2H), 6.8-7.2 (m, 3H)Acide **175I** :

F = > 240°C

 rmn^1H (CDCl_3) : 2.25-3.35 (m, 4H), 7.2-7.85 (m, 4H), 8.1 (s, 1H)Anal. : Calculé : C, 51.45; H, 3.60; Br, 28.53; N, 5.00; O, 11.42 ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{BrNO}_2$: 280.13)

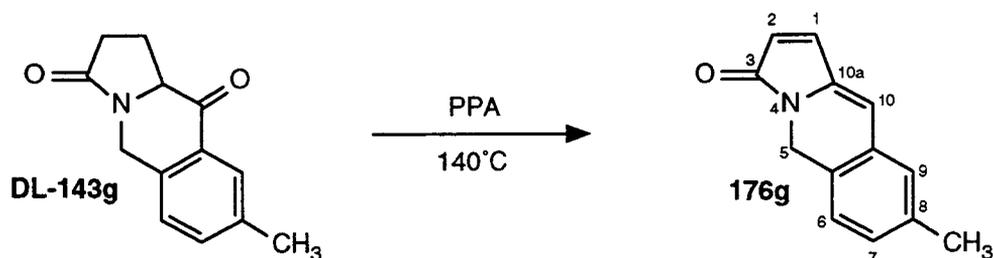
8-METHYL-3,5-DIHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3-ONE (176g)

Schéma 214

1.0 g (4.6 mmoles) de cétone **DL-143g** sont traités par 25.0 g d'acide polyphosphorique à 140°C pendant 1^h30. Après avoir refroidi la solution à température ambiante, on ajoute 100 ml d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Puis on sèche sur sulfate de sodium et on évapore le chlorure de méthylène. On obtient ainsi 0.6 g (3.0 mmoles) du composé diéthylénique **176g** (Rdt = 65.5 %) sous la forme de cristaux jaunâtres (le produit **176g** est recristallisé dans le chlorure de méthylène).

F = 182°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1670 (C=O), 1645, 1535, 1480 (C=C)

rmn^1H (CDCl_3) : 2.3 (s, 3H), 4.85 (s, 2H, H-5), 6.05 (s, 1H, H-10), 6.15 (d, J = 5.7 Hz, 1H, H-1), 6.95-7.05 (m, 3H, H-6, H-7, H-9), 7.1 (d, J = 5.7 Hz, 1H, H-2)

Anal. : Calculé : C, 79.17; H, 5.62; N, 7.10; O, 8.11 ($\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{NO}$: 197.24)

Trouvé : C, 78.92; H, 5.68; N, 6.89; O, 8.03

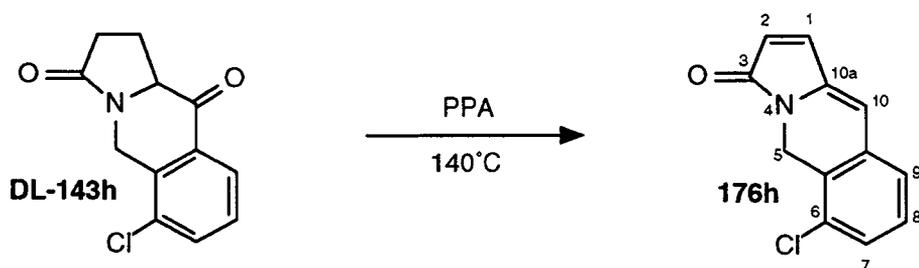
6-CHLORO-3,5-DIHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3-ONE (176h)

Schéma 215

Par la même procédure que celle utilisée pour réarranger la cétone **DL-143g** en composé diéthylénique **176g**, on obtient 0.8 g (3.7 mmoles) de composé diéthylénique **176h** (Rdt = 86.6 %) en partant de 1.0 g (4.2 mmoles) de cétone **DL-143h** et de 25 g d'acide polyphosphorique.

F = 190°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1665 (C=O), 1650, 1635, 1535, 1465, 1450 (C=C)

rmn^1H (CDCl_3) : 4.85 (s, 2H, H-5), 6.1 (s, 1H, H-10), 6.25 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, H-1), 7.1 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, H-2), 7.05-7.15 (m, 3H, H-7, H-8, H-9)

Anal. : Calculé : C, 66.22; H, 3.70; Cl, 16.29; N, 6.44; O, 7.35 ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{ClNO}$: 217.66)

Trouvé : C, 66.29; H, 3.87; Cl, 16.06; N, 6.45; O, 7.70

8-CHLORO-3,5-DIHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3-ONE (176j)

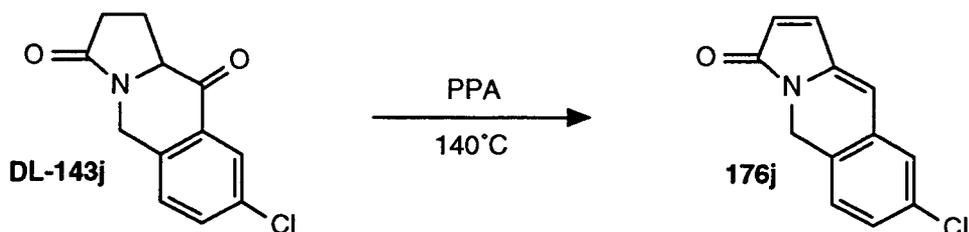


Schéma 216

Par la même procédure que celle utilisée pour réarranger la cétone **DL-143g** en composé diéthylénique **176g**, on obtient 2.6 g (11.9 mmoles) de composé diéthylénique **176j** (Rdt = 70.4 %) en partant de 4.0 g (17.0 mmoles) de cétone **DL-143j** et de 100 g d'acide polyphosphorique.

F = 208°C

ir (KBr) cm^{-1} : 1670 (C=O), 1645, 1595, 1535, 1490, 1450 (C=C)

rmn^1H (CDCl_3) : 4.8 (s, 2H, H-5), 6.05 (s, 1H, H-10), 6.25 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, H-1), 7.05 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, H-2), 7.1-7.15 (m, 3H, H-6, H-7, H-9)

Anal. : Calculé : C, 66.22; H, 3.70; Cl, 16.29; N, 6.44; O, 7.35 ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{ClNO}$: 217.66)

Trouvé : C, 65.87; H, 3.88; Cl, 16.25; N, 6.69; O, 7.10

8-BROMO-3,5-DIHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3-ONE (176l)

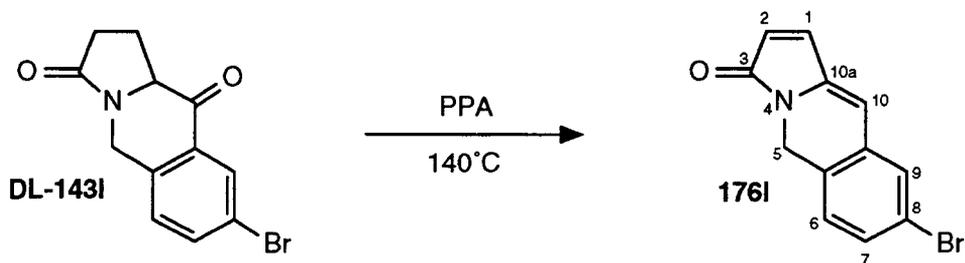


Schéma 217

Par la même procédure que celle utilisée pour réarranger la cétone **DL-143g** en

composé diéthylénique **176g**, on obtient 0.9 g (3.4 mmoles) de composé diéthylénique **176l** (Rdt = 96.2 %) en partant de 1.0 g (3.6 mmoles) de cétone **DL-143l** et de 25 g d'acide polyphosphorique.

F = 205°C (décomposition)

ir (KBr) cm^{-1} : 1660 (C=O), 1645, 1635, 1455 (C=C)

rmn^1H (CDCl_3) : 4.75 (s, 2H, H-5), 5.95 (s, 1H, H-10), 6.20 (d, J = 5.7 Hz, 1H, H-1), 7.0 (d, J = 5.7 Hz, 1H, H-2), 7.1-7.3 (m, 3H, H-6, H-7, H-9)

Anal. : Calculé : C, 54.99; H, 3.08; Br, 30.49; N, 5.34; O, 6.10 ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{BrNO}$: 262.11)

Trouvé : C, 55.17; H, 3.08; Br, 30.46; N, 4.99; O, 6.16

5-PHENYL-3,5-DIHYDROBENZ[f]INDOLIZINE-3-ONE (195)

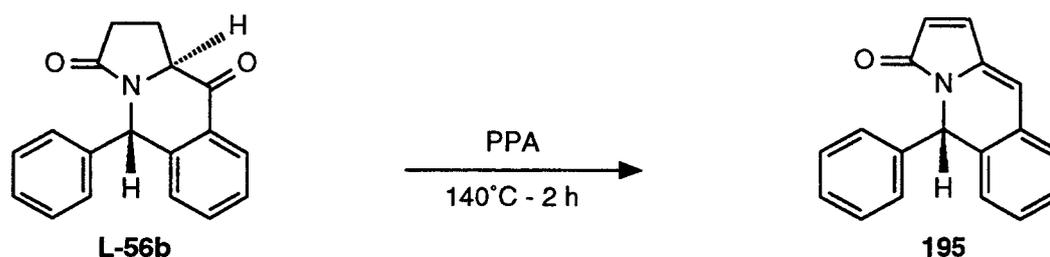


Schéma 218

2.0 g (7.2 mmoles) de cétone **L-56b** sont traités par 60.0 g d'acide polyphosphorique à 140°C pendant 2 heures. Après avoir refroidi la solution à température ambiante, on ajoute 200 ml d'eau. On extrait trois fois au chlorure de méthylène et la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide. Puis on sèche sur sulfate de sodium et on évapore le chlorure de méthylène. On obtient ainsi 1.5 g (57.8 mmoles) du composé diéthylénique **195** (Rdt = 80.2 %) sous la forme de cristaux rouges (le produit **195** est recristallisé dans l'acétate d'éthyle).

F = 100°C

rmn^1H (CDCl_3) : 6.03-6.39 (m, 3H), 6.98-7.32 (m, 10H)

Anal. : Calculé : C, 83.38; H, 5.05; N, 5.40; O, 6.17 ($\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{NO}$: 359.31)

Trouvé : C, 82.79; H, 4.96; N, 5.26; O, 6.34

3- RESULTATS BIOLOGIQUES

3- RESULTATS BIOLOGIQUES

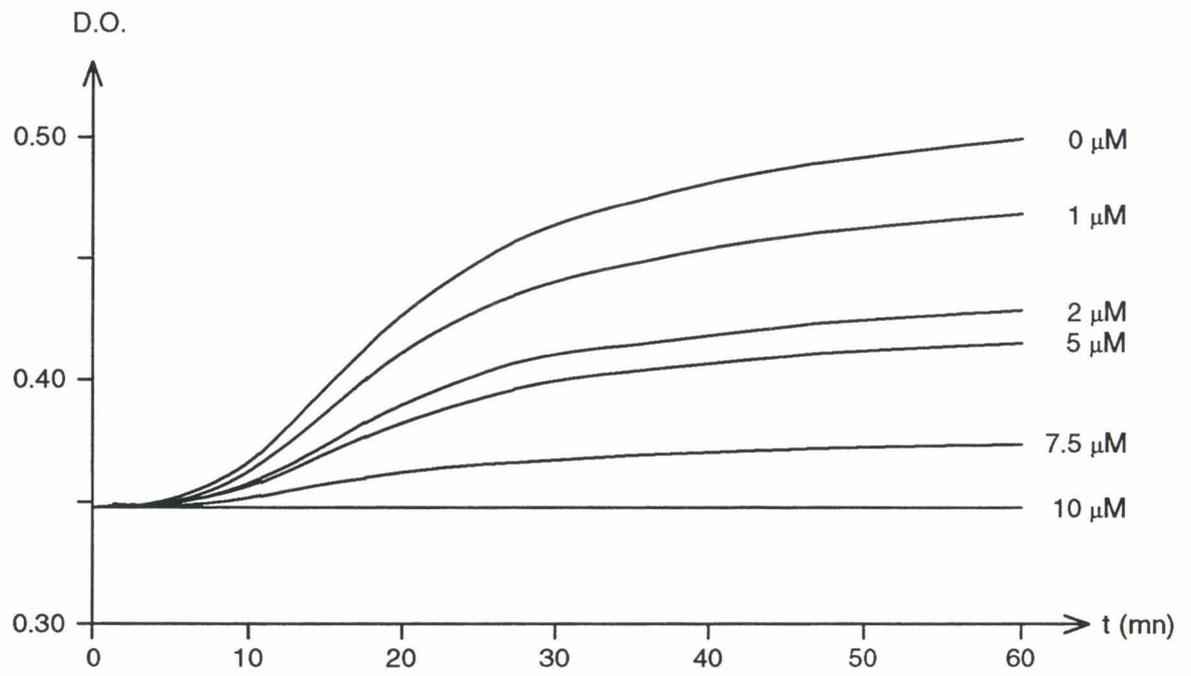
3.1- TESTS D'INHIBITION DE LA POYMERISATION DE LA TUBULINE

Afin de mieux connaître les exigences structurales du site de la colchicine, nous avons étudié l'influence sur la polymérisation de la tubuline de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**) et des dérivés **4m,n,a',m,m'**, mais aussi de leurs intermédiaires de synthèse et de quelques analogues : alcools **107a,j-n**, esters **116a-b,d,j-n**, acides **67a-b,d,j-n**.

3.1.1 -DESCRIPTION DU TEST

Les tests d'inhibition de la polymérisation de la tubuline ont été réalisées selon la procédure décrite par F. Zavala et ses collaborateurs [32]. Tous les composés étudiés ont été dissous dans le diméthylsulfoxyde à une concentration de 10^{-2} M et refroidis à 0°C. La tubuline utilisée provient de cerveau de vache et est dissoute dans une solution tampon contenant 0.1 M d'acide 2-(N-morpholino)éthane sulphonique, 0.5 mM de chlorure de magnésium, 1 mM de EGTA et 1 mmole de GTP (pH = 6.6). Cette préparation contient 15 % de MAPs (Microtubule Associated Proteins) et 85 % de tubuline. Les expériences ont été réalisées avec une concentration en protéine de 1 mg / ml environ. La polymérisation de la tubuline a été suivie et enregistrée en continu par turbidimétrie à 350 nm avec un spectromètre "Jobin-Yvon Duospac 203 UV" équipé d'une cellule thermostatée qui permet de réchauffer l'échantillon de 0°C à 37°C.

Pour chaque composé nous avons déterminé la valeur IC_{50} , c'est à dire la concentration qui permet de diminuer de 50 % la vitesse maximale de polymérisation de la tubuline (mesurée au point d'inflexion de la courbe de polymérisation (schéma 219)).

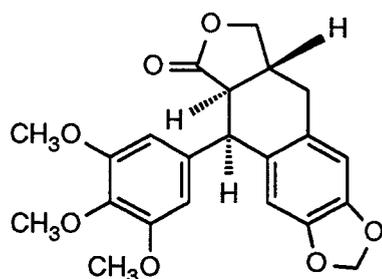


Densité optique de la solution de tubuline ($\lambda = 350$ nm) en fonction du temps en présence de concentrations variables de 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (DL-4a)

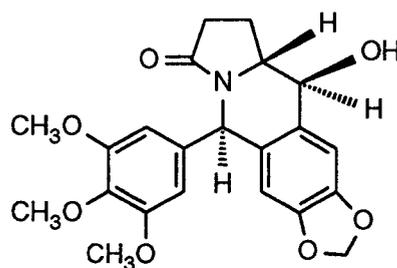
Schéma 219

3.1.2- RESULTATS

La DL-2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**DL-4a**) s'est révélée être le meilleur inhibiteur de la polymérisation de la tubuline parmi tous les composés testés ($IC_{50} = 5 \mu M$). Puisque la L-2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**L-4a**) s'avère inactive, c'est donc l'énantiomère de série D qui est probablement l'espèce active (la 4-déoxypodophyllotoxine (**198**), qui est l'un des dérivés de la podophyllotoxine (**1**) les plus actifs possède une constante d'inhibition de la polymérisation de la tubuline telle que : $IC_{50} = 0.5 \mu M$).



4-déoxypodophyllotoxine (**198**)



2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**)

Schéma 220

3.1- CYTOTOXICITE

La 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**) ainsi que les dérivés **4m,n,a',m,m'**, les alcools **107a,k-n**, les esters **116a,d,j-n** et les acides **67a,d,j-n** ont été testés au NCI (National Cancer Institute, Bethesda, USA) pour leurs propriétés cytotoxiques et anti-HIV. Tous ces composés se sont révélés inactifs, sauf l'ester **DL-116j** qui possède notamment une activité contre les cellules du cancer du poumon NCI-H522.

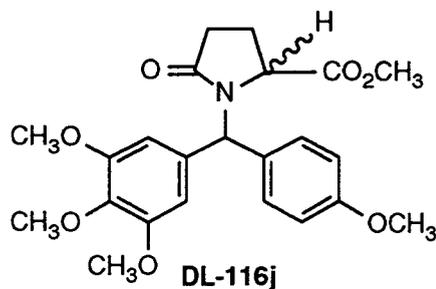
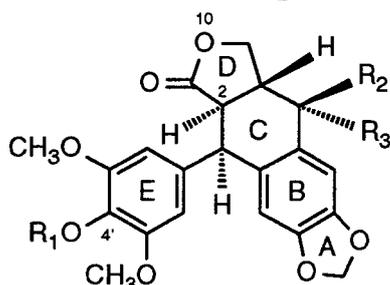


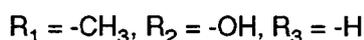
Schéma 221

CONCLUSION GENERALE

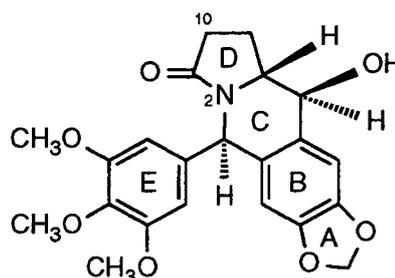
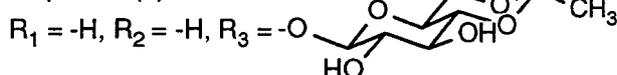
Nous avons étudié les relations structure-activité dans la famille de la podophyllotoxine (1) (inhibiteur de la polymérisation de la tubuline) et de l'étoposide (3) (inhibiteur de l'activité de la topoisomérase II). Nous avons ainsi mis en évidence l'intérêt des isostères des podophyllotoxines et des 4'-déméthylépipodophyllotoxines possédant un azote en position 2 et un groupe $-CH_2-$ en 10 : dérivés de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (4a).



podophyllotoxine (1) :



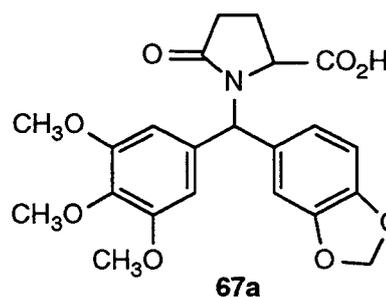
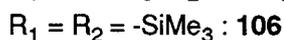
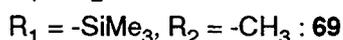
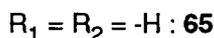
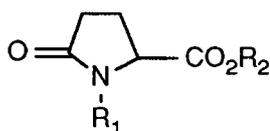
étoposide (3) :



2-aza-10-carbapodophyllotoxine (4a)

Schéma 222

D'un point de vue chimique, nous avons mis au point une méthode de synthèse facile et rapide de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (4a) à partir de l'acide pyroglutamique (65). Lors de la préparation de ce composé, nous avons notamment étudié la N-alkylation, en présence de catalyseurs, du pyroglutamate de méthyle N-silylé (69) et de l'acide pyroglutamique N,O-disilylé (106) par des halogénures et par des benzhydrols silylés. Nous nous sommes aussi particulièrement intéressés à la cyclisation de Friedel-Crafts de l'acide 67a. La méthode qui permet d'obtenir la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (4a) est généralisable à toute cette famille hétérocyclique et nous a permis de synthétiser des dérivés qui diffèrent par leurs substituants aromatiques.



67a

Schéma 223

Nous avons testé l'activité d'inhibition de la polymérisation de la tubuline de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**) et de ses dérivés, ainsi que de leurs précurseurs chimiques. Seule la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**) s'est avérée active. La bonne activité de cette dernière indique que l'oxygène situé en position 10 de la podophyllotoxine (**1**) ne joue pas un rôle primordial dans son interaction avec la tubuline.

Par la même stratégie de synthèse de la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**) et de ses dérivés, il est probablement possible d'accéder à d'autres analogues de la podophyllotoxine (**1**) qui possèdent des cycles A, B et E différents. Ces composés et la 2-aza-10-carbapodophyllotoxine (**4a**) présentent un intérêt en tant qu'inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline, mais ils peuvent servir de matières premières à la synthèse de nouveaux inhibiteurs de l'activité de la topoisomérase II.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Issel B.F. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1982, **7**, 73.
- [2] Eagan R.T., Carr D.T., Frytak S., Rubin J. and Lee R.E. *Cancer Treat. Rep.* 1979, **60**, 949.
- [3] Stahelin H. *Eur. J. Cancer* 1970, **6**, 303.
- [4] Stahelin H. *Planta Med.* 1972, **22**, 336.
- [5] Stahelin H. *Eur. J. Cancer* 1973, **9**, 215.
- [6] Dombernowsky P., Nissen N.I. and Larsen V. *Cancer Chemother. Rep.* 1972, **56**, 71.
- [7] Nissen N.I., Larsen V., Pedersen H. and Thomson K. *Cancer Chemother. Rep.* 1972, **56**, 769.
- [8] Creaven P.J., Allen L.M. and Alford D.A. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1975, **17**, 232.
- [9] Liu S.Y., Hwang B.D., Haruna M., Imakura Y., Lee K.H. and Cheng Y.C. *Mol. Pharmacol.* 1989, **36**, 78.
- [10] Ross R., Rowe T., Glisson B., Yalowich J. and Liu F. *Cancer Res.* 1984, **44**, 5857.
- [11] Loike J. and Horwitz S.B. *Biochemistry* 1976, **15**, 5435.
- [12] Weisenberg R.C., Borisy C.G. and Taylor E.W. *Biochemistry* 1968, **7**, 4466.
- [13] Olmsted J.B., Carlson K., Klebe R., Ruddle F. and Rosenbaum J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1970, **65**, 129.
- [14] Wilson L. and Friedkin M. *Biochemistry* 1967, **6**, 3126.
- [15] Borisy C.G. and Taylor E.W. *J. Cell. Biol.* 1967, **34**, 525.
- [16] Hamel E. In *Microtubule Proteins*, Avila, J., Ed., CRC Press : Boca Raton, FL, 1990, pp 89-191.
- [17] Schiff P.B., Fant J., Horwitz S.B. *Nature* 1979, **277**, 665.
- [18] Naidus R.M., Rodvein R. and Mielke H. *Arch. Intern. Med.* 1977, **137**, 394.
- [19] Beck A. *Naunym-Schmiedebergs Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 1932, **165**, 208.
- [20] Malawista S.E. and Bensch K.G. *Science* 1967, **156**, 521.
- [21] Capraro H.G. and Brossi A. *The Alkaloids*, Academic Press, Inc., New York, 1984, Vol 23.
- [22] Boye O. and Brossi A. In *The Alkaloids*, Academic Press, Inc., New York, 1992, Vol 41, pp 166-167.
- [23] Muzaffar A., Brossi A., Lin C.M. and Hamel E. *J. Med. Chem.* 1990, **33**, 567.
- [24] Rosner M., Capraro H.G., Jacobson A., Atwell L. and Brossi A. *J. Med. Chem.* 1981, **24**, 257.
- [25] Ringel I., Bakshi O., Mellado W., Ramu A., Gibson D. and Katzhendler J. *Biochem. Pharmacol.* 1988, **37**, 2487.

- [26] Staretz M.E. and Hastie S.B. *J. Org. Chem.* 1993, **58**, 1589.
- [27] Sun L., Hamel E., Lin C.M., Hastie S.B., Pyluck A. and Lee K.H. *J. Med. Chem.* 1993, **36**, 1474.
- [28] Brossi A., Yeh H.J.C., Chrzanowska M., Wolff J., Hamel E., Lin C.M., Quin F. Suffness M. and Silverton J. *Med. Res. Rev.* 1988, **8**, 77.
- [29] Yeh H. J.C., Chrzanowska M. and Brossi A. *FEBS Letters* 1988, **229**, 82.
- [30] Boye O., Itoh Y. and Brossi A. *Helv. Chim. Acta* 1989, **72**, 1690.
- [31] Itoh Y., Brossi A., Hamel E. and Lin C.M. *Helv. Chim. Acta* 1988, **71**, 1199.
- [32] Zavala F., Guenard D., Robin J.P. and Brown E. *J. Med. Chem.* 1980, **23**, 546.
- [33] Schiff P.B., Kende A.S. and Hortwitz S.B. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1978, **85**, 737.
- [34] Tomioka K., Ishiguro T., Mizuguchi H., Komeshima N., Koga K., Tsukagoshi S., Tsuruo T., Tashoro T., Tanida S. and Kishi T. *J. Med. Chem.* 1991, **34**, 54.
- [35] Pettit G.R., Cragg G.M., Herald D.L., Schmidt J.M. and Lohavaniaya P. *Can. J. Chem.* 1982, **60**, 1374.
- [36] Hamel E. and Lin C.M. *Biochem. Pharmacol.* 1983, **32**, 3864.
- [37] Pettit G.R., Singh S.B., Niven M.L., Hamel E. and Schmidt J.M. *J. Nat. Prod.* 1987, **50**, 119.
- [38] Pettit G.R., Singh S.B., Schmidt J.M., Niven M.L., Hamel E. and Lin C.M. *J. Nat. Prod.* 1988, **51**, 517.
- [39] Pettit G.R. and Singh S.B. *Can. J. Chem.* 1987, **65**, 2390.
- [40] Lin C.M., Singh S.B., Chu P.S., Dempcy R.O., Schmidt J.M., Pettit G.R. and Hamel E. *Mol. Pharmacol.* 1988, **34**, 200.
- [41] Cushman M., Nagarathnam D., Gopal D., Chakraborti A.K., Lin C.M. and Hamel E. *J. Med. Chem.* 1991, **34**, 2579.
- [42] McGown A.T. and Fox B.W. *Cancer Chem. Pharmacol.* 1990, **26**, 79.
- [43] Getahun Z., Jurd L., Chu P.S., Lin C.M. and Hamel E. *J. Med. Chem.* 1992, **35**, 1058.
- [44] Cushman M., Nagarathnam D., Gopal D., He H.-M. , Lin C.M. and Hamel E. *J. Med. Chem.* 1992, **35**, 2293.
- [45] Cushman M., He H.-M., Lin C.M. and Hamel E. *J. Med. Chem.* 1993, **36**, 2817.
- [46] Jurd L., Fye R.L. and Morgan J. *J. Agric. Food Chem.* 1979, **27**, 1007.
- [47] Langley P.A., Trewern M.A. and Jurd L. *Bull. Entomol. Res.* 1982, **72**, 473.
- [48] Rawlins S.C., Jurd L. and Snow J.W. *J. Econ. Entomol.* 1979, **72**, 674.
- [49] Jurd L., Narayanam V.L. and Paull K.D. *J. Med. Chem.* 1987, **30**, 1752.
- [50] Batra J.K., Jurd L. and Hamel E. *Biochem. Pharmacol.* 1986, **35**, 4013.
- [51] Batra J.K., Jurd L. and Hamel E. *Mol. Pharmacol.* 1985, **27**, 94.
- [52] Jurd L. *J. Heterocycl. Chem.* 1985, **22**, 993.

- [53] Batra J.K., Kang G.J., Jurd L. and Hamel E. *Biochem. Pharmacol.* 1988, **37**, 2595.
- [54] Wilson L. and Bryan J. *Advan. Cell. Mol. Biol.* 1974, **3**, 21.
- [55] Loike J.D., Brewer C.F., Sternlicht H., Gensler W.J. and Horwitz S.B. *Cancer Res.* 1978, **38**, 2688.
- [56] Wilson L. *Biochemistry* 1970, **9**, 4999.
- [57] Cortese F., Bhattacharyya B. and Wolff J. *J. Biol. Chem.* 1977, **252**, 1134.
- [58] Savel H. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1964, **5**, 56.
- [59] Savel H. *Prog. Exp. Tumor Res.* 1966, **8**, 189.
- [60] Kelleher J.K. *Mol. Pharmacol.* 1977, **13**, 232.
- [61] Emmenegger H., Stahelin H., Rutschmann J., Renz J. and Von Wartburg A., *Arzneim-Forsch.* 1961, **11**, 459.
- [62] Jardine I., Podophyllotoxins. In *anticancer agents based on natural products models*. Academic Press, Inc., New York, 1980, pp 319-351 and references cited therein.
- [63] Long B.G., Musial S.F. and Brattain M.G. *Biochemistry* 1984, **23**, 1183.
- [64] Hartwell J.L. and Schrecker A.W. *Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe* 1958, **15**, 106.
- [65] Kelly M.G. and Hartwell J.L. *J. Natl. Cancer Inst.* 1954, **14**, 967.
- [66] Gensler W.J., Murthy C.D. and Trammell M.H. *J. Med. Chem.* 1977, **20**, 635.
- [67] Brewer C.F., Gensler W.J., Horwitz S.B., Loike J.D. and Sternlicht H. *J. Med. Chem.* 1979, **22**, 215.
- [68] Garland D.L. *Biochemistry* 1978, **17**, 4266.
- [69] Zweig M.H. and Chignell C.F. *Biochem. Pharmacol.* 1973, **22**, 2141.
- [70] Banerjee A., Banerjee A.C. and Bhattacharyya B. *FEBS Letters* 1981, **124**, 285.
- [71] Lockwood A.H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1979, **76**, 1184.
- [72] Sherline P., Schiavone K. and Brocato S. *Science* 1979, **205**, 593.
- [73] Issel B.F., Rudolph A.R. and Louie A.C. Etoposide (VP-16-213): an overview. In *Etoposide (VP-16) : current status and new developments* (Issel B. F., Muggia F. and Carter S. K.). New York, Academic Press, 1984, pp 1-14.
- [74] Bunn P.A. The role of chemotherapy in small-cell lung cancer. In *Etoposide (VP-16) : current status and new developments* (Issel B.F., Muggia F., Carter S.K., eds). New York, Academic Press, 1984, pp 141-161.
- [75] Williams S.D., Birch R., Loehrer P.J. Testicular cancer : role in chemotherapy. In *Etoposide (VP-16) : current status and new developments* (Issel B. F., Muggia F., Carter S. K., eds). New York, Academic Press, 1984, pp 225-232.
- [76] Dombrowsky P. and Nissen N.I. *Eur. J. Cancer* 1976, **12**, 181.
- [77] Mathe G., Schwarzenberg L., Pouillart P., Oldham R., Weiner R., Jasmin C., Hayat M., Misset J.L., Misset M., Schneider M., Amiel J.L. and De Vassal F. *Cancer*, 1974, **34**, 985.
- [78] Sklansky B.D., Mann-Kaplan R.S., Reynolds A.F., Rosenblum M.L. and Walker

- M.D. *Cancer* 1974, **33**, 460.
- [79] Deysson G. *Int. Rev. Cytol.* 1968, **24**, 99.
- [80] Krishan A., Paika K. and Frei E. *J. Cell. Biol.* 1975, **66**, 521.
- [81] Grieder A., Maurer R. and Stahelin H. *Cancer Res.* 1974, **34**, 1788.
- [82] Misra N.C. and Roberts D. *Cancer Res.* 1975, **35**, 99.
- [83] Kalwinsky D.K., Look A.T., Ducore J. and Fridland A. *Cancer Res.* 1983, **43**, 1592.
- [84] Wozniak A.J. and Ross W.E. *Cancer Res.* 1983, **43**, 120.
- [85] Loike J. and Horwitz S.B. *Biochemistry* 1976, **15**, 5443.
- [86] Huang C.C., Hou Y. and Wang J.J. *Cancer Res.* 1973, **33**, 3123.
- [87] Singh B. and Gupta S. *Cancer Res.* 1983, **43**, 577.
- [88] Nelson E.M., Tewey K.M. and Liu L.F. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1984, **81**, 1361.
- [89] Chen G.L., Yang L., Rowe T.C., Halligan B.D., Tewey K.M. and Liu L.F. *J. Biol. Chem.* 1984, **259**, 13560.
- [90] Long B.H. and Minocha A. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1983, **24**, 321.
- [91] Glisson B.S., Gupta R., Hodges P. and Ross W.E. *Cancer Res.* 1986, **46**, 1939.
- [92] Van Maanen J.M.S., de Ruiten C., Kooststra P.R., de Vries J. and Pinedo H.M. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1984, **25**, 384.
- [93] Van Maanen J.M.S., de Ruiten C., Kooststra P.R., Broersen J., de Vries J., Laffleur M.V.M., Retel J., Kriek E. and Pinedo H.M. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1986, **27**, 308.
- [94] Thurston L.S., Imakura Y., Haruna M., Li D.H., Liu Z.C., Liu S.Y., Cheng Y.C. and Lee K.H. *J. Med. Chem.* 1989, **32**, 604.
- [95] Lee K.H., Beers S.A., Mori M., Wang Z.Q., Kuo Y.H., Li L., Liu S.Y., Chang J.Y., Han F.S., and Cheng Y.C. *J. Med. Chem.* 1990, **33**, 1364.
- [96] Zhou X.M., Wang Z.Q., Chang J.Y., Chen H.X., Cheng Y.C. and Lee K.H. *J. Med. Chem.* 1991, **34**, 3346.
- [97] Thurston L.S., Irie H., Tani S., Han F.S., Liu Z.C., Cheng Y.C. and Lee K.H. *J. Med. Chem.* 1986, **29**, 1547.
- [98] Lee K.H., Imakura Y., Haruna M., Beers S.A., Thurston L.S., Dai H.J., Chen C.H. *J. Nat. Prod.* 1989, **52**, 606.
- [99] Hu H., Wang Z.Q., Liu S.Y., Cheng Y.C. and Lee K.H. *J. Med. Chem.* 1992, **35**, 866.
- [100] Saulnier M.G., Vyas D.M., Langley D.R., Doyle T.W., Rose W.C. *J. Med. Chem.* 1989, **32**, 1418.
- [101] Wang Z.Q., Hu H., Chen H.X., Cheng Y.C. and Lee K.H. *J. Med. Chem.* 1992, **35**, 871.
- [102] Wang Z.Q., Kuo Y.H., Schnur D., Bowen J.P., Liu S.Y., Han F.S. Chang J.Y., Cheng Y.C. and Lee K.H. *J. Med. Chem.* 1990, **33**, 2660.
- [103] Zhou X.-M., Lee K.J.-H., Cheng J., Wu S.-S., Chen H.-X., Guo X., Cheng Y.-C and

- Lee K.-H. *J. Med. Chem.* 1994, **37**, 287.
- [104] Zhang Y.-L., Guo X., Cheng Y.-C. and Lee K.-H. *J. Med. Chem.* 1994, **37**, 446.
- [105] Pearce H., Bach N., Cramer T., Danks M., Grindey G., Katterjohn C., Rinzel S. and Beck W. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1990, **31**, 441.
- [106] Leteurtre F., Madalengoitia J., Orr A., Cuzi T.J., Lehnert E., Mc Donald T. and Pommier Y. *Cancer Res.* 1992, **52**, 4478.
- [107] Mc Donald T.L., Lehnert E.K., Loper J.T., Chow K.-C. and Ross W. On the Mechanism of Interaction of DNA Topoisomerase II with Chemotherapeutic Agents. In *DNA Topoisomerase II in cancer*.
- [108] Beers S.A., Imakura Y., Dai H.J., Li D. H., Cheng Y.C. and Lee K.H. *J. Nat. Prod.* 1988, **51**, 901.
- [109] Keller-Juslen C., Kuhn M., Von Wartburg A. and Stahelin H. *J. Med. Chem.* 1971, **14**, 936.
- [110] Long B.H. *NCI Monographs* 1987, **4**, 123.
- [111] Saito H., Yoshikawa H., Nishimura Y., Kondo S., Takeuchi T. and Umezawa H. *Chem. Pharm. Bull.* 1986, **34**, 3733.
- [112] Saito H., Nishimura Y., Kondo S., Komuro K. and Takeuchi T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1988, **61**, 2493.
- [113] Van Uden W., Homan B., Woerdenbag H. J., Pras N., Malingre T.M., Wichers H. and Harkes M. *J. Nat. Prod.* 1992, **55**, 102.
- [114] Chen G.L. and Leroy F.L. DNA topoisomerases as therapeutic targets in cancer chemotherapy. In *Annual Reports In Medicinal Chemistry*, Academic Press, Inc., New York, 1986, Vol 21, pp 257-262.
- [115] Gellert M. DNA topoisomerases. *Ann. Rev. Biochem.* 1981, **50**, 879.
- [116] Corzarelli N.R. *Cell.* 1980, **22**, 327.
- [117] Liu L.F. *CRC Crit. Rev. Biochem.* 1983, **15**, 1.
- [118] Roberts D., Hilliard S. and Peck C. *Cancer Res.* 1980, **40**, 4225.
- [119] Yalowich J. and Ross W.E. *Cancer Res.* 1984, **44**, 3360.
- [120] Long B.H., Musial S.T. and Brattain M.G. *Cancer Res.* 1985, **45**, 3106.
- [121] Musial S.T., Newhouse L.A. and Long B.H. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1986, **27**, 248.
- [122] Long B.H. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1986, **27**, 249.
- [123] Long B.H., Musial S.T. and Brattain M.G. *Cancer Res.* 1986, **46**, 3809.
- [124] Rowe T., Kupfer G. and Ross W. *Biochem. Pharmacol.* 1985, **34**, 2483.
- [125] Long B.H. and Brattain M.G. The activity of etoposide (VP-16-213) and tenoposide (VM-26) against human lung tumor cells *in vitro* : cytotoxicity and DNA breakage. In *Etoposide (VP-16) : current status and new developments* (Issel B.F., Muggia F., Carter S.K., eds). New York, Academic Press, 1984, pp 63.

- [126] Long B.H. and Stringfellow D.A. *Adv. Enzyme Regul.* 1988, **27**, 223.
- [127] Zwelling L.A. *Cancer Met. Rev.* 1985, **4**, 263.
- [128] Ross W.E., Glaubiger D.L. and Kohn K.W. *Biochim. Biophys. Acta* 1979, **562**, 41.
- [129] Zwelling L., Michaels S., Erickson L.C., Ungerleider R.S., Nichols M. and Kohn K.W. *Biochemistry* 1981, **20**, 6553.
- [130] Pommier Y., Kerrigan D., Schwartz R. and Zwelling L.A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1982, **107**, 576.
- [131] Marshall B., Darkin S. and Ralph R.K. *FEBS Lett.* 1983, **161**, 75.
- [132] Long B.H. and Minocha A. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1983, **24**, 1271.
- [133] Minocha A. and Long B.H. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1984, **122**, 165.
- [134] Tewey K.M., Chen G.L., Nelson E.M. and Liu L.F. *J. Biol. Chem.* 1984, **259**, 9182.
- [135] Chow K.C., McDonald T.L. and Ross W.E. *Mol. Pharmacol.* 1988, **34**, 467.
- [136] Van Maanen J.M.S., Laffleur M.V.M., Mans D.R.A., Van Den Akker E., De Ruiter C., Koostra P., Pappie D., de Vries J., Retel J. and Pinedo H.M. *Biochem. Pharmacol.* 1988, **37**, 3579.
- [137] Corzarelli N.R. *Science* 1980, **207**, 953.
- [138] Liu L.F., Liu G.L. and Alberts B.M. *Cell.* 1980, **19**, 697.
- [139] Higgins N.P. and Corzarelli N.R. *Nucleic Acids Res.* 1982, **10**, 6833.
- [140] Liu L.F., Rowe T.C., Yang L., Tewey K.M. and Chen G.L. *J. Biol. Chem.* 1983, **24**, 15365.
- [141] Moreau N.J., Robaux H., Baron L. and Tabary X. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990, **34**, 1955.
- [142] Hoshino K., Sato K., Akahane K., Yoshida A., Hayakawa I., Sato M., Une T. and Osada Y. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991, **35**, 309.
- [143] Hohlbrener W.E., Wideburg N., Weigl D., Saldivar A. and Chu D.T.W. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992, **36**, 81.
- [144] Suto M.J., Domagala J.M., Roland G.E., Mailloux G.B. and Cohen M.A. *J. Med. Chem.* 1992, **35**, 4745.
- [145] Eissenstat M.A., Kuo G.-H., Weaver J.D., Wentland M.P. and Coughlin S.A. 162. 3-Benzylquinolones : novel, potent inhibitors of mammalian topoisomerase II. 206th ACS National Meeting. Chicago, Il. 22-27 août 1993.
- [146] Kuo G.-H., Eissenstat M.A., Wentland M.P. and Coughlin S.A. 163. Mammalian topoisomerase II inhibitory activity of 1-cyclopropyl-7-(2,6-dimethyl-4-pyridinyl)-1,4-dihydro-4-substituted-quinolones. 206th ACS National Meeting. Chicago, Il. 22-27 août 1993.
- [147] Behforuz M., Gu Z., Cai W., Horn M.A. and Ahmadian. *J. Org. Chem.* 1993, **58**, 7089.
- [148] Clark P.I. and Slevin M.L. *Clin. Pharmacokinet.* 1987, **12**, 223.

- [149] Dow L.W., Sinkule J.A. and Look A.T. *Cancer Res.* 1983, **43**, 5699.
- [150] Broggin M., Rossi C. and Benfenati E. *Chem. Biol. Interact.* 1985, **55**, 215.
- [151] Haim N., Nemeč J., Roman J. and Sinha B. *Cancer Res.* 1987, **47**, 5835.
- [152] Creaven P.J. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1982, **7**, 133.
- [153] Strife R.J., Jardine I. and Colvin M. *J. Chromat.* 1980, **182**, 211.
- [154] Evans W.E., Sinkule J.A., Crom W.R., Dow L., Look A.T. and Rivera G. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1982, **7**, 147.
- [155] Colombo T., Broggin M., Torti L., Erba E. and D'Incalci M. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1982, **7**, 127.
- [156] Haim N., Roman J., Nemeč J. and Sinha B.K. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1986, **135**, 215.
- [157] Van Maanen J.M.S., De Ruiter C., Kooststra P.R., Laffleur M.V. M., De Vries J., Retel J. and Pinedo H.M. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 1985, **21**, 1215.
- [158] Van Maanen J.M.S., De Vries J., Pappie D., Van Den Akker E., Laffleur M.V.M., Retel J., Van Der Greff J. and Pinedo H.M. *Cancer Res.* 1987, **47**, 4658.
- [159] Van Maanen J.M.S., Van Oort W.J. and Pinedo H.M. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 1982, **18**, 885.
- [160] D'Incalci M., Rossi C., Zucchetti M., Urso R., Cavalli F., Mangioni C., Willems Y. and Sessa C. *Cancer Res.* 1986, **46**, 2566.
- [161] Colombo T., D'Incalci M. and Donneli M.G. *Xenobiotica* 1985, **15**, 343.
- [162] Holthuis J.J.M., Van Maanen J. and Pinedo H.M. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1983, **24**, 138.
- [163] Sinkule J.A. and Evans W.E. *J. Pharm. Sci.* 1984, **73**, 164.
- [164] Evans W.E., Sinkule J.A. and Horvath A. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1981, **22**, 174.
- [165] Van Maanen J.M.S., Retel J., de Vries J. and Pinedo H.M. *J. Natl. Cancer Inst.* 1988, **80**, 1526.
- [166] Creaven P.J. and Allen L.M. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1975, **18**, 221.
- [167] Creaven P.J. and Allen L.M. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1975, **18**, 227.
- [168] Allen L.M. and Creaven P.J. *Eur. J. Cancer* 1975, **11**, 697.
- [169] Pelsor F.R., Allen L.M. and Creaven P.J. *J. Pharm. Sci.* 1978, **67**, 1106.
- [170] Allen L.M., Marcks C. and Creaven P.J. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1976, **17**, 6.
- [171] Ayres D.C., Lim C.K. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1982, **7**, 99.
- [172] Aso Y., Hayashi Y., Yoshioka S., Takeda Y., Kita Y., Nishimura Y. and Arata Y. *Chem. Pharm. Bull.* 1989, **37**, 422.
- [173] Sinha B.K., Trush M. A. and Kalyaraman B. *Biochem. Pharmacol.* 1985, **34**, 2036.
- [174] Haim N., Nemeč J., Roman J. and Sinha B. K. *Biochem. Pharmacol.* 1987, **36**, 527.
- [175] Wang J.C. *Ann. Rev. Biochem.* 1985, **54**, 665.

- [176] Sinha B. Trush M.A. and Kalyaraman B. *Biochem. Pharmacol.* 1983, **32**, 3495.
- [177] Sinha B., Eliot H.M. and Kalyaraman B. *FEBS Letters* 1988, **227**, 240.
- [178] Wozniak A.J., Glisson B., Hande K.R. and Ross W.E. *Cancer Res.* 1984, **44**, 626.
- [179] Teicher B.A., Holden S.A. and Rose C.M. *J. Natl. Cancer Inst.* 1985, **75**, 1129.
- [180] Teicher B.A., Bernal S.D. and Holden S.A. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1988, **21**, 281.
- [181] Kalyaraman B., Nemeč J. and Sinha B. *Biochemistry* 1989, **28**, 4839.
- [182] Zhang Y.L., Shen Y.C., Wang Z.Q., Chen H.X., Guo X., Cheng Y.C. and Lee K.H. *J. Nat. Prod.* 1992, **55**, 1100.
- [183] Sinha B.K. and Myers C.E. *Biochem. Pharmacol.* 1984, **33**, 3725.
- [184] Pearce H.L., Bach N.J. and Cramer T.L. *Tetrahedron Lett.* 1989, **30**, 907.
- [185] Van Der Eycken J., Bosmans J.P., Van Haver D., Vandewalle M., Hulkenberg A., Veerman W. and Nieuwenhuizen R. *Tetrahedron Lett.* 1989, **30**, 3873.
- [186] Bosmans J.P., Van Der Eycken J., Vandewalle M., Hulkenberg A., Van Hes R. and Veerman W. *Tetrahedron Lett.* 1989, **30**, 3877.
- [187] Itokawa H., Hitotsuyanagi Y. and Takeya K. *Heterocycles* 1992, **33**, 537.
- [188] Tomioka K., Kubota Y. and Koga K. *Tetrahedron Lett.* 1989, **30**, 2953.
- [189] Tomioka K., Kubota Y. and Koga K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1989, 1622.
- [190] Yoshitomi Pharmaceutical Industries, LTD ; Japan Tobacco, INC. Japan Patent O3, 58.989. 1991. *Chem. Abstr.* 1991, **115**, 232269r.
- [191] Balitz D.M., Bush J.A., Bradner W.T., Doyle T.W., O'Herron F.A. and Nettleton D.E. *J. Antibiot.* 192, **35**, 259.
- [192] Ward R.S. *Synthesis* 1992, **8**, 719.
- [193] L'étoposide est préparée par Seripharm. Le Mans.
- [194] L'un des plus importants fabricants d'acides L- et DL-pyroglutamique est UCIB. Yvry-la-Bataille.
- [195] Yasuda S., Yamamoto Y., Yoshida S. and Hanaoka M. *Chem. Pharm. Bull.* 1988, **36**, 4229.
- [196] Hardegger E. and Ott H. *Helv. Chim. Acta.* 1955, **38**, 312.
- [197] Kolocouris N. *Bull. Soc. Chim. France* 1973, 1053.
- [198] Merck and Co., Inc. 1975. US Patent, 3,895,052. *Chem. Abstr.* 1975, **83**, 178330j.
- [199] Beecham Research Laboratories, Ltd. 1961. British Patent, 861,377. 1961. *Chem. Abstr.* **55**, 24792g.
- [200] Yates P. and McLachlan F.N. *J. Indian Chem. Soc.* 1978, **LV**, 1116.
- [201] Wang C.L.J. *Tetrahedron Lett.* 1982, 1067.
- [202] Hoechst-Roussel Pharmaceutical, Inc. 1988. US Patent, 4,772,601. *Chem. Abstr.* 1989, **110**, 75303z.
- [203] Merck and Co., Inc. 1965. Neth. Appl., 6,504,878. *Chem. Abstr.* 1966, **64**, 9686e.

- [204] Panmedica, S.A. 1986. European Patent, 187,052.
- [205] Sidel'kovskaya F.P., Ponomarenko V.A., Zelenskaya M.G., Ignatenko A.V., Trifonova O.D., Abdula-Zade E.A., Kechina A.G. and Sinitsyna L.A. 1976. *Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim.*, 605. *Chem. Abstr.* 1976, **85**, 32745t.
- [206] Campaigne E. and Matthews D.P. *J. Heterocyclic Chem.* 1975, **12**, 391.
- [207] Ferlux. 1976. French Patent, 2,273,533. *Chem. Abstr.* 1976, **85**, 32835x.
- [208] Kolocouris N. and Rigo B. *Chim. Chron. New Series* 1982, 309.
- [209] Martin L.L., Scott S.J., Agnew M.N. and Setescak L.L. *J. Org. Chem.* 1986, **51**, 3696.
- [210] Martin L.L., Scott S.J., Setescak L.L. and Van Engen D. *J. Heterocyclic Chem.* 1987, **24**, 1541.
- [211] Marchalin S., Decroix B. and Morel J. *Acta Chem. Scand.* 1993, **47**, 287.
- [212] Meiji Confectionary Co., Ltd. 1976. Japan Patent, 76 34,149. *Chem. Abstr.* 1976, **85**, 94222d.
- [213] Mérour J.-Y., Cossais F., Piro  lle S. and Maz  as D. *J. Heterocyclic Chem.* Soumis à publication.
- [214] Société d'Etudes et de Recherches Chimiques et Pharmacologiques. 1961. French Patent, 1,298.571. *Chem. Abstr.* 1963, **58**, 1435h.
- [215] Rigo B. and Fasseur D. 1989. French Patent Demande, 89 10620.
- [216] Smith M.B. 1989. 197th ACS. National Meeting, Poster Session, Dallas, USA.
- [217] Rigo B. Résultats non publiés.
- [218] Rigo B. and Couturier D. *J. Heterocyclic Chem.* 1985, **22**, 207.
- [219] Burkard U., Walther I. and Effenberger F. *Liebigs Ann. Chem.* 1986, 1030.
- [220] Effenberger F., Müller W. and Isak H. *Chem. Ber.* 1987, **120**, 45.
- [221] Effenberger F., Müller W., Keller R., Wild W. and Ziegler T. *J. Org. Chem.* 1990, **55**, 3064.
- [222] Niedballa U. and Vorbrüggen H. *J. Org. Chem.* 1974, **39**, 3654.
- [223] Niedballa U. and Vorbrüggen H. *J. Org. Chem.* 1974, **39**, 3660.
- [224] Niedballa U. and Vorbrüggen H. *J. Org. Chem.* 1974, **39**, 3664.
- [225] Niedballa U. and Vorbrüggen H. *J. Org. Chem.* 1974, **39**, 3668.
- [226] Niedballa U. and Vorbrüggen H. *J. Org. Chem.* 1974, **39**, 3672.
- [227] Katz D.J., Wise D.S. and Townsend L.B. *J. Heterocyclic Chem.* 1975, **12**, 609.
- [228] Vorbrüggen H. and Krolikiewicz K. *Angew. Chem. Internat. Edit.* 1975, **14**, 421.
- [229] Vorbrüggen H., Krolikiewicz K. and Bennua B. *Chem. Ber.* 1981, **114**, 1234.
- [230] Vorbrüggen H. and H  fle G. *Chem. Ber.* 1981, **114**, 1256.
- [231] Watanabe K. A., Su T.S., Reichmann U., Greenberg N., Lopez C. and Fox J.J. *J. Med. Chem.* 1984, **27**, 91.
- [232] Mao D.T., Driscoll J.S. and Marquez V.E. *J. Med. Chem.* 1984, **27**, 160.
- [233] Bambury R.E., Feeley D.T., Lawton G.C., Weaver J.M. and Wemple J. *J. Med.*

Chem. 1984, **27**, 1613.

- [234] Holshouser M.H., Shipp A.M. and Ferguson P.W. *J. Med. Chem.* 1985, **28**, 242.
- [235] Vorbrüggen H., Krolikiewicz K. and Benuda B. *Chem. Ber.* 1981, **114**, 1234.
- [236] Berkowitz P.T., Robins R.K., Dea P. and Long R.A. *J. Org. Chem.* 1976, **41**, 3128.
- [237] Sasaki T., Usuki A. and Ohno M. *Tetrahedron Letters* 1978, **49**, 4925.
- [238] Skulnick H. *J. Org. Chem.* 1978, **43**, 3188.
- [239] Janzen A.F., Lypka G.N. and Wasylshen R.E. *J. Heterocyclic Chem.* 1979, **16**, 415.
- [240] Sasaki T., Usuki A. and Ohno M. *J. Org. Chem.* 1980, **45**, 3559.
- [241] Iwasaki T., Nishitani T., Horikawa H. and Inoue I. *Tetrahedron letters* 1981, **22**, 1029.
- [242] Robins M.J. and Hatfield P.W. *J. Chem.* 1982, **60**, 547.
- [243] Sasaki T., Nakanishi A. and Ohno M. *Chem. Pharm. Bull* 1982, **30**, 2051.
- [244] Robins M.J., Hatfield P.W., Balzarini J. and De Clercq H. *J. Med. Chem.* 1984, **27**, 1486.
- [245] Holshouser M.H., Shipp A.M. and Ferguson P.W. *J. Med. Chem.* 1985, **28**, 242.
- [246] Anisimova N.A., Kramarova E.P., Belavin I. and B. Yu. I. *J. Gen. Chem. USSR* 1987, 1631.
- [247] Pirogov M.I. *Chem. Abstr.* 1987, **106**, 102086g.
- [248] Pirogov M.I. *Chem. Abstr.* 1987, **106**, 138249b.
- [249] Frister H. and Schlimme E. *Chem. Abstr.* 1988, **108**, 167897h.
- [250] Müller E.C. *Tetrahedron Letters* 1991, **32**, 6539.
- [251] Liu P.S., Marquez V.E., Driscoll J.S., Fuller R.W. and McCormack J. *J. Med. Chem.* 1981, **24**, 662.
- [252] Marquez V.E., Liu P.S. and Linevsky J.K. *J. Org. Chem.* 1982, **47**, 1712.
- [253] Hoechs A.G. *Chem. Abstr.* 1987, **107**, 115504n.
- [254] Singh H., Aggarwal P. and Kumar S. *Synthesis* 1990, 520.
- [255] Tanabe Seiyaku Co., Ltd. 1981. Japan Patent, 81 166,170. *Chem. Abstr.* 1982, **96**, 162530g.
- [256] Burkard V., Walter I. and Effenberger F. *Liebigs Ann. Chem.* 1986, 1030.
- [257] Drauz K., Kleemann A., Martens J., Scherberich P. and Effenberger F. *J. Org. Chem.* 1986, **51**, 3494.
- [258] Effenberger F., Muller W. and Isak H. *Chem. Ber.* 1987, **120**, 45.
- [259] Laboratoires Sérobiologiques. 1985. European Patent, 135, 444. *Chem. Abstr.* 1985, **103**, 123914d.
- [260] Rigo B. and Couturier D. *J. Heterocyclic Chem.* 1985, **22**, 207.
- [261] Rigo B., Lespagnol C. and Pauly M. *J. Heterocyclic Chem.* 1986, **23**, 183.
- [262] Rigo B., Lespagnol C. and Pauly M. *J. Heterocyclic Chem.* 1988, **25**, 49.
- [263] Rigo B., Lespagnol C. and Pauly M. *J. Heterocyclic Chem.* 1988, **25**, 59.

- [264] Balfe M.P., Kenyon J. and Thain E.M. *J. Chem. Soc.* 1952, 790.
- [265] Bartlett P. and McCollum J.D. *J. Amer. Chem. Soc.* 1956, **78**, 1441.
- [266] Burton H. and Cheeseman G.W.H. *J. Chem. Soc.* 1953, 986.
- [267] Yamamoto J., Akimoni S., Shibata A. and Nakashima R. *Chem. Abstr.* 1994, **120**, 133928b.
- [268] Jones D., Baltisberger R.J. and Klabunde K.J. *J. Org. Chem.* 1978, **43**, 175.
- [269] Thermal decomposition of benzhydrol over alumina. *J. India Chem. Soc.* 1973, **L**, 582.
- [270] Heinisch G., Luszczak E. and Pailer M. *Monatsh. Chem.* 1974, **105**, 763.
- [271] Heinisch G. and Huber T. *Liebigs Ann. Chem.* 1992, **19**.
- [272] Dolaine R. DEA (juin 1994). Université des sciences et technologies de Lille.
- [273] Mease A.D. *J. Am. Chem. Soc.* 1968, **90**, 1797.
- [274] Rigo B. Thèse d'Etat. N° d'ordre : 617 (mai 1984). Université des sciences et technologies de Lille.
- [275] Fujii T., Yoshifuji S. and Yamada K. *Chem. Ind. (London)* 1975, **177**.
- [276] Fujii T., Yoshifuji S. and Tai M. *Chem. Pharm. Bull.* 1975, **23**, 2094.
- [277] Fujii T., Yoshifuji S. and Yamada, K. *Chem. Pharm. Bull.* 1978, **26**, 2071.
- [278] Fujii T. and Yoshifuji S. *Chem. Pharm. Bull.* 1979, **27**, 1486.
- [279] Fujii T., Ohba M., Pakraski S.C. and Ali E. *Heterocycles* 1979, **12**, 1463.
- [280] Feugeas C. *Bull. Soc. Chim.* 1964, **8**, 1892.
- [281] Foley J.W. U.S. Patent 4182912, 1979. *Chem. Abstr.* 1980, **92**, P:163705x.
- [282] Jung M.E., Yuk-Sun Lam P., Mansuri M.M. and Speltz L.M. *J. Org. Chem.* 1985, **50**, 1087.
- [283] Hardy G., Sword I.P. and Hathway D.E. *J. Labelled Compd.* 1972, **8**, 221.
- [284] Barton D.H.R., Lacher B., Zard S.Z. *Tetrahedron Lett.* 1985, **26**, 5939.
- [285] Barton D.H.R., Lacher B., Zard S.Z. *Tetrahedron* 1987, **43**, 4321.
- [286] Rigo B. and Kolocouris N. *J. Heterocyclic Chem.* 1983, **20**, 893.
- [287] Buckley T.F. and Rapoport H. *J. Org. Chem.* 1983, **48**, 4222.
- [288] Gilmore R.C. *J. Am. Chem. Soc.* 1951, **73**, 5879.
- [289] Gilmore R.C. and Horton W.J. *J. Am. Chem. Soc.* 1951, **73**, 1411.
- [290] Gardner P.D. and Horton W.J. *J. Am. Chem. Soc.* 1953, **75**, 4976.
- [291] Rigo B., Fasseur D., Cherepy N. and Couturier D. *Tetrahedron Letters* 1989, **30**, 7057.
- [292] El Ghammarti S. Résultats non publiés.
- [293] Lee G.S., Cho Y.S., Shim S.C., Kim W.J., Eibler E. and Wiegrebe W. *Arch. Pharm.* 1989, **322**, 607.
- [294] Magnusson L.B., Postmus C. and Craig C.A. *J. Am. Chem. Soc.* 1963, **85**, 1711.
- [295] Bordwelland F.G. and Cooper G.D. *J. Am. Chem. Soc.* 1952, **74**, 1058.

- [296] Brooks C.J.W. and Morgan J.F. *J. Chem. Soc.* 1961, 3373.
- [297] Bhatt M.V. and Kulkarni S.U. *Synthesis* 1983, **4**, 249.
- [298] Schiemenz G.P. and Schmidt V. *Ann.* 1982, 1509.
- [299] Dean F.M., Goodchild J., Houghton L.E., Martin J.A., Morton R.B., Parton B., Price A.W. and Somvichien N. *Tetrahedron Letters* 1966, 4153.
- [300] Gensler W.J., Johnson F. and Sloan A.D.B. *J. Am. Chem. Soc.* 1960, **82**, 6074.
- [301] Aiyar V.N. and Chang F.C. *J. Org. Chem.* 1977, **42**, 246.
- [302] Kolocouris N. *Bull. Soc. Chim. France.* 1973, 1053.
- [303] Kolocouris A., Kolocouris N., Foscolos G.B., Fytas G., Hempel A., Camerman N., Camerman A. and Hamodrakas S.J. *J. Cryst. Spect. Res.* 1993, **23**, 663.,
- [304] Rigo B., Barbry D. and Couturier D. *Synthetic Communications* 1991, **21**, 741.
- [305] Marchalin S. and Decroix B. *J. Heterocyclic Chem.* 1993, **30**, 667.
- [306] Rigo B., Tullier E., Barbry D., Couturier D., Warin V., Lamiot J. and Baert F. *J. Heterocyclic Chem.* 1990, **27**, 1383.
- [307] Lamiot J., Baert F., Guelzim D. and Barbry D., Couturier D., Rigo B. and Tullier E. *Acta Cryst. (c)* 1991, **C47**, 888.
- [308] Mérour J.Y., Piroëlle S. and Faure R. *J. Heterocyclic Chem.* 1994, **31**, 141.
- [309] West C.T., Donnelly S.T., Kooistra D.A. and Doyle M.P. *J. Org. Chem.* 1973, **38**, 2675.
- [310] Knoevenagel E. *Ber.* 1903, **36**, 2827.
- [311] Cushman M., Nagarathnam D., Gopal D., He H.-M., Lin C.M. and Hamel E. *J. Med. Chem.* 1992, **35**, 2293.

