

the 20 000 682

50376  
1996  
501

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE

N° d'ordre : 0593559 Y

Année 1996

THESE DE DOCTORAT D'UNIVERSITE

présentée à l'Université de Lille I  
pour l'obtention du grade de

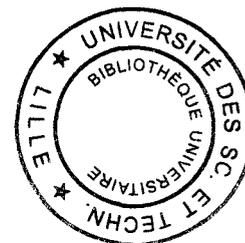
DOCTEUR EN CHIMIE ORGANIQUE ET MACROMOLECULAIRE

par

Anne LEGRAND

**CONCEPTION ET SYNTHÈSE D'INHIBITEURS POTENTIELS  
DE LA TOPOISOMERASE II**

soutenue le 04 décembre 1996



**Jury :**

Président :	Mr. COUTURIER D.
Rapporteurs :	Mr. GUILLAUMET G. Mr. LHOMMET G.
Examineurs :	Mr. HENICHART J-P. Mr. LESIEUR D. Mr. RIGO B.



D 030 177267 8

*Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de Chimie Organique et Environnement de l'Université des Sciences et Technologies de Lille, dans les locaux des Hautes Etudes Industrielles de Lille (HEI), sous la direction scientifique de Messieurs Daniel COUTURIER et Benoît RIGO.*

*A Monsieur Daniel COUTURIER, Professeur à la Faculté des Sciences et Technologies de Lille et Directeur du Laboratoire de Chimie Organique et Environnement de l'Université des Sciences et Technologies de Lille, qui me fait l'honneur de présider ce jury. Je vous remercie pour votre disponibilité, pour les conseils que vous m'avez prodigués et pour l'intérêt que vous avez apporté à ce travail.*

*A Monsieur Benoît RIGO, responsable du laboratoire de Synthèses Organiques de l'Ecole des Hautes Etudes Industrielles de Lille, pour sa disponibilité de tous les instants, pour l'intérêt qu'il a apporté à ce travail ainsi que pour ses qualités humaines.*

*A Monsieur Jean-Pierre HENICHART, Professeur à l'Institut de Chimie Pharmaceutique de Lille, qui très gentiment a suivi ce travail, en offrant des conseils précieux, et m'a donné le "virus" du drug design lors de cours pour le moins passionnants.*

*A Monsieur Daniel LESIEUR, Professeur à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, qui m'a acceptée au sein de son laboratoire, m'a permis de découvrir la chimie pharmaceutique et le drug design,*

*A Monsieur GUILLAUMET, Professeur à l'Université d'Orléans, et Monsieur LHOMMET, Professeur à l'Université de Paris VI, qui me font l'honneur de juger ce travail,*

*A Monsieur DURANT, Professeur à la Faculté Notre Dame de la Paix de Namur, pour l'immense service qu'il m'a rendu en effectuant les études cristallographiques à la "vitesse grand V", me permettant ainsi de valider les hypothèses stéréochimiques postulées. Qu'il soit assuré de toute ma reconnaissance.*

*Je ne saurais oublier, pour ces remerciements :*

*mes collègues de laboratoire (au sens large du terme, ils se reconnaîtront) qui ont supporté mes excentricités durant trois années...,*

*les membres de l'ICPL que j'ai eu le plaisir de connaître, encore présents ou non, que je n'oublie pas et que je revois toujours avec le même plaisir,*

*Manue, pour les spectres HPLC,*

*François-Xavier, pour les "tirages" d'imprimerie,*

*l'équipe du laboratoire multi-média de l'ISA pour le tirage des diapositives de la soutenance orale, la direction de l'école des Hautes Etudes Industrielles de Lille ainsi que le personnel administratif et technique de l'école pour leur accueil.*

*A mes amis qui, chacun à leur manière, embellissent mes journées, et me prouvent que leur présence  
vaut toutes les thèses du monde...*

*A Natali, mon amie de toujours, pour son aide durant l'élaboration de cette thèse, et pour le magnifique texte introductif sans lequel ce manuscrit aurait un goût bien fade...*

*A mes grand-pères, Henri LEGRAND et Léon KUNIK, mineurs de fond, qui me donnent chaque jour la  
fierté des origines modestes...*

*A ma grand-mère, ma busia, qui aurait été très heureuse de voir son "annouchka" travailler sur une  
pathologie qu'elle n'a que trop vue de près...*

*A mon papa et ma maman, musiciens, qui m'ont permis de mener des études si longues, pour leur présence de chaque instant, et pour leur philosophie de la vie (très épicurienne, faut-il le dire...) que j'ai faite mienne...*

*A Pascal, mon grand-frère, et Evelyne, ma belle-soeur, pour leur soutien constant dans les bons et les mauvais moments...*

*A Philde : trois petits points de suspension pour trois mots magiques...*

# *SOMMAIRE*

<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : Topoisomérases : enzymes clés dans la topologie de l'ADN</b>	<b>4</b>
1 - cycle catalytique de la topoisomérase II	7
2 - principales fonctions biologiques de la topoisomérase II	9
2.1 - réplication et transcription	9
2.2 - condensation et décondensation chromosomique - condensation de la chromatine	10
3 - structure de la topoisomérase II eucaryote	10
3.1 - homologues de séquence primaire entre les différentes topoisomérases de type II	10
3.2 - domaines structuraux des topoisomérases II eucaryotes	10
3.3 - structures tridimensionnelles de fragments de topoisomérases de type II	11
3.3.1 - fragment de 43 kDa de la sous-unité gyrB d' <i>E. Coli</i>	12
3.3.2 - fragment de 92 kDa d'une topoisomérase II de levure	12
4 - phosphorylation de la topoisomérase II	14
4.1 - généralités	14
4.2 - mise en évidence des protéines kinases impliquées dans la phosphorylation de l'enzyme	14
4.3 - phosphorylations de la partie C-terminale de la topoisomérase II	15
<b>CHAPITRE II : Topoisomérase II : cible d'inhibiteurs variés</b>	<b>16</b>
1 - introduction	17
2 - inhibiteurs de topoisomérase II "clivants"	17
2.1 - diversité des composés	17
2.2 - mise en évidence de spécificités de clivage	20
2.3 - modèles de sites d'interaction dans le complexe ternaire pour les agents "clivants"	21
2.4 - modèle hypothétique de pharmacophore unifié	23
2.5 - diversité des activités d'inhibition de l'enzyme et des sites d'interaction	25
2.5.1 - exemples de l'influence des chaînes latérales	25
2.5.2 - exemples de l'influence des substitutions	26
3 - autres inhibiteurs de topoisomérase II	27
3.1 - inhibiteurs "clivants" mixtes topoisomérase I et II et inhibiteurs "non clivants"	27
3.2 - autres inhibiteurs de topoisomérase II	28
4 - conclusion partielle	29
5 - tentative de nouvelle classification des inhibiteurs de topoisomérase II	30
5.1 - modification locale de la structure de l'ADN	30

5.2 - blocage de la phosphorylation de l'enzyme	31
5.3 - blocage du site ATP de l'enzyme	31
5.4 - blocage de l'enzyme dans son état de "collier" fermé	31
6 - résistances associées aux inhibiteurs de topoisomérase II	32
6.1 - généralités	32
6.2 - mutations à proximité du site de binding de l'ATP	33
6.3 - mutations à proximité du site actif tyrosine	33
6.4 - mutations dans la région C-terminale	33
7 - dérivés de l'étoposide	35
7.1 - généralités	35
7.2 - mécanisme d'action	36
7.2.1 - mise en évidence de la cible de VP-16 et VM-26	36
7.2.2 - inhibition de la topoisomérase II - cassures d'ADN	37
7.2.3 - activation métabolique de VP-16	37
7.3 - relations structure-activité	42
8 - dérivés de l'azatoxine	46
8.1 - introduction	46
8.2 - activités de l'azatoxine	46
8.3 - relations structure-activité	47
8.3.1 - influence de la stéréochimie	48
8.3.2 - modification du cycle indolique	49
8.3.3 - modification du cycle pendant aromatique	49
8.3.4 - substitution en position 11	50
8.3.5 - modification du cycle lactame	50
<b>CHAPITRE III : Synthèse d'analogues de l'étoposide</b>	<b>52</b>
1 - aspect conceptuel	53
2 - stratégie chimique	55
3 - méthodes et voies de synthèse	61
3.1 - N-alkylation du pyroglutamate de méthyle N-silylé	61
ou de l'acide pyroglutamique N,O-disilylé	
3.1.1 - N-alkylation par les dérivés halogénés	61
3.1.2 - N-alkylation par les benzhydrols silylés	62
3.1.2.1 - formation des benzhydrols	62
3.1.2.2 - cas particulier de la formation du composé 2f	66
3.1.2.3 - tableau récapitulatif des benzhydrols 2 formés	68
3.1.2.4 - silylation des benzhydrols	69
3.1.2.5 - condensation sur le pyroglutamate de méthyle N-silylé	69

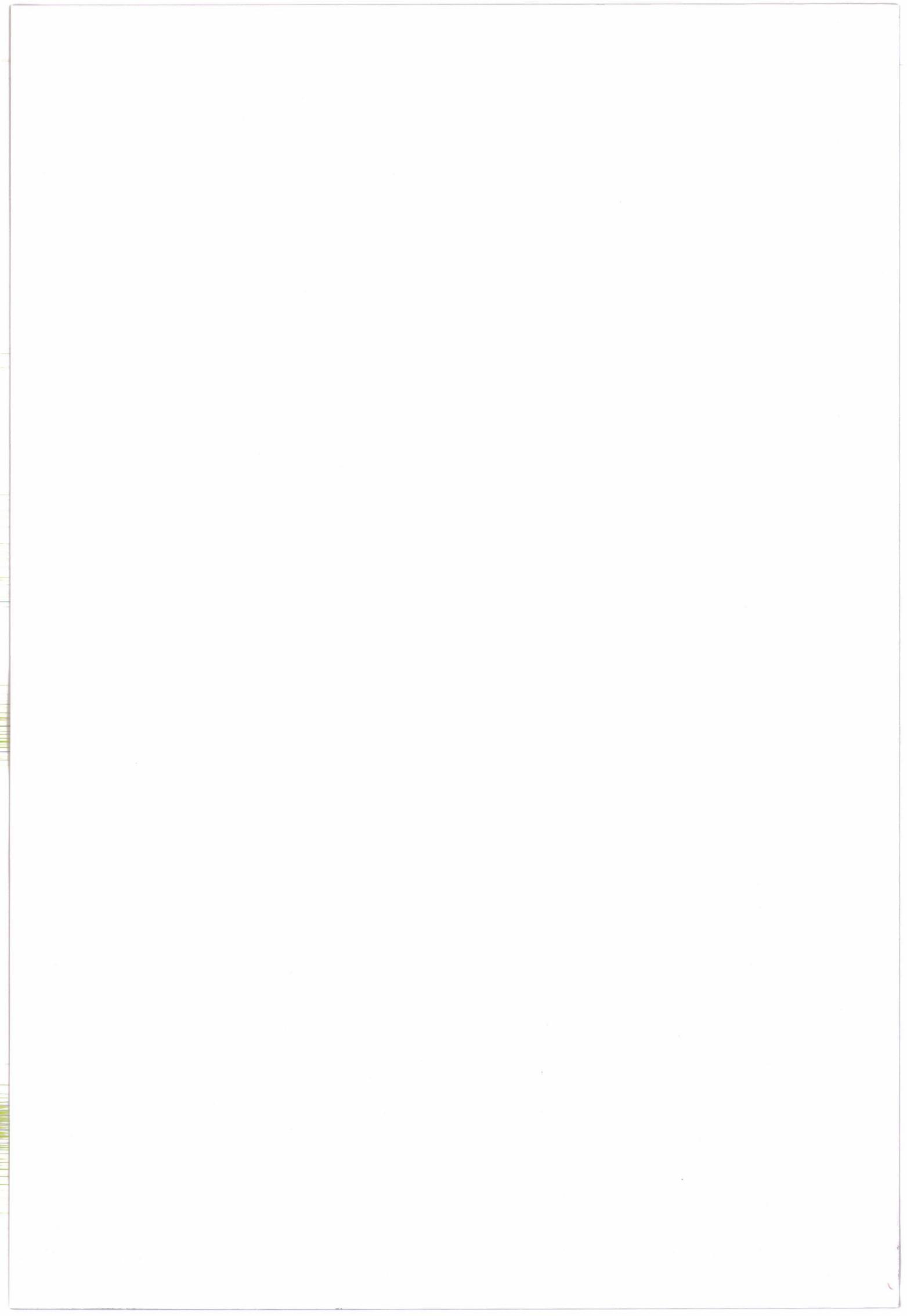


1 - aspect conceptuel	100
2 - stratégie chimique de la série indolique	103
3 - méthodes et voies de synthèse de la série indolique	105
3.1 - esters pyroglutamiques	105
3.1.1 - résultats antérieurs du laboratoire	105
3.1.2 - synthèse de l'ester méthylique <b>9</b> par une méthode originale	106
3.2 - synthèse de l'acide N-(3-indolylméthyl)pyroglamique <b>10</b>	108
3.3 - cyclisation de l'acide <b>10</b> en cétone <b>11</b>	108
3.4 - réactivité du composé <b>11</b> vis-à-vis d'HBr concentré	109
3.4.1 - résultats antérieurs du laboratoire	109
3.4.2 - réactivité de <b>11</b> vis-à-vis d'HBr concentré	110
3.5 - réduction du composé <b>11</b> en alcool <b>12</b>	111
3.6 - tentatives de silylation du composé <b>11</b>	112
3.6.1 - intérêt	112
3.6.2 - résultats antérieurs du laboratoire : fonctionnalisation de la cétone <b>5g</b> en position <b>11</b>	113
3.6.2.1 - réaction de Michaël	113
3.6.2.2 - réaction de Mannich	114
3.6.2.3 - passage par les éthers d'énois silylés	115
3.6.3 - tentative de silylation de la cétone <b>11</b>	117
4 - stratégie chimique de la série naphthalénique	118
5 - méthodes et voies de synthèse de la série naphthalénique	121
5.1 - formation du benzhydrol <b>14</b>	121
5.2 - silylation du benzhydrol <b>14</b>	121
5.3 - condensation sur le pyroglutamate de méthyle N-silylé DL	122
5.3.1 - rappel sur les condensations antérieures	122
5.3.2 - cas du composé DL <b>15</b>	122
5.4 - saponification des esters DL <b>15a</b> et DL <b>15b</b>	124
5.5 - formation de l'amide DL <b>17</b>	125
5.6 - cyclisation en cétones des acides DL <b>16a</b> et DL <b>16b</b>	126
5.6.1 - rappel sur les cyclisations réalisées auparavant	126
5.6.2 - cas du composé DL <b>16b</b>	127
5.6.3 - cas du composé DL <b>16a</b>	128
5.6.4 - récapitulatif des résultats concernant la cyclisation des acides DL <b>16a</b> et DL <b>16b</b>	134
5.6.5 - conclusion sur les réactions de cyclisation d'acides pyroglutamiques par réaction de type Friedel-Crafts intramoléculaire	135

5.6.5.1 - mécanisme proposé antérieurement au laboratoire	135
5.6.5.2 - évolution des hypothèses avec la cyclisation des acides DL16a et DL16b	138
5.7 - étude de la réactivité de DL18 vis-à-vis des réductions et des acides	141
5.7.1 - vis-à-vis des réductions	141
5.7.1.1 - réduction de DL18 par le borohydrure de sodium	141
5.7.1.2 - réduction de DL26 par Et <sub>3</sub> SiH/TFA	142
5.7.2 - vis-à-vis des acides	143
5.7.2.1 - résultats escomptés	143
5.7.2.2 - réactivité de DL18 vis-à-vis d'HCl concentré	144
5.7.2.3 - réactivité de DL18 vis-à-vis d'HBr concentré	144
5.8 - déméthylation en position 4' des composés DL19 et DL20	145
5.8.1 - données de la littérature	145
5.8.1.1 - les agents acides	145
a - acides de Brønsted	145
b - acides de Lewis	146
5.8.1.2 - réactifs basiques	146
5.8.1.3 - autres cas	146
5.8.1.4 - tableau récapitulatif sur le clivage des éthers	147
5.8.2 - premiers essais de déméthylation spécifique	148
5.8.3 - déméthylation de DL19 et DL20 par HBr	150
<b>CHAPITRE V : Etudes de résonance magnétique nucléaire</b>	<b>152</b>
1 - remarques générales	153
2 - analyse RMN du composé 11	155
3 - analyse RMN du composé DL19	162
4 - analyse RMN du composé DL25	169
<b>CONCLUSION</b>	<b>171</b>
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	<b>176</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>274</b>
<b>ANNEXE</b>	<b>285</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS UTILISEES

A	adénine
ADN	acide désoxyribonucléique
ATP	adénosine triphosphate
C	cytosine
CCM	chromatographie sur couche mince
CK - II	caséine kinase II
COSY	Correlated Spectroscopy
DEAD	diéthylazadicarboxylate
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
eq.	équivalents
G	guanine
HETCOR	Heteronuclear chemical shift Correlation
HPLC	chromatographie liquide haute performance
INADQT	Incredible Natural Abundance Double-Quantum Transfer Experiment
liaison H	liaison hydrogène
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
PKC	protéine kinase C
RMN	résonance magnétique nucléaire
RX	rayons X
SN2	substitution nucléophile d'ordre 2
TFA	acide trifluoroacétique
T	thymine



*Loin.  
Loin et ailleurs.*

*Vague odeur de café et de citronnelle.  
Le vol d'un moustique,  
Friselis velouté du silence.  
Déchirures de papier noirci.*

*Nuit.*

*Tic-tac métronomique du temps qui s'écoule.  
Miroirs vides, fenêtre ouverte, pluie.  
Flaques de transparence.  
Tentation d'éternité.*

*Une main qui s'agite,  
Fébrile.  
Feuillets amoncelés, griffés.  
Tentation d'éternité.  
Une lèvre qui frémit,  
Indécise,  
Qui ose à peine encore  
Sourire.*

*Soupir.  
Lassitude, lassitude et obstination.  
A la lisière de la conscience,  
Bulles de pensée.*

*Vague senteur de pluie,  
Tentation de l'orage.  
Tonnerre apprivoisé.  
Un éclair abîme le crépuscule.*

*Point final.*

*Natali*

## *INTRODUCTION*

De tout temps, la maladie, la souffrance et la mort ont constitué des soucis majeurs pour l'homme. Les remèdes, dans des temps très reculés, consistaient en des prières, des incantations. Bien souvent, il trouvaient également leur origine dans la nature et étaient connus des populations par le fait de simples observations. Au 19<sup>ème</sup> siècle, le développement des sciences (biologie, biochimie...) a permis de découvrir des principes actifs à partir de ces modèles naturels. Par la connaissance de leur formule chimique, les scientifiques se sont alors lancés dans la synthèse de composés analogues (isostères) ou plus récemment dans des techniques telles que la modélisation moléculaire pour identifier des pharmacophores. L'intérêt pour le chimiste, en partant d'une structure chimique nouvelle, est de développer des molécules plus actives et/ou moins toxiques dans la pathologie considérée et de découvrir de nouveaux "lead compounds".

Jusque dans les années 70, un grand nombre de molécules médicamenteuses a été trouvé par des observations accidentelles, des trouvailles fortuites ou un tri systématique. A l'heure actuelle, les approches se montrent plus rationnelles (drug design) et reposent sur la connaissance des enzymes, récepteurs, de la nature des désordres biochimiques impliqués dans les pathologies.

Plusieurs démarches sont suivies pour la découverte de molécules conduisant à des chefs de file médicamenteux :

- tri systématique de molécules synthétisées,
- valorisation d'observations du monde animal, végétal ou minéral,
- modifications de molécules actives connues,
- approches rationnelles (cette dernière catégorie étant étroitement reliée aux modifications de molécules actives connues).

Le tri systématique peut s'effectuer verticalement (un nombre limité de molécules est étudié de manière approfondie sur différentes pathologies) ou horizontalement (un grand nombre de molécules est évalué sur un modèle expérimental bien défini (cancer par exemple)).

Les informations issues de la nature représentent une contribution majeure à la découverte de nouveaux principes actifs. La reproduction par synthèse totale de substances naturelles puis la synthèse d'analogues permettent la mise en évidence de pharmacophores.

Les modifications de molécules actives connues constituent la pratique la plus répandue dans le domaine de la recherche pharmaceutique. Elles s'appuient sur des principes bien connus de

bioisostérie et permettent de trouver de nouveaux pharmacophores ou d'affiner ceux existants. Il est alors possible de concevoir des composés plus actifs et/ou moins toxiques.

Par ailleurs, les progrès de la pharmacologie, dus au développement de méthodes biochimiques (utilisation d'éléments marqués...), l'impact de la biologie moléculaire pour une meilleure caractérisation des récepteurs, ainsi que les méthodes informatiques ont permis de concevoir des médicaments sur des bases plus scientifiques. L'élément clé rendant possible ces approches rationnelles est la connaissance de l'étiologie de la maladie ou des processus biochimiques perturbés. La recherche médicamenteuse a donc connu une grande évolution au fil du temps. La lutte contre le cancer en est un bon exemple et, en particulier une famille d'anticancéreux : les inhibiteurs de topoisomérase II. En effet, à l'origine de cette famille se trouve un produit d'origine naturelle antimitotique, la podophyllotoxine. Par des travaux d'hémisynthèse ont émergé deux composés utilisés en clinique, l'étoposide et le téniposide, inhibiteurs d'une enzyme alors inconnue : la topoisomérase II. Diverses expériences avec ces deux composés ont permis de mieux connaître leur cible et de découvrir des composés intercalants variés à activité d'inhibition de l'enzyme. De nombreux analogues structuraux de l'étoposide et du téniposide synthétisés ont permis l'élaboration de relations structure-activité. Enfin, une approche exclusivement rationnelle, par conception indirecte assistée par ordinateur a permis l'émergence d'une nouvelle structure inhibitrice de topoisomérase II qui semble prometteuse : l'azatoxine.

Notre intérêt s'est donc porté sur ces modèles d'inhibiteurs de topoisomérase II. Nous avons ainsi décidé, sur les bases des relations structure-activité existantes et de pharmacomodulations, de concevoir et synthétiser de nouveaux inhibiteurs potentiels de topoisomérase II

## **CHAPITRE I**

# **TOPOISOMERASES : ENZYMES CLES DANS LA TOPOLOGIE DE L'ADN**

Les topoisomérases constituent une famille d'enzymes modifiant la topologie de l'ADN. Elles changent l'ADN superhélicoïdal en ADN circulaire fermé (fig.1). Des études utilisant des topoisomérases purifiées ont montré d'autres actions telles que le "nouement-dénouement" et la "caténation-décaténation" de l'ADN (fig.1) (Hsieh et Brutlag, 1980 ; Liu et coll., 1976 et 1980). Ces enzymes interviennent ainsi dans des processus cellulaires très variés, tels que la transcription, la réplication et la ségrégation chromosomique. Elles sont nécessaires pour la viabilité de tous les organismes, de la bactérie à l'homme (Binaschi et coll., 1995 ; Corbett et Osheroff, 1993 ; Pommier, 1993 ; Wang, 1996 ; Watt et Hickson, 1994).

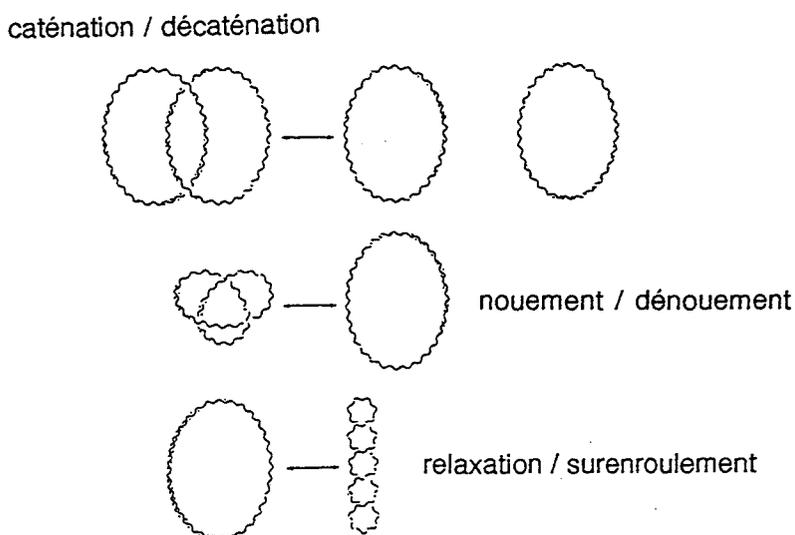


figure 1: Représentation schématique des activités de relaxation, de "nouement-dénouement" et de "caténation-décaténation" de l'ADN par la topoisomérase II (d'après Watt et Hickson, 1994)

Ces enzymes peuvent être classées en deux grandes catégories suivant leur mode d'action. Les topoisomérases de type I induisent des cassures monobrin de l'ADN, permettant le passage d'un ADN monobrin intact au travers du brin coupé, alors que les topoisomérases de type II provoquent des cassures double-brins d'ADN, permettant le passage d'une autre hélice d'ADN au travers des segments coupés avant de resouder ceux-ci.

En plus de leurs modes d'action différents, les topoisomérases se démarquent dans leur spécificité pour les différentes conformations de l'ADN : les topoisomérases procaryotes de type I et II sont

spécifiques des ADN surenroulés respectivement négativement et positivement. Les topoisomérases eucaryotes de type I et II, quant à elles, sont aussi actives sur chacune des formes d'ADN surenroulé.

Les enzymes de type I peuvent être regroupées en deux sous-classes distinctes :

- les topoisomérases de type IA (Wang, 1996) (topoisomérases III et V), enzymes "procaryote-like" (Watt et Hickson, 1994) se lient à l'ADN en formant des liaisons 3'-phosphotyrosyle et ne requièrent pas la présence de cation divalent pour relaxer les surenroulements négatifs et positifs de leur substrat,

- les topoisomérases IB (Wang, 1996), enzymes "eucaryote-like" (Watt et Hickson, 1994) forment des liaisons 5'-phosphotyrosyle avec l'ADN et requièrent la présence d'ions  $Mg^{2+}$  pour effectuer leur cycle catalytique et relaxer les surenroulements négatifs de leur substrat (Sharma et Mondragon, 1995).

Les enzymes de type II, enzymes homodimériques, sont représentées par les topoisomérases II (eucaryotes), la gyrase (topoisomérase II bactérienne) et la topoisomérase IV. Celles-ci ont besoin d'ions  $Mg^{2+}$  et d'ATP (contrairement aux topoisomérases de type I) (Wigley, 1995) pour effectuer leur cycle catalytique. La topoisomérase IV, la plus récemment découverte, ressemble beaucoup d'un point de vue structural à la gyrase bactérienne (les deux gènes *parC* et *parE* codant pour la topoisomérase IV sont analogues des gènes *gyrA* et *gyrB* codant pour la gyrase) (Wang, 1996), mais elle ne peut, contrairement à celle-ci, effectuer des surenroulements négatifs. La topoisomérase IV apparaît donc plus proche, dans son action, de la topoisomérase II eucaryote (Wigley, 1995).

Les topoisomérases II eucaryotes sont présentes dans les cellules sous deux formes qui diffèrent l'une de l'autre par leurs séquences primaires. La purification de topoisomérase II eucaryote fournit deux polypeptides de 170 et 180 kDa (isoformes  $\alpha$  et  $\beta$ ). Les proportions de l'un par rapport à l'autre diffèrent selon les lignées cellulaires considérées. La forme  $\alpha$  n'est pas un produit de protéolyse de la forme  $\beta$ , puisque les produits de digestion des deux protéines sont différents et que des anticorps réagissant avec l'une des formes ne réagissent pas avec l'autre (Binaschi et coll., 1995 ; Capranico et Zunino, 1995 ; Watt et Hickson, 1994). Ces deux types de topoisomérase II ont des propriétés biochimiques différentes et elles ne subissent pas la même régulation dans les cellules : dans un certain nombre de lignées cellulaires en culture, la forme  $\alpha$  est prépondérante dans les cellules en croissance rapide, alors que la forme  $\beta$  est dominante dans les cellules en croissance plus lente.

Dans la suite de ce chapitre, nous nous intéresserons plus particulièrement aux topoisomérases II eucaryotes, cibles de nombreux agents anticancéreux.

### 1 - Cycle catalytique de la topoisomérase II

Le cycle catalytique de la topoisomérase II peut être séquencé en différentes étapes successives :

1°/ La topoisomérase II se lie de manière non covalente en des points de juxtaposition hélice-hélice (Wang, 1996). Le binding s'effectue sur des séquences d'acides aminés préférentielles et ne requiert aucun cofacteur (Corbett et Osheroff, 1993). L'enzyme se présente alors sous forme d'un "collier" ouvert (Binaschi et coll., 1995 ; Capranico et Zunino, 1995).

2°/ En présence d'un cation divalent (souvent  $Mg^{2+}$ ), la topoisomérase II établit un équilibre de clivage/resoudure en coupant les deux brins de l'ADN à l'intérieur de sa séquence de reconnaissance (Corbett et Osheroff, 1993). Chaque sous-unité de l'enzyme est alors attachée, par des liaisons covalentes, aux extrémités 5'-phosphate formées via une liaison O-phosphotyrosyle et aux extrémités 3' coupées (Binaschi et coll., 1995 ; Capranico et Zunino, 1995). A cause de la nature transitoire de l'interaction covalente entre l'enzyme et l'ADN double-brin, l'addition d'un composé dénaturant tel que le sodium dodécylsulfate est nécessaire pour détruire l'équilibre clivage/resoudure réalisé par l'enzyme et piéger celle-ci dans son état de complexe avec l'ADN (Corbett et Osheroff, 1993).

3°/ La topoisomérase II, de par le binding de son cofacteur ATP, est soumise à un changement conformationnel (Corbett et Osheroff, 1993). Celui-ci a pour effet de fermer la structure en "collier" après capture d'une deuxième paire de brins d'ADN.

4°/ Le segment d'ADN intact est transporté au travers de l'ADN clivé et peut être ensuite libéré de la protéine.

5°/ L'hydrolyse de l'ATP régénère la conformation de l'enzyme en "collier" ouvert, permettant à celle-ci de se dissocier de l'ADN et d'initier un nouveau cycle catalytique ("turn-over").

Très récemment encore, dans le cadre des topoisomérases II eucaryotes, les mécanismes de transport de l'ADN intact, au travers de l'ADN clivé, couplés au binding et à l'hydrolyse de l'ATP étaient méconnus. Des études sur la gyrase bactérienne ont montré que l'enzyme homodimérique forme une cavité entre ses deux parties monomériques, tapissée de résidus basiques et d'un diamètre d'environ 20Å. Cette cavité est d'une taille suffisante pour permettre le passage d'un ADN double-brin. Des changements conformationnels apportés par le cofacteur ATP pourraient ouvrir et fermer cette cavité. Par ailleurs, une série d'expériences sur une topoisomérase II de levure ont suggéré que l'enzyme utilise l'ATP pour former un "collier" fermé qui bloque l'ADN.

Une ambiguïté demeurait toutefois sur la façon dont l'ADN double-brin intact était capable de quitter le complexe ADN-enzyme. Deux hypothèses avaient été émises (fig.2). La première envisageait un mécanisme dans lequel le premier ADN (nommé G) entrait dans la cavité et était coupé par l'enzyme. Le second ADN (nommé T) entrait par cette même cavité. Après resoudure de G par la topoisomérase II, l'ensemble T-G quittait l'enzyme par la même ouverture. La deuxième hypothèse envisageait, quant à elle, la formation d'une deuxième ouverture après capture de T par le collier fermé, cet ADN quittant alors le complexe par le côté opposé (Orphanides et Maxwell, 1994). Des travaux de Roca et Wang (Roca et Wang, 1992) ont permis de trancher en faveur du second modèle grâce à des expériences de binding de topoisomérase II eucaryote à l'ADN en présence d'un analogue non hydrolysable d'ATP (fig.3 p.9).

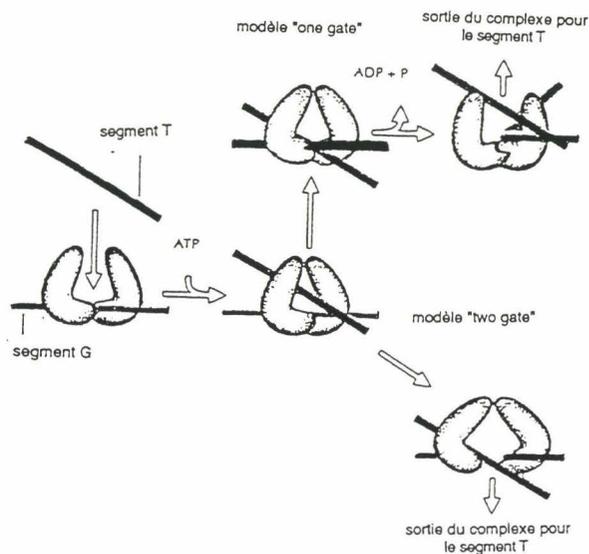


figure 2: Représentation schématique des deux modèles hypothétiques de cycle catalytique de la topoisomérase II (d'après Orphanides et Maxwell, 1994)

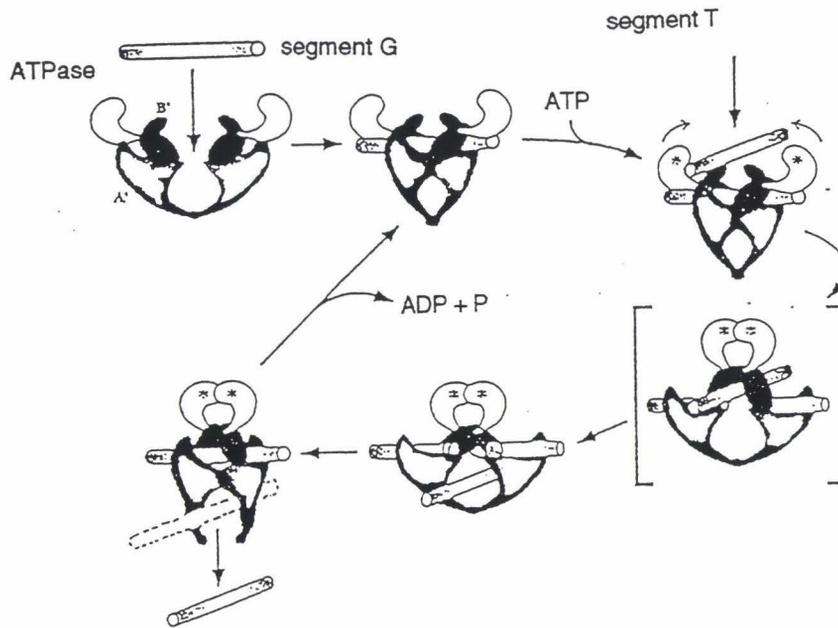


figure 3 : Représentation schématique du modèle "two-gate" retenu pour le cycle catalytique de la topoisomérase II (d'après Maxwell, 1996)

## 2 - Principales fonctions biologiques de la topoisomérase II (Wang, 1996 ; Watt et Hickson, 1994)

Les topoisomérases II interviennent dans de nombreux processus cellulaires de par leur capacité à modifier la topologie de l'ADN. Leurs fonctions biologiques sont donc multiples.

### 2.1 - réplication et transcription

La réplication est le processus cellulaire le mieux connu générant des surenroulements d'ADN intracellulaires. Les topoisomérases II sont capables d'enlever ces surenroulements et permettent ainsi la séparation des brins d'ADN "parents". Un second exemple de processus cellulaire engendrant des surenroulements est la transcription, mais le rôle des topoisomérases II dans celle-ci est moins clair.

## 2.2 - condensation et décondensation chromosomique - condensation de la chromatine

Les topoisomérases II affectent la condensation et la décondensation chromosomiques. Néanmoins, les mécanismes concernant ces effets sont encore mal connus. Il semblerait toutefois que la phosphorylation et la déphosphorylation de l'enzyme (cf p.14 et 15) puissent entrer en jeu dans ces mécanismes. Ces enzymes participent également à la condensation de l'ADN en chromatine, puis de la chromatine en chromosomes mitotiques. De plus, elles sont nécessaires à la décondensation de ces structures. Enfin, les topoisomérases II sont capables d'intervenir dans des processus de recombinaison d'ADN et de s'associer à d'autres protéines (protéine-kinases, caséine-kinase II...).

## 3 - Structure de la topoisomérase II eucaryote

### 3.1 - homologies de séquence primaire entre les différentes topoisomérases de type II

Il existe un grand degré d'homologie de séquences en acides aminés entre les différentes topoisomérases II eucaryotes et procaryotes (Capranico et Zunino, 1995 ; Sharma et Mondragon, 1995 ; Wigley, 1995), ainsi qu'entre les isoformes  $\alpha$  et  $\beta$  (Austin et coll., 1993), excepté en ce qui concerne le domaine C-terminal de ces enzymes. Ainsi, différents domaines structuraux ont pu être mis en évidence sur la base d'homologies avec la gyrase bactérienne.

### 3.2 - domaines structuraux des topoisomérases II eucaryotes

Trois domaines structuraux ont été décelés pour les topoisomérases II.

**Le domaine N-terminal**, contenant le site de binding de l'ATP, est la région la mieux conservée dans toutes les topoisomérases de type II. Cette région est homologue de la sous-unité gyrB de la gyrase bactérienne. La structure d'un fragment de celle-ci correspondant au domaine ATPase a été élucidée par diffraction de RX et montre la présence d'une cavité centrale de diamètre suffisant pour contenir un ADN double-brin (Sharma et Mondragon, 1995 ; Watt et Hickson, 1994 ; Wigley et coll.,

1991) (cf fig.4 p.12). Les acides aminés 103 à 126 de la sous-unité *gyrB* participent au binding de l'ATP et incluent une séquence conservée dans toutes les topoisomérases II (Capranico et Zunino, 1995). Dans l'enzyme humaine, les acides aminés 150 à 166 correspondent aux acides aminés 103 à 119 de *gyrB* (Wigley et coll., 1991).

**Le domaine central**, homologue de la sous-unité *gyrA*, contient le site actif tyrosine essentiel à l'établissement de l'équilibre clivage/resoudure effectué par l'enzyme. Trois motifs EGDSA, PLRGK et IMTDK sont conservés dans celui-ci. Les deux premiers motifs correspondent à des "boucles" que l'on trouve dans la structure de la  $\gamma$   $\delta$  resolvase, une protéine capable de transférer un brin d'ADN vers une extrémité d'ADN accepteur (Capranico et Zunino, 1995 ; Watt et Hickson, 1994). Des insertions de courtes chaînes près de ces motifs font chuter l'activité de la topoisomérase II de la drosophile. De plus, des mutations à l'intérieur ou à proximité de la séquence PLRGK conduisent à des enzymes résistantes aux composés inhibiteurs de topoisomérase II. Tous ces résultats suggèrent que ces régions conservées sont impliquées dans le binding de l'ADN et/ou la phase de clivage/resoudure et dans le binding des inhibiteurs au complexe ADN-enzyme (Capranico et Zunino, 1995).

**Le domaine C-terminal**, domaine le plus variable des topoisomérases II, est important pour la régulation de l'activité enzymatique et fortement phosphorylé (cf p.15).

A la connaissance des domaines structuraux relativement bien définis de ces topoisomérases de type II est venue s'ajouter l'élucidation de structures tridimensionnelles de certains de leurs fragments. La connaissance de ces structures tridimensionnelles peut permettre de mieux comprendre les mécanismes par lesquels ces enzymes, et en particulier la topoisomérase II humaine, interagissent avec leurs inhibiteurs et l'ADN.

### 3.3 - structures tridimensionnelles de fragments de topoisomérases de type II

Ces dernières années, des structures tridimensionnelles de fragments de topoisomérases ont été élucidées par cristallographie et par RMN. Sont concernés un fragment de 67 kDa de topoisomérase de type IA (E.Coli), deux fragments de 9 et 26 kDa d'une topoisomérase de type IB (topoisomérase I de levure), un fragment de 43 kDa de la sous-unité *gyrB* d'E.Coli et un fragment de 92 kDa d'une

topoisomérase II de levure. Ces deux fragments de topoisomérases II différentes représentent des régions bien conservées dans ce type d'enzymes.

3.3.1 - fragment de 43 kDa de la sous-unité *gyrB* d'*E.Coli* (Sharma et Mondragon, 1995 ; Wang, 1996) (fig.4)

Ce fragment comprend 392 acides aminés à l'intérieur desquels se trouve le domaine ATPase de la gyrase. Il peut être divisé en deux sous-domaines. Les acides aminés 2 à 220 contiennent le site de binding de l'ATP (N-terminal). Le C-terminal est formé en particulier d'un feuillet  $\beta$  et de quatre hélices. Les parties extrêmes des N- et C-terminaux de l'un des monomères (résidus 2 à 15 et 366 à 392) forment des "bras" qui effectuent des contacts avec les extrémités correspondantes du second monomère. Ces contacts définissent une cavité de 20 Å dans le dimère.

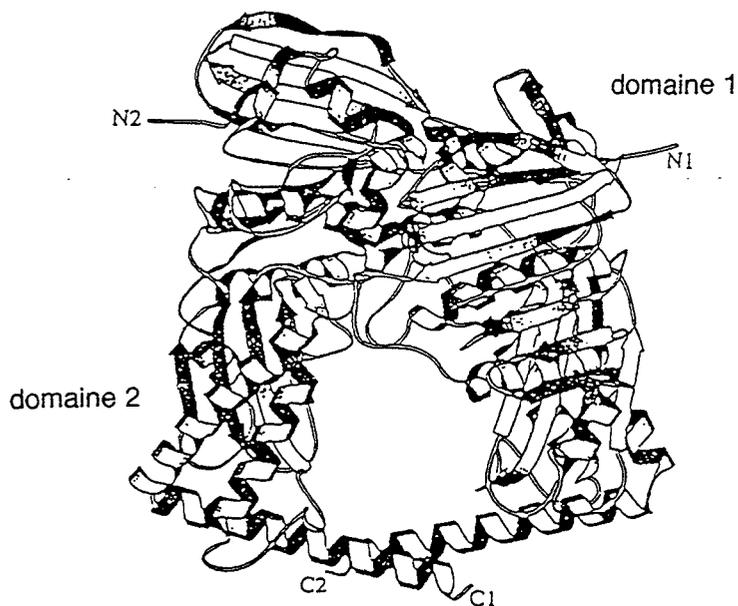


figure 4 : Structure du fragment de 43 kDa de gyrase d'*E.Coli* (d'après Sharma et Mondragon, 1995)

3.3.2 - fragment de 92 kDa d'une topoisomérase II de levure (Berger et coll., 1996 ; Maxwell, 1996 ; Wang, 1996) (fig.5 p.13)

Ce fragment comprend les résidus 410 à 1202 de cette enzyme de 1429 acides aminés. Sa structure cristalline montre une nature dimérique et la présence d'une large cavité. Ce fragment peut être divisé

en deux sous-parties. La sous-partie B' (résidus 410 à 660) est homologue de la moitié C-terminale de gyrB, la sous-partie A' étant elle homologue de gyrA dépourvue de ses 250 derniers acides aminés C-terminaux. Les contacts dimériques impliquent les résidus 1036 à 1128. Le fragment se présente sous forme d'un V composé des deux parties A', l'ouverture de ce V étant coiffée d'une "arche" composée des deux parties B' créant une large cavité. Les deux sites actifs tyrosines sont positionnés à proximité de l'ouverture du V. Dans un modèle où l'ADN clivé par l'enzyme fait partie de la structure cristalline, deux paires de "sillons" semi-circulaires de 20-25 Å chacun, situés près de l'ouverture du V, peuvent accueillir 10 à 12 paires de bases d'ADN avec, en surplomb, l'extrémité 5'-phosphoryle liée à la tyrosine 783 (tyrosine du site actif) au travers d'un tunnel étroit composé de résidus des parties A' et B'.

Des considérations du même type ont été faites en visualisant par microscopie électronique la structure et les changements conformationnels d'une topoisomérase II humaine (Schutz et coll., 1996).



figure 5 : Structure du fragment de 92 kDa de topoisomérase II de levure (Maxwell, 1996)

Une notion importante concernant l'activité des topoisomérases II, abordée succinctement dans l'énoncé de leurs différents domaines structuraux (cf domaine C-terminal p.11) est la phosphorylation subie par ces enzymes. La phosphorylation est en effet une réaction cruciale rencontrée dans les mécanismes de prolifération et de transformation cellulaires (Markovits et coll., 1989).

## 4 - Phosphorylation de la topoisomérase II

### 4.1 - généralités

L'activité de la topoisomérase II est régulée par phosphorylation pendant le cycle cellulaire, ainsi que sa sensibilité vis-à-vis de ses inhibiteurs (Watt et Hickson, 1994). Les plus forts taux de phosphorylation se situent en phases G<sub>2</sub> et M du cycle cellulaire (Bojanowski et coll., 1993 ; Cardenas et Gasser, 1993 ; Corbett et coll., 1992 ; Corbett et Osheroff, 1993 ; Crenshaw et Hsieh, 1993 ; De Vore et coll., 1992). Les résidus modifiés de l'enzyme sont pour la plupart des sérines mais peuvent être aussi des thréonines (Corbett et Osheroff, 1993 ; De Vore et coll., 1992). L'activité catalytique de la topoisomérase II est généralement augmentée par les processus de phosphorylation (Shiozaki et Yanagida, 1992), ceci par stimulation de l'hydrolyse de l'ATP (Bojanowski et coll., 1993 ; Corbett et coll., 1992).

### 4.2 - mise en évidence des protéine-kinases impliquées dans la phosphorylation de l'enzyme

La topoisomérase II est phosphorylée *in vitro* et *in vivo* principalement par la caséine kinase II (notée CK-II) et plus faiblement par la protéine-kinase C (PKC) (Alghisi et coll., 1994 ; Bojanowski et coll., 1993 ; Capranico et Zunino, 1995 ; Cardenas et Gasser, 1993 ; Corbett et coll., 1992 ; Crenshaw et Hsieh, 1993 ; De Vore et coll., 1992 ; Watt et Hickson, 1994).

La CK-II (Bojanowski et coll., 1993 ; Cardenas et Gasser, 1993), agent principal de la phosphorylation de l'enzyme, est une kinase ubiquitaire sérine-thréonine, exprimée chez les eucaryotes. Elle entre en jeu dans des processus liés à la croissance et à la différenciation cellulaires. Elle possède de nombreux substrats biologiques incluant des enzymes, des protéines du cytosquelette, des facteurs de transcription, des produits d'oncogènes...

Cette enzyme et, dans une moindre mesure la PKC, phosphorylent la topoisomérase II surtout sur sa partie C-terminale.

#### 4.3 - phosphorylations de la partie C-terminale de la topoisomérase II

Il a été montré que l'activité de décaténation d'une topoisomérase II de levure *in vitro* est restaurée lorsque CK-II phosphoryle la partie C-terminale sur de multiples résidus sérines et thréonines (Cardenas et Gasser, 1993 ; Cardenas et coll., 1993 ; Crenshaw et Hsieh, 1993). Toutefois, ces sites de phosphorylation ne sont pas encore identifiés de manière univoque (Watt et Hickson, 1994) (il pourrait aussi exister des sites de phosphorylation au niveau de la partie N-terminale de l'enzyme (Watt et Hickson, 1994)).

La partie C-terminale, la plus variable dans les topoisomérases de type II (comme précisé p.11), est non essentielle à l'activité enzymatique. Elle constituerait un domaine de régulation négative neutralisé par phosphorylation (Alghisi et coll., 1994 ; Capranico et Zunino, 1995 ; Cardenas et Gasser, 1993 ; Cardenas et coll., 1993 ; Crenshaw et Hsieh, 1993 ; Watt et Hickson, 1994).

Par ailleurs, la phosphorylation de ce C-terminal pourrait servir de signal de localisation nucléaire de l'enzyme (Capranico et Zunino, 1995 ; Wigley, 1995). En effet, la topoisomérase II d'un virus eucaryote responsable d'une fièvre africaine (ASP) a été clonée et séquencée : elle est plus petite que les autres topoisomérases II eucaryotes car elle ne possède pas le domaine C-terminal habituellement phosphorylé. Ceci serait dû au fait que cette enzyme n'a pas besoin d'être transportée dans le noyau et doit demeurer dans le cytoplasme au moment de la réplication du virus (Wigley, 1995).

Enfin, la phosphorylation du domaine C-terminal modulerait la sensibilité de l'enzyme vis-à-vis de ses inhibiteurs.

*CHAPITRE II*

*TOPOISOMERASE II: CIBLE D'INHIBITEURS  
VARIES*

## **1 - Introduction**

Les composés inhibant l'activité de la topoisomérase II sont très nombreux et très variés. Leurs modes d'action et leurs effets sur les activités de l'enzyme sont également très divers.

Historiquement, ces inhibiteurs étaient classés selon leur caractère d'intercalation ou de non-intercalation de l'ADN. Dans la plupart des cas, ceux-ci possèdent un système polycyclique aromatique plan qui interagit par "stacking" avec les paires de bases de l'ADN. Cependant, cette classification n'est plus représentative car ces composés, intercalants ou non, partagent un mode d'action commun (même s'il semble que leurs sites récepteurs soient en partie seulement superposables) : ils interfèrent avec le cycle catalytique de l'enzyme en formant un complexe ternaire ADN-topoisomérase II-agent et stimulent ainsi le clivage d'ADN. Au contraire, d'autres composés inhibent l'activité de l'enzyme sans stimuler ce clivage.

La classification des inhibiteurs de topoisomérase II adoptée actuellement les différencie suivant leur caractère de "clivant" d'ADN (stabilisation du complexe clivable par formation d'un complexe ternaire et stimulation du clivage d'ADN) ou de "non-clivant" d'ADN (pas de stabilisation du complexe clivable, pas de stimulation du clivage d'ADN). Toutefois, les mécanismes d'action de nombreux composés inhibiteurs de l'enzyme récemment apparus sont encore très obscurs. Ainsi, après avoir présenté ces composés suivant leur caractère de "clivant" ou "non clivant" d'ADN et montré les ambiguïtés et limites de cette classification, nous tenterons d'adopter une nouvelle approche fondée plus particulièrement sur la connaissance des mécanismes d'action et de la structure de la topoisomérase II.

## **2 - Inhibiteurs de topoisomérase II "clivants"**

### 2.1 - diversité des composés

Les inhibiteurs de topoisomérase II "clivants" représentent la majorité des inhibiteurs de topoisomérase II connus actuellement. Les principaux composés de cette classe sont regroupés dans les figures 6 à 8 (p.18 à 20). Certains d'entre eux sont des intercalants purs (ellipticines), d'autres sont non-intercalants (déméthylépipodophyllotoxines, azatoxine) ou ligands du petit sillon

(streptonigrine). Enfin, certains composés possèdent des caractéristiques multiples (partie intercalante + chaînes latérales s'insérant dans le petit sillon : anthracyclines, actinomycine D...).

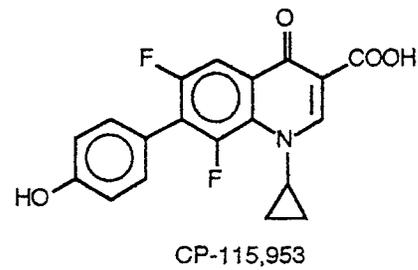
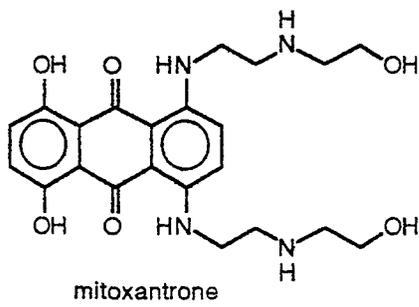
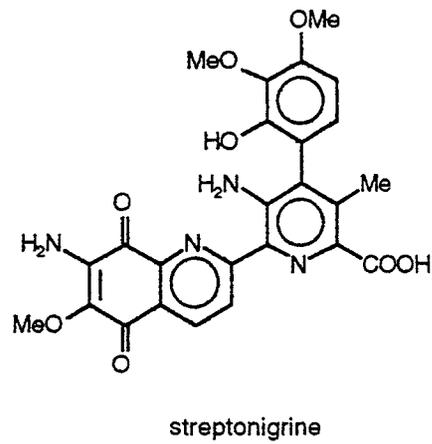
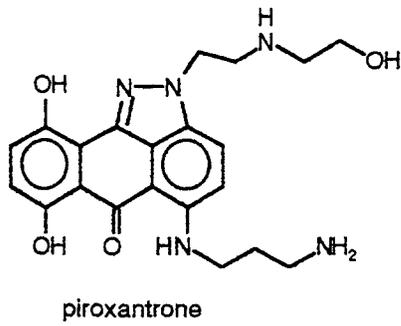
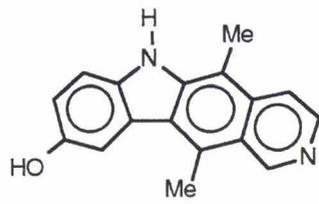
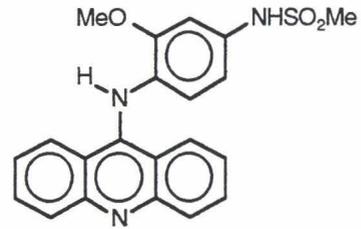


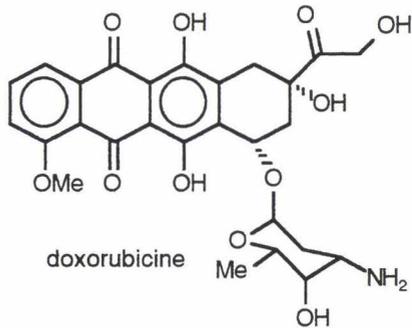
figure 6 : Structures chimiques d'inhibiteurs "clivants" de topoisomérase II



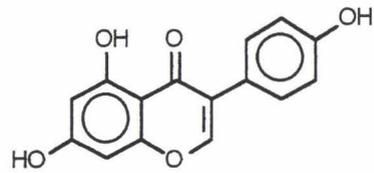
9-hydroxyellipticine



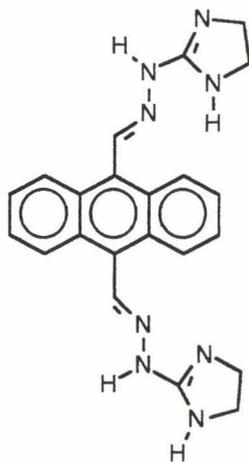
mAMSA



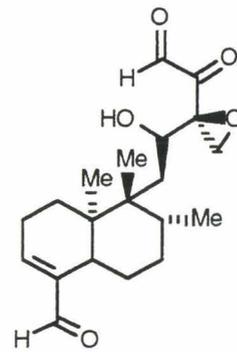
doxorubicine



génistéine

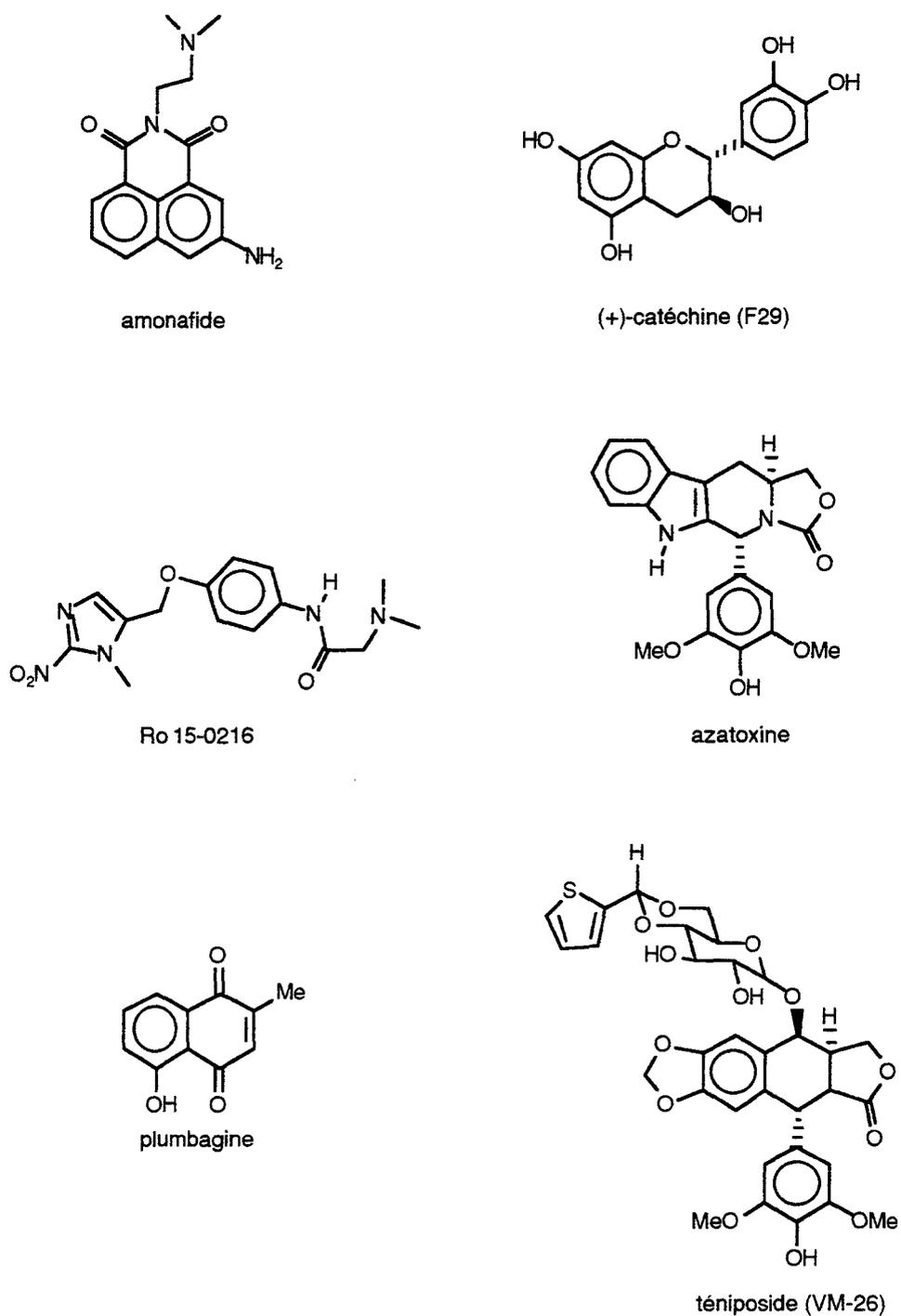


bisantrene



clérocidine

figure 7 : Structures chimiques d'inhibiteurs "clivants" de topoisomérase II



**figure 8** : Structures chimiques d'inhibiteurs "clivants" de topoisomérase II

## 2.2 - mise en évidence de spécificités de clivage

Les agents "clivants" inhibiteurs de topoisomérase II stimulent le clivage d'ADN engendré par l'enzyme suivant des modes de clivage spécifiques. Ils possèdent en effet des sites de clivage préférentiels

reconnus par l'enzyme et en particulier au niveau de nucléotides spécifiques situés aux abords de liaisons phosphodiester d'ADN coupés.

Ainsi, la plupart des agents clivants stimulent le clivage d'ADN en positions -1, +1 ou +2 (Capranico et Zunino, 1995). Cependant, il existe des différences non négligeables dans les modes de clivage de ces molécules, ce qui laisse supposer des sites d'intercalations différents ou, tout au moins, ne se recouvrant que partiellement. Par ailleurs, on peut admettre que deux molécules montrant des modes de clivage similaires interagissent dans le complexe ternaire en des sites identiques.

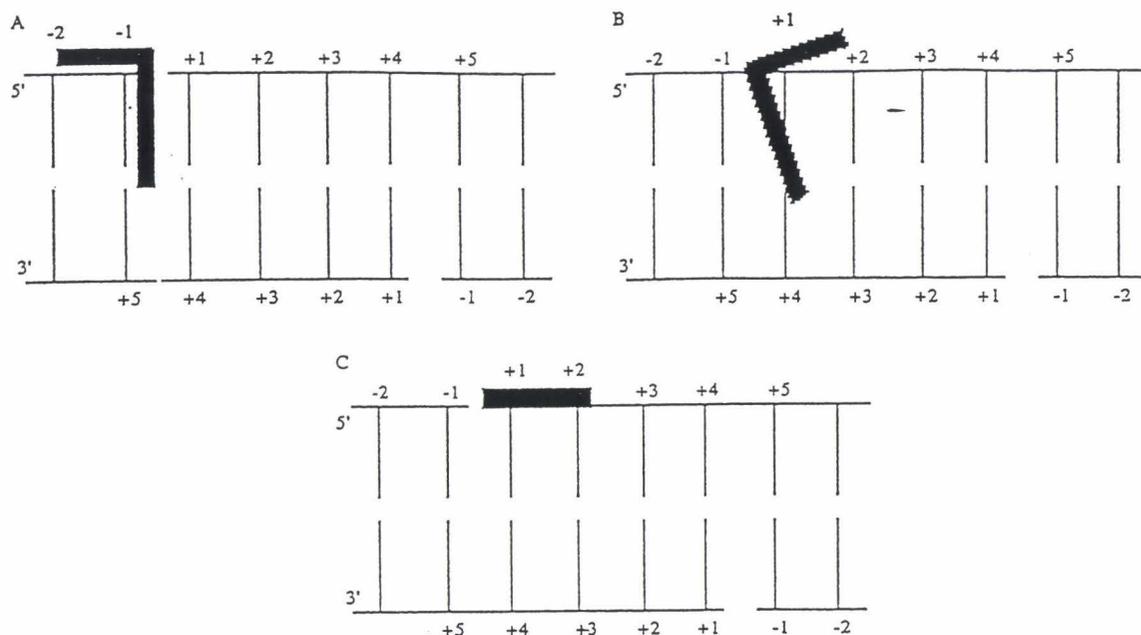
Les variations dans les modes de clivage peuvent être reliées à des modes d'interaction particuliers. Ainsi, trois modèles d'interaction des agents "clivants" dans le complexe ternaire ont été proposés par Capranico et Zunino (Capranico et Zunino, 1995).

### 2.3 - modèles de sites d'interaction dans le complexe ternaire pour les agents "clivants"

Trois modèles peuvent être imaginés selon que l'inhibiteur considéré stimule le clivage d'ADN en position -1, +1 ou +2. Toutefois, dans chacun de ces modèles, l'agent se place à l'interface protéine/ADN du site actif de l'enzyme et effectue des contacts étroits avec les bases de l'ADN au niveau des liaisons phosphodiester rompues (des positions -2 à +2).

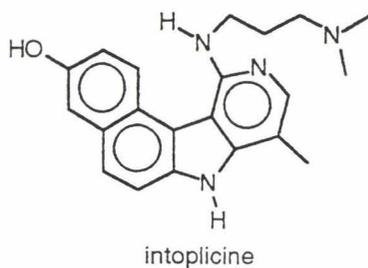
Les modèles présentent des sites d'interaction dans le complexe binaire ADN-enzyme se recouvrant partiellement. Dans les modèles A et B (fig.9 p.22) représentatifs de la plupart des inhibiteurs "clivants", l'agent interagit avec l'ADN par intercalation (modèle A) ou stacking avec les paires de bases (modèle B). Dans le modèle C (représenté jusqu'à présent uniquement par la streptonigrine), l'agent interagit dans le petit sillon de l'ADN.

Malgré ces différences, dans les trois cas de figure, une partie de l'agent est liée aux extrémités 3'-et/ou 5'- des brins d'ADN rompus, permettant ainsi une interférence avec la phase catalytique de cassure/resoudure de l'enzyme. Cette partie peut être constituée par des chaînes latérales présentes dans certains inhibiteurs et essentielles à l'activité d'inhibition de la topoisomérase II (Chourpa et coll., 1995 ; De Isabella et coll., 1995 ; Hsiang et coll., 1989 ; Mc Connaughie et Jenkins, 1995 ; Rene et coll., 1996 ; Sami et coll., 1996).



**figure 9** : Modèles de complexes ternaires avec superposition des sites récepteurs des agents. Les brins d'ADN sont représentés par les traits fins et les composés par les formes noires (Capranico et Zunino, 1995).

Dans ces représentations schématiques de modèles (fig.9) n'apparaissent pas les interactions enzyme-agent car la structure du site actif de l'enzyme est encore mal connue. Néanmoins, des études menées avec l'intoplicine (inhibiteur mixte de topoisomérase I et II) (fig.10) suggèrent qu'une partie de cette molécule se situerait dans une poche hydrophobe de l'enzyme. Après binding à l'ADN, l'intoplicine serait expulsée de l'enzyme et formerait des liaisons de type hydrogène et du stacking avec l'ADN (Capranico et Zunino, 1995).



**figure 10** : Structure chimique de l'intoplicine

A ces modèles d'interaction peut être ajouté un modèle hypothétique de pharmacophore unifié pour les inhibiteurs de topoisomérase II "clivants".

#### 2.4 - modèle hypothétique de pharmacophore unifié (Mc Donald et coll., 1991).

Des études de modélisation moléculaire ont été menées afin de mieux comprendre la nature du site d'association des inhibiteurs dans le complexe ternaire. Un pharmacophore présumé a été construit par superposition de différents inhibiteurs de topoisomérase II intercalants et de l'étoposide (fig.11)

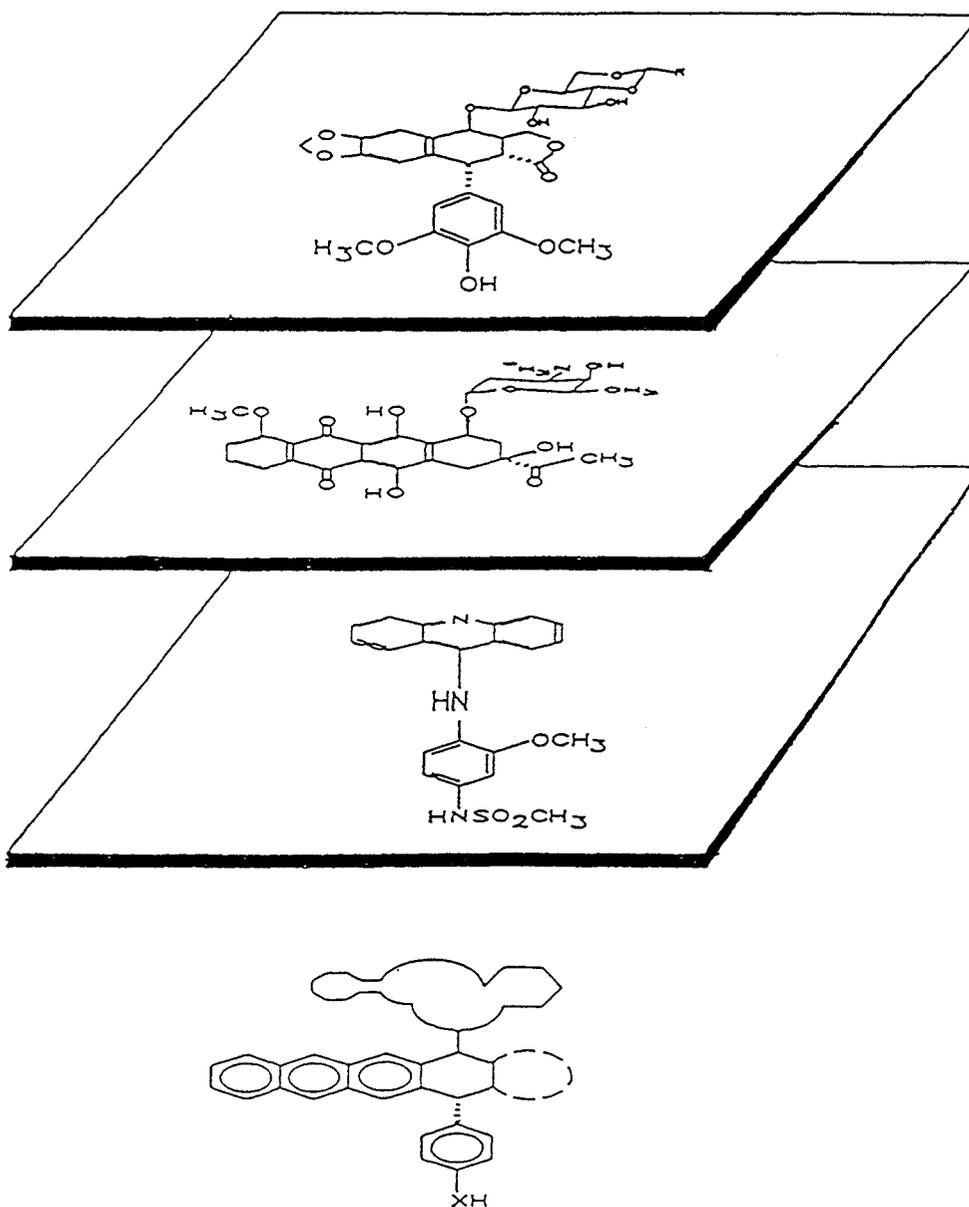
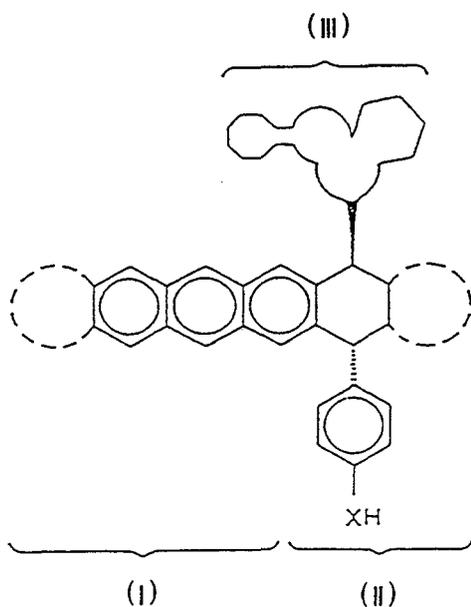


figure 11 : Modèle hypothétique de pharmacophore unifié (Mc Donald et coll., 1991)

Trois domaines ont pu être identifiés (fig.12) :

- une partie polycyclique plane qui correspond à la partie plane des molécules intercalantes (I),
- un cycle aromatique parahydroxy ou sulfonilamino correctement orienté par rapport à la partie plane (appelé encore cycle pendent) (II),
- une région beaucoup plus variable (ex : résidu glycosyle des anthracyclines et des épipodophyllotoxines) correctement orientée par rapport à la partie plane (III).



**figure 12:** Pharmacophore hypothétique de l'inhibiteur de topoisomérase II

Pour les domaines situés de part et d'autre de la partie plane, une stéréochimie rigide est requise. Seule la classe des déméthylépipodophyllotoxines possède des sous-structures occupant chacun des domaines, bien que cette classe ne possède qu'un domaine d'intercalation "tronqué".

Les anthracyclines définissent les limites du domaine d'intercalation et possèdent un substituant dans le domaine variable.

Les aminoacridines possèdent des substituants dans le domaine plan et un groupement phényle parasubstitué.

Les anthracènediones ont des substituants dans le système plan et dans le domaine variable, et un substituant situé dans le domaine du groupement phényle parasubstitué et qui contient peut-être les éléments structuraux requis.

Les ellipticines, quant à elles, ne possèdent que des éléments du domaine d'intercalation.

Le pharmacophore obtenu par superposition requiert donc un site de binding qui, paradoxalement, montre peu de restrictions pour les ligands qui s'associent à lui, et, cependant, montre, dans l'occupation des différents domaines, une spécificité considérable pour la production du complexe ternaire ADN-enzyme-agent.

Les différents modèles d'interaction et le pharmacophore supposé des inhibiteurs de topoisomérase II "clivants" reflètent deux aspects très importants. D'une part, il semblerait que les exigences structurales requises pour obtenir une bonne activité d'inhibition de l'enzyme soient très diverses et très souples (tous les inhibiteurs ne possèdent pas des éléments dans tous les domaines du pharmacophore). D'autre part, des modifications structurales parfois très légères peuvent conduire à des activités et des modes de clivage très différents.

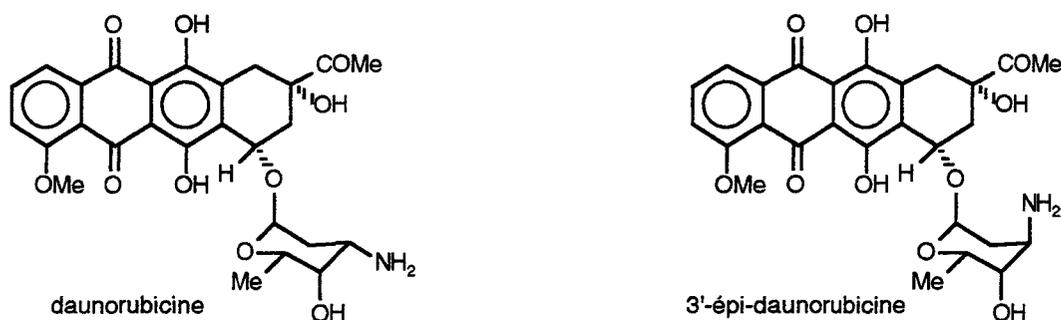
## 2.5 - diversité des activités d'inhibition de l'enzyme et des sites d'interaction

Si des molécules très différentes structurellement sont capables d'inhiber l'activité de la topoisomérase II et parfois avec des modes de clivage et des sites d'interaction similaires, il n'en reste pas moins, à l'opposé, que de faibles modifications de structures (et ceci dans une même famille de composés) peuvent aboutir à de grands bouleversements dans l'action des agents. Ainsi, on peut citer en particulier l'impact, dans une famille donnée, de l'introduction ou des modifications de chaînes latérales agissant au niveau du petit sillon de l'ADN, ou de substitutions diverses sur les noyaux aromatiques, par exemple, d'une famille de composés.

### 2.5.1 - exemples de l'influence des chaînes latérales

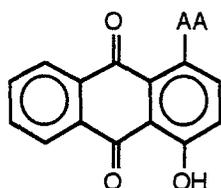
La 3'-épidaunorubicine (fig.13 p.26) qui ne diffère de la daunorubicine que par la position d'un groupement aminé situé sur la partie glycosyle, possède un mode de clivage totalement différent de la

molécule mère. Ce composé interagit avec une guanine de l'ADN en position -2, ce qui n'est pas le cas pour la daunorubicine (Capranico et Zunino, 1995).



**figure 13** : Structures chimiques de la daunorubicine et de la 3'-épi-daunorubicine

Des molécules hybrides conçues à partir du squelette anthracènedione avec des chaînes comportant des acides aminés divers modifiés sur leur extrémité C-terminale (fig.14) (Cummings et coll., 1995 ; Meikle et coll., 1995) s'avèrent être, suivant les cas, des inhibiteurs de topoisomérase I ou II, "clivants" ou "non-clivants".



AA = acide aminé modifié sur sa partie C-terminale

**figure 14**

### 2.5.2 - exemples d'influence des substitutions

Dans le cas des composés flavones ou isoflavones (fig.15 p.27) (Constantinou et coll., 1995), des substituants hydroxyles situés en différentes positions des cycles benzéniques conduisent à des composés inhibiteurs de topoisomérase I ou II, "clivants" ou "non-clivants".

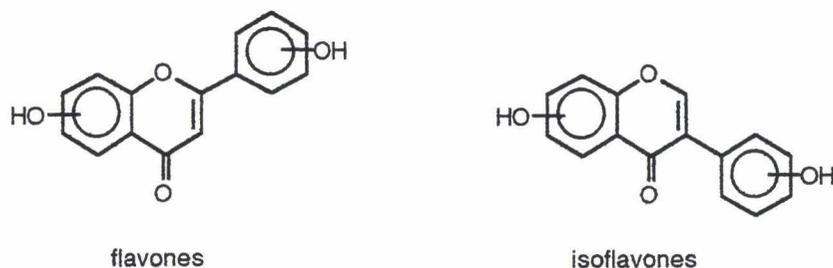


figure 15 : Formules générales de flavones et isoflavones

Le passage de molécules "clivantes" à des molécules "non-clivantes" est également observé dans le cas des terpénoïdes et triterpénoïdes (Kawada et coll., 1991).

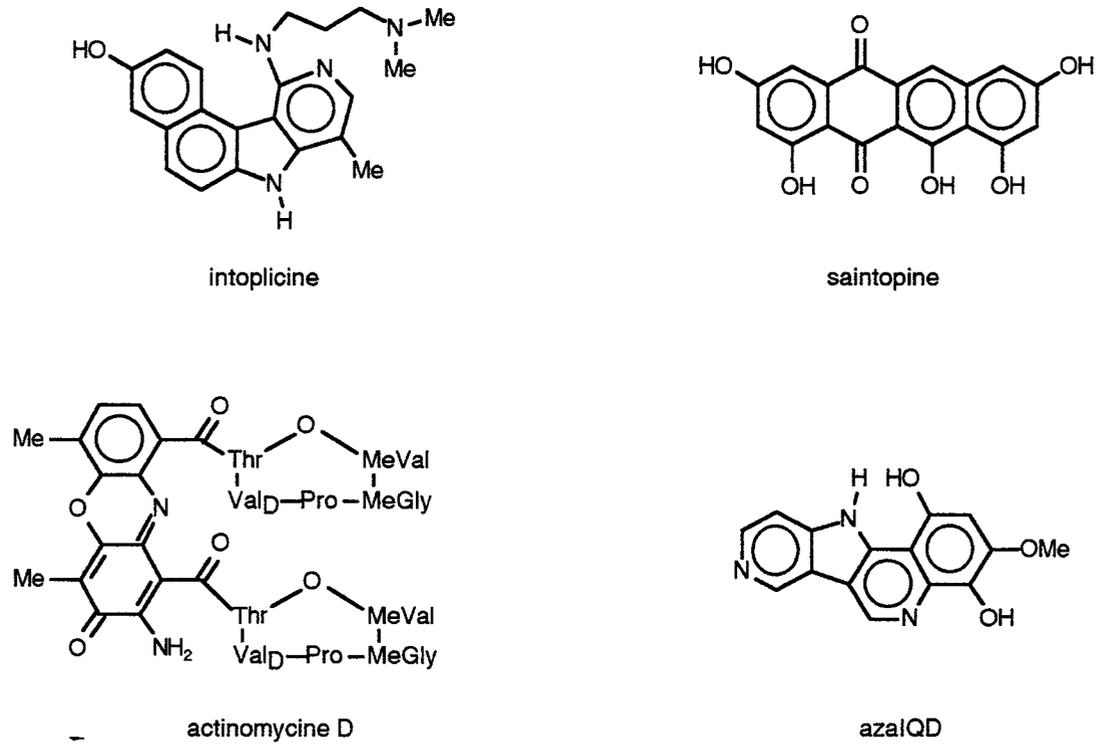
### **3 - Autres inhibiteurs de topoisomérase II**

#### 3.1 - inhibiteurs "clivants" mixtes topoisomérase I et II et inhibiteurs "non-clivants"

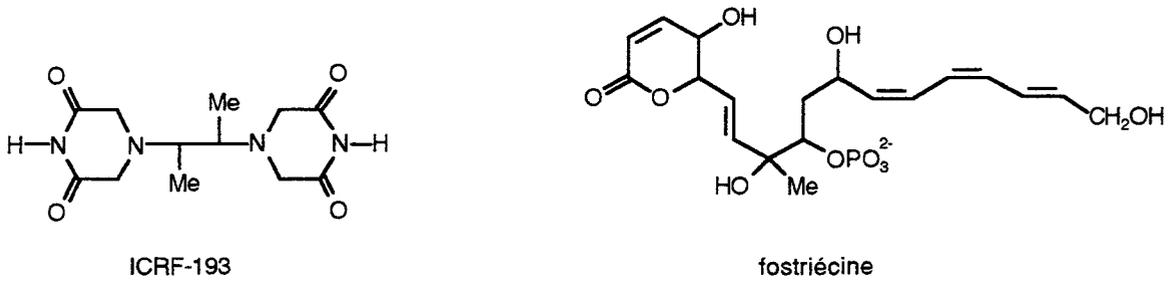
Ces classes d'inhibiteurs de topoisomérase II concernent les composés présentés figures 16 et 17 page 28.

Les agents "non-clivants" (Boritski et coll., 1988 ; Hasinoff et coll., 1995 ; Ishida et coll., 1995 ; Tanabe et coll., 1991 ; Takasuga et coll., 1995) ne stabilisent pas le complexe clivable. Ils inhibent l'activité catalytique de l'enzyme et empêchent le clivage d'ADN stimulé par le téniposide et mAMSA (Capranico et Zunino, 1995). Les mécanismes par lesquels ces agents affectent la topoisomérase II ne sont pas connus.

Cependant, l'action d'ICRF-193 (fig.17 p.28) vis-à-vis de la topoisomérase II a été récemment élucidée (Roca et coll., 1994). Ce composé se lie à l'enzyme sous forme de "collier" fermé en présence d'ATP, empêche ainsi son "turn-over" et bloque son activité catalytique (Hasinoff et coll., 1995 ; Roca et coll., 1994).



**figure 16** : Structures chimiques d'inhibiteurs mixtes "clivants" de topoisomérase I et II



**figure 17** : Structures chimiques d'inhibiteurs de topoisomérase II "non clivants"

### 3.2 - autres inhibiteurs de topoisomérase II

Quelques composés inhibiteurs de topoisomérase II sont récemment apparus, mais il n'est pas possible de définir actuellement leur mode d'inhibition. Ils sont représentés dans la figure 18 page 29.

Les composés diarylfurannes dicationiques (fig.18) (Boykin et coll., 1995) sont des ligands du petit sillon se liant sur des séquences riches en séquences A-T (certains d'entre eux possédant en plus une capacité d'intercalation en G-C) et actifs contre un certain nombre d'infections microbiennes.

Le produit BE 10988 (fig.18) (Moody et Swann, 1993 ; Suda et coll., 1993) est un composé naturel.

Les adociaquinones et xestoquinones (fig.18) (Concepcion et coll., 1995), métabolites d'une éponge des Philippines *Xestospongia*, sembleraient exercer leur activité d'inhibition de topoisomérase II par stabilisation du complexe clivable.

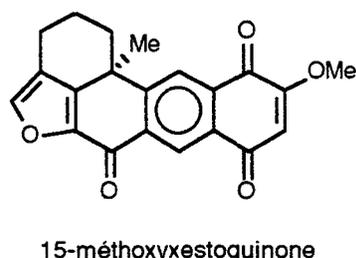
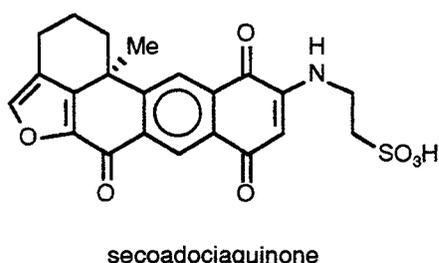
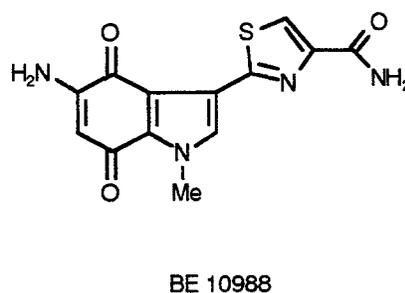
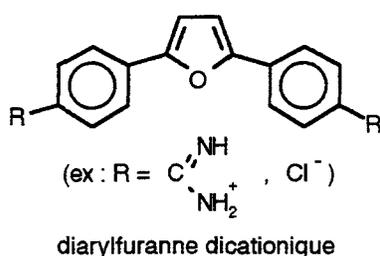


figure 18 : Structures chimiques de quelques inhibiteurs de topoisomérase II récents

#### 4 - Conclusion partielle

Les mécanismes par lesquels les inhibiteurs de topoisomérase II exercent leur action sont encore très flous. Il est possible d'envisager de multiples hypothèses d'interaction de l'agent dans le complexe ternaire, de multiples pharmacophores.

Cependant, les aspects importants qui émergent de toutes les données disponibles actuellement sont :

- de multiples sites d'interaction dans le complexe ternaire se recouvrant plus ou moins,

- des actions diverses suivant les composés (stabilisation du complexe clivable ou non),
- des exigences structurales relativement souples doublées, paradoxalement, de bouleversements importants dans l'activité apportées par de faibles modifications de structure (positions de substituants par ex.).

Il est donc nécessaire de prendre beaucoup de précautions quant aux conclusions sur les mécanismes d'action, les différences ou similitudes de ces inhibiteurs, et de faire preuve d'"humilité" et de prudence dans les démarches rationnelles concernant de nouveaux inhibiteurs de topoisomérase II.

Une façon rationnelle d'aborder la conception de nouveaux inhibiteurs de topoisomérase II pourrait être leur classement selon leurs "cibles" précises sur la topoisomérase II, l'ADN ou le complexe ADN-enzyme.

## **5 - Tentative de nouvelle classification des inhibiteurs de topoisomérase II**

Il est possible d'envisager quatre mécanismes d'action principaux des inhibiteurs de topoisomérase II sur la base des connaissances de la structure de l'enzyme, de son mécanisme d'action et de ses interactions avec l'ADN :

- modification locale de la structure de l'ADN,
- blocage de la phosphorylation de l'enzyme nécessaire à son activité (cf.p. 14 et 15),
- blocage du site ATP de l'enzyme,
- blocage de l'enzyme dans son état de "collier" fermé.

### 5.1 - modification locale de la structure de l'ADN

Une première façon de modifier localement la structure de l'ADN est de concevoir un composé intercalant ou effectuant du stacking avec les paires de bases de l'ADN. Ceci est le cas de bon nombre d'inhibiteurs connus : les anthracènes-diones, l'amsacrine (mAMSA), l'ellipticine, le bisantrène,

l'intoplicine, la saintopine et l'azalQD pour les intercalants, les déméthylépipodophyllotoxines et l'azatoxine pour les "pseudo-intercalants" (cf fig.6 à 8 p.18 à 20).

Il est également possible de concevoir un ligand du petit sillon (streptonigrine, diarylfurannes dicationiques) ou un hybride comportant une partie intercalante et une partie capable de se loger dans le petit sillon.

Par ailleurs, des composés susceptibles de générer des radicaux libres tels que les épipodophyllotoxines, l'azatoxine ou les anthracènediones peuvent provoquer des coupures d'ADN et apporter une certaine cytotoxicité.

#### 5.2 - blocage de la phosphorylation de l'enzyme

Deux types de composés peuvent être évoqués dans ce cadre : les inhibiteurs de protéine-kinases et les agents comportant des substituants susceptibles de subir à la place de l'enzyme une phosphorylation. Le premier cas est représenté en particulier par la génistéine, inhibiteur de protéine kinase C et inhibiteur de topoisomérase II. Les épipodophyllotoxines et l'azatoxine, par la présence dans leurs structures d'un cycle diméthoxyphénol, et l'amsacrine, par sa chaîne sulfonamino, constituent de bons exemples du second aspect évoqué.

#### 5.3 - blocage du site ATP de l'enzyme

Il est possible d'envisager, pour bloquer le site ATP de l'enzyme des composés de petite taille tels que la génistéine ou des analogues d'ATP plus encombrants (Assairi, 1995).

#### 5.4 - blocage de l'enzyme dans son état de "collier" fermé

Ce type d'inhibition de l'enzyme est effectué en particulier par les bisdioxopipérazines (ex : ICRF-193) (Capranico et Zunino, 1995 ; Hasinoff et coll., 1995 ; Watt et Hickson, 1994).

Cette tentative de nouvelle classification offre l'avantage de se fonder sur les connaissances actuelles de l'enzyme. Toutefois, elle ne permet pas d'intégrer tous les inhibiteurs de topoisomérase II existants, les mécanismes d'action de bon nombre d'entre eux étant encore inconnus.

## 6 - Résistances associées aux inhibiteurs de topoisomérase II

### 6.1 - généralités

Les résistances aux inhibiteurs de topoisomérase II constituent un obstacle majeur à la mise au point d'une chimiothérapie performante. Elles peuvent être classées en deux grandes catégories :

- résistances associées à des changements membranaires de glycoprotéine P, protéine provoquant l'expulsion des agents anticancéreux des cellules (les niveaux d'expression de glycoprotéine P sont souvent très élevés dans les cellules tumorales) (Abramson et coll., 1989),
- résistances indépendantes de la glycoprotéine P, mettant en jeu des altérations des niveaux de topoisomérase II ou l'expression d'enzymes mutantes.

Ce deuxième type de résistances associées directement à la topoisomérase II inclut quatre catégories d'altérations :

- changements spécifiques de clivage de la topoisomérase II,
- baisse des niveaux d'expression de topoisomérase II,
- modes de phosphorylation de l'enzyme altérés,
- mutations de l'enzyme.

Nous ne parlerons, ici, que des mutations et des liens entre phosphorylation et résistance.

On ne sait pas encore clairement, à l'heure actuelle, si une augmentation ou une baisse de la phosphorylation de l'enzyme contribue au phénomène de résistance. Il semblerait que la phosphorylation de la topoisomérase II par la CK-II ou la PKC provoque une atténuation des effets de stabilisation du complexe clivable par l'étoposide et mAMSA (De Vore et coll., 1992 ; Watt et Hickson, 1994).

Dans le cadre du dernier type d'altérations de l'enzyme induisant des résistances aux inhibiteurs, trois positions de mutations ont été décelées :

- à proximité du site de binding de l'ATP,
- à proximité du site actif tyrosine,
- dans la partie C-terminale.

Des mutations dans les deux premiers domaines conduisent à une baisse des taux de clivage d'ADN induits par l'enzyme. Les mutations dans la partie C-terminale (représentées par des domaines tronqués) ont une incidence moins claire.

#### 6.2 - mutations à proximité du site de binding de l'ATP

Ces mutations se situent entre les acides aminés 430 et 490. Elles entraînent une baisse de la capacité de la topoisomérase II à lier l'ATP et ainsi une diminution générale de l'activité enzymatique. Néanmoins, on ne sait pas si cette région interagit directement avec les inhibiteurs.

#### 6.3 - mutations à proximité du site actif tyrosine

Les mutations à l'intérieur du domaine du site actif de la topoisomérase II modifient les modes d'interaction des agents avec l'enzyme et l'ADN mais n'engendrent pas de résistances pour tous les inhibiteurs. Ainsi, des mutations sur la tyrosine 783 d'une topoisomérase II de levure entraînent un mode d'interaction de mAMSA avec l'enzyme et l'ADN différent (Vassetzky et coll., 1995), le remplacement de la serine 741 de la topoisomérase II de drosophile par un résidu tryptophane conduit à une enzyme mutante résistante aux fluoroquinolones et hypersensible vis-à-vis de l'étoposide (Hsiung et coll., 1995). Enfin, le remplacement de l'histidine 1012 d'une topoisomérase II de levure par un résidu tyrosine conduit à une enzyme mutante résistante aux fluoroquinolones et à l'étoposide, sensible à mAMSA et hypersensible à l'ellipticine (Elsa et coll., 1995).

#### 6.4 - mutations dans la région C-terminale

Ces mutations donnent lieu à des enzymes comportant une partie C-terminale tronquée. Les études associées à ce domaine sont très récentes et montrent en particulier que les enzymes "tronquées" ne pourraient plus atteindre le noyau cellulaire et interagiraient avec les inhibiteurs à ce stade précoce, entraînant les phénomènes de résistance (Vassetzky et coll., 1995).

La poursuite de ces études de mutagénèse, mis à part leur intérêt de mise en évidence de phénomènes de résistance, devrait permettre de mieux connaître les interactions de l'enzyme avec les différents inhibiteurs.

La compréhension encore succincte des interactions des inhibiteurs de topoisomérase II sur l'enzyme, l'ADN ou le complexe ADN-enzyme, ainsi que la méconnaissance des mécanismes d'action de certains d'entre eux découverts récemment rendent très complexe le design de nouveaux composés inhibiteurs. Cependant, il est intéressant de noter que l'inhibition de l'activité de l'enzyme, pour la plupart des molécules existantes, s'effectue par des mécanismes multiples (intercalation + liaison dans le petit sillon de l'ADN, inhibition de la phosphorylation de l'enzyme + "stacking" + génération de radicaux libres...).

Ainsi, dans notre étude, nous nous sommes plus particulièrement intéressé à deux modèles d'inhibiteurs de topoisomérase II, l'étoposide et l'azatoxine, qui, par leurs structures, sont capables d'agir en opérant du stacking avec les paires de bases de l'ADN, en se liant dans le petit sillon de celui-ci, en bloquant probablement la phosphorylation de l'enzyme et en générant des radicaux libres.

## 7 - Dérivés de l'étoposide

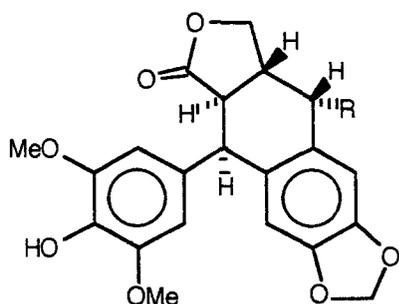
### 7.1- Généralités

L'étoposide ( VP-16 ) et le téniposide ( VM-26 ) sont des composés semi-synthétiques dérivés de la podophyllotoxine, produit naturel extrait de racines et de rhizomes de *Podophyllum peltatum* et de *P. emodi*. Les colons américains ont utilisé cette podophyllotoxine comme émétique et elle fut inscrite dans la première pharmacopée américaine en 1820. En 1946, l'activité antimittotique de cette molécule fut reconnue.

Bien que cet agent soit très efficace contre certaines tumeurs, il ne peut être utilisé en clinique de par sa trop grande toxicité. C'est pourquoi la firme Sandoz, en 1963, a commencé un programme de synthèse et d'étude de dérivés semi-synthétiques de la podophyllotoxine, qui a donné lieu à la découverte du VP-16 et du VM-26. Dès 1970, ils arrivent en clinique et s'avèrent être de très bons agents anticancéreux (Creaven et coll., 1975 ; Dombernowsky et coll., 1972 ; Eagen et coll., 1979 ; Issel, 1982 ; Nissen et coll., 1972 ; Stahelin, 1970, 1972 et 1973) .

Ils sont utilisés notamment dans le traitement du cancer du poumon, du carcinome du testicule, de la leucémie, du lymphome et du sarcome de Kaposi (Bunn, 1984 ; Creaven et coll., 1975 ; Dombernowsky et coll., 1972 ; Dombernowsky et Nissen, 1976 ; Eagen et coll., 1979 ; Issel, 1982 ; Issel et coll., 1984 ; Jardine, 1980 ; Mathe et coll., 1974 ; Nissen et coll., 1972 ; Stahelin, 1970, 1972 et 1973 ; Williams et coll., 1984) .

Leurs structures chimiques sont données ci-dessous :



Une unique substitution d'un groupe méthyle de la partie glucopyranoside par un groupe thiényle les différencient.

Ils sont peu solubles dans l'eau et sont pour cela administrés par voie intraveineuse, ou par voie orale, pour VP-16 sous forme de capsules gélatineuses.

## 7.2- Mécanisme d'action

Bien que proches structurellement de la podophyllotoxine, VP-16 et VM-26 possèdent des mécanismes d'action antitumoraux totalement différents. En effet, ce ne sont pas des poisons du fuseau (Loike et Horwitz, 1976a) . Contrairement à la podophyllotoxine qui arrête la division cellulaire en métaphase (Kelly et Hartwell, 1954 ; Loike et Horwitz, 1976a) , VP-16 et VM-26, à faible concentration, empêchent les cellules d'entrer en mitose et les bloquent en phase G<sub>2</sub> ou S du cycle cellulaire.

### 7.2.1- mise en évidence de la cible de VP-16 et VM-26

Il a été montré que ces composés interagissaient avec l'ADN. En effet, ils provoquent des cassures de celui-ci, simple et double-brin (Kalwinsky et coll., 1983 ; Loike et Horwitz, 1976b ; Long, 1986 ; Long et Stringfellow, 1988 ; Long et Brattain, 1984 ; Long et coll., 1984, 1985 et 1986) . Il a alors été suggéré que la toxicité de ces molécules était liée à ces cassures d'ADN. Néanmoins, ces cassures ne s'observaient que lors de l'incubation du noyau isolé avec l'agent à 37°C, et non à 4°C.

Par ailleurs, des expériences en cinétique ont montré que le nombre de cassures augmentait rapidement dans la cellule jusqu'à un plateau dépendant de la concentration en agent (Long et coll., 1985 et 1986) . Cependant, si le milieu qui contient ces agents est remplacé par un milieu frais, les cassures disparaissent. Cette observation ne semble pas due à une réparation d'ADN, car les inhibiteurs classiques de réparation n'ont pas d'effet sur la disparition des cassures.

Toutes ces données sont en faveur de l'intervention d'une enzyme. L'inhibition de la topoisomérase II par VP-16 et VM-26 a été ensuite démontrée par des expériences utilisant de la topoisomérase II partiellement puis hautement purifiée.

### 7.2.2- inhibition de la topoisomérase II - cassures d'ADN

Il est maintenant reconnu que VP-16 et VM-26 stabilisent un intermédiaire covalent qui se forme normalement entre l'enzyme et l'ADN. Dans cette situation, une ou les deux sous-unités de l'enzyme sont liées de manière covalente à l'ADN au travers d'une liaison phosphodiester, formée entre une tyrosine du site actif de l'enzyme et l'extrémité 5'-phosphate d'un brin d'ADN cassé (Liu et coll., 1983). Cet intermédiaire est instable et facilement réversible en l'absence de l'agent (Liu et coll., 1983), après élimination des cellules de l'agent (Long, 1987 ; Long et Brattain, 1984 ; Long et coll., 1984 et 1985 ; Rowe et coll., 1985), ou par augmentation de la concentration saline ou dilution du milieu réactionnel, quand l'enzyme purifiée est incubée avec de l'ADN en présence d'inhibiteur (Tewey et coll., 1984a). Cependant, le complexe est stabilisé dans des conditions dénaturantes fortes telles que pH très basique ou présence de détergents (dodécyl-sulfate de sodium par exemple) (Chen et coll., 1984 ; Marshall et coll., 1983 ; Nelson et coll., 1984 ; Rowe et coll., 1985 ; Tewey et coll., 1984a et 1984b). Plus précisément, on sait maintenant que VP-16 et ses analogues, au travers de la stabilisation du complexe clivable, inhiberaient l'activité de resoudure de brins de la topoisomérase II (Chen et coll., 1984 ; Glisson et coll., 1986 ; Long et Brattain, 1984 ; Long et coll., 1984 ; Nelson et coll., 1984 ; Rowe et coll., 1985 ; Wozniak et Ross, 1983). Cependant, le mécanisme précis par lequel la formation de ce complexe clivable conduit à la cassure de l'ADN et à la mort cellulaire n'est pas connu. Par ailleurs, la cytotoxicité de VP-16 et de ses analogues n'est corrélée qu'avec les cassures d'ADN double-brin (Pommier et coll., 1985), et non avec les cassures simple-brin et l'inhibition de l'activité de la topoisomérase II. Ces résultats suggèrent que les deux sous-unités de la topoisomérase II doivent être inhibées pour obtenir un caractère cytotoxique (Long, 1987 ; Long et coll., 1986 ; Pommier et coll., 1985), et que le mécanisme d'inhibition de la topoisomérase II n'est pas seul responsable de la cytotoxicité des composés considérés.

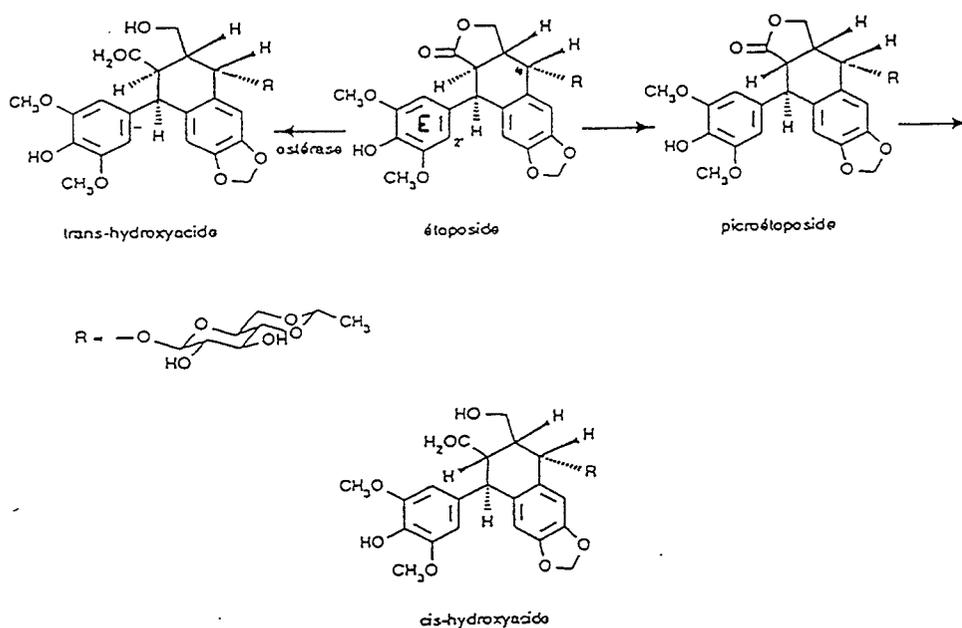
### 7.2.3- activation métabolique de VP-16

Avant même que ne soit montrée l'implication de la topoisomérase II, il avait été suggéré qu'une activation métabolique était indispensable à VP-16 pour produire ses effets cytotoxiques et de dégradation de l'ADN (Clark et Slevin, 1987 ; Loike et Horwitz, 1976b). En effet, VP-16 induit des

dégradations intracellulaires d'ADN de cellules de HeLa, alors que l'incubation d'ADN purifié avec l'agent ne conduit pas à des dégâts perceptibles d'ADN. De plus, certains métabolites de VP-16 et analogues sont très cytotoxiques.

Le métabolite le plus important de VP-16 identifié chez l'homme est l'hydroxyacide (Evans et coll., 1982 ; Strife et coll., 1980) (fig.19). On peut citer d'autres métabolites, comme le picroétoposide et l'acide glucuronique conjugué (D'Incalci et coll., 1986) (fig.19).

Par ailleurs, VP-16, en présence de traces de base, est peu stable. L'épimérisation en cis-lactone est possible via un intermédiaire énoate et donne le picroétoposide (Colombo et coll., 1985 ; Evans et coll., 1981 et 1982 ; Gensler et coll., 1977 ; Sinkule et Evans, 1984) (fig.19). Ce dernier peut s'hydrolyser en cis-hydroxyacide inactif (Allen et Creaven, 1975 ; Creaven et Allen, 1975a et 1975b ; Pelsor et coll., 1978 ; Strife et coll., 1980 ; Van Maanen et coll., 1988a) (fig.19).



**figure 19** : Métabolites de l'étoposide

La facilité d'épimérisation et d'hydrolyse des déméthylépipodophyllotoxines dépend de la nature et de la configuration du groupe en position 4, et des substituants du cycle E (Aso et coll., 1989) . Ainsi, afin d'obtenir des composés ayant un temps de demi-vie plus long, des molécules analogues de VP-16 contenant un atome de chlore en position 2' du cycle E ont été synthétisées (Wang et coll., 1992) :

elles sont très peu cytotoxiques et faiblement inhibitrices de topoisomérase II. On a suggéré qu'elles conduiraient peut-être plus difficilement à des métabolites actifs. Par ailleurs, le cycle E est capable de subir de nombreuses transformations métaboliques.

La présence du OH en position 4' de ce cycle est nécessaire pour la dégradation de l'ADN (Haim et coll., 1986 et 1987a ; Sinha et Myers, 1984 ; Sinha et coll., 1985 ; Van Maanen et coll., 1988b ; Wozniak et coll., 1984) . Wozniak et Ross ont observé que des inhibiteurs de déshydrogénase tels que le disulfiram et le diéthylthiocarbamate, des "scavengers" de radicaux tels que le benzoate de sodium, empêchaient VP-16 d'induire des coupures d'ADN et inhibaient sa cytotoxicité dans les cellules L1210, suggérant le rôle d'une déshydrogénase dans des réactions de type oxydation-réduction (Wozniak et coll., 1983) .

D'autres expériences ont montré également que VP-16 inhibait la peroxydation lipidique induite par des anthracyclines telles que la daunomycine ou l'adriamycine (Sinha et coll., 1983 et 1985) . En effet, les anthracyclines conduisent à la formation de radicaux  $O_2^-$  et OH , qui induisent la peroxydation lipidique impliquée dans la cardiotoxicité de ces agents (Myers et coll., 1977) . Il apparaît que VP-16 forme un radical libre oxygéné stable, durant l'activation peroxydative, et inhibe aussi la peroxydation lipidique induite par les anthracyclines. Cette inhibition résulte de l'interaction de VP-16 avec OH formé.

Il est à noter, par contre, que VP-16 ne réagit pas avec les radicaux  $O_2^-$  . En effet, si on incube VP-16 avec un mélange xanthine-xanthine oxydase ( la xanthine donnant en présence de xanthine oxydase des radicaux  $O_2^-$  ), on n'observe pas de radicaux issus de VP-16 (Sinha et coll., 1985) .

Il a été rapporté ensuite (Haim et coll., 1987b) que VP-16 subissait une O-déméthylation par les microsomes de foie de souris et de rat et par les cytochromes P-450 purifiés de foie de rat. Le produit de O-déméthylation a été identifié comme étant le dérivé catéchol ( DHVP-16 ) (Haim et coll., 1987b ; Van Maanen et coll., 1986 et 1987) (fig.20 p.40). Ce composé peut être ensuite oxydé en orthoquinone ( VP16-Q ) en présence d'oxygène (Van Maanen et coll., 1988a) (fig.20 p.40). D'autres systèmes enzymatiques tels que les systèmes peroxydase de raifort /  $H_2O_2$  (Haim et coll., 1986), prostaglandine synthétase / acide arachidonique (Haim et coll., 1986), myéloperoxydase /  $H_2O_2$ , permettent d'obtenir in vitro ce VP16-Q, ainsi que de nombreux autres composés.

D'autres radicaux  $\text{OH}^\bullet$  ont été observés quand DHVP-16 est mis en présence de fer et de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Sinha et coll., 1988). Les structures catéchol sont connues pour chélater les ions métalliques, pour former des radicaux semi-quinones et pour générer des radicaux libres oxygénés toxiques.

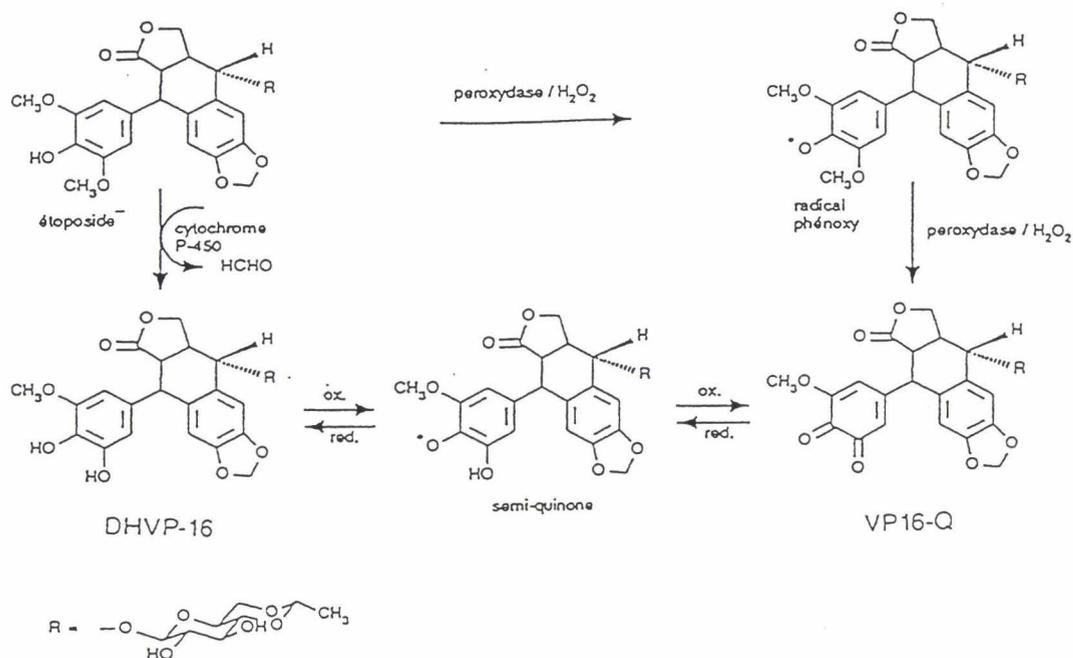


figure 20 : Mécanisme d'activation du cycle diméthoxyphénolique de l'étoposide

VP16-Q et DHVP-16 se lient de façon irréversible à des protéines et à l'ADN (Haim et coll., 1987a ; Van Maanen et coll., 1985, 1986 et 1987 ; Wang, 1985). Par contre, VP-16 s'associe très faiblement à l'ADN purifié et, biologiquement, ne le désactive pas (Kalyanaraman et coll., 1989).

DHVP-16 est cytotoxique pour les cellules tumorales MCF-7, bien que moins actif que VP-16 lui-même. Ceci peut être dû à la plus forte polarité de DHVP-16 (Sinha et coll., 1988). La production de  $\text{OH}^\bullet$  rend compte de cette cytotoxicité. Il est à noter que les  $\text{OH}^\bullet$  pourraient éventuellement oxyder les groupements SH de la topoisomérase II, causant ainsi son inactivation (Sinha et coll., 1988).

De plus, la réaction de passage du radical phénoxy à VP16-Q pourrait libérer des radicaux  $\text{CH}_3^\bullet$ , qui sont hautement réactifs et capables d'alkyler l'ADN et bon nombre de protéines (Haim et coll., 1986).

A cause de l'implication de radicaux libres dans ces processus, un mécanisme d'action médié par un radical a été suggéré pour expliquer les dégâts effectués par VP-16 sur l'ADN.

Cependant, l'importance de la réaction directe entre les radicaux de VP-16 et l'ADN a été réfutée par des études de résonance paramagnétique électronique (Kalyanaraman et coll., 1989). En effet, ni le radical phénoxy primaire, ni le radical secondaire de VP-16, ne réagissent avec une molécule d'O<sub>2</sub> ou d'ADN. Il a alors été suggéré que l'activité observée entre le radical semi-quinone de VP-16 et l'ADN serait médiée par la liaison de la quinone (VP16-Q) à l'ADN (Zhang et coll., 1992).

D'autre part, il a été montré (Zhang et coll., 1992) que les orthoquinones de VP-16 et analogues peuvent inhiber la topoisomérase II. Ces composés empêcheraient l'activité normale de l'enzyme par deux processus biologiques différents.

Un des 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, comme le fait VP-16.

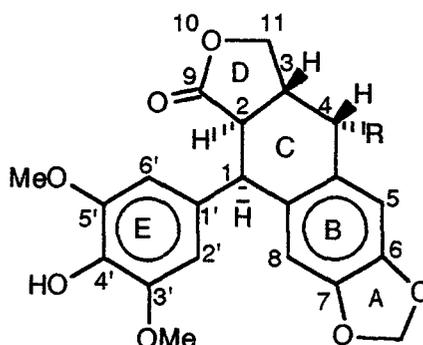
Dans ce cas, les agents sembleraient interagir avec ce complexe par une liaison non covalente.

Dans un deuxième mode d'interaction, les orthoquinones sembleraient inactiver directement l'enzyme par une liaison covalente. En général, l'activité d'inhibition de topoisomérase II baisse quand les orthoquinones sont substituées en position 4 (par une aniline par exemple). Pourtant, on peut parfois observer une augmentation de la formation de complexe protéine-ADN. Ceci montre que les deux modes d'action mis en jeu ont des préférences structurales différentes l'une de l'autre pour les déméthylépipodophyllotoxines.

Ainsi, la cytotoxicité apparente des composés analogues de VP-16 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 et l'ADN (Sinha et Myers, 1984).

## 7.3- Relations structure-activité

Bien que VP-16 et VM-26 constituent deux très bons agents inhibiteurs de topoisomérase II, leur toxicité indéniable a suscité la synthèse de nombreux analogues structuraux.



Les principales modifications ont été effectuées en position 4 afin de remplacer le groupe glucopyranoside de VP-16 et VM-26 par un substituant de structure plus simple (Gautret, 1994).

Les études de relations structure-activité ont permis de mettre en évidence des caractéristiques structurales intéressantes (Hu et coll., 1992 ; Keller-Juslen et coll., 1971 ; Lee et coll., 1989 ; Thurston et coll., 1986 ; Wang et coll., 1990 et 1992 ; Zhou et coll., 1991). La structure de VP-16 obtenue par radiocristallographie RX, ainsi que la modélisation moléculaire d'analogues actifs, montrent que le système tétracyclique A,B,C,D est globalement plan. Les atomes en positions 1,3 et 4 doivent avoir la même configuration que dans VP-16 et VM-26. En effet, une inversion de cette configuration induit une perte quasi totale de l'activité d'inhibition de la topoisomérase II. Si le cycle C est aromatisé, ses substituants se retrouvent dans le même plan que lui, et la géométrie de la molécule n'est plus alors compatible avec l'inhibition de la topoisomérase II. La molécule doit donc posséder un système tétracyclique A,B,C,D plan et des substituants en positions 1 et 4, bien positionnés de part et d'autre de ce plan.

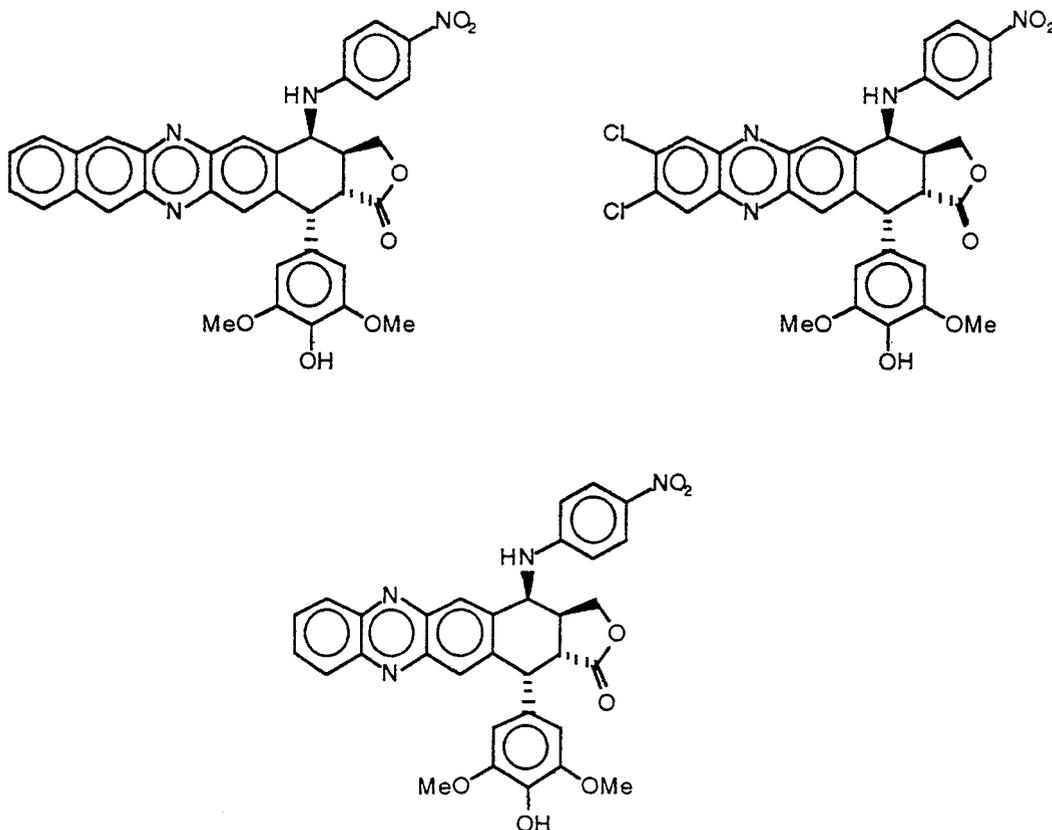
Sur le cycle E, le OH en position 4' apparaît essentiel pour l'activité. En effet, le composé contenant trois groupes méthoxy est inactif. L'introduction d'un atome de chlore en position 2' baisse l'activité d'inhibition de la topoisomérase II. Cet atome empêche la libre rotation du cycle autour de l'axe 1-1'. Il a été suggéré que cette rigidification contrarierait la formation de métabolites actifs sur le cycle E (Wang et coll., 1992) . Il semblerait plus probable que cette rigidification empêche la molécule d'adopter une

conformation compatible avec l'interaction avec l'enzyme. L'activation métabolique, quant à elle, fournit des composés catéchol et orthoquinone qui, selon la nature du substituant en position 4, ont parfois une meilleure activité que la déméthylépidothérapie correspondante.

Le groupe méthylènedioxy en positions 6,7 semble également très important, quoique la forme catéchol qui en dérive soit parfois aussi active. Par contre, la présence de deux groupes méthoxy en positions 6,7 conduit à de faibles inhibiteurs de topoisomérase II.

On peut supposer que les cycles A et B interagissent avec l'ADN par semi-intercalation et que, dans ce cadre, une forme catéchol puisse convenir. La perte d'activité conférée par la présence de deux méthoxy en positions 6,7 pourrait, elle, s'expliquer par les systèmes de liaisons H différents, conféré par ces deux substituants (peut-être par les orientations différentes des systèmes de doublets libres).

Afin de juger de l'influence de l'allongement du système polycyclique plan ABCD, des analogues de l'étoposide dans lesquels le noyau benzodioxole a été remplacé par un système phénazine ont été synthétisés (Cho et coll., 1996). Ces composés présentés ci-dessous sembleraient posséder un mécanisme d'action différent de celui de l'étoposide.



Il est possible d'obtenir de meilleurs inhibiteurs de topoisomérase II que VP-16 en remplaçant le groupe glucopyranoside en position 4 par des substituants beaucoup plus simples, mais le basculement du substituant de la position 4 à la position 5 donne des produits beaucoup moins actifs, voire inactifs. Néanmoins, des études de modélisation moléculaire ont montré que, par un choix judicieux de la chaîne aminée, il est possible d'atteindre les mêmes points clés de liaison à l'enzyme en position 3 qu'en position 4.

L'étude détaillée des relations structure-activité des composés (Gautret, 1994), ainsi que la modélisation moléculaire des composés actifs, mettent en évidence des caractéristiques structurales communes entre les différents substituants greffés en position 4. De manière générale, un atome accepteur de liaisons H est présent sur un chaînon, aliphatique ou aromatique, occupant dans chaque cas une position de l'espace quasi identique, ceci quelle que soit la molécule active. La distance entre cet atome et le reste de la molécule est presque constante.

De plus, l'atome relié à la position 4 doit jouer un rôle important dans l'interaction avec l'enzyme. En effet, si l'on remplace le NH par ses isostères O ou S, les composés obtenus s'avèrent beaucoup moins actifs, voire inactifs. Les angles de liaison formés par O,S ou NH étant identiques, c'est le caractère donneur de liaisons H, que ne possède que le groupe NH, qui pourrait être essentiel pour cette interaction avec l'enzyme.

Une autre hypothèse consisterait à considérer la forme protonée  $\text{NH}_2^+$  au pH physiologique. Il pourrait donc ainsi y avoir une interaction ionique entre ce  $\text{NH}_2^+$  et un site anionique de l'enzyme.

A proximité de cette position 4, il semble qu'une poche enzymatique volumineuse existe. En effet, cette poche doit être capable de contenir les groupements encombrants, en cette position, de VP-16 et VM-26. Néanmoins, les différences de réactivité entre un composé A contenant un substituant 3,4,5 triméthoxyaniline et un composé B contenant un substituant 3,4 diméthoxyaniline (B étant plus actif que A) pourraient laisser supposer l'existence de contraintes stériques supplémentaires à la base de la poche.

Les principales exigences structurales requises pour une bonne activité d'inhibition de topoisomérase

Il s'avèrent donc être (Gautret, 1994) (fig.21) :

- système polycyclique A,B,C,D plan
- substituants en positions 1 et 4 de part et d'autre du plan A,B,C,D et correctement disposés
- cycle E : diméthoxyphénol, catéchol ou orthoquinone essentiels : implication via le groupe OH ou C=O en position 4' par liaison H, bien que la position du doublet de l'oxygène du carbonyle en 4' doive être différente de celle du doublet de l'oxygène du groupe OH phénolique.
- en position 4 : un substituant soumis à certaines contraintes stériques, comportant un capteur de liaison H, et un donneur de liaison H ou un groupe protonable à pH physiologique, à des distances définies du reste de la molécule, et en des points de l'espace adéquats.

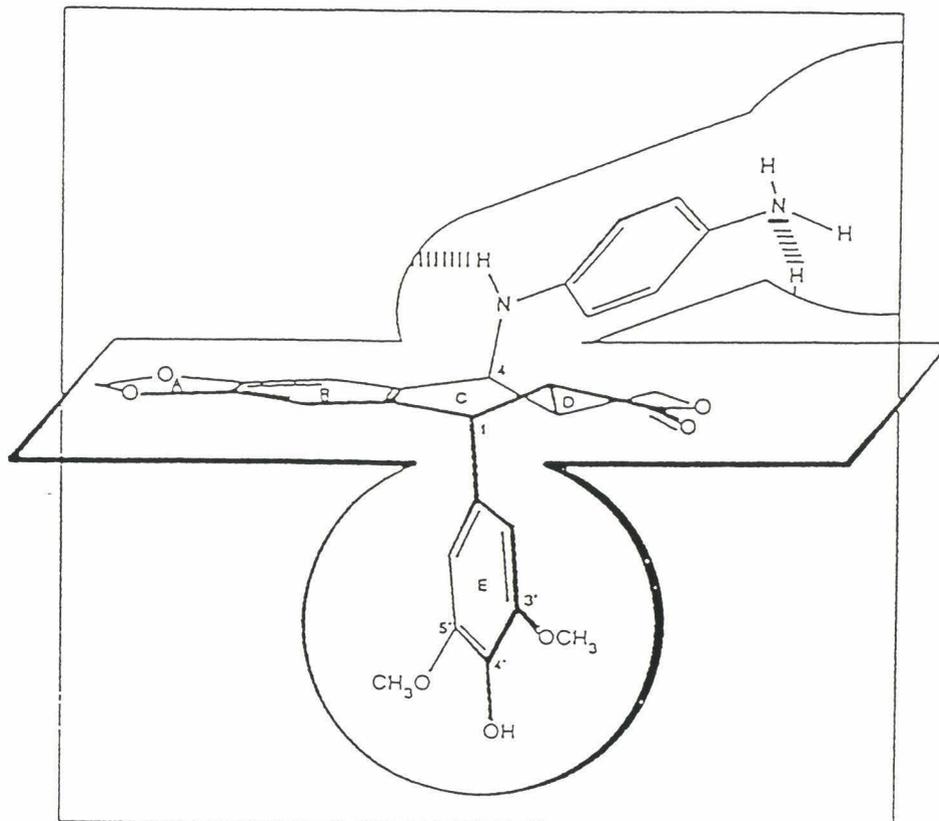


figure 21 : Modèle hypothétique du site d'interaction ADN-topoisomérase II avec les composés de la famille de l'étoposide (Gautret, 1994)

## 8 - Dérivés de l'azatoxine

### 8.1 - introduction

L'azatoxine (fig.22) constitue un bon exemple de composé conçu entièrement de manière rationnelle sur les bases du pharmacophore modèle d'inhibition de topoisomérase II (cf fig.12 p.24) et par des études de conception indirecte (superposition d'anthracyclines, d'acridines, de déméthylépipodophyllotoxines, d'ellipticines et d'anthracènediones).



figure 22 : Structure chimique de l'azatoxine

Ce composé est un hybride d'étoposide et d'ellipticine (Leteurtre et coll., 1992). Il possède un système polycyclique plan qui ne s'intercale pas mais se lie par stacking entre deux sites de clivage de la topoisomérase II et un cycle "pendant" aromatique diméthoxyphénol (fig.22). Il est un puissant inhibiteur de topoisomérase II et possède également une activité d'inhibition de polymérisation de la tubuline (Leteurtre et coll., 1995).

### 8.2 - activités de l'azatoxine (Leteurtre et coll., 1992)

Diverses études ont été menées sur l'action de l'azatoxine sur l'ADN. Il apparaît que cet agent induit des cassures double-brin d'ADN en de multiples sites de cellules HL-60 à partir de concentrations de l'ordre de 5 à 10  $\mu\text{M}$ , avec une puissance comparable à celle de l'étoposide. Comme pour ce dernier composé, les clivages d'ADN induits par l'azatoxine ne sont pas supprimés à des concentrations supérieures à 1mM, ce qui indique une absence d'intercalation de la molécule. Cet aspect est renforcé

par l'incapacité de l'azatoxine à dérouler l'ADN. Enfin, l'azatoxine génère des sites de clivage plus nombreux que la mitoxantrone ou l'étoposide et montre des différences locales dans les modes de clivage comparativement à l'étoposide.

L'azatoxine constitue donc un inhibiteur de topoisomérase II très actif possédant un mode de clivage unique.

### 8.3 - relations structure-activité (Lehnert et coll., 1994 ; Leteurtre et coll., 1992 et 1995)

Un certain nombre d'analogues de l'azatoxine ont été synthétisés. Les principales modifications (fig.23) par rapport au chef de file ont été effectuées sur :

- la stéréochimie du carbone porteur du cycle pendant aromatique,
- le cycle indolique,
- les substituants du cycle pendant aromatique,
- la substitution en position 11,
- le cycle oxazolone.

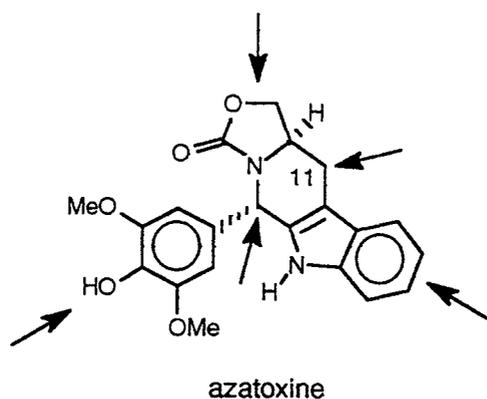


figure 23 : Positions des modifications effectuées sur l'azatoxine

Les résultats de ces modulations concernent l'activité d'inhibition de la topoisomérase II et de la polymérisation de la tubuline.

## 8.3.1 - influence de la stéréochimie

Les composés aza i1, aza i2 et aza i3 (fig.24) s'avèrent inactifs quant à l'inhibition de la topoisomérase II. Il apparaît clairement que l'orientation spatiale du cycle "pendant" aromatique par rapport au système polycyclique plan est essentielle à l'activité.

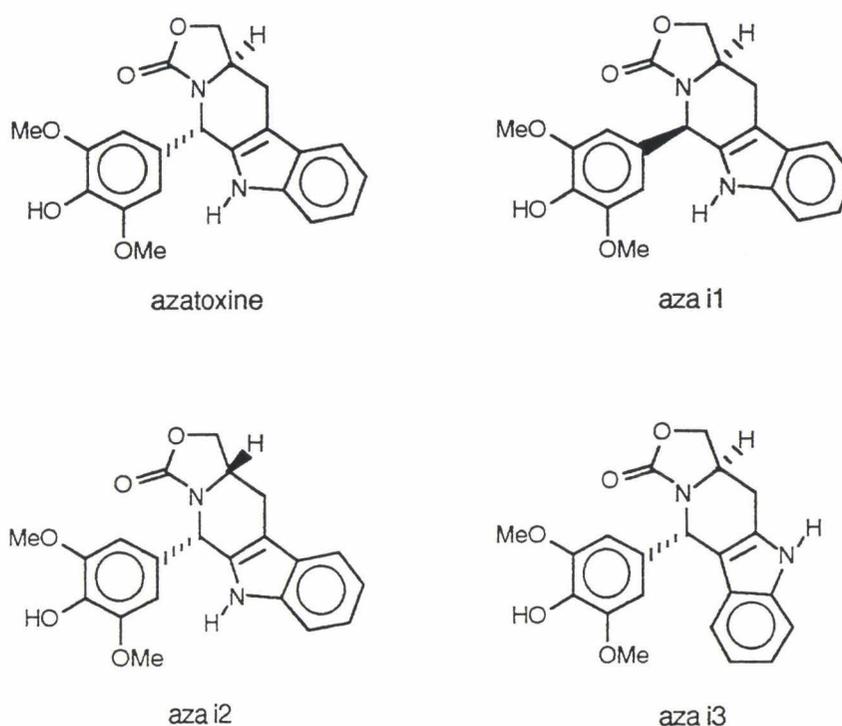


figure 24 : Structures chimiques de trois isomères d'azatoxine

L'inactivité du composé aza i3 est intéressante. En effet, une simple variation d'incurvation sans altération de l'agencement spatial du cycle indolique par rapport aux autres cycles différencie celui-ci de l'azatoxine. Le seul changement important réside dans l'orientation de l'atome d'azote du cycle indolique.

Il semble donc que l'activité d'inhibition de la topoisomérase II par les dérivés de type azatoxine soit très sensible aux altérations structurales et qu'une liaison hydrogène, par le biais de la fonction amine de l'indole, soit importante pour cette activité.

## 8.3.2 - modification du cycle indolique

Le remplacement du cycle indolique par un autre système cyclique (fig.25) conduit à un composé inactif. La substitution du cycle indolique en position 9 (fig.25) par un groupement hydroxyle ou un atome de fluor entraîne une inactivité.

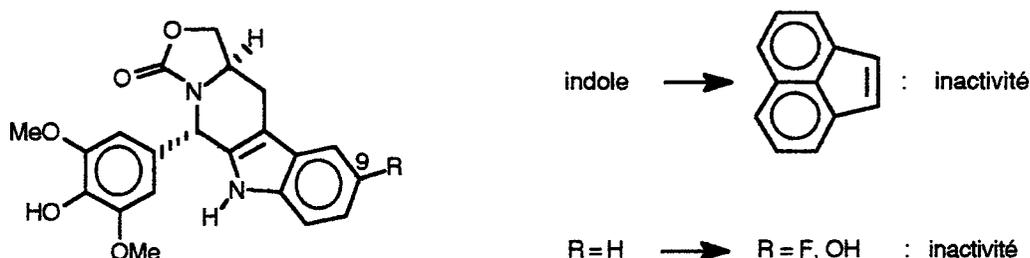


figure 25 : Remplacement du cycle indolique ou substitution de celui-ci en position 9

## 8.3.3 - modification du cycle "pendant" aromatique

Le remplacement du cycle diméthoxyphénol par un cycle triméthoxybenzène fait basculer l'activité mixte d'inhibition de topoisomérase II et d'inhibition de la polymérisation de la tubuline vers une inhibition pure de la polymérisation de la tubuline. Ainsi, comme pour les dérivés de l'étoposide, un groupement hydroxyle en position 4' du cycle benzénique est essentiel à l'activité.

Si l'on enlève un groupement méthoxy, on divise l'activité par cinq, l'enlèvement des deux groupements méthoxy aboutissant à une perte totale d'activité d'inhibition de topoisomérase II.

Enfin, si l'on remplace le cycle diméthoxyphénol par un cycle pendant de type mAMSA, on supprime l'activité.

## 8.3.4 - substitution en position 11

Diverses substitutions ont été faites en position 11 de l'azatoxine (fig.26). Celles-ci suppriment le caractère d'inhibiteur de la polymérisation de la tubuline.

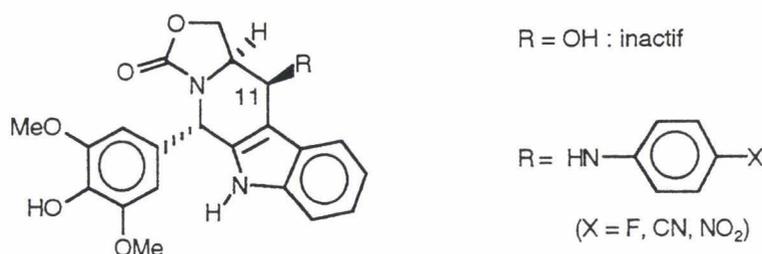


figure 26 : Différentes substitutions en position 11 de l'azatoxine

La présence d'un groupement hydroxyle conduit à un composé inactif (alors que l'activité pour une telle substitution n'est que diminuée dans le cas des dérivés de l'étoposide) (Leteurtre et coll., 1992).

Des substitutions par des chaînes anilinéées (fig.26) sont acceptables. Le meilleur composé est obtenu avec une chaîne paracyanoaniline (Leteurtre et coll., 1995).

## 8.3.5 - modification du cycle lactame (Lehnert et coll., 1994)

Des analogues "tronqués" de l'azatoxine ont été synthétisés (fig.27 p.51) (Lehnert et coll., 1994) afin d'affiner le modèle de pharmacophore des agents "clivants" inhibiteurs de topoisomérase II (cf fig.12 p.24). Ceux-ci (des aryltétrahydro- $\beta$ -carboline) représentent des analogues mobiles de l'azatoxine, contenant un cycle indolique ou benzodioxole. Ils ont été soumis à des tests d'induction de complexes clivables en présence de plasmide d'ADN pUC18 et de topoisomérase II de placenta humain. Les composés les plus actifs (fig.27 p.51) possèdent un cycle "pendant" aromatique diméthoxyphénol. Ils stimulent les clivages d'ADN à des concentrations de 25  $\mu$ M.

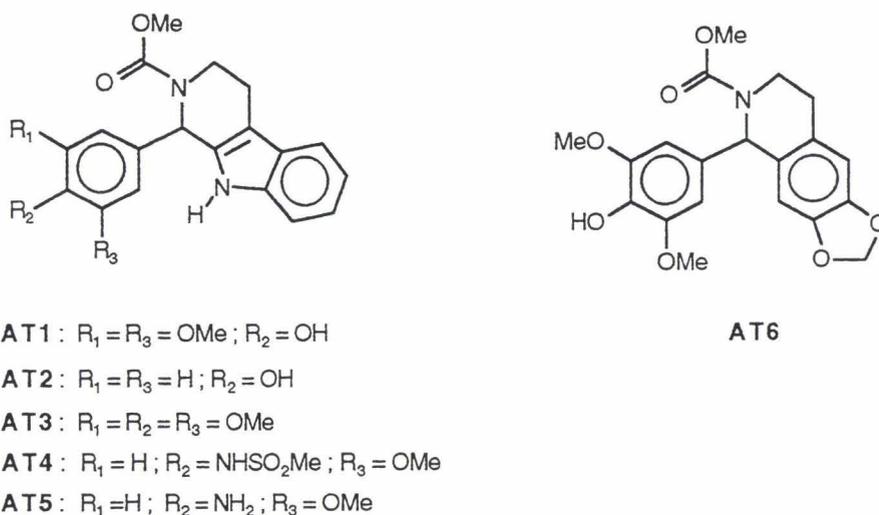


figure 27 : Structures chimiques de quelques  $\beta$ -carbolines

Néanmoins, les composés **AT4** et **AT5**, comparés à leurs homologues d'azatoxine, gardent une certaine activité, ce qui montre que la flexibilité des  $\beta$ -carbolines permet des substitutions variées sur le cycle pendant aromatique.

Par ailleurs, il est intéressant de noter que le composé **AT1** s'intercale, contrairement à l'azatoxine.

La flexibilité de ces composés leur permet de s'associer à l'ADN en induisant des déformations reconnues par l'enzyme avec des modes de clivage uniques (composés **AT4**, **AT5** et **AT6**) ou similaires à ceux d'autres agents inhibiteurs de topoisomérase II connus (composé **AT1**) (azatoxine, étoposide, mAMSA).

Les modes de clivage type mAMSA du composé **AT1** suggèrent que leurs cycles "pendants" aromatiques se superposent, dans le petit sillon de l'ADN au-dessus du système polycyclique plan.

Ces  $\beta$ -carbolines auraient donc un mécanisme d'interaction bimodal, contrairement aux composés les plus rigides qui ne possèderaient qu'un seul mode d'association à l'ADN susceptible de mener à la formation de complexes clivables stabilisés. Elles représentent donc un pharmacophore minimal pour la conception d'inhibiteurs de topoisomérase II dérivés de l'azatoxine ou de l'étoposide.

*CHAPITRE III*

*SYNTHESE D'ANALOGUES DE L'ETOPOSIDE*

## 1 - Aspect conceptuel

L'intérêt présenté par les structures du type étoposide et téniposide se traduit, comme nous l'avons vu précédemment par :

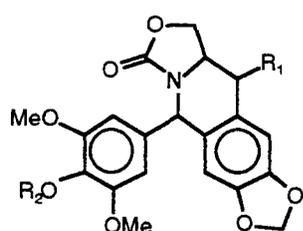
- l'existence de propriétés d'inhibition de topoisomérase II,
- l'activation métabolique du cycle E, responsable d'une grande partie de leur cytotoxicité.

L'originalité de ces structures et leurs propriétés cytotoxiques nous ont incité à envisager la création de molécules analogues, s'appuyant essentiellement sur la pharmacomodulation suivante :



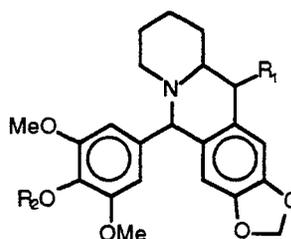
(On peut remarquer que le changement de lipophilie du système, par cette modulation, est minime, mais que l'on perd par l'intermédiaire de l'atome d'oxygène la possibilité d'une liaison hydrogène peut-être cruciale.)

Le remplacement d'un carbone par un azote a déjà été effectué dans le cadre de la synthèse de dérivés de 2-azapodophyllotoxine (Bosmans et coll., 1989 ; Pearce et coll., 1989 ; Tomioka et coll., 1989a et 1989b). Des dérivés d'azapodophyllotoxine dépourvus de fonction carbonyle ont été également synthétisés (Liénard et coll., 1991 et 1993). Ces deux types de composés apparaissent ci-dessous.



$R_1 = \text{H, OH}$

$R_2 = \text{H, Me}$



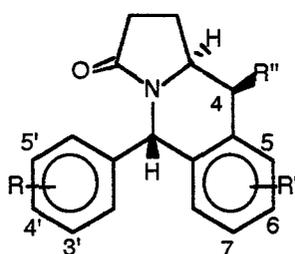
$R_1 = \text{H, OH}$

$R_2 = \text{H, Me}$

Nous voulons, par la pharmacomodulation choisie, atteindre plusieurs objectifs :

- évaluer le pouvoir inhibiteur de topoisomérase II de nos analogues structuraux et leur caractère cytotoxique,
- affiner les relations structure-activité existantes.

Ces motivations nous ont conduit à envisager la conception et la synthèse de 2-aza-10-désoxy épipodophyllotoxines diversement substituées sur leurs noyaux aromatiques et sur leur carbone C<sub>4</sub>.



Une série de composés avec R'' = OH a été synthétisée, afin de permettre la substitution ultérieure en position 4 par une chaîne aminée judicieusement choisie (cf. chap.III-paragraphe 3.4). Ces produits sont diversement substitués par des groupements R et R' tels que :

- \* - R = 3',4',5'-triméthoxy, ce qui laisse la possibilité de créer un groupe diméthoxyphénol par déméthylation sélective,
- R' = 6,7-méthylènedioxy, ce qui peut conférer à la molécule des propriétés semi-intercalantes.
- \* - R = R' = 3',4'-méthylènedioxy, ce qui permet de conserver le caractère semi-intercalant et d'ajouter un groupement susceptible d'être clivé en fonction diphenol, intéressante dans le cadre de l'activation métabolique du cycle E.

Dans une optique un peu différente, nous nous sommes intéressé à la conception du composé présenté figure 28 page 55. En effet, par l'intermédiaire de la fonction phénol en position 5, il nous sera possible de greffer un bras espaceur et de coupler notre analogue de l'étoposide à une autre molécule antitumorale telle un intercalant, un alkylant ou un ligand du petit sillon, afin de créer une action bimodale avec l'ADN (et, dans le cas d'un ligand du petit sillon, une spécificité de liaison).

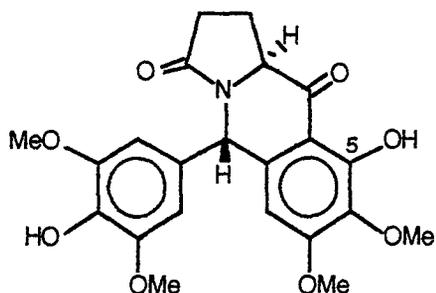


figure 28

## 2 - Stratégie chimique

L'étude des relations structure-activité des podophyllotoxines et des 4'-déméthylépipodophyllotoxines souligne l'importance des configurations 1,2-cis et 2,3-trans pour l'activité antitumorale (fig.29). De telles exigences représentent un obstacle majeur pour la synthèse totale de ces composés. La podophyllotoxine est en fait extraite des racines et rhizomes de *Podophyllum Peltatum* et de *P. Emodi*. L'étoposide et le téniposide sont, quant à eux, synthétisés à partir de celle-ci (fig.29).

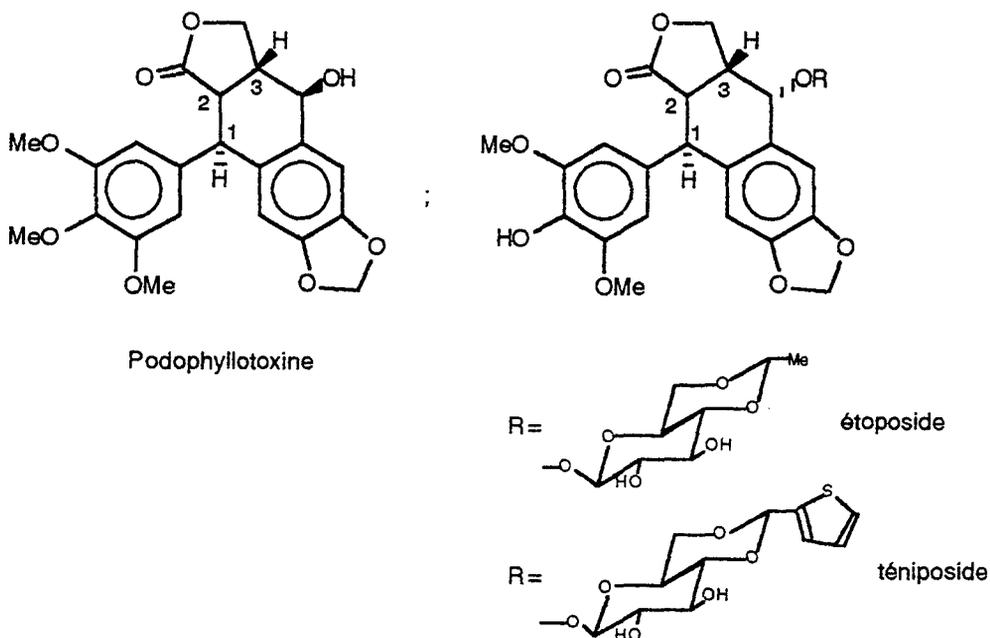
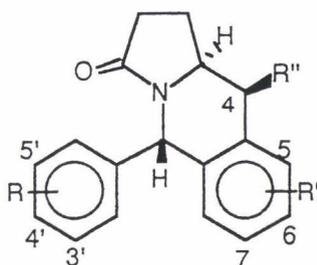


figure 29 : Structures chimiques de la podophyllotoxine, de l'étoposide et du téniposide

Nous avons ainsi envisagé la synthèse de dérivés originaux du type :



Les pharmacomodulations effectuées nous permettent, d'une part de nous affranchir d'un carbone asymétrique, ce qui rend les synthèses plus aisées, d'autre part de travailler avec un synthon de base optiquement actif : l'acide pyroglutamique, peu onéreux et d'origine naturelle (fig.30).

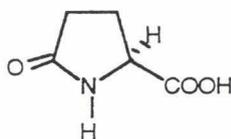
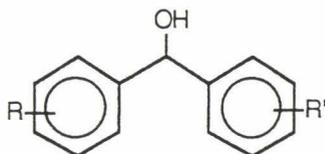


figure 30 : Structure chimique de l'acide pyroglutamique

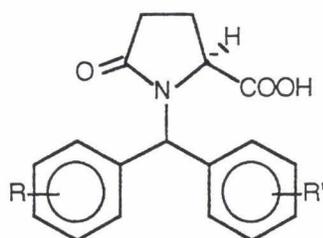
Les étapes-clés de cette synthèse sont les suivantes :

- la synthèse de benzhydrols par réaction d'organolithiens et organomagnésiens,



- la N-alkylation du pyroglutamate de méthyle ou de l'acide pyroglutamique N, O-disilylé par les benzhydrols obtenus,

- la cyclisation de type Friedel-Crafts intramoléculaire des acides suivants en cétones.

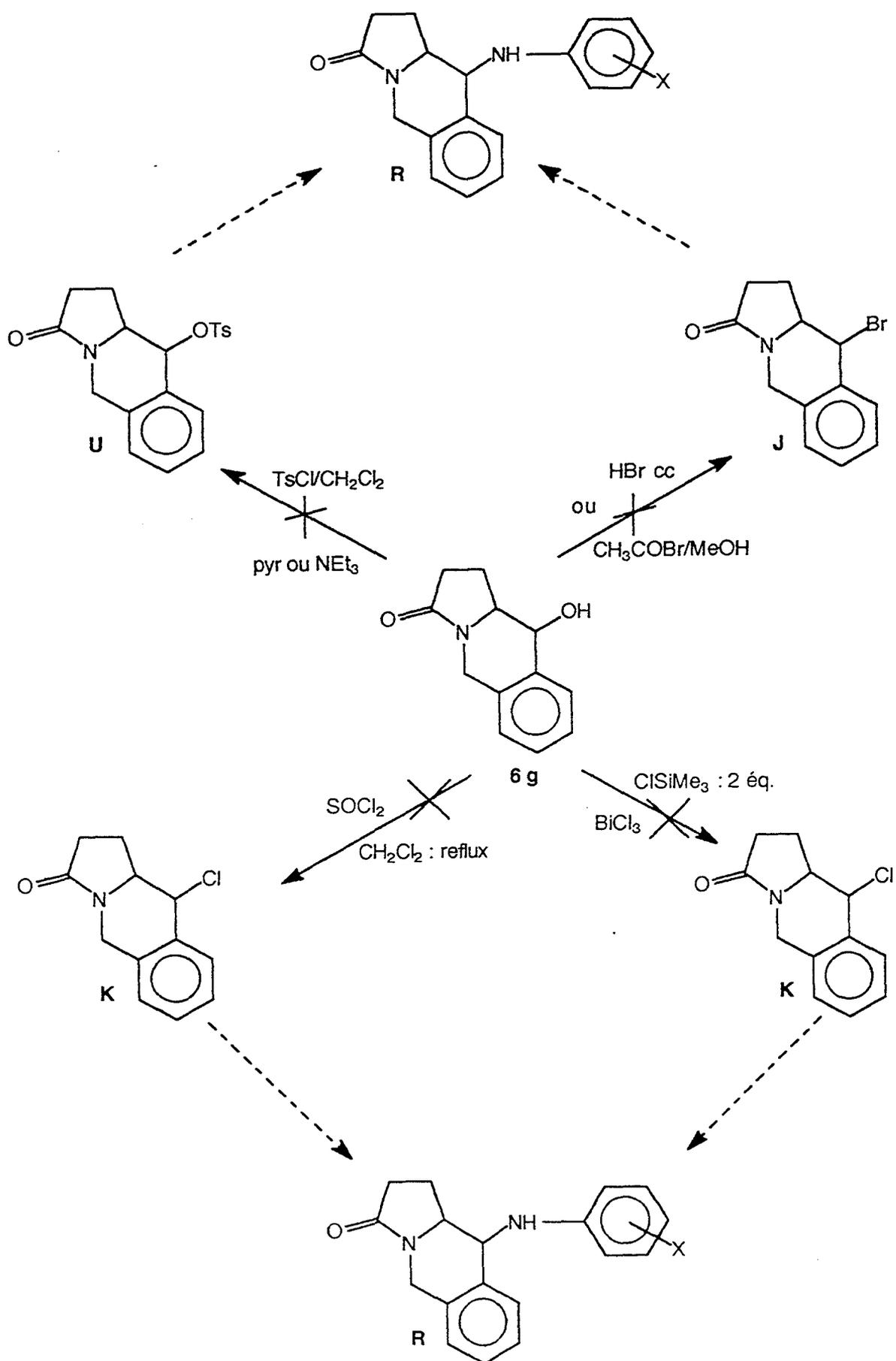


Dans le cas particulier du composé où R = 3',4',5'-triméthoxy et R' = 3,4-méthylènedioxy, une autre étape-clé consiste en une déméthylation sélective du groupe méthoxy en position 4'.

La chimie étudiée au cours de ce travail utilise les composés silylés et permet une synthèse "one pot" de la cétone **DL5a** avec de très bons rendements.

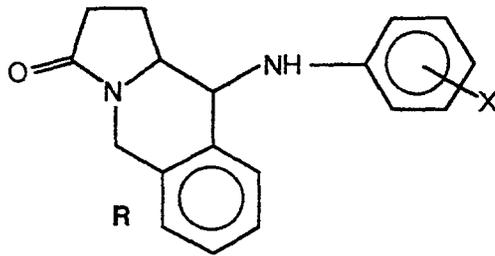
De plus, la déméthylation du groupe méthoxy en position 4' a été effectuée par action de HBr formé *in situ*, et non HBr gazeux, rendant les manipulations plus faciles.



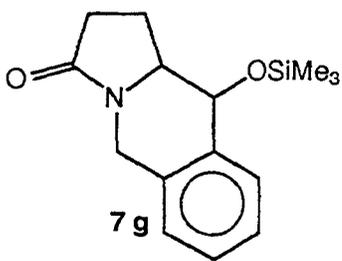


RECAPITULATIF N°1 DES ESSAIS D'OBTENTION DES COMPOSES R

60

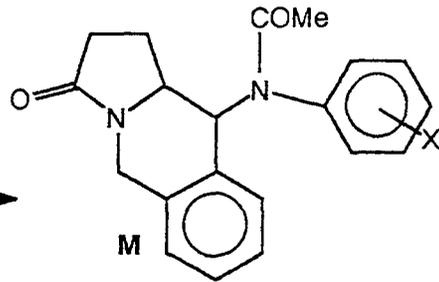


amine silylée

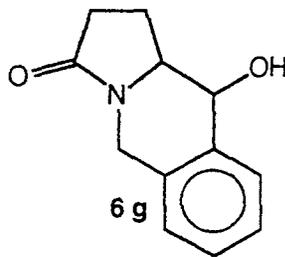
~~CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H~~

7 g

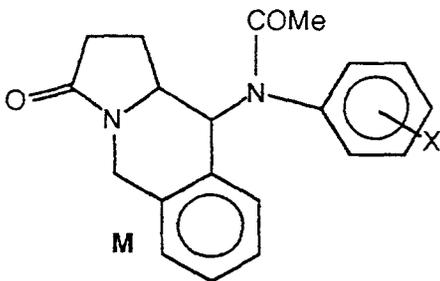
amide silylé

~~CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H~~

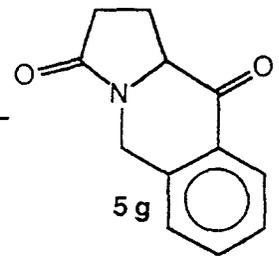
M

HMDS  
ClSiMe<sub>3</sub> 130°C

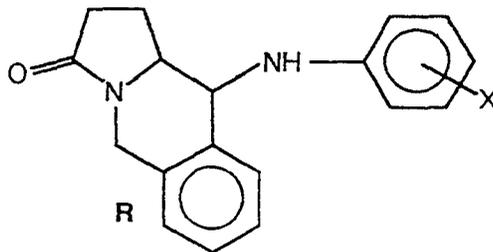
6 g

PPh<sub>3</sub>DEAD  
anilide subst.

M

NaBH<sub>4</sub>/EtOH  
reflux

5 g

1. aniline subst./TsOH  
toluène, reflux2. NaBH<sub>4</sub>

R

RECAPITULATIF N°2 DES ESSAIS D'OBTENTION DES COMPOSES R

### 3 - Méthodes et voies de synthèse

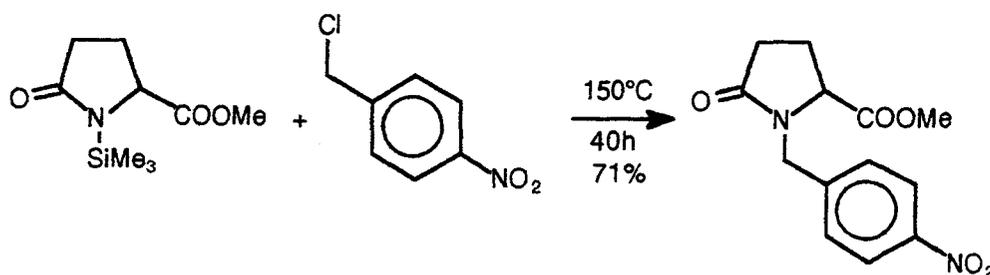
La chimie développée dans le paragraphe 3 a été menée pour une grande partie en collaboration avec P. Gautret (Gautret, 1994), excepté les études concernant les synthèses des composés **2f**, **DL3f**, **DL4f** et **DL5f** et l'optimisation de la cyclisation de l'acide **DL4a** en cétone **DL5a**.

Par ailleurs, les cétones **5** et alcools **6** apparaissent avec une stéréochimie particulière en position 7 qui n'a pas été vérifiée dans tous les cas (position du carbone porteur des deux noyaux benzéniques substitués). La notation choisie rend compte du fait que ces produits sont obtenus sous forme d'un unique isomère. De plus, les molécules synthétisées à partir de dérivés de l'acide DL-pyroglytamique sont dessinées, par souci de simplification, sous forme L et non sous forme de leur mélange racémique, mais sont précédées, dans leur numérotation du préfixe **DL**.

#### 3.1 - N-alkylation du pyroglutamate de méthyle N-silylé ou de l'acide pyroglutamique N,O-disilylé

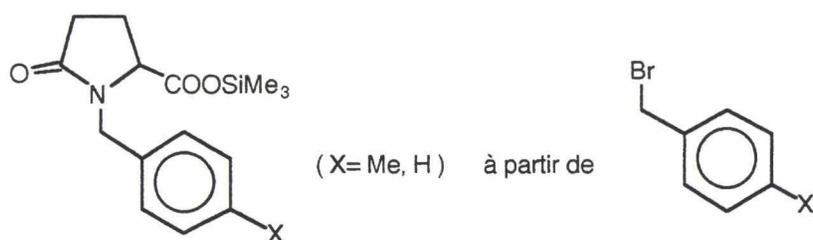
##### 3.1.1 - N-alkylation par les dérivés halogénés

Il est possible d'alkyler des esters pyroglutamiques N-silylés par des dérivés halogénés. En effet, la réaction suivante a été décrite (Rigo et Couturier, 1985) :



Effenberger et coll. ont ensuite généralisé le même type de réaction avec les bromures de benzyle et de benzhydryle (Effenberger et coll., 1987 et 1990). Il est à noter que la stéréochimie du composé pyroglutamique de départ est conservée.

Afin de vérifier que ce type de réaction était réalisable avec des acides pyroglutamiques N,O-disilylés, nous avons préparé à 150°C et sans catalyseur les produits suivants (Rigo et coll., 1994) :



Néanmoins, dans le cas des benzhydrols, les dérivés halogénés ne sont pas toujours simples à synthétiser (fig.31). En effet, les benzhydrols contenant des groupements électrodonneurs et devant donner lieu aux dérivés halogénés sont sensibles aux milieux acides. Ils subissent en effet une réaction de dismutation (Gautret et coll., 1996).



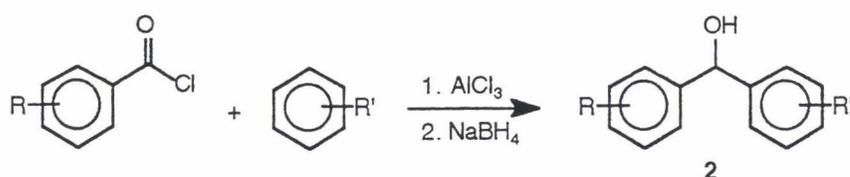
figure 31 : Passage des benzhydrols **2** aux dérivés halogénés correspondants

Nous nous sommes donc tourné vers une autre voie, celle des benzhydrols silylés.

### 3.1.2 - N-alkylation par les benzhydrols silylés

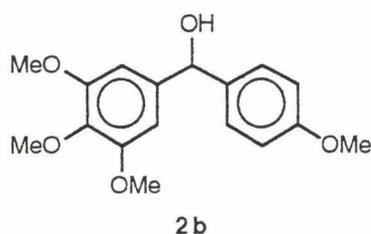
#### 3.1.2.1- formation des benzhydrols

La synthèse de benzhydrols peut s'effectuer par réaction d'un chlorure d'acide avec un dérivé aromatique au moyen du chlorure d'aluminium, puis réduction de la fonction cétonique par le borohydrure de sodium (fig.32 page.63).



**figure 32** : Formation des benzhydrols **2** par réaction du chlorure d'aluminium suivi du borohydrure de sodium

Ce schéma réactionnel a été utilisé dans la littérature (Cushman et coll., 1992), en particulier pour la synthèse du composé **2 b** (fig.33)



**figure 33** : Structure chimique du benzhydrol **2 b**

Toutefois, la synthèse de certains benzhydrols par cette technique, n'est théoriquement pas possible (mauvaise orientation de la substitution électrophile). Cet aspect a été vérifié par une réaction modèle, mettant en jeu le chlorure d'acétyle et le 1,2,3-triméthoxybenzène. Un mélange brut de deux composés de type cétonique a été obtenu, le spectre de RMN  $^1\text{H}$  de ce mélange montrant une forte prépondérance d'un branchement en ortho (80%) par rapport au branchement méta (20%). On visualise effectivement un doublet de doublet pour les deux protons aromatiques dans le cas d'un branchement en ortho, contrairement au branchement en méta qui donne un singulet pour ces deux mêmes protons.

L'utilisation du 2,6-diméthoxyphénol, en remplacement du 1,2,3-triméthoxybenzène, qui nous semblait susceptible de favoriser l'orientation désirée lors de la substitution, ne nous donne que 15% d'un produit **A**, 5% du produit désiré **B** (fig.34) et 80% de 2,6-diméthoxyphénol.

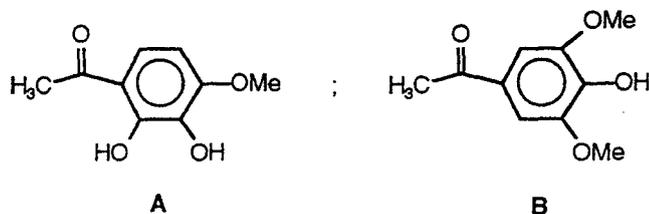


figure 34 : Structures chimiques des composés **A** et **B**

Il était donc nécessaire d'envisager une autre démarche pour la synthèse des benzhydrols, généralisable à toute sorte de composés aromatiques diversement substitués.

Deux types de réactions mettant en jeu, d'une part un organolithien (fig.35), d'autre part un organomagnésien (fig.35), ont été menés.

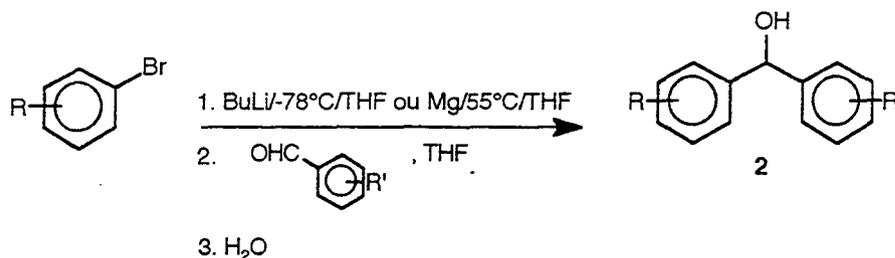


figure 35 : Formation des benzhydrols **2** par réaction d'organolithien ou organomagnésien

Dans la première méthode, le dérivé bromé est traité par le butyllithium dans le tétrahydrofurane à  $-78^{\circ}\text{C}$ . Celui-ci est dosé dans les conditions opératoires avant chaque manipulation et est utilisé sans excès, afin d'éviter une réaction parasite sur l'aldéhyde.

Le passage par les organomagnésiens a été tenté, quant à lui, sur le 5-bromo-1,3-benzodioxole. Il est alors possible de travailler avec un excès de magnésium et à  $55^{\circ}\text{C}$ .

Les dérivés bromés employés sont tous commerciaux, excepté le 5-bromo-1,3-benzodioxole (**1 a**) qui a été préparé à partir du 1,3-benzodioxole au moyen du brome dans l'acide acétique (Feugeas,

1964) (fig.36) et le 5-bromo-1,2,3-triméthoxybenzène qui a été préparé en deux étapes : bromation du 2,6-diméthoxyphénol par la N-bromosuccinimide en présence d'une quantité catalytique de méthylate de sodium (**2 b**) et méthylation de la fonction phénol par le sulfate de diméthyle (**2 c**) (fig.36) (Jung et coll., 1985).

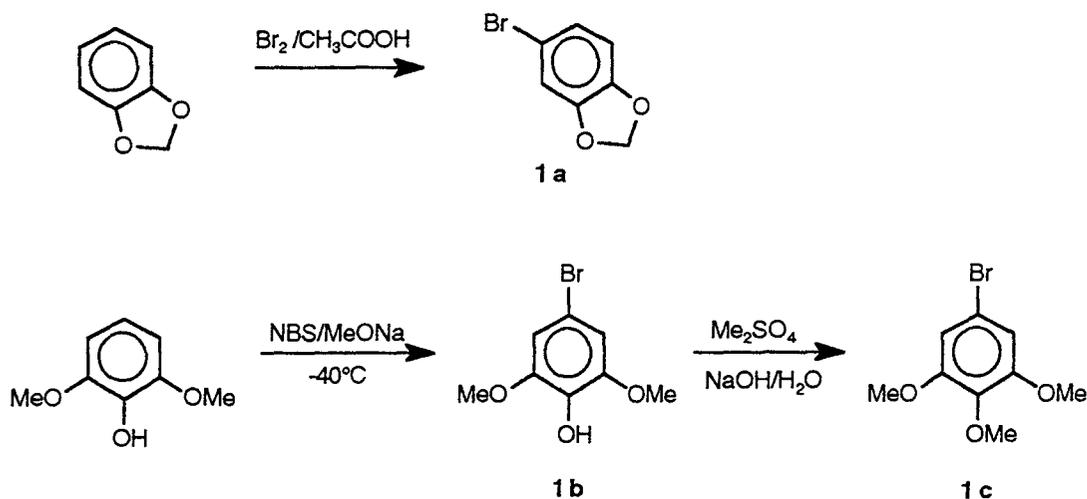


figure 36 : Préparation des composés **1 a**, **1 b** et **1 c**

Il est à noter que la bromation du 2,6-diméthoxyphénol par la N-bromosuccinimide n'est pas une réaction radicalaire mais ionique. En effet, la formation d'un ion phénolate par l'attaque du méthylate de sodium fait apparaître, par mésomérie, une charge négative en position méta des groupements méthoxy et donc une bromation préférentielle en cette position (fig.37).

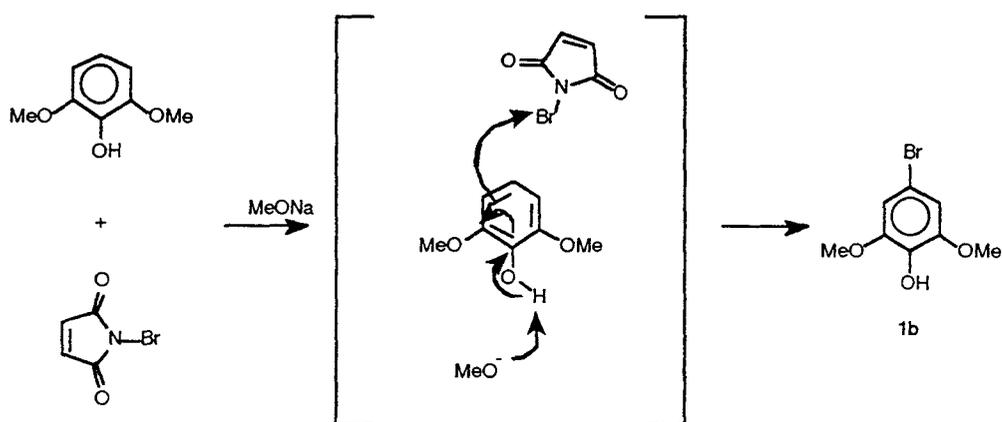


Figure 37 : Mécanisme réactionnel de la bromation du 2,6-diméthoxyphénol par la N-bromosuccinimide

Néanmoins, il est nécessaire de réaliser une cristallisation dans l'heptane de l'huile brute après traitement de la réaction, afin d'obtenir le produit désiré pur, car il se forme des sous-produits de type polybromés.

Les différents dérivés bromés sont ensuite condensés sur les aldéhydes R'-substitués par réaction d'organométallique.

### 3.1.2.2- cas particulier de la formation du composé **2 f**

Une première tentative d'obtention du composé **2 f** (fig.38) a été menée par réaction d'organomagnésien.

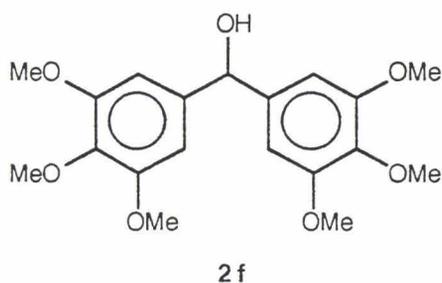


figure 38 : Structure chimique du composé **2 f**

Après traitement classique de la réaction, un produit a été isolé par cristallisation dans l'acétate d'éthyle avec un rendement faible de 25%. L'analyse du spectre de RMN<sup>13</sup>C (pic à 195,0 ppm) de cette poudre montre que le produit obtenu contient une fonction cétonique. L'analyse élémentaire correspondante prouve sans ambiguïté la présence de la forme oxydée **2'f** du composé désiré (fig.39).

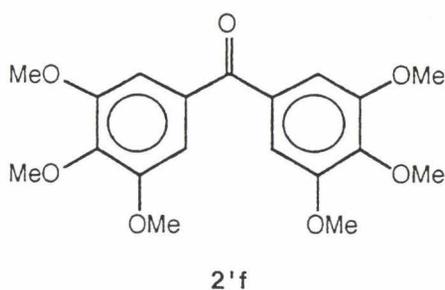


figure 39 : Structure chimique du composé **2' f**

Nous pensions être confrontés à une réaction de dismutation (cf. paragraphe 3.1.2.4 p.69). Néanmoins, cette idée a été abandonnée, car il n'y a aucune trace, en RMN  $^1\text{H}$ , du groupe méthylène du composé  $2''\text{f}$  qui devrait accompagner  $2'\text{f}$  (fig.40). Il semblerait que  $2'\text{f}$  soit issu d'une simple oxydation de  $2\text{f}$ .

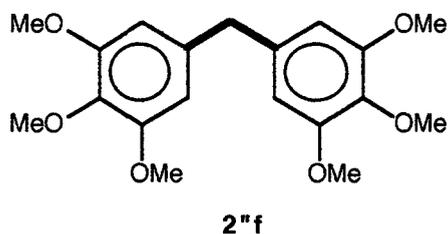


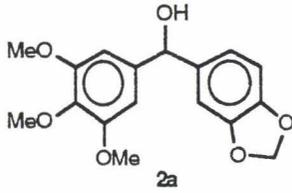
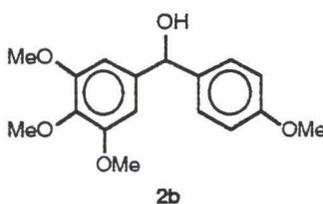
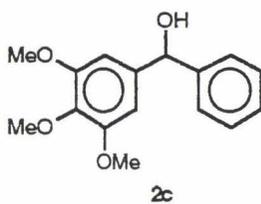
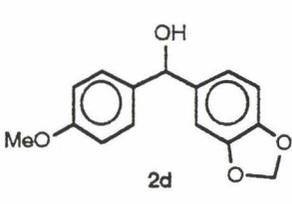
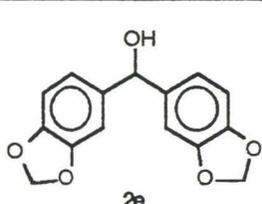
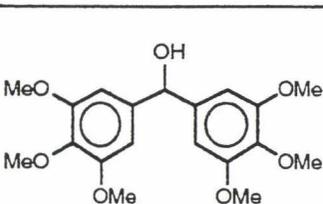
figure 40 : Structure chimique du composé  $2''\text{f}$

Toutefois, il est possible de synthétiser le produit attendu  $2\text{f}$  par réduction de  $2'\text{f}$  au moyen du borohydrure de sodium (rdt : 75%).

Dans l'intention de synthétiser directement  $2\text{f}$ , nous avons tenté ensuite une réaction d'organolithien. Cette alternative nous a permis d'obtenir, avec un rendement de 60%, un mélange, en quantités équimolaires, de  $2\text{f}$  et  $2'\text{f}$ , qui peut être réduit dans sa totalité par le borohydrure de sodium.

La meilleure méthode envisagée pour l'obtention de  $2\text{f}$  demeure donc l'utilisation d'une réaction d'organolithien suivie d'une réduction par le borohydrure de sodium du mélange ( $2\text{f} + 2'\text{f}$ ).

## 3.1.2.3 - tableau récapitulatif des benzhydrols 2 formés

benzhydrols 2 formés	Méthode(s) utilisée(s)	Rdt
 <p>2a</p>	A, B	72%
 <p>2b</p>	A	82%
 <p>2c</p>	A	85%
 <p>2d</p>	A	96%
 <p>2e</p>	A	93%
 <p>2f</p>	C D	19% 45%

A : méthode par organolithiens

B : méthode par organomagnésiens

C : méthode par organomagnésiens suivie d'une réduction par le borohydrure de sodium

D : méthode par organolithiens suivie d'une réduction par le borohydrure de sodium

## 3.1.2.4- silylation des benzhydrols

Des essais de silylation de benzhydrol ont été effectués antérieurement au laboratoire, à reflux de l'hexaméthylsilazane (130°C), sans catalyseur. Ces essais se sont soldés par des échecs. Des catalyseurs divers ont ensuite été utilisés, tels que le chlorotriméthylsilane et l'acide triflique qui permettent la silylation. Néanmoins, quand les benzhydrols sont porteurs de groupements électrodonneurs, on observe avec l'acide triflique une réaction de dismutation (cf 3.1.1 p.62) et non de silylation (fig.41).

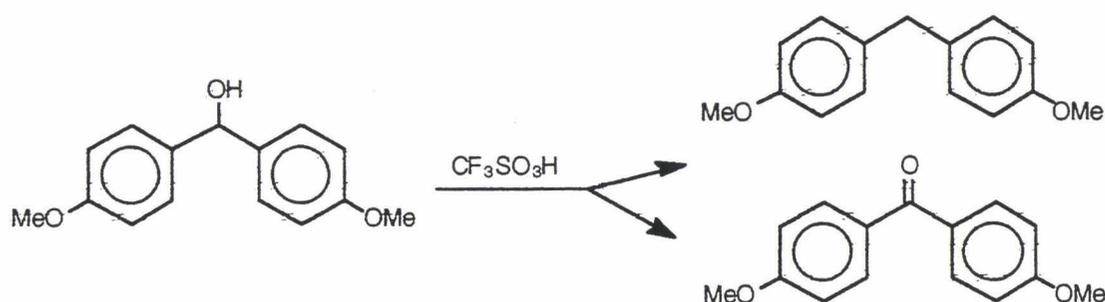
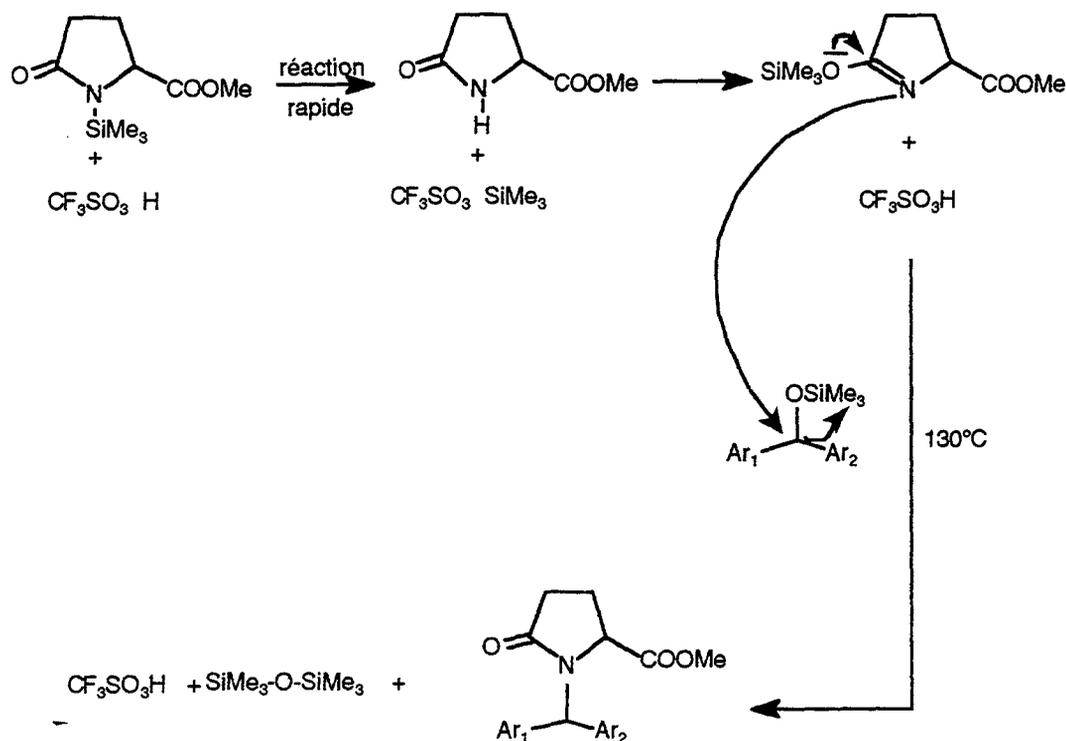


Figure 41 : Réaction de dismutation d'un benzhydrol porteur de groupements électrodonneurs

Dans le cadre de nos travaux, nous avons utilisé le chlorotriméthylsilane en tant que catalyseur. Le benzhydrol silylé obtenu quantitativement, après environ 20 minutes de chauffage, est suffisamment pur pour être utilisé tel quel pour la suite de la synthèse. De plus, la formation du benzhydrol silylé est facilement visualisable par RMN (groupe OSiMe<sub>3</sub> à environ 0,1 ppm).

## 3.1.2.5 - condensation sur le pyroglutamate de méthyle N-silylé

Des essais de N-alkylation de benzhydrols silylés sur le pyroglutamate de méthyle ont été effectués à 130°C, sans solvant, aucune N-alkylation n'a été observée. Par contre, à la même température et en présence d'un catalyseur de type acide vrai ( $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ ,  $\text{ClSO}_3\text{H}$ ...), acide de Lewis ( $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{SnCl}_4$ ...) ou  $\text{I}_2$ , la N-alkylation a pu être obtenue. Des observations RMN ont montré que la condensation faisait intervenir tout d'abord une réaction entre le catalyseur et le pyroglutamate de méthyle (fig.42 p.70).



**figure 42** : Mécanisme réactionnel de condensation d'un benzhydrol silylé sur le pyroglutamate de méthyle N-silylé

Dans le cadre de nos études, nous avons utilisé l'acide triflique comme catalyseur.

Il est à noter que, dans ce cas, on n'observe pas la réaction de dismutation (citée auparavant) du benzhydrol. La seule présence du pyroglutamate de méthyle silylé permet d'augmenter considérablement la stabilité du benzhydrol silylé vis-à-vis de l'acide triflique. Ceci pourrait être dû à la transformation, en présence de pyroglutamate de méthyle, de l'acide triflique en triflate de silyle, composé moins acide que l'acide triflique et d'une vitesse de dismutation plus lente.

Nous avons également réalisé une N-alkylation à l'aide de l'iode, catalyseur beaucoup plus simple à manipuler que l'acide triflique. Cette réaction fournit les esters **3** avec un rendement équivalent à celui obtenu avec l'acide triflique.

Pour chaque N-alkylation formant des esters dissymétriques, nous obtenons généralement un mélange équimolaire de deux produits isomères pour les composés L-pyroglutamiques (fig.43 p.71)

et un mélange de deux racémiques pour les composés DL-pyroglyutamiques (fig.44). Ceux-ci sont visualisables en RMN  $^1\text{H}$ .

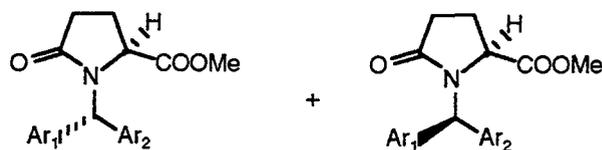


figure 43 : Esters obtenus à partir de benzhydrols silylés et de L-pyroglytamate de méthyle

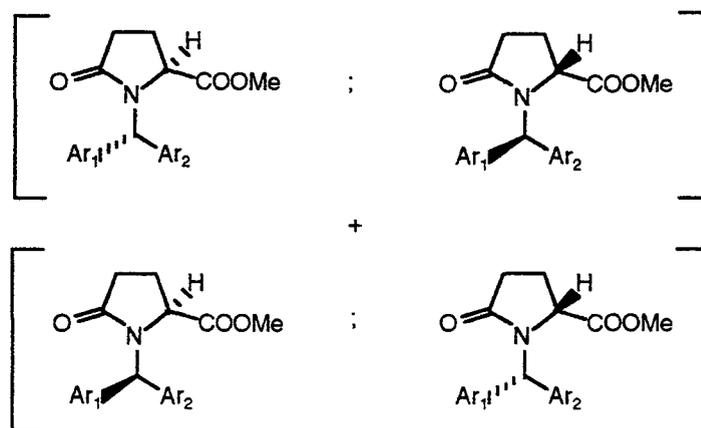


figure 44 : Esters obtenus à partir de benzhydrols silylés et de DL-pyroglytamate de méthyle

Nous ne sommes généralement pas parvenus à séparer ces isomères qui possèdent des comportements trop proches vis-à-vis des solvants pour être cristallisés séparément, et des rapports frontaux en CCM identiques, empêchant une éventuelle séparation par flash chromatographie.

Il nous a été possible dans un unique cas (composé **DL3b**) de séparer, avec un rendement de seulement 10%, l'un des isomères par cristallisation dans l'acétate d'éthyle (fig.45).

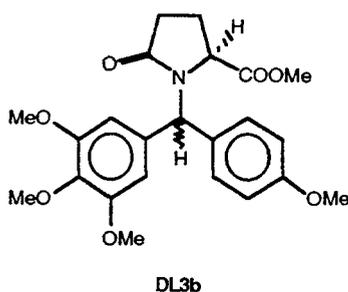
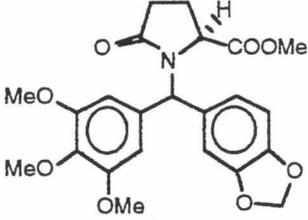
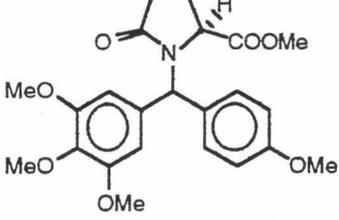
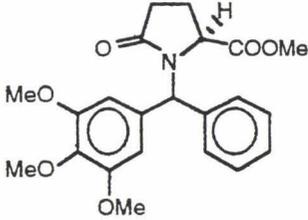
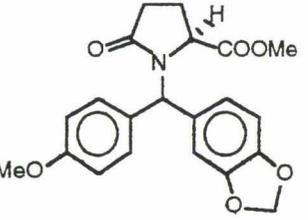
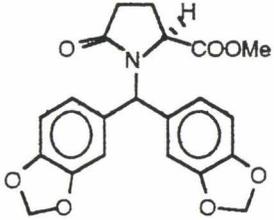
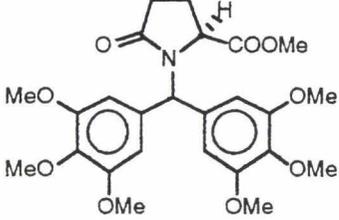


Figure 45 : Structure chimique du composé **DL3b**

3.1.2.6 - tableau récapitulatif des esters 3 formés à partir des benzhydrols 2 correspondants

esters 3 formés	numéros	Rdt
	DL3a	96%
	3b DL3b	95% 94%
	3c DL3c	95% 97%
	3d DL3d	94% 95%
	DL3e	97%
	DL3f	82%

## 3.2 - Cyclisation de type Friedel-Crafts intramoléculaire des acides ou acides silylés pyroglutamiques en cétone

### 3.2.1 - préparation des acides silylés

Nous avons vu dans le paragraphe 3.1.1 page 61 que le pyroglutamate de méthyle N-silylé et l'acide pyroglutamique N,O-disilylé pouvaient être N-alkylés par les réactifs halogénés. De la même manière, ils peuvent l'être par les benzhydrols silylés (fig.46).

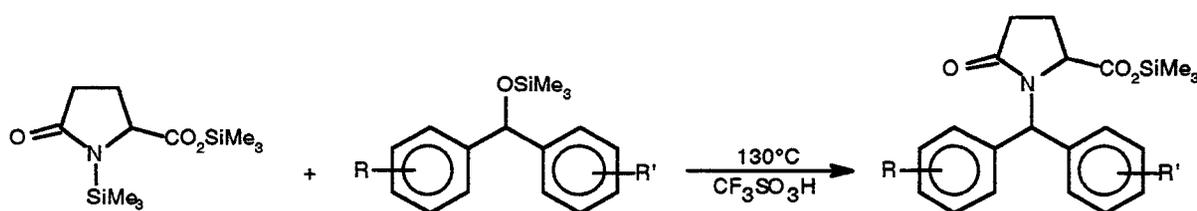


figure 46 : Préparation des acides silylés 4'

### 3.2.2 - préparation des acides

#### 3.2.2.1 - préparation

Les acides 4 peuvent être obtenus instantanément et quantitativement en traitant les acides silylés par une petite quantité de méthanol. Ils peuvent être également facilement obtenus par saponification des esters 3 dans la soude aqueuse (fig.47 p.74) ; l'ajout lent d'HCl aboutit à la précipitation de l'acide désiré. Il est à noter qu'un ajout trop rapide d'HCl conduit à une mauvaise précipitation. En effet, dans ce cas, l'acide a tendance à prendre l'aspect d'une pâte collante, qui peut être solubilisée dans le chlorure de méthylène et lavée à l'eau acide. La phase organique séchée et évaporée donne l'acide sous forme d'une huile suffisamment pure pour être utilisée telle quelle pour la cyclisation ultérieure.

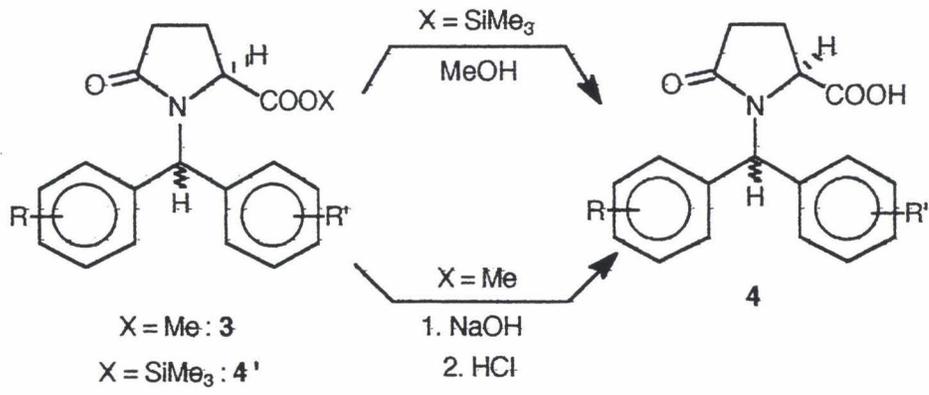
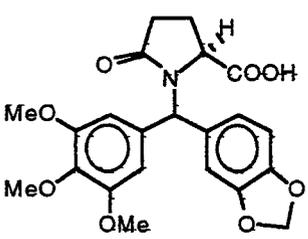
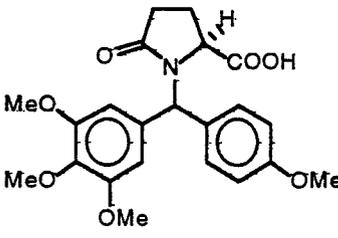
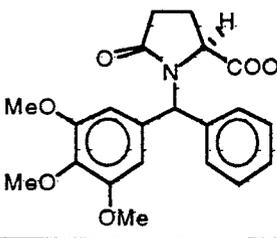
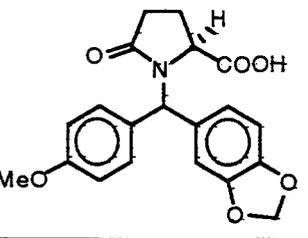
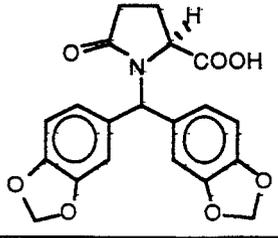
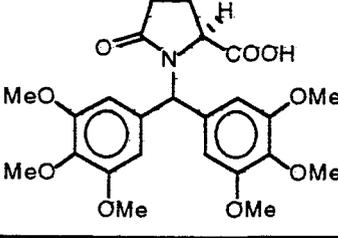


figure 47 : Synthèse des acides 4 à partir des acides silylés 4' ou des esters 3

3.2.2.2 - tableau récapitulatif des acides **4** formés à partir des esters **3**  
correspondants

acides <b>4</b> formés	numéros	Rdt
	DL4a	81%
	4b DL4b	92% 90%
	4c	79%
	DL4d	74%
	DL4e	81%
	DL4f	80%

## 3.2.3 - cyclisation en cétone à partir des acides

De nombreuses réactions de Friedel-Crafts intramoléculaires ont été menées dans la série des acides pyroglutamiques (Rigo et Couturier, 1985). Le passage par le chlorure d'acide grâce au chlorure de thionyle ou au chlorure d'oxalyle, suivi de la cyclisation par le chlorure d'aluminium, fournit les cétones présentées dans la figure 48 avec de bons rendements.

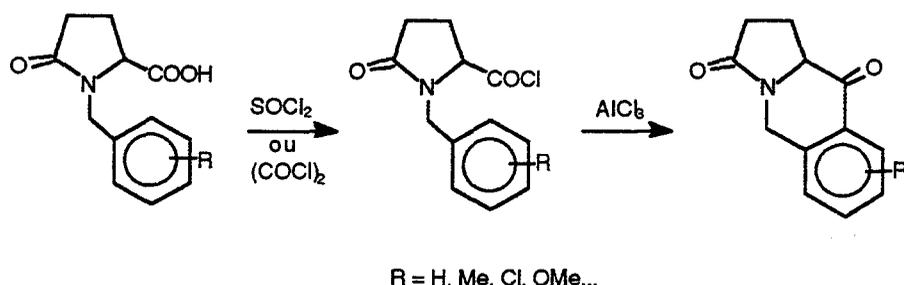


figure 48 : Synthèse de différentes cétones pyroglutamiques par le chlorure d'aluminium

Il est également possible de réaliser cette cyclisation dans les mêmes conditions à partir d'acides silylés. Ceux-ci se comportent comme les acides vis-à-vis du chlorure de thionyle. De plus, ils conduisent à des produits plus propres.

Néanmoins, certaines cétones ne peuvent être obtenues par cyclisation par le chlorure d'aluminium (fig.49). Il est nécessaire d'utiliser un acide de Lewis plus doux. En effet, les essais menés avec le chlorure d'aluminium conduisent à un clivage partiel des éthers aromatiques de ces cétones (Buckley et Rapoport, 1983 ; Lee et coll., 1989).

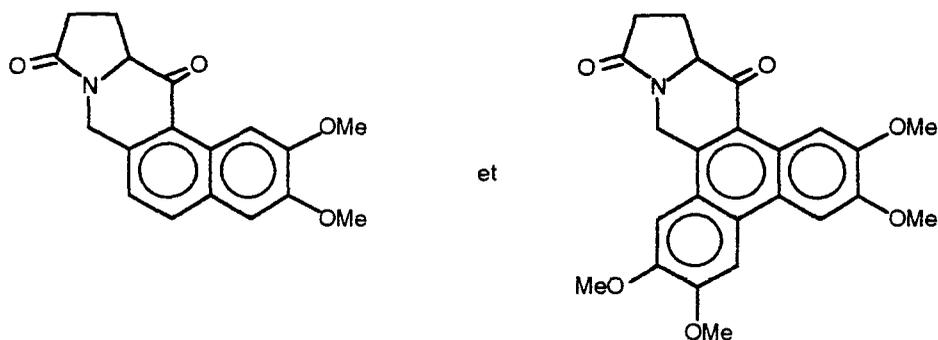


figure 49 : Composés ne pouvant être obtenus par cyclisation par le chlorure d'aluminium

Afin de synthétiser des cétones pyroglutamiques porteuses de groupements méthoxy aromatiques, nous avons activé la fonction acide grâce à l'anhydride trifluoroacétique et employé un acide de Lewis plus doux, le trifluorure de bore en solution dans l'éther ( $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$ ). En effet, le mélange anhydride trifluoroacétique/trifluorure de bore dans l'éther apparaît comme une méthode de choix (Bhatt et Kulkarni, 1983 ; Yasuda et coll., 1988) pour les cyclisations que nous désirons effectuer. Toutefois, il faut noter que dans le cas de la présence d'un groupement méthoxy proche de la fonction cétonique formée, il se produit une déméthylation en cette position (Dean et coll., 1966) suivant le mécanisme présenté dans la figure 50.

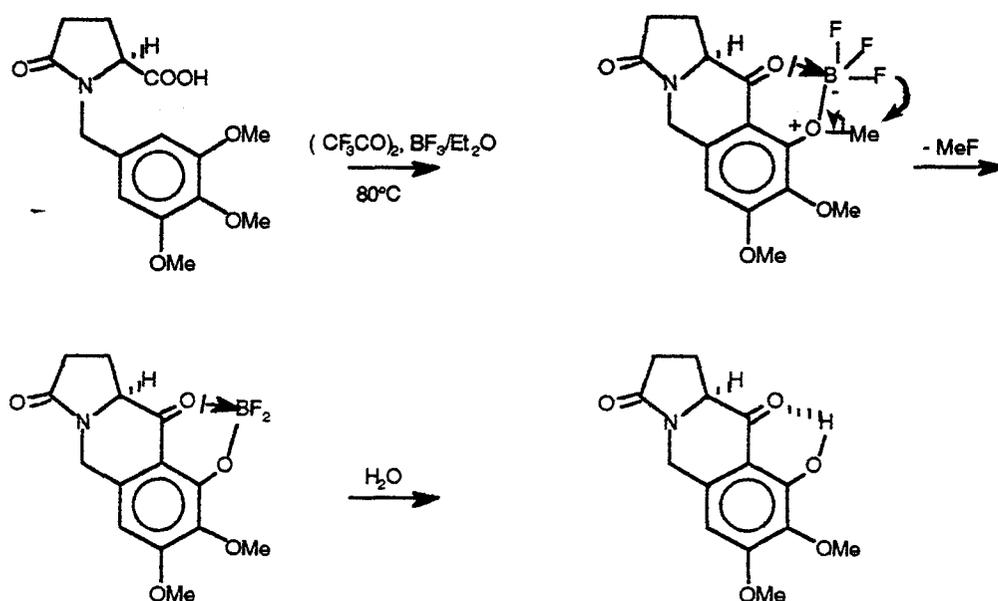


figure 50 : Mécanisme de la déméthylation par  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$  lors de la cyclisation de Friedel-Crafts

Par ailleurs, la cyclisation d'acides pyroglutamiques possédant deux noyaux aromatiques dissymétriques doit, théoriquement, nous fournir deux produits de cyclisation (fig.51)

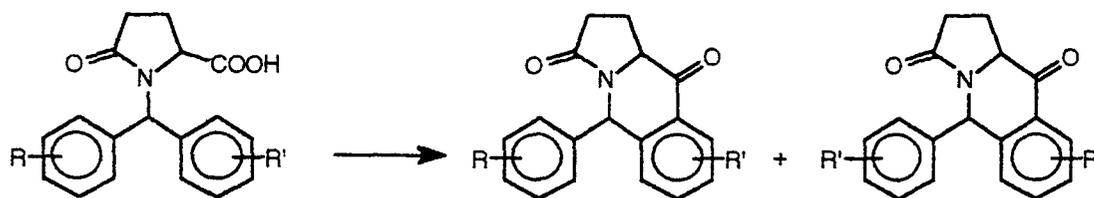


figure 51 : Produits attendus par cyclisation de type Friedel-Crafts

La cyclisation des acides **DL4a**, **DL4d**, **DL4e** et **DL4f** confirme les différents points abordés ci-dessus (présence de deux cétones par cyclisation d'acide dissymétrique, déméthylation éventuelle) (tableau 1). Il est à noter, toutefois, une particularité dans le cas de la cyclisation de l'acide **DL4f**. La cétone **DL5f** obtenue précipite directement dans le milieu réactionnel sous forme d'une poudre jaune. Il est nécessaire de laver cette poudre à l'eau, d'une part afin d'éliminer des traces acides provenant des réactifs utilisés en excès, et d'autre part afin de détruire le complexe s'établissant entre les fonctions cétonique et phénolique du composé et l'acide de Lewis choisi (Dean et coll., 1966).

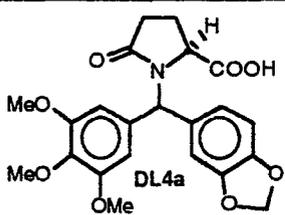
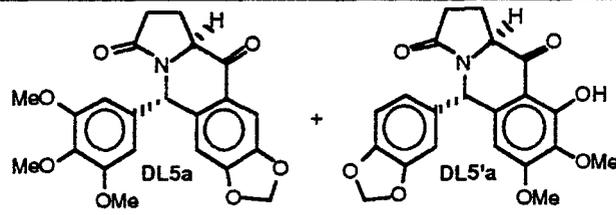
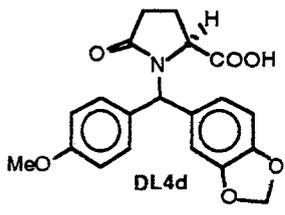
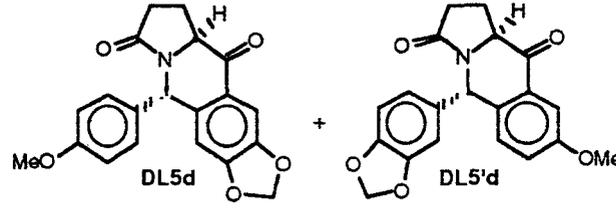
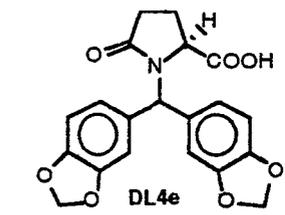
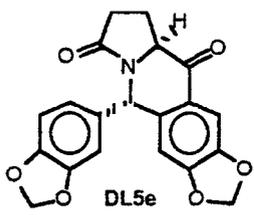
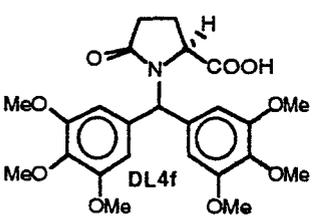
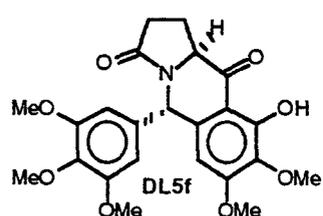
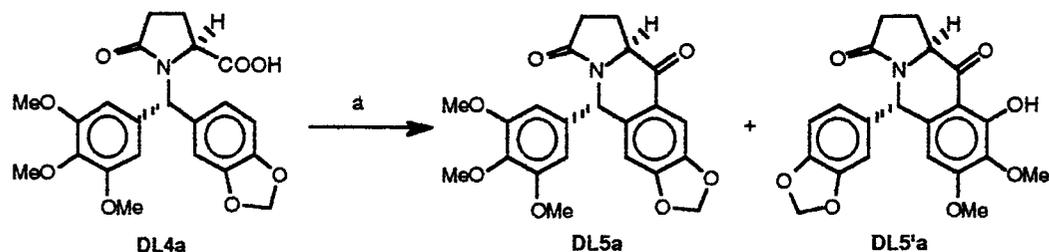
acides 4	Produits de cyclisation obtenus	Rdt
 <p>DL4a</p>	 <p>DL5a + DL5'a</p>	<p>DL5a : 32%</p> <p>DL5'a : 30%</p>
 <p>DL4d</p>	 <p>DL5d + DL5'd</p>	<p>DL5d : 38%</p> <p>DL5'd : 5%</p>
 <p>DL4e</p>	 <p>DL5e</p>	<p>DL5e : 76%</p>
 <p>DL4f</p>	 <p>DL5f</p>	<p>DL5f : 57%</p>

tableau 1 : Produits de cyclisation des acides 4

Les essais de cyclisation sur les différents acides 4 précités ont été menés en fort excès de  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$  et d'anhydride trifluoroacétique, à reflux de ce dernier. Nous avons tenté d'optimiser ces conditions de

cyclisation en faisant varier les quantités de réactif et la température du milieu réactionnel (les temps de réaction, quant à eux, sont régis par la disparition de l'acide de départ en CCM).

Les résultats de ces variations sur la cyclisation de l'acide **DL4a** sont résumés ci-dessous (tableau 2).



a:  $(CF_3CO)_2O$ ,  $BF_3/Et_2O$ ,  $ClCH_2CH_2Cl$ ,  $40^\circ C$

$(CF_3CO)_2O$ (en nombre d'eq. / DL4a)	$BF_3/Et_2O$ (en nombre d'eq. / DL4a)	Durée du chauffage	Résultats
8	8	4 heures	obtention de DL5a et DL5'a en quantités équimolaires
4	8	7 heures	obtention de DL5a et DL5'a en quantités équimolaires
1,1	8	9 heures	obtention de DL5a et DL5'a en quantités équimolaires
1,1	4	9 heures	pas de traces de DL5a et DL5'a en CCM mélange de produits non identifié
1,1	6	9 heures	pas de traces de DL5a et DL5'a en CCM mélange de produits non identifié

**tableau 2** : Optimisation des conditions de cyclisation du composé **DL4a** en **DL5a** et **DL5'a**, pour 1g de produit et 10 ml de solvant

La formation de l'anhydride mixte correspondant à l'acide **DL4a** est donc effective avec 1,1 équivalent d'anhydride trifluoroacétique. Par contre, il est nécessaire de conserver un large excès de  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$  (8 équivalents). En effet, l'acide **DL4a** possède de nombreux doublets libres, capables de complexer le catalyseur.

Par ailleurs, nous avons réussi à séparer les cétones **DL5a** et **DL5'a** en mettant à profit la solubilité de **DL5'a** dans une solution de soude 2N. Cette méthode est plus aisée que les séparations effectuées auparavant (flash chromatographie et cristallisations) (Gautret, 1994).

De manière générale, les rendements globaux des produits de cyclisation de type Friedel-Crafts (avant séparation des différentes cétones éventuelles) apparaissent relativement faibles (<70%). Les purifications par flash chromatographie nous ont permis de mettre en évidence une série de produits non séparés mais ayant perdu le noyau pyroglutamique des acides **4** (un produit de ce type a été isolé dans une série voisine avec un faible rendement : cf p.134). Ces fractions représentent environ 30 à 40% du mélange brut des réactions effectuées. La liaison N-benzhydryl semblerait très sensible au milieu acide inhérent à ces cyclisations. Cette sensibilité est particulièrement accrue dans la tentative de cyclisation de l'acide **4i** présenté figure 52. Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  montre une faible proportion de protons pyroglutamiques (présents habituellement entre 2 et 3 ppm) comparée à celle des protons aromatiques ou des groupes méthoxy, ainsi qu'un très faible pourcentage de produit cyclisé, qui n'a pu être isolé.

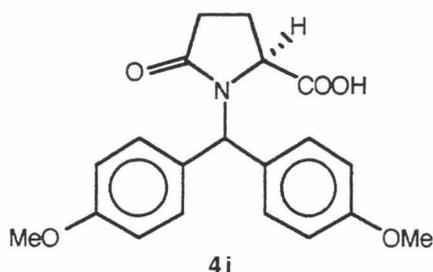


figure 52 : Structure chimique de l'acide **4i**

### 3.3 - Formation des alcools : réduction stéréosélective des cétones

#### 3.3.1 - préparation

Les alcools **6** sont synthétisés à partir des cétones **5** et **5'** par réduction stéréosélective (fig.53). La littérature montre que celle-ci peut être effectuée par l'hydrure de lithium et de tri-*t*-butyloxyaluminium (Pearce et coll., 1989) ou par le borohydrure de zinc (Bosmans et coll., 1989 ; Gensler et coll., 1960). Ces réducteurs sont volumineux. L'attaque de la fonction cétone est donc orientée par l'encombrement stérique induit par le noyau aromatique E : l'approche ne pouvant s'effectuer que par le côté opposé à ce noyau, l'hydrure ne peut se positionner qu'en trans par rapport à celui-ci. Les composés **6** possèdent la même stéréochimie que la podophyllotoxine. La valeur de la constante de couplage entre le proton 11 et le proton 12 n'infirme pas l'hypothèse de cette orientation.

La réduction de telles cétones pyroglutamiques par le borohydrure de sodium, quoique réducteur moins volumineux que l'hydrure de lithium et de tri-*t*-butyloxyaluminium, donne les composés alcooliques correspondants sous forme du même isomère.

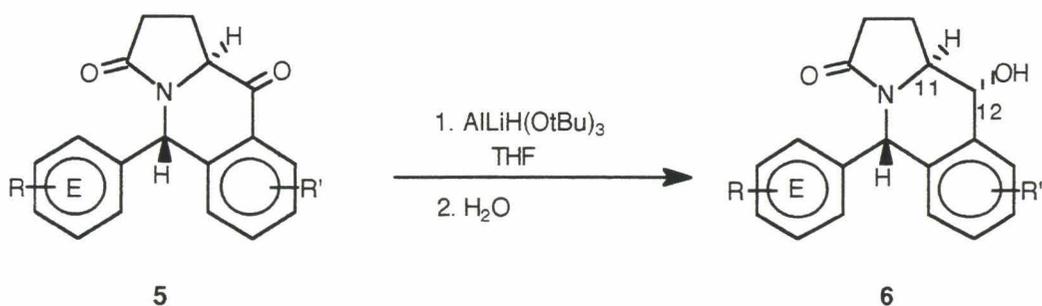
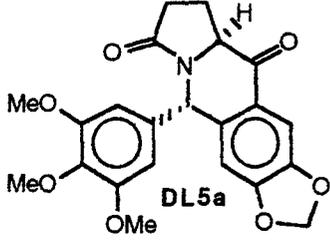
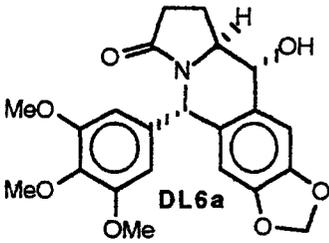
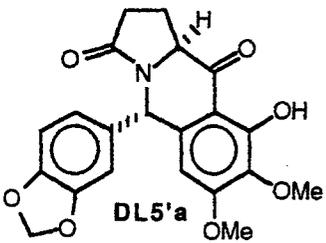
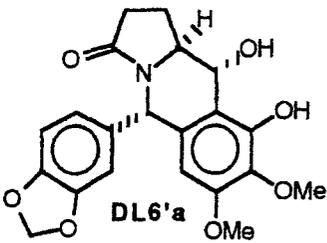
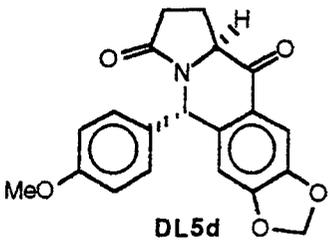
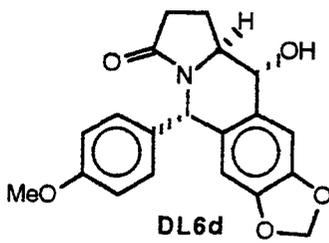
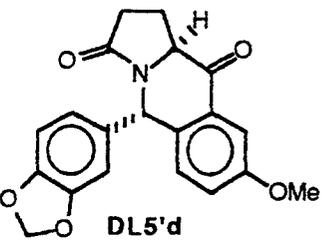
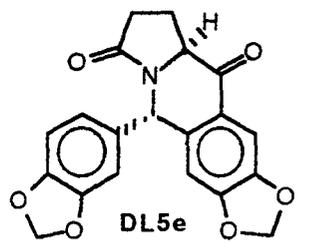


figure 53 : Synthèse des alcools **6** à partir des cétones **5**

Notons qu'il est possible d'obtenir très aisément ces alcools par cristallisation, ceci même à partir d'une cétone sous forme d'huile non purifiée. Les alcools obtenus sont recristallisés dans l'acétate d'éthyle et donnent de belles poudres blanches.

## 3.3.2 - tableau récapitulatif des alcools 6 formés

réactifs cétoniques 5	produits alcooliques 6	Rdt
 <p>DL5a</p>	 <p>DL6a</p>	92%
 <p>DL5'a</p>	 <p>DL6'a</p>	92%
 <p>DL5d</p>	 <p>DL6d</p>	90%
 <p>DL5'd</p>	 <p>DL6'd</p>	89%
 <p>DL5e</p>	 <p>DL6e</p>	91%

### 3.4 - Tentatives de fonctionnalisation des composés 6 en position 4 par une chaîne aminée

#### 3.4.1 - rappel

Les relations structure-activité concernant VP-16 et VM-26 montrent l'intérêt de la présence d'un substituant de type aniliné en position 4, comportant un groupe donneur et un groupe accepteur de liaison hydrogène judicieusement placés (fig.54).

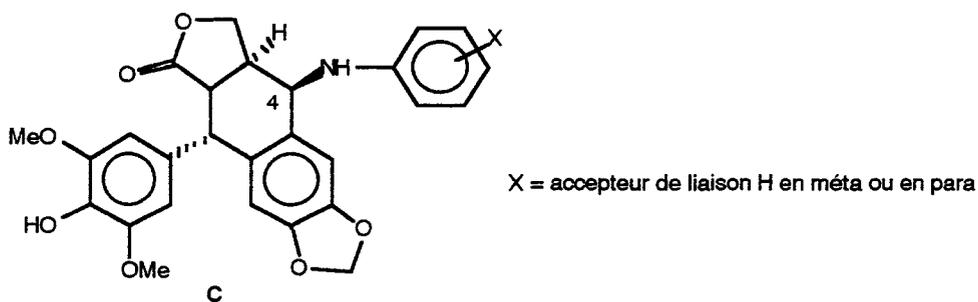


figure 54 : Structure chimique des composés C

Nous nous sommes ainsi intéressé à la synthèse des composés D présentés figure 55 à partir de DL6a.

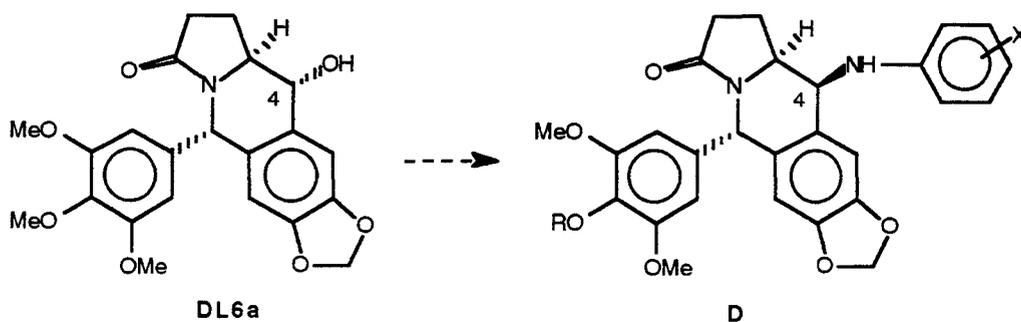


figure 55 : Structure chimique des composés D

Les composés D constitueraient ainsi des analogues stricts des produits C.

## 3.4.2 - données de la littérature

De nombreux dérivés de type C ont été synthétisés à partir de la podophyllotoxine (E) ou de la 4'-déméthylépipodophyllotoxine (F) (Lee et coll., 1990) (fig.56).

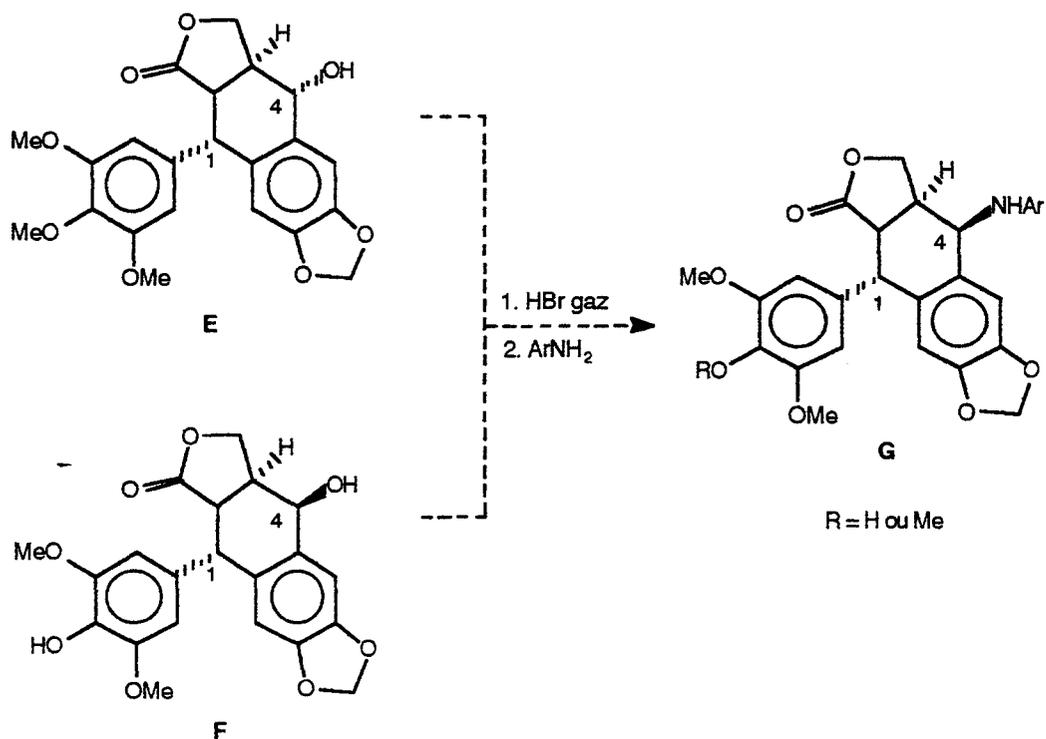


figure 56 : Synthèse des produits G à partir de la podophyllotoxine (E) et de la 4'-déméthylépipodophyllotoxine (F)

E et F sont tout d'abord traités par HBr gaz, afin de substituer le groupement hydroxyle par un atome de brome. Le produit bromé est ensuite mis en présence d'un dérivé aniliné ArNH<sub>2</sub> et de carbonate de baryum. On obtient alors les composés G. La formation de ces molécules s'effectue suivant une réaction SN<sub>1</sub>. Le cycle pendant aromatique très encombrant en position 1 oriente la substitution de façon stéréosélective.

Des analogues de structure présentée figure 57 page 85 ont également été synthétisés selon le même principe (Wang et coll., 1992).

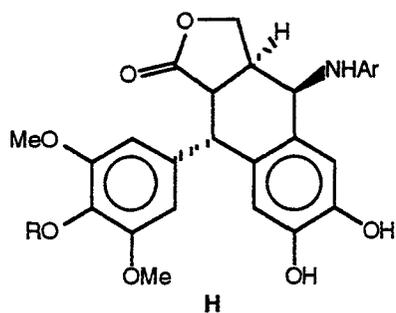


figure 57 : Structure chimique des composés H

### 3.4.3 - première tentative de branchement de chaîne aniliné en position 4

En nous fondant sur les données de la littérature rappelées page 84, nous avons décidé de traiter le composé **DL6a** par HBr formé *in situ*, afin d'obtenir un produit bromé susceptible de subir une substitution nucléophile ultérieure par des dérivés anilines judicieusement choisis (cf 3.4.1 p.83) (fig .58), puis une déméthylation sélective en position 4' (composés **D** où R = H).

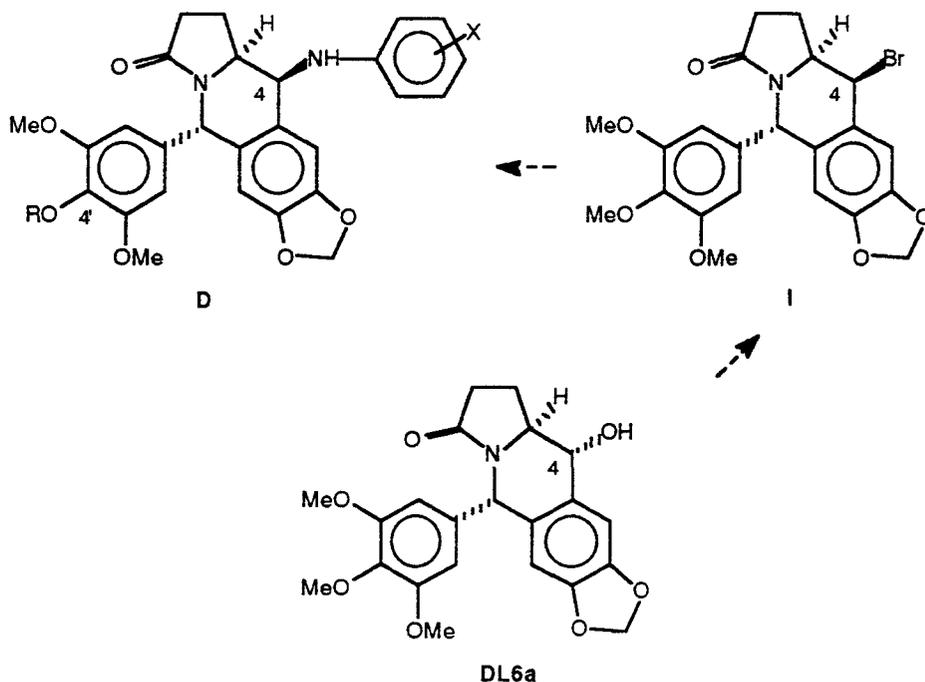


figure 58 : Synthèse envisagée des composés **D** à partir de **DL6a**

L'utilisation d'HBr formé *in situ* nous a paru plus simple à mettre en oeuvre que celle d'HBr gaz. Nous l'avons formé de la manière suivante :



Néanmoins, lors de cette tentative, nous n'obtenons pas le composé **I** mais un composé ayant subi une déméthylation en position 4' (visualisable par RMN) et ne comportant pas d'atome de brome (confirmation par analyse élémentaire). Celui-ci n'a pu être purifié.

Cet échec nous a toutefois permis de synthétiser le composé **DL8a** par traitement par HBr formé *in situ* (fig.59). Il possède une structure quasi plane et un cycle pendant aromatique de type diméthoxyphénol qui en font un bon candidat pour des tests d'inhibition de la topoisomérase II.

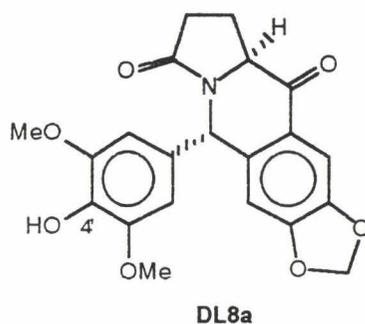


figure 59 : Structure chimique du composé **DL8a**

#### 3.4.4 - **6g** : un modèle utilisable pour la synthèse des composés **D**

Dans le but de mettre au point le branchement de chaîne aniliné en position 4 de nos molécules, nous avons synthétisé le composé **6g** à partir de la cétone **5g** au moyen d'une réduction de la fonction cétonique par le borohydrure de sodium (fig.60).

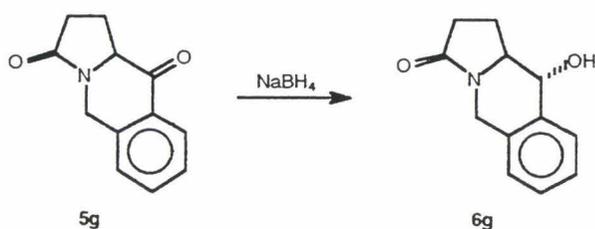


fig 60 : Synthèse du composé **6g** à partir de **5g**

Nous obtenons **6 g** sous forme d'un unique isomère.

Les premières tentatives de branchement de chaîne anilinée sur ce composé ont été menées sur le principe de formation des composés intermédiaires possédant un meilleur groupe partant en position 4 qu'un groupement hydroxyle.

#### 3.4.4.1 - présence d'un meilleur groupe partant en position 4

a - remplacement d'un groupement hydroxyle par un atome de chlore ou de brome

\* traitement par HBr formé *in situ*, HBr concentré ou chlorure de thionyle

Un atome de chlore ou de brome est un meilleur groupe partant qu'un groupement hydroxyle. Nous avons ainsi tenté la synthèse des composés **J** et **K** de diverses manières (fig.61).

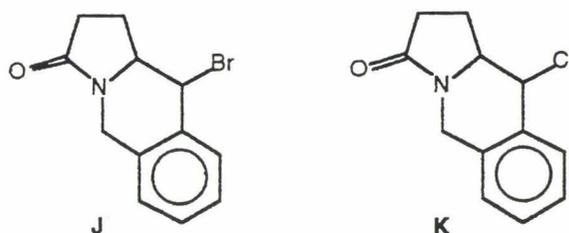


figure 61 : Structures chimiques des composés **J** et **K**

Le premier essai de synthèse de **J** a été mené en traitant **6 g** par HBr formé *in situ*. A l'ajout de **6 g** dissous dans un minimum de chlorure de méthylène dans le mélange  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Me}/\text{HBr}$  formé par réaction du bromure d'acétyle sur le méthanol, il se forme un précipité jaune. Celui-ci persiste après 20 heures d'agitation à température ambiante (et ne se dissout pas par reflux). La filtration de cet insoluble et son analyse par CCM et RMN nous révèlent la présence de la totalité du produit de départ **6 g**. Nous obtenons confirmation de l'impossibilité de substituer la fonction alcoolique en position 4 par un atome

de brome suivant la méthode décrite dans la littérature (Lee et coll., 1990 ; Wang et coll., 1992) et déjà tentée sur DL 6a.

Le traitement de 6 g par HBr concentré dans l'acétone à reflux pendant 12 heures aboutit au même résultat.

Nous avons alors essayé de synthétiser le composé K par traitement de 6 g par le chlorure de thionyle dans le chlorure de méthylène. Dans ce cas également nous n'obtenons, après reflux pendant 12 heures, que le composé 6g de départ.

\* traitement par le mélange ClSiMe<sub>3</sub>/BiCl<sub>3</sub> (Labrouillère et coll., 1995)

Le chlorotriméthylsilane est en général incapable d'effectuer la chloration des alcools. Toutefois, le comportement de ce dernier accompagné d'une quantité catalytique de BiCl<sub>3</sub> comme agent chlorant est remarquable. En effet, ce mélange est capable de transformer des alcools secondaires, réputés moins réactifs que les tertiaires, en composés chlorés avec deux équivalents de chlorotriméthylsilane et BiCl<sub>3</sub> en quantité catalytique, suivant le schéma réactionnel suivant :



Le mélange ClSiMe<sub>3</sub>/BiCl<sub>3</sub> est également un puissant agent de chloration des alcools benzyliques. Dans cette série, les alcools secondaires réagissent à température ambiante avec un seul équivalent de chlorotriméthylsilane.

Le pouvoir chlorant de ce mélange serait dû à une activation très forte de la liaison Si-Cl par BiCl<sub>3</sub>, ceci grâce à une interaction probablement peu stable, dans laquelle BiCl<sub>3</sub> jouerait le rôle d'un accélérateur électrophile (fig.62).

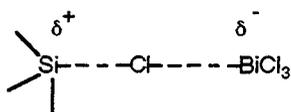


figure 62 : Interaction entre ClSiMe<sub>3</sub> et BiCl<sub>3</sub>

Nous avons été confronté, lors de l'application de cette méthode de chloration, à des problèmes de solubilité de **6 g** dans le chlorotriméthylsilane. Nous avons donc adjoint au mélange réactionnel du chloroforme et porté le tout à reflux pendant 12 heures. Néanmoins, la réaction n'a pas évolué (présence uniquement de **6 g** en CCM). Nous avons alors tenté le même type de réaction en remplaçant le chlorotriméthylsilane par le bromotriméthylsilane. En effet, le bromotriméthylsilane est capable de réaliser des bromations d'alcools secondaires en présence de  $\text{BiX}_3$  ( $X = \text{Cl}$  ou  $\text{Br}$ ) plus facilement que le chlorotriméthylsilane. Néanmoins, cette fois encore, nous n'avons pu obtenir le dérivé halogéné espéré.

#### b - remplacement d'un groupement hydroxyle par un groupement tosyle

Suite aux échecs d'obtention des composés **J** et **K**, nous avons décidé de synthétiser la forme activée tosyle de **6 g**.

Deux synthèses de dérivés tosylés ont été essayées, par action du chlorure de tosyle (2 équivalents / **6 g**):

- en présence de pyridine (2 équivalents / **6 g**) dans le chlorure de méthylène anhydre,
- en présence de triéthylamine (2 équivalent / **6 g**) dans le même solvant.

Dans les deux cas, nous n'obtenons que le produit de départ **6 g**.

A ce stade de l'étude, nous avons décidé de tenter un passage par une forme d'alcool silylé, susceptible de réagir par des mécanismes différents sur des dérivés anilinéés plus ou moins activés.

#### 3.4.4.2 - autres tentatives

##### a - synthèses des composés **7 g** et **DL7a**

La silylation de l'alcool **6 g** s'est effectuée de manière classique, dans l'hexaméthylidisilazane, à  $130^\circ\text{C}$ , la réaction étant catalysée par le chlorotriméthylsilane (fig.63 p.90).

Une particularité a été la présentation de **7 g** sous forme de poudre blanche et son insensibilité à l'humidité (contrairement aux benzhydrols silylés, huiles colorées très sensibles aux traces d'humidité).

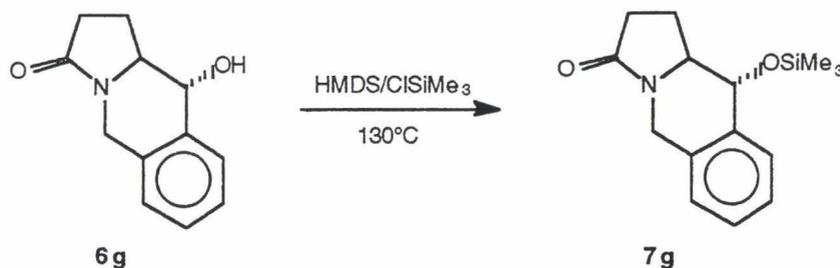


figure 63 : Synthèse du composé **7 g** à partir de **6 g**

Nous avons également synthétisé le composé **DL7a** à partir de **DL6a** (fig.64). Néanmoins, il faut remarquer que, dans ce cas, il est nécessaire d'ajouter dans la réaction de l'imidazole, inducteur de silylation, en quantité catalytique, afin d'obtenir le produit désiré. Cette fois encore, **DL7a** est obtenu sous forme de poudre et se montre insensible à l'humidité.

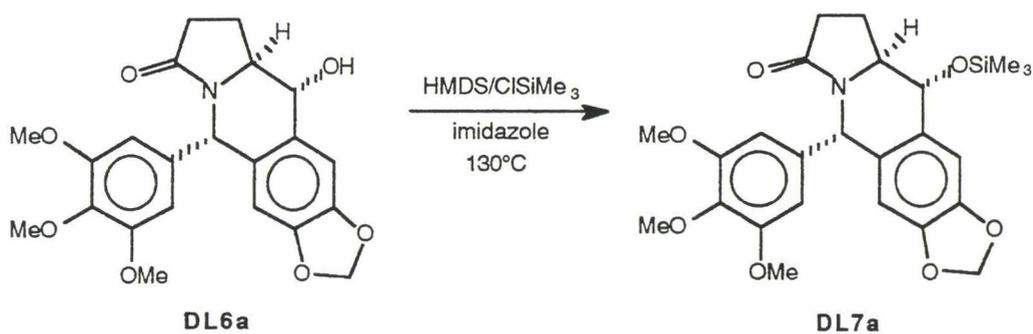


figure 64 : Synthèse du composé **DL7a** à partir de **DL6a**

## b - réactivité de 7 g vis-à-vis de la benzylamine silylée

Afin d'obtenir des composés comportant un substituant aminé en position 4, nous avons imaginé la condensation de 7 g sur la benzylamine silylée (fig.65) utilisée comme modèle.

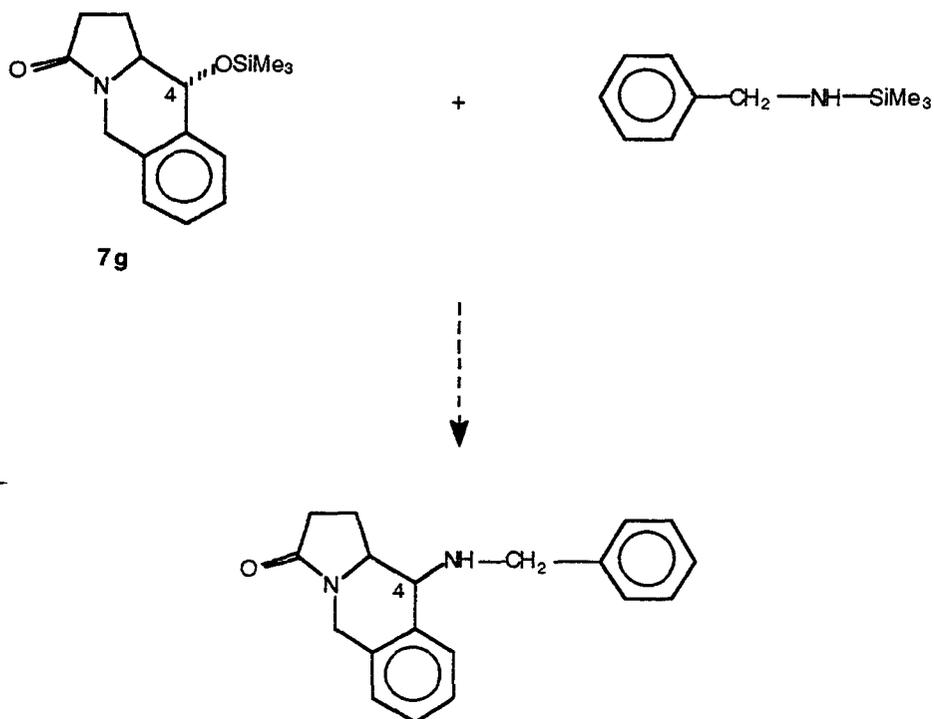
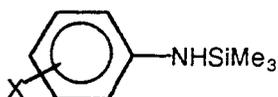


figure 65 : Condensation envisagée du composé 7 g sur la benzylamine silylée

L'emploi de la benzylamine silylée offre l'avantage de la présence d'un groupement méthylène facilement visualisable par RMN.

La méthode de synthèse pouvait ensuite être élargie au branchement d'anilines silylées judicieusement substituées (fig.66).



X = accepteur de liaison H en méta ou en para

figure 66

Le mécanisme attendu de la réaction est donné ci-dessous (fig.67).

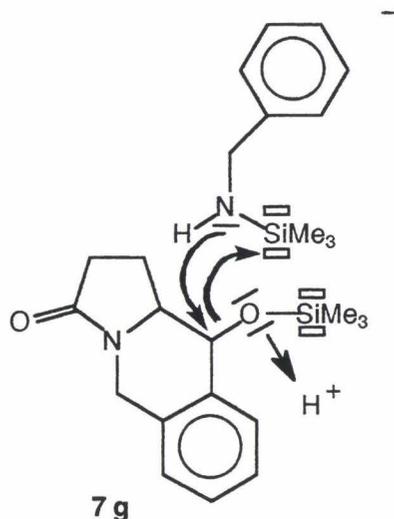


figure 67 : Mécanisme hypothétique de la condensation d'une amine silylée sur le composé **7 g**

La benzylamine silylée est un liquide qui est utilisé comme réactif et comme solvant dans la réaction. A  $90^{\circ}C$ , nous obtenons un mélange homogène. Nous catalysons alors la réaction par l'acide triflique. Néanmoins, après 6 heures de chauffage à  $160^{\circ}C$ , nous ne voyons ni apparition de pics caractéristiques en RMN du siloxane, sensé se former pendant la réaction, ni disparition des pics caractéristiques  $OSiMe_3$  et  $NHSiMe_3$  des produits de départ (respectivement à 0,29 et 0,25 ppm). Une augmentation des quantités de catalyseur ne permet pas, par ailleurs, d'effectuer cette réaction.

#### c - réactivité de **7 g** vis-à-vis d'un amide aromatique silylé

Suite à l'échec de condensation d'une amine silylée sur le composé **7 g**, nous avons entrepris de réaliser la condensation d'un amide silylé, composé plus réactif, sur notre alcool silylé **7 g**. Nous avons choisi l'amide **L** présenté figure 68 qui possède un groupe méthoxy facilement visualisable par RMN.

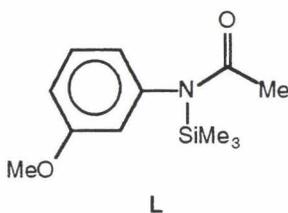


figure 68 : Structure chimique du composé **L**

Nous avons également tenté d'obtenir le composé **M** par une réaction analogue à celle employée lors de la formation des esters **3** (cf 3.1.2.5 p.70). Il devait être possible ensuite de transformer la fonction amide de **S** en fonction amine par chauffage dans le mélange méthanol/méthylate de sodium, afin d'obtenir la chaîne anilinée désirée sans modifier la fonction amide cyclique du composé pyroglutamique (fig.69).

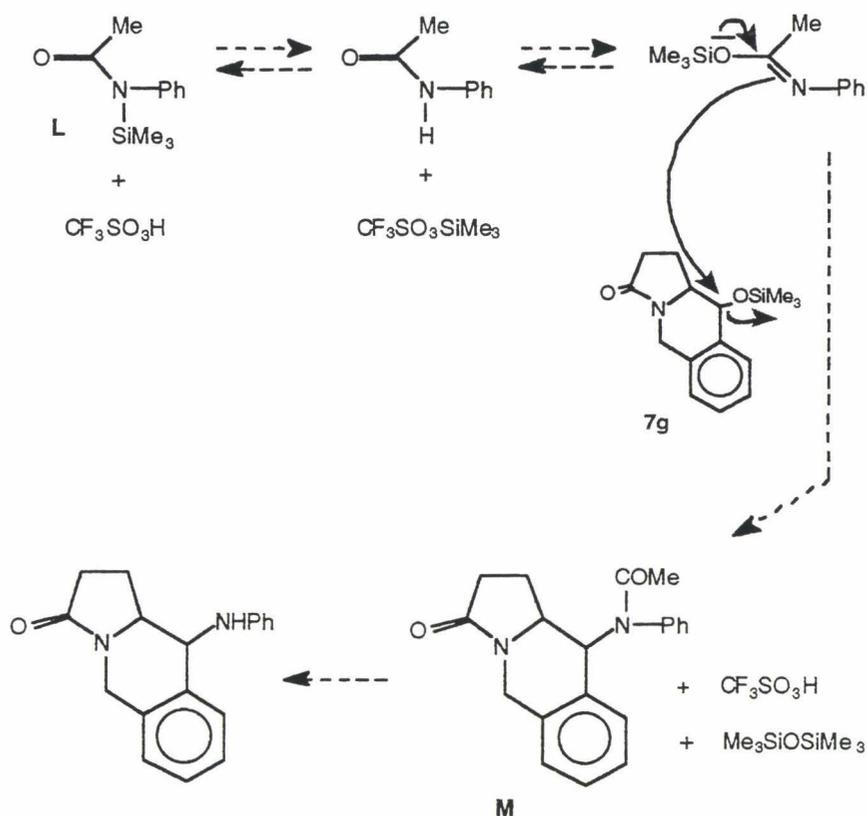


figure 69 : Mécanisme de condensation d'un amide silylé sur le composé **7 g**

Néanmoins, une fois encore, nous n'observons pas de réaction, à 160°C, pendant 6 heures, entre l'alcool silylé **7 g** et l'amide silylé **L**.

## d - réaction de Mitsunobu sur le composé 6 g (Walker, 1995)

\* données de la littérature

La réaction de Mitsunobu permet d'alkyler directement les amides par des alcools suivant le schéma réactionnel présenté figure 70. Cette réaction s'effectue dans des conditions douces.

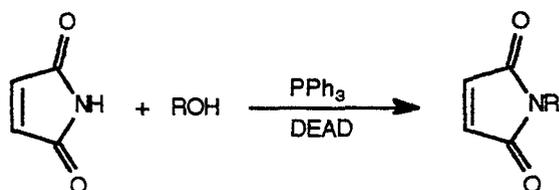


figure 70 : Alkylation de la maléimide par des alcools selon la réaction de Mitsunobu (Walker, 1995)

Il est nécessaire de respecter certains paramètres afin d'obtenir des rendements de réaction optimum :

- il faut conduire la réaction de telle sorte que l'amide ne soit pas exposée à  $\text{PPh}_3$  ou au mélange  $\text{PPh}_3$ .DEAD. En effet,  $\text{PPh}_3$  est un nucléophile puissant capable dans le cas de la maléimide d'attaquer la double liaison et il semble important de faire réagir le mélange  $\text{PPh}_3$ .DEAD avec l'alcool avant d'ajouter la maléimide.

- il faut débiter la réaction à  $-78^\circ\text{C}$  avant le retour à température ambiante.

- il faut éviter de travailler en excès de  $\text{PPh}_3$ , de DEAD ou de maléimide. Par contre, les meilleurs rendements de réaction sont obtenus en utilisant 1,5 équivalents d'alcool ROH. L'intérêt de cet excès apparaît dans la figure 71 page 95 : dans l'étape initiale, **a** est formé rapidement et, en présence d'alcool, est transformé en **b**. Un équilibre **b** = **c** se met en place après addition de la maléimide. L'excès d'alcool permet de consommer le composé **a** résiduel qui, sans cela, inhibe la réaction. **a** peut également réagir avec la maléimide pour donner **d**.

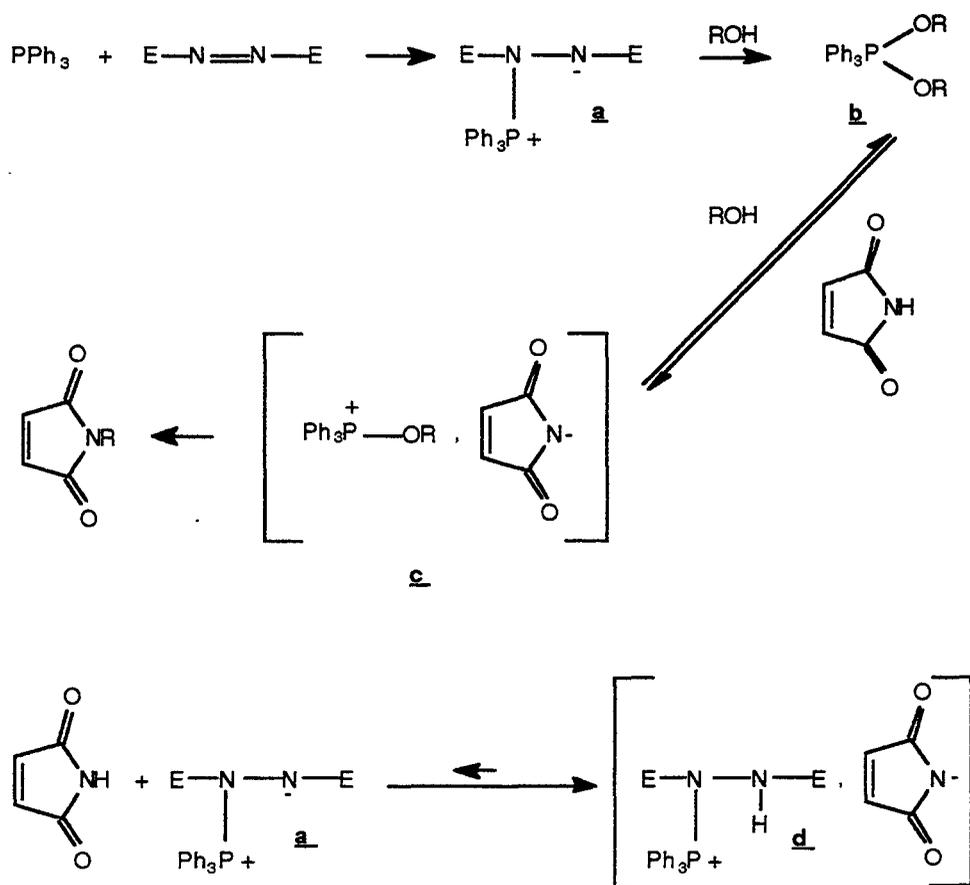
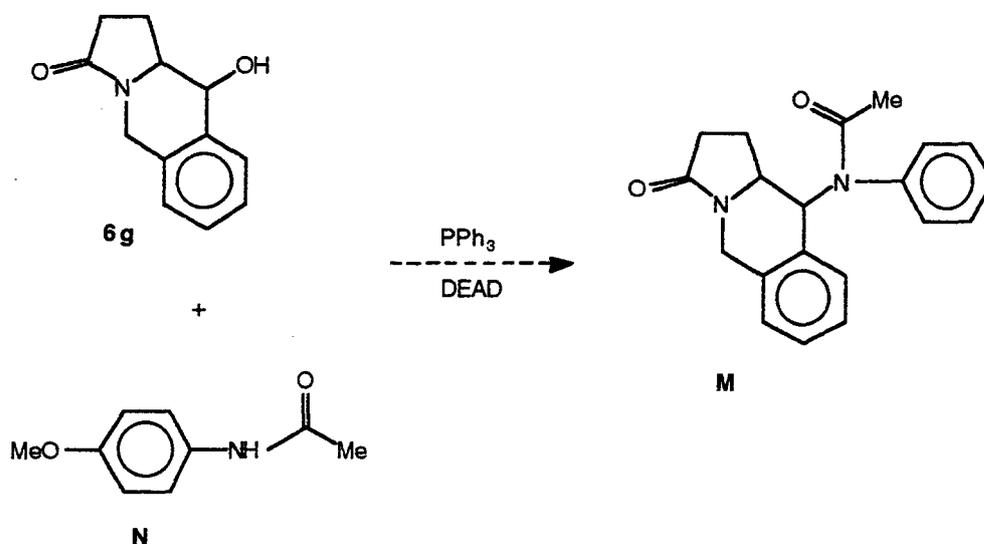


figure 71 : Mécanisme de la réaction de Mitsunobu (Walker, 1995)

On peut en particulier utiliser 1 équivalent d'alcool effectuant la réaction de Mitsunobu et 0,5 équivalent d'un deuxième alcool (tertiaire), appelé "ligand froid" car il ne peut effectuer que très lentement une substitution  $SN_2$ , ce dernier favorise la formation de **c**.

\* application à **6 g**

Nous avons tenté la réaction de Mitsunobu en prenant pour alcool le composé **6 g** et le composé **N**, porteur d'un groupement méthoxy visualisable par RMN (fig.72 p.96). Nous espérons ainsi obtenir le composé **M** qui serait ensuite transformé en son dérivé aminé par chauffage dans le mélange méthanol/méthylate de sodium.

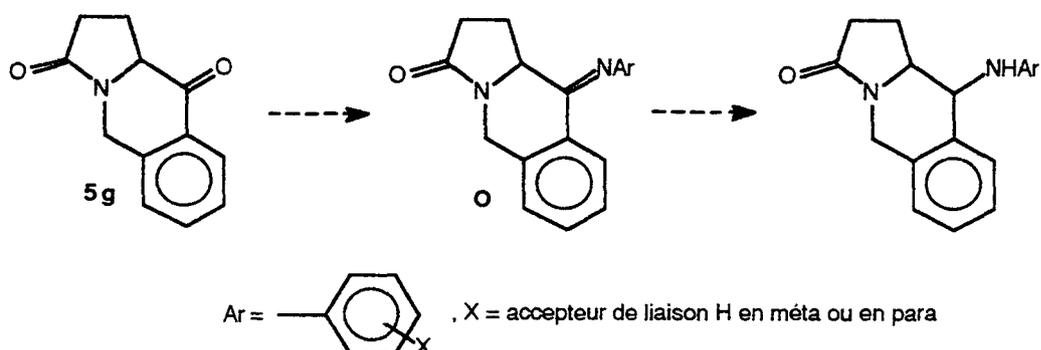


**figure 72** : Synthèse envisagée du composé M à partir de 6 g et de N par la méthode de Mitsunobu

L'ordre d'ajout et les quantités de réactifs, ainsi que la température ont été choisis de manière à se situer dans les conditions optimales de la réaction de Mitsunobu. Néanmoins, après 24 heures d'agitation à température ambiante et 10 heures à reflux du tétrahydrofurane, nous n'avons isolé que les réactifs de départ.

e - tentatives de synthèses d'imines à partir de 5 g

Une alternative de branchement de chaînes anilinéés en position 4 de nos molécules consistait en un passage par un composé imine O puis réduction de celui-ci par le borohydrure de sodium (fig.73).



**figure 73** : Synthèse envisagée de composés aminés en position 4 à partir de 5 g par l'intermédiaire d'imines O

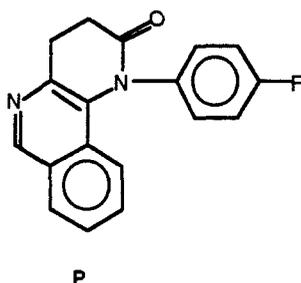
Nous avons utilisé une procédure standard de préparation d'imines (Hutchins et coll., 1983), mettant en oeuvre un mélange de 5 g, d'amine primaire choisie et d'une quantité catalytique d'acide paratoluènesulfonique, à reflux dans le toluène. La réaction est menée dans un appareil Dean Stark permettant d'éliminer l'eau formée au cours de la réaction.

Toutefois, après 18 heures de reflux, nous n'obtenons que la cétone 5 g ainsi que l'amine choisie (dans notre cas : la paraméthoxyaniline).

Suite à cet échec, nous nous sommes tourné vers un deuxième type de synthèse d'imines, utilisant l'amine comme réactif et comme solvant, à reflux de celle-ci, la réaction étant catalysée par HCl concentré.

Nous avons utilisé ici la 4-fluoroaniline qui se présente sous forme liquide, ceci afin d'obtenir un milieu plus homogène à l'ajout de 5 g.

Après 3 heures de chauffage à 190°C (disparition de 5 g en CCM), nous nous affranchissons de l'excès d'amine utilisée en solubilisant celle-ci dans l'éther. Le résidu obtenu est alors dissous dans le chlorure de méthylène, lavé à l'eau. La phase organique est séchée et évaporée. La RMN  $^1\text{H}$  de l'huile rouge obtenue montre l'absence de protons pyroglutamiques, visualisables habituellement entre 2 et 3 ppm sous forme de multiplets. Cependant, on distingue 2 triplets porteurs chacun de 2 protons entre 3 et 4 ppm. Ceci est caractéristique d'une forme de réarrangement de cétone pyroglutamique (Gautret, 1994 ; Vendeville, 1996). Néanmoins, nous ne sommes qu'en mesure de formuler une hypothèse quant à la structure du produit formé **P** (fig.74), celui-ci n'ayant pu être purifié.



P

figure 74 : Structure chimique hypothétique du composé P

Une autre structure hypothétique pour le composé P est présentée dans la figure 75. Elle provient d'une ouverture du cycle lactame.

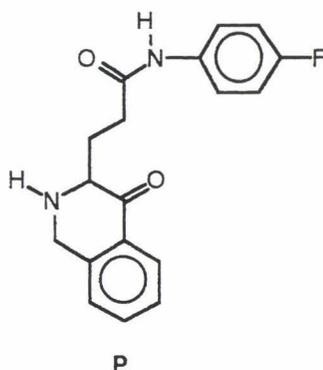
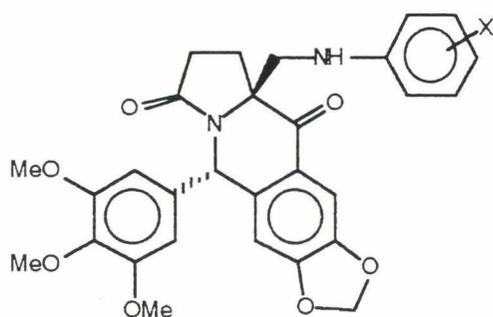


figure 75 : Seconde structure hypothétique du composé P

#### 3.4.4.3 - conclusion sur les tentatives de branchements de chaîne aminée en position 4

Les tentatives de branchement de chaîne aminée en position 4 de nos composés pyroglutamiques polycycliques avaient pour but d'obtenir des analogues de produits dérivés de l'étoposide possédant ce même type de chaîne. Les essais effectués se sont avérés infructueux. Néanmoins, il serait intéressant de synthétiser des composés pyroglutamiques polycycliques comportant une chaîne aminée disposée dans une position proche (fig.76) dont les groupements donneur et accepteur de liaison hydrogène se situeraient dans l'espace aux endroits judicieux. Cette approche sera discutée dans le paragraphe 3.6 pages 111 à 116.



X = accepteur de liaison H en méta ou en para

figure 76

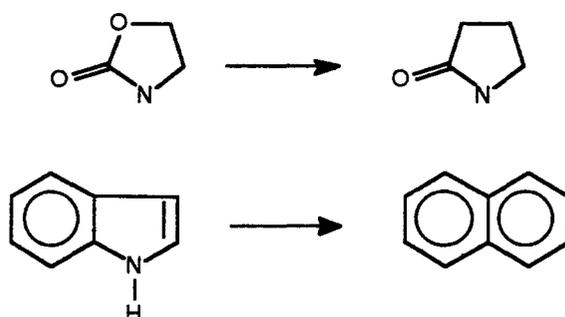
**CHAPITRE IV**

**SYNTHESE D'ANALOGUES DE L'AZATOXINE**

## 1 - Aspect conceptuel

L'azatoxine présente, comme nous l'avons vu précédemment, des propriétés d'inhibition de la topoisomérase II.

L'intérêt de cette structure et ses propriétés cytotoxiques nous ont incité à envisager la création de molécules analogues s'appuyant essentiellement sur les pharmacomodulations suivantes :



(Il est à noter que le changement de géométrie spatiale du système, par ces modulations, est minime, mais que l'on perd par l'intermédiaire de l'atome d'oxygène et la fonction amine de l'indole la possibilité de deux liaisons hydrogène peut-être cruciales.)

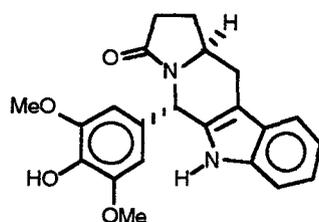
L'isostérie indole/naphtalène a déjà fait ses preuves, en particulier dans la création d'analogues de la mélatonine (Depreux et coll., 1994).

Par ailleurs, Cho et coll. (Cho et coll., 1996) ont synthétisé des composés cytotoxiques comportant des noyaux "polybenzéniques" en remplacement du noyau benzodioxole de l'étoposide (cf. p.43).

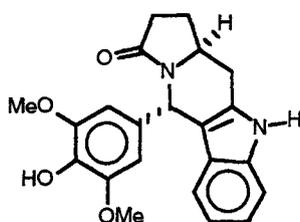
Nous voulons de cette façon atteindre plusieurs objectifs :

- évaluer le pouvoir inhibiteur de topoisomérase II de nos analogues structuraux et leur caractère cytotoxique,
- affiner les relations structure-activité existantes.

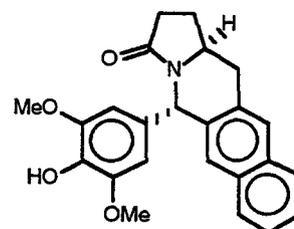
Ces considérations montrent l'intérêt d'obtenir des composés suivants :



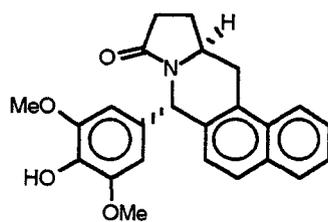
composé 1



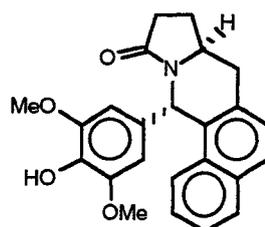
composé 2



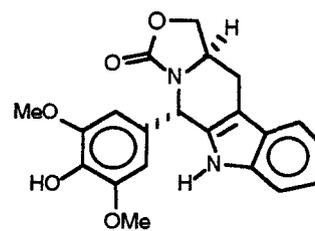
composé 3



composé 4

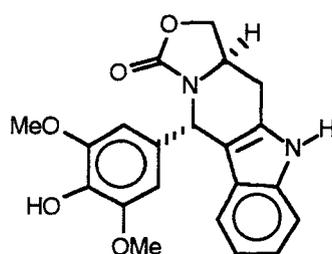


composé 5



azatoxine

Il est connu que le composé 6 n'a pas d'activité d'inhibition de topoisomérase II (fig.77) (cf p.48).



composé 6

**figure 77** : Structure chimique du composé 6

L'analogue strict du composé 6, c'est-à-dire le composé 2, ainsi que le composé 5 qui doit adopter une géométrie spatiale très proche, sont tout de même intéressants à synthétiser et à tester dans le cadre d'une inhibition de topoisomérase II. En effet, les pharmacomodulations envisagées sont susceptibles de modifier de manière non négligeable l'impact potentiel sur la topoisomérase II ou le complexe ADN-topoisomérase II. Par ailleurs, comparer les composés 2 et 5 aux composés 1, 3 et 4 peut permettre une meilleure compréhension des relations structure-activité existantes.

La synthèse de l'azatoxine (Leteurtre et coll., 1992) n'est pas chose aisée. Celle du composé 1, analogue strict de l'azatoxine, pose des problèmes chimiques importants (celle-ci fait l'objet d'une étude actuellement au laboratoire), par la nécessité d'obtention de précurseurs indoliques fonctionnalisés en position 2 de ce noyau, position défavorable. Nous avons apporté notre contribution à cette étude par la synthèse d'un composé indolique simple (fig.78) susceptible de servir de support aux synthèses des composés 1 et 2 (cf p.101). Par ailleurs, nous avons choisi de synthétiser, dans le cadre des analogues naphthaléniques, le composé 5 (fig.78).

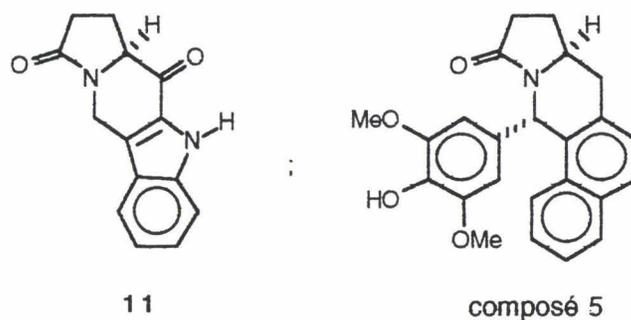


figure 78 : Structures chimiques du composé 5 et de 1 1

## 2 - Stratégie de synthèse de la série indolique

Les étapes-clés de la synthèse du composé **11** (fig.79) s'avèrent être la formation de l'ester méthylique **9** et la cyclisation de type Friedel-Crafts intramoléculaire du produit de saponification de l'ester **9**.

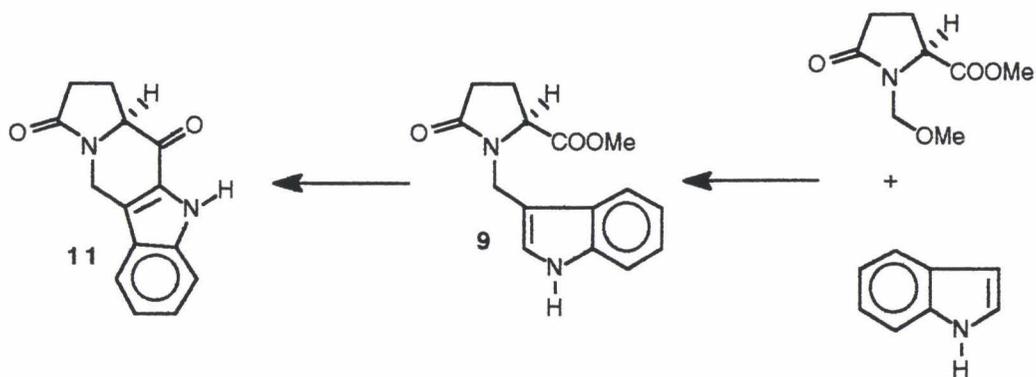
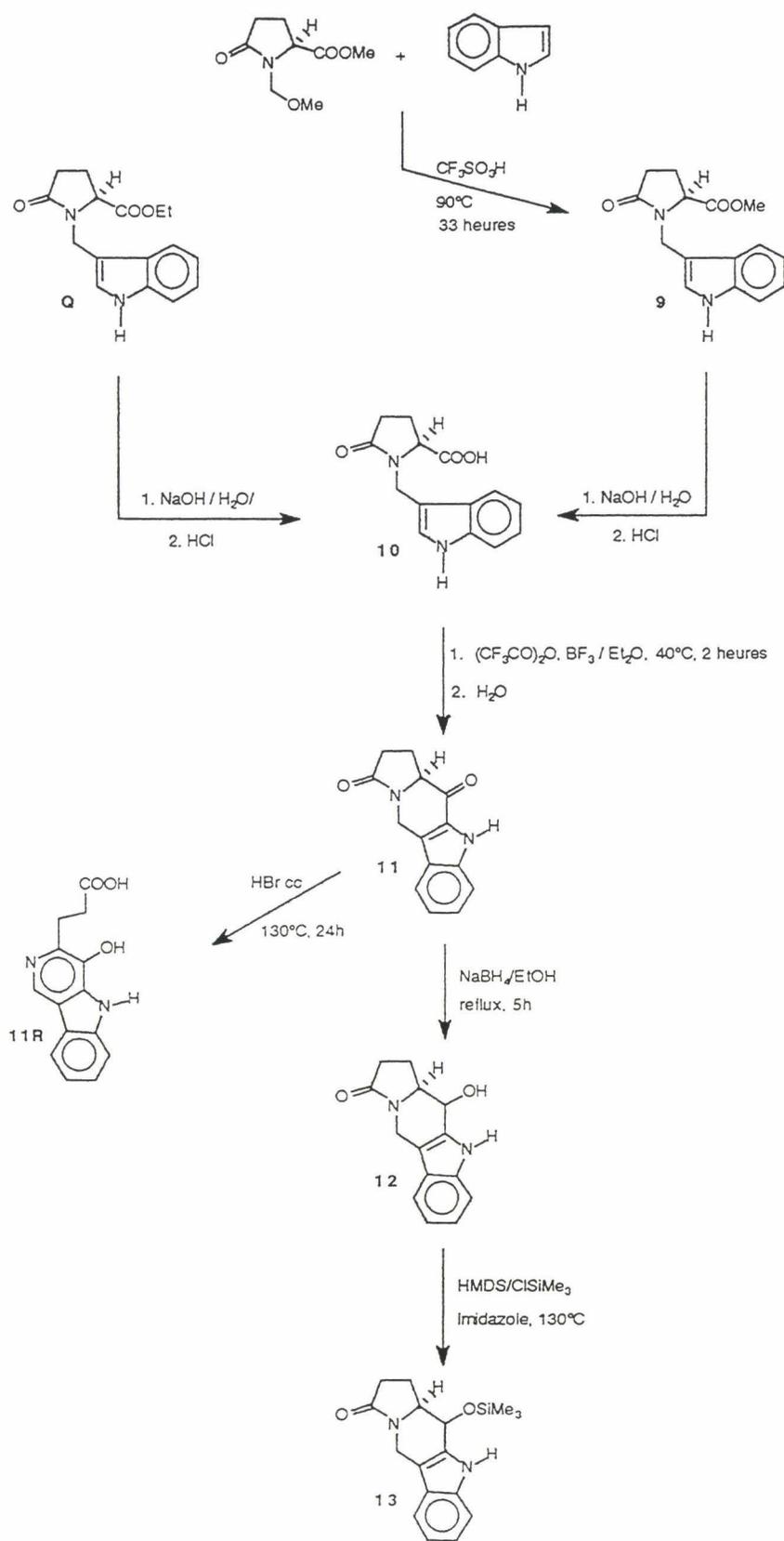


figure 79 : Rétrosynthèse du composé **11**

La chimie utilisée dans cette série a par ailleurs permis d'étudier la réactivité de la cétone **11** vis-à-vis de silylations, réductions et traitement par HBr concentré.



SCHEMA DE SYNTHESE DE LA SERIE "INDOLIQUE"

### 3 - Méthodes et voies de synthèse de la série indolique

#### 3.1 - esters pyroglutamiques

##### 3.1.1 - résultats antérieurs du laboratoire

Le composé N-(3-indolylméthyl)pyroglutamate d'éthyle **Q** a été synthétisé au laboratoire en faisant réagir le glutamate de diéthyle, le formol et l'indole dans les conditions de la réaction de Mannich (fig.80)(Miocque et Vierfond, 1970).

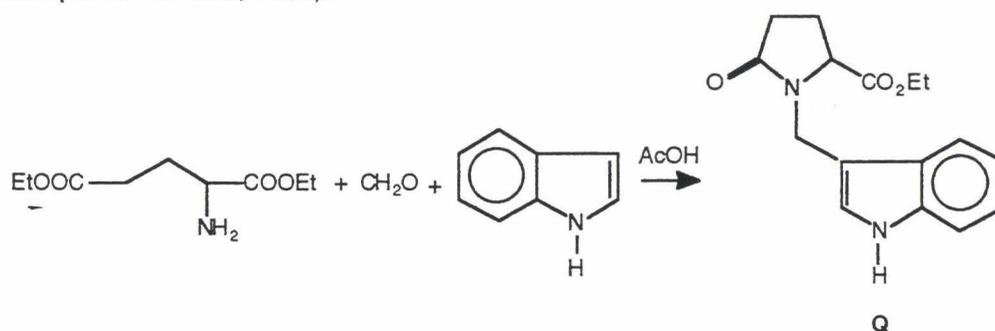


figure 80 : Synthèse du composé **Q** par réaction de Mannich

Néanmoins, le rendement de la réaction est faible (31%). Ceci s'explique par l'obtention d'une quantité importante de bisindolylméthane lors de la réaction (fig.81).

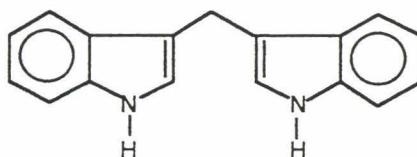


figure 81 : Structure chimique du bisindolylméthane

Par ailleurs, la cristallisation du produit est peu aisée puisque celle-ci s'effectue dans l'eau, à raison de 4 g d'ester **Q** par litre d'eau à l'ébullition.

## 3.1.2 - synthèse de l'ester méthylique 9 par une méthode originale

Afin d'augmenter le rendement de formation d'ester "indolique" et de faciliter la cristallisation, nous avons mis en présence le N-méthoxyméthyl pyroglutamate de méthyle et l'indole, la réaction étant catalysée par l'acide triflique (fig.82).

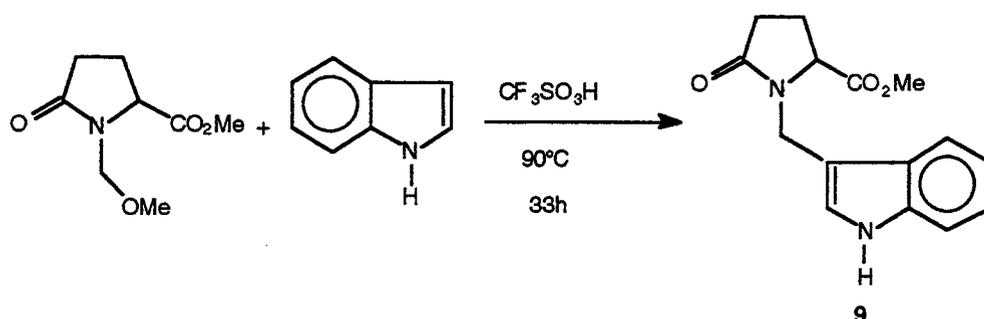


figure 82 : Synthèse du composé 9

Celle-ci est suivie par RMN  $^1\text{H}$ . En effet, il nous est possible de visualiser, par cette technique, la disparition de pics caractéristiques du N-méthoxyméthylpyroglutamate de méthyle (protons H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub> et H<sub>7</sub>), ainsi que l'apparition de pics caractéristiques du produit final désiré (protons H<sub>9</sub>, H<sub>15</sub> et MeOH formé) (fig.83 p.107).

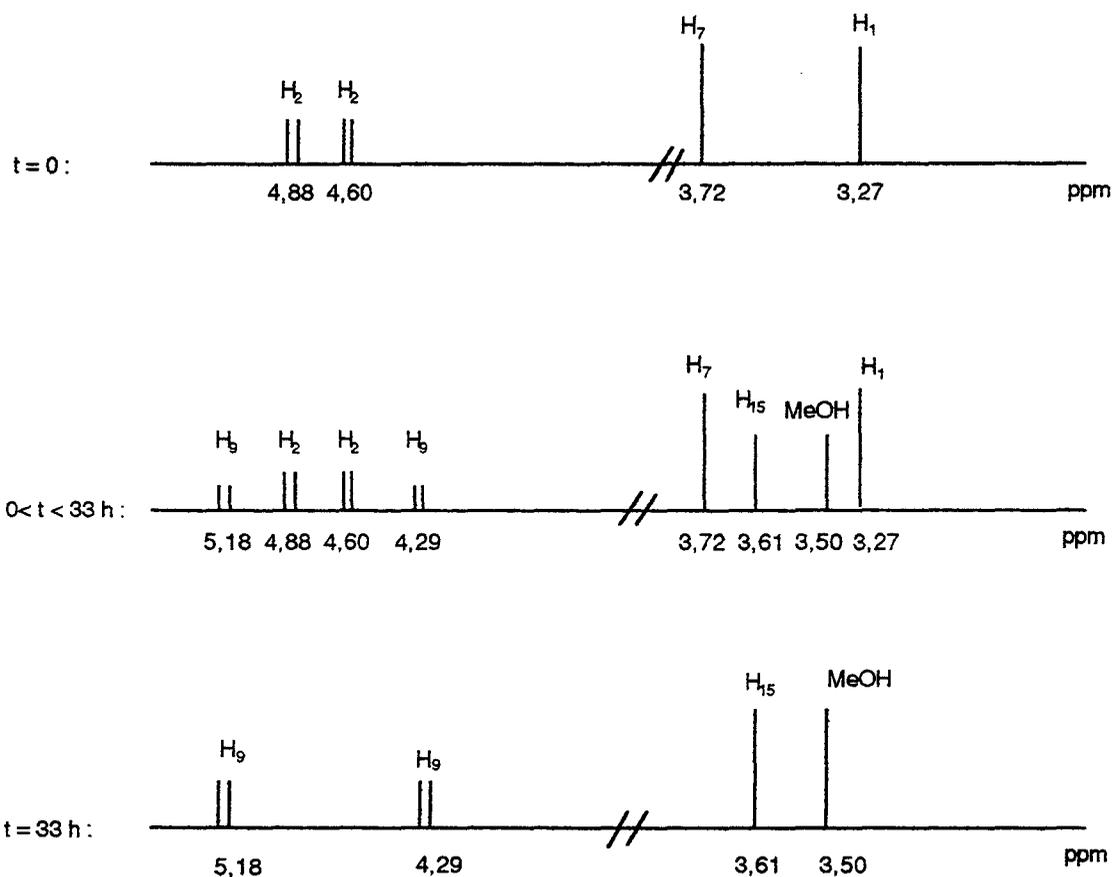
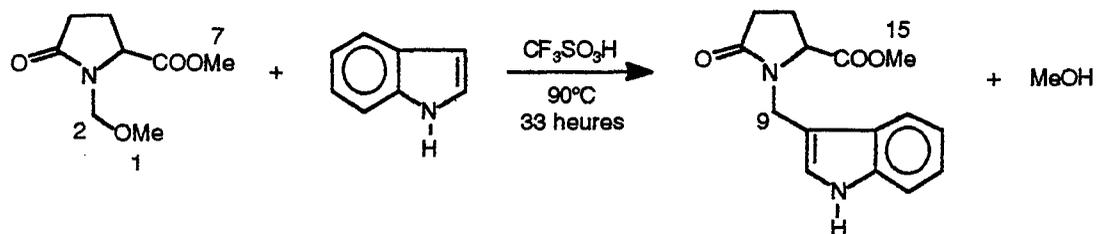


figure 83 : Représentation schématique de l'avancement de la réaction de formation de 9 suivi par

RMN<sup>1</sup>H

Après 33 heures de chauffage à 90°C, le produit est traité par des lavages à l'eau, puis à l'eau saturée en chlorure de sodium. Nous obtenons avec un rendement de 95% une huile rouge, qu'il est possible de cristalliser dans l'acétate d'éthyle.

### 3.2 - synthèse de l'acide N-(3-indolylméthyl)pyroglutamique 10

L'acide **10** a été tout d'abord obtenu à partir de l'ester éthylique correspondant par saponification par la soude 2N puis acidification par HCl concentré (fig.84).

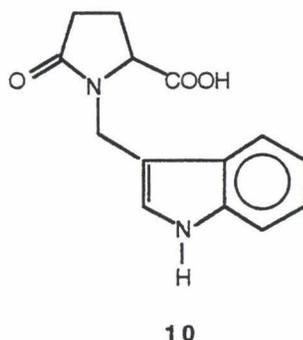


figure 84 : Structure chimique du composé **10**

Il est à noter que l'obtention de ce produit par saponification de l'ester méthylique est plus ardue. En effet, une pureté insuffisante de l'ester méthylique contrarie le bon déroulement de la réaction. Par ailleurs, il est essentiel de diluer fortement la phase aqueuse basique avant acidification afin de réaliser une bonne précipitation de l'acide désiré.

### 3.3 - cyclisation de l'acide 10 en cétone 11

La cétone **11** est obtenue par une cyclisation de type Friedel-Crafts à partir de l'acide **10** (fig.85) dans les mêmes conditions que les autres cyclisations déjà réalisées.

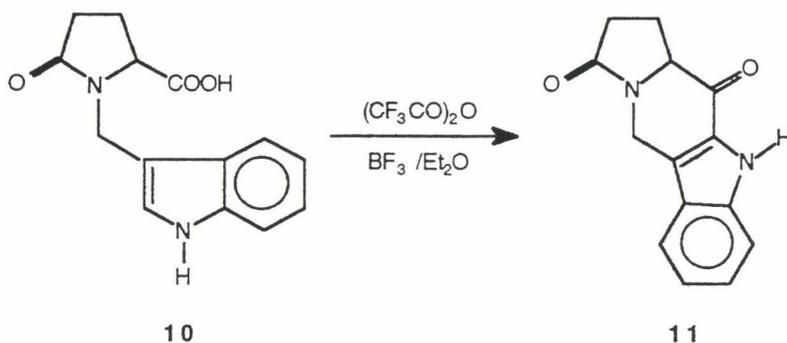


figure 85 : Synthèse du composé **11** à partir de l'acide **10**

Dans ce cas, nous utilisons 1,1 équivalent d'anhydride trifluoroacétique pour former l'anhydride mixte et 4 équivalents de  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$  pour obtenir le produit cyclisé. Celui-ci précipite directement dans le milieu réactionnel, après 2 heures de chauffage à reflux .

Il est filtré et lavé à l'eau, ceci afin de détruire le complexe créé entre les fonctions cétonique et amine de la molécule et l'acide de Lewis.

### 3.4 - réactivité du composé 11 vis-à-vis d'HBr concentré

#### 3.4.1 - résultats antérieurs du laboratoire

Différentes études de réarrangements par action d'acides sur des cétones pyroglutamiques polycycliques ont été menées au laboratoire.

Le traitement de la cétone **5 g** par HCl concentré à reflux pendant 24 heures fournit trois produits de réarrangement (Vendeville, 1996) (fig.86).

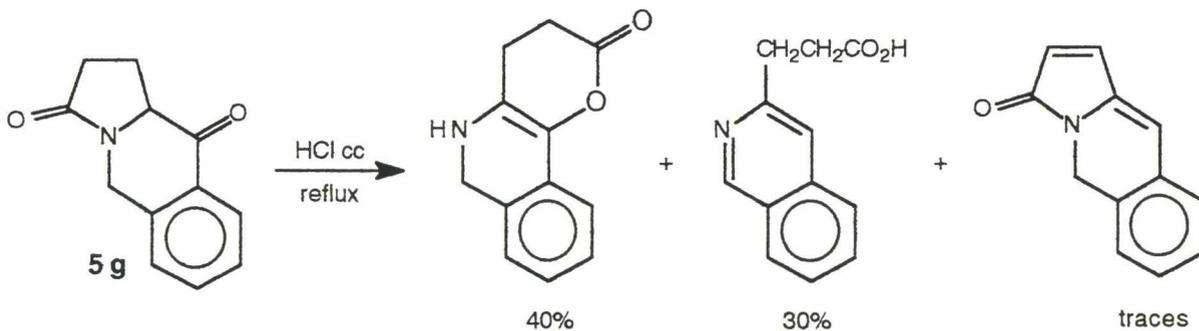


figure 86 : Réactivité de **5 g** vis-à-vis de HCl concentré

Le traitement de cette même cétone ou de **5 h** par HBr concentré à 130°C pendant 24 heures donne deux composés de réarrangement (fig.87) (Vendeville, 1996).

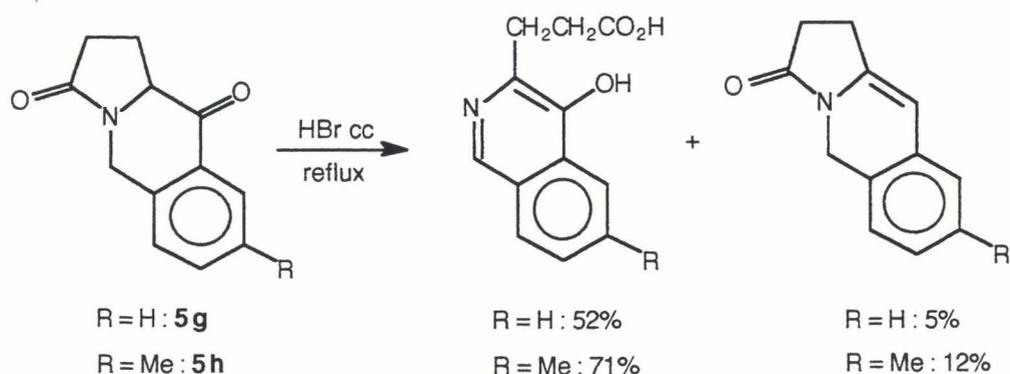


figure 87 : Réactivité de **5 g** et **5 h** vis-à-vis de HBr concentré

Nous avons donc décidé de réaliser ce type de réaction à partir de la cétone **11**.

### 3.4.2 - réactivité de **11** vis-à-vis d'HBr concentré

Contrairement aux résultats obtenus antérieurement au laboratoire (fig.87), le composé **11** traité par HBr concentré ne fournit qu'un produit de réarrangement **11 R** avec un rendement de 60% (fig.88).

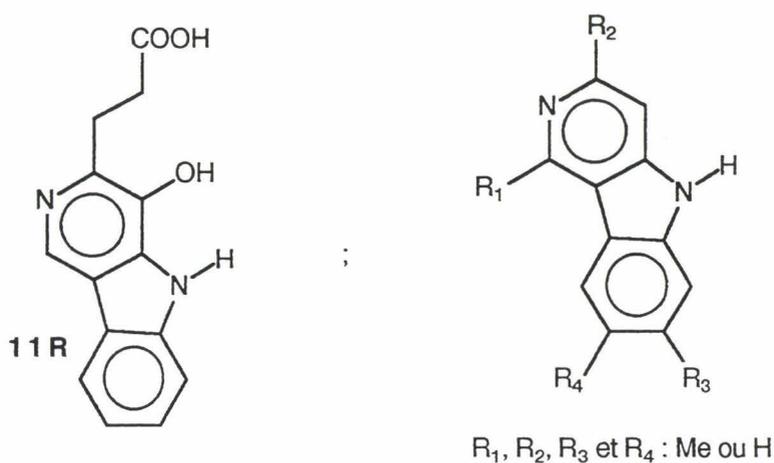


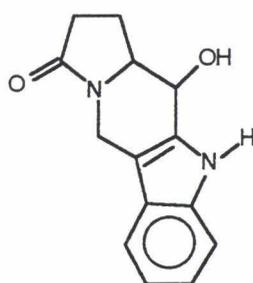
figure 88 : Structures chimiques du composé **11R** et de composés synthétisés par Molina et coll.

(Molina et coll., 1996)

Ce produit est extrêmement intéressant, dans le sens où l'on peut faire une analogie entre sa formule et les formules de certains composés synthétisés par Molina et coll. (Molina et coll., 1996) (fig.88 p.110), intercalants et cytotoxiques sur des lignées cellulaires de carcinome humain.

### 3.5 - réduction du composé 11 en alcool 12

La réduction de la cétone **11** par le borohydrure de sodium s'effectue au moyen de 2 équivalents de ce réactif dans l'éthanol et conduit au composé **12** (fig.89).

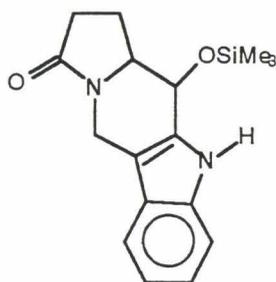


12

figure 89 : Structure chimique du composé **12**

La réaction est suivie par CCM et nous observons bien la disparition du produit de départ. Cependant, il faut noter que le rendement en composé cristallisé est assez faible (55%). La présence de produits secondaires n'a pu être mise en évidence.

L'alcool **12** obtenu peut être silylé et donner le composé **13** avec un rendement quantitatif (fig.90).



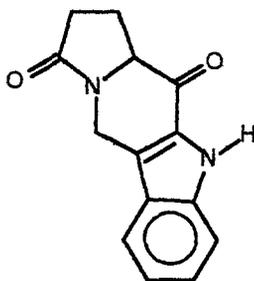
13

figure 90: Structure chimique du composé **13**

Il faut souligner toutefois qu'une silylation classique dans l'hexaméthylidisilazane, catalysée par le chlorotriméthylsilane ne donne pas de résultat. Il est nécessaire d'ajouter un catalyseur dans le milieu réactionnel (imidazole).

Par ailleurs, le composé **13** précipite directement dans le milieu et, comme les autres éthers silylés de formule proche, est stable à l'air.

### 3.6 - tentatives de silylation du composé **11**



**11**

#### 3.6.1 - intérêt

Suite aux échecs rencontrés lors de la synthèse des composés **D** et **R** présentés figure 91, il nous semblait intéressant d'envisager la synthèse de dérivés tels que la chaîne anilinée soit branchée, non pas en position 12, mais en position 11 (avec ajout d'un groupe méthylène intermédiaire) (fig.92 p.113).

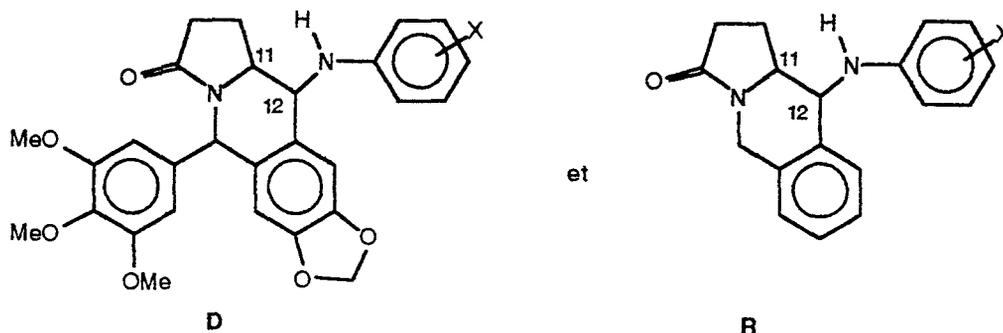


figure 91 : Structures chimiques des composés **D** et **R**

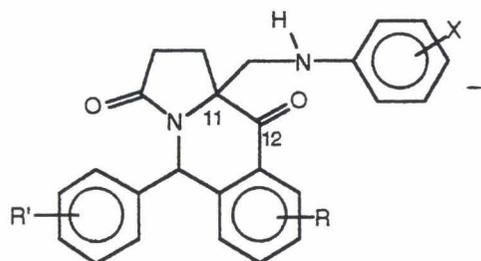


figure 92 : Formule générale de produits contenant une chaîne anilinée en position 11

Nous espérons ainsi conserver les points d'attache importants au complexe enzyme-ADN, à savoir un groupement donneur et un groupement accepteur de liaison H judicieusement placés.

Nous avons choisi de travailler à partir de la cétone **11**, plus facilement disponible que les cétones possédant un cycle pendant aromatique, ceci dans le but d'appliquer ensuite les réactions employées aux cétones **DL5a** et **DL20** (cf p.78 et 120).

Nous pouvons envisager le branchement de telles chaînes en position 11 de diverses manières, et en particulier par l'intermédiaire d'éthers d'énols silylés.

### 3.6.2 - résultats antérieurs du laboratoire : fonctionnalisation de la cétone **5g** en position 11

#### 3.6.2.1 - réaction de Michaël

Les premières introductions de chaînes en position 11 de la cétone **5g** ont été réalisées par réaction de Michaël (Rigo et Kolocouris, 1983) (fig.93).

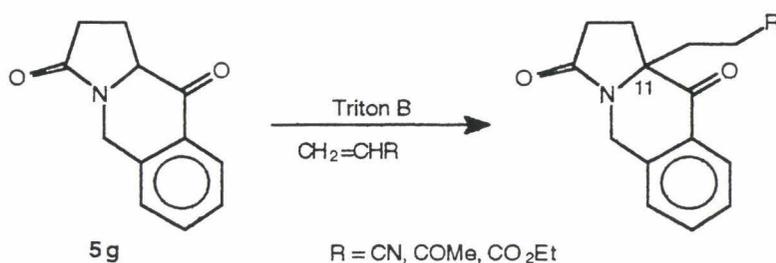


figure 93 : Premières fonctionnalisations en position 11 de la cétone **5g**

Cependant, cette méthode n'est plus applicable quand la gêne stérique devient trop importante, avec l'oxyde de mésityle par exemple (Rigo et Kolocouris, 1983).

### 3.6.2.2 - réaction de Mannich

La réaction de Mannich a également été utilisée pour fonctionnaliser **5 g** en position 11 (Kolocouris et coll., 1993 ; Poulain, 1996) (fig.94).

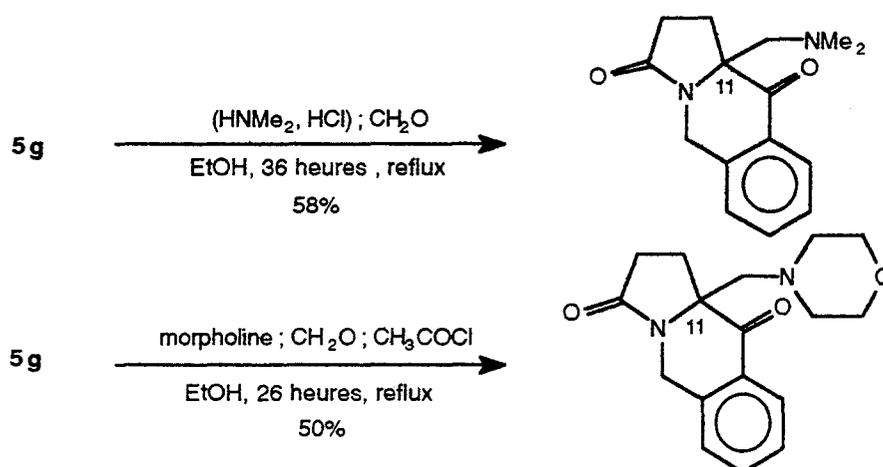


figure 94 : Fonctionnalisations en position 11 de **5 g** par réaction de Mannich

Néanmoins, cette réaction n'est pas généralisable aux branchements d'amines aromatiques secondaires. En effet, la synthèse du produit **S** présenté figure 95 n'a pu être réalisée dans ces conditions. Lors de la réaction, outre la cétone initiale, n'est récupéré qu'un produit aromatique, probablement un dimère de l'amine de départ.

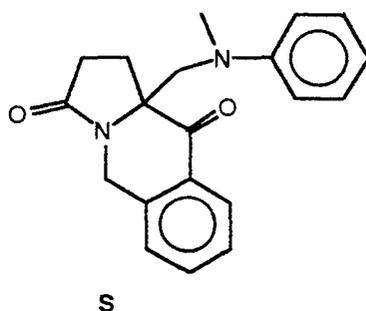


figure 95 : Structure chimique du composé **S**

## 3.6.2.3- passage par les éthers d'énols silylés

Les techniques usuelles de synthèse d'éthers d'énols silylés font appel au chlorotriméthylsilane (Colvin, 1981) (fig.96).

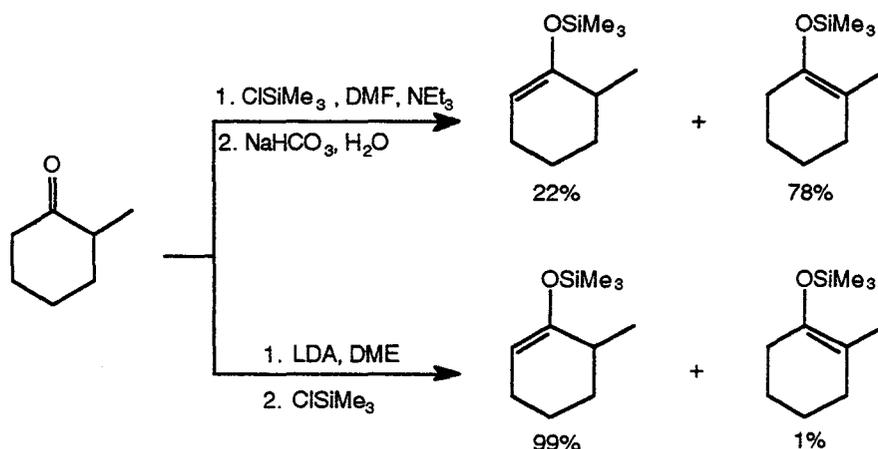


figure 96 : Synthèse d'éthers d'énols silylés par ClSiMe<sub>3</sub>

Ces composés sont plus stables que les éthers silylés correspondants (Colvin, 1981). Ils résistent mieux a priori à l'hydrolyse et à l'oxydation à l'air.

Une autre synthèse possible d'éthers d'énols silylés est présentée dans la figure 97. L'iodotriméthylsilane utilisé est généré in situ à partir de NaI et de ClSiMe<sub>3</sub>.

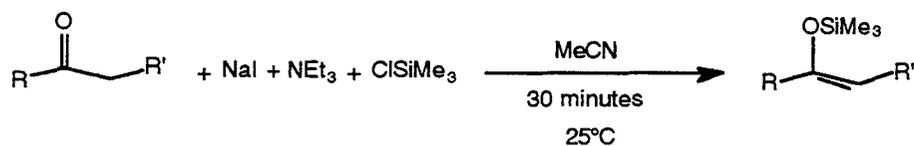


figure 97 : Synthèse d'éthers d'énols silylés par ISiMe<sub>3</sub> généré in situ

Le composé **T** a pu être préparé de cette manière (fig.98).

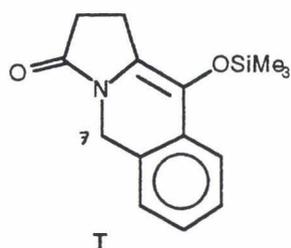


figure 98 : Structure chimique du composé **T**

La réaction est suivie par RMN (transformation du doublet de doublet des protons H7 de **5g** en singulet pour **T**).

Néanmoins, ce composé **T** est très sensible à l'humidité, en particulier lors de la filtration du chlorhydrate de triéthylamine (ainsi, 50% du produit formé est hydrolysé).

Ce composé a été également synthétisé par une réaction faisant intervenir l'hexaméthylidisilazane (réaction catalysée par le chlorotriméthylsilane et la saccharine) qui ne nécessite pas d'extraction du produit.

Il devrait être alors possible de brancher des amines secondaires en position 11 tel que suit (fig.99).

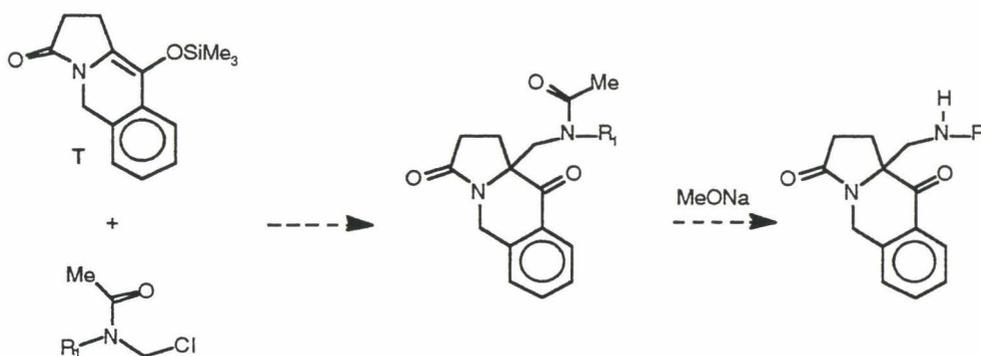


figure 99 : Branchements envisageables d'amines secondaires en position 11 à partir d'éthers d'énols

silylés

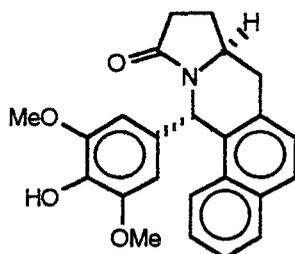
## 3.6.3 - tentative de silylation de la cétone 11

Nous avons tenté de synthétiser l'éther d'énol silylé correspondant à la cétone 11 par réaction dans l'hexaméthylidisilazane, catalysée par le chlorotriméthylsilane. Cependant, nous nous sommes heurtés à des problèmes de solubilité de 11 dans l'hexaméthylidisilazane : après 24 heures à 130°C, nous n'obtenons que le produit de départ.

Il serait nécessaire d'envisager une silylation par  $\text{NaI}/\text{ClSiMe}_3/\text{NEt}_3$  dans l'acétonitrile, en prenant garde de filtrer le chlorhydrate de triéthylamine sous atmosphère d'azote, ceci afin d'éviter une éventuelle hydrolyse à l'air du produit désiré.

#### 4 - Stratégie chimique de la série naphthalénique

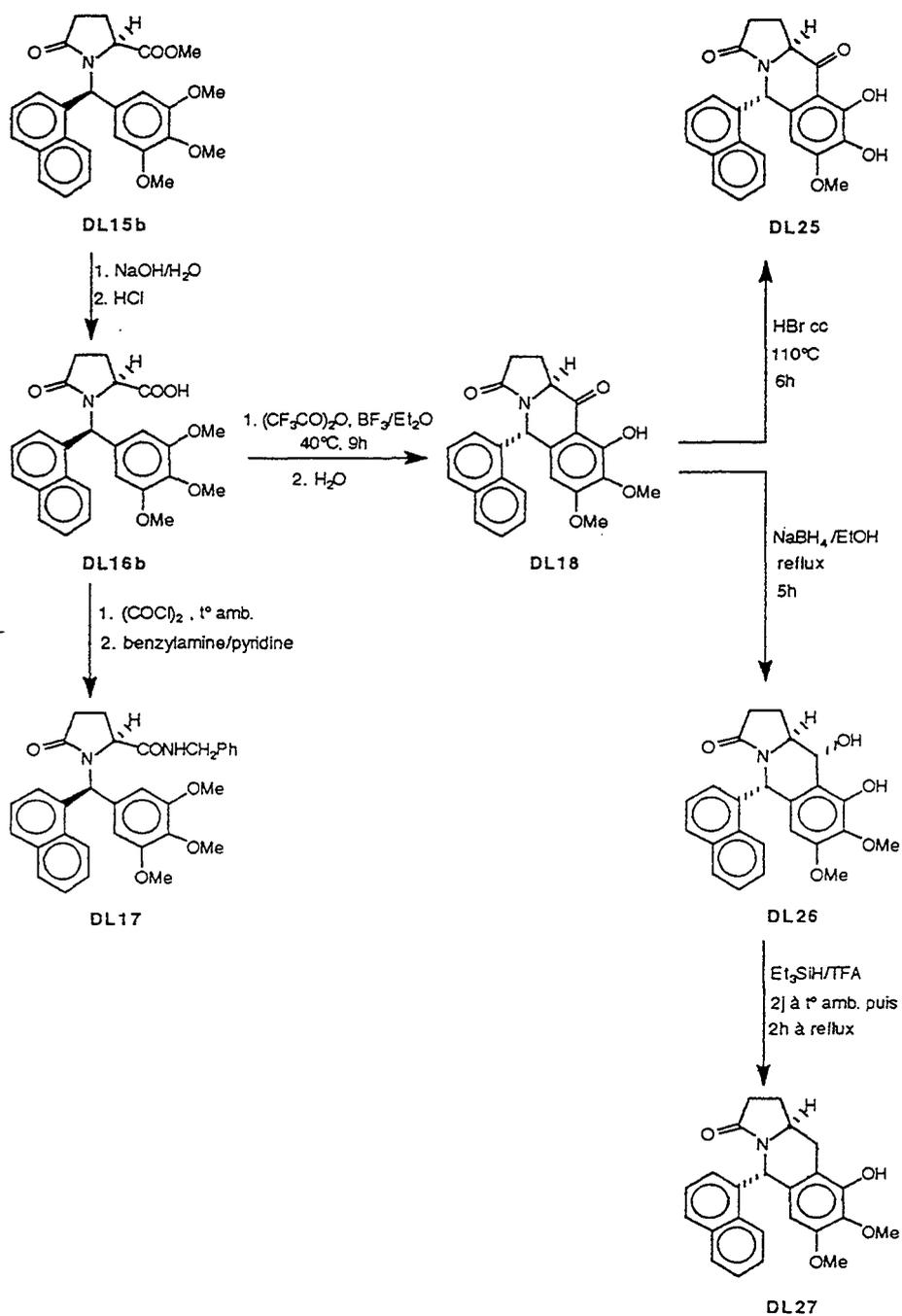
Dans le cas de la synthèse du composé 5 (fig.100), nous avons opté pour un schéma de synthèse similaire à celui utilisé pour l'obtention de nos analogues de l'étoposide (cf p.58).



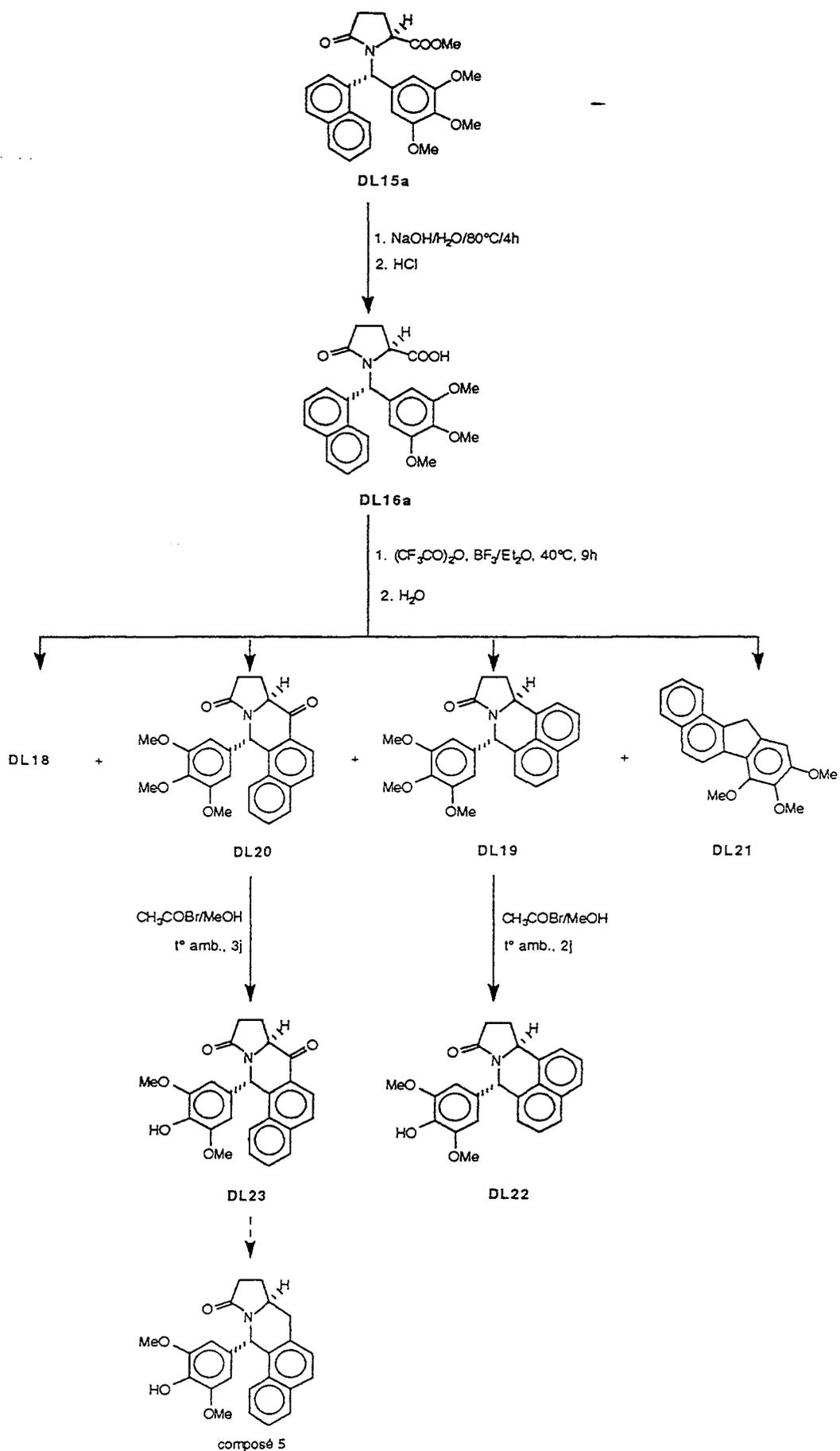
composé 5

figure 100 : Structure chimique du composé 5

La chimie étudiée dans cette série utilise une fois encore les composés silylés et a permis pour la première fois de réaliser la cyclisation de type Friedel-Crafts intramoléculaire sur des acides dissymétriques se présentant sous forme d'un unique isomère, et non d'un mélange équimolaire de diastéréoisomères, permettant ainsi de préciser les hypothèses mécanistiques précédemment envisagées au laboratoire.



SCHEMA DE SYNTHESE DE LA SERIE "NAPHTALENIQUE" ISSUE DE DL15b



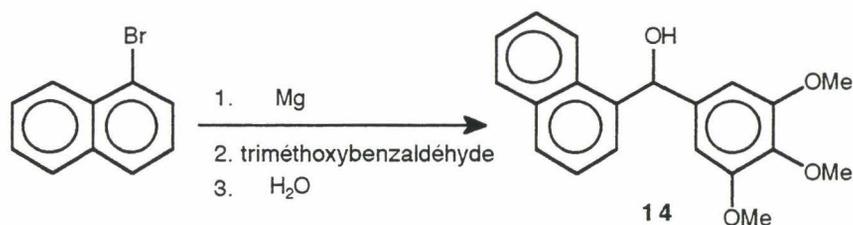
SCHEMA DE SYNTHESE DE LA SERIE "NAPHTALENIQUE" ISSUE DE DL15a

## 5 - Méthodes et voies de synthèse de la série naphthalénique

De nombreux produits de ce paragraphe apparaissent avec une stéréochimie particulière en position 7 qui n'a pas été vérifiée excepté pour les composés **DL15a**, **DL19** et **DL20** par des expériences de cristallographie et de RMN (position du carbone porteur des deux noyaux benzéniques substitués). La notation choisie rend compte du fait que ces produits sont obtenus sous forme d'un unique isomère. De plus, les molécules synthétisées à partir de dérivés de l'acide DL-pyroglytamique sont dessinées, par souci de simplification, sous forme L et non sous forme de leur mélange racémique, mais sont précédées, dans leur numérotation du préfixe **DL**.

### 5.1 - formation du benzhydrol 14

Le benzhydrol **14** est synthétisé selon la réaction suivante :



Il est obtenu avec un bon rendement (89%) et est suffisamment pur pour être utilisé tel quel pour la suite de la synthèse.

### 5.2 - silylation du benzhydrol 14 (Gautret et coll., 1996)

Le benzhydrol silylé est obtenu quantitativement par action de l'hexaméthylidisilazane, catalysée par le chlorotriméthylsilane. Sa formation est, par ailleurs, facilement visualisable par RMN (groupe OSiMe<sub>3</sub> à 0,09 ppm). Il est suffisamment pur pour être utilisé directement pour la réaction suivante.

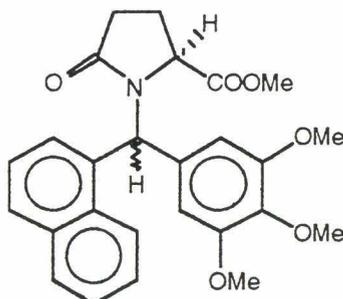
### 5.3 - condensation sur le pyroglutamate de méthyle N-silylé DL

#### 5.3.1 - rappel sur les condensations antérieures

Nous avons évoqué l'obtention d'un mélange équimolaire de deux isomères pour chaque N-alkylation donnant lieu à des esters dissymétriques. Ces isomères sont visualisables en RMN<sup>1</sup>H mais non séparables ou séparables partiellement.

#### 5.3.2 - cas du composé DL 15

La condensation du benzhydrol silylé "naphatalénique" sur le pyroglutamate de méthyle N-silylé DL s'effectue comme dans les autres cas à 130°C avec l'acide triflique comme catalyseur et conduit au mélange des deux racémiques DL 15 (fig.101).



DL 15

figure 101 : Structure chimique du composé DL 15

Nous suivons la réaction de N-alkylation, de manière générale, par :

- la distillation de l'hexaméthylidisiloxane formé lors de celle-ci,
- la disparition en RMN du pic caractéristique d'alcool silylé à environ 0,1 ppm

ainsi que par l'apparition d'un pic correspondant aux protons de la fonction ester du produit final à environ 3,4 ppm.

La RMN <sup>1</sup>H de l'huile granuleuse, mélange des deux racémiques, obtenue après traitement de la réaction, dans le cas de DL 15, nous a quelque peu surpris. En effet, si la présence d'un mélange de

deux isomères apparaît clairement, il était difficilement imaginable de trouver un des pics de fonction ester à 2,45 ppm (c'est-à-dire près d'1 ppm plus blindé que dans les produits habituels).

Des études de cristallographie RX ont montré que le groupe ester d'un des isomères (que nous appelons **DL15a** ou isomère 1) se trouve dans le cône de blindage du noyau naphthalénique (cf. page 123bis).

Les différences notables de spectres  $^1\text{H}$  entre ces deux isomères se rapportent à une différence structurale assez importante (ceci contrairement aux esters **3** déjà abordés), ce qui nous a permis d'envisager leur séparation. Celle-ci est réalisée en ajoutant à l'huile granuleuse de l'acétate d'éthyle à température ambiante. Ceci fait précipiter d'une manière pratiquement quantitative l'isomère que nous nommons isomère 2 (**DL15b**), sous forme de poudre blanche (fig.102). L'isomère 1 (**DL15a**), quant à lui, se solubilise dans l'acétate d'éthyle (fig.102).

La même séparation peut être effectuée en remplaçant l'acétate d'éthyle par le méthanol.

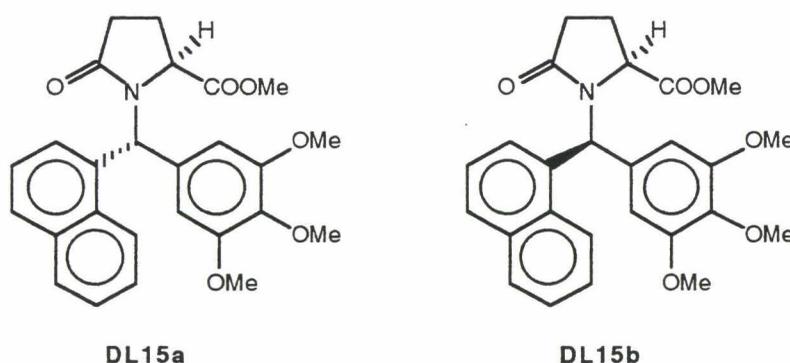
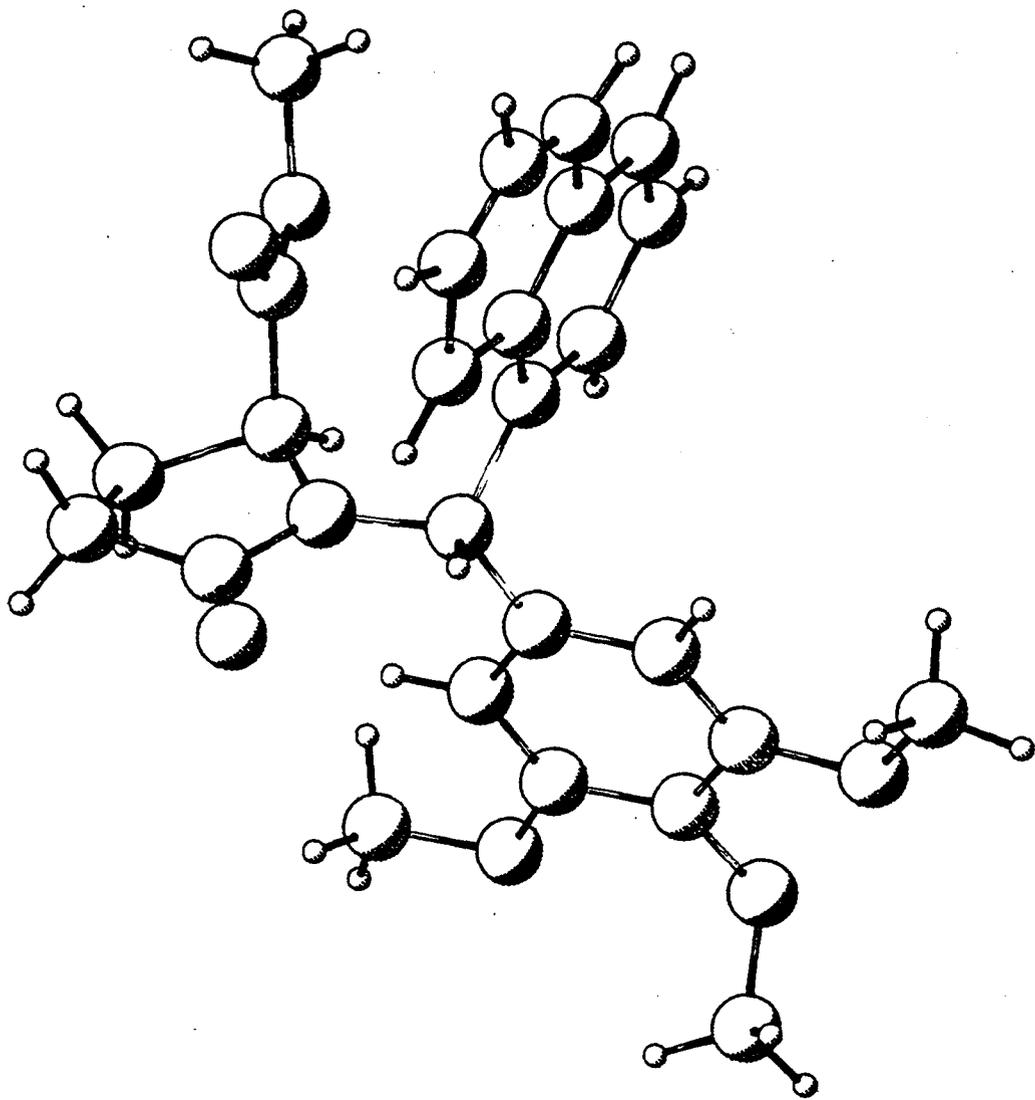


figure 102 : Structures chimiques des composés **DL15a** et **DL15b**

Les deux isomères adoptent des comportements différents vis-à-vis des solvants. Néanmoins, il faut noter que l'ajout d'acétate d'éthyle sur un mélange brut trop chaud réduit la qualité de la séparation, ainsi qu'un refroidissement trop important du mélange qui prend alors en masse.

Par ailleurs, les rapports frontaux en CCM des deux esters demeurent identiques, ce qui empêche toute séparation éventuelle par flash chromatographie.

123bis



REPRESENTATION CRISTALLOGRAPHIQUE DU COMPOSE DL15a

Ces deux isomères, après séparation, outre leur différence de comportement vis-à-vis des solvants, montrent également de grands écarts de points de fusion (68°C pour l'isomère 1 ; 212°C pour l'isomère 2).

#### 5.4 - saponification des esters DL15a et DL15b

Les esters **DL15a** et **DL15b** peuvent être saponifiés au moyen d'une solution de soude 2N.

La précipitation des acides **DL16a** et **DL16b** s'effectue aisément par acidification de la phase aqueuse basique par HCl concentré (fig.103).

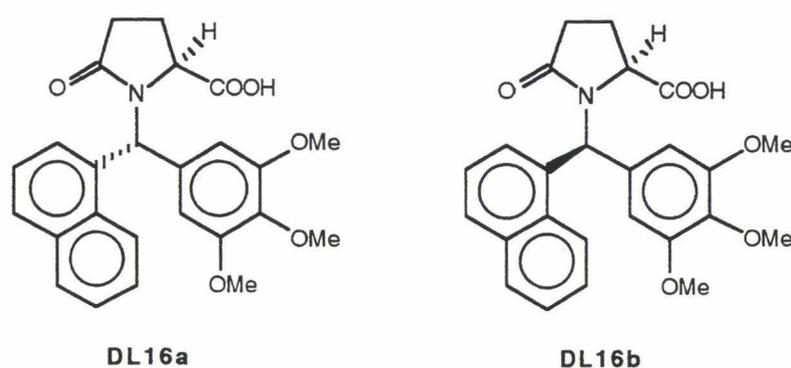


figure 103 : Structures chimiques des composés **DL16a** et **DL16b**

Ces deux acides isomères possèdent, comme leurs esters respectifs, des caractéristiques physiques très différentes :

- les points de fusion de **DL16a** et **DL16b** sont respectivement de 237°C et 187°C.
- **DL16b** se dissout beaucoup plus facilement que **DL16a** dans le méthanol.
- **DL16a** et **DL16b** se distinguent par leurs spectres  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ .

## 5.5 - formation de l'amide DL17

Une première tentative de synthèse de l'amide DL 17 a été effectuée par mise en présence de l'ester DL15b et de la benzylamine à 75°C. Néanmoins, après 18 heures de chauffage à cette température et 24 heures de chauffage à 110°C, nous n'avons pu obtenir le produit désiré (fig.104).

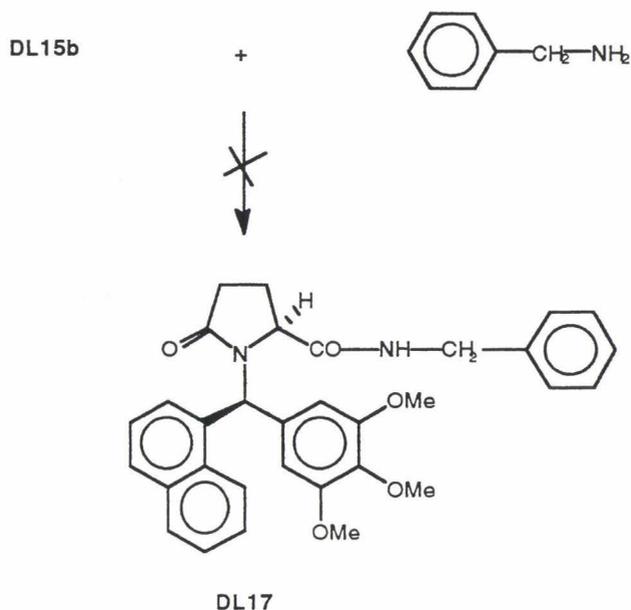


figure 104 : Tentative de synthèse de DL 17 à partir de DL 15b

Nous avons donc tenté la synthèse de DL 17 de la façon suivante (fig.105).

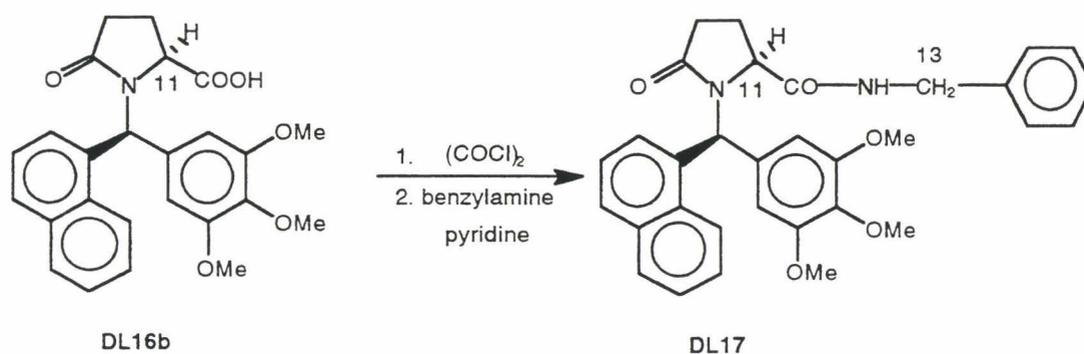


figure 105 : Synthèse de DL 17 à partir de DL 16b

Nous observons, après 18 heures à température ambiante, la formation du chlorure d'acide ( $H_{11}$  déblindé en RMN  $^1H$ ). **DL16b**, en suspension dans le chlorure de méthylène, a laissé place à une solution marron, limpide, de ce chlorure d'acide. Après ajout de la benzylamine dissoute dans le chlorure de méthylène et de la pyridine, et 3 jours d'agitation à température ambiante, nous obtenons une huile marron, cristallisable dans l'acétone.

Une analyse HPLC de ce produit recristallisé dans l'acétate d'éthyle montre une pureté supérieure à 99%, ceci sur quatre longueurs d'onde différentes.

L'analyse élémentaire confirme l'obtention de **DL17**.

Par ailleurs, nous visualisons, en RMN  $^1H$ , un couplage franc entre le méthylène  $H_{13}$  et le proton de la fonction amine de la molécule. En effet,  $H_{13}$  apparaît sous forme de deux doublets de doublet, et le proton de la fonction amine sous forme d'un triplet.

## 5.6 - cyclisation en cétones des acides DL16a et DL16b

### 5.6.1 - rappel sur les cyclisations réalisées auparavant

Nous avons précisé les conditions expérimentales de cyclisation des acides **4** :

- 1,1 équivalent d'anhydride trifluoroacétique,
- 4 à 8 équivalents de  $BF_3/Et_2O$  suivant les acides,
- reflux de l'anhydride trifluoroacétique.

Dans le cas où l'acide comporte un noyau aromatique substitué par 3 groupes méthoxy en positions 3,4 et 5, il se produit une déméthylation du groupe méthoxy situé en ortho de la fonction cétone formée.

5.6.2 - cas du composé **DL16b**

L'acide **DL16b** a été placé dans les conditions de cyclisation citées précédemment (avec 8 eq en  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$ ). Après 9 heures de chauffage, il ne reste plus d'acide de départ en CCM.

Une particularité inattendue (car uniquement présente dans le cas de cyclisations d'acides symétriques ou ne comportant qu'un seul noyau aromatique) a été la précipitation directe dans le milieu réactionnel d'une poudre jaune, avec un rendement de 70%. Cette poudre a été filtrée et lavée à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage.

La RMN  $^1\text{H}$  de celle-ci montre l'obtention du composé **DL18** (H phénolique aisément reconnaissable à 12,24 ppm) (fig.106).

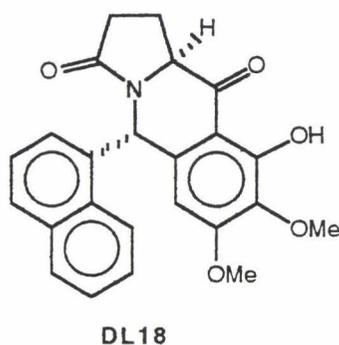


figure 106 : Structure chimique du composé **DL18**

L'analyse du spectre de RMN  $^1\text{H}$  du filtrat montre que la cétone **DL20** (fig.107) ne s'est pas formée. On peut, par contre, mettre en évidence la présence de composés provenant de la coupure de la liaison N-benzhydryle et ne contenant pas l'ensemble pyroglutamique ; il n'a pas été possible de purifier le mélange de composés obtenus.

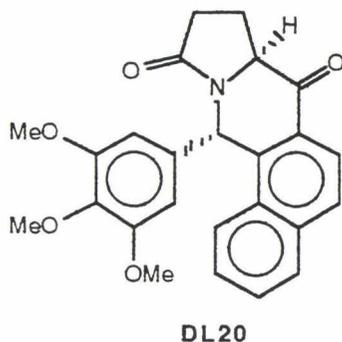


figure 107 : Structure chimique du composé **DL20**

5.6.3 - cas du composé **DL16a**

L'acide **DL16a** a subi une réaction de cyclisation dans les mêmes conditions que **DL16b** (même nombre d'équivalents d'anhydride trifluoroacétique (2 eq.) et  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$  (8 eq.), et même nombre d'heures de chauffage (9 heures à reflux)).

En fin de réaction, il n'apparaît pas de précipité. Après traitement, nous obtenons une huile marron dont la RMN  $^1\text{H}$  est très complexe. On remarque en particulier la présence de 3 massifs susceptibles de correspondre au proton "angulaire" ( $\text{H}_{11}$ ).

L'obtention d'un premier précipité par cristallisation dans l'acétate d'éthyle, avec un rendement de 15%, dont le spectre de RMN  $^1\text{H}$  contient 8 protons aromatiques, 4 protons de type pyroglutamique, 1 proton de type "ArCHAr" (communément appelé  $\text{H}_7$  dans nos cétones cyclisées) et pas de proton phénolique laisse supposer la présence du composé **DL20** (fig.107 p.127).

Néanmoins, le spectre  $^{13}\text{C}$  montre la présence d'une unique fonction carbonyle à 173,25 ppm : la fonction carbonyle lactame du noyau pyroglutamique.

Nous avons alors imaginé la formation du composé **DL19** qui possède toutes les caractéristiques fonctionnelles pour une adéquation parfaite aux spectres  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  obtenus (fig.108).

L'analyse élémentaire de ce produit confirme totalement notre hypothèse.

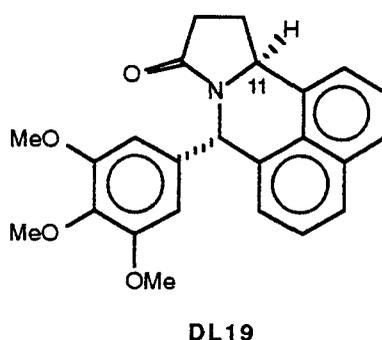


figure 108 : Structure chimique du composé **DL19**

Des décarbonylations lors de la cyclisation de type Friedel-Crafts intramoléculaire d'acides pyroglutamiques ont déjà été remarquées dans des travaux antérieurs (El Ghamarti, 1995 ; Rigo et coll., 1989 et 1996).

Il est important dans notre cas de rappeler que l'acide **DL16a** provient de l'ester **DL15a**, dont la fonction ester doit se positionner dans le cône de blindage du noyau naphthalénique. On peut alors supposer que, lors de la formation du carbocation, après passage par l'anhydride mixte, le noyau naphthalénique se trouve idéalement placé pour qu'une décarbonylation suivie d'une attaque de ce noyau en position 11 puisse s'effectuer.

Ce composé **DL19** possède une particularité notable en RMN  $^1\text{H}$  :  $\text{H}_{11}$  est fortement déblindé (passage de 4-4,2 ppm pour les produits de cyclisation habituels à 5 ppm pour **DL19**).

Il est recristallisable dans l'acétate d'éthyle et le méthanol.

Une deuxième cristallisation dans l'acétate d'éthyle du mélange brut fournit, avec un rendement de 15%, un composé dont les RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  et l'analyse élémentaire permettent d'élucider la structure : **DL20** (fig.107).

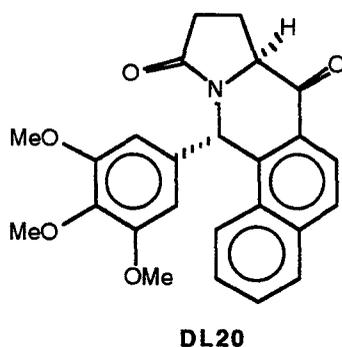
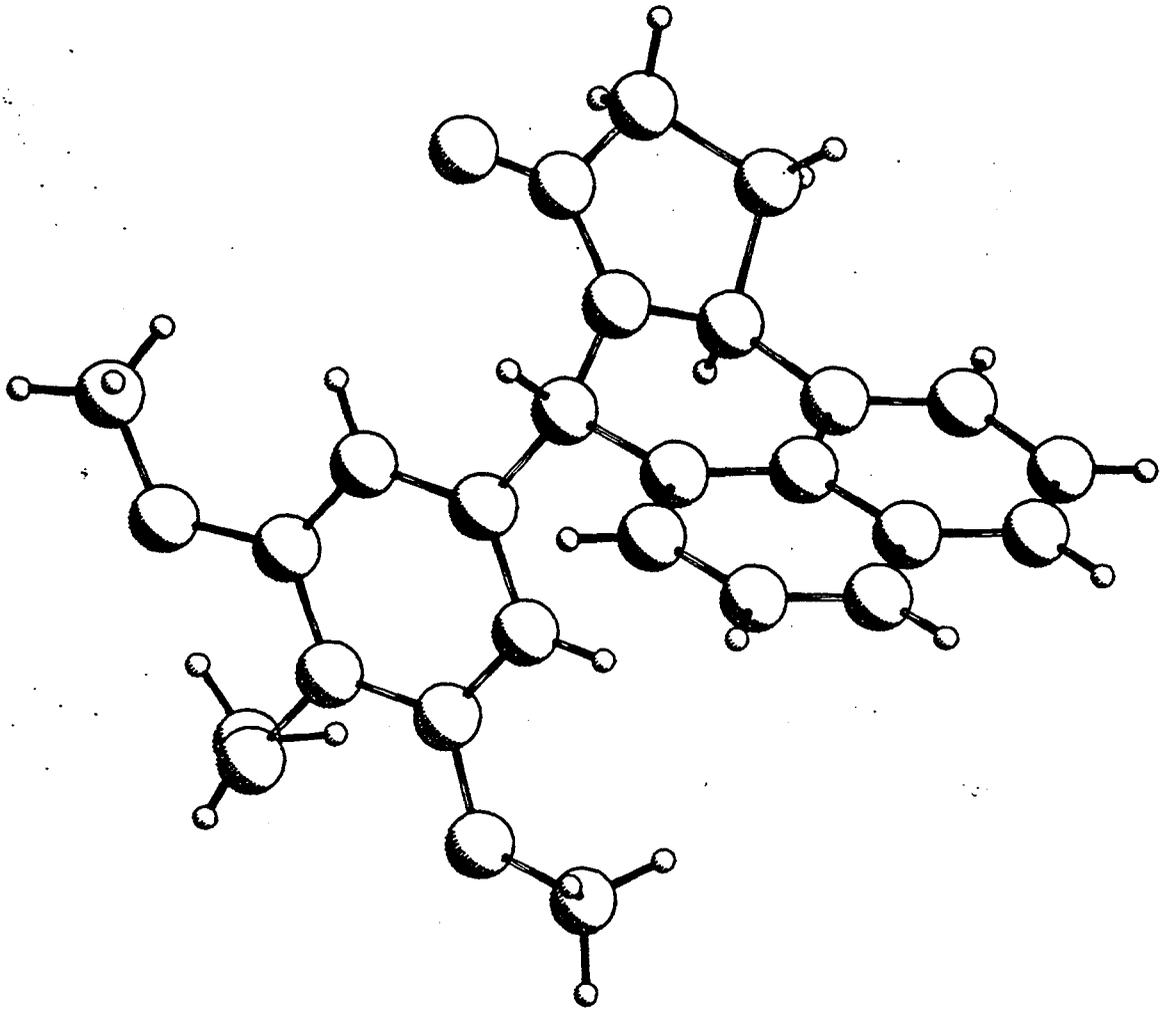


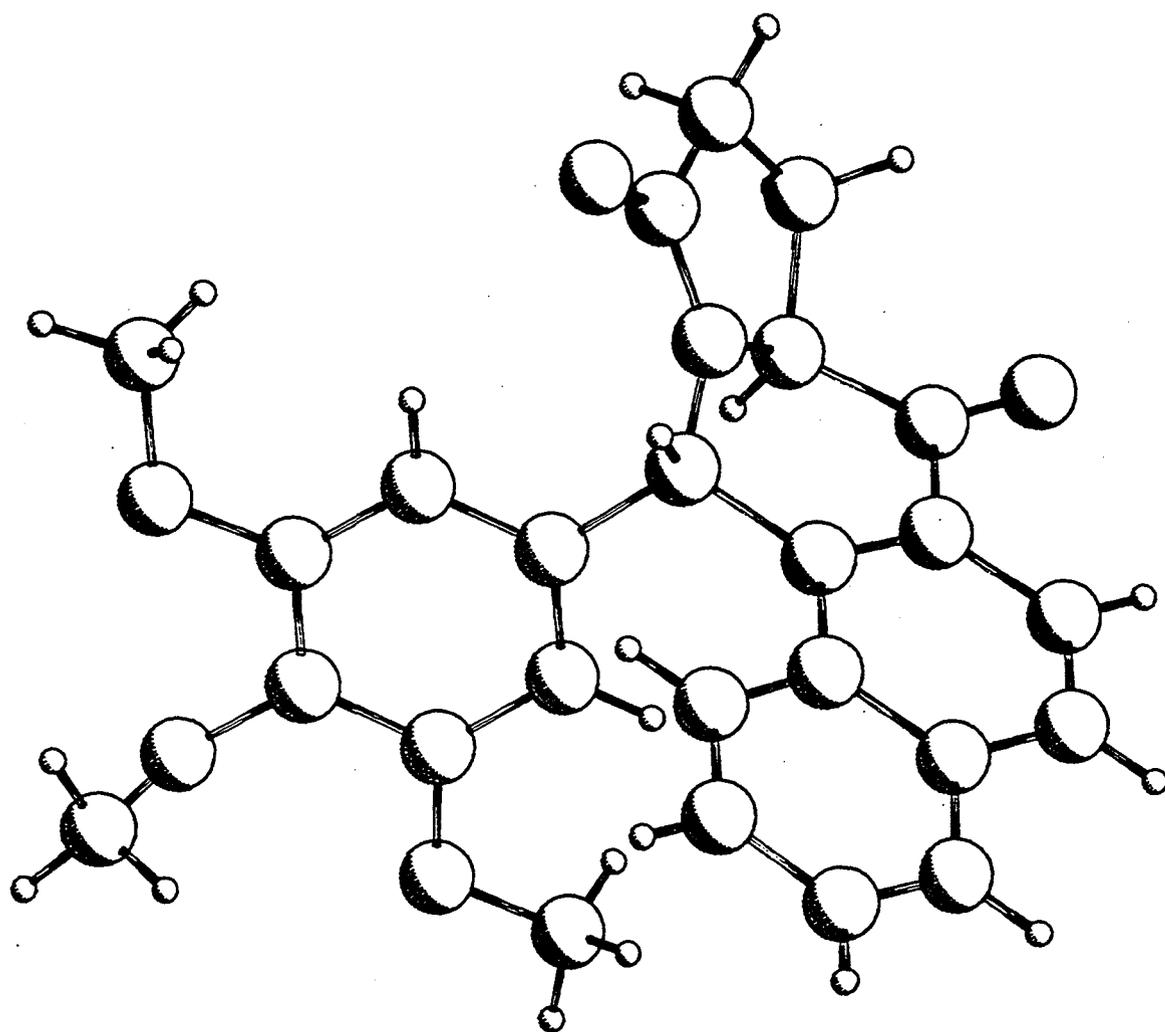
figure 107 : Structure chimique du composé **DL20**

Les stéréochimies des composés **DL19** et **DL20** au niveau du carbone porteur des deux noyaux aromatiques ont été élucidées par des études de cristallographie (cf. pages 129bis et 129ter).

Une dernière cristallisation dans l'acétate d'éthyle du mélange brut permet, enfin, d'obtenir, avec un rendement de 30%, le composé **DL18**, déjà isolé lors de la cyclisation en cétone de l'acide **DL16b** (fig.106 p.130).



REPRESENTATION CRISTALLOGRAPHIQUE DU COMPOSE DL19



REPRESENTATION CRISTALLOGRAPHIQUE DU COMPOSE DL20

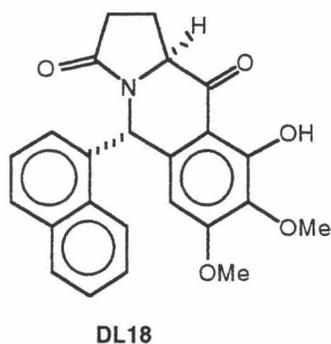


figure 106 : Structure chimique du composé **DL18**

Un fois encore, il est possible de visualiser par RMN  $^1\text{H}$ , un mélange de produits de coupure ayant perdu le noyau pyroglutamique, constituant l'ensemble de l'huile marron résiduelle (soit 40% du mélange brut de base).

Contrairement à toutes les cyclisations jusqu'alors effectuées sur les différents acides, il est possible d'isoler par précipitation des huiles résiduelles dans l'heptane et recristallisation dans l'acétate d'éthyle, un de ces produits de coupure (rdt = 2%).

Le spectre  $^1\text{H}$  de ce dernier montre la présence de 7 protons aromatiques (dont 6 protons de type naphthalénique), de 9 protons de type méthoxy et de 2 protons équivalents, situés vers 4 ppm.

Nous avons alors émis l'hypothèse de la formation d'un des deux produits cyclisés présentés dans la figure 109.

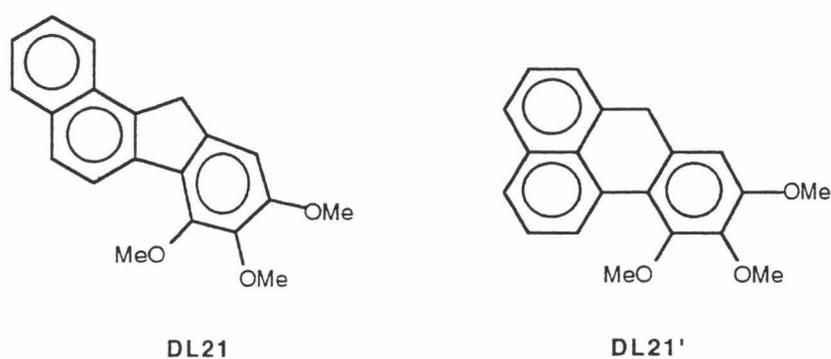
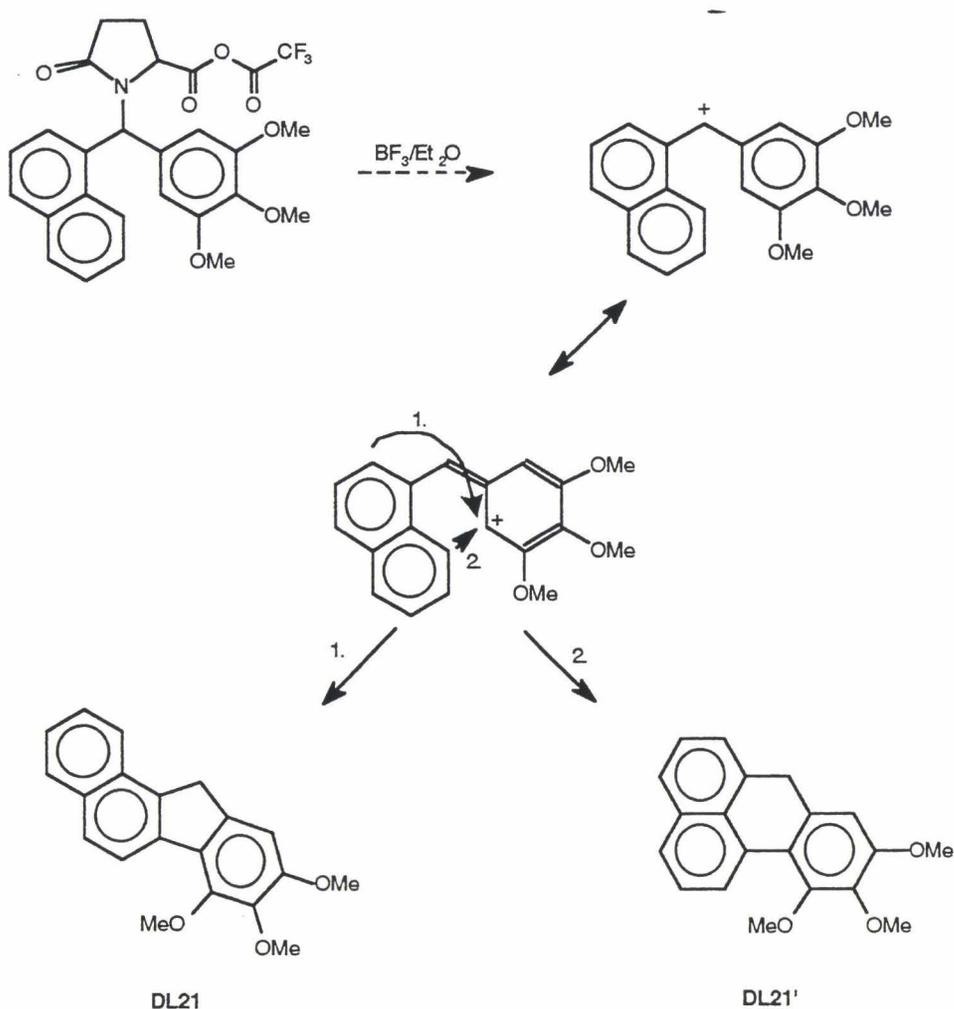


figure 109 : Structures chimiques des composés **DL21** et **DL21'**

Un mécanisme plausible de formation de ce type de composé serait le suivant :



L'analyse élémentaire de la poudre obtenue ne permet pas de déterminer si nous sommes en présence de **DL21** ou de **DL21'**, mais elle confirme la formule brute du produit.

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  de ce composé (**DL21** ou **DL21'**) effectué dans l'acétone deutérée fait apparaître quatre massifs importants pour l'ensemble des deux noyaux benzéniques que l'on peut séparer de la manière suivante :

- un triplet de doublet d'intensité 1 à 7,45 ppm ( $J_1 = 8,2 \text{ Hz}$  ;  $J_2 = 1,4 \text{ Hz}$ ),
- un triplet de doublet d'intensité 1 à 7,54 ppm ( $J_1 = 8,2 \text{ Hz}$  ;  $J_2 = 1,4 \text{ Hz}$ ),
- un doublet d'intensité 1 à 7,90 ppm ( $J = 8,6 \text{ Hz}$ ),
- un doublet d'intensité 1 à 7,95 ppm ( $J = 8,6 \text{ Hz}$ ),
- un doublet d'intensité 1 à 8,01 ppm ( $J = 8,6 \text{ Hz}$ ),
- un doublet d'intensité 1 à 8,20 ppm ( $J = 8,6 \text{ Hz}$ ).

L'ambiguïté sur la structure obtenue (**DL21** ou **DL21'**) peut être levée par une expérience RMN de double irradiation. Par celle-ci, il est possible d'irradier un massif connu et d'observer les modifications qui surviennent sur les massifs environnants.

Ainsi, si l'on considère **DL21** et **DL21'** (fig.109), l'irradiation des protons H<sub>2''</sub> et H<sub>3''</sub> (triplets) de **DL21** devrait transformer les protons H<sub>1''</sub> et H<sub>4''</sub> (doublets) en singulets, en conservant les protons H<sub>3'</sub> et H<sub>4'</sub> sous leur forme de doublets. Au contraire, l'irradiation des protons H<sub>3'</sub> et H<sub>3''</sub> (triplets) de **DL21'** devrait conduire à la transformation des protons H<sub>2'</sub>, H<sub>4'</sub>, H<sub>2''</sub> et H<sub>4''</sub> (doublets) en singulets.

Pour résumer, l'irradiation des triplets du composé devrait permettre de visualiser deux doublets et deux singulets pour **DL21**, et quatre singulets pour **DL21'**.

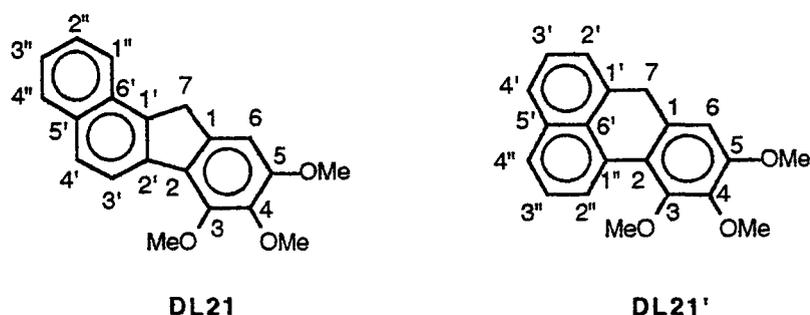


figure 109 : Structures chimiques des composés **DL21** et **DL21'**

L'irradiation à 7,50 ppm, au centre du massif de triplets de doublets situés à 7,45 et 7,54 ppm, conduit à la transformation des deux doublets situés à 7,95 et 8,01 ppm en singulets, les doublets situés à 7,90 et 8,20 ppm demeurant, quant à eux, inchangés. La structure obtenue correspond donc au produit **DL21**. Par ailleurs, l'irradiation au centre du doublet situé à 8,20 ppm modifie uniquement le doublet situé à 7,45 ppm : les deux protons correspondant à ces doublets sont donc H<sub>3'</sub> et H<sub>4'</sub>.

Afin de prouver le mécanisme réactionnel suggéré, il serait intéressant de synthétiser ce produit de manière différente en utilisant par exemple le schéma réactionnel de la figure 110.

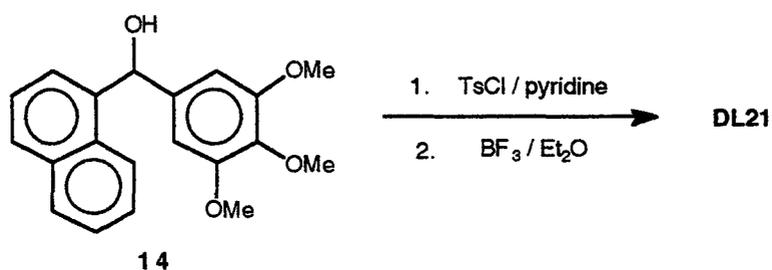
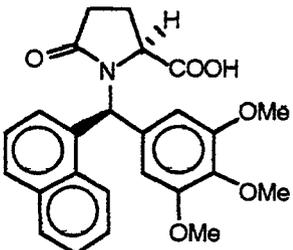
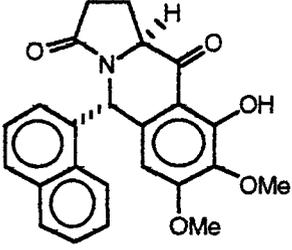
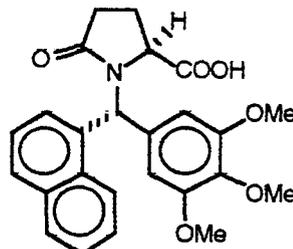
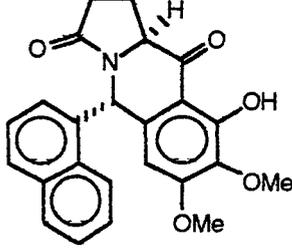
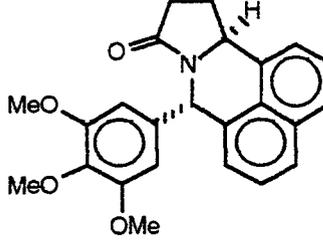
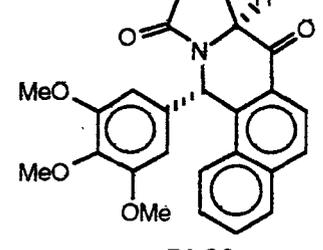
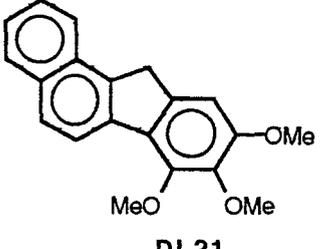


figure 110 : Schéma réactionnel envisageable pour la synthèse de DL21 ou DL21'

5.6.4 - récapitulatif des résultats concernant la cyclisation des acides **DL16a** et **DL16b**

Réactifs	Produits	Rdt
 <p><b>DL16b</b></p>	 <p><b>DL18</b></p>	70%
 <p><b>DL16a</b></p>	 <p><b>DL18</b></p>	30%
	 <p><b>DL19</b></p>	15%
	 <p><b>DL20</b></p>	15%
	 <p><b>DL21</b></p>	2%

5.6.5 - conclusion sur les réactions de cyclisation d'acides pyroglutamiques par  
réaction de type Friedel-Crafts intramoléculaire

5.6.5.1 - mécanisme proposé antérieurement au laboratoire (Gautret, 1994)

Les acides **DL4a** et **DL4d** ont subi une cyclisation de type Friedel-Crafts intramoléculaire sous forme de leur mélange de diastéréoisomères racémiques. En effet, il n'a pas été possible de séparer ceux-ci (fig.111). Par cyclisation de **DL4a** sur le noyau benzodioxole, on pouvait s'attendre à obtenir le composé **DL5a**, accompagné de sa forme isomère au niveau du carbone 7 : **DL i5a** (raisonnement identique pour **DL5'a** et sa forme isomère **DL i5'a**) (fig.111).

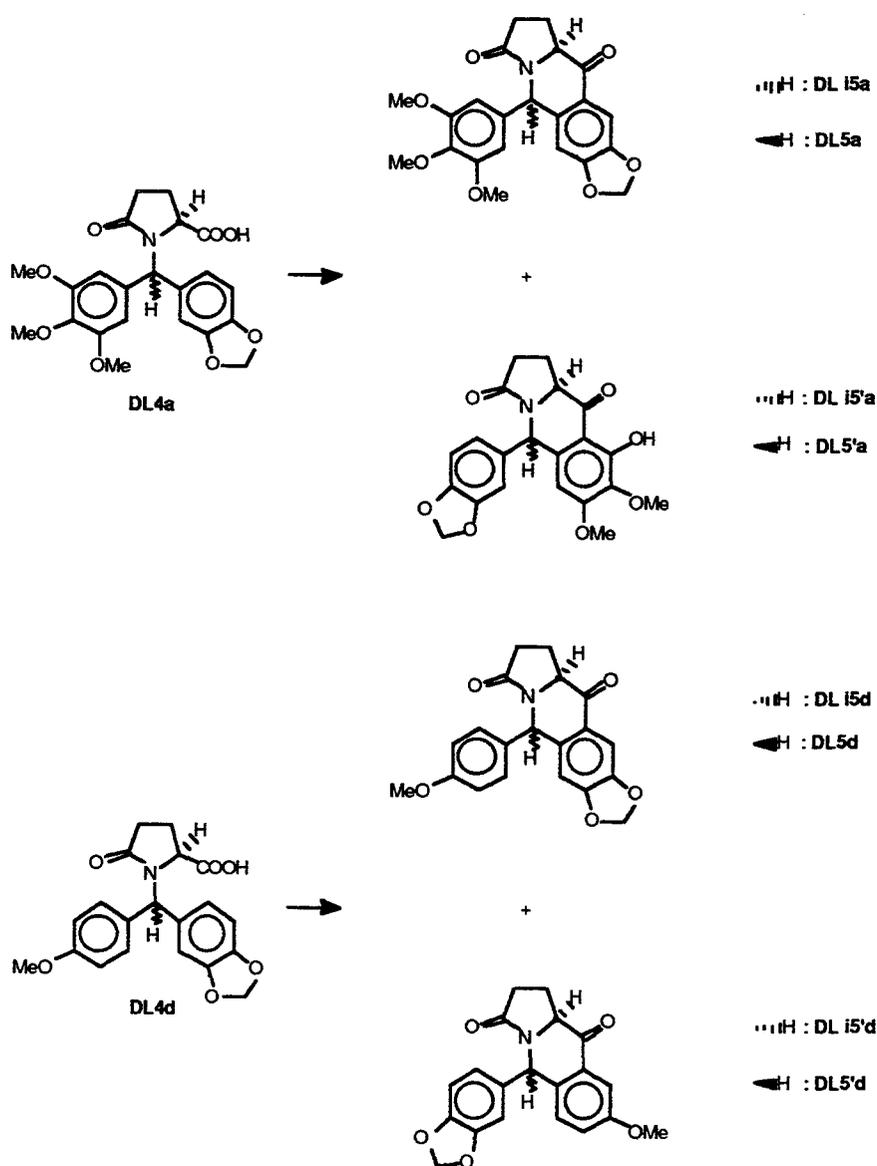
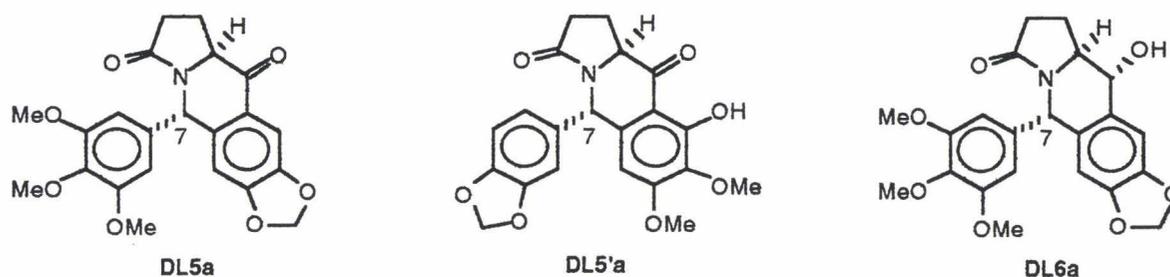


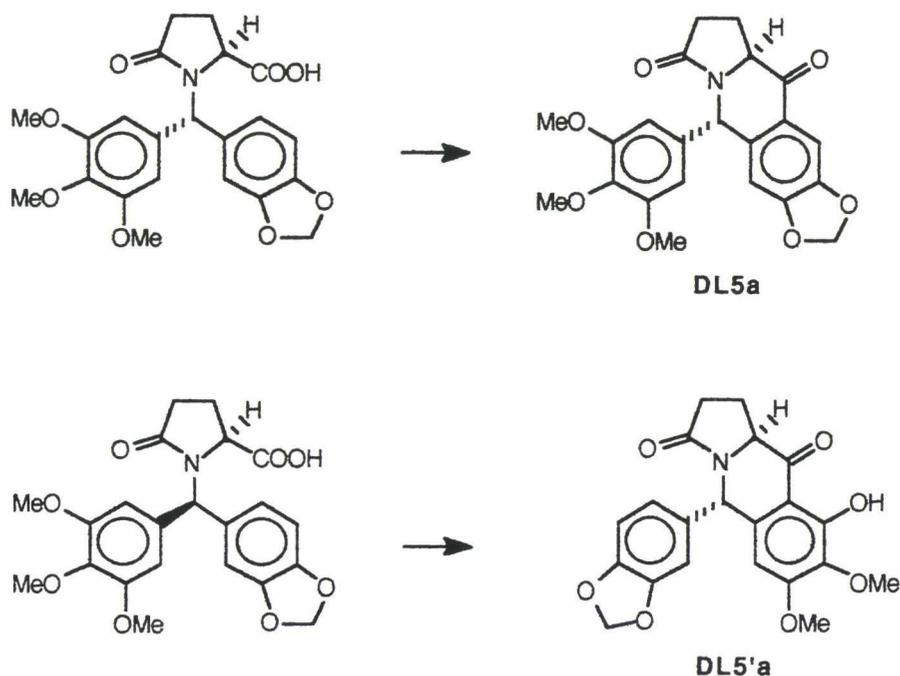
figure 111 : Produits de cyclisation attendus à partir des acides **DL4a** et **DL4d**

Néanmoins, pour chaque type de cétone, un seul des diastéréoisomères est isolé. Les stéréochimies des différentes cétones obtenues ont été déterminées par des études de RMN indirectes (Gautret, 1994) menées sur le composé **DL6a** (fig.112) (en effet, les expériences de NOESY menées sur **DL5a** restaient ambiguës). Celles-ci sont représentées dans la figure 112.



**figure 112** : Produits de cyclisation effectivement obtenus à partir de **DL4a** et structure chimique du composé **DL6a**

Deux hypothèses mécanistiques ont alors été émises (Gautret, 1994). La première consiste à imaginer qu'un diastéréoisomère acide fournit un seul composé de cyclisation (fig.113).



**figure 113** : Première hypothèse concernant le mécanisme de cyclisation

La deuxième hypothèse consiste, quant à elle, à supposer que les deux diastéréoisomères fournissent quatre produits de cyclisation, dont deux d'entre eux seraient instables dans le milieu réactionnel acide et s'épimériseraient au niveau du carbone 7 pour conduire aux deux cétones citées auparavant (fig.114).

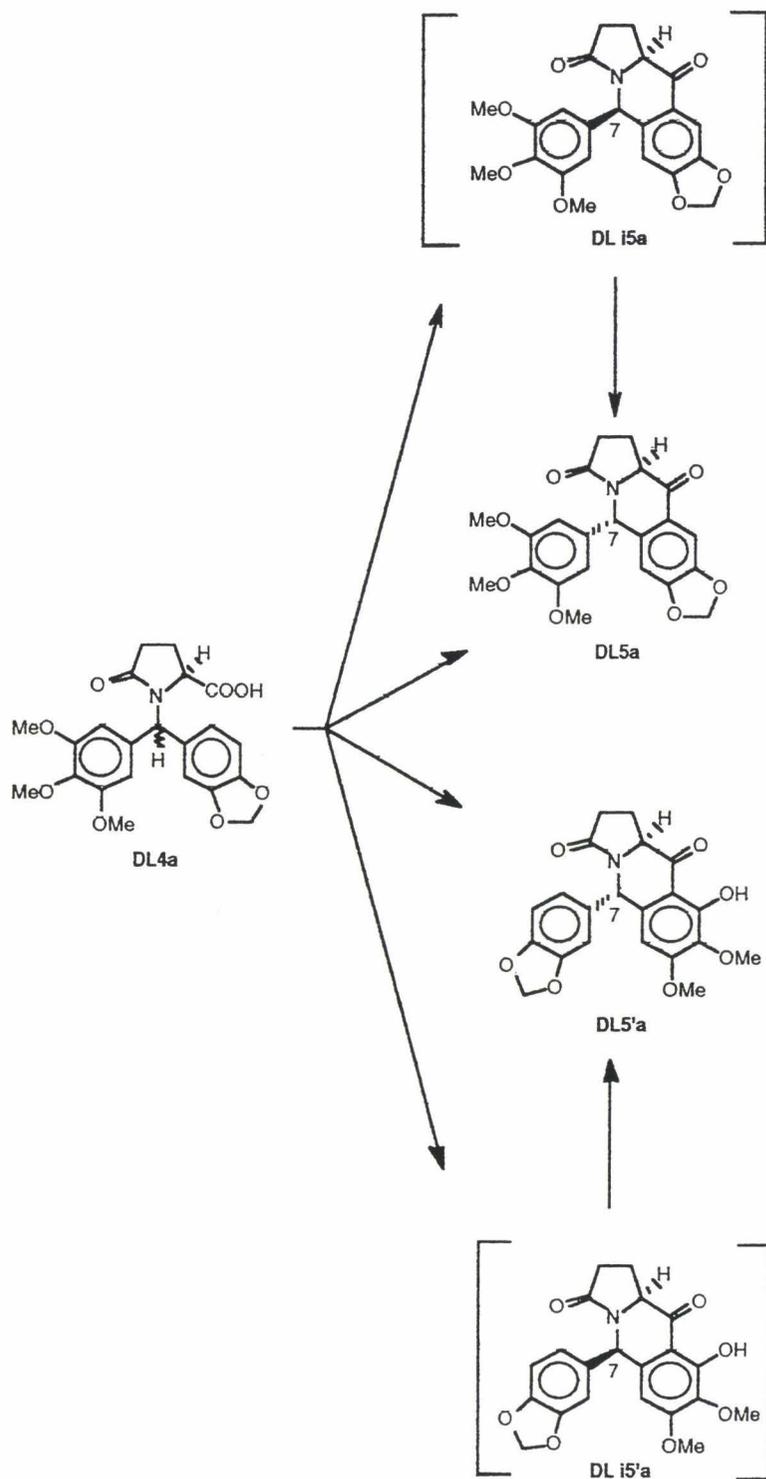
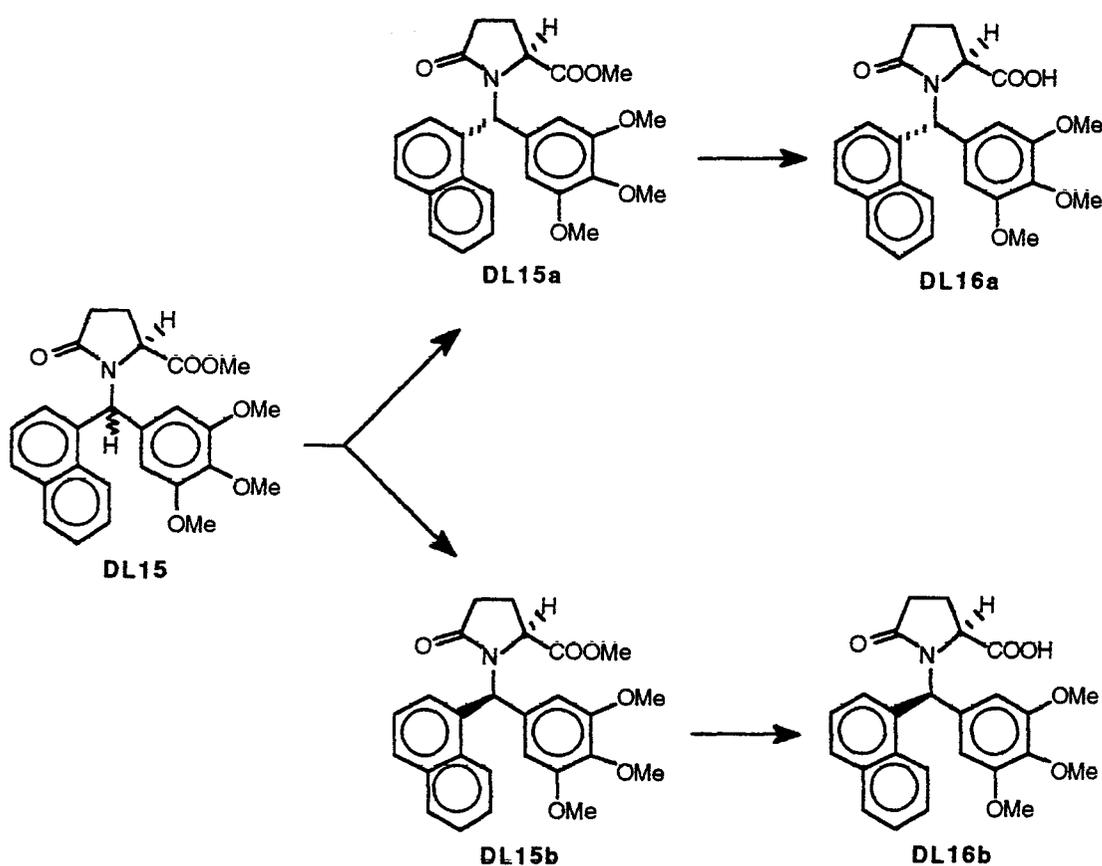


figure 114 : Deuxième hypothèse concernant le mécanisme de cyclisation

Cette hypothèse d'épimérisation du C7 est inspirée des travaux de Tomioka (Tomioka et coll., 1989a et 1989b).

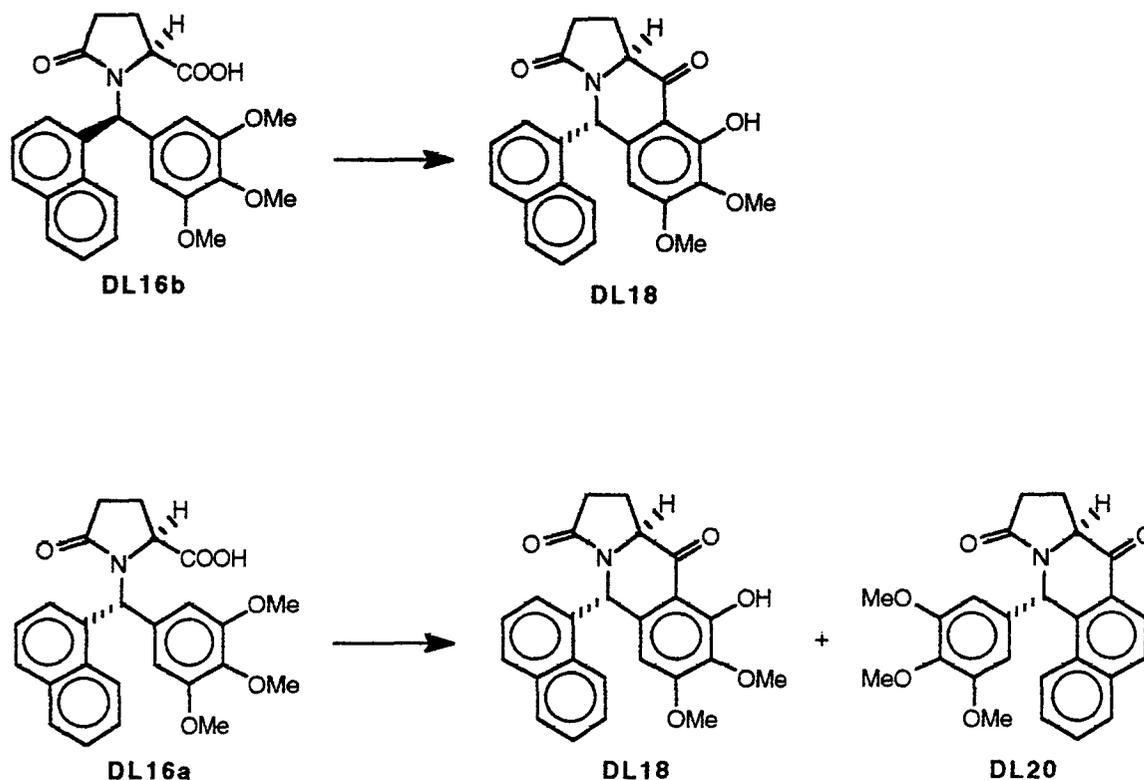
### 5.6.5.2 - évolution des hypothèses avec la cyclisation des acides **DL16a** et **DL16b**

Le mélange de diastéréoisomères de l'ester "naphtalénique" **DL15** a pu être séparé par cristallisation (cf 5.3.2 p.122 et 123) (fig.115). **DL15a** et **DL15b** ont ainsi été saponifiés séparément en **DL16a** et **DL16b** (fig.115).



**figure 115** : Produits de saponification des esters **DL15a** et **DL15b** préalablement séparés

L'acide **DL16b**, par cyclisation, ne conduit qu'à une seule cétone **DL18** (fig.116), alors que l'acide **DL16a** donne deux cétones **DL18** et **DL20** (fig.116) (nous n'insisterons pas ici sur l'obtention lors de la cyclisation de cet acide des composés **DL19** et **DL21** qui ne constituent pas des produits de cyclisation cétoniques).



**figure 116** : Produits cétoniques de cyclisation issus de **DL16a** et **DL16b**

La première hypothèse est donc prise en défaut : un diastéréoisomère ne donne pas forcément par cyclisation une seule cétone. La deuxième hypothèse, par contre, ne peut être exclue.

En outre, il est possible d'envisager une troisième hypothèse : l'acide **DL16a** pourrait subir une coupure de la liaison N-C<sub>7</sub> et ainsi se racémiser, ce qui expliquerait l'obtention de deux produits cétoniques dans ce cas (fig.117 p.140). Ceci serait en parfait accord avec la présence non négligeable de composés de type **DL21** ayant perdu le noyau pyroglutamique (fig.118 p.140) (cf 5.6.3 p.130 et 133).

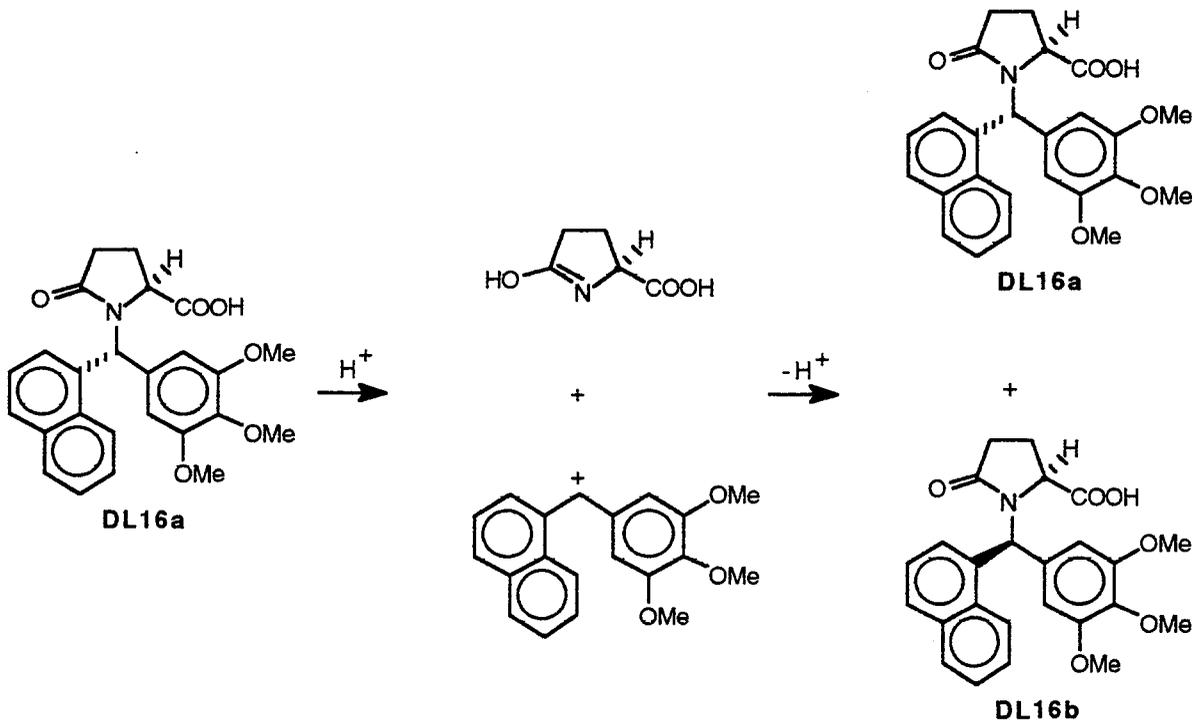


figure 117 : Mécanisme de racémisation en milieu acide envisagé pour DL16a

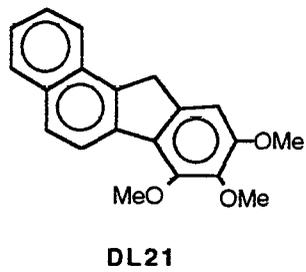


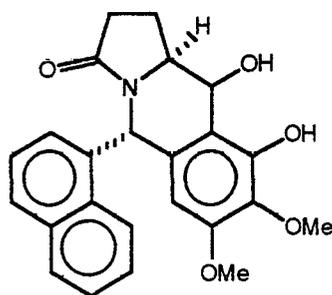
figure 118 : Structure chimique du composé DL21

## 5.7 - étude de la réactivité de DL18 vis-à-vis des réductions et des acides

### 5.7.1 - vis-à-vis des réductions

#### 5.7.1.1 - réduction de DL18 par le borohydrure de sodium

La réduction de la fonction cétonique de DL18 en alcool peut être réalisée au moyen de borohydrure de sodium. Nous obtenons une poudre jaunâtre, recristallisable dans l'acétate d'éthyle, avec un rendement quantitatif : DL26 (fig.119).



DL26

figure 119 : Structure chimique de DL26

Il est intéressant de noter que, même sans utiliser de réducteur encombrant (contrairement aux réductions effectuées avec le tri-*t*-butyloxyaluminium de lithium sur les cétones 5 et 5'), nous n'obtenons qu'un seul alcool et non pas un mélange d'isomères. Nous ne sommes toutefois pas en mesure de connaître la stéréochimie de cet alcool.

5.7.1.2 - réduction de **DL26** par  $\text{Et}_3\text{SiH}$  / TFA

Une réduction de la fonction cétone du composé **DL5a** en  $\text{CH}_2$  (West et coll., 1973) avait été tentée sans succès antérieurement au laboratoire (fig.120) (Gautret, 1994).

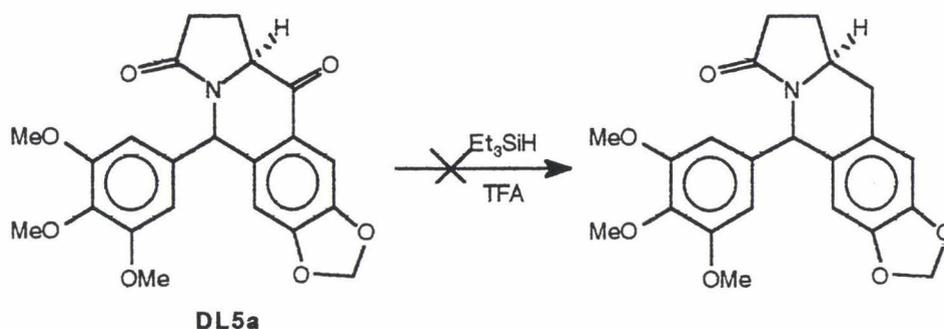


figure 120 : Tentative de réduction de **DL5a** par  $\text{Et}_3\text{SiH}$  / TFA

Nous avons décidé d'essayer une réduction dans les mêmes conditions, mais à partir de l'alcool correspondant **DL26** (Hong et coll., 1994). Celle-ci a pu être réalisée dans l'acide trifluoroacétique, en présence de 2 équivalents de triéthylsilane.

Après traitement de la réaction, nous obtenons une poudre jaunâtre, recristallisable dans l'acétate d'éthyle auquel on ajoute quelques gouttes d'heptane : **DL27** (fig.121).

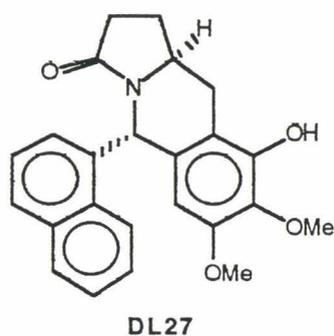
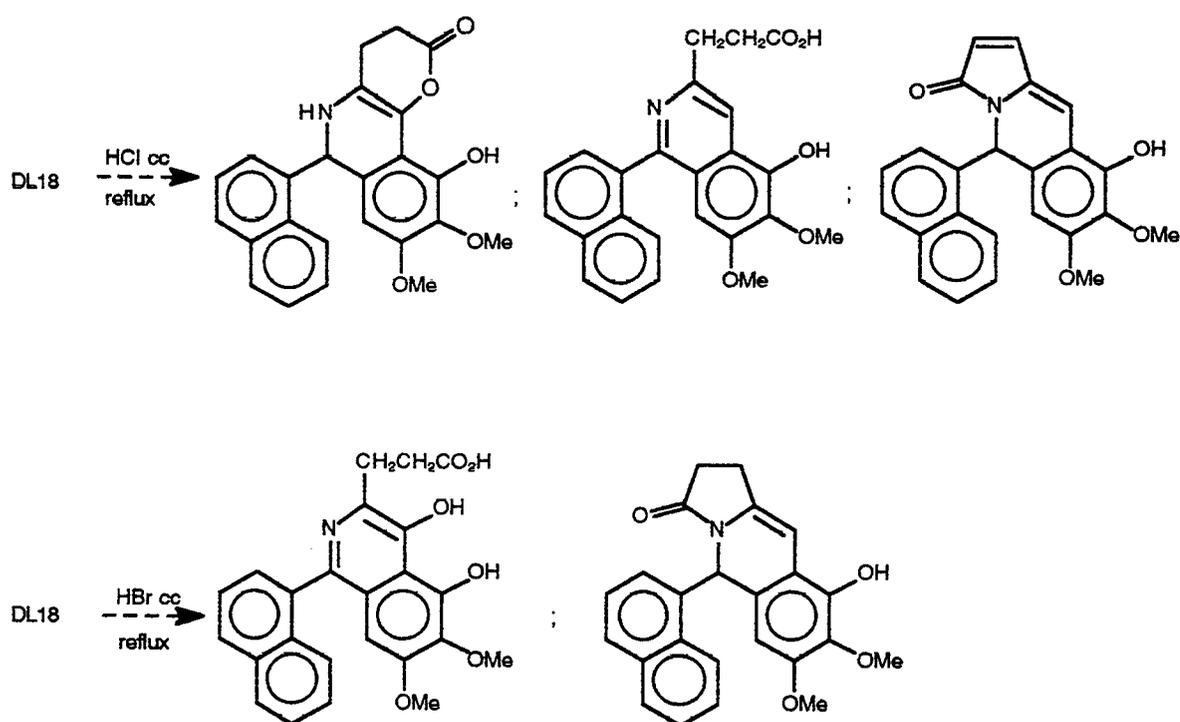


figure 121 : Structure chimique du composé **DL27**

## 5.7.2 - vis-à-vis des acides

## 5.7.2.1 - résultats escomptés

Suite aux réactions de réarrangements effectuées antérieurement au laboratoire et à celle effectuée sur la cétone **11**, nous avons décidé de réaliser les deux types de réaction (HCl et HBr concentrés) à partir de la cétone **DL18** (fig.122), espérant synthétiser les composés originaux suivants et ainsi généraliser les réactions de réarrangements à des cétones pyroglutamiques possédant un noyau aromatique pendant.



**figure 122** : Produits de réarrangements envisageables à partir de **DL18** par action d'HCl ou d'HBr concentré

## 3.7.2.2 - réactivité de DL18 vis-à-vis d'HCl concentré

Une première tentative de réarrangement du composé DL18 a été menée en plaçant celui-ci en suspension dans l'HCl concentré à reflux.

DL18 se solubilise très faiblement et même après 18 heures de chauffage, nous n'isolons pas de produit de réarrangement.

Nous avons alors mis en oeuvre un second essai en ajoutant, dans le milieu réactionnel, de l'éthanol, afin de permettre une meilleure solubilisation du produit. Cependant, la réaction n'évolue pas.

Nous avons alors remplacé l'éthanol par le diméthylformamide, solvant fortement polaire. DL18 se solubilise dans ce solvant mais, après ajout de l'HCl concentré, la solution se trouble et nous n'isolons, après 48 heures de chauffage à reflux, que le produit de départ DL18.

## 3.7.2.3 - réactivité de DL18 vis-à-vis d'HBr concentré

Après 6 heures de chauffage à reflux dans HBr concentré, nous ne trouvons plus trace de DL18 en CCM. Nous filtrons alors un précipité que nous lavons à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage.

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  de ce composé montre, non pas la présence d'un produit de réarrangement, mais celle d'un diphenol issu d'une déméthylation partielle de DL18 : DL25 (fig.123). La position du deuxième groupement phénolique formé par déméthylation a pu être déterminée par une étude succincte de RMN (cf. chapitre V p.169).

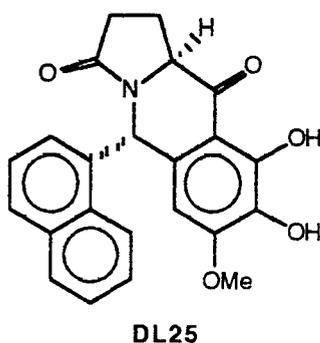


figure 123 : Structure chimique du composé DL25

Cette molécule est obtenue avec un rendement de 40%, sous forme de poudre verdâtre.

Nous avons ensuite évaporé la phase HBr et effectué un spectre  $^1\text{H}$  du résidu. Celui-ci est soluble dans le diméthylsulfoxyde et montre en particulier deux triplets entre 2 et 3 ppm qui suggèrent la présence d'un groupe  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ . Cependant, il ne nous a pas été possible de purifier ce résidu et d'isoler un produit pur.

## 5.8 - déméthylation en position 4' des composés DL19 et DL20

### 5.8.1 - données de la littérature

Les clivages d'éthers constituent un ensemble varié de réactions de dégradation ou de transformation de produits naturels.

De nombreux agents sont capables de cliver les éthers, certains, cependant, avec leur utilisation limitée.

Bhatt et Kulkarni ont en particulier dressé un "état des lieux" concernant ce type de réactions (Bhatt et Kulkarni, 1983).

Les agents de clivage peuvent être regroupés en différentes catégories :

- les agents acides,
- les agents basiques,
- les autres cas.

#### 5.8.1.1 - les agents acides

Dans cette première catégorie, il faut dissocier les acides de Brønsted des acides de Lewis.

##### a - acides de Brønsted

Un des acides de Brønsted les plus utilisés pour le clivage des éthers est HBr aqueux ou HBr dans l'acide acétique. Son efficacité augmente quand on lui adjoint un catalyseur de transfert de phase.

Par ailleurs, des réactifs tels que les sels d'ammonium ou de pyridine et l'acide trifluoroacétique clivent les éthers. Néanmoins, cet acide pur est incapable de cliver les groupes méthoxy.

#### b - acides de Lewis

La capacité de clivage des éthers par  $AlX_3$  suit l'ordre de la force acide de ces agents :  $AlCl_3 < AlBr_3 < AlI_3$ . Les composés  $BX_3$  représentent également une classe très intéressante de réactifs de clivage.  $BBr_3$  en est le réactif de choix. En effet, il permet d'effectuer ces réactions dans des conditions douces (température ambiante, dans le chlorure de méthylène) sans affecter un certain nombre de groupements fonctionnels (esters, doubles liaisons, méthylènedioxy...).

#### 5.8.1.2 - réactifs basiques

Ces composés sont nombreux, nous n'en citerons que quelques exemples :  $NaNH_2$ ,  $C_2H_5Na$ ,  $NaCN$  / DMSO et  $LiI$ .

#### 5.8.1.3 - autres cas

Les dérivés silylés sont capables de cliver les éthers. Leur représentant principal est l'iodotriméthylsilane. Il clive les éthers sans affecter les groupements esters, méthylènedioxy, carbonyles, aminés, les doubles et les triples liaisons ainsi que les halogènes aromatiques.

Il est intéressant de noter que le mélange chlorotriméthylsilane/iodure de sodium clive les éthers encore plus efficacement que l'iodotriméthylsilane.

Enfin, on peut citer l'hydrogénolyse comme méthode de clivage réductif d'éthers, le clivage oxydatif de ceux-ci pouvant s'effectuer, par exemple, au moyen de l'oxyde d'argent  $Ag_2O$  et du nitrate d'ammonium cerrique  $(Ce(NH_4)_2(NO_2)_6$ .

5.8.1.4 - tableau récapitulatif sur le clivage des éthers (d'après Bhatt et Kulkarni, 1983)

réactifs	types d'éthers clivés	groupes compatibles	groupes non compatibles
HI	dialkyle, arylalkyle	carboxyle	ester, acétal, C=C, alcool, cétone, cyclopropyle
HBr	dialkyle, arylalkyle	carboxyle	ester, acétal, C=C, alcool, cétone, cyclopropyle
HCl	dialkyle, arylalkyle naphtyle, benzyle benzhydryle	carboxyle	ester, acétal, cyclopropyle
TFA	benzyle	éther, ester	acétal, glycol
sels de pyridinium	dialkyle, arylalkyle	C=C, cétone	acétal, glycol
AlCl <sub>3</sub>	dialkyle, arylalkyle	Ar-I, Ar-Br, carboxyle cétone, aldéhyde, ester	acétal, glycol
AlBr <sub>3</sub>	dialkyle, arylalkyle	Ar-I, Ar-Br, carboxyle cétone, aldéhyde, ester	acétal, glycol
AlI <sub>3</sub>	dialkyle, arylalkyle	carboxyle	acétal, glycol, alcool
BCl <sub>3</sub>	dialkyle, arylalkyle	C=C, C≡C, cétone, aldéhyde	acétal, glycol, alcool
BBr <sub>3</sub>	dialkyle, arylalkyle	C=C, C=O, carboxyle, nitrile, méthylènedioxy, nitro, ester	acétal, glycol
NaNH <sub>2</sub>	arylalkyle	—	—
NaCN/DMSO	arylméthyle	nitrile, carboxyle, sulfide	—
LiI	arylméthyle	C=C, cétone, aldéhyde, carboxyle, lactone	—
ISiMe <sub>3</sub>	dialkyle, arylalkyle	C=C, C≡C, cétone	ester, acétal, carbamate alcool
hydrogénolyse	benzyle, trityle benzhydryle	—	—
Ce(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>6</sub>	éthers benzyliques éthers d'o- et p- dihydroxybenzène	—	—
Ag <sub>2</sub> O	éthers d'o- et p- dihydroxybenzène	C=C	—

## 5.8.2 - premiers essais de déméthylation spécifique

Les premiers essais de déméthylation spécifique en position 4' ont été menés sur les composés **DL6a** et **DL5a**. Le produit **DL8a** a ainsi été obtenu à partir de **DL5a** (fig.59).

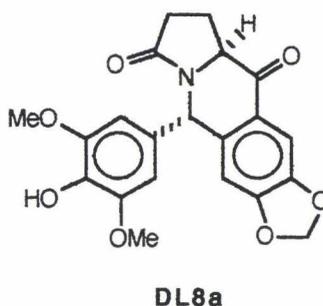


figure 59 : Structure chimique du composé **DL8a**

L'obtention de ce composé s'accompagne de celle d'un produit secondaire de type diphenolique, non isolé et difficile à séparer du produit désiré (fig.124).

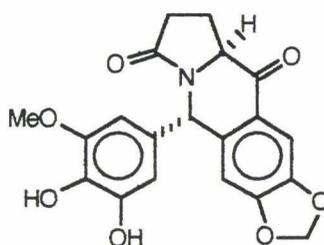


figure 124 : Structure chimique du produit secondaire formé lors de la réaction de déméthylation de **DL5a** en **DL8a**

Nous avons alors imaginé la synthèse du produit **DL8a** à partir de **DL5a** au moyen du mélange iodure de sodium/chlorotriméthylsilane (fig.125 p.149), réaction qui pourrait être applicable aux déméthylations de **DL19** et **DL20** (fig.126 p.149).

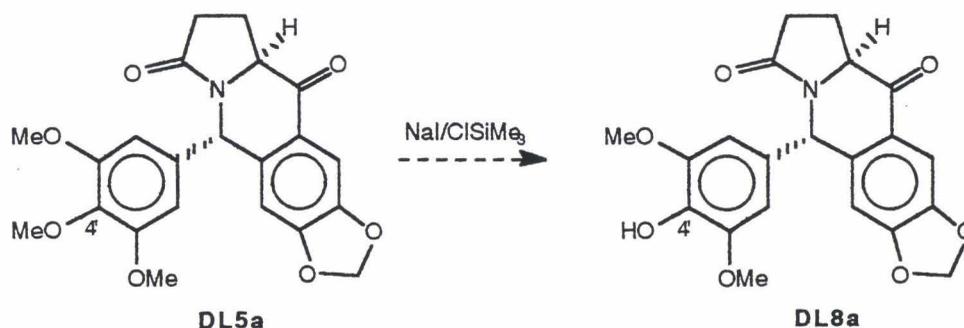


figure 125 : Synthèse de DL8a à partir de DL5a envisagée avec le mélange NaI/CISiMe<sub>3</sub>

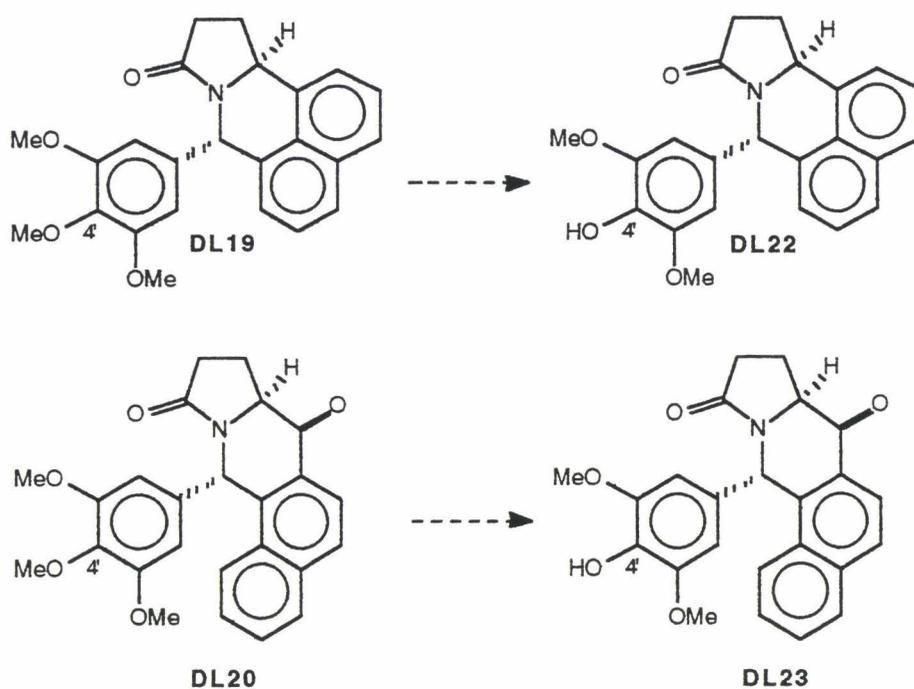


figure 126 : Produits de déméthylation attendus des composés DL19 et DL20

Lors du premier essai réalisé avec le composé DL5a, nous avons effectué la réaction à reflux de l'acétonitrile pendant 30 heures. La RMN <sup>1</sup>H du produit brut traité montre une absence de groupements méthoxy et ainsi la formation d'une déméthylation totale.

Nous avons alors opéré un second essai dans lequel, après 5 heures d'agitation à température ambiante et 8 heures de reflux, nous observons la disparition en CCM du produit de départ.

Néanmoins, dans ce cas, la RMN <sup>1</sup>H montre un mélange de produits de déméthylation non sélective, que nous ne sommes pas parvenus à séparer.

## 5.8.3 - déméthylation de DL19 et DL20 par HBr

Suite aux essais de déméthylation et bromation du composé DL6a par HBr ainsi qu'à ceux de déméthylation de DL5a par différentes méthodes (cf 3.4 p.83 à 98), nous avons tenté la déméthylation de DL19 et DL20 par HBr/CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H, préparé *in situ*.

Cette réaction réalisée de la même manière que pour le composé DL5a (cf 3.4.3 p.86) conduit, après deux à trois jours à température ambiante, à un précipité (DL22 ou DL23) identifié par la transformation, en RMN <sup>1</sup>H, des deux singulets correspondant aux groupes méthoxy des produits de départ en un seul singulet porteur de 6 protons pour les produits d'arrivée. Néanmoins, celui-ci est contaminé par une impureté de type diphénolique, de même rapport frontal en CCM que le produit désiré, mais dont les protons des groupes méthoxy en positions 3' et 5' ainsi que les protons 2' et 6' se distinguent de manière non ambiguë en RMN <sup>1</sup>H.

figure 127 : Structures chimiques des composés DL22 et DL23

Dans le cas de la déméthylation du composé DL19, il est possible d'isoler cette impureté diphénolique DL24 (fig.128). Ce composé s'avère très intéressant dans le cadre des analogues de l'azatoxine.

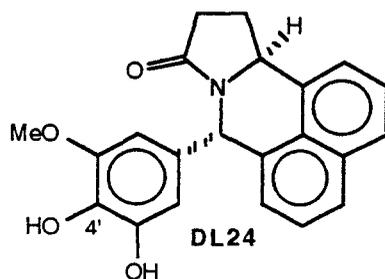


figure 128 : Structure chimique du composé DL24

Les déméthylations par HBr formé *in situ* constituent donc des réactions aisément réalisables, quoique de rendements assez faibles et sélectives sans être spécifiques.

Il serait intéressant d'envisager des tentatives de déméthylation par BBr<sub>3</sub>, agent de clivage des éthers utilisables dans des conditions douces, afin d'augmenter les rendements des réactions et la sélectivité de clivage en position 4'.

**CHAPITRE V**

**ETUDES DE RESONANCE MAGNETIQUE  
NUCLEAIRE**

## 1 - Remarques générales

L'attribution des déplacements chimiques des protons H<sub>10</sub> et H<sub>11</sub> du composé **11** (fig.129) ainsi que celle des protons H<sub>8</sub> et H<sub>9</sub> du composé **DL19** (fig.129) est faite par analogie avec de nombreux produits pyroglutamiques.

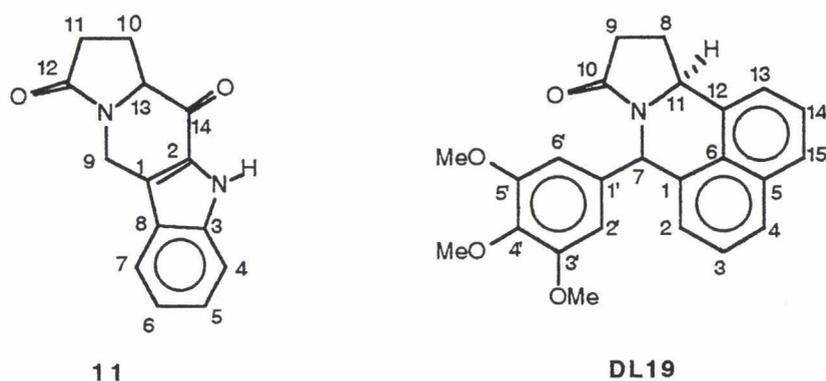


figure 129 : Structures chimiques des composés **11** et **DL19**

Ces protons se présentent globalement entre 2 et 3 ppm, sous trois formes différentes possibles :

- un massif de quatre protons (cas du composé **11**),
- deux massifs de deux protons chacun (un massif pour chaque groupe méthylène pyroglutamique),
- trois massifs d'intensités 1-2-1, porteurs respectivement des protons H<sub>8a</sub>, H<sub>9</sub> et H<sub>8b</sub> (numérotation correspondant au composé **DL19**).

Un groupement méthylène tel que H<sub>9</sub> du produit **11** dans des séries pyroglutamiques analogues se présente sous forme de deux doublets d'intensité 1. La valeur de déplacement chimique de H<sub>9axial</sub> est toujours plus petite que celle de H<sub>9équatorial</sub> (Daïch et Decroix, 1996). En outre, il est parfois possible de visualiser un couplage longue distance de 1.5 Hz à 2.5 Hz entre H<sub>9axial</sub> et H<sub>13</sub>, ce qui permet d'assigner une configuration trans indolizine (Daïch et Decroix, 1996).

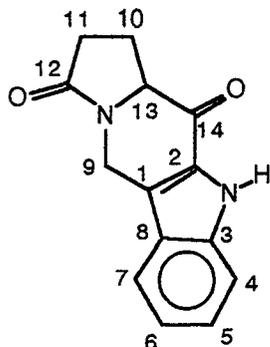
Le déplacement chimique de H<sub>13</sub> (H<sub>11</sub> pour le produit **DL19**) est défini par comparaison avec des molécules de séries analogues et apparaît sous forme d'un multiplet.

Dans le cas du composé DL 19, le proton H<sub>7</sub> est identifié grâce à l'intensité de son singulet. Il en est de même pour les protons H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub> et les protons des groupements méthoxy.

L'attribution des déplacements chimiques des carbones C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>13</sub> et C<sub>14</sub> du composé 11 s'effectue par analogie avec des séries pyroglutamiques analogues (El Ghamarti, 1995). Il en est de même pour les carbones C<sub>7</sub> à C<sub>11</sub>, C<sub>2'</sub>, C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>, C<sub>6'</sub> et les carbones des groupements méthoxy.

## 2 - Analyse RMN du composé 11

2.1 - analyse de la RMN  $^1\text{H}$  (déplacements chimiques exprimés en ppm)



	2,2-2,6 (m, 4H)	4,3-4,6 (m, 1H)	4,43 (d,1H)	5,35 (d,1H)	7,1 (t,1H)	7,3 (t, 1H)	7,5 (d, 1H)	7,7 (d, 1H)	11,06 (s, 1H)
H <sub>4</sub>							○	○	
H <sub>5</sub>					○	○			
H <sub>6</sub>					○	○			
H <sub>7</sub>							○	○	
H <sub>9</sub>			*	*					
H <sub>10</sub>	*								
H <sub>11</sub>	*								
H <sub>13</sub>		*							
NH									*

\* : déplacement chimique attribué sans ambiguïté

○ : déplacement chimique attribué avec ambiguïté

A ce stade, les protons H<sub>9</sub>, H<sub>10</sub>, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub> et NH sont connus.

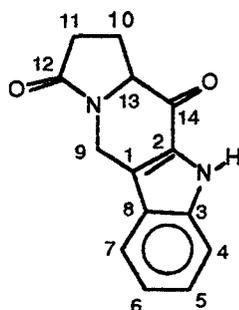
2.2 - analyse de la RMN  $^{13}\text{C}$  (déplacements chimiques exprimés en ppm)

	20,4	29,9	36,8	60,0	113,3	120,5	121,1	123,4	124,4	127,0	129,2	138,9	173,7	187,6
C <sub>1</sub>														
C <sub>2</sub>														
C <sub>3</sub>														
C <sub>4</sub>														
C <sub>5</sub>														
C <sub>6</sub>														
C <sub>7</sub>														
C <sub>8</sub>														
C <sub>9</sub>			*											
C <sub>10</sub>	*													
C <sub>11</sub>		*												
C <sub>12</sub>													*	
C <sub>13</sub>				*										
C <sub>14</sub>														*

\* : déplacement chimique attribué sans ambiguïté

A ce stade, les carbones C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>13</sub> et C<sub>14</sub> sont connus.

2.3 - analyse du spectre DEPT (différenciation des carbones suivant leur état : primaire, secondaire, tertiaire, quaternaire)

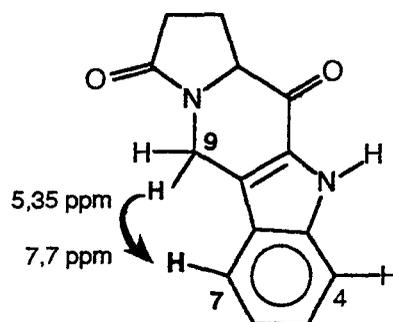


	20,4	29,9	36,8	60,0	113,3	120,5	121,1	123,4	124,4	127,0	129,2	138,9	173,7	187,6
CH <sub>3</sub>														
CH <sub>2</sub>	*	*	*											
CH				*	*	*	*			*				
C								*	*		*	*	*	*

- confirmation de l'absence de carbones primaires
- les carbones déjà connus apparaissent dans le DEPT dans l'état voulu

## 2.4 - analyse du spectre NOESY (corrélations dans l'espace entre 2 protons)

	7,7
C <sub>9</sub> (5,35)	*

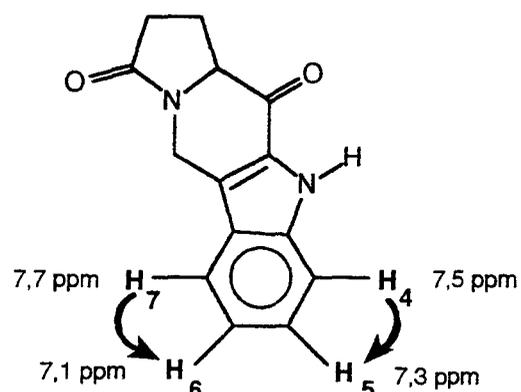


	7,5	7,7
H <sub>4</sub>	*	
H <sub>7</sub>		*

C<sub>9</sub> connu permet d'attribuer les déplacements chimiques des protons H<sub>4</sub> et H<sub>7</sub>

## 2.5 - analyse par double irradiation (irradiation d'un massif connu et observations des perturbations engendrées sur d'autres massifs)

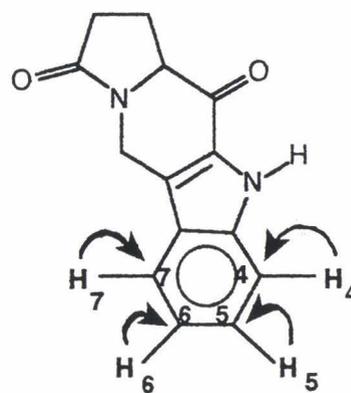
	7,1	7,3	7,5	7,7
H <sub>4</sub>			*	
H <sub>5</sub>		*		
H <sub>6</sub>	*			
H <sub>7</sub>				*



L'irradiation de H<sub>4</sub> et H<sub>7</sub> connus permet d'attribuer H<sub>5</sub> et H<sub>6</sub>

2.6 - analyse du spectre HETCOR classique (corrélations proton-carbone à une liaison de distance)

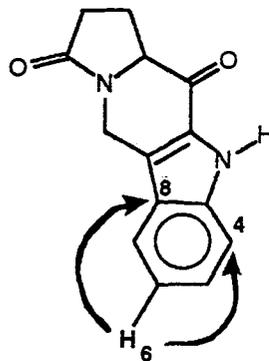
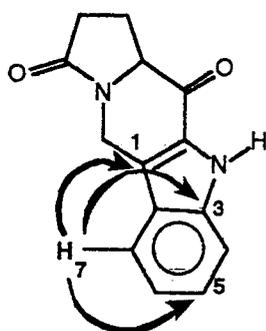
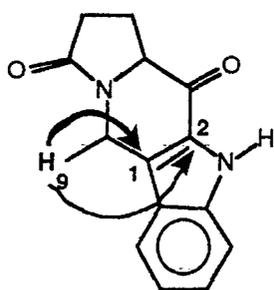
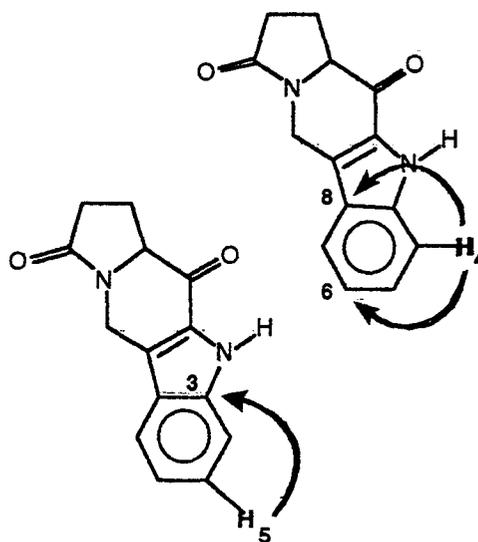
	113,3	120,5	121,1	127,0
H <sub>4</sub> (7,5)	C <sub>4</sub>			
H <sub>5</sub> (7,3)				C <sub>5</sub>
H <sub>6</sub> (7,1)		C <sub>6</sub>		
H <sub>7</sub> (7,7)			C <sub>7</sub>	



Les protons H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub> et H<sub>7</sub> connus permettent d'attribuer les déplacements chimiques des carbones C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub> et C<sub>7</sub>.

2.7 - analyse du spectre HETCOR 7 Hz (corrélations proton-carbone à 3 liaisons de distance ou éventuellement 2 liaisons de distance)

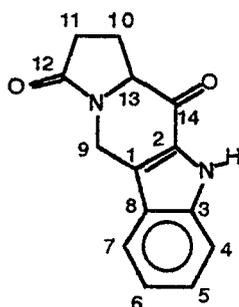
	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>8</sub>
H <sub>4</sub>						*	*
H <sub>5</sub>			*				
H <sub>6</sub>				*			*
H <sub>7</sub>	*		*		*		
H <sub>9</sub>	*	*					



	123,4	124,4	129,2	138,9
C <sub>1</sub>		*		
C <sub>2</sub>			*	
C <sub>3</sub>				*
C <sub>8</sub>	*			

Les protons H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>7</sub> et H<sub>9</sub> connus permettent d'attribuer les déplacements chimiques des carbones C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> et C<sub>8</sub>.

2.8 - récapitulatif de l'attribution des protons et carbones du composé 11 (déplacements chimiques exprimés en ppm)



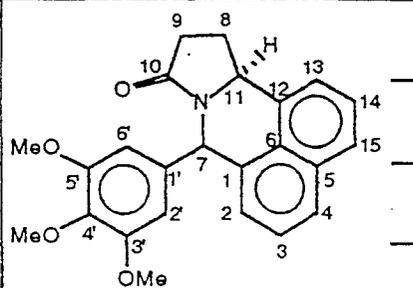
$\delta$	2,2-2,6 (m, 4H)	4,3-4,6 (m, 1H)	4,43 (d, 1H)	5,35 (d, 1H)	7,1 (t, 1H)	7,3 (t, 1H)	7,5 (d, 1H)	7,7 (d, 1H)	11,06 (s, 1H)
H <sub>x</sub>	H <sub>10,11</sub>	H <sub>13</sub>	H <sub>9</sub>	H <sub>9</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>5</sub>	H <sub>4</sub>	H <sub>7</sub>	NH

$\delta$	20,4	29,9	36,8	60,0	113,3	120,5	121,1	123,4	124,4	127,0	129,2	138,9	173,7	187,6
C <sub>x</sub>	C <sub>10</sub>	C <sub>11</sub>	C <sub>9</sub>	C <sub>13</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>12</sub>	C <sub>14</sub>

## 3 - Analyse RMN du composé DL19

3.1 - analyse de la RMN  $^1\text{H}$  (déplacements chimiques exprimés en ppm)

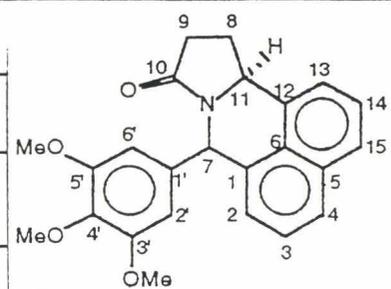
	2,08 - 2,31 (m, 1H)	2,48 - 2,69 (m, 2H)	2,70 - 2,93 (m, 1H)	3,65 (s, 6H)	3,79 (s, 3H)	4,98 (t, 1H)	6,30 (s, 2H)	6,66 (s, 1H)	7,33 (d, 1H)	7,38 (d, 1H)	7,52 (t, 1H)	7,54 (t, 1H)	7,85 (d, 2H)
H <sub>2</sub>									○	○			○
H <sub>3</sub>											○	○	
H <sub>4</sub>									○	○			○
H <sub>7</sub>								*					
H <sub>8</sub>	*		*										
H <sub>9</sub>		*											
H <sub>11</sub>						*							
H <sub>13</sub>									○	○			○
H <sub>14</sub>											○	○	
H <sub>15</sub>									○	○			○
H <sub>2'</sub>							*						
H <sub>6'</sub>							*						
3'-OMe				*									
4'-OMe					*								
5'-OMe				*									



A ce stade, les protons H<sub>7</sub>, H<sub>8</sub>, H<sub>9</sub>, H<sub>11</sub>, H<sub>2'</sub>, H<sub>6'</sub>, 3'-OMe, 4'-OMe et 5'-OMe sont connus

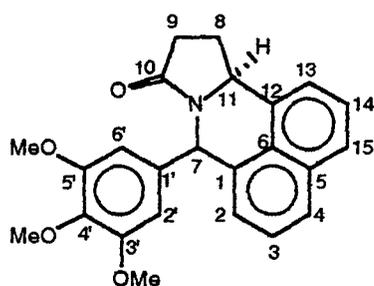
3.2 - analyse de la RMN  $^{13}\text{C}$  (déplacements chimiques exprimés en ppm)

	20,4	31,5	53,6	54,8	56,2	60,8	105,6	121,3	125,5	125,9	126,0	127,4	127,7	131,7	133,4	135,8	137,0	137,6	153,4	173,2	
C <sub>1</sub>																					
C <sub>2</sub>																					
C <sub>3</sub>																					
C <sub>4</sub>												o	o								
C <sub>5</sub>																					
C <sub>6</sub>																					
C <sub>7</sub>				*																	
C <sub>8</sub>	*																				
C <sub>9</sub>		*																			
C <sub>10</sub>																					*
C <sub>11</sub>			*																		
C <sub>12</sub>																					
C <sub>13</sub>																					
C <sub>14</sub>																					
C <sub>15</sub>												o	o								
C <sub>1'</sub>																					
C <sub>2'</sub>							*														
C <sub>3'</sub>																					*
C <sub>4'</sub>																					
C <sub>5'</sub>																					*
C <sub>6'</sub>							*														
3'-OMe				*																	
4'-OMe						*															
5'-OMe				*																	



A ce stade, les carbones C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>, C<sub>2'</sub>, C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>, C<sub>6'</sub>, 3'-OMe, 4'-OMe et 5'-OMe sont connus

3.3 - analyse du spectre DEPT (différenciation des carbones suivant leur état : primaire, secondaire, tertiaire ou quaternaire)



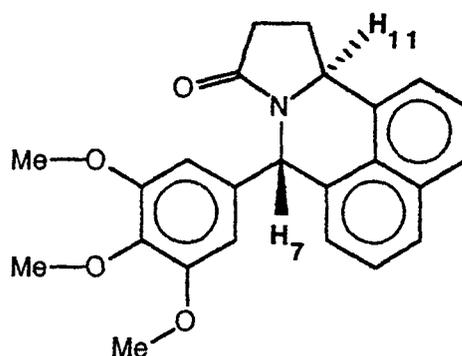
	20,4	31,5	53,6	54,8	56,2	60,8	105,6	121,3	125,5	125,9	126,0	127,4	127,7	131,7	133,4	135,8	137,0	137,6	153,4	173,2	
CH <sub>3</sub>					*	*															
CH <sub>2</sub>	*	*																			
CH			*	*			*	*	*	*	*	*	*								
C														*	*	*	*	*	*	*	*

- les carbones connus apparaissent dans le DEPT dans l'état voulu

3.4 - analyse du spectre NOESY (corrélations dans l'espace entre 2 protons)

L'analyse du NOESY montre l'absence de corrélation entre les protons H<sub>7</sub> et H<sub>11</sub>.

Il est ainsi possible de déduire la stéréochimie du carbone en position 7.



## 3.5 - analyse du spectre COSY (corrélations proton-proton)

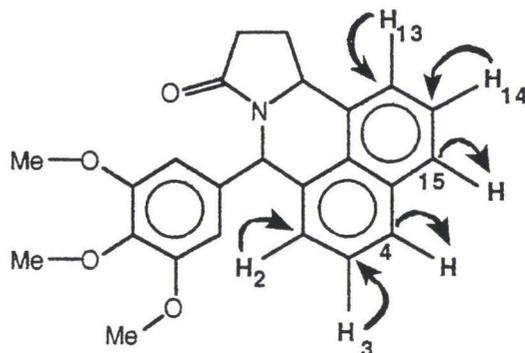
	7,52 (t, 1H)	7,54 (t, 1H)
7,85 (d, 2H)	*	*

	H <sub>aa</sub>	H <sub>bb</sub>
H <sub>11</sub>	*	*

Le spectre COSY ne nous permet pas d'attribuer de nouveaux protons, mais il nous apprend que les 2 protons se présentant comme doublet à 7,85 ppm sont couplés avec 2 protons se présentant sous forme de triplet à 7,52 et 7,54 ppm.

3.6 - analyse du spectre HETCOR classique (corrélations proton-carbone à une liaison de distance)

	121,3	125,5	125,9	126,0	127,4 (C <sub>4</sub> ou C <sub>15</sub> )	127,7 (C <sub>4</sub> ou C <sub>15</sub> )
H <sub>2</sub> (d)	*					
H <sub>3</sub> (t)				*		
H <sub>4</sub> (d) (7,85)					*	*
H <sub>13</sub> (d)		*				
H <sub>14</sub> (t)			*			
H <sub>15</sub> (d) (7,85)					*	*



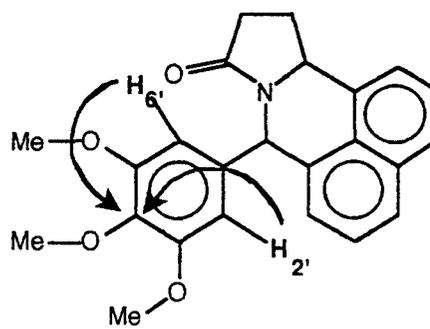
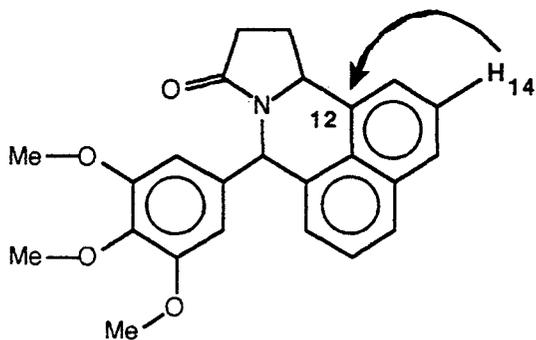
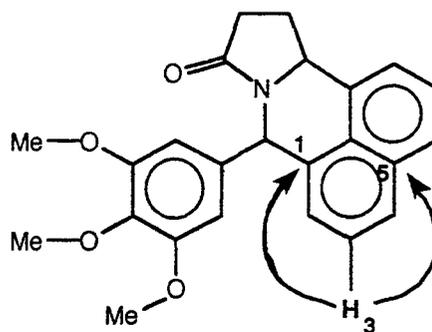
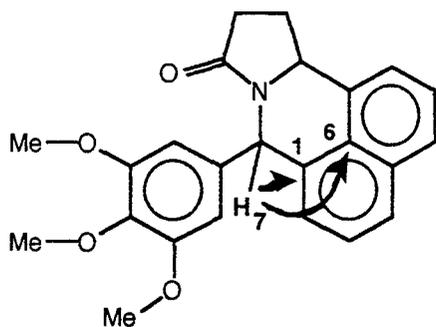
	121,3	125,5	125,9	126,0	127,4	127,7
C <sub>2</sub>	○	○				
C <sub>3</sub>			○	○		
C <sub>4</sub>					○	○
C <sub>13</sub>	○	○				
C <sub>14</sub>			○	○		
C <sub>15</sub>					○	○

	7,33 (d, 1H)	7,38 (d, 1H)	7,52 (t, 1H)	7,54 (t, 1H)	7,85 (d, 2H)
H <sub>2</sub>	○	○			
H <sub>3</sub>			○	○	
H <sub>4</sub>					○
H <sub>13</sub>	○	○			
H <sub>14</sub>			○	○	
H <sub>15</sub>					○

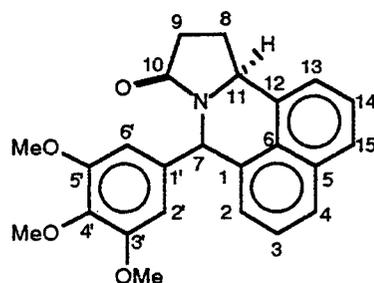
3.7 - analyse du spectre HETCOR 7 Hz (corrélations proton-carbone à 3 liaisons de distance ou éventuellement 2 liaisons de distance)

	C <sub>1</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>12</sub>	C <sub>1'</sub>	C <sub>4'</sub>
H <sub>3</sub>	*	*				
H <sub>7</sub>	*		*		*	
H <sub>14</sub>				*		
H <sub>2'</sub>						*
H <sub>6'</sub>						*

	131,7	133,4	135,8	137,0	137,6
C <sub>1</sub>	*				
C <sub>5</sub>		o	o		
C <sub>6</sub>				*	
C <sub>12</sub>		o	o		
C <sub>1'</sub>				*	
C <sub>4'</sub>					*



3.8 - récapitulatif de l'attribution des protons et carbones du composé DL 19 (déplacements chimiques exprimés en ppm)



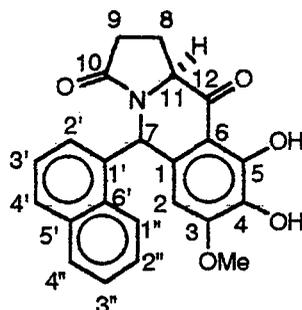
$\delta$	2,08 - 2,31 (m, 1H)	2,48 - 2,69 (m, 2H)	2,70 - 2,93 (m, 1H)	3,65 (s, 6H)	3,79 (s, 3H)	4,98 (t, 1H)	6,30 (s, 2H)	6,66 (s, 1H)	7,33 (d, 1H)	7,38 (d, 1H)	7,52 (t, 1H)	7,54 (t, 1H)	7,85 (d, 2H)
$H_x$	$H_b$	$H_g$	$H_h$	3'-OMe 5'-OMe	4'-OMe	$H_{11}$	$H_{2,6'}$	$H_7$	$H_2$ ou $H_{13}$	$H_2$ ou $H_{13}$	$H_3$ ou $H_{14}$	$H_3$ ou $H_{14}$	$H_{4,15}$

$\delta$	20,4	31,5	53,6	54,8	56,2	60,8	105,6	121,3	125,5	125,9	126,0	127,4	127,7	131,7	133,4	135,8	137,0	137,6	153,4	173,2
$C_x$	$C_8$	$C_9$	$C_{11}$	$C_7$	3'-OMe 5'-OMe	4'-OMe	$C_{2,6'}$	$C_2$ ou $C_{13}$	$C_2$ ou $C_{13}$	$C_3$ ou $C_4$	$C_3$ ou $C_{14}$	$C_4$ ou $C_{15}$	$C_4$ ou $C_{15}$	$C_1$	$C_5$ ou $C_{12}$	$C_5$ ou $C_{12}$	$C_{8,1'}$	$C_4'$	$C_{3',5'}$	$C_{10}$

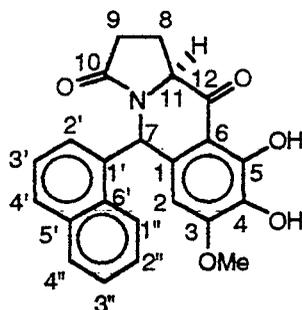
L'analyse RMN du produit DL19 n'a pas permis d'attribuer totalement les carbones de la molécule. Il demeure un certains nombre d'ambigüités qui pourraient être levées par des techniques du type INADQT (corrélations carbone-carbone).

#### 4 - Analyse RMN du composé DL25

L'analyse de RMN effectuée sur le composé DL25 est succincte. Elle comporte des analyses de spectres COSY et NOESY. Cette étude a été menée pour attribuer la position du second groupement phénolique de la molécule présentée ci-dessous (position 3 ou 4). L'attribution complète des protons de la molécule se trouve en partie expérimentale page 266.



##### 4.1 - analyse du spectre COSY (corrélations proton-proton)



	6,86 (d,1H)	7,40 (t,1H)	7,60 (t,2H)
7,40 (t,1H)	*		
7,85 (d,1H)		*	
7,93 (d,1H)			*
8,60 (d,1H)			*

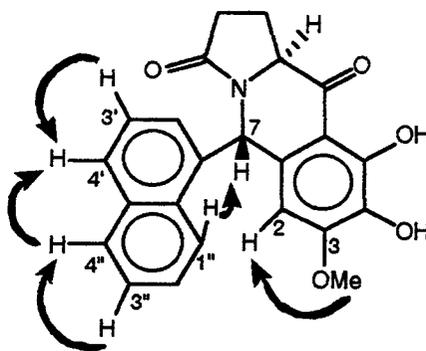
Les protons H<sub>3'</sub>, H<sub>2''</sub> et H<sub>3''</sub> se présentent sous forme de triplets, H<sub>2'</sub>, H<sub>4'</sub>, H<sub>1''</sub> et H<sub>4''</sub> sous forme de doublets. Les protons H<sub>2</sub> et H<sub>7</sub>, singulets, ont des déplacements chimiques connus, respectivement 6,77 et 7,12 ppm.

Les corrélations proton-proton obtenues montrent en particulier que le triplet situé à 7,40 ppm, se situant à proximité de deux doublets, ne peut correspondre qu'au proton H<sub>3'</sub>. Les deux doublets voisins situés à 6,86 et 7,85 ppm représentent donc les protons H<sub>2'</sub> et H<sub>4'</sub>. Ainsi, les deux doublets restant (7,93 et 8,60 ppm) peuvent être associés aux protons H<sub>1''</sub> et H<sub>4''</sub> et les deux triplets restant (7,60 ppm) aux protons H<sub>2''</sub> et H<sub>3''</sub>.

En résumé, les protons naphthalénique de la molécule sont attribués "deux par deux" : il reste des ambiguïtés à lever.

#### 4.2 - analyse du spectre NOESY (corrélations dans l'espace entre deux protons)

L'analyse du spectre NOESY a pour but principal d'attribuer la position du second groupement phénolique de DL25.



Le triplet correspondant aux protons H<sub>2''</sub> et H<sub>3''</sub> est corrélé avec le doublet à 7,93 ppm. On peut donc en déduire que ce doublet est associé au proton H<sub>4''</sub>. Ainsi, H<sub>1''</sub> a pour déplacement chimique 8,60 ppm. H<sub>4''</sub> déterminé à l'instant est corrélé avec le proton situé à 7,85 ppm (doublet). On peut donc en déduire que le proton H<sub>4'</sub> est associé à ce doublet. Ainsi, H<sub>2'</sub> a pour déplacement chimique 6,86 ppm. On peut également remarquer des corrélations entre H<sub>7</sub> et H<sub>1''</sub>, ainsi qu'entre H<sub>3'</sub> et H<sub>4'</sub>.

Enfin, le singulet correspondant au groupement méthoxy situé à 3,79 ppm est corrélé avec le singulet représentatif de H<sub>2</sub>. On en déduit que le groupement méthoxy se situe en position 3 et non en position 4.

## **CONCLUSION**

L'objectif de notre travail était de concevoir et synthétiser des analogues de l'étoposide et de l'azatoxine, afin :

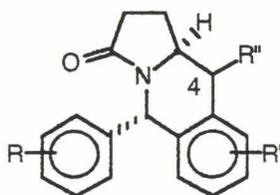
- d'évaluer leur pouvoir inhibiteur de topoisomérase II et leur caractère cytotoxique,
- d'affiner les relations structure-activité existantes.

La conception de nos molécules s'est appuyée sur les pharmacomodulations suivantes,



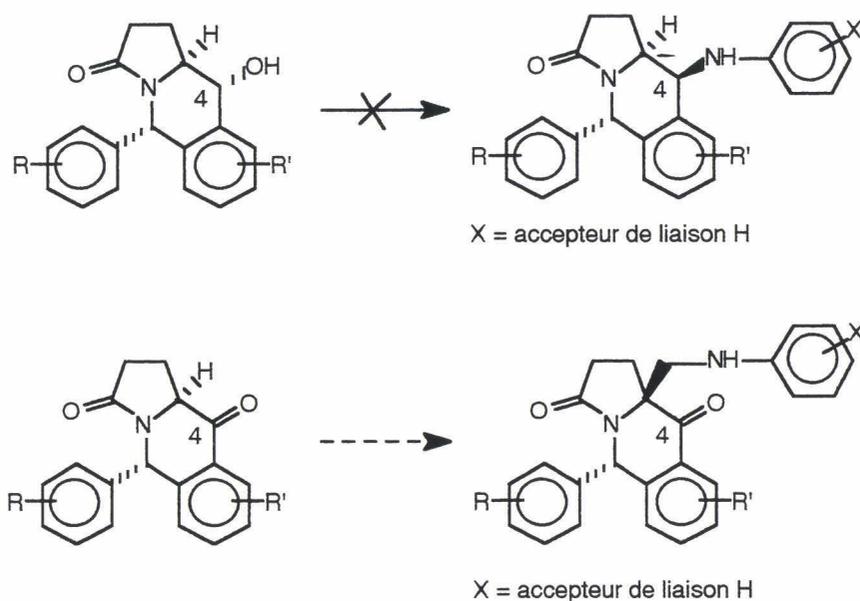
ce qui nous a permis de créer deux familles originales d'inhibiteurs potentiels de la topoisomérase II.

La première famille (fig.130) est synthétisée suivant un schéma de synthèse généralisable à tout type de substituants R et R', et peut s'effectuer des benzhydrols **2** aux cétones **5** en "one pot".



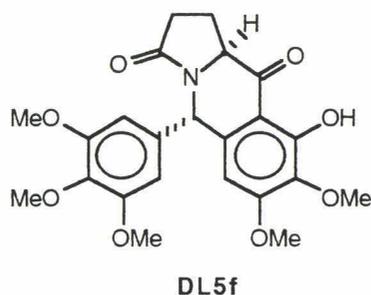
**figure 130** : Structure chimique générale de la première famille

Le branchement d'une chaîne aminée en position 4 à partir des alcools **6** s'est avéré difficile à mettre en oeuvre (fig.131 p.173). Néanmoins, un branchement de ce même type de chaîne en position proche devrait être réalisable et conduire à des composés possédant des groupements donneur et attracteur de liaison hydrogène judicieusement placés (fig.131 p.173).



**figure 131** : Branchements de chaîne aminée

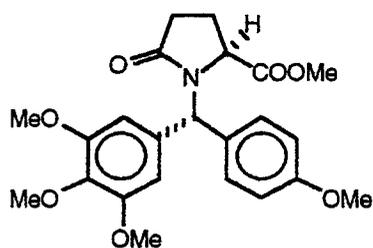
Le composé **DL5f**, par l'intermédiaire de sa fonction phénolique (fig.132), pourra être couplé avec d'autres molécules antitumorales telles qu'intercalants, alkylants ou ligands du petit sillon, afin d'exercer une action bimodale sur l'ADN, et, dans le cas précis d'un ligand du petit sillon, d'ajouter une spécificité de liaison aux bases nucléiques.



**figure 132** : Structure chimique du composé **DL5f**

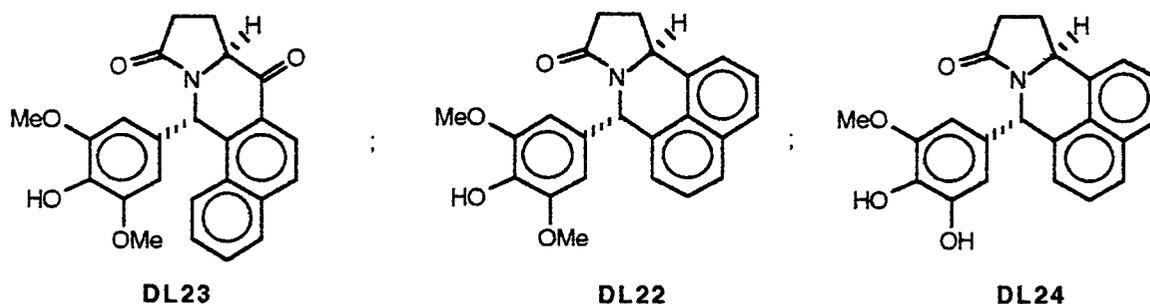
Les molécules de cette première famille ont été soumises au National Cancer Institute (excepté **DL5f** et ses précurseurs). Le composé présenté figure 45 page 174 s'est avéré être un poison du fuseau

présentant une activité du même ordre de grandeur que celle des meilleurs inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline.



**figure 45** : Structure chimique du composé **DL3b**

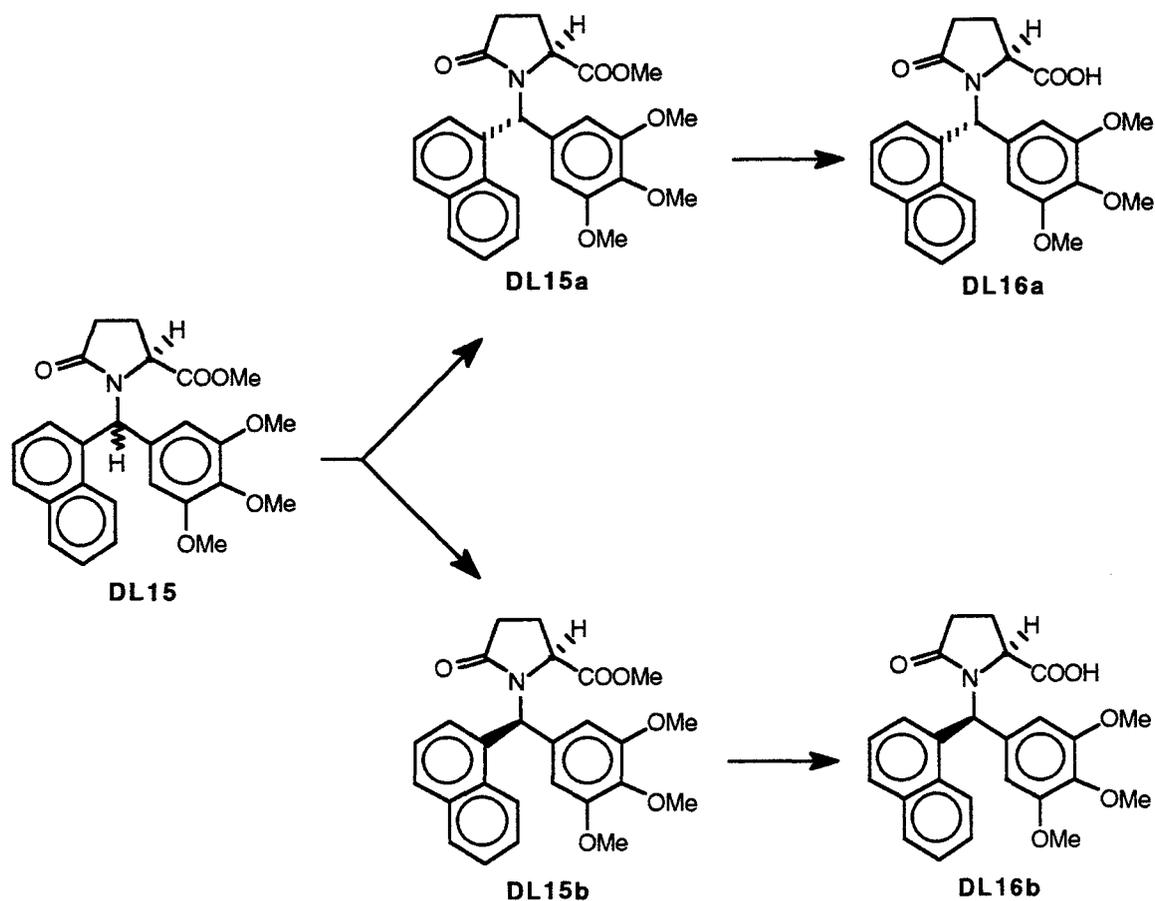
La deuxième famille (famille "naphtalénique") a donné lieu à plusieurs structures intéressantes dans le cadre d'une inhibition possible de topoisomérase II (fig.133).



**figure 133** : Structures chimiques des composés **DL22**, **DL23** et **DL24**

Par ailleurs, la séparation des diastéréoisomères esters et acides (fig.115 p.175) a permis d'affiner les hypothèses mécanistiques imaginées précédemment au laboratoire sur la cyclisation de type Friedel-Crafts intramoléculaire.

175



**figure 115** : Structures chimiques des diastéréoisomères esters et acides naphthaléniques

Ces composés naphthaléniques feront l'objet de tests d'inhibition de topoisomérase II et de cytotoxicité. Leurs formules ont été soumises au National Cancer Institute, ainsi qu'au TAACF (Tuberculosis Antimicrobial Acquisition Coordinating Facility) dans le cadre des infections opportunistes liées à la pathologie du SIDA.

***PARTIE EXPERIMENTALE***

## Remarques générales

### Chromatographie sur colonne

Les chromatographies sur colonne sont réalisées avec le gel de silice 60 (230-400 mesh), référence 9385.5000 Merck.

### Chromatographie sur couche mince

La pureté de la plupart des produits a été vérifiée par chromatographie sur couche mince dans les conditions suivantes :

- support : gel de silice 60 (0,2mm-indicateur de fluorescence), référence : Macherey-Nagel (SIL-20 UV254)
- révélation : UV (254 et 366 nm)
- systèmes de solvant utilisés (SS) :
  - SS1 : acétate d'éthyle/heptane (2/3)
  - SS2 : acétate d'éthyle/heptane (1/1)
  - SS3 : acétate d'éthyle pur

### Points de fusion

Les points de fusion sont déterminés à l'aide d'un appareil Electrothermal. Ils ne sont pas corrigés et sont exprimés en °C.

### Microanalyses

Les microanalyses ont été réalisées par le service Central d'Analyses de CNRS (Vernaison)

### Spectroscopie infra-rouge (IR)

Les spectres infra-rouge sont réalisés sur un spectrographe "Perkin Elmer 1600", en dispersion dans KBr. Les fréquences d'absorption sont exprimées en nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ ).

### Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

Les HPLC sont réalisées sur un appareil KONTRON à barette de diode (colonne : C<sub>8</sub> lichrosphère, granulométrie du support 5 $\mu\text{m}$ , diamètre 4.6mm, longueur 25cm)

Les solutions utilisées sont de deux types :

- solution A : 80% d'eau, 15% de méthanol et 5% de pic Bg (acide octanesulfonique = solution tampon)
- solution B : 85% de méthanol, 10% d'eau et 5% de pic Bg.

Le débit est d'1ml/min, la durée d'élution est de 30 minutes.

### Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de RMN  $^1\text{H}$  sont enregistrés sur un appareil "Brücker AC300" à 300 MHz ou "Gémini 2000" (Varian) à 200 MHz, avec le tétraméthylsilane (TMS) pour référence interne. Chaque signal est repéré par son déplacement chimique (exprimé en ppm), sa morphologie (s : singulet; d : doublet; m : massif) et son intensité.

Les spectres de RMN  $^{13}\text{C}$  sont enregistrés sur un appareil "Brücker AC300" à 300 MHz ou "Gémini 2000" (Varian) à 200 MHz, avec le tétraméthylsilane (TMS) pour référence interne.

Les spectres de RMN 2D, de DEPT et d'irradiation double sont enregistrés sur un appareil "Gémini 2000" (Varian) à 200 MHz.

### Pouvoirs rotatoires ( $\alpha$ )

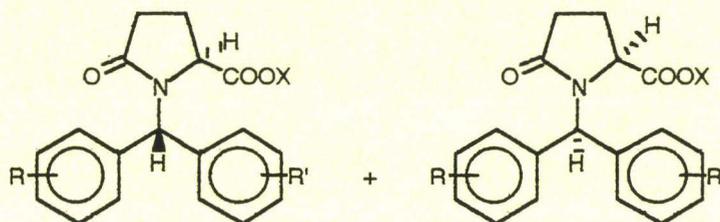
Les pouvoirs rotatoires sont déterminés à l'aide d'un polarimètre POLAX-L équipé d'une source lumineuse (diode lumineuse (LED) + filtre interférentiel 589nm). La gamme de mesure d'angle s'étale de  $-179,5^\circ$  à  $+180^\circ$  avec une résolution de  $0,05^\circ$ . Les mesures sont effectuées à  $20^\circ\text{C}$ .

### Abréviations utilisées

$\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$  : trifluorure de bore dans l'éther ; DMSO : diméthylsulfoxyde ; Ar : aromatique ; Rdt : rendement ; Anal. : analyse élémentaire ; E : point d'ébullition ; F : point de fusion.

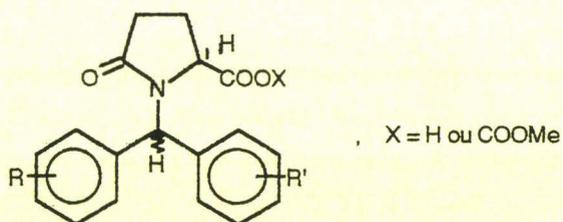
## PRECISIONS CONCERNANT LA PARTIE EXPERIMENTALE

Les réactions donnant lieu à la formation des esters **3** et des acides **4** fournissent, à partir du L-pyroglutamate de méthyle N-silylé, deux diastéréoisomères :



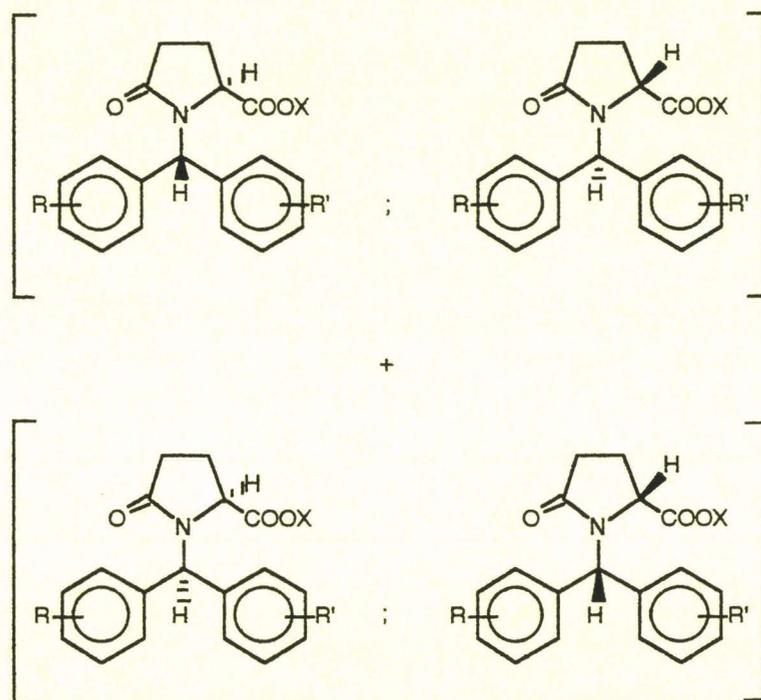
X = H ou COOMe

Par souci de simplification, ces deux diastéréoisomères seront notés sous la forme suivante :

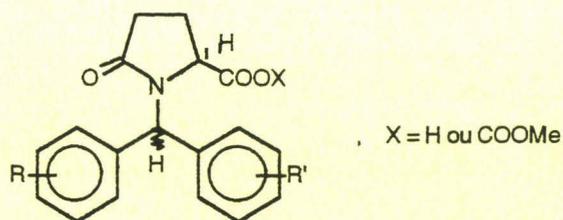


La dénomination L ne sera pas précisée pour ces produits (exemple : ester formé à partir du benzhydrol **2 b** et du L-pyroglutamate de méthyle N-silylé sera appelé **3 b**)

Les réactions donnant lieu à la formation des esters **3** et des acides **4** fournissent, à partir du DL-pyroglytamate de méthyle N-silylé, deux diastéréoisomères racémiques :



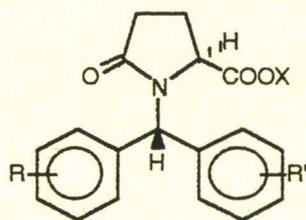
Par souci de simplification, ces deux diastéréoisomères seront notés sous la forme suivante :



La dénomination DL sera précisée pour ces produits (exemple : ester formé à partir du benzhydrol **2 b** et du DL-pyroglytamate de méthyle N-silylé sera appelé **DL3 b**)

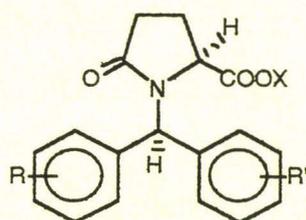
Les RMN correspondantes seront attribuées par les conventions suivantes :

- ester A (ou acide A) pour **3** (ou **4**) :



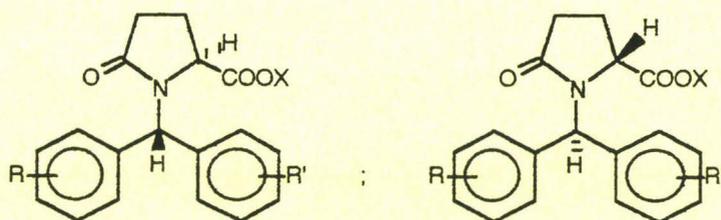
X = H ou COOMe

- ester B (ou acide B) pour **3** (ou **4**) :



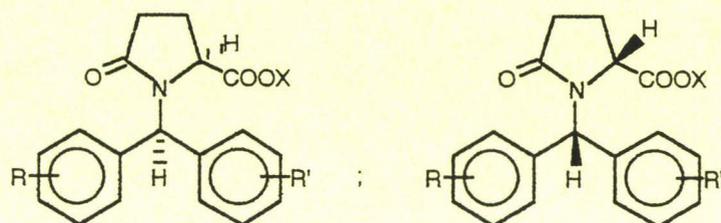
X = H ou COOMe

- ester A (ou acide A) pour **DL 3** (ou **DL 4**) :



X = H ou COOMe

- ester B (ou acide B) pour **DL 3** (ou **DL 4**) :

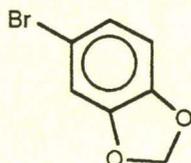


X = H ou COOMe

Les numérotations des protons et des carbones des différentes molécules figurant sur les dessins de celles-ci et utilisées dans les caractérisations par RMN ne correspondent pas à la numérotation de la nomenclature mais sont choisies de manière à conserver une homogénéité entre les composés.

**Les caractéristiques données sans précision A ou B (pour les esters et acides) sont représentatives du mélange d'esters (ou d'acides) A et B après recristallisation dans le solvant indiqué.**

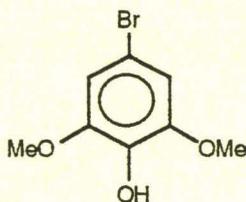
Dans la série "naphtalénique", la stéréochimie des composés **DL15** à **DL18**, **DL20**, et **DL22** à **DL27** en position 7 est une convention. En effet, celle-ci n'a pas été vérifiée par des études de rayons X. Néanmoins, cette convention rend compte du fait qu'il n'existe dans ces cas qu'un diastéréoisomère.

**\* 5-bromo-1,3-benzodioxole (1a)**

On ajoute goutte à goutte 93,4 ml ( 290 g; 1,815 mol ) de brome dissous dans 320 ml d'acide acétique à 200 g ( 1,638 mol ) de 1,3-benzodioxole en solution dans 200 ml d'acide acétique . Dès la fin de l'addition, 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 la solution. L'huile obtenue est purifiée par distillation sous pression réduite. On obtient ainsi 275 g ( 1,368 mol ) du produit désiré (Feugeas, 1964).

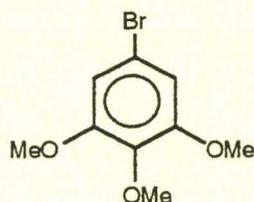
Rdt : 83,5%  
E : 60°C ( sous 0,18 mm Hg )

## \* 4-bromo-2,6-diméthoxyphénol (1b)



On refroidit à  $-40^{\circ}\text{C}$  sous agitation 77g (500 mmol) de 2,6-diméthoxyphénol, 30 gouttes de méthylate de sodium à 40% dans le méthanol et 7,5 ml de méthanol anhydre dans 500 ml de chlorure de méthylène. On ajoute alors 94,4g de N-bromosuccinimide (530 mmol) et on laisse agiter pendant 3 heures. On filtre la succinimide formée et on neutralise la solution par 30 gouttes d'HCl concentré. On ajoute du chlorure de méthylène et on lave à l'eau. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de sodium et concentrée. On obtient une huile qui est extraite plusieurs fois avec de l'heptane bouillant : l'insoluble est un mélange de produits polybromés, la phase heptane contenant le produit désiré cristallise à froid dans ce solvant. On recristallise la poudre obtenue dans l'heptane. (Jung et coll., 1985).

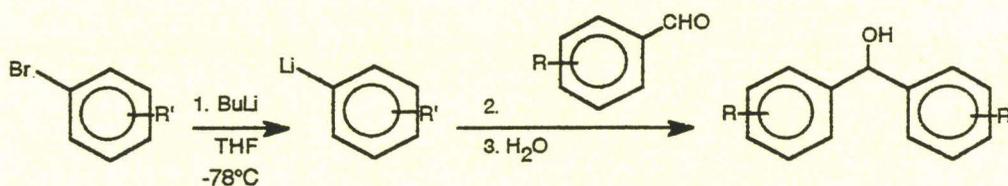
Rdt	:	62%
F (heptane)	:	90-94°C
Rf (SS1)	:	0,60
RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	:	3,86 (s, 6H); 5,5-5,8 (s, large, OH); 6,74 (s, 2H)

**\* 5-bromo-1,2,3-triméthoxybenzène (1c)**

On refroidit à 10°C 69,2g (297 mmol) du composé **1 b** et 29,1g (721 mmol) de soude dans 785 ml d'eau. On ajoute alors 42,1 ml (446 mmol) de sulfate de diméthyle. On porte à reflux pendant 3 heures, on ajoute de nouveau 42,1 ml de sulfate de diméthyle et on replace le tout à reflux pendant 3 heures. On laisse ensuite refroidir la solution pendant une nuit : le produit se solidifie. On filtre celui-ci et on le dissout dans 1l d'éther. On filtre quelques impuretés non solubilisées, lave avec une solution de soude à 5%, puis avec de l'eau, et enfin avec de l'eau saturée en chlorure de sodium. La phase organique est séchée et concentrée. On obtient un solide rosâtre qui est recristallisé dans l'heptane et donne des cristaux blancs (Jung et coll., 1985).

Rdt	:	72%
Rf (SS1)	:	0,76
F (heptane)	:	75-77°C
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	3,84 (s, 9H); 6,75 (s, 2H)

## PREMIERE PROCEDURE GENERALE DE SYNTHESE DES BENZHYDROLS (2a-e)

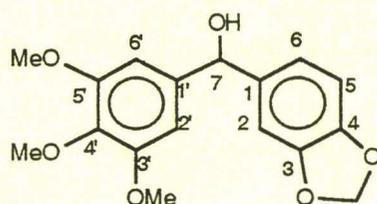


On dissout 343 mmol de dérivé bromé dans 1 l de tétrahydrofurane anhydre. Le mélange est refroidi à -78°C. On additionne alors 343 mmol de n-butyl-lithium.

La solution est agitée pendant 1 heure à -78°C et on ajoute alors 343 mmol d'aldéhyde dissous dans 200 ml de tétrahydrofurane.

A la fin de l'addition, on laisse la solution revenir à température ambiante et on ajoute 10 ml d'eau. On évapore ensuite le tétrahydrofurane. On additionne à nouveau 10 ml d'eau. On dissout le résidu dans le chlorure de méthylène puis on lave la phase organique à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. On sèche la phase organique sur sulfate de sodium et on évapore le solvant. Le précipité obtenu est recristallisé dans l'acétate d'éthyle. On obtient ainsi le benzhydrol désiré sous forme de cristaux blancs.

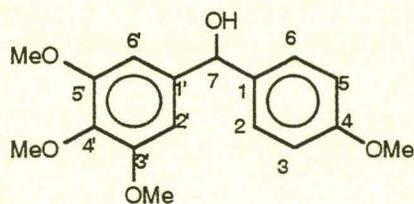
## \* 3,4-méthylènedioxy-3',4',5'-triméthoxy benzhydrol (2a)



Mode opératoire général utilisé avec 69g (343 mmol) de 1 a, 185.5ml (343 mmol) de BuLi à 1,85 N et 67,3g (343 mmol) de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde.

Rdt	:	72%
F (AcOEt)	:	111-112°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3330 (large), 3320 (O-H, large), 1590,1485,1465,1435 (C=C), 1125 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,90 (s, échangeable par D <sub>2</sub> O, 1H, OH); 3,80 (s, 9H, OMe); 5,61 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 5,90 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O); 6,56 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,72-6,82 (m, 3H, H <sub>2</sub> , H <sub>5</sub> et H <sub>6</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	56,1 (3'-OMe et 5'-OMe); 60,9 (4'-OMe); 76,0 (C <sub>7</sub> ); 101,2 (3,4-OCH <sub>2</sub> O); 103,4 (C <sub>2'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 107,3 (C <sub>2</sub> ); 108,2 (C <sub>5</sub> ); 120,1 (C <sub>6</sub> ); 137,2 (C <sub>1'</sub> ); 138,1 (C <sub>1</sub> ); 139,8 (C <sub>4'</sub> ); 147,2 (C <sub>4</sub> ); 147,9 (C <sub>3</sub> ); 153,4 (C <sub>3'</sub> et C <sub>5'</sub> )
Anal. (C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub> : 318,33)	Calculé	: C, 64.14; H, 5.70; O, 30.16
	Trouvé	: C, 63.95; H, 5.68; O, 30.12

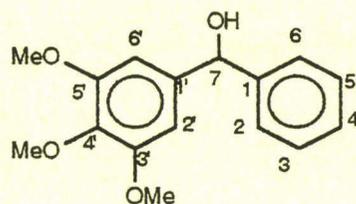
## \* 3,4,5,4'-tétraméthoxybenzhydrol (2b)



Mode opératoire général utilisé avec 6g (32 mmol) de 4-bromoanisole, 20ml (32 mmol) de BuLi à 1,6 N et 6,3g (32 mmol) de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde.

Rdt	:	82%
F (AcOEt)	:	102-103°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3490 (OH), 1590, 1510, 1435 (C=C), 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,89 (s, échangeable par D <sub>2</sub> O, 1H, OH); 3,73 (s, 3H, 4-OMe); 3,76 (s, 6H); 3,77 (s, 3H, 4'-OMe); 5,62 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,54 (s, 2H, H <sub>2</sub> ' et H <sub>6</sub> '); 6,82 (d, J=8.7 Hz, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,24 (d, J=8.7 Hz, 2H, H <sub>3</sub> et H <sub>5</sub> );
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	55,3 (4-OMe); 56,1 (3'-OMe, 5'-OMe); 60,9 (4'-OMe); 75,9 (C <sub>7</sub> ); 103,4 (C <sub>2</sub> ' et C <sub>6</sub> '); 114,0 (C <sub>3</sub> et C <sub>5</sub> ); 128,0 (C <sub>1</sub> ); 136,1 (C <sub>2</sub> et C <sub>6</sub> ); 137,2 (C <sub>1</sub> '); 139,9 (C <sub>4</sub> '); 153,3 (C <sub>3</sub> ' et C <sub>5</sub> '); 159,2 (C <sub>4</sub> )
Anal. (C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> : 304,35)	Calculé	: C, 67.09; H, 6.62; O, 26.28
	Trouvé	: C, 66.91; H, 6.59; O, 26.48

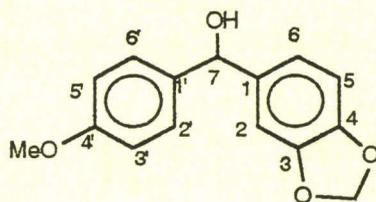
## \* 3,4,5-triméthoxybenzhydrol (2c)



Mode opératoire général utilisé avec 50g (318 mmol) de bromobenzène, 200 ml (318 mmol) de BuLi à 1,6 N et 62,5g (318 mmol) de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde.

Rdt	:	85%
F (AcOEt)	:	113-114°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3485 (OH), 1595, 1505, 1460, 1450 (C=C), 1125 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	3,25 (s, échangeable par D <sub>2</sub> O, 1H, OH); 3,74 (s, 6H, 3'-OMe et 5-OMe); 3,77 (s, 3H, 4'-OMe); 5,63 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,54 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 7,19-7,34 (m, 5H, H <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>4</sub> , H <sub>5</sub> et H <sub>6</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	56,0 (3'-OMe et 5'-OMe); 60,8 (4'-OMe); 76,2 (C <sub>7</sub> ); 103,6 (C <sub>2'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 126,6 (C <sub>2</sub> et C <sub>6</sub> ); 127,7 (C <sub>4</sub> ); 128,6 (C <sub>3</sub> et C <sub>5</sub> ); 137,1 (C <sub>1'</sub> ); 139,9 (C <sub>4'</sub> ); 143,9 (C <sub>1</sub> ); 153,3 (C <sub>3'</sub> et C <sub>5'</sub> )
Anal. (C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> : 274,32)	Calculé	: C, 70.06; H, 6.61; O, 23.33
	Trouvé	: C, 70.14; H, 6.75; O, 23.17

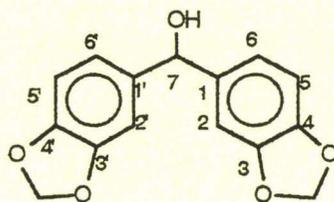
## \* 4-méthoxy -3',4'-méthylènedioxy benzhydrol (2d)



Mode opératoire général utilisé avec 62,3g (333 mmol) de 4-bromoanisole, 180 ml (333 mmol) de BuLi à 1,85 N et 50g (333 mmol) de pipéronal. **2 d** n'a pu être cristallisé.

Rdt	:	96%
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3490 (OH), 1590, 1500, 1440 (C=C), 1125 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,3 (s, échangeable par D <sub>2</sub> O, 1H, OH); 3,69 (s, 3H, 4'-OMe); 5,58 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 5,79 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O); 6,71-6,75 (m, 3H, H <sub>2</sub> , H <sub>5</sub> et H <sub>6</sub> ); 6,79 (d, J=8.7 Hz, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 7,21 (d, J=8,7 Hz, 2H, H <sub>3'</sub> et H <sub>5'</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	55,2 (4'-OMe); 75,5 (C <sub>7</sub> ); 101,0 (3,4-OCH <sub>2</sub> O); 107,2 (C <sub>2</sub> ); 108,1 (C <sub>5</sub> ); 113,9 (C <sub>3'</sub> et C <sub>5'</sub> ); 119,9 (C <sub>6</sub> ); 127,8 (C <sub>1'</sub> ); 128,4 (C <sub>2'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 134,6 (C <sub>1</sub> ); 146,9 (C <sub>4</sub> ); 147,9 (C <sub>3</sub> ); 159,1 (C <sub>4'</sub> )
Anal. (C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> : 258,28)	Calculé	: C, 69.76; H, 5.46; O, 24.78
	Trouvé	: C, 69.50; H, 5.70; O, 24.80

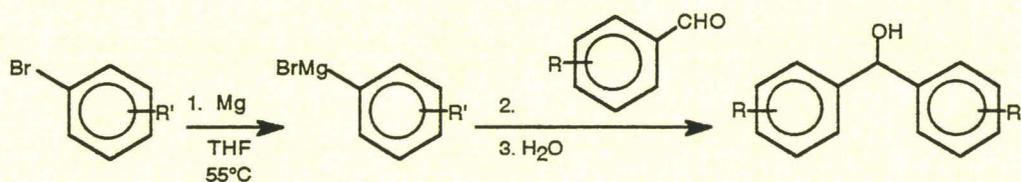
## \* Bis-(3,4-méthylènedioxyphényl)carbinol (2e)



Mode opératoire général utilisé avec 67g (333 mmol) de **1 a**, 166.5 ml (333 mmol) de BuLi à 2N et 50g (333 mmol) de pipéronal.

Rdt	:	93,5%
F (AcOEt)	:	90-91°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3310, 3225 (O-H large), 1500, 1485, 1440 (C=C), 1035 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,50 (s, échangeable par D <sub>2</sub> O, 1H, OH); 5,58 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 5,87 (s, 4H, OCH <sub>2</sub> O); 6,69-6,81 (m, 6H, H <sub>2</sub> , H <sub>5</sub> , H <sub>6</sub> , H <sub>2'</sub> , H <sub>5'</sub> et H <sub>6'</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	75,7 (C <sub>7</sub> ); 101,1 (3,4-OCH <sub>2</sub> O et 3',4'-OCH <sub>2</sub> O); 107,1 (C <sub>2</sub> et C <sub>2'</sub> ); 108,1 (C <sub>5</sub> et C <sub>5'</sub> ); 119,9 (C <sub>6</sub> et C <sub>6'</sub> ); 138,2 (C <sub>1</sub> et C <sub>1'</sub> ); 147,0 (C <sub>4</sub> et C <sub>4'</sub> ); 147,9 (C <sub>3</sub> et C <sub>3'</sub> )
Anal. (C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> : 272,26) :	Calculé	: C, 66.17; H, 4.44; O, 29.38
	Trouvé	: C, 66.07; H, 4.48; O, 29.41

## DEUXIEME PROCEDURE GENERALE DE SYNTHESE DES BENZHYDROLS (2)



Dans un tricol de 500 ml, on introduit 6,5 g de magnésium ( 267 mmol ) recouvert de 140 ml de tétrahydrofurane anhydre. L'attaque du métal est amorcée par quelques gouttes de dibromoéthane. On ajoute ensuite goutte à goutte 249 mmol de dérivé bromé dissous dans 50 ml de tétrahydrofurane en préservant la température du milieu inférieure à 55°C. On chauffe ensuite à 55°C pendant 2 heures.

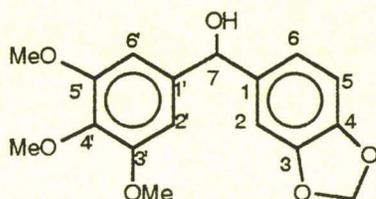
A l'organomagnésien formé, on ajoute goutte à goutte 249 mmol d'aldéhyde dissous dans 150 ml de tétrahydrofurane et on chauffe à 60°C pendant 1 heure.

On concentre puis hydrolyse la solution avec 300 ml d'eau contenant 70 g de chlorure d'ammonium. On extrait au dichlorométhane. On lave la phase organique à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. On sèche sur sulfate de sodium, filtre sur célite et évapore les solvants. Le précipité obtenu est recristallisé dans l'acétate d'éthyle. On obtient finalement le benzhydrol désiré sous forme de cristaux blancs.

**\* 3,4-méthylènedioxy -3',4',5'-triméthoxybenzhydrol (2a)**

Les propriétés physiques de ce produit sont identiques à celles décrites précédemment.

Mode opératoire général utilisé avec 50g (249 mmol) de **1 a**, 6.5g (267 mmol) de magnésium et 48,8g (249 mmol) de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde.



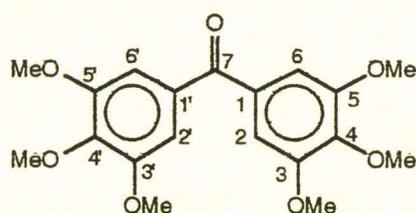
Rdt : 71%

## CAS PARTICULIER DE LA SYNTHÈSE DU BENZHYDROL 2f

Lors de la réaction d'organomagnésien (1<sup>er</sup> procédé de synthèse des benzhydrols 2), c'est le composé 2'f, forme oxydée du composé 2f, qui est obtenu.

Lors de la réaction d'organolithien (2<sup>ème</sup> procédé de synthèse des benzhydrols 2), un mélange des composés 2f et 2'f en quantités équimolaires est obtenu.

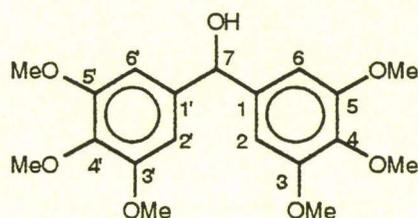
### \* 3,4,5,3',4',5'-hexaméthoxybenzophénone (2'f)



Mode opératoire général utilisé avec 48g (194 mmol) de 1c, 5.1g (209 mmol) de magnésium et 38,1g (194 mmol) de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde. Le produit est isolé de manière classique selon le mode opératoire général de synthèse des benzhydrols.

Rdt	:	25%
F (AcOEt)	:	138-142°C
Rf (SS2)	:	0,27
Rf (SS3)	:	0,86
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1640 (C=O), 1580, 1500, 1460 (C=C), 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	3,9 (s, 12H, 3-OMe, 5-OMe, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,95 (s, 6H, 4-OMe et 4'-OMe); 7,1 (s, 4H, H <sub>2</sub> , H <sub>6</sub> , H <sub>2</sub> ' et H <sub>6</sub> ')
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	56,4 (3-OMe, 5-OMe, 3'-OMe et 5'-OMe); 61,0 (4-OMe et 4'-OMe); 107,7 (C <sub>2</sub> , C <sub>6</sub> , C <sub>2</sub> ' et C <sub>6</sub> '); 132,8 (C <sub>1</sub> et C <sub>1</sub> '); 142,0 (C <sub>4</sub> et C <sub>4</sub> '); 153,0 (C <sub>3</sub> , C <sub>5</sub> , C <sub>3</sub> ' et C <sub>5</sub> '); 194,9 (C <sub>7</sub> )
Anal. (C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub> : 362,37)	Calculé	: C, 62.98; H, 6.12; O, 30.91
	Trouvé	: C, 62.60; H, 6.11; O, 30.68

## \* 3,4,5,3',4',5'-hexaméthoxybenzhydrol (2f)

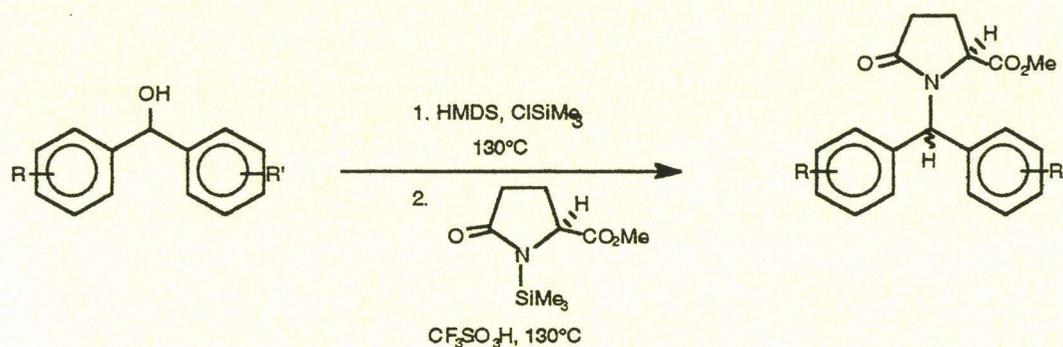


On dissout 16,8g de cétone **2f** (46,36 mmol) dans 300 ml d'éthanol. On ajoute lentement 3,5g de borohydrure de sodium (92,72 mmol). Après 2 heures de chauffage à reflux du solvant, on ajoute 50 ml d'acide acétique glacial et on évapore le solvant. Le résidu est ensuite dissous dans du chlorure de méthylène, lavé à l'eau, puis à l'eau saturée en bicarbonate de sodium. On sèche enfin la phase organique sur sulfate de sodium et évapore les solvants.

On obtient une poudre blanche recristallisable dans l'acétate d'éthyle.

Rdt	:	75%
F(AcOEt)	:	98°C
Rf (SS3)	:	0,70
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3450 (OH), 1600, 1510, 1470 (C=C), 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,3 (s large, 1H, échangeable par D <sub>2</sub> O, OH); 3,85 (s, 18H, OMe); 5,71 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,60 (s, 4H, H <sub>2</sub> , H <sub>6</sub> , H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	56,2 (3-OMe, 5-OMe, 3'-OMe et 5'-OMe); 60,9 (4-OMe et 4'-OMe); 76,5 (C <sub>7</sub> ); 103,7 (C <sub>2</sub> , C <sub>6</sub> , C <sub>2'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 137,5 (C <sub>1</sub> , C <sub>1'</sub> ou C <sub>4</sub> , C <sub>4'</sub> ); 139,3 (C <sub>1</sub> , C <sub>1'</sub> ou C <sub>4</sub> , C <sub>4'</sub> ); 153,4 (C <sub>3</sub> , C <sub>5</sub> , C <sub>3'</sub> et C <sub>5'</sub> )
Anal. (C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>7</sub> : 364,39)	Calculé	: C, 62.63; H, 6.64; O, 30.73
	Trouvé	: C, 62.68; H, 6.68; O, 30.64

PROCEDURE GENERALE DE SYNTHESE DES ESTERS (3b, 3c, 3d, DL3a, DL3b, DL3c, DL3d, DL3e et DL3f)



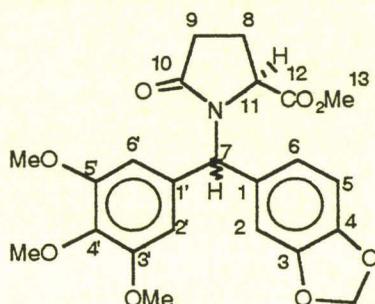
Dans un bicol de 250 ml muni d'un réfrigérant et d'un bouchon à jupe rabattable, on met, sous azote, 126 mmol du benzhydrol considéré et 50 ml d'hexaméthylidisilazane (237 mmol). Après avoir ajouté quelques gouttes de chlorotriméthylsilane, on porte le tout 130°C. On observe un dégagement d'ammoniac et la formation d'un dépôt de chlorure d'ammonium à la base du réfrigérant.

Lorsque le départ de gaz est terminé (environ 45 minutes), on distille l'excès d'hexaméthylidisilazane sous le vide d'une trompe à eau (le chlorure d'ammonium formé sublime). Le milieu réactionnel est alors remis sous pression atmosphérique et sous azote.

On introduit à la seringue 32,4 g (150,5 mmol) de L-pyroglytamate de méthyle N-silylé puis 0,05 ml d'acide triflique. On porte à 130°C.

Dès la fin de la distillation de l'hexaméthylidisiloxane (15 minutes environ), on ajoute 50 ml de chlorure de méthylène et 100 ml d'eau (si l'hexaméthylidisiloxane ne se forme pas en 15 minutes, il est nécessaire de rajouter de l'acide triflique). On sépare la phase organique qui est lavée à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. On sèche la phase organique sur sulfate de sodium et on évapore le solvant. On obtient une huile qui est cristallisée et recristallisée dans l'acétate d'éthyle.

\* **N-(3,4-méthylènedioxy-3',4',5'-triméthoxybenzhydryl)pyroglutamate de méthyle (DL3a)**



Mode opératoire général utilisé avec 40g (126 mmol) de **2 a**, 50 ml (237 mmol) d'hexaméthylidisilazane et 32,4g (150 mmol) de DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé.

On obtient, sous forme d'huile, un mélange équimolaire d'esters A et B. Après cristallisation de ce mélange dans l'acétate d'éthyle et recristallisation dans le même solvant, on obtient un faible rendement en l'un des deux diastéréoisomères (ester A).

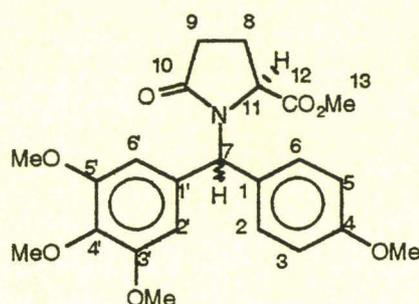
Rdt	:	96%
F (AcOEt)	:	182-184°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1740 (C=O ester), 1680 (C=O lactame), 1590, 1505, 1490, 1460 (C=C), 1120 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	<b>ester A</b> : 2,04-2,12 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,32-2,52 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,68-2,77 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,40 (s, 3H, H <sub>13</sub> ); 3,80 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,84 (s, 3H, 4'-OMe); 4,23 (d, J=8.7Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 5,95 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O); 6,35 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,36 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,70-6,76 (m, H <sub>2</sub> , H <sub>5</sub> et H <sub>6</sub> ) <b>ester B</b> : 2,00-2,07 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,32-2,51 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,70-2,77 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,32 (s, 3H, H <sub>13</sub> ); 3,80 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,84 (s, 3H, 4'-OMe); 4,23 (d, J=8.7 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 5,96 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O); 6,37 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,45 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,70-6,76 (m, 3H, H <sub>2</sub> , H <sub>5</sub> et H <sub>6</sub> )

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : **ester A** : 24,6 ( $\text{C}_8$ ); 29,8 ( $\text{C}_9$ ); 52,0 ( $\text{C}_{13}$ ); 56,2 (3'-OMe et 5'-OMe);  
58,6 ( $\text{C}_{11}$ ); 59,4 ( $\text{C}_7$ ); 60,9 (4'-OMe); 101,3 (3,4-OCH<sub>2</sub>O); 104,7 ( $\text{C}_2'$   
et  $\text{C}_6'$ ); 108,1 ( $\text{C}_2$ ); 110,6 ( $\text{C}_5$ ); 124,0 ( $\text{C}_6$ ); 131,8 ( $\text{C}_1$ ); 134,7 ( $\text{C}_1'$ );  
147,5 et 147,8 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_4$  et  $\text{C}_4'$ ); 153,5 ( $\text{C}_3'$  et  $\text{C}_5'$ ); 172,6 ( $\text{C}_{10}$ ); 175,6  
( $\text{C}_{12}$ )

Anal. ( $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{NO}_8$  : 443,46) : Calculé : C, 62.30; H, 5.68; N, 3.16; O, 28.86

Trouvé : C, 62.16; H, 5.57; N, 3.10; O, 29.20

\* N-( 3,4,5,4'-tétraméthoxy benzhydryl )pyroglutamate de méthyle (3b et DL3b)



Mode opératoire général utilisé avec 15g (49 mmol) de **2 b**, 20 ml (95 mmol) d'hexaméthylidisilazane et 12,5g (58 mmol) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé.

On obtient, sous forme d'huile, un mélange équimolaire d'esters A et B. Après cristallisation de ce mélange dans l'acétate d'éthyle et recristallisation dans le même solvant, on obtient un faible rendement en l'un des deux diastéréoisomères (ester B).

Rdt	:	95%
F (AcOEt)	:	125-130°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1745 (C=O ester), 1690 (C=O lactame), 1590, 1510, (C=C), 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	<b>ester A</b> : 2,00-2,07 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,35-2,52 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,70-2,75 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,31 (s, 3H, H <sub>13</sub> ); 3,79 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,82 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 3,83 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 4,21 (d, J=8.5 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,45 (s, 3H, H <sub>7</sub> , H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,88 (d, J=8.6 Hz, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,05 (d, J=8.6 Hz, 2H, H <sub>3</sub> et H <sub>5</sub> ) <b>ester B</b> : 2,04-2,11 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,35-2,53 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,69-2,75 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,31 (s, 3H, H <sub>13</sub> ); 3,79 (s, 9H, OMe); 3,83 (s, 3H, OMe); 4,25 (d, J=8.4 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,36 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,42 (s, H <sub>7</sub> , 1H); 6,83 (d, J=8.5 Hz, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,15 (d, J=8.5 Hz, 2H, H <sub>3</sub> et H <sub>5</sub> )
Anal. (C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>7</sub> : 429,47)	: Calculé :	C, 64.32; H, 6.34; N, 3.26; O, 26.08
	: Trouvé :	C, 63.92; H, 6.35; N, 3.35; O, 26.29

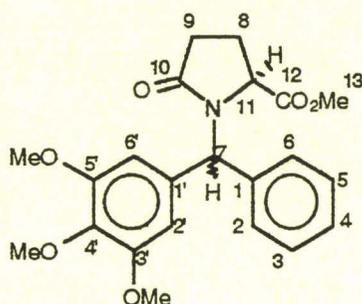
- composé DL3b :

Mode opératoire général utilisé avec 15g (49 mmol) de **2 b**, 20 ml (95 mmol) d'hexaméthylidisilazane et 12,5g (58 mmol) de DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé.

On obtient, sous forme d'huile, un mélange équimolaire d'esters A et B. Après cristallisation de ce mélange dans l'acétate d'éthyle et recristallisation dans le même solvant, on obtient un faible rendement en l'un des deux diastéréoisomères (ester A).

Rdt	:	94%
F (AcOEt)	:	135-138°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1735 (C=O ester), 1685 (C=O lactame), 1590, 1510, 1405(C=C), 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	<b>ester A</b> : 2,00-2,16 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,33-2,58 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,60-2,80 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,31 (s, 3H, H <sub>13</sub> ); 3,79 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,82 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 3,84 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 4,20 (d, J=7.9 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,45 (s, 3H, H <sub>7</sub> , H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,87 (d, J=8.8 Hz, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,05 (d, J=8.8 Hz, 2H, H <sub>3</sub> et H <sub>5</sub> ) <b>ester B</b> : 2,04-2,11 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,35-2,53 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,69-2,75 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,31 (s, 3H, H <sub>13</sub> ); 3,79 (s, 9H, OMe); 3,83 (s, 3H, OMe); 4,25 (d, J=8.0 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,36 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,42 (s, H <sub>7</sub> , 1H); 6,83 (d, J=8.7 Hz, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,15 (d, J=8.7 Hz, 2H, H <sub>3</sub> et H <sub>5</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	<b>ester A</b> : 24,6 (C <sub>8</sub> ); 29,7 (C <sub>9</sub> ); 51,9 (C <sub>13</sub> ); 55,4 (4-OMe); 56,1 (3'-OMe et 5'-OMe); 58,3 (C <sub>11</sub> ); 59,0 (C <sub>7</sub> ); 60,8 (4'-OMe); 107,3 (C <sub>2'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 114,1 (C <sub>3</sub> et C <sub>5</sub> ); 128,6 (C <sub>2</sub> et C <sub>6</sub> ); 130,5 (C <sub>1'</sub> ); 133,9 (C <sub>1</sub> ); 139,8 (C <sub>4'</sub> ); 153,1 (C <sub>3'</sub> et C <sub>5'</sub> ); 159,1 (C <sub>4</sub> ); 172,8 (C <sub>10</sub> ); 175,7 (C <sub>12</sub> )
Anal. (C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>7</sub> : 429,47)	: Calculé	: C, 64.32; H, 6.34; N, 3.26; O, 26.08
	: Trouvé	: C, 64.00; H, 6.36; N, 3.27; O, 26.21

## \* N-(3,4,5-triméthoxybenzhydryl)pyroglutamate de méthyle (3c et DL3c)



Mode opératoire général utilisé avec 6g (22 mmol) de **2 c**, 8 ml (38 mmol) d'hexaméthylidisilazane et 5g (23 mmol) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé. On obtient, sous forme d'huile, un mélange équimolaire d'esters A et B. Après cristallisation de ce mélange dans l'acétate d'éthyle et recristallisation dans le même solvant, on obtient majoritairement dans le mélange l'un des deux diastéréoisomères (46% d'ester A, 54% d'ester B).

Rdt	:	95%
F (AcOEt)	:	115-118°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1760, 1750, 1710 (C=O), 1690, 1590, 1505, 1460 (C=C), 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	<p><b>ester A</b> : 2,01-2,11 (m, 1H, H<sub>8a</sub>); 2,37-2,53 (m, 2H, H<sub>9</sub>); 2,67-2,74 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,26 (s, 3H, H<sub>13</sub>); 3,78 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,84 (s, 3H, 4'-OMe); 4,26 (d, J=8.0 Hz, 1H, H<sub>11</sub>); 6,37 (s, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 6,48 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 7,12 (d, J=7.5 Hz, 1H, H<sub>4</sub>); 7,22-7,38 (m, 4H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub> et H<sub>6</sub>)</p> <p><b>ester B</b> : 2,01-2,11 (m, 1H, H<sub>8a</sub>); 2,37-2,53 (m, 2H, H<sub>9</sub>); 2,67-2,74 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,31 (s, 3H, H<sub>13</sub>); 3,78 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,83 (s, 3H, 4'-OMe); 4,26 (d, J=8.0 Hz, 1H, H<sub>11</sub>); 6,45 (s, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 6,52 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 7,13 (d, J=7.5 Hz, 1H, H<sub>4</sub>); 7,23-7,35 (m, 4H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub> et H<sub>6</sub>)</p>
Anal. (C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>6</sub> : 399,45)	: Calculé :	C, 66.15; H, 6.31; N, 3.51; O, 24.03
	: Trouvé :	C, 66.04; H, 6.64; N, 3.59; O, 24.32

## - composé DL3c :

Mode opératoire général utilisé avec 6g (22 mmol) de **2 c**, 8 ml (38 mmol) d'hexaméthylidisilazane et 5g (23 mmol) de DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé. Le mélange des esters racémiques n'a pu dans ce cas être cristallisé.

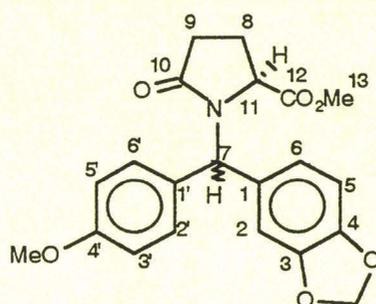
Rdt : 97%

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : **ester A** : 2,01-2,18 (m, 1H, H<sub>8a</sub>); 2,26-2,60 (m, 2H, H<sub>9</sub>); 2,67-2,82 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,26 (s, 3H, H<sub>13</sub>); 3,78 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,84 (s, 3H, 4'-OMe); 4,24 (d, J=7.6 Hz, 1H, H<sub>11</sub>); 6,37 (s, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 6,48 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 7,12 (d, J=7.3 Hz, 1H, H<sub>4</sub>); 7,22-7,38 (m, 4H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub> et H<sub>6</sub>)

**ester B** : 2,01-2,11 (m, 1H, H<sub>8a</sub>); 2,37-2,53 (m, 2H, H<sub>9</sub>); 2,67-2,74 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,31 (s, 3H, H<sub>13</sub>); 3,78 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,83 (s, 3H, 4'-OMe); 4,25 (d, J=7.6 Hz, 1H, H<sub>11</sub>); 6,43 (s, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 6,52 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 7,12 (d, J=7.3 Hz, 1H, H<sub>4</sub>); 7,23-7,35 (m, 4H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub> et H<sub>6</sub>)

Anal. ( $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{NO}_6$  : 399,45) : Calculé : C, 66.15; H, 6.31; N, 3.51; O, 24.03  
 Trouvé : C, 66.46; H, 6.40; N, 3.56; O, 24.32

\* N-(4-méthoxy-3',4'-méthylènedioxybenzhydryl)pyroglutamate de méthyle (3d et DL3d)



Mode opératoire général utilisé avec 20g (77 mmol) de **2 d**, 20 ml (95 mmol) d'hexaméthylidisilazane et 16,7g (78 mmol) de L-pyroglutamate de méthyle N-silylé.

On obtient, sous forme d'huile, un mélange équimolaire d'esters A et B. Après cristallisation de ce mélange dans l'acétate d'éthyle et recristallisation dans le même solvant, on obtient majoritairement dans le mélange l'un des deux diastéréoisomères (36% d'ester A, 64% d'ester B).

Rdt	:	94%
F (AcOEt)	:	126-130°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1750 (C=O ester), 1695 (C=O lactame), 1610, 1580, 1510, 1490, 1460, 1440 (C=C), 1250 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	<p><b>ester A</b> : 1,98-2,08 (m, 1H, H<sub>8a</sub>); 2,31-2,50 (m, 2H, H<sub>9</sub>); 2,62-2,77 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,28 (s, 3H, H<sub>13</sub>); 3,78 (s, 3H, 4'-OMe); 4,20 (d, J=8.3 Hz, 1H, H<sub>11</sub>); 5,93 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>O); 6,38 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 6,68-6,77 (m, 3H, H<sub>2</sub>, H<sub>5</sub> et H<sub>6</sub>); 6,81 (d, J=8.7 Hz, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 7,12 (d, J=8.7 Hz, 2H, H<sub>3'</sub> et H<sub>5'</sub>)</p> <p><b>ester B</b> : 1,98-2,08 (m, 1H, H<sub>8a</sub>); 2,31-2,50 (m, 2H, H<sub>9</sub>); 2,62-2,77 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,37 (s, 3H, H<sub>13</sub>); 3,79 (s, 3H, 4'-OMe); 4,20 (d, J=8.3 Hz, 1H, H<sub>11</sub>); 5,92 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>O); 6,38 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 6,68-6,77 (m, 3H, H<sub>2</sub>, H<sub>5</sub> et H<sub>6</sub>); 6,86 (d, J=8.7 Hz, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 7,03 (d, J=8.7 Hz, 2H, H<sub>3'</sub> et H<sub>5'</sub>)</p>

Anal. (C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>6</sub> : 393,40) : Calculé : C, 65.79; H, 5.52; N, 3.65; O, 25.04  
Trouvé : C, 65.38; H, 5.50; N, 3.64; O, 25.10

- composé DL3d :

Mode opératoire général utilisé avec 20g (77 mmol) de **2 d**, 20 ml (95 mmol) d'hexaméthylidisilazane et 16,7g (78 mmol) de DL-pyroglytamate de méthyle N-silylé.

On obtient, sous forme d'huile, un mélange équimolaire d'esters A et B. 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 B).

Rdt : 95%

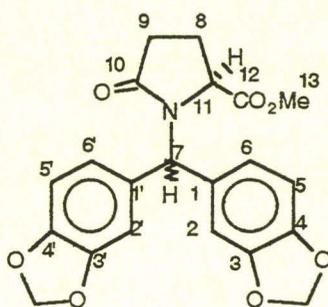
F (AcOEt) : 140-143°C

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1750 (C=O ester), 1695 (C=O lactame), 1610, 1580, 1510, 1490,  
1460, 1440 (C=C), 1250 (C-O)

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : identique à la RMN<sup>1</sup>H du composé **3 d**

Anal. (C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>6</sub> : 393,40) : Calculé : C, 65.79; H, 5.52; N, 3.65; O, 25.04  
Trouvé : C, 65.55; H, 5.51; N, 3.64; O, 25.19

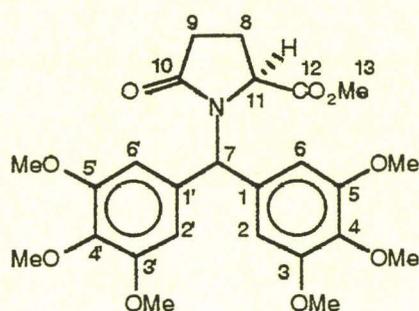
## \* N-((Bis-3,4-méthylènedioxy)benzhydryle)pyroglutamate de méthyle (DL3e)



Mode opératoire général utilisé avec 40g (147 mmol) de **2 e**, 40 ml (190 mmol) d'hexaméthylidisilazane et 34,9g (162 mmol) de DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé.

Rdt	:	97%
F (AcOEt)	:	143-147°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1750 (C=O ester), 1690 (C=O lactame), 1610, 1505, 1490, 1440 (C=C), 1230 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	1,99-2,08 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,35-2,50 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,62-2,75 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,38 (s, 3H, H <sub>13</sub> ); 4,20 (d, J=8.0 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 5,93 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O); 5,94 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O); 6,31 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,56-6,77 (m, 6H, H <sub>2</sub> , H <sub>5</sub> , H <sub>6</sub> , H <sub>2'</sub> , H <sub>5'</sub> et H <sub>6'</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	24,5 (C <sub>8</sub> ); 29,8 (C <sub>9</sub> ); 52,0 (C <sub>13</sub> ); 58,6 (C <sub>11</sub> ); 59,1 (C <sub>7</sub> ); 101,3 (3,4-OCH <sub>2</sub> O, 3',4'-OCH <sub>2</sub> O); 108,1 (C <sub>2</sub> et C <sub>2'</sub> ); 110,7 (C <sub>5</sub> et C <sub>5'</sub> ); 120,2 (C <sub>6</sub> et C <sub>6'</sub> ); 124,2 (C <sub>1</sub> et C <sub>1'</sub> ); 147,5 (C <sub>3</sub> et C <sub>3'</sub> ); 148,1 (C <sub>4</sub> et C <sub>4'</sub> ); 172,7 (C <sub>10</sub> ); 175,6 (C <sub>12</sub> )
Anal. (C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>7</sub> : 397,39)	: Calculé	: C, 63.47; H, 4.82; N, 3.52; O, 28.18
	: Trouvé	: C, 63.03; H, 4.85; N, 3.47; O, 28.52

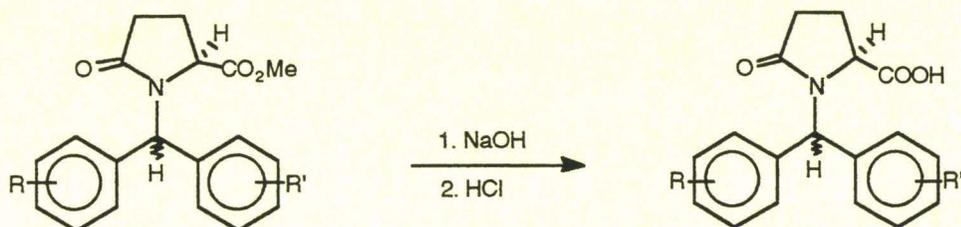
## \* N-[3,4,5,3',4',5'-hexaméthoxybenzhydryl]pyroglutamate de méthyle (DL 3f)



Mode opératoire général utilisé avec 6,5g (18 mmol) de **2 f**, 10 ml (47 mmol) d'hexaméthyldisilazane et 4,6g (21 mmol) de DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé.

Rdt	:	82%
F (AcOEt)	:	90-95°C
Rf (SS3)	:	0,48
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1735 (C=O ester), 1690 (C=O lactame), 1585, 1500, 1450 (C=C), 1125 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,00-2,88 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,33 (s, 3H, H <sub>13</sub> ); 3,80 (s, 12H, 3-OMe, 5-OMe, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,85 (s, 6H, 4-OMe et 4'-OMe); 4,22 (d, J=8.0 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,36 (s, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>2'</sub> ); 6,44 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,47 (s, 2H, H <sub>6</sub> et H <sub>6'</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	24,8 (C <sub>8</sub> ); 29,7 (C <sub>9</sub> ); 52,0 (C <sub>13</sub> ); 56,3 (3-OMe, 5-OMe, 3'-OMe et 5'- OMe); 58,3 (C <sub>11</sub> ); 59,6 (C <sub>7</sub> ); 60,8 (4-OMe et 4'-OMe); 104,9 (C <sub>2</sub> , C <sub>2'</sub> , C <sub>6</sub> et C <sub>6'</sub> ); 133,7 (C <sub>4</sub> et C <sub>4'</sub> ); 137,6 (C <sub>1</sub> et C <sub>1'</sub> ); 153,3 (C <sub>3</sub> , C <sub>5</sub> , C <sub>3'</sub> et C <sub>5'</sub> ); 172,7 (C <sub>10</sub> ); 175,7 (C <sub>12</sub> )
Anal. (C <sub>25</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>9</sub> : 489,53) :	Calculé	: C, 61.34; H, 6.38; N, 2.86; O, 29.42
	Trouvé	: C, 61.42; H, 6.45; N, 2.98; O, 29.05

PROCEDURE GENERALE DE SYNTHESE DES ACIDES (4b, 4c, DL4a, DL4b, DL4d, DL4e et DL4f)



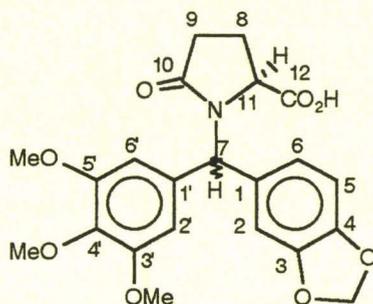
On chauffe 24 mmol d'ester recouvertes de 20 ml de solution aqueuse de soude 2N à 80°C pendant 4 heures. La phase aqueuse est ensuite lavée au chlorure de méthylène et chauffée pendant quelques minutes à 40°C sous vide pour évaporer les traces de chlorure de méthylène.

Une fois la solution revenue à température ambiante, on acidifie lentement celle-ci jusqu'à la précipitation complète de l'acide. Le précipité est ensuite filtré, lavé à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage, et séché. On obtient l'acide sous forme de poudre blanche.

Dans certains cas, la précipitation de l'acide ne s'effectue pas correctement, on obtient une pâte collante. On dissout celle-ci dans le chlorure de méthylène, on lave à l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium et évaporée. On obtient une huile.

## \* Acide N-(3,4-méthylènedioxy -3',4',5'-triméthoxybenzhydryl)pyroglutamique

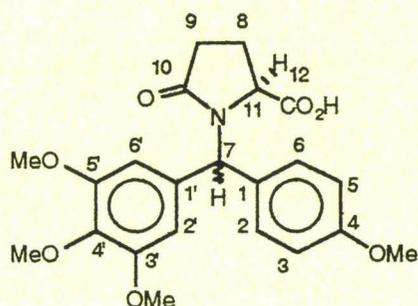
(DL4a)



Mode opératoire général utilisé avec 10,7g (24 mmol) d'un mélange équimolaire des esters A et B de **DL3a** et de 20 ml de soude 2N (30 mmol). On obtient un mélange équimolaire des acides A et B sous forme de poudre. Après recristallisation de ce mélange dans le méthanol, on obtient les deux diastéréoisomères en quantités équimolaires.

Rdt	:	81%
F (MeOH)	:	221-223°C
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> + DMSO)	:	2,05-2,15 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,31-2,48 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,63-2,72 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,65 (s, 3H); 3,70 (s, 4.5H); 3,73 (s, 1.5H); 4,18 (d, J=7.5 Hz, 0.5H); 4,25 (d, J=7.5 Hz, 0.5H); 5,99 (s, 1H, OCH <sub>2</sub> O); 6,00 (s, 1H, OCH <sub>2</sub> O); 6,42 (s, 3H, H <sub>7</sub> , H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,62-6,87 (m, 3H, H <sub>2</sub> , H <sub>5</sub> et H <sub>6</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> + DMSO)	:	24,8 (C <sub>8</sub> ); 29,9 (C <sub>9</sub> ); 56,0 (3'-OMe et 5'-OMe); 60,7 (4'-OMe); 58,4 (C <sub>11</sub> ); 59,2 (C <sub>7</sub> ); 101,1 (3,4-OCH <sub>2</sub> O); 104,6 (C <sub>2'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 108,0 (C <sub>2</sub> ); 110,6 (C <sub>5</sub> ); 123,9 (C <sub>6</sub> ); 132,0 (C <sub>1</sub> ); 135,3 (C <sub>1'</sub> ); 137,5 (C <sub>4'</sub> ); 147,3 (C <sub>4</sub> ); 147,6 (C <sub>3</sub> ); 153,2 (C <sub>3'</sub> et C <sub>5'</sub> ); 174,1 (C <sub>10</sub> ); 175,7 (C <sub>12</sub> )
Anal. (C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>8</sub> : 429,43)	: Calculé :	C, 61.53; H, 5.40; N, 3.26; O, 29.81
	: Trouvé :	C, 61.49; H, 5.29; N, 3.27; O, 29.70

## \* Acide N-(3,4,5,4'-tétraméthoxybenzhydryl)pyroglutamique (4b et DL4b)



Mode opératoire général utilisé avec 12,6g (29 mmol) d'un mélange équimolaire des esters A et B de **3 b** et 16 ml de soude 2N (32 mmol). On obtient un mélange équimolaire des acides A et B sous forme d'huile. Celle-ci n'a pu être cristallisée.

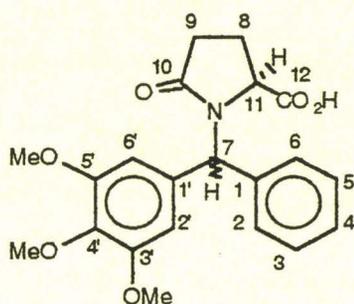
Rdt	:	92%
IR ( $\text{cm}^{-1}$ )	:	3000 (O-H), 1730 (C=O acide), 1690-1650 (C=O lactame), 1610, 1590, 1460 (C=C), 1125 (C-O)
$[\alpha]_D^{20}$	:	-37,33
RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	:	<p><b>acide A</b> : 2,11-2,19 (m, 1H, H<sub>8a</sub>); 2,33-2,49 (m, 2H, H<sub>9</sub>); 2,63-2,73 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,71 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,78 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 3,80 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 4,14 (d, J=8.3 Hz, 1H, H<sub>1</sub> 1); 6,39 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 6,44 (s, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 6,87 (d, J=8.7 Hz, 2H, H<sub>2</sub> et H<sub>6</sub>); 7,04 (d, J=8.7 Hz, 2H, H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub>); 7,9 (s, échangeable par D<sub>2</sub>O, 1H, CO<sub>2</sub>H)</p> <p><b>acide B</b> : 2,11-2,19 (m, 1H, H<sub>8a</sub>); 2,33-2,49 (m, 2H, H<sub>9</sub>); 2,63-2,73 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,71 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 3,78 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,83 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 4,18 (d, J=8.5 Hz, 1H, H<sub>1</sub> 1); 6,33 (s, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 6,37 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 6,71 (d, J=8.7 Hz, 2H, H<sub>2</sub> et H<sub>6</sub>); 7,15 (d, J=8.7 Hz, 2H, H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub>); 7,90 (s, échangeable par D<sub>2</sub>O, 1H, CO<sub>2</sub>H)</p>
Anal. (C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>7</sub> : 415,45)	Calculé	: C, 63.61; H, 6.07; N, 3.37; O, 26.96
	Trouvé	: C, 63.64; H, 6.30; N, 3.27; O, 26.74

## - composé DL4b :

Mode opératoire général utilisé avec 12,6g (29 mmol) d'un mélange équimolaire des esters A et B de **DL3b** et 16 ml de soude 2N (32 mmol). On obtient un mélange équimolaire des acides A et B sous forme d'huile. Celle-ci n'a pu être cristallisée.

Rdt	:	90%
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3540, 3050 (O-H), 1740 (C=O, acide), 1700-1640 (C=O, lactame), 1610, 1590, 1510, 1460 (C=C), 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	<b>acide A</b> : 2,10-2,25 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,30-2,30 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,63-2,80 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,71 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,78 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 3,80 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 4,14 (d, J=7.1 Hz, 1H, H <sub>1</sub> ); 6,39 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,44 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,87 (d, J=8.1 Hz, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,04 (d, J=8.1 Hz, 2H, H <sub>3</sub> et H <sub>5</sub> ); 7,90 (s, échangeable par D <sub>2</sub> O, 1H, CO <sub>2</sub> H) <b>acide B</b> : 2,11-2,19 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,33-2,49 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,63-2,73 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,72 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 3,77 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,83 (s, 3H, 4-OMe ou 4'-OMe); 4,18 (d, J=7.1 Hz, 1H, H <sub>1</sub> ); 6,33 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,37 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,75 (d, J=8.1 Hz, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,15 (d, J=8.1 Hz, 2H, H <sub>3</sub> et H <sub>5</sub> ); 7,90 (s, échangeable par D <sub>2</sub> O, 1H, CO <sub>2</sub> H)
Anal. (C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>7</sub> : 415,45)	: Calculé	: C, 63.61; H, 6.07; N, 3.37; O, 26.96
	: Trouvé	: C, 63.74; H, 6.20; N, 3.33; O, 26.73

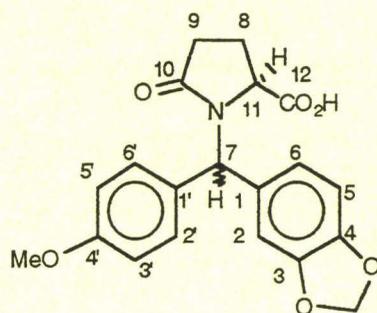
## \* Acide N-(3,4,5-triméthoxybenzhydryl)pyroglutamique (4c)



Mode opératoire général utilisé avec 8,3g (21 mmol) d'un mélange équimolaire des esters A et B de **3c** et 12,5 ml de soude 2N (25 mmol). On obtient un mélange équimolaire des acides A et B sous forme d'huile. Celle-ci n'a pu être cristallisée.

Rdt	:	79%
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3640, 3000 (O-H), 1740, 1700, 1650 (C=O), 1590, 1510, 1460 (C=C), 1125 (C-O)
[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup>	:	-46,95
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	<b>acide A</b> : 2,04-2,16 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,30-2,49 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,63-2,71 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,71 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,77 (s, 3H, 4'-OMe); 4,15 (d, J=8.3 Hz, 1H, H <sub>1</sub> ); 6,35 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,43 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 7,12 (d, J=7.4 Hz, 1H, H <sub>4</sub> ); 7,19-7,37 (m, 4H, H <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>5</sub> et H <sub>6</sub> ); 8,54 (s, échangeable par D <sub>2</sub> O, 1H, CO <sub>2</sub> H) <b>acide B</b> : 2,04-2,16 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,30-2,49 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,63-2,71 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,78 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,83 (s, 3H, 4'-OMe); 4,19 (d, J=8.3 Hz, 1H, H <sub>1</sub> ); 6,36 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,43 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,12 (d, J=7.4 Hz, 1H, H <sub>4</sub> ); 7,19-7,37 (m, 4H, H <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>5</sub> et H <sub>6</sub> ); 8,54 (s, échangeable par D <sub>2</sub> O, 1H, CO <sub>2</sub> H)
Anal. (C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>6</sub> : 385,42)	: Calculé	: C, 65.44; H, 6.02; N, 3.63; O, 24.91
	: Trouvé	: C, 65.51; H, 6.29; N, 3.46; O, 24.94

## \* Acide N-(4-méthoxy -3',4'-méthylènedioxybenzhydryl)pyroglutamique (DL4d)



Mode opératoire général utilisé avec 13,7g (36 mmol) d'un mélange équimolaire d'esters A et B de DL3d et 20 ml de soude 2N (40 mmol). On obtient un mélange équimolaire des acides A et B sous forme de poudre. Après recristallisation de ce mélange dans le méthanol, on obtient majoritairement dans celui-ci l'un des deux diastéréoisomères (25% d'acide A, 75% d'acide B).

Rdt	:	74%
F (MeOH)	:	205-208°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1720 (C=O acide), 1620 (C=O lactame), 1600, 1580, 1510, 1485, 1445 (C=C), 1170 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> + DMSO)	:	<p><b>acide A</b> : 2,06-2,13 (m, 1H, H<sub>8a</sub>); 2,34-2,46 (m, 2H, H<sub>9</sub>); 2,58-2,68 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,77 (s, 3H, 4'-OMe); 4,12 (d, J=7.9 Hz, 1H, H<sub>1</sub>); 5,94 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>O); 6,30 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 6,59-6,79 (m, 3H, H<sub>2</sub>, H<sub>5</sub> et H<sub>6</sub>); 6,80 (d, J=8.3 Hz, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 7,17 (d, J=8.3 Hz, 2H, H<sub>3'</sub> et H<sub>5'</sub>)</p> <p><b>acide B</b> : 2,06-2,13 (m, 1H, H<sub>8a</sub>); 2,34-2,46 (m, 2H, H<sub>9</sub>); 2,58-2,68 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,79 (s, 3H, 4'-OMe); 4,12 (d, J=7.9 Hz, 1H, H<sub>1</sub>); 5,92 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>O); 6,30 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 6,59-6,79 (m, 3H, H<sub>2</sub>, H<sub>5</sub> et H<sub>6</sub>); 6,85 (d, J=8.3 Hz, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 7,05 (d, J=8.3 Hz, 2H, H<sub>3'</sub> et H<sub>5'</sub>)</p>
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> + DMSO)	:	24,7 (C <sub>8</sub> ); 29,9 (C <sub>9</sub> ); 55,3 (4'-OMe); 58,6 (C <sub>11</sub> ); 59,0 (C <sub>7</sub> ); 101,1 (3,4-OCH <sub>2</sub> O); 108,0 (C <sub>2</sub> ); 110,7 (C <sub>5</sub> ); 113,9 (C <sub>2'</sub> et

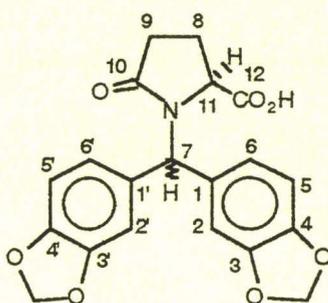
C<sub>6</sub>'); 124,0 (C<sub>6</sub>); 128,4 (C<sub>3</sub>' et C<sub>5</sub>'); 131,4 (C<sub>1</sub>'); 132,6 (C<sub>1</sub>);

147,2 (C<sub>4</sub>); 147,4 (C<sub>3</sub>); 158,8 (C<sub>4</sub>'); 174,2 (C<sub>10</sub>); 175,7 (C<sub>12</sub>)

Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>6</sub> : 369,38) : Calculé : C, 65.03; H, 5.18; N, 3.79; O, 25.99

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

## \* Acide N-[(Bis-3,4-méthylènedioxy)benzhydryl]pyroglutamique(DL4e)

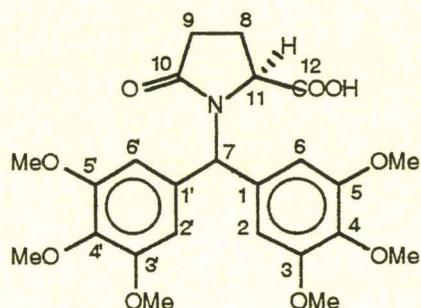


Mode opératoire général utilisé avec 56,8g (143 mmol) de **DL3e** et 95 ml de soude 2N (190 mmol).

L'acide **DL4e** est obtenu sous forme de poudre et recristallisé dans le méthanol.

Rdt	:	81%
F (MeOH)	:	229-230°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	2910 (O-H, large), 1735 (C=O acide), 1640 (C=O lactame), 1505, 1490, 1450 (C=C), 1150 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,02-2,20 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,35-2,55 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,59-2,77 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 4,16 (d, J= 7.7 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 5,88 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O); 5,95 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O); 6,29 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,58 (s, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>2'</sub> ); 6,65-6,79 (m, 4H, H <sub>5</sub> , H <sub>6</sub> , H <sub>5'</sub> et H <sub>6'</sub> ) proton carboxylique non visible
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	24,5 (C <sub>8</sub> ); 29,7 (C <sub>9</sub> ); 58,4 (C <sub>11</sub> ); 59,3 (C <sub>7</sub> ); 108,1 (C <sub>2</sub> et C <sub>2'</sub> ); 110,8 (C <sub>5</sub> et C <sub>5'</sub> ); 120,1 (C <sub>6</sub> et C <sub>6'</sub> ); 124,3 (C <sub>1</sub> et C <sub>1'</sub> ); 147,1 (C <sub>3</sub> et C <sub>3'</sub> ); 148,2 (C <sub>4</sub> et C <sub>4'</sub> ); 175,8 (C <sub>10</sub> ); 176,4 (C <sub>12</sub> )
Anal. (C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>7</sub> : 383,36)	: Calculé	: C, 62.66; H, 4.47; N, 3.65; O, 29.21
	: Trouvé	: C, 62.39; H, 4.77; N, 3.46; O, 29.31

## \* Acide N-[3,4,5,3',4',5'-hexaméthoxybenzhydryl]pyroglutamique (DL4f)

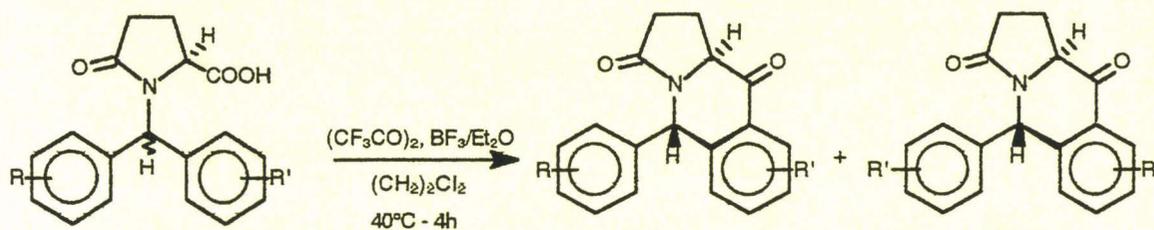


Mode opératoire général utilisé avec 6,8g (14 mmol) de DL3f et 15 ml de soude 2N (15 mmol).

L'acide DL4f est obtenu sous forme de poudre et recristallisé dans le méthanol.

Rdt	:	80%
F (MeOH)	:	170-172°C
Rf (SS3)	:	dépôt
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3450 (OH large), 1735 (C=O acide), 1630 (C=O lactame), 1590, 1500, 1450 (C=C), 1120 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (C <sub>3</sub> D <sub>6</sub> O)	:	2,02-2,70 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,70 (s, 3H, OMe); 3,74 (s, 9H, OMe); 3,77 (s, 6H, OMe); 4,30 (d, J=7.7 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,25 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,51 (s, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>2'</sub> ); 6,61 (s, 2H, H <sub>6</sub> et H <sub>6'</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (C <sub>3</sub> D <sub>6</sub> O)	:	25,6 (C <sub>8</sub> ); 28,7 (C <sub>9</sub> ); 56,5 (3-OMe, 5-OMe, 3'-OMe et 5'-OMe); 59,5 (C <sub>11</sub> ); 60,6 (C <sub>7</sub> ); 61,2 (4-OMe et 4'-OMe); 106,0 (C <sub>2</sub> , C <sub>2'</sub> ); 108,7 (C <sub>6</sub> , C <sub>6'</sub> ); 135,0 (C <sub>1</sub> , C <sub>1'</sub> ou C <sub>4</sub> , C <sub>4'</sub> ); 136,6 (C <sub>1</sub> , C <sub>1'</sub> ou C <sub>4</sub> , C <sub>4'</sub> ); 154,1 (C <sub>3</sub> , C <sub>3'</sub> ); 154,4 (C <sub>5</sub> , C <sub>5'</sub> ); 174,4 (C <sub>10</sub> ); 176,1 (C <sub>12</sub> )
Anal. (C <sub>24</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>9</sub> : 475,50)	: Calculé	: C, 60.62 ; H, 6.15; N, 2.95; O, 30.28
	: Trouvé	: C, 60.63 ; H, 6.26; N, 2.87; O, 29.97

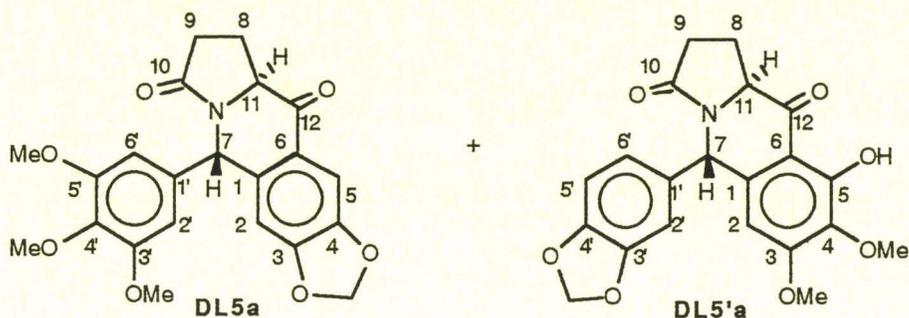
PROCEDURE GENERALE DE SYNTHESE DES CETONES (DL5a, DL5'a, DL5d, DL5'd et DL5e )



Au composé **4** dissous dans le dichloroéthane, on ajoute de l'anhydride trifluoroacétique (1,1 à 8 équivalents suivant l'acide **4** utilisé) puis du  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$  (4 à 10 équivalents suivant l'acide **4** utilisé). On porte à reflux sous atmosphère d'azote. On obtient une coloration violette. Après disparition de **4** en CCM, on évapore, on hydrolyse la solution et on extrait au chlorure de méthylène. La phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition complète des traces d'acide, séchée et évaporée. On obtient une huile qui, dans certains cas, est purifiée par cristallisation, et dans d'autres cas, purifiée par flash chromatographie.

**\*7,8-méthylènedioxy-5-(3',4',5'-triméthoxyphényl)-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz  
[f]indolizine-3,10-dione (DL5a) et**

**7,8-diméthoxy -9-hydroxy -5-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-1,2,3,5,10,10a-  
hexahydrobenz[f]indolizine-3,10-dione (DL5'a)**



Mode opératoire utilisé avec 77,5g (180 mmol) d'acide **DL4a**, 1200 ml de dichloroéthane, 27.6 ml (198 mmol) d'anhydride trifluoroacétique, 180 ml (1440 mmol) de  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$  et 7 heures de chauffage à 40°C. La séparation des composés **DL5a** et **DL5'a** a été réalisée avec les mêmes rendements de deux manières :

- séparation par flash chromatographie : éluant = SS1 puis cristallisation de **DL5a** dans le toluène et cristallisation de **DL5'a** dans l'acétate d'éthyle.
- séparation par lavages basiques (solution de soude 2N) puis acidification de la phase aqueuse pour obtenir **DL5'a**. Les deux composés sont alors cristallisés comme ci-dessus.

- composé DL5a :

Rdt	:	32%
F (toluène)	:	192-196°C
Rf (SS1)	:	0,18
IR ( $\text{cm}^{-1}$ )	:	1695 (C=O cétone), 1675 (C=O lactame), 1625, 1590, 1500, 1465 (C=C), 1240 (C-O)
RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	:	2,25-2,46 (m, 4H, H <sub>g</sub> et H <sub>g</sub> ); 3,73 (s, 6H, 3'-OMe et 5'OMe); 3,8 (s, 3H, 4'-OMe); 4,18-4,23 (m, 1H, H <sub>1</sub> ); 6,05 (d, J=1.1 Hz, 1H, OCH <sub>2</sub> O);

6,07 (d,  $J=1.1$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>O); 6,37 (s, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 6,38 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 6,65 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 7,53 (s, 1H, H<sub>5</sub>)

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : 21,5 (C<sub>8</sub>); 30,2 (C<sub>9</sub>); 54,6 (C<sub>7</sub>); 56,3 (3'-OMe et 5'-OMe); 58,3 (C<sub>11</sub>); 60,9 (4'-OMe); 102,4 (3,4-OCH<sub>2</sub>O); 105,8 (C<sub>2'</sub> et C<sub>6'</sub>); 106,2 (C<sub>5</sub>); 107,7 (C<sub>2</sub>); 125,6 (C<sub>6</sub>); 134,3 (C<sub>1</sub>); 138,3 (C<sub>4'</sub>); 138,6 (C<sub>1'</sub>); 148,5 (C<sub>4</sub>); 153,3 (C<sub>3</sub>); 153,7 (C<sub>3'</sub> et C<sub>5'</sub>); 173,5 (C<sub>10</sub>); 193,2 (C<sub>12</sub>)

Anal. (C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>7</sub> : 411,42) : Calculé : C, 64.23; H, 5.15; N, 3.40; O, 27.22

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

- composé DL5'a :

Rdt : 30%

F (AcOEt) : 166°C

Rf (SS1) : 0,3

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1700 (C=O cétone), 1635 (C=O lactame), 1615, 1570, 1500, 1490, 1460 (C=C), 1235 (C-O)

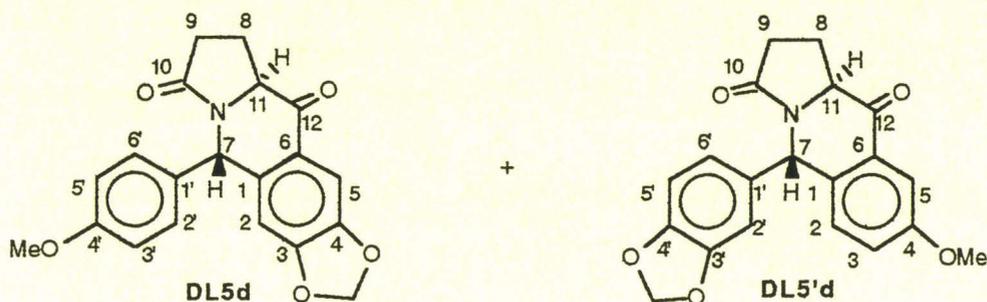
RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 2,24-2,45 (m, 4H, H<sub>8</sub> et H<sub>9</sub>); 3,85 (s, 3H, 3-OMe); 3,86 (s, 3H, 4-OMe); 4,13-4,18 (m, 1H, H<sub>11</sub>); 5,90 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>O); 6,31 (s, 1H, H<sub>2</sub> ou H<sub>7</sub>); 6,34 (s, 1H, H<sub>2</sub> ou H<sub>7</sub>); 6,53 (dd,  $J=1.7$  Hz,  $J=8.0$  Hz, 1H, H<sub>6'</sub>); 6,64 (d,  $J=1.7$  Hz, 1H, H<sub>2'</sub>); 6,67 (d,  $J=8.0$  Hz, 1H, H<sub>5'</sub>); 8,20 (s, 1H, OH)

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : 20,9 (C<sub>8</sub>); 30,2 (C<sub>9</sub>); 53,8 (C<sub>7</sub>); 56,4 (3-OMe); 57,5 (C<sub>11</sub>); 60,9 (4-OMe); 101,5 (3',4'-OCH<sub>2</sub>O); 103,3 (C<sub>2</sub>); 108,7 (C<sub>5'</sub>); 110,8 (C<sub>6</sub>); 121,7 (C<sub>6'</sub>); 132,6 (C<sub>1</sub>); 135,7 (C<sub>1'</sub>); 138,5 (C<sub>4</sub>); 147,8 (C<sub>3'</sub>); 148,3 (C<sub>4'</sub>); 157,2 (C<sub>3</sub>); 159,5 (C<sub>5</sub>); 173,2 (C<sub>10</sub>); 199,8 (C<sub>12</sub>)

Anal. (C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>7</sub> : 397,39) : Calculé : C, 63.47; H, 4.82; N, 3.52; O, 28.18

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

**\*5-(4'-méthoxyphényl)-7,8-méthylènedioxy-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]  
indolizine-3,10-dione (DL5d) et  
8-méthoxy -5-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-1,2,3,5,10,10a- hexahydrobenz[f]  
indolizine-3,10-dione (DL5'd)**



Mode opératoire utilisé avec 11,1g (30 mmol) d'acide DL4d, 300 ml de dichloroéthane, 26 ml (184 mmol) d'anhydride trifluoroacétique, 23 ml (187 mmol) de BF<sub>3</sub>/Et<sub>2</sub>O et 4 heures de chauffage à 40°C. La séparation des composés DL5d et DL5'd a été réalisée par flash chromatographie : éluant = SS2 puis cristallisation de DL5d et DL5'd dans le toluène.

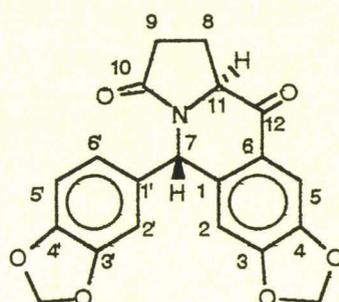
- composé DL5d :

Rdt	:	38%
F (toluène)	:	175°C
Rf (SS2)	:	0,26
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1700 (C=O cétone), 1685 (C=O lactame), 1605, 1500, 1490 (C=C), 1250 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,24-2,46 (m, 4H, Hg et Hg); 3,85 (s, 3H, 4'-OMe); 4,18-4,20 (m, 1H, H <sub>1</sub> ); 6,05 (d, J=1.2 Hz, 1H, OCH <sub>2</sub> O); 6,07 (d, J=1.2 Hz, 1H, OCH <sub>2</sub> O); 6,37 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,65 (s, 1H, H <sub>2</sub> ); 6,80 (d, J= 8.6 Hz, 2H); 7,18 (d, J=8.6 Hz, 2H); 7,53 (s, 1H, H <sub>5</sub> )
Anal. : (C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub> : 351,36) : Calculé	:	C, 68.37; H, 4.88; N, 3.99; O, 22.77
	Trouvé	: C, 68.15; H, 5.02; N, 3.72; O, 23.11

- composé DL5'd :

Rdt	:	5%
Rf (SS2)	:	0,40
F (toluène)	:	177°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1690 (C=O, large), 1610, 1500, 1490 (C=C), 1250 (C-O, large)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,25-2,45 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,85 (s, 3H, 4-OMe); 4,17-4,21 (m, 1H, H <sub>1</sub> ); 5,89 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O); 6,42 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,51-6,53 (m, 1H, H <sub>6'</sub> ); 6,64-6,67(m, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>5'</sub> ); 7,14 (s, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>3</sub> ); 7,55 (s, 1H, H <sub>5</sub> )
Anal. : (C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub> : 351,36) : Calculé	:	C, 68.37; H, 4.88; N, 3.99; O, 22.77
	Trouvé	: C, 68.52; H, 4.87; N, 4.03; O, 22.58

**\*7,8-méthylènedioxy-5-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-1,2,3,5,10,10a- hexahydro benz[f]indolizine-3,10-dione (DL5e)**

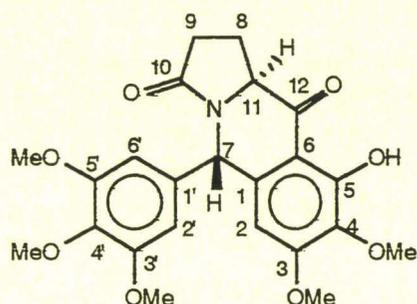


Mode opératoire utilisé avec 15g (39 mmol) d'acide **DL4e**, 500 ml de dichloroéthane, 40 ml (283 mmol) d'anhydride trifluoroacétique, 34 ml (276 mmol) de  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$  et 4 heures de chauffage à 40°C.

**DL5e** cristallise dans le toluène. Il a également été obtenu par purification par flash chromatographie : éluant = SS1.

Rdt	:	76%
F (toluène)	:	182-184°C
Rf (SS1)	:	0,22
IR ( $\text{cm}^{-1}$ )	:	1680 (C=O large), 1615, 1500, 1480, 1450 (C=C), 1250 (C-O)
RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	:	2,24-2,44 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 4,13-4,18 (m, 1H, H <sub>11</sub> ); 5,92 (s, 2H, 3'-OCH <sub>2</sub> O-4'); 6,05 (s, 2H, 3-OCH <sub>2</sub> O-4); 6,36 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,56-6,70 (m, 4H, H <sub>6</sub> , H <sub>2</sub> ', H <sub>5</sub> ' et H <sub>6</sub> ') ; 7,51 (s, 1H, H <sub>5</sub> )
RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	:	20,9 (C <sub>8</sub> ); 30,3 (C <sub>9</sub> ); 54,1 (C <sub>7</sub> ); 58,2 (C <sub>11</sub> ); 101,5 (3',4'-OCH <sub>2</sub> O); 102,4 (3,4-OCH <sub>2</sub> O); 106,3 (C <sub>5</sub> ); 107,6 (C <sub>2</sub> ); 108,4 (C <sub>2</sub> ') ; 108,9 (C <sub>5</sub> ') ; 122,0 (C <sub>6</sub> ') ; 132,6 (C <sub>1</sub> ); 135,6 (C <sub>6</sub> ); 138,8 (C <sub>1</sub> ') ; 147,8 (C <sub>3</sub> ') ; 148,5 (C <sub>4</sub> et C <sub>4</sub> ') ; 153,3 (C <sub>3</sub> ); 173,5 (C <sub>10</sub> ); 193,2 (C <sub>12</sub> )
Anal. (C <sub>20</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>6</sub> : 365,35)	: Calculé	: C, 65.75; H, 4.14; N, 3.83; O, 26.28
	: Trouvé	: C, 65.83; H, 4.48; N, 3.59; O, 26.60

**\*9,10-diméthoxy-11-hydroxy-5-(3',4',5'-triméthoxyphényl)-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizine-3,10-dione (DL5f)**



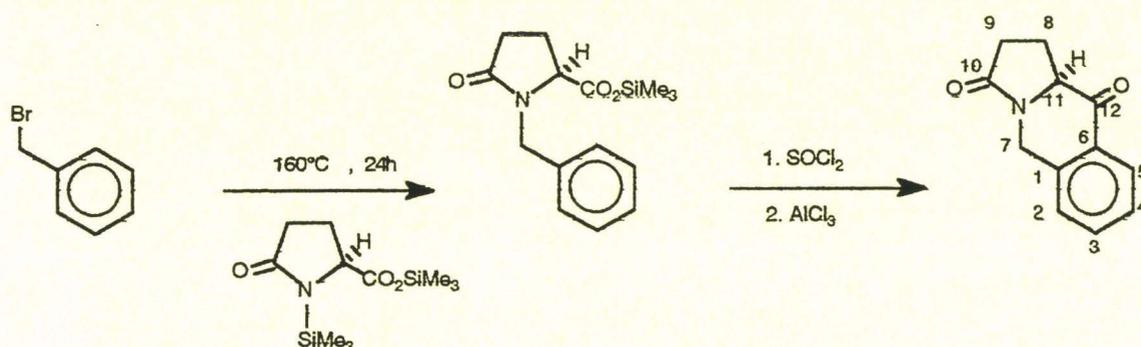
Mode opératoire utilisé avec 1,9g (4 mmol) d'acide **DL4f**, 20 ml de dichloroéthane, 0,6 ml (4,4 mmol) d'anhydride trifluoroacétique, 5 ml (40 mmol) de  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$  et 6 heures de chauffage à 40°C.

Le composé **DL5f** précipite directement dans le mélange réactionnel. On filtre celui-ci et on le lave avec de l'eau à 10°C jusqu'à neutralité des eaux de lavage. Le filtrat organique de réaction est traité suivant le mode opératoire général. **DL5f** cristallise dans l'acétate d'éthyle et recristallise dans le même solvant.

Rdt	:	57%
F (AcOEt)	:	57-59°C
Rf (SS3)	:	0,71
IR ( $\text{cm}^{-1}$ )	:	3450 (OH large), 1730 (C=O cétone), 1685 (C=O lactame), 1585, 1500, 1450 (C=C), 1130 (C-O)
RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	:	2,29-2,57 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,77 (s, 6H, OMe, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,81 (s, 3H, 4'-OMe); 3,90 (s, 3H, 4-OMe); 3,93 (s, 3H, 3-OMe); 4,25 (t, J=7.2 Hz, 1H, H <sub>1</sub> ); 6,37 (s, 3H, H <sub>2</sub> , H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,42 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 12,20 (s, 1H, OH)
RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	:	20,8 (C <sub>8</sub> ); 30,2 (C <sub>9</sub> ); 54,3 (C <sub>11</sub> ); 56,4 (3-OMe); 56,5 (3'-OMe et 5'-OMe); 57,7 (4-OMe); 60,9 (4'-OMe); 70,0 (C <sub>7</sub> ); 103,9 (C <sub>2</sub> ); 105,5 (C <sub>2'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 110,8 (C <sub>6</sub> ); 134,3; 135,8; 138,3 (C <sub>1</sub> , C <sub>4</sub> , C <sub>1'</sub> et C <sub>4'</sub> ); 153,7 (C <sub>3'</sub> et C <sub>5'</sub> ); 157,2 (C <sub>3</sub> ou C <sub>5</sub> ); 159,6 (C <sub>3</sub> ou C <sub>5</sub> ); 173,3 (C <sub>10</sub> ); 199,8 (C <sub>12</sub> )

Anal. (C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>8</sub> : 365,35) : Calculé : C, 62.30; H, 5.68; N, 3.16; O, 28.86  
Trouvé : C, 61.90; H, 5.87; N, 2.89; O, 29.01

\* 1,2,3,5,10,10a -hexahydrobenz[f]indolizine-3,10 -dione (5g) (Rigo et Kolocouris, 1983)

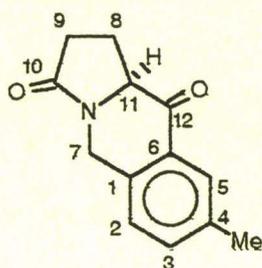


Dans un bicol de 50 ml muni d'un appareil de distillation et d'un bouchon à jupe rabattable, on introduit, sous azote, 10,8g (39,4 mmol) d'acide pyroglutamique N,O-disilylé, 5g (39,4 mmol) de bromure de benzyle. On chauffe pendant 4 heures à 160°C. L'appareil de distillation est ensuite remplacé par un réfrigérant. On ajoute sous azote 15 ml de dichlorométhane et 5,6g (4,1 ml; 47,3 mmol) de chlorure de thionyle. On porte à reflux pendant 6 heures. La solution est ensuite concentrée, afin d'éliminer l'excès de chlorure de thionyle. Le chlorure d'acide préparé est dilué dans 20 ml de dichlorométhane et 15,8g (118,5 mmol) de chlorure d'aluminium sont ajoutés lentement sous azote. Après une nuit à température ambiante, on hydrolyse en additionnant très lentement la solution dans de l'eau glacée. On extrait au dichlorométhane, la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à disparition totale des traces d'acide, séchée et évaporée. La cétone obtenue est purifiée par distillation sous pression réduite puis cristallisée dans l'acétate d'éthyle.

Rdt	:	65%
E	:	180°C sous 0,05 mm de Hg
F (AcOEt)	:	107-108°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1690 (C=O), 1600 (C=C)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,44-2,48 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 4,32 (m, 1H, H <sub>11</sub> ); 4,33 (d, J=16.8 Hz, 1H, H <sub>7</sub> ); 5,21 (d, J=16.8 Hz, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,17-7,8 (m, 3H, H <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> et H <sub>4</sub> ); 7,95- 8,12 (m, 1H, H <sub>5</sub> )

Anal. (C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub> : 201,23) : Calculé : C, 71.63; H, 5.51; N, 6.96; O, 15.90  
Trouvé : C, 71.62; H, 5.55; N, 7.08; O, 15.78

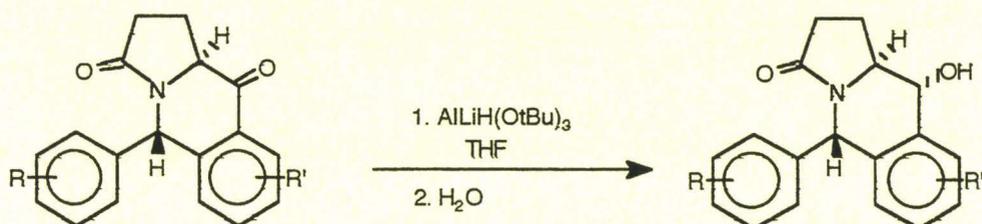
\* **8-méthyle-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizine-3,10-dione (5h)** (Rigo et Kolocouris, 1983)



Même mode de préparation que pour le composé précédent avec 5,4g (29 mmol) de bromure de para-xylène, 8g (29 mmol) d'acide L-pyroglutamique N,O-disilylé, 2,4 ml (33 mmol) de chlorure de thionyle et 12g (90 mmol) de chlorure d'aluminium.

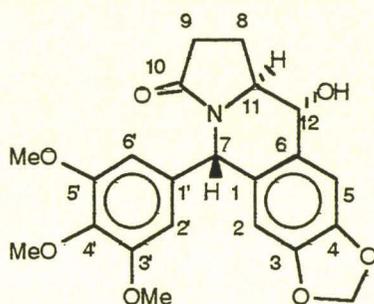
Rdt	:	67%
E	:	173°C sous 0,05 mm de Hg
F (AcOEt)	:	92-93°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1690 (C=O), 1600 (C=C)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,28 (s, 3H, H <sub>4</sub> ); 2,48-2,56 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 4,40 (m, 1H, H <sub>11</sub> ); 4,49 (d, J=18.0 Hz, 1H, H <sub>7</sub> ); 5,43 (d, J=18.0 Hz, H <sub>7</sub> ); 7,53 (d, J=8.1 Hz, 1H); 7,75 (d, J=8.1 Hz, 1H); 8,22 (s, 1H, H <sub>5</sub> )
Anal. (C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub> )	: Calculé	: C, 72.53; H, 6.09; N, 6.51; O, 14.87
	: Trouvé	: C, 72.61; H, 5.97; N, 6.72; O, 14.58

PROCEDURE GENERALE DE SYNTHESE DES ALCOOLS (DL6a, DL6a', DL6d, DL6d' et DL6e)



A une suspension de 2,5g d'hydruure de lithium tri-t-butyloxyaluminium dans 30 ml de tétrahydrofurane, on additionne goutte à goutte 2,5 mmol de cétone dissoute dans 100 ml de tétrahydrofurane. Après 2 heures d'agitation à température ambiante, le mélange est hydrolysé par ajout lent de 50 ml d'une solution saturée en chlorure d'ammonium et 50 ml d'une solution d'acide citrique. On extrait au chlorure de méthylène, la phase organique est séchée et évaporée. On obtient l'alcool sous forme d'une huile qui est cristallisée et recristallisée dans l'acétate d'éthyle, donnant le produit sous forme de beaux cristaux blancs.

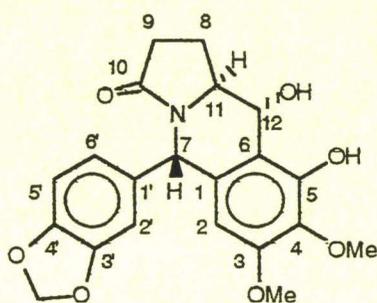
\* 10-hydroxy-7,8-méthylènedioxy -5-(3',4',5'-triméthoxyphényl)-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizin-3-one (DL6a)



Mode opératoire général utilisé avec 1g (2,4 mmol) de **DL5a** et 2,5g (10 mmol) d'hydruure de lithium tri-*t*-butyloxyaluminium.

Rdt	:	92,5%
F (AcOEt)	:	216-218°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3400 (O-H), 1680 (C=O), 1595, 1505, 1485, 1460 (C=C), 1240, 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,02-2,45 (m, 4H, H <sub>g</sub> et H <sub>g</sub> ); 3,21 (d, échangeable par D <sub>2</sub> O, J=7.7 Hz, 1H, OH); 3,62-3,69 (m, 1H, H <sub>1</sub> ); 3,75 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,80 (s, 3H, 4'-OMe); 4,40 (dd, J=7.7 Hz, J=9.3 Hz, 1H, H <sub>1</sub> ); 5,91 (d, J=1.3 Hz, 1H, OCH <sub>2</sub> O); 5,94 (d, J=1.3 Hz, 1H, OCH <sub>2</sub> O); 6,04 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,41 (s, 1H, H <sub>2</sub> ); 6,48 (s, 2H, H <sub>2</sub> ' et H <sub>6</sub> '); 7,12 (s, 1H, H <sub>5</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	21,6 (C <sub>8</sub> ); 29,5 (C <sub>9</sub> ); 55,2 (C <sub>7</sub> ); 56,2 (3'-OMe et 5'-OMe); 56,6 (C <sub>1</sub> ); 60,8 (4'-OMe); 71,0 (C <sub>12</sub> ); 101,2 (OCH <sub>2</sub> O); 105,7 (C <sub>5</sub> ); 106,0 (C <sub>2</sub> ' et C <sub>6</sub> '); 107,6 (C <sub>2</sub> ); 127,3 (C <sub>6</sub> ); 131,8 (C <sub>1</sub> ); 137,4 (C <sub>1</sub> '); 147,2 (C <sub>4</sub> ); 147,5 (C <sub>3</sub> ); 153,3 (C <sub>3</sub> ' et C <sub>5</sub> ); 172,0 (C <sub>10</sub> )
Anal. (C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>7</sub> : 413,43)	: Calculé	: C, 63.92; H, 5.61; N, 3.39; O, 27.09
	: Trouvé	: C, 63.72; H, 5.69; N, 3.41; O, 27.24

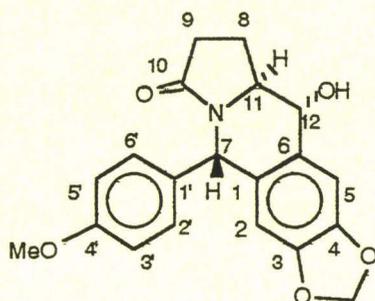
\* **9,10-dihydroxy-7,8-diméthoxy-5-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizin-3-one (DL6a')**



Mode opératoire général utilisé avec 3,3g (8,2 mmol) de DL5'a et 8,4g (33 mmol) d'hydrure de lithium tri-t-butyloxyaluminium.

Rdt	:	92,5%
F (AcOEt)	:	224°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3340 (O-H), 1650 (C=O), 1610, 1595, 1500, 1490, 1450 (C=C), 1235 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> + DMSO)	:	1,95-2,35 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,56 (m, 1H, H <sub>11</sub> ); 3,65 (s, 3H, OMe); 3,71 (s, 3H); 4,68 (d, J=9.2 Hz, 1H, H <sub>12</sub> ); 5,94 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 5,99 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O); 6,16 (s, 1H, H <sub>2</sub> ); 6,63-6,82 (m, 3H, H <sub>2'</sub> , H <sub>5'</sub> et H <sub>6'</sub> )
Anal. (C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>7</sub> : 399,40):	Calculé	: C, 63.15; H, 5.30; N, 3.51; O, 28.04
	Trouvé	: C, 63.29; H, 5.25; N, 3.68; O, 28.29

**\*10-hydroxy-5-(4'-méthoxyphényl)-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizin-3-one (DL6d)**



Mode opératoire général utilisé avec 9,2g (26 mmol) de **DL5d** et 26,5g (104 mmol) d'hydrure de lithium tri-*t*-butyloxyaluminium.

Rdt : 90%

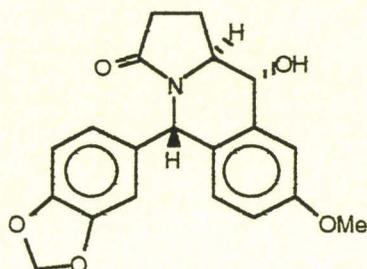
F (AcOEt) : 231-232°C

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub> + DMSO) : 2,14-2,41 (m, 4H, H<sub>8</sub> et H<sub>9</sub>); 3,61-3,65 (m, 1H, H<sub>11</sub>); 3,76 (s, 3H, 4'-OMe); 4,30 (dd, J<sub>1</sub>=7.2 Hz, J<sub>2</sub>=8.55 Hz, 1H, H<sub>12</sub>); 5,87 (d, J=7.2 Hz, OH); 5,92 (d, J=1.2 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>O); 5,93 (d, J=1.2 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>O); 5,99 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 6,32 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 6,80 (d, J=8.6 Hz, 2H); 7,16 (s, 1H, H<sub>5</sub>); 7,18 (d, J=8.6 Hz, 2H)

Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub> : 353,38) : Calculé : C, 67.98; H, 5.42; N, 3.96; O, 22.64

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

**\*10-hydroxy-8-méthoxy-5-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizin-3-one (DL6d')**

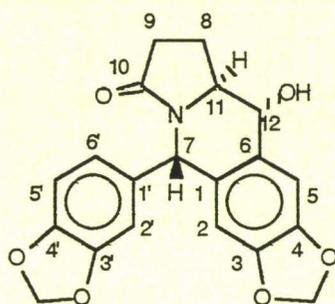


Rdt : 89%

Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub> : 353,38) : Calculé : C, 67.98; H, 5.42; N, 3.96; O, 22.64

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

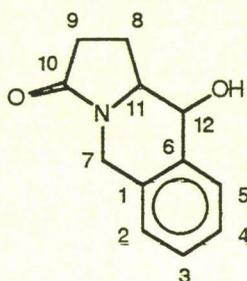
\* 10-hydroxy-7,8-méthylènedioxy-5-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizin-3-one (DL6e)



Mode opératoire général utilisé avec 2,8g (7,7 mmol) de DL5e et 7,9g (31 mmol) d'hydrure de lithium tri-t-butyloxyaluminium.

Rdt	:	91,5%
F (AcOEt)	:	246°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3220 (O-H, large), 1650, 1645 (C=O), 1620, 1505, 1485, 1445 (C=O), 1240 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> + DMSO)	:	1,98-2,43 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,45-3,61 (m, 1H, H <sub>11</sub> ); 4,22 (dd, J <sub>1</sub> =7.6 Hz, J <sub>2</sub> =9.2 Hz, 1H, H <sub>12</sub> ); 5,91 (s, 4H, OCH <sub>2</sub> O); 6,45 (s, 1H, H <sub>2</sub> ); 6,63-6,90 (m, 3H, H <sub>2'</sub> , H <sub>5'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 7,09 (s, 1H, H <sub>5</sub> )
Anal. (C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>6</sub> : 367,36)	: Calculé	: C, 65.39; H, 4.66; N, 3.81; O, 26.13
	: Trouvé	: C, 65.30; H, 4.51; N, 3.98; O, 26.04

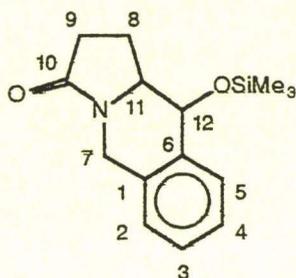
\* 10-hydroxy-1,5,10,10a-tétrahydro-1H-pyrrolo [1,2-b] isoquinolin-3-one (6g) (Rigo et Kolocouris, 1983)



On dissout 15g (75 mmol) de **5 g** dans 180 ml d'éthanol. On ajoute lentement 5,7g (225 mmol) de borohydrure de sodium. Après 3 heures de chauffage à reflux du solvant, on ajoute 120 ml d'acide acétique glacial et on évapore le solvant. Le résidu est ensuite dissous dans le chlorure de méthylène, lavé à l'eau, puis à l'eau saturée en bicarbonate de sodium. On sèche enfin la phase organique sur sulfate de sodium et évapore le solvant. On obtient une poudre marron recristallisable dans l'acétate d'éthyle.

Rdt	:	50%
Rf (SS3)	:	0,29
F (AcOEt)	:	142°C (litt. : 146°C)
IR ( $\text{cm}^{-1}$ )	:	3300 (OH), 1660 (C=O), 1590, 1500, 1470, 1460, 1420 (C=C), 1280, 1180 (C-O)
RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ + DMSO)	:	2,05-2,60 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,2 (s large, 1H, OH); 3,55 (m, 1H, H <sub>11</sub> ); 4,12 (d, J=18.3 Hz, 1H, H <sub>7</sub> ); 4,45 (d, J=9.0 Hz, 1H, H <sub>12</sub> ); 4,90 (d, J=18.3 Hz, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,10-7,65 (m, 4H, H <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>4</sub> et H <sub>5</sub> )
RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ + DMSO)	:	22,6 (C <sub>8</sub> ); 29,8 (C <sub>9</sub> ); 42,4 (C <sub>7</sub> ); 59,8 (C <sub>11</sub> ); 71,6 (C <sub>12</sub> ); 125,8 (C <sub>5</sub> ); 126,1 (C <sub>2</sub> ); 127,3 (C <sub>3</sub> ); 127,8 (C <sub>4</sub> ); 131,5 (C <sub>1</sub> ); 137,7 (C <sub>6</sub> ); 174,9 (C <sub>10</sub> )

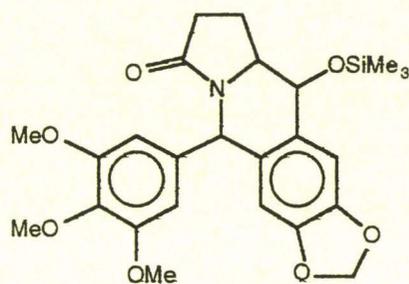
\* 10-triméthylsilanyloxy-1,5,10,10a-tétrahydro-2H-pyrrolo [1,2-b] isoquinolin-3-one  
(7g)



Dans un bicol de 20 ml muni d'un réfrigérant et d'un bouchon à jupe rabattable, on met, sous azote, 2g (9,7 mmol) de **6 g** et 5 ml (23,7 mmol) d'hexaméthylsilaane. Après avoir ajouté quelques gouttes de chlorotriméthylsilane, on porte le tout à 130°C. On observe un dégagement d'ammoniac et la formation d'un dépôt de chlorure d'ammonium à la base du réfrigérant. Lorsque le départ de gaz est terminé, le refroidissement du mélange réactionnel fait précipiter l'éther **7 g**. On filtre celui-ci. On obtient une poudre blanche.

Rdt	:	100%
Rf (SS3)	:	0,72
RMN <sup>1</sup> H (C <sub>3</sub> D <sub>6</sub> O)	:	0,29 (s, 9H, OSiMe <sub>3</sub> ); 1,90-2,60 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,50-3,65 (m, 1H, H <sub>11</sub> ); 4,30 (d, J= 17.8 Hz, 1H, H <sub>7</sub> ); 4,49 (d, J= 9.4 Hz, 1H, H <sub>12</sub> ); 4,87 (d, J=17.8 Hz, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,10-7,50 (m, 4H, H <sub>2</sub> ,H <sub>3</sub> ,H <sub>4</sub> et H <sub>5</sub> )

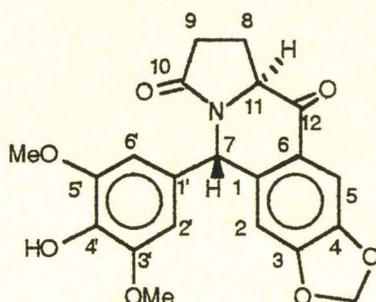
\* 5-(3,4,5-triméthoxyphényl)-9-triméthylsilanoxy-7,8,8a,9-tétrahydro-5H-1,3-dioxo-5a-aza-dicyclopenta [b,g] naphtalene-6-one (DL7a)



**DL7a** est obtenu sous forme de poudre blanche de la même façon que **7 g** mais en ajoutant au milieu réactionnel quelques milligrammes d'imidazole comme catalyseur. La réaction a été menée avec 2g (5 mmol) de **DL6a** et 5 ml (23,7 mmol) d'hexaméthylsilazane

Rdt	:	100%
Rf (SS3)	:	0,75
F	:	156-160°C

\* 7,8-méthylènedioxy-5-(4'-hydroxy-3',5'-diméthoxyphényl)-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizine-3,10-dione (DL8a)



A une solution de méthanol (5,2 ml; 126,4 mmol) et de bromure d'acétyle (9,4 ml; 126,4 mmol) refroidie à  $-10^{\circ}\text{C}$ , on ajoute lentement à l'ampoule à brome le composé **DL6a** (2,6 g; 6,32 mmol) dissous dans 30 ml de chlorure de méthylène. Au bout de 2 jours à température ambiante (disparition de **DL6a** en CCM), la solution est lavée à l'eau saturée en bicarbonate de sodium, jusqu'à neutralité des eaux de lavage. La phase organique est alors séchée sur sulfate de sodium et les solvants évaporés.

On obtient une huile marron, cristallisable dans le méthanol.

Rdt	:	28% (produit DL8a cristallisé avec une impureté de type diphenolique représentant d'après la RMN $^1\text{H}$ environ 5% du mélange)	
F (MeOH)	:	150-152 $^{\circ}\text{C}$	
Rf (SS3)	:	0,53	
IR ( $\text{cm}^{-1}$ )	:	3200 (OH large), 1670 (C=O large), 1605, 1500, 1460 (C=C), 1120 (C-O)	
HPLC (30%A, 70%B)	:	temps de rétention : 6,1s	
		pureté :	
		l = 220nm	: 94,60%
		l = 230nm	: 95,30%
		l = 254nm	: 96,52%
		l = 280nm	: 96,00%

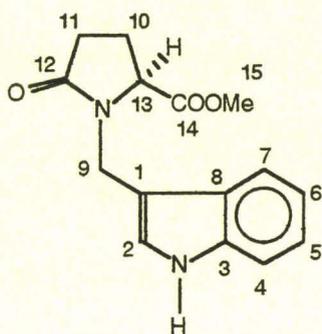
RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2,25-2,54 (m, 4H, H<sub>8</sub> et H<sub>9</sub>); 3,79 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 4,22 (m, 1H, H<sub>11</sub>); 5,59 (s, 1H, OH); 6,09 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>O); 6,41 (s, 3H, H<sub>2'</sub>, H<sub>6'</sub> et H<sub>7</sub>); 6,67 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 7,53 (s, 1H, H<sub>5</sub>)

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 20,9 (C<sub>8</sub>); 30,3 (C<sub>9</sub>); 54,6 (C<sub>7</sub>); 56,5 (3'-OMe et 5'-OMe); 58,3 (C<sub>11</sub>); 102,4 (3,4-OCH<sub>2</sub>O); 105,4 (C<sub>2'</sub> et C<sub>6'</sub>); 106,2 (C<sub>5</sub>); 107,7 (C<sub>2</sub>); 125,6 (C<sub>6</sub>); 129,8 (C<sub>4'</sub>); 135,1 (C<sub>1</sub>); 138,8 (C<sub>1'</sub>); 147,4 (C<sub>3'</sub> et C<sub>5'</sub>); 148,4 (C<sub>4</sub>); 153,3 (C<sub>3</sub>); 173,5 (C<sub>10</sub>); 193,3 (C<sub>12</sub>)

Anal. (C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>7</sub> : 397,38) : Calculé : C, 63.47; H, 4.82; N, 3.52; O, 28.18

Trouvé : C, 63.61; H, 4.81; N, 3.43; O, 28.26

## \* N-(3-indolylméthyl) pyroglutamate de méthyle (9)



A un mélange de N-méthoxyméthyl pyroglutamate de méthyle (50 g; 267 mmol) et d'indole (31,3 g; 267 mmol), sous atmosphère d'azote et sous bonne agitation, on ajoute à la seringue 0,2 ml d'acide triflique. On chauffe ensuite à 90°C pendant 33 heures (disparition de pics caractéristiques du N-méthoxyméthyl pyroglutamate de méthyle en RMN  $^1\text{H}$ ). On dissout le mélange dans le chlorure de méthylène. La phase organique est lavée à l'eau, à l'eau saturée en chlorure de sodium, puis séchée sur sulfate de sodium. On évapore le solvant.

On obtient une huile rouge qui peut être utilisée sans purification pour l'étape de synthèse suivante, qui cristallise en partie dans l'acétate d'éthyle sous forme d'une poudre rosâtre, recristallisable dans le même solvant.

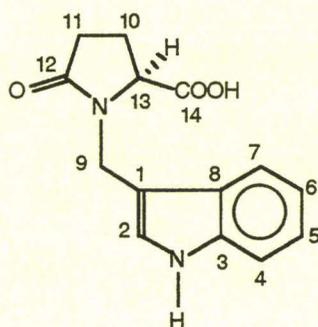
Rdt	:	95% (huile)
		20% (poudre)
F (AcOEt)	:	136°C
Rf (SS3)	:	0,67
IR ( $\text{cm}^{-1}$ )	:	3175 (NH), 1750 (C=O ester), 1670 (C=O lactame), 1620, 1500, 1450 (C=C)
$[\alpha]_D^{20}$ (c = 10g/l)	:	37,5
RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	:	2,00-2,68 (m, 4H, H <sub>10</sub> et H <sub>11</sub> ); 3,59 (s, 3H, H <sub>15</sub> ); 3,98 (dd, J <sub>1</sub> =5.1Hz, J <sub>2</sub> =3.6Hz, 1H, H <sub>13</sub> ); 4,29 (d, J=14.8Hz, 1H, H <sub>9</sub> ); 5,18 (d, J=14.8Hz, 1H, H <sub>9</sub> ); 7,13 (td, J <sub>1</sub> =7.7Hz, J <sub>2</sub> =1.5Hz, 1H, H <sub>6</sub> ); 7,13 (s, 1H, H <sub>2</sub> ); 7,22

(td,  $J_1=7.7\text{Hz}$ ,  $J_2=1.5\text{Hz}$ , 1H, H<sub>5</sub>); 7,38 (d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H, H<sub>7</sub>); 7,62 (d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H, H<sub>4</sub>); 8,30 (s large, 1H, NH)

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : 22,7 (C<sub>10</sub>); 30,0 (C<sub>11</sub>); 36,8 (C<sub>9</sub>); 52,3 (C<sub>15</sub>); 58,7 (C<sub>13</sub>); 110,2; 111,4; 119,2; 120,1; 122,6; 124,6; 126,9; 136,6 (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub> et C<sub>8</sub>); 172,8 (C<sub>12</sub>); 175,2 (C<sub>14</sub>)

Anal. (C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> : 272,30) : Calculé : C, 66.16; H, 5.92; N, 10.29; O, 17.63  
Trouvé : C, 65.96; H, 5.97; N, 10.09; O, 17.98

## \* Acide N-(3-indolylméthyl)pyroglutamique (10)



On chauffe 30 g de **9** cristallisé (222,4 mmol) recouverts de 200 ml de solution aqueuse de soude 2N à 80°C pendant 6 heures . La phase aqueuse est ensuite lavée au chlorure de méthylène et chauffée pendant quelques minutes à 40°C sous vide pour évaporer les traces de chlorure de méthylène.

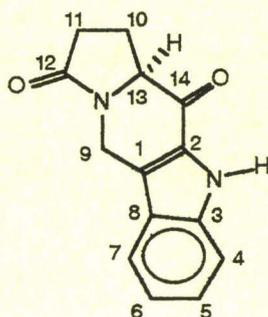
Une fois la solution revenue à température ambiante, on acidifie lentement celle-ci avec HCl concentré jusqu'à la précipitation complète de l'acide. Le précipité est ensuite filtré, lavé à l'eau froide jusqu'à neutralité des eaux de lavage, et séché.

On obtient l'acide sous forme de poudre rosâtre. Celui-ci est recristallisable dans le méthanol.

Rdt	:	85%
F	:	176°C
Rf (SS3)	:	dépôt
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3325 (NH, OH), 1720 (C=O acide), 1500 (C=C)
[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> (c = 10g/l)	:	70
RMN <sup>1</sup> H (DMSO)	:	1,9-2,24 (m, 2H); 2,24-2,56 (m, 2H); 3,86 (dd, J <sub>1</sub> =5.0 Hz, J <sub>2</sub> =3.5Hz, 1H, H <sub>13</sub> ); 4,16 (d, J=14.6 Hz, 1H, H <sub>9</sub> ); 5,23 (d, J=14.6Hz, 1H, H <sub>9</sub> ); 7,02 (td, J <sub>1</sub> =8.0 Hz, J <sub>2</sub> =1.3Hz, 1H, H <sub>6</sub> ); 7,13 (td, J <sub>1</sub> =8.0 Hz, J <sub>2</sub> =1.3 Hz, 1H, H <sub>5</sub> ); 7,15 (s, 1H, H <sub>2</sub> ); 7,39 (d, J=8.0 Hz, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,54 (d, J=8.0 Hz, 1H, H <sub>4</sub> ); 10,48 (s large, 1H, NH)

RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO) : 22,5 (C<sub>10</sub>); 30,0 (C<sub>11</sub>); 36,4 (C<sub>9</sub>); 58,0 (C<sub>13</sub>); 109,2; 111,7; 118,7;  
119,3; 121,7; 125,0; 126,7 (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub> et C<sub>8</sub>); 174,0  
(C<sub>12</sub>); 174,8 (C<sub>14</sub>)

Anal. (C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> : 258,28) : Calculé : C, 65.11; H, 5.46; N, 10.85; O, 18.58  
Trouvé : C, 65.23; H, 5.60; N, 10.61; O, 18.56

\* **Benzo[2,3]-1,4,8,8a-tétrahydro-7H-pyrrolo[3,2-f] indolizine-6,9-dione (11)**

On ajoute 23 ml (166,5 mmol) d'anhydride trifluoroacétique à 20 g (83,4 mmol) de composé **10** en suspension dans 500 ml de dichloroéthane, sous atmosphère d'azote. Le mélange devient très rapidement limpide. On ajoute alors 41 ml (333 mmol) de  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$ . La solution se trouble. On porte le tout à reflux. Après 2 heures de chauffage, on filtre un précipité marron clair qui est lavé à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. On obtient une poudre blanche, recristallisable dans l'acétate d'éthyle.

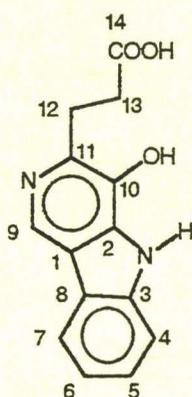
Rdt	:	98% (brut)
		72% (recristallisé)
F (AcOEt)	:	220°C
Rf (SS3)	:	0,5
IR ( $\text{cm}^{-1}$ )	:	3375, 3290 (N-H), 1680 (C=O cétone), 1650 (C=O lactame), 1620, 1500, 1440 (C=C)
$[\alpha]_D^{20}$ (c = 9g/l)	:	161,1
RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ + DMSO)	:	2,2-2,6 (m, 4H, $\text{H}_{10}$ et $\text{H}_{11}$ ); 4,3-4,6 (m, 1H, $\text{H}_{13}$ ); 4,43 (d, $\text{J}=17.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{9a}$ ); 5,3-5,4 (d, $\text{J}=17.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{9b}$ ); 7,1 (t, $\text{J}=7.5$ Hz, 1H, $\text{H}_6$ ); 7,3 (t, $\text{J}=7.5$ Hz, 1H, $\text{H}_5$ ); 7,5 (d, $\text{J}=8.2$ Hz, 1H, $\text{H}_4$ ); 7,7 (d, $\text{J}=8.2$ Hz, 1H, $\text{H}_7$ ); 11,06 (s, 1H, NH)

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$ ) : 20,4 (C<sub>10</sub>); 29,9 (C<sub>11</sub>); 36,8 (C<sub>9</sub>); 60,0 (C<sub>13</sub>); 113,3 (C<sub>4</sub>);  
120,5 (C<sub>6</sub>); 121,1 (C<sub>7</sub>); 123,4 (C<sub>8</sub>); 124,4 (C<sub>1</sub>); 127,0 (C<sub>5</sub>);  
129,2 (C<sub>2</sub>); 138,9 (C<sub>3</sub>); 173,7 (C<sub>12</sub>); 187,6 (C<sub>14</sub>)

Anal. (C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : 240,26) : Calculé : C, 69.99; H, 5.03; N, 11.66; O, 13.32

Trouvé : C, 69.98; H, 4.94; N, 11.54; O, 13.21

## \* Acide 3-(4-hydroxy-5H-pyrido[4,3-b]indol-3-yl) propionique (11R)



On dissout 5g ( 20,8 mmol) de **11** dans un large excès d'acide bromhydrique concentré (94 ml, 1,73 mol). On porte le mélange à reflux pendant 24 heures. On obtient 3,2g d'une poudre jaune qui précipite directement dans le milieu réactionnel. On dissout celle-ci dans une solution de soude 2N, puis on acidifie et filtre le précipité. Ce dernier est recristallisé dans l'eau.

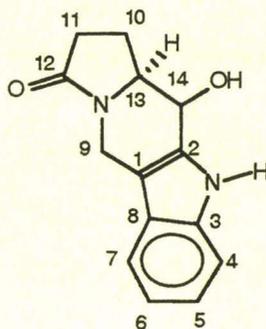
Rdt : 60%

F (eau) : > 240°C

RMN<sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O/NaOD) : 2,69 (t, J=7.3 Hz, 2H, H<sub>12</sub> ou H<sub>13</sub>); 3,17 (t, J=7.3 Hz, 2H, H<sub>12</sub> ou H<sub>13</sub>); 7,35 (s, 1H, NH); 7,35 (t, J=7.6 Hz, 1H, H<sub>5</sub> ou H<sub>6</sub>); 7,43 (d, J=7.6 Hz, 1H, H<sub>4</sub> ou H<sub>7</sub>); 7,56 (t, J=7.6 Hz, 1H, H<sub>5</sub> ou H<sub>6</sub>); 7,89 (d, J=7.6 Hz, 1H, H<sub>4</sub> ou H<sub>7</sub>); 8,68 (s, 1H, H<sub>9</sub>)

Anal. (C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> : 258,30) : Calculé : C, 65.11; H, 5.46; N, 10.85; O, 18.58

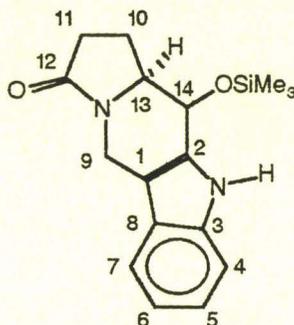
## \* Benzo [2,3]-9-hydroxy-1,4,7,8,8a,9-tétrahydro-pyrrolo [3,2-f] indolizin-6-one (12)



On dissout 5,1g (21,2 mmol) de **11** dans 80 ml d'éthanol. On ajoute lentement 1,7g (42,4 mmol) de borohydrure de sodium. Après 5 heures de chauffage à reflux du solvant, on ajoute 40 ml d'acide acétique glacial et on évapore le solvant. Le résidu est ensuite dissous dans le chlorure de méthylène, lavé à l'eau, puis à l'eau saturée en bicarbonate de sodium. On sèche enfin la phase organique sur sulfate de sodium et évapore le solvant. On obtient une poudre blanche.

Rdt	:	55%
Rf (SS3)	:	0,31
F	:	210°C
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3325 (NH,OH), 1650 (C=O lactame), 1620, 1490 (C=C)
[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> (c = 10g/l)	:	140
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> + DMSO)	:	2,1-2,5 (m, 4H, H <sub>10</sub> et H <sub>11</sub> ); 3,65-3,8 (m, 2H, H <sub>13</sub> et OH ); 4,2 (d, J=16.4 Hz, 1H, H <sub>9a</sub> ); 4,65 (d, J=8.6 Hz, 1H, H <sub>14</sub> ); 4,97 (d, J=16.4 Hz, 1H, H <sub>9b</sub> ); 6,95-7,20 (m, 2H, H <sub>5</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,4 (d, J=8.6 Hz, 2H, H <sub>4</sub> et H <sub>7</sub> ); 10,48 (s large, 1H, NH)
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> + DMSO)	:	22,1 (C <sub>10</sub> ); 29,9 (C <sub>11</sub> ); 37,5 (C <sub>9</sub> ); 61,1 (C <sub>13</sub> ); 68,0 (C <sub>14</sub> ); 105,6 (C <sub>8</sub> ); 111,7 (C <sub>4</sub> ); 117,9 (C <sub>6</sub> ); 119,2 (C <sub>7</sub> ); 121,6 (C <sub>5</sub> ); 124,9 (C <sub>1</sub> ); 135,5 (C <sub>2</sub> ); 136,8 (C <sub>3</sub> ); 174,6 (C <sub>12</sub> )
Anal. (C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : 242,87)	: Calculé	: C, 69.99; H, 5.03; N, 11.66; O, 13.32
	: Trouvé	: C, 70.01; H, 4.91; N, 11.22; O, 13.52

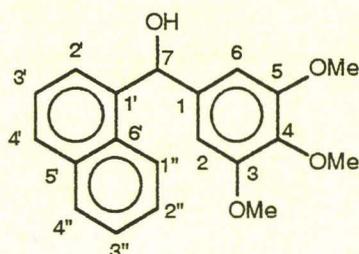
\* **Benzo[2,3]-9-triméthylsilanyloxy-1,4,7,8,8a,9-hexahydro-pyrrolo[3,2-f] indolizine-6-one (13)**



Dans un bicol de 20 ml muni d'un réfrigérant et d'un bouchon à jupe rabattable, on met, sous azote, 2g (8,3 mmol) de **1 2** et 5 ml (23,7 mmol) d'hexaméthylidisilazane. Après avoir ajouté quelques gouttes de chlorotriméthylsilane et quelques milligrammes d'imidazole, on porte à 130°C. On observe un dégagement d'ammoniac et la formation d'un dépôt de chlorure d'ammonium à la base du réfrigérant. Lorsque le départ de gaz est terminé, on obtient **1 3** par précipitation directe dans le mélange réactionnel. On filtre celui-ci. On obtient une poudre blanche.

Rdt	:	100%
Rf (SS3)	:	0,80
F	:	165-170°C
RMN <sup>1</sup> H (C <sub>3</sub> D <sub>6</sub> O)	:	0,25 (s, 9H, OSiMe <sub>3</sub> ); 2,00-2,60 (m, 4H, H <sub>10</sub> et H <sub>11</sub> ); 3,75 (m, 1H, H <sub>13</sub> ); 4,10 (d, J= 17.8Hz, 1H, H <sub>9a</sub> ); 4,85 (d, J= 17.8Hz, 1H, H <sub>9b</sub> ); 4,90 (m, 1H, H <sub>14</sub> ); 6,95-7,15 (m, 2H, H <sub>5</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,37 (d, J= 8 Hz, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,45 (d, J=8 Hz, 1H, H <sub>4</sub> ); 9,75 (s large, 1H, NH)

## \* 1-naphtyl-(3,4,5-triméthoxyphényl)carbinol (14)



On ajoute goutte à goutte 200 g de 1-bromo naphthalène (965,8 mmol) dissous dans le tétrahydrofurane anhydre à 25,8 g de magnésium (1062,4 mmol), préalablement amorcé par quelques gouttes de dibromoéthane et en suspension dans 200 ml de tétrahydrofurane anhydre. On vérifie que la température du milieu réactionnel ne dépasse pas 55°C. Lorsque l'addition est terminée, on chauffe à 55°C pendant 4 heures.

On ajoute ensuite goutte à goutte 189,5 g (965,8 mmol) de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde dissous dans 450 ml de tétrahydrofurane anhydre. On chauffe alors à 60°C pendant 2 heures.

Après retour à température ambiante de la solution, on évapore la plus grande partie du solvant et on hydrolyse au moyen d'une solution de chlorure d'ammonium (280 g de chlorure d'ammonium dans 1,2 l d'eau). On extrait alors au chlorure de méthylène et on lave à l'eau.

La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de sodium et le solvant évaporé.

On obtient une huile marron clair qui peut être utilisée sans purification pour l'étape de synthèse ultérieure. Le produit est cristallisable et recristallisable dans le toluène.

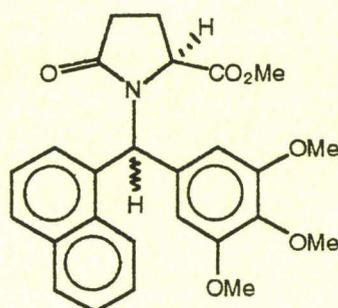
Rdt	:	89%
F (toluène)	:	50°C
Rf (SS2)	:	0,40
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3100-3400 (O-H, large), 1600, 1500, 1450 (C=C), 1170 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,57 (s large, 1H, échangeable par D <sub>2</sub> O, OH); 3,77 (s, 4.5H, OMe); 3,82 (s, 4.5H, OMe); 6,42 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 6,62 (s, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,1-7,6 (m, 4H); 7,7-7,9 (m, 2H); 8,00-8,20 (m, 1H)

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 56,1 (3-OMe et 5-OMe); 60,9 (4-OMe); 73,7 ( $\text{C}_7$ ); 104,2 ( $\text{C}_2$  et  $\text{C}_6$ );  
124,0; 124,8; 125,8; 126,4; 128,8; 128,9; 129,2 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_4'$ ,  $\text{C}_1''$ ,  
 $\text{C}_2''$ ,  $\text{C}_3''$  et  $\text{C}_4''$ ); 130,9; 134,06; 138,0; 138,8; 139,9 ( $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_1'$ ,  
 $\text{C}_5'$  et  $\text{C}_6'$ ); 153,4 ( $\text{C}_3$  et  $\text{C}_5$ )

Anal. ( $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_4$ , 1/2 toluène:  $\text{C}_{23,5}\text{H}_{24}\text{O}_4$  : 370,44) : Calculé : C, 76.19; H, 6.53; O, 17.28

Trouvé : C, 76.01; H, 6.53; O, 17.33

## \* 1-[naphtyl-(3,4,5-triméthoxyphényl)-méthyl]pyroglutamate de méthyle (DL15)



Dans un tricol d'1l muni d'un réfrigérant et de bouchons à jupe rabattable, on met, sous atmosphère d'azote, 310 g (955,66 mmol) de benzhydrol 14 et 250 ml (2389 mmol) d'hexméthylsilazane. Après avoir ajouté 1 ml de chlorotriméthylsilane, on porte le tout à 130°C. On observe un dégagement d'ammoniac et la formation d'un dépôt blanc de chlorure d'ammonium à la base du réfrigérant.

Après 30 minutes de chauffage, le dégagement d'ammoniac est terminé et on distille l'excès d'hexaméthylsilazane. Le milieu réactionnel est alors remis sous pression atmosphérique et sous azote.

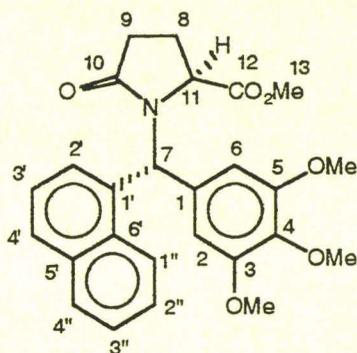
On remplace le réfrigérant par une colonne à distiller et, toujours sous azote, on introduit à la seringue 224,4 g de DL-pyroglutamate de méthyle N-silylé puis 1,5 ml d'acide triflique. On porte à 130°C.

Dès la fin de la distillation de l'hexaméthylsiloxane (entre 20 et 45 minutes), on ajoute du chlorure de méthylène et de l'eau. On extrait, la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de sodium et le solvant évaporé.

On obtient une huile granuleuse marron claire (mélange de 2 esters en RMN<sup>1</sup>H) qu'on laisse revenir à température ambiante. L'ajout d'environ 300 ml d'acétate d'éthyle entraîne la formation d'un précipité blanc correspondant à l'un des esters désirés (noté isomère 2). Après avoir filtré ce précipité, on évapore le filtrat et on obtient un deuxième ester (noté isomère 1), sous forme d'une huile marron, cristallisable dans l'acétate d'éthyle à froid.

## \* 1-[naphtyl-(3,4,5-triméthoxyphényl)-méthyl]pyroglutamate de méthyle (DL15a)

(isomère 1)



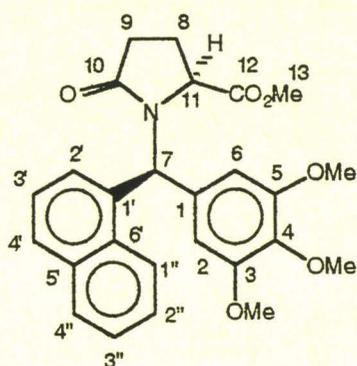
Rdt	:	41%
F (AcOEt)	:	67-69°C
Rf (SS3)	:	0,62
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1730 (C=O ester), 1680 (C=O lactame), 1590, 1505, 1450 (C=C), 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	1,95-2,24 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,24-2,91 (m, 3H, H <sub>8b</sub> et H <sub>9</sub> ); 2,45 (s, 3H, H <sub>13</sub> ); 3,78 (s, 6H, 3-OMe et 5-OMe); 3,86 (s, 3H, 4-OMe); 4,36 (d, J=9.4 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,35 (s, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,21 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,31-7,42 (m, 2H); 7,48-7,69 (m, 2H); 7,86 (t, J=9.4 Hz, 2H); 8,26 (d, J=8.4 Hz, 1H)
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	24,7 (C <sub>8</sub> ); 29,8 (C <sub>9</sub> ); 51,1 (C <sub>13</sub> ); 54,1 (C <sub>11</sub> ); 56,2 (3-OMe, 5-OMe); 59,0 (C <sub>7</sub> ); 70,0 (4-OMe); 104,3 (C <sub>2</sub> , C <sub>6</sub> ); 124,0; 125,2; 126,4; 127,1; 128,6; 129,3; 129,5 (C <sub>2'</sub> , C <sub>3'</sub> , C <sub>4'</sub> , C <sub>1''</sub> , C <sub>2''</sub> , C <sub>3''</sub> et C <sub>4''</sub> ); 132,8; 133,6; 134,8 ; 135,4; 137,4 (C <sub>1</sub> , C <sub>4</sub> , C <sub>1'</sub> , C <sub>5'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 171,5 (C <sub>10</sub> ); 175,5 (C <sub>12</sub> )

Anal. (C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>6</sub>, 1 MeOH : C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>7</sub> : 481,54) :

Calculé	:	C, 67.35; H, 6.49; N, 2.91; O, 23.26
Trouvé	:	C, 67.02; H, 6.19; N, 2.87; O, 23.34

## \* 1-[naphtyl-(3,4,5-triméthoxyphényl)-méthyl]pyroglutamate de méthyle (DL15b)

(isomère 2)



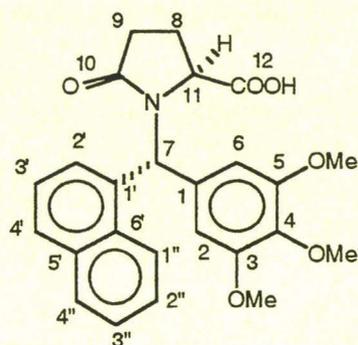
Rdt	:	40%
F (AcOEt)	:	210-215°C
Rf (SS3)	:	0,62
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1730 (C=O ester), 1685 (C=O lactame), 1585, 1500, 1450 (C=C), 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	1,95-2,20 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,20-2,60 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,60-2,90 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,39 (s, 3H, H <sub>13</sub> ); 3,75 (s, 6H, 3-OMe et 5-OMe); 3,82 (s, 3H, 4- OMe); 4,04 (d, J=8.5 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,51 (s, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,08 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,19 (d, J=7.2 Hz, 1H); 7,40-7,55 (m, 3H); 7,70-7,90 (m, 3H)
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	24,7 (C <sub>8</sub> ); 29,9 (C <sub>9</sub> ); 52,0 (C <sub>13</sub> ); 56,2 (3-OMe, 5-OMe); 57,7 (C <sub>11</sub> ); 59,2 (C <sub>7</sub> ); 60,8 (4-OMe); 106,9 (C <sub>2</sub> , C <sub>6</sub> ); 123,7; 124,8; 125,0; 126,0; 126,8; 129,0 (C <sub>2'</sub> , C <sub>3'</sub> , C <sub>4'</sub> , C <sub>1''</sub> , C <sub>2''</sub> , C <sub>3''</sub> et C <sub>4''</sub> ); 131,4; 133,9 ; 134,2; 134,7; 137,5 (C <sub>1</sub> , C <sub>4</sub> , C <sub>1'</sub> , C <sub>5'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 153,2 (C <sub>3</sub> , C <sub>5</sub> ); 173,1 (C <sub>10</sub> ); 175,8 (C <sub>12</sub> )

Anal. (C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>6</sub> : 449,50) : Calculé : C, 69.47; H, 6.05; N, 3.12; O, 21.36

Trouvé : C, 69.54; H, 6.17 ; N, 3.14; O, 21.61

## \*Acide N-[naphtyl-(3,4,5-triméthoxyphényl)-méthyl]pyroglutamique (DL16a)

(isomère 1)



On chauffe à 80°C pendant 4 heures 100 g (222,4 mmol) de **DL15a** recouverts de 220 ml de solution aqueuse de soude 2N. La phase aqueuse est ensuite lavée au chlorure de méthylène et chauffée pendant quelques minutes à 40°C sous vide pour évaporer les traces de chlorure de méthylène.

Une fois la solution revenue à température ambiante, on acidifie lentement celle-ci avec HCl concentré jusqu'à la précipitation complète de l'acide. Le précipité est ensuite filtré, lavé avec de l'eau à 10°C jusqu'à neutralité des eaux de lavage, et séché.

On obtient l'acide sous forme de poudre blanche. Celui-ci est recristallisable dans le méthanol.

Rdt	:	65%
F (MeOH)	:	235-240°C
Rf (SS3)	:	dépôt
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3400 (OH large), 1730 (C=O acide), 1630 (C=O lactame), 1590, 1500, 1450 (C=C), 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (DMSO)	:	2,00-2,15 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,3-2,7 (m, 3H, H <sub>8b</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,66 (s, 6H, 3-OMe et 5-OMe); 3,68 (s, 3H, 4-OMe); 4,23 (d, J=5.6Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,4 (s, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 7,2 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,25-7,37 (m, 2H); 7,4-7,58 (m, 2H); 7,75-7,85 (m, 2H); 8,2 (d, J=8.2Hz, 1H)

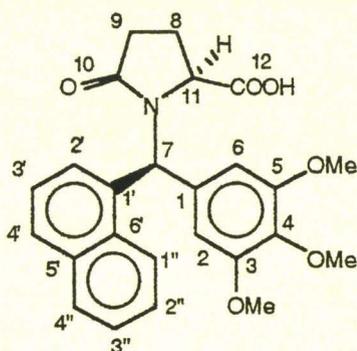
RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO) : 24,5 (C<sub>8</sub>); 29,4 (C<sub>9</sub>); 54,8 (C<sub>11</sub>); 55,7 (3-OMe et 5-OMe); 58,2 (C<sub>7</sub>);  
59,9 (4-OMe); 104,7 (C<sub>2</sub> et C<sub>6</sub>); 123,7; 125,1; 125,7; 126,3; 127,7;  
128,5 (C<sub>2'</sub>, C<sub>3'</sub>, C<sub>4'</sub>, C<sub>1''</sub>, C<sub>2''</sub>, C<sub>3''</sub> et C<sub>4''</sub>); 132,0; 133,2; 135,0;  
135,8; 136,5 (C<sub>1</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>1'</sub>, C<sub>5'</sub> et C<sub>6'</sub>); 152,9 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>); 173,0 (C<sub>10</sub>);  
174,9 (C<sub>12</sub>)

Anal. (C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub> : 435,47) : Calculé : C, 68.95; H, 5.79; N, 3.22; O, 22.04

Trouvé : C, 68.58; H, 5.82; N, 3.60; O, 21.74

## \*Acide N-[naphtyl-(3,4,5-triméthoxyphényl)-méthyl]pyroglutamique (DL16b)

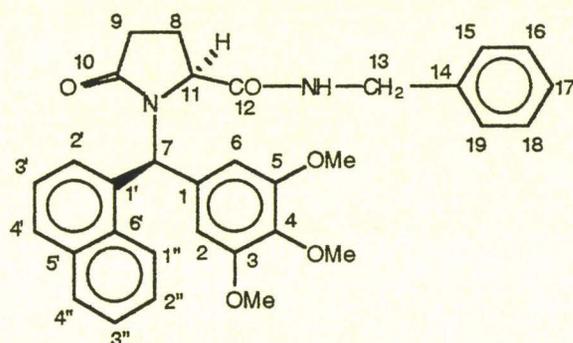
(isomère 2)



Le même mode opératoire est suivi pour l'acide DL16b que pour l'acide DL16a mais en prenant comme réactif de départ l'ester DL15b.

Rdt	:	77%
F (MeOH)	:	185-190°C
Rf (SS3)	:	dépôt
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3400 (OH large), 1735 (C=O acide), 1635 (C=O lactame), 1590, 1500, 1450 (C=C), 1130 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (DMSO)	:	2,20-2,80 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,61 (s, 3H, 4-OMe); 3,64 (s, 6H, 3-OMe et 5-OMe); 4,10 (d, J=7.2Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,59 (s, 2H, H <sub>2</sub> et H <sub>6</sub> ); 6,80 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,36 (d, J=7.2Hz, 1H); 7,43-7,58 (m, 2H); 7,83-8,00 (m, 3H)
RMN <sup>13</sup> C (DMSO)	:	24,2 (C <sub>8</sub> ); 29,5 (C <sub>9</sub> ); 55,7 (3-OMe et 5-OMe); 57,3 (C <sub>11</sub> ); 59,2 (C <sub>7</sub> ); 59,9 (4-OMe); 107,9 (C <sub>2</sub> et C <sub>6</sub> ); 123,5; 123,6; 125,4; 125,7; 126,4; 128,0; 128,7 (C <sub>2'</sub> , C <sub>3'</sub> , C <sub>4'</sub> , C <sub>1''</sub> , C <sub>2''</sub> , C <sub>3''</sub> et C <sub>4''</sub> ); 130,4; 133,3; 133,5; 136,1; 137,4 (C <sub>1</sub> , C <sub>4</sub> , C <sub>1'</sub> , C <sub>5'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 152,5 (C <sub>3</sub> , C <sub>5</sub> ); 173,87 (C <sub>10</sub> ); 174,7 (C <sub>12</sub> )
Anal. (C <sub>25</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>6</sub> : 435,47)	: Calculé	: C, 68.95; H, 5.79; N, 3.22; O, 22.04
	: Trouvé	: C, 69.21; H, 5.90; N, 3.46; O, 21.75

\* N-[naphtyl-(3,4,5-triméthoxyphényl)-méthyl]-pyrrolidin-2-(benzylcarbamoyle)-5-one  
(DL17)



On ajoute à la seringue 13,2 ml de chlorure d'oxalyle (151,6 mmol) à 30 g (68,9 mmol) de **DL16b** (isomère 2) en suspension dans 120 ml de chlorure de méthylène à 10°C et sous atmosphère d'azote. On se place ensuite à température ambiante pendant 18 heures. La suspension est devenue une solution marron foncé. On évapore l'excès de chlorure d'oxalyle et l'HCl formé sous vide mais sans chauffer.

On dissout le résidu dans 100 ml de chlorure de méthylène et on se remet sous atmosphère d'azote. On ajoute alors à l'ampoule à brome un mélange de 8,4 ml de benzylamine (75,8 mmol), de 18 ml de pyridine (222 mmol) et de 60 ml de chlorure de méthylène, à 10°C. On laisse ensuite à température ambiante pendant 3 jours.

On lave la phase organique avec une solution d'acide citrique à 10%, puis avec une solution aqueuse saturée en bicarbonate de sodium. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium et le solvant évaporé.

On obtient une huile marron, cristallisable dans l'acétone.

Rdt	:	75%
F (acétone)	:	193-195°C
Rf (SS3)	:	0,38
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3340 (NH), 1670 (C=O large), 1585, 1500, 1450 (C=C), 1130 (C-O)

HPLC (15%A, 85%B) : temps de rétention : 6,1s

pureté : l = 220 nm : 99,11%

l = 230nm : 99,15%

l = 254nm : 99,35%

l = 280nm : 99,82%

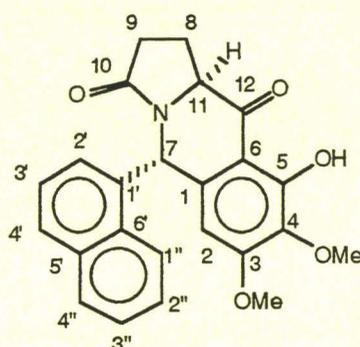
RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2,02-2,15(m, 2H, H<sub>8a</sub> et H<sub>9a</sub>); 2,32-2,51 (m, 1H, H<sub>9b</sub>); 2,83-3,06 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,36 (t, J=5.8Hz, 1H, NH); 3,74 (s, 6H, 3-OMe et 5-OMe); 3,85 (s, 3H, 4-OMe); 4,10 (dd, J<sub>1</sub>=14.5Hz, J<sub>2</sub>=5.8Hz, 1H, H<sub>13</sub>); 4,20 (dd, J<sub>1</sub>=14.5Hz, J<sub>2</sub>=5.8Hz, 1H, H<sub>13</sub>); 5,16 (t, J=5.8Hz, 1H, H<sub>11</sub>); 6,65 (s, 2H, H<sub>2</sub> et H<sub>6</sub>); 6,90-7,21 (m, 5H, H<sub>15</sub>, H<sub>16</sub>, H<sub>17</sub>, H<sub>18</sub> et H<sub>19</sub>); 7,22-7,35 (m, 3H); 7,46-7,60 (m, 2H); 7,73-7,95 (m, 3H)

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 25,1 (C<sub>8</sub>); 30,2 (C<sub>9</sub>); 43,6 (C<sub>13</sub>); 56,1 (3-OMe et 5-OMe); 57,9; 60,8 (C<sub>7</sub>, C<sub>11</sub> et 4-OMe); 105,8 (C<sub>2</sub> et C<sub>6</sub>); 123,0; 124,9; 126,4; 127,1; 127,4; 127,9; 128,0; 128,9; 129,2; 129,3 (C<sub>2'</sub>, C<sub>3'</sub>, C<sub>4'</sub>, C<sub>1''</sub>, C<sub>2''</sub>, C<sub>3''</sub>, C<sub>4''</sub>, C<sub>15</sub>, C<sub>16</sub>, C<sub>17</sub>, C<sub>18</sub> et C<sub>19</sub>); 131,8; 133,9; 134,3; 134,7; 137,0; 137,2 (C<sub>1</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>1'</sub>, C<sub>5'</sub>, C<sub>6'</sub> et C<sub>14</sub>); 153,3 (C<sub>3</sub> et C<sub>5</sub>); 171,8 (C<sub>10</sub>); 176,6 (C<sub>12</sub>)

Anal. (C<sub>32</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> : 525,62) : Calculé : C, 73.26; H, 6.15; N, 5.34; O, 15.25

Trouvé : C, 73.28; H, 6.19; N, 5.27; O, 15.37

\* 9-hydroxy-7,8-diméthoxy-5-naphtyl-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizine-3,10-dione (DL18)



On ajoute 19,5 ml (138 mmol) d'anhydride trifluoroacétique à 30 g (68,9 mmol) de composé **DL15b** (isomère 2) en suspension dans 500 ml de dichloroéthane, sous atmosphère d'azote. Le mélange devient très rapidement limpide. On ajoute alors 69,6 ml (551 mmol) de  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$ . On porte le tout à reflux. Après 9 heures de chauffage, on filtre un précipité jaune qui est lavé à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. Ce précipité est dissous dans le chlorure de méthylène. La phase organique est alors séchée sur sulfate de sodium et le solvant évaporé. On obtient une poudre jaune pâle, recristallisable dans l'acétate d'éthyle.

Rdt	:	70%
F (AcOEt)	:	230°C (dégradation)
Rf (SS3)	:	0,87
IR ( $\text{cm}^{-1}$ )	:	1730 (C=O cétone), 1685 (C=O lactame), 1610, 1500, 1450 (C=C), 1100 (C-O)
RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	:	2,10-2,56 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,85 (s, 3H, OMe); 3,95 (s, 3H, OMe); 4,07 (d, J=6.6 Hz, 1H, H <sub>1</sub> ); 6,38 (s, 1H, H <sub>2</sub> ); 6,80 (d, J=6.6 Hz, 1H); 7,17 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,31 (t, J=6.6 Hz, 1H); 7,51-7,74 (m, 2H); 7,78-7,97 (m, 2H); 8,64 (d, J=9.5 Hz, 1H); 12,24 (s, 1H, OH)

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 19,9 ( $\text{C}_8$ ); 30,0 ( $\text{C}_9$ ); 51,6 ( $\text{C}_{11}$ ); 56,4 (3-OMe); 58,3 (4-OMe); 61,0 ( $\text{C}_7$ ); 103,2 ( $\text{C}_2$ ); 111,6 ( $\text{C}_6$ ); 124,1; 124,9; 126,6; 126,9; 127,6; 128,9; 129,6 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_4'$ ,  $\text{C}_{1''}$ ,  $\text{C}_{2''}$ ,  $\text{C}_{3''}$  et  $\text{C}_{4''}$ ); 131,8; 134,1; 134,3; 135,8; 139,7 ( $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_{1'}$ ,  $\text{C}_{5'}$  et  $\text{C}_{6'}$ ); 157,2 ( $\text{C}_{3'}$  ou  $\text{C}_{5'}$ ); 159,6 ( $\text{C}_{3'}$  ou  $\text{C}_{5'}$ ); 173,1 ( $\text{C}_{10}$ ); 200,2 ( $\text{C}_{12}$ )

Anal. ( $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{NO}_5$  : 365,35) : Calculé : C, 71.45; H, 5.25; N, 3.47; O, 19.83

Trouvé : C, 71.24; H, 5.50; N, 3.45; O, 19.94

\* obtention des produits DL18, DL19, DL20 et DL21 à partir de l'acide DL15a

On ajoute 15,6 ml (110 mmol) d'anhydride trifluoroacétique à 24 g (55 mmol) de composé **DL15a** (isomère 1) en suspension dans 500 ml de dichloroéthane, sous atmosphère d'azote. Le mélange devient très rapidement limpide. On ajoute alors 55,7 ml (441 mmol) de  $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$ . On porte le tout à reflux. Après 9 heures de chauffage, on concentre la solution aux deux tiers et on l'hydrolyse. On ajoute du chlorure de méthylène. La phase organique est lavée à l'eau puis à l'eau saturée en bicarbonate de sodium, séchée et évaporée.

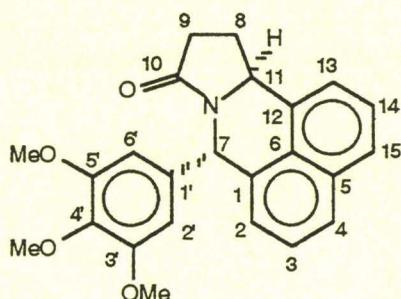
On obtient une huile marron que l'on dissout à chaud dans un minimum d'acétate d'éthyle. On laisse ensuite une nuit au réfrigérateur et on obtient une première poudre verdâtre correspondant au composé **DL19** et recristallisable dans l'acétate d'éthyle et le méthanol (rendement = 15%).

On concentre légèrement le filtrat que l'on replace au réfrigérateur et on obtient une deuxième poudre marron clair correspondant au composé **DL20** et recristallisable dans l'acétate d'éthyle et le méthanol (rendement = 15%).

Enfin, par la même méthode, on obtient le produit **DL18** qui cristallise (rendement = 30%).

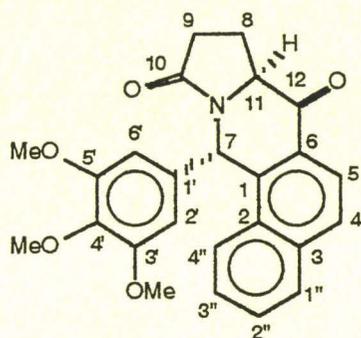
En lavant l'huile brut de mélange à l'heptane, on peut cristalliser un quatrième produit de cyclisation mais ayant perdu la partie pyroglutamique : le composé **DL21**, qui est recristallisable dans l'acétate d'éthyle (rendement = 2%).

## \* 5-(3,4,5-triméthoxyphényl)-naphto[1,8-f,g]indolizin-3-one (DL19)



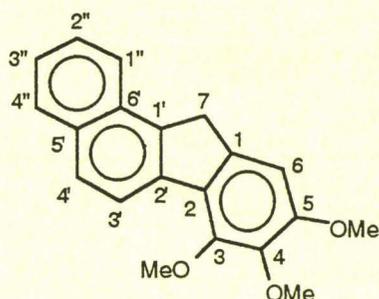
Rdt	:	15%	
F (AcOEt)	:	187-189°C (dégradation)	
Rf (SS3)	:	0,40	
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1670 (C=O), 1585, 1500, 1460 (C=C), 1130 (C-O)	
HPLC (10%A, 90%B)	:	temps de rétention : 6,5s	
		pureté :	
		l = 220nm	: 98,82%
		l = 230nm	: 98,80%
		l = 254nm	: 100%
		l = 280nm	: 100%
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,08-2,31 (m, 1H, H <sub>8a</sub> ); 2,48-2,69 (m, 2H, H <sub>9</sub> ); 2,70-2,93 (m, 1H, H <sub>8b</sub> ); 3,65 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,79 (s, 3H, 4'-OMe); 4,98 (t, J=7.5 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,30 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 6,66 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,33 (d, J=7.5Hz, 1H, H <sub>2</sub> ou H <sub>13</sub> ); 7,38 (d, J=7.5Hz, 1H, H <sub>2</sub> ou H <sub>13</sub> ); 7,52 (t, J=7.5Hz, 1H, H <sub>3</sub> ou H <sub>14</sub> ); 7,54 (t, J=7.5Hz, 1H, H <sub>3</sub> ou H <sub>14</sub> ); 7,85 (d, J=7.5Hz, 2H, H <sub>4</sub> et H <sub>15</sub> )	
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	26,4 (C <sub>8</sub> ); 31,5 (C <sub>9</sub> ); 53,6 (C <sub>11</sub> ); 54,8 (C <sub>7</sub> ); 56,2 (3'-OMe et 5'-OMe); 60,8 (4'-OMe); 105,6 (C <sub>2'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 121,3 (C <sub>2</sub> ou C <sub>13</sub> ); 125,5 (C <sub>2</sub> ou C <sub>13</sub> ); 125,9 (C <sub>3</sub> ou C <sub>14</sub> ); 126,0 (C <sub>3</sub> ou C <sub>14</sub> ); 127,4 (C <sub>4</sub> ou C <sub>15</sub> ); 127,7 (C <sub>4</sub> ou C <sub>15</sub> ); 131,7 (C <sub>1</sub> ); 133,4 (C <sub>5</sub> ou C <sub>12</sub> ); 135,8 (C <sub>5</sub> ou C <sub>12</sub> ); 137,0 (C <sub>6</sub> et C <sub>1'</sub> ); 137,6 (C <sub>4'</sub> ); 153,4 (C <sub>3'</sub> et C <sub>5'</sub> ); 173,2 (C <sub>10</sub> )	
Anal. (C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub> : 389,45)	: Calculé	:	C, 74.02; H, 5.95; N, 3.60; O, 16.43
	: Trouvé	:	C, 74.04; H, 5.92; N, 3.67; O, 16.60

\* 5-(3,4,5-triméthoxyphényl)-naphto[1,2-f]-1,2,3,5,12,12a-hexahydro indolizine-  
3,12-dione (DL20)



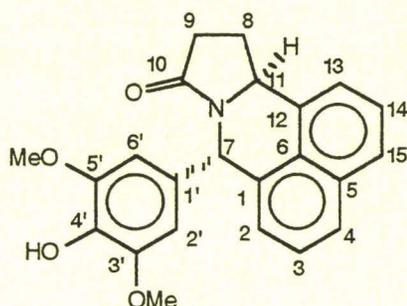
Rdt	:	15%	
F (AcOEt)	:	200-203°C	
Rf (SS3)	:	0,70	
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1670 (C=O), 1590, 1500, 1460 (C=C), 1120 (C-O)	
HPLC (10%A, 90%B)	:	temps de rétention : 6,0s	
		pureté :	
		l = 220nm	: 99,27%
		l = 230nm	: 99,25%
		l = 254nm	: 99,68%
		l = 280nm	: 99,28%
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,34-2,61 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,68 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 3,81 (s, 3H, 4'-OMe); 4,36 (m, 1H, H <sub>1</sub> ); 6,42 (s, 2H, H <sub>2'</sub> et H <sub>6'</sub> ); 7,16 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,45-7,69 (m, 2H); 7,86 (m, 3H); 8,23 (d, J=8.8Hz, 1H, H <sub>5</sub> )	
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	20,9 (C <sub>8</sub> ); 30,3 (C <sub>9</sub> ); 52,4 (C <sub>11</sub> ); 56,3 (3'-OMe et 5'-OMe); 58,4 (C <sub>7</sub> ); 60,8 (4'-OMe); 105,6 (C <sub>2'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 121,3; 126,1; 127,8; 128,5; 129,0; 129,4 (C <sub>4</sub> , C <sub>5</sub> , C <sub>1''</sub> , C <sub>2''</sub> , C <sub>3''</sub> et C <sub>4''</sub> ); 129,4; 129,8; 134,0; 136,2; 138,2; 140,2 (C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> , C <sub>6</sub> , C <sub>1'</sub> et C <sub>4'</sub> ); 153,8 (C <sub>3'</sub> et C <sub>5'</sub> ); 173,4 (C <sub>10</sub> ); 195,3 (C <sub>12</sub> )	
Anal. (C <sub>25</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>5</sub> : 417,47)	:	Calculé	: C, 71.93; H, 5.55; N, 3.36; O, 19.16
	:	Trouvé	: C, 72.05; H, 5.58; N, 3.40; O, 19.12

## \* 7,8,9-triméthoxy-11H-benzo[a]fluorène (DL21)



Rdt	:	2%
F (AcOEt)	:	137-139°C
Rf (SS2)	:	0,77
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	1600, 1460 (C=C), 1100 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	3,96 (s, 6H, 3-OMe et 5-OMe); 4,10 (s, 3H, 4-OMe); 4,14 (s large, 2H, H <sub>7</sub> ); 7,01 (s, 1H, H <sub>6</sub> ); 7,38-7,57 (m, 2H); 7,85 (t, J=8.4Hz, 1H, H <sub>2''</sub> ou H <sub>3''</sub> ); 7,88-8,00 (m, 2H); 8,19 (d, J=8.4Hz, 1H, H <sub>1''</sub> ou H <sub>4''</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> )	:	36,2 (C <sub>7</sub> ); 56,4 (5-OMe); 61,0 (3-OMe ou 4-OMe); 61,3 (3-OMe ou 4-OMe); 104,9 (C <sub>5</sub> ); 121,4; 123,9; 125,0; 126,4; 127,9; 129,0 (C <sub>3'</sub> , C <sub>4'</sub> , C <sub>1''</sub> , C <sub>2''</sub> , C <sub>3''</sub> et C <sub>4''</sub> ); 128,4; 130,5; 132,1; 138,6; 138,8; 139,6; 141,6; 149,2 (C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub> , C <sub>1'</sub> , C <sub>2'</sub> , C <sub>5'</sub> et C <sub>6'</sub> ); 153,2 (C <sub>6</sub> )
Anal. (C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub> : 306,36)	Calculé	: C, 78.41; H, 5.92; O, 15.67
	Trouvé	: C, 78.08; H, 6.15; O, 15.39

## \* 5-(4-hydroxy-3,5-diméthoxyphényl)-naphto[1,8-f,g]indolizin-3-one (DL22)



A une solution de méthanol (7,5 ml; 185 mmol) et de bromure d'acétyle (13,7 ml; 185 mmol) refroidie à  $-10^{\circ}\text{C}$ , on ajoute lentement à l'ampoule à brome le composé **DL19** (3,6 g; 9,2 mmol) dissous dans 50 ml de chlorure de méthylène. Au bout de 2 jours à température ambiante, on filtre un précipité que l'on redissout dans le chlorure de méthylène et que l'on lave à l'eau saturée en bicarbonate de sodium jusqu'à neutralité des eaux de lavage. On sèche la phase organique sur sulfate de sodium et on évapore le solvant.

On applique les mêmes traitements au filtrat de la réaction qui contient encore une faible quantité de produit désiré.

On obtient une huile verdâtre que l'on dissout dans l'acétate d'éthyle à chaud. On laisse ensuite revenir à température ambiante.

On obtient un précipité grisâtre, recristallisable dans le méthanol.

Néanmoins, il faut réaliser de nombreuses recristallisations, car le produit **DL22** est contaminé par une impureté de type diphenolique **DL24**, difficile à séparer (ce produit est plus légèrement plus soluble dans le méthanol que **DL22**).

Rdt	:	40% (mélange du produit et d'une impureté de type diphenol représentant environ, d'après la RMN $^1\text{H}$ , 8% du mélange)
F (MeOH)	:	96-98°C (dégradation)
Rf (SS3)	:	0,51
IR ( $\text{cm}^{-1}$ )	:	3440 (OH large), 1670 (C=O), 1600, 1510, 1460 (C=C), 1120 (C-O)

HPLC (30%A, 70%B) : temps de rétention : 11,5s

pureté :  $\lambda = 254\text{nm}$  : 98,90%

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2,05-2,15 (m, 1H, H<sub>8a</sub>); 2,49-2,67 (m, 2H, H<sub>9</sub>); 2,67-2,92 (m, 1H, H<sub>8b</sub>); 3,68 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 4,95(t, J=7.5 Hz, 1H, H<sub>11</sub>); 5,46 (s, 1H, OH); 6,31 (s, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 6,65 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 7,33 (d, J=8.0 Hz, 1H, H<sub>2</sub> ou H<sub>13</sub>); 7,38 (d, J=8.0 Hz, 1H, H<sub>2</sub> ou H<sub>13</sub>); 7,52 (t, J=8.0 Hz, 1H, H<sub>3</sub> ou H<sub>14</sub>); 7,55 (t, J=8.0 Hz, 1H, H<sub>3</sub> ou H<sub>14</sub>); 7,85 (d, J=8.0 Hz, 2H, H<sub>4</sub> et H<sub>15</sub>)

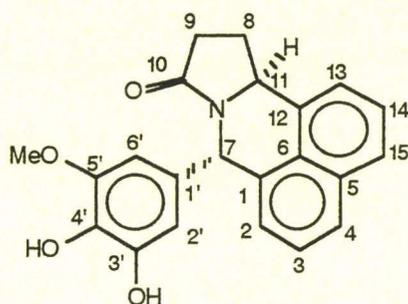
RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 26,4 (C<sub>8</sub>); 31,5 (C<sub>9</sub>); 53,5 (C<sub>11</sub>); 54,7 (C<sub>7</sub>); 56,4 (3'-OMe et 5'-OMe); 105,3 (C<sub>2'</sub> et C<sub>6'</sub>); 121,3 (C<sub>2</sub> ou C<sub>13</sub>); 125,5 (C<sub>2</sub> ou C<sub>13</sub>); 125,9 (C<sub>3</sub> ou C<sub>14</sub>); 126,0 (C<sub>3</sub> ou C<sub>14</sub>); 127,4 (C<sub>4</sub> ou C<sub>15</sub>); 127,7 (C<sub>4</sub> ou C<sub>15</sub>); 131,8 (C<sub>1</sub>); 132,7 (C<sub>5</sub> ou C<sub>12</sub>); 133,4 (C<sub>5</sub> ou C<sub>12</sub>); 134,5 (C<sub>6</sub> et C<sub>1'</sub>); 135,9 (C<sub>4'</sub>); 147,1 (C<sub>3'</sub> et C<sub>5'</sub>); 173,2 (C<sub>10</sub>)

Anal. ( $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ , 1 MeOH :  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{NO}_5$  : 407,46) :

Calculé : C, 70.75; H, 6.18; N, 3.44; O, 19.63

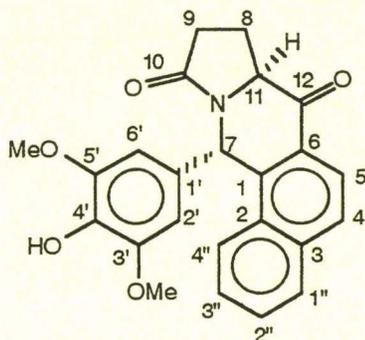
Trouvé : C, 70.41; H, 6.01; N, 3.29; O, 19.79

## \* 5-(3,4-dihydroxy-5-méthoxyphényl)-naphto[1,8-f,g]indolizin-3-one (DL24)



Rdt	:	8%	
F (MeOH)	:	238-240°C (dégradation)	
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3440 (OH large), 1650 (C=O), 1600, 1510, 1445 (C=C), 1105 (C-O)	
HPLC (30%A, 70%B)	:	temps de rétention : 8,0s	
		pureté :	
		l = 220nm	: 94,84%
		l = 230nm	: 95,01%
		l = 254nm	: 100%
		l = 280nm	: 100%
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	1,95-2,70 (m, 4H, H <sub>8</sub> et H <sub>9</sub> ); 3,61 (s, 3H, 5'-OMe); 4,92 (t, J=8.0 Hz, 1H, H <sub>11</sub> ); 6,28 (s, 1H, H <sub>2'</sub> ou H <sub>6'</sub> ); 6,40 (s, 1H, H <sub>2'</sub> ou H <sub>6'</sub> ); 6,65 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,41-7,50 (m, 2H); 7,51-7,64 (m, 2H); 7,93 (d, J=8.3 Hz, 2H); 8,25 (s, 1H, OH); 8,82 (s, 1H, OH)	
Anal. (C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub> : 361,39)	: Calculé	:	C, 73.12; H, 5.30; N, 3.88; O, 17.71
	: Trouvé	:	C, 73.23; H, 5.48; N, 3.72; O, 17.56

\* **5-(4-hydroxy-3,5-diméthoxyphényl)-naphto[1,2-f]-1,2,3,5,12,12a-hexahydro  
indolizine-3,12-dione (DL23)**



A une solution de méthanol (7,8 ml; 192 mmol) et de bromure d'acétyle (14,2 ml; 192 mmol) refroidie à  $-10^{\circ}\text{C}$ , on ajoute lentement à l'ampoule à brome le composé **DL20** (4 g; 9,6 mmol) dissous dans 50 ml de chlorure de méthylène. Au bout de 3 jours à température ambiante, on filtre un précipité que l'on redissout dans le chlorure de méthylène et que l'on lave à l'eau saturée en bicarbonate de sodium jusqu'à neutralité des eaux de lavage. On sèche la phase organique sur sulfate de sodium et on évapore le solvant.

On applique les mêmes traitements au filtrat de réaction qui contient encore une faible quantité de produit désiré.

On obtient une huile marron que l'on dissout dans l'acétate d'éthyle à chaud. On laisse ensuite revenir à température ambiante.

On obtient un précipité bleu, recristallisable dans le méthanol.

Néanmoins, il faut réaliser de nombreuses recristallisations, car le produit **DL23** est contaminé par une impureté de type diphénolique difficile à séparer.

Rdt	:	30% (mélange du produit et d'une impureté de type diphénol représentant environ, d'après la RMN $^1\text{H}$ , 10% du mélange)
F (MeOH)	:	194-197°C (dégradation)
Rf (SS3)	:	0,60

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3300 (OH large), 1680 (C=O large), 1600, 1510, 1460 (C=C), 1110 (C-O)

HPLC (30%A, 70%B) : temps de rétention : 9,6s

pureté : l = 220nm : 96,49%

l = 230nm : 97,80%

l = 254nm : 97,45%

l = 280nm : 100%

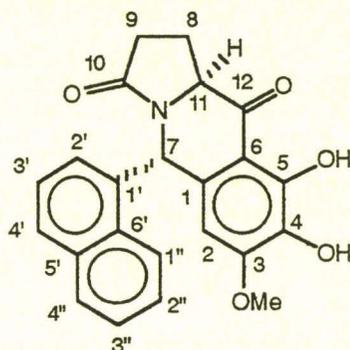
RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 2,35-2,63 (m, 4H, H<sub>8</sub> et H<sub>9</sub>); 3,72 (s, 6H, 3'-OMe et 5'-OMe); 4,34 (m, 1H, H<sub>1</sub>); 5,51 (s, 1H, OH); 6,43 (s, 2H, H<sub>2'</sub> et H<sub>6'</sub>); 7,16 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 7,45-7,67 (m, 2H); 7,87-7,98 (m, 3H); 8,22 (d, J=8.8Hz, 1H, H<sub>5</sub>)

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : 20,9 (C<sub>8</sub>); 30,4 (C<sub>9</sub>); 52,4 (C<sub>1</sub>); 56,5 (3'-OMe, 5'-OMe); 58,4 (C<sub>7</sub>); 105,4 (C<sub>2'</sub>, C<sub>6'</sub>); 122,4; 126,2; 127,7; 128,5; 129,0; 129,3 (C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>1''</sub>, C<sub>2''</sub>, C<sub>3''</sub> et C<sub>4''</sub>); 129,3; 129,7; 129,8; 135,2; 136,3; 140,4 (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>1'</sub> et C<sub>4'</sub>); 147,8 (C<sub>3'</sub> et C<sub>5'</sub>); 173,4 (C<sub>10</sub>); 195,3 (C<sub>12</sub>)

Anal. (C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub> : 403,44) : Calculé : C, 71.45; H, 5.25; N, 3.47; O, 19.83

Trouvé : C, 71.03; H, 5.34; N, 3.60; O, 20.03

\* 8,9-dihydroxy-7-méthoxy-5-naphtyl-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizine-3,10-dione (DL25)



Dans un bicol, on mélange 2 g (4,9 mmol) du composé **DL18** et 50 ml d'HBr à 48%. Après 6 heures de chauffage à reflux (disparition du réactif en CCM), on filtre un précipité qu'on lave à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. Il est ensuite repris dans un mélange chlorure de méthylène / acétone. On obtient une poudre quasiment blanche. La phase aqueuse ne contient pas de produit **DL25**.

Rdt	:	40%
F (acétone)	:	> 270°C (dégradation)
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3440 (OH), 1685 (C=O cétone), 1630 (C=O lactame), 1450, 1400 (C=C), 1090 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (DMSO)	:	2,11-2,40 (m, 4H, H <sub>g</sub> et H <sub>g'</sub> ); 3,79 (s, 3H, 3-OMe); 4,09 (d, J=8.5 Hz, 1H, H <sub>1</sub> ); 6,77 (s, 1H, H <sub>2</sub> ); 6,86 (d, J=8.5 Hz, 1H, H <sub>2'</sub> ); 7,12 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,40 (t, J=8.5 Hz, 1H, H <sub>3'</sub> ); 7,60 (t, J=8.5 Hz, 2H, H <sub>2''</sub> et H <sub>3''</sub> ); 7,85 (d, J=8.5 Hz, 1H, H <sub>4'</sub> ); 7,93 (d, J=8.5 Hz, 1H, H <sub>4''</sub> ); 8,60 (d, J=8.5 Hz, 1H, H <sub>1''</sub> ); 12,06 (s, 1H, OH)

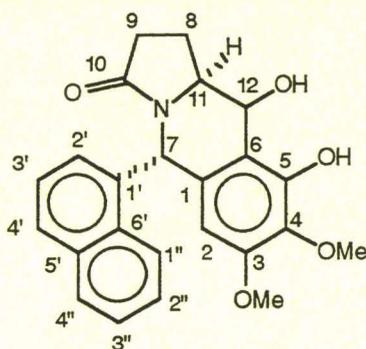
deuxième fonction phénolique non visible

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 19,8 ( $\text{C}_8$ ); 30,0 ( $\text{C}_9$ ); 51,5 ( $\text{C}_{11}$ ); 56,5 (3-OMe); 58,5 ( $\text{C}_7$ ); 102,8 ( $\text{C}_2$ );  
111,2 ( $\text{C}_6$ ); 124,1; 124,9; 126,6; 126,9; 127,5; 128,9; 129,6 ( $\text{C}_2'$ ,  
 $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_4'$ ,  $\text{C}_1''$ ,  $\text{C}_2''$ ,  $\text{C}_3''$  et  $\text{C}_4''$ ); 131,8; 132,7; 134,1; 134,5; 135,4  
( $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_1'$ ,  $\text{C}_5'$  et  $\text{C}_6'$ ); 150,1 ( $\text{C}_3$ ); 153,6 ( $\text{C}_5$ ); 173,2 ( $\text{C}_{10}$ ); 200,3  
( $\text{C}_{12}$ )

Anal. ( $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_4$  : 373,40) : Calculé : C, 70.94; H, 4.92; N, 3.60; O, 20.54

Trouvé : C, 70.66; H, 4.90; N, 3.90; O, 20.28

\* 9,10-dihydroxy-7,8-diméthoxy-5-naphtyl-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]  
indolizin-3-one (DL26)



On met en suspension 3 g (7,4 mmol) du composé **DL18** dans 150 ml d'éthanol. On ajoute lentement 0,52 g de borohydrure de sodium (13,8 mmol). Après 5 heures de chauffage à reflux (disparition du produit de départ en CCM), on ajoute 15 ml d'acide acétique glacial et on évapore le solvant. Le résidu est ensuite dissous dans le chlorure de méthylène, lavé à l'eau, puis à l'eau saturée en bicarbonate de sodium. On sèche enfin la phase organique sur sulfate de sodium et évapore les solvants. On obtient une poudre jaunâtre recristallisable dans l'acétate d'éthyle.

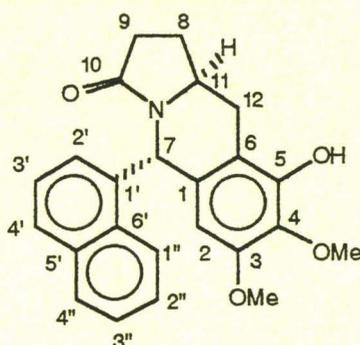
Rdt	:	100%
F (AcOEt)	:	205-207°C (dégradation)
Rf (SS2)	:	0,16
IR (cm <sup>-1</sup> )	:	3200 (OH large), 1635 (C=O), 1500, 1450 (C=C), 1125 (C-O)
RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> )	:	2,01-2,18 (m, 2H, H <sub>g</sub> ); 2,39-2,60 (m, 2H, H <sub>g</sub> ); 3,62-3,66 (m, 1H, H <sub>11</sub> ); 3,68 (s, 3H, OMe); 3,94 (s, 3H, OMe); 4,90 (d, J=8.5 Hz, 1H, H <sub>12</sub> ); 6,15 (s, 1H, H <sub>2</sub> ); 6,80 (s large, 1H, C <sub>12</sub> -OH); 6,95 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,05 (d, 1H, J=8.5Hz, 1H); 7,33 (t, J=8.5Hz, 1H); 7,49-7,70 (m, 2H); 7,76-7,96 (m, 2H); 8,77 (d, J=8.5Hz, 1H); 12,06 (s, 1H, C <sub>5</sub> -OH)

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 22,1 ( $\text{C}_8$ ); 29,7 ( $\text{C}_9$ ); 51,2 ( $\text{C}_{11}$ ); 55,1 (3-OMe); 55,9 (4-OMe); 61,2 ( $\text{C}_7$ ); 68,2 ( $\text{C}_{12}$ ); 103,5 ( $\text{C}_2$ ); 118,1 ( $\text{C}_6$ ); 124,4; 125,0; 126,2; 127,1; 128,2; 128,7; 128,9 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_4'$ ,  $\text{C}_1''$ ,  $\text{C}_2''$ ,  $\text{C}_3''$  et  $\text{C}_4''$ ); 131,8; 132,1; 133,9; 134,8; 136,6 ( $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_1'$ ,  $\text{C}_5'$  et  $\text{C}_6'$ ); 148,2 ( $\text{C}_3$  ou  $\text{C}_5$ ); 152,1 ( $\text{C}_3$  ou  $\text{C}_5$ ); 172,9 ( $\text{C}_{10}$ )

Anal. ( $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{NO}_5$  : 405,45) : Calculé : C, 71.10; H, 5.72; N, 3.45; O, 19.73

Trouvé : C, 70.80; H, 5.54; N, 3.14; O, 19.49

\* 9-hydroxy-7,8-diméthoxy-5-naphtyl-1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizin-3-one (DL27)



On dissout 1 g (2,5 mmol) du composé **DL26** dans 6 ml d'acide trifluoroacétique et on ajoute lentement à la seringue 0,8 ml (5 mmol) de triéthylsilane en refroidissant légèrement la solution et sous atmosphère d'azote. Après 2 jours à température ambiante, on termine la réaction en chauffant à reflux pendant 2 heures (disparition du produit de départ en CCM). On dilue dans l'eau puis on extrait au chlorure de méthylène. On lave la phase organique à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. On sèche sur sulfate de sodium et on évapore le solvant.

On obtient une poudre jaune qu'on recristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'heptane.

Rdt	:	82%
F (AcOEt/heptane)	:	134-137°C (dégradation)
Rf (SS2)	:	0,32
IR ( $\text{cm}^{-1}$ )	:	3380 (OH), 1670 (C=O), 1575, 1500, 1450 (C=C), 1130 (C-O)
RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	:	1,69-2,10 (m, 2H, H <sub>8</sub> ); 2,30-2,72 (m, 3H, H <sub>9</sub> et H <sub>12a</sub> ); 3,04 (dd, J <sub>1</sub> =5.4 Hz, J <sub>2</sub> =16.8 Hz 1H, H <sub>12b</sub> ); 3,66 (s, 3H, OMe); 3,73-3,88 (m, 1H, H <sub>11</sub> ); 3,93 (s, 3H, OMe); 6,15 (s, 1H, H <sub>2</sub> ); 6,90 (d, J=9.3 Hz, 1H); 7,00 (s, 1H, H <sub>7</sub> ); 7,31 (t, J=9.3 Hz, 1H); 7,48-7,72 (m, 2H); 7,79 (d, J=9.3 Hz, 1H); 7,89 (d, J=9.3 Hz, 1H); 8,83 (d, J=9.3 Hz, 1H); 12,06 (s, 1H, OH)

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 24,0 ( $\text{C}_8$ ); 28,3 ( $\text{C}_9$  ou  $\text{C}_{12}$ ); 29,6 ( $\text{C}_9$  ou  $\text{C}_{12}$ ); 49,5 ( $\text{C}_{11}$ ); 51,3 (3-  
OMe); 55,8 (4-OMe); 61,1 ( $\text{C}_7$ ); 103,5 ( $\text{C}_2$ ); 114,8 ( $\text{C}_6$ ); 124,7; 124,9;  
126,2; 127,1; 128,1; 128,6; 128,7 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_4'$ ,  $\text{C}_1''$ ,  $\text{C}_2''$ ,  $\text{C}_3''$  et  
 $\text{C}_4''$ ); 130,9; 132,1; 133,9; 134,3; 137,9 ( $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_1'$ ,  $\text{C}_5'$  et  $\text{C}_6'$ );  
147,0 ( $\text{C}_3$  ou  $\text{C}_5$ ); 150,9 ( $\text{C}_3$  ou  $\text{C}_5$ ); 172,8 ( $\text{C}_{10}$ )

Anal. ( $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{NO}_4$  : 389,46) : Calculé : C, 74.02; H, 5.95; N, 3.60; O, 16.43  
Trouvé : C, 73.90; H, 6.20; N, 3.30; O, 16.60

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- ABRAMSON R., BHUSHAN A., DOLCI E., TRITTON T. R. (1989) The structure of the multidrug resistance P-Glycoprotein and its similarity to other proteins. *Ann. Rep. Med. Chem.* **25**, 253-260.
- ALGHISI G. L., ROBERTS E., CARDENAS M. E., GASSER S. M. (1994) The regulation of DNA topoisomerase II by casein kinase II. *Cell. Mol. Biol. Res.* **40**, 563-571.
- ALLEN L. M., CREAVERN P. J. (1975) Comparison of the human pharmacokinetics of VM-26 and VP-16, two antineoplastic epipodophyllotoxin glucopyranoside derivatives. *Eur. J. Cancer* **11**, 697-707.
- ASO Y., HAYASHI Y., YOSHIOKA S., TAKEDA Y., KITA Y., NISHIMURA Y., ARATA Y. (1989) Epimerization and hydrolysis of etoposide analogues in aqueous solution. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 422-424.
- ASSAIRI L. (1995) Design of new inhibitors specific to the adenosine triphosphate binding site of DNA topoisomerases II. *Lett. Pep. Science* **2**, 169-171.
- AUSTIN C. A., SNG J.-H., PATEL S., FISHER L. M. (1993) Novel HeLa topoisomerase II is the II $\beta$  isoform : complete coding sequence and homology with other type II topoisomerases. *Biochim. Biophys. Acta* **1172**, 283-291.
- BERGER J. M., GAMBLIN S. J., HARRISON S. C., WANG J. C. (1996) Structure and mechanism of DNA topoisomerase II. *Nature* **379**, 225-232.
- BHATT M. V., KULKARNI S. U. (1983) Cleavage of ethers. *Synthesis* **4**, 249-282.
- BINASCHI M., ZUNINO F., CAPRANICO G. (1995) Mechanism of action of DNA topoisomerase inhibitors. *Stem Cell* **13**, 369-379.
- BOJANOWSKI K., FILHOL O., COCHET C., CHAMBAZ E. M., LARSEN A. K. (1993) DNA topoisomerase II and casein kinase II associate in a molecular complex that is catalytically active. *J. Biol. Chem.* **268**, 22920-22926.
- BORDWELL F. G., COOPER G. D. (1952) Conjugative effects of methylsulfonyl and methylthio groupings. *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 1058-1060.
- BORITZKI T. J., WOLFARD T. S., BESSERER J. A., JACKSON R. C., FRY D. W. (1988) Inhibition of type II topoisomerase by fostriecin. *Biochem. Pharmacol.* **37**, 4063-4068.
- BOSMANS J.-P., VAN DER EYCKEN J., VANDEWALLE M., HULKENBERG A., VAN HES R., VEERMAN W. (1989) The synthesis of 2-azapodophyllotoxins. *Tetrahedron Lett.* **30**, 3877-3880.
- BOYKIN D. W., KUMAR A., SPYCHALA J., ZHOU M., LOMBARDY R. J., WILSON W. D., DYKSTRA C. C., JONES S. K., HALL J. E., TIDWELL R. R., LAUGHTON C., NUNN C. M., NEIDLE S. (1995) Dicationic diarylfurans as anti-*pneumocystis carinii* agents. *J. Med. Chem.* **38**, 912-916.
- BUCKLEY T. F., RAPOPORT H. (1983)  $\alpha$ -amino acids as chiral adducts for asymmetric products. Chirally specific syntheses of tylophorine and cryptopleurine. *J. Org. Chem.* **48**, 4222-4232.
- BUNN P. A. (1984) Etoposide (VP-16). 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, pp 141-161.
- CAPRANICO G., ZUNINO F. (1995) Antitumor inhibitors of DNA topoisomerases. *Curr. Pharm. Design* **1**, 1-14.
- CARDENAS M. E., GASSER S. M. (1993) Regulation of topoisomerase II by phosphorylation : a role for casein kinase II. *J. Cell Sci.* **104**, 219-225.
- CARDENAS M. E., WALTER R., HANNA D., GASSER S. M. (1993) Casein kinase II copurifies with yeast DNA topoisomerase II and re-activates the dephosphorylated enzyme. *J. Cell Sci.* **104**, 533-543.

CHEN G. L., YANG L., ROWE T. C., HALLIGAN B. D., TEWEY K. M., LIU L. F. (1984) Nonintercalative antitumor drugs interfere with the breakage-reunion reaction of mammalian DNA topoisomerase II. *J. Biol. Chem.* **259**, 13560-13566.

CHO S. J., KASHIWADA Y., BASTOW K. F., CHENG Y.-C., LEE K.-H. (1996) Antitumor agents. 164. Podophenazine, 2", 3"-dichloropodophenazine, benzopodophenazine, and their 4 $\beta$ -p-nitroaniline derivatives as novel DNA topoisomerase II inhibitors. *J. Med. Chem.* **39**, 1396-1402.

CHOURPA I., MORJANI H., MANFAIT M. (1995) Specific molecular interactions of antitumor drug m-AMSA with topoisomerase II : micro-sers data from living cancer cells correlate with the model complexes. *Spectroscopy of Biological Molecules* 473-474.

CLARK P. I., SLEVIN M. L. (1987) The clinical pharmacology of etoposide and teniposide. *Clinical Pharmacokinetics* **12**, 223-252.

COLOMBO T., D'INCALCI M., DONNELLI M. G., BARTOSEK I., BENFENATI E., FARINA P., GUAITANI A. (1985) Metabolic studies of a podophyllotoxin derivative (VP-16) in the isolated perfused liver. *Xenobiotica.* **15**, 343-350.

COLVIN E. W. (1981) In : *Silicon in organic synthesis.* (eds. BALDWIN J. E., BUCKINGHAM A. D., DANISHEFSKY S., KIRBY G. W., KLEMPERER W. G., MULLIN J. W., STEVENS R., WEST T. S., ZARE R. N.). Butterworths Monographs in Chemistry and Chemical Engineering, London.

CONCEPCION G. P., FODERARO T. A., ELDREDGE G. S., LOBKOVSKY E., CLARDY J., BARROWS L. R., IRELAND C. M. (1995) Topoisomerase II-mediated DNA cleavage by adocia- and xestoquinones from the philippine sponge *Xestospongia* sp. *J. Med. Chem.* **38**, 4503-4507.

CONSTANTINOU A., MEHTA R., RUNYAN C., RAO K., VAUGHAN A., MOON R. (1995) Flavonoids as DNA topoisomerase antagonists and poisons : structure-activity relationships. *J. Nat. Prod.* **58**, 217-225.

CORBETT A. H., DEVORE R. F., OSHEROFF N. (1992) Effect of casein kinase II-mediated phosphorylation on the catalytic cycle of topoisomerase II. *J. Biol. Chem.* **267**, 20513-20518.

CORBETT A. H., OSHEROFF N. (1993) When good enzymes go bad : conversion of topoisomerase II to a cellular toxin by antineoplastic drugs. *Chem. Res. Toxicol.* **6**, 585-597.

CREAVEN P. J., ALLEN L. M. (1975a) EPEG, a new antineoplastic epipodophyllotoxin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **18**, 221-226.

CREAVEN P. J., ALLEN L. M. (1975b) PTG, a new antineoplastic epipodophyllotoxin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **18**, 227-223.

CREAVEN P. J., ALLEN L. M., ALFORD D. A. (1975) Clinical pharmacology of the new anticancer drug VM-26. *Clin. Pharmacol. Ther.* **17**, 232.

CRENSHAW D. G., HSIEH T.-S. (1993) Function of the hydrophilic carboxyl terminus of type II DNA topoisomerase from *Drosophila Melanogaster*. I. *In vitro* studies. *J. Biol. Chem.* **268**, 21328-21334.

CUMMINGS J., SUMNER A. T., SLAVOTINEK A., MEIKLE I., MACPHERSON J. S., SMYTH J. F. (1995) Cytogenetic evaluation of the mechanism of cell death induced by novel anthracenyl-amino acid topoisomerase II catalytic inhibitor NU/ICRF 500. *Mutation Res.* **344**, 55-62.

CUSHMAN M., NAGARATHNAM D., GOPAL D., HE H.-M., LIN C. M., HAMEL E. (1992) Synthesis and evaluation of analogues of (Z)-1-(4-methoxyphenyl)-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl) ethene as potential cytotoxic and antimetabolic agents. *J. Med. Chem.* **35**, 2293-2306.

D'INCALCI M., ROSSI C., ZUCCHETTI M., URSO R., CAVALLI F., MANGIONI C., WILLEMS Y., SESSA C. (1986) *Cancer Res.* **46**, 2566-2571.

DAICH A., DECROIX B. (1996) [1]benzothienoindolizidones and [1]benzothienoquinolizidinones : synthesis and Schmidt rearrangement into [1,3]diazepines derivatives. *J. Heterocyclic Chem.* **33**, 873-878.

DE ISABELLA P., PALUMBO M., SISSI C., CAPRANICO G., CARENINI N., MENTA E., OLIVA A., SPINELLI S., KRAPCHO A. P., GIULIANI F. C., ZUNINO F. (1995) Topoisomerase II DNA cleavage stimulation, DNA binding activity, cytotoxicity, and physico-chemical properties of 2-aza- and 2-azaxide-anthracenedione derivatives. *Mol. Pharmacol.* **30**, 30-38.

DE VORE R. F., CORBETT A. H., OSHEROFF N. (1992) Phosphorylation of topoisomerase II by casein kinase II and protein kinase C : effects on enzyme-mediated DNA cleavage/religation and sensitivity to the antineoplastic drugs etoposide and 4'-(9-acridinylamino)methane-sulfon-m-anisidide. *Cancer Res.* **52**, 2156-2161.

DEAN F. M., GOODCHILD J., HOUGHTON L. E., MARTIN J. A., MORTON R. B., PARTON B., PRICE A. W., SOMVICHIAN N. (1966) Boron trichloride as a selective demethylating agent. *Tetrahedron Lett.* **35**, 4153-4159.

DEPREUX P., LESIEUR D., AIT MANSOUR H., MORGAN P., HOWELL H. E., RENARD P., CAIGNARD D.-H., PFEIFFER B., DELAGRANGE P., GUARDIOLA B., YOUS S., DEMARQUE A., ADAM G., ANDRIEUX J. (1994) Synthesis and structure-activity relationships of novel naphthalenic and bioisosteric related amidic derivatives as melatonin receptor ligands. *J. Med. Chem.* **37**, 3231-3239.

DOMBERNOWSKY P., NISSEN N. I. (1976) Combination chemotherapy with 4'-demethylepipodophyllotoxin 9-(4,6-O-ethylidene- $\beta$ -D-glucopyranoside), VP16-213 (NSC 141540) in L1210 leukemia. *Eur. J. Cancer* **12**, 181-188.

DOMBERNOWSKY P., NISSEN N. I., LARSEN V. (1972) Clinical investigation of a new podophyllum derivative, epipodophyllotoxin, 4'-demethyl-9-(4,6-O-2-thenylidene- $\beta$ -D-glucopyranoside) (NSC-122819), in patients with malignant lymphomas and solid tumors. *Cancer Chemother. Rep.* **56**, 71-82.

EAGAN R. T., CARR D. T., FRYTAK S., RUBIN J., LEE R. E. (1979) VP-16-213 versus polychemotherapy in patients with advanced small cell lung cancer. *Cancer Treat. Rep.* **60**, 949-951.

EFFENBERGER F., MÜLLER W., ISAK H. (1987) Zur reaktion von pyroglutaminsäure-derivaten mit phosphorpentachlorid darstellung chlorierter pyrrol-2-carbonsäure-derivate. *Chem. Ber.* **120**, 45-54.

EFFENBERGER F., MÜLLER W., KELLER R., WILD W., ZIEGLER T. (1990) Amino acids. 8. A novel synthesis of  $\gamma$ -carboxy-L-glutamic acid from L-5-oxoproline esters. *J. Org. Chem.* **55**, 3064-3067.

EL GHAMMARTI S. (1995) Etude des voies de synthèse de bioisostères de la néothramycine. Thèse de doctorat de Chimie Organique et Macromoléculaire (Lille I).

ELSEA S. H., HSIUNG Y., NITISS J. L., OSHEROFF N. (1995) A yeast type II topoisomerase selected for resistance to quinolones. Mutation of histidine 1012 to tyrosine confers resistance to nonintercalative drugs but hypersensitivity to ellipticine. *J. Biol. Chem.* **270**, 1913-1920.

EVANS W. E., SINKULE J. A., HORVATH A., CROM W. R., DOW L. W., RIVERA G. (1981) Clinical pharmacology of VM-26 (NSC 122819) and VP-16 (NSC 141540) in children with cancer. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **22**, 174.

EVANS W. E., SINKULE, J. A., CROM W. R., DOW L., LOOK A. T., RIVERA G. (1982) Pharmacokinetics of teniposide (VM26) and etoposide (VP16-213) in children with cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **7**, 147-150.

FEUGEAS C. (1964) Synthèses dans la série du méthylène-dioxy-1,2 benzène. (safrole, pipéronal, pipérine...). *Bull. Soc. Chim.* **8**, 1892-1895.

GAUTRET P. (1994) Conception, synthèse et étude des propriétés chimiques et biochimiques d'analogues de la podophyllotoxine. Thèse de doctorat de Chimie Organique et Macromoléculaire (Lille I).

GAUTRET P., EL GHAMMARTI S., LEGRAND A., COUTURIER D., RIGO B. (1996) On the silylation of diarylcarbinols. *Synth. Commun.* **26**, 707-713.

GENSLER W. J., JOHNSON F., SLOAN A. D. B. (1960) Compounds related to podophyllotoxin. XII. Podophyllotoxone, picropodophyllone and dehydropodophyllotoxin. *J. Org. Chem.* **25**, 6074-6081.

GENSLER W. J., MURTHY C. D., TRAMMELL M. H. (1977) Nonenzymizable podophyllotoxin derivatives *J. Med. Chem.* **20**, 635-644.

GLISSON B., GUPTA R., HODGES P., ROSS W. (1986) Cross-resistance to intercalating agents in an epipodophyllotoxin-resistant Chinese hamster ovary cell line: evidence for a common intracellular target. *Cancer Res.* **46**, 1939-1942.

HAIM N., NEMEC J., ROMAN J., SINHA B. K. (1987a) *In vitro* metabolism of etoposide (VP-16-213) by liver microsomes and irreversible binding of reactive intermediates to microsomal proteins. *Biochem. Pharmacol.* **36**, 527-536.

HAIM N., NEMEC J., ROMAN J., SINHA B. K. (1987b) Peroxidase-catalyzed metabolism of etoposide (VP-16-213) and covalent binding of reactive intermediates to cellular macromolecules. *Cancer Res.* **47**, 5835-5840.

HAIM N., ROMAN J., NEMEC J., SINHA B. K. (1986) Peroxidative free radical formation and O-demethylation of etoposide (VP-16) and teniposide (VM-26). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **135**, 215-220.

HASINOFF B. B., KUSCHAK T. I., YALOWICH J. C., CREIGHTON A. M. (1995) A QSAR study comparing the cytotoxicity and DNA topoisomerase II inhibitory effects of bisdioxopiperazine analogs of ICRF-187 (dexrazoxane). *Biochem. Pharmacol.* **50**, 953-958.

HONG S.-S., ROMSTEDT K. J., FELLER D. R., HSU F.-L., CUPPS T. L., LYON R. A., MILLER D. D. (1994) A structure-activity relationship study of benzylic modifications of 4[1-(1-naphthyl)ethyl]-1H-imidazoles on  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenergic receptors. *J. Med. Chem.* **37**, 2328-2333.

HSIANG Y.-H., JIANG J. B., LIU L. F. (1989) Topoisomerase II-mediated DNA cleavage by amonafide and its structural analogs. *Mol. Pharmacol.* **36**, 371-376.

HSIEH T.-S., BRUTLAG D. (1980) ATP-dependent DNA topoisomerase from *D. melanogaster* reversibly catenates duplex DNA rings. *Cell* **21**, 115-125.

HSIUNG Y., ELSEA S. H., OSHEROFF N., NITISS J. L. (1995) A mutation in Yeast *TOP2* homologous to a quinolone-resistant mutation in bacteria. *J. Biol. Chem.* **270**, 20359-20364.

HU H., WANG Z.-Q., LIU S.-Y., CHENG Y.-C., LEE K.-H. (1992) Antitumor agents. 123. Synthesis and human DNA topoisomerase II inhibitory activity of 2'-chloro derivatives of etoposide and 4 $\beta$ -(arylamino)-4'-O-demethylpodophyllotoxins. *J. Med. Chem.* **35**, 866-871.

HUTCHINS R. O., SU W.-Y., SIVAKUMAR R., CISTONE F., STERCHO Y. P. (1983) Stereoselective reductions of substituted cyclohexyl and cyclopentyl carbon-nitrogen  $\pi$  systems with hydride reagents. *J. Org. Chem.* **48**, 3412-3422.

ISHIDA R., HAMATAKE M., WASSERMAN R. A., NITISS J. L., WANG J. C., ANDOH T. (1995) DNA Topoisomerase II is the molecular target of bisdioxopiperazine derivatives ICRF-159 and ICRF-193 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Cancer Res.* **55**, 2299-2303.

ISSEL B. F. (1982) The podophyllotoxin derivatives VP16-213 and VM26. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **7**, 73-80.

ISSEL B. F., RUDOLF A. R., LOUIE A. C. (1984) Etoposide (VP-16-213): an overview. In: *Etoposide (VP-16): current status and new developments* (Eds. Issel, B.F.; Muggia, F.; Carter, S.K.). Academic Press, Inc., New York, pp 1-13.

JARDINE I. (1980) Podophyllotoxins. In: *Anticancer agents based on natural products models*. (Eds. Academic Press, Inc., New York) pp 319-351.

JUNG M. E., YUK-SUN LAM P., MANSURI M. M., SPELTZ L. M. (1985) Stereoselective synthesis of an analogue of podophyllotoxin by an intramolecular Diels-Alder reaction. *J. Org. Chem.* **50**, 1087-1105.

KALWINSKY D. K., LOOK A. T., DUCORE J., FRIDLAND A. (1983) Effects of the epipodophyllotoxin VP-16-213 on cell cycle traverse, DNA synthesis, and DNA strand size in cultures of human leukemic lymphoblasts. *Cancer Res.* **43**, 1592-1597.

- KALYANARAMAN B., NEMEC J., SINHA B. K. (1989) Characterization of free radicals produced during oxidation of etoposide (VP-16) and its catechol and quinone derivatives. An ESR study. *Biochemistry* **28**, 4839-4846.
- KAWADA S.-Z., YAMASHITA Y., FUJII N., NAKANO H. (1991) Induction of a heat-stable topoisomerase II-DNA cleavable complex by nonintercalative terpenoids, terpenecin and clerocidin. *Cancer Res.* **51**, 2922-2925.
- KELLER-JUSLEN C., KUHN M., VON WARTBURG A., STAHELIN H. (1971) Synthesis and antimitotic activity of glycosidic lignan derivatives related to podophyllotoxin. *J. Med. Chem.* **14**, 936-940.
- KELLY M. G., HARTWELL J. L. (1954) The biological effects and the chemical composition of podophyllin. A review. *J. Nat. Cancer Inst.* **14**, 967-1010
- KOLOCOURIS A., KOLOCOURIS N., FOSCOLOS G. B., FYTAS G., HEMPEL A., CAMERMAN N., CAMERMAN A., HAMODRAKAS S. J. (1993) Molecular and crystal structures of a tricyclic  $\gamma$ -lactam ketone and its Mannich base. *J. Cryst. Spectr. Res.* **23**, 663-667.
- LABROUILLERE M., LE ROUX C., OUSSAID A., GASPARD-ILOUGHMANE H., DUBAC J. (1995) Activation de la liaison silicium-halogène par les halogénures de bismuth (III). Halogénéation des alcools : perspectives et mécanismes [1]. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **132**, 522-530.
- LEE G. S., CHO Y. S., SHIM S. C., KIM W. J., EIBLER E., WIEGREBE W. (1989) Stereospecific synthesis of 2,3-dimethoxy-naphto[1,2-b]indolizidine. *Arch. Pharm.* **322**, 607-611.
- 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., CHENG Y.-C. (1990) Antitumor agents . 111. New 4-hydroxylated and 4-halogenated anilino derivatives of 4'-demethylepipodophyllotoxin as potent inhibitors of human DNA topoisomerase II. *J. Med. Chem.* **33**, 1364-1368.
- LEHNERT E. K., MILLER K. E., MADALENGOITIA J. S., GUZI T. J., MACDONALD T. L. (1994) DNA topoisomerase II inhibition by substituted 1,2,3,4-tetrahydro- $\beta$ -carboline derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **4**, 2411-2416.
- LETEURTRE F., MADALENGOITIA J., ORR A., CUZI T. J., LEHNERT E., MACDONALD T., POMMIER Y. (1992) Rational design and molecular. effects of a new topoisomerase II inhibitor, Azatoxin. *Cancer Res.* **52**, 4478-4483.
- LETEURTRE F., SACKETT D. L., MADALENGOITIA J., KOHLHAGEN G., MACDONALD T., HAMEL E., PAULL K. D., POMMIER Y. (1995) Azatoxin derivatives with potent and selective action on topoisomerase II. *Biochem. Pharmacol.* **49**, 1283-1290.
- LIENARD P., ROYER J., QUIRION J.-C., HUSSON H.-P. (1991) Asymmetric synthesis XXIV : benzoquinolizidine analogues of podophyllotoxin via the CN(R,S) method. *Tetrahedron Lett.* **32**, 2489-2492.
- LIENARD P., QUIRION J.-C., HUSSON H.-P. (1993) Asymmetric synthesis XXVIII : hydroxylated benzoquinolizidine analogues of podophyllotoxin via the CN(R,S) method. *Tetrahedron* **49**, 3995-4006.
- LIU L. F., ROWE T. C., YANG L., TEWEY K. M., CHEN G. L. (1983) Cleavage of DNA by mammalian DNA topoisomerase II. *J. Biol. Chem.* **258**, 15365-15370.
- LIU L. F., DEPEW R. E., WANG J. C. (1976) Knotted single-stranded DNA rings : a novel topological isomer of circular single-stranded DNA formed by treatment with *Escherichia coli*  $\omega$  protein. *J. Mol. Biol.* **106**, 439-452.
- LIU L. F., LIU C.-C., ALBERTS B. M. (1980) Type II DNA topoisomerases : enzymes that can unknot a topologically knotted DNA molecule via a reversible double-strand break. *Cell* **19**, 697-707.
- LOIKE J. D., HORWITZ S. B. (1976a) Effect of VP-16-213 on the intracellular degradation of DNA in HeLa cells. *Biochemistry* **15**, 5443-5448.

LOIKE J. D., HORWITZ S. B. (1976b) Effects of podophyllotoxin and VP-16-213 on microtubule assembly *in vitro* and nucleoside transport in HeLa cells. *Biochemistry* **15**, 5435-5443.

LONG B. H. (1986) Kinetics of topoisomerase inhibition by VP16-213, VM26, camptothecin, and other agents. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **27**, 249.

LONG B. H. (1987) Structure-activity relationships of podophyllin congeners that inhibit topoisomerase II. *NCI Monographs* **4**, 123-127.

LONG B. H., BRATTAIN M. G. (1984) The activity of etoposide (VP-16-213) and teniposide (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, pp 63-85.

LONG B. H., MUSIAL S. T., BRATTAIN M. G. (1984) Comparison of cytotoxicity and DNA breakage activity of congeners of podophyllotoxin including VP16-213 and VM26: A quantitative structure-activity relationship. *Biochemistry* **23**, 1183-1188.

LONG B. H., MUSIAL S. T., BRATTAIN M. G. (1985) Single and double-strand DNA breakage and repair in human lung adenocarcinoma cells exposed to etoposide and teniposide. *Cancer Res.* **45**, 3106-3112.

LONG B. H., MUSIAL S. T., BRATTAIN M. G. (1986) DNA breakage in human lung carcinoma cells and nuclei that are naturally sensitive or resistant to etoposide and teniposide. *Cancer Res.* **46**, 3809-3816.

LONG B. H., STRINGFELLOW D. A. (1988) Inhibitors of topoisomerase II: structure-activity relationships and mechanism of action of podophyllin congeners. *Adv. Enzyme Regul.* **27**, 223-256.

MAGNUSSON L. B., POSTMUS C., CRAIG C. A. (1963) Coordination in solutions. I. Acid strengths of phenol derivatives in water. *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 1711-1715.

MARKOVITS J., LINASSIER C., FOSSE P., COUPRIE J., PIERRE J., JACQUEMIN-SABLON A., SAUCIER J.-M., LE PECQ J.-B., LARSEN A. K. (1989) Inhibitory effects of the tyrosine kinase inhibitor genistein on mammalian DNA topoisomerase II. *Cancer Res.* **49**, 5111-5117.

MARSHALL B., DARKIN S., RALPH R.K. (1983) Evidence that mAMSA induces topoisomerase action. *FEBS Lett.* **161**, 75-78.

MATHE G., SCHWARZENBERG L., POUILLART P., OLDHAM R., WEINER R., JASMIN C., ROSENFELD C., HAYAT M., MISSET J. L., MUSSET M., SCHNEIDER M., AMIEL J. L., DE VASSAL F. (1974) Two epipodophyllotoxin derivatives, VM 26 and VP 16213, in the treatment of leukemias, hematosarcomas, and lymphomas. *Cancer* **34**, 985-992.

MAXWELL A. (1996) Protein gates in DNA topoisomerase II. *Nature Struct. Biol.* **3**, 109-112.

MC DONALD T. L., LEHNERT E. K., LOPER J. T., CHOW K.-C., ROSS W. E. (1991) On the mechanism of interaction of DNA topoisomerase II with chemotherapeutic agents. In: *DNA Topoisomerases in Cancer* (Eds. Potmesil, M.; Kohn, K.W.). Oxford University Press, Inc., New York, pp 199-214.

MCCONNAUGHIE A. W., JENKINS T. C. (1995) Novel acridine-triazenes as prototype combilexins: synthesis, DNA binding, and biological activity. *J. Med. Chem.* **38**, 3488-3501.

MEIKLE I., CUMMINGS J., MCPHERSON J. S., HADFIELD J. A., SMYTH J. F. (1995) Biochemistry of topoisomerase I and II inhibition by anthracenyl-amino acid conjugates. *Biochem. Pharmacol.* **49**, 1747-1757.

MIOCQUE M., VIERFOND, J.-M. (1970) Application de la réaction de Mannich aux arylamines. I.-Aminométhylation des dialcoylanilines. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **5**, 1896-1900.

MOLINA A., VAQUERO J. J., GARCIA-NAVIO J. L., ALVAREZ-BUILLA J., DE PASCUAL-TERESA B., GAGO F., RODRIGO M. M., BALLESTEROS M. (1996) Synthesis and DNA binding properties of  $\gamma$ -carbolinium derivatives and benzologues. *J. Org. Chem.* **61**, 5587-5599.

MOODY C. J., SWANN E. (1993) Synthesis of the topoisomerase II inhibitor BE 10988. *Tetrahedron Lett.* **34**, 1987-1988.

MYERS C. E., MCGUIRE W. P., LISS R. H., IFRIM I., GROTZINGER K., YOUNG R. C. (1977) Adriamycin : the role of lipid peroxidation in cardiac toxicity and tumor response. *Science* **197**, 165-167.

NELSON E. M., TEWEY K. M., LIU L. F. (1984) Mechanism of antitumor drug action : poisoning of mammalian DNA topoisomerase II on DNA by 4'-(9-acridinylamino)-methanesulfon-m-anisidide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **81**, 1361-1365.

NISSEN N.I., LARSEN V., PEDERSEN H., THOMSEN K. (1972) Phase I clinical trial of a new antitumor agent, 4'-demethylepipodophyllotoxin 9-(4,6-O-ethylidene- $\beta$ -D-glucopyranoside) (NSC-141540 ; VP-16-213). *Cancer Chemother. Rep.* **56**, 769-777.

ORPHANIDES G., MAXWELL A. (1994) In one gate, out the other. *Curr. Biol.* **4**, 1006-1009.

PEARCE H. L., BACH N. J., CRAMER T. L. (1989) Synthesis of 2-azapodophyllotoxin. *Tetrahedron Lett.* **30**, 907-910.

PELSOR F. R., ALLEN L. M., CREAVEN P. J. (1978) Multicompartment pharmacokinetic model of 4'-demethylepipodophyllotoxin 9-(4,6-O-ethylidene- $\beta$ -D-glucopyranoside) in humans. *J. Pharm. Sci.* **67**, 1106-1108.

POMMIER Y. (1993) DNA topoisomerase I and II in cancer chemotherapy : update and perspectives. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **32**, 103-108.

POMMIER Y., ZWELLING L. A., KAO-SHAN C.-S., WHANG-PENG M. O. (1985) Correlations between intercalator-induced DNA strand breaks and sister chromatid exchanges, mutations, and cytotoxicity in chinese hamster cells. *Cancer Res.* **45**, 3143-3149.

POULAIN R. (1996) Etude de la fonctionnalisation de la 1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizine-3,10-dione. Diplôme d'Etudes Approfondies, Chimie Organique et Macromoléculaire (Lille I).

RENE B., FOSSE P., KHELIFA T., JACQUEMIN-SABLON A., BAILLY C. (1996) The 1'-substituent on the anilino ring of the antitumor drug amsacrine is a critical element for topoisomerase II inhibition and cytotoxicity. *Mol. Pharmacol.* **49**, 343-350.

RIGO B., COUTURIER D. (1985) Studies on pyrrolidinones. Synthesis of methyl N-(4-nitrobenzyl)pyroglutamate. *J. Heterocyclic Chem.* **22**, 207-208.

RIGO B., EL GHAMMARTI S., COUTURIER D. (1996) On the cyclization of acyliminium salts derived from pyroglutamic acid. *Tetrahedron Lett.* **37**, 485-486.

RIGO B., FASSEUR D., CHEREPY N., COUTURIER D. (1989) Decarboxylation of pyroglutamic acids with P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H : a general synthesis of 5-aryl-2-pyrrolidinones. *Tetrahedron Lett.* **30**, 7057-7060.

RIGO B., GAUTRET P., LEGRAND A., EL GHAMMARTI S., COUTURIER D. (1994) Studies on pyrrolidinones. An improved one pot synthesis of 1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizine-3,10-dione. *Synth. Commun.* **24**, 2609-2615.

RIGO B., KOLOCOURIS N. (1983) Studies on pyrrolidinones. Derivatives of 1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizine-3,10-dione. *J. Heterocyclic Chem.* **11**, 893-898.

ROCA J., ISHIDA R., BERGER J. M., ANDOH T., WANG J. C. (1994) Antitumor bisdioxopiperazines inhibit yeast DNA topoisomerase II by trapping the enzyme in the form of a closed protein clamp. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 1781-1785.

ROCA J., WANG J. C. (1992) The capture of a double helix by an ATP-dependent protein clamp : a key step in DNA transport by type II DNA topoisomerases. *Cell* **71**, 833-840.

ROWE T., KUPFER G., ROSS W. (1985) Inhibition of epipodophyllotoxin cytotoxicity by interference with topoisomerase-mediated DNA cleavage. *Biochem. Pharmacol.* **34**, 2483-2487.

SAMI S. M., DORR R. T., SOLYOM A. M., ALBERTS D. S., IYENGAR B. S., REMERS W. A (1996) 6- and 7-substituted 2-[2'-(dimethylamino)ethyl]-1,2-dihydro-3H-dibenz[de, h]isoquinoline-1,3-diones : synthesis, nucleophilic displacements, antitumor activity, and, quantitative structure-activity relationships. *J. Med. Chem.* **39**, 1609-1618.

SHARMA A., MONDRAGON A. (1995) DNA topoisomerases. *Curr. Opinion Struct. Biol.* **5**, 39-47.  
SHIOZAKI K., YANAGIDA M. (1992) Functional dissection of the phosphorylated termini of fission yeast DNA topoisomerase II. *J. Cell Biol.* **119**, 1023-1036.

SINHA B. K., ELIOT H. M., KALYANARAMAN B. (1988) Iron-dependent hydroxyl radical formation and DNA damage from a novel metabolite of the clinically active antitumor drug VP-16. *FEBS Lett.* **227**, 240-244.

SINHA B. K., MYERS C. E. (1984) Irreversible binding of etoposide (VP-16-213) to deoxyribonucleic acid and proteins. *Biochem. Pharmacol.* **33**, 3725-3728.

SINHA B. K., TRUSH M. A., KALYANARAMAN B. (1983) Free radical metabolism of VP-16 and inhibition of anthracycline-induced lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* **32**, 3495-3498.

SINHA B. K., TRUSH M. A., KALYANARAMAN B. (1985) Microsomal interactions and inhibition of lipid peroxidation by etoposide (VP-16, 231) : implications for mode of action. *Biochem. Pharmacol.* **34**, 2036-2040.

SINKULE J. A., EVANS W. E. (1984) High-performance liquid chromatographic analysis of the semisynthetic epipodophyllotoxins teniposide and etoposide using electrochemical detection. *J. Pharm. Sci.* **73**, 164-168.

STAHELIN H. (1970) 4'-demethyl-epipodophyllotoxin thenylidene glucoside (VM 26), a podophyllum compound with a new mechanism of action. *Eur. J. Cancer* **6**, 303-311.

STAHELIN H. (1972) Chemie und wirkungsmechanismus von podophyllin-derivativen. *Planta Med.* **22**, 336-347.

STAHELIN H. (1973) Activity of a new glycosidic lignan derivative (VP 16-213) related to podophyllotoxin in experimental tumors. *Eur. J. Cancer* **9**, 215-221.

STRIFE R. J., JARDINE I., COLVIN M. (1980) Analysis of the anticancer drugs VP 16-213 and VM 26 and their metabolites by high-performance liquid chromatography. *J. Chromat.* **182**, 211-220.

SUDA H., OHKUBO M., MATSUNAGA K., YAMAMURA S., SHIMOMOTO W., KIMURA N., SHIZURI Y. (1993) Total synthesis of a new topoisomerase II inhibitor BE 10988. *Tetrahedron Lett.* **34**, 3797-3798.

TAKASUGA Y., ANDOH, T., YAMASHITA, J., YAGURA, T. (1995) ICRF-193, an inhibitor of topoisomerase II, demonstrates that DNA replication in sperm nuclei reconstituted in *Xenopus* egg extracts does not require chromatin decondensation. *Exp. Cell. Res.* **217**, 378-384.

TANABE K., IKEGAMI Y., ISHIDA R., ANDOH, T. (1991) Inhibition of topoisomerase II by antitumor agents bis(2,6-dioxopiperazine) derivatives. *Cancer Res.* **51**, 4903-4908.

TEWEY K. M., CHEN G. L., NELSON E. M., LIU L. F. (1984a) Intercalative antitumor drugs interfere with the breakage-reunion reaction of mammalian DNA topoisomerase II. *J. Biol. Chem.* **259**, 9182-9187.

TEWEY K. M., ROWE T. C., YANG L., HALLIGAN B. D., LIU L. F. (1984b) Adriamycin-induced DNA damage mediated by mammalian DNA topoisomerase II. *Science* **226**, 466-468.

THURSTON L. S., IRIE H., TANI S., HAN F. S., LIU Z. C., CHENG Y. C., LEE K. H. (1986) Antitumor agents. 78. Inhibition of human DNA topoisomerase II by podophyllotoxin and alpha-peltatin analogues. *J. Med. Chem.* **29**, 1547-1550.

TOMIOKA K., KUBOTA Y., KOGA K. (1989a) Efficient stereoselective synthesis of 2-aza-4'-demethylepipodophyllotoxin. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1622-1624.

- TOMIOKA K., KUBOTA Y., KOGA K. (1989b) Synthesis and antitumor activity of podophyllotoxin aza-analogues. *Tetrahedron Lett.* **30**, 2953-2954.
- VAN MAANEN J. M. S., DE RUITER C., KOOTSTRA P. R., BROERSEN J., DE VRIES J., LAFLEUR M. V. M., RETEL J., KRIEK E., PINEDO H. M. (1986) Metabolic activation of the antitumor agent VP 16-213. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **27**, 308.
- VAN MAANEN J. M. S., DE RUITER C., KOOTSTRA P. R., LAFLEUR M. V. M., DE VRIES J., RETEL J., PINEDO H. M. (1985) Inactivation of  $\Phi$ X174 DNA by the ortho-quinone derivative or its reduction product of the antitumor agent VP 16-213. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* **21**, 1215-1218.
- VAN MAANEN J. M. S., DE VRIES J., PAPPIE D., VAN DEN AKKER E., LAFLEUR M. V. M., RETEL J., VAN DER GREEF J., PINEDO H. M. (1987) Cytochrome P-450-mediated O-demethylation : a route in the metabolic activation of etoposide (VP-16-213). *Cancer Res.* **47**, 4658-4662.
- VAN MAANEN J. M. S., LAFLEUR M. V. M., MANS D. R. A., VAN DEN AKKER E., DE RUITER C., KOOTSTRA P. R., PAPPIE D., DE VRIES J., RETEL J., PINEDO H. M. (1988a) Effects of the ortho-quinone and catechol of the antitumor drug VP-16-213 on the biological activity of single-stranded and double-stranded  $\Phi$ X174DNA. *Biochem. Pharmacol.* **37**, 3579-3589.
- VAN MAANEN J. M. S., RETEL J., DE VRIES J., PINEDO H. M. (1988b) Mechanism of action of antitumor drug etoposide : a review. *J. Natl. Cancer Inst.* **80**, 1526-1533.
- VASSETZKY Y. S., ALGHISI G.-C., GASSER S. M. (1995) DNA topoisomerase II mutations and resistance to anti-tumor drugs. *BioEssays* **17**, 767-774.
- VENDEVILLE S. (1996) Etude du comportement de la 1,2,3,5,10,10a-hexahydrobenz[f]indolizine-3,10-dione et quelques dérivés en milieu acide vrai et acide de Lewis. Diplôme d'Etudes Approfondies, Chimie Organique et Macromoléculaire (Lille I).
- WALKER M. A. (1995) A high yielding synthesis of N-alkyl maleimides using a novel modification of the Mitsunobu reaction. *J. Org. Chem.* **60**, 5352-5355.
- WANG J. C. (1985) DNA topoisomerases. *Ann. Rev. Biochem.* **54**, 665-697.
- WANG J. C. (1996) DNA topoisomerases. *Annu. Rev. Biochem.* **65**, 635-692.
- WANG Z.-Q., HU H., CHEN H.-X., CHENG Y.-C., LEE K.-H. (1992) Antitumor agents. 124. New 4 $\beta$ -substituted aniline derivatives of 6,7-O,O-demethylene-4'-O-demethylpodophyllotoxin and related compounds as potent inhibitors of human DNA topoisomerase II. *J. Med. Chem.* **35**, 871-877.
- WANG Z.-Q., KUO Y.-H., SCHNUR D., BOWEN J. P., LIU S.-Y., HAN F.-S., CHANG J.-Y., CHENG Y.-C., LEE K.-H. (1990) Antitumor agents. 113. New 4 $\beta$ -arylamino derivatives of 4'-O-demethylepipodophyllotoxin and related compounds as potent inhibitors of human DNA topoisomerase II. *J. Med. Chem.* **33**, 2660-2666.
- WATT P. M., HICKSON I. D. (1994) Structure and function of type II DNA topoisomerases. *Biochem. J.* **303**, 681-695.
- WEST C. T., DONNELLY S. J., KOOSTRA D. A., DOYLE M. P. (1973) Silane reductions in acidic media. II. Reductions of aryl aldehydes and ketones by trialkylsilanes in trifluoroacetic acid. A selective method for converting the carbonyl group to methylene. *J. Org. Chem.* **38**, 2675-2681.
- WIGLEY D. B. (1995) Structure and mechanism of DNA topoisomerases. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **24**, 185-208.
- WIGLEY D. B., DAVIES G. J., DODSON E. J., MAXWELL A., DODSON G. (1991) Crystal structure of an N-terminal fragment of the DNA gyrase B protein. *Nature* **351**, 624-629.
- WILLIAMS S. D., BIRCH R., LOEHRER P. J., EINHORN L. H. (1984). Testicular cancer : role in chemotherapy. In : *Etoposide (VP-16) : Current Status and New Developments*. (Issel, B.F.; Muggia, F.; Carter, S.K.). New York, Academic Press, pp 225-231.

WOZNIAK A. J., GLISSON B. S., HANDE K. R., ROSS W. E. (1984) Inhibition of etoposide-induced DNA damage and cytotoxicity in L1210 cells by dehydrogenase inhibitors and other agents. *Cancer Res.* **44**, 626-632.

WOZNIAK A. J., ROSS W. E. (1983) DNA damage as a basis for 4'-demethylepipodophyllotoxin-9-(4,6-O-ethylidene- $\beta$ -D-glucopyranoside) (etoposide) cytotoxicity. *Cancer Res.* **43**, 120-124.

YASUDA S., YAMAMOTO Y., YOSHIDA S., HANAOKA M. (1988) A total synthesis of (+/-)-cephalotaxinamide. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 4229-4231.

ZHANG Y.-L., SHEN Y.-C., WANG Z.-Q., CHEN H.-X., GUO X., CHENG Y.-C., LEE K.-H. (1992) Antitumor agents, 130. Novel 4 $\beta$ -arylamino derivatives of 3',4'-dimethoxy-3',4'-dioxo-4-deoxypodophyllotoxin as potent inhibitors of human DNA topoisomerase II. *J. Nat. Prod.* **55**, 1100-1111.

ZHOU X.-M., WANG Z.-Q., CHANG J.-Y., CHEN H.-X., CHENG Y.-C., LEE K.-H. (1991) Antitumor agents, 120. New 4-substituted benzylamine and benzyl ether derivatives of 4'-O-demethylepipodophyllotoxin as potent inhibitors of human DNA topoisomerase II. *J. Med. Chem.* **34**, 3346-3350.

***ANNEXE***

STUDIES ON PYRROLIDINONES.  
AN IMPROVED ONE POT SYNTHESIS OF  
1,2,3,5,10,10a-HEXAHYDROBENZ[*f*]INDOLIZINE-3,10-DIONE

Benoît Rigo\*<sup>a</sup>, Philippe Gautret<sup>a</sup>, Anne Legrand<sup>a</sup>,  
Samira El Ghammarti<sup>a</sup>, Daniel Couturier<sup>b</sup>

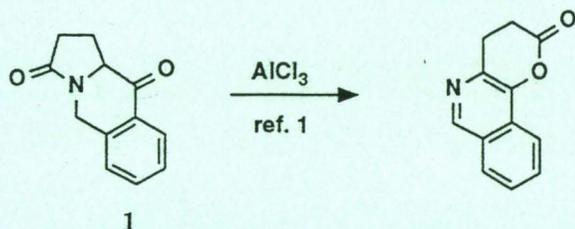
Laboratoire Chimie Organique et Environnement

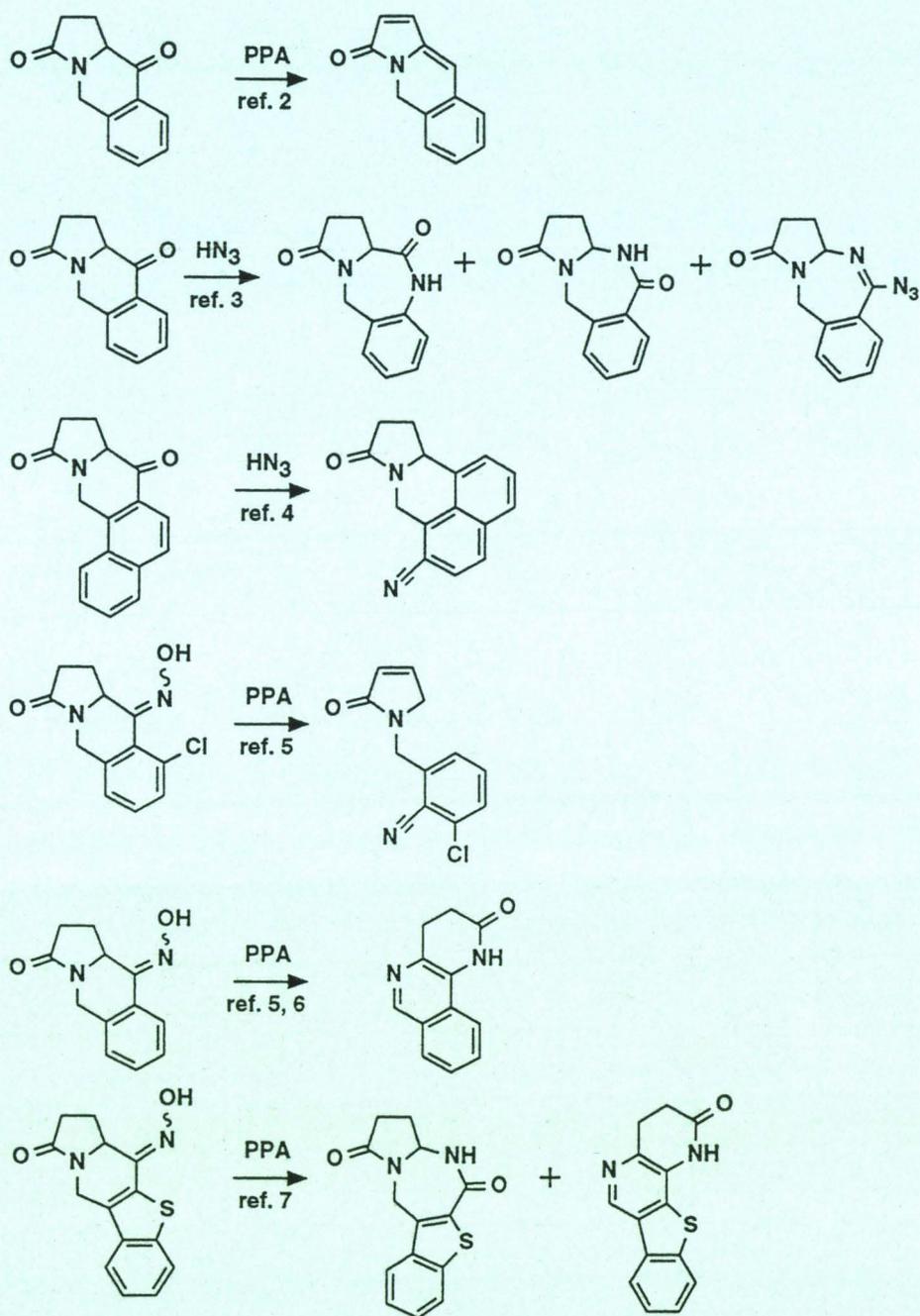
a) Ecole des Hautes Etudes Industrielles,  
13 rue de Toul, 59046 Lille Cedex, France

b) Université des Sciences et Technologies de Lille,  
59655 Villeneuve d'Ascq Cedex, France

*Abstract: Starting from the readily available N,O-bis trimethylsilyl pyroglutamate, an easy high yield one pot synthesis of ketone 1 was described.*

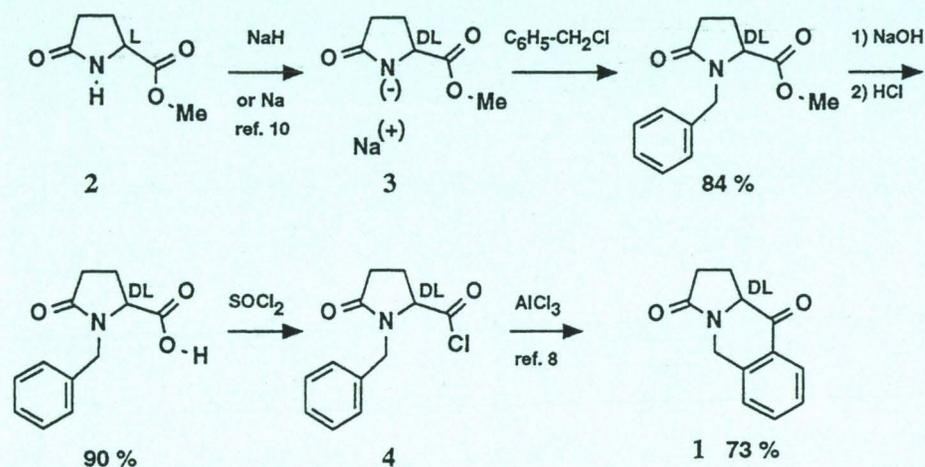
The title ketone 1 proved to be of great interest due to the large diversity of rearrangements observed in this family of compounds (scheme 1):





Scheme 1

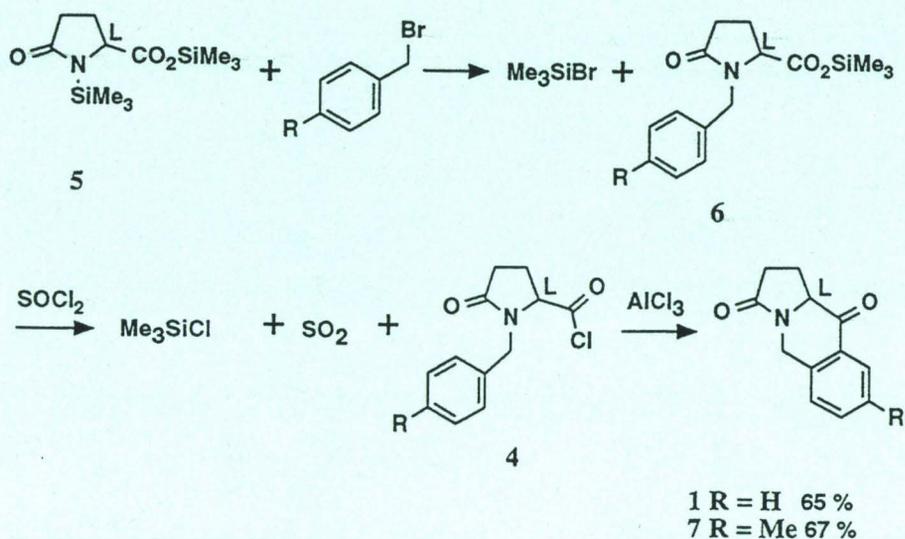
We have already described<sup>8</sup> a five-step synthesis of the racemic form of ketone 1, starting from the readily available L-methyl pyroglutamate 2<sup>9</sup> (scheme 2):



Scheme 2

While this reaction scheme gives a satisfactory 55% overall yield, it suffers from several drawbacks, including the racemization of the sodium salt 3<sup>11</sup>, the need of multiple reaction pots and of purification of intermediates.

We now wish to report a one-pot synthesis of ketone 1: the reaction of benzyl bromide with N,O-bis trimethyl silyl pyroglutamate 5<sup>12</sup> while distilling trimethylsilyl bromide<sup>13</sup> gives the trimethylsilyl ester 6; in the same pot thionyl chloride was added and after heating, the acid chloride 4 was formed<sup>14</sup> in a quantitative crude yield; the trimethylsilyl chloride formed was distilled off and aluminum chloride was added; after



Scheme 3

hydrolysis and distillation, the heterocycle 1 was obtained in 65% overall yield (this mainly reflects the yield of the distillation step and could be improved by working on a larger scale) (scheme 3).

The advantages included in this reaction scheme are the simplicity and the rapidity of the method (2 days *vs.* more than a week), and a best overall yield (65% of an optically active product 1 *vs.* 55% of a racemic compound) ; it should be noted that these reactions can be generalized to this whole heterocyclic family, and by the same way we obtained the ketone 7 in 67% yield.

### Experimental

A stirred mixture of N,O-bis trimethylsilyl pyroglutamate 5 (8 g, 29.2 mmol) and benzyl bromide (5 g, 29.2 mmol) was heated under nitrogen atmosphere for 18 hours at 150°, in a vessel equipped with a short distillation head. During the course of the reaction, trimethylbromosilane evolved and silyl ester 6 was formed.

After cooling, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml) and thionyl chloride (3.9 g, 2.4 ml, 32.8 mmol) were added and the mixture was refluxed for 6 hours. The dichloromethane and the trimethylchlorosilane formed were distilled at once, giving a 100 % nmr crude yield of acidchloride 4.

The residue was dissolved in dichloromethane, the solution was cooled at -2°C then aluminum chloride (12 g, 90 mmol) was slowly added (45 mn).

The next day, the mixture was hydrolyzed with ice cooled water, the organic phase was washed with water and the dichloromethane solution was dried (sodium sulfate), evaporated, and the residue was vacuum distilled, giving 65 % yield of ketone 1, identical to the authentic product<sup>8</sup>.

### Acknowledgments.

The authors are indebted to Dr. J.Y. Mérour for sending the preprints or his results (ref. 3 and 4).

### References

- 1) B. Rigo, D. Barbry, D. Couturier, *Synth. Commun.*, 1991, 21, 741.

- 2) B. Rigo, E. Tullier, D. Barbry, D. Couturier, V. Warin, J. Lamiot, F. Baert, *J. Heterocyclic Chem.*, 1990, 27, 1383.  
J. Lamiot, F. Baert, A. Guelzim, D. Barbry, D. Couturier, B. Rigo, E. Tullier, *Acta Crist.*, 1991, C47, 888.
- 3) J.Y. Mérour, F. Cossais, S. Piroëlle, D. Mazéas, *J. Heterocyclic Chem.*, to be published, 1994.
- 4) J.Y. Mérour, S. Piroëlle, H. Faure, *J. Heterocyclic Chem.*, to be published, 1994.
- 5) L.L. Martin, S.J. Scott, M.N. Agnew, L.L. Setescak, *J. Org. Chem.*, 1986, 51, 3697
- 6) L.L. Martin, S.J. Scott, L.L. Setescak, D. Van Engen, *J. Heterocyclic Chem.*, 1987, 24, 1541
- 7) S. Marchalin, B. Decroix, *J. Heterocyclic Chem.*, 1993, 30, 667.  
S. Marchalin, B. Decroix, J. Morel, *Acta Chem. Scand.*, 1993, 47, 287.
- 8) B. Rigo, N. Kolocouris, *J. Heterocyclic Chem.*, 1983, 20, 893.  
Our supplier of pyroglutamic acid is UCIB, Ivry-la Bataille, France, which can provide this acid in bulk quantities.
- 9) P. Cauliez, B. Rigo, D. Fasseur, D. Couturier, *J. Heterocyclic Chem.*, 1991, 28, 1143.
- 10) N. Kolocouris, B. Rigo, *Chim. Chronika (New Series)*, 1982, 11, 309.
- 11) E. Hardegger, H. Ott, *Helv. Chim. Acta*, 1955, 38, 312.
- 12) B. Rigo, C. Lespagnol, M. Pauly, *J. Heterocyclic Chem.*, 1988, 25, 59.
- 13) B. Rigo, D. Couturier, *J. Heterocyclic Chem.*, 1985, 22, 207

F. Effenberger, W. Müller, H. Isak, *Chem. Ber.*,  
1987, 120, 45.

F. Effenberger, W. Müller, R. Keller, W. Wild,  
T. Ziegler, *J. Org. Chem.*, 1990, 55, 3064.

14) J. Häusler, U. Schmidt, *Chem. Ber.*, 1974, 107,  
145.

(Received in the UK 28 February 1994)

## ON THE SILYLATION OF DIARYLCARBINOLS

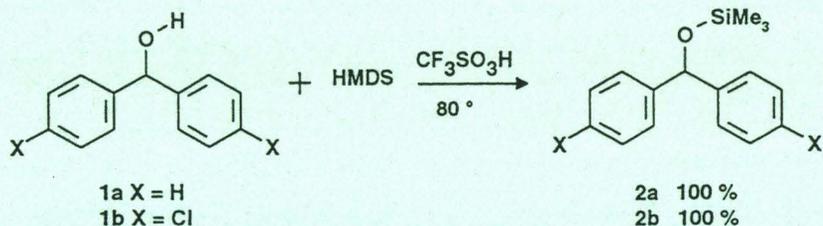
Philippe Gautret<sup>a</sup>, Samira El-Ghamarti<sup>a</sup>, Anne Legrand<sup>a</sup>,

Daniel Couturier<sup>b</sup> and Benoît Rigo<sup>a\*</sup>

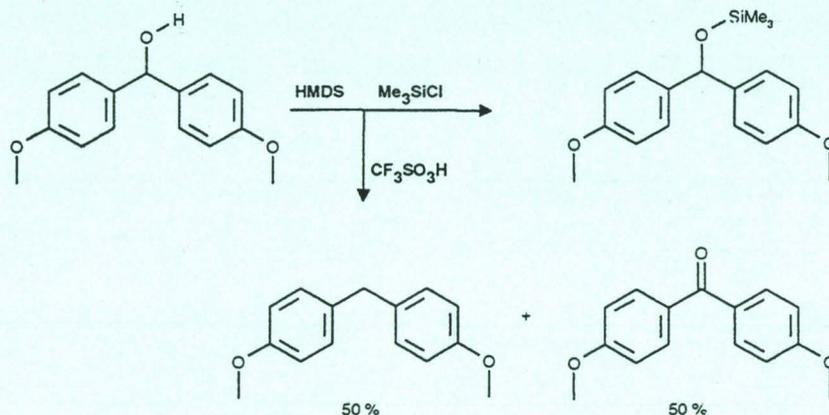
Laboratoire Chimie Organique et Environnement a) Ecole des Hautes Etudes Industrielles, 13 rue de Toul, 59046, Lille Cedex, France b) Université des Sciences et Technologies de Lille, 59655, Villeneuve d'Ascq Cedex, France

**Abstract :** Because of their dismutation into benzophenones and diphenylmethanes, it is necessary to use chlorotrimethylsilane and not triflic acid as a catalyst for the silylation of diarylcarbinol with hexamethyldisilazane.

While working on the reactivity of silylated arylcarbinols, we tried to use hexamethyldisilazane for the silylation of diarylcarbinols **1a** and its 4,4'-dichloro derivative **1b**. No reaction occurred at reflux temperature, but a 100% nmr yield in silylated alcohols **2a,b** was obtained when triflic acid was used as a catalyst

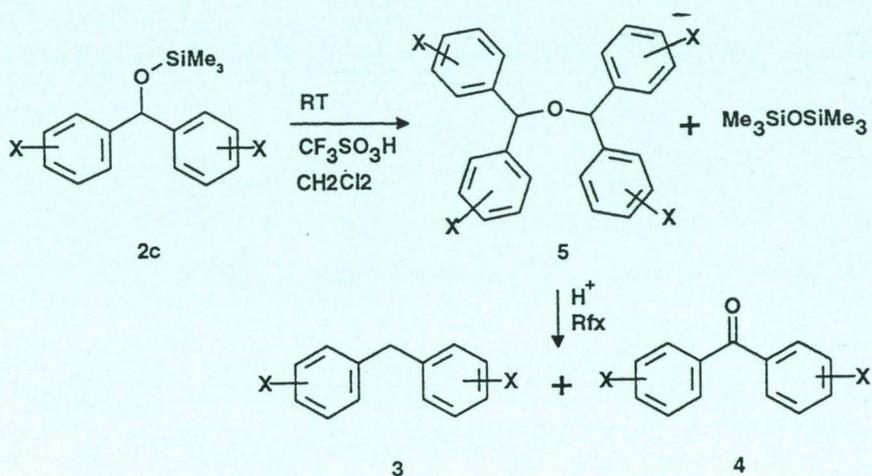


However, 4,4'-dimethoxydiphenylcarbinol (**1c**) does not give the silylated alcohol **2c** under these conditions, and we obtained only a 50/50 % isolated yield in 4,4'-dianisylmethane (**3c**) and 4,4'-dimethoxydiphenylmethane (**4c**).

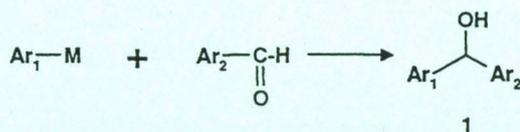


Searching in the literature showed that such a dismutation of diarylcarbinols was already known : this reaction, which occurred in strongly acidic media<sup>1</sup> and has also been observed while heating phenyl pyridazinyl carbinols<sup>2</sup>, proceeds *via* a hydride transfer mechanism<sup>3</sup> from a bis-diphenylmethyl ether intermediate<sup>1c</sup>. We checked that, by treatment of silyl ethers **2** at room temperature with a small amount of triflic acid, bis diarylmethyl ethers **5** were quantitatively obtained, and that heating the reaction medium at 60° leads to the dismutation.

We found that when chlorotrimethylsilane was used as the catalyst instead of triflic acid for the silylation of diarylcarbinols with hexamethyldisilazane, a near quantitative yield in silylated ether **2** was always obtained. A list of the diarylcarbinols which were silylated by using this method is given in the Table ; almost all these silyl ethers dismute when treated by a slight amount of triflic acid. Non



commercial diarylcarbinols utilized in this study were obtained according to the literature<sup>6</sup> or from a Grignard reaction between aromatic aldehydes and organo-magnesium or organolithium compounds.



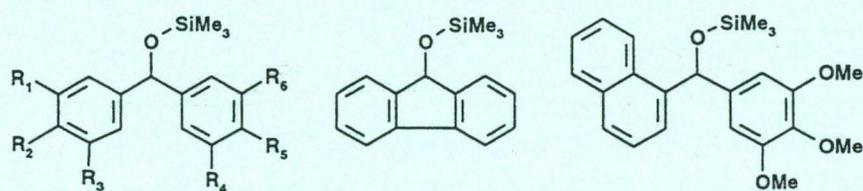
### EXPERIMENTAL

Melting points are uncorrected, IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer 1600 spectrometer, and the nmr spectra on a Hitachi Perkin-Elmer R-600, at 60 MHz, using tetramethylsilane as an internal reference. Elemental analyses were performed by the 'Service Central de microanalyses' of CNRS, in Vernaison, France, and were not made for the water sensitive silylated alcohols 2.

#### Bis-3,4-methylenedioxybenzhydrol.

A solution of *n*-butyllithium (1.85 N) in hexanes (180 ml, 333 mmole) was added to a cooled (-78°) solution of 5-bromodioxole<sup>4</sup> (67 g, 333 mmole) in anhydrous tetrahydrofuran. The mixture was stirred for one hour, then a solution of piperonal (50 g,

TABLE



R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>
H	H	H	H	H	H
H	OMe	H	H	OMe	H
H	H	H	OMe	OMe	H
H	OMe	H	O-CH <sub>2</sub> -O		H
H	O-CH <sub>2</sub> -O		O-CH <sub>2</sub> -O		H
OMe	OMe	OMe	H	H	H
OMe	OMe	OMe	H	OMe	H
OMe	OMe	OMe	O-CH <sub>2</sub> -O		H
OMe	OMe	OMe	OMe	OMe	OMe
H	Cl	H	H	Cl	H

333 mmole) in tetrahydrofuran (200 ml) was added (-78°). After warming at room temperature, water (10 ml) was added and the organic solvents were evaporated; methylene dichloride and water (10 ml) were added, and the organic solution was washed with water. After drying and evaporation of the methylene dichloride solution, a 94% yield of the benzhydryl was obtained, mp 90-1° (ethyl acetate); ir (KBr)  $\nu$  cm<sup>-1</sup>: 3310, 3125,

1500, 1485, 1440, 1135 ;  $^1\text{H}$  nmr ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm : 2.50 (s, 1 H, deuterium oxide exchangeable), 5.58 (s, 1 H), 5.87 (s, 4H), 6.69-6.81 (m, 6 H).

Anal. calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$  : C, 66.17 ; H, 4.44 ; O, 29.38 . Found : C, 66.07 ; H, 5.58 ; O, 29.41.

#### 3,4,5-Trimethoxy-3,4-methylenedioxybenzhydrol.

A few drops of dibromoethane were added to a hot ( $55^\circ$ ) suspension of magnesium (6.5 g, 267 mmole) in tetrahydrofuran (140 ml). After the beginning of the reaction, a solution of 5-bromo-1,3-benzodioxole<sup>4</sup> (50 g, 249 mmole) in tetrahydrofuran (150 ml) was added (30mn) while keeping the temperature at  $55^\circ$ . After stirring for 2 hours at the same temperature, a solution of 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (48.8 g, 249 mmole) in tetrahydrofuran (150 ml) was added (30 mn), then the mixture was heated ( $60^\circ$ ) for 1 hour. The solvent was evaporated, then a solution of ammonium chloride (70 g) in water (300 ml) was added. After extraction with methylene dichloride, drying and evaporation, the alcohol was obtained in 71% yield ; mp  $111-2^\circ$  (ethyl acetate) ; ir (KBr)  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$  : 3330, 3230, 1595, 1500, 1485, 1465, 1435, 1125 ;  $^1\text{H}$  nmr ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm : 2.90 (s, 1 H, deuterium oxide exchangeable), 3.80 (s, 9 H), 5.61 (s, 1 H), 5.90 (s, 2 H), 6.56 (s, 2 H), 6.72-6.82 (m, 3 H).

Anal. calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_6$  : C, 64.14 ; H, 5.70 ; O, 30.16. Found, C, 63.95 ; H, 5.68 ; O, 30.12.

#### 3,4,5,3',4',5'-Hexamethoxybenzhydrol.

Sodium borohydride (3.5 g, 0.993 mole) was slowly added to a solution of 3,4,5,3',4',5'-hexamethylbenzophenone (15 g, 0.545 mole) in ethanol (150 ml) ; the mixture was stirred at  $0^\circ$  for 15 mn then the solution was refluxed for 1 hours. After cooling, acetic acid (42 ml) was added, and the solvent was evaporated ; water (100 ml) was added and the product was extracted with methylene dichloride ; the organic phase was washed with a sodium carbonate solution then dried. After evaporation, the alcohol was crystallized in a ethyl acetate/heptane mixture, giving a 62 % yield of the benzhydrol, mp =  $127-9^\circ\text{C}$ , ir (KBr)  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$  : 3450, 1595, 1510, 1460, 1130, 1120 ;  $^1\text{H}$  nmr ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm : 3.78 (s, 18 H), 5.61 (s, 1 H), 6.57 (s, 4 H).

**3,4,5,3',4',5'-Hexamethoxybenzhydryl trimethylsilyl ether**

Chlorotrimethylsilane (3 drops) was added (syringe) to a mixture of hexamethyldisilazane (10 ml, 44.5 mmole) and 3,4,5,3',4',5'-hexamethoxy- benzhydryl (5 g, 13.8 mmole). The mixture was refluxed for 40 mn, the hexa-methyldisilazane excess was evaporated (sublimation of ammonium chloride), giving a quantitative yield of the silyl ether as a non colored liquid ;  $^1\text{H}$  nmr ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm : 0.13 (s, 9 H), 3.80 (s, 18 H), 5.60 (s, 1 H), 6.55 (s, 4 H).

**Benzhydryl trimethylsilyl ether (2a).**

Triflic acid (0.05 ml) was added (syringe) to a mixture of hexamethyldisilazane (100 ml, 474 mmole) and benzhydryl (92.2 g, 500 mmole). The mixture was heated ( $80^\circ$ ) for 30 mn, the hexamethyldisilazane excess was evaporated then the silyl ether was distilled, giving a 96% yield in pure compound ; bp  $85-7^\circ$  (0.2 mmHg) ;  $^1\text{H}$  nmr ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm : 0.06 (s, 9 H), 5.77 (s, 1 H), 7.28 (s, 10 H).

With 6 drops of chlorotrimethylsilane as a catalyst, the yield was 98% (1 h,  $80^\circ$ ).

**Bis benzhydryl ether (5a).**

Triflic acid (0.05 ml, 0.56 mmole) was slowly added (syringe) to stirred silyl ether (2a) (15 g, 58 mmole) cooled at  $0^\circ$ . The solid compound obtained after 1 mn was dissolved in methylene dichloride, then washed with water, giving a 98 % yield in pure ether 5a identical to the known compound<sup>5</sup>.

**Trimethylsilylether of 1-naphthyl 3,4,5-trimethoxyphenyl carbinol.**

Chlorotrimethylsilane (3 drops) was added (syringe) to a mixture of hexamethyl- disilazane (100 ml) and 1-naphthyl 3,4,5-trimethoxyphenyl carbinol (40 g, 147 mmole). The mixture was heated at reflux for 40 mn, the hexamethyldisilazane excess was evaporated (sublimation of ammonium chloride), giving a quantitative yield in the silyl ether as a yellow oil ;  $^1\text{H}$  nmr ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm : 0.09 (s, 9 H), 3.72 (s, 6 H), 3.79 (s, 3 H) 6.36 (s, 1 H), 6.80 (s, 2 H), 7-8.2 (m, 7 H).

**Dismutation of 4,4'-dimethoxybenzhydryl trimethylsilyl ether (2c).**

Triflic acid (0.05 ml, 0.56 mmole) was added (syringe) at room temperature, to a stirred solution of ether 2c (13.2 g, 42 mmole) in chloroform (20 ml). After 2 hours, a quantitative

yield in bis-benzhydryl ether **5c** was obtained,  $^1\text{H}$  nmr ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm : 3.68 (s, 12 H), 5.19 (s, 2 H), 6.71 (d,  $J=8.4$  Hz, 1 H), 7.16 (d,  $J=8.4$  Hz, 1H) [7].

The above solution was heated at  $60^\circ$  for 15 mn, then methylene dichloride (50 ml) and water (50 ml) were added. After washing, the organic phase was dried then evaporated. The obtained solid was filtered then washed with heptane, giving a 44 % yield in 4,4'-dimethoxybenzophenone identical to the commercial compound. The heptane solution was evaporated, giving a 42 % yield in dianisylmethane, identical to the known compound<sup>1b</sup>.

#### Dismutation of bis-4,4'-dichlorobenzhydryl ether (**5b**).

A solution of ether **5b** (2.3 g, 10 mmole) and triflic acid (0.05 ml, 0.57 mmole) in chloroform (5 ml) was heated at  $60^\circ$  for 5 hours. Methylene dichloride (10 ml) and water (10 ml) were added. After washing, the organic phase was dried then evaporated. The solid obtained was filtered, then washed with diisopropyl ether, giving a 32 % yield in 4,4'-dichlorobenzophenone identical to the commercial compound. Evaporation of the washing residue gives a 38 % yield in 4,4'-dichlorodiphenylmethane identical to the commercial compound.

#### REFERENCES

- [1] a) Kny-Jones F.G. and Ward A.M., *J. Chem. Soc.*, 535, (1930).  
b) Balfe M.P., Kenyon J. and Thain E.M., *J. Chem. Soc.*, 790, (1952).  
c) Burton H. and Cheeseman G.W.H., *J. Chem. Soc.*, 986, (1953).
- [2] Heinisch G., *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 101, 579 (1992).  
Heinisch G. and Waglechner R., *J. Heterocyclic Chem.*, 21, 1727 (1984).  
Heinisch G., Luszczak E. and Pailer M., *Monatsh. Chem.*, 105, 763 (1974).
- [3] Bartlett P.D. and McCollum J.D., *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 1441 (1956).
- [4] Feugas E., *Bull. Chem. Soc. France*, 8, 1892 (1964).
- [5] Knoevenagel E., *Ber.*, 36, 2827 (1903).
- [6] Cushman M., Nagarathnan D., Gopal D., He H.M., Lin, C.M. and Hamel E., *J. Med. Chem.*, 35, 2293 (1992).
- [7] Henneuse C., Gillard K., Noiset O., Marchand-Brynaert J., *Bull. Soc. Chim. France*, 132, 333 (1995)

(Received in the UK 05 July 1995)



## RESUME

L'intérêt présenté par les dérivés de l'étoposide et de l'azatoxine, deux inhibiteurs de topoisomérase II, ainsi que l'étude des relations structure-activité dans ces deux familles, nous ont conduits à concevoir, par le biais de pharmacomodulations, et synthétiser de nouveaux analogues possédant un squelette tétracyclique original.

Sur le plan chimique, nous avons mis au point une méthode de synthèse simple de ces familles hétérocycliques et précisé pour celles-ci certaines hypothèses mécanistiques concernant les cyclisations de type Friedel-Crafts intramoléculaires.

## MOTS CLES

TOPOISOMERASE II

ETOPOSIDE

AZATOXINE

CONCEPTION

PHARMACOMODULATIONS